

Les Hantavirus : données récentes et revue de la littérature.

M. Bouloy & H. Zeller

Unité des arbovirus et virus des fièvres hémorragiques, Institut Pasteur, Paris, France. Tél : 0140613157 et 0140613088. Fax : 0140613151.

Manuscrit n° 2155/RIP3. 3e colloque du réseau international des Instituts Pasteur et instituts associés. 14-15 octobre 1999, Institut Pasteur de Paris.

Summary: Hantaviruses: recent facts and review of existing literature.

Hantavirus (*Bunyaviridae* family) are present worldwide and are the causative agent of haemorrhagic fever with renal or pulmonary syndrome. These viruses are transmitted by rodents with asymptomatic infection which thus act as an excellent reservoir. Molecular epidemiology indicates that Hantavirus may have evolved in three ways: mutations within the genome, reassortment of the segmented genome between two closely related Hantavirus, and genomic recombination, a relatively rare phenomenon among negative stranded RNA viruses. Each virus is carried primarily by a specific rodent host. This observation is confirmed by phylogenetic analyses: the evolution tree of the different Hantavirus, based on viral genomic sequences has been shown to mirror the evolution tree of their specific rodents, based on sequences of mitochondrial DNA. Altogether these data suggest that an ancestral Hantavirus infected a specific rodent, early during evolution, and was subsequently submitted to the same evolutionary pressure as the rodent host.

Résumé :

Les Hantavirus (famille *Bunyaviridae*) sont présents sur tous les continents et sont responsables de fièvres hémorragiques à syndrome rénal ou pulmonaire. Ils sont transmis par les rongeurs qui, une fois infectés, restent des porteurs sains et constituent un excellent réservoir de virus. Les études d'épidémiologie moléculaire montrent que le génome des Hantavirus aurait évolué en utilisant trois mécanismes : l'introduction de mutations, le réassortiment du génome segmenté entre deux Hantavirus proches et même la recombinaison génétique, phénomène très rare chez les virus à ARN négatif. Chaque virus est inféodé à une espèce particulière de rongeur. Cette observation est confirmée par les analyses phylogénétiques: l'arbre des différents Hantavirus établi à partir de leur séquence génomique et celui des rongeurs qu'ils utilisent comme réservoir (établi à partir des séquences des ADN mitochondriaux) sont tout à fait superposables. Ainsi, il se peut qu'un Hantavirus ancestral ait infecté les rongeurs très tôt dans la spéciation et qu'il ait évolué comme son hôte.

haemorrhagic fever
Hantavirus
Bunyaviridae
evolution
genetics
rodent

fièvre hémorragique
Bunyaviridae
Hantavirus
evolution
génétique
rongeur

Introduction

Les Hantavirus sont présents partout dans le monde. Le virus Hantaan est la cause de plusieurs milliers de cas de fièvre hémorragique à syndrome rénal (FHRS) chaque année en Eurasie (6). Les virus Puumala et Dobrava circulent en Europe. Sur le continent américain, un virus initialement baptisé "Four corners" puis maintenant "Sin Nombre" a été identifié en 1993 comme étant responsable de syndrome pulmonaire à Hantavirus (HPS) (1). Depuis lors, d'autres virus responsables d'HPS ont été isolés, notamment en Amérique du Sud où des cas humains sont périodiquement signalés (10).

Bien que de nombreux membres de la famille des *Bunyaviridae* soient des arbovirus, aucun hôte invertébré n'a été mis en évidence pour les Hantavirus qui sont transmis par les rongeurs qu'ils infectent de façon chronique et utilisent comme réservoir. En France, il existe deux foyers importants d'Hantavirus qui se situent dans les Ardennes et dans le Jura (7, 8,

14). Le virus responsable de ces néphropathies est transmis par le campagnol roussâtre, *Clethrionomys glareolus*, ce qui explique le nombre important de cas parmi la population rurale et forestière. La figure 1 présente le nombre annuel de cas diagnostiqués depuis 1982. Il apparaît que la recrudescence des cas évolue de façon cyclique avec un rythme triennal qui coïncide avec les pics de densité de populations des rongeurs.

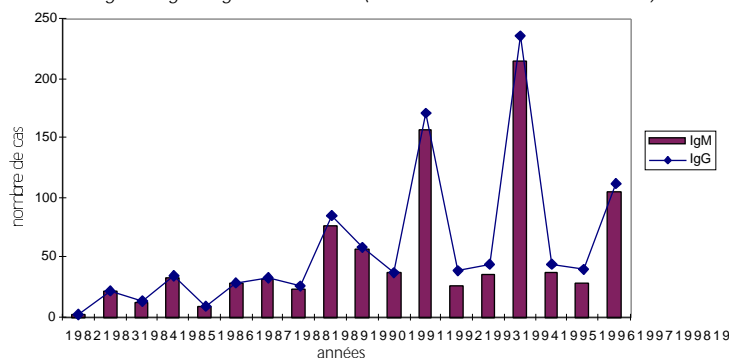
La transmission par les rongeurs.

D'une façon générale, tous les Hantavirus sont transmis par les rongeurs qui constituent un excellent réservoir puisqu'ils s'infectent sans signes cliniques apparents et, une fois infectés, excrètent le virus dans les fèces et les urines. Chez les rongeurs sauvages capturés dans la nature qui sont trouvés infectés, on détecte la présence des antigènes viraux dans les poumons, le foie, la rate et les reins. L'homme se contamine par aérosols (poussières souillées) ou par contact avec les

Figure 1.

Nombre de cas de HFSR évalués par la présence d'IgM ou IgG sériques et diagnostiqués en France (données de 1982 au 1er octobre 1999).

Number of HFSR cases as evaluated by the presence of (seriques/ sequencing?) IgM or IgG diagnosed in France (data from 1982 to 1 October 1999)



cadavres d'animaux ou par morsure. Le virus peut également se transmettre de rongeur à rongeur, mais aucune preuve de transmission verticale chez le rongeur n'a été mise en évidence. Un épisode de transmission inter-humaine du virus Andes a été décrit récemment chez des patients souffrant de syndrome pulmonaire à *Hantavirus* en Argentine (18).

La liste des *Hantavirus* s'allonge chaque année. On connaît au moins 16 sérogroupes, chacun possédant un hôte réservoir spécifique rongeur ou insectivore (tableau I).

Tableau I.

Les Hantavirus et leur réservoir. <i>Hantaviruses and their reservoir.</i>				
virus	réservoir	localisation	pathologie	
MURINAE				
Hantaan	HTN	Asie:Chine Corée, Japon	HFRS	
Seoul	SEO	Rattus norvegicus/rattus	HFRS	
Cosmopolite				
Dobrava	DOB	Balkans	HFRS	
Thai	THA	Thaïlande	?	
ARVICOLINAE				
Puumala	PUU	Europe, Russie	NE	
Tula	TUL	Europe, Russie	?	
Kabarovsk	KBV	Russie orientale	?	
Topografov	TOP	Russie(Sibérie)	?	
Prospect Hill	PH	Amérique du Nord (Maryland)	?	
Bloodland Lake	BLL	Amérique du Nord (Missouri)	?	
Isla Vista	ISLA	Amérique du Nord (États-Unis & Mexique)	?	
SIGMODONTINAE				
Sin Nombre	SN	États-Unis, Canada	HPS	
Monongahela	"	États-Unis	"	
New York	NY	est des États-Unis	"	
Blue River	"	centre des États-Unis	?	
Bayou	BAY	sud-ouest des États-Unis	HPS	
Black Creek canal	BCC	Floride	"	
El Moro Canyon	ELMC	ouest des États-Unis & Mexique	?	
Muleshoe	MUL	sud des États-Unis	?	
Rio Segundo	RIOS	Costa Rica	?	
Cano Delgadito	S. alstoni	Venezuela	?	
Andes	AND	Argentine, Chili	HPS	
Oran	ORN	Argentine,nord-ouest	"	
Lechiguana	LEC	Argentine centre	"	
Bermejo	BMJ	Argentine nord-ouest	"	
Hu39694	"	Argentine centre	"	
Juquituba	"	Bésil	"	
Laguna Negra	LN	Paraguay, Bolivie	"	
Maciel	MAC	Argentine centre	?	
Pergamino	PRG	Argentine centre	?	
Rio Marmore	RIOM	Bolivie, Pérou	?	

La maladie

Chez l'homme, la gravité de la maladie dépend beaucoup du virus considéré (pour revue, voir 5). Le virus Puumala (ou virus de la néphropathie épidémique) provoque une insuffisance rénale aiguë fébrile, au cours de laquelle les symp-

tômes les plus fréquemment observés sont la fièvre, le dysfonctionnement rénal et parfois la myopie. Les cas mortels d'infection par le virus Puumala sont tout à fait exceptionnels. En revanche, les infections par le virus Hantaan sont mortelles dans environ 5% des cas et, dans les infections dues au virus Sin Nombre, le taux de mortalité peut atteindre 50 %. Les syndromes rénaux semblent très caractéristiques des infections par les *Hantavirus* de l'ancien monde alors que, dans les infections par les *Hantavirus* du nouveau monde, les symptômes pulmonaires sont fréquemment rencontrés. Toutefois, cette distinction semble maintenant arbitraire car des manifestations pulmonaires ont été décrites chez les malades infectés par le virus Hantaan et des formes rénales sont associées aux infections par les virus Bayou et "Black Creek canal" qui sont classés dans le sérotype Sin Nombre. Malgré la diversité des formes cliniques, toutes les infections à *Hantavirus* ont en commun la propriété de provoquer une atteinte de l'endothélium capillaire donnant lieu à des fuites plasmatiques à l'origine d'hémorragies et de syndrome de choc dans les cas de HFSR ou d'œdèmes et de suffocations dans les cas de HPS.

Les Hantavirus

Membre de la famille des Bunyviridae, les *Hantavirus* sont des particules enveloppées grossièrement sphériques de 70-110 nm (13, 15). Le génome est constitué de trois segments d'ARN simple brin de polarité négative, appelés selon leur taille relative L, M et S. Le segment L code la protéine L qui est une ARN polymérase ARN dépendante associée à la particule virale. Le segment M code une polyprotéine qui, après clivage, génère les deux glycoprotéines d'enveloppe G1 et G2. Le segment S code la nucléoprotéine. Chez certains *Hantavirus*, le segment S possède une deuxième phase ouverte de lecture chevauchante avec celle de la nucléoprotéine qui pourrait coder une petite protéine non structurale. Cependant, l'expression de cette protéine reste énigmatique car une telle protéine n'a jamais été détectée dans les cellules infectées. Comme tous les membres de la famille, tout le cycle de transcription-réplication des *Hantavirus* se déroule uniquement dans le cytoplasme et les particules virales se forment par bourgeonnement au niveau des membranes de l'appareil de Golgi.

L'évolution des Hantavirus

Les campagnes de piégeage de rongeurs, tant en Europe qu'aux États-Unis et en Amérique du Sud, ont permis d'isoler ou de caractériser de nombreux virus. L'isolement des *Hantavirus* est relativement difficile car la souris de laboratoire est un très mauvais hôte et le virus se multiplie mal dans les cultures cellulaires où il ne provoque pas ou peu d'effet cytopathique. Les cellules de rein de singe (Vero, clone E6) sont les plus permissives au virus. Nos connaissances des *Hantavirus* ont beaucoup bénéficié du développement de la technique de RT-PCR et du séquençage. L'exemple du virus Sin Nombre est évocateur: son génome a été caractérisé et séquencé avant même que le virus ne soit isolé (12). Pour d'autres virus, seules les séquences ont été obtenues.

L'accumulation des données de séquences des différentes régions du génome a permis de mettre en évidence trois mécanismes impliqués dans l'évolution des séquences virales: les mutations, le réassortiment et la recombinaison génétique.

Les mutations

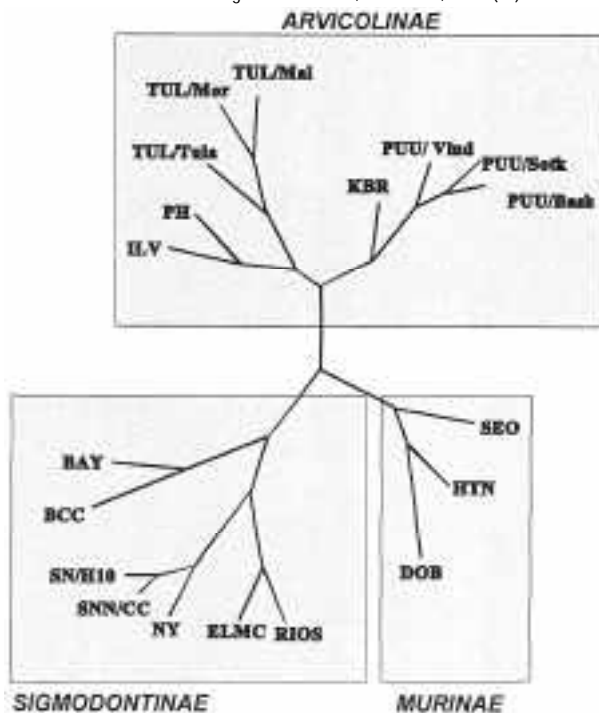
Comme pour tous les virus à ARN, l'analyse des séquences virales montre que le génome des *Hantavirus* évolue par mutations ponctuelles, insertions et délétions. L'arbre construit à partir des séquences du segment L de différents représentants de la famille parmi les genres *Bunyavirus*, *Phlebovirus*, *Tospovirus* et *Nairovirus* révèle l'existence d'un ancêtre commun aux arbovirus bunya, phlebo et tospo mais les *Hantavirus* semblent avoir une origine distincte (2, 11).

Les arbres phylogénétiques construits à partir des séquences du segment S définissent plusieurs groupes de provenances géographiques différentes qui correspondent aux 16 groupes sérologiques caractérisés antérieurement (fig. 2). On retrouve cette même distribution dans les arbres construits à partir des séquences des autres régions du génome, ce qui suggère que l'évolution s'est exercée de façon semblable sur les trois segments, même si la variabilité est plus forte au niveau de certains composants du virus comme les glycoprotéines exposées à la surface du virus et soumises à la pression de sélection des anticorps neutralisants (13).

Figure 2.

Arbre phylogénétique des Hantavirus établi à partir des données de séquences du segment S. Le regroupement selon la famille de rongeurs (Arvicolinae, Murinae et Sigmodontinae) est indiqué.
D'après PLYUSIN et al., J Gen Virol, 1996 (13).

Hantavirus phylogenetic tree established on the basis of sequences of the S segment. Grouping according to rodent family (Arvicolinae, Murinae and Sigmodontinae) is indicated. According to PLYUSIN et al., J Gen Virol, 1996 (13).



Le réassortiment

Le réassortiment génétique est un des mécanismes utilisés lors de l'évolution des *Hantavirus* (4, 9). Il ne peut cependant avoir lieu qu'entre virus très proches. C'est le cas pour le virus Sin Nombre dont différents isolats ont été analysés. Il existe au moins deux lignées différentes. Or, certains isolats de Sin Nombre paraissent inconstants dans leurs relations phylogénétiques : ils appartiennent à un sous-groupe pour deux segments et à l'autre pour le troisième segment. Ces localisations inattendues peuvent s'expliquer par l'échange génétique par réassortiment, phénomène connu chez les virus à génome segmenté.

La recombinaison

La recombinaison génétique est un phénomène rare chez les virus à ARN négatif. Pourtant, l'étude des séquences du segment S d'isolats d'un nouveau virus européen, le virus Tula, a révélé qu'un tel mécanisme est probablement à l'origine de l'évolution des certains isolats (16). Ce virus, transmis par *Microtus*, circule chez les rongeurs en Russie (région de Tula), en Slovaquie et en Moravie. Il est intéressant de noter que les souches de Tula sont très proches des virus américains Prospect Hill et Isla Vista, isolés, eux aussi, à partir de *Microtus*. L'arbre phylogénétique construit à partir de séquences du segment S dans la région codant la nucléoprotéine regroupe les différents isolats de virus Tula selon deux branches principales, la branche I comprenant les souches russes et slovaques de l'est et la branche II, les souches de Slovaquie de l'Ouest et de Moravie. Or, lorsque l'arbre est établi à partir d'une autre région du même segment S, en particulier la région 3' non codante, les souches de Slovaquie de l'Est se localisent dans la branche II, ce qui peut s'expliquer si des virus ancestraux différents ont co-circulé et ont échangé une région de leur génome par un mécanisme de recombinaison, produisant le virus actuel.

La co-évolution rongeur-virus

L'examen des arbres phylogénétiques regroupant un grand nombre d'*Hantavirus* fait apparaître que les relations entre les virus suivent la même répartition que le rongeur qu'ils utilisent comme réservoir (13, 16). Ainsi, on distingue trois grands groupes de virus, les uns sont transmis par les *Murinae* (Hantaan, Séoul et Dobrava), les autres par les *Sigmodontinae* (les virus américains) et les troisièmes par les *Arvicolinae* (Puumala et Tula). En réalité, si on compare les arbres phylogénétiques des rongeurs (ADN mitochondriaux) et des *Hantavirus* qui les infectent, on observe une superposition quasi-parfaite (17). Ces observations confirment que chaque *Hantavirus* est inféodé à une espèce donnée de rongeur et laissent penser qu'un *Hantavirus* ancestral a existé depuis le début de la spéciation des rongeurs et que son génome a évolué de la même façon que le rongeur qu'il infectait. Ainsi, pour les *Hantavirus*, la transmission inter-espèces semble extrêmement limitée. Des exceptions, celles du virus Khabarovsk, isolé de *Microtus fortis*, et éventuellement du virus Topografov, isolé de *Lemmus sibiricus*, génétiquement proches du virus Puumala, isolé de *Clethrionomys*, ont toutefois été signalées, ce qui laisse envisager qu'au cours de l'évolution l'ancêtre de ce virus a changé d'hôte-réservoir.

Conclusion

Les facteurs déterminant la pathogénicité des *Hantavirus* restent encore inconnus. Incontestablement, le virus joue un rôle essentiel, mais l'hôte et certains facteurs de prédisposition génétique liés à l'haplotype HLA semblent également importants (5). Récemment, il a été montré que Sin Nombre pénètre dans la cellule en utilisant les intégrines $\beta 3$ comme récepteur (3). L'étroite spécificité hôte-virus pourrait être liée aux récepteurs cellulaires ou à des protéines cellulaires interagissant avec des protéines virales au cours du cycle viral. Les recherches dans ces domaines devraient nous aider à élucider ces questions essentielles pour mieux comprendre la pathogénicité et la spécificité d'hôte de ces virus.

Références bibliographiques

1. CENTER FOR DISEASE CONTROL AND PREVENTION, OUTBREAK OF ACUTE ILLNESS – South-western United states, *Morb Mortal Wkly Rep*, 1993, **42**, 421-424.
2. ELLIOTTRM - Concluding remarks and future prospects. In: *The Bunyaviridae*. ELLIOTT RM (ed) in series The viruses FRANKEL-CONRAT H & WAGNER RR, 1996, p. 295-332
3. GAVRILOVSKAYA I, SHEPLEY M, SHAW R, GINSBERG M & MACKOW E – Beta 3 integrins mediate the cellular entry of *Hantaviruses* that cause respiratory failure. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1998, **95**, 7074-7079.
4. HENDERSON WW, MONROE MC, ST JEOR SC, THAYER WP, ROWE JE *et al.* – Naturally occurring Sin Nombre virus genetic reassortants. *Virology*, 1995, **214**, 602-610.
5. KANERVA M, MUSTONEN J & VAHERI A – Pathogenesis of Puumala and other *Hantavirus* infections. *Rev Med Virol*, 1998, **8**, 67-86.
6. LEE HW, LEE PW, BAEK LJ & CHU YK – Geographical distribution of hemorrhagic fever with renal syndrome and *Hantaviruses*. *Arch Virol*, 1990, supplement, 15-18.
7. LE GUENNO B – *Hantavirus* et pathologie pulmonaire. *Rev Pneumol Clin*, 1998, **54**, 393-398.
8. LE GUENNO B, CAMPRASSE MA, GUILBAUT JC LANOUX P & HOEN B – Letter. *Lancet*, 1994, **343**, 298
9. LI D, SCHMALJOHN AL, ANDERSON K & SCHMALJOHN CS – Complete nucleotide sequences of the M and S segments of two *Hantavirus* isolates from California: evidence for reassortment in Nature among viruses related to *Hantavirus* pulmonary syndrome. *Virology*, 1995, **206**, 973-983.
10. LOPEZ N, PADULA P, ROSSI C, LAZARO ME & FRANZE-FERNANDEZ MT – Genetic identification of a new *Hantavirus* causing severe pulmonary syndrome in Argentina. *Virology*, 1996, **220**, 223-226.
11. MÜLLER R, POCH O, DELARUE M, BISHOP DHL & BOULOY M - Rift Valley fever virus L segment: correction of the sequence and possible functional role of newly identified regions conserved in RNA-dependent polymerases. *J Gen Virol*, 1994, **75**, 1345-1352.
12. NICHOL ST *et al.* - Genetic identification of a *Hantavirus* associated with an outbreak of acute respiratory illness. *Science*, 1993, **262**, 914-917.
13. PLYUSNIN A, VAPALAHTI O & VAHERI A – *Hantaviruses*: genome structure, expression and evolution. *J Gen Virol*, 1996, **77**, 2677-2687.
14. ROLLIN PE *et al.* – *Hantavirus* epidemic in Europe, 1993. *Lancet*, 1994, **343**, 115-116.
15. SCHMALJOHN CS - Bunyaviridae: the viruses and their replication. In: *Fields Virology* (FIELDS BN, KNIPE DM, HOWLEY PM ed.) 1996, vol.1, pp 1447-1504.
16. SIBOLD C *et al.* - Recombination in Tula *Hantavirus* evolution : analysis of genetic lineages from Slovakia. *J Virol*, 1999, **73**, 667-675.
17. VAPALAHTI O *et al.* - Isolation and characterization of a *Hantavirus* from *Lemmus sibiricus*: evidence for host switch during *Hantavirus* evolution. *J Virol*, 1999, **73**, 5586-5592.
18. WELLS RM *et al.* - An unusual *Hantavirus* outbreak in southern Argentina: person-to-person transmission? *Emerg Infect Dis*, 1997, **3**, 171-174.