

# SOMMAIRE

<b>INTRODUCTION</b> .....	6
<b>PREMIERE PARTIE : ETUDE GENERALE</b>	
I/ HISTORIQUE .....	7
II/ ETUDE DE L'AGENT ETIOLOGIQUE .....	12
1°) <u>Place dans la classification</u> .....	12
2°) <u>Caractéristiques des Hantavirus</u> .....	14
a) structure physico-chimique	14
b) culture cellulaire	15
c) le génome	16
d) les protéines virales	18
e) propriétés	21
3°) <u>Le cycle viral</u> .....	22
4°) <u>Evolution des Hantavirus</u> .....	27
<b>DEUXIEME PARTIE : ETUDE EPIDEMIOLOGIQUE EN FRANCE</b>	
I/ EPIDEMIOLOGIE DESCRIPTIVE .....	31
1°) <u>Répartition dans l'espace</u> .....	31
a) distribution	31
b) évolution	32
2°) <u>Répartition dans le temps</u> .....	33
3°) <u>Populations concernées</u> .....	40
II/ EPIDEMIOLOGIE ANALYTIQUE .....	42
1°) <u>Les sources d'agent pathogène</u> .....	42
a) étude générale des rongeurs	42
b) étude spécifique	43
c) étude de l'hantavirose chez les rongeurs	47
d) implication des autres espèces animales	51
2°) <u>Transmission de l'agent pathogène</u> .....	52
a) rappel	52
b) transmission de l'animal à l'homme	52
c) transmission inter-humaine	53
3°) <u>Caractéristiques des populations atteintes : facteurs de réceptivité et sensibilité</u> .....	54
<b>TROISIEME PARTIE : ETUDE CLINIQUE EN FRANCE</b>	
I/ MANIFESTATIONS CLINIQUES .....	57
1°) <u>Phase fébrile</u> .....	58
2°) <u>Phase hypotensive</u> .....	59
3°) <u>Phase oligurique</u> .....	59
4°) <u>Phase polyurique</u> .....	60

5°) <u>Phase de convalescence</u> .....	61
II/ LESIONS .....	61
III/ PATHOGENIE .....	63
1°) <u>Phase fébrile</u> .....	64
2°) <u>Phase hypotensive</u> .....	64
3°) <u>Phase oligurique</u> .....	66
4°) <u>Phase polyurique</u> .....	67
5°) <u>Synthèse</u> .....	68
IV/ DIAGNOSTIC .....	70
1°) <u>Diagnostic clinique</u> .....	70
2°) <u>Diagnostic de laboratoire</u> .....	72
a) mise en évidence du virus	72
b) sérologie	73
V/ TRAITEMENT .....	78
VI/ ASPECT MEDICO-LEGAL .....	81
1°) <u>Définition</u> .....	81
2°) <u>Démarches administratives</u> .....	82
VII/ PROPHYLAXIE .....	83
1°) <u>Prophylaxie sanitaire</u> .....	83
2°) <u>Prophylaxie médicale</u> .....	85
CONCLUSION .....	89
BIBLIOGRAPHIE .....	91

## **ANNEXES**

Annexe I : arrêté du 18 /07/1994

Annexe II : décret du 29/01/1996

Annexe III : décret du 15/02/1999

Annexe IV : exemple de document d'information et de prévention

Annexe V : arrêté du 13/08/1996

# TABLE DES ILLUSTRATIONS

## Figure n°

1 : répartition des Hantavirus dans le monde.....	9
2 : organisation schématique d'un Hantavirus.....	15
3 : le génome des Hantavirus.....	18
4 : réplication et transcription.....	22
5 : cycle des Hantavirus.....	23
6 : illustration du mécanisme « prime and realign » lors de l'initiation de la réplication et transcription.....	25
7 : arbre phylogénétique des Hantavirus établi à partir du segment S .....	28
8 : arbre phylogénétique : cas particulier du virus Puumala.....	29
9 : correspondance des arbres phylogénétiques des rongeurs et des Hantavirus.....	30
10 : répartition des cas d'infection aux Hantavirus en France.....	34
11 : distribution mensuelle des 7947 demandes de sérologie Hantavirus (1987-1997).....	36
12 : nombre de cas de F.H.S.R. confirmés entre 1982 et 1999.....	36
13 : quelques données sur l'épidémie de 1990.....	38
14 : quelques données sur l'épidémie de 1992-1993.....	39
15 : le campagnol roussâtre.....	44
16 : le mulot sylvestre.....	45
17 : le rat surmulot.....	46
18 : virémie, persistance des antigènes viraux et anticorps.....	47
19 : répartition géographique des principaux vecteurs en France.....	49
20 : activation du complément et action antivirale.....	65
21 : développement de l'insuffisance rénale.....	67
22 : la F.H.S.R. comme maladie à médiation immune.....	68
23 : la technique d'amplification (PCR).....	75
24 : immunofluorescence et ELISA.....	76
25 : structure de la ribavirine.....	79
26 : mode d'action de la ribavirine.....	80

**Tableau n°**

I : Présentation des principaux Hantavirus, des espèces réservoirs et pathologies humaines associées.....	11
II : Famille des Bunyaviridae.....	13
III : Séquences terminales des segments d'ARN des Bunyaviridae.....	13
IV : Participation relative des différents foyers lors des épidémies.....	32
V : Nombre de cas diagnostiqués par le CNR FHV par an.....	35
VI : Epidémies de 1990-1992/93-1996.....	37
VII : Comparaison des principales manifestations cliniques et biologiques observées lors de NE en France et en Scandinavie .....	57

## INTRODUCTION

En 1959, l'Organisation Mondiale de la Santé définit les zoonoses comme les maladies et infections qui se transmettent naturellement des animaux vertébrés à l'homme et vice versa.

Ces zoonoses, qui peuvent faire intervenir aussi bien des animaux domestiques que des animaux sauvages, sont relativement méconnues du grand public. Il appartient donc aux médecins et aux vétérinaires de sensibiliser la population sur les risques que représentent certaines espèces animales.

Les rongeurs sont fréquemment impliqués dans la transmission d'agents infectieux à l'homme. Si la peste reste la plus célèbre des zoonoses transmises par les rongeurs, d'autres maladies, telles que la leptospirose, la tularémie, l'Hantavirose... sont assez répandues.

Cette dernière infection, également dénommée Fièvre Hémorragique avec Syndrome Rénal (F.H.S.R.) est l'objet de cette étude bibliographique. Après des données générales, relatives à la découverte de la maladie et de l'agent étiologique, l'étude portera sur l'Hantavirose en France. Une synthèse de données épidémiologiques et cliniques permettra de mieux cerner cette zoonose, son développement et de dégager les grands axes de sa prophylaxie



## I) HISTORIQUE :

L'infection due aux Hantavirus est fréquemment qualifiée de «zoonose émergente». Cette appellation est en fait erronée puisque son existence semble dater de plus d'un millénaire. Un livre de médecine chinois en présente la première description, en l'an 960<sup>71</sup>.

Toutefois, c'est surtout au XXe siècle que sont signalées de nombreuses épidémies de fièvres hémorragiques en Asie, en Europe et sur le continent américain. Il est intéressant d'en dresser un rapide historique.

En France, durant la Première Guerre Mondiale, des soldats français et anglais souffrent de « néphrites azotémiques pures », décrites par Ameuille, dont le tableau clinique s'apparente à celui de l'Hantavirose<sup>71</sup>.

En U.R.S.S., dans les années 1930, une épidémie de «Fièvre de Tula» est également relatée<sup>8,42</sup>.

En Suède, en 1934, Myrhman et Zetterholm décrivent, séparément, l'émergence d'une nouvelle maladie, sévissant en Laponie. Plus de 1000 soldats sont atteints. Caractérisée par un tableau infectieux dominé par un syndrome rénal, accompagnée de douleurs abdominales et lombaires, elle s'avère bénigne. En 1945, Myrhman lui donnera le nom de «Nephropathia Epidemica»<sup>69,71,93</sup>.

Durant la Seconde Guerre Mondiale, des soldats japonais sont victimes d'une épidémie de «Fièvre de Mandchourie». Lors de cette épidémie sans précédent, 12 600 cas sont répertoriés<sup>8</sup>.

Commencent alors des recherches dans différents pays, pour déterminer la ou les causes de ces épidémies. Dès 1941, des médecins russes et japonais émettent l'hypothèse d'une origine virale et suspectent les rongeurs de jouer un rôle dans la dissémination de la maladie. Smorodintsev et Kitano choisissent donc d'inoculer à des «volontaires», des filtrats d'urine ou sérums de patients, ainsi que des broyats d'organes de rongeurs<sup>71</sup>. Cette injection reproduit la maladie et semble conférer l'immunité<sup>48</sup>.

Durant la Guerre de Corée (1950-1953), plus de 3 000 soldats des Nations Unies sont victimes de « Fièvre Hémorragique Epidémique » ou «Fièvre Hémorragique de Corée»<sup>2, 118</sup>. Ils présentent un syndrome fébrile accompagné de troubles hémorragiques. La maladie qui évolue irrémédiablement vers une insuffisance rénale aiguë, provoque 15 % de décès<sup>48</sup>.

Cette nouvelle épidémie renforce l'intérêt et l'inquiétude des scientifiques occidentaux. C'est à cette époque que l'infection aux Hantavirus est véritablement prise en compte <sup>42</sup>. Des chercheurs américains tentent d'isoler le virus sur culture cellulaire, mais ces premiers essais restent infructueux <sup>71</sup>.

En 1960, Gadjusek est l'un des premiers chercheurs à soupçonner que nombre d'épidémies décrites ont en fait une même origine, de nature virale <sup>71, 118</sup>. Mais il faudra attendre 1976 et les recherches de Lee sur la Fièvre Hémorragique de Corée, pour obtenir confirmation de l'origine virale et de l'implication des rongeurs. Lee et ses collaborateurs mettent en évidence par immunofluorescence, un antigène viral spécifique, sur des coupes de poumons de mulots rayés (*Apodemus agrarius*) capturés sur les berges de la rivière Hantaan, en Corée <sup>102</sup>. Le virus identifié est baptisé virus **Hantaan** (souche HTN 76-118) <sup>68</sup>.

Des études sérologiques rétrospectives, menées en U.R.S.S., en Corée et au Japon confirment que certaines épidémies de fièvres hémorragiques avaient bien été causées par le virus Hantaan <sup>37</sup>.

Dans les années 1980, les scientifiques réussissent, pour la première fois, à cultiver le virus Hantaan sur des cellules <sup>71</sup>. Cette avancée leur permet enfin de connaître ses caractéristiques. D'autres virus sont alors découverts. Lee parvient à révéler, chez le rat, la présence du virus **Séoul**, responsable d'épidémies urbaines <sup>68</sup>.

A la même période, en Finlande, Brummer-Korvenkontio met en évidence, sur des coupes de poumons de campagnols roussâtres (*Clethrionomys glareolus*), le virus responsable de la Nephropathia Epidemica <sup>21</sup>. Ce virus est nommé virus **Puumala**.

La Nephropathia Epidemica affecte également la France <sup>48</sup> : en 1982, le rôle des Hantavirus dans les cas de néphrites aiguës est confirmé sérologiquement pour la première fois <sup>69,93</sup>.

En 1983, l'Organisation Mondiale de la Santé attribue le nom «Fièvre Hémorragique avec Syndrome Rénal» (F.H.S.R.) à l'ensemble de ces affections décrites en Eurasie <sup>71</sup>.

En 1990, en France, le premier isolement du virus Puumala, à partir du sérum d'un patient, est réalisé. Cette souche, nommée PUU 90-13, est depuis utilisée comme référence pour le diagnostic <sup>19, 106</sup>.

Dans les années 1990, le continent américain, jusqu'ici épargné, connaît ses premières épidémies. En 1993, dans le Sud-Ouest des Etats Unis, se développe une nouvelle affection

sévère<sup>65, 70, 108</sup>. Elle débute par un syndrome fébrile et se poursuit par une atteinte respiratoire caractérisée par de l'œdème pulmonaire non cardiogénique et un syndrome de détresse respiratoire aigu<sup>39,108</sup> ; 45 % des malades décèdent en moins de dix jours<sup>82</sup>.

Le Center for Disease Control d'Atlanta (C.D.C.) entreprend des investigations<sup>108</sup> : études sérologiques et recherches d'antigènes par immunohistochimie sur des tissus prélevés sur cadavre. Les études sérologiques démontrent l'existence de réactions croisées avec certains Hantavirus connus<sup>65</sup>. Le virus **Sin Nombre** est alors isolé, ainsi que les virus **Black Creek Canal**, **Bayou** et **Muerto Canyon**.

La sévérité de la maladie, appelée Syndrome Pulmonaire à Hantavirus (ou S.P.H.), contraint le C.D.C. à mettre en place un plan national d'épidémiosurveillance. Jusqu'en 1997, 172 cas de H.P.S. sont répertoriés aux Etats Unis et plus de 400 cas au Canada et en Amérique du Sud<sup>82</sup>.

A l'heure actuelle, de nombreux Hantavirus ont été découverts<sup>66</sup>. Ces virus sont présents un peu partout dans le monde<sup>122, 67</sup>.



Figure 1 : répartition des Hantavirus dans le Monde<sup>67</sup>.

NB : Les régions grisées représentent les zones d'endémie.

Les Hantavirus sont responsables d'au moins deux entités cliniques<sup>4, 40, 78, 84</sup> :

- En Amérique, les virus Sin Nombre, Bayou, Black Creek Canal, Muerto Canyon entre autres, sont à l'origine du S.P.H.
- En Eurasie, les Hantavirus sont à l'origine de la F.H.S.R. qui peut exister sous trois formes<sup>67, 84</sup> :
  - une forme sévère, en Asie due au virus Hantaan, et en Europe due au virus Dobrava ,
  - une forme intermédiaire due au virus Séoul ,
  - une forme bénigne due au virus Puumala.

Certains auteurs distinguent parfois, dans leur classification, «les virus de l'Ancien Monde» et «les virus du Nouveau Monde»<sup>29</sup>. Le tableau I nous permet de consulter cette classification.

Toutefois, certains Hantavirus semblent inoffensifs pour l'homme. C'est le cas du virus **Prospect Hill** isolé dans l'état du Maryland (Etats Unis) chez un rongeur des champs, du virus **Tottapalayam**, isolé en Inde, une unique fois en 1997, chez une musaraigne, ainsi que du virus **Thaïland**, isolé chez le rat<sup>69</sup>.

Actuellement, on recense plus de 200 000 cas par an d'infection aux Hantavirus, dont la moitié en Chine<sup>54</sup>.

La complexité du Genre Hantavirus est incontestable car il regroupe de nombreux virus. S'ils possèdent une caractéristique commune, à savoir la spécificité d'hôte (il semble que chaque virus soit associé à une espèce de rongeur) il n'en reste pas moins qu'ils présentent des différences notamment en ce qui concerne le pouvoir pathogène.

Une étude approfondie de ce Genre permettra d'en connaître les caractéristiques morphologiques, génétiques. Elle aidera également à comprendre ces différences et à appréhender les relations entre les Hantavirus et leurs hôtes.

Tableau I : présentation des principaux Hantavirus, des espèces réservoirs et des pathologies humaines associées (d'après Hart)

Virus	Abréviation	Réservoir	Distribution géographique	Infection humaine	Forme clinique
Ancien monde					
Hantaan	HTN	Apodémus agrarius	Europe centrale, Balkans, Corée, Chine, Tawain	+	FHSR (sévère)
Dobrova/Belgrade	DOB	A. flavicollis	Balkans, Russie, Estonie	+	FHSR (sévère)
Séoul	SEO	Rattus norvegicus	partout	+	FHSR (modérée)
Puumala	PUU	Clethrionomys glareolus	Europe du Nord, Russie	+	FHSR (légère mais occasionnellement SPH) (Néphropathie épidémique)
Tobetsu	TOB	C. rufonicas	Japon	?	inconnue
Bat		Rhinolophus, ferrum-equinum	Corée	?	inconnue
Topografov	TOP	Lemmus sibericus	Europe et Amérique	?	inconnue
Thottopalyam	TPM	Suncus murinus	Asie du sud-est	?	inconnue
Thailand	THAI	Bandicota indica	Asie du sud-est	?	inconnue
Tula	TUL	Microtus arvalis	Europe du nord et de l'est	+	inconnue
Khabarovsk	KBR	M. fortis	Russie, Chine	?	inconnue
Nouveau monde					
Prospert Hill	PH	M. pennsylvanicus	Etats Unis, Canada	?	inconnue
Bloodland Lake	BLLL	M. ochrogastor	Etats Unis, Canada	?	inconnue
Isla vista	ISLA	M. californicus	Ouest des Etats Unis	?	inconnue
Leaky		Mus musculus	Etats Unis, Mexique	+	inconnue
Sin nombre	SN	Peromyscus maniculatus	Etats Unis, Mexique	+	SPH
Monongahela	MON	P. maniculatus nubiterrae	Est des Etats Unis, Canada,	+	SPH
New York	NY	P. leucopus	Etats Unis, Canada, Mexique	+	SPH
Blue river	BR	P. leucopus	Centre des Etats Unis	?	inconnue
Rio Mamore	RM	Olygoryzomys microtus	Brésil, Pérou, Bolivie, Argentine, Paraguay	?	inconnue
Andes	AND	O. longicaudatus	Chili, Argentine	+	SPH
El moro Canyon	ELMC	Reithrodontomys megalotis	Canada, Etats Unis, Mexique	?	inconnue
Rio Segundo	RIOS	R. mexicanus	Amérique centrale	+	inconnue
Bayou	BAY	Oryzomys palustris	Est des Etats Unis	+	SPH
Black Creek Canal	BCC	Sigmodon hispidus	Sud est des Etats Unis, Mexique, Amérique centrale, nord de l'Amérique du sud	+	SPH
Mule Shoe	MULE	S. hispidus	Comme pour BCC	+	inconnue
Cano Delgadito	CDEL	S. altoni	Vénézuela	?	inconnue
Laguna Negra	LN	Calomys laucha	Paraguay, Bolivie	+	SPH
Juquitaba	JU	Inconnu	Brésil	+	SPH

C'est au milieu du XXe siècle que Kitano et Smorodintsev proposent l'origine virale pour la Fièvre Hémorragique avec Syndrome Rénal <sup>71</sup>. Lee, en 1976, découvre le virus Hantaan. Ce dernier semble partager des propriétés biologiques, antigéniques et morphologiques avec les virus de la famille des Bunyaviridae <sup>116</sup>.

Le virus Hantaan, ainsi que les autres virus identifiés, sont donc classés dans cette famille, mais ils y constituent un nouveau genre : le genre Hantavirus.

## II ) ETUDE DE L'AGENT ETIOLOGIQUE :

Un virus est un élément non filtrable, un parasite intracellulaire absolu qui ne dispose que d'un seul type d'acide nucléique. En 1953, Lwoff définit le virion comme un élément qui se reproduit à partir de cet acide nucléique en utilisant le matériel de la cellule hôte et qui ne produit pas d'énergie.

### 1°) Place dans la classification :

Les principes de classification des virus ont été établis en 1962. Cette classification repose sur <sup>14, 82, 112</sup> :

- la nature du matériel génétique : ADN ou ARN, simple brin ou double brin, polarité
- la présence ou l'absence d'une enveloppe
- la symétrie de la particule virale
- le diamètre de la capsid

Certaines caractéristiques des Hantavirus permettent de les classer dans la famille des **Bunyaviridae** <sup>14, 82, 112</sup> :

- un ARN monocaténaire, de polarité négative, segmenté
- une capsid hélicoïdale
- une enveloppe lipidique
- une taille de 100 nm environ

Les ARNm ne sont pas polyadénylés. Ils sont plus courts que les ARN viraux et possèdent une coiffe à l'extrémité 5'.

La famille des Bunyaviridae, établie en 1975, comporte cinq genres <sup>82</sup> : Bunyavirus, Nairovirus, Phlebovirus, Tospovirus et Hantavirus. Elle regroupe plus de 350 virus.

Les membres de la famille des Bunyaviridae sont présentés dans le tableau II.

Tableau II : la famille des Bunyaviridae (d'après Schmaljohn <sup>111</sup>)

Genre	Sérogroupe	Virus	Reservoir	Vecteur
Bunyavirus	Bunyamwera California	Bunyamwera, Germiston, La Crosse, Tahyna	transovarienne	Moustiques
Nairovirus	CCHF	Fièvre hémorragique du Congo , Hazara	Moutons, chèvres	Tiques
Phlebovirus	Phlebotomus fever groupe	Fièvre de la Vallée du Rift, Uukuniemi, Precariaus point	? transovarienne, oiseaux, rongeurs, bovins, moutons, chèvres	Phlebotomes Tiques
Hantavirus	FHSR HPS	HTN, PUU, DOB, SN, TOT, BAY, PH, BCC	Rongeurs Musaraigne (insectivore)	aucun
Tospovirus		Tomato spotted wilt virus	Plus de 360 plantes	Thrips

Tableau III : Séquences terminales des segments d'ARN des Bunyaviridae (d'après Schmaljohn <sup>112</sup>)

Genre	Virus	Segment	Séquence 3'	Séquence 5'
Bunyavirus	Bunyamwera	S M L	3' <u>UCAUCAUAUGAGGUG</u> 3' <u>UCAUCAUAUGAUGGC</u> 3' <u>UCAUCAUAUGAGGAU</u>	5' <u>AGAUGUGUGCUCCAG</u> 5' <u>AGUAGUGUGCUACCG</u> 5' <u>AGUAGUGUGCUCCUA</u>
Hantavirus	Hantaan	S M L	3' <u>AUCAUCAUCUGAGGG</u> 3' <u>AUCAUCAUCUGAGGC</u> 3' <u>AUCAUCAUCUGAGGG</u>	5' <u>UAGUAGUAGUGCUCCC</u> 5' <u>UAGUAGUAGACACCG</u> 5' <u>UAGUAGUAGACUCCC</u>
Naivovirus	Dugbe	S M L	3' <u>AGAGUUUCUGUUGC</u> 3' <u>AGAGUUUCUGUAUGG</u> 3' <u>AGAGUUUCUGUUA</u>	5' <u>UCUCAAGAUAAAUCG</u> 5' <u>UCUCAAGAUAGCGUG</u> 5' <u>UCUCAAGACATCAA</u>
Phlebovirus	Rift Valley fever	S M L	3' <u>UGUGUUUCGAGGGAUC</u> 3' <u>UGUGUUUCUGCCACGU</u> 3' <u>UGUGUUUCUGGCGGU</u>	5' <u>ACACAAAGACCCCT</u> 5' <u>ACACAAAGACCGGUG</u> 5' <u>ACACAAAGCGCCCA</u>
Tospovirus	Tomato spotted wilt	S M L	3' <u>UCUCGUUAGCACAGUU</u> 3' <u>UCUCGUUAGUCACGUU</u> 3' <u>UCUCGUUAGUCCAUUU</u>	5' <u>AGAGCAAUUGUGUCAG</u> 5' <u>AGAGCAAUCAGUGCAU</u> 5' <u>AGAGCAAUCAGGUACA</u>

Les séquences communes sont soulignées.

Les Hantavirus constituent un nouveau genre car ils présentent certaines différences avec les autres membres de la famille <sup>82, 112</sup>. Ils n'ont, tout d'abord, aucune relation antigénique avec les autres virus. De plus, ils ne sont pas transmis par les Arthropodes, mais par les rongeurs : ce sont des « robovirus ». Ce nom provient des deux premières syllabes des mots anglais « rodent » et « borne ». Enfin, l'extrémité 3' (séquence conservée entre tous les virus d'un même genre) des Hantavirus, diffère des extrémités 3' des autres genres.

Ces séquences terminales sont indiquées dans le tableau III, pour les différents genres de la famille .

## 2°) Caractéristiques des Hantavirus :

Depuis 1976, 16 sérotypes regroupant une centaine de souches virales <sup>101</sup>, ont été découverts : Bayou, Black Creek Canal, Dobrava, Hantaan, Ilsa Vista, Khabarovsk, Muerto Canyon, New York, Puumala, Prospect Hill, Rio Segundo, Séoul, Sin Nombre, Tottapalayam, Thailand, Tula.

Les virus Hantaan et Séoul ont été classés dans le groupe 3, par l'arrêté du 18 juillet 1994 relatif à la classification des agents pathogènes. Les virus Puumala et Prospect Hill sont classés dans le groupe 2. Cet arrêté est consultable en annexe I.

### a) Structure physico-chimique :

La particule est en général sphérique, de 100 nm de diamètre environ. Elle peut être pléiomorphe et sa taille peut varier de 90 à 210 nm <sup>111</sup>.

L'enveloppe est constituée d'une bicouche lipidique et de glycoprotéines. Les lipides sont généralement d'origine cellulaire : cholestérol, phospholipides, glycolipides. Les glycoprotéines G1 et G2 forment des spicules de 6 nm de longueur <sup>111, 112</sup>.

La particule renferme trois ribonucléocapsides hélicoïdales. Ces dernières mesurent de 2 à 2,5 nm de diamètre et sont composées des trois segments d'ARN, de nombreuses copies de la protéine N (protéine de la nucléocapside) et de la protéine transcriptase L. La figure 2 nous donne une représentation des Hantavirus.

Etant donné leur structure, les virions sont fragiles. Ils présentent les mêmes caractéristiques que les virus enveloppés à ARN <sup>14</sup>. Ils sont sensibles à la chaleur (30 minutes à 60° C), aux conditions acides (pH= 5.0), ainsi qu'aux détergents, désinfectants usuels <sup>73</sup> et aux solvants lipidiques <sup>14, 82, 112</sup>. Ils peuvent aussi être inactivés par irradiation <sup>82</sup>. Ils sont stables entre +4°C et -20° C. Ils peuvent être conservés 5 ans à une température de - 60°C <sup>23</sup>.

Le pouvoir infectieux est conservé pour une pH compris entre 7 et 9<sup>23</sup>.

Un certain nombre d'expériences réalisées en laboratoires ont conclu que le virus Hantaan, virus prototype du Genre, peut rester actif, sous forme d'aérosols, plusieurs jours après excrétion par les rongeurs, dans le milieu extérieur<sup>111</sup>

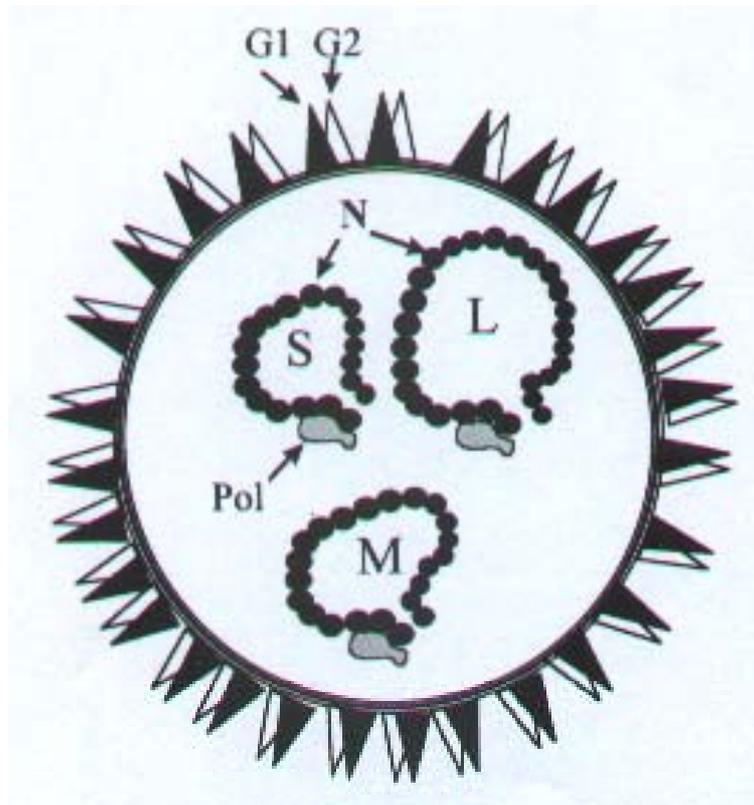


Figure 2 : Organisation schématique d'un hantavirus<sup>71</sup>

#### b) culture cellulaire :

Cultiver les Hantavirus est laborieux : de nombreux passages en aveugle sont nécessaires avant de pouvoir isoler une souche virale. De plus, la croissance de cette souche est lente, elle nécessite parfois plusieurs mois et le plus souvent il n'y a pas d'effet cytopathique<sup>71</sup>. Les cellules de référence sont actuellement les cellules A 549 (cellules cancéreuses de poumons) et Vero E6 (cellules rénales de singe vert africain), même si au départ des cellules humaines ont été utilisées.

L'isolement semble plus facile pour le virus Hantaan et les virus américains<sup>70</sup>.

Il est très difficile d'isoler les Hantavirus à partir de patients. Rollin relate l'isolement réussi, en France, à partir du sérum d'un patient atteint de Nephropathia epidemica<sup>19, 106</sup>, en phase aiguë. Les tentatives d'isolement pendant la phase rénale sont souvent vaines. Certains auteurs suggèrent, pour augmenter les chances de réussite, de réaliser une « coculture » en associant des cellules Vero E6 et des cellules mononuclées sanguines. En effet, ces dernières semblent être utilisées comme moyen de transport par les virus<sup>70</sup> et comme lieu de réplication.

Lundkvist suggère qu'un virus isolé en culture cellulaire est un virus altéré. Il estime que le mécanisme lent de l'adaptation à la culture modifie le phénotype du virus. Il a en effet constaté qu'une souche virale PUU, produite sur Véro E6, perd son aptitude à se reproduire chez l'hôte, le campagnol roussâtre<sup>75</sup>.

### c) Le génome :

Comme pour tous les virus de la famille des Bunyaviridae, le génome est segmenté. Les trois segments d'ARN, de taille différente, sont le segment « S » (pour *small*), le segment « M » (pour *medium*) et le segment « L » (pour *large*)<sup>14, 82, 112</sup>.

Le génome des Hantavirus a été très étudié. Le développement de certains outils, comme la Polymerase Chain Reaction ou P.C.R., notamment, a permis de séquencer entièrement le génome des virus Hantaan (HTN), Séoul (SEO), Puumala (PUU), Tula (TUL), Sin nombre (SN). La P.C.R. a également contribué à préciser la classification au sein du Genre Hantavirus<sup>101</sup>.

Chaque segment possède, à l'extrémité 3', une séquence **AUCAUCAUCUG**, qui est conservée pour tous les Hantavirus<sup>82, 112</sup>.

De plus, les extrémités 3' et 5' de chaque segment, sont complémentaires. La complémentarité n'est pas stricte. En effet, il existe un désaccord au niveau du nucléotide n°10 : on retrouve une paire U – G non canonique. Ce désaccord est présent chez de nombreux virus, mais pas chez les virus Bayou et Prospect Hill pour lesquels le résidu G est remplacé par un résidu A rétablissant ainsi une paire canonique<sup>101</sup>.

Cette complémentarité permet la formation de structures circulaires (appelées « panhandles » en anglais). Ces structures, caractéristiques des Bunyaviridae, joueraient un rôle dans la réplication et la transcription virale, comme cela a pu être démontré pour le virus de la grippe<sup>101</sup>. Le désaccord au niveau du dixième nucléotide, n'empêche pas l'association des deux brins d'ARN.

Le **segment S** est le plus court, sa taille varie de 1,8 kb à 2,1 kb.

C'est le segment qui a été le plus étudié. Il présente un cadre ouvert de lecture ou ORF (opening reading frame) de grande taille. Il code pour la protéine N, protéine de la nucléocapside <sup>111, 112</sup>.

Chez certains Hantavirus, un deuxième ORF, chevauchant le premier, a été découvert. Ce deuxième ORF coderait pour une protéine non structurale NS. Cette dernière est présente chez les autres Bunyavirus. Pourtant, cette protéine n'est pas retrouvée dans les cellules infectées, et son rôle reste inconnu. Cet ORF est présent chez les virus Puumala, Prospect Hill et Sin Nombre, mais il n'a pas été retrouvé pour les virus Hantaan, Séoul et Dobrava <sup>111</sup>.

Les séquences 3' et 5' complémentaires comptent 14 nucléotides <sup>101</sup>.

L'ARNm possède deux régions non codantes (notées NCR sur la figure 3) aux extrémités 3' et 5'. La région non codante en 5' est courte, d'une quarantaine de nucléotides environ et varie peu d'un virus à l'autre. Par contre, la région non codante en 3' est plus importante. Elle constitue la région du génome la plus mystérieuse. Sa taille peut varier de façon importante. Par exemple, pour le virus Prospect Hill elle est constituée de 229 nucléotides, alors qu'elle comporte 728 nucléotides pour le virus Sin Nombre <sup>101</sup>.

Cette variabilité explique donc les différences de taille parfois observées, pour le segment S, entre différents virus.

Le **segment M** mesure de 3,7 kb à 3,8 kb.

Il présente un seul ORF qui code pour les glycoprotéines de l'enveloppe G1 et G2. En fait, il code pour un précurseur de 1140 acides aminés environ, qui sera clivé pour donner les deux protéines G1 et G2 <sup>82, 101, 112</sup>.

Les séquences complémentaires des extrémités 3' et 5' sont plus longues que pour le segment S (comme le montre la figure 3).

Des régions non codantes, plus courtes et plus stables sont aussi présentes.

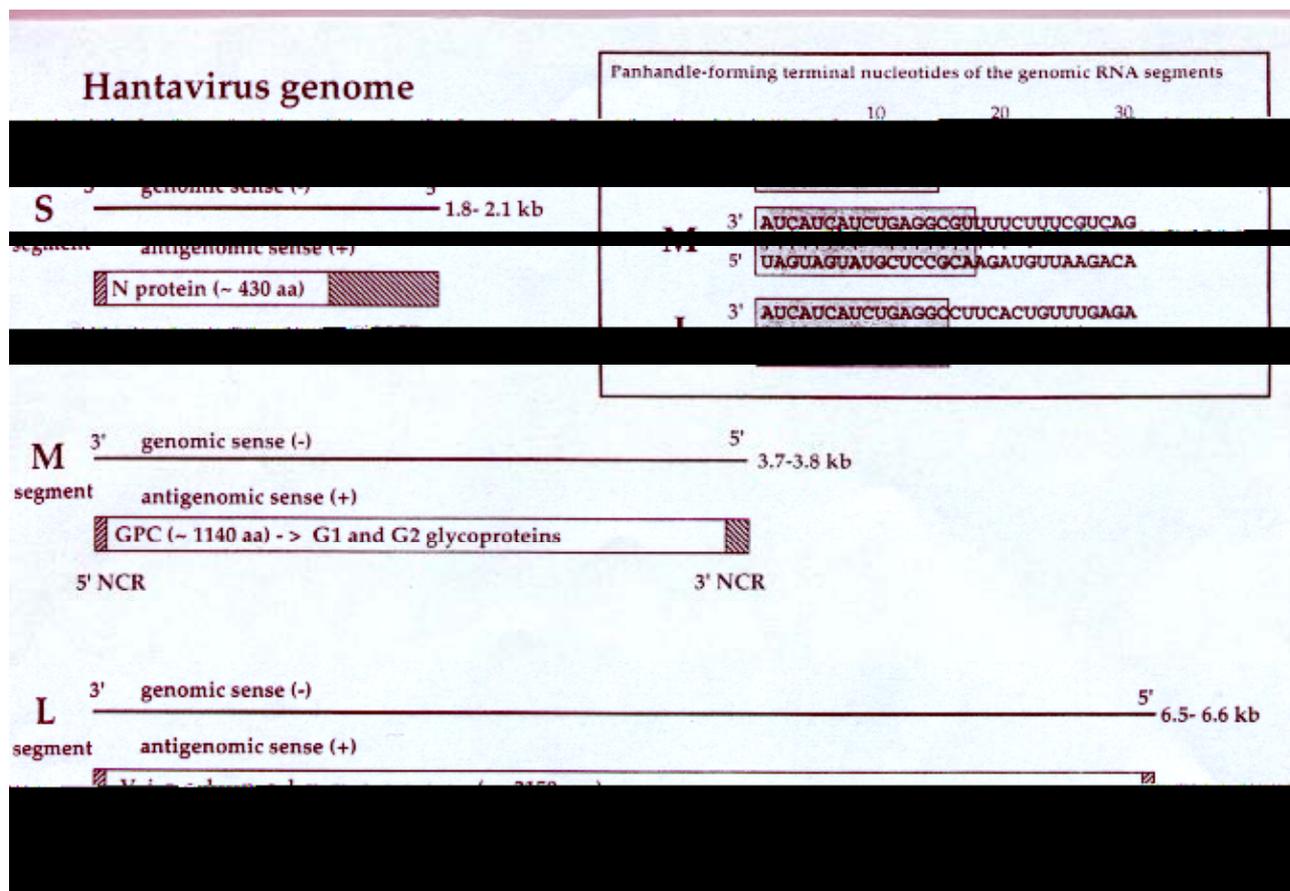


Figure 3 : le génome des Hantavirus <sup>101</sup>.

Le **segment L** est le plus grand, sa taille varie de 6,5 kb à 6,6 kb.

Il possède un seul ORF codant pour la protéine L, une ARN polymérase ARN dépendante de 2150 acides aminés <sup>101, 112</sup>.

Les séquences 3' et 5' sont complémentaires sur 15 nucléotides (voir figure 3). Ce segment présente le plus faible taux de variabilité entre les différents virus

Des virus appartenant à des sérotypes différents peuvent présenter des taux de variabilité de 30 à 40 % sur l'ensemble du génome <sup>101</sup>.

#### d) Les protéines virales :

La **protéine N** forme la nucléocapside. Elle comporte 428 à 433 acides aminés, 431 pour le virus Puumala. Elle semble être exprimée en excès dans les cellules infectées, où elle forme des corps d'inclusion filamenteux <sup>71</sup>.

Des études de séquence, menées sur les virus HTN, PUU, SN, PH, SEO, ont établi un taux d'homologie de 50 % entre les différentes protéines N. Mais, certaines régions de la protéine présentent des taux de variabilité plus forts. Par exemple, pour la région allant des acides aminés 340 à 433 (AA 340 à 433), le pourcentage d'homologie est de 85 %. Alors que pour la région AA 240 à 311, il n'est que de 11 % <sup>111</sup>.

Dans cette protéine, on peut définir trois régions <sup>101</sup> :

- Région N terminale :

Elle est constituée de 100 acides aminés, de composition variable, de nature hydrophile.

C'est sur cette région que se fixent un maximum d'anticorps. La plupart des sérums humains possèdent en effet, des anticorps reconnaissant cette région. C'est une région très antigénique.

- Région intermédiaire :

Elle est constituée de 210 à 310 acides aminés. Elle est très variable d'un virus à l'autre (84 % de variation).

- Région C terminale.

C'est la région la plus conservée de la protéine (seulement 14 % de variation). C'est par elle que la protéine se fixerait à l'ARN, pour former les ribonucléocapsides.

Selon les études de Lundkvist <sup>76</sup>, chez l'animal, 6 des 7 épitopes reconnus par les anticorps monoclonaux se situent entre les acides aminés 1 et 79 (AA 1 à 79). Cette étude confirme l'importance antigénique de l'extrémité N de la protéine <sup>119</sup>.

Même si l'extrémité N est la principale cible des anticorps, la totalité de la protéine est antigénique. Cette protéine est donc importante pour le diagnostic. Beaucoup d'anticorps anti-protéine N sont en effet produits et ce dès le début de maladie (durant la phase fébrile).

Toutefois, l'existence d'une région hautement conservée entre les Hantavirus, implique l'apparition de réactions croisées, lors du dépistage. Ainsi, il faudra, pour un diagnostic plus spécifique de la souche virale, utiliser des fragments du segment S et non le segment en entier. Selon Schmaljohn <sup>111</sup>, pour produire des antigènes plus spécifiques, il faudra, grâce au génie génétique, exprimer les fragments codant pour les régions AA 1 à 83, et AA 233 à 304, qui sont donc des régions peu conservées entre Hantavirus.

Retenons que le rôle majeur de la protéine N est son rôle antigénique. Toutefois, elle a aussi un rôle immunogène. Chez l'animal, certaines études ont prouvé que la protéine pouvait

induire une protection contre l'infection. Cette protection est peut-être dépendante d'une réponse à médiation cellulaire<sup>76</sup>. Ce rôle immunogène n'est pas totalement élucidé.

Les **Glycoprotéines G1 et G2** appartiennent à l'enveloppe virale.

Le segment M code pour un précurseur, nommé GPC dont la taille peut varier de 1132 à 1148 acides aminés<sup>101</sup>. Ce dernier n'est pas retrouvé dans les cellules infectées par le virus. Il a donc été suggéré que le précurseur est clivé co-translationnellement en G1 et G2. G1 est la protéine la plus lourde.

Les glycoprotéines sont constituées de trois domaines : externe, membranaire, interne. Des études, portant sur la séquence en acides aminés des glycoprotéines, ont démontré que ces protéines sont des protéines de membrane de type 1. A l'extrémité C, des séquences permettant l'ancrage dans la membrane ont été identifiées<sup>111</sup>.

Ces deux protéines partagent plusieurs caractéristiques avec les protéines des Bunyaviridae<sup>111</sup> : elles sont glycosylées, riches en résidus cystéine et induisent la production d'anticorps neutralisants chez l'animal. De plus, dans le réticulum endoplasmique, elles forment un dimère nécessaire pour le transport vers l'appareil de Golgi.

La position des résidus cystéine est fortement conservée entre les différents Hantavirus<sup>101</sup> suggérant ainsi que la structure des ces protéines est identique au sein du genre.

Il existe sur ces protéines des sites de glycosylation. La protéine G1 possède 5 sites : 3 de ces sites sont communs aux virus HTN, THAI, SEO, PUU, PH, DOB et SN. Les trois premiers virus semblent aussi partager un site supplémentaire<sup>111</sup>.

La protéine G2 ne dispose que d'un site fonctionnel. Un site supplémentaire a été découvert chez le virus PUU.

Les protéines des virus HTN, DOB, SEO, THAI sont plus proches. Il en est de même pour les protéines des virus PUU, PH, SN<sup>111</sup>.

Fonctions de G1 et G2 :

Tout d'abord, elles participent à la liaison aux récepteurs cellulaires lors de la phase d'attachement du cycle viral et à la fusion membranaire<sup>82</sup>.

Elles possèdent, en outre, un pouvoir hémagglutinant qui pourra être utilisé pour le diagnostic et une activité de fusion<sup>82</sup>

Elles constituent la cible des anticorps neutralisants<sup>111</sup>, ce qui n'est pas le cas de la protéine N

Ce sont les premiers antigènes viraux en contact avec le système immunitaire.

G1 et G2 ont donc fait l'objet de nombreuses études, à visée prophylactique notamment. Il en ressort que G1 et G2 sont plus variables que la protéine N<sup>111</sup>. Il a ainsi été démontré que les anticorps antiG1 et antiG2 présentent moins de réactions croisées et qu'ils sont donc plus spécifiques du sérotype viral. Cette propriété est utile pour le diagnostic étiologique, ainsi que pour la définition et classification des différents sérogroupes<sup>82</sup>.

La **protéine L** comporte de 2150 acides aminés.

C'est la protéine la plus conservée entre les différents Hantavirus. En effet, on constate 85 % d'homologie entre la séquence de la protéine L du virus HTN et celle du virus SEO et 70 % d'homologie entre celle du virus HTN et celle du virus PUU<sup>111</sup>.

Des études comparant sa séquence à celle d'autres protéines virales ont démontré que, dans le premier tiers de L, deux régions sont similaires à celles présentes chez d'autres polymérases. Dans le tiers moyen de la protéine L, on retrouve aussi des motifs présents chez toutes les ARN polymérases ARN dépendantes. Par conséquent, la protéine L est assimilée à une ARN polymérase<sup>101</sup>. Mais elle peut jouer aussi le rôle d'endonucléase, transcriptase et répliquase. Elle intervient dans le cycle viral, pour la transcription et la réplication<sup>101, 111</sup>.

A la différence des autres protéines virales, elle n'induit aucune réponse de la part du système immunitaire.

#### e) Propriétés biologiques :

Le pouvoir immunogène : c'est l'aptitude à induire l'immunité. Il résulte principalement des glycoprotéines G1 et G2 qui sont la cible des anticorps neutralisants. Mais la protéine N semble intervenir : elle pourrait induire une cytotoxicité anticorps dépendante.

Le pouvoir antigène résulte quant à lui des protéines N, G1 et G2.

Le pouvoir pathogène : en culture cellulaire, les Hantavirus n'induisent pas d'effets cytopathiques. De plus, aucun effet cytolitique n'a été mis en évidence chez l'homme, ou l'animal. Il n'existe donc aucune preuve directe de l'action pathogène des Hantavirus. Toutefois, on soupçonne les Hantavirus d'être responsables, en partie, de destructions des cellules endothéliales de certaines lésions rénales. Ce point sera envisagé dans la troisième partie.

Par ailleurs, les Hantavirus causent des pathologies différentes : Néphropathie Epidémique, Fièvre Hémorragique avec Syndrome Rénal, Syndrome pulmonaire à

Hantavirus. Il existe donc une différence de virulence entre les virus. Certains auteurs ont suggéré que cette différence serait liée à la quantité de l'inoculum<sup>37</sup>.

Des différences de pathogénicité sont parfois même observées entre deux souches virales. C'est le cas pour le virus Puumala. La souche présente en Allemagne engendre une forme plus sévère que celle décrite en France, avec une atteinte respiratoire grave. Pilaski explique cette différence par l'apparition de mutations qui modifieraient soit un site de glycosylation soit un site de liaison aux récepteurs cellulaires. Le changement de conformation résultant pourrait alors modifier le tropisme cellulaire du virus<sup>96</sup>.

### 3°) Le cycle viral :

Les Hantavirus sont des virus enveloppés à ARN négatif. Ces particularités influent sur le mode de répllication et sur la transcription<sup>61</sup>.

L'ARN négatif est transformé en ARN m ou en ARN c. L'ARN m est utilisé pour la traduction, l'ARN c peut servir de modèle pour la répllication ou peut être utilisé pour l'obtention d'autres ARN m (voir figure 4).

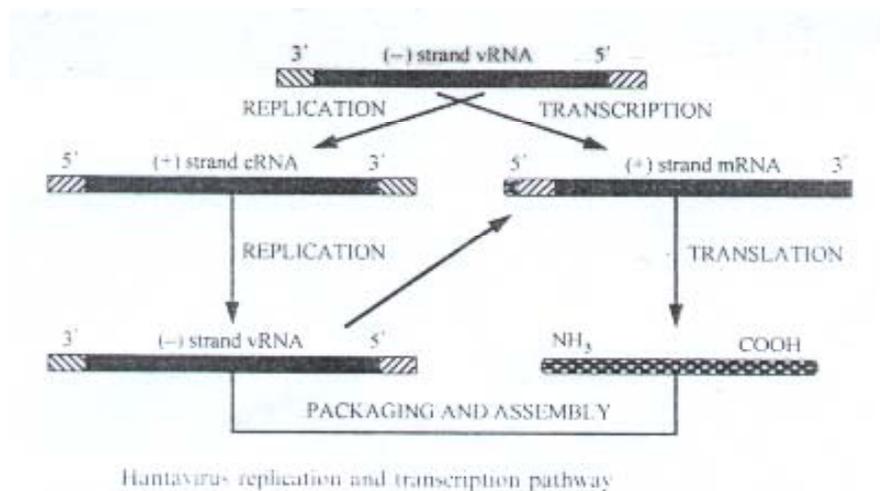


Figure 4 : répllication et transcription<sup>61</sup>

L'ensemble du cycle se déroule dans le cytoplasme de la cellule infectée. Il n'y a pas d'étape nucléaire<sup>82, 112</sup>.

### ***Attachement et pénétration du virus :***

Les glycoprotéines interagissent avec les récepteurs cellulaires<sup>14</sup>. Pour les Hantavirus, il semble que les deux protéines G1 et G2 participent à cette étape. Leur mode d'action n'est

pas véritablement élucidé : agissent-elles directement ou agissent-elles par leur conformation ? Les récepteurs cellulaires impliqués restent, eux aussi, inconnus<sup>61, 82, 101</sup>.

Le virus pénètre, dans la cellule, au sein d'une vésicule appelée endosome. Par la suite, une acidification de l'endosome se produit<sup>101</sup> : le pH passe de 7,4 à 5, 0 en quelques minutes. L'enveloppe virale et la membrane fusionnent : les ribonucléocapsides sont libérées dans le cytoplasme<sup>82</sup>.

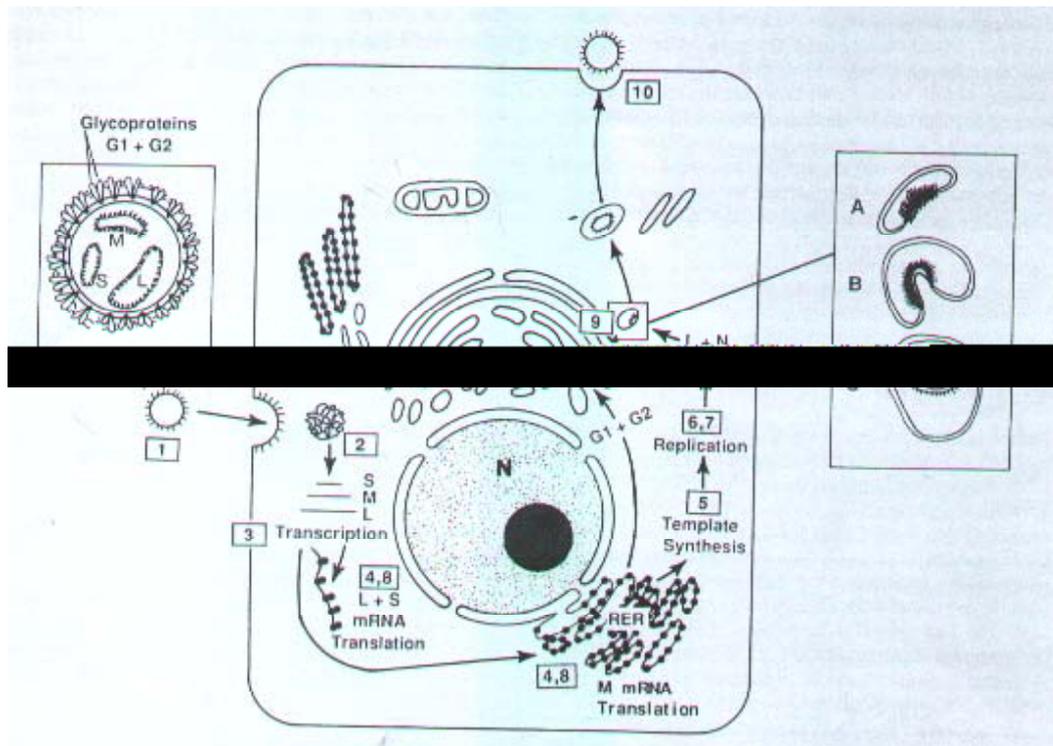


Figure 5 : cycle des Hantavirus<sup>82</sup>.

1. attachement
2. Pénétration et perte de l'enveloppe virale
3. Transcription primaire : synthèse d'ARNm
4. Traduction et première glycosylation de G1 et G2
5. Synthèse et encapsidation des ARN c
6. Réplication
7. Transcription secondaire
8. Poursuite de la réplication et traduction
9. Morphogénèse, glycosylation terminale de G1 et G2, bourgeonnement des vésicules à partir de l'appareil de Golgi.
10. Exocytose

### ***Transcription primaire :***

Cette étape est nécessaire pour tous les virus à ARN négatif<sup>82, 112</sup>. Elle a lieu dès la libération des ribonucléocapsides. Elle se fait grâce à l'ARN polymérase qui s'associe aux ribonucléocapsides. Les détails de cette interaction sont inconnus.

L'initiation de la transcription chez les Hantavirus est supposée similaire à celle des Influenza virus.

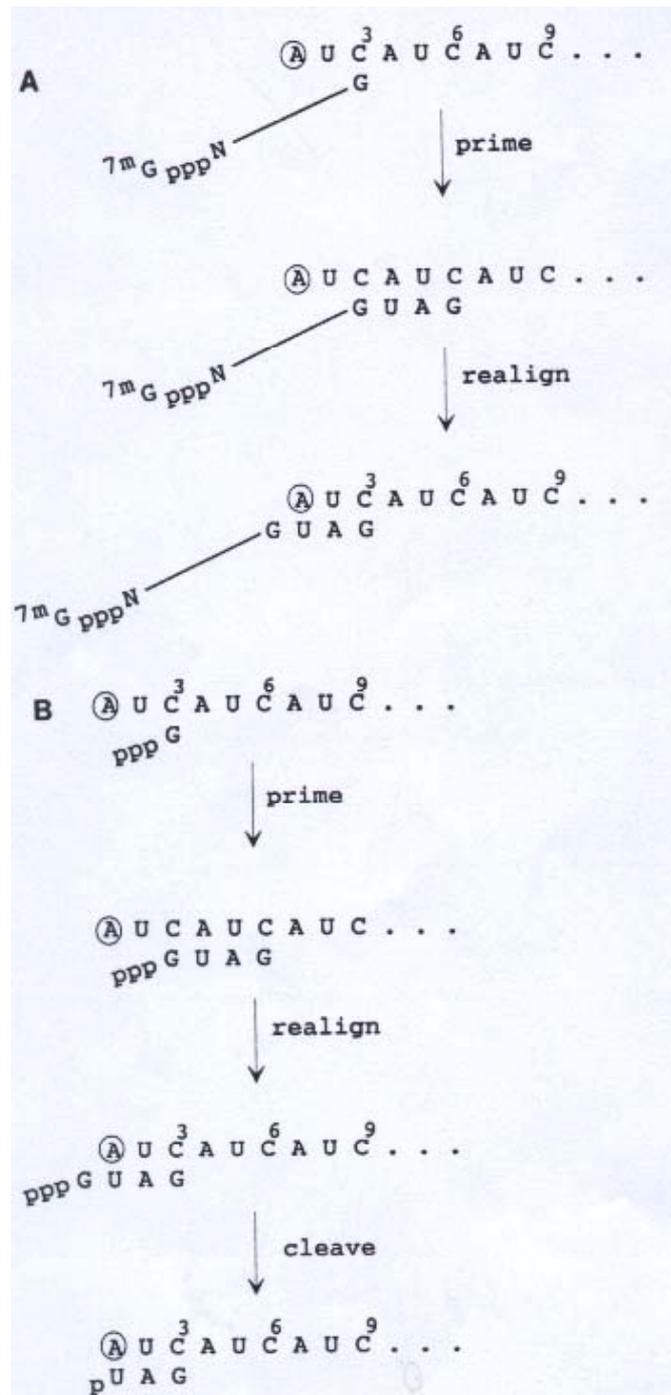
En effet, il a été constaté que les ARN m viraux possèdent, à leur extrémité 5', des extensions hétérogènes en séquence et en taille. Les Influenza ainsi que d'autres virus de la famille des Bunyaviridae possèdent aussi ces extensions. De plus, ces extensions ne correspondent pas à l'ARN viral. Il a donc été suggéré que ces extensions étaient « étrangères »<sup>112</sup>.

En fait, la polymérase utilise le matériel cellulaire et plus précisément les ARN m de la cellule hôte. Une endonucléase, associée au complexe polymérase, coupe 7 à 18 nucléotides sur les ARNm cellulaires, en aval de la coiffe méthylée présente à l'extrémité 5'. La présence de la coiffe en 5' semble indispensable pour que le clivage ait lieu<sup>112</sup>.

Puis, ce fragment « étranger » est utilisé comme amorce par la polymérase pour débiter la transcription. Un mécanisme particulier a d'ailleurs été proposé par Dominique Garcin et ses collaborateurs, le mécanisme « **prime and realign** »<sup>45</sup>. L'originalité de l'initiation est la suivante : elle commencerait au niveau d'un résidu G, dernier nucléotide de l'amorce. Ce dernier s'alignerait alors avec l'ARN, au niveau d'un résidu C. La transcription commence ; mais après la synthèse de quelques nucléotides seulement, la nouvelle séquence glisserait en arrière, se déplaçant de 3 nucléotides et se réalignant ainsi avec les motifs AUC répétés de l'extrémité 3'. Le réalignement du résidu G, en position -1, permettrait d'obtenir une copie exacte et complète de l'ARN viral (voir figure 6). Ce mécanisme permettrait aussi d'expliquer la perte, observée parfois, d'un triplet UAG sur l'ARNm. En effet, si le résidu G se réaligne sur le deuxième nucléotide C, un triplet disparaît lors de la transcription<sup>45</sup>.

Durant l'élongation et la synthèse des 15 premiers nucléotides, le complexe polymérase reste associé à cette structure. On sait que l'élongation nécessite le déplacement des protéines N sur les ARN, mais ce mécanisme est encore inexpliqué.

Beaucoup d'inconnues persistent à propos de la terminaison de la transcription. En effet, le signal de terminaison n'est pas établi : certains auteurs pensent qu'il pourrait s'agir d'un motif riche en résidu U<sup>37</sup>.



3.3.6. Prime-and-realign model for initiation of HTN mRNA and genome synthesis. (A) mRNA initiation. The 3' end of the template is shown as the top strand with the 3' terminal A circled; the numbers above the sequence refer to nucleotide positions. The capped host cell primer, ending in a G residue (shown as the bottom strand) first aligns with the template C<sup>3</sup> (top of diagram) and primes mRNA synthesis for a few nucleotides (middle of diagram). The priming of 3 nt (UAG) is shown, but addition of 1 nt would be sufficient. Before further elongation, the slightly extended primer realigns upstream on the template such that the original 3' G of the host primer is placed at position -1 (bottom of diagram). If the 3' terminal G of the host primer were first to align opposite C<sup>6</sup> of the template and were after addition of a few nucleotides, to realign upstream so that the original 3' G of the primer were opposite C<sup>3</sup>, the result would be deletion of one of the terminal triplet repeats. (B) Genome initiation. The proposed mechanism is very similar to that of mRNA initiation, except that the genome chain is initiated with GTP and a cleavage step occurs after realignment to remove the initiating triphosphate, leaving pU at position +1.

Figure 6 : illustration du mécanisme « prime and realign » lors de l'initiation de la transcription et de la réplication <sup>45</sup>.

**Traduction :**

Pour les segments S et L, elle fait intervenir des ribosomes libres. Pour le segment M, les ribosomes sont liés au reticulum endoplasmique. Les trois protéines virales sont ainsi synthétisées<sup>14</sup>.

**Réplication :**

Elle se fait grâce à la polymérase à partir des ARN c. Cette synthèse peut parfois être précoce, juste après le début de la transcription. Un signal, de nature inconnue, peut favoriser alors la réplication afin d'augmenter la quantité d'ARN m<sup>61</sup>.

Les protéines indispensables à la réplication doivent être en quantité suffisante pour que cette dernière ait lieu. L'ARN génomique est alors synthétisé.

Le mécanisme « prime and realign » évoqué précédemment semble pouvoir s'appliquer avec toutefois certaines différences : en effet, l'amorce cellulaire est clivée, laissant un résidu Uracile monophosphate en position +1 (voir figure 6)<sup>45</sup>.

**Transcription secondaire :**

Elle ne présente pas de particularités, si ce n'est que la synthèse est amplifiée<sup>14</sup>.

**Morphogénèse et libération des virions matures :**

Dès qu'elles sont produites, les protéines G1 et G2 forment un dimère<sup>82, 101, 112</sup>. Des études, à partir de virus recombinants, concluent que l'expression des deux protéines est nécessaire pour que le transport vers l'appareil de Golgi ait lieu.

Puis, ces protéines sont accumulées dans l'appareil de Golgi. Le mécanisme d'accumulation n'est pas élucidé. Deux hypothèses sont avancées : soit les protéines ne possèdent pas le signal leur permettant d'être transportées vers la membrane plasmique, soit elles ressemblent à des protéines spécifiques du Golgi telles des glycosyltransférases qui y sont normalement séquestrées<sup>112</sup>.

Les Hantavirus ne possèdent pas de protéine matrice qui permet généralement le rapprochement des glycoprotéines et de la nucléocapside. Il semble que les protéines G1, G2 et N interagissent (interactions électrostatiques) et excluent ainsi les ARNm, et ARN c pourtant liés aux protéines N. Ces dernières étapes sont assez méconnues et restent hypothétiques<sup>61</sup>.

Des vésicules bourgeonnent à partir de l'appareil de Golgi et migrent vers l'extérieur de la cellule. La membrane vésicale fusionne avec la membrane plasmique.

Les virions sont libérés par exocytose<sup>82, 112</sup>.

#### 4°) Evolution des Hantavirus :

Le développement de techniques telles que la RT-PCR et le séquençage a permis une connaissance plus approfondie du génome des Hantavirus. Les séquences des différents segments d'ARN ont été étudiées et comparées. Les scientifiques ont pu mettre en évidence des relations entre virus. L'ensemble de ces observations a abouti à la réalisation d'arbres phylogénétiques.

Ces derniers sont établis principalement à partir du segment S (séquence complète, ou séquence partielle), la figure 7 en présente un exemple. Les arbres phylogénétiques, obtenus à partir des segments M et L, ont montré une grande similitude avec les premiers. Ainsi, on peut supposer que les trois segments d'ARN ont subi la même évolution.

Les Hantavirus disposent de trois mécanismes évolutifs <sup>16</sup> :

- Le réassortiment :

Il correspond à un réarrangement des segments génomiques <sup>128</sup>. Il peut conduire à une modification des propriétés virales <sup>111</sup>. Les virus de la famille des Bunyaviridae ont aussi recours à ce mécanisme. Mais il n'existe aucune preuve que ce réarrangement puisse avoir lieu entre deux virus, au hasard. Les scientifiques estiment qu'il ne peut exister qu'entre deux virus très proches, comme par exemple deux souches d'un même virus. Ce mécanisme a été suggéré pour expliquer certaines particularités dans les relations phylogénétiques entre certaines souches du virus Sin Nombre (CC 107 et CC74) <sup>16, 111</sup>.

- Dérives génétiques : délétion, substitution, insertion

C'est probablement le mécanisme évolutif le plus important.

La polymérase, par ses erreurs, en est responsable.

La mutation ponctuelle reste rare <sup>16</sup>.

- Recombinaison :

Elle est rare pour les virus à ARN négatif. Ce mécanisme a été envisagé pour expliquer des différences d'évolution, entre plusieurs souches du virus Tula. En effet, selon la région du segment S étudiée, les souches ne sont pas classées dans les mêmes branches <sup>16, 128</sup>.

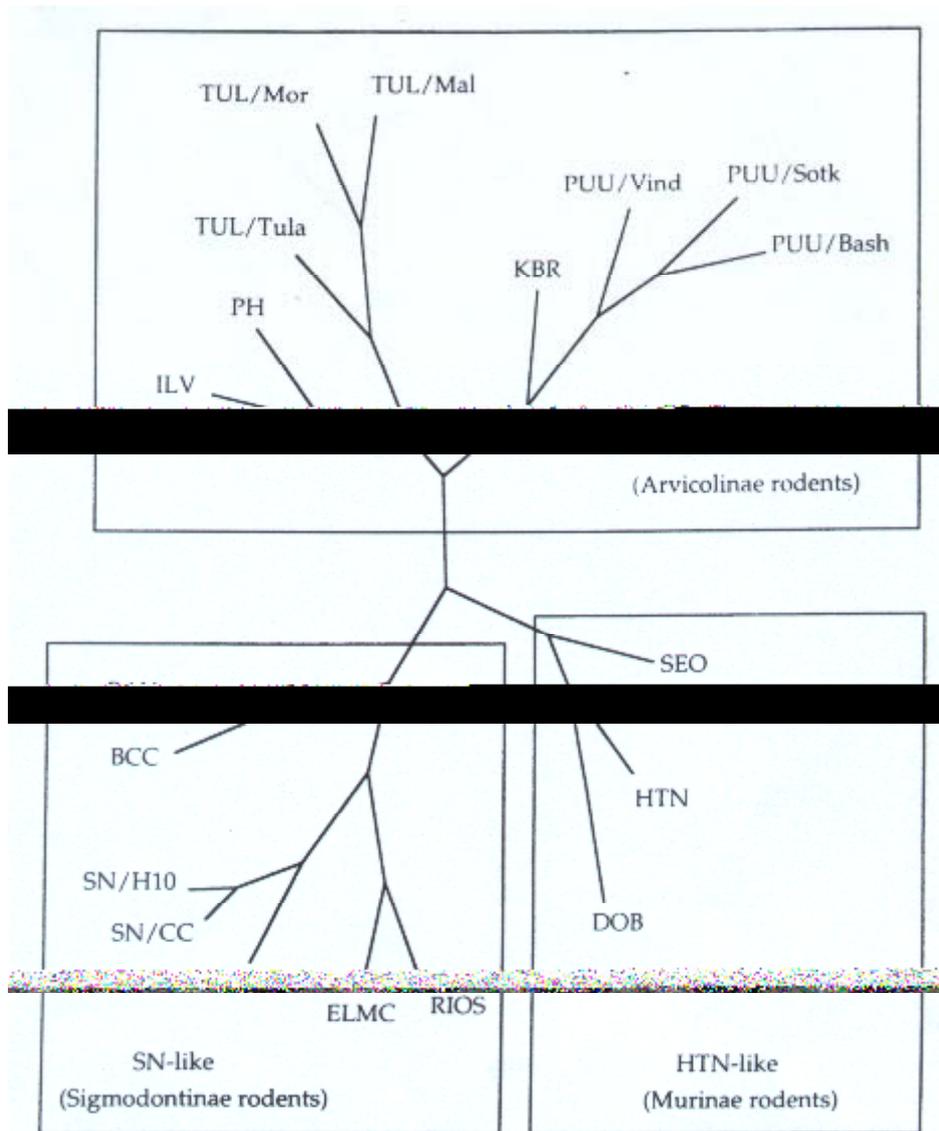


Figure 7 : arbre phylogénétique des Hantavirus, établi à partir du segment S (région codante) <sup>101</sup>.

Cette étude nous permet aussi de constater qu’au sein d’un « type viral », il existe une évolution. En Europe, le virus Puumala a été isolé en France <sup>19</sup>, en Allemagne <sup>51, 96</sup>, en Scandinavie <sup>10</sup>, en Belgique <sup>1, 39a, 55, 77, 99, 100</sup>. Une souche a aussi été isolée au Japon. Des études phylogénétiques ont démontré que plusieurs souches existent et que ces souches dérivent d’un ancêtre commun <sup>39a</sup>. Le virus Puumala est celui qui présente la plus grande variabilité au sein du Genre. On estime la valeur du taux de variabilité à 17 % pour le segment S et à 20 % pour le segment M <sup>77, 101</sup>. Actuellement plus d’une trentaine de souches ont été identifiées (figure n° 8).

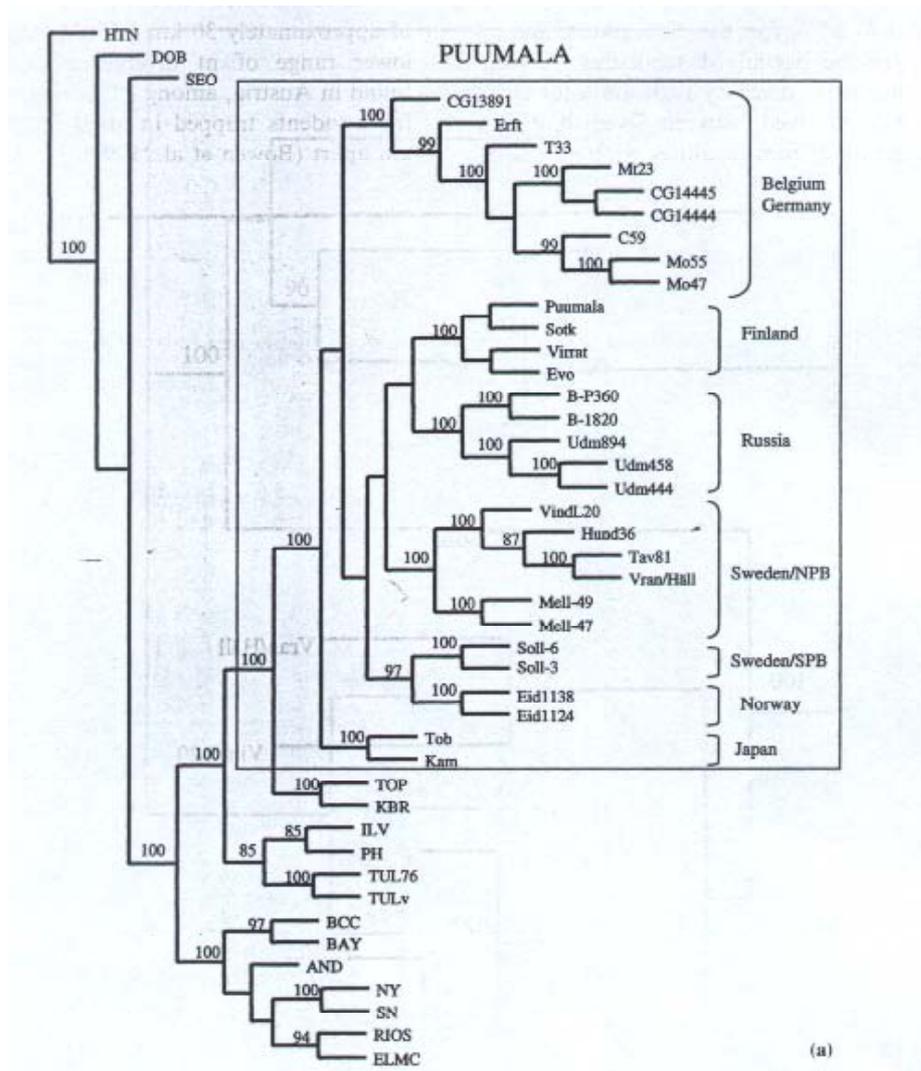


Figure 8 : Arbre phylogénétique établi à partir du segment S, cas particulier du virus PUU <sup>39a</sup>.

Il existe sept ramifications pour Puumala. Il a été constaté, en outre, que des souches proches géographiquement, sont aussi plus proches génétiquement.

Dans notre historique, nous avons pu constater que chaque Hantavirus a été mis en évidence chez une espèce donnée de rongeur. Les scientifiques se sont naturellement intéressés aux relations entre les virus et leurs hôtes. Les arbres phylogénétiques des virus ont été comparés aux arbres phylogénétiques des rongeurs (établis à partir des ADN mitochondriaux) <sup>16</sup>.

Ces arbres sont quasiment superposables (figure 9). L'hypothèse d'une **co-évolution** entre les Hantavirus et les rongeurs a donc été avancée <sup>98</sup>. Selon Hugues et Friedman, cette co-évolution daterait de 50 millions d'années <sup>58</sup>.

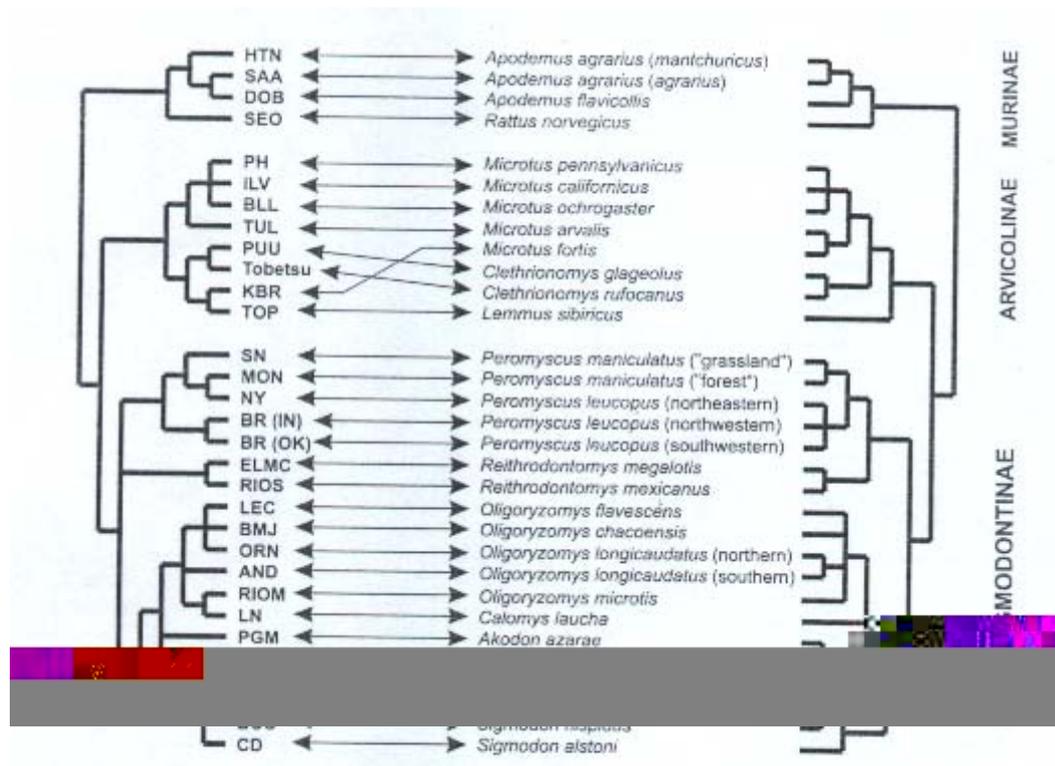


Figure 9 : Correspondance des arbres phylogénétiques des rongeurs et des Hantavirus <sup>98</sup>.

Les rongeurs sont les seuls réservoirs, l'homme n'est en fait, qu'un cul-de-sac épidémiologique. Il ne participe pas à la persistance et l'évolution des virus. On comprend donc l'importance de l'adaptation des virus aux rongeurs. Les caractéristiques distinctives entre virus, résultent par conséquent d'une adaptation à l'environnement de leur hôte spécifique.

Toutefois, il a été constaté que tous les Hantavirus ne restent pas inféodés à une espèce de rongeur. En effet, certains virus franchissent cette « barrière d'espèce » et établissent un nouveau système hôte/virus <sup>98</sup>. C'est le cas du virus Sin Nombre, dont l'espèce réservoir principale est *Peromyscus maniculatus*. Dans certaines régions du Sud des Etats Unis, la prévalence du virus est plus élevée chez *Peromyscus boylii*, alors que ce rongeur est nettement moins représenté que son congénère *P.maniculatus*. En revanche, l'existence de deux virus (co-infection) chez une même espèce de rongeur, n'a jamais été décrite <sup>53</sup>.

Il faut donc envisager les rongeurs et les virus comme un système qui aurait évolué ensemble. Par voie de conséquence, l'élément important à retenir est : les flux migratoires des espèces animales expliquent la distribution géographique actuelle des Hantavirus <sup>98</sup>.

L'infection à Hantavirus est une zoonose de distribution mondiale. Notre étude se limite à la France. Elle aborde tout d'abord, les caractéristiques épidémiologiques de la maladie. Ceci constitue une étape indispensable nous permettant de décrire la situation sur le territoire français à ce jour, de déterminer les réservoirs de la maladie et d'évaluer les facteurs de risque pour l'homme.

## **I) EPIDEMIOLOGIE DESCRIPTIVE :**

En France, le premier cas d'infection liée aux Hantavirus est diagnostiqué en 1982. Mais, des études sérologiques rétrospectives ont permis de confirmer des suspicions cliniques établies dès 1977<sup>71,93</sup>.

L'émergence de cette « nouvelle affection » a motivé de nombreuses études épidémiologiques. Celles-ci nous permettent, aujourd'hui, de caractériser l'évolution et la distribution de la maladie.

### 1°) Répartition dans l'espace :

#### a) Distribution :

Cette distribution n'est pas homogène sur l'ensemble du pays.

Les cas d'Hantavirose, signalés en 1977, étaient concentrés dans le Massif forestier des Ardennes. Le tout premier cas diagnostiqué était situé, quant à lui, en Picardie.

Entre 1977 et 1996, 804 cas d'infections à Hantavirus sont reconnus par le Centre National de Référence des Fièvres Hémorragiques Virales de l'Institut Pasteur de Paris (CNR-FHV). Parmi ces 804 cas d'infections, 796 sont enregistrés dans le quart Nord-Est de la France<sup>69,90</sup>.

L'étude générale de la répartition des cas fait apparaître cinq foyers d'Hantavirose en France<sup>18,90</sup>:

- quatre foyers épidémiques : massif des Ardennes,  
Franche Comté,  
Lorraine,  
Marne et Côte d'Or
- un foyer endémique : Aisne et Oise, où l'on dénombre 20 à 30 cas par an<sup>70</sup>.

Les différents foyers n'ont pas, à chaque épidémie, la même importance. Il nous a donc semblé intéressant de présenter l'implication des ces différents foyers (tableau IV).

Tableau IV: Participation relative des différents foyers lors des épidémies (d'après Le Guenno)<sup>71</sup>

Epidémies / Foyers	1983 (N = 29)	1985 (N = 37)	1990 (N = 85)	1991 (N = 56)	1993 (N = 188)	De 77 à 93 (N = 498)
Ardennes	10 %	14 %	40 %	16 %	57 %	39 %
Picardie	45 %	16 %	24 %	39 %	17 %	25 %
Côte d'Or, Haute Marne	3 %	16 %	20 %	4 %	10 %	14 %
Lorraine	31 %	24 %	5 %	20 %	12 %	12 %
Franche Comté	10 %	30 %	12 %	21 %	3 %	10 %

Le Massif des Ardennes regroupe, en général, 40 à 50 % des patients lors des épidémies<sup>90</sup>.

Toutefois, d'autres cas, autochtones ou d'importation (on signale en effet 4 contaminations à l'étranger : en Russie<sup>72</sup>, en Bosnie, en Roumanie<sup>81</sup> et en Finlande<sup>69</sup>) ont été enregistrés en dehors de ces foyers : en Haute Vienne, dans les Bouches du Rhône, dans les Hautes Alpes, dans le Puy de Dôme, dans l'Orne, la Sarthe, à Paris, Angers<sup>18,34</sup>.

Des traces sérologiques d'Hantavirus ont été décelées chez l'homme (et / ou chez des rongeurs) dans le Midi, le Centre, la région Lyonnaise, bien qu'il n'y ait pas eu de manifestations cliniques chez les individus concernés<sup>8, 15, 109</sup>.

#### b) Evolution :

Curieusement, la distribution géographique ne semble pas avoir évolué depuis une dizaine d'années<sup>28, 72, 84</sup>.

Une étude de la variabilité génique des virus responsables de détresse respiratoire, aux Etats-Unis, a conclu que l'épidémie était due à l'émergence simultanée de plusieurs souches virales, liée à des pullulations localisées du rongeur et non à la dissémination d'une même souche. Cette constatation peut expliquer l'absence d'extension de la F.H.S.R. en France <sup>72</sup>.

En conclusion, il faut retenir que la maladie concerne principalement le Nord-Est de la France, comme l'illustre la carte de la figure 10.

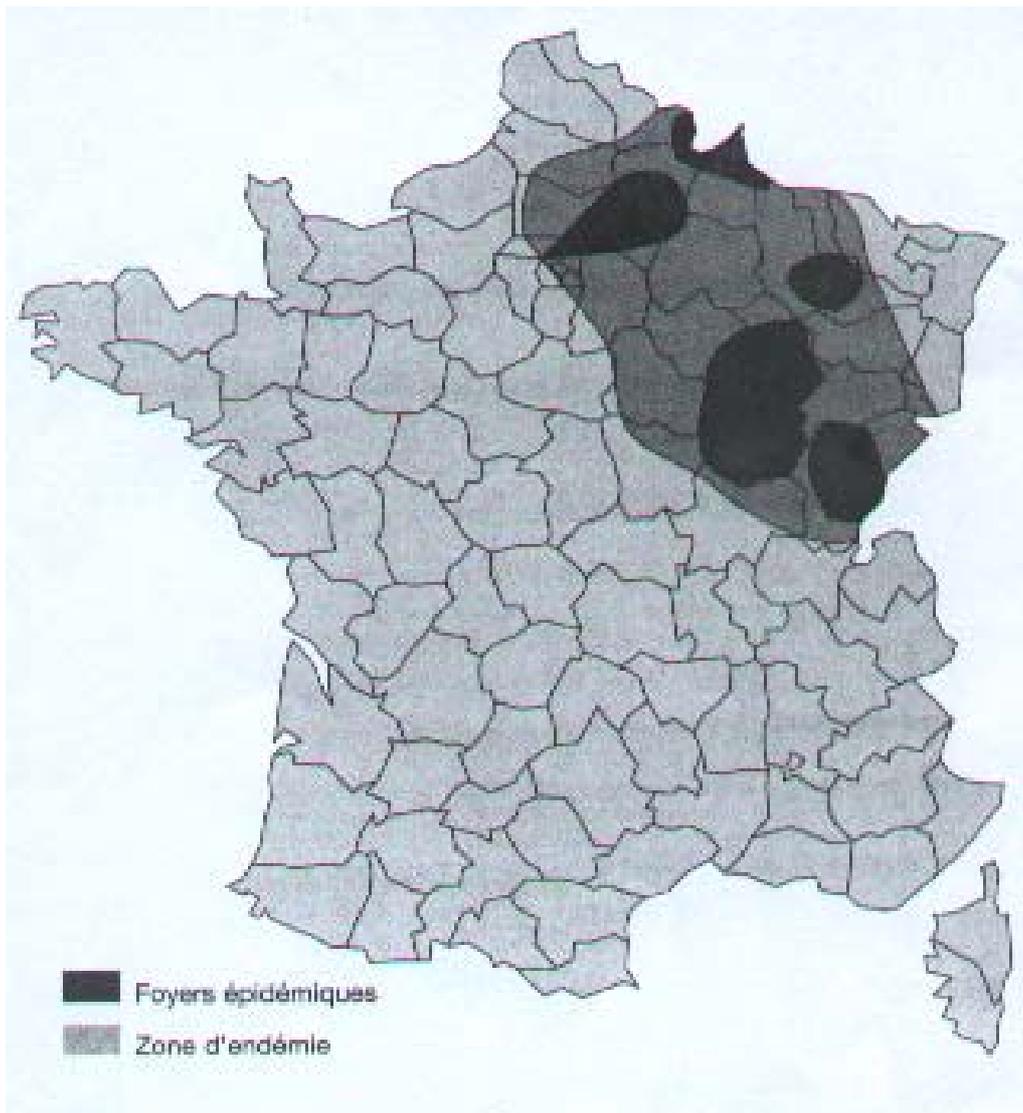


Figure 10 : Répartition des cas d'infection aux Hantavirus en France <sup>90</sup>

## 2°) Répartition dans le temps :

De 1977 à nos jours, plus de mille cas ont été recensés par le Centre National de Référence des Fièvres Hémorragiques Virales.

Dans les années 1980, la maladie est encore assez méconnue. De plus, ce n'est qu'en 1983 que le diagnostic sera disponible. 29 cas de Fièvre Hémorragique avec Syndrome Rénal sont comptabilisés en 1983 et 37 en 1985 <sup>71</sup>. Durant cette décennie, la maladie est fortement sous-diagnostiquée. Il est donc difficile d'en décrire précisément l'évolution.

Dans les années 1990, les médecins, mieux informés, maîtrisent davantage les données épidémiologiques et cliniques. Plusieurs poussées épidémiques sont identifiées en 1990, 1992-93, 1996, 1999, principalement dans les régions boisées <sup>44</sup>.

De nombreuses enquêtes de prévalence sont menées :

☞ en 1987-1988-1989, une enquête prospective dans l'armée de Terre <sup>47</sup>, portant sur 5 018 militaires ayant effectué des manœuvres, pour la moitié d'entre eux en zone d'endémie, fait état d'une prévalence de 0,0991 % .

☞ dans la région de Reims <sup>36</sup>, à partir de 125 donneurs de sang , est établie une prévalence de 8 % .

☞ une étude portant sur plus de 1 000 sérums d'adhérents d'une mutuelle agricole <sup>36</sup>, menée à Clermont Ferrand, en 1982, indique une prévalence de 2,3 % .

☞ l' étude du personnel de l' O.N.F <sup>92</sup>, en 1992-93 montre que les techniciens forestiers sont les plus touchés (20 %) et estime la prévalence à 4,3 % .

☞ une enquête menée sur des travailleurs forestiers <sup>64</sup> (n = 219) en Ile de France, entre novembre 1992 et mars 1993, établit une prévalence à 1,8 %.

☞ parmi le personnel relevant de la Mutualité Sociale Agricole des Ardennes, on estime la prévalence globale à 1 %, avec des pics à 5 % dans certains cantons <sup>69</sup>.

La disparité des résultats ne nous permet pas de tirer de conclusion d'ensemble. Statistiquement, ces échantillons ne sont pas représentatifs de la population.

- Incidence annuelle :

La Fièvre Hémorragique avec Syndrome Rénal semble avoir une évolution cyclique. En effet, tous les 2 à 3 ans, on note une recrudescence des cas. Nous tenterons par la suite, d'analyser l'origine de ces cycles.

Tableau V : Nombre de cas diagnostiqués par le CNR-FHV par an  
 (\* d'après ZELLER et al. sous presse)

<b>Année</b>	<b>Nombre de cas ( confirmés)</b>
<b>1990</b>	<b>85</b>
1991	56
<b>1992/93</b>	<b>188</b>
1994	Pas de données
<b>1995/1996</b>	<b>211</b>
1997	38
1998*	33
<b>1999*</b>	<b>117</b>
2000*	68
2001*	83

- *Incidence mensuelle :*

C'est au printemps et en début d'été que l'on recense la majorité des cas d'infection<sup>29, 69</sup>. Lors des épidémies, on note une augmentation du nombre de cas d'avril à juin et quelques fois en hiver.

Les figures 11 et 12 nous permettent de visualiser la périodicité des épidémies d'Hantavirose, ainsi que les pics saisonniers évoqués précédemment.

### **Présentation des principales épidémies :**

#### Epidémie de 1990<sup>107, 125</sup> :

Le nombre de cas s'élève à 85. Le département des Ardennes regroupe la majorité des cas .

#### *Caractéristiques* (figure 13) :

50 % des patients ont entre 20 et 40 ans. On recense 80 % d'hommes.

C'est à la fin du printemps que l'on trouve les plus de cas.

La plupart des patients vivent à la campagne : 67 %.

Pour 71 % des cas, la présence de rongeurs est indiquée dans le voisinage et pour 11 % le contact est avéré. Un cas de contamination par morsure est rapporté.

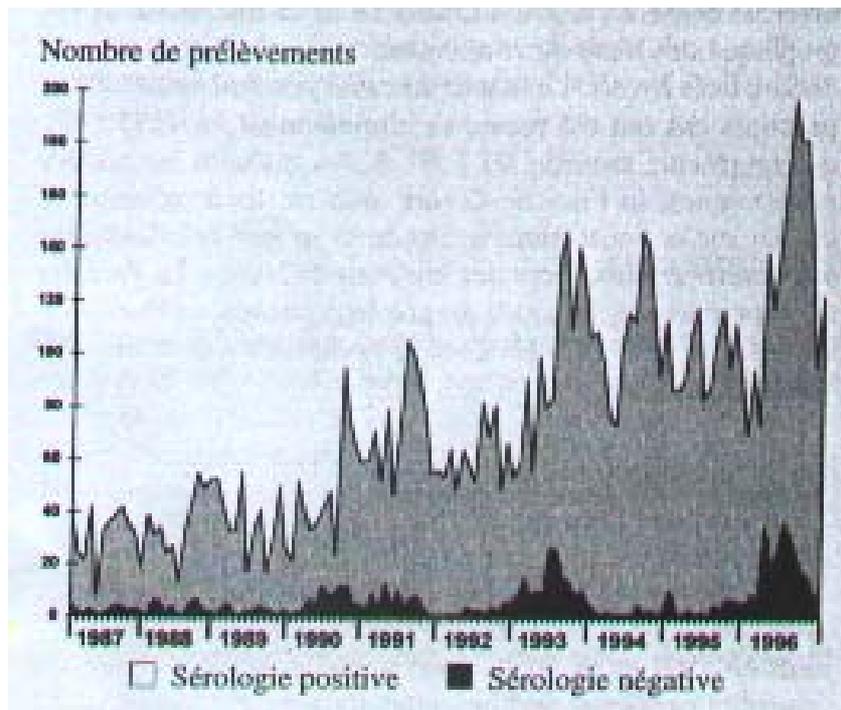


Figure 11 : Distribution mensuelle des 7947 demandes de sérologie Hantavirus (1987 à 1997).

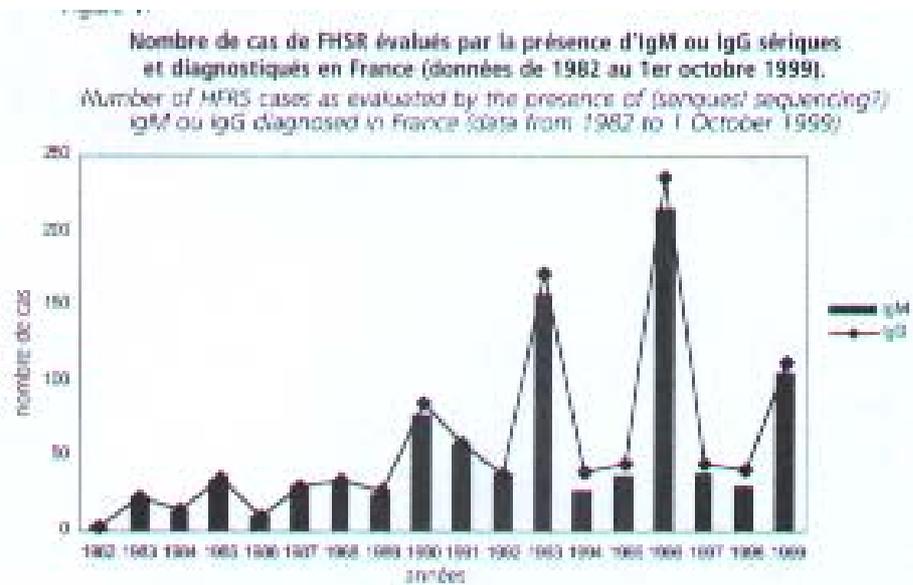


Figure 12 : Nombre de cas de Fièvre Hémorragique avec Syndrome Rénal confirmés entre 1982 et 1999.

Epidémie de 1992- 1993<sup>28, 72, 94</sup> :

Cette épidémie se déroule de septembre 1992 à novembre 1993.

Le nombre total de cas diagnostiqués par le Centre national de Référence des Fièvres hémorragiques virales s'élève à 188.

L'épidémie connaît 2 pics : décembre 92, avril mai 93.

Pour 57 % des cas, les malades proviennent du Massif des Ardennes.

*Caractéristiques* (d'après l'étude de 76 cas dans les Ardennes, figure 14) :

84 % des patients ont entre 20 et 49 ans.

On recense 85,5 % d'hommes. Les femmes sont en général plus jeunes : elles représentent 20,8 % des moins de 40 ans.

Epidémie de 1996<sup>59, 69, 91</sup>:

C'est l'une des plus importantes : 211 cas ont été comptabilisés. Là encore, le Massif des Ardennes regroupe la majorité des cas.

*Caractéristiques* (d'après une étude exploratoire menée dans les Ardennes belges et françaises) :

80 % des malades ont entre 20 et 50 ans

Les principales données, relatives à ces épidémies, sont consignées dans le tableau VI :

Tableau VI : Epidémies de 1990, 1992-93, et 1996

	<b>1990</b>	<b>1992-93</b>	<b>1996</b>
Nombre de cas	85	188	211
Foyer principal	Ardennes (plus de 20)	Ardennes (76)	Ardennes (103)
Sexe ratio	4	5,25	< 3
Milieu de vie	Rural : 67 %	Rural : 69 %	Rural : 70 %
Particularités	1 cas/morsure 2 cas importés	1 femme enceinte	

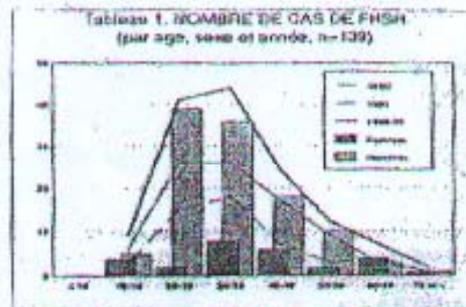
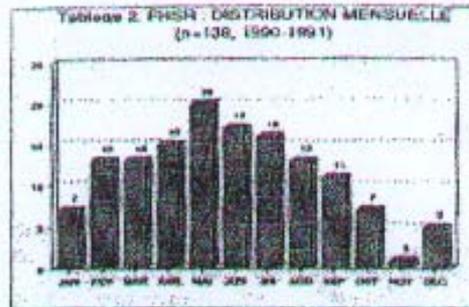
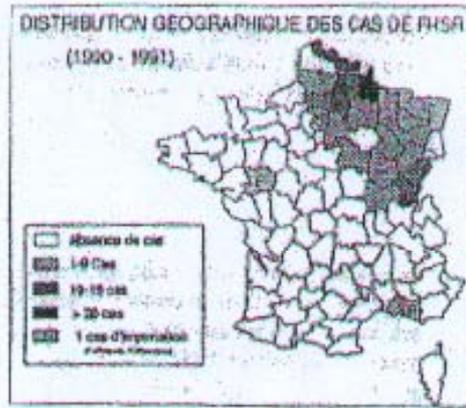
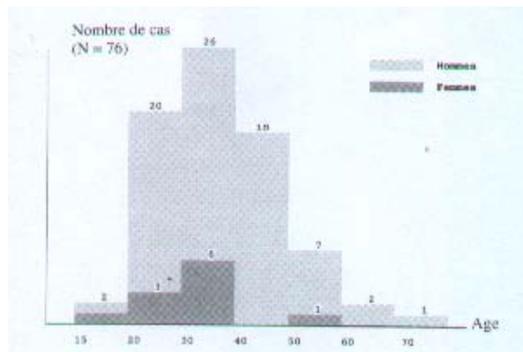
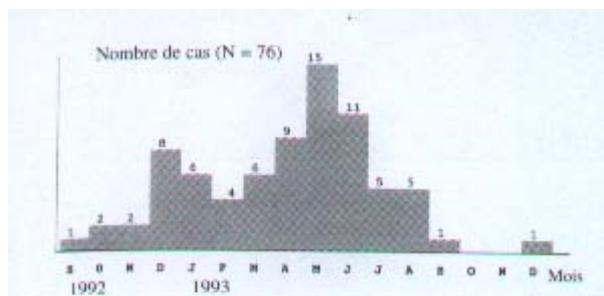


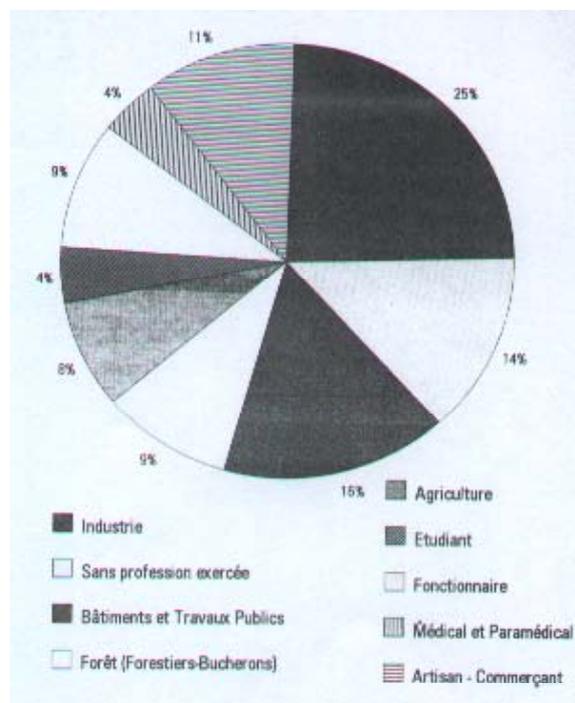
Figure 13 : Quelques données sur l'épidémie de 1990 <sup>107</sup>



Répartition par tranche d'âge et par sexe.



Répartition mensuelle



Répartition par activité socioprofessionnelle.

Figure 14 : Quelques données sur l'épidémie de 1992-1993<sup>93</sup>

### 3°) Populations concernées :

En France, la Fièvre Hémorragique avec Syndrome Rénal est bénigne. Elle est due au virus Puumala et ressemble à la Néphropathie épidémique décrite en Scandinavie.

Dans notre pays, aucun décès n'a été comptabilisé et de façon générale, en Europe, le taux de mortalité associé à la Fièvre Hémorragique avec Syndrome Rénal est inférieur à 1 % <sup>114</sup>.

Les hommes sont plus touchés que les femmes : environ quatre fois plus<sup>69</sup>.

La moyenne d'âge est de 35 ans et est la même pour les deux sexes. La fourchette s'étend de 15 à 70 ans et la plupart des patients ont entre 20 et 50 ans (80 % des cas).

Peu de cas infantiles ont été répertoriés : en France, 5 enfants de moins de 15 ans<sup>69</sup> et pour l'Europe, moins de 5 % des cas.

Deux études réalisées en Finlande et en Suède ont conclu que les manifestations cliniques chez l'enfant sont en fait les mêmes que celles décrites chez l'adulte<sup>114</sup>.

D'après les descriptions des principales épidémies, on peut constater qu'une partie de la population semble plus exposée. En effet, dans la majorité des cas, la contamination a lieu à la campagne. Les professionnels agricoles semblent être les plus touchés.

Toutefois, la Fièvre Hémorragique avec Syndrome Rénal peut se décliner sous trois formes épidémiologiques<sup>73</sup>.

#### ***Forme rurale :***

Les contaminations se produisent principalement à la fin de l'automne et à la fin du printemps. La population touchée est constituée d'ouvriers agricoles et forestiers, de personnes rénovant fermes et granges, de militaires en manœuvres, ou de personnes exerçant des activités de loisirs en forêt. Dans 28 % des cas, les malades exercent une activité agricole.

Différentes études ont tenté de préciser les facteurs d'exposition et les activités à risque<sup>41, 59, 72, 93, 121</sup> :

- la manipulation de terreau ou terre contaminée,
- le travail intensif du bois en forêt,
- les travaux de bâtiment, travaux en local fermé
- le nettoyage de caves, celliers, poulaillers, greniers...
- les activités de loisirs à la campagne et en forêt.

Le personnel de l'Office National des Forêts, ainsi que les agriculteurs étant particulièrement concernés<sup>92</sup>, cette maladie a été inscrite sous la dénomination « **infection professionnelle à Hantavirus** » sur la liste des maladies professionnelles agricoles<sup>69</sup>. Nous verrons par la suite, quelles en sont les conséquences et quelles sont les démarches administratives qui en découlent.

La forme rurale est la plus fréquente et la plus grave.

#### ***Forme dite «de laboratoire» :***

En France, quelques cas de contamination des personnels de laboratoire ont été signalés lors de manipulation de rats d'expérience<sup>27, 48, 67</sup>. Les épidémies peuvent survenir lors de contacts avec des animaux provenant des zones d'endémie, de mise au point de modèles animaux pour l'étude de l'Hantavirose<sup>9</sup>. Des échanges non surveillés entre laboratoires peuvent permettre la propagation des virus<sup>23</sup>.

Les contaminations dans les animaleries ne sont pas à exclure<sup>2</sup>.

#### ***Forme urbaine :***

La forme urbaine est rare dans l'hexagone ; pourtant des sérologies positives ont été notées dans plusieurs villes<sup>8, 15, 79, 110</sup>. Les éboueurs, égoutiers et les citadins possédant des caves ou autres locaux accessibles aux rongeurs font partie des populations à risque.

Cet élément doit donc inciter à rechercher l'infection due aux Hantavirus même en dehors des zones habituelles d'endémie.

A partir de ces constats épidémiologiques, il est intéressant de déduire des mesures prophylactiques. Celles-ci seront envisagées dans la troisième partie.

En conclusion, les patients atteints d'Hantavirose sont majoritairement originaires du Nord-Est de la France. Ce sont principalement des hommes, âgés de 20 à 50 ans, vivant en milieu rural.

Cette distribution géographique, plutôt originale, semble rester stable dans le temps. La maladie se présente sous forme de bouffées épidémiques se déclarant tous les 3 ans environ.

## II EPIDEMIOLOGIE ANALYTIQUE :

Quel est le processus de contamination de l'homme ?

### 1°) Les sources d'agent pathogène :

La fièvre Hémorragique avec Syndrome Rénal est une zoonose d'origine virale. L'implication des rongeurs dans la transmission de la maladie, soupçonnée dès les années 1940, est confirmée par Lee en 1976. Les rongeurs constituent la principale (voire la seule) source de contamination pour l'homme.

#### a) Etude générale des rongeurs :

L'ordre des rongeurs (ou simplicités) représente l'ordre le plus vaste des Mammifères. Ce sont des espèces très prolifiques avec une gestation de courte durée et des portées nombreuses. C'est dans la famille des Muridae que l'on retrouve les animaux vecteurs d'Hantavirus. Le virus Thottapalayam fait exception, puisque l'hôte est *Suncus murinus* (la musaraigne) insectivore de la famille des Soricidae<sup>53</sup>.

Tous possèdent une queue longue et écailleuse, un museau pointu, six molaires sur deux mâchoires, et des oreilles courtes.

Trois sous-familles rassemblent ces rongeurs vecteurs d'Hantavirus : les Arvicolinae, les Murinae, et les Sigmodontinae . Les membres de cette dernière sous famille ne seront pas envisagés, étant donné qu'ils vivent sur le continent américain.

Il existe, nous l'avons vu, pour les Hantavirus une grande spécificité d'hôte. Chaque virus est associé à une espèce de rongeur<sup>3,98</sup>.

L'espèce réservoir principale est :

- pour le virus Puumala : le campagnol roussâtre (*Clethrionomys glareolus*)
- pour le virus Séoul : le rat surmulot ou rat d'égout (*Rattus norvegicus*)
- pour le virus Hantaan : le mulot (*Apodemus agrarius*).

En France, la majorité des cas est imputable au virus Puumala (PUU). Cependant, on a enregistré six cas dus au virus Séoul (SEO) et un cas du au virus Hantaan (HTN). Pour ce dernier, la contamination a eu lieu à l'étranger. Les cas d'Hantavirose dus au virus Séoul se sont manifestés à la campagne, ce qui est nouveau puisque d'ordinaire, ce virus cause plutôt

des épidémies dans les laboratoires <sup>15</sup>. Mais *Rattus norvegicus* est capable de s'adapter à tous les milieux.

En outre, une étude a révélé la présence d'antigènes et d'anticorps anti-PUU chez le mulot sylvestre (*Apodemus sylvaticus*) <sup>115, 123</sup>. La prévalence établie était faible puisque seuls 3 mulots sur les 1 266 testés étaient séropositifs. Le campagnol et le mulot partageant le même biotope, cette faible prévalence peut donc s'expliquer par une sensibilité moins marquée du mulot pour le virus PUU.

En Allemagne, on a rapporté la présence d'Hantavirus, apparentés au virus Puumala chez le rat musqué (*Ondatra zibethicus*) <sup>120</sup>.

Malgré cette grande spécificité d'hôte, on constate donc que d'autres rongeurs peuvent héberger le virus Puumala. On peut émettre l'hypothèse que ces espèces pourraient participer aussi à la circulation du virus.

Ces autres « hôtes » restent négligeables par rapport au campagnol roussâtre. Les comportements sociaux, tels que le toilettage, les bagarres, se produisent principalement entre individus d'une même espèce. L'espèce semble constituer une barrière pour la propagation du virus.

En ce qui concerne le milieu urbain, plusieurs études se sont intéressées à la présence d'anticorps anti-Hantavirus (Séoul, Hantaan) chez les rats, à Lyon en 1982 et en 1989, ainsi qu'à Marseille, en 1997 <sup>8, 15, 110</sup>. Elles n'ont pas toutes mis en évidence ces anticorps. Mais toutes permettent de conclure que le risque de transmission reste faible.

La description des caractéristiques biologiques du campagnol roussâtre, du mulot sylvestre et du rat surmulot, principaux vecteurs en France, nous semble essentielle pour la compréhension de l'épidémiologie de la Fièvre Hémorragique avec Syndrome Rénal. Ainsi proposons nous, ci-après une étude succincte de celles-ci.

b) étude spécifique :

- **Le campagnol roussâtre** (*Clethrionomys glareolus*) <sup>22, 31, 38</sup>

Cl. Mammifères, O.Rongeurs, Sous famille Arvicolinae

✓Description : 13 à 19 cm de long (queue = 4 à 6 cm se terminant par un pinceau de poils)

15 à 30 g

corps trapu, museau pointu avec des yeux assez petits

pelage brun roux dessus et gris brun dessous

✓Reproduction : gestation de 18 jours

2 à 4 portées par an (3 à 7 jeunes par nichées) d'avril à août

Ils peuvent parfois se reproduire l'hiver si la population est faible et la nourriture abondante (notamment des glands).

Les jeunes sont allaités pendant 15 jours, émancipés à 3 semaines et atteignent leur maturité sexuelle vers 2 à 3 mois. Ils naissent nus et aveugles.

La femelle peut être portante alors qu'elle allaite la précédente portée.

Les nids sont construits sous une branche tombée ou racine.

✓Durée de vie : 1,5 à 3 ans

Il y a un fort taux de mortalité : de nombreux petits décèdent et rares sont les adultes qui survivent 2 hivers. Le minimum d'effectif s'observe à la fin de l'hiver et au début du printemps.

Il existe tous les 3 à 4 ans un **cycle d'abondance** où le nombre d'animaux s'accroît rapidement. A la fin de ces cycles, la population diminue par la faute, semble-t-il, d'une génération qui n'a pas pu se reproduire avec succès. Pour pallier cela et regagner vite sa population, le campagnol dispose d'un fort taux de reproduction.

✓Alimentation : principalement des graines, racines, fruits sauvages mais aussi vers de terre, insectes, larves et l'écorce des arbres l'hiver.

✓Habitat : biotope boisé : forêts de feuillus et bois mixtes et parfois sous-bois denses

En France on rencontre ces animaux partout, sauf sur le pourtour méditerranéen et en Corse (figure 19).

Dans les Alpes et Pyrénées ils peuvent vivre jusqu'à 2 000 m d'altitude.

✓Activité : diurne et nocturne, actif toute l'année.

Ils creusent des galeries et tunnels souterrains. Ils peuvent grimper sur les troncs d'arbres et buissons. Chaque campagnol dispose d'un territoire personnel (45 m de diamètre environ) .

✓Prédateurs connus : chouettes effraies, belettes, crécerelles.

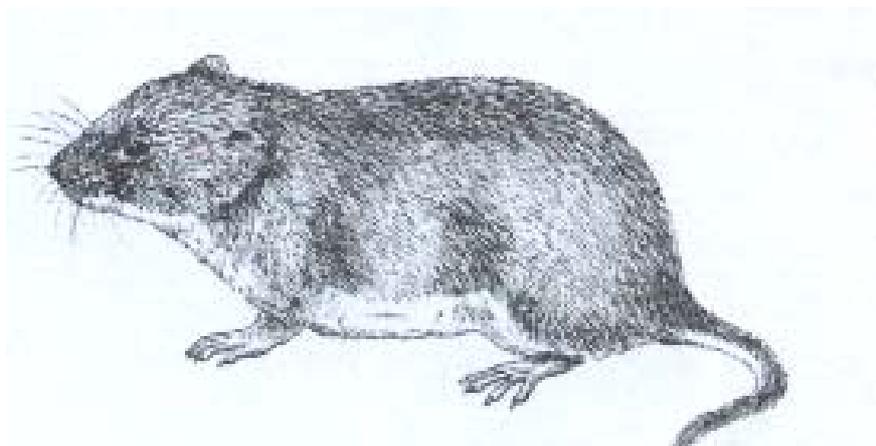


Figure 15 : le campagnol roussâtre

• **Le mulot sylvestre** (*Apodemus sylvaticus*)<sup>22, 31, 38</sup>

Cl. Mammifères, O.Rongeurs, Sous famille Murinae

✓**Description** : 18 à 24 cm long (queue 8.5 à 13 cm)

20 à 45 g

corps allongé, grandes oreilles

pelage brun jaunâtre dessus et ventre blanc grisâtre

✓**Reproduction** : gestation de 21 à 23 jours

2 à 3 portées par an (3 à 9 jeunes par nichées)

de mars à octobre

Les jeunes sont allaités pendant 2 semaines, émancipés vers 3 semaines et atteignent leur maturité sexuelle à 2 mois. La reproduction peut aussi avoir lieu l'hiver si la nourriture est abondante.

✓**Durée de vie** : 2 à 4 ans

✓**Alimentation** : principalement des végétaux (graines, plantes herbacées, baies, bourgeons au printemps), champignons mais aussi vers de terre insectes et escargots.

✓**Habitat** : forêts de feuillus surtout les lisières, haies et champs de céréales.

Ils pénètrent souvent dans les maisons et fermes.

En France on les rencontre partout même jusqu'à 2 000m d'altitude (figure 19).

✓**Activité** : essentiellement nocturne

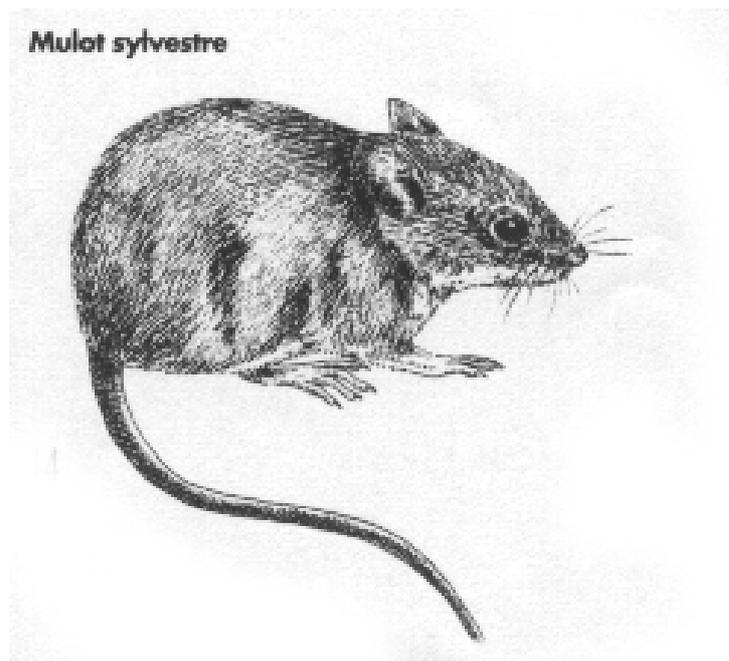


Figure 16 : le mulot sylvestre.

- **Le rat surmulot ou rat d'égout** (*Rattus norvegicus*)<sup>22, 31, 38</sup>

Cl. Mammifères , O.Rongeurs, Sous Famille. Murinae

✓Description : 37 à 51 cm (queue = 17 à 23 cm)

280 à 550 g

corps massif et allongé, museau obtus et oreilles courtes, poilues

pelage terne, gris brun dessus et gris blanchâtre dessous

✓Reproduction : gestation de 22 à 24 jours

4 à 7 portées (6 à 11 jeunes par nichées)

presque toute l'année, au moins d'avril à octobre

Les jeunes sont allaités durant 3 semaines, émancipés à 6 - 7 semaines et atteignent leur maturité sexuelle vers 2 - 3 mois.

✓Durée de vie : 1 an, rarement plus

✓Alimentation : graines, fruits et animaux (insectes, poissons, oiseaux) et détritits, cadavres .

✓Habitat : à l'état sauvage, ils habitent les marais, les landes côtières , rives de cours d'eau ou berges de lacs. Dans les villes, on peut les trouver dans les caves et égouts, entrepôts et abattoirs (figure 19).

✓Activité : surtout nocturne, parfois diurne.



Figure 17: le rat surmulot

c) Etude de l'hantavirose chez les rongeurs :

Les rongeurs développent-ils une forme clinique ?

Dynamique d'infection :

L'infection chez le campagnol est asymptomatique <sup>13</sup>. Elle n'a en effet aucune répercussion sur les aptitudes reproductrices, l'état physiologique ni sur les dynamiques de populations.

On observe une virémie transitoire (10 au 14ème jour). Le virus se distribue alors aux différents organes <sup>66, 127</sup> : préférentiellement les poumons, la rate, les reins, mais aussi le foie, les glandes salivaires et l'intestin grêle. On peut notamment retrouver des antigènes viraux entre le 14ème et le 270ème jour dans les poumons, comme l'illustre la figure 18.

Le virus est excrété dans la salive, les selles ou l'urine <sup>49</sup>. Cette excrétion varie d'un rongeur à l'autre. Les individus conservent la possibilité de transmettre le virus quinze mois après l'infection <sup>13</sup> : ils sont donc infectés à vie.

Mais c'est un mois après infection que le risque de transmission est le plus important : la réplication et la libération des virus atteignent leur maximum durant ce premier mois. De plus, c'est durant cette période que les antigènes viraux se concentrent dans les sécrétions oropharyngées et poumons. Par la suite, la concentration virale diminue <sup>127</sup>. Dans certains cas, la concentration en antigènes est inférieure au seuil de détection par les méthodes ELISA <sup>87</sup>.

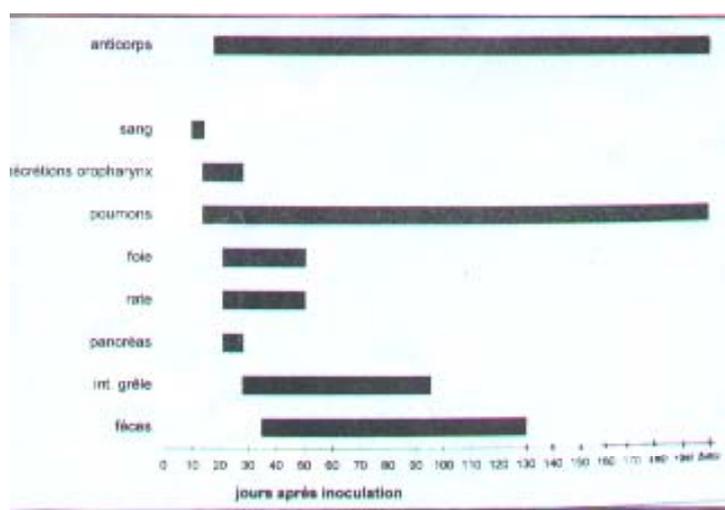


Figure 18 : Virémie, persistance des antigènes viraux et des anticorps.<sup>44</sup>

Une réponse immune spécifique se met en place dès le 18ème jour. Le taux d'anticorps est maximum vers 4 semaines puis diminue. Il persiste à un niveau stable jusqu'au moins 270 jours <sup>44</sup>. Mais les anticorps ne semblent pas réduire pour autant l'abondance des antigènes dans le corps de l'animal <sup>66</sup>.

Une étude menée en 1999 (méthode capture marquage) en zone d'endémie, sur des campagnols, a démontré que la présence d'anticorps maternels retardait l'apparition de l'infection par le virus Puumala. Les jeunes conservent ces anticorps environ un mois et demi. Les campagnols non immunisés développent une infection durant leur deuxième mois de vie, alors que les individus immunisés, sont infectés 30 à 45 jours après la disparition des anticorps maternels, soit vers l'âge de 3 mois. Dans certains cas, un nombre trop important d'individus immunisés dans la population peut empêcher l'apparition d'une épizootie <sup>13</sup>.

La plus forte proportion de rongeurs infectés s'observe généralement au printemps <sup>44</sup>. La taille de la population connaît certes une diminution après l'hiver, mais celle-ci est majoritairement constituée de mâles adultes, qui ont de nombreux contacts avec leurs congénères. La prévalence est souvent la plus forte chez les mâles adultes.

Les séroconversions ont lieu plus fréquemment durant la période de reproduction. La population comporte surtout des juvéniles, qui s'infectent auprès des adultes <sup>44</sup>.

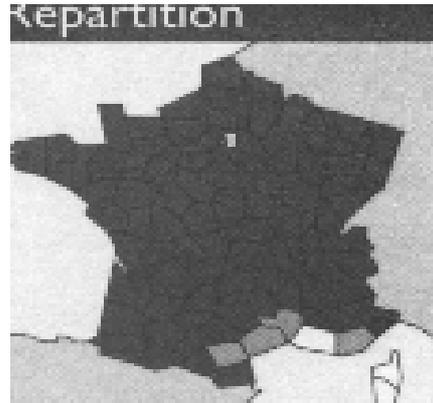
Les rongeurs « à risque » sont donc principalement les jeunes adultes non immunisés<sup>13</sup>.

Le pourcentage d'individus infectés est bien évidemment lié à la densité de population. Cette dernière est influencée par l'abondance de nourriture, la présence de prédateurs, les conditions climatiques et les comportements sociaux. Tout ce qui favorise l'augmentation de la population conditionne aussi l'apparition d'épidémie chez l'homme <sup>27</sup>. En effet, la pullulation de rongeurs a été associée à l'apparition d'épidémies de Nephropathia Epidemica en Belgique et en Suède<sup>44, 84, 86</sup>. Certains facteurs comme un hiver doux, l'abondance de nourriture, notamment des faines, l'absence de prédateurs, des pluies fréquentes et une certaine humidité favorisent l'accroissement des populations de rongeurs.

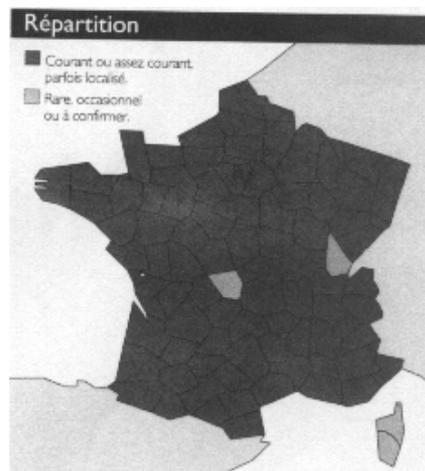
En Europe, et de façon plus prononcée dans le Nord de l'Europe, il existe des variations de population cycliques. Tous les 3 ans environ, on note une forte augmentation du nombre de rongeurs. Les animaux peuvent alors être 300 fois plus nombreux <sup>84</sup>. Ceci est particulièrement vrai pour le campagnol roussâtre (voir étude spécifique).

Une étude réalisée en Belgique, entre 1996 et 1999, parmi les populations de campagnols roussâtres <sup>43</sup> décrit une large distribution du virus lors des poussées épidémiques. Par contre, les années suivantes, la distribution du virus est plus focale. De plus, cette étude a

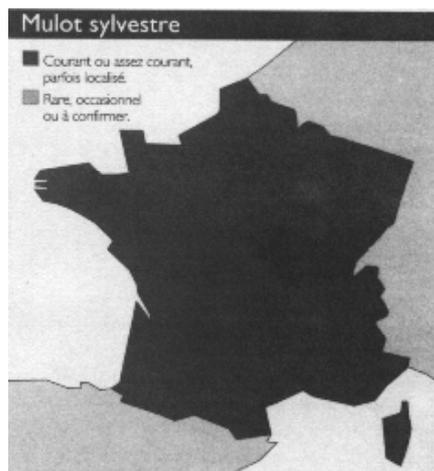
mis en évidence qu'un nombre minimum de rongeurs est nécessaire au maintien du cycle enzootique, mais que les animaux infectés peuvent être absents des sites à forte densité.



Répartition du campagnol en France



Répartition du rat surmulot en France



Répartition du mulot sylvestre en France

Figure 19 : Répartition géographique des principaux vecteurs en France<sup>38</sup>.

Lorsque la population animale décroît, le virus ne disparaît pas pour autant. Deux hypothèses sont envisageables <sup>53</sup> :

- soit le virus reste quiescent puis est réactivé lorsque la population se développe,
- soit le virus réintègre la population à partir d'une « niche » extérieure.

Les rongeurs sont donc porteurs asymptomatiques à vie.

#### Mode de transmission :

- Les rongeurs peuvent se contaminer par contact direct lors des différentes interactions notamment pendant la période de reproduction.

Plusieurs études ont noté une corrélation entre le pourcentage d'animaux infectés et le poids des individus <sup>40, 41, 86</sup>. Or, les animaux les plus lourds sont en fait les plus âgés, donc ceux qui ont le plus de contact avec les autres.

Lors des soins aux petits, la mère peut elle aussi disséminer le virus.

- Les morsures représentent un mode de contamination important, notamment au moment de la puberté et en période de reproduction où les bagarres sont fréquentes. Une étude, réalisée en 1998, a établi une corrélation positive entre le statut sérologique des rongeurs et la présence de morsures <sup>46</sup>.
- Les plaies représentent aussi une porte d'entrée pour le virus présent dans la salive.
- La principale voie de contamination entre rongeurs reste la voie aérienne <sup>66, 71</sup>. Le virus est dispersé sous forme d'aérosols. Le virus peut être disséminé jusqu'à 1,5 mètre autour d'un sujet excréteur <sup>13</sup>. Les matériaux des nids peuvent constituer une source de contamination notamment le premier mois après infection <sup>35</sup>. Notons qu'en laboratoire, la dissémination a été observée entre rongeurs éloignés de 4 mètres.

Il ne semble pas y avoir de différence significative entre les mâles et les femelles <sup>123</sup>. Pourtant, il faut garder à l'esprit que les mâles adultes plus mobiles, plus agressifs jouent un rôle majeur dans la dissémination du virus. Les jeunes restent plutôt en groupe et les femelles, quant à elles, parcourent moins de distance.

La transmission est donc **horizontale**, elle se fait par contact, par morsure ou via les aérosols. Aucune transmission verticale n'a été démontrée. En effet, la barrière utérine ne permet pas le passage des virus <sup>66</sup>.

#### d) Implication des autres espèces animales :

Plusieurs études ont démontré que d'autres animaux pouvaient être porteurs d'Hantavirus. Les chercheurs se sont notamment intéressés au chat, du fait de ses relations « privilégiées » avec les rongeurs.

Grâce à une étude cas / contrôle menée en 1985, Tang fut l'un des premiers à démontrer que le chat domestique pouvait véhiculer les Hantavirus <sup>117</sup>.

En 1990, en Angleterre, Bennett <sup>12</sup> s'est aussi penché sur ces populations félines. De son étude il ressort que 9,6 % des chats présentent des anticorps et que 23 % des chats atteints d'affections chroniques, sont séropositifs. Dans cette étude, aucune association entre Hantavirose et FIV n'est mise à jour. Toutefois, on peut se demander si des chats séropositifs deviennent plus sensibles aux autres maladies félines.

Nowotny <sup>88</sup>, en 1994, en Autriche, teste 200 sérums de chats domestiques, et recherche des anticorps anti PUU et anti-HTN : 5 % des animaux sont séropositifs. Il remarque alors que les titres en anticorps contre le virus Puumala sont plus élevés.

Les chats peuvent donc être porteurs d'Hantavirus ; mais quelles sont, pour eux, les conséquences de l'infection ? A l'heure actuelle, l'infection semble asymptomatique.

Cependant, la situation est inquiétante : les chats peuvent-ils excréter des Hantavirus ? Peuvent ils constituer une source de contamination pour l'homme ?

Nowotny estime que les chats excrètent peu de virus ; ils ne représenteraient donc pas de réel danger. Pourtant, le fait de posséder un chat a été décrit comme facteur de risque par plusieurs études réalisées en Chine notamment <sup>117</sup>. Le rôle précis du chat dans l'épidémiologie de la Fièvre Hémorragique avec Syndrome Rénal reste à définir.

Les Hantavirus sont présents chez d'autres espèces : des anticorps ont en effet été décelés chez le porc, la musaraigne aquatique, la taupe, le lapin, certains oiseaux... <sup>27, 41, 43</sup>

En Chine, des chercheurs ont trouvé des traces d'Hantavirus chez *Trombicula scutellaris* ectoparasite de *Apodemus agrarius* <sup>117</sup>. Certains chercheurs s'accordent à dire que les acariens joueraient un rôle dans l'épidémiologie de l'Hantavirose, sans pouvoir le définir pour autant <sup>117</sup>.

Plus récemment, une étude menée en Belgique <sup>43</sup>, entre 1995 et 1997, a démontré l'existence d'anticorps chez le renard (*Vulpes vulpes*) ; toutefois la faible prévalence laisse supposer que le renard est un cul de sac évolutif pour les Hantavirus.

En conclusion il apparaît que d'autres espèces animales peuvent héberger des Hantavirus. Mais l'implication de ces espèces dans le cycle épidémiologique de l'hantavirose reste pour l'instant inconnue. Les rongeurs constituent donc la principale source de contamination pour l'homme.

## 2°) Transmission de l'agent pathogène :

Chez l'animal, les Hantavirus sont transmis sous forme d'aérosols, ou lors de morsures, ou par simple contact. Qu'en est-il pour l'homme ?

### a) Rappels :

Les Hantavirus sont les seuls virus de la famille des Bunyaviridae qui ne sont pas transmis par les Arthropodes<sup>112</sup>.

Chez les rongeurs, le virus persiste dans de nombreux organes<sup>27, 66</sup>, quasiment toute la vie. Les sécrétions et excréments de l'animal permettent donc la dissémination abondante du virus dans l'environnement. En outre, le virus reste infectieux quelques jours après excrétion par les rongeurs, sous forme d'aérosols<sup>111</sup>. Toutefois, s'agissant de virus enveloppés, donc fragiles, le milieu extérieur ne constitue pas un véritable réservoir secondaire.

Les matières virulentes sont :

- le sang, dans les dix premiers jours suivant la contamination du rongeur<sup>9</sup>,
- la salive,
- l'urine,
- les selles.

Ces dernières restent régulièrement infectieuses, l'urine l'est plus sporadiquement<sup>127</sup>.

Les cadavres peuvent aussi représenter, dans une moindre mesure, une source potentielle.

### b) Transmission de l'animal à l'homme :

De nombreuses études épidémiologiques ont été entreprises, en Asie principalement, pour tenter de comprendre comment les hommes contractaient la maladie. A partir d'observations sur le terrain, les scientifiques ont formulé plusieurs hypothèses, toutes en relation avec les rongeurs : l'homme pourrait être contaminé par contact, par voie cutanée, par aérosols ou encore par l'intermédiaire des ectoparasites des rongeurs<sup>117, 126</sup>.

Dans plusieurs laboratoires russe (où se produisit une épidémie en 1961), coréen (qui menait des recherches sur l'hantavirose), japonais, il a été constaté que non seulement des

travailleurs, mais aussi de simples visiteurs avaient contracté la maladie. Certains malades n'étaient restés que quelques minutes dans le laboratoire et d'autres n'avaient fait que parler aux laborantins à l'extérieur de la salle. Seule, une contamination par voie aérienne, pouvait expliquer ces cas<sup>117</sup>.

Ces différents épisodes ont permis d'étayer la thèse selon laquelle l'homme contracte la maladie avant tout par voie aérienne<sup>126</sup>. En effet, l'homme est contaminé lors d'inhalation de poussières et aérosols contenant les éléments infectieux provenant des excréments des rongeurs. C'est le principal mode de contamination.

La morsure reste un mode de transmission possible mais beaucoup plus rare : quelques cas ont été rapportés en France<sup>48, 69, 107</sup>. Cela souligne l'importance de la salive comme élément virulent.

Théoriquement, les plaies pourraient constituer une porte d'entrée pour le virus et les aliments souillés par les déjections de rongeurs pourraient aussi représenter une voie de contamination<sup>9</sup>.

A l'heure actuelle, le rôle des espèces animales, évoquées précédemment, dans la contamination humaine n'est pas véritablement élucidé. Il convient toutefois de rester vigilant, notamment envers les chats, puisqu'il apparaît dans de nombreuses études que le fait de posséder un chat constitue un facteur de risque<sup>12, 117</sup>.

#### c) Transmission inter-humaine :

Il était important d'apporter une réponse à cette question : un individu peut-il contaminer ses proches ?

Durant la guerre de Corée, les scientifiques se sont intéressés à la transmission intra-spécifique. Leurs études épidémiologiques ont suggéré que cette voie n'existait pas.

Smorodintsev, dans les années 1960, a démontré que des individus ne développaient la maladie que si l'on injecte du sang ou de l'urine (qui restent infectieux les quatre premiers jours) de personnes malades, par voie intraveineuse ou intramusculaire. L'administration directe des éléments infectieux par le nez ou la bouche n'induit pas d'infection. Les sécrétions de l'appareil respiratoire d'un malade ne sont pas infectieuses<sup>117</sup>.

En outre, le sang et les urines ne contiennent qu'une faible quantité de virus.

Plus récemment, aux Etats Unis, une étude s'est intéressée au personnel d'un centre hospitalier. 67 % du personnel s'était occupé de patients atteints du Syndrome Pulmonaire à

Hantavirus. Les résultats de l'enquête sérologique démontrent qu'aucun d'entre eux ne possède d'anticorps anti-Hantavirus. Cette étude a donc confirmé que la transmission entre êtres humains est quasiment impossible <sup>124</sup>.

Toutefois, le doute persiste à propos du virus Andes, un des agents responsables du syndrome pulmonaire sur le continent américain : il pourrait se transmettre au contact d'êtres humains infectés <sup>70</sup>. Une adolescente aurait, en effet, développé la maladie au contact de ses parents <sup>37</sup>.

En conclusion, l'homme ne peut contracter la maladie que par l'intermédiaire d'un contact étroit avec les rongeurs. L'Hantavirose est donc une **orthozoonose bornée** : il n'y a qu'un seul réservoir (les rongeurs) et l'homme est essentiellement contaminé par voie aérienne, ou par morsure <sup>104</sup> sans prolongement inter-humain.

### 3°) Caractéristiques des populations atteintes : facteurs de réceptivité et sensibilité

#### ***Définitions :***

- Réceptivité : aptitude d'un organisme à laisser un agent infectieux se multiplier en lui même.
- Sensibilité : aptitude d'un organisme à exprimer cliniquement la maladie après contact avec un agent pathogène.

L'homme est à la fois réceptif et sensible alors que les rongeurs, nous l'avons vu, ne sont que réceptifs aux Hantavirus.

#### ***Facteurs intrinsèques :***

Il n'existe pas chez l'homme de prédisposition liée au sexe. Si les hommes sont plus touchés que les femmes (environ quatre fois plus), c'est parce que ceux-ci sont plus fortement exposés <sup>69</sup>.

Les jeunes adultes sont plus fréquemment atteints. Ils correspondent en fait aux populations «à risque» : ils appartiennent à la population active et pratiquent plus aisément des activités de plein air. Toutefois, toutes les générations de la population peuvent être la cible des Hantavirus. Notons que les enfants restent les individus les moins touchés <sup>114</sup>.

En outre, il semble que l'infection aux Hantavirus touche préférentiellement des individus sains, en pleine possession de leurs moyens de défense <sup>37</sup>.

Une étude en Finlande <sup>83</sup> s'est intéressée aux différences d'expression de la maladie. En effet, il existe des formes subcliniques, des formes bénignes et des formes plus graves de

Néphropathie épidémique. Il a été mis en évidence que certains individus possédaient une susceptibilité génétique.

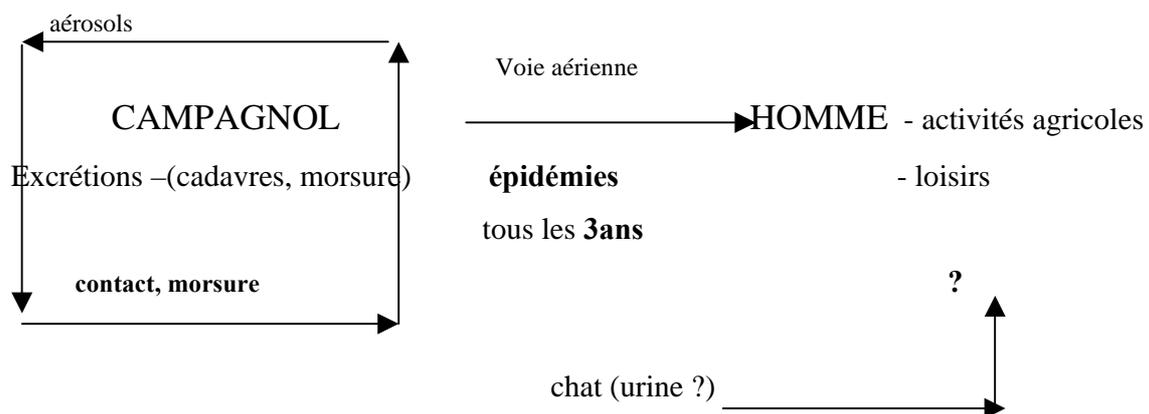
L'attention s'est portée tout particulièrement sur les marqueurs génétiques du CMH (complexe majeur d'histocompatibilité) ; il est en effet acquis que les individus possédant certains haplotypes HLA ont une réponse immunitaire augmentée ou altérée à l'égard de certains antigènes. Il ressort de cette étude que les patients les plus sévèrement atteints présentent de plus hautes fréquences pour les allèles HLA B8, C4A\*Q0, DRB1\*0301 . En particulier HLA B8 est présent chez tous les patients victimes d'un choc. En outre, la présence de ces mêmes allèles CMH constitue un facteur de risque pour plusieurs maladies auto-immunes (notamment l'haplotype HLA B8 DRB1\*0301 fortement associé au lupus et à certaines maladies du colon...) <sup>83</sup>. Cette composante génétique reste donc une donnée à explorer.

L'épidémiologie de la Fièvre Hémorragique avec Syndrome Rénal est complexe et n'est que partiellement élucidée. De futures recherches permettront sans doute, d'expliquer les mécanismes de circulation des virus dans les populations de rongeurs et peut être d'expliquer les rôles secondaires de certains animaux.

Depuis dix ans, la distribution géographique de la F.H.S.R. n'a pas changé. Elle reste localisée au quart Nord-Est de la France. Mais on peut s'attendre à une augmentation du nombre de cas : en effet, les médecins sont aujourd'hui mieux informés sur la maladie et le nombre de demandes de diagnostics augmente. Les cas décelés seront certainement plus importants, mais il ne faudra pas conclure que la maladie prend, pour autant, de l'ampleur en France.

Nous savons que les Hantavirus ont la capacité de créer des réassortiments de segments d'ARN<sup>42</sup>. Ces nouveaux virus seront peut-être à l'origine d'autres formes cliniques.

Une synthèse des connaissances, présentée sous forme d'un schéma épidémiologique, est aujourd'hui possible et nous permet de résumer cette étude épidémiologique de l'Hantavirose.





Il existe plusieurs formes de Fièvre Hémorragique avec Syndrome Rénal dans le Monde. Selon le virus incriminé, la symptomatologie, et le pronostic surtout, diffèrent. Les formes les plus sévères sont causées par le virus Hantaan en Asie (le taux de mortalité s'élève à 10 %) ou le virus Dobrava en Europe de l'Est.

En France, la majorité des cas est due au virus Puumala, même si quelques cas d'infection par les virus Hantaan et Séoul ont pu être signalés<sup>71, 81</sup>. L'étude sera donc limitée à l'infection par le virus Puumala, forme plutôt bénigne de Fièvre Hémorragique avec Syndrome Rénal.

### I) MANIFESTATIONS CLINIQUES :

Les symptômes observés en France sont proches de ceux décrits pour la *Nephropathia epidemica* (N.E.) rencontrée en Scandinavie<sup>107, 114</sup>. Certains auteurs utilisent même ce terme pour nommer la maladie en France.

Tableau VII: comparaison des principales manifestations cliniques et biologiques observées lors de N.E. en France et en Scandinavie (d'après Settergren)<sup>114</sup>.

Symptômes (%patients)	FRANCE	FINLANDE	SUEDE
Fièvre	97	100	99
Polyurie	Pas de données	91	97
Céphalées	79	70	85
Nausées	59	61	84
Vomissements	55	61	70
Douleurs abdominales	75	24	65
Douleurs lombaires	63	Pas de données	82
Troubles de la vision	36	9	31
<b>Anomalies biologiques</b>			
(% patients)			
Créatinémie augmentée	97	100	96
Thrombopénie	68	88	52
Leucocytose	61	Pas de données	23
ALAT augmentées	41	27	60
Protéinurie	84	97	100
hématurie	57	48	85

L'incubation est en moyenne de deux semaines, mais elle peut varier de une semaine à deux mois<sup>93</sup>.

L'évolution se fait sur une quinzaine de jours environ. On peut la décomposer en cinq phases : fébrile, hypotensive, oligurique, polyurique, de convalescence<sup>32, 42, 71</sup>.

#### 1°) Phase fébrile :

Elle débute par une hyperthermie d'apparition brutale, accompagnée parfois de frissons, de sueurs modérées et de céphalées<sup>48</sup>. Des myalgies et douleurs lombaires sont alors fréquemment décrites par les patients<sup>48</sup>.

On note aussi l'existence de troubles digestifs, qui sont peu spécifiques<sup>9</sup>. Des nausées et vomissements sont souvent présents. La diarrhée est plus rare<sup>114</sup>. Dans certains cas, le patient souffre de douleurs abdominales violentes qui ressemblent à un syndrome abdominal (type appendicite)<sup>71</sup>.

Au niveau cardiaque, on constate l'absence de tachycardie lors de poussées fébriles, une bradycardie sinusale asymptomatique retardée et quelques épanchements péricardiques minimes. Une étude, portant sur plus de 100 échographies cardiaques, n'a mis aucune myocardite en évidence<sup>9</sup>.

Des troubles oculaires peuvent aussi être présents. On signale parfois des douleurs rétro-orbitaires<sup>33</sup>, ou de la photophobie<sup>71</sup>. Dans 30 % des cas, il apparaît une myopie transitoire. Cette myopie est pathognomonique<sup>71, 93</sup>. Un œdème du corps ciliaire serait à l'origine de ce trouble<sup>33</sup>.

L'appareil respiratoire peut être aussi touché : toux, dyspnée, pharyngite (20 % des cas)<sup>9</sup>.

Au niveau neurologique, on retrouve des céphalées très fréquemment, un syndrome méningé plus rarement<sup>9</sup>. D'autres symptômes tels que la rigidité de la nuque, l'anxiété, la confusion, la somnolence ont pu être observés<sup>9, 114</sup>. Une étude des manifestations neurologiques menée en Russie, entre 1988 et 1992, sur 811 patients, a révélé que les symptômes les plus souvent observés étaient les maux de tête, pour 97 % des cas, les vomissements, pour 31 % des cas et les troubles de la vision, pour 40 %. Toutefois, certaines manifestations plus sévères telles que des hémorragies cérébrales, se produisant souvent la première semaine, des troubles épileptiformes ou des cas de parésie vésicale, se produisant plutôt en deuxième semaine, ont été enregistrés<sup>5</sup>.

D'autres symptômes peuvent être également rencontrés tels qu'un œdème de la face, des poly-adénopathies, des poly-arthralgies, une éruption maculo-papuleuse<sup>9</sup>.

### **Signes biologiques :**

Plusieurs anomalies biologiques peuvent être présentes :

- la thrombopénie est la manifestation la plus précoce et la plus fréquente<sup>30</sup> ; elle est présente dans 75% des cas<sup>29</sup>. Elle est probablement causée par une augmentation de la consommation périphérique des plaquettes.
- une leucocytose est quasi constante<sup>71</sup>.
- les paramètres de l'inflammation, tels que la vitesse de sédimentation, le fibrinogène et la protéine C réactive, sont souvent élevés : il semble que la leucocytose et l'augmentation de la protéine C soient plus marquées dans le cas d'une atteinte respiratoire<sup>114</sup>.

### **2°) Phase hypotensive :**

Elle peut durer de quelques heures à quelques jours. Dans le cas de l'infection par le virus Puumala, cette phase est généralement peu marquée.

Les manifestations hémorragiques sont souvent discrètes. Il peut s'agir de pétéchies<sup>114</sup>, sur le palais le plus souvent, d'injections conjonctivales mais aussi de gingivorragie<sup>72</sup>, ou d'épistaxis. L'épistaxis peut être présente dans 22 % des cas<sup>9</sup>.

D'autres manifestations plus sévères, comme par exemple une C.I.V.D., un hématome rénal, ou une hémorragie cérébrale, sont parfois observés. Signalons le cas de ce patient, hospitalisé en Russie, qui a développé un hématome au niveau de la rate et qui a dû subir une splénectomie<sup>6</sup>.

Notons que lors d'une infection par le virus Hantaan cette phase peut être létale .

### **3°) Phase oligurique :**

Elle correspond souvent à la période où la suspicion de fièvre hémorragique est avancée. Cette phase est marquée par l'apparition d'une insuffisance rénale aiguë. Le patient se plaint parfois de douleurs aux flancs. Il urine moins. L'anurie reste tout de même rare.

Dans certains cas, une échographie permet de mettre en évidence de gros reins, hyperréfectifs, avec parfois un épanchement péri-rénal<sup>9</sup>.

### **Signes biologiques :**

On constate :

- une augmentation de l'urémie et de la créatinémie <sup>93</sup>
- une augmentation des enzymes hépatiques <sup>103, 107, 114</sup>
- la disparition de la thrombopénie <sup>70</sup>
- une hypoalbuminémie <sup>114</sup>
- une protéinurie importante, et parfois une hématurie microscopique <sup>114</sup>.
- une hypocalcémie, en relation avec l'insuffisance rénale. Une étude a conclu que les changements observés dans le métabolisme calcique, chez des patients atteints de *Nephropathia epidemica*, ressemblaient à ceux présents lors d'insuffisance rénale chronique <sup>114</sup>.

Tous ces signes ne sont pas constants.

Plusieurs études ont montré qu'une atteinte pulmonaire peut exister <sup>17</sup>. Des cas d'épanchement pleural, d'atélectasie, d'œdème pulmonaire en présence d'insuffisance rénale sévère, ou de pneumonie ont, en effet, été décrits. Il est même surprenant, étant donné le mode de contamination de l'homme, que ces troubles ne soient pas plus souvent signalés.

Une étude rétrospective, publiée en 2001, qui s'est intéressée à 129 cas entre 1983 et 1995, a conclu que 30 % des patients présentaient des troubles respiratoires de type toux, expectorations, douleurs thoraciques, dyspnée...et que 50 % des patients présentaient en fait des anomalies radiographiques pulmonaires <sup>85</sup>.

Retenons que, dans le tableau clinique de la *Nephropathia epidemica*, l'atteinte rénale prédomine et que les manifestations hémorragiques peuvent être discrètes.

#### 4°) Phase polyurique :

La diurèse peut être de 3 à 6 litres et cette polyurie peut entraîner des déséquilibres électrolytiques <sup>93</sup>. Elle correspond au début du rétablissement <sup>42</sup>. Les symptômes régressent et les anomalies de la formule sanguine disparaissent.

Une hypertension artérielle est fréquemment observée, elle est généralement attribuée à une surcharge volémique <sup>24, 107</sup>.

Notons que dans de rares cas, on a pu constater une hépatomégalie, parfois une splénomégalie <sup>48</sup>.

## 5°) Phase de convalescence :

Elle dure entre une et deux semaines en moyenne, mais elle peut être plus longue <sup>27</sup>. En général, le patient se remet sans séquelles. Plus rarement, l'infection par le virus Puumala peut être plus sévère. Certaines complications peuvent survenir. Les patients peuvent parfois nécessiter une transfusion <sup>34</sup>, une assistance respiratoire <sup>114</sup> ou des séances de dialyse <sup>48</sup>.

- Des cas de pneumonie atypique <sup>17</sup>, ou de persistance d'une hypertension artérielle résiduelle, ont aussi été signalés.

- Guyon rapporte le cas d'un malade pour qui l'insuffisance rénale est devenue chronique <sup>48</sup>.

- Un patient a développé, 15 jours après la survenue d'une Hantavirose, un syndrome de Guillain-Barré (polyradiculonévrite de type inflammatoire) nécessitant une corticothérapie précoce et en a conservé quelques séquelles <sup>42</sup>.

- A l'hôpital de Charleville-Mézières, deux patients présentant un choc hypovolémique sévère, ont été recensés <sup>9</sup>.

Mais, les formes frustes où seules se manifestent fièvre et algies diffuses sont nombreuses <sup>70</sup>. Les formes asymptomatiques sont également fréquentes <sup>42</sup>. Certaines formes cliniques peuvent simuler un simple problème respiratoire viral.

La Fièvre Hémorragique avec Syndrome Rénal doit donc être envisagée devant un tableau clinique qui associe un syndrome fébrile, des signes d'insuffisance rénale et des manifestations hémorragiques. L'association de ces trois signes cliniques est appelée « triade »<sup>91</sup>.

En France, c'est une maladie bénigne, caractérisée par des symptômes hélas, peu spécifiques.

## **II) LESIONS :**

Les données histologiques disponibles concernent principalement le rein ; en effet l'autopsie n'est que très rarement pratiquée. Seules les biopsies rénales permettent d'évaluer les lésions présentes.

Celles-ci correspondent à des lésions de néphrite tubulo-interstitielle aiguë <sup>42, 48, 114</sup>

On peut observer <sup>114, 118</sup>:

Au niveau des tubules rénaux :

- une dilatation des tubules rénaux
- des signes de dégénérescence des cellules épithéliales (non constants)

Au niveau interstitiel :

- un interstitium oedémateux, congestionné, hémorragique
- une infiltration par cellules inflammatoires
- une dilatation des artérioles et capillaires

Au niveau des glomérules :

- des glomérules peu modifiés
- parfois un œdème péri-glomérulaire,
- des signes d'inflammation
- une cellularité augmentée.

Des études immunohistochimiques, réalisées sur des biopsies rénales, ont révélé la présence d'IgG, IgM, IgA (plus rarement), de fibrine et de fraction C3 du complément <sup>118</sup>. Cela suggère l'existence de complexes immuns circulants de petite et de grande taille. Ces dépôts sont retrouvés au niveau des tubules rénaux <sup>67</sup>, des glomérules, de l'interstitium <sup>118</sup>. Les dépôts semblent moins importants que dans le cas d'une glomérulonéphrite immune chronique. Ils peuvent persister plusieurs mois après le rétablissement clinique.

L'origine de ces complexes immuns est incertaine : sont-ils le résultat d'une réaction in situ entre des anticorps circulants et des antigènes locaux, ou sont-ils préformés avant de se déposer ?

Ils sont présents dès le début (phase fébrile). Cette précocité peut suggérer l'importance des phénomènes immunitaires dans l'origine des symptômes <sup>118</sup>.

Le dépôt de complexes se fait sous forme de foyers. Or, les lésions rénales sont plutôt étendues. Ceci amène donc à penser que les destructions cellulaires induites par l'infection virale peuvent jouer un rôle non négligeable dans l'apparition et l'évolution de l'atteinte rénale <sup>118</sup>.

Les capillaires et petits vaisseaux présentent une paroi oedémateuse. La réaction inflammatoire est importante, on note également la présence de fibrine et d'amas plaquettaire autour de ces vaisseaux <sup>32</sup>. Des études immuno-histochimiques ont démontré la présence de

grande quantité d'antigènes viraux dans les cellules endothéliales<sup>70</sup>. Ces cellules représentent ainsi le principal site de réplication des virus. En effet, il semble que les macrophages, qui participent au transport des Hantavirus, soient également le siège de la réplication virale.

Des autopsies réalisées sur des patients décédés de fièvre hémorragique avec syndrome rénal en Asie ont montré que les lésions visibles sur les autres organes étaient principalement des lésions relatives aux modifications vasculaires, associées parfois à de l'œdème et/ou des infiltrations par des cellules inflammatoires<sup>37, 114</sup>.

On peut s'interroger sur l'intensité des lésions sur ces organes, chez un patient atteint de *Nephropathia epidemica* : en effet, lors de N.E. les manifestations hémorragiques sont discrètes, on peut donc supposer que les lésions sur les différents organes sont moins importantes que dans la forme asiatique.

### III ) PATHOGENIE :

La pathogénie de la Fièvre Hémorragique avec Syndrome Rénal reste hypothétique. Certaines observations ont conduit les scientifiques à considérer la réponse immunitaire de l'hôte comme un facteur déterminant. En effet, en début d'évolution, une augmentation des taux sériques d' Interleukine 6 et 10, du TNF  $\alpha$  a été constatée<sup>49</sup>. Ces fortes concentrations en TNF persistent pendant plus d'une semaine.

En outre, l'interstitium rénal, dès la phase fébrile semble infiltré par des lymphocytes, monocytes, macrophages et polynucléaires<sup>49</sup>. De nombreux lymphocytes T activés CD 8+, ainsi que des lymphoblastes T sont présents dans le sang<sup>95</sup>. Enfin, des complexes immuns circulants, ont été mis en évidence chez des patients et ce, dès le début de la maladie<sup>32, 118</sup>.

Il semble donc que la réponse immunitaire et la réponse inflammatoire soient précoces et intenses<sup>49</sup>. Cette réponse inflammatoire peut être la conséquence de la libération de médiateurs par les cellules infectées, ou peut se développer vis à vis d'antigènes présents dans les complexes immuns<sup>69</sup>.

Envisageons les différentes phases décrites dans l'étude clinique et tentons de comprendre l'origine des principaux symptômes.

### 1°) Phase fébrile :

En début d'infection, le patient présente principalement un syndrome fébrile. L'ensemble de ces symptômes, peu spécifiques, est commun à de nombreuses maladies infectieuses, et peut s'expliquer par la production de nombreuses cytokines<sup>32</sup>. Ces dernières sont libérées par les cellules de l'immunité, en réponse à la présentation par un macrophage, d'un peptide viral à un lymphocyte T. Elles peuvent avoir une action directe, en induisant la lyse des cellules infectées par des LT cytotoxiques, ou indirecte en stimulant la libération d'autres médiateurs.

Dans le cas présent, ce sont majoritairement l'interleukine 1 (IL1), le TNF  $\alpha$ , l'IFN  $\gamma$ .

- IL1 : elle est produite par les monocytes, les macrophages et les lymphocytes B. Elle stimule la prolifération des LT. Elle induit la libération de prostaglandines par l'hypothalamus, qui est à l'origine de la fièvre. Elle induit aussi une leucocytose par son action sur la moelle osseuse et augmente la production de fibrinogène.
- TNF  $\alpha$  : il est produit par les macrophages et les lymphocytes T. Il agit de la même façon sur l'hypothalamus. Il stimule les macrophages et les cellules endothéliales, qui libèrent l'IL1. Il a aussi un effet antiviral.
- IFN  $\gamma$  : il est produit par certains lymphocytes, et les cellules Natural Killer (NK). Il stimule les macrophages pour la synthèse d'IL1 et TNF $\alpha$ . Il a donc un effet indirect<sup>82</sup>.

Ces cytokines suffisent à expliquer l'existence d'un syndrome fébrile.

### 2°) Phase hypotensive :

Cette phase est plus spécifique de la Fièvre Hémorragique. Les patients présentent des modifications hémodynamiques et une hypotension, qui sont la conséquence d'un dysfonctionnement vasculaire. Ce dernier, se manifestant par une augmentation de la perméabilité et une baisse du tonus vasculaires, s'observe précocement<sup>32, 42, 118</sup>.

La baisse du tonus engendre une diminution de la résistance périphérique vasculaire. Celle-ci est temporairement compensée par une augmentation du débit cardiaque. Puis l'hypotension s'installe. Dans les formes sévères, ce choc hypotensif peut conduire à la mort<sup>32</sup>.

De nombreux médiateurs entrent en jeu : le thromboxane, les prostaglandines, les leucotriènes, les fractions du complément, l'oxyde nitrique (NO), l'histamine, la bradykinine, des IL, le TNF $\alpha$ , l' IFN  $\gamma$  <sup>32</sup>. L'oxyde nitrique, qui a une action vasodilatatrice, pourrait jouer un rôle selon certains auteurs <sup>49</sup>, sa synthèse étant induite notamment par le TNF  $\alpha$  . Or, nous avons vu qu'en phase fébrile, les taux de TNF sont élevés <sup>32</sup>.

L'activation du complément est à l'origine de la libération d'histamine qui possède elle aussi, un effet vasodilatateur. Une étude, unique, fait état de taux élevés d'histamine <sup>32</sup>, chez des patients présentant une hypotension.

L'activation du complément est aussi responsable de lésions cellulaires et de l'activation des cellules inflammatoires (voir figure 20). Celles-ci libèrent un certain nombre de médiateurs, tels les leucotriènes, les prostaglandines et le PAF (facteur d'activation plaquettaire) responsables de lésions vasculaires. Enfin, la bradykinine par son effet sur le tonus et la perméabilité, contribue au dysfonctionnement vasculaire qui représente l'élément majeur de la pathogénie de la Fièvre Hémorragique avec Syndrome Rénal <sup>32</sup>.

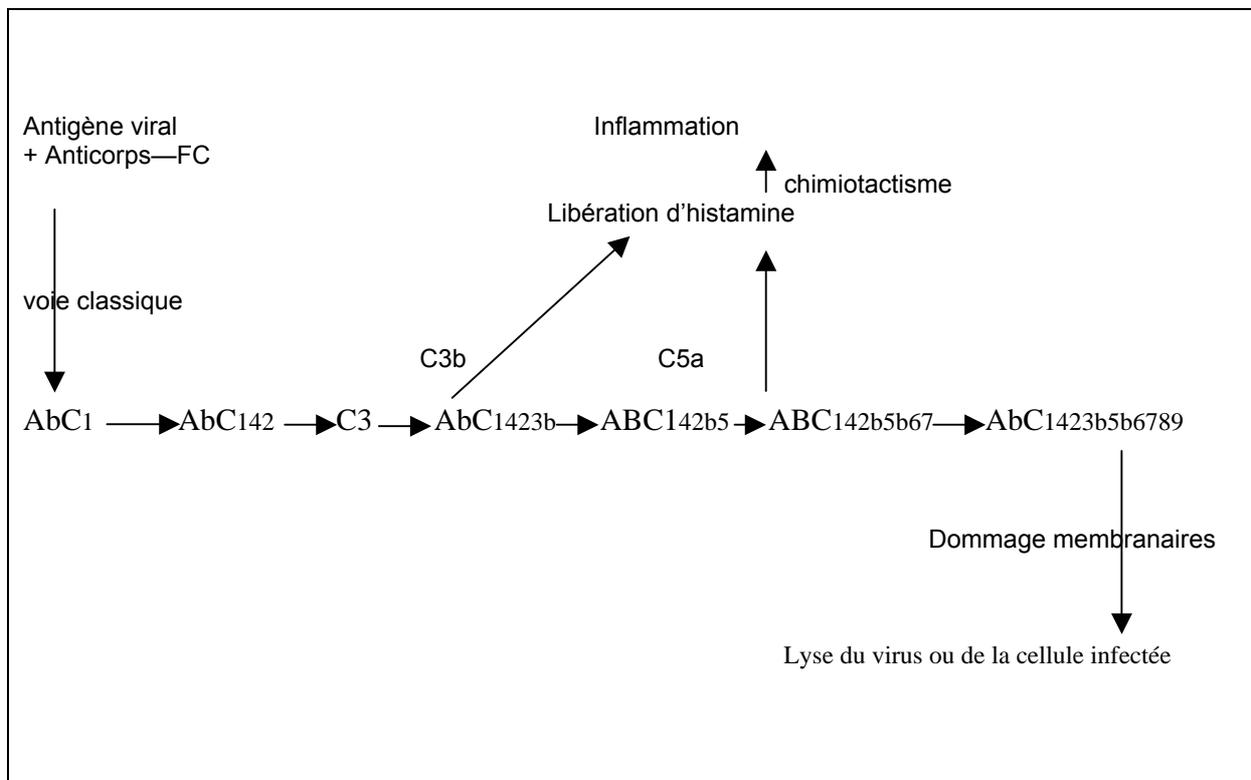


Figure 20 : Activation du complément et action antivirale <sup>82</sup>.

En outre, les manifestations hémorragiques souvent décrites trouvent leur origine dans un dysfonctionnement plaquettaire.

On constate, tout d'abord, une consommation périphérique augmentée : les plaquettes sont utilisées pour combler les brèches vasculaires. Il semble que l'adhésion plaquettaire soit plus marquée au niveau des cellules infectées<sup>32</sup>. Les facteurs de coagulation et les plaquettes étant consommés, il se produit des saignements secondaires. L'agrégation des plaquettes est en partie inhibée par les produits de dégradation de la fibrine. Enfin, la présence de complexes immuns sur la surface des plaquettes entraîne une agrégation puis une lyse par le complément ou une séquestration dans le système des phagocytes mononucléés<sup>32</sup>. Cette anomalie semble commune à de nombreuses fièvres hémorragiques virales (exemple : virus Ebola)<sup>32, 118</sup>.

Tous ces éléments expliquent l'existence d'une thrombopénie, parfois marquée.

### 3°) Phase oligurique :

Le patient présente une insuffisance rénale, plus ou moins sévère. Quels sont les mécanismes conduisant à l'apparition de celle-ci ? L'ensemble de ces mécanismes est présenté figure 21.

L'hypotension peut engendrer une diminution du flux sanguin. Mais ce n'est pas la seule explication à la mise en place d'une insuffisance rénale<sup>32</sup>. Au niveau rénal, on constate en effet une congestion importante<sup>67</sup>, un œdème interstitiel et une dilatation des vaisseaux de la médulla qui est très sensible à l'ischémie. Des lésions cellulaires au niveau des tubules rénaux apparaissent. Le mécanisme reste incertain, mais certains auteurs suggèrent aussi un effet direct du TNF $\alpha$  (nécrose tubulaire)<sup>32</sup>. L'incapacité à concentrer les urines et les troubles de la réabsorption du sodium observés, reflètent ces lésions tubulaires.

Enfin, un dernier élément peut participer à la mise en place de l'insuffisance rénale, c'est la diminution de stock d'ATP disponible pour les cellules rénales, pouvant conduire à la mort de ces cellules<sup>32</sup>.

Les médiateurs impliqués dans ces différents mécanismes seraient le TNF $\alpha$ , le système rénine angiotensine (SRAA) et les prostaglandines<sup>32</sup>.

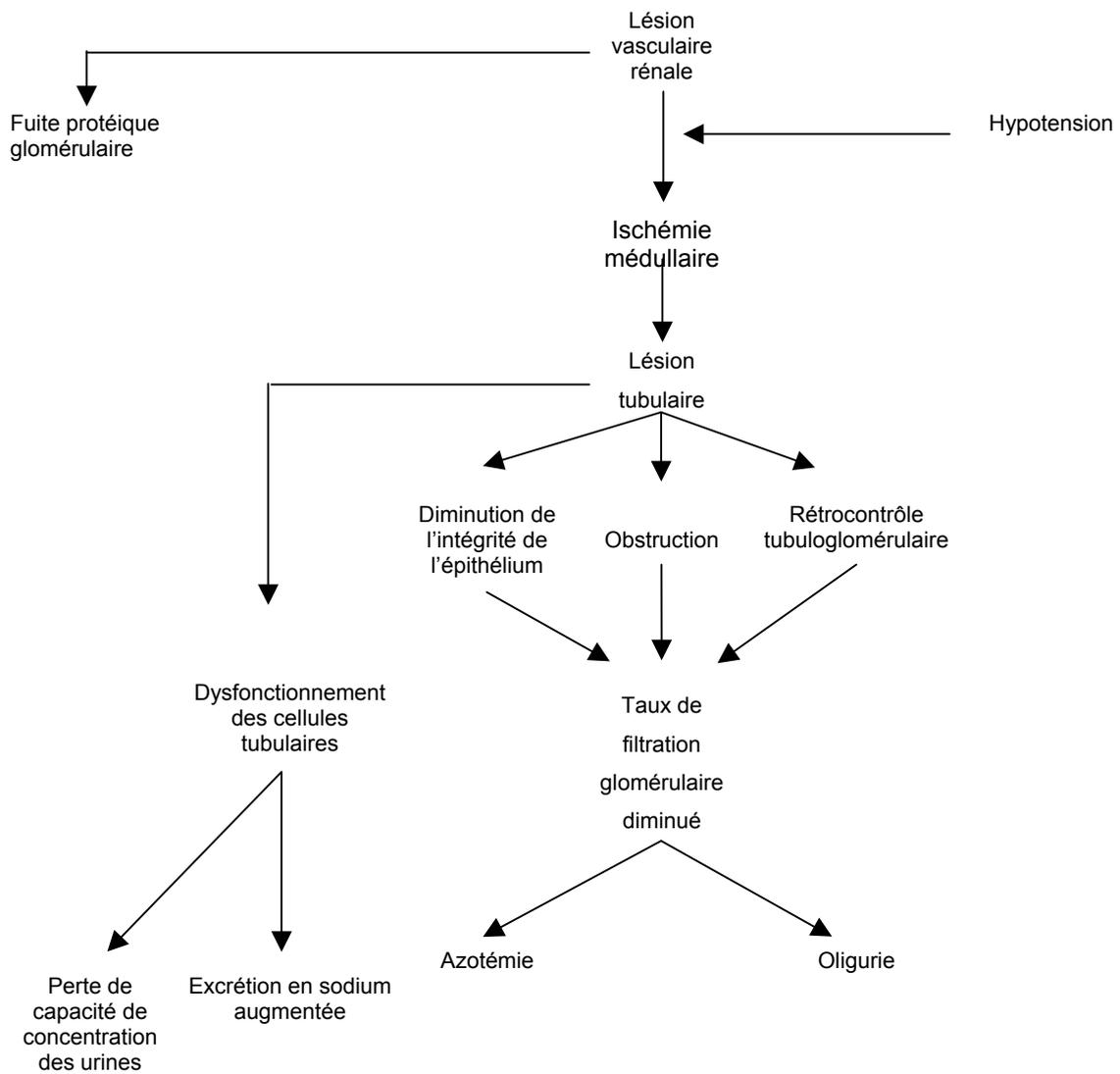


Figure 21 : développement de l'insuffisance rénale <sup>32</sup>

#### 4°) Phase polyurique :

La polyurie semble être la conséquence de l'incapacité à concentrer les urines. L'hypertension artérielle, fréquemment décrite, peut s'expliquer par la mise en œuvre du système SRAA qui augmente la résistance périphérique vasculaire, et par une inversion des fuites capillaires. Le système  $\alpha$  adrénergique semble contribuer aussi à l'augmentation du tonus vasculaire <sup>32</sup>.

### 5°) Synthèse :

Une première conclusion peut être faite : de nombreux symptômes sont engendrés par la réponse de l'hôte. Certains auteurs envisagent la Fièvre Hémorragique avec Syndrome Rénal comme une maladie à médiation immune<sup>32</sup>. (voir figure 22)

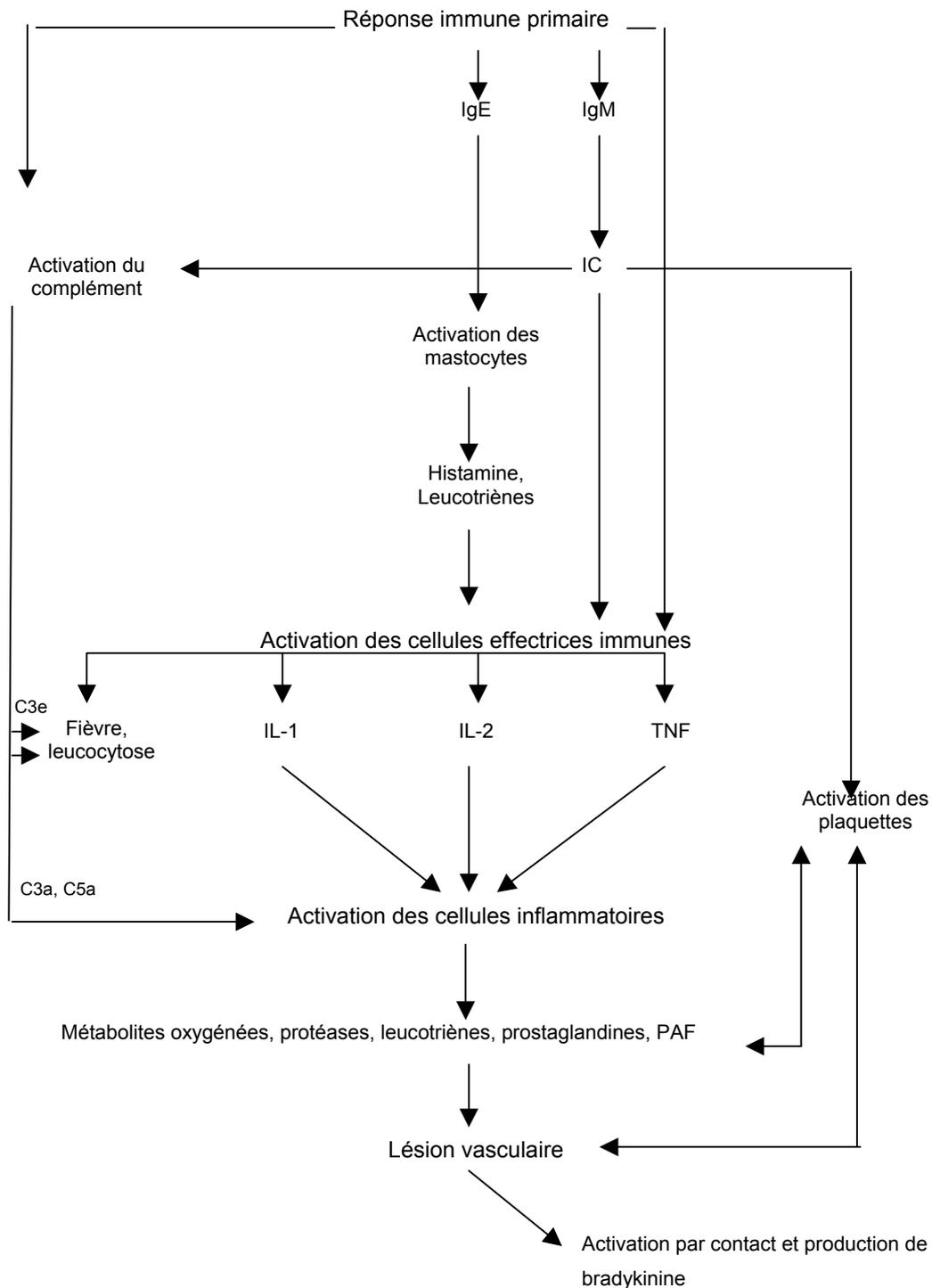


Figure 22 : La FHSR comme maladie à médiation immune<sup>32</sup>

Certains éléments semblent appuyer cette thèse. La réaction immunitaire est précoce : des anticorps spécifiques sont retrouvés dès la phase fébrile. Des complexes immuns circulants sont présents dès le début de l'infection. Ces complexes se déposent au niveau rénal<sup>25</sup>, et ont aussi été détectés sur les plaquettes sanguines, sur les globules rouges<sup>25,32</sup>.

L'existence de ces complexes engendre l'activation du complément. Cette dernière est plus marquée chez des patients plus gravement touchés, avec une atteinte vasculaire plus prononcée. Il semble que des patients qui développent une réponse immunitaire plus vive, présentent une forme clinique plus sévère.

Des modifications quantitatives et fonctionnelles des lymphocytes sont aussi décrites : baisse d'activité des LT supresseurs, augmentation des LT cytotoxiques, augmentation des LT CD8+ modifiant ainsi le ratio CD4 : CD8 . Cette réponse immunitaire est donc humorale et à médiation cellulaire<sup>25</sup>.

Certains auteurs estiment que les Ig E spécifiques joueraient un rôle dans la pathogénie de l'Hantavirose : en effet, des complexes immuns associant les Ig E ont été retrouvés dans le sérum de patients et dans les reins (découverte d'autopsie). Le taux d'Ig E semble diminuer lorsque la guérison clinique apparaît. La Fièvre Hémorragique avec Syndrome Rénal pourrait donc présenter une composante allergique<sup>32</sup>.

Le rôle du virus reste obscur. In vitro, les Hantavirus n'ont pas d'effet<sup>101, 118</sup> cytopathique. La réplication dans les cellules endothéliales<sup>42, 118</sup> est l'un des rares éléments connus.

Pourtant, l'étendue des lésions rénales ne peut s'expliquer uniquement, par le dépôt de complexes immuns<sup>118</sup>. Elle résulte peut-être d'une action directe du virus. La réplication virale pourrait être à l'origine de réactions inflammatoire et immunitaire exacerbées.

De plus, l'utilisation de molécules antivirales, telles que la ribavirine , semble efficace dans le traitement de l'Hantavirose<sup>57</sup> : elle réduit la virémie et diminue la quantité de complexes immuns circulants. Par conséquent, il semble évident que les Hantavirus participent à l'apparition des symptômes. Mais dans quelle mesure ?

Le dysfonctionnement vasculaire explique les principaux signes cliniques, mais quelle en est son origine ? Est-il dû à la multiplication du virus dans les cellules endothéliales ou à l'action de médiateurs ? L'hypothèse la plus vraisemblable est que son origine est à la fois virale et immune<sup>32</sup>.

Ainsi, la réponse immunitaire joue un rôle important dans la pathogénie de la Fièvre Hémorragique avec Syndrome Rénal : la libération de médiateurs de l'inflammation, de médiateurs du système immunitaire, rendue possible par l'augmentation de la perméabilité vasculaire, explique l'apparition de nombreux symptômes.

Les virus ont certainement une action directe, mais celle-ci n'est pas encore quantifiée.

#### **IV DIAGNOSTIC :**

La fièvre Hémorragique avec Syndrome Rénal présente deux particularités qui rendent le diagnostic difficile <sup>42, 70</sup> :

- les symptômes sont non spécifiques
- les formes frustres sont fréquentes.

Ainsi, le médecin n'aura souvent qu'une suspicion clinique. Toutefois, plusieurs éléments peuvent évoquer une infection par les Hantavirus. Il est donc important de pouvoir les reconnaître afin d'avoir recours aux examens de laboratoire, qui sont les seuls à apporter un diagnostic de certitude.

##### 1°) Diagnostic clinique :

Il repose en fait sur l'observation de certains signes cliniques dans un contexte épidémiologique donné <sup>42</sup>. Le recueil des commémoratifs est une étape importante. Face à un patient originaire des zones d'endémie, présentant un syndrome pseudo grippal, il faut rechercher :

- un contact avec les rongeurs (sauvages ou animaux d'expérimentation)
- une exposition aux facteurs de risque (activités professionnelles ou de loisirs) <sup>49, 71</sup>.

La connaissance des signes cliniques et du cycle épidémiologique est essentielle, non seulement pour tenter d'établir un diagnostic, mais aussi pour éviter des erreurs thérapeutiques, comme la prescription d'anti-inflammatoires non stéroïdiens, ou des examens complémentaires inutiles.

Du point de vue clinique, la « triade », c'est à dire l'association de la fièvre, des signes d'insuffisance rénale aiguë et des troubles hémorragiques, doit fortement évoquer une infection aux Hantavirus<sup>6, 32</sup>. La succession de ces différents signes est particulièrement caractéristique. Seule l'existence d'une myopie transitoire est pathognomonique, mais elle n'est signalée que dans 30 % des cas<sup>9, 33, 71</sup>.

Du point de vue biologique, Il faut rechercher une thrombopénie. La numération plaquettaire, ainsi que le dosage de la créatinémie sont des examens simples et judicieux qui peuvent apporter un élément de réponse, notamment en présence d'une forme frustre<sup>91, 94</sup>.

L'existence de symptômes peu spécifiques implique que la Fièvre Hémorragique avec Syndrome Rénal peut être confondue avec plusieurs affections :

- La leptospirose<sup>73, 114</sup> : c'est une zoonose bactérienne due à *Leptospira interrogans*. L'homme est contaminé par manipulation d'animaux infectés (rats, chiens, porcs, hérissons) ou indirectement par l'intermédiaire d'eaux souillées par les urines de rongeurs.

La leptospirose se caractérise par un début fébrile, un ictère, un syndrome hépatique, un syndrome rénal et parfois des troubles hémorragiques ou respiratoires. Mais il existe des formes anictériques, des formes « grippales ». La confusion est possible, en particulier avec une infection par le virus Séoul, où le patient peut présenter un ictère<sup>27</sup>.

Toutefois, la présence de douleurs abdominales, ou de troubles oculaires, permet de différencier ces deux affections<sup>33</sup>.

- Affections respiratoires virales<sup>114</sup> ( ex : Influenza)

En effet, en début d'évolution, il existe dans les deux cas, un syndrome fébrile, des céphalées et des myalgies. Mais dans le cas des affections virales respiratoires, la thrombopénie, la protéinurie ne sont pas présentes.

- Pyélonéphrite<sup>114</sup> :

Dans ce cas, les renseignements fournis par l'analyse d'urine diffèrent : en effet, on note la présence de bactéries, de leucocytes et une modification du pH urinaire.

- Insuffisance rénale iatrogène (néphrite interstitielle) secondaire aux AINS, ou antibiotiques<sup>114</sup> :

Les commémoratifs sont différents. De plus, pour l'Hantavirose, il existe un syndrome fébrile, une thrombopénie et parfois des manifestations neurologiques.

- Autres affections virales : mononucléose, méningite, hépatite <sup>114</sup>
- Autres affections bactériennes : pneumonie, ornithose (zoonose due à *Chlamydia psittaci* transmise par les oiseaux) <sup>114</sup>.

Il est donc difficile de poser un diagnostic d'infection aux Hantavirus d'après la clinique. Seuls les examens de laboratoire, tels que la sérologie, la recherche d'antigènes ou d'ARN, ou l'isolement du virus, peuvent confirmer ou infirmer l'hypothèse formulée par le médecin.

## 2°) Diagnostic de laboratoire :

### a) Mise en évidence du virus :

#### **Culture et isolement :**

Pour la culture cellulaire, on peut utiliser trois types de culture <sup>80</sup> : des cultures primaires, des lignées de cellules diploïdes, des lignées cellulaires dérivées de tissus sains ou de tissus tumoraux. On recherche principalement des effets des virus sur ces cellules tels que des lyses, des vacuolisations du cytoplasme, l'apparition de cellules géantes ou d'inclusions.

Pour les Hantavirus, ce sont les cellules Vero E6 <sup>71</sup> (correspondant au troisième type présenté) qui sont préférentiellement utilisées.

La culture cellulaire est difficile (cf : première partie), c'est une méthode longue et incertaine. Elle nécessite de nombreux passages en aveugle et la croissance des souches virales est longue. De plus, aucun effet cytopathologique n'est visible <sup>71, 82, 112</sup>.

Des mesures de sécurité contraignantes sont indispensables, il faut notamment des mesures de confinement de type 3. L'arrêté du 13 août 1996, relatif aux mesures techniques de prévention est présenté en annexe.

L'isolement des Hantavirus sur patients est laborieux. En France, en 1990, la souche PUU 90-13 est isolée à partir du sérum d'un malade. L'échantillon prélevé le sixième jour de l'infection a été ensemencé sur des cellules Vero E6. L'ensemble a subi une incubation de 14 jours à 37°C. Des antigènes viraux ont été détectés par immunofluorescence dans 10 à 15 % des cellules à 45 jours, et dans 50 à 60 % des cellules à 60 jours. Aucun effet cytopathologique n'a été observé. Grâce à la RT-PCR et au typage sérologique, la souche virale est identifiée

comme appartenant au sérotype Puumala, mais elle représente une nouvelle lignée dans ce groupe. C'est le premier isolement sur sérum réussi en France <sup>19, 106</sup>.

C'est une méthode de diagnostic qui n'est pas fréquemment utilisée, étant donné ses nombreux inconvénients.

### **Recherche d'antigènes ou de segments génomiques :**

- La recherche d'antigènes par immunofluorescence directe ou ELISA est possible. Mais elle est liée à la durée de la virémie (7 jours) et est donc peu utilisée en pratique. Pourtant, il a été démontré que les méthodes diagnostiques directes sont plus sensibles en tout début de maladie. Tsai rapporte que, dans la première semaine, 87% des patients sont positifs pour la recherche d'antigènes et que seulement 29 % des patients sont séropositifs <sup>118</sup>.

- La recherche d'antigènes peut se faire également par immuno-histochimie, sur des biopsies rénales. Il semble évident que cette recherche ne peut s'effectuer en routine pour le diagnostic de N.E.

- La recherche de fragment génomique grâce au développement de techniques nouvelles telles que la P.C.R. (polymerase chain reaction) est possible. C'est une méthode d'amplification élective in vitro, très sensible. Elle permet d'amplifier une région très précise du génome <sup>62</sup>. Au cours d'un cycle d'amplification, la quantité de matériel génétique est doublée. Ce cycle comporte trois étapes : la dénaturation, l'hybridation et l'élongation. Ces cycles sont renouvelés 20 à 50 fois. Cette technique nécessite une enzyme, des nucléotides, des amorces, du magnésium qui stabilise les nucléotides et catalyse la réaction, le fragment d'ADN ou d'ARN.

Pour les virus à ARN, en l'occurrence les Hantavirus, il est nécessaire d'utiliser une enzyme, la reverse transcriptase qui permet de transformer l'ARN en ADN. On parle donc de RT-PCR. C'est une méthode rapide qui permet notamment de différencier les différentes souches virales. Elle a permis entre autre, de séquencer en partie, des souches PUU isolées en France, en Belgique et en Allemagne <sup>91, 106</sup>.

Pourtant c'est une technique onéreuse et qui donne de nombreux « faux positifs », dont l'inconvénient majeur est la contamination des échantillons <sup>62</sup>. Elle n'est donc pas utilisée couramment pour le diagnostic.

### **b) Sérologie :**

☞ Tout d'abord, quelques rappels concernant la réponse immunitaire développée chez le patient sont nécessaires. Deux types d'immunoglobulines (Ig) entrent principalement en jeu : les Ig M, et Ig G.

- Les Ig M :

Elles sont détectées dès le début de la maladie ; il semble même qu'elles soient détectables dans les premières 24 heures <sup>87</sup>. La première semaine, 80 à 100 % des patients possèdent des Ig M spécifiques <sup>118</sup>. Elles peuvent persister dans le sérum pendant plusieurs mois. Le pic en Ig M se situe entre le 9<sup>ème</sup> et 15<sup>ème</sup> jour <sup>42, 87</sup>.

- Les Ig G :

Elles apparaissent peu de temps après les Ig M et sont détectables pendant des décennies <sup>42, 74</sup>. Parmi ces Ig G, les Ig G1 sont les plus importantes : elles représentent 65 % des immunoglobulines G.

Les Ig G1 peuvent être dirigées contre les trois protéines virales : la protéine N, et les glycoprotéines G1 et G2. Il en est de même pour les autres Ig G. Le taux des Ig G1 augmente progressivement. En revanche, la plupart des patients sont séronégatifs pour une recherche des Ig G2 <sup>74</sup>.

Les Ig G3 sont particulières car il semble que les Ig G3 anti-protéine N et Ig G3 anti-protéine G1 connaissent un pic de concentration lors de la phase de convalescence, alors que les Ig G3 anti-protéine G2 connaissent un pic lors de la phase aiguë.

Les Ig G4 persistent à un fort taux même deux ans après l'infection <sup>74, 87</sup>.

D'après une expérience menée par Brummer-Korvenkontio, sur des patients atteints de N.E.<sup>21</sup>, la réponse en anticorps (Ac) est précoce, les titres en Ac augmentent de façon prolongée, puis diminuent progressivement pendant des années.

La présence durable d'anticorps est en faveur d'une persistance virale ou d'une réactivation du virus <sup>74</sup>. C'est en accord avec le fait qu'aucune ré-infection n'a été observée <sup>21, 56</sup>.

En conclusion, les immunoglobulines peuvent être détectées précocement. La persistance des Ig G, notamment les Ig G4, à de forts taux, permet de confirmer qu'un patient a été en contact avec un Hantavirus, mais ne permet pas de témoigner d'une infection actuelle.

☞ Présentation des différentes techniques sérologiques <sup>89, 105</sup> :

# technique ELISA = enzyme linked immunosorbent assay

Le principe de cette technique repose sur la mise en évidence des complexes Ag- Ac, grâce à des marqueurs enzymatiques révélés par la transformation d'un substrat coloré.

Cette technique a pour inconvénient de donner des faux positifs.

**La technique d'amplification (PCR)**  
 Le DNA contenant la séquence à amplifier (A) est chauffé à 90 °C afin de séparer les deux brins, qui après refroidissement à 50 °C (cette température est en fait fonction de la séquence des amorces utilisées) s'hybrident avec les amorces (B) constituées d'oligonucléotides de 20 à 25 bases s'hybridant parfaitement avec les extrémités 3' de la portion de séquence à amplifier. La Taq polymérase (DNA polymérase thermostable) synthétise le brin complémentaire à partir de ces amorces (C). Le nombre de copies de la séquence a été doublé en 6 min. Le même cycle est répété autant de fois que nécessaire. Dans la pratique le nombre de cycles est d'environ 30.

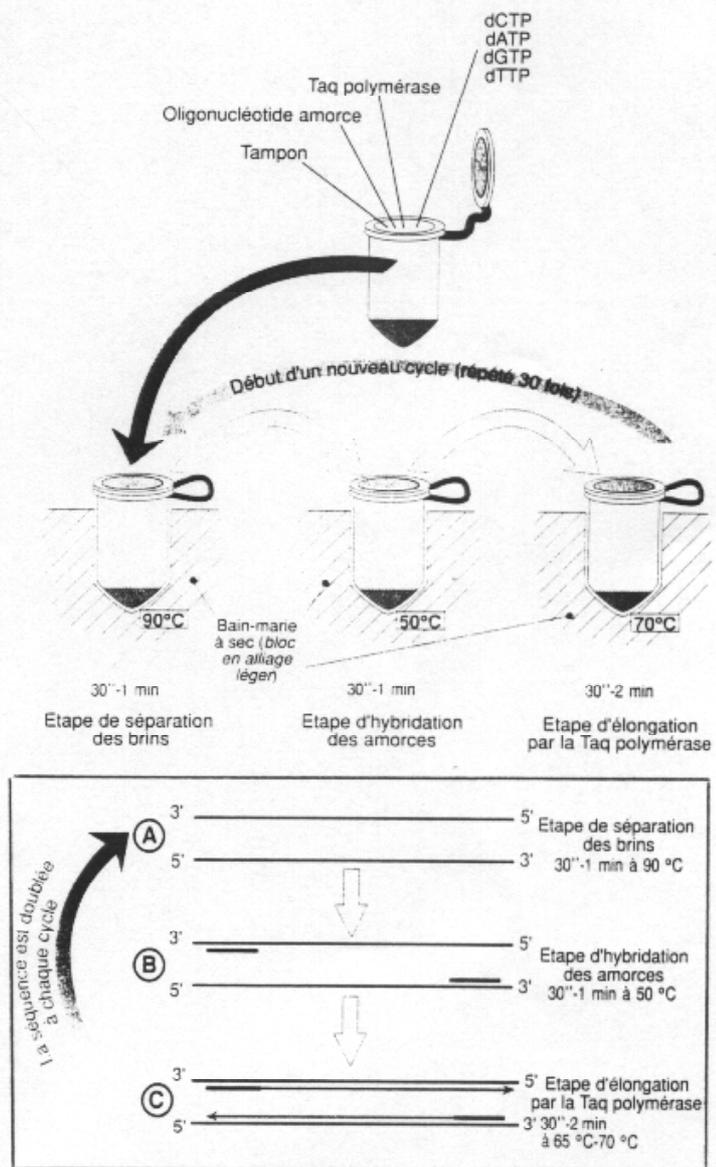
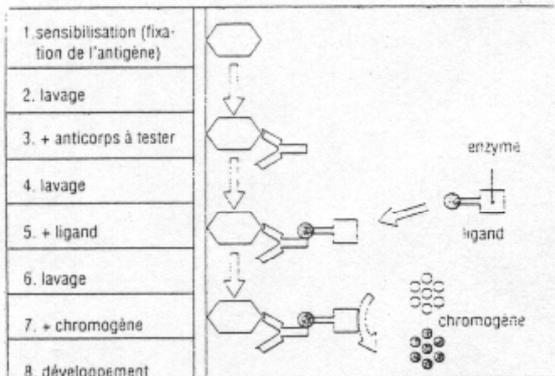
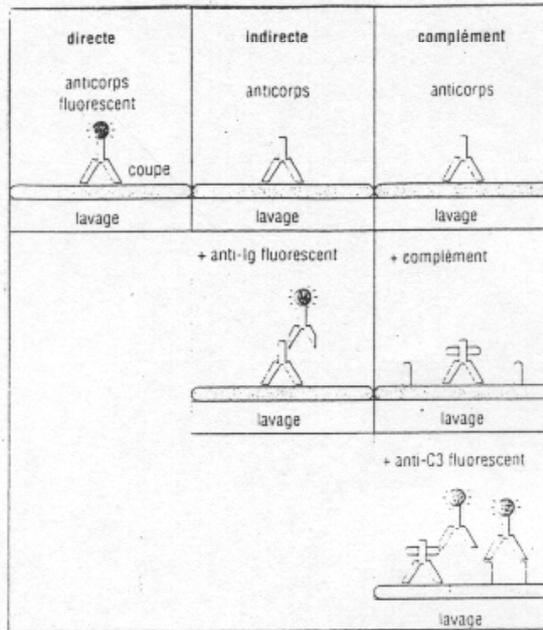


Figure 23 : La technique d'amplification (PCR) <sup>62</sup>

Immunofluorescence (I.F.) directe et indirecte



Le principe de l'ELISA (Enzyme Linked Immunosorbent Assay) est illustré. La plaque d'ELISA est préparée comme pour le RIA jusqu'à l'étape 4. Le ligand est une molécule couplée à une enzyme telle que la peroxydase. Il se fixe à l'anticorps à doser et, après lavage (6), est révélé par

l'addition d'un chromogène (7), substrat incolore activé par la portion enzymatique du ligand pour donner un produit coloré. Une plaque développée est montrée à droite. La quantité d'anticorps est déterminée à partir de la mesure de la densité optique des puits de la plaque, due à l'apparition du produit coloré.

Principaux enzymes, substrats et chromogènes utilisés dans les techniques immunoenzymatiques.

Enzymes	Substrats	Chromogènes	Couleur du produit
Peroxydases	Peroxydes	Diaminobenzidine (DAB)	Brune
		Orthophénylène-diamine (OPD)	Jaune orangée
		Tetraméthylbenzidine (TMB)	Bleue
		Ethylbenzothiazoline sulfate (ABTS)	Verte
Phosphatases alcalines	X-HPO <sub>4</sub>	Paranitrophényl phosphate	Jaune

Figure 24 : Immunofluorescence et ELISA <sup>89, 105</sup>

#### # Immunofluorescence indirecte :

Cette technique vise aussi à mettre en évidence des réactions Ag –Ac. Le principe repose sur l'utilisation d'anticorps marqués par un fluorochrome (conjugués d'isothiocyanate de fluorescéine ou de rhodamine).

Elle reste la technique la plus utilisée.

#### # Autres techniques sérologiques :

- Séro-neutralisation et Hémagglutination : elles sont principalement utilisées pour le sérotypage <sup>42</sup>.
- Test de l'affinité fonctionnelle des Ig G par immunofluorescence indirecte : c'est un test rapide, très sensible et spécifique. Les résultats sont disponibles sous 2 jours <sup>50</sup>.

☞ Actuellement, les antigènes utilisés sont principalement les protéines virales obtenues à l'aide du génie génétique <sup>54</sup>. Brummer Korvenkontio, en 1980, rapporte l'utilisation de section de poumons congelées, fixées par l'acétone comme antigène, pour un diagnostic par immunofluorescence indirecte <sup>21</sup>.

☞ En France, le Centre National de Référence des Fièvres Hémorragiques Virales (Institut Pasteur) reçoit la totalité des demandes de diagnostics.

En 1983, des chercheurs français ont accès, pour la première fois, aux outils diagnostiques. Ils disposent des lames utilisées pour une méthode sérologique (IFI). Ces lames sont préparées à Atlanta à partir de cellules Véro E6 infectées par la souche HTN 76-108. Plus tard, d'autres lames préparées à partir des virus PUU seront disponibles. Celles-ci sont utilisées jusqu'en 1985 par le CNR-FHV et par l'Hôpital C.Bernard <sup>71</sup>.

En 1985, le CNR-FHV réussit à cultiver différents virus pour préparer ses propres lames. Il devient le seul organisme français à effectuer le diagnostic d'Hantavirose. La souche PUU 90-13, isolée en 1990 sert alors de référence pour le diagnostic des infections aux Hantavirus <sup>71</sup>.

L'actuel protocole du CNR-FHV est le suivant <sup>71</sup>:

- Dépistage par ELISA direct.
- Confirmation par recherche d'Ig M par MAC-ELISA (recherche d'une infection précoce) et recherche d'Ig G par I.F.I. (infection ancienne).

Des kits commerciaux utilisant des protéines recombinées vont bientôt être disponibles. Mais ces tests restent moins sensibles.

N.B. : Certaines recommandations sont faites par le Centre, pour l'envoi des échantillons : il est conseillé de prélever 3 mL de sérum, et de placer le tube dans des boîtes isothermes à +4°C <sup>23</sup>

## V TRAITEMENT :

Malheureusement, il n'existe pas de traitement spécifique. C'est principalement un traitement symptomatique qui est mis en place. L'absence de modèles animaux (l'homme semble en effet être la seule espèce à déclarer la maladie) complique l'avancée des recherches dans ce domaine <sup>53</sup>. De plus, nous avons vu que la réponse de l'hôte était principalement à l'origine des symptômes.

Ce traitement est à corriger ou modifier en fonction de l'évolution de la maladie (étape fébrile/ étape d'atteinte rénale) .

Tout d'abord, on peut administrer des analgésiques, antipyrétiques et anti-inflammatoires <sup>42</sup>. Les anti-inflammatoires non stéroïdiens, peu recommandés, sont malheureusement parfois donnés avant que le diagnostic ne soit établi . Il peuvent aggraver l'insuffisance rénale. Une couverture antibiotique est conseillée afin d'éviter une surinfection bactérienne <sup>42,118</sup>.

L'hospitalisation est de rigueur dans certains cas graves.

Les malades, parfois déshydratés, nécessitent une fluidothérapie adaptée, corrigeant les déséquilibres acido-basiques. Toutefois, elle n'est pas à mettre en œuvre systématiquement <sup>118</sup>.

Plusieurs auteurs rapportent les cas de patients ayant eu recours à l'hémodialyse, mais pour qui la récupération fonctionnelle a été complète <sup>48, 125</sup>. Si une insuffisance rénale chronique s'installe il convient, bien évidemment, d'adapter le traitement <sup>48</sup>.

De même le médecin peut être amené à prescrire des médicaments anti-hypertenseurs, si le patient présente une hypertension artérielle résiduelle <sup>24</sup>.

L'efficacité de certaines molécules, notamment les molécules antivirales a été étudiée. Certaines présentent un intérêt dans le traitement de la Fièvre Hémorragique avec Syndrome Rénal. C'est la cas de **la ribavirine** <sup>7, 11, 20</sup> .

La ribavirine ou 1-β- D ribofuranosyl-1,2,4- triazole-3-carboxamide est un analogue des nucléosides, dérivé de la guanosine. Elle a été découverte en 1972 par R.W.Sidwell <sup>11</sup>. Son activité contre les virus à ADN et virus à ARN est reconnue.

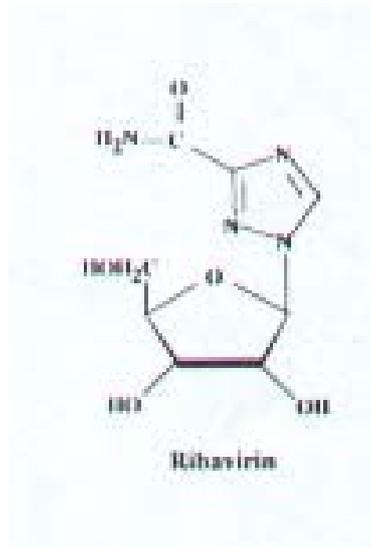


Figure 25 : Structure de la Ribavirine <sup>11</sup>

Elle est active sur les Orthomyxoviridae (virus de la grippe A et B), Paramyxoviridae, Bunyaviridae, Arenaviridae (fièvre de Lassa), Reoviridae, Togaviridae, Poxviridae, Picornaviridae <sup>7</sup>.

In vitro, elle semble très efficace sur le virus Hantaan <sup>20</sup> ; en revanche, ses dérivés (ribamidine, sélénazofurine, tiazofurine...) ne sont pas actifs sur les Hantavirus <sup>20</sup>.

Une étude prospective menée en Chine, dans le milieu des années 80 (forme asiatique/ virus HTN), étude en double aveugle, contrôlée par placebo <sup>57</sup>, a démontré que l'administration de ribavirine provoquait une diminution de la virémie, une réduction du taux de létalité et des « pics » de créatinémie moindres <sup>20</sup>. Il semble aussi qu'elle puisse diminuer la durée de la phase oligurique <sup>20, 57</sup>. Elle n'a, en revanche, aucun effet sur la fièvre ou l'hypotension.

Si elle est donnée précocement, dans les 4 premiers jours après le début des symptômes, la ribavirine en I.V. est efficace dans le traitement de l'hantavirose <sup>27, 57</sup>. Elle reste inefficace sur des patients dont la maladie est bien avancée <sup>7</sup>.

Elle présente néanmoins certains inconvénients <sup>7, 11</sup> :

- apparition d'une anémie, réversible après l'arrêt du traitement

- perte de poids
- troubles gastro-intestinaux parfois
- toxicité : tératogène, carcinogène, embryotoxique.

Le mode d'action de la ribavirine, présenté figure 26, n'est que partiellement connu.

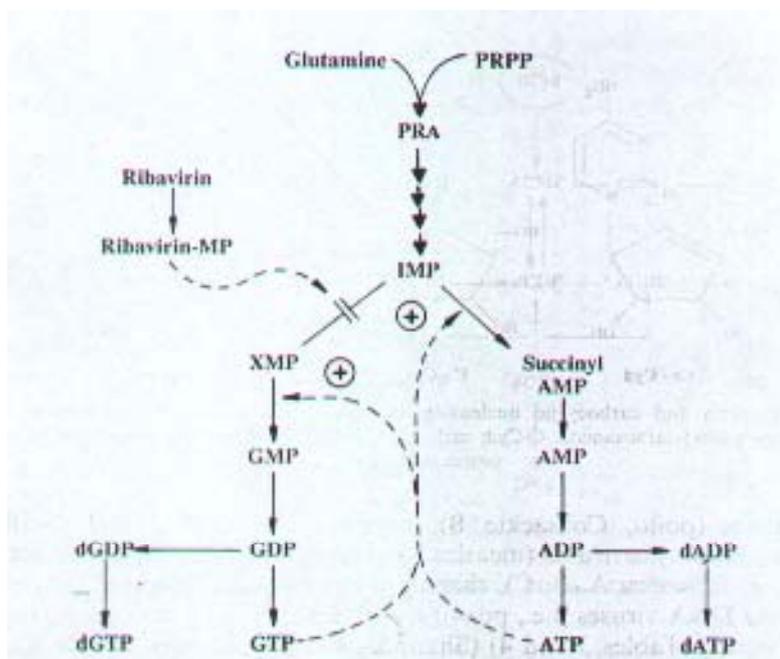


Figure 26 : Mode d'action de la Ribavirine <sup>7</sup>

C'est un inhibiteur de l'IMP déshydrogénase (inosine monophosphate) : elle bloque la synthèse de GMP, GDP, GTP nécessaires à la réplication virale <sup>7,11</sup>.

Son action dépend aussi de sa conversion intracellulaire en forme monophosphate. Elle a une action directe grâce à l'inhibition de l'IMP déshydrogénase et une action indirecte grâce à l'inhibition de l'adénylsuccinatesynthétase par manque du cofacteur GTP <sup>7</sup>. Elle induit une baisse de la synthèse d'ATP. De plus, la ribavirine pourrait agir aussi, sous forme triphosphate, en interférant directement dans la réplication et dans les premières étapes de la transcription <sup>7</sup>.

C'est la seule molécule antivirale qui semble avoir un effet bénéfique chez des patients atteints de certaines fièvres hémorragiques virales <sup>7</sup>.

D'autres molécules pourraient avoir des effets positifs dans le traitement de l'Hantavirose. Toutes doivent être utilisées précocement pour être bénéfiques :

- interféron  $\alpha$  (et inducteurs) :

Des études in vitro prouvent qu'il inhibe la réplication des Hantavirus<sup>20</sup>. Il permet de diminuer la sévérité de la maladie<sup>118</sup>. Il est plutôt utilisé en prophylaxie<sup>20</sup> ou au tout début de l'infection.

- association : acide acétylsalicylique + cyclophosphamide + cytosine arabinoside<sup>32</sup>.

Cette combinaison diminue les taux sériques d' IgE et d'histamine. La cyclophosphamide (immunosuppresseur) semble ralentir l'évolution vers la phase oligurique<sup>32</sup>.

- interféron et ribavirine semblent présenter une certaine efficacité .

Rappelons qu'en thérapie antivirale, il existe trois démarches : l'administration de molécules antivirales, la vaccination, l'administration d'anticorps. En ce qui concerne cette dernière approche, il se pourrait que l'utilisation d'anticorps monoclonaux fournisse une certaine protection à l'individu<sup>20</sup>. Des études plus poussées sont encore nécessaires dans ce domaine. La connaissance plus approfondie des mécanismes viraux (adsorption et récepteurs cellulaires par exemple) permettra d'envisager certainement d'autres perspectives thérapeutiques. L'utilisation de vaccins sera envisagée ultérieurement.

## **VI ASPECT MEDICO-LEGAL :**

- L'infection aux Hantavirus n'est pas une maladie à déclaration obligatoire.
- Elle figure sur la liste des maladies professionnelles agricoles.

### 1°) Définition :

Une maladie est « professionnelle » si elle est la conséquence directe de l'exposition d'un travailleur à un risque physique, chimique, biologique ou résulte des conditions dans lesquelles il exerce son activité professionnelle.

En 1996, la maladie est inscrite au tableau n° 56 du régime agricole sous la dénomination « Infection professionnelles à Hantavirus ». Le décret relatif à cette inscription est le décret n° 96 – 70 du 29 janvier 1996.

En 1999, le Décret n° 99 – 95 du 15 février 1999 ajoute, entre autres, aux tableaux des maladies professionnelles annexés au livre IV du Code de la Sécurité Sociale, le tableau n° 96

relatif aux « Fièvres hémorragiques avec syndrome rénal dues aux agents infectieux du groupe Hantavirus ».

Les décrets et les listes afférentes des maladies professionnelles sont présentées en annexes II et III.

## 2°) Démarches administratives :

La demande de reconnaissance de la maladie professionnelle incombe au patient. Ce dernier ne bénéficie plus de la présomption d'origine : le lien direct entre la maladie et le travail doit être établi.

Le malade doit envoyer cette demande à la Caisse Primaire d'Assurance Maladie en y adjoignant le certificat médical descriptif rédigé par son médecin traitant. Ce certificat est rédigé en quadruple exemplaire, dont l'un est remis à l'employeur concerné. Si un arrêt du travail est nécessaire, il est également prescrit par le médecin traitant.

La Caisse Primaire ouvre alors une enquête médicale et administrative.

Le service de médecine du travail vérifie que les conditions correspondent aux conditions fixées par la loi.

Depuis 1993, (loi n° 93 – 121 du 27 janvier 1993) il est possible de reconnaître le caractère professionnel d'une maladie même si une des conditions mentionnées par le tableau n'est pas remplie (liste des travaux, durée d'exposition...).

En cas de séquelles, un taux d'incapacité partielle peut être déterminé par les médecins de la Caisse Primaire, en vue d'une indemnisation.

Dans le cas des professionnels de l'agriculture, les mêmes démarches doivent être entreprises auprès de la Mutualité Sociale Agricole.

L'assurance contre les accidents et maladies professionnelles vient d'être modifiée. La nouvelle assurance, dénommée « AAEXA » (assurance accidents du travail des exploitants agricoles) est entrée en vigueur le 1<sup>er</sup> avril 2002. Elle améliore, entre autres, le niveau des prestations et prévoit l'institution d'un fond de prévention afin de mener des actions visant à réduire les risques de maladies professionnelles.

Ainsi, un patient atteint de Fièvre Hémorragique avec Syndrome Rénal, attestée par le corps médical, peut, si son activité professionnelle l'expose à un risque de contamination, faire reconnaître sa maladie comme maladie professionnelle.

## VII PROPHYLAXIE :

### 1°) Prophylaxie sanitaire :

Les rongeurs sont très fréquemment impliqués dans la dissémination des zoonoses, du fait de leur abondance numérique<sup>53, 104</sup> et de leur capacité de colonisation de milieux très disparates.

Dans des conditions d'environnement diversifié, différentes contraintes naturelles régulent les populations de rongeurs.

Dans certaines circonstances, leur potentiel de reproduction peut s'exprimer plus largement. Des pullulations ponctuelles et cycliques se manifestent<sup>104</sup>. Des modifications environnementales peuvent favoriser l'habitat d'une espèce, donc sa reproduction. Par exemple, l'augmentation des surfaces herbagères et les opérations de remembrement, sont favorables au campagnol des champs (*Microtus arvalis*). Il a été constaté, en Franche-Comté, que les pullulations de ce campagnol restent périodiques et qu'elles s'accompagnent d'une tendance à la synchronisation des variations de densité des populations de rongeurs de taille analogue. C'est le cas du campagnol roussâtre (*C. glareolus*) qui, bien que forestier, voit ses populations varier avec celles du campagnol des champs<sup>23</sup>.

A contrario, il semble que des facteurs associés à la structure du paysage, tels que des haies, des zones bocagères, voire même des murets, diminuent ces risques de pullulation.

Les prédateurs des rongeurs sont également affectés par l'évolution des pratiques agricoles.

L'éradication totale des rongeurs est illusoire<sup>116</sup> ! Il convient donc d'opter pour une stratégie réaliste qui tient compte du biotope, des rythmes naturels des animaux. Il faut gérer au mieux les activités agricoles, afin de contrôler les populations de rongeurs, et préserver ainsi un certain équilibre. Une gestion raisonnée des écosystèmes pourrait permettre de limiter, voire diminuer ces accroissements de population<sup>104</sup>.

Remarque : des épisodes de gale à *Sarcoptes scabiei*, commune à l'homme, au renard et au campagnol, accompagnent et suivent les pullulations de ce rongeur.

Le but des actions préventives est de limiter, voire d'empêcher les contacts étroits entre l'homme et l'animal. Il faut donc aussi agir auprès des populations humaines.

La principale mesure consiste à informer les hommes du risque encouru, par l'intermédiaire de recommandations et de campagnes de prévention.

- Dans le cas de la forme rurale :

Plusieurs études ont permis d'établir les activités à risque (voir deuxième partie) et ont tenté d'élaborer une liste de mesures prophylactiques à respecter <sup>42, 60, 69</sup> :

☞ Il est conseillé, lors de nettoyage de locaux fermés l'hiver, de granges ... d'utiliser plutôt de l'eau de javel à 10%, d'humidifier le sol au préalable, afin de limiter les poussières et de porter un masque. Il est important de ne pas laisser les ordures près des maisons . Le stockage de denrées dans les fermes est déconseillé car il attire les animaux.

☞ En camping, il faut éviter de dormir à même le sol. Toute plaie doit être couverte d'un pansement.

☞ Lors de promenade en forêt, il vaut mieux éviter de respirer trop profondément si l'on est proche de nids de rongeurs ou d'excrétions. Il est recommandé de se placer dos au vent pour toute manipulation de bois.

☞ Le port de gants pour manipuler des pièges ou des rongeurs est essentiel.

☞ Il faut aussi faire attention lors de manipulation de cadavres ; les règles générales d'hygiène doivent alors être appliquées.

Un exemple de document informatif, à l'attention du grand public, est disponible en annexe IV.

- Dans les laboratoires :

Un certain nombre de mesures doivent être prises : il ne doit y avoir aucun contact entre les rongeurs externes et les rongeurs internes. Il faut également tester tous les animaux provenant d'autres laboratoires et éliminer les animaux infectés <sup>70</sup>.

L'Organisation Mondiale de la Santé recommande des mesures de confinement de type 3 ou 4 pour les laboratoires qui étudient les Hantavirus (voir annexe V). Elle préconise une surveillance sérologique de l'ensemble des animaux, si un cas d'infection apparaît, et l'éradication du lot de rongeurs si un cas de contamination humaine se produit <sup>23</sup>.

Le personnel doit porter des gants et un masque pour l'entretien des cages et la manipulation des litières souillées<sup>63</sup>. En cas de morsure, une désinfection rigoureuse est obligatoire.

L'utilisation de mères nourricières non infectées est recommandée. De plus, il semble que le virus puisse se propager par l'intermédiaire de greffes de cellules tumorales<sup>67</sup>. Toutes les précautions, lors de ces manipulations doivent donc être prises.

- Dans le cas de la forme urbaine :

Les personnes travaillant dans les égouts, les éboueurs, doivent appliquer les règles d'hygiène et éviter tout contact avec les rongeurs. L'augmentation des déchets par habitant et l'accumulation de ces derniers sur les trottoirs attirent fortement les rats sinanthropes. Il faut donc aussi veiller à la propreté des villes<sup>104</sup>.

## 2°) Prophylaxie médicale :

En France, la Néphropathie épidémique reste une affection bénigne. L'élaboration d'un vaccin contre le virus Puumala représente de lourds investissements. Les frais occasionnés par de telles recherches sont trop importants. Par conséquent, aucun vaccin n'est disponible dans l'hexagone<sup>69, 114</sup>.

Mais des recherches ont été menées dans d'autres pays : en particulier en Chine, en Corée et plus récemment aux Etats Unis<sup>27, 69</sup>.

En Chine, l'incidence de la F.H.S.R. est élevée. L'obtention d'un vaccin efficace et sans danger était donc une priorité.

Les chercheurs se sont d'abord intéressés au développement de vaccins à virus inactivés<sup>54</sup>. Des résultats concluants avaient, en effet, déjà été obtenus pour d'autres virus pathogènes. Deux types de vaccins ont été élaborés : des vaccins obtenus à partir de cerveau de rongeurs, et des vaccins produits par cultures cellulaires.

- Vaccins inactivés produits sur cerveau de rongeurs<sup>54</sup>:

Les virus sont purifiés par précipitation, ultrafiltration, ultracentrifugation. Les virus infectieux sont ensuite inactivés par la formaline ou la  $\beta$  propiolactone. L'adjuvant utilisé est l'hydroxyde d'aluminium.

Lee a développé un vaccin obtenu à partir de cerveaux de souris infectés par le virus Hantaan (souche ROK 84-105). Ce vaccin a été commercialisé en Corée, en 1990, sous

le nom « Hantavax »<sup>67</sup>. Des essais sur des volontaires ont montré (par Immunofluorescence) un taux de séroconversion de 97 % un mois après la deuxième vaccination<sup>26</sup>. Toutefois, un an après la primovaccination, les taux en anticorps diminuaient fortement jusqu'à 37,5%. Ce résultat a donc démontré qu'un rappel de vaccination un an après la première injection était nécessaire.

Quelques effets secondaires ont été notés, notamment des manifestations allergiques qui ont poussé les fabricants à retirer, temporairement, les lots du marché.

- Vaccins inactivés obtenus par culture cellulaire<sup>54</sup> :

Trois vaccins ont été élaborés en Chine : deux vaccins monovalents contre le virus Séoul et le virus Hantaan, un vaccin bivalent contre Séoul et Hantaan. Le premier vaccin monovalent a été obtenu à partir de culture de cellules rénales de hamster. Le deuxième a été obtenu à partir de culture de cellules rénales de gerbille de Mongolie. Le vaccin bivalent a été obtenu à partir de culture de cellules rénales de gerbille de Mongolie.

En Chine, ces deux types de vaccins sont disponibles ; quatre millions de doses sont produites par an<sup>54</sup>.

Les progrès en génie génétique ont fourni une nouvelle approche pour la production de vaccins de nouvelle génération. Nous allons donc envisager, succinctement, les récentes découvertes et différentes stratégies envisageables pour l'élaboration de vaccins contre les Hantavirus.

Les recherches s'appuient sur le rôle des différentes protéines<sup>76, 111, 119</sup> (G1, G2, N) des Hantavirus dans l'induction d'une réponse immunitaire.

- Vaccins obtenus à partir du virus de la vaccine recombinant<sup>54, 111</sup> :

Le virus recombinant contient en fait le gène considéré. Ce virus est administré en tant que virus infectieux au témoin. Il infecte les cellules de l'hôte et exprime la protéine correspondante qui est ensuite présentée au système immunitaire. Plusieurs études se sont intéressées à la réponse en anticorps, à la présence d'anticorps neutralisants chez des animaux de laboratoire (souris, gerbilles, hamsters). Des vaccins intégrant les gènes codant pour les protéines G1 et G2 (segment M) semblent les plus efficaces : ils confèrent une protection complète.

Des tests ont été réalisés chez l'homme : le vaccin semble sans danger, mais il se produit une réaction locale. De plus, le pouvoir immunogène semble influencé par la présence d'une immunité préexistante envers le virus de la vaccine.

- vaccins obtenus à partir de cellules infectées par des baculovirus recombinant
- « ADN vaccination »<sup>54</sup>:

Cela correspond en fait à de l'ADN plasmidique contenant le gène à exprimer. Ces vaccins sont administrés par voie intramusculaire ou dans l'épiderme (par un « gene gun »).

Ces vaccins sont encore à l'étude. En particulier, les chercheurs se concentrent sur l'élaboration d'un vaccin qui permettrait une protection envers tous les Hantavirus (vaccin à ADNrecombinant contenant une association de plusieurs éléments immunogènes)<sup>54</sup>.

En France, seule la prophylaxie sanitaire peut diminuer l'importance des épidémies de Fièvre Hémorragique avec Syndrome Rénal. Des campagnes de prévention menées par la Mutualité Sociale Agricole notamment, tentent d'informer au mieux les agriculteurs et ouvriers forestiers. D'autres campagnes d'information, destinées à un plus large public doivent aussi être envisagées.



## CONCLUSION

L'infection aux Hantavirus se décline sous deux formes cliniques : le Syndrome Pulmonaire à Hantavirus et la Fièvre Hémorragique avec Syndrome Rénal. Cette zoonose est largement répandue dans le monde.

En Europe, et particulièrement en France, la Fièvre Hémorragique avec syndrome rénal présente un tableau clinique atténué dû au virus Puumala. Transmise par le campagnol roussâtre, caractérisée par un syndrome fébrile d'apparition brutale et une atteinte rénale plus ou moins sévère, cette infection est bénigne, même si quelques complications parfois graves peuvent être observées.

Depuis les années 1950, période à laquelle les scientifiques ont mesuré l'importance de la Fièvre Hémorragique avec syndrome rénal, de nombreuses études épidémiologiques, génétiques et cliniques ont permis de mieux appréhender cette maladie. Ainsi, la mise à jour de l'évolution commune des virus et des rongeurs a notamment permis d'expliquer la répartition géographique de l'infection.

Le champ d'investigation est encore large : comprendre le mode d'action du virus sur l'organisme, définir son rôle pathogène et mieux cerner l'implication de certaines espèces animales.

Actuellement, on estime que les études sur les Hantavirus n'ont concerné que 5 % seulement des rongeurs<sup>101</sup>. Il est probable que dans un avenir proche d'autres virus seront découverts.



1. ABERLE, S.W., LEHNER, P., ECKER, M. et al. : Nephropathia epidemica and Puumala virus in Austria.  
*Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis.* 1999, **18**, 467-472
2. ACHA P.N., SZYFRES, B. : Fièvre hémorragique avec syndrome rénal.  
Zoonoses et maladies transmissibles communes à l'homme et aux animaux. Deuxième édition, Office international des Epizooties, 1989, 428-432
3. AHLM, C., ALEXEYEV, O.A., ELGH, F. et al : High prevalence of hantavirus antibodies in bank voles (*Clethrionomys glareolus*) captured in the vicinity of households afflicted with Nephropathia epidemica .  
*Am. J. Trop. Med. Hyg.*, 1997, **56** (6) , 674- 678
4. ALEXEYEV, O. A., AHLM, C., ELGH, F. et al. : A minority of seropositive wild bank voles (*C. glareolus*) show evidence of current Puumala virus infection .  
*Epidemiol. Infect.* 1998, **121**, 419- 425
5. ALEXEYEV, O.A., MOROZOV, V.G. : Neurological manifestations of hemorrhagic fever with renal syndrome caused by Puumala virus : a review of 811 cases .  
*Clin. Infect. Dis* , 1995, **20**, 255- 258
6. ALEXEYEV, O.A., MOROZOV, V.G., ANDREI, G. et al . : a case of Hemorrhagic Fever with Renal Syndrome complicated by spleen haemorrhage.  
*Scand. J.Infect.Dis.* 1994, **26**, 491-492
7. ANDREI, G., DE CLERCQ, E. : Molecular approaches for the treatment of hemorrhagic fever virus infections .  
*Antiviral research*, 1993, **22**, 45-75
8. ARNAULD, J : Fièvre hémorragique avec syndrome rénal : enquête sérologique en région lyonnaise chez le rat (*Rattus norvegicus*, *Rattus rattus* )  
Th : Méd. Vét : Lyon : 1989 : Lyon 073, 92 p.
9. ARTOIS, M., PAILLAT, G., ZELLER, H. et al. : La Fièvre Hémorragique avec Syndrome Rénal en France.  
Adresse URL : [http :www.invs.sante.fr/beh/1999/9933/index.html](http://www.invs.sante.fr/beh/1999/9933/index.html)
10. ASIKAINEN, K., HANNINEN, T., HENTTONEN, H. et al. : Molecular evolution of Puumala hantavirus in Fennoscandia: phylogenetic analysis of strains from two recolonization routes Karelia and Denmark  
*J.Gen. Virol .*, 2000, **81**, 2833 – 2841
11. BENARD, V. : La place des animaux dans la lutte antivirale.  
Th : Méd.Vét. : Alfort : 1994 : Créteil, 049, 96 p
12. BENNETT, M., LLOYD, G., JONES, N. et al. : Prevalence of antibody to hantavirus in some cat populations in Britain.  
*Vet. Rec.*, 1990, **127**, 548- 549

- 13 . BERNSHTEIN, A.D., APEKINA, N.S., MIKHAILOVA, T.V. et al. : Dynamics in Puumala hantavirus infection in naturally infected bank voles (*C. glareolus*).  
*Arch. Virol.* , 1999, december, **144**, 2415- 2428
- 14 . BISHOP et al.. : Family Bunyaviridae  
Virus taxonomy, Edited by Murphy, Fauquet, 1995, 300-309
- 15 . BONI, M., DAVOUST, B., DRANCOURT, M. et al. : Rats et chats errants : enquête épidémiologique en milieu urbain.  
*Bull. Soc. Vet. Prat. De France*, 1997, décembre, **81**, n°10, p 441
- 16 . BOULOY, M., ZELLER, H. : Les Hantavirus : données récentes et revue de la littérature.  
*Bull. Soc. Pathol. Exot.*, 2000, **93**, 3, 177-180
- 17 . BOULY, S., HOEN, B., CIUREANU, A., CANTON, P. : Pneumonie atypique au cours de la fièvre hémorragique avec syndrome rénal.  
*Presse méd.* 1993, décembre, 4, **22**, n°38, p 1929
- 18 . BOURGEADE, A., TISSOT DUPONT, H. : Actualités des zoonoses, principalement en France  
*Med. Mal . Infect.* , 1995, **25**, 36-43
- 19 . BOWEN, M., KARIWA, H., ROLLIN, P.E. et al. : Genetic characterization of a human isolate of Puumala hantavirus from France .  
*Virus research*, 1995, **38**, 279-289
- 20 . BRAY, M., HUGGINS, J. : Antiviral therapy of haemorrhagic fevers and arbovirus infections.  
*Antiviral therapy*, 1998, **3**, 53- 79
- 21 . BRUMMER-KORVENKONTIO, M., VAHERY, A., HOVI, T. et al. : Nephropathia epidemica : detection of antigen in bank voles and serologic diagnosis of human infection.  
*J.Infect.Dis.*, 1980, february, **141** : 2, 131-134
- 22 . BURTON, M., BURTON, R. : Le royaume des animaux.  
Edito-service S.A., Genève, 1972, **Vol 3**, 475-476
- 23 . Centre National de la Recherche Scientifique : Fièvre Hémorragique avec Syndrome Rénal.  
Adresse URL : <http://www.cnrs.fr/SDV/fievrehemosr.html>
- 24 . CHAUVEAU, P. , LABADIE , H., ROLLIN, P.E. et al. : Fièvre hémorragique avec syndrome rénal en région parisienne  
*Presse méd.*, 1991, septembre, 21, **29**, p 1395
- 25 . CHEN, L. , YANG, W. : abnormalities of t-cell immunoregulation in hemorrhagic fever with renal syndrome.  
*J.Infect. Dis .*, 1990, **161**, 1016-1019
- 26 . CHO, H., HOWARD, C.R. : antibody responses in humans to an inactivated hantavirus vaccine.  
*Vaccine*, 1999, **17**, 2569- 2575

- 27 . CLEMENT , J., COLSON, P., THOMAS, I. et al. : Hantavirose en Belgique.  
*Ann. Med. Vet.*, 1994, **138**, 257- 262
- 28 . CLEMENT, J., HEYMAN, P., COLSON, P. : Spread of hantavirus infections in Europe.  
*Lancet*, 1996, march, **347**, p 771
- 29 . CLEMENT, J., HEYMAN, P., McKENNA, P., et al. : The Hantavirus of Europe : from the bedside to the bench (on line) .  
Adresse URL : <http://www.cdc.gov/ncidod/EID/vol3no2/clement.htm>
- 30 . CLEMENT, J. , Mc KENNA, P., COLSON, P. et al. : Hantavirus epidemic in Europe 1993.  
*Lancet*, 1993, january, **343**, p 114
- 31 . CORBET, G. : Les rongeurs.  
Mammifères d'Europe, Multiguides nature, éditions Bordas, 1984, 155-165
- 32 . COSGRIFF, T.M. : Mechanisms of disease in Hantavirus infection : pathophysiology of hemarrhagic fever with renal syndrome.  
*Rev.Infect.dis.*, 1991, **13**, 97- 107
- 33 . DELACOUR, J.L.,NOIROT, A., KRAMARZ, P. et al. : Insuffisance rénale aiguë et myopie transitoire, une association évocatrice de fièvre hémorragique avec syndrome rénal.  
*Presse méd.* 1991, avril, 13, **20**, n°14 , p 659
- 34 . DELL'ISOLA,B., CACOUB, P., GATFOSSE, M. et al. : Forme sévère de fièvre hémorragique avec syndrome rénal, un cas autochtone observé en région parisienne.  
*Presse méd.*, 1991, mars, 2, **20**, n°8, p 384
- 35 . DOHMAE, K., OKABE, M., NISHIMUNE, Y. : experimental transmission of hantavirus infection in laboratory rats.  
*J.Infect.Dis.* 1994, **170**, 1589- 1592
- 36 . DOURNON, E., GIRARD, P.M., MORINIERE, B., BRION, N : Fièvre hémorragique avec syndrome rénal : données épidémiologiques.  
*Presse méd.*, 1985, mai, 11, **14** , n°19, p 1101
- 37 . DUPIRE, A. : Etude de l'hantavirose en Eurasie.  
Th : Méd. Vét. : Nantes, 1999 : Nantes, 028, 159 p
- 38 . DUQUET, M. : Inventaire de la faune de France.  
Musée national d'histoire naturelle, 1992, éditions Nathan, Paris, 41-45
- 39 . EIDSON, M., ETTESTAD , P.J. : Hantavirus.  
*J.A.V.M.A.*, 1995, **206**, n°6, 851-853.
- 39a . ESCUTENAIRE, S., CHALON,P., HEYMAN, P. et al. : Genetic characterization of Puumala Hantavirus strains from Belgium : evidence for a distinct phylogenetic lineage.  
*Virus Research*, 2001, **74**, 1-15

- 40 . ESCUTENAIRE, S., CHALON, P., VERHAGEN, R. et al. : Spatial and temporal dynamics of Puumala hantavirus infection in bank vole populations in Belgium.  
*Virus Research*, 2000, **67**, 91-107
- 41 . ESCUTENAIRE, S., PASTORET, PP. : Hantavirose : recrudescence des cas humains dans les Ardennes.  
*Semaine vét.*, 1997, **839**, p 34
- 42 . ESCUTENAIRE, S., PASTORET, PP. : Hantavirus infections .  
*Rev.Sci.tech.Off.int.Epiz*, 2000, **19** (1), 64-78
- 43 . ESCUTENAIRE, S., PASTORET, PP, BRUS SJOLANDER, K. et al. : Evidence of Puumala Hantavirus infection in red foxes (*Vulpes vulpes*) in Belgium.  
*Vet.Rec.*, 2000, **147**, 365-366
- 44 . ESCUTENAIRE, S., THOMAS, I., CLEMENT, J. et al. : Epidémiologie de l'hantavirose chez le campagnol roussâtre (*Clethrionomys glareolus* ).  
*Ann.Med.Vét.*, 1997, **141**, 471-476
- 45 . GARCIN, D., LEZZI, M., DOBBS, M. et al. : The 5' ends of Hantaan virus (Bunyaviridae) RNAs suggest a prime-and-realign mechanism for the initiation of RNA synthesis.  
*J.Virol.*, 1995, **69**, n°9, 5754-5762
- 46 . GLASS, G.E., CHILDS, J.E., KORCH, G.W., LeDUC, J.W. : Association of intraspecific wounding with hantaviral infection in wild rats (*Rattus norvegicus*).  
*Epidem.Inf.*, 1988, **101**, 459-472
- 47 . GUIDICELLI, C.P., BUISSON, Y., NEDELEC, G. et al. : Fièvre hémorragique avec syndrome rénal : enquête prospective dans l'armée de Terre en 1987, 1988 et 1989.  
*Médecine et armées*, 1993, **21**, 8, 597-599
- 48 . GUYON, B., BOURSCHEID, D., ORY, J-P. et al. : Les fièvres hémorragiques avec syndrome rénal dues aux Hantavirus en France.  
*Schweiz.Rundschau.Med.Prax.*, 1987, **76**, n°47, 1297-1303
- 49 . HART, C.A., BENNETT, M. : Hantavirus infections : epidemiology and pathogenesis.  
*Mic.Inf*, 1999, 1229-1237
- 50 . HEDMAN, K, VAHERI, A., BRUMMER-KORVENKONTIO, M. : Rapid diagnosis of hantavirus disease with an IgG- avidity assay.  
*Lancet*, 1991, **338**, 1353-1356
- 51 . HEISKE, A., ANHEIER, B., PILASKI, J. et al. : A new *Clethrionomys*-derived hantavirus from Germany : evidence for distinct sublineages of Puumala viruses in Western Europe.  
*Virus Research*, 1999, **61**, 101-112
- 52 . HEYMAN, P., VERVOOT, T., COLSON, P. et al. : A major outbreak of hantavirus infection in Belgium in 1995 and 1996.  
*Epidémiol.Infect.* 1999, **122**, 447-453

- 53 . HJELLE, B., YATES, T. : Modeling hantavirus maintenance and transmission in rodent communities.  
The Bunyaviridae, Plenum Press, N.Y., 1996,77-90
- 54 . HOOPER, J.W., LI, D. : Vaccines against hantavirus.  
The Bunyaviridae, Plenum Press, N.Y., 1996, 171-191
- 55 . HORLING, J., LUNDKVIST, A., JAAROLA, M. et al. : Distribution and genetic heterogeneity of Puumala virus in Sweden.  
*J.Gen.Virol.*, 1996, **77**, 2555-2562
- 56 . HORLING, J., LUNDKVIST, A., PERSSON, K. et al. : Detection and subsequent sequencing of Puumala virus from human specimens by PCR.  
*J.Cli.Microbiol.* , 1995, february, **33**, n°2, 277-282
- 57 . HUGGINS, J.W., HSIANG, C.M., COSGRIFF, T.M. et al. : Prospective, double blind, concurrent, placebo-controlled clinical trial of intravenous ribavirin therapy of Hemorrhagic Fever with Renal Syndrome.  
*J.Infect.dis.*, 1991, **164**, 1119-1127
- 58 . HUGHES, A.L., FRIEDMAN, R. : Evolutionary diversification of protein-coding genes of hantaviruses.  
*Mol.Biol.Evol.*, 2000, **17**(10), 1558-1568
- 59 . ILEF, D., INFUSO, A., CROWCROFT, N. : Infection à hantavirus dans les Ardennes Belges et françaises : enquête épidémiologique (avril- juillet 1996) .  
Réseau national de Santé publique ; mise à jour : 20 février 1998.  
Adresse URL : <http://www.invs.sante.fr/publications/hantavirus/index.html>
- 60 . ILEF, D. , INFUSO, A., CROWCROFT, N., LE GUENNO, B. : Facteurs de risque de l'infection à Hantavirus : une enquête cas témoins dans les Ardennes belges et françaises.  
*B.E.H.*, 1999, **8**, 30-31
61. JONSSON, C.B., SCHMALJOHN, C.S. : Replication of Hantaviruses  
The Bunyaviridae, Plenum Press, N.Y., 1996, 15-29
- 62 . KAPLAN, J.C., DELPECH, M. : Les techniques d'amplification élective in vitro.  
Biologie moléculaire et médecine, deuxième édition, Médecine Sciences, Flammarion 1993, Chapitre **21**, 558-570.
- 63 . KAWAMATA, J., YAMANOUCHI, T., DOHMAE, K. et al. : Control of laboratory acquired hemorrhagic fever with renal syndrom in Japan.  
*Lab.Anim.Sci.*, 1987, **37**, n°4, 431-436
- 64 . KEROUANI, G., BINET, P., COUDRIER, D. et al . : Séroprévalence de la fièvre hémorragique avec syndrome rénal chez les travailleurs forestiers en Ile de France.  
*Presse méd.* 1992, octobre, **17**, **21**, n°34, p1636
- 65 . KHAN, A., KSIAZEK, T.G., PETERS, C.J. : Hantavirus pulmonary syndrome.  
*The Lancet*, 1996, **347**, 739-741.

- 66 . LeDUC , J.W. : Epidemiology of Hantaan and related viruses.  
*Lab.Anim.Sci.*, 1987, **37**, n°4, 413-417
- 67 . LEE, H.W. : Epidemiology and pathogenesis of Hemorrhagic Fever with Renal Syndrome.  
The Bunyaviridae, Plenum Press, N.Y, 1996, 253- 267
- 68 . LEE, H.W., BAEK, L.J., JOHNSON, K.M. : Isolation of Hantaan virus, the etiologic agent of Korean Hemorrhagic Fever, from wild urban rats.  
*J.Infect.Dis.* 1982, **146**, n°5, 638-644
- 69 . LE GUENNO, B. : Les Hantavirus.  
*Med.Mal.Infect.*, 1997, **27**, 703-710
- 70 . LE GUENNO, B. : Hantavirus et pathologie pulmonaire.  
*Rev.Pneumol.Clin.*, 1998, **54**, 393-398
- 71 . LE GUENNO, B., COUDRIER, D., CAMPRASSE, M.A. : Les Hantavirus : aspects virologiques et diagnostiques. Données sur l'épidémiologie de la fièvre hémorragique avec syndrome rénal en France.  
*Méd.Mal.Infect.*, 1994, **24**, spécial, 512-516
- 72 . LE GUENNO, B., COUDRIER, D., CAMPRASSE , M.A. : Epidémiologie de la fièvre hémorragique avec syndrome rénal en France.  
*B.E.H.*, 1994, mars, n°10, 45-47
- 73 . LEIRS, H., VERHAGEN, R., LEFEVRE, A. : L'hantavirose, une anthroponose mal connue.  
*Ann.Méd.Vét.*, 1989, **133**, 653-662
- 74 . LUNDKVIST, A., BJORSTEN,S., NIKLASSON, B. : Immunoglobulin G subclass responses against the structural components of Puumala virus.  
*J.Clin.Microbiol.*, 1993, **31**, n°2, 368-372.
- 75 . LUNDKVIST, A., CHENG, Y., BRUS SJOLANDER, K. et al. : Cell culture adaptation of Puumala Hantavirus changes the infectivity for its natural reservoir *Clethrionomys glareolus* and leads to accumulation of mutants with altered genomic RNA S segment.  
*J.Virol.*, 1997, december, **71**, n°12, 9515-9523
- 76 . LUNDKVIST, A., KALLIO- KOKKO, H., BRUS SJOLANDER, K. et al. : Characterization of Puumala virus nucleocapsid protein : identification of B-cell epitopes and domains involved in protective immunity.  
*Virology*, 1996, 216, 397-406
- 77 . LUNDKVIST, A., WIGER, D., HORLING, J. et al. : Isolation and characterization of Puumala Hantavirus in Norway : evidence for a distinct phylogenetic sublineage.  
*J. Gen.Virol.*, 1998, **79**, 2603-2614
- 78 . MAHY, B.W.J. : Zoonoses and haemorrhagic fever.  
*Dev.Biol.Stand.*, 1998, **93**, 31-36

- 79 . McCAUGHEY, C., MONTGOMERY, W.I., TWONEY, N., ADDLEY, M. : Evidence of hantavirus in wild rodents in Northern Ireland.  
*Epidemiol.Infect.*, 1996, **117**,361-365
- 80 . McINTOSH, K. : laboratory viral diagnosis.  
Fields of Virology, troisième édition, Philadelphia, Lippincott-Raven publishers, 1996, Vol 1, chapitre **14**, 401-427
- 81 . MOULIN, B., OLMER, M., SIMONETTI, S.D., et al. : un cas importé de fièvre hémorragique avec syndrome rénal.  
*Presse méd.*, 1991, décembre, 7, **20**, n°42, p 2162
- 82 . MURPHY, F.A., GIBBS, E., HORZINEK, M.C. et al. : Bunyaviridae  
Veterinary virology, Academic Press, 1999, troisième édition, chapitre 31, 469-482.
- 83 . MUSTONEN, J., PARTANEN, J., KANERVA, M. et al. : Genetic susceptibility to severe course of nephropathia epidemica caused by Puumala hantavirus.  
*Kid.Int.*, 1996, **49**, 217-221
- 84 . MUSTONEN, J., VAPALAHTI, O., HENTTONEN, H. et al. : Epidemiology of hantavirus infections in Europe.  
*Nephrol.Dial.Transplant.*, 1998, **13**, 2729-2731
- 85 . NGUYEN, A.T., PENALBA, C., BERNADAC, P. et al. : Manifestations respiratoires de la fièvre hémorragique avec syndrome rénal.  
*Presse méd.*, 2001, **30**, n°2, 55-58
- 86 . NIKLASSON, B., HORNFELDT, B., LUNDKVIST, A. : Temporal dynamics of Puumala virus antibody prevalence in voles and of Nephropathia epidemica in humans.  
*Am.J.Trop.Med.Hyg.*, 1995, **53** (2), 134-140
87. NIKLASSON, B., TKACHENKO, E., IVANOV, A.P. : HFRS : evaluation of ELISA for detection of PUU virus specific Ig G and Ig M.  
*Res.Virol.*, 1990, **141**, 637-648.
- 88 . NOWOTNY, N. : The domestic cat : a possible transmitter of viruses from rodents to man.  
*The Lancet*, 1994, **343**, p 921
- 89 . PASTORET, P.P., GOVAENTS, A., BAZIN, H. : diagnostic rapide et décentralisé.  
Immunologie animale, Médecine Sciences, Flammarion, Paris, 1990, chapitre **63**, 665-669.
- 90 . PENALBA, C. : La fièvre hémorragique avec syndrome rénal.  
*Revue du praticien*, 1998, **48**, 9-12
- 91 . PENALBA, C., DION, J.J., BOCQUAUX, B. et al. : La fièvre hémorragique avec syndrome rénal dans les Ardennes ; à propos de 31 nouveaux cas pris en charge à Charleville-Mézières.  
*B.E.H.*, 1996, **31**, 137-138

- 92 . PENALBA, C., GOUPIL, P., REKSA, A. et al. : La fièvre hémorragique avec syndrome rénal dans les Ardennes ; étude épidémiologique du personnel de l'O.N.F.  
*B.E.H.*, 1995 , **5**, p 19
- 93 . PENALBA, C., HALIN, P., LANOUX, P. et al. : Fièvre hémorragique avec syndrome rénal : aspects épidémiologique et clinique dans le département des Ardennes (76 observations)  
*Méd.Mal.Infect.*, 1994, **24**, spécial, 506-551
- 94 . PENALBA, C., LANOUX, P., HALIN, P. et al. : Poussée épidémique de fièvre hémorragique avec syndrome rénal dans les Ardennes : 17 cas de septembre 1992 à mars 1993.  
*Presse méd.*, 1993, septembre, 4, **22**, n°25, p 1190
- 95 . PETERS, C.J., SIMPSON, G.L., LEVY, H. : Spectrum of Hantavirus infection : Hemorrhagic Fever with Renal Syndrome and Hantavirus Pulmonary Syndrome.  
*Annu.Rev.Med.*, 1999, **50**, 531- 545
- 96 . PILASKI, J., FELDMANN, H., MORZUNOV, S. et al. : Genetic identification of a new Puumala virus strain causing severe Hemorrhagic Fever with Renal Syndrome in Germany.  
*J.Infect.Dis.*, 1994, **170**, 1456-1462
- 97 . PLYUSNIN, A., HORLING, J., KANERVA, M. et al. : Puumala Hantavirus genome in patients with Nephropathia Epidemica : correlation of PCR positivity with HLA haplotypes and link to viral sequences in local rodents.  
*J.Clin.Microbiol.*, 1997, vol **35**, n°5, 1090-1096
- 98 . PLYUSNIN, A., MORZUNOV, S.P. : Virus evolution and genetic diversity of Hantaviruses and their rodent hosts.  
*The Bunyaviridae*, Plenum Press, N.Y., 1996, 47-70
- 99 . PLYUSNIN, A., MUSTONEN, J., ASIKAINEN, K. et al. : analysis of Puumala Hantavirus genome in patients with Nephropathia Epidemica and rodent carriers from the sites of infection.  
*J. Med. Virol.*, 1999, **59**, 397-405
- 100 . PLYUSNIN, A., VAPALAHTI, O., LEHVASLAIHO, H. et al. : Genetic variation of wild Puumala viruses within the serotype, local rodent populations and individual animal.  
*Virus Research*, 1995, **38**, 25-41
- 101 . PLYUSNIN, A., VAPALAHTI, O., VAHERI, A. : Hantaviruses : genome structure, expression and evolution.  
*J.Gen.Virol.*, 1996, **77**, 2677-2687
- 102 . QUIMBY, F.W. : Zoonotic implications of Hantaan-like viruses, an introduction.  
*Lab.Anim.Sci.*, 1987, **37**, n°4 , 411- 412
- 103 . RASSIAT, E., BARRIERE, E., MINELLO, A. et al. : Cytolyse fébrile révélatrice d'une fièvre hémorragique avec syndrome rénal.  
*Ann.Méd.Int.*, 2000, **151**, n°8, 667-668

- 104 . RODHAIN, F. : Les zoo-anthroponoses impliquant les rongeurs : considérations épidémiologiques.  
*Bull.Soc.Path.Ex.*, 1996, **86**, 5-11
- 105 . ROITT, BROSTOFF, MALE : Techniques immunologiques.  
Immunologie, Troisième édition, De Boeck université, 1994, chapitre **25**, 1-13.
- 106 . ROLLIN, P.E., BOWEN, M.D., KARIWA, H. et al. : short report : isolation and partial characterization of a Puumala virus from a human case of nephropathia epidemica in France.  
*Am.J.Trop.Med.Hyg.*, 1995, **52** (6), 577-578
- 107 . ROLLIN, P.E., COUDRIER, D., SALUZZO, J.F., SUREAU, P. : Fièvre hémorragique avec syndrome rénal en France 1990- 1991  
CNR Fièvres hémorragiques virales, 1992, fév.
- 108 . ROLLIN, P.E., KSIAZEK, T.G., NICHOL, S. et al. : Des souris et des hommes ; chronique d'une épidémie non annoncée.  
*Méd. Mal. Infect*, 1994, **24** spécial, 517-520.
- 109 . ROLLIN , P.E., LAVERAN, H., GONZALEZ, J.P. et al. : Fièvre hémorragique avec syndrome rénal dans le centre de la France.  
*Presse méd.*, 1987, février, 7, **16**, n°4, p 175
- 110 . ROLLIN, P.E., SEGUIN, B., MOUTOU, F. et al. : Evidence sérologique de la présence d'un hantavirus chez le rat *Rattus norvegicus* en milieu urbain en France.  
*Presse méd.*, 1987, mars, 28, **16**, n°11, 538-539
- 111 . SCHMALJOHN, C.S. : Molecular biology of Hantaviruses.  
The Bunyaviridae, Plenum Press, N.Y., 1996, 63-90
- 112 . SCHMALJOHN, C.S. : The Bunyaviridae : the viruses and their replication.  
Fields of virology, troisième édition, Philadelphia, Lippincott-Raven publishers, 1996, vol. 1 chap.47, 1447-1466
- 113 . Services de la santé et médicaux (Canada) : comment se protéger de l'Hantavirus.  
Adresse URL : [http : // www.gnb.ca/0053/fr/dossiers/hantifr.htm](http://www.gnb.ca/0053/fr/dossiers/hantifr.htm)
- 114 . SETTERGREN, B. : Clinical aspects of Nephropathia Epidemica (Puumala virus infection) in Europe : a review .  
*Scand.J.Infect.Dis.*, 2000, **32**, 1255-132
- 115 . SOMMER, A., TRAAVIK, T., MEHL, R. et al . : Reservoir animals for Nephropathia Epidemica in Norway : indications of a major role for the bank vole (*C.glareolus*) in comparison with the woodmouse (*A. sylvaticus*).  
*J.Hyg.*, 1985, **94**, 123-127
- 116 . TKACHENKO, E.A., LEE, H.W. : Etiology and epidemiology of hemorrhagic fever with renal syndrome.  
*Kid.Int.*, 1991, **40**, suppl.35, 54-61

- 117 . TSAI, T.F. : Hemorrhagic fever with renal syndrome : mode of transmission to humans.  
*Lab.Anim.Sci.*,1987, **37**, n°4, 428-430
- 118 . TSAI, T.F. : Hemorrhagic fever with renal syndrome : clinical aspects.  
*Lab.Anim.Sci.*, 1987, **37**, n°4, 419-427
- 119 . ULRICH, R., LUNDKVIST, A., MEISEL, H. et al. : Chimaeric HBV core particles carrying a defined of Puumala hantavirus nucleocapsid protein evoke protective immunity in an animal model.  
*Vaccine*, 1998, **16**, n°2/3, 272-279
- 120 . VAHLENKAMP, M., MULLER, T., TACKMANN, K., et al. : The muskrat (*Ondatra zibethicus*) as a new reservoir for Puumala-like hantavirus strains in Europe.  
*Virus Research*, 1998, **57**, 139-150
- 121 . VAN LOOCK, F., THOMAS, I., CLEMENT, J. et al. : A case control study after a Hantavirus infection outbreak in the south of Belgium : who is at risk ?  
*Clin.Infect.Dis.*, 1999, **28**, 834-839
- 122 . VAN YPERSELE DE STRIHOU,C., MERY, J.P. : Hantavirus-related acute interstitial nephritis in Western Europe. Expansion of a world wide zoonosis.  
*J.Med.*, 1989, october, **73**, n°270, 941-950
- 123 . VERHAGEN, R., LEIRS, H., TKACHENKO, E., VAN DER GROEN, G. : Ecological and epidemiological data on Hantavirus in bank vole populations in Belgium.  
*Arch.Virol.*, 1986, **91**, 193-205
- 124 . VITEK, C.R., BREIMAN, R.F., KSIAZEK, T.G. : Evidence against person-to-person transmission of Hantavirus to health care workers.  
*Clin.Infect.Dis.*, 1996, **22**, 824-826
- 125 . WOLF, C., MICHEL, N., OTTAVIOLI, J.N. et al. : Epidémiologie de la fièvre hémorragique avec syndrome rénal dans les Ardennes.  
*Presse méd.*, 1990, septembre,15, **19**, n°29, p1369
- 126 . XU, Z., GUO, C., WU, Y. et al. : Epidemiological studies of hemorrhagic fever with renal syndrome : analysis of risk factors and mode to transmission.  
*J.Infect.Dis.*, 1985, **152**, n°1, 137-144
- 127 . YANAGIHARA, R., AMYX, H.L., GAJDUSEK, D.C. : Experimental infection with Puumala virus, the etiologic agent of Nephropathia Epidemica, in bank voles (*Clethrionomys glareolus*).  
*J.Virol.*, 1985, **55**, n°1, 34-38
- 128 . ZHAO, X., HAY, J. : The evolution of Hantaviruses.  
*Immunol.invest.*, 1997, **26** (1et 2), 191-197