

Pathogenèse et virulence

Jeudi 22 mars, 15 h 45-17 h 00

Modération : Caroline Denesvre, Vincent Legros

Communications orales : O21 à O25

Affiches : P77 à P91, P142

O21

Transmission de la peste porcine africaine : étude de la compétence vectorielle des tiques molles du genre *Ornithodoros* en Europe

Rémi Pereira De Oliveira¹, Evelyne Hutet², Frédéric Paboeuf², Maxime Duhayon¹, Fernando Boinas³, Adalberto Perez De Leon⁴, Serhii Filatov⁵, Laurence Vial¹, Marie-Frédérique Le Potier²

¹ UMR Astre Animal santé, territoires, risques et écosystèmes, Cirad, France

² Unité virologie et immunologie porcines, Laboratoire de Ploufragan-Plouzané-Niort, Anses, Niort, France

³ CIISA, Centre for Interdisciplinary Research in Animal Health, Faculty of Veterinary Medicine, University of Lisbon, Portugal

⁴ USDA-ARS, Knippling-Bushland U.S. Livestock Insects Research Laboratory and Veterinary Pest Genomics Center, États-Unis

⁵ National Scientific Center Institute of Experimental and Clinical Veterinary Medicine, NSCIECV, Ukraine

<laurence.vial@cirad.fr>

<marie-frederique.lepotier@anses.fr>

La peste porcine africaine (PPA) est une maladie historiquement présente en Afrique, mais a été ré-introduite en 2007 en Europe par la Géorgie. Depuis, la PPA s'est propagée en Russie et en Europe de l'Est mais a également atteint en 2018 la Belgique et la Chine. La PPA est une maladie virale infectieuse causée par le virus de la peste porcine africaine qui provoque une forte létalité, pouvant atteindre 100 % pour les souches hautement virulentes, et contre laquelle ni vaccin ni traitement thérapeutique existe. Le virus de la PPA infecte uniquement les suidés et les tiques molles du genre *Ornithodoros*. Une des voies connues de transmission aux porcs est la piqûre de tique infectée. Le rôle des tiques du genre *Ornithodoros* dans la vectorisation et le maintien de la PPA en Afrique a été démontré, cependant leur rôle en Europe reste encore à déterminer. Dans notre étude, 3 espèces du genre *Ornithodoros* ont été sélectionnées pour des expériences de transmission : *O. moubata* (vecteur connu en Afrique), *O. erraticus* (présente au Portugal) et *O. verrucosus* (présente en Ukraine). Les 4 souches virales hautement pathogènes étudiées proviennent d'Afrique (Liv13/33), d'Europe de l'Est (Georgia2007/1), du Portugal (OurT88/1) et d'Ukraine (Ukr12/Zapo). Différentes associations tique-virus ont été testées : *O. moubata*-Liv13/33 (OmL), *O. moubata*-Georgia2007/1 (OmG), *O. erraticus*-OurT88/1 (OeO), *O. erraticus*-Georgia2007/1 (OeG) et *O. verrucosus*-Zapo (OvZ). Les tiques ont été infectées sur porc virémique *via* un repas sanguin puis 2 à 8 mois après infection des tiques, des essais de transmission sur porc ont été réalisés. Pour la première fois, la compétence vectorielle des tiques *O. moubata* pour les souches virales Liv13/33 et Georgia2007/1 a pu être démontrée expérimentalement. Pour les autres couples n'ayant pas transmis le virus, une injection de broyat de ces tiques a induit la PPA chez les porcs, confirmant ainsi qu'elles étaient infectées et que le virus était bien infectieux. Pour comprendre pourquoi certains couples transmettent et d'autres pas, des titrages viraux à partir des tiques ont été réalisés montrant que certaines souches virales sont plus aptes à se multiplier ou à se maintenir chez certaines espèces de tiques. En complément, des localisations virales ont été réalisées chez les tiques, ce qui a permis de montrer des différences de localisations entre certains couples tique-virus, notamment entre OmG et OeG. Enfin, la capacité des tiques à transmettre le virus à leur descendance et ainsi à construire une colonie de tiques infec-

tées a également été étudiée. Donc, la vectorisation du virus de la PPA semble dépendre de plusieurs facteurs, tant de l'espèce de la tique que de la souche virale, ce qui renforce l'importance de l'étude des mécanismes sous-jacents de la compétence vectorielle des tiques molles pour la PPA.

O22

Zika virus impairs homeostasis and function of the human retinal pigment epithelium

Yannick Simonin, Nejla Erkilic, Khrisna Damodar, Marion Clé, Caroline Desmetz, Karine Bolloré, Simona Torriano, Jonathan Barthelemy, Vincent Foulongne, Edouard Tuaille, Philippe Van De Perre, Vasiliki Kalatzis, Sara Salinas

Inserm, UMR 1058, Université de Montpellier, Montpellier, France

<sara.salinas@inserm.fr>

Zika virus (ZIKV) has recently re-emerged as a pathogenic agent with epidemic capacities as was well illustrated in South America. Because of the extent of this health crisis, a number of more serious symptoms have become associated with ZIKV infection than what was initially described. In particular, neuronal and ocular disorders have been characterized, both in infants and in adults. Notably, the macula and the retina can be strongly affected by ZIKV, possibly by a direct effect of the virus. This is supported by the detection of replicative and infectious virus in lachrymal liquid in human patients and mouse models. Here, we used an innovative, state-of-the-art iPSC-derived human retinal pigment epithelium (RPE) model to study ZIKV retinal impairment. We showed that the human RPE is highly susceptible to ZIKV infection and that a ZIKV African strain was more virulent and led to a more potent epithelium disruption and stronger anti-viral response than an Asian strain, suggesting lineage differences. Moreover, ZIKV infection led to impaired membrane dynamics involved in endocytosis, organelle biogenesis and potentially secretion, key mechanisms of RPE homeostasis and function.

O23

Incidence de l'infection chronique par le virus de l'hépatite C sur les fonctions mitochondriales

Léa Monnier¹, Sarah Duponchel¹, Jennifer Molle¹, Michel Ovize², Jennifer Rieussset², Fabien Zoulim¹, Birke Bartosch¹

¹ Centre de recherche en cancérologie de Lyon (CRCL), Inserm U1052, CNRS UMR5286, CLB Centre Léon-Béard, Université Claude-Bernard Lyon I, Lyon, France

² Cardiovasculaire, métabolisme, diabétologie et nutrition (CarMeN), Inserm U1060, INSA, Oullins et Villeurbanne, France

<birke.bartosch@inserm.fr>

Contexte et objectifs. Le virus de l'hépatite C (VHC) est connu pour perturber le métabolisme du glucose et des lipides hépatiques ce qui entraîne des conséquences physiopathologiques majeures, et une accélération de la maladie vers le cancer du foie. Cependant au niveau moléculaire, ces processus restent obscurs. Les mitochondries jouent un rôle clé dans l'homéostasie cellulaire en réponse à une variété de signaux hétérogènes externes et internes. L'immunité innée, le statut métabolique, le stress du réticulum endoplasmique (RE) et le stress oxydant, forcent les mitochondries à adapter le métabolisme cellulaire et la production d'énergie, à activer des processus inflammatoires ou induire l'apoptose. Cette étude vise à comprendre les altérations morphologiques et fonctionnelles des mitochondries en réponse à une infection par le VHC et leur implication dans la physiopathologie du VHC. **Méthode.** La lignée cellulaire d'hépatome Huh7.5 infectée par la souche HCV JFH1 et des biopsies de foie de patients ont été utilisées dans cette étude. Afin d'explorer les interactions du VHC avec les mitochondries et son impact sur les fonctions mitochondriales, des fractionnements biochimiques, des tests de proximité entre protéines (PLA) et divers tests fonctionnels tels que la respiration mitochondriale, le potentiel membranaire, le transfert de Ca²⁺ et la production de ROS ont été évalués.

Résultats. Le fractionnement biochimique a révélé la présence de protéines virales au niveau des MAM (membranes associées aux mitochondries), sites de contact entre les mitochondries et le RE, qui contrôlent l'homéostasie métabolique, la signalisation calcique et l'apoptose. Nous avons également observé une modulation de la composition et de la quantité de protéines résidentes des MAM dans les cellules infectées par le VHC. L'inactivation génique par la technologie CRISPR/Cas9 et la sur-expression des facteurs résidents des MAM dans les cellules Huh7.5 ont montré qu'ils jouent un rôle central dans l'infection par le VHC et ont un impact concomitant sur l'homéostasie du glucose, le métabolisme central du carbone et les fonctions respiratoires de la mitochondrie. Enfin, nos données montrent que plusieurs protéines virales sont associées aux mitochondries et plus spécifiquement aux MAM, et que l'infection est associée à des modifications des fonctions mitochondriales, avec une augmentation de l'activité du complexe I et de la production de superoxyde, et un maintien de la signalisation du calcium mitochondrial.

Conclusion. Notre étude a amélioré notre compréhension actuelle des interactions VHC-hôte. Nos données montrent que le VHC est associé aux mitochondries et plus spécifiquement aux MAM, et que l'infection est associée à des modifications des fonctions mitochondriales, avec une augmentation de l'activité du complexe I et de la production de superoxyde, et un maintien de la signalisation du calcium mitochondrial. Ces changements peuvent jouer un rôle majeur dans la progression de la maladie. Étant donné que les altérations des MAM contribuent à des altérations du métabolisme dans le cancer du foie, nos résultats pourraient également révéler le rôle des MAM en tant que facteur favorisant carcinogénèse hépatique induite par le VHC.

O24

Impact des Enterovirus-B tronqués en région 5'NC sur la réponse IFN de type I et la sévérité clinique des myocardites aiguës

Marie Glénet¹, Yohan N'guyen¹, Anne-Laure Lebreil¹, Audrey Mirand^{2,3}, Cécile Henquell^{2,3}, Bruno Lina^{4,5,6}, Isabelle Schuffenecker^{4,5,6}, Laurent Andreoletti¹

¹ EA4684 - CardioVir (CardioVir), Université Reims Champagne-Ardenne, Reims, France

² Université Clermont-Auvergne (UCA), LMGE UMR 6023 Clermont-Ferrand, France

³ Service de virologie, CHU de Clermont-Ferrand, Centre national de référence des entérovirus et parechovirus, Centre de biologie, Université d'Auvergne Clermont-Ferrand I, Clermont-Ferrand, France

⁴ Laboratoire de virologie, Centre de biologie et de pathologie Est, Hospices civils de Lyon, France

⁵ Centre national de référence virus influenza (région Sud), Hospices civils de Lyon, Lyon, France

⁶ CIRI, Virologie et pathologie humaine (VirPath), Inserm U1111, CNRS, UMR5308, Université Claude-Bernard Lyon I, ENS Lyon, Lyon, France <ynguyen@chu-reims.fr>, <laurent.andreoletti@gmail.com>

Introduction. Des formes majoritaires d'Enterovirus B tronquées (EVB-t) jusqu'à 49 nucléotides (nt) dans la région 5' non-codante (5'NC) associées à des proportions minoritaires de formes complètes (FC) ont été caractérisées dans les tissus cardiaques de cas de cardiomyopathie dilatée (CMD). La cinétique d'apparition de ces EVB-t depuis la phase de myocardite aiguë jusqu'au stade clinique de CMD reste inconnue. Les objectifs de cette étude étaient : i) de déterminer les proportions des EVB-t et FC au sein de prélèvements de patients hospitalisés pour une myocardite aiguë ; ii) d'explorer la capacité de ces formes virales à induire une réponse IFN de type I ; iii) d'évaluer l'impact potentiel des proportions d'EVB-t sur la sévérité clinique de la myocardite.

Patients et méthodes. Quinze prélèvements plasmatiques et 5 prélèvements myocardiques (CNR Entérovirus: 2015-2017) de 12 patients souffrant de myocardite aiguë ont été rétrospectivement sélectionnés selon 3 critères : i) détection d'ARN d'EV ; ii) dyspnée ou choc ; iii) élévation des enzymes cardiaques. Une myocardite sévère était définie par la présence d'un choc

ou d'un recours aux amines. Les proportions de FC et d'EVB-t ont été déterminées par une technique de « RACE-PCR » suivi d'une analyse semi-quantitative après micro-électrophorèse (Agilent). La transfection dans des cardiomyocytes primaires humains (HCM) d'ARN viraux dans des proportions identiques à celles identifiées chez les patients a permis d'évaluer leur impact sur l'activation des voies des interférons de type I. Les transcrits ainsi que les concentrations d'IFN- β dans le surnageant ont été respectivement déterminées par RT-qPCR et par ELISA. Résultats. L'âge médian des 12 patients était de 14 jours [3 jours-22 ans] avec des myocardites évoluant depuis un délai médian de 3 jours [1-13 jours] mais sévères dans 8 cas. Huit plasmas provenaient de myocardites sévères et un d'une myocardite fatale. La charge virale ARN-EV médiane était statistiquement plus élevée au sein des 5 tissus cardiaques comparativement aux 15 plasmas : $2,12 \times 10^5$ cp/ μ g [$3,97 \times 10^4$ - $9,85 \times 10^5$] vs $4,59 \times 10^2$ cp/mL [$9,6,40 \times 10^5$]; $P = 0,004$. La proportion médiane des ARN-EV tronqués (EV-t) de plus de 36 nt (93,22 %) était statistiquement supérieure à celle des EV-t de 8 à 36 nt (2,99 %) ($P < 0,0001$) et à celle des FC (5,9 %) ($P < 0,0001$). La comparaison appariée de 4 plasmas de 4 cas sévères à 4 plasmas de 4 cas non-sévères a mis en évidence une proportion médiane d'EVB-t (> 36 nt) plus basse (72,29 vs 97,37 % ($P = 0,02$)) et un niveau de transcrit d'IFN- β médian plus élevé ($4,19 \times 10^4$ vs $1,26 \times 10^3$ U.A ($P = 0,02$)) parmi les cas sévères. La transfection dans les HCM d'ARN de FC et EVB-t dans des proportions identiques à celles des cas sévères, montre un niveau plus élevé des transcrits ($P < 0,001$) et des taux d'IFN- β dans le surnageant ($P = 0,02$) par rapport à ceux obtenus après transfection avec les proportions observées dans des cas non-sévères.

Conclusion. Les populations d'EVB-t (8-36nt ; > 36nt) sont majoritaires dans la phase aiguë de la myocardite humaine et leurs proportions pourraient moduler l'activation de la voie de production des interférons de type I dans les cardiomyocytes ainsi que la sévérité clinique de l'infection cardiaque.

O25

Modulation de la machinerie de fusion chez certains variants neuro-pathogènes du virus de la rougeole

Cyrille Mathieu^{1,2,3}, Tiago Figueira^{1,2,4}, Marion Ferren^{1,2,3}, Alexandre Lalande³, Branka Horvat³, Diana Hardie⁵, Anne Moscona^{1,2}, Takao Hashiguchi⁶, Matteo Porotto^{1,2,7}

¹ Department of Pediatrics, Columbia University Medical Center, New York, États-Unis

² Center for Host-Pathogen Interaction, Columbia University Medical Center, New York, États-Unis

³ CIRI, Inserm, U1111, Université Claude-Bernard Lyon 1, CNRS, UMR5308, École normale supérieure de Lyon, Univ Lyon, Lyon, France

⁴ Instituto de Medicina Molecular, Faculdade de Medicina, Universidade de Lisboa, Lisboa, Portugal

⁵ Division of Medical Virology, Department of Clinical Laboratory Sciences, University of Cape Town and National Health Laboratory Service, Cape Town, Afrique du Sud

⁶ Department of Virology, Faculty of Medicine, Kyushu University, Fukuoka, Japon

⁷ Department of Experimental Medicine, University of Study of Campania 'Luigi Vanvitelli', Naples, Italie <cyrille.mathieu@inserm.fr>

La rougeole compte parmi les premières causes de décès d'infections dont la prévention se fait par vaccination. Le virus de la rougeole (VR) est un paramyxovirus dont l'infection provoque un syndrome respiratoire aigu pouvant atteindre sévèrement le système nerveux central (SNC), conduisant à des encéphalites mortelles. Un VR portant un seul changement d'acide aminé, proche d'une région constituée d'heptades répétées en partie C-terminale de la protéine de fusion (F) (L454W), a été identifié chez deux patients décédés d'encéphalites rougeoleuses à corps d'inclusion. En remplaçant cette mutation par génétique inverse dans un contexte viral connu, nous avons montré que cette dernière conduit à un phénotype hyperfusogène permettant au virus de se disséminer en l'absence de récepteur

connu. En utilisant un modèle *ex vivo* et des neurones moteurs humains différenciés, nous explorons les conséquences fonctionnelles de cette adaptation au SNC. Le virus portant la mutation F L454W se dissémine plus efficacement que le virus sauvage dans les tissus cérébraux *ex vivo*. La propagation du virus dans les tissus *ex vivo* et les neurones moteurs humains est bloquée par des peptides inhibiteurs de fusion qui ciblent la protéine F, confirmant le rôle majeur de la protéine F dans la propagation dans le SNC. Enfin, nous caractérisons ici pour la première fois l'impact des mutations dans cette région de la protéine de fusion permettant au VR de devenir hyperfusogène, indépendamment des récepteurs d'entrée connus et donc de mieux se disséminer dans le SNC.

P77

Étude de molécules antivirales impliquées dans l'adaptation et la transmission inter-espèce du virus de l'hépatite E

Léa Meyer, Nicole Pavio, Virginie Doceul

Anses, UMR 1161, Virology, Animal health laboratory, INRA, École nationale vétérinaire d'Alfort, Maisons-Alfort, France

<virginie.doceul@vet-alfort.fr>

Le virus de l'hépatite E (HEV) appartient à la famille des Hepeviridae. Quatre génotypes principaux circulent chez l'homme. Les génotypes 1 et 2 (HEV-1 et -2) sont restreints à l'hôte humain et les génotypes 3 et 4 (HEV-3 et -4) sont zoonotiques. La sévérité de la pathologie varie entre des cas asymptomatiques, des hépatites résolutives aiguës et des hépatites fulminantes, avec un taux de mortalité élevé chez la femme enceinte. Des cas d'infection chronique associés aux génotypes zoonotiques sont également décrits chez des patients immunodéprimés. L'infection chez le porc, le réservoir animal principal du HEV, est asymptomatique. La transmission inter-espèce a lieu par contact direct avec des animaux infectés ou par contamination alimentaire. La forte prévalence du HEV dans les élevages de porcs en fait un virus d'intérêt émergent dans l'initiative One Health. La différence de pathologie entre espèces ainsi que la restriction des HEV1 et -2 à l'homme pourraient s'expliquer par des différences au niveau du système immunitaire des hôtes infectés. La réponse médiée par l'interféron qui conduit à l'expression de plusieurs centaines de gènes stimulés par l'interféron (*Interferon-stimulated genes*, ISGs) est cruciale dans la résolution des infections virales. Certains ISGs peuvent protéger une espèce donnée contre un virus et influencer le passage de la barrière d'espèces de ce pathogène. L'objectif du projet ANR HEVISTAR est d'identifier et de caractériser des ISGs qui jouent un rôle dans la transmissibilité inter-espèces du HEV. Dans un premier temps, nous allons comparer les profils d'ISGs exprimés en fonction du génotype impliqué (HEV-1 vs HEV-3) et de l'espèce infectée (humain vs porc). Pour réaliser ceci, des essais de PCR quantitative seront utilisés pour détecter l'expression de centaines d'ISGs humains et porcins dans des hépatocytes humains (HepaRG) infectés *in vitro* avec HEV-1 et HEV-3 et dans le foie de porcs infectés expérimentalement avec HEV-3. Les ISGs exprimés de manière différentielle selon ces conditions seront alors caractérisés pour leur potentielle activité antivirale. Dans une tâche parallèle, nous allons cribler des centaines de protéines codées par des ISGs en utilisant une banque de lentivirus et un réplikon issu d'une souche d'HEV-3 exprimant la luciférase Gaussia. Les ISGs ayant un effet délétère sur la réplication virale seront étudiés. L'ensemble de ces approches nous permettra d'identifier des ISGs qui sont capables de limiter la réplication du HEV et qui jouent un rôle potentiel dans la transmission entre espèces du HEV.

P78

Rôle de la diversité génétique de l'herpèsvirus OshV-1 dans les mortalités de l'huître du Pacifique

Jean Delmotte, Richard Galinier, Julien De Lorgeril, Guillaume Mitta, Caroline Montagnani, Jean-Michel Escoubas, Cristian Chaparro

Interactions hôtes-pathogènes-environnements (IHPE), Université de Perpignan, Ifremer, Université de Montpellier, CNRS UMR5244, Perpignan, France

<cristian.chaparro@univ-perp.fr>

<jean.michel.escoubas@ifremer.fr>

Les huîtres juvéniles *Crassostrea gigas* sont soumises de façon récurrente à des épisodes de mortalité de forte intensité et de large répartition géographique. Ces mortalités d'étiologie complexe nommées « *Pacific Oyster Mortality Syndrom* » (POMS) sont causées par une combinaison d'agents pathogènes, comprenant un virus et un consortium bactérien. Des travaux récents ont permis de démontrer que la maladie nécessite une primo infection par le virus OshV-1 (*Ostreid herpes virus 1*). Cette infection virale induit une immunosuppression chez l'hôte qui va permettre la colonisation des tissus de l'huître par un consortium de bactéries opportunistes et/ou pathogènes provoquant une bactériémie secondaire à l'origine des mortalités. Le suivi d'épisodes de mortalités à l'échelle mondiale a mis en évidence l'existence de nombreux variants génotypiques d'OshV-1 sans pour autant pouvoir corréler cette diversité virale au déclenchement et à la progression de la maladie. Afin d'étudier le rôle de cette diversité virale dans le POMS nous avons utilisé cinq familles d'huîtres de différents fonds génétiques présentant des phénotypes de survie contrastés vis-à-vis de la maladie. Ces familles d'huîtres ont été confrontées à des épisodes de mortalités survenus en Atlantique et en Méditerranée. Nous avons ensuite analysé la diversité génotypique et l'expression des gènes des variants viraux d'OshV-1 au cours du processus infectieux. Ces travaux nous ont permis de montrer que deux populations virales distinctes sont impliquées dans les épisodes de mortalités survenus en Atlantique et en Méditerranée. Par ailleurs, les corrélations entre l'origine géographique de la maladie (Atlantique ou Méditerranée), le fonds génétique des huîtres, et le taux de mortalité associés suggèrent qu'il existe une adaptation de l'huître aux variants viraux.

P79

Caractérisation moléculaire du génome du virus de l'hépatite E lors de manifestations cliniques polymorphes et voies potentielles de contamination

Cédric Hartard^{1,2}, Honorine Fenaux^{1,2}, Alexis De Rougemont³,

Christophe Gantzer¹, Isabelle Bertrand¹, Evelyne Schvoerer^{1,2}

¹ Laboratoire de chimie, physique et microbiologie pour les matériaux et l'environnement (LCPME), CNRS UMR7564, Villers-lès-Nancy, France

² Laboratoire de virologie, CHRU Nancy (CHRU Nancy), Vandœuvre-lès-Nancy, France

³ Centre national de référence des virus entériques, CHU de Dijon, Dijon, France

<c.hartard@chru-nancy.fr>

Le virus de l'hépatite E (VHE) est considéré comme la première cause d'hépatites virales aiguës dans le monde. En France, son émergence est préoccupante. Les manifestations hépatiques sont variables, allant de l'infection bénigne (voire asymptomatique) à des atteintes sévères pouvant engager le pronostic vital. Récemment, des manifestations extra-hépatiques ont été décrites (atteintes rénales et neurologiques) ainsi que des infections chroniques. Dans les pays endémiques, la transmission féco-orale du VHE est principalement associée à la consommation d'eau souillée. Dans les régions non endémiques comme la France, la transmission de ce virus zoonotique se fait par consommation de produits alimentaires issus d'animaux réservoirs contaminés comme le porc. La présence de génome de VHE dans des eaux usées urbaines a cependant été observée, suggérant une contamination possible des individus par voie hydrique. D'un point de vue moléculaire, l'infection par le VHE est caractérisée par l'existence d'un mélange de souches distinctes au sein de l'organisme infecté, bien qu'apparentées sur le plan génétique. Cette population virale hétérogène (quasi-espèce) peut être étudiée par séquençage haut débit afin d'identifier à la fois les variants majoritaires et minoritaires. L'objectif de notre travail est d'identifier au sein des quasi-espèces du VHE des séquences génomiques ou protéiques corrélées à certaines manifestations clinico-biologiques (atteintes hépatiques bénignes ou sévères, atteintes extra-hépatiques) ou à certaines voies de transmission (signatures

moléculaires). Les quasi-espèces virales de 14 patients infectés par le VHE ont été analysées sur une région de l'ORF2 (protéine de capsid) et du chevauchement ORF3/2. Les populations virales d'échantillons environnementaux positifs pour la recherche du VHE ont également été étudiées (*i.e.* 5 échantillons d'eau usées de station d'épuration, 15 échantillons d'eaux usées d'abattoir porcins, 2 foies et 1 selle de sangliers). Parmi les échantillons cliniques, un variant majoritaire (*i.e.* > 75 % de la population virale en acides aminés considérant le chevauchement ORF3/2) est identifié pour 13 patients atteints d'hépatite aigüe. L'analyse des séquences protéiques (logiciel AnTheProt) révèle la présence de mutations à l'origine d'une baisse de l'antigénicité au sein de certains variants minoritaires (mutations V402A et D442G sur ORF2). Par ailleurs, une diversité importante est observée chez un patient présentant une infection chronique avec le variant dominant représentant moins de 7 % de la quasi-espèce virale. Parmi les échantillons environnementaux, un variant majoritaire est également observé hormis pour les eaux usées de station d'épuration qui correspondent à un brassage des souches (variant dominant représenté à 20 %). De manière intéressante, la mutation H81C (ORF3) est identifiée dans le variant majoritaire de tous les échantillons issus de sangliers. L'identification et l'étude de ces mutations permettra d'améliorer le diagnostic étiologique et la prise en charge des patients. Dans cette perspective, la synthèse de pseudo-particules virales intégrant certaines mutations d'intérêt est en cours afin d'étudier les propriétés de surface des virus correspondants (microscopie à force atomique). L'identification des signatures environnementales (hydriques ou alimentaires) permettra d'améliorer les connaissances concernant les interactions entre le virus, l'homme et son environnement afin de mettre en place des stratégies efficaces de prévention des transmissions.

P80

Les densovirus, de tout petits virus capables de déstabiliser la matrice péritrophique intestinale lors de l'infection orale de l'insecte

Laetitia Pigeyre¹, Marc Ravallec¹, Leila Gasmi², Nicolas Nègre¹, Cécile Clouet¹, Malvina Schatz¹, Didier Cot³, Martial Seveno⁴, Khadija El Kouali⁴, Mathilde Decourcelle⁴, Yann Guérardel⁵, Thierry Dupressoir¹, Mylène Ogliastrò¹, Anne-Sophie Gosselin-Grenet¹
¹ EPHE PSL Research University, DGIMI, Pathologie comparée des invertébrés INRA, Université de Montpellier, Université de Montpellier, Montpellier, France

² ERI BioTecMed, Universitat de València (UV), València, Espagne

³ Institut européen des membranes (IEM), CNRS UMR5635, École nationale supérieure de chimie de Montpellier, Université de Montpellier, Montpellier, France

⁴ Plateforme de protéomique fonctionnelle, Institut de génomique fonctionnelle (IGF), CNRS : UMS3426, BioCampus, Inserm, Université de Montpellier, Montpellier, France

⁵ Unité de glycobiologie structurale et fonctionnelle, CNRS, UMR 8576, INRA, USC1409, Université de Lille, Lille, France
 <marie-helene.ogliastrò@inra.fr>
 <anne-sophie.gosselin-grenet@umontpellier.fr>

L'étape initiale clé de la pathogenèse des virus infectieux par voie orale est le franchissement de la barrière intestinale de leur hôte. Chez les insectes, la barrière intestinale est composée d'un épithélium monocouche recouvert d'une matrice protectrice chitineuse, appelée matrice péritrophique, qui présente des fonctions similaires au mucus digestif des vertébrés. Les mécanismes par lesquels les virus interagissent avec cette matrice péritrophique et ceux qui leur permettent de la traverser ont été jusqu'ici peu étudiés. Nous avons abordé ces questions en étudiant l'interaction précoce d'un parvovirus d'insecte, le *Junonia coenia* densovirus (JcDV), avec la barrière intestinale du lépidoptère ravageur de cultures, *Spodoptera frugiperda*. En utilisant une combinaison d'approches microscopiques et biochimiques, *in vitro*, *ex vivo* et *in vivo*, nous avons examiné plus spécifiquement l'interaction des capsides avec la matrice péritrophique et les conséquences d'une infection précoce sur la fonction intestinale globale.

Nous avons mis en évidence qu'après ingestion, les particules virales se concentrent rapidement sur la matrice péritrophique et que cette interaction dépend de l'affinité du virus pour les glycanes de cette structure extracellulaire. Nous avons également découvert, qu'en plus d'une activité de type lectine, JcDV était capable d'induire une désorganisation localisée de l'ultrastructure de la matrice péritrophique, pouvant expliquer le passage des particules virales au travers de ce réseau complexe. Enfin, notre étude a montré que l'infection précoce entraînait un arrêt de la synthèse de la chitine par les cellules de l'intestin moyen et une modification de leur profil transcriptomique, qui contribuent probablement à la déstabilisation de la matrice péritrophique et au dysfonctionnement général de la barrière intestinale. Ces résultats originaux permettent d'avancer sur la compréhension de la pathogenèse virale chez l'insecte et pourraient aider à élaborer des stratégies de biocontrôle à base de densovirus contre les insectes nuisibles.

P81

Cyprinid herpesvirus 3 seems to evolve *in vitro* like a viral quasispecies

Master Students*¹, Anna-Sophie Fiston-Lavier², Sandro Klafack³, Sven Bergmann³, Anne-Sophie Gosselin-Grenet⁴, Jean-Christophe Avarre²

¹ Faculté des Sciences, Université de Montpellier, Montpellier, France

² Institut des Sciences de l'Évolution de Montpellier (ISEM), Cirad : UMR116-2015, Université de Montpellier, IRD : UR226, CNRS UMR5554, Montpellier, France

³ Friedrich-Loeffler Institute, Federal Research Institute for Animal Health Südufer, Insel Riems, Allemagne

⁴ Diversité, génomes interactions microorganismes - Insectes [Montpellier] (Dgimi), INRA, Université de Montpellier, Montpellier, France

<anne-sophie.gosselin-grenet@umontpellier.fr>

<jean-christophe.avarre@ird.fr>

Viruses are able to evolve *in vitro* by mutation after serial passages on cell cultures, which can lead to either a loss or an increase of virulence. Cyprinid herpesvirus 3 (CyHV-3), a 295-kb double stranded DNA virus, is the etiological agent of the koi herpesvirus disease (KHVD). To assess the influence of serial passages, an isolate of CyHV-3 (KHV-T) was passaged 99 times onto common carp brain (CCB) cells, and virus virulence was evaluated during passages through experimental infections of common carp. After 78 CCB passages, the isolate was much less virulent than the original form; however, it partially recovered its virulence after 99 passages. A comparative genomic analysis of these three forms of KHV-T (P0, P78 and P99) revealed a limited number of variations. The largest one was a deletion of 1 363 bp in the predicted ORF150, which was detected in P78 but not in P99. This unexpected finding was confirmed by PCR. ORF150 thus appears as a potential key player for the virulence of CyHV-3. In addition, the results presented here primarily suggest that CyHV-3 evolves, at least *in vitro*, through an assemblage of haplotypes that alternatively become dominant or under-represented.

* Master 1 IMHE, 2017-2018 : Charles Amoyal, Hajar Amraoui, Audrey Bigourdan, Ines Boujandir, Oceane Bueno, Betty Cotteux, Noemie De San Nicolas, Romain Delatre, Mame Boucar Diouf, Remy Dussaut, Kevin Gawron, Jean-Baptiste Imbert, Halima Mouilhi, Emilie Nifaut, Anais Pages, Lucien Platon, Sandrine Sanchez, Lena Simon, Helene Sobry, Mathilde Souche, Boris Taillefer.

<https://bioagro.edu.umontpellier.fr/master-biologie-agrosociences/interactions-microorg-hotes/>

* Master 2 BCD, 2017-2018 : Edith Ndiessue Guemgne, Olivier Sacchi, Amad Diouf, Amirouche Labib Ouzerdine, Faustine Durand, Julie Brooke, Julie Cremaschi, Mathieu Massaviol, Mickael Hamoua, Mohammad Salma, Morgan Soulié, Quentin Delorme, Thimothée Virgoulay, Valentin Klein, Yannick Antoine, Aurore Berne, Camille Gaal. <https://sns.edu.umontpellier.fr/fr/master-sciences-numerique-pour-la-sante-montpellier/bcd/>

P82**Reprogrammation somatique de cellules de chauve-souris Pteropus pour le développement de nouveaux modèles d'étude de virus hautement pathogènes**

Noémie Aurine¹, Camille Baquerre², Julien Fouret³, Christian Jean², Sylvie Rival-Gervier², Clémence Kress², Catherine Legras-Lachuer^{2,3}, Branka Horvat¹, Bertrand Pain

¹ CIRI, Inserm, U1111, Université Claude-Bernard Lyon 1, CNRS, UMR5308, École normale supérieure de Lyon, Univ Lyon, Lyon, France

² Institut cellule souche et cerveau / Stem Cell and Brain Research Institute (SBR), Université Claude-Bernard Lyon 1, Inserm U1208, Bron, France

³ Virosan3D, Lyon, France

<branka.horvat@inserm.fr>

<bertrand.pain@inserm.fr>

Les chauves-souris sont les réservoirs naturels de nombreux virus zoonotiques responsables de maladies mortelles chez l'homme et les animaux. Le virus Nipah (NiV) est un virus hautement pathogène responsable d'encéphalites et de syndromes respiratoires sévères chez l'homme en Asie du Sud-Est. Les chauves-souris appartenant au genre Pteropus sont le réservoir naturel du virus NiV, chez qui l'infection est décrite comme asymptomatique. Comprendre les relations hôte-réservoir-pathogène requière la disponibilité de modèles pertinents notamment des cultures cellulaires de chauve-souris susceptibles à l'infection par le NiV. Actuellement, la majorité des études se basent sur l'utilisation de cellules immortalisées présentant des phénotypes non ciblés naturellement par le virus et peu infectables. Dans le but d'obtenir des phénotypes cellulaires plus pertinents, la reprogrammation somatique a été utilisée sur des cellules primaires issues de chauve-souris Pteropus. Les cellules reprogrammées, initialement développées dans les modèles humains et murins, ont la capacité d'auto-renouvellement et de différenciation dans les différents lignages cellulaires. En utilisant une combinaison originale de 3 facteurs de reprogrammation, nous avons généré les premières cellules reprogrammées de chauves-souris Pteropus exprimant des caractéristiques de cellules souches. Nous avons démontré que ces cellules sont très susceptibles à l'infection par le NiV en comparaison avec la faible infection des cellules primaires permettant l'identification de facteurs de susceptibilité et/ou de résistance à l'infection par le NiV chez les chauves-souris du genre Pteropus. De plus, ces cellules reprogrammées, semblent incapables de monter une réponse interféron de type I (IFN-I) en réponse à une stimulation polyIC. Le développement de ce modèle original très susceptible à l'infection par le NiV et capable de générer différents phénotypes cellulaires ouvre de nouvelles perspectives pour l'identification de cellules cibles et productrices du virus Nipah chez la chauve-souris Pteropus, la caractérisation du cycle du virus et des interactions hôte-pathogène en cellules de chauve-souris Pteropus susceptibles à l'infection mais également la production de stocks viraux chez l'hôte réservoir et l'évaluation de la dérive virale.

P83**Pathogénèse du virus influenza D en modèle murin : un tropisme respiratoire et entérique associé à une réponse pro-inflammatoire modérée**

Justine Oliva, Maxence Delverdiere, Nathalie Bourges-Abella, Josiane Loupias, Isabelle Pardo, Céline Bleuart, Gilles Meyer, Mariette Ducatez

Interactions hôtes-agents pathogènes (IHAP), École nationale vétérinaire de Toulouse, INRA : UR1225, Toulouse, France

<g.meyer@envt.fr>

<m.ducatez@envt.fr>

Des études récentes aux USA et en France ont mis en évidence un nouveau genre appelé influenza D (IDV), dans la famille des *Orthomyxoviridae*. Les bovins semblent constituer le réservoir de ce nouvel agent pathogène. Des infections expérimentales chez le porc, le furet, le veau et le cobaye ont été réalisées pour étudier ce virus. L'objectif de cette étude est de déve-

opper un modèle murin pour étudier la pathogénicité du virus. Des souris DBA/2 et IFNAR-KO ont été inoculées en intra-nasal avec 10⁵ TCID₅₀ de virus D/bovine/France/5920/2014 (IDV/5920). Malgré l'absence de signes cliniques et de perte de poids chez ces deux lignées murines, IDV/5920 s'est multiplié dans l'appareil respiratoire supérieur notamment les cornets nasaux et la trachée avec un pic de réplication quatre jours post-infection. Des lésions histologiques dans les cornets nasaux à six jours post-infection tendent à confirmer un tropisme respiratoire chez la souris. Le virus s'est également répliqué dans les intestins, suggérant également un tropisme entérique. L'absence de signes cliniques chez les souris IFNAR-KO et une réplication virale semblable à celle observée chez des DBA/2 suggèrent que la voie des interférons de type I n'est pas critique pour l'élimination d'IDV/5920. Les souris infectées ont toutes développé des anticorps anti-IDV/5920 (80 < titres d'inhibition de l'hémagglutination < 320), suggérant une réponse humorale. Par ailleurs, une augmentation des transcrits codant des cytokines pro-inflammatoires a également été observée. Dans une seconde expérience, une adaptation d'IDV/5920 chez des souris DBA/2 a été effectuée. Bien que des mutations d'adaptation aient été mises en évidence dans le génome d'IDV/5920, cela n'a pas été suffisant pour induire une réplication virale plus importante ou l'apparition de signes cliniques. Les souris constituent un modèle animal avantageux et pertinent pour étudier la réplication virale et la réponse immunitaire du virus IDV. Ce modèle pourrait également aider à mieux comprendre les phénotypes associés aux différentes souches de l'agent pathogène récemment découvert.

P84**Deciphering a viral suppressor of RNA silencing functions through its cellular partners' identification**

Lucie Bellott, Salah Bouzoubaa, Fabrice Michel, David Gilmer

Institut de biologie moléculaire des plantes (IBMP), université de Strasbourg, CNRS UPR2357, Strasbourg, France

<lucie.bellott@gmail.com>

RNA silencing plays a crucial function in development, gene expression regulations and antiviral defense in plants. To counteract this mechanism, phytoviruses have evolved to express viral suppressor of RNA silencing (VSR). BNYVV is a multipartite virus, composed of 4 to 5 positive single stranded RNA, allowing natural infection of sugar beet. Combination of RNA 1 and 2 are sufficient for local infection sites formation in Chenopodium quinoa and viral long distance movement in Nicotiana benthamiana. P14 protein, the BNYVV VSR encoded by RNA 2, induces a reduction of secondary siRNA accumulation, limiting the propagation of silencing signal. This plant amplification pathway, named transitivity, involves the RNA polymerase RNA dependant 6 (RDR6) that ensures the synthesis of double stranded RNA, from cleavage products generated by the slicer protein Argonaute 1. Those dsRNAs, mostly diced by DCL4, yield to secondary siRNAs population which ensure transitivity. In N. benthamiana, RDR6 knockdown restores viral long distance movement of a BNYVV mutant expressing a hypomorphic version of p14, indicating that transitivity is indeed targeted by p14. To better understand p14 functions, immunoprecipitation (IP) experiments have been initiated using tagged versions of p14. Flag-p14 has been overexpressed in N. benthamiana through agroinfiltration, immunocaptured and proteins associated were analysed using mass spectrometry. Data concerning potential p14 partners will be presented, as well as experiments performed to confirm the interactions.

P85**Nouvelle stratégie pour le développement d'un système de génétique inverse pour les calicivirus des lagomorphes**

Clément Droillard¹, Evelyne Lemaitre¹, Paul Brown¹, Jacques Le Pendu², Nicolas Eterradossi¹, Ghislaine Le Gall-Recule¹

¹ Anses, Laboratoire de Ploufragan-Plouzané, Uvipac, Ploufragan, France

² Centre de recherche de cancérologie et d'immunologie / Nantes-Angers

(CRCINA), Université d'Angers, Université de Nantes, Inserm U1232, Nantes, France
<ghislaine.legall-recule@anses.fr>

Les Caliciviridae (virus à ARN positif simple brin linéaire polyadénylé) comprennent cinq genres : Norovirus, Vesivirus, Nebovirus, Sapovirus et Lagovirus. Les Lagovirus infectent exclusivement les léporidés et ne sont pas adaptés à la culture cellulaire. Les lagovirus sont divisés en deux catégories : 1) les lagovirus pathogènes, détectés en grande quantité dans le foie et responsables de taux de mortalité élevés, 2) les lagovirus non-pathogènes détectés principalement dans le duodénum et ne provoquant ni signe clinique ni mortalité. Tous les génotypes de lagovirus ont la même organisation génomique. Le génome viral peut être divisé en deux régions distinctes : une région non-structurale composée de l'extrémité 5' non-codante, des protéines p16, p23, hélicase, p29, VPg, protéase et RdRp, et une région structurale composée de la protéine de capsid VP60, de la protéine VP10 et de l'extrémité 3' non-codante. Afin d'expliquer l'émergence des formes pathogènes, nous cherchons à vérifier si la pathogénicité des lagovirus est portée uniquement par la région structurale du génome et notamment par le gène codant la VP60. Cette hypothèse a été émise après la détection chez le lapin de lagovirus pathogènes (virus de la maladie hémorragique virale du lapin, RHDV) ayant une région non-structurale présentant une importante homologie de séquence nucléotidique (~94 %) avec des lagovirus non-pathogènes et une région structurale présentant une forte homologie de séquence nucléotidique (~95 %) avec des lagovirus pathogènes. L'identification des motifs de pathogénicité des lagovirus nécessite la production de virus génétiquement modifiés par génétique inverse (GI). L'unique système de GI publié a initialement été développé pour comprendre le rôle de certaines protéines virales. Pour répondre spécifiquement à notre problématique, un nouveau système de GI a été développé à partir de la GI du virus AMPV-C (Pneumoviridae) mise en place dans le laboratoire. Le génome viral d'une souche RHDV a été cloné dans le même support. Cependant, la polyadénylation des lagovirus étant peu décrite, deux conditions de clonage ont été établies. Dans le premier plasmide, la longueur de la queue poly(A) est fixe (20 A). Dans le second, cette longueur est gérée par le BGHPoly(A) (> 50 A). La production de virus se fera soit par transfection de cellules suivi d'une multiplication des virus sur lapins (inoculation des cellules/surnageants), soit par injection de chaque plasmide directement chez l'animal. Une fois le système validé, la région structurale d'un lagovirus non-pathogène de lapin sera clonée à la place de la région structurale du RHDV afin de vérifier si l'on observe une perte du phénotype létal et une différence de tropisme (réplication dans le duodénum). Ensuite, seul le gène VP60 ou certaines parties du gène pourront être remplacés pour vérifier si la pathogénicité des lagovirus est portée uniquement par cette protéine. À l'inverse, le génome viral d'un lagovirus non-pathogène génétiquement modifié avec les motifs de pathogénicité précédemment identifiés, sera cloné afin de vérifier le gain du phénotype létal et un tropisme au niveau du foie. Le développement de ce système de GI permettra d'identifier les motifs de pathogénicité des lagovirus du lapin et de mieux comprendre l'évolution de ces virus.

P86

Caractérisation de la transmission du virus Babanki par des espèces européennes de moustiques des genres *Aedes* et *Culex*

Mathilde Ban^{1,2}, Martin Faye³, Moussa Moïse Diagne³, Michèle Berthet¹, Gamou Fall³, Ousmane Faye³, Amadou Sall³, Dimitri Lavillette², Valérie Choumet¹

¹ Unité environnement et risques infectieux, Institut Pasteur, Paris, France

² Key Laboratory of Molecular Virology and Immunology, Institut Pasteur of Shanghai, Chinese Academy of Sciences, Shanghai, Chine

³ Unité des arbovirus et virus de fièvres hémorragiques, Institut Pasteur de Dakar (IPD), Dakar, Sénégal

<mathilde.ban@pasteur.fr>

<dlaville@ips.ac.cn>

<valerie.choumet@pasteur.fr>

Le virus Babanki (BBKV) est un alphavirus, proche du virus Sindbis, qui est sous-caractérisé. Il est associé à une maladie humaine fébrile accompagnée d'éruption cutanée et d'arthrite. Le virus a été isolé chez des humains au Cameroun, à Madagascar et en République centrafricaine. De récents relevés entomologiques ont montré la circulation de ce virus dans différentes régions (Uganda, Kenya, Sénégal) et dans différentes espèces de moustiques (*Culex perfuscus*, *Culex species*, *Aedes mcintoshi*, *Aedes orchraveous*, ...). Le but de cette étude est d'évaluer la capacité du virus Babanki à provoquer des épidémies hors d'Afrique. Pour ce faire, nous avons étudié la compétence vectorielle de populations européennes de vecteurs (*Aedes albopictus* et *Culex pipiens*) vis-à-vis de ce virus. Nous avons également testé la compétence vectorielle d'une souche de laboratoire d'*Aedes aegypti*. La production de particules virales, la capacité répliquative virale ainsi que l'amplification du génome viral ont été tout d'abord analysées. Puis, la compétence vectorielle de différentes espèces de *Culex* et d'*Aedes* a été évaluée grâce à des infections par gorgement artificiel. Des échantillonnages d'organes de moustiques à J7 et J14 post-infection ont permis d'analyser la dissémination et la répllication du virus chez le moustique. Nos résultats indiquent clairement une augmentation de la production des protéines virales après le repas infectieux. Une différence de localisation de ces protéines virales est aussi observée au cours du temps. Des tests de tropisme *in vitro* sur des lignées cellulaires humaines et des essais *in vivo* sur souris sont en cours afin de compléter ces résultats. Ils permettront de caractériser plus précisément le risque lié à ce virus peu étudié jusqu'à présent.

P87

Caractérisation de l'infection par le virus respiratoire syncytial dans le modèle macaque cynomolgus

Florine Guillaume¹, Hélène Bisceglia¹, Sandrine Montano¹, Emilie Chautard¹, Sébastien Laurent², Laëticia Benouamer³, Joachim Confais³, Hugues Contamin³, Vincent Pavot¹

¹ Département Recherche, Sanofi Pasteur, Marcy l'Étoile, France

² Sanofi Recherche, Département de sécurité préclinique, Sanofi, Montpellier, France

³ Cynbiose SA, Marcy-l'Étoile, France.

<florine.guillaume@sanofi.com>

Le virus respiratoire syncytial (VRS) est un agent majeur et ubiquitaire des infections virales respiratoires. Extrêmement contagieux, ce virus conduit à l'infection de la majorité des enfants (95 %) avant l'âge de 2 ans, les réinfections étant très fréquentes tout au long de la vie. Responsable de la bronchiolite chez le nourrisson, il est également à l'origine d'une morbi-mortalité notable chez les personnes âgées, les sujets immunodéprimés et les patients souffrant de broncho-pneumopathies chroniques. Il n'existe actuellement aucun vaccin contre le VRS et le seul traitement prophylactique approuvé (Synagis [palivizumab]) n'est indiqué que chez les enfants à risque de développer la forme sévère de la maladie. Les primates non-humains constituent un modèle animal de choix pour le développement préclinique d'un produit biologique, de par leur proximité phylogénétique, anatomique et immunologique avec les humains. Dans cette logique, un modèle d'infection par le VRS humain a été développé chez le macaque cynomolgus (semi-permissif). Cependant, la cinétique d'infection, les réponses immunitaires et la modulation de l'expression des gènes (profils transcriptomiques) lors de l'infection sont encore mal connues. Dans cette étude, nous avons documenté l'effet de la dose de VRS (10⁴, 10⁵ ou 10⁶ unités infectieuses) administrée par voie intranasale (IN) et intratrachéale (IT) sur ces différents paramètres dans le modèle macaque cynomolgus. Suite à l'infection, nous montrons que le VRS se réplique au niveau des tractus respiratoires supérieur et inférieur jusqu'à 18 jours, sans signe clinique notable, mais avec des différences de niveau de répllication en fonction de la dose infectieuse. Bien qu'il existe des cas de virémie reportés chez l'humain, aucune virémie n'a été détectée dans ce modèle simien. Sur le plan immunologique, nous avons mis en évidence l'induction de réponses anticorps de type IgG et IgA spécifiques du VRS au niveau systémique (sérum) et locale dans les muqueuses nasales, nasopharyngées et pulmonaires. L'induction d'anticorps dirigés contre le

site II (épitope cible du palivizumab) de la glycoprotéine de fusion (F) a aussi été mise en évidence. Ces réponses immunitaires sont variables en fonction de la dose infectieuse. De plus, une forte activation des ganglions trachéaux-bronchiques a pu être observée 26 jours post-infection. Aucune lésion histopathologique n'a été mise en évidence au niveau pulmonaire et trachéal. Dans les jours suivant l'infection des analyses de transcriptomique sur sang total nous ont permis de mettre en évidence que différentes voies de transcription ont été modulées au niveau systémique. Les gènes modulés sont impliqués dans la régulation de l'activité de nombreuses cellules de l'immunité telles que les cellules dendritiques (DC), les cellules tueuses naturelles (NK) ainsi que les lymphocytes B. Cette étude confirme qu'une infection VRS par voies IN et IT est possible dans le modèle macaque cynomolgus, entraînant à certaines doses infectieuses une réplication locale efficace et une réponse immune proche de celle développée chez l'homme. Un tel modèle pourrait s'avérer très pertinent dans le cadre du développement d'approches thérapeutiques ou prophylactiques contre le VRS. *Financement* : Cette étude a été sponsorisée par Sanofi Pasteur et Cynbiose.

P88

Coxsackievirus B4 perturbe la différenciation des cellules canalaire pancréatiques humaines en agrégats cellulaires ressemblant à des îlots

Antoine Bertin^{1,2}, Famara Sane, Delphine Lobert^{1,2}, Valéry Gmyr³, Julie Kerr-Conte³, François Pattou³, Kazali Alidjouni^{1,2}, Didier Hober^{1,2}

¹ Université Lille Nord, Université Lille II, Droit et santé : EA3610, Lille, France

² CHU Lille France

³ Inserm, UMR1190, Univ. Lille, CHU Lille, Lille, France

Le diabète de type 1 se caractérise par une altération, ou un défaut de fonction, des cellules β pancréatiques sécrétrices d'insuline. Le rôle des entérovirus et notamment des coxsackievirus B (CVB), tel que CVB4, dans la pathogenèse de la maladie est fortement suspecté. La pathogenèse virale du diabète de type 1 implique divers mécanismes parmi lesquels la persistance des virus dans les cellules pancréatiques. Les cellules pancréatiques canalaire humaines sont capables de se différencier en cellules endocrines. Nous avons montré antérieurement que ces cellules maintenues en culture 7 jours sont infectables par CVB4E2 *in vitro*. Dans un modèle de lignée humaine de cellules canalaire (lignée Panc-1), il avait été observé que CVB4E2 persistait au-delà de 37 semaines post-inoculation et que l'expression de l'ARNm de PDX1 (*pancreatic and duodenal homeobox 1*), facteur de transcription impliqué dans la différenciation de cellules canalaire en cellules endocrines, était inhibée, ainsi que la formation d'agrégats cellulaires ressemblant à des îlots (*Islet like Cell Aggregates/ICA*). L'objectif de la présente étude est d'évaluer l'impact de CVB4E2 sur des cellules canalaire pancréatiques primaires humaines. Des cellules canalaire pancréatiques ont été obtenues de donneurs d'organes. Les cellules ont été maintenues en culture pendant 39 jours. La viabilité cellulaire a été évaluée à l'aide des colorants vitaux. La formation d'ICA a été induite à J16 de culture. CVB4E2 a été inoculé à des cultures de cellules canalaire avant l'induction de la formation d'ICA puis les cultures ont été poursuivies. Des particules infectieuses étaient retrouvées dans le surnageant de culture, et l'ARN viral intracellulaire détecté par RT-PCR jusqu'à J29 post-infection. Les ICA étaient moins nombreux et de plus petite taille dans les cultures infectées que dans les contrôles. En conclusion, l'infection à CVB4E2 de cellules canalaire pancréatiques perturbe leur transformation en ICA. La capacité de CVB4 d'inhiber la formation de cellules endocrines, s'ajoute aux autres mécanismes par lesquels ce virus peut jouer un rôle dans la pathogenèse du diabète de type 1.

P89

Coxsackievirus B4 active l'expression de rétrovirus endogène de type W (HERV-W) dans des cultures de macrophages humains primaires

Antoine Bertin^{1,2}, Arthur Deschaumes, Sandrine Levet, Benjamin Charvet³, Hervé Perron³, Didier Hober^{1,2}

¹ Université Lille Nord, Université Lille II, Droit et santé : EA3610, Lille, France

² CHU Lille, Lille France³ GENeuro, Lyon, France.
<antoinebertinb@gmail.com>

Les rétrovirus endogènes humains (HERVs), qui représentent 8 % du génome humain, ont été associés à plusieurs pathologies auto-immunes. La plupart des HERVs ont perdu leur capacité à produire des protéines, sauf dans le cas d'une transactivation de ces rétrovirus dans un contexte pathologique. Parmi les rétrovirus humains, HERV-W, dont l'implication dans la sclérose en plaques (SEP) a été démontrée, peut être transactivé par des virus tels que le virus d'Epstein-Barr, ou le virus Herpes Simplex de type 1. La protéine d'enveloppe d'HERV-W favorise l'inflammation et l'auto-immunité, et possède des propriétés cytopathiques médiées par TLR4. La protéine d'enveloppe d'HERV-W a été détectée dans le sang et les tissus de patients avec un DT1, ce qui est en faveur du rôle de l'activation d'HERV-W dans cette pathologie. Les Coxsackievirus B (CV-B) sont des entérovirus qui sont associés au DT1. L'impact de CV-B4 sur l'expression de rétrovirus endogène HERV-W potentiellement impliqué dans le développement de la maladie a été étudié. Des cultures de macrophages humains primaires ont été incubées avec CV-B4 comme décrit par notre équipe. La quantité d'ARNm d'HERV-W Env dans ces cultures a été analysée par RT-qPCR. Une surexpression de l'ARNm d'HERV-W Env suite à l'infection par CV-B4 a été observée à 16 h et 48 h après l'inoculation du virus. En conclusion, HERV-W-Env peut être transactivé par CV-B4. Nos résultats soutiennent l'hypothèse d'une relation entre les infections entérovirales et le DT1, par le biais d'une transactivation de HERV-W-Env.

P90

Diversité génétique intra-hôte du virus respiratoire syncytial chez les nourrissons hospitalisés en lien avec la sévérité des bronchiolites : étude prospective entre 2015 et 2017 à Lyon

Marina Sabatier^{1,2,3,4}, Grégory Destras^{1,2,4}, Valérie Cheynet³, Antonin Bal^{1,2,3,4}, Sophie Assant^{3,4}, Florence Morfin^{4,2,1}, Bruno Lina^{4,2,1}, Karen Brengel-Pesce³, Laurence Josset^{4,2,1}

¹ Laboratoire de virologie, Institut des agents infectieux, Hospices civils de Lyon, Lyon, France

² Centre national de référence des virus respiratoires, Hospices civils de Lyon, Lyon, France

³ Laboratoire commun de recherche HCL-Biomérieux, Lyon, France

⁴ CIRI, Virologie et pathologie humaine (Virpath) Inserm U1111, Université Claude-Bernard Lyon 1, CNRS : UMR5308, Université de Lyon, ENS Lyon, Lyon, France
<marina.sabatier@hotmail.fr>

Introduction. Chaque hiver, le virus respiratoire syncytial (VRS) est la cause la plus fréquente d'hospitalisation pour infection respiratoire chez les nourrissons. Comme tous les virus ARN, des mutations au sein du génome apparaissent au cours de la réplication dans la cellule hôte et le VRS évolue au cours de l'infection, sous la contrainte de facteurs liés à l'hôte, l'évolution des populations virales et potentiellement de la maladie. Certaines études ont montré que la diversité génomique virale était faible chez les nourrissons infectés par le VRS et pourrait varier en fonction des réponses immunitaires. Cependant, peu d'études se sont intéressées à l'évaluation d'un lien entre diversité du génome viral intra-hôte et la sévérité clinique d'une infection à VRS.

Matériels & Méthodes. Au cours d'une étude prospective de 2015 à 2017, une aspiration naso-pharyngée (NP) a été collectée chez des nourrissons sans comorbidités (≤ 7 mois) se présentant aux Urgences pédiatriques des Hospices civils de Lyon (HCL) pour syndrome grippal évoluant depuis moins de 7 jours. Les prélèvements testés positifs pour le VRS, en routine au Laboratoire de virologie, ont été sélectionnés. Les patients ont été classés en bronchiolite sévère ou non sévère en fonction de leur besoin en oxygène. Un protocole de métagénomique virale a été utilisé pour générer les séquences des génomes complets du VRS. L'analyse bio-informatique

de la diversité virale du VRS a été réalisée à partir d'un pipeline développé au laboratoire.

Résultats. Cinquante-neuf patients ont été inclus dans l'étude comprenant 36 nourrissons présentant une infection sévère (20 filles et 16 garçons), et 23 présentant une infection non sévère (12 filles et 11 garçons). La sévérité clinique n'était pas associée au sexe, mais tendait à être associée à un délai au diagnostic plus important ($p = 0,053$). L'analyse de la diversité virale par l'étude du nombre et de la fréquence de variants intra-hôtes et la présence de mutations non-synonymes est en cours et sera comparée entre les groupes de patients.

Conclusion. L'étude de la diversité virale intra-hôte est intéressante pour comprendre la dynamique évolutive des populations virales au cours d'une infection à VRS et permettrait d'envisager potentiellement de multiples applications cliniques préventives (stabilisation de souches vaccinales), pronostiques (biomarqueur de sévérité) et thérapeutiques (molécules mutagènes).

P91

Caractérisation du virome respiratoire chez des enfants atteints d'infections respiratoires aiguës

Marina Sabatier^{1,2,3,4}, Antonin Bal^{2,3,4,1}, Grégory Destras^{1,2,4}, Maxime Pichon⁵, Sophie Assant^{3,4}, Valérie Cheynet³, Guy Oriol³, Gaëlle Vilchez³, Florence Morfin^{1,2,4}, Claire Bardel⁶, Bruno Lina^{1,2,4}, Karen Brengel-Pesce³, Laurence Josset^{1,2,4}

¹ Laboratoire de virologie, Institut des agents infectieux, Hospices civils de Lyon, Lyon, France

² Centre national de référence des virus respiratoires, Hospices civils de Lyon, Lyon, France

³ Laboratoire commun de recherche HCL-Biomérieux, France

⁴ CIRI, Virologie et pathologie humaine (Virpath) Inserm U1111, Université Claude-Bernard Lyon I, Université de Lyon, ENS Lyon, CNRS : UMR5308, Lyon, France

⁵ CHU de Poitiers, Département des Agents infectieux, Poitiers, France

⁶ Laboratoire de biométrie et biologie évolutive (LBBE), CNRS : UMR5558, UnivLyon, Université Claude-Bernard Lyon I, Villeurbanne, France

<marina.sabatier@hotmail.fr>

Contexte. Les infections respiratoires virales représentent la cause majeure de morbidité et de mortalité chez les enfants de moins de 5 ans. À ce jour, les mécanismes physiopathologiques conduisant au développement d'une forme sévère n'ont pas été clairement identifiés. Récemment, il a été suggéré que des modifications de la composition et de l'abondance du microbiome pourraient contribuer au développement et à la sévérité des infections. La composante virale du microbiome (virome) a été très peu étudiée dans le contexte des infections respiratoires de l'enfant.

Objectif. Le but de cette étude est de caractériser le virome respiratoire chez des nourrissons hospitalisés pour infections respiratoires aiguës.

Matériels et Méthodes. Une étude prospective monocentrique a été réalisée sur des aspirations naso-pharyngées (NP) collectées chez des nourrissons âgés de moins de 7 mois se présentant aux Urgences pédiatriques des Hospices civils de Lyon (HCL) pour syndrome grippal et testés positifs pour le virus respiratoire syncytial (VRS) ou le virus influenza (VI) en routine pendant les hivers 2015 à 2017. Les patients ont été classés en infection respiratoire sévère ou non sévère en fonction de leur besoin en oxygène. La caractérisation du virome respiratoire a été réalisée

par un protocole de métagénomique virale validé à l'aide d'un contrôle interne.

Résultats. Soixante-sept nourrissons de moins de 7 mois (médiane = 1,7 mois [0,3-6,7]) ont été inclus dans l'étude, dont 59 cas d'infection à VRS et 8 à VI. Le sexe ratio G/F est de 1,37 (33 garçons et 24 filles) et le prélèvement respiratoire a été réalisé dans les 7 jours (médiane = 3 j [0-7]) après l'apparition des symptômes. La cohorte comprend 37 cas d'infections sévères (36 à VRS et 1 à VI) et 30 cas d'infections non sévères (23 à VRS et 7 à VI). Suite au séquençage, un total médian de 12 437 598 reads [3 151 640-37 050 404] a été obtenu, dont 10,3 %, 1,2 % et 89,7 % correspondant respectivement aux parts médianes virales, bactériennes et humaines. Le virus cible (VRS ou VI) a été identifié dans tous les prélèvements séquencés (59 VRS et 8 VI). En plus des virus détectés par PCR, il a été mis en évidence des virus dont la pathogénicité n'est pas clairement établie (*Anelloviridae*, *Papillomaviridae*, *Siphoviridae*, *Myoviridae*). Les analyses statistiques comparant le virome respiratoire entre les patients sévères et non sévères sont en cours.

Conclusion. Bien que peu de données existent concernant le virome respiratoire chez les nourrissons, cette étude permettra sa description dans un contexte d'infection respiratoire aiguë, et par l'analyse associée du microbiote bactérien, de mieux comprendre son rôle et son implication dans les interactions trans-règnes au sein du microbiome respiratoire. D'autre part, la description du virome respiratoire en fonction de la sévérité clinique pourrait permettre d'identifier des biomarqueurs associés à un risque de complications.

P142

The gut microbiota modulates viral replication in ducks infected with a H5N9 highly pathogenic avian Influenza virus

Thomas Figueroa, Pierre Bessière, Amelia Coggon, Maxence Delverdier, Romain Volmer

UMR 1225 Interactions hôtes-agents pathogènes, École nationale vétérinaire de Toulouse, INRA, Toulouse, France

<r.volmer@envt.fr>

In contrast to chickens, which are very susceptible hosts for avian Influenza virus, ducks often show little or no clinical signs, even following infection with a highly pathogenic avian Influenza virus. The aim of this study was to test the hypothesis that the microbiota could contribute to the control of highly pathogenic avian Influenza virus replication in ducks. We analysed virus replication following infection with a highly pathogenic avian Influenza H5N9 virus by comparing groups of ducks in which the gut microbiota was significantly depleted by a large spectrum antibiotic treatment to undepleted ducks, which received no antibiotic treatment. Bacterial cultures and 16S ribosomal RNA gene qPCRs showed a strong depletion of the gut microbiota after antibiotic treatment. Virus shedding analysis showed that antibiotic-treated H5N9 virus infected ducks showed significantly higher cloacal shedding at day 3 and 5 post-infection, but no difference in oropharyngeal shedding at all-time points. Infected ducks showed a moderate type I interferon response in lungs, which is higher after microbiota depletion. On the other hand, treated ducks showed a lower expression in gut of various interferon-stimulated genes (ISGs), which is consistent with the increase of the viral shedding in gut. Our results provide evidence that the microbiota contributes to the control of virus replication in ducks. On-going analyses will determine if depletion of the gut microbiota contributes to the infection by various highly pathogenic avian Influenza virus and contributes to their emergence.