

Génomique, immunologie et étude des interactions campagnol roussâtre / Puumala virus.

ADÉLAÏDE DUBOIS

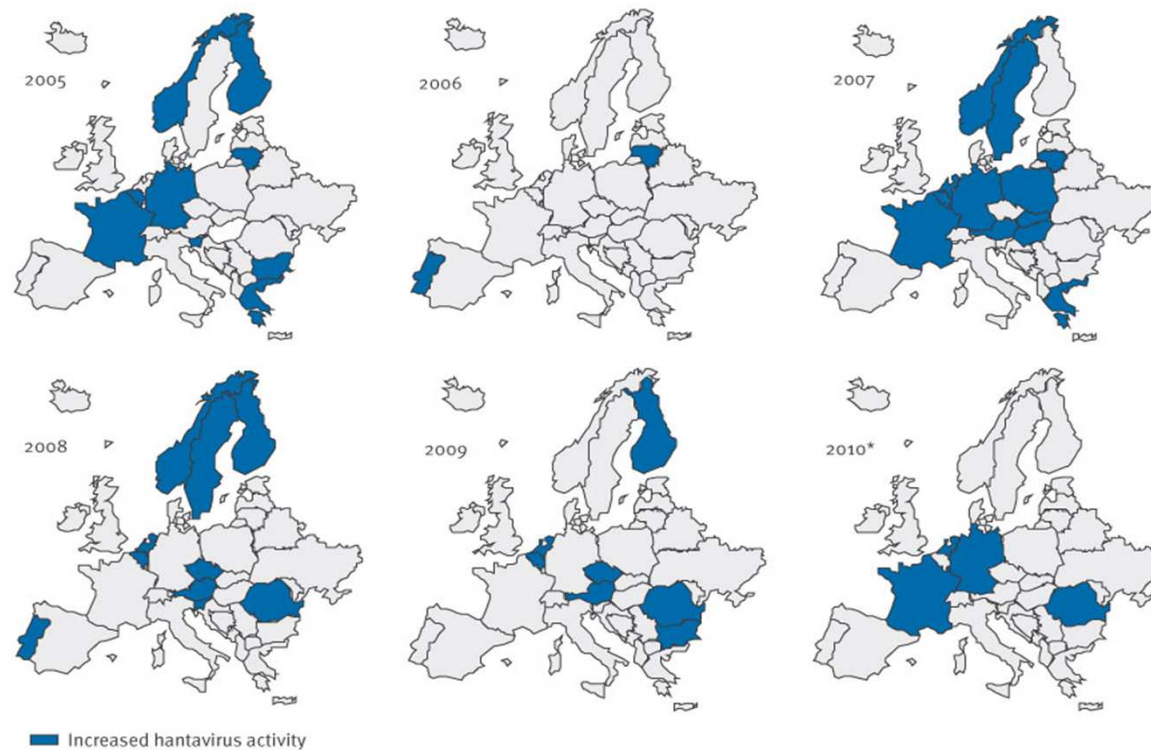
RÉUNION RONGEURS, 16 SEPTEMBRE 2014

NÉPHROPATHIE ÉPIDÉMIQUE (NE)

NE : Forme modérée de la fièvre hémorragique à syndrome rénal (FHSR).

FIGURE 1

Countries with increased (over the previous year) hantavirus activity, Europe, 2005–2010 (n=30 ENIVD countries)

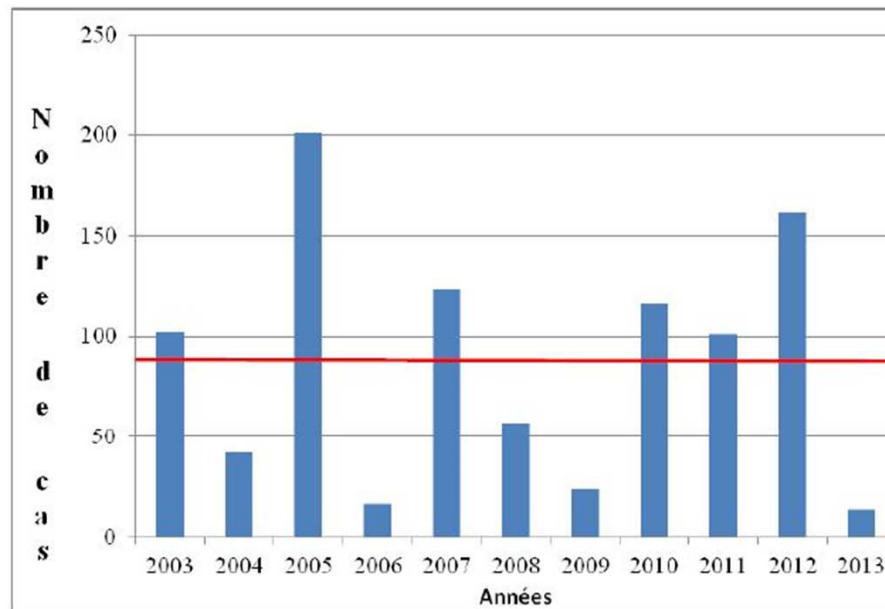


ENIVD: European Network for diagnostics of Imported Viral Diseases.

* The epidemic situation for 2010 is depicted up until the 31 August 2010.

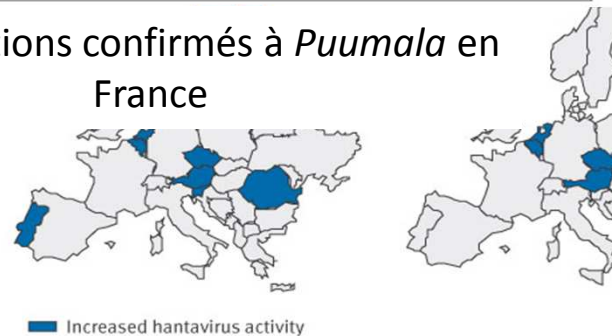
Expansion géographique et augmentation des cas d'infections à hantavirus

NÉPHROPATHIE ÉPIDÉMIQUE (NE)



Cas d'infections confirmés à *Puumala* en France

Rapport annuel CNR 2010



ENIVD: European Network for diagnostics of Imported Viral Diseases.

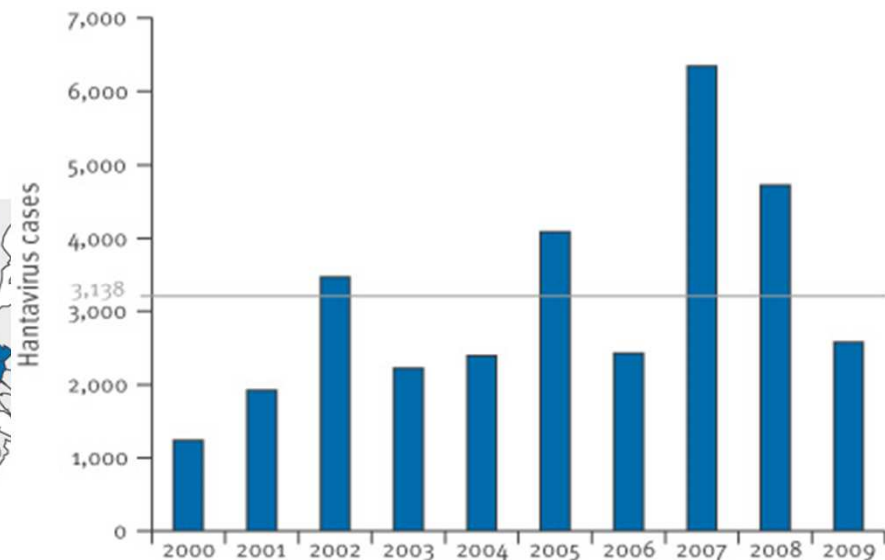
* The epidemic situation for 2010 is depicted up until the 31 August 2010.

Expansion géographique et augmentation des

Heyman et al. (2011)

hémorragique à syndrome rénal (FHSR).

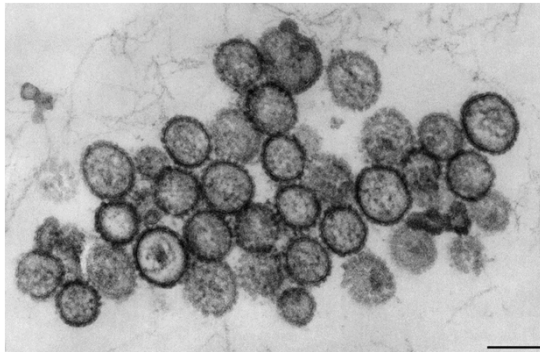
Incidence, Europe, 2005–2010 (n=30 ENIVD countries)



Cas d'infections à hantavirus en Europe

Heyman et al. (2011)

PUUV : AGENT VIRAL DE LA NE

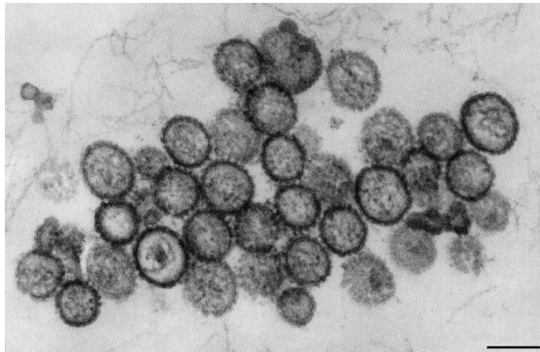


Hantavirus Puumala

HANTAVIRUS PUUMALA (PUUV) : responsable de la NE

Virus à ARN négatif, famille des *Bunyaviridae*

PUUV : AGENT VIRAL DE LA NE



Hantavirus Puumala

HANTAVIRUS PUUMALA (PUUV) : responsable de la NE

Virus à ARN négatif, famille des *Bunyaviridae*

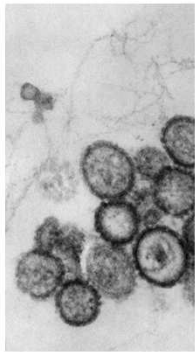


Campagnol roussâtre (*M. glareolus*)

CAMPAGNOL ROUSSÂTRE (*MYODES GLAREOLUS*):

réservoir principal de PUUV

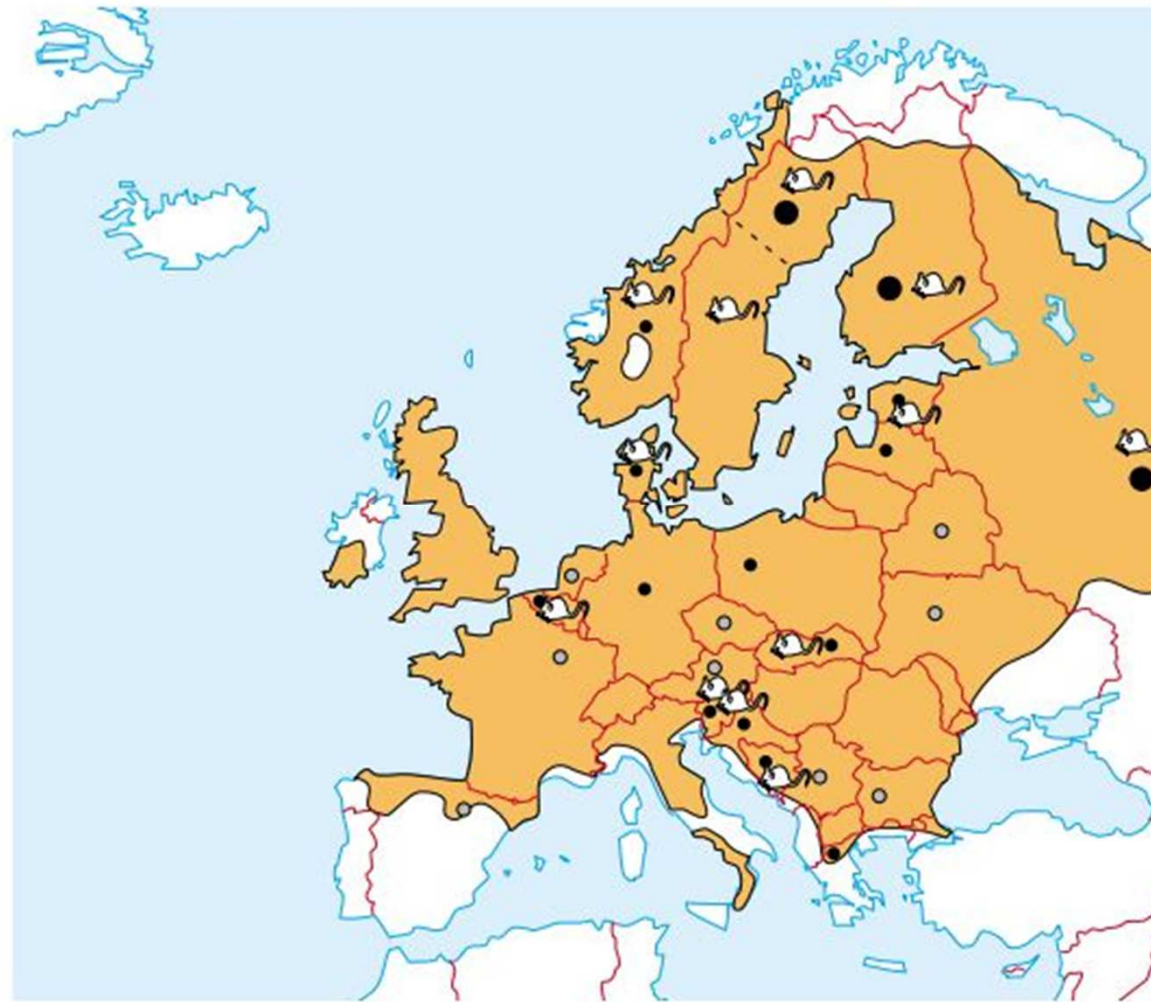
PUUV : AGENT VIRAL DE LA NE



Hant



Campagnol roussa



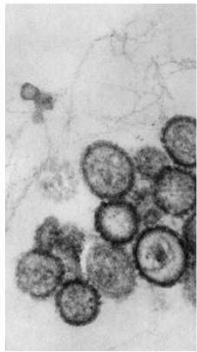
able de la NE
yaviridae

AREOLUS):

Distribution de l'hantavirus Puumala et de son réservoir
M. glareolus en Europe

Vapalahti *et al.* (2003)

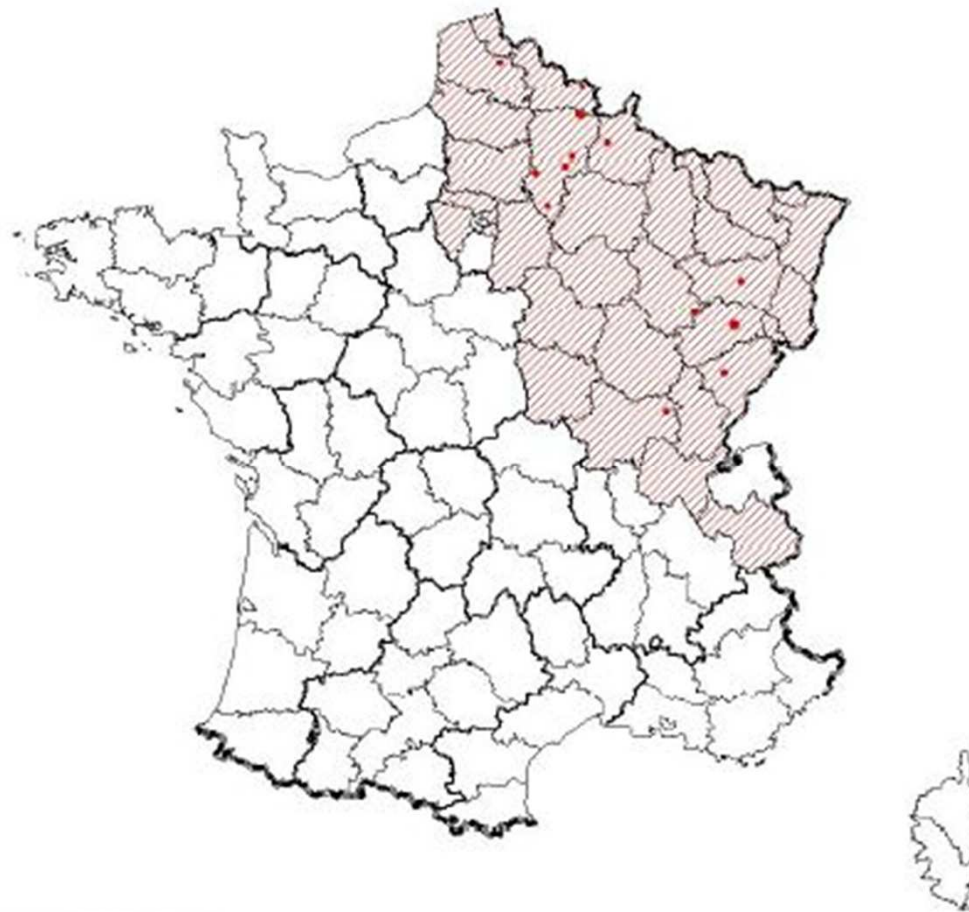
PUUV : AGENT VIRAL DE LA NE



Hant.



Campagnol roussâtre (*Reithrodontomys glareolus*)



Distribution des cas d'infections à *Puumala* en France

able de la NE
yaviridae

AREOLUS):

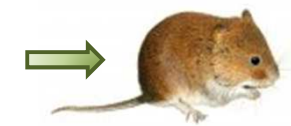
TRANSMISSION DE PUUV

ENTRE RONGEURS

Transmission horizontale uniquement

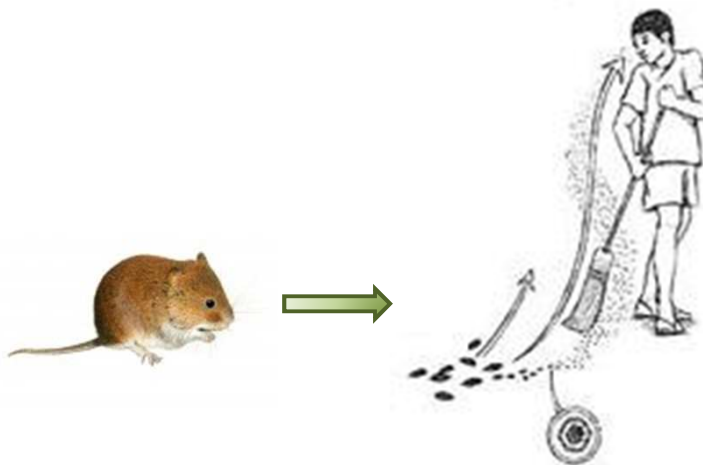


Directe, par contact ou morsures



Indirecte, via l'environnement ou les aérosols infectés

DU RONGEUR À L'HOMME



Via inhalation d'aérosols infectés, provenant de fèces et d'urines infectés

CONSÉQUENCES DE L'INFECTION À PUUV

CHEZ L'HOMME

- Forte réponse immunitaire ➡ Contrôle de la multiplication virale
➡ Possible apparition de symptômes cliniques

CONSÉQUENCES DE L'INFECTION À PUUV

CHEZ L'HOMME

- Forte réponse immunitaire ➡ Contrôle de la multiplication virale
➡ Possible apparition de symptômes cliniques

CHEZ LE RONGEUR

Infection chronique et asymptomatique

- ➡ Légère diminution de la survie hivernale des individus en zone de forte endémie
- ➡ Existence d'un coût énergétique

CONSÉQUENCES DE L'INFECTION À PUUV

CHEZ L'HOMME

- Forte réponse immunitaire ➡ Contrôle de la multiplication virale
➡ Possible apparition de symptômes cliniques

CHEZ LE RONGEUR

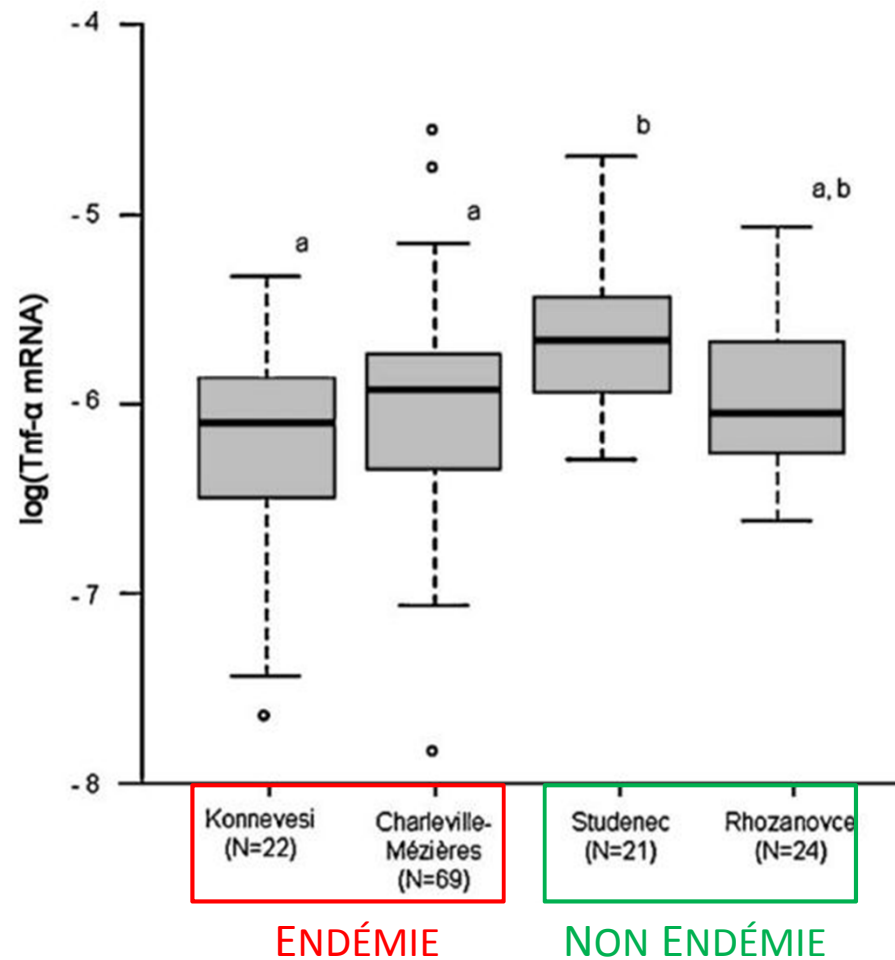
Infection chronique et asymptomatique

- ➡ Légère diminution de la survie hivernale des individus en zone de forte endémie
- ➡ Existence d'un coût énergétique

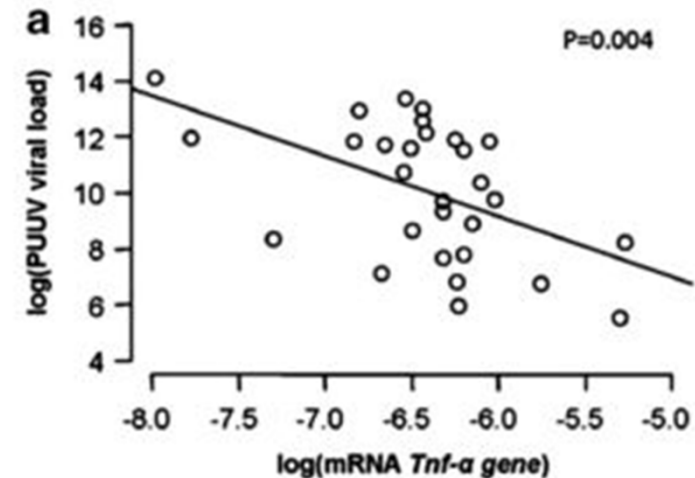


TOLÉRANCE À PUUV ?

PUUV ET LA RÉPONSE IMMUNITAIRE DES RONGEURS



Différences géographiques de l'expression du gène *Tnf-α*



Relation négative entre la charge virale de PUUV et l'expression du gène *Tnf-α*

PUUV ET LA RÉPONSE IMMUNITAIRE DES RONGEURS

- + Tolérance à PUUV
- + Persistance et transmission du virus
- + Risque NE chez l'Homme

PUUV ET LA RÉPONSE IMMUNITAIRE DES RONGEURS

+ Tolérance à PUUV



Variabilité génétique
des rongeurs ?

+ Persistance et
transmission du virus



Variabilité spatiale des
cas de NE ?

+ Risque NE chez l'Homme

PROBLÉMATIQUE DE LA THÈSE

AXE I : GÉNOMIQUE ET SÉLECTION

Recherche des régions génomiques évoluant sous sélection en réponse à l'infection par PUUV

AXE II : VIROLOGIE ET EXPÉRIMENTATION

Mise en évidence et analyse de la tolérance de campagnols de zone endémique et non-endémique

PROBLÉMATIQUE DE LA THÈSE

AXE I : GÉNOMIQUE ET SÉLECTION

Recherche des régions génomiques évoluant sous sélection en réponse à l'infection par PUUV

AXE II : VIROLOGIE ET EXPÉRIMENTATION

Mise en évidence et analyse de la tolérance de campagnols de zone endémique et non-endémique

PROBLÉMATIQUE DE LA THÈSE

AXE I : GÉNOMIQUE ET SÉLECTION

Recherche des régions génomiques évoluant sous sélection en réponse à l'infection par PUUV

AXE II : VIROLOGIE ET EXPÉRIMENTATION

Mise en évidence et analyse de la tolérance de campagnols de zone endémique et non-endémique



Tester l'hypothèse de la tolérance

Identifier les facteurs :

Intrinsèques : réponse immunitaire

Extrinsèques : Endémie de la région étudiée, souches différentes de PUUV

PROBLÉMATIQUE DE LA THÈSE

AXE I : GÉNOMIQUE ET SÉLECTION

Recherche des régions génomiques évoluant sous sélection en réponse à l'infection par PUUV

AXE II : VIROLOGIE ET EXPÉRIMENTATION

Mise en évidence et analyse de la tolérance de campagnols de zone endémique et non-endémique

Tester l'hypothèse de la tolérance

Identifier les facteurs :

Intrinsèques : réponse immunitaire

Extrinsèques : Endémie de la région étudiée, souches différentes de PUUV



Comprendre la variabilité spatiale du virus et des cas de NE

DÉTECTION DES SIGNATURES DE LA SÉLECTION Échantillonnage

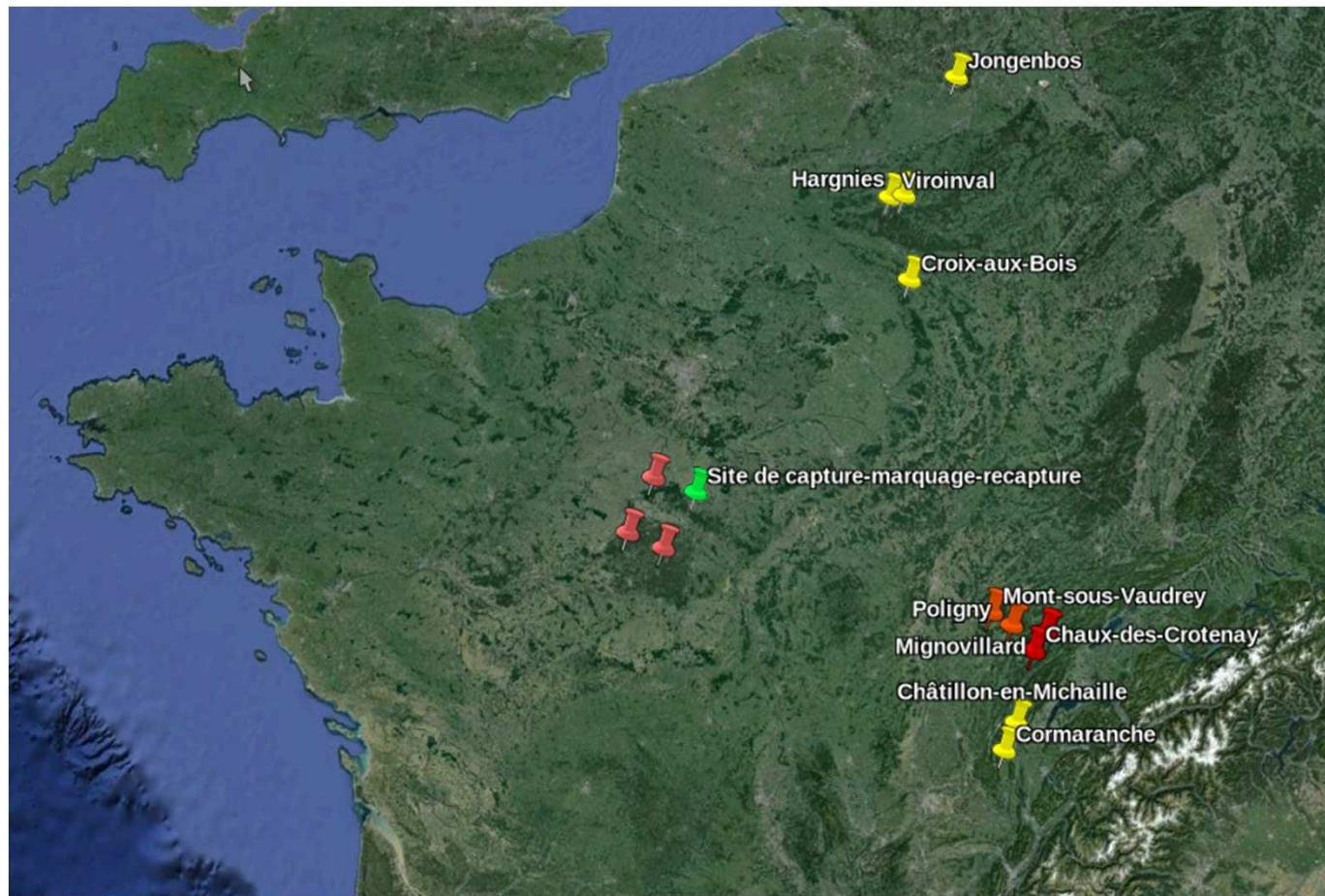
Transects d'échantillonnage parcourant les zones d'endémie et de non-endémie à PUUV



INTÉRÊT

Possible identification des facteurs génétiques influençant l'issue des interactions rongeur / virus

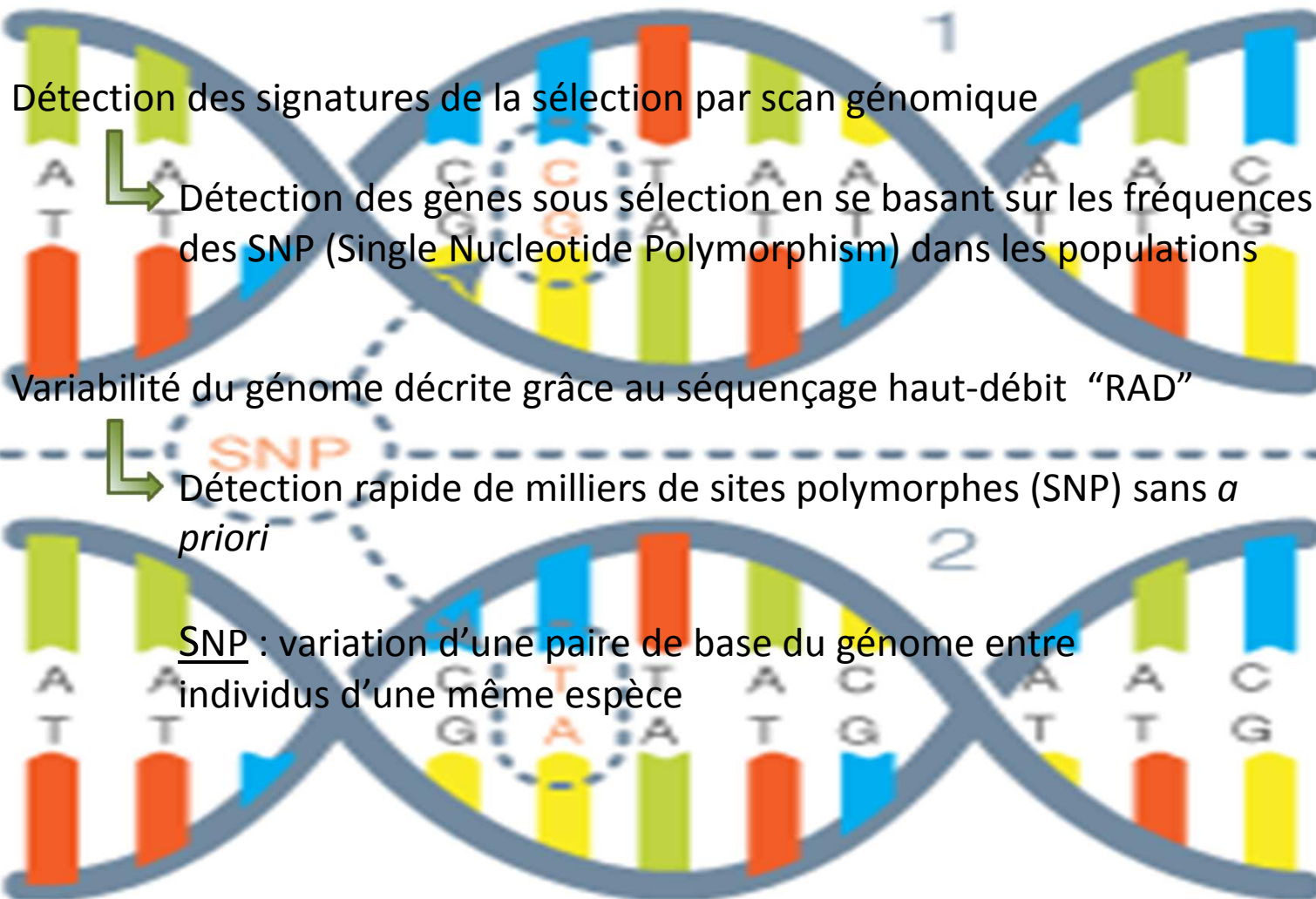
DÉTECTION DES SIGNATURES DE LA SÉLECTION Échantillonnage



Carte globale de l'échantillonnage

DÉTECTION DES SIGNATURES DE LA SÉLECTION

Scans génomiques



DÉTECTION DES SIGNATURES DE LA SÉLECTION

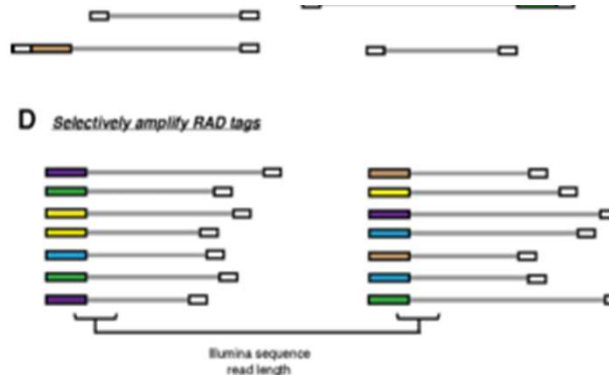
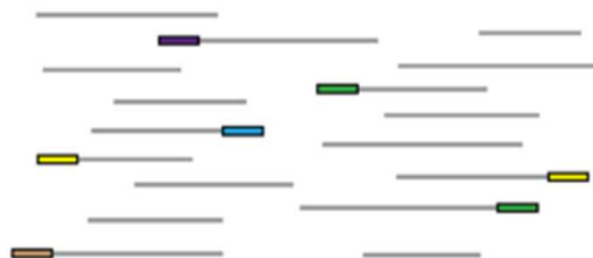
Scans génomiques

A *Ligate P1 Adapter to digested genomic DNA*

C *Ligate P2 Adapter to sheared fragments*

Traitement des individus échantillonnés en mélange
populationnel (40 individus en moyenne)

B *Pool barcoded samples and shear*



DÉTECTION DES SIGNATURES DE LA SÉLECTION

Scans génomiques

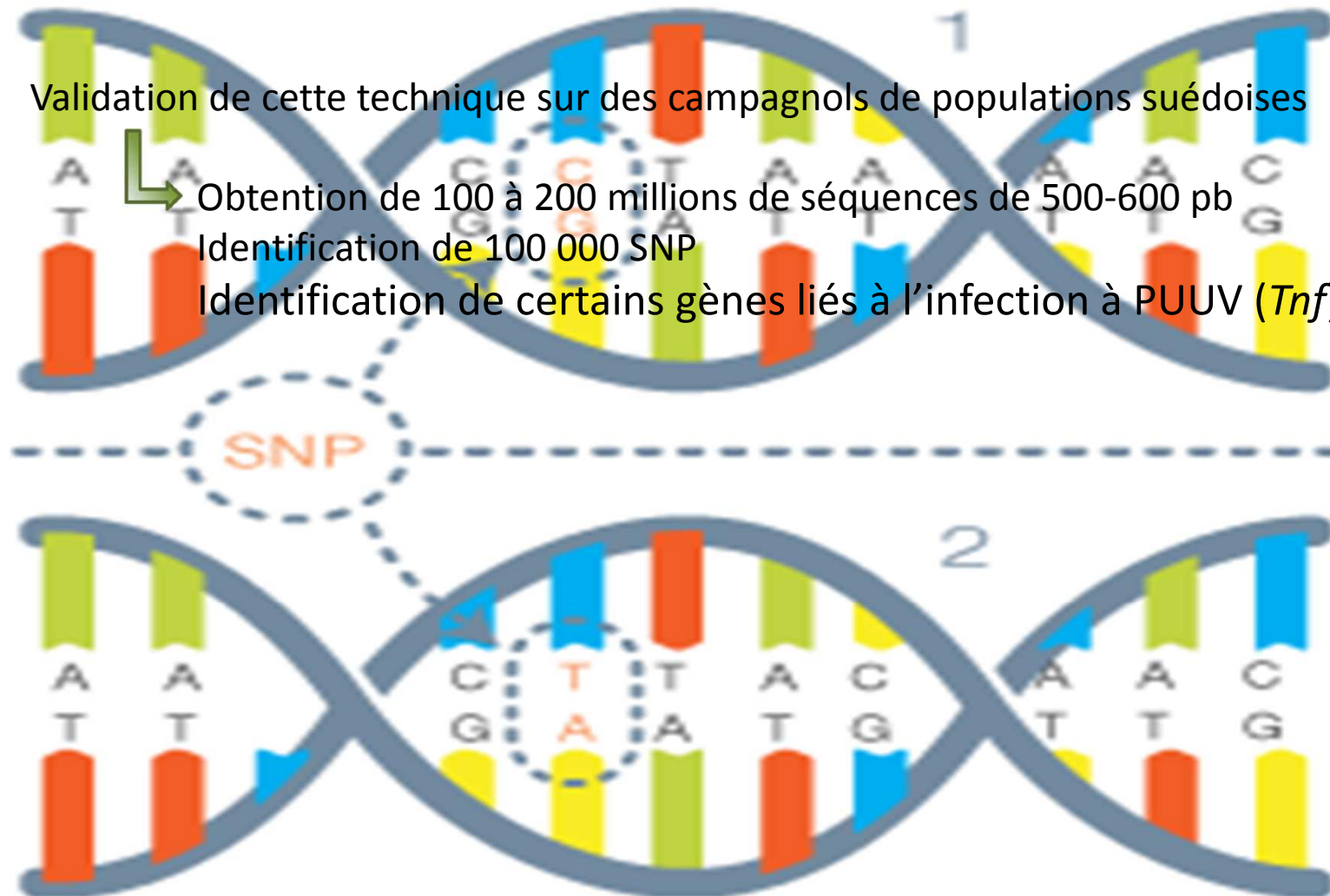
Validation de cette technique sur des campagnols de populations suédoises



Obtention de 100 à 200 millions de séquences de 500-600 pb

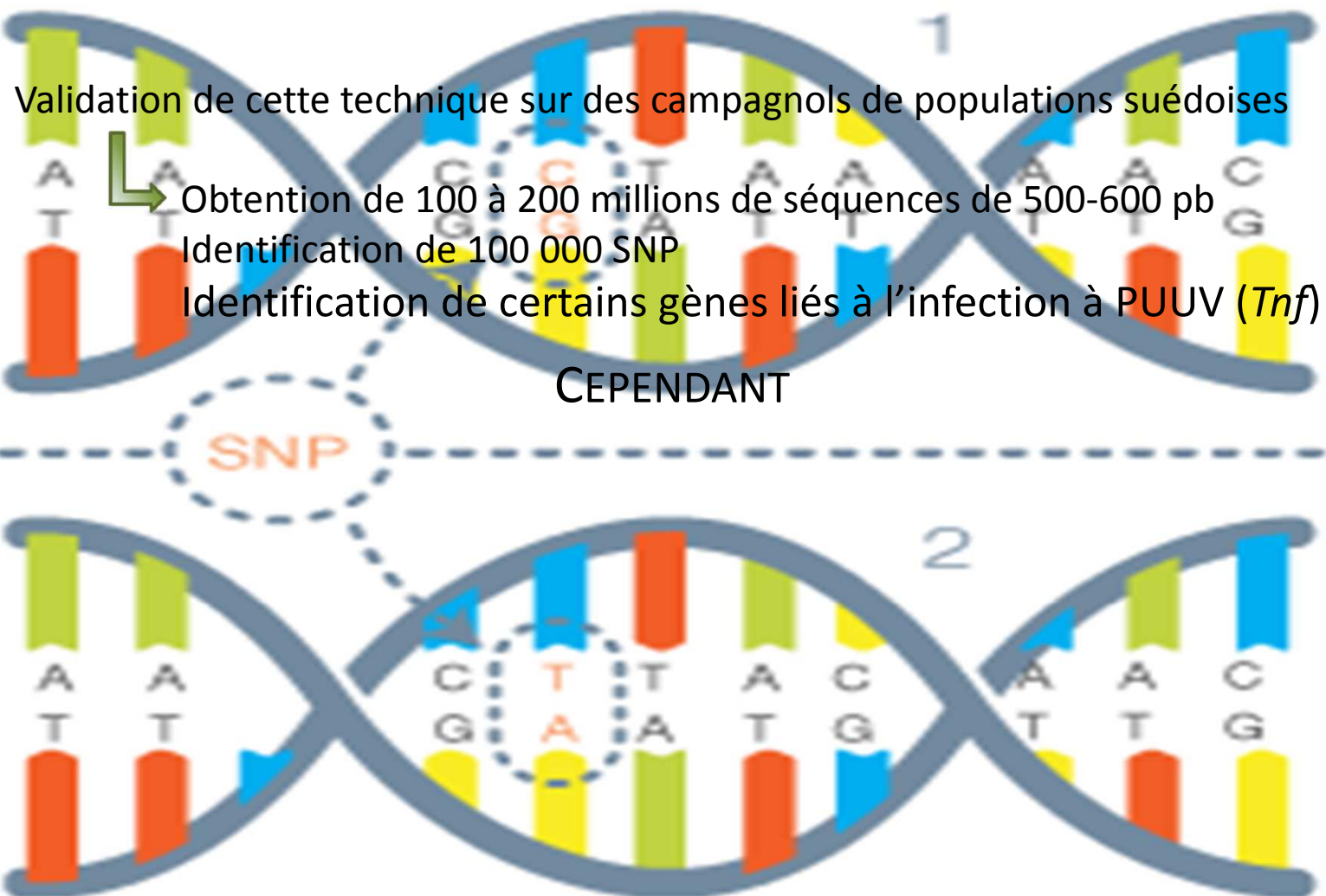
Identification de 100 000 SNP

Identification de certains gènes liés à l'infection à PUUV (*Tnf*)



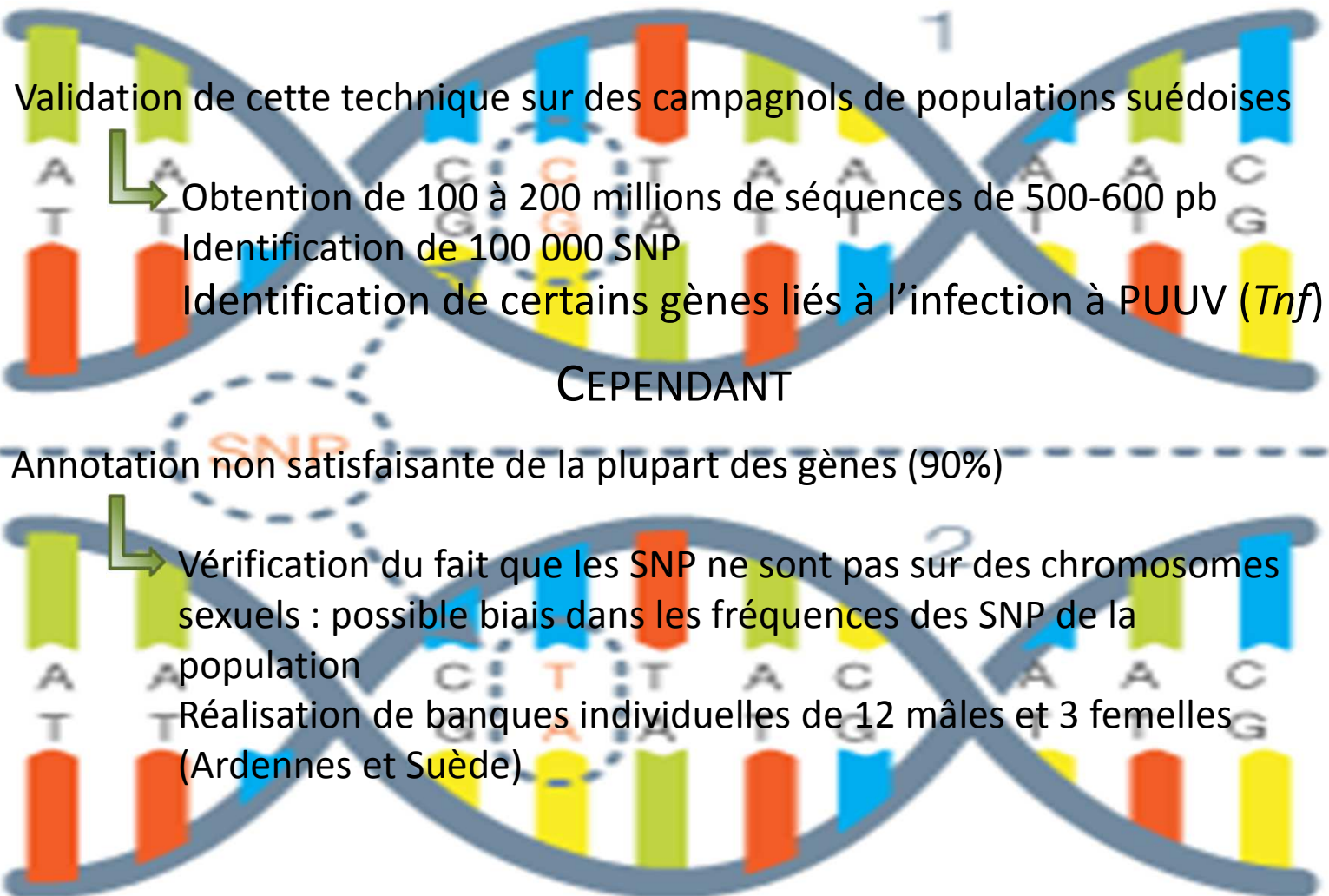
DÉTECTION DES SIGNATURES DE LA SÉLECTION

Scans génomiques



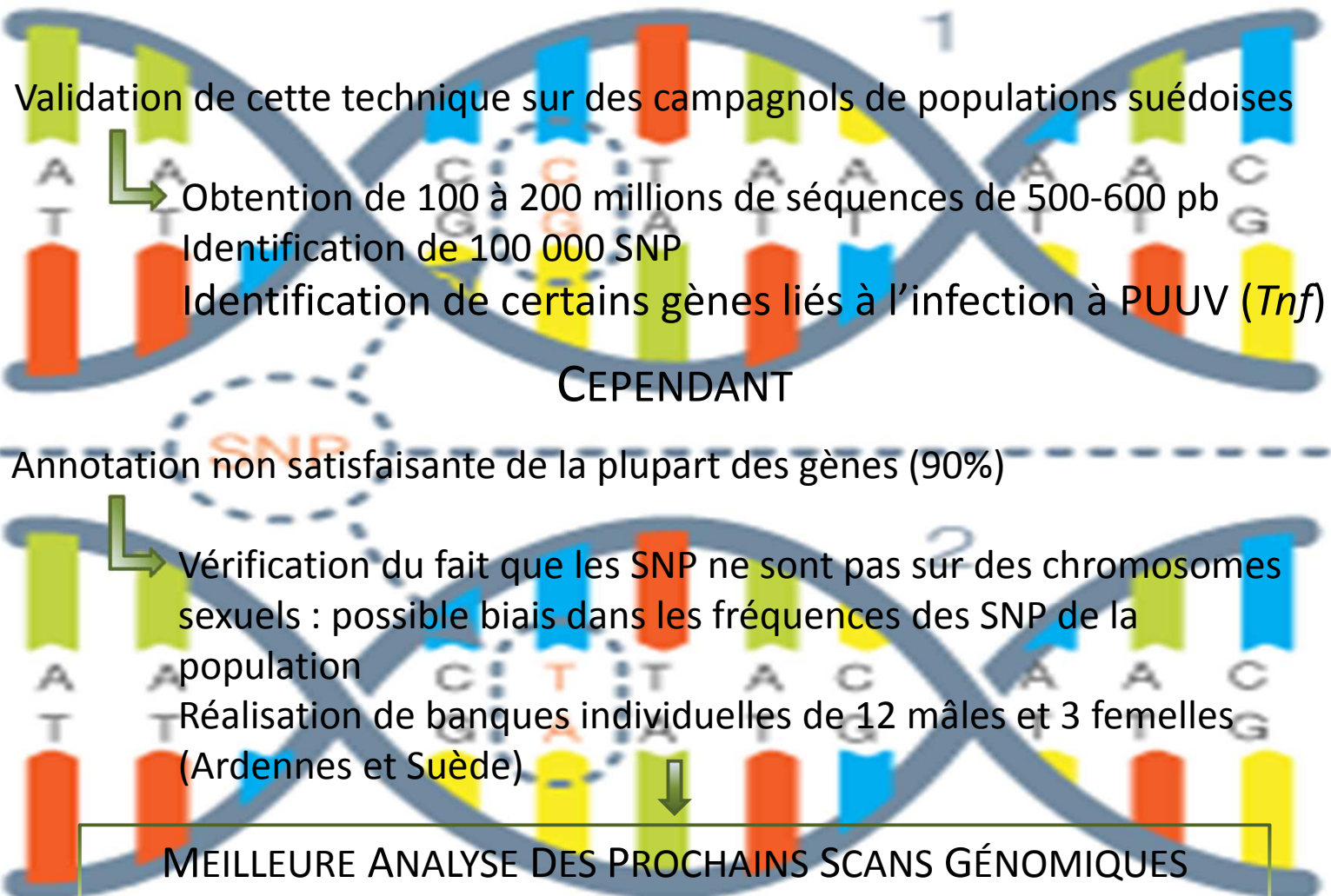
DÉTECTION DES SIGNATURES DE LA SÉLECTION

Scans génomiques



DÉTECTION DES SIGNATURES DE LA SÉLECTION

Scans génomiques



M. GLAREOLUS TOLÉRANT À PUUV ?

Objectifs

TEST DE L'HYPOTHÈSE DE LA TOLÉRANCE

Analyse des interactions entre *M. glareolus* et PUUV



Variabilité spatiale des interactions
M. glareolus et PUUV



Importance de la réponse inflammatoire ?

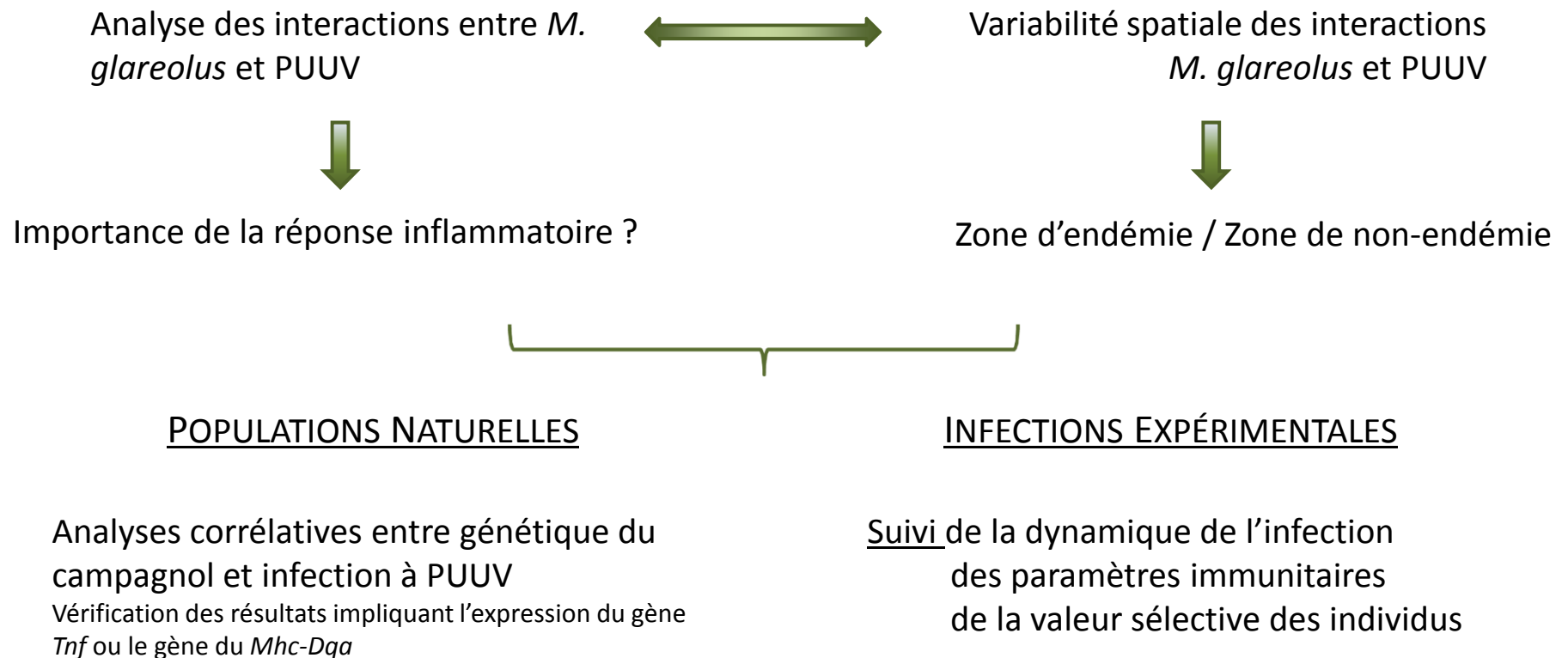


Zone d'endémie / Zone de non-endémie

M. GLAREOLUS TOLÉRANT À PUUV ?

Objectifs

TEST DE L'HYPOTHÈSE DE LA TOLÉRANCE



M. GLAREOLUS TOLÉRANT À PUUV ?

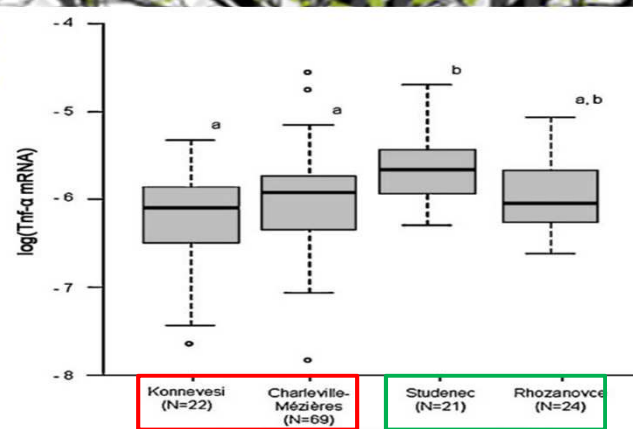
En populations naturelles

Lorsqu'un campagnol est infecté par le virus

↳ Développement d'une réponse pro-inflammatoire : production d'interférons, interleukines, *Tnf*.

↓

Vérification des patrons observés dans les Ardennes



Différences géographiques de l'expression du gène *Tnf-α*

M. GLAREOLUS TOLÉRANT À PUUV ?

En populations naturelles

Utilisation des campagnols non-infectés par le virus (pas d'effet confondant de l'infection)

Étude de la variabilité de la mise en place de la réponse inflammatoire selon l'endémie de la zone

Quantification de la réponse inflammatoire sur le sérum

ZONE D'ENDÉMIE

ZONE DE NON-ENDÉMIE

Analyses comparatives



M. GLAREOLUS TOLÉRANT À PUUV ?

Infections expérimentales

Séquençage du virus trouvé dans les organes des animaux séropositifs échantillonnés sur le terrain

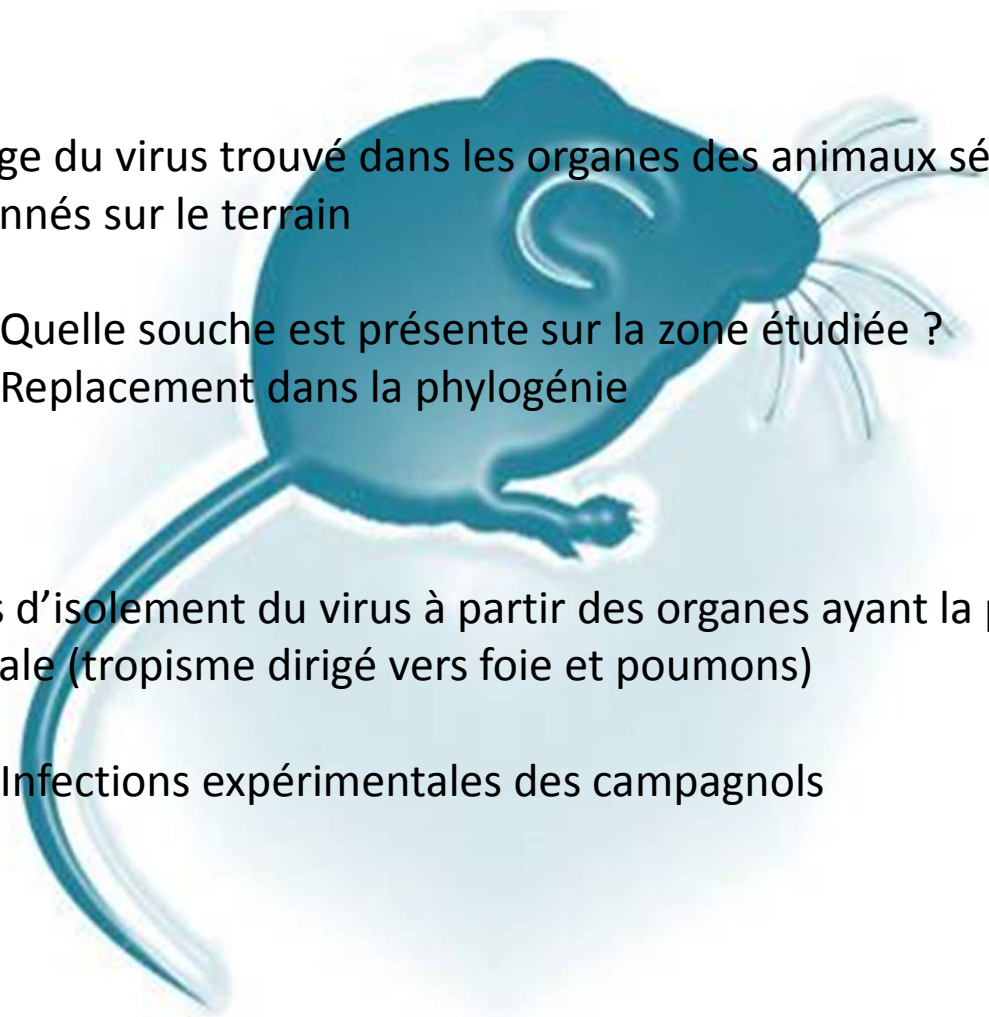


Quelle souche est présente sur la zone étudiée ?
Remplacement dans la phylogénie

Tentatives d'isolement du virus à partir des organes ayant la plus forte charge virale (tropisme dirigé vers foie et poumons)



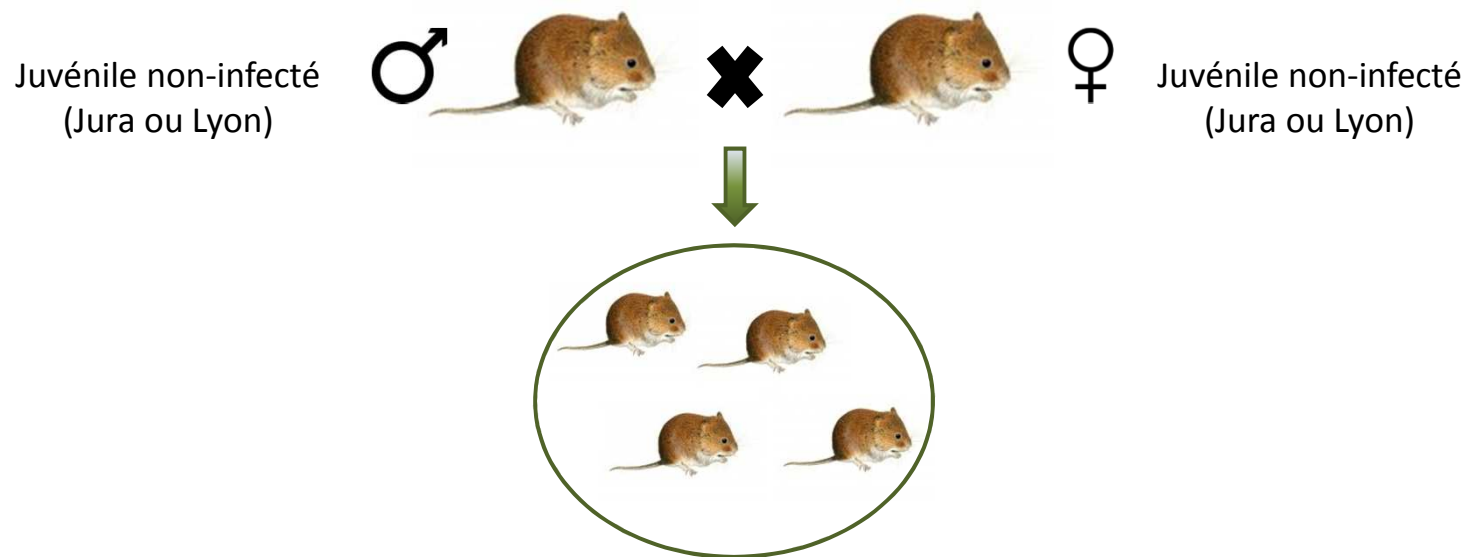
Infections expérimentales des campagnols



M. GLAREOLUS TOLÉRANT À PUUV ?

Infections expérimentales

ÉLEVAGE DES CAMPAGNOLS



Infection de la F1

Souche sauvage du Jura ou souche Suktamo
Inoculation d'une dose contrôlée et
similaire, intra-nasale, sous-cutanée ou
intra-péritonéale

M. GLAREOLUS TOLÉRANT À PUUV ?

Infections expérimentales

Suivi clinique et différents prélèvements (sang, urine, fèces) post-inoculation



Mesure du coût de l'infection sur la valeur sélective (paramètres physiques / physiologiques)
Étude de l'expression des gènes identifiés sous sélection tout au long de l'infection



M. GLAREOLUS TOLÉRANT À PUUV ?

Infections expérimentales

Suivi clinique et différents prélèvements (sang, urine, fèces) post-inoculation



Mesure du coût de l'infection sur la valeur sélective (paramètres physiques / physiologiques)
Étude de l'expression des gènes identifiés sous sélection tout au long de l'infection

Pour un campagnol de zone endémique : impact moindre de l'infection sur sa valeur sélective que pour un campagnol de zone non-endémique



Validation de l'hypothèse de la tolérance du campagnol

M. GLAREOLUS TOLÉRANT À PUUV ?

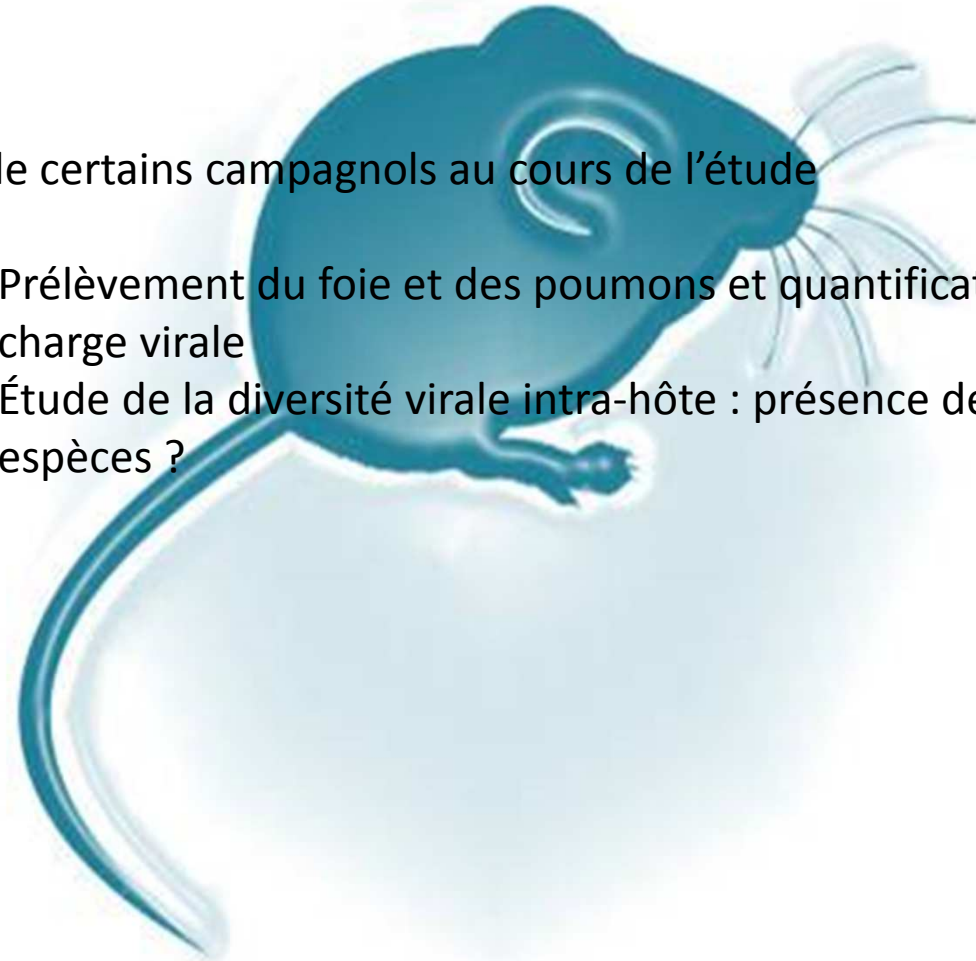
Infections expérimentales

Sacrifice de certains campagnols au cours de l'étude



Prélèvement du foie et des poumons et quantification de la charge virale

Étude de la diversité virale intra-hôte : présence de quasi espèces ?





MERCI POUR VOTRE ATTENTION !