



HAL
open science

Use of the yeast two-hybrid approach for the identification of multiple cellular interactors of AHSV: on the road to understanding virulence mechanisms.

Marine Lemesle, Pascal Dujardin, Grégory Caignard, Aurore Fablet, Stéphan Zientara, Damien Vitour

► To cite this version:

Marine Lemesle, Pascal Dujardin, Grégory Caignard, Aurore Fablet, Stéphan Zientara, et al.. Use of the yeast two-hybrid approach for the identification of multiple cellular interactors of AHSV: on the road to understanding virulence mechanisms.. Journée de la Recherche EnvA, ENVA, Sep 2023, Maisons-Alfort, France. hal-04501485

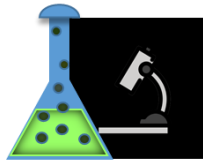
HAL Id: hal-04501485

<https://hal.science/hal-04501485v1>

Submitted on 12 Mar 2024

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.



Journée de la Recherche EnvA
Livret des résumés

Amphithéâtre Agora 3, EnvA

le 18 septembre 2023

Programme de la journée

9h00-9h30	accueil des participants	Bâtiment AGORA, Amphi agora 3	
-----------	--------------------------	-------------------------------	--

9h30-10h30	Session 1	Modérateur : Fabienne Nuttinck	Durée (min)
	Leostic Anne	Effets bénéfiques de l'ocytocine avant une césarienne programmée en prématurité tardive sur l'adaptation néonatale : étude randomisée sur modèle ovin	5
	Faucher Estelle	Pharmacological inhibition of cerebral lactate is neuroprotective after experimental cardiac arrest in rabbits	5
	Abi Zeid Daou Yara	Effect of fingolimod-induced leucocyte sequestration on inflammatory response and neurological damages in a porcine model of cardiac arrest	5
	Carlier Andréa	Pan-thérapie, médiée par CRISPR/Cas13, pour les myopathies centronucléaires en ciblant DYNAMIN 2	10
	Couplier Muriel	Vers des molécules antivirales pour le traitement d'encéphalites virales chez l'homme et le cheval..	10
	Grimard Bénédicte	Etude des micro-polluants dans les systèmes ovins innovants en Ile de France : Résultats préliminaires	10
	Rousseau Delphine	Etude des profilage en acides gras sériques et laitiers dans les systèmes ovins innovants en Ile de France : Résultats de la première saison de collectes	5
	Delsart Maxime	Quels sont les facteurs associés aux niveaux de parasitisme interne chez les porcs dans les systèmes d'élevage alternatifs ?	10

10h30-11h00	pause café	Salle TD agora 106 – Posters Hall agora	
-------------	------------	---	--

11h00-12h30	Session 2	Modérateur : Laurent Tiret	
	Lemesle Marine	Use of the yeast two-hybrid approach for the identification of multiple cellular interactors of AHSV: on the road to understanding virulence mechanisms	10
	Grot Axel	Détournement de la cellule par un flavivirus transmis par les tiques : liaisons dangereuses entre l'ARN viral et les protéines cellulaires chez l'humain et la tique Ixodes ricinus	10
	Jouneau Alice	Un modèle 3D de morphogenèse de l'épiblaste pluripotent	5
	Simion Matthieu	Contribution of lightsheet microscopy to the study of reproduction	10
	Gambino Adèle	Spécificité d'hôte du SARS-CoV-2 et interactions avec le système interféron chez plusieurs espèces animales de sensibilité différente	10
	Dujardin Pascal	Étude des interactions intra-virales et des antagonistes de la voie IFN-I du virus de la peste équine	5
	Porcelli Stefania	Establishment of B. afzelii and TBEV co-infection model in mice	10

12h30	déjeuner	Salle TD agora 106	
13h30-14h00	pause café	Salle TD agora 106 – Posters Hall agora	

Bâtiment AGORA, Amphi agora 3

14h00-15h30	Session 3	Modérateur : Bernard Klonjowski	Durée (min)
	Rose Hélène & Conan Muriel	Pourquoi la recherche française en communication en santé vétérinaire doit se développer	10
	Frederichi Michel	Les modèles basés sur l'agent (Agent Based Models) & la maîtrise de l'hygiène : application particulière à la diffusion du Sars-Cov2 en atelier de découpe de viande (ANR Flash SACADA Project (ANR-21-CO13-0001))	5
	Tran Christina	Caractérisation du danger Clostridium perfringens dans les filières bovine, porcine et volaille à l'abattoir.	10
	Adjou Karim	First identification of Cryptosporidium parvum virus 1 (CSpV1) in various subtypes of <i>Cryptosporidium parvum</i> from diarrheic calves, lambs and goat kids from France	10
	Mammeri Mohamed	First Report of Cryptosporidium parvum Zoonotic Hypertransmissible Subtype IIaA15G2R1 in Diarrheal Lambs in France	10
	Rouxel Clothilde	Détection d' <i>Anaplasma phagocytophilum</i> chez des passereaux d'Ile de France et caractérisation génétique des variants identifiés par différentes méthodes (typage groEL, ankA et MLST)	10
	Duflot Maureen	Évaluation des niveaux d'infections et de la diversité de <i>Cryptocotyle</i> spp., trématode parasite, de poissons échantillonnés en Manche Orientale et en mer du Nord	10

15h30-16h00	pause café	Salle TD agora 106 – Posters Hall agora
-------------	------------	---

16h00-17h00	Session 4	Modérateur : Mohamed Mammeri	
	Laclaire Anne-Louise	Effets de l'anesthésie générale sur l'appareil respiratoire du cheval	10
	Debras Elodie	Etude de la cicatrisation utérine Création d'un modèle animal de rupture utérine Développement de techniques de renfort	10
	Mendes Bruna	Long-term medical impact of castration in dogs: comparative quantification of LH receptor expression with or without a deslorelin implant	5
	Macaire Claire	Sensibilité et spécificité d'un dispositif de quantification des boiteries chez le cheval	10
	Bronisz-Budzynska Iwona	AAV-based systemic gene therapy with an optimized microdystrophin sequence prolongs survival and restores muscle function in rats with severe Duchenne muscular dystrophy	10
17h00	Election des 3 meilleures présentations « junior » et clôture de la journée		

Sommaire

1. Effets bénéfiques de l'ocytocine avant une césarienne programmée en prématurité tardive sur l'adaptation néonatale : étude randomisée sur modèle ovin	1
2. Pharmacological inhibition of cerebral lactate is neuroprotective after experimental cardiac arrest in rabbits	1
3. Effect of fingolimod-induced leucocyte sequestration on inflammatory response and neurological damages in a porcine model of cardiac arrest	2
4. Pan-thérapie, médiée par CRISPR/Cas13, pour les myopathies centronucléaires en ciblant DYNAMIN 2	2
5. Vers des molécules antivirales pour le traitement d'encéphalites virales chez l'homme et le cheval.	3
6. Etude des micro-polluants dans les systèmes ovins innovants en Ile de France : Résultats préliminaires	3
7. Etude des profilages en acides gras sériques et laitiers dans les systèmes ovins innovants en Ile de France : Résultats de la première saison de collectes	4
8. Quels sont les facteurs associés aux niveaux de parasitisme interne chez les porcs dans les systèmes d'élevage alternatifs ?	4
9. Use of the yeast two-hybrid approach for the identification of multiple cellular interactors of AHSV: on the road to understanding virulence mechanisms	5
10. Détournement de la cellule par un flavivirus transmis par les tiques : liaisons dangereuses entre l'ARN viral et les protéines cellulaires chez l'humain et la tique <i>Ixodes ricinus</i>	5
11. Un modèle 3D de morphogenèse de l'épiblaste pluripotent.....	6
12. Contribution of lightsheet microscopy to the study of reproduction	6
13. Spécificité d'hôte du SARS-CoV-2 et interactions avec le système interféron chez plusieurs espèces animales de sensibilité différente.....	6
14. Étude des interactions intra-virales et des antagonistes de la voie IFN-I du virus de la peste équine	7
15. Establishment of <i>B. afzelii</i> and TBEV co-infection model in mice	7
16. Pourquoi la recherche française en communication en santé vétérinaire doit se développer	7
17. Les modèles basés sur l'agent (Agent Based Models) & la maîtrise de l'hygiène : application particulière à la diffusion du Sars-Cov2 en atelier de découpe de viande (ANR Flash SACADA Project (ANR-21-CO13-0001))	8
18. Caractérisation du danger <i>Clostridium perfringens</i> dans les filières bovine, porcine et volaille à l'abattoir.	8
19. First identification of <i>Cryptosporidium parvum</i> virus 1 (CSpV1) in various subtypes of <i>Cryptosporidium parvum</i> from diarrheic calves, lambs and goat kids from France	9
20. First Report of <i>Cryptosporidium parvum</i> Zoonotic Hypertransmissible Subtype IlaA15G2R1 in Diarrheal Lambs in France.....	9
21. Détection d' <i>Anaplasma phagocytophilum</i> chez des passereaux d'Ile de France et caractérisation génétique des variants identifiés par différentes méthodes (typage groEL, ankA et MLST).....	10
22. Évaluation des niveaux d'infections et de la diversité de <i>Cryptocotyle</i> spp., trématode parasite, de poissons échantillonnés en Manche Orientale et en mer du Nord	10
23. Effets de l'anesthésie générale sur l'appareil respiratoire du cheval	11
24. Etude de la cicatrisation utérine	11
Création d'un modèle animal de rupture utérine.....	11
Développement de techniques de renfort	11
25. Long-term medical impact of castration in dogs: comparative quantification of LH receptor expression with or without a deslorelin implant..	12
26. Sensibilité et spécificité d'un dispositif de quantification des boiteries chez le cheval	12
27. AAV-based systemic gene therapy with an optimized microdystrophin sequence prolongs survival and restores muscle function in rats with severe Duchenne muscular dystrophy.....	13

1. Effets bénéfiques de l'ocytocine avant une césarienne programmée en prématurité tardive sur l'adaptation néonatale : étude randomisée sur modèle ovin

Anne Leostic (1,2), Yoann Rodriguez (1), Christophe Richard (1), Valérie Gélén (1), Gwendoline Morin (1), François Vialard (1,3), Vincent Mauffré (1, 4), Emmanuelle Motte-Signoret (1, 5)

1 : Université Paris-Saclay, UVSQ, INRAE, BREED – Equipe RHuma, 78350, Jouy-en-Josas

2 : Gynécologie-Obstétrique – CHI Poissy St Germain

3 : Génétique – CHI Poissy St Germain

4 : Ecole Nationale Vétérinaire d'Alfort, BREED, 94700, Maisons-Alfort, France

5 : Médecine et Réanimation Néonatale – CHI Poissy St Germain

Introduction – La détresse respiratoire néonatale transitoire (DRT) touche environ 40% des nouveau-nés en cas de césarienne programmée avant travail entre 34 et 37 SA. Il n'en existe aucun traitement préventif. Notre hypothèse est que l'ocytocine sécrétée en cours de travail participe à l'induction des cascades de réaction hormonale à l'origine de la préparation du nouveau-né à son adaptation respiratoire néonatale, en plus des glucocorticoïdes dont l'efficacité sur l'amélioration de la morbi-mortalité des grands prématurés n'est plus à prouver. L'objectif de notre étude était d'étudier chez l'ovine les effets de l'ocytocine sur l'adaptation néonatale dans des contextes de césariennes programmées en prématurité tardive.

Méthode – Nous avons réalisé les césariennes programmées de 23 brebis à J140 de gestation (équivalent de 35-36 SA chez l'homme) après double randomisation en 4 groupes : placebo vs dexaméthasone 72h avant la césarienne, puis placebo vs ocytocine 6h avant la césarienne. Nous avons ensuite réalisé une étude clinique et paraclinique des agneaux dans leurs 24 premières heures de vie.

Résultats – 54 agneaux sont nés (12 agneaux dans les lots DP (Dexaméthasone Placebo) et PP (Placebo Placebo), et 15 dans les lots DO (Dexaméthasone Ocytocine) et PO (Placebo Ocytocine)). L'administration de l'ocytocine seule (PO) par rapport au Placebo (PP) était associée à une diminution de la mortalité néonatale (13 % vs 47 %), de la nécessité de pratiquer des manœuvres de réanimation néonatale (40 % vs 83 %), ainsi que des intubations (20 % vs 50 %). Elle était également associée à une amélioration des scores cliniques, gazométriques et échographiques d'adaptation respiratoire à H0 et H1 de vie, qu'elle soit utilisée seule ou en adjonction à la dexaméthasone.

Conclusion – L'administration anténatale d'ocytocine au préalable de césarienne programmée en prématurité tardive semble exercer un effet bénéfique sur l'adaptation respiratoire et hémodynamique néonatale des agneaux.

2. Pharmacological inhibition of cerebral lactate is neuroprotective after experimental cardiac arrest in rabbits

Faucher E. (1), Abi Zeid Daou Y. (1), Lidouren F. (1), Ghaleh B. (1), Tissier R. (1), Kohlhauer M. (1).

(1) : Institut Mondor de Recherche Biomédicale, UPEC, Inserm, Ecole Nationale Vétérinaire d'Alfort, UMR Pharmacologie-Cardiologie, 94700, Maisons-Alfort, France

Introduction: Neuronal consumption of lactate is known to be neuroprotective after prolonged brain ischaemia. However, its consequences after a shorter ischemia, such as after cardiac arrest, are unknown.

Objectives: The goal of our study is to decipher the role of lactate on neurological injury after a cardiac arrest by blocking the use of lactate using two different methods.

Methods: We anesthetised eighteen male New-Zealand rabbits for the measurement of cerebral consumption in glucose and lactate by the arteriojugular differences. A microdialysis probe was also implanted in the cortex to measure the extracellular concentration of several metabolites in the brain for 4h after resuscitation. All the rabbits received, just before the induction of 10 min of ventricular fibrillation, either an intravenous infusion of oxamate (inhibitor of lactate dehydrogenase) (37.5 mg/kg/min, Oxa group, n=6), or an intrathecal injection of fluorocitrate (citric acid cycle inhibitor of astrocyte metabolism) (10 nmol/kg, FC group, n=6). All groups were compared to a control group, receiving saline. Additional animals were submitted to the same protocol but without any prior surgical preparation to assess the neurological recovery during 48h after cardiac arrest (n=7 in each group). In both procedures, neuronal death and astrogliosis were assessed histologically by fluorojade C staining.

Results: In control animals, cardiac arrest led to an intense metabolic crisis characterised by high cerebral consumptions in glucose and lactate, and elevated extracellular concentrations in the brain in glucose and lactate.

Oxamate administration mitigated the metabolic crisis by reducing both cerebral consumption in glucose and lactate. However, oxamate infusion increased the extracellular concentration in lactate and pyruvate, suggesting their accumulation in the cerebral tissue. Infusion of oxamate was associated with dramatic improvement of neurological function and a decrease of both neuronal death and astrogliosis compared to control group.

FC injection only decreased the cerebral lactate consumption compared to control group after cardiac arrest. Neurological dysfunction, neurological death and astrogliosis were shown to be significantly decreased in FC vs control at 48h after cardiac arrest.

Conclusions: Thus, our results clearly describe that the use of lactate in the brain is deleterious for the neurological recovery after cardiac arrest.

3. Effect of fingolimod-induced leucocyte sequestration on inflammatory response and neurological damages in a porcine model of cardiac arrest

Yara ABI ZEID DAOU (1;2), Antoine BOIS (1;2), Naoto WATANABE (1;2), Estelle FAUCHER (1;2), Fanny LIDOUREN (1;2), Mathieu SURENAUD (1), Sophie HUE (1), Matthias KOHLHAUER (1;2), Bijan GHALEH (1;2), Renaud TISSIER (1;2).

(1) Université Paris Est Créteil, INSERM, IMRB, 94010, Créteil, France

(2) Ecole Nationale Vétérinaire d'Alfort, IMRB, 94700, Maisons-Alfort, France

Introduction: Early alterations in immune function are observed after cardiac arrest, with sepsis-like syndrome and cerebral infiltration by leucocytes.

Hypothesis: The pharmacological sequestration of leucocytes within lymphoid tissues with the sphingosine 1-phosphate analog fingolimod could mitigate the inflammatory response and provide neuroprotection after cardiac arrest.

Methods: Anesthetized pigs underwent 14 min of ventricular fibrillation followed by resuscitation. Animals randomly received fingolimod (1 mg/kg i.v.) or saline two hours prior to cardiac arrest (n=6 in each group). Blood samples were collected for blood cells count and dosages of cytokines (Luminex®) and neurofilament light chain (NFL, Quantmetrix®). Neurological dysfunction was assessed 24 hours after cardiac arrest.

Results: In the Fingolimod group, total blood leucocytes and lymphocytes counts were reduced as compared to Controls, both prior to and after cardiac arrest. Conversely, blood levels of Interleukin [IL]-RA1a, IL-6, IL-8, IL-18 were not different among groups. NFL blood levels and neurological dysfunction score were also not different in both groups after cardiac arrest.

Conclusion: Despite reducing of blood total leucocytes and lymphocytes count, fingolimod did mitigate neither the circulating levels of pro- or anti-inflammatory cytokines nor the neurological damage following cardiac arrest. Leucocytes sequestration in lymphocyte tissue might not be sufficient to provide neuroprotection after cardiac arrest.

4. Pan-thérapie, médiée par CRISPR/Cas13, pour les myopathies centronucléaires en ciblant DYNAMIN 2

Carlier A., Barthélémy I., Blanchard-Gutton N., Relaix F., Tired L., Blot S., Punzón I.

Ecole nationale vétérinaire d'Alfort, IMRB, UPEC, Inserm, équipe Relaix, 94700 Maisons-Alfort, France

Les myopathies centronucléaires (CNM) sont des myopathies congénitales caractérisées par une hypotrophie et une faiblesse musculaire. Elles sont principalement liées à des mutations sur les gènes de la protéine MTM1, BIN1 et de la GTPase DNM2. Ces protéines interagissent dans le muscle comme un réseau et sont impliquées dans la stabilité et le trafic des membranes des fibres musculaires. Il n'existe pas à ce jour de traitement contre les CNMs.

Notre groupe a contribué à la caractérisation d'un modèle spontané unique de chien *DNM2*^{R465W/+} qui porte la mutation R465W, la plus courante chez les patients *DNM2*. Cette mutation confère un gain de fonction à la protéine DNM2. Il a été démontré chez la souris que la réduction de la protéine DNM2 par un knockdown spécifique des transcrits *DNM2* résout le phénotype des CNM liés à *BIN1*, *MTM1* et *DNM2*. Cette observation ouvre la voie à une pan-thérapie ciblant plusieurs CNMs par la régulation de l'expression d'une seule protéine, la DNM2. Le système CRISPR/Cas13 récemment découvert, a la

capacité via la protéine Cas13 de dégrader l'ARN cible de façon très spécifique. Nous proposons d'utiliser ce système pour réduire le niveau de transcrit de *DNM2* dans notre modèle canin comme pan-thérapie des CNMs.

A partir de biopsies musculaires canines, nous avons obtenu des cultures de myoblastes sains et *DNM2^{R465W/+}*. Une caractérisation de ces myoblastes a permis d'identifier des éléments quantifiables pour mesurer l'amélioration phénotypique après traitement. Des transfusions cellulaires transitoires du système CRISPR/Cas13 ont montré une réduction significative du transcrit de l'ARNm *DNM2* avec une réduction de l'activité GTPase de cellules *DNM2^{R465W/+}*. L'étape suivante sera la preuve de principe *in vivo* de cette stratégie par injection intra-musculaire des chiens *DNM2^{R465W/+}*.

Afin d'évaluer l'impact de la mutation *DNM2^{R465W/+}* sur les cellules souches musculaires, celles-ci ont été quantifiées au cours du temps. Une diminution de leur nombre à partir de 4 mois par rapport aux chiens sains a été identifiée dans le muscle *tibial crânial*. Ces quantifications sont actuellement en cours dans d'autres muscles différemment affectés par la maladie et un test de régénération *in vivo* est envisagé.

5. Vers des molécules antivirales pour le traitement d'encéphalites virales chez l'homme et le cheval.

Muriel Culpier (1), Noémie Berry (1), Marielle Cochet (1), Valentine Chaillot (1), François Piumi (1), Kamila Gorna (1).

Les encéphalites virales, chez l'homme et le cheval, sont des maladies pouvant conduire à la mort ou à des séquelles neurologiques importantes. Il existe des vaccins contre certains virus responsables de ces affections mais ceux-ci n'offrent pas toujours une couverture suffisante et, à l'heure actuelle, aucune thérapeutique anti-virale spécifique n'existe. Nous développons une recherche qui a pour but de pallier ce manque et d'identifier des molécules antivirales à large spectre (molécules capables de bloquer la réplication de plusieurs virus). Nous montrerons les modèles d'infection (virus West Nile, virus de l'encéphalite à tiques, virus de l'encéphalite équine de l'est...) 2D/3D, basé sur des cellules neurales humaines et/ou équines, et les cribles automatisés que nous avons mis en place dans le cadre de cette étude. Nous montrerons également l'importance d'utiliser des modèles physiologiques dans ce type d'étude et enfin, nous montrerons l'action antivirale de molécules déjà commercialisées pour d'autres pathologies et qui pourraient faire l'objet d'un repositionnement thérapeutique à l'avenir.

6. Etude des micro-polluants dans les systèmes ovins innovants en Ile de France : Résultats préliminaires

Bénédicte Grimard (1), Gaud Dervilly (2), Delphine Rousseau (3), Valérie Wolgust(4), Petru Jitaru (5), Anne Couturier-Tarrade (3)

1: EnvA, INRAE, BREED, Service de Zootechnie, 94700, Maisons-Alfort

2 : INRAE, UMR LABERCA, Oniris, 44300 Nantes

3 : Université Paris Saclay, UVSQ, INRAE, BREED, 78350 Jouy-en-Josas

4 : EnvA, Service de Zootechnie, 94700 Maisons-Alfort

5 : ANSES, Laboratoire de Sécurité des Aliments, 94701 Maisons-Alfort Cedex

Le projet EPSO a débuté en 2021 dans le cadre du méta-programme SYALSA pour explorer les micro-polluants présents dans les fourrages et les animaux de 2 systèmes ovins : écopâturage en zone urbaine (3 élevages) et pâturage sur des intercultures (dérobées mises en place après des céréales, 3 élevages).

Des dosages de différents micro-polluants ont été réalisés dans les fourrages et les fluides (sang, urine, lait) des animaux : 18 hydrocarbures aromatiques polycycliques- (HAP), 8 polychlorobiphényles (PCB), les métaux lourds As, Cd, Cr, Co, Mo, Ni, Pb dans les fourrages, Cd et Pb dans le sang et le lait des animaux ainsi que les résidus de produits phytosanitaires (486 résidus).

Résultats : Des traces de 2 à 6 HAP ont été identifiées dans les fourrages (Acénaphthène, Anthracène, Benzo(a)anthracène, Fluoranthène, Fluorène, Phénanthrène, Pyrène) dont certains ont été retrouvés dans l'urine des animaux tout particulièrement dans le système en écopâturage. Deux échantillons de fourrage prélevés en zone urbaine contenaient des PCB (1 et 5 PCB différents). Aucun des fourrages ne contenait de traces métalliques à des taux supérieurs aux Limites Maximales de Résidus (LMR) fixées par l'UE quel que soit le système. Par contre les taux de plomb atteignaient la LMR dans le lait des brebis issues de deux élevages, un par système. Entre 1 et 12 résidus de pesticides ont été identifiés dans les fourrages alors même qu'aucun des pâturages n'a été traité. Sur les 13 échantillons de fourrage analysés, 8 contenaient entre un et cinq pesticides à une concentration supérieure ou égale aux LMR. Pour les fourrages cultivés en interculture, il ne semble pas y avoir de lien entre les résidus retrouvés et les traitements réalisés sur la culture précédant la mise en place des dérobées.

Conclusion : Dans les systèmes en interculture, les fourrages contiennent des traces de pesticides qu'il conviendra de rechercher dans les fluides animaux alors qu'en zone urbaine les fourrages sont chargés en HAP également détectés dans l'urine des animaux. Actuellement ces travaux se poursuivent afin de caractériser les profils des micro-polluants dans les différents fluides biologiques.

7. Etude des profilages en acides gras sériques et laitiers dans les systèmes ovins innovants en Ile de France : Résultats de la première saison de collectes

Delphine Rousseau-Ralliard (1), Valérie Wolgust (2), Petru Jitaru (3), Michèle Dahirel (1), Anne Couturier-Tarrade (1), Bénédicte Grimard (4)

1 : Université Paris Saclay, UVSQ, INRAE, BREED, 78350 Jouy-en-Josas

2 : EnvA, Service de Zootechnie, 94700 Maisons-Alfort

3 : ANSES, Laboratoire de Contrôle des aliments, 94700 Maisons-Alfort

4 : EnvA, INRAE, BREED, Service de Zootechnie, 94700, Maisons-Alfort

Le projet EPSO s'inscrit dans le cadre du méta-programme SYALSA, dans un contexte de sciences participatives, pour explorer le bénéfice-risque de 2 systèmes d'élevage ovins en Ile-de-France: écopâturage en zone urbaine (« Urb », 3 élevages) et pâturage sur couverts d'interculture (« Int », 3 élevages). Le risque portait sur les micro-polluants potentiellement présents dans les fourrages et les animaux (non présenté ici). Le bénéfice de ces pratiques porte sur la qualité des acides gras (AG) du sérum et du lait des brebis issues de ces conduites d'élevage et dont les agneaux peuvent potentiellement être commercialisés pour la consommation humaine.

Les lipides du sérum et du lait des brebis ont été extraits selon la technique de Folch puis analysés par chromatographie en phase gazeuse, après transméthylation des AG. Les jeux de données des profilages et des concentrations en AG ont été combinés dans des analyses multifactorielles (AFM) pour évaluer les effets de l'âge (n=5 jeunes brebis primipares de 1-2 ans versus n=5 brebis multipares de 4-5 ans par élevage) et des systèmes d'élevage chez des brebis allaitantes.

Résultats. Comme attendu, les profils lipidiques des sérums sont différents entre les deux systèmes, à savoir plus riches en acide alpha-linolénique (ALA) et autres acides gras polyinsaturés chez les animaux « Int » tandis que les sérums « Urb » sont plutôt riches en AG saturés et en acide docosahexaénoïque (DHA). L'AFM indique un effet de l'âge (dim.3), avec des sérums plus riches en monoinsaturés (C16:1 et C18:1) chez les jeunes brebis et en polyinsaturés oméga-3 chez les vieilles brebis. Le lait des deux systèmes diffèrent également avec moins d'AG saturés en C10-C12 mais plus d'AG monoinsaturés en C18:1 chez les brebis « Urb » par rapport aux brebis « Int ». Par contre, tous les laits sont pauvres en DHA. La concentration totale en AG est supérieure chez les jeunes brebis par rapport aux brebis âgées.

Conclusion. Le profilage en AG confirme que les laits issus de ces deux systèmes d'élevage sont différents. Ce résultat peut s'expliquer par des durées différentes de mise au pâturage (toute l'année dans les systèmes en écopâturage vs une partie de l'année, variable entre les fermes dans les systèmes en interculture) et des compositions floristiques très différentes, auxquelles s'ajoute celle de l'aliment donné en bergerie dans le cas des brebis « Int ».

8. Quels sont les facteurs associés aux niveaux de parasitisme interne chez les porcs dans les systèmes d'élevage alternatifs ?

Delsart M. (1), Rose N. (2), Dufour B. (1), Répérant J.M (3), Blaga R. (4), Pol F. (5), Fablet C. (2).

(1) : Anses, École Nationale Vétérinaire d'Alfort, Laboratoire de Santé Animale USC EPIMAI, 94700 Maisons-Alfort, France

(2) : Anses Ploufragan-Plouzané-Niort, Unité Épidémiologie, Santé et Bien-Être, 22440 Ploufragan, France

(3) : Anses Ploufragan-Plouzané-Niort, Unité Virologie, Immunologie, Parasitologie Aviaires et Cunicoles, 22440 Ploufragan, France

(4) : Anses, INRAE, École Nationale Vétérinaire d'Alfort, Laboratoire de Santé Animale, BIPAR, 94700 Maisons-Alfort, France

(5) : ONIRIS, 101 Rte de Gachet, 44300 Nantes, France

Une étude a été menée dans 112 élevages porcins alternatifs français (sur litière ou avec accès à l'extérieur) où des échantillons fécaux et sanguins ont été prélevés sur 10 truies, 10 porcs de 10-12 semaines d'âge et/ou 10 porcs en fin d'engraissement pour une analyse coprologique ainsi que pour des recherches d'anticorps dirigés contre *Ascaris suum* et *Toxoplasma gondii*. Des informations concernant la structure et la conduite de l'élevage ont été collectées lors de la visite de l'exploitation et ont fait l'objet d'analyses multidimensionnelles afin de déterminer des profils d'élevages au regard de l'infestation parasitaire et les caractéristiques de l'exploitation qui leur sont associés. Des oocystes de coccidies ont été observés dans les fèces de porcs dans la majorité des élevages (84 %), suivis par des œufs de strongles (55 %), *Trichuris suis* (32 %) et *A. suum* (16 %). Les taux d'élevages séropositifs pour *A. suum* et *T. gondii* étaient respectivement de 89 % et 71 %. L'hygiène et notamment la décontamination des installations sont des facteurs associés à un faible niveau de parasitisme. À l'inverse, l'élevage en plein air ou sur litière, un entretien médiocre des bâtiments, les élevages à faible effectif porcin ainsi que la saison (été) sont des paramètres associés à des niveaux élevés de parasitisme. L'utilisation de traitements

anthelminthiques multiples sur les porcs en croissance était associée à une faible excrétion d'œufs de *T. suis* mais à des niveaux élevés de séroprévalence d'*A. suum*. Même si certains facteurs ne sont pas sous le contrôle des éleveurs (e.g. saison), des marges d'amélioration existent concernant l'hygiène et l'utilisation appropriée de traitements antiparasitaires.

9. Use of the yeast two-hybrid approach for the identification of multiple cellular interactors of AHSV: on the road to understanding virulence mechanisms

Marine Lemesle (1), Pascal Dujardin (1), Grégory Caignard (1), Aurore fablet (1), Stéphan Zientara (1), Damien Vitour (1)

(1) : UMR 1161 VIROLOGIE, INRAe, ENVA, ANSES, Laboratory for Animal Health, Paris Est University, 94701 Maisons-Alfort, France.

African Horse Sickness (AHS) is a devastating disease of equids caused by AHS virus (AHSV), an arbovirus of the *Sedoreoviridae* family, genus *Orbivirus*. There are 9 described AHSV serotypes transmitted by haematophagous *Culicoides* midges. The horse infection leads to severe respiratory and circulatory impairment and is often fatal. AHSV is endemic in tropical and subtropical Africa areas but during the last century it has repeatedly spread outside Africa causing severe outbreaks in Europe and most recently in Thailand. These emergences (partly driven by climate changes) in previously free regions argues that this is an active and **ongoing global threat** to the horse industry. AHSV is an obligate intracellular pathogen whose replication cycle requires cellular host reprogramming processes. Viral hijacking of cell signaling pathways is largely driven by virus-host protein-protein interactions (PPIs) but so far, no PPIs study has been conducted for AHSV. Thus, to identify virus-host PPIs related to virulence, we have compared the cellular interactome of two high- and low-pathogenic AHSV strains with a **yeast two-hybrid (Y2H) system**. All open reading frames (ORFs) of the virulent AHSV-5 and apathogenic AHSV-4 strains were cloned in a Y2H bait plasmid. On the other side, a cDNA library from a Human lung cell line (A549) was used as prey. In Y2H screening experiments, yeasts can only grow if the viral bait interacts with the cellular prey proteins through a reporter gene system. More than a hundred of cellular interactors were thus identified by prey plasmids sequencing and analyzing with a Human-specific multi-parallel BLASTX alignment program. Bio-informatic analyses established interactome maps and identified the biological functions of each cellular partner to reveal AHSV targeted cellular pathways. Preliminary data indicate that the major biological functions hijacked by AHSV are the **host-virus interaction**, **protein transport** and **RNA-binding**. Unravelling the functions of viral proteins and their interactions with host proteins is a prerequisite for the development of new therapeutic and prophylactic solutions. Within this context, the compared analyses between the pathogenic and apathogenic strains will also allow us to identify crucial interactors which could play a role in AHSV virulence mechanisms.

10. Détournement de la cellule par un flavivirus transmis par les tiques : liaisons dangereuses entre l'ARN viral et les protéines cellulaires chez l'humain et la tique *Ixodes ricinus*

Axel Grot (1), Yves Unterfinger (1), Sandrine A Lacour (1), Lesley Bell-Sakyi (2), Jennfier Richardson (1), et Marion Sourisseau (1).

(1) : UMR1161 Virologie (VIRO) – Ecole nationale vétérinaire - Alfort, Anses Laboratoire de santé animale, sites de Maisons-Alfort et de Normandie, Institut National de Recherche pour l'Agriculture, l'Alimentation et l'Environnement – 7 avenue du Général de Gaulle 94704 MAISONS-ALFORT CEDEX, France

(2) : Institute of Infection and Global Health, University of Liverpool, Liverpool Science Park IC2, 146 Brownlow Hill, Liverpool L3 5RF, United Kingdom

En Europe, le virus de l'encéphalite à tique (TBEV), un Flavivirus principalement transmis par la tique *Ixodes ricinus*, est responsable d'environ 3000 infections humaines annuelles. Malgré sa simplicité moléculaire (une dizaine de protéines et un génome à ARN monocaténaire positif de 11 kilobases), TBEV est capable d'infecter à la fois la tique et l'humain, deux espèces très distantes phylogénétiquement. A ce jour, les mécanismes conférant la capacité à TBEV, et aux arbovirus en général, d'infecter à la fois un arthropode et un vertébré ne sont pas résolus.

L'objectif de ces travaux est d'élucider les mécanismes moléculaires dirigeant l'infection par TBEV chez l'humain et la tique, en se focalisant sur l'identification des protéines cellulaires interagissant avec le génome viral. Pourtant moins étudiées que les interactions entre protéines virales et cellulaires, les interactions entre ARN viral et protéines hôtes sont cruciales pour le cycle viral. Le génome à ARN, support de la multiplication virale, détourne des facteurs cellulaires pour assurer sa traduction et sa réplication. Il sert également d'indicateur pour des senseurs et effecteurs cellulaires spécifiques permettant d'éliminer l'infection.

Nous avons cartographié l'interactome protéique humain et tique du génome de TBEV par ChIRP-MS, une technique novatrice permettant d'identifier les protéines liant l'ARN viral *in cellulo*, en contexte infectieux. Nous avons mis en évidence de nombreuses interactions virus-hôte, dont certaines jamais caractérisées. Nous analysons à présent le rôle fonctionnel des interactions les plus robustes par ARN interférence en lignées humaine et tique, afin de définir leur impact sur le cycle de TBEV.

Notre étude comparative devrait permettre de découvrir de nouveaux facteurs de dépendance ou de restriction de l'infection par TBEV, dont certains pourraient être conservés chez les deux hôtes, et plus généralement d'apporter un éclairage sur la capacité des arbovirus à alterner entre mammifère et arthropode.

11. Un modèle 3D de morphogenèse de l'épiblaste pluripotent

Alice Jouneau (1), Vincent Brochard (1)

(1) : UMR 1198 BREED, INRAE, bâtiment 230, 78140 Jouy-en-Josas

La pluripotence est définie par la capacité des cellules à se différencier dans tous les lignages cellulaires. In vivo, les cellules pluripotentes de l'épiblaste acquièrent progressivement cette capacité en même temps que s'effectue leur polarisation et leur arrangement en une structure 3D dite en « rosette », qui ensuite se creuse d'un lumen. Au cours de cette période essentielle du développement précoce, se produisent des changements majeurs à la fois épigénétiques et métaboliques. Les cellules souches embryonnaires (CSE), substitut in vitro des cellules précoces de l'épiblaste, ont la capacité de s'auto-organiser en rosette lorsqu'elles sont cultivées en 3D et constituent donc un modèle de choix pour étudier les événements accompagnant cette morphogenèse. Ce projet s'inscrit dans une démarche 3R, car cherchant à caractériser un modèle alternatif à l'expérimentation animale et à éviter le recours à certaines matrices d'origine animale.

12. Contribution of lightsheet microscopy to the study of reproduction

Mathieu Simion (1), Audrey Prezelin (1), Pierre Adenot (1)

(1) : BREED UMR1198

Light sheet microscopy allows fluorescence to be visualised on small live specimens or large fixed specimens. It can therefore be an imaging technique of choice in reproductive biology, as it is suitable for objects of very different sizes, from oocytes and pre-implantation embryos to the study of differentiated adult tissues such as gonads. Imaging of large fixed specimens requires tissue clearing methods to enable deep penetration of light.

I will introduce the principles of light sheet microscopy and a few examples of its use in reproductive and developmental biology. I will then present our first attempts at clearing and imaging reproductive or reproductive-related tissues at the MIMA2 imaging facility.

13. Spécificité d'hôte du SARS-CoV-2 et interactions avec le système interféron chez plusieurs espèces animales de sensibilité différente

Adèle Gambino (1), Virginie Doceul (1), Damien Vitour (1), Sophie Lepoder (1).

(1) : Ecole Nationale Vétérinaire d'Alfort, UMR VIRO, 94700, Maisons-Alfort, France

Le virus SARS-CoV-2 a émergé chez l'Homme à la fin de l'année 2019. Si son origine n'est pas complètement élucidée, il apparaît toutefois qu'il existe chez des chauve-souris du genre *Rhinolophus* des virus ayant une homologie de séquence supérieure à 96% tels que le BANAL-52, BANAL-103 et BANAL-236 isolés au Laos ou le RaTG13 découvert en Chine. Ces virus de chauve-souris pourraient avoir pu s'adapter à l'espèce humaine et être à l'origine de la pandémie humaine. De plus, le virus SARS-CoV-2 a la capacité d'infecter différentes espèces animales, visons, cerfs de Virginie et Félidae notamment. Le système interféron (IFN) est la première ligne de défense intracellulaire contre les infections virales. Les virus bien adaptés à leur hôte ont développé de multiples mécanismes pour contrer la réponse IFN. Ainsi de nombreuses études menées sur le SARS-CoV-2 ont montré que plusieurs protéines virales de ce virus inhibaient l'activation de la voie interféron chez l'Homme, notamment par interaction directe de ces protéines avec des protéines de la voie IFN humaine. Ces contre-mesures peuvent toutefois être moins efficaces lors d'un changement d'hôte compte tenu de la divergence évolutive des espèces. Il y a à ce jour peu d'études s'intéressant à cet aspect. Ainsi, l'objectif de cette thèse est d'étudier si les interactions et mécanismes d'inhibition connus pour l'Homme sont maintenus lorsque le SARS-CoV-2 infecte d'autres espèces animales comme le chat. Nous souhaitons également étudier la conservation de ces mécanismes d'inhibition sur d'autres coronavirus, en premier lieu ceux qui sont les plus proches connus chez la chauve-souris et qui se seraient adaptés à l'Homme.

Nous avons sélectionné plusieurs protéines afin d'étudier dans un premier temps leur effet inhibiteur de la voie IFN en réalisant un test rapporteur ISRE-luciférase. Nous avons ensuite réalisé des Western-Blot afin d'observer l'effet des protéines sur la phosphorylation de STAT1, protéine essentielle de la voie IFN puis nous avons analysé leur effet sur la translocation de STAT1 dans le noyau en immunofluorescence. Nous avons ensuite réalisé des tests basés sur la reconstitution de la nano-luciférase pour montrer s'il y a une interaction directe entre les protéines virales et la protéine STAT1.

14. Étude des interactions intra-virales et des antagonistes de la voie IFN-I du virus de la peste équine

Pascal Dujardin, Marine Lemesle, Aurore Fablet, Damien Vitour.

UMR Virologie 1161, Ecole Nationale Vétérinaire d'Alfort, Anses, Inrae. 94700, Maisons-Alfort, France

Le virus de la peste équine (African horse sickness virus, AHSV), responsable de la maladie du même nom, est un virus infectant les équidés et ayant notamment une forte pathogénicité chez les chevaux. La peste équine, qui peut être causée par les 9 sérotypes d'AHSV, est une maladie dévastatrice. Décrite comme une fièvre hémorragique, celle-ci a un taux de létalité allant jusqu'à 95%. AHSV est un arbovirus transmis par des moucheron hémato-phages du genre *Culicoides*, dont les différentes espèces recouvrent une grande partie de la planète. L'implantation du virus dans des zones qui ne lui sont pas endémiques, dû à l'accélération du réchauffement climatique, a commencé à alarmer les autorités sanitaires dans de nombreux pays. Outre les effets symptomatiques de la maladie, très peu de connaissances ont été acquises concernant les mécanismes moléculaires de la réplication virale. La majorité de ce qui est connu d'AHSV dérive des études réalisées sur une autre espèce d'*Orbivirus*, le virus de la fièvre catarrhale ovine. Afin de mieux comprendre ces mécanismes, un des objectifs de ce projet a été de réaliser une étude interactomique entre les 13 protéines du virus. Via une combinaison de techniques alliant le double hybride en levure et le NanoLuc 2-Hybride, 12 interactions ont été démontrées entre différentes protéines d'AHSV. La seconde partie de ce projet portait sur l'identification d'antagonistes de la voie d'induction des interférons de type I (IFN-I), première ligne de défense contre les infections virales, au sein des protéines d'AHSV. Par une approche de test rapporteur luciférase, il a été mis en évidence que les protéines NS4, et dans une moindre mesure NS3 et NS5, inhibent drastiquement la production d'IFN β . Approfondir de tels résultats permettra d'élucider et de mieux comprendre les mécanismes d'échappement d'AHSV face à la réponse IFN-I.

15. Establishment of *B. afzelii* and TBEV co-infection model in mice

Porcelli S (1), Deshuillers PL (1), Wu-Chang A (1), Cabezas-Cruz A (1), Galon C (1), Heckmann A (1), Mateos-Hernandez L (1), Rakotobe S (1), Simo L (1), Lagrée A-C (1), Moutailler S (1)

1: ANSES, INRAE, Ecole Nationale Vétérinaire d'Alfort, UMR BIPAR, Laboratoire de Santé Animale, 94700 Maisons-Alfort, France

The main tick-borne diseases (TBDs) in Europe are Lyme borreliosis, granulocytic anaplasmosis and tick-borne encephalitis and coinfection by two or more pathogens is frequent. These co-infections may lead to synergies and/or competitions between pathogens, with consequences for individual pathogen fitness in invertebrate and mammalian hosts, as reported by some publications (Holden et al., 2005; Thomas et al., 2001) as well as clinical consequences for the infected vertebrate host. Yet, little is known regarding the interactions between these pathogens and only few animal models have been described. Hence, the objectives of my PhD project are to establish co-infection models by one bacterium (*Borrelia afzelii*) and one virus (Tick-borne encephalitis virus (TBEV)) in ticks (*Ixodes ricinus*) and mammals (mice). During the experiment, mice were inoculated intraperitoneally and subcutaneously with both pathogens at the same time or sequentially. Symptoms were monitored during 35 days prior to sacrifice them and to collect different tissues. *B. afzelii* DNA and TBEV RNA were quantified in mice organs and in ticks by digital PCR. These preliminary results are the first steps to evaluate a possible synergistic or antagonistic association of these pathogens in co-infected mice. In future experiments we will also study, the transmission success of these pathogens from co-infected mice to non-infected ticks and from co-infected ticks to non-infected mice.

16. Pourquoi la recherche française en communication en santé vétérinaire doit se développer

Hélène Rose (1), Muriel Conan (1) : présentation conjointe

Heritage et Maynard (2006) font remonter le développement des recherches sur la communication en santé aux années 70 et citent notamment cet article au titre éloquent, "*Doctors talking to patients*" (Byrne & Long, 1976). Eux-mêmes, sociologues interventionnistes américains, ont consacré une partie essentielle de leurs travaux à étudier les échanges lors de consultations avec pour objectif d'informer la formation en communication des futurs praticiens. En 2022 EACH (*International Association for Communication in Healthcare*), l'association internationale regroupant les spécialistes de communication en santé, réunissait plus de 400 participants à son congrès annuel, en visio ou en présentiel.

Pour autant, la recherche est essentiellement anglo-saxonne : en France, seules quelques initiatives dispersées en médecine humaine ont vu le jour. Actuellement l'enseignement de communication, notamment à l'EnvA, s'appuie sur la recherche canadienne, britannique, américaine ou australienne. Si la part universelle des échanges entre vétérinaires et propriétaires est bien réelle, Muriel Conan (2022) a mis en évidence la part culturelle en comparant les interactions lors de consultations filmées au Royaume-Uni et en France : les conventions conversationnelles différentes, tout autant que la spécificité du contexte français, donnent naissance à des styles communicatifs distincts. Pour pallier ce biais, l'enseignement de

communication doit être adapté empiriquement au contexte culturel que vivent les étudiants en stage. Objectiver les similarités tout autant que ces particularités est une piste de recherche importante en France.

Nous nous proposons donc d'utiliser la méthodologie et les outils de recherche des sciences sociales pour analyser des corpus et produire des données sur le contexte français, que ce soit par exemple sur les attentes des clients – particuliers et professionnels – ou les difficultés rencontrées par les praticiens. Les outils de codage des interactions filmées (VRCODES, Option5 ou Option12, par exemple), validés par la recherche, peuvent ainsi permettre une approche statistique, tandis que l'analyse conversationnelle apporte une granulométrie fine à l'analyse d'une interaction (MacMartin *et al.*, 2023).

Byrne, P. S., & Long, B. (1976). *Doctors talking to patients : A study of the verbal behaviour of general practitioners consulting in their surgeries.* /paper/Doctors-talking-to-patients%3A-A-study-of-the-verbal-Byrne-Long/473fca9648b15fd04d452e0da8130a18f7658299

Conan, M. (2022). Interaction en anglais vétérinaire : L'interculturel en langue de spécialité [Thesis, Université Côte d'Azur]. In <http://www.theses.fr/2022COAZ2032>

Heritage, J., & Maynard, D. W. (2006). Problems and Prospects in the Study of Physician-Patient Interaction : 30 Years of Research. *Annual Review of Sociology*, 32(1), 351-374. <https://doi.org/10.1146/annurev.soc.32.082905.093959>

MacMartin, C., Wheat, H., & Coe, J. B. (2023). Conversation Analysis of Clients' Active Resistance to Veterinarians' Proposals for Long-Term Dietary Change in Companion Animal Practice in Ontario, Canada. *Animals*, 13(13), Article 13. <https://doi.org/10.3390/ani13132150>

17. Les modèles basés sur l'agent (Agent Based Models) & la maîtrise de l'hygiène : application particulière à la diffusion du Sars-Cov2 en atelier de découpe de viande (ANR Flash SACADA Project (ANR-21-CO13-0001))

Federighi M. (1), Luong N.D.M (2), Guillier L. (2), Boué G. (3)

1 : Ecole Nationale Vétérinaire d'Alfort, Unité HQSA, 94700, Maisons-Alfort, France

2 : Anses, UERALIM, 94700 Maisons-Alfort, France

3. Oniris, UMR SECALIM, 44307 Nantes, France

From the beginning of the COVID-19 pandemic, several contamination clusters in food processing plants were reported in France and Europe. There was then a need to better understand the viral transmission in such occupational environments from multiple perspectives: protection of workers to avoid hotspots of viral circulation; prevention of supply disruptions due to closure of the plants; and prevention of clusters expansion due to exports of food products contaminated by the virus to other locations. This talk illustrates a simulation-based approach (agent-based models) to study the effects of preventive measures on the contamination of workers, surfaces and food products. The model includes user-defined parameters to integrate characteristics relative to SARS-CoV-2 (variant of concern to be considered, symptoms onset...), food processing plants (dimensions, ventilation...) and other socio-demographic transmission factors based on laboratory experiments as well as industrial and epidemiological investigations. Simulations were performed for a typical meat processing plant in different scenarios for illustration. The results suggested that increasing the mask-wearing ratio led to great reductions in the probability to observe clusters with more than infections. In the case of clusters, wearing a mask by all limited the presence (defined as contamination levels of at least 5 log₁₀ viral RNA copies) on meat cuts at less than 0.05% and maintained the production capacity of the plant at optimal levels. The developed approach can open up several perspectives in terms of potential communication support tools for the agri-food sector and further reuses or adaptations for other hazards and occupational environments.

18. Caractérisation du danger *Clostridium perfringens* dans les filières bovine, porcine et volaille à l'abattoir.

Christina TRAN¹, Véronique MALADEN¹, Narjes MTIMET¹, Catherine MALAYRAT², Thibaut COADOU², Pierre LEDORMAND³, Léa JAMBOU⁴, Typhaine POEZEVARA⁴, Sandra ROUXEL⁴, Sophie LE BOUQUIN⁵, Adeline HUNEAU⁵, Rodolphe THOMAS⁵, Carolina LOPEZ-RIZO⁶, Pauline ROBIN⁶, Baptiste HOURY⁶, Clémence BIECHE³, Caroline LE MARECHAL⁴, Carole FEURER⁷, Olivier FIRMESE¹.

¹ Anses, Laboratoire de Sécurité des Aliments, Unité *Staphylococcus*, *Bacillus* et *Clostridium*, Maisons-Alfort, France

² Institut de l'Élevage, Service Laboratoire d'Analyses et de Technologie des Produits, Villers-Bocage, France

³ Institut de l'Élevage, Service Qualité des Carcasses et des Viandes, Villers-Bocage, France

⁴ Anses, Laboratoire de Ploufragan-Plouzané-Niort, Unité Hygiène et Qualité des Produits Avicoles et Porcins, Ploufragan, France

⁵ Anses, Laboratoire de Ploufragan-Plouzané-Niort, Unité Épidémiologie, Santé et Bien-Être des Animaux, Ploufragan, France

⁶ IFIP – Institut du porc, pôle Viandes et Charcuteries, Maisons-Alfort, France

⁷ IFIP – Institut du porc, pôle Viandes et Charcuteries, Le Rheu, France

Clostridium perfringens est une bactérie à Gram positif, anaérobie et sporulante. Elle est classée en sept toxinotypes (A à G) selon les toxines qu'elle produit et associée à différentes pathologies humaines ou vétérinaires. Le toxinotype F est souvent associé aux toxi-infections alimentaires collectives (TIAC) chez l'Homme.

Bien qu'aucune donnée ne soit actuellement disponible en France concernant les sources de contamination alimentaire, les viandes animales sont fortement suspectées dans l'apparition de TIAC. En effet, les animaux pouvant être porteurs sains de *C. perfringens* dans leur tube digestif, la viande peut être contaminée par le pathogène au cours de l'abattage et ainsi provoquer une intoxication après consommation.

Compte tenu de ces enjeux majeurs, il apparaît crucial de déterminer le niveau de risque lié à ce pathogène alimentaire dans les filières bovine, porcine et volaille françaises au niveau des différentes étapes du processus d'abattage et de découpe de la viande. Le projet ANR ClostAbat propose de fournir des données sur la prévalence, la diversité des isolats de *C. perfringens* et leur virulence pour contribuer à cette évaluation du risque.

En fonction des filières, jusqu'à 12 campagnes de prélèvements sont réalisées sur 18 mois pour isoler des souches de *C. perfringens*. Les prélèvements sont effectués sur l'animal et dans l'environnement des zones d'abattage et de découpe, au niveau des surfaces, des outils utilisés par les opérateurs et de l'air. La diversité génétique des isolats est étudiée par typage PCR M13, et le potentiel de virulence des isolats est évalué par PCR en temps réel ciblant les gènes codant les facteurs de virulence.

Sur l'ensemble des campagnes de prélèvements réalisées, 553 souches de *C. perfringens* ont été isolées. Des prévalences allant de 4,1 % à 62 % sont observées selon les campagnes de prélèvement et les filières. De plus, si une grande diversité génétique des souches est constatée intra et inter-filières, seules des souches de toxinotype A et G ont été isolées.

19. First identification of *Cryptosporidium parvum* virus 1 (CSpV1) in various subtypes of *Cryptosporidium parvum* from diarrheic calves, lambs and goat kids from France

Karim Tarik Adjou¹, Aurélie Chevillot¹, Pierrick Lucas³, Yannick Blanchard³, Houria Louifi¹, Razika Arab¹, Mohamed Mammeri¹, Myriam Thomas¹, Bruno Polak¹, Grégory Karadjian¹, Nolwenn M Dheilly²

¹ Ecole Nationale Vétérinaire d'Alfort, Anses, INRAE, UMR BIPAR, Laboratoire de Santé Animale, Maisons-Alfort, F-94700, France

² Anses Animal Health Laboratory, UMR1161 Virology, INRAE, Anses, ENVA, Maisons-Alfort, France

³ ANSES, Agence Nationale de Sécurité Sanitaire de l'Alimentation, de l'Environnement et du Travail - Laboratoire de Ploufragan-Plouzané-Niort, Unité Génétique virale et biosécurité, Ploufragan, France

Cryptosporidium spp. remain a major cause of waterborne diarrhea and illness in developing countries and represent a significant burden to farmers worldwide. *Cryptosporidium parvum* virus 1 (CSpV1), of the genus *Cryspovirus*, was first reported to be present in the cytoplasm of *C. parvum* in 1997. Full-length genome sequences have been obtained from *C. parvum* from Iowa (Iowa), Kansas (KSU) and China. We aimed at characterizing the genome of CSpV1 from France and used sequence analysis from *Cryptosporidium* isolates to explore whether CSpV1 genome diversity varies over time, with geographical sampling location, with *C. parvum* genetic diversity, or with ruminant host species. A total of 123 fecal samples of cattle, sheep and goats were collected from 17 different French departments (57 diseased animal fecal samples and 66 healthy animal fecal samples). Subtyping analysis of the *C. parvum* isolates revealed the presence of two zoonotic subtype families IIa and IIc. Sequence analysis of CSpV1 revealed that all CSpV1 from France, regardless of the subtype of *C. parvum* (IIaA15G2R1, IIaA17G2R1 and IIcA18G1R1) are more closely related to CSpV1 from Turkey, and cluster on a distinct branch from CSpV1 collected from *C. parvum* subtype IIaA15G2R1 from Asia and North America. We also found that samples collected on a given year or successive years in given location are more likely to host the same subtype of *C. parvum* and the same CSpV1 strain. Yet, there is no distinct clustering of CSpV1 per French department or ruminants, probably due to trade, and transmission of *C. parvum* among host species. All together, these results provide insightful information regarding CSpV1 evolution and suggest the virus might be used as an epidemiological tracer for *C. parvum*. Future studies need to investigate CSpV1 role in *C. parvum* virulence and on subtype ability to infect different species.

20. First Report of *Cryptosporidium parvum* Zoonotic Hypertransmissible Subtype IIaA15G2R1 in Diarrheal Lambs in France

Mohamed Mammeri (1), Lara Cartou (1), Aurélie Chevillot (1), Myriam Thomas (1), Christine Julien (2), Isabelle Vallée (1), Bruno Polack (1), Jérôme Follet (3), Karim Tarik Adjou (1)

(1) Anses, INRAE, Ecole Nationale Vétérinaire d'Alfort, UMR BIPAR, Laboratoire de Santé Animale, 94700, Maisons-Alfort, France

(2) Phileo by Lesaffre, 137 rue Gabriel Péri, 59 700 Marcq-en-Barœul, France

(3) University of Lille, CNRS, Centrale Lille, Junia, University Polytechnique Hauts de France, UMR 8520 IEMN Institut d'Electronique de Microélectronique et de Nanotechnologie, F 59000 Lille, France

To date, no information is available about the presence of *Cryptosporidium* spp. in French sheep, nor their potential role as zoonotic reservoirs. A total of 23 fecal samples were collected from diarrheic lambs (<11 days old) from seven randomly selected farms. *Cryptosporidium*-oocysts were detected microscopically with Direct Immunofluorescence Assays (DFA) in

23/23 (100%) of fecal samples. PCR-RFLP of the *18S rRNA* gene was used to determine species in all samples, and only *Cryptosporidium parvum* was identified. Isolates were subtyped by sequencing the *60 kDa glycoprotein (gp60)* gene. Two zoonotic subtypes within the Ila subtype family were identified, including IlaA15G2R1 (22/23) and IlaA16G3R1 (1/23). This study reports for the first time the identification and genotyping of zoonotic *C. parvum* subtypes from lambs in France. Sheep could thus play an important role as potential reservoirs for this zoonotic protist.

21. Détection d'*Anaplasma phagocytophilum* chez des passereaux d'Ile de France et caractérisation génétique des variants identifiés par différentes méthodes (typage groEL, ankA et MLST)

Clotilde Rouxel¹, Adrien Etienne¹, Pascal Arné^{2,3}, Cécile Le Barzic², Guillaume Girault⁴, Henri-Jean Boulouis¹, Nadia Haddad¹, Anne-Claire Lagrée¹, Pierre Deshuillers¹

¹UMR BIPAR, Laboratoire de Santé Animale – Anses, INRAE, Ecole nationale vétérinaire d'Alfort – 94700 Maisons-Alfort, France.

²EnvA, Centre hospitalier Universitaire Vétérinaire Faune sauvage (Chuv-FS), 94700, Maisons-Alfort, France.

³EnvA, UPEC, Anses, Dynamyc research group EA 7380, 9400, Maisons-Alfort, France.

⁴UMR Virologie Anses, INRAE, Enva, Université Paris-Est, Laboratoire de Santé animale, 14 rue Pierre-et-Marie-Curie, 94704 Maisons-Alfort, France

Anaplasma phagocytophilum (*Aph*) est une bactérie intracellulaire stricte, transmise par les tiques du genre *Ixodes*. Elle est responsable de l'anaplasmose granulocytaire, à la fois chez les humains et diverses espèces de mammifères domestiques (chiens, chats, bovins, ovins, chevaux...). *Aph* est présente notamment en Europe, Asie et Amérique du Nord. Elle est caractérisée par une grande diversité génétique et des cycles épidémiologiques complexes puisqu'elle est retrouvée également chez de nombreux animaux sauvages (cervidés, hérissons, rongeurs, oiseaux...). Des espèces domestiques, notamment les chevaux et les chiens ainsi que des espèces sauvages, telles que les sangliers, renards et hérissons hébergent des souches qui sont suspectées d'être zoonotiques. A l'inverse, les chevreuils, les rongeurs (campagnols) et les musaraignes ainsi que les oiseaux semblent héberger des souches génétiquement distantes de celles affectant les humains. Les oiseaux jouent un rôle important dans le maintien et la propagation des agents pathogènes. Ainsi, de l'ADN d'*Aph* a été identifié chez des hôtes aviaires en Europe avec des taux de prévalence compris entre 0,8% et 30,3%. Cependant, les études épidémiologiques effectuées sur les oiseaux et *Aph* restent peu nombreuses. Notre projet a donc consisté dans un premier temps à rechercher la présence d'*Aph* chez des oiseaux provenant des zones urbaines et péri-urbaines d'Ile de France et de ses départements limitrophes, et plus particulièrement des passereaux. Pour cela, la présence d'ADN d'*Aph* a été recherchée dans des prélèvements de foie, rate et peau provenant de 680 passereaux par qPCR ciblant le gène *msp2*. Trois merles noirs (*Turdus merula*) ont été détectés positifs pour l'ADN d'*Aph*. Dans un deuxième temps, une étude phylogénétique a été réalisée en ciblant les gènes *GroEL* et *ankA* mais également en utilisant une approche plus discriminante, la MLST (*multilocus sequence typing*). Les premières données suggèrent l'existence en France d'un cycle épidémiologique propre aux oiseaux comme retrouvé dans la littérature.

22. Évaluation des niveaux d'infections et de la diversité de *Cryptocotyle* spp., trématode parasite, de poissons échantillonnés en Manche Orientale et en mer du Nord

Maureen Dufлот (1,2,3), Graziella Midelet (1), Pierre Cresson (4), **Mélanie Gay** (1).

(1) : ANSES, Laboratoire de Sécurité des Aliments, 62200 Boulogne-sur-Mer, France (2) : UMR BIPAR, ANSES, Laboratoire de Santé Animale, INRAE, Ecole Nationale Vétérinaire d'Alfort, 94700 Maisons-Alfort, France

(3) : Université du Littoral Côte d'Opale, 62200 Boulogne-sur-Mer, France

(4) : Ifremer, RBE/HMMN, Laboratoire Ressources Halieutiques Manche Mer du Nord, 62200 Boulogne sur Mer, France

Les poissons marins sont souvent tachetés de « points noirs » en réponse à des infections parasitaires, on parle de la maladie des points noirs. Les parasites du genre *Cryptocotyle* (Lühe, 1899) appartiennent aux trématodes de la famille des Heterophyidae responsables de cette maladie. Leur présence a été décrite dans les tissus d'une grande diversité de poissons marins fréquemment consommés en Europe. Cependant, à ce jour, malgré la proximité taxonomique de *Cryptocotyle* spp. avec des parasites zoonotiques tels que *Clonorchis* et *Opisthorchis*, son impact sur la santé humaine reste inconnu et peu de données sur sa distribution sont disponibles.

Une étude épidémiologique a été menée sur 7 espèces de poissons: le hareng (*Clupea harengus*), le sprat (*Sprattus sprattus*), le merlan (*Merlangius merlangus*), le tacaud (*Trisopterus luscus*), la limande (*Limanda limanda*), le flet (*Platichthys flesus*) et la plie (*Pleuronectes platessa*). Les échantillons ont été collectés au cours des campagnes International Bottom Trawl Survey (IBTS) en Manche Orientale et Mer du Nord en Janvier 2019 et 2020 (Ifremer, 2019, 2020).

Les infections par *Cryptocotyle* ont été estimées par comptage des lésions parasitaires visibles sur la peau des individus. L'identification des métacercaires a été réalisées par des méthodes classiques, basées sur des observations microscopiques de leur morphologie, et par des méthodes moléculaires, basées sur des séquençages Sanger du gène mitochondrial *cox1* et

de la région ITS de l'ADN ribosomal. Les données morphologiques ont été comparées aux données de la littérature. Des arbres phylogénétiques incluant des séquences de référence ont été construits pour confirmer les identifications morphologiques et moléculaires. Les prévalences, intensités et abondances étaient variables en fonction des espèces de poissons et des zones de pêche.

Cette étude constitue la première description de métacercaires de *C. lingua* et *C. concava* dans les écosystèmes de la Manche Orientale et de la Mer du Nord.

Duflot, M., Cresson, P., Julien, M., Chartier, L., Bourgau, O., Palomba, M., Mattiucci, S., Midelet, G., & Gay, M. (2023). Black spot diseases in seven commercial fish species from the English Channel and the North Sea: Infestation levels, Identification of *Cryptocotyle* spp. and population genetics [Article]. *Parasite*. <https://doi.org/10.1051/parasite/2023028>

23. Effets de l'anesthésie générale sur l'appareil respiratoire du cheval

Anne-Louise Laclaire (1), Ludovic Tanquerel (1), Estelle Manguin (1).

(1) : École nationale vétérinaire d'Alfort, CHUV-Eq, 94700, Maisons-Alfort, France

Introduction : les effets de l'anesthésie générale avec ventilation assistée sur le système respiratoire sont peu étudiés chez le cheval.

Matériels et méthodes : une étude prospective observationnelle a été réalisée avec onze chevaux de propriétaires présentés pour une chirurgie électorale. Un examen clinique complet avec un test de ventilation forcée, une numération formule sanguine avec dosage de la fibrinogénémie, une échographie thoracique, une endoscopie trachéale et un lavage trachéal transendoscopique ont été réalisés avant l'anesthésie et 24h après l'anesthésie. L'échographie thoracique a également été répétée juste après le réveil des chevaux.

Résultats : une augmentation significative du comptage neutrophilique sanguin a été observée entre le pré- et le post-opératoire ($P = 0,004$). Une augmentation significative du score échographique des poumons a été mise en évidence au réveil uniquement (gauche : $P = 0,007$; droite : $P = 0,017$). Avec le décubitus latéral pour la période de réveil, le score échographique du poumon déclive était significativement plus élevé que le score du poumon controlatéral lors de l'évaluation au réveil ($P = 0,026$) mais aucune différence significative n'était observée 24h après l'anesthésie. Le score de mucus trachéal était significativement plus élevé après l'anesthésie ($P = 0,001$). Une inflammation trachéale macroscopique sévère était par ailleurs observée chez plusieurs chevaux au site de gonflement du ballonnet de la sonde endotrachéale. La cytologie du liquide de lavage trachéal révélait un comptage neutrophilique significativement plus élevé après l'anesthésie ($P = 0,004$), sans changement significatif de la charge bactérienne à l'examen bactériologique.

Discussion : une augmentation du score de mucus trachéal et du comptage neutrophilique du liquide de lavage trachéal ont été observées après une anesthésie générale chez des chevaux sains n'ayant montré aucun signe de pneumonie (fièvre, toux). Par conséquent, une inflammation trachéale secondaire à l'intubation endotrachéale et au gonflement du ballonnet est suspectée.

Intérêt clinique : une chirurgie électorale sans complication produit une inflammation marquée de la trachée chez le cheval. Cela doit donc être pris en compte lors d'évaluation du système respiratoire chez le cheval après une anesthésie générale.

24. Etude de la cicatrisation utérine

Création d'un modèle animal de rupture utérine

Développement de techniques de renfort

E. Debras (1, 2, 3), C. Maudot (1,2,3), P. Capmas (1,3,4), C. Richard(2), V. Gelin(2), G. Morin(5), M. Dahirel(2), P. Chavatte-Palmer (2)

1. Département de gynécologie obstétrique, CHU de Bicêtre, AP-HP, DMU2, 78, rue du Général-Leclerc, 94270 Le Kremlin-Bicêtre, France
2. Université Paris-Saclay, AP-HP, UVSQ, INRAE, BREED, 78350 Jouy-en-Josas, France, Ecole Nationale Vétérinaire d'Alfort, BREED, 94700 Maisons-Alfort, France
3. Université Paris-Saclay, 63, rue Gabriel-Péri, 94270 Le Kremlin-Bicêtre, France
4. CESP-Inserm U1018 « Reproduction et développement de l'enfant », 82, rue du Général-Leclerc, 94270 Le Kremlin-Bicêtre, France
5. Université Paris-Saclay, AP-HP, UVSQ, INRAE, SAAJ, 78350 Jouy-en-Josas, France, Ecole Nationale Vétérinaire d'Alfort, SAAJ, 94700 Maisons-Alfort, France

Introduction

Au cours des dernières années, le taux de césarienne a considérablement augmenté dans le monde. En France ce taux est relativement stable depuis 2010, aux environs de 20%. Cette augmentation conduit à une majoration des complications liées aux cicatrices utérines de césarienne comme la déhiscence de cicatrice (isthmocèle) et la rupture utérine.

L'objectif principal de cette étude est d'approfondir les connaissances concernant la cicatrisation utérine chez l'Homme et de créer un modèle animal (lapin) de cicatrisation et de rupture utérine.

Matériels et méthodes

Modèle humain. Les patientes ont été réparties en 3 groupes : hystérectomie pour pathologie bénigne sur utérus cicatriciel, hystérectomie pour pathologie bénigne sur utérus sain et cure d'isthmocèle. Les caractéristiques histologiques des pièces opératoires ont été comparées aux données animales.

Modèle animal. Le premier temps est la réalisation d'un utérus cicatriciel sur des lapines gestantes (corne cicatricielle vs témoin). Une fois le délai de cicatrisation passé (14 jours), les lapines sont mises à nouveau en gestation. En fin de deuxième gestation, les lapines sont sacrifiées et le tractus génital est analysé en histologie et en biomécanique.

Résultats préliminaires

Modèle humain. L'épaisseur totale à l'endroit le plus fin de la cicatrice est significativement plus petite (3.75 mm [2.58, 5.00]) que celle de l'isthme sain adjacent (12.70mm [11.57 - 12.78]) ($p = 0,015$) et que celle des utérus témoins (13.95mm [12.38 - 17.15]) ($p < 0,001$). L'évaluation de la fibrose montre une augmentation de la fibrose dans la cicatrice (75.00% [70,83 - 79,17]) par rapport au tissu adjacent (23,33% [15,00 - 29,17]) ($p = 0,049$) et par rapport au tissu sain des utérus témoins (30,00% [23,75 - 45,00]) ($p=0,0044$).

Modèle animal. L'épaisseur utérine totale dans la cicatrice (0.70 mm [0.54 - 1.15]) est significativement plus petite que l'épaisseur utérine totale saine de la corne cicatricielle (2.18 mm [1.92 - 2.53]) ($p = 0,002$). La quantification de la fibrose montre chez le lapin également, une augmentation significative de la fibrose dans la cicatrice (85.00% [75.83 - 87.50]) par rapport à la corne témoin (7.50 [5.25 - 15.00]) ($p < 0,001$). Les analyses biomécaniques sont en cours.

25. Long-term medical impact of castration in dogs: comparative quantification of LH receptor expression with or without a deslorelin implant

Bruna Mendes (1), Andrea Carlier (1), Christelle Fontaine (2), Alain Fontbonne (1), Laurent Tiret (1).

(1) : Ecole Nationale Vétérinaire d'Alfort, U955-Équipe Relaix BNMS, IMRB, 94700 Maisons-Alfort, France

(2) : Virbac, 06511 Carros, France

Upon binding to its receptors, luteinizing hormone (LH) stimulates gonadal steroidogenic cells that synthesize progesterone and testosterone. Following surgical castration of dogs, the major gonadal negative feedback on the GnRH axis is removed, leading to an increased release of LH into the bloodstream [1]. Besides, expression of LH receptors (LHCGR) has been identified in non-reproductive tissues, and may be increased following surgical castration [2]. Both mechanism are thought to stimulate the LH pathway, which may be deleterious for the dog's health [3].

To assess the possible systemic functional impact of the castration-induced hypergonadotropism, we first quantified the expression of LHCGR in a collection of organs sampled from intact male dogs, and we compared it to the same organs sampled from castrated dogs and to a dog implanted with deslorelin (Suprelorin® 4,7mg, Virbac), the first of a cohort currently being recruited.

Collected samples were flash-frozen in N2 and conserved at -80°C until analysis. Testes from sexually intact dogs were used as positive controls. Primers flanking an intron were designed to allow specific amplification of the LHCGR cDNA. We detected expression of the LHCGR in several organs including the brain, spleen, lymph node and prostatic urethra, and quantified differences between neutered and intact dogs. In addition, we reported a lower expression of LHCGR in testes of the implanted dog with a deslorelin implant, compared to intact dogs.

RT-qPCR data is a first step to identify the target organs of LH and the impact of castration on its receptor expression. These data is being confirmed at the protein level via global quantification (western blots) and spatial analysis at the cellular level (immunofluorescence), and will be performed on a larger cohort of dogs to obtain robust data.

26. Sensibilité et spécificité d'un dispositif de quantification des boiteries chez le cheval

Claire Macaire (1,2,3), Sandrine Hanne-Poujade (2), Emeline De Azevedo (1), Jean Marie Denoix (1), Virginie Coudry (1), Sandrine Jacquet (1), Lélia Bertoni (1), Amélie Tallaj (1), Fabrice Audigié (1), Chloé Hatrisse (1), Camille Hébert (2), Pauline Martin (2), Frédéric Marin (3), Henry Château (1)

1 : Ecole Nationale Vétérinaire d'Alfort, USC INRAE-ENVA 957 BPLC, CIRALE, Maisons-Alfort, France

2 : LIM France, Labcom LIM-ENVA, Nontron, France

3 : Université de Technologie de Compiègne, UMR CNRS 7338 BioMécanique et BioIngénierie, Alliance Sorbonne Université, Compiègne, France

Le développement d'outils de mesure objective des boiteries est en plein essor grâce à l'adaptation des capteurs biomécaniques au terrain. Ces mesures objectives peuvent se révéler une aide précieuse au clinicien pour quantifier son diagnostic, évaluer l'effet d'une anesthésie diagnostique ou assurer le suivi régulier d'une réhabilitation. Il est cependant essentiel de procéder à des validations scientifiques complètes avant de proposer un nouvel outil, venant en appui à l'examen clinique. Comme pour tout dispositif médical, le calcul de la spécificité et de la sensibilité des mesures pour discriminer les chevaux considérés par des cliniciens experts comme sains et comme boiteux sont indispensables.

Les chevaux ont été examinés au trot en ligne droite sur sol dur par un clinicien expert dans le cadre d'un examen locomoteur standardisé. Parmi ces chevaux, 49 chevaux ont été considérés comme sains lors d'absence de soulagement dans l'ensemble des conditions de l'examen locomoteur et d'absence de gêne dans l'usage normal du cheval. Pour les chevaux restants, 67 présentaient une boiterie antérieure droite (AD) de grade $\geq 1/5$, 62 une boiterie antérieure gauche (AG), 23 une boiterie postérieure droite (PD) et 23 une boiterie postérieure gauche (PG). Durant les mêmes examens, les chevaux ont été équipés du système EQUISYM[®], composé de 7 centrales inertielles. 4 indices d'asymétries (AI_up, AI_down, AI_max, AI_min) des déplacements verticaux de la tête, du garrot et de la croupe ont été calculés. Des courbes ROC ont été utilisées pour déterminer l'aire sous la courbe (AUC), la spécificité et la sensibilité optimale de chaque indice d'asymétrie.

L'indice AI_up du garrot est le plus spécifique et sensible pour détecter une boiterie AD (0.88 et 0.85) et AG (0.92 et 0.84), avec les meilleurs AUC (0.91 AD et 0.91 AG). L'indice AI_up de la croupe est le plus spécifique et sensible pour détecter une boiterie PD (0.90 et 0.83) et PG (0.86 et 0.91), avec les meilleurs AUC (0.86 PD et 0.96 PG).

Cette étude vient confirmer la pertinence de l'utilisation de systèmes de quantification de la symétrie locomotrice comme aide au diagnostic pour la qualification et le suivi des boiteries chez le cheval.

27. AAV-based systemic gene therapy with an optimized microdystrophin sequence prolongs survival and restores muscle function in rats with severe Duchenne muscular dystrophy

Iwona Bronisz-Budzyńska, Busra Mirciloglu, Alan Jorge, Hiroya Ono, Jean-Daniel Masson, Mathilde Rodrigues, Valentina Taglietti, Laurent Tiret, Frederic Relaix

Duchenne Muscular Dystrophy (DMD) is the most common form of muscular dystrophies that affects 1 in 5000 boys. DMD is an X-chromosome linked genetic disease caused by the mutations in the *DMD* gene encoding dystrophin. DMD patients display progressive muscle weakness and cardiorespiratory failure which is the main cause of their premature death during the third decade of life [1]. Several approaches for the treatment of DMD are under development [2]. A promising approach is gene therapy expressing microdystrophin in skeletal muscle, a treatment that could be administrated to the majority of DMD patients [1]. We evaluated the effect of systemic AAV-microdystrophin gene therapy in the severe rat model of DMD (R-DMDdel52) that recapitulates human DMD pathophysiology [3]. We performed study in which rats were treated intravenously at the age of 4 weeks with a rat codon-optimized microdystrophin construct (AAV8-rat.μDys.co) at the two 1×10^{14} and 3×10^{14} vg/kg doses. We observed restoration of muscle function in rats treated with both doses of AAV8-rat.μDys.co. Grip strength test showed significant increase of muscle strength, the depolarization/repolarization defect assessed by the QTpc parameter (ECG) and echocardiographic parameters were rescued to values comparable to WT animals, leading to a restored spontaneous locomotor activity. Importantly, AAV8-rat.μDys.co delivery significantly prolonged lifespan of treated animals, which had been phenotypically indistinguishable from wild-type rats until their scheduled killing for sampling. Combined analysis of alanine aminotransferase (ALT), aspartate aminotransferase (AST), creatine kinase (CK), and cardiac troponin biomarkers revealed a reduction in myo- and cardio-necrosis in treated rats. Consistently, the percentage of dystrophin-positive fibers was very high in skeletal muscles and the heart. Hematoxylin & Eosin and Sirius Red staining revealed significant histological improvement and decreased fibrosis. Overall, treatment with AAV8-rat.μDys.co at 1×10^{14} or 3×10^{14} vg/kg achieved a sufficient level of microdystrophin expression in a very large number of myofibers to trigger a systemic recovery of muscle function in affected rats, permanently diverted from the severe trajectory of DMD. This optimization, combined with other innovative gene therapy tools, is eligible for translational development.

1. Duan et al. 2021. doi: 10.1038/s41572-021-00248-3
2. Loboda & Dulak. 2020. doi: 10.1007/s43440-020-00134-x
3. Taglietti V, et al. 2022. doi :10.1186/s40478-022-01355-2