

**18 au 20 Octobre 2022**  
**ANGLLET**



# Journées d'animation scientifique du Département Santé Animale



# Avant Propos

La direction du département Santé Animale et le comité d'organisation sont très heureux de vous inviter à participer aux Journées d'Animation Scientifique (JAS-2022) du département qui ont lieu du 18 au 20 octobre au Belambra Clubs à Anglet (64).

Ces journées représentent, après la longue trêve « covid », une occasion unique pour rencontrer les collègues du département, mieux connaître INRAE et le département Santé Animale, discuter et échanger sur nos travaux, et ceci dans une atmosphère conviviale et amicale.

Le programme élaboré par un comité scientifique, sera articulé autour de 3 sessions thématiques, chacune introduite par un invité extérieur et suivie de présentations sélectionnées de travaux d'agents de notre département.

Thématiques des sessions :

- Écologie des agents pathogènes animaux et zoonotiques et des Vecteurs
- Maîtrise des maladies animales et zoonotiques
- Interactions vertébrés/invertébrés-agents pathogènes et environnement

Au-delà de ces sessions, le programme comprendra des présentations des chercheurs (CRCN et DR) nouvellement recrutés, une table ronde consacrée à la déontologie et des présentations flash de posters. Des prix seront attribués aux meilleures présentations orales et posters.

En parallèle, les acteurs de l'expérimentation animale du département SA proposent un programme spécifique.

Muriel Vayssier-Taussat (Cheffe du Département Santé Animale - Nouzilly)

Comité d'organisation :

Sabrina Teton (Département SA – Nouzilly)

Mustapha Berri (Partenariat et innovation du Département SA – Nouzilly)

Delphyne Descamps (Unité VIM - Jouy-en-Josas)

Grégory Caignard (UMR Virologie - Maisons-Alfort)

Gael Beaunee (UMR BIOEPAR – Nantes)

Virginie Doceul (UMR Virologie - Maisons-Alfort)

Philippe Pinton (Unité Toxalim – Toulouse)

Nicolas Loiseau (Unité Toxalim - Toulouse)

Noémie Perrot (PFIE Plateforme – Nouzilly)

Frédéric Lasserre (Unité Toxalim - Toulouse)

Jérôme Pottier (Unité IERP – Jouy-en-Josas)

# Programme

## ***Session scientifique***

### **Mardi 18 Octobre**

Navettes : 11h30 Bayonne 2 bus

Accueil début d'après-midi et installation des posters dans l'espace café pour les 3 jours, installation chambre (fin d'après-midi).

12h-14h : Déjeuner buffet

#### **14h00 - 14h45 : Introduction des JAS et actualités du département**

*Muriel Vayssier-Taussat*

La nouvelle Task Force Europe du DSA : genèse, composition et objectifs

*Jennifer Richardson*

Présentation du programme des JAS 2022

*Comité scientifique*

#### **15h00 - 15h30 : Présentation du GIS FC3R - Le centre de référence en France pour toutes questions relatives aux 3R**

*Athanassia Sotiropoulos (FC3R)*

Modérateurs : Jérôme Pottier & Fabienne Archer

#### **15h35 – 16h05 : “One Health - Une seule santé : Théorie, Méthodes et contribution à la prévention pandémique”**

*Jakob Zinsstag (Institut Tropical et de Santé Publique Suisse)*

En commun avec “session expérimentation animale”.

Modérateurs : Nicolas Loiseau & Timothée Vergne

16h05-16h35 pause-café - visite des posters

#### **16h40 – 17h55 : Présentations des nouveaux chercheurs, session 1**

Modérateurs : Nicolas Loiseau & Sabine Riffault

- *Nicolas Meunier (VIM-Coronavirus): Origine cellulaire de l'anosmie liée à la COVID19.*
- *Nuria Mach Casellas (IHAP-Host Pathogens Interactions): Hologenomics: mining the host body axes under stress.*
- *Rémy Bétous (INTHERES – UMR 1436): Filarial DAF-12s sense  $\Delta 4$ -dafachronic acid in host serum to resume iL3 development during infection.*

- *Claire Guinat (IHAP - EPIDESA): PHYLINF: PHYLodynamics for tracking INFectious disease outbreaks.*

### **18h - 19h : Flash présentations**

Modérateurs : Delphyne Descamps & Grégory Caignard

- *Claude Rispé (BIOEPAR): Genetic differentiation between populations of the tick *Ixodes ricinus*, assessed by partial exome capture*
- *Sabine Rakotobe (BIPAR): Tickarium, a core facility for tick rearing at the UMR-BIPAR*
- *Lourdes MATEOS-HERNANDEZ (BIPAR) : Insight into complex serotonergic system in the ticks *Ixodes ricinus**
- *Manon Mehraz (IERP) : Développement de modèles d'entérocolites en poisson zèbre pour l'étude de la santé intestinale chez les poissons et applications en diagnostic*
- *Cécile Ferret (VIM) : Comparaison des signatures cytokiniques innées des compartiments pulmonaire et sanguin chez le veau*
- *Baptiste Sorin (BIOEPAR) : Modelling pathogen-specific infection dynamics of bovine respiratory disease in a multi-batch fattening farm*
- *Vianney Sicard (BIOEPAR) : Modéliser la propagation et la maîtrise de maladies dans les élevages fortement structurés : application à la conduite en bandes*
- *Phrutsamon Wongnak (EPIA): How might climate change affect *Ixodes ricinus* populations in France?*
- *Alix Pierron (IHAP) : Une analyse ciblée des sphingolipides a permis de mettre en évidence des différences entre des souris WT et SOCS-2 KI lors d'une inflammation péritonéale induite par le zymosan.*
- *M'hamed Derriche (IHAP) : Dissémination des éléments génétiques mobiles chez les mycoplasmes : identification d'un récepteur potentiel à la surface de la cellule cible*
- *Joshua Malsa (ISP) : Effect of sainfoin (*Onobrychis viciifolia*) on cyathostomin eggs excretion, larval development, larval community structure and efficacy of ivermectin treatment in horses*

19h – 20h00 : Apéritif autour des posters affichés

20h15 : Buffet dinatoire

## Mercredi 19 Octobre

### 8h30 – 9h45 : Présentations des nouveaux chercheurs, session 2

Modérateurs : Delphyne Descamps & Muriel Couplier

- *Foteini Koutroumpa (ISP, équipe MPN) : Perspectives d'identification et de caractérisation de nouvelles cibles pharmacologiques pour la lutte contre les parasites d'animaux.*
- *Jocelyn Turpin (IVPC, équipe PR2T) :  $\beta$ -rétrovirome des petits ruminants.*
- *Anne Fougerat (TOXALIM, équipe TIM) : Effets hépatiques de contaminants de l'alimentation et mécanismes impliqués.*
- *Ferdinand Roesch (ISP) : Dynamique d'expression des gènes et d'activation des voies de l'immunité innée : la clé pour comprendre la virulence du Virus de la Peste Porcine Africaine ?*

### 9h50 – 10h30 : Information sur les PEPR Prezode et MIE

Christine Citti & Muriel Vayssier

### 10h30– 10h50 : pause-café - visite des posters

### Session 1 : Écologie des agents pathogènes animaux et zoonotiques et des Vecteurs

#### 10h55 – 11h25 : OBEPINE : des eaux troubles pour y voir plus clair dans l'épidémie de COVID-19.

*Vincent Maréchal (INSERM, Sorbonne Université, Paris).*

Modérateurs: Grégory Caignard & Sarah Bonnet

#### 11h30 – 12h35 : Présentations orales sélectionnées

Modérateurs: Grégory Caignard & Sarah Bonnet

- *Pauline Ezanno (BIOEPAR) : Modéliser la dynamique d'infection virale intra-vecteur et prédire son impact sur le risque de propagation des arbovirus.*
- *David Pleydell (ASTRE) : A combination of probabilistic and mechanistic approaches for predicting the spread of African swine fever on Merry Island.*
- *Rachel Contarin (INTHERES) : Les éléments génétiques mobiles chez les *Staphylococcus aureus* d'origine animale, la clé pour ouvrir les portes de la multi-résistance.*
- *Bohyung Lee (VIM) : Multifaceted molecular approaches unveiled the major role of Type 9 secretion system in virulence of the fish pathogen *Flavobacterium psychrophilum*.*

### Repas buffet 12h40-14h

## **14h – 15h : Introduction et table ronde sur l'éthique et la déontologie**

*Présentation et animation Etienne Decroly & Olivier Le Gall*

En commun avec la "session expérimentation animale"

## **Session 2 : Maîtrise des maladies animales et zoonotiques**

### **15h05- 15h35 : Transmission et contrôle de l'influenza aviaire le long des réseaux commerciaux de volailles vivantes.**

*Guillaume Fournié (Royal Veterinary College, UK)*

Modérateurs: Virginie Doceul & Christophe Chevalier

### 15h35– 16h05 pause-café - visite des posters

### **16h10– 17h55 : Présentations orales sélectionnées**

Modérateurs: Virginie Doceul & Christophe Chevalier

- *Fatima-Zohra SIKHT (IHAP) : Évaluation de l'effet immunosuppresseur des souches très virulentes et vaccinales d'IBDV contre l'infection tardive par le virus H9N2 chez le poulet de chair.*
- *Sébastien Lambert (IHAP) : Supporting policy by estimating the transmission dynamics of highly pathogenic avian influenza H5 infections in poultry flocks from France and The Netherlands, 2014-2022.*
- *Morgane Miclon (ISP) : Les macro-algues : une opportunité pour le contrôle des nématodes parasites des productions animales.*
- *Soraya Dinant (VIM) : Les gènes de la famille prion : modulateur de la sévérité des infections pulmonaires virales et de leurs conséquences neurologiques ?*
- *Noémie Berry (VIRO) : TBEV-infected human neuronal/glia cells identify antiviral drugs.*
- *Stéphane Biacchesi (VIMP-VMP) & Christelle Langevin (IERP) : Apports de la génétique inverse et du modèle poisson zèbre pour une meilleure compréhension des infections virales.*

### **18h00 – 18h30 : Restitution de la "session expérimentation animale"**

### 18h30 : Présentation et vente des produits régionaux "L'atelier du piment"

### 20h30 : Soirée de Gala avec remise des prix (dîner de gala puis soirée dansante)

## Jeudi 20 Octobre

### Session 3 : Interactions vertébrés/invertébrés-agents pathogènes et environnement

#### 8h30 – 9h30 : Présentations orales sélectionnées

Modérateurs : Delphine Descamps & Ignacio Caballero

- *Blandine Gausserès (IHAP) : Les macrophages ductaux F4/80+ CD11c+ CMH II+ sont les cellules immunitaires prédominantes de la glande mammaire de souris en lactation.*
- *Apolline Maitre (BIPAR) : Detection of anti-microbiota vaccine targets of Rhipicephalus bursa and Hyalomma marginatum ticks collected from cattle in Corsica.*
- *Florian Tomal (ISP) : Impact of the microbiota on the recruitment and the transcriptomic profile of mononuclear phagocytes in response to E.tenella infection.*
- *Claire Chottin (VIM) : Immunomodulation de la sensibilité néonatale au Virus Respiratoire Syncytial par des bactéries primo-colonisatrices du poumon.*

#### 9h35 - 10h05 : La mycotoxine alimentaire, le déoxynivalénol, exacerbe l'inflammation et la tumorigénèse colique chez la souris.

*Mathilde Body-Malapel (INSERM, Université de Lille)*

Modérateurs : Delphine Descamps & Ignacio Caballero

#### 10h10 – 10h40 : pause-café - visite des posters

#### 10h45 – 11h45 : Présentations orales sélectionnées

Modérateurs: Virginie Doceul & Jean Millet

- *Juliette Dupré (VIRO) : Cartographie à haut débit des Interactions virus-hôte : identification de nouveaux facteurs de pathogénicité et de virulence pour le virus de la Peste Porcine Africaine.*
- *Barbara Viginier (IVPC) : La séquence Kozak de la p78 du Virus de la Fièvre de la Vallée du Rift promeut la dissémination virale chez le moustique.*
- *Jocelyn DE GOËR (EPIA) : Utilisation de techniques d'intelligence artificielle dans le cadre de l'étude des tiques et de la maladie de Lyme.*
- *Helena Ladreyt (ASTRE) : Risk of diffusion of Japanese encephalitis virus following its introduction in Reunion Island.*

#### 11h50-12h00 : Discours clôture et fin des JAS par Muriel Vayssier

#### Panier Repas 12h15

Départ Navettes : 12h45 Bayonne 2 bus

# Conférences invitées

**Mardi 18 Octobre – 15h-15h30 : Athanassia Sotiropoulos**

Présentation du GIS FC3R - Le centre de référence en France pour toutes questions relatives aux 3R

L'utilisation d'animaux à des fins scientifiques se fonde sur le principe des « 3R » (remplacement, réduction, raffinement) pour guider au mieux les recherches et promouvoir des méthodes responsables et innovantes. Un groupement d'acteurs de la recherche composé de l'Inserm, du CNRS, d'INRAE, d'Inria, du CEA, de l'Institut Pasteur de Paris, de la CPU et de l'association Udice annonce la création, en France, du FC3R (French Center 3R) pour soutenir l'application des règles qui découlent du principe des 3R. Créée à la demande du ministère de l'Enseignement Supérieur, de la Recherche et de l'Innovation, sous la forme d'un Groupement d'intérêt scientifique (GIS), et dotée de missions et de moyens d'actions conséquents, cette structure a l'ambition d'être reconnue en France et en Europe comme référence et point de contact pour toutes les questions relatives aux 3R, dans la recherche publique comme privée.

Le FC3R sera structuré autour d'une équipe initialement composée de 6 personnes (directrice, secrétaire/gestionnaire, responsable de la communication, responsable de la formation, responsable des appels à projets, assistance au design expérimental) et doté d'un comité de pilotage, d'un comité scientifique et d'un conseil d'orientation et de réflexion.



**Athanassia Sotiropoulos**

Directrice du GIS FC3R

GIS FC3R – Université Pierre et Marie Curie

## Mardi 18 Octobre – 15h35-16h05 : Jakob Zinsstag

### “One Health - Une seule santé : Théorie, Méthodes et contribution à la prévention pandémique”

Le concept de « One Health » – « Une seule santé » postule une valeur ajoutée d'une coopération plus étroite de la santé humaine et animale en termes de santé et de bien-être humain et animal, d'économies financières et de services environnementaux, qui ne pourrait être atteinte si les disciplines travaillent séparément. Ce concept a été validé en démontrant les avantages de services conjoints de santé humaine et animale pour les éleveurs mobiles au Tchad, les avantages sociétaux de la vaccination du bétail contre la brucellose pour la santé publique en Mongolie et l'avantage de la vaccination de masse des chiens pour éliminer la rage humaine au Tchad. De nouvelles méthodes d'évaluation simultanée de la santé humaine et animale, combinant épidémiologie, biologie moléculaire, mathématiques et économie, ont été développées à cette fin. Des systèmes de surveillance-réponse intégrés des humains et des animaux permettent de détecter les maladies beaucoup plus tôt dans le réservoir environnemental ou animal que si elle se limite aux humains. Une telle approche, combinée avec une meilleure biosécurité et bien-être animal dans la production, le transport et le commerce peut diminuer le risque de nouvelles pandémies.



#### Jacob Zinsstag

Head of Research Unit at  
University of Basel

Institut Tropical et de Santé  
Publique Suisse

## **Mercredi 19 Octobre – 10h55-11h25 : Vincent Maréchal**

### **OBEPINE : des eaux troubles pour y voir plus clair dans l'épidémie de COVID-19**

Le consortium de recherche OBEPINE (Observatoire Épidémiologique dans les Eaux Usées) s'est attaché, depuis mars 2020, à exploiter la présence du SARS-CoV-2 dans les eaux usées pour proposer un suivi épidémiologique de la COVID-19 en France. Bien que l'épidémiologie des eaux usées soit une discipline déjà ancienne, elle n'a jamais connu de développement aussi important à l'échelle nationale et internationale. Réunissant des équipes de recherche aux compétences variées (virologie humaine, virologie environnementale, hydrologie, mathématiques etc.), le Groupement d'Intérêt Scientifique (GIS) OBEPINE a établi les premiers protocoles de quantification du génome viral dans eaux usées des stations de traitement des eaux usées (STEU). OBEPINE a également développé un modèle mathématique original qui a permis de démontrer la très bonne adéquation entre les données issues des eaux usées et d'autres paramètres épidémiologiques individu-centrés (taux d'incidence notamment), avec un rapport bénéfice/cout incomparable en regard de l'acquisition des données épidémiologiques issues des campagnes de tests individuels massives. Les tendances mises en évidence à l'échelle locale ont, dans plusieurs cas, permis d'anticiper avec plusieurs jours ou semaines d'avance des changements majeurs dans les tendances épidémiques (détection précoce des vagues notamment). Le réseau sentinelle qui a été construit avec l'appui du Ministère français de l'Enseignement supérieur, de la Recherche et de l'Innovation comprend à ce jour 200 STEU en France métropolitaine et outre-mer. Il permet d'évaluer de façon bi-hebdomadaire la dynamique de l'épidémie dans près de 40% de la population française, en complément des indicateurs épidémiologiques individu-centrés. Des travaux sont conduits en parallèle afin de valoriser davantage encore l'analyse des eaux usées comme outil de suivi « méta-épidémiologique » de l'état de santé des populations à l'occasion de l'épidémie de COVID-19 (suivi des tendances, des variants majeurs) mais également afin de proposer des outils pour suivre d'autres pathogènes d'intérêt médical majeur, humains ou animaux. L'objectif du consortium Obepine est également de s'appuyer sur des travaux de recherche rigoureux afin de proposer de nouveaux outils épidémiologiques économiques et adaptables à des pays dont les ressources financières et/ou technologiques sont limitées. De tels réseaux doivent en effet permettre, dans l'avenir, de mieux prévenir et suivre certains processus épidémiques à l'échelle locale, nationale ou internationale.



### **Vincent Maréchal**

**Directeur de l'Observatoire  
Épidémiologique dans les  
Eaux Usées (OBEPINE)**

**INSERM, Sorbonne Université,  
Paris**

## **Mercredi 19 Octobre – 14h-15h : Etienne Decroly & Olivier Le Gall**

### Introduction et table ronde sur l'éthique et la déontologie

L'INRA avait été l'un des premiers établissements français à signer la charte nationale de déontologie des métiers de la recherche, en janvier 2015. L'Office Français de l'Intégrité Scientifique (OFIS) a été créé en 2017 pour stimuler le partage d'une culture de l'intégrité scientifique dans l'écosystème de recherche et d'enseignement supérieur français. Les missions de l'OFIS sont : réflexion prospective, partage de référentiels (<https://www.hceres.fr/fr/integrite-scientifique>), animation, participation aux dispositifs européens et internationaux.



**Olivier Le Gall**

Président du Conseil de l'Office français de l'intégrité scientifique



**Etienne Decroly**

Directeur de recherche CNRS

Laboratoire AFMB  
(Architecture et fonction des macromolécules biologiques)  
de l'université Aix-Marseille

## **Mercredi 18 Octobre – 15h05-15h35 : Guillaume Fournié**

Transmission et contrôle de l'influenza aviaire le long des réseaux commerciaux de volailles vivantes.

De multiples sous-types zoonotiques de virus d'influenza aviaire sont endémiques dans les populations de volailles d'Asie du Sud et du Sud-Est. La plupart des volailles étant vendues vivantes, les marchés sont souvent considérés comme jouant un rôle important dans la diffusion et la persistance de ces virus. Cependant, la configuration des réseaux commerciaux dans lesquels ces marchés sont intégrés est rarement caractérisée, et leur impact sur la transmission virale partiellement compris. Je vais présenter comment l'utilisation combinée d'études épidémiologiques, ethnographiques et de modèles mathématiques peut permettre d'évaluer l'influence de pratiques commerciales sur la transmission des virus d'influenza aviaire, et d'optimiser la conception des mesures de surveillance et de contrôle.



### **Guillaume Fournié**

Senior Research Fellow in the  
Department of Pathobiology  
and Population Sciences

Royal Veterinary College -  
University of London

## Jeudi 20 Octobre – 9h35-10h05 : Mathilde Body-Malapel

La mycotoxine alimentaire, le déoxynivalénol, exacerbe l'inflammation et la tumorigénèse colique chez la souris.

Introduction : La mycotoxine déoxynivalénol (DON) est un contaminant fréquent des céréales et des produits céréaliers dans le monde entier. L'exposition chronique au DON peut provoquer une inflammation gastro-intestinale, perturber la fonction de barrière intestinale et induire une dysbiose intestinale in vivo dans des conditions basales. Mais les effets de l'ingestion de DON restent mal connus, notamment en conditions pathologiques. Méthodes : Nous avons exposé des souris par voie orale à 10 et 100  $\mu\text{g}/\text{kg pc}/\text{j}$  de DON, correspondant à 10 à 100 fois la dose quotidienne tolérable réglementaire chez l'homme, mais aussi à la transposition chez la souris d'un apport quotidien humain réaliste. Nous avons exploré les effets de l'exposition au DON dans des conditions basales, dans des modèles murins d'entérite et de cancer colorectal. Résultats: Chez la souris, après seulement 8 jours d'exposition, nous avons observé une augmentation au niveau histomorphologique et moléculaire de la prolifération épithéliale, du duodénum au côlon. Nous avons ensuite démontré qu'une exposition de 8 jours au DON aux mêmes concentrations entraînait une exacerbation du développement des lésions et de l'expression des cytokines iléales dans le modèle murin d'entérite induit par l'indométhacine. De plus, l'exposition au DON a aggravé le développement du cancer colorectal associé à la colite chez la souris, objectivé par des augmentations des scores de colite au niveau endoscopique et histologique, ainsi que des grades tumoraux et de l'hyperplasie au niveau histologique. Cette exacerbation du cancer colorectal associé à la colite est associée à des modifications structurelles du microbiote, ainsi qu'à des perturbations du métabolisme bactérien du fucose. Conclusion: L'ingestion de mycotoxine déoxynivalénol à des concentrations représentatives d'une exposition humaine réaliste a aggravé le développement de l'entérite induite par l'indométhacine et du cancer colorectal associé à la colite chez la souris. Nos résultats indiquent que même à de faibles doses, qui sont actuellement tolérées dans l'alimentation humaine, le DON pourrait favoriser le développement de maladies intestinales chez l'homme.



### Mathilde Body-Malapel

Ingénieur de Recherche,  
INSERM

INFINITE - Lille Institute for  
Translational Research in  
Inflammation, Université de  
Lille.

# Présentations des nouveaux chercheurs

**Mardi 18 Octobre – 16h40-17h55 : Session 1**

## **Nicolas Meunier (VIM)**

Origine cellulaire de l'anosmie liée à la COVID19

Résumé :

L'impact des virus respiratoires au niveau de la cavité nasale est très mal connu. La très forte prévalence d'anosmie durant l'épidémie de COVID- 19 a mis en lumière son importance.

L'étude de la physiopathologie de ces virus au niveau de la cavité nasale est particulièrement importante car cette cible primaire de l'infection précède le développement de l'infection vers les bronches où elle provoque le plus de pathologies. De plus, il est désormais bien établi que la cavité nasale est un réservoir pour la dissémination par voie aérienne des virus respiratoires. Notre équipe a été pionnière pour décrypter les mécanismes cellulaires liés à la perte d'odorat suivant l'infection par le SARS- CoV-2. La détection des odeurs débute dans l'épithélium olfactif situé au fond de la cavité nasale. Il est essentiellement constitué de neurones entourés par des cellules de soutien. En utilisant le hamster comme modèle, nous avons pu établir que suite à l'infection des cellules de soutien, l'épithélium se retrouve fortement déstabilisé ce qui aboutit à des pertes cellulaires dont les neurones qui se retrouvent alors dans la lumière de la cavité nasale. L'origine de la déstabilisation de l'épithélium est encore méconnue, elle pourrait être liée à la mort cellulaire entraîné par le virus ou par une action des cellules immunitaires qui sont présentes très rapidement au sein de l'épithélium infectés. Nos données récentes pointent les neutrophiles comme acteur majeur de cette déstabilisation.

## **Núria Mach Casellas (IHAP)**

Hologenomics: mining the host body axes under stress.

Résumé :

In June 2013, I got a permanent position as a researcher in the “Animal Genetics and Integrative Biology” unit of the Animal Genetics department at INRAE. Since then, I have studied the potential of gut microbiota composition and associated functions in regulating horses' physiology and athletic performance. By mining omics data, I have primarily characterised the holobiont response to abiotic and biotic stressors, including psychosocial and physical demands during exercise and intestinal parasitism. These results have led to a rethinking of horse management principles and a discussion on the importance of meeting elite athletes' behavioural and physiological needs to keep their health and welfare. While most of my studies have underlined the connection between the gut microbiome and peripheral organs such as the heart, the muscles and the brain, evidence of microbial crosstalk between the gut and the lungs is emerging now, influencing respiratory disease aetiology and host health. Yet, the nature of these microbial interactions and functions is a research field in its infancy. My shift at the Animal Health Department in 2021 will allow me to bring nuance to this hologenomic approach by delving into the microbiome gut-lung axis. By combining the airway and gut microbiomes and their functions, I will try to expand the knowledge

of the ecological mechanisms underlying the onset of respiratory infections, a relevant issue for animal health and welfare, public health, and the environment.

## **Rémy Bétous (INTHERES)**

Filarial DAF-12s sense  $\Delta 4$ -dafachronic acid in host serum to resume iL3 development during infection.

Résumé :

Nematode parasites enter their definitive host at the developmentally arrested infectious larval stage (iL3), and the ligand-dependent nuclear receptor DAF-12 contributes to trigger their development to adulthood. Here, we characterized DAF-12 from the filarial nematodes *Brugia malayi* and *Dirofilaria immitis* and compared them with DAF-12 from the non-filarial nematodes *Haemonchus contortus* and *Caenorhabditis elegans*. Interestingly, Dim and BmaDAF-12 exhibit high sequence identity and share a striking higher sensitivity than Hco and CelDAF-12 to the natural ligands  $\Delta 4$ - and  $\Delta 7$ -dafachronic acids (DA). Moreover, sera from different mammalian species activated specifically Dim and BmaDAF-12 while the hormone-depleted sera failed to activate the filarial DAF-12 and impaired the development of *D. immitis* iL3 in vitro. Finally, analysis of publicly available RNA sequencing data from *B. malayi* suggested that, at the time of infection, iL3 parasites do not actively synthesize DAF-12 ligands. Remarkably, since  $\Delta 4$ -DA has been identified in mammalian sera, our data suggest that filarial DAF-12 have evolved to specifically sense and survive in a host environment, which provides favorable conditions to quickly resume larval development. This work sheds new light on the regulation of filarial nematodes development while entering their definitive host and may open the route to novel therapies to treat filarial infections.

## **Claire Guinat (IHAP)**

PHYLINF: PHYLodynamics for tracking INFectious disease outbreaks.

Résumé :

Claire obtained her PhD in veterinary epidemiology in 2016 from the The Royal Veterinary College (RVC) and The Pirbright Institute (UK). After her PhD, she completed two postdoctoral positions, the first one at the Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse (ENVT) and the French National Institute for Agricultural Research and Environment (INRAE) (France, 2017-2020), followed by another one at ETH Zurich where she held a Marie Skłodowska-Curie Actions Individual Fellowship (2020-2022). In autumn 2022, she joined INRAE as a permanent researcher. Claire's research focuses on investigating the transmission dynamics of zoonotic and animal infectious diseases. Better understanding how pathogens spread amongst animals is crucial to improve our ability to prevent and control future epidemics. Claire's work combines epidemiological and pathogen genetic data collected during epidemics to infer disease transmission dynamics.

## **Mercredi 19 Octobre – 8h30-9h45 : Session 2**

### **Foteini Koutroumpa (ISP)**

Perspectives d'identification et de caractérisation de nouvelles cibles pharmacologiques pour la lutte contre les parasites d'animaux.

Résumé :

L'unité mixte de recherche Infectiologie et Santé Publique (UMR ISP), dans le cadre du concept « One Health » à l'interface entre l'homme, l'animal et l'environnement, propose son investissement dans la problématique des arthropodes parasites des animaux. Les arthropodes et en particulier les insectes et les acariens présentent un intérêt majeur et croissant. Ces nuisibles pour l'homme, les animaux et les cultures, en plus des dégâts directs qu'ils causent de par leur mode de vie parasitaire, sont également vecteurs de maladies graves comme la malaria. Caractérisés par une prolificité et une capacité de dispersion exceptionnelles, ils s'avèrent extrêmement difficiles à combattre. De plus le développement de résistance à la plupart des molécules actives disponibles sur le marché nécessite la mise en place de nouvelles stratégies de lutte. La limitation de l'usage des xénobiotiques est un des objectifs principaux de l'équipe Multirésistance et Pouvoir Pathogène des Nématodes (MPN) que je viens d'intégrer en Novembre dernier. Je vais m'intéresser en particulier à l'identification de nouvelles cibles pharmaceutiques chez les arthropodes. Inspirée par les études préalables dans l'équipe sur les récepteurs canaux ioniques, cibles pharmacologiques chez les nématodes parasites d'animaux, je vais comparer leurs orthologues chez les arthropodes d'intérêt. La remarquable diversité des canaux ioniques dans des fonctions physiologiques aussi diverses et essentielles pour la survie que la locomotion, la prise de nourriture, la reconnaissance de l'hôte et des partenaires sexuels, la défécation et l'excrétion/sécrétion d'immunomodulateurs, les place comme des cibles privilégiées à explorer dans le développement des méthodes de lutte alternatives et efficaces. L'équipe MPN s'est spécialisée dans l'étude de la spécificité du couple drogue – canal ionique dans le but d'éviter le développement de résistances tout en favorisant des traitements ciblés plus efficaces à long terme. Ma spécialisation sur les insectes et notamment sur les récepteurs (canaux ioniques) impliqués dans la chimioréception ouvre de nouvelles perspectives dans la lutte contre ces nuisibles, comme la conception de nouveaux pièges basés sur les sens (odorat, vision, gustation). Lors de mon intervention je vais vous présenter mes objectifs pour les années à suivre ainsi que les premières observations sur un acarien, le pou rouge de la volaille, et les mouches *Gasterophilus* spp parasites gastrointestinaux des chevaux.

### **Jocelyn Turpin (IVPC)**

$\beta$ -rétrovirome des petits ruminants.

Résumé :

Les rétrovirus sont des virus à ARN dont la réplication nécessite la rétro-transcription de leur génome en ADN et son intégration dans le génome de l'hôte où ils profitent de la machinerie cellulaire pour produire des nouvelles particules virales. Lorsque cette insertion s'effectue dans les cellules germinales, elle est transmise verticalement à la génération suivante. Dans le cas où cette intégration est fixée dans le génome de l'hôte au cours des générations, elle est définie comme un

rétrovirus endogène ou ERV (endogenous retrovirus). Longtemps considérés comme de "l'ADN poubelle", il est maintenant bien établi qu'ils participent à l'évolution du génome et portent même des fonctions indispensables à la vie et au développement des mammifères. Les séquences rétrovirales sont des composants majeurs des génomes des mammifères, on estime ainsi que 1,6 à 3,6 % des génomes des petits ruminants sont constitués de séquences rétrovirales endogènes. La majorité des ERV résultent d'intégrations anciennes de rétrovirus infectieux exogènes éteints sauf pour de rares espèces comme les petits ruminants où les ERV du genre  $\beta$  coexistent avec leurs homologues exogènes. Ces  $\beta$ -rétrovirus, JSRV (Jaagsiekte sheep retrovirus) et ENTV (Enzootic nasal tumor virus) sont oncogènes et responsables de cancers de l'appareil respiratoire. Souvent sporadiques dans les troupeaux ovins et caprins, les cancers se manifestent aussi sous forme de foyers, associant une transmission rapide des virus et une mortalité élevée. Malgré leur impact économique au niveau mondial, ces maladies sont négligées avec peu ou pas de réglementation et d'épidémiologie. Les  $\beta$ -ERV partagent avec leurs partenaires exogènes oncogènes ENTV et JSRV une grande proximité génétique (>93% d'identité). Cette proximité est à la fois un défi pour la mise en place d'outils de détection des  $\beta$ -rétrovirus exogènes, et pose la question du rôle potentiel de la co-évolution des  $\beta$ -rétrovirus oncogènes exogènes et endogènes au sein du genre capra dans l'expression clinique. Afin de s'attaquer à cette double question nous présenterons à la fois nos stratégies de séquençage des virus endogènes et exogènes en lien avec les acteurs de terrain et nos approches *in silico* afin de caractériser la diversité des insertions  $\beta$ -ERV dans les génomes ovins et caprins, et leur profil d'expression tissulaire.

## Anne Fougerat (TOXALIM)

### Effets hépatiques de contaminants de l'alimentation et mécanismes impliqués.

#### Résumé :

Le foie est un organe central dans le maintien de l'homéostasie énergétique et dans la détoxification des xénobiotiques. Les atteintes hépatiques associées à l'obésité, telle que la stéatose hépatique non alcoolique (NAFLD) qui affecte aujourd'hui 25% de la population mondiale, représentent un enjeu de santé publique. La NAFLD regroupe un large spectre de ces maladies hépatiques allant de la stéatose (accumulation de lipides dans les hépatocytes) à la stéato-hépatite non alcoolique qui représente le stade inflammatoire de la pathologie et peut évoluer vers la cirrhose et l'hépatocarcinome. Les lipides qui s'accumulent anormalement dans les hépatocytes lors de la stéatose ont deux origines principales : une dérégulation hépatocytaire de voies du métabolisme lipidique (synthèse accrue ou oxydation réduite) et une lipolyse excessive du tissu adipeux. Des études épidémiologiques suggèrent que l'exposition à des contaminants environnementaux constitue un facteur de risque pour le développement de ces atteintes du foie. L'objectif de mon projet de recherche est d'étudier les effets de l'exposition aux contaminants alimentaires sur les hépatopathies métaboliques et d'identifier les mécanismes impliqués. Nous utilisons une lignée d'hépatocytes humains afin d'identifier des contaminants qui exercent un effet direct sur le foie. Nos premiers résultats ont été obtenus sur des pesticides auxquels la population générale est exposée et montrent que le boscalide, le lambda-cyhalothrine et le thiabendazole influent directement sur le métabolisme des cellules hépatiques.

L'effet d'une exposition chronique à ces pesticides seuls ou en mélange sur la progression de la stéatose sera testée dans un modèle pré-clinique de NAFLD. Ce modèle intégré permettra notamment d'étudier les effets sur le dialogue inter-organes tel que celui entre le foie et le tissu adipeux. Afin d'identifier les acteurs impliqués dans ce dialogue entre le tissu adipeux et le foie,

nous avons utilisé un modèle de souris qui ont un défaut de lipolyse et montré que la lipolyse adipocytaire a une influence considérable sur l'expression hépatique du génome. Une part de ces effets est médiée par un récepteur nucléaire nommé PPAR $\alpha$  (peroxisome proliferator- activated receptor  $\alpha$ ) qui joue un rôle déterminant dans le catabolisme des lipides et la production de l'hépatokine FGF21 (fibroblast growth factor 21).

Cette hormone sécrétée par le foie exerce de nombreux effets systémiques sur le métabolisme, la reproduction, la croissance et a été récemment décrite comme une cible de certains contaminants. Ces travaux permettront d'apporter des connaissances fondamentales sur les effets directs de contaminants alimentaires sur le foie et sur les voies indirectes mettant en jeu un dialogue vital entre le tissu adipeux et le foie.

## **Ferdinand Roesch (ISP)**

### **Dynamique d'expression des gènes et d'activation des voies de l'immunité innée : la clé pour comprendre la virulence du Virus de la Peste Porcine Africaine ?**

#### **Résumé:**

Le Virus de la Peste Porcine Africaine (PPA) induit chez les animaux infectés des symptômes d'une intensité et d'une gravité variable. En effet, les souches virulentes provoquent une maladie proche des fièvres hémorragiques dont les taux de mortalité s'approchent de 100%, tandis que les souches atténuées n'induisent que peu de symptômes et une maladie bénigne. La compréhension des mécanismes de virulence du virus de la PPA est donc un enjeu majeur, d'autant plus en raison des candidats de vaccins atténués en cours de développement. Nous faisons l'hypothèse que les souches virulentes et les souches atténuées du virus de la PPA diffèrent dans leur capacité à être détectées par les voies de l'immunité innée, et à inhiber leurs effets. Nos premiers résultats indiquent qu'en plus de différences existant sur le plan génomique entre les souches virulentes et atténuées (délétions de familles de gènes), les niveaux d'expression de certains gènes de virulence sont également différents. J'exposerai les axes de recherche que je souhaite développer à moyen terme au sein de l'équipe 3IMo, en particulier à travers un projet de thèse débutant en Octobre et un projet Horizon Europe tout juste soumis. Ces projets viseront à déterminer : Quels senseurs (ADN ou ARN) sont capables de détecter le virus de la PPA ; Si différentes souches sont détectées différemment (ou davantage capables d'inhiber les voies IRF3 et NFkB) ; D'identifier les facteurs viraux impliqués dans ces mécanismes ; De comparer la réponse innée induite au sein d'animaux symptomatiques (sangliers, cochons) et d'animaux asymptomatiques (phacochères). Je présenterai aussi les collaborations récemment mises en place permettant de mener des études mécanistiques plus approfondies à plus long terme.

# Communications orales

## Session 1 : Écologie des agents pathogènes animaux et zoonotiques et des Vecteurs

**Mercredi 18 Octobre – 11h30-12h35**

### **O.01-Modéliser la dynamique d'infection virale intra-vecteur et prédire son impact sur le risque de propagation des arbovirus.**

Orateur : Pauline Ezanno (BIOEPAR)

#### Résumé :

Les arbovirus sont des agents pathogènes transmis aux vertébrés par piqûre d'arthropodes vecteurs. Souvent d'origine zoonotique (i.e., les hôtes peuvent être des animaux et des humains), les arbovirus représentent une menace mondiale en santé publique vétérinaire. Leur transmission est un processus dynamique et multi-échelles, de l'acquisition du virus par le vecteur à sa propagation dans les populations hôtes. Cependant, la dynamique d'infection virale intra-vecteur (DIV) et sa variation avec l'environnement (a)biotique restent mal comprises. La DIV est intégrée de manière simpliste dans les modèles épidémiologiques, empêchant d'évaluer l'impact de sa variabilité sur la dynamique virale populationnelle. Les UMR BIOEPAR et IVPC collaborent dans le projet ArboMod (financement DSA, 2022) pour connecter approches expérimentales in insecta et modélisation autour de la capacité du vecteur à s'infecter, disséminer, puis transmettre le virus selon les contraintes (a)biotiques du pathosystème. Notre objectif est de mieux comprendre la variabilité de la DIV et son impact sur les dynamiques épidémiques. Le cas d'étude est le virus de la fièvre de la vallée du Rift (RVFV), un arbovirus zoonotique circulant en Afrique et dans l'Océan Indien, et menaçant l'Europe. Des cohortes de 30 moustiques exposés au RVFV (une dose, une souche virale, une température) ont été disséquées à dates régulières pour identifier le stade d'infection (VEE : exposé, VEI : infecté, VED : disséminé, VI : infectieux) de chaque individu, selon les barrières franchies : barrière d'infection (virus dans l'intestin : de VEE à VEI) et barrière de dissémination (virus dans le système circulatoire : de VEI à VED). La barrière de transmission (virus dans la salive : de VED à VI) n'a pas été analysée. Un système d'équations aux différences spécifiant une distribution non exponentielle de la durée dans chaque stade d'infection et générique à tout virus infectant des moustiques a été co-construit. Les distributions des durées dans les états VE, VEI et VED+VI ont été estimées par une méthode ABC (Approximate Bayesian Computation). Nous avons mis en évidence un écart à l'hypothèse exponentielle de durée entre l'infection et la dissémination dans le vecteur. Nous avons évalué l'impact de cette différence sur la dynamique épidémique populationnelle avec un modèle existant pour le RVFV, dans lequel les états du vecteur ont été remplacés par notre modèle de DIV. Notre modèle permettra à terme d'identifier les données expérimentales nécessaires pour mieux caractériser la DIV et la transmission vectorielle. D'autres formalismes mathématiques seront explorés pour améliorer la performance de ce modèle épidémiologique multi-échelles.

## **O.02-A combination of probabilistic and mechanistic approaches for predicting the spread of African swine fever on Merry Island.**

Orateur : David Pleydell (ASTRE)

Résumé :

Over the last decade African swine fever virus, one of the most virulent pathogens known to affect pigs, has devastated pork industries and wild pig populations throughout the world. Despite a growing literature on specific aspects of African swine fever transmission dynamics, it remains unclear which methods and approaches are most effective for controlling the disease during a crisis. As a consequence, an international modelling challenge was organized in which teams analyzed and responded to a stream of data from an in silico outbreak in the fictive country of Merry Island. In response to this outbreak, we developed a modelling approach that aimed to predict the evolution of the epidemic and evaluate the impact of potential control measures. Two independent models were developed: a stochastic mechanistic space-time compartmental model for characterizing the dissemination of the virus among wild boar; and a deterministic probabilistic risk model for quantifying infection probabilities in domestic pig herds. The combined results of these two models provided valuable information for anticipating the main risks of dissemination and maintenance of the virus (speed and direction of African swine fever spread among wild boar populations, pig herds at greatest risk of infection, the size of the epidemic in the short and long terms), for evaluating the impact of different control measures and for providing specific recommendations concerning control interventions.

## **O.03-Les éléments génétiques mobiles chez les Staphylococcus aureus d'origine animale, la clé pour ouvrir les portes de la multi-résistance.**

Orateur : Rachel Contarin (INTHERES)

Résumé :

*Staphylococcus aureus* est une bactérie commensale et un pathogène opportuniste majeur de l'Homme et de l'animal qui peut présenter de nombreuses résistances aux antibiotiques. Sa capacité à acquérir des gènes de résistances aux antibiotiques (GRA) est étroitement associée à la grande proportion d'éléments génétiques mobiles (EGM) présents dans son génome (entre 15 à 20%) et à son aptitude à échanger du matériel génétique avec son environnement. A ce jour, peu de données sur la diversité des EGM porteurs de GRA sont disponibles chez les *S. aureus* d'origine animale, et leur impact sur la dissémination de l'antibiorésistance est peu documenté. Dans les bases de données NCBI, 1257 génomes de *S. aureus* d'origine animale (sur 1424 génomes extraits), remplissant les critères de qualité d'assemblage ont été analysés in silico. L'identification des GRA et des EGM a été réalisée par ResFinder et MEFinder. Après une analyse experte des données obtenues avec ces différents outils, une cartographie exhaustive des liens existants entre les différents EGM, GRA et hôtes a pu être établie. L'analyse des génomes de *S. aureus* a permis d'identifier 45 GRA et 106 EGM différents. La diversité des GRA et des EGM n'est pas homogène en fonction des hôtes, avec au maximum 9 EGM par souche chez les *S. aureus* aviaires et 9 GRA par souche chez les *S. aureus* porcins. Malgré cette hétérogénéité, nous avons observé une corrélation positive entre le nombre de GRA et d'EGM, en particulier les plasmides et les

transposons, présents dans les génomes. L'analyse des associations entre EGM et GRA a montré que 35% des GRA sont associés à des EGM selon 113 combinaisons GRA/EGM différentes. Les GRA sont majoritairement présents sur des plasmides (62%) et des transposons (37%, 2% d'entre eux étant associés à des plasmides). La diversité des EGM et la prédominance des associations GRA/plasmides confirment que les EGM ont un rôle clé dans la transmission de la multi-résistance chez les *S. aureus* d'origine animale. Il est donc essentiel de mieux caractériser les mécanismes de transmission de ces éléments pour comprendre et éventuellement maîtriser la dissémination de l'antibiorésistance chez ce pathogène majeur.

## **O.04-Multifaceted molecular approaches unveiled the major role of Type 9 secretion system in virulence of the fish pathogen *Flavobacterium psychrophilum*.**

Orateur : Bohyung Lee (VIM)

Résumé :

Bacterial pathogens have a critical economic impact on aquaculture, a sector which accounts for half of the human fish consumption. *Flavobacterium psychrophilum* is a devastating bacterium responsible for bacterial cold-water disease in salmonids worldwide. Molecular factors involved in the pathogenesis and host specificity are yet poorly described. In order to unveil genetic traits implicated in virulence, we combined *in vivo* transcriptomics and experimental evolution approaches. Dual RNA sequencing of rainbow trout organs infected by *F. psychrophilum* allowed to simultaneously document host and bacterial gene expression patterns during the infection process. Three *F. psychrophilum* strains with distinct genotypes were compared. Innate immune responses genes were strongly induced including a large panel of inflammatory cytokines regardless of the bacterial strain. Trout genes, differentially expressed according to the bacterial strain used, were also identified. For instance, genes encoding for tripartite motif-containing protein families involved in ubiquitination and interferon-induced genes were particularly enriched in differentially expressed genes in organs infected by one of the strains. *In vitro* infection experiments using fish cell lines showed higher cytotoxicity for a single strain compared to the two others, indicating that distinct mechanisms probably occur during *F. psychrophilum* pathogenesis. The *in vivo* bacterial transcriptome, mainly shared by the three strains, was characterized by the induction of genes involved in iron homeostasis, stress responses, fatty acids degradation and gliding motility. Importantly, 12 uncharacterized proteins secreted through the Type 9 secretion system (T9SS) were also highly upregulated implying their predominant importance in pathogenesis. In parallel, adaptive evolution experiments were run *in vitro* through multiple bacterial passage using a highly virulent bacterial strain. Selected progenies were genotyped in order to explore functional links between genomic alterations and loss of virulence. Convergent evolution involving a couple of mutational hotspots was observed in all separately evolved lineages. All progenies were characterized by the upregulation of a di/tripeptide transporter encoding gene resulting from mutations in its promoter as well as by increased growth rate. In addition, a transposable element was responsible for rapid phenotypic switch between virulent and avirulent states by insertion and excision in the promoter of the operon encoding the core subunits of the T9SS. Together these results revealed the preponderant role of T9SS in *F. psychrophilum* adaptation to inside/outside host environment and provide grounds for further molecular studies aiming at depicting host-pathogen interactions and for the development of novel disease control strategies.

## **Session 2 : Maitrise des maladies animales et zoonotiques**

**Mercredi 18 Octobre – 16h10-17h55**

### **O.05-Évaluation de l'effet immunosuppresseur des souches très virulentes et vaccinales d'IBDV contre l'infection tardive par le virus H9N2 chez le poulet de chair.**

Orateur : Fatima-Zohra Sikht (IHAP)

Résumé :

L'immunosuppression causée par une infection précoce par le virus de la bursite infectieuse (IBDV) peut exacerber la pathogénicité du virus de l'influenza aviaire faiblement pathogène H9N2 chez les poulets. L'objectif de ce travail est d'étudier les effets immunosuppresseurs de la souche très virulente du virus de la bursite infectieuse IBDV (vvIBDV) et de différents types de vaccins IBDV (vecteur HVT-IBDV, hyperimmun et vaccin intermédiaire plus) utilisés au cours des deux premières semaines d'âge, en cas d'infection tardive par le virus de l'influenza aviaire faiblement pathogène (IAFP) H9N2 chez les poulets de chair. Dans la présente étude, 200 poulets commerciaux d'un jour ont été divisés en cinq groupes, et ont été soit vaccinés avec différents vaccins IBDV selon des protocoles standards, soit infectés avec la souche vvIBDV au 14ème jour, soit conservés comme témoins. Au 28ème jour, tous les animaux, à l'exception de ceux du groupe témoin, ont été infectés par le virus IAFP H9N2. Les signes cliniques ont été suivis, des écouvillonnages et des autopsies ont été effectués, et du sang et des tissus ont été prélevés tout au long de l'expérimentation. Des écouvillons oropharyngés ont été prélevés pour la détection du virus H9N2 par RT-qPCR. Avant l'infection, tous les animaux vaccinés par l'IBDV ont présenté une diminution statistiquement significative du Bursa : Body Index (BBI) par rapport au groupe témoin, à l'exception des oiseaux vaccinés par le HVT-IBD. Après l'infection par le virus IAFP H9N2, les oiseaux vaccinés par le HVT-IBD ont été les moins affectés (signes cliniques et excrétion virale moindres) par l'infection par le virus H9N2, suivis des oiseaux vaccinés par le vaccin hyperimmun et le vaccin intermédiaire plus, respectivement. Mots clés : vvIBDV, IAFP H9N2, immunosuppression, râles, vaccin.

### **O.06-Supporting policy by estimating the transmission dynamics of highly pathogenic avian influenza H5 infections in poultry flocks from France and The Netherlands, 2014-2022.**

Orateur : Sébastien Lambert (IHAP)

Résumé :

Since 2014, Europe has been affected by several devastating epidemics of highly pathogenic avian influenza virus (HPAI) H5N8 and H5N1 viruses, with ever-growing numbers of reported outbreaks in poultry farms and millions of birds killed. During such epidemics, contact-tracing is crucial for identifying new outbreaks in a timely manner and preventing further disease spread. The relevant time window for contact-tracing of HPAI-infected flocks depends on the time of virus introduction, which may vary between flocks. Accurate estimations of the time of virus introduction for each flock are therefore paramount to focus tracing efforts on the most relevant time window.

Therefore, the aim of our study was to estimate flock-specific most likely dates of HPAI virus introduction. To achieve this, daily mortality data recorded by farmers up to the day of detection of HPAI infection in a flock were collected between 2014 and 2022 in France and The Netherlands. Data from 57 infected flocks were included in our analysis (ducks: 19, chicken: 38; H5N8: 40, H5N1: 17), representing the most comprehensive dataset of within-flock mortality analysed so far. To estimate the time of virus introduction, we used a previously developed mechanistic stochastic Susceptible-Exposed-Infectious-Recovered-Deceased (SEIRD) model of within-flock transmission dynamics. Model parameters were estimated using an approximate Bayesian computation approach. Our model fitted well to the observed data for each flock. The estimates of the flock-specific virus introduction time ranged from 5 days (95% credible interval CrI: 0.3-17.8) to 21.5 days (95%CrI: 13.9-29.4). Preliminary analyses suggested shorter estimates of the introduction time for chickens (median: 12.0 days, inter-quartile range IQR: 10.4-13.2) than for ducks (median: 14.9 days, IQR: 11.9-17.2), and shorter estimates for H5N1 (median: 10.1 days, IQR: 8.4-10.6) than for H5N8 (median: 13.8 days, IQR: 12.0-16.4). Further analyses integrating other characteristics (epidemic year, type of production...) are underway to confirm these results. Currently, the time window for contact-tracing of HPAI-infected flocks is fixed to 21 days prior to their detection, assuming that virus introduction happened during this time period. Our results suggest that this time window could be shortened or lengthened depending on the infected flock. We will integrate our modelling approach in an online application, that will be made available to veterinary services for use in real-time. This will help increase efficiency of contact-tracing and allocate more time and resources to other intervention aspects.

## **O.07-Les macro-algues : une opportunité pour le contrôle des nématodes parasites des productions animales.**

Orateur : Morgane Miclon (ISP)

Résumé :

Le contrôle des nématodes parasites des animaux d'élevage reposant principalement sur les anthelminthiques, le développement de résistances représente une préoccupation majeure. Dans ce contexte, les composés bioactifs des macro-algues et leurs propriétés anthelminthiques et/ou biostimulantes présumées offrent des perspectives intéressantes pour le développement d'alternatives aux stratégies de contrôle. Dans cette étude, nous avons étudié l'activité anthelminthique d'extraits aqueux d'un panel de macro-algues collectées sur la côte bretonne en France. L'activité anthelminthique des algues a été déterminée sur le parasite murin *Heligmosomoides polygyrus bakeri*, via plusieurs tests *in vitro*. Un test de développement larvaire, consistant à mesurer la capacité des extraits d'algues à inhiber le développement des larves du stade L1/L2 au stade L3, a été utilisé pour cribler les différents extraits. Certains extraits ont complètement inhibé le développement des larves à 5g/L. La valeur de l'IC50 de l'extrait le plus efficace était de 0.7g/L. De manière intéressante, cet extrait, dérivé d'une algue brune, a également inhibé l'éclosion des œufs et a une forte activité nématocide sur les larves après l'éclosion. De plus, nous constatons une grande efficacité de cet extrait sur les vers adultes. Dans une prochaine étape, le fractionnement des extraits aqueux sera effectué afin d'identifier les composés actifs, et des tests *in vivo* sur des souris infectées seront réalisés pour valider davantage cet extrait de macro-algue comme un anthelminthique naturel éventuel.

## **O.08-Les gènes de la famille prion : modulateur de la sévérité des infections pulmonaires virales et de leurs conséquences neurologiques ?**

Orateur : Soraya Dinant (VIM)

Résumé :

Les infections respiratoires virales constituent un problème de santé public majeur. Les virus influenza A (VIA) sont des virus zoonotiques figurant parmi les agents étiologiques responsables de ces pathologies. Dans le but d'identifier des facteurs de restriction à même de lutter contre ces agents pathogènes, nous avons réalisé plusieurs analyses qui nous ont permis d'identifier les gènes de la famille prion comme facteur d'atténuation des symptômes grippaux en modèle souris. La famille Prion est composée des trois gènes : Prnp, Prnd et Sprn qui codent respectivement les protéines PrPC, Doppel et Shadoo. La PrPC a récemment été décrite pour ses capacités protectrices en réduisant la quantité de radicaux oxygénés dans les poumons et empêchant le stress oxydatif en contexte infectieux chez la souris. Dans ce projet, nous avons étendu nos recherches à toute la famille génique « prion ». Une expérience d'infection par un VIA sur souris invalidées (prnp-/-, prnd-/- et sprn-/-) a révélé une contribution de Doppel à la protection des animaux au même titre que la PrPC, tandis que Shadoo n'aurait aucun effet. D'un point de vue fonctionnel, la PrPC jouant un rôle clé dans le développement embryonnaire et placentaire, et Doppel étant quant à lui impliqué dans la morphogénèse et la maturation des vaisseaux sanguins, nous avons mis en place un modèle d'étude chez la femelle gestante afin de mieux mettre en évidence les fonctions anti-infectieuses de la PrPC et de Doppel. Une infection grippale durant la grossesse augmente le risque de pathologies du placenta telles que la prééclampsie et favorise des retards de croissance intra-utérin ainsi que des décès in utero, per- ou post-partum. De plus, une infection par un VIA durant la grossesse peut entraîner des troubles neurologiques importants du nouveau-né, notamment trouble du spectre autistique et schizophrénie. Néanmoins, aucune transmission verticale n'a été décrite. L'emploi de souris transgéniques NF- $\kappa$ B-luciférase nous a permis de mettre en évidence une transmission de l'inflammation maternelle viro-induite à l'embryon en traversant la barrière placentaire et visible au niveau du cerveau fœtal. Nous travaillons actuellement à quantifier l'impact de la PrPC et de Doppel dans ces processus inflammatoires. Nous avons également mis en place un protocole expérimental destiné à tester le comportement de la progéniture issue de mères infectées pendant la gestation. Collectivement, l'ensemble de nos travaux vont nous permettre de caractériser finement les fonctions protectrices des gènes de la famille prion dans le cadre d'une infection respiratoire.

## **O.09-TBEV-infected human neuronal/glia cells identify antiviral drugs.**

Orateur : Noémie Berry (VIRO)

Résumé :

Many endemic, emerging, re-emerging or potentially emerging RNA viruses (Flavi-, Alpha-, Henipa-, Rhabdo-, Corona-viruses...) target the human central nervous system (CNS), causing severe neurological disorders, sometimes fatal or leading to debilitating consequences. The Flavivirus genus includes many of these highly neuropathogenic viruses (West Nile virus, Tick-borne encephalitis virus-TBEV, Zika virus...). Despite their dangerousness, only few vaccines exist and

there is currently no available antiviral treatment. Whereas many efforts are made for the identification of antiviral molecules, including with broad-spectrum properties, most studies performed so far used models that are not physiologically relevant. This could explain the lack of antiviral activity or excessive toxicity often observed in clinical trials and their consecutive failure. Here, by comparing the antiviral activity of 8 selected molecules on 3 different models of TBEV infection of different relevance (A549, human neural progenitor cells and human neuronal/glia cells), we indeed demonstrated major differences in their capacity to inhibit viral infection: whereas most of the molecules had an antiviral activity in A549 cell line, only one of them was efficient in TBEV-infected human neuronal/glia cells (hNGCs). These results demonstrated the importance of developing physiologically relevant models for testing or screening drugs for their antiviral activity. We thus aimed at developing an image-based phenotypic screen using hNGCs differentiated from fetal human neural progenitor cells. TBEV infection of hNGCs was previously shown to reproduce major hallmarks of TBEV infection in the human brain, such as neuronal death and astrogliosis. Using this unique screen, we identified new antiviral compounds. Two of them may be therapeutically repositioned in the future as they are drugs currently used in human therapy. We next demonstrated that one of them also exerts a strong antiviral activity in a newly developed model of TBEV-infected cerebral organoids, confirming its potential interest for the treatment of human tick-borne encephalitis. We hope that, by using these physiologically relevant 2D and 3D in vitro models of TBEV infection, we will select antiviral compounds with a very high probability to be efficient and non-toxic in the human brain.

## **O.10- Apports de la génétique inverse et du modèle poisson zèbre pour une meilleure compréhension des infections virales.**

Orateur : Stéphane Biacchesi (VIMP-VMP) & Christelle Langevin (IERP)

Résumé de Stéphane Biacchesi :

Le virus de la virémie printanière de la carpe (vVPC) est un rhabdovirus à large spectre d'hôte (carpe, koï, brochet, esturgeon...), identifié par l'Organisation Mondiale de la Santé Animale comme un pathogène majeur à fort impact épizootique. Dans les élevages piscicoles, cette maladie infectieuse frappe surtout les alevins et se dissémine rapidement dans les élevages, les taux de mortalité pouvant atteindre 90%. En l'absence de traitements ou de vaccins efficaces, la recherche de solutions prophylactiques (vaccins ADN, virus recombinants) ou thérapeutiques demeure une priorité pour identifier des solutions compatibles avec les besoins de traitement de masse (baignade plutôt qu'injection). Les travaux de recherche menés sur ce pathogène décrivent le poisson zèbre (Zf) comme un organisme modèle relevant pour l'étude des interactions hôte-pathogène et le criblage de candidats thérapeutiques. Nous venons de lever un verrou technologique majeur en mettant au point le premier système de génétique inverse pour le vVPC. Cette technologie permet la modification dirigée du génome viral et l'utilisation du vVPC comme vecteur de gène ou plateforme vaccinale avec la mise au point de plusieurs types de cassettes d'expression de gènes additionnels. La production de virus recombinants exprimant des traceurs fluorescents ou bioluminescents permet ainsi de suivre en temps réel la progression de l'infection par imagerie in vivo chez la carpe (bioluminescence) et le Zf (imagerie confocale). Une étude cinétique menée dès les premiers stades de l'infection nous a permis de déterminer les portes d'entrée et le tropisme du virus chez son hôte. En parallèle, la mise au point d'un modèle d'infection par baignade en Zf a permis d'établir la preuve de concept de la pertinence du modèle pour le criblage de molécules anti-infectieuses validées in vitro. La petite taille des larves de poisson zèbre et leur facilité de production (env. 100 larves/semaine/femelle) ont été exploitées

pour cribler des molécules candidates. Le processus infectieux est alors évalué par l'analyse des signaux de fluorescence dans les larves infectées au cours du temps, directement corrélés à la charge virale. Des outils d'analyse d'image automatisés ont été développés pour obtenir des résultats quantitatifs et statistiquement significatifs afin d'évaluer de façon fiable l'efficacité de candidats thérapeutiques ciblant l'entrée et/ou la réplication virale. Les premiers résultats ont démontré le haut potentiel et la pertinence de notre stratégie de criblage d'antiviraux in vitro et in vivo à partir de molécules sélectionnées pour leur potentiel immunostimulant, anti-inflammatoires ou comme inhibiteur des voies d'entrée du virus.

Résumé de Christelle Langevin :

L'imagerie in vivo et les modèles animaux sont essentiels à l'étude des maladies infectieuses, au développement de diagnostic et à l'identification de molécules thérapeutiques. L'imagerie biophotonique regroupe un ensemble de techniques sensibles et non invasives pour le suivi dynamique de pathogènes recombinants (bioluminescents ou fluorescents) dans des animaux vivants. Le suivi de la progression de la maladie est alors possible à de hautes résolutions spatiotemporelles et permet d'obtenir des données quantitatives et statistiquement significatives. L'unité IERP développe des modèles poissons zèbre pour l'étude de maladies infectieuses humaines et animales. L'utilisation de pathogènes recombinants est combinée à l'utilisation de larves de poissons zèbre transgéniques fluorescentes pour observer en temps réel les processus infectieux et les réponses de l'hôte. Par imagerie confocale, nous décrivons ainsi les voies d'entrée et de dissémination du pathogène d'intérêt en parallèle de la dynamique des cellules immunitaires et des réponses cytokiniques. De telles approches ne sont cependant pas envisageables à des résolutions cellulaires pour l'imagerie de tissus profonds à l'échelle de plus gros animaux (carpe, truite ou rongeurs). Les processus infectieux sont donc examinés par bioluminescence pour décrire là encore les voies d'entrée et de dissémination du pathogène et les réponses immunitaires associées. Ces techniques d'observation sont compatibles et renforcent les données de microbiologie, de biochimie ou d'histologie possiblement obtenues à partir de tissus isolés de ces animaux post observation. L'imagerie permet alors d'apporter un nouveau regard sur les maladies infectieuses par la visualisation de processus biologiques complexes en trois dimensions dans un animal entier et vivant. L'imagerie du même individu à différents temps post infection par ces techniques non invasives entraîne une réduction du nombre d'animaux en expérimentation et contribue au raffinement des approches expérimentales. Les développements technologiques actuels visent à fournir de nouvelles techniques d'imagerie en profondeur (microscopie à feuille de lumière) dédiées à l'observation de tissus épais à des résolutions cellulaires. Ainsi l'observation d'échantillons clarifiés, rendus optiquement transparents après fixation, a révolutionné différents domaines de la biologie dont les neurosciences par l'imagerie et la visualisation en 3D des réseaux axonaux d'une souris entière à des résolutions cellulaires. Ces travaux précurseurs ont donné lieu à de multiples développements pour des recherches en biologie du développement, en oncologie ou en infectiologie. Notre unité, par son expertise en transparençation et en imagerie tridimensionnelle a mené et contribué à plusieurs études dont les résultats seront présentés au cours de cette présentation.

## **Session 3 : Interactions vertébrés/invertébrés-agents pathogènes et environnement**

**Jeudi 19 Octobre – 8h30-9h30**

### **O.11-Les macrophages ductaux F4/80+ CD11c+ CMH II+ sont les cellules immunitaires prédominantes de la glande mammaire de souris en lactation.**

Orateur : Blandine Gausserès (IHAP)

Résumé :

Chez les mammifères, la glande mammaire subit d'intenses remaniements pendant la lactation. Par ailleurs, ce stade physiologique est associé à une forte prédisposition aux infections bactériennes qui provoquent un état inflammatoire appelé mammites. Bien que l'immunité de cette glande ait fait l'objet de nombreuses recherches pour améliorer la prévention et le traitement des mammites, la définition précise de sa composition immunitaire à ce stade reste incomplète. Aussi, nous avons combiné plusieurs approches techniques afin de caractériser finement les cellules immunitaires de ce tissu chez la souris en lactation. Après développement d'un protocole de dissociation du tissu mammaire, les leucocytes résidents ont été triés et le transcriptome des cellules isolées a été déterminé par Single-Cell RNA sequencing. Les résultats obtenus ont été complétés par l'analyse phénotypique des différentes sous-populations cellulaires de la glande mammaire par cytométrie en flux. Enfin, l'analyse tridimensionnelle de la distribution des cellules a été réalisée par microscopie confocale suite à la mise en place d'une méthode de transparaissance rapide, non toxique et respectueuse de l'intégrité du tissu, suivie d'un immunomarquage. Les résultats obtenus nous ont permis de révéler que les macrophages représentent la population immunitaire majoritaire de la glande mammaire. Ils peuvent être subdivisés en deux sous-ensembles : les macrophages dits canaux, car situés à proximité directe des canaux galactophores, et les macrophages stromaux. Les macrophages canaux représentent environ 80% du total des cellules immunitaires, et co-expriment les molécules F4/80 et CD11c. De plus, ils expriment des niveaux élevés de molécules du CMH de classe II qui ont une fonction de présentation antigénique. Ils sont stratégiquement positionnés entre les cellules basales alvéolaires et le réseau de cellules myoépithéliales, et pourraient de ce fait jouer un rôle important dans l'immunosurveillance de l'épithélium mammaire. Parmi ces macrophages, quatre sous-populations ont pu être identifiées, avec des niveaux de différenciation distincts et des fonctions spécifiques. Les lymphocytes T et B sont a contrario très peu nombreux au sein du tissu mammaire à ce stade, ce qui pourrait expliquer l'efficacité insuffisante de la vaccination visant à protéger la glande contre les infections mammaires. Ces résultats soutiennent l'idée qu'il est important de développer des stratégies thérapeutiques alternatives stimulant l'immunité mammaire pour prévenir efficacement les mammites.

## **O.12-Detection of anti-microbiota vaccine targets of Rhipicephalus bursa and Hyalomma marginatum ticks collected from cattle in Corsica.**

Orateur : Apolline Maitre (BIPAR)

Résumé :

The Corsican cattle is mainly raised in extensive farming systems. The frequent interactions between livestock, wildlife and human populations therefore favour the circulation of ticks and tick-borne micro-organisms. The island presents a high prevalence of tick-borne bacteria of the family Rickettsiaceae ticks in Corsica. The island holds a great variability of ticks (i.e., Rhipicephalus, Hyalomma, Ixodes, Dermacentor, Haemaphysalis). Rhipicephalus bursa and Hyalomma marginatum are the one that are the most present and dangerous for cattle and human population. Currently, there are no preventive measures for the control of ticks and tick-borne diseases. The tick microbiome is a very complex set of interacting microorganisms that have an impact on tick physiology and vector competence. In this research project, we used next-generation sequencing of 16S amplicons to study the taxonomic and functional diversity of the microbiome of R. bursa and H. marginatum collected on cattle in Corsica. We also used microfluidic PCR to assess the bacterial occurrence in our two tick species. We used alpha and beta-diversity indexes to compare the microbial diversity in each ticks species and between the two ticks. We used co-occurrence networks to visualize the most important microbial communities in each network and to identify key bacteria. We also compared metrics of those networks (i.e., betweenness centrality, eigenvector centrality, strongness) and we used the Network Construction and comparison for Microbiome (NetCoMi) method to compare the connectivity of R. bursa and H. marginatum networks and did a microbial metabolic pathway reconstruction. Our results show that the ticks present a different rate of infection to Rickettsia spp. (71% infected in R. bursa, 100% infected in H. marginatum). H. marginatum presented a significant decrease of richness and evenness, and the two ticks have a significantly different bacterial taxa abundance, even if they share a strong “core network”. Rickettsial taxon is well established in H. marginatum network by being positively correlated with the keystone taxon. For R. bursa, Staphylococcus was detected as one of the keystone taxa and has been proven to be an important taxa in precedent studies of ticks microbiota. R. bursa present a decrease of several microbial metabolic pathways comparing to H. marginatum. The characterization of the tick microbiome in ticks collected on cattle in Corsica can reveal novel targets to prevent tick-borne pathogen infection, as the tick microbiome has a critical role on vector competence. This study highlighted a potential target for an anti-microbiota vaccine.

## **O.13-Impact of the microbiota on the recruitment and the transcriptomic profile of mononuclear phagocytes in response to E.tenella infection.**

Orateur : Florian Tomal (ISP)

Résumé :

Protozoan parasites of Eimeria genus cause coccidiosis, an intestinal disease in livestock. Economic losses associated to Eimeria infections in chickens were recently reassessed to 13 billion dollars

per year worldwide. The severity of the disease extends from low morbidity to mortality. *E. tenella*, one of the most virulent species, localizes in caeca and leads to an inflammatory response. Macrophages are mononuclear phagocytic immune cells that play a key role in inflammatory diseases. Our objective is to study the importance of these cells in the pathophysiology of the infection in presence and absence of microbiota. First, we estimated their recruitment in caeca by using a flow cytometry approach after 3.5, 5.5 and 7 days of infection (dpi) using a mononuclear phagocyte pan marker KUL01 (MRC1L-B) antibody that mostly recognizes monocytes/macrophages. KUL01 positive cells were significantly raised at 5.5 and 7 dpi in conventional chickens but not in germ-free chickens. Secondly, KUL01 positive cells were sorted using Beckman Coulter MoFlo Astrios EQ and their transcriptional profile was studied using Fluidigm BioMark™ Multiplex Quantitative PCR System. Three clusters of gene expression were observed. The cluster 1 is constituted of genes in which the expression is increased at day 3.5, 5.5 and 7 dpi in conventional chickens but not in germ-free chickens. Addition of microbiota at 4 dpi in the germ-free chickens leads to an increase of the expression of these genes to a similar level as in conventional chickens infected for 7 days. This suggests that the expression of genes from cluster 1 is dependent on the microbiota. Genes from cluster 1 are involved in inflammation processes such as the inducible Nitric Oxide Synthase 2 (NOS2), the interleukins (IL-6, IL-1 $\beta$ ) and the cyclooxygenase-2 (COX-2). Gene expression from cluster 2 raises at 7 dpi, independently of the microbiota. Cluster 2 includes genes such as the C-C Motif Chemokine Ligand 5 (CCL5), the cytokine interferon- $\beta$  (IFN- $\beta$ ) and the interleukin-12p40 (IL-12p40). Finally, gene expression from cluster 3 is gradually decreased during the infection, independently of the microbiota. Cluster 3 includes genes coding for the inflammatory mediator such as Tumor Necrosis Factor- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ) and two receptors involved in apoptotic cell recognition and clearance, T-cell Immunoglobulin and Mucin Domain containing 4 (TIMD-4) and Myeloid-Epithelial-Reproductive Tyrosine Kinase (MERTK). Together, these data provide novel insights into the influence of the microbiota on mononuclear phagocyte recruitment and responses to *E. tenella* infection.

## **O.14-Immunomodulation de la sensibilité néonatale au Virus Respiratoire Syncytial par des bactéries primo-colonisatrices du poumon.**

Orateur : Claire Chottin (VIM)

Résumé :

Introduction Le Virus Respiratoire Syncytial (VRS) est responsable de maladies respiratoires graves chez les jeunes enfants et chez les veaux. A ce jour, peu de moyens de prévention et de lutte sont disponibles. L'environnement pulmonaire du jeune est directement en lien avec cette grande sensibilité à l'infection par le VRS. En effet, la période néonatale se caractérise par de multiples interactions entre la muqueuse pulmonaire et son environnement permettant la colonisation du poumon par un microbiote associée à la mise en place de l'immunité. Notre hypothèse est que les bactéries commensales primo-colonisatrices, qui sont les premiers micro-organismes à « conquérir » le tractus respiratoire, participeraient à la maturation de l'immunité de la muqueuse pulmonaire et donc à la sensibilité du nouveau-né à des pathologies pulmonaires. La manipulation de ces souches permettrait d'orienter la réponse immunitaire vers une immunité protectrice contre l'infection VRS. Notre projet vise à faire la preuve de concept qu'il est possible par l'utilisation de souches primo-colonisatrices de la flore commensale du poumon de limiter la sévérité de l'infection par le VRS en période néonatale. Méthode -Criblage des souches isolées de poumons

de souriceaux pour leur capacité immunostimulante et d'interférence avec la réplication du VRS à partir de cultures d'explants de poumons de souriceaux. -Validation de l'effet anti-VRS sur des cultures primaires humaines en interface Air-Liquide (ALI, MucilAir, Epithelix). Résultats Vingt-cinq souches primo-colonisatrices ont été caractérisées sur des explants de poumons de souriceaux par la nature des cytokines sécrétées et par leur effet sur la réplication du VRS. Nous avons identifié plusieurs bactéries non cytotoxiques pour le tissu pulmonaire avec la capacité de faire sécréter, par les explants, des cytokines d'immunité de type 1 (Interleukine-12, IFN $\gamma$  et/ou à interférer avec la réplication virale. La bactérie 17 a été sélectionnée pour avoir généré une signature cytokinique originale (immunité de type 1 et interleukine-9) et pour son effet inhibiteur de la réplication virale. L'effet inhibiteur de cette souche sur la réplication du VRS-Cherry a ensuite été confirmé sur des cultures primaires de cellules épithéliales humaines en ALI pré-exposées à la bactérie 17. Conclusions La bactérie 17 exerce une action anti-VRS ex vivo sur des explants pulmonaires et des cellules épithéliales humaines. Cette bactérie candidate sera administrée de façon préventive dans un modèle d'infection par le VRS chez le souriceau. Nous établirons si cette souche primo-colonisatrice du poumon réduit la sévérité de l'infection VRS in vivo et constitue une approche originale dans la prévention de cette infection.

## **Jeudi 19 Octobre – 10h45-11h45**

### **O.15-Cartographie à haut débit des Interactions virus-hôte : identification de nouveaux facteurs de pathogénicité et de virulence pour le virus de la Peste Porcine Africaine.**

Orateur : Juliette Dupré (VIRO)

Résumé :

La peste porcine africaine (PPA) est une maladie hautement pathogène causant une fièvre hémorragique chez les suidés domestiques et sauvages. Elle est responsable de nombreuses épizooties notamment en Europe, et en Asie, causant de grandes pertes économiques pour la filière porcine. Le virus de la Peste Porcine Africaine (ASFV) est l'agent étiologique responsable de cette maladie. C'est un virus à ADN double brin de grande taille, composé de plus de 150 protéines. Différents travaux ont montré qu'il existe une étroite relation entre la capacité de certaines protéines virales à inhiber la réponse interféron de type I (IFN-I) et les processus d'atténuation et de virulence de ASFV, cependant, peu de mécanismes explicatifs ont été décrits, notamment sur le plan moléculaire. Dans un premier temps, nous avons effectué un crible sans a priori pour rechercher les partenaires cellulaires d'une centaine de protéines virales codées par ASFV. Nous avons ainsi réalisé des cribles double-hybride en levure en utilisant ces protéines virales, issues d'une souche européenne très virulente d'ASFV (Georgia 2007/1), comme appâts et identifié une cinquantaine de nouvelles interactions virus-hôte. L'analyse globale de ces interactions montre clairement un enrichissement pour des facteurs impliqués dans le cytosquelette (KIF15, FNLB, KRT15, CENPF) et la réponse immunitaire innée (BANF1, COPA, TNIP2, TRIM7, CALCOCO2). Parallèlement à ce travail de protéomique, nous nous sommes intéressés à la capacité des protéines d'ASFV à inhiber individuellement la voie IFN-I. Pour cela, nous avons criblé 106 protéines d'ASFV en utilisant un système gène rapporteur IFN-b-luciférase. A l'issue de ce crible, huit protéines virales (I267L, MGF360-11L, DP96R, MGF505-3R, DP71L, MGF505-4R et R298L) ont pu être identifiées comme ayant un effet antagoniste sur la voie d'induction de l'IFN-I. Afin de comprendre leur nouvelle fonction antivirale, une approche originale de Split-nanoluciférase a été

utilisée pour cribler une banque constituée de 16 acteurs majeurs de la réponse IFN-I de porc contre nos protéines virales d'intérêt. Grâce à cette approche, nous avons ainsi pu mettre en évidence IRF3, NEMO et IRF7 comme étant des nouvelles cibles d'ASFV. La cartographie des interactions virus-hôte a permis de dévoiler des nouveaux mécanismes par lesquels ASFV détourne la machinerie cellulaire au profit de sa réplication et échappe à la vigilance du système immunitaire. Par la comparaison prochaine de ces interactions avec une souche atténuée de ASFV, nous espérons identifier des cibles spécifiques qui pourraient expliquer sur le plan moléculaire le processus d'atténuation.

## **O.16-La séquence Kozak de la p78 du Virus de la Fièvre de la Vallée du Rift promeut la dissémination virale chez le moustique.**

Orateur : Barbara Viginier (IVPC)

Résumé :

Le virus de la fièvre de la vallée du Rift (RVFV) est un arbovirus zoonotique transmis par plusieurs espèces de moustique des genres *Aedes* et *Culex*. Ce virus est endémique de l'Afrique sub-Saharienne et à l'origine de multiples épidémies et épizooties provoquant de nombreuses pertes de bétails ainsi que des décès humains. Chez le moustique, la protéine virale appelée p78 est indispensable à la dissémination du RVFV de l'intestin aux glandes salivaires (Kreher et al., 2014). De manière intéressante, la séquence Kozak du codon d'initiation de traduction de la p78 du RVFV possède des adénines supplémentaires (CATTAAATG) par rapport à celle d'autres virus du genre Phlébovirus tels que le virus Toscana (TOSV); un virus pathogène pour l'Homme et vectorisé par des phlébotomes. Afin de déterminer l'impact de ces deux types de séquences Kozak sur la vectorisation de ces virus, et en particulier du RVFV, nous avons créé par génétique inverse un virus RVFV mutant contenant la séquence Kozak du TOSV en amont de la p78. Des femelles *Aedes aegypti* ont ensuite été infectées avec un virus RVFV sauvage «kozakRVFV» ou le virus mutant «KozakTOSV». Nous avons observé que la séquence kozak du RVFV favorise la dissémination virale chez *Aedes aegypti* avec, 14 jours post-infection, des taux de dissémination de 28,6% pour «kozakRVFV» contre 0% pour «kozakTOSV». Nous avons ensuite réalisé des cinétiques de réplication de ces virus en cellules de moustique (U4.4) ou de phlébotome (LL5). Nos données montrent que la séquence Kozak de la p78 du RVFV favorise la réplication virale en cellules de moustique par rapport à celle du TOSV mais aussi que cette dernière est parfaitement adaptée aux cellules de phlébotome. Afin de tester l'effet de ces deux séquences Kozak sur la traduction per se, un système rapporteur de type luciférase a été utilisé en cellules U4.4 et LL5. Nos résultats montrent une activité luciférase plus forte en cellules de moustique avec la séquence Kozak du RVFV par rapport à celle du TOSV et une tendance inverse en cellules de phlébotome; une différence qui corrèle avec les vecteurs naturels de ces deux virus (moustique vs phlébotome). Globalement, ce travail révèle l'importance de la séquence Kozak de la p78 pour une dissémination efficace du RVFV chez le moustique et met en lumière des différences d'efficacité de traduction selon la séquence Kozak et l'espèce arthropode considérée.

## **O.17-Utilisation de techniques d'intelligence artificielle dans le cadre de l'étude des tiques et de la maladie de Lyme.**

Orateur : Jocelyn De Goër (EPIA)

Résumé :

Les tiques sont des vecteurs majeurs d'agents pathogènes pour les populations animales et humaines. Dans un contexte de changements environnementaux, elles sont source de risques sanitaires et une cause importante d'inquiétude de la population. Aussi, la surveillance et la prévention constituent des enjeux de santé publique qui nécessitent la mise en place de travaux de recherche. Ces projets de recherches portent notamment sur des dispositifs d'observations (récolte de tiques dans l'environnement, observation et déclaration de piqûre par les citoyens) et d'analyse des données collectées, via des outils de modélisations statistiques, de génomique ou d'Intelligence Artificielle (IA). Dans ce contexte, nous présentons deux projets de recherche illustrant l'utilisation de techniques d'IA et plus particulièrement de Deep Learning que nous avons appliqué à la problématique des tiques et de la maladie de Lyme : - Le projet DAPPEM (Développement d'une APPLication d'identification des Érythèmes Migrants) a pour objectif de développer une application pour smartphone, permettant de détecter les signes précoces de la maladie de Lyme, appelés érythèmes migrants, à partir d'une photo et d'un questionnaire. La détection est réalisée à l'aide d'un réseau de neurones artificiels qui analyse conjointement les photos prises par les utilisateurs et les réponses aux questionnaires et renvoie un score de risque. Dans le cas d'une suspicion d'érythème migrant, un message oriente l'utilisateur vers un parcours de soin adéquat. Cette application est actuellement en cours d'homologation en tant que dispositif médical. Elle s'adressera aux professionnels de santé et au grand public. Les données récoltées de façon anonymes permettront d'améliorer le modèle de détection et d'alimenter des modèles statistiques de calcul d'incidence de la maladie de Lyme. - Le projet DCLIC (Deep Convolutional Learning Ixodidae Characterization) a pour objectif de développer un outil capable de localiser en temps réel les tiques à partir d'une photo ou d'une vidéo, puis de les classer parmi les quatre genres taxonomiques majoritairement présents en France métropolitaine (Ixodes, Hyalomma, Rhipicephalus, Dermacentor). Les travaux menés durant ce projet ont pu démontrer la faisabilité concernant l'identification automatisée des genres de tiques. La version actuelle est capable d'une tique à partir d'une image avec un taux de précision de 0.96 et de spécificité de 0.96. Les développements méthodologiques produits au sein du projet DCLIC ont pour vocation d'être mis au service de la communauté scientifique et pourraient, en fonction des besoins être intégrés à des applications à destination des équipes de recherches collectant des tiques ou au sein d'applications mobiles à visée participative.

## **O.18-Risk of diffusion of Japanese encephalitis virus following its introduction in Reunion Island.**

Orateur : Helena Ladreyt (ASTRE)

Résumé :

Japanese encephalitis virus (JEV) is a vector-borne zoonotic virus and the leading cause of human acute encephalitis in Asia. Some vector-borne diseases have already been introduced to Reunion island located in the Indian Ocean, and have posed or are posing serious public health problems such as Dengue or Chikungunya. The numerous commercial and human exchanges between Southeast Asia and Reunion raise concerns about the introduction of JEV on the island where known vectors of JEV (*Culex quinquefasciatus* and *Culex triaeniorhynchus*) and amplifying hosts such as pigs are present. We used a deterministic compartmental model, developed and validated in Cambodia (where JE is endemic) and adapted to Reunion context in order to investigate whether multi-host systems, composed of pigs, poultry, and non-competent hosts as human, dogs and cattle, would allow a local circulation of the virus (based on  $R_0$  calculations) in the event of an introduction. Field and literature data were collected to adapt some of the model parameters to the specific context of Reunion, including vector (estimated from mosquito trapping data) and host population sizes in areas of 1km radius (average flight distance of a *Culex* spp.) around pig farms. As the comparison between trapping data from Cambodia and La Reunion showed discordant effects of the type of trap, we studied 4 scenarios according to the trap type and to the trapping season. For each scenario, the  $R_0$  value was then used to identify the areas most at risk of JEV circulation in the event of its introduction. The calculated  $R_0$ s were low in all scenarios, but was  $> 1$  in 12 areas in 2 scenarios. Certain multi-host system compositions may thus allow JEV to invade the area. Furthermore, regardless of the scenario, the ranks of the areas according to  $R_0$  value did not change: ranks thus allowed identifying the most at-risk areas, one of which was located a few kilometers from the large port area of Reunion, and another close to the airport of Saint Pierre, which could be gateways for JEV-infected vectors.

# Communications flash

**Mardi 18 Octobre – 18h-19h**

## **P.01-Genetic differentiation between populations of the tick *Ixodes ricinus*, assessed by partial exome capture**

Orateur : Claude Rispé (BIOEPAR)

Résumé :

The tick *Ixodes ricinus* represents a significant threat to human health, as it is the potential vector of several pathogens, including Lyme disease agent, and is widespread throughout Europe. In order to better assess the health risks, considerable research on the biology and ecology of this tick species has been conducted. However, one aspect of this biological model is still poorly understood, concerning the level of genetic diversity, and the main determinants of this diversity (host-association, geography, etc.). Our group has recently obtained a complete genome sequence for *Ixodes ricinus*, in collaboration with the Genoscope (Evry, France). While the full annotation of this genome is in progress, we took advantage of this sequence project and of the manual annotation of a sample of carefully chosen genes (n=100 well-defined and complete genes, equal coverage among chromosomes) to design a partial exome sequencing experiment. We compared six tick pools (n=30 nymphs in each pool) collected as representative samples of *I. ricinus* populations, chosen from different sites in Europe, while an additional sample was collected in Tunisia. According to literature sources, the latter would represent either a distinct species (*Ixodes inopinatus*) or a North-African population of *I. ricinus*. Our analysis of these sequences i) identified a significant level of polymorphism ii) showed that the Tunisian population is highly divergent from all other populations (PCA analysis), while showing practically no fixed polymorphisms. Fixed polymorphisms are expected in the absence of gene flow. In conclusion, our relatively small-scale experiment has already identified several thousand SNPs, well distributed in the genome, and represents a proof of concept study that will be extended to study genome-wide variation in this species.

## **P.02-Tickarium, a core facility for tick rearing at the UMR-BIPAR**

Orateur : Sabine Rakotobe (BIPAR)

Résumé :

Ticks are obligatory hematophagous ectoparasites recognized as the vectors of a plethora of pathogens severely affecting human and animal health. Larval, nymphal and adult life stages must obtain blood meals in order to successfully progress in their life cycle. The MiTick team within the UMR-BIPAR unit performs high-quality research on territorial tick species with a strong focus on the tick *Ixodes ricinus*, the primary vector of *Borrelia* responsible of Lyme disease and tick-borne encephalitis virus in Europe. Our unit, alongside other collaborative institutions in France, require large quantities of healthy pathogen-free ticks for use in studies on tick biology, physiology and microbiota, as well as on vector competence, ticks/tick-borne pathogens interaction, epidemiology and development of novel control measures. Therefore, establishing an effective *Ixodes* rearing system is crucial to support the requirements at both MiTick team and national

levels. The tickarium, located in the Anses animal facility in Maisons-Alfort subjected to quality assurance controls, currently represents a national core facility for *I. ricinus* colonies and produces several thousands of different *Ixodes* life stages annually, with the perspective to expand to different tick species in the near future. The purchase of key equipment was recently supported by the DIM-1Health Île-de-France project and Anses. Five high-performance chambers were optimized for the humidity, temperature and light cycle condition directly relevant to *Ixodes* rearing. Additional necessary equipment for imaging, molecular biology and tick injections is also associated with the facility. The tickarium utilizes a robust tick feeding system on laboratory animals such as mice and rabbits and is equipped with two distinct artificial feeding systems. To avoid inbred tick lines, individuals collected in the southern Paris metropolitan area or introduced from other countries are regularly incorporated into the colonies. To exclude contamination with undesirable pathogens in the colony, a microfluidic real time PCR is used to screen multiple tick-borne pathogens including bacteria, protozoan parasites and viruses. Currently, the tickarium performance is handled by one experienced INRAE engineer, one senior technician, and one Anses superior technician. The establishment of the tickarium within UMR-BIPAR strongly supports tick research in France, placing it as one of the top world leading countries in the field of tick and tick-borne pathogens research.

## **P.03-Insight into complex serotonergic system in the ticks *Ixodes Ricinus***

Orateur : Lourdes Mateos-Hernandez (BIPAR)

Résumé :

The biogenic amine, serotonin (5-Hydroxytryptamine, 5-HT), and its receptors are critical for regulating physiological and behavioural processes in vertebrates and invertebrates. Herein, we provide a deep insight into the complex serotonergic system in ticks that can serve as a baseline for developing effective control measures against ticks and tick-borne pathogens. Firstly, we localised the serotonin neurons in the anterior part of the *Ixodes* synganglion protocerebrum. We molecularly identified two serotonin G-protein-coupled receptors (5-HT1A and 5-HT1B) expressed in various *Ixodes ricinus* tissues. To functionally characterise downstream signalling pathways, both receptors were expressed in mammalian heterologous systems. Several agonistic and antagonistic ligands were also used to further characterise receptor affinity. By generating antibodies for immunomapping, we localised 5-HT1A and 5-HT1B in *I. ricinus* synganglion, salivary gland, and midgut. In tick synganglion, the 5-HT1A was localised in small lateral neurons and their projections reaching olfactorial lobes, while 5-HT1B was localised in prominent anterior protocerebral neuronal bodies. In salivary glands, both receptors were localised in distinct granular cells of acini type II and III. Interestingly, the anti-serotonin antibody showed reaction in some of these cells indicating a possible autocrine signalling of this chemical messenger in *Ixodes* salivary glands. For *I. ricinus* midgut, the 5-HT1A receptor was expressed in the digestive cell membranes, with 5-HT1B expressed in outer muscle cells. During a blood-meal, qRT-PCR showed a dramatic increase of both receptor transcripts in *I. ricinus* midgut. Moreover, silencing of 5-HT1A receptor resulted in increased tick nymph weight after the feeding. Based on our results, serotonin may play multiple functions in tick physiology associated with feeding and/or digestion.

## **P.04-Développement de modèles d'entérocrites en poisson zèbre pour l'étude de la santé intestinale chez les poissons et applications en diagnostic**

Orateur : Manon Mehraz (IERP)

Résumé :

Les changements climatiques ont des répercussions en santé animale notamment par la perturbation des systèmes alimentaires, le stress lié à la chaleur ou l'émergence de maladies infectieuses. Pour répondre à la croissance démographique mondiale et lutter contre la raréfaction des ressources naturelles, l'aquaculture est le secteur de la production alimentaire qui connaît la croissance mondiale la plus rapide. Cet essor nécessite l'adaptation des pratiques d'élevage pour garantir la santé et le bien-être des poissons, la santé humaine et préserver l'environnement. Le maintien de la santé intestinale chez les poissons d'élevage constitue un enjeu important pour garantir une bonne utilisation de l'aliment ainsi qu'une meilleure résistance des animaux aux agents pathogènes. L'étude de cette santé, à l'interface entre infectiologie, microbiologie et immunologie, requiert l'établissement de modèles expérimentaux physiologiquement pertinents pour reconstituer les relations hôtes - pathogènes - environnement, spécifiques des espèces et tissus considérés. Pour les poissons, les recherches en santé intestinale ont été entravées par le manque de modèles *in vitro* appropriés. A ce jour, il n'existe que très peu de lignées cellulaires intestinales de poisson amenant à l'utilisation du poisson zèbre (Zf) pour l'étude des fonctions intestinales et des relations hôte-microbes *in vivo* régulées par des mécanismes communs à d'autres espèces de poissons telles que les cyprinidés ou les salmonidés. L'unité IERP développe plusieurs modèles d'entérocrites induites par un stress alimentaire, un traitement pharmacologique ou un pathogène. La santé intestinale est évaluée selon différents critères : I/ performances zootechniques et survie, II/ lésions tissulaires (altération des plis muqueux typiques, de l'intégrité de la muqueuse sous-épithéliale, hémorragies, ulcères) et III/ inflammation (expression des gènes IL1 $\beta$  et TNF $\alpha$  et infiltration leucocytaire). Dans ce contexte, nous avons mis au point de nouvelles approches d'histologie basées sur l'immunohistochimie *in toto* de larges parties d'intestins imagées en 3D pour visualiser les atteintes tissulaires et les réactions inflammatoires. Les techniques d'abord obtenues sur poisson zèbre ont ensuite été transférées à la carpe avec succès. Des travaux sont en cours pour mettre au point les méthodes d'analyse d'images nécessaire à l'identification multi-critères et à la quantification de phénotypes pathologiques en comparaison de phénotypes sauvages.

## **P.05-Comparaison des signatures cytokiniques innées des compartiments pulmonaire et sanguin chez le veau**

Orateur : Cécile Ferret (VIM)

Résumé :

Les jeunes bovins sont particulièrement sensibles aux maladies infectieuses respiratoires. Un des objectifs du projet HealthyCalf est l'étude de la signature immunitaire innée de différents types cellulaires chez des veaux après stimulations par des ligands des récepteurs de l'immunité innée. Le but est de mettre en évidence l'existence d'une signature cytokinique commune entre les cellules du sang et de la muqueuse pulmonaire, qui puisse être associée à une plus grande fragilité ou résistance aux pathologies infectieuses néonatales. Le sang de 25 veaux a été prélevé dans des

monovettes chargées avec des ligands synthétiques de récepteurs de l'immunité innée (R848, LPS et MDP) pour analyse de la sécrétion des cytokines dans le plasma après 24h d'incubation à 37°C. Afin de comparer la réponse sanguine à celle des cellules de la muqueuse pulmonaire, des explants de poumons ont été préparés sur ces mêmes veaux et stimulés directement post-mortem. Des lavages broncho-alvéolaires ont également été réalisés pour isoler les macrophages alvéolaires, congelés pour étudier leur réponse extemporanément. Les stimulations ont été réalisées avec les mêmes ligands que ceux utilisés dans les monovettes. Les explants et le sang ont également été exposés à du Bacille de Calmette Guérin (BCG) inactivé. Les échantillons ont par la suite été analysés par la technologie Luminex afin de doser les cytokines produites. Cette technologie nous a permis d'analyser la production de 15 cytokines/chimiokines dans chaque échantillon. Nous avons comparé le niveau moyen d'expression des cytokines dans les différentes conditions et en particulier leur ratio (Fold Change) par rapport à la condition témoin. On observe une variation des réponses aux trois ligands par rapport à la condition témoin dans tous les compartiments tissulaires. Les conditions LPS/R848 stimulent la synthèse des cytokines IL-1a, IL-10, CCL3, IL-1b, TNFa, IL-6 et IFNg par rapport au témoin principalement pour les explants et le sang. La stimulation par le ligand MDP entraîne des productions cytokiniques plus faibles et proches du niveau du contrôle. Les macrophages alvéolaires répondent en moyenne plus faiblement à l'ensemble des conditions de stimulation que les autres cellules (sang et explants). En conclusion, nous avons pu définir une signature cytokinique de la réponse innée des cellules du sang, des explants pulmonaires et des macrophages alvéolaires de 25 veaux. Nos données permettent d'établir que le compartiment sanguin et le compartiment pulmonaire présentent des réponses cytokiniques comparables pour différentes stimulations. La réponse cytokinique innée sanguine reflète donc en grande partie les réponses du compartiment pulmonaire, site d'entrée de pathogènes respiratoires du veau.

## **P.06-Modelling pathogen-specific infection dynamics of bovine respiratory disease in a multi-batch fattening farm**

Orateur : Baptiste Sorin (BIOEPAR)

Résumé :

The bovine respiratory disease (BRD) complex is a major welfare and economic issue in cattle industries. It involves several bacteria and viruses, most commonly *Mycoplasma bovis*, *Manheimia haemolytica*, and the bovine respiratory syncytial virus (BRSV). Its multi-pathogen nature renders difficult the anticipation of case occurrence and the need for treatments because pathogens have different transmission dynamics while not always being discernible on farm. Moreover, farms are structured into multiple batches of heterogeneously susceptible animals, which also influences pathogen spread. Our objective was to better understand BRD occurrence and antimicrobial usage (AMU) in a multi-batch fattening farm using a generic epidemiological model adapted to three main pathogens and accounting for the heterogeneity in individual disease risk level. **Material and methods** We developed a generic multi-batch stochastic individual-based model, which parameters and transitions were adapted to *M. bovis*, *M. haemolytica* and BRSV to describe their spread among animals during the first 8 fattening weeks. Five processes were modelled: health statuses (carrier, susceptible, infectious, partially immune), hyperthermia (yes/no), clinical signs (mild or severe), detection (yes/no), and AMU (up to three times). We modelled 200 animals which 30%, 40%, and 30% are respectively of low, medium, and high disease risk level at the start of fattening. Carriers may become infectious and then spread the pathogen among susceptible animals. Animals with a higher disease risk level are more likely to become infectious and to spread

the pathogen. After infection, animals become susceptible again, with (for BRSV) or without (other cases) partial immunity. Infection prompts clinical signs, which trigger AMU once affected animals are detected. Success of AMU depends on the pathogen (nil for BRSV). We compared four scenarios based on the number of clinically affected animals and AMU: 20 identical batches of 10 animals (Sc1); one single batch of 200 animals (Sc2); 20 batches of 10 animals sorted by infection risk level (Sc3); and same as Sc3 with 50% of low risk animals instead of 30% (Sc4). We ran 50 stochastic replicates per scenario and pathogen during 40 days. The inter-batch contact rate was 10 times lower than the intra-batch contact rate. Results BRSV had the longest epidemic peak, while *M. bovis* had the highest. For every pathogen, a larger batch lead to a higher peak, especially for BRSV. Sorting or not animals on their risk level lead to similar epidemics. However, sorted batches lead to a wider AMU both for *M. haemolytica* and *M. bovis*. *M. haemolytica* had the highest coefficient of variation at peak (0.21) while *M. bovis* had the lowest (0.11). Increasing the proportion of low risk animals decreased pathogen spread and AMU. We showed that raising multiple small batches was a good way to limit the spread of any type of pathogen. Sorting animals based on their disease risk levels did not improve AMU, as long as the proportion of low risk animals is only moderate. In Europe, animal history does not drive batch composition upon arriving on farm although a thoughtful organization could limit BRD and AMU.

## **P.07-Modéliser la propagation et la maîtrise de maladies dans les élevages fortement structurés : application à la conduite en bandes**

Orateur : Vianney Sicard (BIOEPAR)

Résumé :

La réduction des risques sanitaires, à l'échelle de l'animal, de l'exploitation et du territoire, est essentielle pour la rentabilité des systèmes d'élevage. La modélisation épidémiologique joue un rôle essentiel pour comprendre, anticiper et maîtriser la propagation des agents pathogènes. Cette propagation dépend fortement des structures de contact à chaque échelle. Certains modes de conduite induisent des structures de contact particulièrement complexes et posent le problème de leur représentation explicite pour comprendre leur rôle dans la transmission et la persistance des maladies. La conduite en bandes des élevages porcins illustre bien cette structuration complexe qui porte à la fois sur l'espace (bâtiments, salles, etc.) et sur le temps (agenda de l'élevage). Par exemple, la propagation du virus du syndrome reproducteur et respiratoire porcin (SDRP) ou du virus de la grippe porcine (SwIAV) est étroitement liée au type de conduite. Pour relever ce défi, nous avons développé une approche générique, flexible et modulaire pour représenter explicitement, dans des modèles épidémiologiques la structure dans l'espace et dans le temps de systèmes complexes. Notre solution met en œuvre des méthodologies d'intelligence artificielle (système multi-agent multi-niveau), de façon à représenter explicitement les niveaux d'organisation et les interactions entre ces niveaux. La solution a été implémentée dans le framework de modélisation épidémiologique EMULSION, qui permet de décrire des modèles épidémiologiques sous la forme d'un texte structuré au moyen d'un langage dédié. Cela permet aux modélisateurs d'interagir avec d'autres scientifiques pour co-construire le modèle, valider la représentation de la conduite et les scénarios de maîtrise. Nous avons appliqué cette démarche à la modélisation du SwIAV dans des élevages naisseurs-engraisseurs nord-américain et français avec une conduite en bandes spatialement explicite. Nous avons également modélisé la propagation du virus du SDRP en élevage français à une échelle fine de conduite d'élevage (portée,

case, etc.) et des pratiques associées (réforme, renouvellement, redoublement de bandes, etc.). Ces modèles ont permis de confirmer le rôle déterminant joué par la conduite d'élevage et ont permis d'identifier les mécanismes clefs de transmission. Les méthodes de modélisation ainsi développées ouvrent de nouvelles perspectives pour faciliter la modélisation épidémiologique des systèmes complexes et ont fait la preuve de leur plus-value pour prendre en compte la réalité des pratiques. Ces travaux sont issus d'une thèse cofinancée par le département Santé Animale d'INRAE et la région Pays de la Loire en collaboration avec l'Anses.

## **P.08-How might climate change affect Ixodes ricinus populations in France?**

Orateur : Phrutsamon Wongnak (EPIA)

Résumé :

Context: Impacts of ongoing climate change on the distributions of invertebrate vectors and vector-borne diseases have been increasingly concerned as an alarming public health threat. The life cycles of *Ixodes ricinus* ticks (Acari: Ixodidae), the most important arthropod vector species in France, are sensitive to abiotic factors such as temperature and relative humidity and consequently affected by climate change. Objectives: To better understand direct impacts of climate change (abiotic factors) on the population dynamics (abundance and phenology of questing nymph activity), and spatial distributions of *I. ricinus* populations in France at different periods. Methods: The dynamics of *I. ricinus* population was described by a stage-structured, delayed differential equation (DDE) model. Most biological processes of ticks, such as the interstadial development rate, questing probability, and the mortality rate are driven by temperature and relative humidity. Besides, the host-finding process acts as a density-dependent regulation for the population. This study used climatic data from three areas in France representing climatic zones that exhibit three distinct nymph phenological patterns: 1) Saint-Genès-Champanelle (Mountain climate), 2) La Tour de Salvagny (Mixed climate), 3) Gardouch (South-west basin climate). Projected climatic data for the baseline (1991-2020), near future (2021-2050), and far future (2071-2100) with three climatic pathways (RCP 2.6, RCP 4.5, and RCP 8.6) from the DRIAS database were used in this analysis. The simulations of the baseline scenario were validated against the longitudinal observations of the CLIMATICK project. In addition, the abundance of *I. ricinus* populations at the border of the Mediterranean climate, which is considered unfavourable for *I. ricinus* (hot and dry) was also cross-sectionally investigated in spring 2019 and 2021. Finally, the expansion of the Mediterranean climate in France in future climatic scenarios were also illustrated. Results and discussion: The DDE model suggested that the questing activity would arrive at the maximum earlier with the climate change. As the relative humidity was projected to be lower in all sites, the global abundance of *I. ricinus* was projected to decline, but not uniformly. In addition, *I. ricinus* was observed within the Mediterranean climate with a low finding rate. The Mediterranean climate was expected to expand across France within the end of this century, especially in the worst climatic scenario (RCP 8.5). Conclusions: Climate change will affect the phenology, abundance, and distribution of *I. ricinus* that will impact the occurrence of tick-borne diseases in France.

## **P.09-Une analyse ciblée des sphingolipides a permis de mettre en évidence des différences entre des souris WT et SOCS-2 KI lors d'une inflammation péritonéale induite par le zymosan.**

Orateur : Alix Pierron (IHAP)

Résumé :

Les mammites sont majoritairement d'origine bactérienne et sont un problème majeur de l'industrie laitière dans un contexte de réduction de l'usage des antibiotiques. Une étude chez la brebis laitière a identifié une mutation du gène *Socs2* qui augmente très fortement la prédisposition aux mammites. Afin de mieux comprendre les mécanismes sous-jacents, la mutation ponctuelle de SOCS-2 a été introduite chez la souris par édition du génome (souche KI). Parmi les mécanismes régulateurs de l'inflammation d'origine infectieuse, les sphingolipides jouent un rôle clé. Une méthode de dosage UHPLC-MSMS a été développée afin de caractériser plus d'une centaine de ces composés. Le but de cette étude était d'évaluer la variation dans le temps de différentes classes et sous-classes de sphingolipides au cours d'une inflammation, pour comprendre à long terme leur rôle et leur implication dans la réponse immunitaire et l'inflammation. L'étude a été conduite dans le cadre d'un modèle d'inflammation non-infectieuse produite par injection intrapéritonéale de Zymosan à la dose de 100 mg/kg. Des souris témoins ont reçu du PBS par la même voie. Soixante-douze animaux au total ont été suivis (souche sauvage, WT, n=36 et souche KI, n=36). La composition cellulaire de la cavité péritonéale, les cytokines du lavage péritonéal, et les SL des cellules péritonéales et de la rate ont été mesurées à 2, 4, 8, et 16 h post injection. Une augmentation significative des teneurs sphinganine, sphingosine, dihydrocéramides, céramides, dihydrosphingomyélines, sphingomyélines, hexosylcéramides et lactosylcéramides a été observé dans le lavage péritonéal à 8h p.i. chez les souris WT. Chez les souris KI, l'augmentation de la quantité des sphingolipides était significative dès 4h p.i. et leur niveau restait élevé à 8h et 16h p.i. Une analyse discriminante par les moindres carrés partiels (PLS-DA) des sphingolipides a permis de séparer en deux groupes distincts les souris WT et KI. Les dosages par ELISA des cytokines pro-inflammatoires, IL1-b et IL-6, dans le lavage péritonéal montrent des variations en lien avec l'évolution de la péritonite, mais aucune différence significative entre les deux fonds génétiques. De même, les analyses par cytométrie de flux des neutrophiles et des sous-populations de macrophages de la cavité péritonéale ont confirmé l'inflammation péritonéale, mais sans différence entre les deux souches de souris. En conclusion, cette étude suggère que les répercussions d'une péritonite induite au zymosan sur les sphingolipides pourraient être plus importantes sur les souris KI que WT. Les conséquences fonctionnelles de ces altérations restent à évaluer.

## **P.10-Dissémination des éléments génétiques mobiles chez les mycoplasmes : identification d'un récepteur potentiel à la surface de la cellule cible**

Orateur : M'hamed Derriche (IHAP)

Résumé :

L'étude des mécanismes de dissémination des éléments génétiques mobiles est d'une importance capitale pour le contrôle du transfert horizontal de gènes chez les bactéries. Avec leur génome

minimal, les mycoplasmes sont des organismes simples et des modèles intéressants pour l'étude des phénomènes conjugatifs. Nos travaux ont permis de démontrer le rôle central des éléments conjugatifs et intégratifs (ICE) dans les échanges massifs d'ADN chromosomique chez les mycoplasmes de ruminants. Afin de mieux comprendre les facteurs qui permettent la transmission d'une ICE vers sa cellule cible, une étude de génomique fonctionnelle a été menée sur *Mycoplasma agalactiae*, un organisme modèle proche de l'espèce pathogène *Mycoplasma bovis*. Une stratégie, basée sur des techniques de mutagenèse transpositionnelle et de criblage de mutants à haut-débit, a permis d'identifier 12 régions chromosomiques capables d'influencer l'invasion de la cellule cible par cet élément mobile. De façon remarquable, tous les mutants caractérisés par la présence d'un transposon inséré au niveau du gène de la lipoprotéine P48 se sont révélés réfractaires au passage d'ICE depuis la cellule donneuse. Des tests de complémentation ont confirmé le rôle clé de cette lipoprotéine P48, exprimée à la surface de la cellule cible, dans le transfert d'ICE. Ces résultats suggèrent que le contact initial entre les cellules donneuses d'ICE et les cellules réceptrices d'ICE pourrait être médié par une interaction entre la lipoprotéine P48 et une autre lipoprotéine exprimée de manière constitutive à la surface des cellules donneuses d'ICE. Des données *in silico* suggèrent que la lipoprotéine P48 pourrait être impliquée dans le transport de nucléosides et soulèvent des questions sur la possibilité d'une régulation du transfert d'ICE par P48. Ces résultats suggèrent que non seulement la cellule donneuse mais aussi la cellule réceptrice pourrait moduler la dissémination de cet élément mobile et offrent des opportunités intéressantes pour le contrôle du transfert horizontal de gènes chez ces organismes.

## **P.11- Effect of sainfoin (*Onobrychis viciifolia*) on cyathostomin eggs excretion, larval development, larval community structure and efficacy of ivermectin treatment in horses**

Orateur : Joshua Malsa (ISP)

Résumé :

Alternative strategies to chemical anthelmintics are needed for the sustainable control of equine strongylids. Bioactive forages like sainfoin (*Onobrychis viciifolia*) could contribute to reducing drug use, with the first hints of *in vitro* activity against cyathostomin free-living stages observed in the past. We analysed the effect of a sainfoin-rich diet on cyathostomin population and the efficacy of oral ivermectin treatment. Two groups of 10 naturally infected horses were enrolled in a 78-day experimental trial. Following a 1-week adaptation period, they were either fed with dehydrated sainfoin pellets (70% of their diet dry matter) or with alfalfa pellets (control group) for 21-days. No difference was found between the average fecal egg counts (FECs) of the two groups, but a significantly lower increase in larval development rate was observed for the sainfoin group, at the end of the trial. Quantification of cyathostomin species abundances with an ITS-2-based metabarcoding approach revealed that the sainfoin diet did not affect the nemabiome structure compared to the control diet. Following oral ivermectin treatment of all horses on day 21, the drug concentration was lower in horses fed with sainfoin, and cyathostomin eggs reappeared earlier in that group. Our results demonstrated that short-term consumption of a sainfoin-rich diet does not decrease cyathostomin FEC but seems to slightly reduce larval development. Consumption of dehydrated sainfoin pellets also negatively affected ivermectin pharmacokinetics, underscoring the need to monitor horse feeding regimes when assessing ivermectin efficacy in the field.

# Posters

## Session 1 : Écologie des agents pathogènes animaux et zoonotiques et des Vecteurs

### **P.12-Écologie des hémoplasmes de ruminants : exploration de la circulation de *Mycoplasma wenyonii* chez les bovins, les chevreuils et les tiques en zone atelier Pyrénées-Garonne**

Auteur: Xavier Nouvel (IHAP)

Résumé :

*Mycoplasma wenyonii* (Mw) est une bactérie non cultivable qui infecte les ruminants domestiques et sauvages. Mw a été identifié récemment en France, plus précisément en Bretagne, chez des vaches présentant des troubles de la santé (Nouvel et al. 2019). Parasite sanguin obligatoire, ce mycoplasme est associé à une anémie chronique mais aussi à des signes aigus tels que fièvre, œdème des membres et de la mamelle, chute de production laitière et perte de poids. Également détecté chez les tiques, celles-ci sont fortement suspectées d'être une voie de transmission (Hornok et al. 2018) mais leur rôle en tant que vecteur et l'association de Mw avec les tiques n'ont pas encore été clairement démontrés.

Ainsi, les potentiels échanges directs et indirects entre les compartiments sauvages et domestiques méritent d'être explorés. Dans cet objectif, nous avons identifié des troupeaux bovins infectés par Mw localisés à proximité des chevreuils suivis par l'INRAE (CEFS, Zone Atelier Pyrénées-Garonne). À l'aide de prélèvements issus de ces différents compartiments incluant des tiques récoltées sur chevreuils, une collection de souches de Mw issues de bovins, de chevreuils et de tiques a été obtenue. Du fait du caractère non cultivable de Mw, ces souches ont été caractérisées par une approche moléculaire et génomique.

Le séquençage et l'assemblage de génomes entiers de Mw a pu être obtenu pour des souches de bovins et de chevreuils. L'étude de ces séquences révèle qu'au moins deux souches bovines différentes circulent en France. L'analyse de couples mère/veau indique que la transmission verticale, classiquement décrite dans la littérature, ne semble pas être une voie prédominante.

L'élevage de tiques adultes, collectées gorgées sur chevreuils, a permis d'observer au laboratoire une transmission trans-ovarienne suggérant une multiplication de Mw chez la tique. Ces résultats révèlent la diversité des souches circulant en France et fournissent les bases vers la compréhension de l'éco-épidémiologie des hémoplasmes, de leur interaction avec les vecteurs et de la dynamique de leur circulation dans les différents compartiments des agro-écosystèmes.

## **P.13-Characterisation du contenu en gènes de l'espèce bactérienne *Coxiella burnetii* issue de différentes lignées en Europe.**

Auteur: Aminah Keliet (EPIA)

Résumé :

*Coxiella burnetii*, bactérie responsable de la fièvre Q, est une zoonose répandue et pouvant infecter beaucoup d'espèces hôtes. L'infection, souvent asymptomatique, peut entraîner divers troubles cliniques problématiques et parfois persistants, chez l'humain. Elle est transmise par voie aérienne à partir de l'environnement contaminé des réservoirs animaux, dont les principaux sont les ruminants domestiques. En Europe, on observe une spécificité d'hôte, qui se traduit par l'association de lignées de *C. burnetii* avec différents ruminants domestiques. Le but de l'étude est donc d'étudier la dynamique des génomes de *C. burnetii* afin de contribuer aux connaissances sur l'émergence de lignées caractérisées par différentes spécificités d'hôtes. Nous avons réalisé des analyses à partir de souches de référence et de souches provenant de prélèvements dans des fermes : i) identification des gènes homologues et communs pour obtenir une phylogénie. Pour le faire, nous avons étudié le pangéome de *C. burnetii* en comparant les pipelines BPGA et Panaroo ; ii) étude de la distribution des gènes et fonctions accessoires par analyse factorielle des correspondances (AC) à partir de la matrice de présence/absence de gènes ; iii) étude de la dynamique de distribution de ces gènes le long de la phylogénie, avec l'outil CAFE3. L'identification des gènes homologues obtenue avec Panaroo semble la plus cohérente, l'utilisation de BPGA pointant un nombre important de gènes uniques. L'arbre phylogénétique obtenu montre la présence de trois grandes lignées des souches de *C. burnetii* étudiées, nommées A, B et C. Les résultats de l'AC illustrent la cohérence de la distribution des gènes dans les lignées. La distribution des gènes dans le groupe C est particulièrement homogène, le nombre de gènes accessoires est limité et beaucoup sont présents dans la plupart des souches. La distribution des gènes semble plus hétérogène dans les groupes A et B. Le groupe A inclut une grande diversité de gènes dont une large proportion de gènes spécifiques. Les gènes accessoires du groupe B sont particulièrement différenciés par rapport à ceux du groupe C. Au cours de la diversification de *C. burnetii*, les analyses effectuées pointent différents événements de perte massive de gènes. L'analyse des gènes effecteurs et de gènes de virulence montre que ces gènes, impliqués dans l'interaction avec l'hôte, présentent un polymorphisme de présence/absence de 5% et 0,8%, respectivement. De futures études sont nécessaires pour identifier si ces polymorphismes sont impliqués dans les différences de spécificité d'hôte entre lignées ou si d'autres déterminants doivent être recherchés.

## **P.14-Cartographie des habitats favorables à la tique *Ixodes ricinus* en France par analyse multicritère.**

Auteur: Isabelle Lebert (EPIA)

Résumé :

La tique *Ixodes ricinus* est largement répandue en Europe et est responsable de la transmission de plusieurs agents pathogènes aux humains et aux animaux. La présence et l'abondance de cette tique est conditionnée par plusieurs facteurs. Quatre facteurs ont été sélectionnés parmi les plus importants et pour lesquels des données étaient disponibles à l'échelle de la France métropolitaine

: le climat, l'occupation du sol, l'altitude et la densité d'ongulés sauvages. Un score (HSI, Habitat Suitability Index) a été attribué à chaque niveau de facteurs en fonction de son caractère plus ou moins favorable à la présence des tiques. Les informations sur ces facteurs ont été combinées en utilisant des méthodes d'analyses multicritères d'aide à la décision (MCDA) et appliquées aux systèmes d'information géographique, pour créer une carte des habitats favorables au pic d'activité de la tique *I. ricinus* en France métropolitaine. Deux méthodes de combinaison de facteurs ont été testées, additive et multiplicative, et évaluées pour deux échelles spatiales, départements et communes. Les quatre cartes qui en résultent (résolution = 100x100 m) montrent que la France offre des conditions favorables à *I. ricinus* sur la majeure partie du territoire. Les habitats adaptés sont localisés dans le centre, le nord-est et le sud-ouest de la France, tandis que des habitats moins adaptés sont dans les régions méditerranéennes et montagneuses. Pour valider l'approche, les scores HSI ont été comparés aux données de terrain d'abondance de nymphes *I. ricinus*. Quelle que soit l'échelle, la corrélation entre l'indicateur d'abondance et le score HSI était plus forte dans l'approche additive que dans l'approche multiplicative. Cette étude montre l'intérêt de la méthode pour mettre en évidence les zones de distribution de la tique où les mesures préventives devraient être prioritaires. Elle est particulièrement destinée aux politiques publiques pour aider à orienter/cibler les messages de vigilance dans les territoires les plus à risque d'exposition.

## **P.15-Mieux comprendre les tiques et les maladies à tiques... une histoire d'interactions.**

Auteur: Thomas Pollet (ASTRE)

Résumé :

Alors que, selon l'organisation mondiale de la santé animale, 60% des maladies infectieuses humaines sont zoonotiques, les zoonoses liées aux tiques en représentent une part importante. En Europe, les tiques sont en effet les premiers vecteurs d'agents pathogènes pour l'homme et l'animal, et constituent ainsi un problème de santé publique et vétérinaire préoccupant. Outre les agents pathogènes, les tiques abritent d'autres micro-organismes, le microbiote, impliqués dans le développement et la physiologie des tiques mais aussi dans l'acquisition et la transmission des agents pathogènes. Au cours des 10 dernières années, les approches scientifiques et méthodologiques ont considérablement évolué et ont permis de mieux comprendre les tiques et maladies à tiques en passant d'une vision très réduite et pathogène centrée à l'étude du pathobiome des tiques et de l'holobionte tiques. Ces changements de paradigmes successifs ont permis, entre autres, de mettre en évidence les nombreuses interactions existantes entre les tiques, leur microbiote et les agents pathogènes qu'elles transmettent. A travers l'exemple du projet KineTicks (2018-2020) dont l'objectif était d'étudier le pathobiome de la tique *Ixodes ricinus* et du projet HolisTiques (2022-2024) dont l'un des objectifs est d'étudier la dynamique de l'holobionte *Hyalomma marginatum*, je démontrerai l'importance de déchiffrer les multiples interactions existant entre les tiques et les communautés microbiennes qu'elles abritent ; informations qui nous permettront peut-être, in fine, d'identifier et développer de nouveaux outils de lutte contre les tiques et les agents pathogènes qu'elles transmettent.

## **P.16-Le projet PiroGoTick : les sciences participatives pour l'étude multidisciplinaire des tiques, de leur environnement et des parasites responsables de la piroplasmose équine en France métropolitaine**

Auteur: Laurence Malandrin (BIOEPAR)

Résumé :

La piroplasmose équine, potentiellement mortelle pour les équidés, est endémique en France métropolitaine. Le portage sain des parasites sanguins responsables, *Theileria equi* et *Babesia caballi*, engendre des pertes économiques, car il limite l'exportation des équidés vers les pays qui requièrent des chevaux indemnes, comme les USA, le Canada, le Japon, l'Australie et la Nouvelle Zélande. Le projet PiroGoTick (2021 à 2025) vise à apporter des connaissances à l'échelle nationale sur l'éco-épidémiologie de la piroplasmose équine. Il étudie parallèlement les tiques présentes chez les équidés (inventaire, importance relative, dynamique saisonnière, compétence vectorielle), leur environnement (climat, type de végétation, réseau hydrique) et les deux espèces parasites (diversité génétique). Pour acquérir les données sur les tiques des équidés, un réseau de plus de 400 propriétaires répartis sur la France entière a été constitué. Les membres de ce réseau inspectent leurs équidés et collectent les tiques chaque semaine. Pour élargir les données sur la répartition des espèces, tout détenteur particulier peut faire un envoi ponctuel. Le montage et l'animation du réseau sont réalisés principalement via une page Facebook, qui diffuse les annonces de programmes de recherche et des informations sur les tiques, et via un groupe privé permettant des interactions directes avec les collecteurs. Des informations environnementales de base sont collectées via un questionnaire. Un programme d'analyse environnementale plus poussé en lien avec les espèces de tiques est en cours d'expérimentation avec localisation des sites de pâturage via le site web Géoportail, automatisation des analyses de contexte paysager en faisant appel aux bases de données géographiques publiques, relevés botaniques avec identification automatique avec l'application PlantNet©. Les données sur le statut infectieux des équidés sont obtenues via des prélèvements sanguins réalisés sur les équidés suivis pour les collectes de tiques, mais aussi plus largement grâce à la collaboration des 4 écoles vétérinaires, de vétérinaires libéraux, du Réseau d'Epidémiologie-Surveillance en Pathologie Équine (RESPE), et de la Fédération Nationale du Cheval (FNC). Le typage génétique des parasites réalisé à partir des prélèvements sanguins positifs servira à l'amélioration des outils diagnostiques et à l'identification de cibles vaccinales potentielles.

## **P.17-Cartographie des variations spatiales de l'abondance des tiques dans des paysages agricoles hétérogènes pour construire un simulateur du risque lié aux tiques**

Auteur: Thierry Hoch (BIOEPAR)

Résumé :

Le projet OSCAR (ANR Agrobiosphere) visait à développer un outil de simulation cartographique du risque acarologique en fonction des caractéristiques d'un paysage agricole bocager. Dans un premier temps, l'objectif était de prédire les densités de tiques dans un tel paysage. Pour ce faire, des collectes de nymphes de l'espèce *Ixodes ricinus* ont été réalisées dans des paysages agricoles

bocagers de deux zones ateliers en Ille et Vilaine et en Haute Garonne au moment du pic printanier de densité de tiques, durant trois années consécutives. Les habitats ont été décrits et géo-référencés au sein de ces paysages, permettant de distinguer bois, prairies, routes, cultures et bâtiments, qui influent différemment sur la présence de tiques. Les échantillonnages des tiques sur la végétation ont été effectués dans les milieux les plus favorables aux tiques (bois, lisières, haies bordant les prairies). Nous avons utilisé des données météorologiques (température de l'air, humidité relative) issues des stations proches de ces zones. Le modèle statistique d'analyse des données a été de type GLM Mixte, en considérant que les densités de tiques suivaient une distribution binomiale négative et en adoptant une méthode d'estimation de type MCMC. Les variables explicatives du modèle ont différencié selon la provenance des tiques (cœur du bois vs lisière ou haie en bordure de prairie), car certaines variables étaient sans objet pour le bois. Le modèle ajusté a par la suite été intégré dans un simulateur programmé sous R, qui a permis d'estimer les densités de tiques dans les composantes d'un paysage renseigné par l'utilisateur. L'ajustement du modèle a conduit à considérer les variables suivantes comme significativement influentes sur les densités de tiques : (i) dans le bois : température, périmètre du bois et distance à la route, (ii) en lisière de bois ou en bordure de prairie : température, humidité, périmètre du bois dans le buffer, distances aux bois et aux bâtiments. Le simulateur créé a permis de représenter visuellement sous forme de carte dans un paysage donné les densités relatives de tiques estimées par le modèle (densité / densité maximale sur la zone), estimant ainsi le risque lié aux tiques. L'analyse des résultats du modèle a montré que l'ajustement met en évidence des variables pertinentes par rapport aux connaissances actuelles sur l'écologie des tiques. Son intégration dans un simulateur permettra d'explorer les risques dans de nouveaux paysages similaires à ceux qui ont été étudiés, dans un objectif de validation dans un premier temps.

## **P.18-Le CATI IMOTEP, un collectif pour développer des projets d'ingénierie en épidémiologie**

Auteur: Thierry Hoch (BIOEPAR)

Résumé :

Un CATI (Centre Automatisé de Traitement de l'Information) est une entité de production s'appuyant sur un collectif d'ingénieurs et de techniciens de la BAP E, dont les missions se rapportent donc à l'informatique, au calcul scientifique et aux statistiques. Le CATI IMOTEP (Informations, MOdèles et Traitement des données en Epidémiologie et dynamique des Populations) a été créé en 2019 et est rattaché aux départements MathNum, SA et SPE. Le CATI IMOTEP a pour mission d'organiser et de développer des projets d'ingénierie en lien avec les recherches dans les domaines de l'épidémiologie (animale et végétale), et de la dynamique des populations dans les paysages agricoles. Ces recherches se situent à une échelle populationnelle et nécessitent le traitement spécifique de données souvent éparpillées dans le temps et l'espace. Les principaux projets envisagés pour le CATI se déclinent en trois volets identifiés comme suit : - Acquisition et gestion des données. - Traitement, analyse des données et modélisation. - Développement d'outils issus des travaux de modélisation, à des fins de recherche ou à destination de partenaires de la recherche. Les chercheurs modélisateurs et statisticiens conduisant des recherches sur les dynamiques des systèmes hôtes / pathogènes ou hôtes / bio-agresseurs ou plus globalement sur l'ensemble des facteurs biotiques d'un écosystème donné constituent la communauté scientifique avec laquelle les agents du CATI sont en interaction sous forme de réseaux méthodologiques scientifiques tels que les réseaux ModStatSAP (Modélisation et Statistiques en Santé des Animaux et des Plantes) et PAYOTE (modélisation des paysages et des

territoires agricoles). A ce jour, le CATI compte 46 agents (31 à sa création). L'augmentation importante des effectifs est principalement due au recrutement d'agents sur les plates-formes d'épidémiologie animale et végétale, intégrées dans les activités du CATI. Le CATI est en effet un lieu d'échange privilégié pour les agents des plates-formes d'épidémiologie animale et végétale. Parmi les projets récents mis en place par le CATI figurent les suivants : 1- CoLab.IA, projet financé par l'appel d'offre DiPSO 2021, J. de Goër De Hervé (UMR EpiA, Theix), avec CATI SICPA. Mise en place d'une plateforme expérimentale d'ingénierie permettant d'accompagner les équipes souhaitant utiliser des méthodes de DeepLearning. 2- SK8, projet financé par l'appel d'offre DiPSO 2022, J.-F. Rey (UR BioSP, Avignon). Mise en place d'un service offrant l'hébergement d'applications R-Shiny.

## **P.19-Impact of different doses of minocycline injected in pigs on the dynamics of antibiotic resistance and microbial populations in faeces, pig being a study model for humans.**

Auteur: Véronique Dupouy (INTHERES)

Résumé :

Antibiotic resistance is a major public health problem. The development of new molecules is in sharp decline. It is therefore necessary to reassess the potential of old molecules that are little or not used today. The combination of polymyxin B and minocycline for intravenous antibiotic therapy in human is promising. Our objective was to 1) determine the pharmacokinetic parameters after intravenous injection of minocycline in pigs in order to select doses that mimic the expected exposure in humans and 2) to assess the impact of minocycline administration on the intestinal microbiota, i.e., on the selection of antibiotic resistance and microbial diversity. Pigs received minocycline by intravenous route at a low dose (LD group, 8 mg/Kg/d for 4-5 days), a high dose (HD group, 16 mg/Kg/d for 4-5 days) or nothing (Control group). For pharmacokinetic study (n=8 per group), minocycline concentrations in plasma were determined by UPLC and pharmacokinetic parameters were calculated. For fecal microbiota evaluation (n=5 per group), phenotypic and genotypic resistance were determined by counting total and minocycline resistant-enterobacterales, by measuring the susceptibility to minocycline (MIC) of isolates and quantifying resistance genes on total fecal DNA. The impact on microbial diversity was realized by sequencing the V3-V4 region of the 16S rRNA gene. Pharmacokinetic data indicated that minocycline was more strongly eliminated in pigs with a clearance 3 to 7 times higher compared to humans. In order to obtain exposure of pigs similar to that of humans, the dose to be administered is between 8 to 20 mg/Kg in pigs. Bacterial counts showed that the total (~1e5 UFC/g faeces) or minocycline-resistant (1e2-1e3 UFC/g faeces) enterobacterales were not significantly modified by the antibiotic treatment. Furthermore, whatever the dose administered, there was no impact on the relative abundance of genes coding for resistance to minocycline, tetracycline, other antibiotic families or genes linked to genetic mobile elements. However, the proportion of enterobacterales resistant to minocycline slightly but significantly increased in faeces excreted at the end of the high dose treatment (24h after the last dose). 16S rRNA gene sequencing and analysis revealed that the administration of the high dose of minocycline could affect the taxonomic diversity (beta diversity). High dose minocycline treatment seems to have a weak impact on the digestive microbiota (resistance and diversity). However, additional data should be provided to confirm or refute these preliminary results.

## **P.20-Elucidating ASF frontwave progression in wild boar population of South Korea**

Auteur: Jun-Sik Lim (IHAP)

Résumé :

African swine fever (ASF), which is caused by the African swine fever virus (ASFV), is a highly contagious and devastating disease both for wild boar (*Sus scrofa*) and domestic pigs (*Sus domesticus*). Since the first case in October 2019 in South Korea, over 2,500 cases in wild boar have been reported, showing the wild boar self-sustaining cycles along with sporadic cases in domestic pig farms. To understand the invasion of ASF in wild boar population, a better understanding of frontwave progression is required. In this study, we exploited nationwide surveillance data for ASF wild boar from the initial case (October 2019) until June 2022 in South Korea to (1) analyze ASF frontwave progression, and (2) identify whether the fencing has impacted on the ASF invasion.

We identified the wild boar-induced outbreaks while excluding human-mediated transmission by detecting the clusters through spatiotemporal clustering algorithm. Among the cases in detected clusters, the chronological algorithm, which selects only the case that expanded the affected area compared to previous affected area, was applied to select frontwave cases. We applied the trend surface analysis to these selected cases to quantify frontwave velocity, and recently developed framework to identify the impact of fencings on frontwave progression.

Among total 2,652 cases in wild boar, 2,551 cases were included in four spatiotemporal clusters, each of which includes 422, 993, 1,018, 108, and 10 cases. Two of the detected clusters, accounting for approximately half of the total cases, lasted until the end of study period, which spread to south of Korean Peninsula. Chronological algorithm picked out 47, 595, 19, and 23 frontwave cases from four detected spatiotemporal clusters, respectively. Frontwave has expanded at 0.23km<sup>2</sup>/week on average ranging from 0.06 km<sup>2</sup>/week to 1.09 km<sup>2</sup>/week. While fencing measure has succeeded in preventing the northwest cluster from expanding, it has failed to block the other three clusters. However, the measure was analyzed to significantly decrease frontwave velocity.

Our analysis suggests that the ASF frontwave induced by wild boar-mediated transmission progressed slow, corresponding to the results reported from other ASF affected countries. Although the fencing has heterogenous impact on blocking the frontwave spreading, the measure was effective control policies to slow down the spreading and make it possible to reduce the burden of animal health authorities to allocate the limited resources. We believe this study provides implications to control the disease in future.

## **Session 2 : Maitrise des maladies animales et zoonotiques**

### **P.21-Modelling Japanese encephalitis virus transmission dynamics and human exposure in a Cambodian rural multi-host system**

Auteur: H el ena Ladreyt (ASTRE)

R esum e :

Japanese encephalitis (JE) is a vector- borne zoonosis and the leading cause of human viral encephalitis in Asia. Its transmission cycle is usually described as involving wild birds as reservoirs and pigs as amplifying hosts. JE is endemic in Cambodia, where it circulates in areas with low pig densities (<70 pigs per km<sup>2</sup>), and could be maintained in a multi-host system composed of pigs, but also poultry as competent hosts, and dogs, cattle and humans as non-competent hosts. We used a mathematical model representing Japanese encephalitis virus (JEV) transmission in a traditional Cambodian village that we calibrated with field data collected in 3 districts of Kandal province, Cambodia. First, R<sub>0</sub> calculations allowed us to assess the capacity of the epidemiological system to be invaded by JEV and sustain virus transmission in villages in the 3 districts, and we predicted human exposure at the epidemiological equilibrium, based on simulations. Changes in spatial density of livestock, in agricultural practices, and epizootics (e.g., African swine fever), can profoundly alter the composition of host communities, which could affect JEV transmission and its impact on human health. In a second step, we then used the model to analyse how host community composition affected R<sub>0</sub> and the predicted human exposure. Lastly, we evaluated the potential use of dog JE seroprevalence as an indicator of human exposure to JEV. In the modeled villages, the calculated R<sub>0</sub> ranged from 1.07 to 1.38. Once the equilibrium reached, predicted annual probability of human exposure ranged from 9% to 47%, and predicted average age at infection was low, between 2 and 11 years old, highlighting the risk of severe forms of JEV infection and the need to intensify child immunization. According to the model, increasing the proportion of competent hosts induced a decrease in age at infection. The simulations also showed that JEV could invade a multi- host system with no pigs, reinforcing the assumption of poultry acting as reservoirs. Finally, the annual human exposure probability appeared linearly correlated with dog seroprevalence, suggesting that in our specific study area, dog seroprevalence would be a good proxy for human exposure.

### **P.22-Targeting innate immunity during neonatal period, with NOD2-based ligands, to fight Cryptosporidiosis**

Auteur: M egane Fernandez (ISP)

R esum e :

During the neonatal period, the immune system is still immature, giving at newborns susceptibility to infections such as Cryptosporidiosis. *C. parvum* is the causative agent for the zoonosis Cryptosporidiosis, This parasitic disease is due to an orally transmitted protozoan that develops in intestinal epithelial cells and causes a moderate-to-severe diarrhea in children under 2 years of age, responsible for 18% of the deaths in children under 5 years [1]. In addition to children,

Cryptosporidiosis also causes acute diarrhea in very young ruminants and immune-compromised hosts. Today, there is no vaccine to prevent infection nor efficient treatment, and there is therefore an urgent need for the development of new methods to control this zoonosis directly involved in a One Health process. In recent years, several studies have improved our knowledge on the immune mechanisms responsible for the control of the acute phase of the infection and have highlighted the importance of innate immunity [2]. We hypothesize that modulation of the innate immune system during the neonatal period could enhance the immune defense at young ages and favor the control of cryptosporidiosis. Different assays were performed to study the impact of in vivo stimulation of the innate immune system of neonatal mice with NOD2-based agonists to improve their immediate defense against *C. parvum* infection.

Keywords : Neonatal period, Cryptosporidiosis, Immunostimulation

References: [1]. Striepen, B. Parasitic infections: Time to tackle cryptosporidiosis. *Nature* 503, 189–191 (2013). [2]. Laurent, F. & Lacroix-Lamandé, S. Innate immune responses play a key role in controlling infection of the intestinal epithelium by *Cryptosporidium*. *International Journal for Parasitology* 47, 711–721 (2017).

## **P.23-Mise en place du modèle furet pour l'étude des maladies infectieuses**

Auteur: Alisson Niepceron (PFIE)

Résumé :

Le cœur de métier de la Plate-Forme d'Infectiologie Expérimentale (PFIE) est l'expérimentation animale sur animaux de rente, de laboratoire et de la faune sauvage dans le domaine de l'infectiologie. Reconnue comme une référence dans la gestion des infections en confinement A2 et A3, elle se positionne comme un partenaire privilégié dans l'étude des maladies infectieuses (bactériennes, virales et parasitaires) ayant un impact en santé animale et/ou santé publique. S'inscrivant dans une démarche constante d'évolution, la PFIE souhaite développer son expertise en proposant de nouveaux modèles expérimentaux comme le modèle furet. Le furet est en effet reconnu pour son intérêt en particulier dans les études sur les infections respiratoires émergentes (SARS-CoV-2) ou ré émergentes (Influenza virus, Tuberculose). Il intéresse les scientifiques dont les travaux visent à identifier de nouvelles méthodes de contrôle des maladies infectieuses respiratoires mais aussi les acteurs socio-économiques tels que les entreprises de biotechnologie et l'industrie pharmaceutique dont l'objectif est de développer des vaccins ou des solutions thérapeutiques. En 2021, la PFIE a ainsi initié, par le biais du projet FU-REX, la mise en place du modèle furet. Ce projet, soutenu par l'Institut Carnot France Futur Elevage, a permis le financement d'une formation spécifique sur ce nouveau modèle ainsi que la conception et la fabrication de cages dédiées à l'hébergement de furets en expérimentation. Ce travail a été valorisé par le dépôt d'une déclaration d'invention et de résultats valorisables (DIRV) puis un accord de copropriété et d'exploitation sur savoir-faire avec une société portugaise (Ternox) spécialisée dans la conception de structures en inox. Dans l'objectif de répondre à la demande de la communauté scientifique, la PFIE a souhaité renforcer l'attractivité du modèle furet en proposant un dispositif expérimental complet dédié à l'étude des infections respiratoires. Ce dispositif permet l'administration d'agents pathogènes (groupes 2 et 3) et/ou de solutions thérapeutiques par voie aérienne (projet FU-REX 2, soutenu par France Futur Elevage). La mise en place du modèle furet à la PFIE est le fruit d'une démarche collaborative qui a impliqué différents corps de métier, notamment les zootechniciens/animaliers qui ont apporté leur expertise et leur savoir-faire dans le domaine de l'expérimentation animale en milieu confiné.

## **P.24-Administration of oxytetracycline and selection of resistance in the different digestive segments: determination of minimum selective concentrations and impact on the microbiota and resistome in pigs**

Auteur: Delphine Bibbal (INTHERES)

### Résumé :

Introduction and objectifs After oral administration, a fraction of antibiotics binds to the content of the digestive tract. Nevertheless, the free (thus active) concentrations exert selective pressure on the gut microbiota, favouring resistance selection. Therefore, the first objective of this study was to determine the minimum selective concentration (MSC) of oxytetracycline (OTC), the MSC being the lowest antibiotic concentration conferring a competitive advantage to a resistant towards an isogenic susceptible strain. The second objective was to characterise the impact of OTC administration on the microbiota and the resistome from different digestive segments of pigs. Materials and methods Co-cultures of an OTC- susceptible *Escherichia coli* strain and a resistant isogenic strain were performed with different concentrations of OTC in Muller-Hinton (MHB) broth and sterilised intestinal contents (SIC) of the jejunum, cecum and rectum of piglets. These strains were counted at different times, making it possible to calculate the selection coefficient at each OTC concentration and, by extrapolation, the MSC [1]. Subsequently, a therapeutic dose of OTC (20 mg/kg BW) was administered per os to eight piglets. The contents of six digestive segments, from the duodenum to the rectum, were harvested 6 (n = 4) and 24 hours (n = 4) after treatment. The control group consisted of four untreated animals. Tetracycline resistance genes were quantified by qPCR. In addition, microbial diversity was assessed by sequencing the V3-V4 region of the gene encoding 16S rRNA. Results, discussion and conclusion The MSC was measured at 0.025 µg/mL in MHB and increased to 0.26, 0.72, and 2.4 µg/mL in the SIC from the jejunum, cecum, and rectum. Along the digestive tract, the taxonomic composition of the microbiota changed, and the abundance of resistance genes increased. However, the antibiotic treatment did not impact the microbiota composition or the resistome, which could be related to the increased MSC in intestinal contents. To further explore this phenomenon, the OTC will be quantified by UPLC-UV to determine the total concentrations in the different digestive segments. The active concentrations will then be estimated using bactericidal curves in MHB and SIC. Reference [1] Gullberg E, Cao S, Berg OG, Ilbäck C, Sandegren L, Hughes D, Andersson DI. 2011. Selection of resistant bacteria at very low antibiotic concentrations. *PLOS Pathog.* 7: e1002158.

Keywords: oxytetracycline, resistome, pig, microbiota

## **P.25-Anaplasma capra, un espèce zoonotique présente chez les ruminants sauvages et domestiques en France**

Auteur: Maggy Jouglin (BIOEPAR)

### Résumé :

*Anaplasma capra*, bactérie intra-érythrocytaire transmise par les tiques, est très largement répandue en Asie (Chine, Corée, Japon) chez les ovins, les caprins et divers cervidés. Son caractère

zoonotique a été démontré en 2015 en Chine. En 2019, nous avons mis en évidence cette espèce zoonotique pour la première fois en Europe, en France continentale sur deux espèces de cervidés, dans un contexte assez particulier de parc zoologique (Haute Touche, Indre). Les cervidés sauvages ou captifs sont fréquemment des réservoirs de bactéries zoonotiques transmises par les tiques et les réserves de faune sauvage sont des zones à forte concentration d'espèces animales très diverses, avec une diversité de pathogènes associés. Lors de ce travail, nous avons montré des homologies de séquence entre *A. capra*, espèce détectée dans la réserve chez deux cervidés et une espèce taxonomiquement non décrite trouvée en Corse, laissant ainsi supposer la circulation d'*A. capra* chez les ovins en Corse. La recherche d'*Anaplasma* spp. a donc été menée à partir de prises de sang réalisées dans le cadre de la prophylaxie dans des élevages ovins et caprins corses. *A. capra* a été détectée dans 4 élevages ovins sur 7 répartis sur les deux départements et 1 élevage caprin sur 4, avec une proportion de 24% d'animaux positifs. L'identification moléculaire de cette espèce a été réalisée par séquençage de 3 gènes (ADNr 16S, *gltA* et *groEL*). L'analyse phylogénétique réalisée sur ces 3 gènes confirme le positionnement de ces bactéries au sein de l'espèce *A. capra*, dans le clade II. Mais au sein de ce clade, une lignée « européenne » semble se dégager, qui inclut également les isolats de chevreuils caractérisés en Espagne. *Anaplasma capra*, très largement répandue en Asie, est de plus en plus fréquemment recherchée et identifiée sur différents hôtes en Europe également. Son impact sur la santé animale voire humaine reste à définir.

## **P.26-Étude comportementale chez le poisson pour le raffinement des procédures expérimentales en contexte infectieux**

Auteurs: Dimitri Rigaudeau (IERP) & Christelle Langevin (IERP)

Résumé :

En expérimentation animale, le « point limite » est défini comme le moment auquel la souffrance et/ou la détresse d'un animal d'expérimentation doit être arrêtée, minimisée ou diminuée (définition AFSTAL). La règle des 3R (Remplacer, Réduire, Raffiner) promeut le raffinement des procédures expérimentales notamment par la détermination de points limites pourtant encore peu investigués et difficiles à définir pour les espèces poissons. A défaut, quelques grilles de « scoring » ont été développées fondées essentiellement sur les études comportementales/analyses macroscopiques des expérimentateurs. Les protocoles expérimentaux en infectiologie visent à étudier les interactions hôtes pathogènes, à caractériser la virulence de différents pathogènes ou à identifier des méthodes de diagnostic ou des traitements des maladies infectieuses. Dans les protocoles standards pour la plupart classés « procédures sévères », le critère d'arrêt est la mort de l'individu infecté du fait de l'absence de points limites. L'évolution des protocoles d'éthique mène donc à une caractérisation plus fine des phénotypes

/ comportements déterminant les points limites tels qu'une absence de réponse aux stimuli externes, une nage atypique, une modification de la prise alimentaire. Dans ce contexte, l'IERP a mis en place une méthode d'analyse comportementale chez la truite en contexte infectieux. Les premiers jeux de données ont été analysés et révèlent l'apparition progressive d'anomalie de comportements chez les individus malades, anomalies quantifiables et identifiables à l'échelle du groupe ou de l'individu unique. A terme, les perspectives seront 1/ le développement d'outils d'intelligence artificielle à partir des données de suivi individuel pour prédire l'évolution de la pathologie infectieuse et générer des alertes logicielles ; 2/ l'intégration de ces données

comportementales à des résultats de microbiologie, de biochimie et d'imagerie pour une analyse globale et multiparamétrique des relations hôtes pathogènes. Cette évolution sera décisive pour améliorer le bien-être animal dans nos procédures et mieux appréhender les maladies infectieuses chez les poissons. Enfin, en lien avec les autres activités de R&D de l'IERP, ces travaux seront poursuivis par l'utilisation couplée de ces méthodes à du monitoring par de nouvelles technologies (nanotechnologies, sondes thermiques...) pour développer des outils de télémétrie. Ces outils seront précieux et définis pour étudier, par exemple, le stress oxydatif ou les changements de température associés à la fièvre comportementale chez le poisson. Ces travaux s'intègrent dans le WP9 « Behavioral and Physiological Monitoring in Fish » du programme européen VetBioNet (Veterinary Biocontained facility Network).

## **P.27-SARS-CoV-2 et animaux de compagnie : étude de la séroprévalence chez les animaux de compagnie en France**

Auteur: Pierre Bessière (IHAP)

Résumé :

Rapidement après l'émergence du SARS-CoV-2, l'agent étiologique de la COVID-19, des cas de contamination de l'homme vers l'animal ont été rapportés. Si la détection du virus chez des espèces sauvages – par exemple, des tigres et des lions vivant dans des zoos – est souvent anecdotique du point de vue de la santé publique, sa présence chez les espèces domestiques ne doit pas être prise à la légère. Les carnivores domestiques peuvent contracter la maladie, comme l'ont montré plusieurs études, qu'il s'agisse d'infections expérimentales ou d'études terrain. Pour évaluer le rôle épidémiologique de ces derniers dans la circulation du SARS-CoV-2, nous avons conduit une étude sérologique de mars 2020 à décembre 2021. Un total de 308 prélèvements sanguins a été analysé : 165 provenaient de chiens et 143 de chats. Pour chaque animal, un questionnaire était renseigné par le propriétaire, afin de décrire notamment le mode de vie de l'animal (accès à l'extérieur, contact avec d'autres animaux etc.), le degré d'interaction avec le propriétaire (fréquence et nature des contacts), et si ce dernier avait contracté la COVID-19 (sur la base de la présence de symptômes évocateurs et/ou d'un test positif). Deux méthodes ont été comparées à la séroneutralisation : un test ELISA et un test basé sur l'hémagglutination. Des anticorps neutralisants anti-SARS-CoV-2 ont été détectés chez respectivement 8,4% (12/143) et 5,4% (9/165) des sérums de chats et de chiens. Bien que plus sensible et moins coûteux que l'ELISA, le test basé sur l'hémagglutination est difficilement utilisable en routine, du fait de la présence d'anticorps xénoréactifs. Si l'analyse des réponses au questionnaire n'a rien révélé de statistiquement significatif, les résultats suggèrent qu'un cas humain de COVID-19 dans le foyer augmente le risque que l'animal soit contaminé (odds-ratio = 1.48; 95% intervalle de confiance = 0.54 – 4.46). Cette étude montre indirectement que le SARS-CoV-2 circule dans les populations canines et félines, mais sa circulation semble trop faible pour que les carnivores domestiques puissent jouer rôle de réservoir viral important. La surveillance du virus dans les populations animales devra toutefois se poursuivre, le franchissement de la barrière d'espèce étant un phénomène d'autant plus fréquent que le spectre d'hôte est large

## **P.28-Yeast-based vaccine vector boosts in vitro bovine T-cell responses against a bacterial antigen**

Auteur: Rodrigo Prado Martins (ISP)

Résumé :

Yeast-based approaches have opened unique windows of opportunities to decipher fundamental aspects of biology and, more recently, these microorganisms have also found a special place in the vaccinology field. Yeasts are easily targeted by immune surveillance mechanisms due to the presence of conserved cell wall carbohydrates that are absent in hosts including mammals and poultry. For this reason, whole yeast-based vaccines do not require adjuvants. Besides, yeast cell wall components are able to induce Th1, Th17 and cytotoxic T-cell responses, surpassing the antibody-biased responses elicited by conventional adjuvanted-vaccines. These particularities, combined with the versatility of yeasts as heterologous protein expression systems, highlight the potential of these organisms as vaccine platforms to fight animal diseases. As a proof of concept, we took advantage of the yeast-surface display (YSD) technology to produce a recombinant strain of *Saccharomyces cerevisiae* (Sce) expressing the outer membrane protein A (OmpA) of *Escherichia coli* (herein, Sce-OmpA). *E. coli* is an important cause of bovine mastitis and OmpA has been reported as a potential candidate antigen for vaccine development. Then, we evaluated the in vitro response of PBMC from OmpA- immunized cloned cows upon stimulation with heat-inactivated Sce-OmpA. A higher release of INF $\gamma$  and IL-17 was observed in cells exposed to Sce-OmpA, compared to empty Sce, heat-killed *E. coli* or OmpA recombinant protein. In addition, antigen delivery by Sce enhanced the activation and proliferation of CD4+ and CD8+ T-cells. Interestingly, the levels of response varied in an individual-dependent way, in spite of the homogeneous genetic background of PBMC donor animals. This observation demonstrates that the T-cell response to the tested platform is not strictly determined on a genetic basis and might be shaped by other factors such as previous exposure to environmental microorganisms and/or antigens. In summary, these results suggest that the delivery of bacterial antigens by heat-inactivated yeast can boost and shape bovine T-cell responses, paving the way for the development of non-toxic, cost- effective and adjuvant-free yeast-based vaccines for cattle. We are currently evaluating the safety and efficiency of this platform in vivo.

## **P.29-Eimeria tenella ROP kinase 2 induces p38 MAPK cellular pathway**

Auteur: Anne Silvestre (ISP)

Résumé :

*Eimeria tenella* is an obligate intracellular parasite that causes avian coccidiosis. As for other apicomplexan parasites, such as *Toxoplasma gondii*, cell invasion and intracellular development rely on apical organelles content discharge, named micronemes and rhoptries. Some ROP kinases (ROPK) are key virulence factors in *T. gondii*. To date, among the 28 ropk encoded by *E. tenella*, only two were confirmed to be expressed at the sporozoite stage by proteomic analysis. We have previously shown that EtROP1 is implicated in the inhibition of the host cell apoptosis by interacting with the cellular p53. Here, we functionally characterized the second ROP kinase expressed at the sporozoite stage in *E. tenella*. EtROP2 is an active kinase that phosphorylates cell substrates of approximately 50 kDa. Its overexpression leads to the shortening of the prepatent

period and to the early development of first generation schizonts. Conduction of RNA sequencing analysis and RT-qPCR on the host cell, allowed us to identify the MAPK pathway and the transcription factor cFos to be upregulated by EtROP2. We also showed by immunofluorescence assay that the active kinase EtROP2 is implicated in the p38 MAPK pathway activation. We established here, that EtROP2 activates the p38 MAPK pathway through a direct or indirect phosphorylation, leading to the overexpression of the master transcription factor cFos known to be implicated in *E. tenella* development.

## **P.30- Des vecteurs recombinants du virus de la septicémie hémorragique virale (VHSV) avec des génomes réarrangés protègent contre une infection létale au virus de la nécrose nerveuse (NNV, Betanodavirus)**

Auteur: Emilie Mérour (VIM)

Résumé :

Les épidémies de septicémie hémorragique virale et d'encéphalopathie et rétinopathie virales causées respectivement par le virus de la septicémie hémorragique virale, un novirhabdovirus enveloppé, et le virus de la nécrose nerveuse, un betanodavirus non enveloppé, sont deux pathogènes majeurs pour l'aquaculture dans le monde. Ces deux virus infectent de très nombreuses espèces marines ou d'eau douce à fort potentiel économique telles que la truite arc-en-ciel, la dorade, le turbot, le bar et la sole. Les virus à ARN non segmenté de polarité négative tels que le VHSV sont soumis à un gradient de transcription dicté par l'ordre des gènes le long de leur génome. Dans la perspective de développer un vaccin bivalent contre le VHSV et le NNV, le génome du VHSV a été conçu pour modifier l'ordre de ses gènes et introduire une cassette d'expression codant pour le domaine antigénique majeur de la protéine de capsid du NNV. Ce domaine spécifique du NNV, appelé Linker-P, a été dupliqué et fusionné au peptide signal et au domaine transmembranaire dérivés de la glycoprotéine de novirhabdovirus afin d'obtenir l'expression de l'antigène à la surface des cellules infectées et son incorporation dans les particules virales. Par génétique inverse, huit VHSV recombinants (rVHSV), nommés NxGyCz selon les positions respectives des gènes codant la nucléoprotéine (N) et la glycoprotéine (G) ainsi que la cassette d'expression (C) le long du génome, ont été générés avec succès. Ces rVHSV ont été caractérisés *in vitro* pour l'expression de l'épitope du NNV dans des cellules de poisson infectées et pour son incorporation dans les virions du rVHSV. L'innocuité, l'immunogénicité et l'efficacité protectrice des rVHSV ont été testées *in vivo* chez la truite et la sole. Suite à l'administration des différents virus à des truites par baignade, certains des rVHSV se sont avérés atténués et protecteurs contre une infection par une souche hypervirulente du VHSV. Les résultats indiquent que le rVHSV N2G1C4 est sûr et protecteur avec un pourcentage relatif de survie (RPS) de 78%. En parallèle, des soles ont été injectées avec les différents rVHSV et les poissons ainsi immunisés ont été infectés avec le NNV. Le rVHSV N2G1C4 est également sûr, immunogène et protège efficacement la sole contre le NNV avec un RPS de 70%. Ce vecteur représente ainsi un point de départ prometteur pour le développement d'un candidat vaccin vivant atténué bivalent pour la protection de ces deux espèces aquacoles contre deux agents pathogènes majeurs.

## **P.31-Impact des modifications post- traductionnelles de la protéine N du VRS sur la formation des IB**

Auteur: Vincent Basse (VIM)

Résumé :

Le virus respiratoire syncytial (VRS) est la principale cause d'infections respiratoires aiguës chez l'Homme et chez les bovins. Ce virus est plus spécifiquement responsable de bronchiolites chez les nouveau-nés et les veaux. A ce jour, aucun vaccin contre le VRS humain n'est commercialisé, et les vaccins bovins restent peu efficaces. D'autre part, le seul traitement disponible pour l'Homme est un anticorps monoclonal humanisé dirigé contre la protéine de fusion du virus (Palivizumab), dont le coût est élevé et l'efficacité controversée. Une meilleure compréhension du cycle viral reste donc nécessaire. Le VRS appartient à l'ordre des Mononegavirales, qui regroupe des virus enveloppés dont le génome est un ARN simple non segmenté de polarité négative. Ce génome est constamment enveloppé par la nucléoprotéine virale (N), formant la nucléocapside qui est utilisée comme matrice par la polymérase virale L pour la transcription des ARNm viraux et la réplication du génome viral. La reconnaissance de cette matrice par L requiert l'interaction avec son cofacteur, la phosphoprotéine virale P. Au cours de la réplication, P joue le rôle de connecteur entre la L, la N oligomérique associée à l'ARN, la N néosynthétisée monomérique (nommée N0) disponible pour l'encapsidation de nouveaux génomes, et le facteur de transcription M2-1. Ces interactions sont critiques pour le recrutement de l'ensemble de ces protéines au sein des usines virales, organelles cytoplasmiques de nature liquides où ont lieu la réplication et la transcription du virus, nommées corps d'inclusion (IB). Plus spécifiquement, l'équipe a pu montrer que la morphogénèse de ces structures dépend des interactions entre P et N, ainsi que de l'association de N à l'ARN. L'équipe a récemment pu identifier par spectrométrie de masse différentes modifications post-traductionnelles (PTM) sur la protéine N purifiée à partir de cellules infectées. En particulier, une méthylation de l'arginine 27 (R27) a été observée. La présente étude vise à caractériser le rôle potentiel du résidu R27 et de sa méthylation dans i/ la transition de la forme monomérique N0 à la forme N-ARN, et/ou ii/ la morphogénèse et l'organisation des IBs. Pour ce faire, par des approches couplées de biologie cellulaire et biochimie, nous avons étudié l'impact de mutations de substitution du résidu R27 sur l'activité du complexe polymérase et la structure de N. L'ensemble de nos résultats mettent en évidence un rôle critique de ce résidu dans la fonction de N.

## **P.32-Repeated exposure of Escherichia coli to high ciprofloxacin concentrations selects gyrB mutants that show fluoroquinolone-specific hyperpersistence.**

Auteur: Aurore Perault (INTHERES)

Résumé :

The misuse of antibiotics for decades has allowed the emergence of resistance in many bacterial species. Antibiotic resistance and tolerance are a global threat identified by the WHO. In this context, in vitro bacterial evolution studies have shown that tolerance/persistence mutations were selected first. These mutations generally affect metabolism-related genes and can favor the secondary selection of mutations increasing resistance more specifically to the selecting antibiotic. Also using an in vitro evolution experiment, we showed here that repeated exposure of an E. coli

strain to ciprofloxacin concentrations encountered in patients can select mutants of the gyrB quinolone-target gene showing a fluoroquinolone-specific hyperpersistence phenotype but a susceptibility level similar to that of the parental strain. Such mutants which would be classified as susceptible by classical Antimicrobial Susceptibility Tests (AST), may be responsible for some therapeutic failures due to their better survival to antibiotic treatments.

## **P.33-Identification de molécules favorisant ou inhibant la réplication du virus West Nile dans des cellules neurales équine.**

Auteur: Marielle Cochet (VIRO)

Résumé :

Le virus West-Nile (WNV) est un arbovirus de la famille des Flaviviridae, genre Flavivirus. Transmis par les moustiques, il est responsable d'encéphalites pouvant être fatales ou conduisant à de graves séquelles neurologiques chez l'homme et le cheval. Il est endémique sur tous les continents et voit sa zone de distribution s'étendre en Europe. Chez le cheval, bien que des vaccins soient disponibles, la couverture vaccinale est faible et aucun traitement thérapeutique n'est actuellement disponible. Dans ce contexte, il est indispensable d'identifier des molécules antivirales actives dans le système nerveux central des équidés. Pour répondre à cette attente, nous avons développé un nouveau modèle in vitro de cellules progénitrices neurales équine (Eq-NPCs) dérivées de cellules souches pluripotentes induites (Eq-iPSCs) et démontré leur permissivité à WNV. Puis, en utilisant ce modèle d'infection et en le couplant à une approche basée sur de l'imagerie cellulaire, nous avons criblé une banque de 45 molécules pour leur activité anti-virale. Nos résultats ont révélé deux molécules présentant une activité antivirale : 2'C-methylcytidine et ribavirine avec des IC50 de 11  $\mu$ M et des IS (index de sélectivité) de 5.3 et 3.1, respectivement. Ceci a été confirmé par quantification des ARN viraux (RT-qPCR) et des particules virales infectieuses (TCID50). De façon inattendue, notre crible a aussi révélé une activité facilitatrice de la réplication de WNV pour une famille de molécules. Celle-ci était dose-dépendante et a, elle aussi, été confirmée par quantification des ARN viraux et des particules virales infectieuses. Cet effet pro-viral n'a cependant pas été observé dans d'autres types cellulaires infectés par WNV. Au contraire, ces mêmes molécules inhibaient la réplication de WNV dans les cellules VERO, A549 et dans les cellules progénitrices neurales humaines (hNPCs). Nos résultats montrent donc des effets drastiquement opposés d'une même famille de molécules sur la réplication de WNV en fonction du type cellulaire utilisé et de son espèce d'origine. Globalement, ces travaux montrent notre capacité à identifier des molécules antivirales actives dans des cellules neurales équine infectées par WNV et démontrent l'importance du choix du modèle cellulaire lors du criblage des molécules. Nous cherchons maintenant à comprendre les mécanismes moléculaires sous-tendant l'effet différentiel observé dans les EqNPCs et les hNPCs infectées par WNV.

## **P.34-Effets immunomodulateurs et antiviraux d'extraits d'algues sur des monocytes sanguins et des macrophages alvéolaires de porc.**

Auteur: Caroline Hervet-Limousin (BIOEPAR)

Résumé :

Le syndrome du complexe respiratoire porcin a un fort impact économique sur le secteur de l'élevage porcin, ainsi qu'une répercussion nette sur le bien-être des animaux, conduisant à une surutilisation des molécules antimicrobiennes. Les extraits d'algues utilisés dans les traitements à court terme sont empiriquement reconnus par les éleveurs comme ayant un effet positif sur la santé des porcs, mais leurs mécanismes d'action ne sont pas bien connus et des recherches supplémentaires sont nécessaires. Notre étude porte sur l'impact à court et moyen terme de trois extraits d'algues, in vitro, sur les réponses pro-inflammatoires et antivirales des monocytes sanguins primaires porcins et des macrophages alvéolaires, ainsi que la sensibilité des cellules traitées à l'infection par le virus du syndrome dysgénésique et respiratoire du porc (PRRSV) et le virus de la maladie d'Aujeszky (ADV). Tous les extraits ont présenté un effet pro-inflammatoire à court terme, associé pour deux d'entre eux, à une inhibition de la réplication du PRRSV. A l'inverse, les trois extraits ont présenté un effet anti-inflammatoire à moyen terme, sans impact sur la réplication du PRRSV. La modulation immunitaire observée nous incite à tester in vivo l'action anti-PRRSV des extraits d'algues et à renforcer l'intérêt pour cette ressource naturelle.

## **P.35-Challenges of engaging actors via a co- design process: the case of PREZODE (preventing zoonotic disease emergence) international initiative.**

Auteur: Helena Ladreyt (ASTRE)

Résumé :

PREZODE aims to catalyze joint actions to improve surveillance, risk mitigation and early warning systems for zoonoses emergence, adapted to local socio- economic contexts. An ambition of PREZODE is to be co-designed with all relevant stakeholders, between all health sectors, researchers, field operators, decision-makers - from local to international levels. This co-design process will allow to define the generic scientific and operational framework of the initiative and the specific modalities of its implementation in each region to prevent zoonotic disease emergence. Regional workshops following a standardized participatory method were implemented to 1) define a common vision of the initiative, its main objectives, expected impacts and obstacles; 2) identify the relevant actors and the changes in practices needed and 3) identify the activities to be implemented to promote such changes. The data generated from the workshops were literally transcribed and analyzed, accounting for participation and representativeness biases. In 2021, workshops were carried out in nine regions of Africa, Asia, America and Europe, gathering more than 1000 contributors, from research (59%), policy (27%), operational (8%) and private sectors (6%). The PREZODE common vision was expressed as “a world without pandemics, where food safety, environmental protection, zoonoses emergence surveillance is ensured by considering inclusion of communities in a local to global approach”. Main obstacles to reaching this vision including lack of intersectorality, political and socio- cultural

issues, cut across several regions. Explanations were also common to several main obstacles, such as the lack of bottom-up approaches and community inclusion, which therefore seem appropriate to work on in order to unblock sets of main obstacles. Results will allow identifying operational actions and research questions to develop PREZODE scientific strategic agenda, which will be validated by workshops participants, and will allow defining relevant activities to implement in the next 30 years to prevent zoonoses emergence risks.

## **P.36-Intestinal avian defensin 2 and robustness of chicks**

Auteur: Anne-Christine Lalmanach (ISP)

Résumé :

Poultry production is an important agricultural sector for human food worldwide. Chicks after hatch often face health problems leading to economical losses that are deleterious for breeders. Avian  $\beta$ -defensin 2 (AvBD2) is a prominent host defense peptide of the intestinal mucosa of caecum and is involved in the resistance of poultry to bacterial pathogens. This peptide could thus represent an innate immunity marker of robustness of birds. To test this hypothesis by comparing fast-growing and slow-growing lines in different conditions of breeding, the chick's caecal AvBD2 content was analysed according to robustness indicators. Chick's caecal tissue sections labelled by immuno-histo-chemistry with specific antibodies revealed the unexpected localization of AvBD2 in the mucosa with high individual variability, without showing differences attributable to quality indicators, but interestingly showing inverse correlation with plasma IgM levels in the fast-growing line. The availability of our anti-AvBD2 antibodies to the scientific community opens perspectives to identify the cellular sources of this defensin in the caecal mucosa and to investigate the organisation and function of innate immune arsenal of birds.

## **P.37-CoLab.IA, plateforme expérimentale d'ingénierie en Intelligence Artificielle**

Auteur: Jocelyn De Goër (EPIA)

Résumé :

Depuis ces dernières années, les méthodes d'Intelligence Artificielles dites « connexionnistes » et plus particulièrement les méthodes d'apprentissage profond (Deep Learning), ont permis d'améliorer significativement les tâches d'analyse et de classification de données dans de nombreux domaines. Malgré des recherches toujours actives et un état de l'art en perpétuelle évolution, ces méthodes deviennent de plus en plus exploitables et applicables et ceci dans de nombreux domaines scientifiques. Le projet CoLab.IA vise à mettre à disposition de la communauté INRAE, une plateforme d'ingénierie permettant d'accompagner les équipes souhaitant s'initier aux méthodes de Deep Learning et commencer à les utiliser au sein de leurs projets. Cette plateforme propose des ressources de calculs permettant le développement de réseaux de neurones artificiels et vise à initier une communauté autour des méthodes de Deep Learning en général.

## **P.38-Un projet pilote de production de poisson-zèbre à flore contrôlée, les premiers résultats**

Auteur: Dimitri Rigaudeau (IERP)

Résumé :

Le poisson-zèbre est un modèle majeur pour la biologie du développement, qui prend une importance croissante dans d'autres domaines tels que l'immunologie ou les interactions organisme- microbiome-pathobiome. La gestion sanitaire des animaleries « poissons modèles » est beaucoup moins avancée que les modèles murins (pas de référentiel FELASA) causant notamment des défauts de standardisation de l'élevage SPF (« specific pathogen free ») du poisson-zèbre. Cet impact est donc une source de variabilité biologique qui peut créer des difficultés de reproductivité dans le contexte des études sur les interactions hôte- microbes. Afin d'aborder cette problématique, L'IERP avec ses collaborateurs (UR VIM et Institut Pasteur) a initié la conception et la construction d'une installation pilote dédiée à la production de poissons - èbres axéniques et gnotobiotiques sur le campus de Jouy-en-Josas. Le projet affiche plusieurs objectifs techniques : la mise en place et l'optimisation d'un protocole de production et d'élevage de poissons-zèbres axéniques et gnotobiotiques, le développement de tests diagnostiques pour évaluer le statut sanitaire des animaux (prélèvements : tests microbiologiques et moléculaires) et la mesure de l'impact de ces conditions standardisées sur la production de lignées d'intérêt (sauvages, mutantes, immuno-déficientes) et sur des modèles expérimentaux multiples, en infectiologie ou intéressant d'autres disciplines. Les objectifs scientifiques sont de déterminer si la réimplantation précoce d'un microbiote connu dans des larves axéniques, éventuellement protecteur vis-à-vis de certaines infections, a un effet sur le développement de l'immunité et sur les réponses immunitaires innées (induction de cytokines...) et adaptatives (sous-ensemble de lymphocytes), d'analyser les modifications de la composition du microbiote intestinal sur plusieurs mois après l'implantation d'un microbiote défini, simple et/ou protecteur du poisson zèbre et d'étudier le développement du système immunitaire et de la susceptibilité à différentes infections bactériennes et virales jusqu'au stade adulte. L'année 2020 a été consacrée à la conception et à la construction du dispositif expérimental « salle blanche » permettant de travailler dans des environnements stériles. Puis le principal défi zootechnique a été l'intégration des différentes étapes de production dans ces conditions stériles puis contrôlées : stérilisation des œufs, maintien en condition axénique, nourrissage par alimentation stérile, colonisation de la flore contrôlée et élevage en condition confinée. Les premières expérimentations avec des poissons axéniques, gnotobiotiques et conventionnels maintenus jusqu'à 1 mois ont permis d'analyser l'expression des gènes de l'immunité, de mener des analyses comparatives sur le développement de ces différents animaux, et d'analyser la dynamique de colonisation de la flore bactérienne utilisée (MIX 10') pour la colonisation des larves de poissons-zèbres. Les principales perspectives seront (1) de produire des animaux jusqu'à la maturité (3 mois), (2) de tester la sensibilité de ces animaux à différentes infections en les comparant avec des animaux conventionnels et (3) d'ouvrir le dispositif à la communauté pour d'autres applications (ex : pré-screening d'aliment expérimentaux immunostimulants). Ce projet est soutenu par le département de Santé Animale, l'infrastructure nationale EMERG'IN, le GIS IBISA, le DIM1health et les Carnots F2E et MS pasteur.

## **P.39-A *Trichinella spiralis* new born larvae specific protein, Ts-NBL1, interacts with host's cell vimentin**

Auteur: Grégory Karadjian (BIPAR)

Résumé :

Background. The parasitic nematode *Trichinella* has a special relation with host as it has a unique intracellular location within the feeder cell which is a structure derived from skeletal muscle fibre. Ts-NBL1 is considered to be a key protein for early invasion and feeder cell formation in *Trichinella spiralis* infection. Yeast two-hybrid systems (Y2H) are widely used for detection of protein– protein interactions and this study will be the first time to report this approach for screening protein interactions of *Trichinella*. Material and Methods. In order to identify Ts-NBL1 interacting proteins in the host, a yeast two-hybrid technique was performed to screen the interactants of Ts-NBL1 in human cDNA libraries. The major identified potential interacting protein was further confirmed by GST co-affinity purification experiments. Results. A total of 193 cultured colonies were screened, and corresponded to 20 potential interacting proteins. Among these 193 colonies, vimentin was the most interesting potential interactor of Ts-NBL1 which was found in 25 yeast colonies. GST pull-down assay confirmed the interaction between Ts-NBL1 and vimentin. Further studies by qPCR evidenced that Ts-NBL1 up-regulates vimentin expression on mRNA level in mammalian cells. Conclusion. This study used for the first time Y2H technology to identify the host-pathogen interactions for *Trichinella* and confirmed vimentin as an important interactor for Ts-NBL1. The discovery of new host proteins interacting with Ts-NBL1 will help to suggest that Ts-NBL1 contributes to participate in the capsule formation and provide ideas for understanding the molecular and cellular mechanisms involved in the survival of *Trichinella* in the host.

## **P.40-Development of an aptamer-based test for *Trichinella* detection**

Auteur: Grégory Karadjian (BIPAR)

Résumé :

Aim: Trichinellosis is a zoonotic illness transmitted through the consumption of raw or undercooked meat products infested with the parasitic nematode *Trichinella* spp. It successfully evades immune detection in the early stages of infection and survives by encasing itself within the host's muscle cells. In this study, we employ an innovative and novel whole-larvae selection method to produce a set of *Trichinella spiralis* specific aptamers for diagnostic and potential therapeutic applications. Methods: Aptamers were selected from a synthetic single-stranded DNA (ssDNA) library composed of 10<sup>13</sup>- 10<sup>16</sup> random sequences by an iterative in vitro selection process termed Systematic Evolution of Ligands by EXponential enrichment (SELEX). After 15 rounds of SELEX, sequence library enrichment was estimated by comparing qPCR melting curves. Additionally, high- throughput sequencing (HTS) and bioinformatics analysis using PATTERNITY.seq were used to more accurately monitor sequence evolution. Results: qPCR melting curves display a shift from low to high melting temperatures, suggesting an increase in sequence pool homogeneity. These results were validated by HTS, revealing the presence of a 13-mer consensus sequence with a predicted stem-loop structural motif in 105 sequence families. Conclusions: From the PATTERNITY.seq method sequences of interest have been synthesized with a fluorescent label

for binding assays. Using confocal fluorescence microscopy, individual aptamers will be evaluated for their specificity to *Trichinella spiralis*.

## **P.41-Lab X'perience : poussez les portes de l'UMR PAnTher**

Auteur: Mélanie Marquis (PANTHER)

Résumé :

Type de résumés : table de démonstration À l'UMR PAnTher, nous avons engagé une réflexion collective sur les modalités de sensibiliser un public plus large sur nos préoccupations scientifiques, nos savoir-faire et aussi susciter des vocations chez les jeunes générations ? Plus précisément, nous nous sommes interrogés sur quels outils pourrions-nous développer afin de promouvoir la recherche et nos activités de laboratoire. C'est dans ce contexte que nous avons créé un jeu sérieux, outil de vulgarisation innovant, pour faire découvrir une des thématiques scientifiques de notre laboratoire et la diversité des métiers de la Recherche. Dans le cadre des Journées d'Animation Scientifique du Département Santé Animale du 18 au 20 octobre prochain, nous vous proposons de faire une démonstration du prototype de notre jeu collaboratif "Lab X'perience" avec l'animation d'une table de jeu. Cette première création de notre laboratoire miniaturisé, offre une formule scénarisée pour sensibiliser sur les mécanismes biologiques qui interviennent dans une maladie rare. Il s'agit donc d'un jeu de découverte sur les différentes activités exercées dans un laboratoire de recherche : chaque joueur incarne un scientifique. L'objectif est de réaliser des expériences, tirer des conclusions et essayer de répondre à une question scientifique à l'aide d'un cahier de laboratoire, un livret de connaissances (lexique) et de cartes compétences.

## **P.42-CiTIQUE : un programme de science et recherche participative visant à caractériser le risque tique en France**

Auteur: Philippe Lecomte (EPIA)

Résumé :

CiTIQUE est un programme de science participative créé en 2017 dont le but principal est d'étudier l'écologie des tiques et des agents pathogènes transmis par les tiques. Son principe repose sur une collaboration étroite avec le citoyen, qui peut déclarer sa piqûre de tique sur une application dédiée (« signalement tique »), envoyer les tiques piqueuses au laboratoire Tous chercheurs de Nancy puis contribuer à l'analyse et à la caractérisation du statut sanitaire des tiques récoltées.

## **Session 3 : Interactions vertébrés/invertébrés-agents pathogènes et environnement**

### **P.43-Étude de l'implication de PB1-F2 dans la pathogénicité des virus influenza de type A**

Auteur: Elise Bruder (VIM)

Résumé :

Parmi ces facteurs de virulence, PB1-F2 est une petite protéine de 90 acides aminés découverte en 2001. Bien qu'associée à l'exacerbation de la pathogénicité chez les mammifères, la fonction et les mécanismes d'action de PB1-F2 restent flous. Bien que 95% des souches aviaires expriment PB1-F2, il a été observé une co-circulation de 2 souches H5N8 (virus aviaires) qui expriment (Pologne) et n'expriment pas PB1-F2 (Tarn) en 2016. Une étude de transmissibilité du virus en modèle furet (collaboration avec l'hôpital St Jude à Memphis, USA) va être réalisée avec ces 2 souches afin de mieux comprendre l'implication de PB1-F2 dans ces phénomènes. Une étude similaire est également en cours de réalisation sur le modèle canards en collaboration avec l'ANSES de Ploufragan. Pour finir, différentes mutations de PB1-F2 ont été décrites dans la littérature comme étant impliquées dans l'exacerbation de la pathogénicité virale et la sévérité des infections bactériennes secondaires. J'étudierai l'effet de ces mutations en modèle viral H5N8 sur la pathogénicité et la réponse inflammatoire chez le modèle murin à l'aide de virus mutants générés par système de génétique inverse mais également à l'aide de protéines recombinantes. L'ensemble des résultats obtenus devraient nous permettre de mieux comprendre l'implication de PB1-F2 dans le potentiel zoonotique des souches émergentes d'IAV.

### **P.44-Rôle de SOCS-2 dans l'immunité anti- infectieuse : implication des macrophages**

Auteur: Laurence Guzylack-Piriou (IHAP)

Résumé :

Les protéines suppresseurs de la signalisation des cytokines (SOCS) régulent les réponses cellulaires induites par l'activation de certains récepteurs à des cytokines et à des facteurs de croissance. Au cours de ces dernières années, il est devenu de plus en plus évident que les protéines SOCS jouent un rôle important dans le maintien de l'homéostasie et la résolution des processus inflammatoires. L'implication de SOCS-2 dans différents mécanismes immunitaires a été décrite, mais son rôle dans l'immunité anti-infectieuse n'a pas été déterminé précisément. L'identification chez la brebis de la mutation R96C, qui conduit à l'invalidation fonctionnelle de SOCS-2, comme facteur de prédisposition aux mammites, est une réelle opportunité pour comprendre le rôle de cette protéine dans le contexte infectieux. Ainsi, nous avons développé un modèle de souris édité génétiquement pour exprimer la mutation SOCS2R96C, et caractérisé sa réponse immunitaire dans un modèle de péritonite à *Staphylococcus aureus* afin d'évaluer l'effet de la mutation sur le recrutement et la fonction de différentes populations cellulaires. Nos résultats ont permis de montrer que suite à une infection par la bactérie *S. aureus*, le nombre de neutrophiles et de macrophages inflammatoires F4/80<sup>int</sup> Ly6C<sup>+</sup> recrutés ainsi que les

concentrations d'IFN- et d'IL-10 dans la cavité péritonéale sont significativement plus élevés chez les souris KI par rapport aux souris WT. L'injection de bactéries tuées provoque également une augmentation significative du nombre de macrophages inflammatoires chez les souris KI. Afin de mieux comprendre l'implication de SOCS-2 sur l'activité des macrophages lors d'une infection, des macrophages dérivés de la moelle osseuse (BMDM) ont été différenciés in vitro et stimulés avec différents ligands du TLR2 dans des environnements cytokiniques modulant l'expression des protéines SOCSs. L'engagement de TLR2 par le ligand synthétique FSL1, ou la bactérie entière HKSA n'induit pas l'expression de SOCS-2 dans ces cellules. Les macrophages issus de souris KI sécrète une quantité significativement plus importante des cytokines pro- inflammatoires IL-6 et TNF- suite à l'activation du TLR2 mais seulement après pré-incubation des cellules en GM-CSF capable d'induire l'expression de SOCS2. Ces résultats suggèrent que SOCS2 a un rôle important dans le processus de recrutement des cellules immunitaires et dans la régulation de la production de différentes cytokines pro- inflammatoires en situation infectieuse. L'ensemble de ce travail permet d'apporter de nouvelles connaissances concernant la protéine SOCS2 et plus précisément son implication dans la réponse des macrophages au cours de l'infection.

## **P.45-Quantification des antibiotiques dans les matrices biologiques et environnementales : vers un usage raisonné en élevage.**

Auteur: Marlène Lacroix (INTHERES)

Résumé :

L'élevage d'animaux pour la production alimentaire a entraîné, ces dernières décennies, une augmentation de l'utilisation des médicaments vétérinaires, et notamment des antibiotiques. Mal utilisés, ces antibiotiques peuvent favoriser l'apparition de résistances bactériennes. Ces résistances représentent à la fois un risque pour la santé des animaux traités et pour la santé humaine et environnementale. Ainsi en 2017, la Commission européenne a adopté un plan d'action « One Health », i.e. « Une seule santé », afin de promouvoir de nouvelles solutions pour traiter les maladies infectieuses, améliorer le diagnostic et contrôler la propagation de l'antibiorésistance. Il est alors impératif de développer de nouvelles stratégies thérapeutiques minimisant l'utilisation d'antibiotiques tout en préservant la santé et le bien-être de l'Homme et des animaux. C'est un des objectifs du projet sino-européen HealthyLivestock qui a pour mission de documenter l'exposition et la dissémination des antibiotiques dans les élevages de porcs et de poulets en Europe et en Chine après un traitement collectif des animaux via l'eau de boisson. Lors de ces traitements, l'évolution des concentrations en antibiotiques au cours du temps a été déterminée dans le plasma des porcs et des poulets traités et dans les abreuvoirs. Ces suivis ont été réalisés par U-HPLC/UV car les concentrations attendues, sont compatibles avec les sensibilités de la détection UV. Des lisiers ont également été collectés dans des élevages de plusieurs pays européens (Grèce, Italie, Chypre, Pays- Bas et France) pour évaluer leurs teneurs en antibiotiques. En effet, ils peuvent représenter une source de contamination de l'environnement aux antibiotiques lors de leur épandage. Pour ces lisiers, c'est une méthode U- HPLC/MS/MS qui a été développée pour quantifier à l'état de résidus les antibiotiques les plus couramment utilisés en élevage. Ces analyses permettant de combiner des données sur les concentrations en antibiotiques dans le plasma, dans l'eau et dans les effluents d'élevage ont montré 1) que certains antibiotiques n'étaient pas suffisamment solubles dans l'eau pour permettre un traitement efficace des animaux, 2) qu'il existait une grande variabilité interindividuelle des concentrations

plasmatiques chez les animaux pouvant conduire à une sur- ou une sous-exposition de ces animaux et à des échecs thérapeutiques, et 3) que certains antibiotiques persistaient dans les lisiers confirmant le risque de contamination environnementale. Ainsi, l'ensemble de ces résultats a mis en évidence la nécessité d'améliorer l'usage des antibiotiques en optimisant les posologies, formulations et/ou les voies d'administration afin d'assurer une meilleure efficacité en élevage avec une dissémination environnementale réduite.

## **P.46-Impact of physicochemical parameters of child or adult digestive tract on *Cryptosporidium parvum* infection**

Auteur: Sonia Lamandé (ISP)

Résumé :

*Cryptosporidium parvum* is responsible for a zoonotic disease affecting both human health and livestock. The parasite infects its host through the oral route and develops in ileal epithelial cells, leading to acute and sometimes lethal diarrhoea. The severity of cryptosporidiosis is closely related to the immune status of its host, young ruminants, infants, and immunocompromised individuals being more susceptible. Other non-immune-related factors, such as digestive physicochemical properties, can also vary widely with age but their contribution to infection establishment in young individuals has never been investigated. In vitro digestion models have been designed and validated to study the fate of orally ingested substances while closely mimicking the physiological processes occurring during digestion. Among the available systems, the dynamic and multicompartmental TNO gastrointestinal model (TIM-1) is currently the most complete simulator of the human upper gastrointestinal tract. The TIM-1 was used for a comparative study of *C. parvum* infection under adult and young children digestive conditions. The TIM-1 was programmed to reproduce both physicochemical digestive conditions upon simulated ingestion of a glass of mineral water, which was experimentally contaminated with *C. parvum* oocysts. The parasite excystation kinetics throughout the course of the in vitro digestion was determined by flow cytometry analysis. Parasite invasion ability was assessed after reinoculation of sporozoites collected from the TIM-1 onto HCT-8 cells. A luciferase reporter gene assay was also used to follow sporozoite activity throughout the digestive process. Our data show that the parasite excystation rate is almost maximal in the duodenal compartment, one hour after the beginning of digestion in the TIM-1. However, a higher number of parasites reaches the distal ileal compartment while protected in their oocyst shell upon simulation of child compared to adult digestive conditions. This suggests that a lower amount of sporozoites is released in the small intestine in children, nevertheless, the luciferase activity expressed by these free stages in the ileal compartment is significantly higher in children compared to adults. Invasion assay performed on HCT-8 cells suggests that only sporozoites collected in the ileum after three hours of digestion are able to invade host cells. Our study is the first one exploring the impact of different digestive conditions on *Cryptosporidium* using a sophisticated gastrointestinal model. A global transcriptome analysis by RNA-Seq is also being performed on samples collected during in vitro digestion to identify parasite genes that are differentially expressed under child and adult digestive conditions.

## **P.47-A first insight into tick neurosecretory system: cholinergic receptors, neuropeptides, and axonal projections**

Auteur: Caina Ning (BIPAR)

Résumé :

The neurosecretory system of arthropods plays a crucial role in regulating their key physiological activities. However, current knowledge about the tick neuroendocrine system along the neurohemal release sites remains obscured. The insect neurosecretory system consists of several distinct sets of neurosecretory cells in the protocerebrum, with axons extending to the endocrine glands corpora cardiaca or corpora allata that serve as neurohemal release sites of these neurosecretory substances. Although, it seems that tick central and peripheral nervous systems developed convergently with insect, there are evident morphological and functional differences. Here, we molecularly identified two different types of muscarinic acetylcholine receptors (mAChR type A and B) in the European vector of *Borrelia*, the tick *I. ricinus*. Both receptors were expressed in mammalian cell line, and our reporter systems revealed that stimulation of mAChR-A triggers intracellular Ca<sup>2+</sup> mobilization, whereas that of mAChR-B leads to cAMP elevation. The pharmacology profiles of these receptors was then detailed by screening of a high number of putative cholinergic agonists and antagonists. The affinity-purified antibodies targeting specific epitopes of each receptor revealed prominent neurosecretory cells in the anterior protocerebral part of the *Ixodes* central nervous system, the synganglion. Specifically, mAChR-A was detected in three pairs of lateral protocerebral neurons, while mAChR-B was found in four pairs of medial protocerebral neurons. Robust immunoreactive axons exit these cells to form a rich arborization in the posterior-lateral region of the dorsal synganglion surface. Interestingly, the double immunostaining revealed that mAChR-B positive cells and their axonal projections also co-express two classes of neuropeptides, kinin and myosupressin. Furthermore, an immunogold staining marked the mAChR-B and myosupressin-positive axon terminals within the dorsal synganglion neurilemma, indicating that these axon terminals are likely to be neurohemal release sites. The colocalization of cholinergic receptor(s) with neuropeptides in neurosecretory cells, as well as in their synganglion- surface axonal arborization, suggests an acetylcholine-triggered release of neuropeptides hormones to the tick circulatory fluid, the hemolymph. Our pioneer study gives a first insight into the unique tick neurosecretory system that likely evolved as an adaptation to their parasitic lifestyle, and thus will promisingly serve as a potential acaricide target. With the worldwide increase of acaricide resistance, our study supports the demand of new pest control strategies for both medical and veterinary interests.

## **P.48-Dietary *S. cerevisiae* yeast $\beta$ -glucans improve the resolution of *E. coli*- associated inflammatory responses independently of monocytes/macrophages immune training**

Auteur: Guillaume Tabouret (IHAP)

Résumé :

Confronted to the emergent threat of antimicrobial resistance, the development of alternative strategies to limit the use of antibiotics or to potentiate their effect through synergy with immune system is mandatory. Many natural or synthetic biological response modifiers have been investigated in this perspective. Amongst these candidates,  $\beta$ -glucans, a type of soluble or

insoluble polysaccharides made of a linear or branched string of glucose that are produced by various cereals, bacteria, algae, inferior (yeasts) or superior fungi (mushrooms) have retained interest of the scientific community with not less than 10.000 publications over the last two decades. Various biological activities of  $\beta$ -glucans have been reported such as anticancer, antidiabetic, anti-inflammatory and immune-modulating effects. Yeast  $\beta$ -glucans are known to dramatically increase, at least in vitro, cytokine secretion of monocytes/macrophages during a secondary challenge, a phenomenon called immune training. In this study, we delivered orally  $\beta$ -glucans derived from the yeast *S. cerevisiae*. This supplementation protected mice from *E. coli* intraperitoneal and intramammary challenges as evidenced by lower bacterial burden and greatly diminished tissue damage. Surprisingly, this was not associated with an increased local immune response. In contrast, granulocytes recruitment was transient and limited as well as the local cytokine secretion arguing for a faster resolution of the inflammatory response. Furthermore, ex vivo evaluation of monocytes/macrophages isolated or differentiated from  $\beta$ -glucans supplemented mice showed that these cells did not show a trained response as compared to control. In conclusion, dietary  $\beta$ -glucans may improve bacterial infections outcome but mechanisms associated to this protection are not necessarily linked to immune system hyper-activation or immune training.

## **P.49-Development of an in vitro biofilm model for the study of the impact of fluoroquinolones on sewer biofilm microbiota**

Auteur: Delphine Bibbal (INTHERES)

### Résumé :

**Introduction and objectives** Biofilms covering internal walls of sewers are likely to constitute hot spots for accumulating antibiotic-resistant bacteria and genes. The objective of this study was to optimize culture conditions allowing to obtain an in vitro biofilm mimicking sewer biofilms. **Materials and Methods** Sewer biofilm and wastewater were sampled at the entrance of a wastewater treatment plant. In the laboratory, in vitro biofilms were produced on coupons in CDC Biofilm Reactors®, continuously fed with nutrient (R2A broth) and inoculum (1/100 diluted wastewater), at 21°C. Different culture conditions were tested: (i) initial inoculum: diluted wastewater with or without sewer biofilm, (ii) coupon material: concrete vs polycarbonate, and (iii) time of culture: 7 vs 14 days. Bacterial counts, taxonomic composition and fluoroquinolone resistance of the microbiota from environmental samples and in vitro biofilms were characterized and compared. **Results, discussion and conclusion** 16S rRNA gene and bacteria quantification revealed that the biomass was the highest when in vitro biofilm was formed on concrete coupons. 16S rRNA gene sequencing and analysis revealed that the addition of sewer biofilm to the initial inoculum and that the material coupon did not affect the taxonomic diversity. The taxonomic composition of environmental samples differed: Campylobacteres dominated in wastewater, whereas they were in minority in the sewer biofilm. In vitro biofilms were dominated by Enterobacterales. Regarding fluoroquinolone resistance, the percentage of ciprofloxacin-resistant bacteria was below 10% in environmental samples. The percentage of ciprofloxacin-resistant bacteria collected from in vitro biofilms was below 2% whatever the tested conditions. Quantification of qnrA, S, B and D genes showed that the relative abundance of these genes was higher in in vitro biofilms than in sewer biofilm. Preliminary results obtained on 9 samples showed that the taxonomic affiliation obtained by Shotgun Metagenomic Sequencing and analyzing was globally consistent with that obtained by 16S rRNA gene analysis. This study allowed determining

the culture conditions to develop an in vitro model of sewer biofilm. It could be used to clarify the role of sewer biofilms in disseminating resistance to fluoroquinolones in the environment.

Funding: PNREST Anses, 2020/01/142

## **P.50-Signatures immuno-metabolomiques des cellules immunitaires innées bovines**

Auteur: Delphyne Descamps (VIM)

Résumé :

L'immunométabolisme est un domaine de recherche émergent qui explore le dialogue dynamique entre les voies métaboliques bioénergétiques et les cellules du système immunitaire. Cette approche apporte une nouvelle dimension dans notre compréhension des défenses de l'hôte face à l'infection. Bien qu'étant un champ de recherche en pleine expansion en santé humaine, l'immunométabolisme reste très peu exploré chez le bovin. Le projet MetaBov a pour but de caractériser les signatures transcriptomiques et métaboliques de cinq types cellulaires de l'immunité innée d'intérêt dans les pathologies bovines : les macrophages alvéolaires du poumon, les neutrophiles sanguins avec deux sous-populations distinctes, et les macrophages et cellules dendritiques de l'intestin. Ces cellules ont été isolées à partir de 6 veaux Holstein âgés d'environ une semaine, animaux dont nous disposons dans le cadre d'un autre projet. Les macrophages alvéolaires ont été isolés des lavages broncho- alvéolaires grâce à leurs propriétés d'adhésion rapide ; tandis que les neutrophiles sanguins, les macrophages intestinaux et les cellules dendritiques intestinales ont été triées par cytométrie en flux grâce à leurs marqueurs de surface spécifiques. Le transcriptome et le profil métabolique de ces types cellulaires ont été analysés à l'état basal et suite à une exposition au vaccin vivant atténué Bacille de Calmette Guérin (BCG), connu pour modifier le profil métabolique des cellules immunitaires. Selon la pertinence du type cellulaire, des stimulations par le Virus Respiratoire Syncytial (VRS) ou par un ligand ciblant les récepteurs de l'immunité innée TLR2- NOD2 ont été réalisées pendant 2h ex vivo. Grâce aux données de RNAseq obtenues à partir des culots cellulaires et des métabolites dosés dans les surnageants de culture par spectrométrie LC-MS, nous allons : 1- Définir les signatures transcriptomiques et métabolomiques de chaque type cellulaire à l'état basal ; 2- Comparer les signatures des différents types cellulaires circulants ou dans différents organes (poumon vs intestin) ; 3- Analyser les similarités et différences entre les cellules des voies biologiques modifiées par une exposition à un agent infectieux ou un immunostimulant. Nos premières analyses mettent en avant des caractéristiques transcriptionnelles discriminantes et des différences majeures à l'état basal entre les cellules immunitaires innées. L'analyse de réseau de coexpression de gènes pondérée (WGCNA) a trouvé 16 modules significativement associés aux types de cellules. Parmi ceux-ci, des modules spécifiques aux cellules ont été trouvés, ce qui suggère une capacité de réponse différentielle entre ces types de cellules. L'étude de la réponse transcriptomique et des modifications du métabolisme des cellules immunitaires bovines dans un contexte d'exposition au BCG, ou au VRS ou au ligand TLR2- NOD2 est en cours. Ces analyses sont un prérequis indispensable pour proposer de nouvelles stratégies thérapeutiques innovantes dirigées vers l'hôte notamment en orientant l'induction des voies métaboliques pour lutter contre les agents infectieux.

## **P.51-Development of in vitro model of the trained immunity by non-immune cells during Staphylococcus aureus infection.**

Auteur: Sandrine Péron (STLO)

Résumé :

Trained immunity was recently defined as one form of adaptation of innate host defense that is characterized by the capacity of an organism to develop an intensified response on the second stimulation independent of the adaptive immunity. Mechanisms of the trained immunity comprise epigenetic reprogramming of transcriptional pathways associated with deep alterations of intracellular metabolism. While the mechanisms of the trained immunity carried by immune cells are largely investigated, the knowledge about non-immune cells, which possess immunological memory, is scarce. An opportunistic pathogen, *Staphylococcus aureus*, is responsible for the multitude of human diseases, including pneumonia, endocarditis and osteomyelitis or animals, such as chronic cattle mastitis that is extremely difficult to treat. An induction of trained immunity may be considered as a therapeutic alternative during *S. aureus* infection. Additionally, to known inducers, probiotics may represent good candidates for the induction of the trained immunity. In the current work, we investigated the development of trained immunity by non-immune cells against *S. aureus* bacteria using human osteoblast-like MG-63 cells and lung epithelial A549 cells. A production of proinflammatory cytokines, IL-6 and IL-8, as well as histone modifications after an exposure of cells to different inducers, such as  $\beta$ -glucane or MDP, were analyzed in order to evaluate the trained immunity during *S. aureus* infection. We described optimal conditions for in vitro analysis of the trained immunity in non-immune cells during *S. aureus* infection. We observed that training of both cell lines increased IL-6 and IL-8 production on secondary stimulation with *S. aureus* additionally to the alteration of histones modifications suggesting epigenetic reprogramming. The capacity of *Lactococcus lactis* to induce trained immunity were evaluated. An exposure of cells to *L. lactis* resulted in increased IL-6 and IL-8 production on secondary stimulation with *S. aureus*. The current study improves our understanding of innate memory of non-immune cells and may lead to the development of alternative therapeutic approaches for the prevention of *S. aureus* infection.

## **P.52-Staphylococcus aureus induces DNA damage in host cell that may exert patho-physiological dysfunctions**

Auteur: Nadia Berkova (STLO)

Résumé :

Eukaryotic cells are exposed to environmental and endogenous factors that induce DNA damage, thus affecting genomic integrity. The host cells counteract the consequences of lesions by DNA damage response and checkpoint systems that repair DNA structure or trigger cell death when DNA is irreparably damaged. *S. aureus*, a highly versatile gram-positive bacterium, can cause a multiplicity of human diseases ranging from mild superficial skin to life-threatening disseminated infections. *S. aureus* is one of the most prevalent pathogens that cause chronic ruminant mastitis that is very difficult to treat. Epithelial cells are able to sense microbes, creating an early line of defense against pathogens. Chronic *S. aureus* infection is likely to be associated with the internalization of the pathogen by host cells, where bacteria are protected from host defenses. Host cell cycle alteration is one of the highly sophisticated mechanisms pathogens use to hijack

the main (defense) functions of the host cells, thus promoting their invasion and colonization. Recently we have shown *S. aureus*-induced cell cycle alteration in human and bovine epithelial cells. We aimed to investigate whether *S. aureus* can compromise host genomic integrity. We found that *S. aureus* can compromise host genomic integrity as indicated by bacteria-induced histone H2AX phosphorylation, a marker of DNA double strand breaks, in human epithelial HeLa cells and osteoblast-like MG-63 cells. This DNA damage is mediated by alpha phenol-soluble modulins (PSM $\alpha$ 1– 4), while a specific class of lipoproteins (Lpls), encoded on a pathogenicity island in *S. aureus*, dampens the H2AX phosphorylation thus counteracting the DNA damage. We demonstrated that this DNA damage is mediated by ROS (reactive oxygen species). DNA damage is followed by the induction of DNA repair that involves the ATM kinase-signaling pathway. An examination of *S. aureus* strains, isolated from the same patient during acute initial and recurrent bone and joint infections, showed that recurrent strains produce lower amounts of Lpls, induce stronger DNA-damage and prompt the G2/M transition delay to a greater extent that suggest an involvement of these mechanisms in adaptive processes of bacteria during chronicization. Our findings suggest that aureus infection has an impact on the genome and epigenome of host cells, which may exert patho-physiological dysfunctions and indicate that the balance between the levels of PSM $\alpha$  and Lpls expression impacts the persistence of the infection.

## **P.53-Babesia sp. FR1, un nouvel agent responsable de babésiose humaine en France, plus proche des souches américaines du groupe Babesia sp. MO1 que de B. divergens**

Auteur: Claire Bonsergent (BIOEPAR)

Résumé :

En Europe, *B. divergens*, agent pathogène zoonotique, est responsable de la grande majorité des cas de babésiose humaine sévère chez les individus immunodéprimés. En 2017, un cas clinique chez un humain splénectomisé ayant séjourné sur l'île de Ré a retenu notre attention car l'évolution des symptômes de babésiose n'était pas aussi fulgurante que décrit habituellement. Le séquençage du gène de l'ARNr 18S, peu résolutif au niveau de l'espèce, a révélé effectivement que cet isolat nommé *Babesia* sp. FR1 était légèrement différent des isolats de *B. divergens*. Nous avons donc réalisé une analyse plus poussée de cet isolat et d'isolats français et américains du groupe phylogénétiquement proche de *B. divergens* : *B. divergens*, *B. capreoli* et *Babesia* sp. AR1 (souche de l'Arkansas appartenant au groupe américain de *Babesia* sp. MO1). Nous avons analysé des marqueurs beaucoup plus résolutifs que nous savions, par nos travaux précédents, être conservés au sein de l'espèce *B. divergens* : les gènes *ama-1* (apical-membrane-antigen 1) et *rap-1a* (rhoptry-associated-protein 1a), codant pour des protéines impliquées dans le processus d'invasion du globule rouge. Les analyses phylogénétiques confirment la séparation des espèces *B. divergens* et *B. capreoli* qui se différencient par des hôtes naturels différents, respectivement les bovidés et les cervidés. Pour les deux marqueurs, elles placent clairement *Babesia* sp. FR1 dans le cluster américain des souches de type *Babesia* sp. MO1 responsables de cas de babésiose humaine aux USA, et pas dans le cluster des souches de type *B. divergens*. La distribution géographique du groupe *Babesia* sp. MO1-like semble donc étendue à l'Europe. Le groupe comprenant *Babesia* sp. MO1 devrait également être considéré comme une espèce différente, avec comme hôte naturel les Léporidés comme démontré aux USA. Le rôle du lapin européen (*Oryctolagus cuniculus*) comme hôte de *Babesia* sp. FR1 sur l'île de Ré est fortement suspecté car il y était très abondant jusqu'en 2017, année de la piqûre. Le vecteur est probablement un ixode différent d'*I. ricinus*.

## **P.54-Aggravation d'une pathologie respiratoire bovine : Co-infection entre le virus influenza D et Mycoplasma bovis et activation de la cascade de signalisation RIG-I/MDA5**

Auteur: Mariette Ducatez (IHAP)

Résumé :

Chez les ruminants, les affections respiratoires sévères, principalement les bronchopneumonies infectieuses (BPI) et leur impact économique représentent un obstacle majeur à l'élevage des jeunes bovins. Ces affections sont fréquemment provoquées par la présence simultanée de plusieurs agents, virus et/ou bactéries. De récentes études ont montré, par des approches de PCR multiplex et de NGS (Next Generation Sequencing), une prévalence importante des virus respiratoire syncytial bovin (BRSV) et de Mannheimia haemolytica, deux agents pathogènes majeurs des BPI. Par ailleurs des agents infectieux à pouvoir pathogène qualifié de modéré, sont fréquemment détectés dans les poumons de veaux atteints de BPI, ce qui suggère une synergie possible entre ces agents. Il s'agit notamment de Mycoplasma bovis (M.bovis), de Pasteurella multocida, du coronavirus bovin (BCoV), du virus parainfluenza 3 bovin (BPi3V) et du virus influenza D (IDV). En 2018, dans un élevage français, nous avons identifié une association entre IDV et M.bovis dans 42% des écouvillons nasaux de veaux présentant des signes respiratoires. Ces résultats ont été confirmés dans d'autres élevages, ce qui suggère une association fréquente entre ces deux pathogènes. Notre hypothèse est que la fréquence et la sévérité des BPI pourraient être accentuées par des co-infections d'agents mineurs comme IDV et M.bovis. Pour répondre à cette hypothèse nous avons inoculé par nébulisation des veaux âgés de 1 à 2 mois avec une combinaison IDV et M.bovis. Par rapport aux groupes contrôles infectés avec un seul agent, la combinaison des deux agents a causé une augmentation de la fréquence et de la sévérité des signes cliniques. Ces derniers sont également apparus de manière plus précoce que ceux des groupes mono-infectés. Les animaux co-infectés présentaient des lésions macroscopiques et microscopiques de l'appareil respiratoire (cornets nasaux, trachée, poumons) plus importantes. Dans la trachée et les cornets nasaux, la co-infection a induit une perte de ciliature, une nécrose des épithéliums et une infiltration monocytaire plus importantes que lors de mono-infections. Ces différences ne sont pas associées à des différences de charges virales dans l'appareil respiratoire haut et bas entre les 3 groupes. Par contre Mycoplasma bovis a été retrouvé plus précocement et plus fréquemment dans l'appareil respiratoire haut et bas des veaux co-infectés. Une étude transcriptomique (RT-PCR Fluidigm) a montré, dans les lavages bronchoalvéolaires, (i) une surexpression précoce des gènes impliqués dans la réponse antivirale et inflammatoire dans le groupe infecté par IDV par rapport à celui infecté par M.bovis et (ii) dans le groupe co-infecté, ces gènes étaient plus fortement exprimés et ce tout aussi précocement. Seul l'interféron gamma été significativement surexprimé dans ce groupe par rapport aux groupes mono- infectés. Nous avons également étudié les effets de la co-infection entre IDV et M. bovis sur modèle ex vivo de culture organotypique " PCLS " (Precision-Cut Lung Slices). Des co-infections simultanées ont été reproduites expérimentalement, ainsi que des surinfections bactériennes et des surinfections virales. L'analyse de la réponse immunitaire innée montre qu'une infection par IDV suivie par M. bovis cause une diminution de la production de cytokines pro- inflammatoires (comme IL-1 $\beta$ ) et de l'enzyme iNOS, les deux essentielles pour une résolution de l'infection bactérienne. Des stimulations reproduisant les voies d'activation cellulaire (RIG-I et TLR2) induites par IDV et M. bovis ont également répliqué cet antagonisme, mettant en évidence le conflit entre ces deux voies d'activation comme possible

mécanisme expliquant la pathologie exacerbée observée lors de la co-infection in vivo. Des études d'imagerie confocale et de microscopie électronique à transmission ont également permis de mettre en évidence pour la première fois le tropisme pulmonaire de ces deux agents pathogènes. Ces données suggèrent qu'une combinaison entre IDV et M. bovis conduit à une inflammation, des dommages tissulaires et des signes cliniques plus sévères chez les veaux. Ainsi, des pathogènes mineurs, en association, peuvent jouer un rôle important dans l'apparition des BPI des jeunes bovins, avec pour mécanisme sous-jacent un conflit entre les voies d'activation de RIG-I et TLR2.

## **P.55-Transcriptomic studies suggest a role for necroptosis and pyroptosis but not for apoptosis, autophagic and ferroptosis neuronal death in TBEV-infected human neuronal/glia cells**

Auteur: François Piumi (VIRO)

Résumé :

Tick-borne encephalitis virus (TBEV) is a Flavivirus that causes a potentially fatal neurological inflammation, with thousands of cases reported annually. This virus is endemic in an area ranging from central Europe to Asia and there are currently no specific and effective therapies available. One of the major hallmarks of TBEV infection is its tropism for neurons followed by neuronal death. Unfortunately, so far, the underlying molecular mechanisms of the neuronal death remain poorly understood. To address this issue, we used a newly characterized in vitro model of TBEV- infected human neuronal/glia cells differentiated from fetal neural progenitor cells coupled to a transcriptomic approach based on RNA-seq. As expected, a broad and exhaustive "Ingenuity Pathway Analysis" (IPA) enrichment analysis of the host response to TBEV infection uncovered genes and pathways related to neuroinflammation, immune/adaptive antiviral responses and regulated cell death (RCD). Previous results from our team based on PCR arrays suggested that two types of RCD pathways, apoptosis and pyroptosis, concurred to damage TBEV-infected human neuronal/glia cells. Here, we give further evidence for the existence of multiple pathways involved in TBEV- induced neuronal death. RCD pathways analysis indeed further argue in favour of an important role of pyroptosis but it also introduces necroptosis as a second key player. It further suggests that apoptosis maybe involved to a lesser extent in neuronal death and that autophagy remains accessory, as well as ferroptosis, another major RCD pathway not yet investigated by our team. Blocking RCD pathways involved in neuronal death by the discovery of novel therapeutic targets and developing effective drug therapy is essential for the treatment of neurotropic viral infection, as neurons of the mature nervous system are not replaceable. These results may constitute per se the starting point of this exploration.

## **P.56-Dialogue moléculaire entre les virus de l'encéphalite à tiques et louping ill et leur arthropode vecteur, la tique *Ixodes ricinus***

Auteur: Sandrine Lacour (VIRO)

Résumé :

L'émergence de maladies virales transmises par les tiques est en nette augmentation depuis le début du XXI<sup>e</sup> siècle. La tique *Ixodes ricinus*, espèce majoritairement représentée en Europe, transmet notamment les virus de l'encéphalite à tique (TBEV) et Louping ill (LIV), responsables de méningo-encéphalites respectivement chez l'homme et les moutons. Bien que la transmission de ces virus par la tique soit connue depuis près d'une centaine d'années, les mécanismes qui permettent à la tique de répliquer les virus et de les transmettre à un hôte sont encore méconnus. Aussi, une meilleure compréhension du dialogue moléculaire entre le virus et son arthropode vecteur est un prérequis majeur dans la lutte contre les maladies vectorielles. Notre stratégie a consisté à établir une cartographie d'interactions entre les protéines virales de TBEV et LIV et les protéines d'*I. ricinus*. Cette cartographie a révélé l'interactions des protéines de TBEV et LIV avec différents modules protéiques des cellules de tique tels que des voies de signalisation contrôlant la transduction de signaux, la transcription, la dégradation protéique et des fonctions du cytosquelette. La tique, quant à elle met en place un moyen de lutte pour que le virus n'affecte pas ses traits d'histoire de vie. Cette lutte se traduit notamment par l'initiation et le maintien d'une réponse immunitaire. La réponse ARN interférence est décrite comme la voie antivirale majeure chez les arthropodes. Le séquençage des petits ARNs issus de cellules de tique infectées par TBEV et LIV et de tiques vivantes infectées par TBEV a montré qu'*I. ricinus* produisaient des petits ARNs de 22 nucléotides à partir des ARNs génomiques viraux. Le rôle des protéines de tiques qui interagissent avec TBEV et LIV, ainsi que celui des acteurs de l'immunité antiviral sera appréhender par l'inactivation de leur expression et l'impact sur le cycle viral. Ce programme de recherche vise à élucider les mécanismes moléculaires qui expliqueraient la capacité d'*I. ricinus* à répliquer et transmettre certains virus et pas d'autres.

Lemasson M., G. Caignard, Y. Unterfinger, H. Attoui, L. Bell-Sakyi, E. Hirchaud, S. Moutailler, N. Johnson, D. Vitour, J. Richardson, S.A. Lacour. Exploration of binary protein-protein interactions between tick-borne flaviviruses and *Ixodes ricinus*. *Parasites & Vectors*. 2021 14:144. <https://doi.org/10.1186/s13071-021-04651-3>

## **P.57-Cartographie comparative des interactions protéines-protéines entre deux flavivirus transmis par les tiques et leurs hôtes mammifères**

Auteur: Marion Sourisseau (VIRO)

Résumé :

Les maladies vectorielles, dont celles transmises par les tiques, présentent un fort risque d'émergence. En Europe, deux flavivirus transmis par les tiques, le virus de l'encéphalite à tiques (TBEV) et le virus Louping Ill (LIV), sont responsables de maladies neurologiques graves chez l'homme et le mouton, respectivement. Ces virus représentent à l'heure actuelle une menace majeure pour la santé humaine et animale. Cependant, une compréhension moléculaire limitée

de leur pathobiologie ralentit le développement de nouvelles stratégies de prévention et de contrôle. Comme pour tout virus, la survie de TBEV et LIV dépend de la subversion des processus biologiques de la cellule hôte et de l'échappement à ses défenses antivirales. Le détournement de la machinerie cellulaire au profit du virus est largement réalisé par des interactions binaires entre protéines virales et protéines hôtes. De telles interactions protéine-protéine (PPI) constituent des déterminants moléculaires essentiels aux caractéristiques pathobiologiques de ces virus, telles que leur gamme d'hôtes, leur potentiel zoonotique et leur virulence, et représentent des cibles d'intérêt pour les thérapies antivirales. La caractérisation précise du réseau de PPI entre LIV et TBEV et leurs hôtes humains et ruminants est essentielle pour identifier les PPI responsables de leurs pathobiologies distinctes. Grâce à la méthodologie double hybride en levure, nous avons réalisé un crible à haut débit des interactions entre les protéines virales de TBEV et LIV et l'ensemble des protéines humaines et bovines. Nous avons mis en évidence de nombreuses interactions virus-hôte, dont certaines jamais caractérisées dans la littérature. Plusieurs interactions sont spécifiques d'un virus ou d'un hôte : elles pourraient représenter des déterminants clés impliqués dans la spécificité d'espèce de LIV et TBEV pour respectivement les ruminants et les humains. Pour définir l'impact de ces interactions sur la réplication virale, nous avons analysé leur rôle fonctionnel sur la réplication des deux virus grâce à une approche d'interférence à l'ARN en cellules humaines. Nous avons mis en évidence un panel de facteurs de dépendance et de restriction communs mais également spécifiques à LIV ou TBEV. Cette étude comparative devrait fournir une compréhension moléculaire des pathobiologies distinctes de TBEV et LIV. Plus généralement, elle pourrait mettre en lumière les stratégies par lesquelles les flavivirus transmis par les tiques contrôlent les processus cellulaires et provoquent des maladies, et finalement révéler des vulnérabilités virales qui pourraient être exploitées à des fins thérapeutiques.

## **P.58-Influence of the microbiota in the physiopathology of *Eimeria tenella* infection: focus on $\gamma\delta$ T cells.**

Auteur: Françoise I Bussière (ISP)

Résumé :

*Eimeria*, an obligatory intracellular parasite, is responsible for coccidiosis and leads to high economic impact in poultry industry. *Eimeria tenella* (*E. tenella*) is one of the most pathogenic strains infecting chickens. It colonizes the caecum leading to lesions and to an inflammatory response. A better characterization of the physiopathology of the infection would provide knowledge that could help to modulate the immune response and make it more effective or less deleterious. Neutralization of the pro-inflammatory cytokine IL-17A leads to the decrease in lesions<sup>1</sup>. Several lymphocytes can produce IL-17A, one of the stronger cell producers being  $\gamma\delta$  T-cells. Our objective was to study the importance of  $\gamma\delta$  T-cells in the physiopathology of caecal coccidiosis and the influence of the microbiota. For this purpose, in an original model of conventional and germ-free fast-growing chickens, we studied the evolution of leukocytes and  $\gamma\delta$  T cells with the infection and analysed the expression of several inflammatory mediators (IFN $\gamma$ , IL-17A and IL-22) in the caecal tissue and in sorted  $\gamma\delta$  T cells. Our results showed an increase in the number of leukocytes and  $\gamma\delta$  T-cells with the infection in conventional chickens. The analysis of different mediators of inflammation in caecal tissues at 7 days post infection showed an increase in mRNAs encoding IFN $\gamma$ , IL-17A and IL-22 which are cytokines produced in part by  $\gamma\delta$  T-cells. During the infection, the impact of microbiota on the physiopathology and more particularly on  $\gamma\delta$

T-cells were studied. Results showed that *E. tenella* associated-lesions are dependent on the microbiota as well as the IL-17A transcription in caecal tissues. Moreover, administration of microbiota to germ-free chickens at 4 days post- infection restored the caecal lesions and IL-17A transcription to a similar level to conventional chickens. Sorted  $\gamma\delta$  T-cells from infected animals did not express IL- 17A in germ-free compared to conventional chickens. Administration of microbiota restored the gene expression of this cytokine. Altogether, these data suggest that  $\gamma\delta$  T-cells may contribute to the physiopathology of *E. tenella* infection. A better characterization of these cells, especially during infection, will allow a better understanding of their contribution to the infection. Furthermore, an immunomodulation of these immune cells may then be able to prevent the negative consequences of the pathology.

1. Del Cacho, E. et al. IL- 17A regulates *Eimeria tenella* schizont maturation and migration in avian coccidiosis. *Vet. Res.* 45, 25 (2014).

## **P.59-The internal conduit system of the swine inverted lymph node**

Auteur: Nicolas Bertho (BIOEPAR)

Résumé :

Lymph nodes (LN) are the crossroad where naïve lymphocytes, peripheral antigens and antigen presenting cells contact together in order to mount an adaptive immune response. For this purpose, LN are highly organized convergent hubs of blood and lymphatic vessels that, in the case of B lymphocytes, lead to the B cell follicles. Herein take place the selection and maturation of B cell clones producing high affinity antibodies directed against various antigens. Whereas the knowledge on the murine and human LN distribution systems have reached an exquisite precision those last years, the organization of the antigens and cells circulation into the inverted porcine LN remains poorly described. Using up to date microscopy tools, we described the complex interconnections between afferent lymphatics and blood vessels, perifollicular macrophages, follicular B cells and efferent blood vessels. We observed that afferent lymphatic sinuses presented an asymmetric Lyve-1 expression similar to the one observed in murine LN, whereas specialized perifollicular sinuses connect the main afferent lymphatic sinus to the B cell follicles. Finally, whereas it was long thought that mature B cells egress from the inverted LN in the T cell zone through HEV, our observations are in agreement with mature B cells accessing the efferent blood circulation in the efferent, subcapsular area. This understanding of the inverted porcine LN circuitry will allow a more accurate exploration of swine pathogens interactions with the immune cells inside the LN structures. Moreover, the mix between similarities and differences of porcine inverted LN circuitry with mouse and human normal LN shall enable to better apprehend the functions and malfunctions of normal LN from a new perspective.

# Liste des partenaires

---



## **Phileo Lesaffre Animal Care**

137 Rue Gabriel Péri  
59703 Marcq-en-Barœul  
France  
Tel: +33 3 20 81 61 00  
Email: [info@phileo.lesaffre.com](mailto:info@phileo.lesaffre.com)  
Site : <https://phileo-lesaffre.com/fr>

---



## **Boehringer Ingelheim Santé Animale France**

29 avenue Tony GARNIER  
69007 LYON  
Tel: +33 4 72 72 30 00  
Email:  
[AHPVSanteanimaleFR.LYN@boehringer-ingelheim.com](mailto:AHPVSanteanimaleFR.LYN@boehringer-ingelheim.com)  
Site : <https://www.boehringer-ingelheim.fr/>

---



## **CEVA Santé Animale**

10 Avenue de la Ballastière  
33500 Libourne - France  
Tél : +33 5 57 55 40 40  
Fax : +33 5 57 55 41 10  
Site : <https://www.ceva.com/fr/>

---



### **Adisseo**

10, Place du Général de Gaulle  
92160 Antony  
FRANCE  
Tel: +33 1 46 74 70 00  
Site : <https://www.adisseo.com/fr/>



### **Innovative Diagnostics**

310 rue Louis Pasteur  
34790 Grabels, FRANCE  
email: [info@innovative-diagnostics.com](mailto:info@innovative-diagnostics.com)  
Phone : +33 (0)4 67 41 49 33  
FAX : +33 (0)4 67 45 36 95  
Site : <https://www.innovative-diagnostics.com/>



### **Syndicat de l'Industrie du Médicament et Diagnostic Vétérinaires**

11 rue des Messageries / 50 Rue de Paradis  
75010 Paris  
FRANCE  
Tel: +33 1 53 34 43 43  
Email: [contact@simv.org](mailto:contact@simv.org)  
Site : <https://www.simv.org/>



### **Société Française de Virologie**

Institut Pasteur  
25-28 rue du Dr. Roux  
75015 Paris  
FRANCE  
Site : <https://sfv-virologie.org/>



**Olmix Animal Care**

ZA du Haut du Bois

56580 BREHAN - FRANCE

Tel: +33 2 97 38 81 03

Email: [contact@olmix.com](mailto:contact@olmix.com)

Site : <https://www.olmix.com/>



# Life science to improve animal health and performance

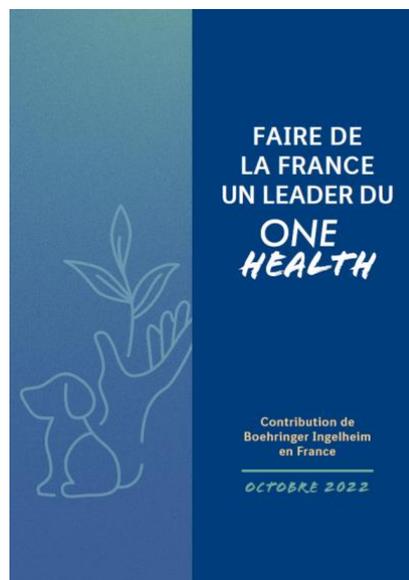
At Phileo, we believe in microorganisms and fermentation technologies to make a difference for a more sustainable future. By mastering microbiota and immunity, we offer our partners beneficial probiotics and functional ingredients to improve animal health and performance through nutrition.

Act with nature for animal care.

 **Phileo**  
by Lesaffre

Boehringer Ingelheim en France est à l'avant-garde de l'approche *One Health*. En 2021, nous avons rassemblé au sein de notre Do tank interne de nombreux collaborateurs afin de réfléchir sur cette thématique et ses implications, en particulier en France.

Ce groupe de réflexion s'est réuni six fois entre 2021 et 2022 pour travailler et s'accorder sur une position de Boehringer Ingelheim en France en faveur d'une approche décroisée de la santé. Plus qu'un Think tank, un Do tank a pour vocation d'être le moteur de la mise en œuvre des propositions qu'il développe. C'est pour cette raison que ce policy paper se veut le vecteur de l'action collective que nous allons mener avec les pouvoirs publics sur la manière de penser la santé : de manière globale, car nous avons la conviction forgée par l'expérience qu'une santé cloisonnée est une santé limitée. Les propositions détaillées dans ce policy paper serviront de pistes concrètes pour œuvrer au renforcement du *One Health* en France : c'est donc avec beaucoup de conviction que nous vous proposons de les découvrir :



<https://www.boehringer-ingelheim.fr/homepage/homepage/faire-de-la-france-un-leader-du-one-health>

### **A propos de Boehringer Ingelheim**

Boehringer Ingelheim développe des thérapies innovantes pour améliorer la qualité de vie des hommes et des animaux, aujourd'hui et pour les générations à venir. Entreprise biopharmaceutique axée sur la recherche, nous créons de la valeur par l'innovation dans des domaines où il existe des besoins médicaux importants encore non satisfaits. Entreprise familiale depuis sa création en 1885, Boehringer Ingelheim s'appuie sur une vision de long terme. Plus de 52 000 collaborateurs travaillent dans plus de 130 pays, dans trois activités : santé humaine, santé animale et fabrication biopharmaceutique pour le compte de tiers. Pour en savoir plus, rendez-vous sur [www.boehringer-ingelheim.com](http://www.boehringer-ingelheim.com).





Value through  
innovation\*

## *Une seule santé*

Depuis 135 ans, chez Boehringer Ingelheim, nous développons des thérapies innovantes pour améliorer la vie des hommes et des animaux.

Aujourd'hui, en France, 2 400 collaborateurs, de Lyon à Paris, en passant par Reims et Toulouse, font vivre cet engagement au travers d'une même vision : « **One Health** », une seule santé. Nous construisons des ponts entre santé humaine, animale et environnementale.

 [www.boehringer-ingelheim.fr](http://www.boehringer-ingelheim.fr)  
[www.makingmorehealth.org](http://www.makingmorehealth.org)

 @BoehringerFR  
 Boehringer Ingelheim

 **Boehringer  
Ingelheim**

\*Créer de la valeur par l'innovation

LaMa communication - Boehringer Ingelheim France S.A.S - 11/2021 - 19-0024 - Crédit photo Adobe Stock - Gillmann



**SPÉCIALISTE DU DIAGNOSTIC  
DES MALADIES INFECTIEUSES  
VÉTÉRINAIRES ET ZONOTIQUES**

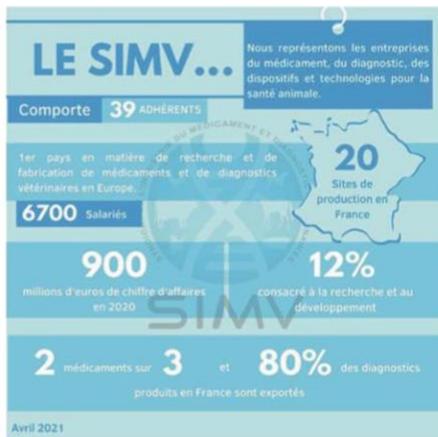


*With you at every step*

[www.innovative-diagnostics.com](http://www.innovative-diagnostics.com)



### Les chiffres clés du secteur



### Une implication dans l'écosystème de l'innovation

|  |   |   |  |
|--|---|---|--|
| <p>Alliance SIMV INRAE</p>   | <p>Rencontres de recherche en santé animale</p> | <p>Prix des sciences</p>                                | <p>Réseau Français pour la santé animale</p> |
| <p>Prix EcoAntibio</p> <p>Lauréats du Prix EcoAntibio – Édition 2022</p> | <p>DIM One Health</p>                           | <p>Conseil scientifique Carnot France Futur Élevage</p> | <p>Prix de l'innovation AFVAC</p>            |

# Algimun®

L'immunité grâce aux algues



Performances  
optimisées

Meilleure  
résistance  
aux stress

Association unique  
d'extraits de macroalgues  
biologiquement actifs (MSP®)

Thanks  
to algae!



[www.olmix.com](http://www.olmix.com)

