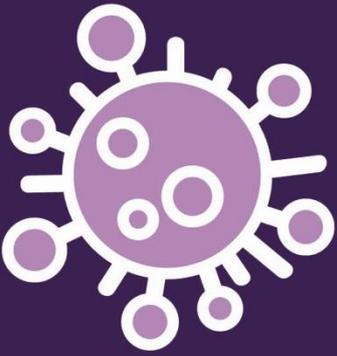


UNIVERSITÉ  
— PARIS EST  
SANTÉ & SOCIÉTÉ

6<sup>es</sup> Journées d'étude du pôle Santé & Société

# AGENTS INFECTIEUX ET VACCINS CHEZ L'HOMME ET L'ANIMAL



Recueil des abstracts

Mercredi 30 mars  
&  
Jeudi 31 mars 2016

Amphithéâtre d'honneur  
de l'École nationale  
vétérinaire d'Alfort



Membres du pôle Santé & Société :



Sous le parrainage de :



Avec le soutien de :





## ABSTRACTS DES COMMUNICATIONS DES 6<sup>es</sup> JOURNÉES D'ÉTUDE - SOMMAIRE

### JOURNEE « AGENTS INFECTIEUX »

|  |         |
|--|---------|
| 16S rRNA AMPLICON SEQUENCING FOR THE SURVEILLANCE OF BACTERIAL ZOOSES IN TICKS AND RODENTS, WITH POTENTIAL INTEREST FOR THE DISCOVERY OF NEW EPIDEMIOLOGICAL CYCLES AFFECTING ANIMALS AND/OR HUMANS – Jean-François COSSON | PAGE 5  |
| PRIMARY RESISTANCE TO HBV IN A LARGE POPULATION OF TREATMENT-NAIVE PATIENTS – Stéphane CHEVALIEZ   | PAGE 6  |
| MODÉLISATION DES INFECTIONS VIRALES DU SYSTÈME NERVEUX CENTRAL POUR LE DÉVELOPPEMENT DE THÉRAPIES ANTIVIRALES PAR CRIBLAGE À HAUT DÉBIT DE PETITES MOLÉCULES – Muriel COULPIER   | PAGE 7  |
| SCREENING OF TICK-BORNE PATHOGENS IN EUROPEAN TICKS USING HIGH-THROUGHPUT qPCR – Sara MOUTAILLER   | PAGE 8  |
| PRÉVALENCE DU VIRUS DE L'HÉPATITE E CHEZ LES PORCS DOMESTIQUES ET SAUVAGES DE CORSE ET ÉVALUATION DES TRANSMISSIONS ZONOTIQUES – Nicole PAVIO  | PAGE 9  |
| DONNÉES ULTRA-MASSIVES DE PROTÉOGÉNOMIQUE POUR EXPLORER LES ORGANISMES VIVANTS ET LA BIODIVERSITÉ – Jean ARMENGAUD   | PAGE 11 |
| ANTIBIOSIS EFFECT OF STENOTROPHOMONAS MALTOPHILIA ON ASPERGILLUS FUMIGATUS IN AN IN VITRO MODEL OF MIXED BIOFILM – Françoise BOTTEREL  | PAGE 12 |
| LE MICROBIOTE INTESTINAL COMME MARQUEUR POTENTIEL DU CANCER COLORECTAL (CCR) – Iradj SOBHANI   | PAGE 13 |
| EMERGING HORIZONS FOR TICK-BORNE PATHOGENS: FROM THE "ONE PATHOGEN-ONE DISEASE" VISION TO THE PATHOBIOME PARADIGM – Muriel VAYSSIER-TAUSSAT  | PAGE 15 |
| ÉTUDE PROSPECTIVE MULTICENTRIQUE (RADAR) DE LA RÉSISTANCE D'ASPERGILLUS FUMIGATUS AUX AZOLÉS EN FRANCE – Eric DANNAOUI   | PAGE 16 |
| RÉ-ÉMERGENCE DU VIRUS DE LA FIÈVRE CATARRHALE À SÉROTYPE 8 EN FRANCE – Stéphan ZIENTARA  | PAGE 17 |
| BARTONELLA HENSELAE ET MALADIE DES GRIFFES DU CHAT : DE L'ÉPIDÉMIOLOGIE À LA GÉNOMIQUE APPLIQUÉE AU SERVICE DU CONCEPT « ONE HEALTH » – Henri-Jean BOULOUIS  | PAGE 18 |
| APPROCHES INTÉRACTOMIQUES DANS L'IDENTIFICATION DE NOUVEAUX FACTEURS DE PATHOGÉNICITÉ ET DE FRANCHISSEMENT DE BARRIÈRE D'ESPÈCES POUR LE VIRUS DE LA FIÈVRE CATARRHALE OVINE – Damien VITOUR                               | PAGE 20 |

## JOURNEE « VACCINS »

|  |         |
|--|---------|
| DÉVELOPPEMENT DE VACCINS RECOMBINÉS EN SANTÉ ANIMALE – Jean-Christophe AUDONNET  | PAGE 21 |
| « MONSIEUR, VOUS N’ALLEZ PAS M’INJECTER UN VIRUS ? » - LES RÉINTERPRÉTATIONS DU PRINCIPE DE VACCINATION PAR LES VOLONTAIRES SAINS D’UN ESSAI VACCINAL PRÉVENTIF CONTRE LE VIH – Mathilde COUDERC | PAGE 23 |
| « LA VACCINATION, ÇA SE DISCUTE ? » – Caroline OLLIVIER-YANIV  | PAGE 24 |
| REPENSER LE CONCEPT DE « MOUVEMENT ANTIVACCIN » : LE CAS DE LA GRIPPE A – Jeremy WARD  | PAGE 25 |
| IMMUNOLOGICAL EFFICACY OF THERAPEUTIC VACCINATION IN CHRONICALLY HIV-1 INFECTED PATIENTS IS IMPACTED BY THE PROCESS AND THE ROUTE OF VACCINE ADMINISTRATION – Nabila SEDDIKI                     | PAGE 26 |
| DÉVELOPPEMENT D’UN VACCIN RECOMBINANT CONTRE LA TRICHINELLOSE PORCINE – Isabelle VALLÉE  | PAGE 27 |
| SCIENCE BEHIND EPIDERMAL AND DERMAL VACCINATION – Béhazine COMBADIÈRE  | PAGE 28 |
| PATHWAYS TO ANTIGEN EXPRESSION AFTER ORAL DELIVERY OF ADENOVIRUS-BASED VACCINES – Jennifer RICHARDSON  | PAGE 29 |
| IN OVO VACCINES BASED ON RECOMBINANT NETB TOXIN AND MONTANIDE TM IMS ADJUVANTS INDUCED PROTECTIVE IMMUNITY AGAINST NECROTIC ENTERITIS IN CHICKENS – Nicolas VERSILLE                             | PAGE 30 |
| LOW CONCENTRATIONS OF ALUMINUM HYDROXIDE ADJUVANT, FORMING LIMITED SIZE AGGREGATES, SELECTIVELY INDUCE CEREBRAL ALUMINUM INCREASE AND LONG-TERM NEUROTOXICITY IN MOUSE – Guillemette CREPEAUX    | PAGE 31 |
| RÔLE DES DNASEII DE TRICHINELLA DANS L’ÉCHAPPEMENT À LA RÉPONSE IMMUNITAIRE – Pascal BOIREAU   | PAGE 33 |
| INEFFICIENCY OF INFLUENZA VACCINATION IN COPD PATIENTS IS ASSOCIATED WITH DEFECT OF B CELL DIFFERENTIATION AND DECREASE OF IFN $\gamma$ CD4+ T CELLS PRODUCTION – Aurélien PARPALEIX             | PAGE 34 |
| AVIESAN ET LE SOUTIEN DE L’INNOVATION EN VACCINOLOGIE – Alice BOUSSELET  | PAGE 35 |

---

## 16S rRNA AMPLICON SEQUENCING FOR THE SURVEILLANCE OF BACTERIAL ZONOSSES IN TICKS AND RODENTS, WITH POTENTIAL INTEREST FOR THE DISCOVERY OF NEW EPIDEMIOLOGICAL CYCLES AFFECTING ANIMALS AND/OR HUMANS

COSSON J.F.<sup>1,3</sup>, GALAN M.<sup>3</sup>, BAILLY X.<sup>2</sup>, MOUTAILLER S.<sup>1</sup>, BLISNICK A.<sup>1</sup>, RAZZAUTI M.<sup>3</sup>, BARD E.<sup>2</sup>, VOURC'H G.<sup>2</sup>, CHARBONNEL N.<sup>3</sup>, VAYSSIER-TAUSSAT M.<sup>1</sup>

<sup>1</sup> INRA, UMR Bipar, Anses, Enva, 14 rue Pierre Curie, Maisons-Alfort, France

<sup>2</sup> INRA, EA, 63122 Saint Genès Champanelle, France

<sup>3</sup> INRA, CBGP, CS30016, 34988 Montferrier sur Lez, France

Several recent public health crises have shown that surveillance of zoonotic agents in wildlife is important to prevent pandemic risks. Rodents are reservoir hosts for numerous zoonotic tick-borne bacteria. High-Throughput Sequencing (HTS) technologies have a high potential for the detection and surveillance of zoonotic bacteria, but rigorous experimental processes need to be designed to use these low-cost and high-effective tools in such epidemiological contexts. Here we work out a procedure for deriving bacterial prevalence and co-infection using 16S rRNA amplicon sequencing on the MiSeq platform. Our procedure was compared with the primer-specific quantitative PCR, which is the standard gold approach in epidemiological surveys. The application of the 16S rRNA amplicon sequencing on 268 voles (*Myodes glareolus*) and 272 ticks (*Ixodes ricinus*) collected in the Ardennes region, France, allowed detection of emerging bacterial genus known (or suspected) to be pathogenic in humans and cattle. Four well-known tick- and rodent-borne pathogenic genera were detected (*Bartonella*, *Borrelia*, *Neohrlichia* & *Rickettsia*). In addition, unexpected and poorly known bacteria suspected to be possibly transmitted to humans and animals by arthropods were also found, some of them being in high prevalence while not still on the local public health service radar (*Mycoplasma*, *Orientia*, *Midichloria*, *Spiroplasma* & *Spirosoma*). The comparison with qPCR showed close agreement of both approaches for bacterial detection and prevalence estimates. Our study represents an important new step towards the use of HTS technologies for a better understanding of the risk of zoonotic disease transmission posed by wildlife. We provide a new strategy for the use of HTS platforms to monitor both bacterial diversity and infection dynamics in wildlife. 16S rRNA amplicon sequencing has the outstanding advantage (relative to other methods like qPCR) of addressing large spectra of bacterial pathogens with no *a priori* on their presence in samples. It is thus particularly suited to conduct continued pathogen surveillance in the frame of disease monitoring programs. This approach could easily be adapted for the monitoring other microbes like protists, fungi and even viruses in all types of samples.

---

## PRIMARY RESISTANCE TO HBV IN A LARGE POPULATION OF TREATMENT-NAIVE PATIENTS

CHEVALIEZ S.<sup>1</sup>, RODRIGUEZ C.<sup>1</sup>, POITEAU L.<sup>1</sup>, SOULIER A.<sup>1</sup>, CHEVALLIER P.<sup>2</sup>, LEROY V.<sup>3</sup>, BRODARD V.<sup>5</sup>, BROUARD C.<sup>4</sup>, LARSEN C.<sup>4</sup>, SEMAILLE C.<sup>4</sup>, PAWLOTSKY J.M.<sup>1</sup>, AND THE HEPATOLOGY REFERENCE CENTERS AND LABORATORIES NETWORK FOR CHRONIC HEPATITIS B SURVEILLANCE

<sup>1</sup> Virology & INSERM Unit U955, Henri Mondor Hospital, Créteil, France

<sup>2</sup> Hospices Civils de Lyon, Hôpital de la Croix Rousse, Laboratoire de Virologie Nord, NSERM U871, Lyon, France

<sup>3</sup> Centre de Recherche INSERM-UJF U823, Institut Albert Bonniot et Clinique Universitaire d'Hépatogastroentérologie, Pole Digidune, CHU, Grenoble, France

<sup>4</sup> National Institute for Public Health Surveillance (InVS), Saint-Maurice, France

<sup>5</sup> Laboratoire de Virologie, Service de Microbiologie, Hôpital Robert Debré, Avenue du General Koenig, 51092 Reims Cedex, France

**Background:** Resistance to nucleos(t)ide analogues (NUC) is the main cause of NUC treatment failures leading to disease aggravation and complications.

**Objective:** Our aim was to assess the prevalence of primary resistance to NUCs in a large cohort of treatment-naïve patients chronically infected with HBV by means of a highly sensitive method for the detection of minority viral populations.

**Patients and Methods:** More than 250 patients were included. The HBV reverse transcriptase domain (amino acid positions 66-271) was sequenced by means of ultra-deep pyrosequencing (UDPS). Results are available for the 183 first patients. More than 1,326,000 sequences were analyzed. Only substitution frequencies higher than the mean maximal error rate for the corresponding amino acid substitution plus 2 SDs were taken into account in the analysis.

**Results:** At baseline, 75 patients (40.3%) harbored HBV resistance-associated variants (RAV), generally in low proportions (0.3%-20%). 26.9%, 9.7%, 1.6%, 1.6% of the patients displayed RAVs representing less than 1%, 1%-5%, 5%-10%, 10%-20% of the viral quasispecies, respectively. 3 patients harbored RAVs that represented more than 20% of the quasispecies, including one A181V variant at 85%. None of the patients were found to harbor variants with both resistance and fitness mutations, which are generally selected on treatment at the sensitivity level of the technique. In addition, UDPS analysis revealed the presence of three hotspots of natural genetic variability (up to 50% variability) spanning positions 121-131, 216-221 and 266-271, regardless of the HBV genotype.

**Conclusions:** Primary HBV resistance to NUCs is frequent in treatment-naïve patients. These results further emphasize the need for using first-line therapies including NUCs with a high barrier to resistance.

---

## MODÉLISATION DES INFECTIONS VIRALES DU SYSTÈME NERVEUX CENTRAL POUR LE DÉVELOPPEMENT DE THÉRAPIES ANTIVIRALES PAR CRIBLAGE À HAUT DÉBIT DE PETITES MOLÉCULES

COCHET M.<sup>1</sup>, WELSCH J.<sup>2</sup>, MATHIEU C.<sup>2</sup>, AULNER N.<sup>3</sup>, DANCKAERT A.<sup>3</sup>, COULPIER M.<sup>1</sup>

<sup>1</sup> UMR 1161 INRA-ANSES-ENVA Virology, Ecole Nationale vétérinaire d'Alfort, Maisons-Alfort, France

<sup>2</sup> CNRS UMR5308 Immunobiology of viral infections, International Center for Infectiology Research (CIRI), Lyon, France

<sup>3</sup> Imagopole – Citech, Institut Pasteur, Paris, France

Des études récentes ont mis en évidence que la réplication de virus appartenant à différentes familles est partiellement dépendante de voies cellulaires communes. Cette découverte a permis d'envisager le développement de molécules antivirales à large spectre, actives sur plusieurs familles virales car ciblant les voies cellulaires plutôt que les virus eux-mêmes. Afin d'identifier de telles molécules, des systèmes de criblage à haut débit et sans a priori ont été développés ces dernières années. Si ces systèmes permettent le criblage très rapide d'un grand nombre de molécules, ils ne sont que très peu prédictifs d'un effet antiviral in vivo car la physiologie des cellules utilisées est très éloignée de celle des cellules différenciées infectées in vivo. Pour pallier ce problème, nous avons développé un modèle in vitro utilisant des cellules neurales primaires humaines dérivées de cellules progénitrices fœtales qui permet la modélisation des infections virales du système nerveux central (SNC) humain au plus proche de la réalité physiopathologique. Cette approche, combinée à des systèmes d'imagerie à haut débit permettant le criblage d'un grand nombre de molécules, se présente comme un outil puissant qui favorisera le développement rapide de molécules antivirales actives dans le SNC. Un exemple de modélisation d'infection par une souche neurotrophe du virus de la rougeole, analysée par imagerie à haut débit, sera présenté ici. Nous montrerons également que cette approche est applicable pour l'identification de molécules antivirales actives dans le SNC des équidés.

---

## SCREENING OF TICK-BORNE PATHOGENS IN EUROPEAN TICKS USING HIGH-THROUGHPUT qPCR

MICHELET L.<sup>1</sup>, DELANNOY S.<sup>2</sup>, DEVILLERS E.<sup>1</sup>, ASPAN A.<sup>3</sup>, CHIRICO J.<sup>4</sup>, VAN DER WAL F.J.<sup>5</sup>, SPRONG H.<sup>6</sup>, MANSFIELD K.<sup>7</sup>, KLITGAARD K.<sup>8</sup>, BØDKER R.<sup>8</sup>, FACH P.<sup>2</sup>, MOUTAILLER S.<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup> BIPAR JRU, Animal Health Laboratory, ANSES, Maisons-Alfort, France

<sup>2</sup> IdentityPath Platform, Food Safety Laboratory, ANSES, Maisons-Alfort, France

<sup>3</sup> Department of Bacteriology, National Veterinary Institute (SVA), Uppsala, Sweden

<sup>4</sup> Department of Virology, Immunobiology and Parasitology, National Veterinary Institute (SVA), Uppsala, Sweden

<sup>5</sup> Department of Infection Biology, Central Veterinary Institute, Wageningen UR, Lelystad, the Netherlands

<sup>6</sup> Laboratory for Zoonoses and Environmental Microbiology, National Institute for Public Health and Environment (RIVM), Bilthoven, the Netherlands

<sup>7</sup> Wildlife Zoonoses and Vector-Borne Diseases Research Group, Animal and Plant Health Agency (APHA), UK; <sup>8</sup> National Veterinary Institute, DTU, Copenhagen, Denmark

\*sara.moutailler@anses.fr ; 00331 49 77 46 50

Worldwide, ticks transmit more pathogens than other arthropods (around 60 bacteria, 30 parasites and 100 viruses; a third of them are responsible for zoonosis). Due to increased travel, climatic, and environmental changes, the incidence of tick-borne disease in both humans and animals is increasing throughout Europe. Therefore, extended surveillance tools are desirable. To accurately screen tick-borne pathogens, a large scale epidemiological study was conducted on 19,474 *Ixodes ricinus* nymphs collected from France, Denmark, Sweden, United Kingdom and the Netherlands using a powerful new high-throughput approach. This advanced methodology permitted the simultaneous detection of 25 bacterial, 12 parasitic and 22 viral species (including; *Borrelia*, *Anaplasma*, *Ehrlichia*, *Rickettsia*, *Bartonella*, *Candidatus Neoehrlichia*, *Coxiella*, *Francisella*, *Babesia*, *Theileria*, *Asfivirus*, *Thogotovirus*, *Orbivirus*, *Coltivirus*, *Nairovirus*, *Phlebovirus*, *Orthobunyavirus*, and *Flavivirus* genus) across 94 samples. We successfully determined the prevalence of expected (*Borrelia burgdorferi sensu lato*, *Anaplasma phagocytophilum*, *Rickettsia helvetica*, *Candidatus Neoehrlichia mikurensis*, *Babesia divergens*, *Babesia venatorum*, Tick-Borne Encephalitis virus, *Uukuniemi virus*), unexpected (*Borrelia miyamotoi*, Nairo-like virus) and rare (*Bartonella henselae*, *Eyach virus*) pathogens in the five European countries. Moreover we detected *Borrelia spielmanii*, *Borrelia miyamotoi*, *Babesia divergens*, and *Babesia venatorum* for the first time in Danish ticks. We also detected for the first time *Eyach virus* in ticks from the Netherlands and a Nairo-like virus in ticks from France and the Netherlands. This surveillance method represents a major improvement in epidemiological studies, able to facilitate comprehensive testing of tick-borne pathogens in ticks, mammals and humans, and which can also be customized to monitor emerging diseases. Indeed recent experiments have demonstrated the capacity of this high-throughput tool to detect tick-borne pathogens in animals and humans samples.

---

## PRÉVALENCE DU VIRUS DE L'HÉPATITE E CHEZ LES PORCS DOMESTIQUES ET SAUVAGES DE CORSE ET ÉVALUATION DES TRANSMISSIONS ZONOTIQUES

PAVIO N.<sup>1,2,3</sup>, LAVAL M.<sup>4</sup>, MAESTINI O.<sup>4</sup>, CASABIANCA F.<sup>4</sup>, CHARRIER F.<sup>4</sup>, JORI F.<sup>5,6</sup>

<sup>1</sup> ANSES, Animal Health Laboratory, UMR 1161 Virology, Maisons-Alfort, France

<sup>2</sup> INRA, UMR 1161 Virology, Maisons-Alfort, France

<sup>3</sup> PRES University Paris 12, National veterinary school, UMR 1161 Virology, Maisons-Alfort, France

<sup>4</sup> INRA, LRDE, Corte France

<sup>5</sup> UPR AGIRS, CIRAD, Campus International de Baillarguet, Montpellier 34398, France.

<sup>6</sup> Department of Animal Science and Production, Botswana College of Agriculture, Private Bag 0037, Gaborone, Botswana

**But du travail :** Les suidés domestiques et sauvages représentent un réservoir important du virus de l'hépatite E (VHE) dans les pays industrialisés. En France continentale, plusieurs cas d'hépatite E aiguë ont été associés à la consommation de spécialités de foie cru de porc (ficatelli) produites en Corse. Par ailleurs, la Corse représente une configuration unique pour la diffusion d'agents pathogènes entre les populations de porcs domestiques et sauvages. En effet, il existe différents systèmes d'élevages de porcs domestiques : fermés, semi-ouverts ou ouverts permettant des degrés variables d'interaction avec une population de sangliers abondante. De plus, il existe une libre circulation de cette population de suidés sauvages ainsi que d'animaux hybrides issus de croisement avec le cheptel domestique. Les objectifs de l'étude sont i) d'évaluer la prévalence du virus de l'hépatite E dans les populations de porcs domestiques, croisés et sauvages en Corse, ii) de rechercher les liens possibles avec des cas de transmissions zoonotiques.

**Méthodes :** Un total de 370 échantillons de sérum et 166 foies de sangliers, provenant de 28 lieux de chasse différents, ont été recueillis au cours de 3 saisons de chasse (2009, 2010 et 2012). Les sangliers ont été caractérisés comme purs ou croisés selon des caractéristiques phénotypiques définis (couleurs de la robe, oreilles ...). Par ailleurs, 208 échantillons de sérum, bile et/ou foie ont été collectés à l'abattoir entre fin 2013 et début 2014, sur des porcs domestiques, provenant de 30 élevages différents. Les données de localisation géographique et sur la nature des systèmes d'élevage (clos, semi-ouverts ou ouverts) ont été recueillies. Les séroprévalences ont été déterminées par ELISA et l'ARN du VHE a été recherché par RT-PCR en temps réel ou RT-PCR nichée pour séquençage. Une analyse phylogénétique des séquences amplifiées a été réalisée.

**Résultats :** Les anticorps anti-VHE ont été détectés dans 26% (IC à 95% [21 à 31,6% ]) des échantillons de sangliers purs, 43,5% (IC à 95% [31 à 56,7%]) des animaux croisés et 88% (IC 95% [82,6 à 91,9%]) des porcs domestiques. Des séroprévalences plus élevées sont retrouvées dans les élevages fermés. L'ARN du VHE a été détecté dans 5 échantillons de sanglier purs, 3 animaux croisés et 2 échantillons de porc. Des séquences identiques ont été retrouvées dans les deux populations, à plusieurs années d'intervalle et dans le même périmètre géographique, confirmant la circulation enzootique du VHE chez les suidés corses. Des identités de séquences très élevées (99%) ont été retrouvées avec celles de ficatelli ou de cas humains de France continentale.

**Conclusion :** Les résultats de cette étude montrent des niveaux de prévalence du VHE plus élevés dans les populations de porcs sauvages et domestiques de Corse que sur le continent. Les porcs croisés présentent un niveau de séroprévalence intermédiaire entre les sangliers purs et les porcs domestiques suggérant des modes d'interactions différents. Par ailleurs, ils pourraient avoir un rôle facilitant dans la diffusion du VHE en étant à l'interface des populations domestiques et sauvages. Dans cette étude, nous prouvons que ces réservoirs représentent un risque zoonotique pour l'homme à travers la consommation de produits traditionnels de charcuterie crue contenant du foie de porc et/ou des contacts directs avec les animaux infectés (éleveurs, chasseurs).

---

## **DONNÉES ULTRA-MASSIVES DE PROTÉOGÉNOMIQUE POUR EXPLORER LES ORGANISMES VIVANTS ET LA BIODIVERSITÉ**

**ARMENGAUD J.**

**CEA-Marcoule, DRF-Li2D**

Les approches génomique, transcriptomique, protéomique et bioinformatique sont complémentaires. Intégrées sous le vocable protéogénomique, elles permettant en quelques semaines d'accumuler des données ultra-massives et de les interpréter en se focalisant sur les acteurs clés d'un système biologique. Son application à des organismes non-modèles tels que pathogènes émergents, parasites, invertébrés, permet de mieux comprendre les traits spécifiques de ces organismes. Quelques exemples illustreront l'approche protéogénomique, ses applications, et ses perspectives. Désormais, l'analyse d'échantillons biologiques complexes permet de sonder rapidement leur biodiversité, ou mesurer leur potentiel pathogène. L'acquisition de données ultra-massives par spectrométrie de masse sur les protéines d'un échantillon biologique complexe ouvre de nouveaux horizons, notamment pour rapidement renseigner sur le microbiote et sa dynamique. L'essor de la méta-protéomique permet de compléter les informations de méta-génomique en terme fonctionnel.

---

## ANTIBIOSIS EFFECT OF *STENOTROPHOMONAS MALTOPHILIA* ON *ASPERGILLUS FUMIGATUS* IN AN *IN VITRO* MODEL OF MIXED BIOFILM

MELLOUL E.<sup>1</sup>, LUIGGI S.<sup>1</sup>, ARNÉ P. <sup>1, 2</sup>, COSTA J.M.<sup>1, 3</sup>, FIFMAN V.<sup>1, 4</sup>, BRIARD B.<sup>5</sup>, DANNAOUI E.<sup>1, 6</sup>, DECOUSSER J.W.<sup>1,4</sup>, GUILLOT J.<sup>1,2</sup>, BEAUVAIS A. <sup>5</sup>, BOTTEREL F.<sup>1,7</sup>

<sup>1</sup> Dynamyc EA 7380 UPEC, ENVA

<sup>2</sup> Laboratoire de Parasitologie Mycologie, Ecole nationale vétérinaire de Maisons-Alfort, Maisons-Alfort

<sup>3</sup> Laboratoire Cerba, Saint Ouen L'aumône

<sup>4</sup> Unité de Bactériologie-Hygiène, AP-HP, DHU VIC, Hôpital Henri Mondor, Département de Microbiologie, Créteil, France

<sup>5</sup> Unité des *Aspergillus*, Institut Pasteur, Paris

<sup>6</sup> Laboratoire de Parasitologie Mycologie, APHP, Hôpital Européen Georges Pompidou

<sup>7</sup> Unité de Mycologie, Département de Microbiologie, Groupe hospitalier Henri Mondor - Albert Chenevier, APHP, DHU VIC Université Paris-Est, Créteil, France

**Background:** Biofilms are communal structures of microorganisms, which have been associated with a variety of persistent infections that may respond poorly to conventional antibiotic or antifungal therapy. The aim of the present study was to develop an *in vitro* model for a mixed biofilm associating a bacterium, *Stenotrophomonas maltophilia* (Sm) and *Aspergillus fumigatus* (Af). These microorganisms coexist, especially in a biofilm, in the respiratory tract of patients with cystic fibrosis or immunocompromised patients.

An Af strain expressing a Green Fluorescent Protein (GFP) (ATCC 13703) and a Sm strain ATCC 13637 were used. Fungal and/or bacterial cultures ( $10^5$  conidia/mL and  $10^6$  cells/mL respectively) suspended in RPMI 1640 medium supplemented with 10% SVF were used for the development of *in vitro* mixed biofilm in 8-well polystyrene chambers Lab-Tek™ or in 96-well plates at 37°C. Bacteria were deposited simultaneously with Af on the support. Structure of the biofilm was analysed through microscopic qualitative techniques such as scanning and transmission electron microscopy (SEM and TEM) and fluorescence microscopy and quantitative techniques including qPCR and crystal violet staining. **Results:** Analytic methods revealed Sm and Af structures typical of biofilm formation with the production of an extracellular matrix (ECM) including bacteria and fungal hyphae embedded. Quantitative methods highlighted an inhibition of the Af development and ECM production in the mixed biofilm with antibiosis effect of bacterium on fungus (abortive hyphae, limited hyphal growth and scarce conidia). TEM showed that *A. fumigatus* cell wall is significantly thicker in presence of bacteria.

**Conclusion:** For the first time, a mixed biofilm Af - Sm was validated by various analytical and quantitative approaches. The development of this mixed biofilm made it possible to evaluate incidence of antimicrobial agents and analyse the interactions between the biofilm and epithelial cells.

**Keywords:** *Aspergillus fumigatus*, *Stenotrophomonas maltophilia*, mixed biofilm, extracellular matrix, fungi-bacteria interaction.

---

## LE MICROBIOTE INTESTINAL COMME MARQUEUR POTENTIEL DU CANCER COLORECTAL (CCR)

SOBHANI I.<sup>1</sup>, TAP J.<sup>1, 2</sup>, ZELLER G.<sup>2</sup>, VOIGT A.<sup>2</sup>, AMIOT A.<sup>1</sup>, TRAN VAN NHIEU J.<sup>1</sup>, DE ANGELIS N.<sup>1</sup>, APARICIO T.<sup>3</sup>, CARRAU J.P.<sup>4</sup>, TOURNIGAND C.<sup>1, 3</sup>, SCHROTZ-KING P.<sup>7</sup>, KLOOR M., VON KNEBEL DOEBERITZ M.<sup>6</sup>, ZRHIEN E.<sup>5</sup>, BORK P.<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Department of Gastroenterology and EA7375, APHP & UPEC Université Paris-Est Créteil, Créteil, France

<sup>2</sup> Structural & Computational Biology Unit, European Molecular Biology Laboratory, Heidelberg, Germany

<sup>3</sup> Centre hospitalo-universitaire Henri Mondor, Créteil, France

<sup>4</sup> Centre d'analyse des Hémocult CPAM, Paris, France

<sup>5</sup> Groupe de gastroentérologues libéraux de Val de Marne

<sup>6</sup> German Cancer Research Center (DKFZ), Heidelberg, Germany

<sup>7</sup> Division of Preventive Oncology, National Center for Tumor Diseases (NCT) Heidelberg, Heidelberg, Germany

Le cancer colorectal (CCR) reste une maladie fréquente, de mauvais pronostic et coûteux. Des gènes de la voie Wnt sont les premières cibles de mutations ou de méthylation dans la genèse des CCRs. Cette étude présente l'analyse métagénomique par séquençage total de l'ADN fécal pour identifier des marqueurs discriminants de taxonomie microbienne et des anomalies d'ADN de l'hôte en référence à l'examen coloscopie ou des tests de dépistage.

**Patients et méthodes :** Après recueil de consentement, 156 patients à risque de CCR moyen, adressés pour une coloscopie de dépistage, ont été inclus dans une cohorte exploratrice (cohorte française). Une population de 335 patients issus de différents centres européens a ensuite été considérée comme cohorte de validation. Des échantillons fécaux ont été prélevés 6 à 3 semaines avant la préparation colique et à distance de prise d'antibiotiques. Les données clinique, endoscopique et histopathologique ont été recueillies, un test d'HEMOCULT® réalisé. Après l'extraction de l'ADN fécal, une moyenne de 70 millions de séquences ont été obtenues pour chaque échantillon par la technologie Illumina HiSeq 2500. L'analyse bioinformatique a été réalisée d'une part par la logiciel MOCAT pour l'assemblage des séquences et la détection des gènes et d'autre part par SpeCI pour la détection et la quantification des espèces microbienne. L'extraction des biomarqueurs et la modélisation ont été effectuées (régression logistique de type LASSO). La mesure des performances du modèle a été faite à travers des validations croisées 10-fold. Une analyse fonctionnelle de chaque métagénome a été estimé à partir des bases de données CAZy et KEGG.

**Résultats :** Dans la cohorte française 53 présentait un CCR et 103 étaient dans CCR ni polype>5 mm). Dans la cohorte de validation indépendante, 335 patients ont été inclus dont 38 avec CCR. Après régression logistique, une combinaison de 18 marqueurs bactériens permettant de discriminer les patients atteints de CCR et les contrôles, a été identifiée. La performance diagnostique du modèle métagénomique (AUROC = 0,86) est supérieure au test HEMOCULT® ou d'ADN altéré avec un gain de sensibilité d'environ 35 %. La performance diagnostique du modèle métagénomique était similaire quelle que soit l'âge, le sexe, les antécédents personnels ou familiaux d'adénome et/ou de CCR. Le modèle métagénomique a été validé dans la cohorte de validation indépendante (AUROC = 0,83). Par ailleurs, il a été montré que les marqueurs isolés du microbiome intestinal fécal étaient enrichis sur le

microbiote associé à la tumeur chez les patients du groupe CCR ( $p < 0.001$ ) suggérant une interaction entre l'hôte et son microbiote au niveau de la muqueuse tumorale. L'estimation du potentiel fonctionnel du microbiome intestinal a suggéré une modification du métabolisme bactérien chez les patients du groupe CCR sous la forme d'une réduction de l'activité de dégradation des fibres alimentaires, d'une augmentation du catabolisme des glycosides de l'hôte et d'une augmentation de la synthèse de lipopolysaccharides.

**Conclusion :** L'analyse exhaustive du microbiome intestinal a permis de confirmer la présence d'une dysbiose spécifique du CCR. L'utilisation de marqueurs bactériens permet des performances diagnostiques supérieures aux tests disponibles. L'analyse fonctionnelle du microbiome intestinal suggère une modification du métabolisme bactérien associé au CCR ouvrant de nouvelles approches cognitives et préventives dans le domaine du cancer.

**Financement :** Ce travail a été financé par le projet CancerBiome (European Research Council project reference 268985), le projet METACARDIS (FP7-HEALTH-2012-INNOVATION-I-305312), le projet IHMS (International Human Microbiome Standards project HEALTH-F4-2010-261376), une bourse LNCC 2004 et par le projet Vatnimad (PHRC National Cancer 2009), ainsi que l'ACD.

---

## EMERGING HORIZONS FOR TICK-BORNE PATHOGENS: FROM THE "ONE PATHOGEN-ONE DISEASE" VISION TO THE PATHOBIOME PARADIGM

VAYSSIER-TAUSSAT M., MOUTAILLER S., AL-SHEKHLEY L., COSSON J.F.  
INRA, UMR BIPAR, ANSES ENVA INRA, 14 rue Pierre Curie, 94 700 Maisons-Alfort

Ticks as vectors of several notorious zoonotic pathogens, represent an important and increasing threat for human and animal health in Europe. Although the most frequent tick-borne disease reported in European citizens is Lyme Borreliosis with more than 65 000 new cases each year, patients bitten by ticks can also be exposed to many other micro-organisms. These include viruses, bacteria and parasites, some of which were identified in ticks decades prior their association with human disease, whereas others were discovered only recently and their public health importance remains so far unknown.

Recently, the use of next-generation sequencing (NGS) technology revealed that ticks harbour, in addition to pathogens, many other micro-organisms which co-exist and might interact with pathogens. Our vision of tick-borne pathogens therefore has evolved to a more integrated view, which considers the "pathobiome", representing the pathogenic agent integrated in its biotic environment including other pathogens, commensals and symbionts. In this context, the most demanding challenges of the coming years will be to investigate 1/ whether all micro-organisms revealed by NGS cause indeed disease, and 2/ to identify whether interactions exist between pathogens and other micro-organisms and the consequences of these interactions in terms of pathogen transmission, virulence and evolution. In this presentation we will analyse how this new vision has changed our understanding of tick-borne diseases and will discuss the implications in terms of research to efficiently prevent and control the threat posed by ticks in Europe.

---

## ÉTUDE PROSPECTIVE MULTICENTRIQUE (RADAR) DE LA RÉSISTANCE D'ASPERGILLUS FUMIGATUS AUX AZOLÉS EN FRANCE

DANNAOUI E. ET LES PARTICIPANTS DE L'ÉTUDE RADAR

EA 7380 Dynamyc, UPEC, ENVA

**Problématique :** La résistance d'*Aspergillus fumigatus* aux azolés est un phénomène émergent dans plusieurs pays européens. En France, les données sont peu nombreuses. Pour cette raison, une étude prospective multicentrique française a été réalisée pour détecter la résistance aux azolés pour des souches cliniques d'*Aspergillus fumigatus*.

**Méthodes :** Douze laboratoires de Mycologie français ont participé à cette étude. Dans chaque centre, tous les isolats d'*A. fumigatus* ont été testés pour leur sensibilité à l'itraconazole et au voriconazole par une méthode de screening sur des boîtes de gélose contenant des antifongiques azolés. Les souches détectées résistantes par ce screening ont été ensuite centralisées pour (i) la détermination des CMI (par la méthode de référence de l'EUCAST), (ii) l'identification moléculaire de l'espèce (par séquençage d'une partie du gène de la bêta-tubuline), (iii) le séquençage du gène Cyp51A, à la recherche des mutations liées à la résistance.

**Résultats :** 3049 isolats ont été recueillis dont 2571 (84 %) appartenant à la section Fumigati. Parmi ceux-ci, 145 (5,6 %) issues de 111 patients ont poussé en présence d'itraconazole et/ou de voriconazole. 108 isolats d'*A. fumigatus* sensu stricto (93 patients) ont été caractérisés. La mutation TR34/L98H était présente seule pour 89 isolats (54 patients) et en association avec d'autres mutations (H147Y, S297T/F495I) pour 6 isolats (3 patients). La mutation G45R était présente pour 6 isolats (2 patients), la mutation H285Y pour 3 isolats (1 patient). D'autres mutations (Y121F, M220V, M220I, G45W, P216L et G448S) étaient présentes plus rarement. Un isolat portait la mutation TR46/Y121F/T289A. Aucune mutation de Cyp51A n'a été détectée pour 19 isolats. Les 108 isolats résistants provenaient de 11 centres et ont été isolés chez des patients présentant des pathologies sous-jacentes variées.

**Conclusion :** Les résultats de cette étude multicentrique montrent une prévalence de souches d'*A. fumigatus* résistantes aux azolés d'au moins 4,2% en France. La mutation TR34/L98H, d'origine environnementale, est la plus fréquemment rencontrée mais la mutation TR 46 a également été retrouvée.

---

## RÉ-ÉMERGENCE DU VIRUS DE LA FIÈVRE CATARRHALE À SÉROTYPE 8 EN FRANCE

ZIENTARA S., VIAROUGE C., FABLET A., VITOUR D., BELBIS G., BRÉARD E., SAILLEAU C.

UPE, ANSES, ENVA, INRA, UMR 1161, Laboratoire de santé animale d'Alfort, France

La fièvre catarrhale ovine (FCO) est une maladie infectieuse ayant pour agent causal le virus bluetongue (BTV), transmis par un arthropode piqueur du genre Culicoides. Ce virus comprend 29 sérotypes. La FCO est une maladie à déclaration obligatoire à l'Organisation Mondiale de la Santé Animale (OIE, Paris), qui entrave les échanges commerciaux. Jusqu'en 1998, la maladie était considérée comme exotique avec quelques incursions historiques en Espagne et au Portugal. Depuis, 11 sérotypes (BTV-1, 2, 4, 6, 8, 9, 11, 14, 16, 25 et 27) ont été détectés en Europe.

La France était indemne de FCO jusqu'en 2000, année où la Corse a été infectée par le BTV-2, puis par le BTV-4 en 2003, le BTV-16 en 2004 et le BTV-1 en 2013. En 2006, l'émergence dans le nord de l'Europe du BTV-8 a surpris l'ensemble des pays européens. En France, en 2007, outre la rapide dissémination du virus BTV-8 du nord vers le sud, une émergence du virus BTV-1 dans le sud-ouest fut aussi rapportée. Le pic de l'épizootie en France a été atteint lors de l'année 2008 (27 510 foyers liés au sérotype 8 ; 4 932 foyers associés au sérotype 1). En 2008, la vaccination obligatoire de tous les ruminants domestiques à l'aide de vaccins inactivés contre les sérotypes 1 et 8 a été mise en œuvre. Le statut indemne de FCO fut déclaré le 14 décembre 2012 pour la France continentale.

Alors que le virus de la FCO semblait éradiqué en Europe, contre toute attente, l'UMR de virologie isola en septembre 2015 à partir d'un prélèvement de sang d'un bélier malade, un virus BTV (typé 8) dans le département de l'Allier.

Cette communication décrira les conditions de la caractérisation de ce virus et présentera les mesures de surveillance et de contrôle mises en œuvre.

---

## BARTONELLA HENSELAE ET MALADIE DES GRIFFES DU CHAT : DE L'ÉPIDÉMIOLOGIE À LA GÉNOMIQUE APPLIQUÉE AU SERVICE DU CONCEPT « ONE HEALTH »

HADDAD N., BOULOUIS H.J., MONTEIL M., BERRICH M., WOULDSTRA C., FACH P.

EnvA, UMR BIPAR, ANSES ENVA INRA, 14 rue Pierre Curie, 94 700 Maisons-Alfort

*Bartonella henselae*, alpha protéobactérie responsable de la maladie des griffes du chat chez l'Homme, a pour principal réservoir le Chat chez lequel on constate une bactériémie au long cours, généralement sans symptômes. Cette zoonose se traduit chez l'Homme par des symptômes de gravité variable (adénite, endocardite, angiomatose bacillaire chez les personnes immunodéprimées...).

Afin de disposer d'une méthode de typage à visée épidémiologique et, entre autres, d'établir un lien entre les souches hébergées par un patient humain et son chat, une technique de typage par analyse de 5 micro ou macrosatellites (Multi Locus VNTR Analysis) a été mise au point<sup>1</sup>. Quatre de ces VNTR (Variable Number Tandem Repeats) sont situés dans des gènes codant pour des protéines ou dans la zone promotrice. Le typage de plus de 200 souches d'origines féline, humaine et canine a permis de distinguer deux groupes : un groupe A (dit non zoonotique) de souches strictement hébergées par les chats et un groupe B (zoonotique) de souches isolées de l'Homme, le chat et le chien<sup>2</sup>.

L'analyse des caractéristiques des 5 VNTR de chaque groupe fait apparaître que le nombre de répétitions est systématiquement inférieur pour les souches du groupe A comparé aux souches du groupe B, et ceci quel que soit le VNTR. Afin de comprendre cette particularité, de vérifier l'hypothèse qu'elle soit à l'origine d'une éventuelle modification de la/des fonctions de ces protéines et d'établir un éventuel rôle de ces protéines dans la transmission à l'Homme, la gravité de la maladie chez l'Homme et la durée de la bactériémie chez le chat, le séquençage du génome de 12 souches appartenant aux deux groupes a été réalisé<sup>3</sup>.

L'analyse des génomes est en cours. La comparaison de ces génomes avec le génome de la souche Humaine de référence Houston 1 fait clairement apparaître des délétions concernant certains des gènes hébergeant les VNTR utilisés pour le typage MLVA. Ces délétions expliquent en partie la différence du nombre de répétitions entre les deux groupes de souches. Pour l'un de ces gènes, codant pour une molécule de surface, les délétions s'accompagnent de codons stop qui permettent de supposer l'expression de la molécule codée impossible. Ce dernier point est en cours de vérification. Un homologue de cette molécule chez *Neisseria* est responsable de l'adhésion sur les cellules endothéliales et sur différentes molécules du tissu conjonctif et font de cette molécule un bon candidat pour supporter au moins partiellement le caractère zoonotique ou non zoonotique des souches.

---

<sup>1</sup> Monteil M et al. Microbiology. 2007 Apr;153(Pt 4):1141-8.

<sup>2</sup> Bouchouicha R, Emerg Infect Dis. 2009 May;15(5):813-6

<sup>3</sup> Woudstra C. et al, Genome announcement, 2016, soumis

L'identification d'une molécule permettant de différencier des souches transmissibles à l'Homme (zoonotiques) de souches non transmissibles pourra servir de base à un test de dépistage chez le chat. Un tel test permettrait de distinguer les souches « à risque » pour l'Homme (notamment immunodéprimé), et de mettre en place des mesures de maîtrise appropriées de ce risque.

---

## APPROCHES INTERACTOMIQUES DANS L'IDENTIFICATION DE NOUVEAUX FACTEURS DE PATHOGÉNICITÉ ET DE FRANCHISSEMENT DE BARRIÈRE D'ESPÈCES POUR LE VIRUS DE LA FIÈVRE CATARRHALE OVINE

VITOUR D., CAIGNARD G., KUNDLACZ C., GOUZIL J., FABLET A., ZIENTARA S.

UPE, ANSES, ENVA, INRA, UMR 1161, Laboratoire de santé animale d'Alfort, France

Le virus de la fièvre catarrhale ovine (FCO) est l'agent étiologique de la maladie du même nom transmise aux ruminants par l'intermédiaire de morsures de moucheron hématophages du genre *Culicoides*. Le virus FCO présente actuellement 27 sérotypes à travers le monde, dont le sérotype 8 qui a ré-émergé très récemment dans le centre de la France avec 128 élevages infectés dans 14 départements depuis le 10 décembre 2015 (Plateforme nationale de surveillance épidémiologique en santé animale ; [www.plateforme-esa.fr/](http://www.plateforme-esa.fr/)). Ces sérotypes se distinguent par les pathologies qu'ils induisent et leur capacité à infecter et se propager chez leur(s) hôte(s) mammifère(s). Dans le cadre d'un programme de cartographie à large échelle des interactions virus-hôte, notre objectif vise à identifier les interactions cellulaires spécifiques de certains sérotypes pour expliquer leurs différences de pathogénicité/virulence et/ou de franchissement de barrière d'espèces. Pour atteindre cet objectif, nous avons développé en 2015 un protocole de clonage et de criblage à haut-débit des interactions protéines-protéines basé sur l'utilisation de la technique du double-hybride en levure. Cet outil nous a déjà permis de cribler l'ensemble des douze protéines codées par le sérotype 8 du virus FCO contre deux banques d'ADN complémentaires, l'une d'origine bovine et l'autre issue de cellules de *Culicoides*. Ces banques ont été choisies pour permettre une comparaison des interactions virus-hôte à plusieurs niveaux : viral (# sérotypes du BTV) et hôte (mammifère Vs vecteur, inédit dans le monde des arbovirus). Par cette approche, 535 nouvelles interactions virus-hôte ont déjà été mises en évidence. L'analyse préliminaire de celles-ci montre que de nombreuses interactions semblent spécifiques soit de l'hôte mammifère ou du vecteur et suggère un enrichissement pour des facteurs de transduction du signal, notamment des protéines impliquées dans l'apoptose, l'ubiquitination et l'autophagie. Les interactions les plus intéressantes sont actuellement en cours de validation par différentes approches. Parallèlement à ce travail de protéomique, nous avons aussi révélé une nouvelle fonction portée par la protéine NS3 du virus FCO sur la voie MAPK/ERK, une voie cellulaire répondant aux facteurs de croissance et qui régule les processus de prolifération, différenciation, survie et de traduction cellulaire. La potentialisation de la voie MAPK/ERK par NS3 pourrait être un mécanisme de détournement de la traduction cellulaire au profit de celle du virus mais aussi constituer un élément de réponse pour expliquer l'hyper-inflammation observée dans le cas d'une infection par ce virus.

---

## DÉVELOPPEMENT DE VACCINS RECOMBINÉS EN SANTÉ ANIMALE

AUDONNET J.C. DVM (ENV ALFORT), PH.D.

Directeur Innovation Externe et Partenariats EU & Asie, Merial R&D

Merial, Laboratoire de Lyon Gerland, 254 rue Marcel Mérieux, 69007 LYON, France

L'utilisation de différents virus atténués comme vecteurs pour d'autres valences vaccinales a été rendue possible par les progrès des techniques de biologie moléculaire à partir des années 1990. Ces développements technologiques ont été particulièrement actifs dans le domaine des vaccins vétérinaires, et l'industrie de la santé animale a clairement été la pionnière pour le développement commercial de vaccins vectorisés vivants par rapport à l'industrie du vaccin humain, en démontrant de manière pratique les avantages de ces nouveaux vaccins.

Suite au grand succès du Raboral®, premier vaccin recombiné (vaccine-rage) qui a permis l'éradication de la rage en Europe, c'est la famille des vecteurs à base de poxvirus qui a ouvert la voie des applications multi-espèces.

Le vecteur fowlpox chez les volailles, puis surtout le vecteur ALVAC® (virus canarypox), qui a introduit le concept du premier vecteur vaccinal naturellement non répliquatif chez l'hôte vacciné, ont révolutionné la conception des vaccins vétérinaires en apportant des propriétés n'existant pas pour les vaccins dits « classiques ».

Les déclinaisons commerciales des ALVAC® recombinés ont été très nombreuses: Rage, Leucémie féline, et IL-2 féline chez le chat ; Maladie de Carré et Rage chez le chien ; Grippe équine (plusieurs sérotypes) et Virus de l'Ouest du Nil chez le cheval. La technologie ALVAC® a également montré sa grande efficacité dans de multiples projets de recherche portant sur les maladies émergentes (Nipah, Hendra, Fièvre catarrhale ovine, Peste équine, Grippe canine, Grippe féline...), ce qui en fait un outil important dans la lutte éventuelle contre ces graves épizooties.

L'exemple sans doute le plus important est l'introduction du vaccin Vaxxitek® chez le poulet en 2006. Ce vecteur vaccinal, réalisé sur la base de l'herpèsvirus du dindon, permet de vacciner à la fois contre la maladie de Marek et la maladie de Gumboro. Premier vaccin recombiné répliquatif chez un animal de production, et permettant de plus une vaccination très efficace par la voie in ovo, ce vaccin a ouvert le champ à beaucoup d'autres vaccins dans la même catégorie, et il a été administré à ce jour à plus de 60 milliards de poulets.

Les vaccins recombinés existent aujourd'hui pour pratiquement toutes les espèces (poulets, chiens, chats, chevaux, porcs, bovins, moutons) et catégories de maladies virales.

L'outil vaccinal en santé animale doit aujourd'hui s'adapter de plus en plus étroitement aux besoins des systèmes de production (limitations des manipulations des animaux, limitation du stress dans les élevages, vaccination de masse automatisée (robots de vaccination in ovo). Face à ces évolutions rapides, les vecteurs vaccinaux fournissent des solutions très

intéressantes. Les technologies continuent à progresser (vaccins ADN, vaccins ARN, réplicons, vecteurs bactériens) et permettent de plus en plus à l'amélioration de l'état sanitaire des élevages, des performances zootechniques et un meilleur bien-être tant chez les animaux de production que chez les animaux de compagnie.

---

« MONSIEUR, VOUS N'ALLEZ PAS M'INJECTER UN VIRUS ? » -

## LES RÉINTERPRÉTATIONS DU PRINCIPE DE VACCINATION PAR LES VOLONTAIRES SAINS D'UN ESSAI VACCINAL PRÉVENTIF CONTRE LE VIH

COUDERC M., anthropologue – Post-Doctorante Céditec et VRI / UPEC

Dans l'histoire de la recherche contre le VIH/sida, la communauté scientifique est actuellement mobilisée autour du paradigme d'éradication de la maladie. Dans cette logique, la recherche d'un vaccin (prophylactique ou curatif) est relancée. En 2014, l'Institut de Recherche sur le Vaccin (VRI) – Labex de l'Université Paris-Est – lance une campagne de communication d'appel à volontariat pour recruter des sujets de recherche pour un essai vaccinal préventif contre le VIH. Si les caractéristiques de cet essai vaccinal (absence de contamination liée au vaccin testé ; absence d'effet protecteur contre un risque d'infection par le VIH ; survenue probable d'une fausse séropositivité, etc.) sont mentionnées tout au long de la campagne de communication et du dispositif de recrutement – conformément aux règles d'éthique de la recherche médicale – c'est à travers des supports hétérogènes mêlant discours publicitaire et discours scientifique. On peut donc s'interroger sur la compréhension de ce discours hybride par le public ciblé (des individus jeunes, en bonne santé et à faible risque de contamination par le VIH) : quelles informations ont-ils retenu et qu'en ont-ils fait ?

Cette communication propose donc d'analyser l'appropriation par les volontaires du vocabulaire biomédical véhiculé par la campagne de communication et au cours des différentes étapes du dispositif de recrutement, et en particulier leurs perceptions du principe de vaccination (appliqué ici à la pathologie du VIH-sida).

Cette enquête anthropologique qui s'est déroulée de février 2014 à mars 2015 s'appuie sur des entretiens semi-directifs menés avec 46 volontaires et sur des séances d'observation lors des consultations de pré-inclusion avec le médecin d'étude clinique. Les données recueillies mettent en évidence l'usage d'un vocabulaire biomédical complexe relatif soit à la vaccinologie (anticorps, cellules, molécules, virus) soit au VIH (faux positif, charge virale, test Elisa). Ce vocabulaire étant soit emprunté aux discours véhiculés par la campagne de recrutement, soit mobilisé en fonction de différents facteurs qui seront développés : itinéraire des volontaires dans le dispositif de recrutement, activité professionnelle en lien avec le secteur médical, etc. et réinterprété. Parmi ces réinterprétations, on peut citer l'équivalence établie par de nombreux volontaires entre le vaccin et le virus du sida qui a pour conséquences : 1) la peur d'une contamination, 2) une confusion à propos de la définition et des implications d'une fausse séropositivité. Une fois conjuguées avec la pathologie du VIH-sida, leurs connaissances du principe de vaccination deviennent donc anxiogènes.

Ces réinterprétations du principe de la vaccination font partie des motifs de refus de participation des volontaires, mettant en évidence des enjeux d'information auprès du public à propos des spécificités de ce principe vaccinal (composition du vaccin, conséquences d'une fausse séropositivité, etc.).

---

## « LA VACCINATION, ÇA SE DISCUTE ? »

OLLIVIER-YANIV C.

Université Paris-Est, Céditec (E.A. 3119)

L'une des plus récentes controverses relatives à la vaccination s'est déployée en France en mai 2015, à l'occasion de la diffusion et de la réussite d'une pétition dénonçant à la fois la pénurie des vaccins trivalent, tétravalent et pentavalent contenant le DTP (c'est-à-dire des produits regroupant les trois vaccins encore obligatoires en France pour la population générale), ainsi que la dangerosité et le coût des produits hexavalents, seuls disponibles sur le marché. Cette pétition, destinée au ministère de la santé français, a été initiée par une organisation des thérapies alternatives, l'Institut pour la protection de la santé naturelle, et par l'un de ses membres très controversé dans le monde médical, le professeur Henri Joyeux.

En raison de son succès (plus de 600 000 signatures deux semaines après sa publication) mais aussi des réactions institutionnelles (dénonciation publique de la pétition et de son initiateur par la ministre de la santé dès le 29 mai, puis par des institutions professionnelles et de santé publique ou des sociétés savantes), cette pétition a fait l'objet d'une médiatisation importante et a donc réactivé la mise en cause publique de certains vaccins et de la vaccination.

Sur la base d'un corpus constitué des articles parus dans les médias d'information générale entre mai et décembre 2015, cette communication s'attachera à identifier les différents acteurs – individuels et collectifs – impliqués dans cette controverse et leurs principaux arguments.

On mettra ainsi en évidence que la controverse suscitée par la pétition du professeur Joyeux est loin de présenter un caractère binaire, au sens où elle opposerait des pro- et des anti-vaccins. Seront au contraire dégagés plusieurs cadrages (scientifique, institutionnel, politique, militant...), significatifs de l'hétérogénéité des acteurs du débat, ainsi que des raisons et des modalités de leur implication. On mettra enfin en évidence que la controverse relative à la pénurie s'est progressivement transformée en un problème public, au sens où s'est trouvée mise en débat la politique publique de vaccination française, au travers du devenir de l'obligation vaccinale.

---

## REPENSER LE CONCEPT DE « MOUVEMENT ANTIVACCIN » : LE CAS DE LA GRIPPE A

WARD J.

SESSTIM UMR912, Aix-Marseille Université

Dans cette présentation, je discuterai de la définition du « mouvement antivaccin » à partir du cas de la controverse qui a émergé en France autour du vaccin contre la grippe A(H1N1)v (2009-2010). Sur la base d'une analyse des prises de position publiques des principaux acteurs critiques de ce vaccin (apparition dans les médias, site internet, autres documents) et d'entretiens (21), je montrerai toute l'hétérogénéité de cet ensemble d'acteurs. Cette hétérogénéité concerne la fois les arguments mobilisés pour « démontrer » que ce vaccin était dangereux et la propension de ces acteurs à s'engager dans un grand nombre de controverses vaccinales. Je montrerai aussi que seule une minorité de ces acteurs rejettent la vaccination en général et saisissent toutes les opportunités pour critiquer la vaccination. La plupart de ces acteurs ne se mobilisent qu'occasionnellement sur ce type de sujet et ce afin de porter des causes qui dépassent largement le sujet de la vaccination. A partir de ces résultats, je suggère qu'afin de mieux comprendre comment les controverses vaccinales émergent et pourquoi des personnes dédient du temps et des ressources à la diffusion d'arguments critiques des vaccins, il est nécessaire d'utiliser trois concepts distincts pour désigner les critiques des vaccins : « le mouvement antivaccin », « les mouvements marginalement antivaccins » et « les mouvements occasionnellement critiques de certains vaccins ». Cette approche permettrait de mieux comprendre les différentes manières dont la vaccination se voit politiser et leurs évolutions.

---

## IMMUNOLOGICAL EFFICACY OF THERAPEUTIC VACCINATION IN CHRONICALLY HIV-1 INFECTED PATIENTS IS IMPACTED BY THE PROCESS AND THE ROUTE OF VACCINE ADMINISTRATION

BREZAR V.<sup>1,2,3</sup>, HANI L.<sup>1,2,3</sup>, SURENAUD M.<sup>1,2,3</sup>, LACABARATZ C.<sup>1,2,3</sup>, LELIÈVRE J. D.<sup>1,2,3,4</sup>, LEVY Y.<sup>1,2,3,4</sup>, SEDDIKI N.<sup>1,2,3</sup>

<sup>1</sup>Inserm, U955, Equipe 16, Créteil, 94000, France.

<sup>2</sup> Université Paris Est, Faculté de médecine, Créteil, 94000, France

<sup>3</sup> Vaccine Research Institute (VRI), Créteil, 94000, France

<sup>4</sup> AP-HP, Hôpital H. Mondor - A. Chenevier, Service d'immunologie clinique et maladies infectieuses, Créteil, 94000, France

The role of regulatory T cells (Tregs) in vaccination has been poorly investigated. We have recently reported that vaccination with ex vivo-generated dendritic-cells (DC) loaded with HIV-lipopeptides (LIPO-5-DC vaccine) given subcutaneously to HIV-infected patients was well tolerated and highly immunogenic (Y. Levy et al, EJI 2014).

We show here that vaccinees (n=14) who displayed lower levels of HIV-specific CD4+CD134+CD25+CD39+FoxP3+ Tregs responded better to the LIPO-5-DC vaccine. After vaccination, the frequency of HIV-specific Tregs decreased (from 69.3 at week -4 to 31.7% at week 16) and inversely correlated with HIV-specific IFN- $\gamma$ -producing cells ( $r=-0.64$ ,  $p=0.002$ ).

We evaluated LIPO-5-specific Tregs responses in another therapeutic immunization study (ANRS093) that combined two different vaccines (recombinant ALVAC-HIV (vCP1433) and Lipo-6T (HIV-1 lipopeptides)). In contrast to the former, this vaccine was not loaded on DC but was administered to patients intramuscularly (n=18). Our data revealed that the frequency of LIPO-5-specific Tregs CD4+CD134+CD25+CD39+FoxP3+ was similar to baseline (34.22 at week 0 and 40.4% at week 16) and there was no skewing from regulatory to effector phenotype as we observed in the LIPO-5-DC vaccination. Importantly, we also observed that HIV-specific CD4+CD134+CD25+CD39+FoxP3+ correlate positively with viral load after treatment interruption (ATI).

Taken together our data suggest that the process and the route of therapeutic immunization with HIV-lipopeptides in chronically infected patients impacts on the quality of the responses by shifting the balance between regulatory and effector responses leading to efficiency of viral control.

---

## DÉVELOPPEMENT D'UN VACCIN RECOMBINANT CONTRE LA TRICHINELLOSE PORCINE

VALLÉE I.<sup>1</sup>, LAINÉ-PRADE V.<sup>1</sup>, DEVILLE S.<sup>2</sup>, MINGUYAN L.<sup>3</sup>, BOIREAU P.<sup>1</sup>

<sup>1</sup> UMR BIPAR, Anses, ENVA, INRA, UPEC, Laboratoire de Santé Animale, Maisons-Alfort

<sup>2</sup> Seppic, Puteaux, France

<sup>3</sup> Institute of zoonosis, Jilin University, Changchun, China

La mise au point de vaccins contre les helminthes parasites reste un challenge important puisqu'il s'agit de neutraliser des organismes complexes exprimant une grande diversité d'antigènes et ayant développés des stratégies d'échappement au système immunitaire de leur hôte. La primo-infestation par *Trichinella* induit une réponse immunitaire protectrice siégeant au niveau de la muqueuse intestinale et qui empêche la migration de larves L1 nouveau-nées (L1NN) lors d'une ré-infestation. Des travaux conduits dans les années 80 par D. Murell ont permis d'établir qu'une réduction de 78% de la charge musculaire de larves L1 musculaires (L1M) peut être obtenue chez le porc en immunisant à partir d'antigènes totaux du stade L1NN associé à de l'adjuvant de Freund (Marti et al, Exp. Par. 1987, 63 : 68-73). Notre groupe a mis en place une stratégie vaccinale, basée sur l'identification de gènes parasitaires d'intérêt et pour certains d'entre eux exprimés précocement lors de l'invasion de l'hôte. Quatre protéines ont été sélectionnées et exprimées en *E. coli*, puis un cocktail vaccinal a été élaboré avec un adjuvant de type eau-dans-huile-dans-eau (Montanide ISA 206VG). Des porcs EOPS ont été immunisés avec ce cocktail (J0 et rappel à J28) par voie intramusculaire puis un test d'épreuve (J56) a été réalisé avec l'inoculation per os de 1000 L1M de *T. spiralis* (ISS 004). L'évaluation de la protection a été évaluée à J90 par le calcul de la charge parasitaire de L1M au niveau de différents muscles. La réponse immunitaire a été suivie en ELISA pour la production d'IgG1 et IgG2 spécifiques et de cytokines. Les porcs vaccinés ont présenté une réduction de la charge parasitaire globale de 95% associée à une production d'IgG1 et d'IgG2, et une synthèse d'IL5 et d'IL6. Un essai vaccinal a également été conduit chez le porc avec seulement l'une des quatre protéines recombinantes (la protéine NBL1, spécifique du stade L1NN). Cette protéine NBL1 ayant probablement un rôle dans l'installation du parasite au sein des cellules musculaires, il était important d'évaluer son rôle dans la réponse immuno-protectrice. Ainsi des porcs ont été immunisés selon le même protocole que précédemment mais avec NBL1 seule. Une réduction de 72% de la charge parasitaire a été observée, associée à une réponse en IgG1 et Ig2 spécifiques. Le taux de protection obtenu avec NBL1 vient conforter l'hypothèse d'un rôle crucial de cette protéine dans le mécanisme d'invasion ou d'installation du parasite dans les muscles.

Il s'agit du premier vaccin anti-*Trichinella* basé sur l'utilisation de protéines recombinantes associées à un adjuvant et ayant une protection significative chez l'espèce cible, le porc.

---

## SCIENCE BEHIND EPIDERMAL AND DERMAL VACCINATION

### COMBADIÈRE B.

Cimi-Paris, Centre d'Immunologie et des Maladies infectieuses, Paris, France.  
INSERM U1135, Université Pierre and Marie Curie

Vaccination is one of the most effective and affordable ways to save 2 to 3 millions lives each year. However critical issues on effectiveness and acceptability for vaccines are still discussed. Innovative approaches (virus-like particle, inactivated vaccines) are explored to conquering infectious diseases including Hepatitis, Dengue and Influenza and need to be developed against HIV, Malaria and TB. The vaccination field is at a turning point with idea and innovation however increasingly relies on basic research in understanding and translating human immunity. Therefore, two aspects have been added, which are the prediction of intensity of immune responses through systems biology approaches and the development of alternative routes of immunization for increased efficacy.

Most of the current vaccines are administered by intramuscular or subcutaneous routes, however, intradermal and transcutaneous techniques are regaining popularity. Several considerations strongly justify the use of these novel methods. The rationalization of targeting of the different cutaneous layers, i.e. the epidermis, dermis, or hypodermis as well as our advances in knowledge about the plasticity of antigen-presenting cells (Langerhans cells, dermal dendritic cells and dermal macrophages) allows today proposing rational immunization procedures. In addition, the recruitment of inflammatory cells such as neutrophils in the dermis impact the localization and quality of adaptive immunity. One can discuss the rational of various vaccination strategies by compiling immune-monitoring, bio-modeling and systems biology approaches.

---

## PATHWAYS TO ANTIGEN EXPRESSION AFTER ORAL DELIVERY OF ADENOVIRUS-BASED VACCINES

REVAUD J.<sup>1,2</sup>, UNTERFINGER Y.<sup>1</sup>, VERSILLÉ N.<sup>2</sup>, CORDONNIER N.<sup>1</sup>, KLONJKOWSKI B. <sup>1</sup>, BEN AROUS J.<sup>2</sup>, RICHARDSON J.<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Ecole Nationale Vétérinaire d'Alfort, Maisons-Alfort, France

<sup>2</sup> Seppic, Puteaux, France

Vaccines for oral delivery are actively sought, both for their potential to elicit immune responses at mucosal surfaces—where most pathogens enter the host—and for their ease of administration, which would notably facilitate the vaccination of wild life. Recombinant adenoviruses (rAd) represent an attractive platform for the development of orally delivered vectored vaccines. At present, however, the humoral and cell-mediated immune responses elicited against transgene-encoded antigen after oral delivery of rAd are less than satisfactory. In order to conceive strategies to optimize their administration by the oral route, a better understanding of the fate of rAd in the intestinal milieu is a prerequisite.

To provide a global vision of transgene expression in the intestine, whole body bioluminescent imaging was performed after intragastric administration of a rAd encoding firefly luciferase in C57Bl/6 and BALB/c mice. In complementary experiments, quantitative RT-PCR was performed in the intestine and in peripheral tissues after intragastric delivery of vector in the two mouse strains. These studies revealed that both bioluminescence and antigen-encoding transcripts were confined to the intestine, and were restricted to delimited anatomical zones. Moreover, the distribution of bioluminescence and antigen-encoding transcripts was dissimilar in C57Bl/6 and BALB/c mice. Immunohistochemical staining of tissue sections from the zones of interest revealed that at least some of the transduced cells were enterocytes.

Finally, in order to characterize the pathways by which the vector crosses the intestinal epithelium and is captured by sentinel cells, a fluorescent-labelled vector has been administered to C57Bl/6 and BALB/c mice by the intragastric route. Cells that handle vector at an early time point are currently being characterized by fluorescence microscopy of tissue sections sampled along the intestine.

Identification of the bottlenecks in expression of transgene-encoded antigen should instruct optimisation of rAd-based vaccines for oral delivery.

---

## IN OVO VACCINES BASED ON RECOMBINANT NETB TOXIN AND MONTANIDE TM IMS ADJUVANTS INDUCED PROTECTIVE IMMUNITY AGAINST NECROTIC ENTERITIS IN CHICKENS

VERSILLÉ N.<sup>1</sup>, BEN AROUS J.<sup>1</sup>, SEUNG I. JANG<sup>2</sup>, SUNG-HYEN LEE<sup>2</sup>, KYUNG WOO LEE<sup>2</sup>, DUPUIS L.<sup>1</sup>, HYUN S. LILLEHOJ<sup>2</sup>

<sup>1</sup> SEPPIC, 22 Terrasse Bellini, 92800 Puteaux, France

<sup>2</sup> Animal Biosciences and Biotechnology Laboratory, Animal and Natural Resources Institute, Agricultural Research Service-U.S.D.A, Beltsville, MD, 20705, USA

The current study was conducted to investigate the effects of in ovo injection of recombinant clostridium NetB toxin plus Eimeria profilin proteins in combination with Montanide adjuvants in modulating immune system in chickens infected for experimental necrotic enteritis (NE) disease. First, the safety of adjuvants was tested for in ovo injection in broiler eggs at 18 days of incubation. In a second step, broiler eggs were injected with 100µl of PBS, profilin, profilin plus NetB, profilin plus NetB/Montanide IMS OVO adjuvant (OVO). Intestinal lesion scores, body weight gains, Net-B toxin antibody levels, and proinflammatory cytokine and chemokine levels were measured as outcomes of protection following oral co-infection with *C. perfringens* and *Eimeria maxima*. Birds in ovo vaccinated with recombinant profilin plus NetB proteins/OVO showed significantly increased body weight gains and reduced gut lesions compared with the profilin-only group, respectively. Greater NetB toxin antibody titers were observed in the profilin plus NetB/OVO group compared with the other three vaccine groups. Finally, decreased levels of gene transcripts encoding interleukin-8, tumor necrosis factor superfamily 15, and TNF- $\alpha$  factor were observed in the intestinal lymphocytes of chickens in ovo injected with profilin plus NetB toxin in combination with OVO compared with profilin protein alone bird. These results suggest that in ovo injection with recombinant profilin plus NetB proteins in combination with Montanide IMS adjuvants enhances protective immunity against experimental NE disease.

---

## LOW CONCENTRATIONS OF ALUMINUM HYDROXIDE ADJUVANT, FORMING LIMITED SIZE AGGREGATES, SELECTIVELY INDUCE CEREBRAL ALUMINUM INCREASE AND LONG-TERM NEUROTOXICITY IN MOUSE

CRÉPEAUX G.<sup>1,2</sup>, EIDI H.<sup>1,3</sup>, DAVID M.O.<sup>3</sup>, TZAVARA E.<sup>4</sup>, GIROS B.<sup>4</sup>, AUTHIER F.J.<sup>1</sup>, EXLEY C.<sup>5</sup>, SHAW C.A.<sup>6</sup>, CADUSSEAU J.<sup>1,7\*</sup>, GHERARDI R.K.<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup> Inserm U955 E10, Université Paris Est Créteil (UPEC), Créteil, France

<sup>2</sup> École nationale vétérinaire d'Alfort, Maisons-Alfort, France

<sup>3</sup> Inserm U1204, Université Évry Val d'Essonne (UEVE), Évry, France

<sup>4</sup> Inserm U1130, CNRS UMR 8246, UPMC UM CR18, Paris, France

<sup>5</sup> Birchall Centre, Keele University, Staffordshire, UK

<sup>6</sup> Department of Ophthalmology, University of British Columbia, Vancouver, BC, Canada

<sup>7</sup> Faculté des Sciences & Technologie UPEC, Créteil, France

\*These authors contributed equally to this work.

Corresponding author : Guillemette Crépeaux, Inserm U955 E10 Faculté de médecine, 8 rue du général Sarrail, 94010, Créteil, France [guillemette.crepeaux@vet-alfort.fr](mailto:guillemette.crepeaux@vet-alfort.fr), [www.imrb.fr](http://www.imrb.fr)

**Background:** Vaccines have allowed eradication or containment of several infectious diseases. Aluminium hydroxide (alum) has long been added to vaccines to enhance the immune response. Alum consists of nanoparticles that spontaneously aggregate. Concerns about its safety emerged following the recognition of its unexpectedly long-lasting biopersistence of alum aggregates within immune cells of some patients with chronic fatigue, cognitive dysfunction, myalgias and autoimmune/inflammatory features. Previous experimental reports have documented slow translocation of alum captured by monocyte-lineage cells from the injected muscle to brain. The present study aimed at evaluating mouse brain function and aluminium (Al) concentration long after intramuscular injections of various doses of alum.

**Methods:** Alum adjuvant particles (Alhydrogel®) were injected in the tibialis anterior muscle in adult female CD1 mice at three doses ranging from 133 to 800 µg Al/kg of body weight. Eight validated tests were used to evaluate cognitive and motor performances 180 days after injection. Then, brains were collected for Al level determination by atomic furnace absorption spectrometry, and assessment of microglial activation by Iba-1 immunohistochemistry.

**Results:** A particularly unusual neuro-toxicological pattern limited to lower doses of alum was observed. Neurobehavioral changes, including decreased activity levels and altered anxiety-like behaviour, were documented in animals exposed to the two lowest doses (133 and 200 µg Al/kg) but not at the highest dose (800 µg Al/kg), compared to controls. Consistently, cerebral Al levels were increased in animals exposed to the lowest doses. Microglial number was distinctly increased in the ventral forebrain of the 200 µg Al/kg group. Interestingly, the injected suspensions corresponding to the two lowest doses contained much smaller aggregates (1.50-1.75µm) compared to the highest dose (4.70µm).

**Conclusion:** Alum particles injected in muscle may induce neurotoxic effects and Al cerebral accumulation six months after injection in mice. Neurotoxic effects are restricted to low

concentration suspensions forming small particle aggregates. Such bacteria-sized aggregates are known to be selectively captured by monocyte-lineage cells. This study strongly suggests that, in contrast to “the dose makes the poison” paradigm of classical toxicology, alum toxicology obeys the specific rules of small particle toxicology, thus deserving in depth reevaluation. (This study was supported by ANSM). 3

**Keywords:** Al hydroxide, vaccine, adjuvant, particle, neurotoxicity, behaviour, mice, non-monotonic dose response, macrophagic myofasciitis, neuro-inflammation.

## RÔLE DES DNASEII DE TRICHINELLA DANS L'ÉCHAPPEMENT À LA RÉPONSE IMMUNITAIRE

LIAO C.<sup>1</sup>, BAI X.<sup>1</sup>, LIU X.<sup>1</sup>, LIU P.<sup>1</sup>, WANG X.<sup>1</sup>, TANG B.<sup>1</sup>, WU X.<sup>1</sup>, BOIREAU P.<sup>1,2</sup>, LIU M.<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Key Laboratory for Zoonosis Research, Jilin University, Changchun, People's Republic of China

<sup>2</sup> ANSE, INRA, EnvA, UPEC, Laboratoire de santé animale, Maisons Alfort

Un élément de fascination dans l'immunologie anti-parasitaire repose sur la capacité de l'organisme hôte à pouvoir bloquer des formes invasives vermineuses de grande taille. *Trichinella*, nématode parasite zoonotique de 1 mm de long est inhibé au niveau de la muqueuse intestinale en quelques heures chez l'animal immunisé ou chez le rat dans un contexte de restriction d'hôte. L'analyse du transcriptome différentiel chez *Trichinella spiralis*<sup>1</sup> par différentes technologies (banques soustractives, séquençage du transcriptome de différents stades parasitaires, séquençage du génome de *Trichinella*) nous a permis d'identifier et de décrire une famille de gènes codant pour des DNase de type II<sup>2</sup>. Plus de 120 représentants de cette famille ont été identifiés et un seul gène codait pour une DNaseII n'ayant pas le site enzymatique canonique (protéine codée appelée Plancitoxine<sup>3</sup> pour sa forte identité avec une nucléase d'étoile de mer). Nous avons montré que l'expression de différents gènes de cette famille, quel que soit la structure du site actif, permet d'obtenir des enzymes fonctionnelles clivant l'ADN. La sécrétion de DNaseII a été identifiée par microscopie électronique et analysée en microscopie confocale en utilisant des anticorps spécifique de DNase II de *Trichinella spiralis*. La localisation périphérique de certaines sécrétion de DNaseII (Figure1) résulte de leur co-localisation au niveau de pores dans la cuticule. Des trichines du stade L1 musculaire purifiées en présence de macrophages de souris expérimentalement infectés font l'objet d'une fixation directe de cellules et le blocage des mouvements du parasite avec une mortalité rapide lors du phénomène démontré de « NETosis ». Cette capacité de piéger des organismes complexe avait initialement été décrite avec des neutrophiles extracellulaires. L'adjonction d'un inhibiteur de DNaseII permet dans le modèle *ex vivo* développé une survie des parasites. Un effecteur majeur de la pénétration parasitaire et du contournement de la réponse immunitaire est ainsi suggéré pour le parasite *Trichinella*.

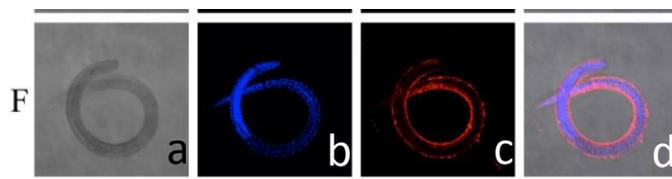


Figure1 : Expression de la protéine Plancitoxine (3) à la surface des larves invasives L1 musculaire de *Trichinella spiralis*.

<sup>1</sup> Liu, M., Wang, X. L., Fu, B., Li, C., Xinping, W., Le Rhun, D., Chen, Q. J., and Boireau, P. (2007) Identification of stage-specifically expressed genes of *Trichinella spiralis* by suppression subtractive hybridization, *Parasitology* 134, 1443-1455.

<sup>2</sup> Liu, M. F., Wu, X. P., Wang, X. L., Yu, Y. L., Wang, W. F., Chen, Q. J., Boireau, P., and Liu, M. Y. (2008) The Functions of Deoxyribonuclease II in Immunity and Development, *DNA and cell biology* 27, 6.

<sup>3</sup> Liao, C., Liu, M., Bai, X., Liu, P., Wang, X., Li, T., Tang, B., Gao, H., Sun, Q., Liu, X., Zhao, Y., Wang, F., Wu, X., and Boireau, P. (2014) Characterisation of a Plancitoxin-1-Like DNase II Gene in *Trichinella spiralis*, *PLoS neglected tropical diseases* 8, e3097.

---

## INEFFICIENCY OF INFLUENZA VACCINATION IN COPD PATIENTS IS ASSOCIATED WITH DEFECT OF B CELL DIFFERENTIATION AND DECREASE OF IFN $\gamma$ CD4 $^+$ T CELLS PRODUCTION

PARPALEIX A., BOYER L., WIEDEMANN A., LACABARATZ C., LINO A., COVALI-NOROC A., CHOUAID C., MAITRE C., LÉVY Y., LELIÈVRE J.D., ADNOT S.

U955 Eq08, Inserm

**Rationale:** Infection with influenza virus is an important comorbidity in patients with chronic obstructive pulmonary disease (COPD). Unfortunately, influenza vaccination effectiveness is impaired in these patients and the mechanisms involved remain unknown. Here we analyzed specific humoral and T cell responses to influenza vaccination and performed characterization of B and T cell subsets in COPD patients.

**Methods:** Neutralizing antibody (anti-hemagglutinin Ab to A/California/7/2009, A/Texas/50/2012, and B/Massachusetts/02/2012 antigen) levels from 15 patients with COPD and 15 subjects with normal lung function and same age were assessed before and after influenza vaccination. Cytokines production (IFN $\gamma$ , TNF $\alpha$  and IL-2), proliferation of CD4 $^+$  and CD8 $^+$  T cells in response to the whole vaccine stimulation for 6 hours and 5 days were determined in vitro by flow cytometry. T and B cells subsets were analyzed by flow cytometry and assessed in relation to lung function and emphysema (FEV1, diffusing capacity for carbon monoxide (DLCO) and CT-scan). CD8 $^+$  T cells cytotoxicity capacity was assessed by staining of Perforin and Granzyme B.

**Results:** COPD patients had lower humoral immune response to the influenza vaccine than healthy controls ( $p=0.028$  for A/California/7/2009,  $p=0.08$  for A/Texas/50/2012). T cell responses to Flu vaccine were also disturbed : IFN $\gamma$  -but not IL2 or TNF- production by CD4 $^+$  T cells were reduced in COPD patients compared to controls ( $p=0.033$ ). Frequency of CD8 $^+$  T cells with a cytotoxicity capacity and proliferation of CD4 $^+$  and CD8 $^+$  T cells did not differ between the two populations. Beside specific responses to Flu, we found a more general perturbation of B cell homeostasis with an increase of the naïve/memory ratio ( $p=0.016$ ) that was correlated with DLCO ( $r= -0.38$  and  $p=0.042$ ) and emphysema score ( $r=0.56$  and  $p=0.003$ ). Switched B cells (CD27+IgD-) were lower in COPD patients ( $p=0.029$ ) and correlated with DLCO ( $r=0.38$  and  $p=0.043$ ) and emphysema score ( $r=-0.59$  and  $p=0.002$ ). Concerning T cells, no difference was observed between the two groups regarding naïve (CD45RA+CCR7+), central memory (CD45RA-CCR7+), effective memory (CD45RA-CCR7-) and exhausted (CD45RA-CCR7+) CD4 $^+$  and CD8 $^+$  T cells.

**Conclusion:** In COPD patients, a defect of B cell differentiation and an inability of CD4 $^+$  T cells to produce IFN $\gamma$  after influenza stimulation may explain the inefficiency of vaccine response in these patients. This alteration resembles that observed during common variable immunodeficiency disorders.

---

## AVIESAN ET LE SOUTIEN DE L'INNOVATION EN VACCINOLOGIE

**BOUSSELET A.**

Labellisés dans le cadre des Investissements d'Avenir, les Domaines de Valorisation Stratégiques (DVS) de l'Alliance Aviesan s'attachent à stimuler l'innovation en favorisant l'émergence de projets de recherche innovants à visées applicatives sur des thématiques à forts enjeux socio-économiques.

Le DVS Innovation en vaccinologie, adossé au réseau CoReVac, cherche à résoudre les problématiques associées à la valorisation des innovations en vaccinologie. Il s'est attaché à identifier les membres de sa communauté, à favoriser les interactions entre académiques, industriels et cellules de valorisation via une journée de rencontre et à identifier et proposer des solutions pour lutter contre les verrous rencontrés, grâce à des études de propriété intellectuelle et de marché. Le DVS organise également un Appel à Manifestation d'Intérêt (AMI) dont l'objectif est de stimuler le financement des projets en rapport avec la vaccinologie. En encourageant les approches multidisciplinaires et la mise en commun des expertises cliniques, scientifiques et marché, l'AMI permet d'avoir une vision d'ensemble à l'échelle nationale tout en créant une communauté d'intérêt. Cet appel est ouvert aux académiques comme aux industriels, travaillant sur les vaccins pour la santé humaine et animale.

## Avec la participation de :

- Jean Armengaud (CEA)
- Didier Raoult (IHU Méditerranée)
- Béhazine Combadière (Cimi-Paris)
- Jean-Christophe Audonnet (Merial)
- Bertrand Schwartz (ANR)
- Alice Bousselet (Aviesan)

## Comité scientifique :

### ■ Agents infectieux :

- Jean-Michel Pawlotsky (UPEC)
- Jean-Winoc Decousser (UPEC)
- Patrick Fach (Anses)
- Muriel Vayssier-Taussat (INRA)
- Damien Vitour (Anses)

### ■ Vaccins :

- Jean-Daniel Lelièvre (UPEC)
- Nabila Seddiki (UPEC)
- Bernard Klonjowski (EnvA)
- Jennifer Richardson (INRA)
- Sophie Le Poder (EnvA)

Plus d'informations sur le pôle **SANTÉ & SOCIÉTÉ** et ses journées sur :

<http://journee-sante-societe.fr>

**Comité d'organisation :** Pascal Boireau (Anses), Jean-Daniel Lelièvre (UPEC), Bernard Klonjowski (EnvA), Jean-Michel Pawlotsky (UPEC), Romain Gherardi (UPEC), Christine Huynh (UPEC), Rachid Aaziz (Anses)

### Membres du pôle Santé & Société :



### Sous le parrainage de :



### Avec le soutien de :

