

Bilan des activités d'APEX pour l'année 2010

Collaborations scientifiques

Caractérisation d'un modèle animal d'infection par le virus Chikungunya

Collaboration initiée en novembre 2006 avec Pierre Roques (CEA, Service d'ImmunoVirologie, Fontenay-aux-Roses) et élargie depuis début 2008 à Andreas Suhrbier (Queensland Institute of Medical Research, Brisbane, Australie).

En complément du suivi clinique et biologique assurés par le CEA, l'analyse lésionnelle systématique et l'étude de la distribution virale réalisées par APEX ont permis de valider un modèle simien de la maladie. Le rôle central des macrophages dans la dissémination et la persistance du virus pendant plusieurs mois après l'inoculation a été identifié pour la première fois ce qui pourrait expliquer la récurrence à long terme des symptômes chez certains patients.

La reproduction expérimentale de l'infection chez la souris adulte a également été mise en place et validée. Des lésions articulaires et musculaires très similaires à celles observées chez l'Homme ont été décrites. L'infection de souris KO (CCR2; IFN3&7) est maintenant développée pour l'identification des mécanismes physiopathogéniques à l'échelle moléculaire.

Publications :

Labadie K, **Larcher T**, Joubert C, Delache B, Brochard P, Mannioui A, **Guigand L**, **Dubreil L**, Lebon P, Verrier B, de Lamballerie X, Suhrbier A, **Cherel Y**, Le Grand R, Roques P : Chikungunya disease in nonhuman primates involves long-term viral persistence in macrophages. *J Clin Invest*, 2010, **120** : 894-906

Gardner J, Anraku I, Le TT, **Larcher T**, Major L, Roques P, Schroder WA, Higgs S, Suhrbier A : Chikungunya Virus Arthritis in Adult Wild-Type Mice. *J Virol*, 2010, **84** : 8021-32

Communications :

Roques P, Labadie K, **Larcher T**, **Chérel Y**, Suhrbier A, Le Grand R. CHIKV can persist in tissue sanctuaries. In: International Association of Neuroinfection Studies, Saint Denis de la Réunion, 2-6 décembre 2010.

Roques P, Labadie K, **Larcher T**, Joubert C, Delache B, **Chérel Y**, Le Grand R. Développement d'un modèle préclinique de l'infection à Chikungunya. In: 36th colloque AFSTAL, Lyon, 24-25 novembre 2010

Identification de facteurs de virulence de virus Influenza chez le poulet et le canard

Étude initiée en avril 2007 avec Nadia Naffakh (Institut Pasteur, Génétique moléculaire des virus respiratoires, Paris) et Daniel Marc (Département : Santé animale, Unité : IASP, Nouzilly) dans le cadre d'un PTR INRA-IP et poursuivie à partir de mai 2008 grâce au FRIA.

L'analyse lésionnelle et l'étude de la distribution tissulaire du virus permettent de documenter et de comparer la pathogénicité de différentes souches virales mutantes obtenues par génétique inverse par rapport au virus sauvage. L'objectif de cette étude est de comprendre les mécanismes précoces à l'origine du passage des barrières d'espèces.

Publication :

Munier S, **Larcher T**, Cormier-Aline F, Soubieux D, Su B, **Guigand L**, Labrosse B, **Cherel Y**, Quere P, Marc D, Naffakh N. A genetically engineered waterfowl influenza virus with a deletion in the stalk of the neuraminidase has increased virulence for chickens. *J Virol*, 2010, **84** : 940-52

Communications :

Munier S, Hoffmann TW, Tourdes A, **Larcher T**, Soubieux D, **Cherel Y**, Marc D, Naffakh N. Genetic evolution of the neuraminidase upon transmission of influenza A viruses from waterfowl to poultry. In: 14th International Negative Strand Virus Meeting, Bruges, 21-25 juin 2010.

Marc D, **Larcher T**, Cormier-Aline F, Quere P, Soubieux D, Munier S, **Guigand L**, **Cherel Y**, Naffakh N. Increased virulence for chickens of a genetically engineered waterfowl influenza virus with a deletion in the stalk of the neuraminidase. In: 13th European Poultry Conference, Tours, 24-27 août 2010

Altérations physiopathologiques de poissons zèbres exposés à des polluants environnementaux

Programme ConPhyPop de 2 ans initié en septembre 2009 et financé par l'ANR (portant sur les Hydrocarbures Poly-Aromatiques). Les collaborations initiées par ce programme ont permis l'intégration à un autre projet similaire, GénérationPop (portant sur les PolyChloroBiphenol).

La contribution d'APEX consiste à identifier les conséquences physiopathologiques à long terme sur le poisson zèbre utilisé comme espèce modèle après une exposition à des contaminants d'origine anthropique. Les premiers travaux ont pu mettre en évidence des effets sur les fonctions de l'immunité (augmentation de la sensibilité à certains agents pathogènes), de la reproduction (dégénérescence folliculaire) et sur la cancérogénèse (identification de lésions pré-néoplasiques et néoplasiques).

Actions de soutien et de formation

Soutien méthodologique en histomorphométrie

Validation d'un modèle murin d'allergie alimentaire et évaluation de l'efficacité de la désensibilisation épicutanée

Étude initiée en mai 2009 avec DBV technologies (Hopital Cochin, Paris).

L'analyse lésionnelle de différentes portions du tube digestif de souris, ayant été soumises à un régime alimentaire à base d'arachide, a permis d'identifier un modèle original d'allergie alimentaire. Un traitement de désensibilisation épicutanée est en cours d'évaluation.

Publication :

Mondoulet L, Dioszeghy V, **Larcher T**, Ligouis M, Dhelt V, Puteaux E, **Cherel Y**, Letourneur F, Dupont C, Benhamou P : Assessing the efficacy of epicutaneous immunotherapy (EPIT) in a new mouse model of peanut-induced eosinophilic esophagitis and allergic enteropathy. [submitted to clinical and experimental allergy]

Communication :

Mondoulet L, Dioszeghy V, Ligouis M, Dhelt V, **Larcher T**, Cherel Y, Dupont C, Benhamou P : A model of eosinophilic esophagitis (EE) and villus atrophy (VA) after challenge in mice sensitized to peanuts: improvement by epicutaneous immunotherapy (EPIT). J Pediatr Gastroenterol Nutr, 2010, **50** : E212-E212

Prévention nutritionnelle des lésions de cardiomyopathie hypertrophique

Étude initiée en mai 2010 avec Delphine Rousseau (Dpt : AlimH, UMR1154, Chatenay-Malbry).

L'objectif est de déterminer l'influence du régime alimentaire sur la prévention du développement de lésions cardiaques hypertrophiques sur un modèle rat de sténose de l'aorte thoracique. APEX s'attache à la description et à la quantification lésionnelle du muscle cardiaque.

Etude de la réponse immunitaire de chevreux créoles contre Haemonchus contortus

Étude initiée en mars 2009 avec Jean-Christophe Bambou (Dpt : SA, URE, Petit Bourg, Guadeloupe).

L'objectif est de caractériser la réponse de l'hôte suite à une infestation par voie orale selon son statut génétique résistant ou sensible afin d'identifier des facteurs de résistance. APEX analyse les lésions de la caillette et caractérise les infiltrats cellulaires inflammatoires.

Soutien technique en immunohistochimie

Identification des stades sexuels de Babesia et de Bartonella chez la tique

Étude réalisée avec Sarah Bonnet (Dpt : SA, Unité : BioEpAR, Nantes et AFSSA, USC Bartonella, Maisons-Alfort).

Les techniques d'inclusion et de coupe de tiques ont été mises au point pour permettre de réaliser les immunomarquages de différents agents pathogènes dont la tique est le vecteur.

Publication :

Becker CAM, Malandrin L, Depoix D, **Larcher T**, David PH, Chauvin A, Bischoffe E, Bonnet S : Identification of three CCp genes in Babesia divergens: novel markers for sexual stages parasites. Mol Biochem Parasit, 2010, **174** : 36-43

Formation

APEX a organisé une initiation à l'autopsie des rongeurs de laboratoire à la PFIE (Département : SA, Tours) les 10, 11 et 12 mars 2010. Cette formation avait pour objectif de présenter aux techniciens au contact des animaux d'expérimentation les principes de la technique d'autopsie ainsi que la méthode de description des lésions.

Les présentations sont consultables sur le site d'APEX : http://www.inra.fr/anatomie_pathologique_sante_animale

Études toxico-pathologiques réglementaires et expertises diagnostiques

Évaluation toxicopathologique

Prestations pour des partenaires académiques (PFIE, Nouzilly) et privés (Endotis Pharma, Romainville) afin d'évaluer l'inocuité de molécules à visée thérapeutique chez des espèces animales de laboratoire (respectivement souris et chiens). **à développer et à compléter par l'étude Aubourg**

Diagnostic nécropsique et histopathologique

Identification des causes de mortalité accidentelle observée chez des chiens et chats d'expérimentation hébergés au centre de thérapie génique de Boisbonne (Ecole vétérinaire, Nantes) et chez des rats de l'IERP (INRA, Jouy-en-Josas) afin de mettre en place les mesures correctives nécessaires à la prévention de ces événements. Une vingtaine d'autopsie sont pratiquées chaque année dans ce cadre.

Actions de développement

Développement des techniques de biologie moléculaire sur lame

Nos travaux de mise au point de la technique d'hybridation *in situ* (HIS) ont permis d'optimiser sa spécificité et surtout sa sensibilité afin de permettre la détection et la localisation de transcrits de gènes rapporteurs (WPRE et GFP), présents en très faible quantité, pour répondre aux besoins du transfert de gène et de la thérapie génique.

La combinaison des techniques d'HIS et d'immunomarquage est actuellement en cours de développement et permet d'ores et déjà un typage des cellules exprimant un transcrit d'intérêt. Par exemple, la réplication du virus du chikungunya dans les macrophages a été démontrée grâce à un double marquage des ARN viraux et de déterminants antigéniques spécifiques de ce type cellulaire, identifiant par conséquent cette cellule comme la clé de voûte de la physiopathogénie de la maladie.

Publications :

Toromanoff A, Adjali O, **Larcher T**, Hill M, Guigand L, Chenuaud P, Deschamps JY, Gauthier O, Blanco G, Vanhove B, Rolling F, **Chérel Y**, Moullier P, Anegón I, Le Guiner C : Lack of immunotoxicity after regional intravenous (RI) delivery of rAAV to nonhuman primate skeletal muscle. *Mol Ther*, 2010, **18** : 151-60

Labadie K, **Larcher T**, Joubert C, Delache B, Brochard P, Mannioui A, **Guigand L**, **Dubreil L**, Lebon P, Verrier B, de Lamballerie X, Suhrbier A, **Chérel Y**, Le Grand R, Roques P : Chikungunya disease in nonhuman primates involves long-term viral persistence in macrophages. *J Clin Invest*, 2010, **120** : 894-906

Mise en place d'une démarche qualité

Nos exigences concernant la fiabilité et la traçabilité de nos résultats de recherche font l'objet d'un souci constant. Ce niveau d'exigence a pour but de satisfaire nos partenaires dans le cadre de nos collaborations scientifiques et de fournir des résultats exploitables et reconnus par les instances réglementaires du médicament dans le cadre des études toxipathologiques. Ces exigences sont matérialisées par notre démarche qualité mise en place depuis plus de 5 ans suivant le référentiel INRA.

- L'équipe APEX -