

APOX

EXpertise en Anatomopathologie comparée

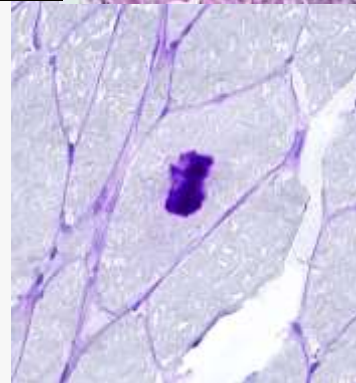
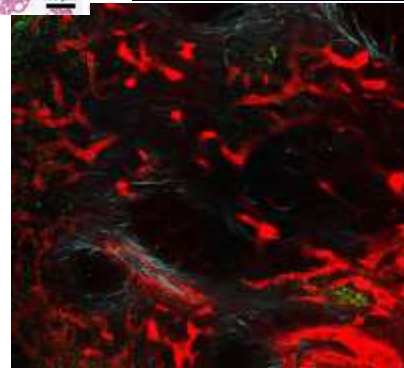
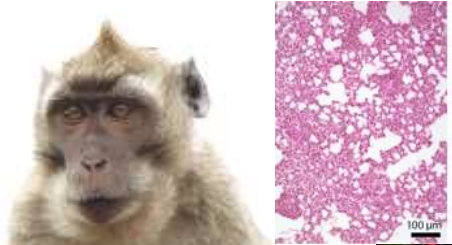
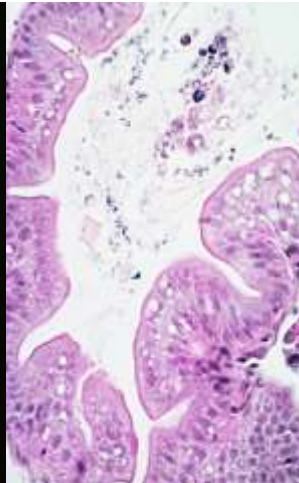
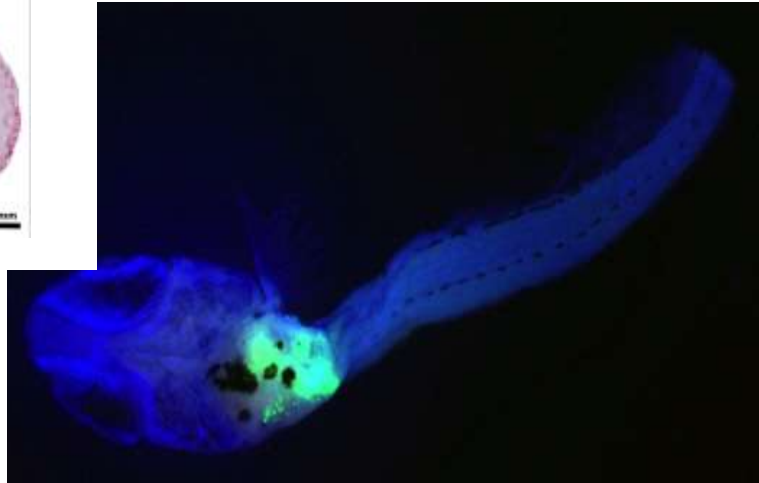
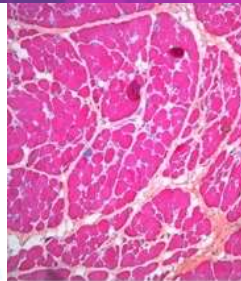


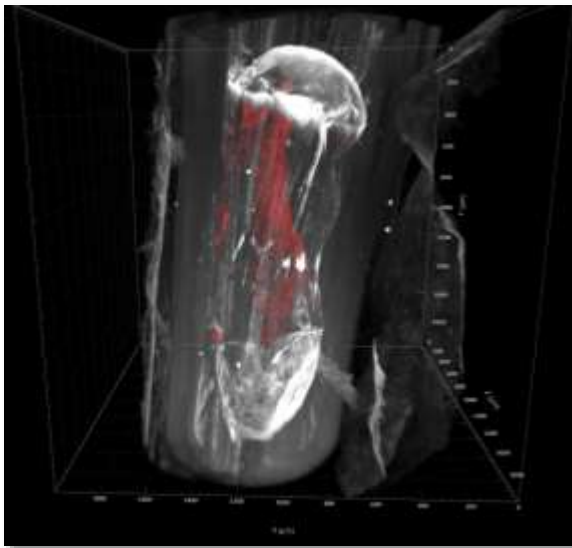
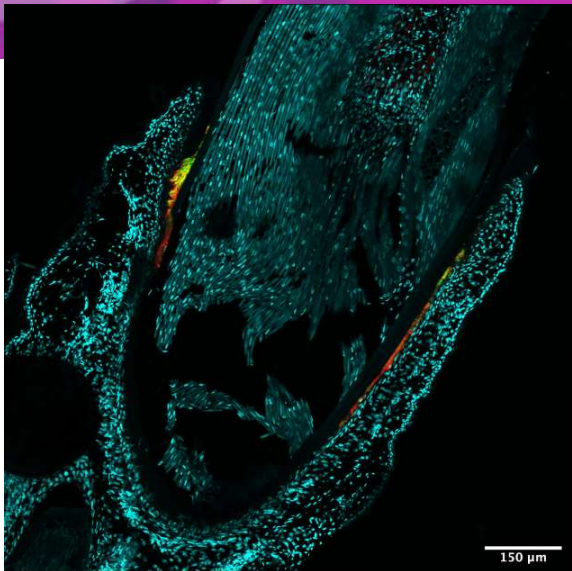
UMR0703 – PAnTher

INRAE / Oniris – VetAgroBio Nantes – Route de Gachet - La Chantrerie CS 40706 - 44307 Nantes Cedex 3 Tel : 02 40 68 28 21



APEX





Étude des stades précoces de l'infection par le virus de la maladie de Marek

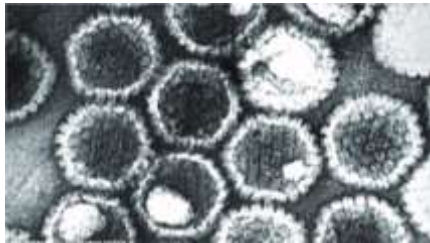
T. Larcher, M. Ledevin, C. Denesvre

INTRODUCTION > ÉTIOLOGIE ET IMPORTANCE



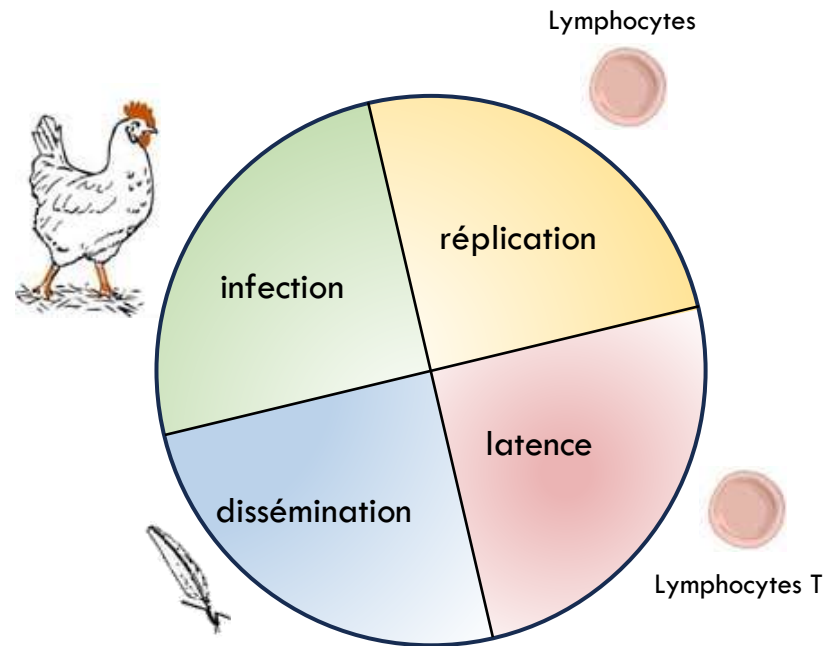
Maladie de Marek (MDV)

- infecte les poules et rarement les dindes
- souches hautement virulentes décrites en Amérique du Nord et en Europe depuis les années 80
- pertes économiques importantes en élevage de poulet de chair (1 milliard \$ / an dans le monde; FAO, 2010)



Étiologie

- Alpha-Herpesvirus
- Transmission par voie respiratoire à partir de squames et débris de plumes
- Virus résistant (65 semaines à température ambiante, amines quaternaires)



INTRODUCTION > PATHOGÉNICITÉ

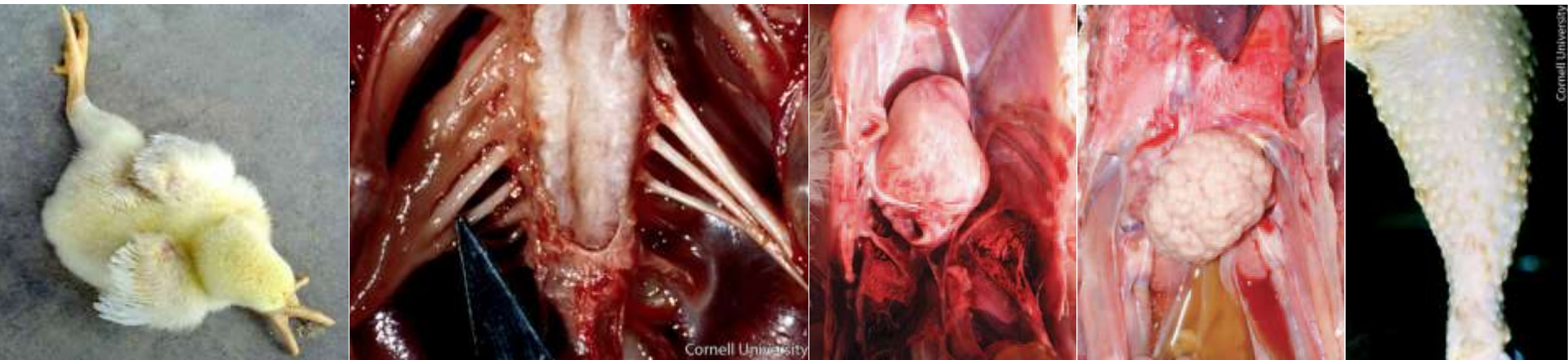
Symptômes

- perte de poids
- atteinte neurologique par infiltration du SNC et des nerfs -> paralysie, ataxie (membres, cou)
- atteinte tumorale viscérale (cœur, ovaires, testicules, muscles, poumons...)
- atteinte cutanée avec infiltration des follicules plumeux

Pathogénicité

- Morbidité : 10 à 50%
 - Mortalité : 100 % sur plusieurs semaines
 - Immunosuppression transitoire (phase précoce de l'infection) et **augmentation de la sensibilité à d'autres infections** virales, parasitaires, ou bactériennes.
- > augmentation des besoins en antibiotiques et des fréquences de vaccinations

Rem/ La vaccination MDV elle-même peut induire une immunosuppression modérée, causant un dilemme entre l'absolue nécessité de vacciner contre le MDV et la réduction de la réponse aux autres vaccins.



ÉTUDE DES STADES PRÉCOCES DE L'INFECTION PAR LE VIRUS DE LA MALADIE DE MAREK

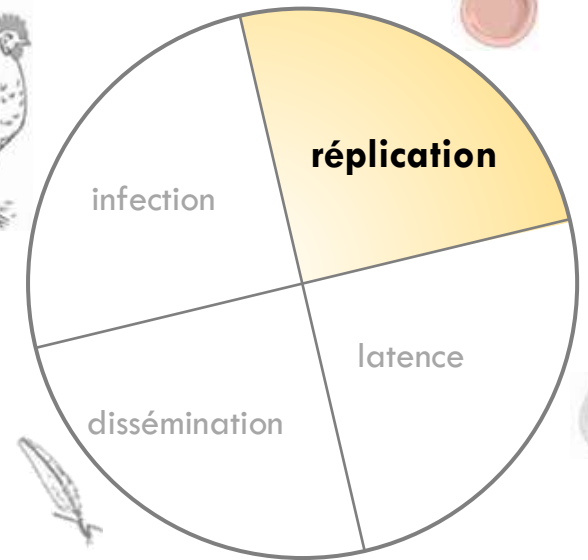
AFH, Saint-Malo, 13 juin 2024

.06



Étude réalisée en collaboration avec
Caroline Denesvre, DVM, PhD, HDR
Responsable équipe BioVA, ISP, INRAE, Nouzilly

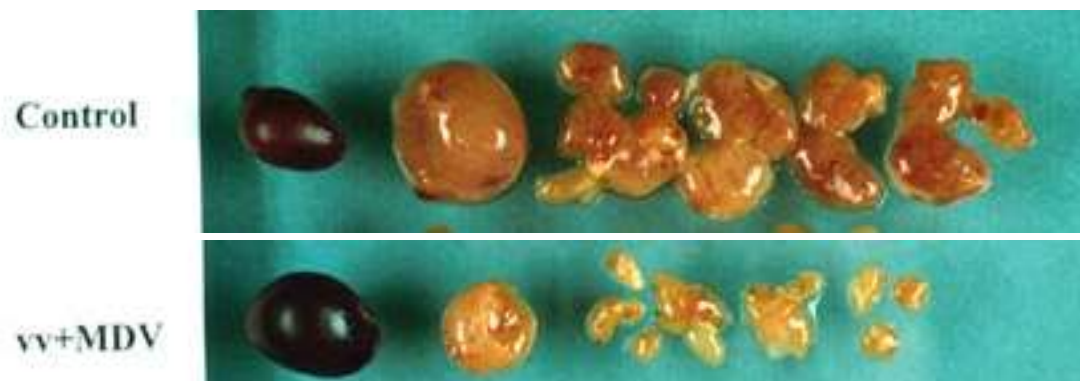
IMPACT PRÉCOCE DE L'INFECTION SUR LES ORGANES LYMPHOÏDES PRIMAIRES



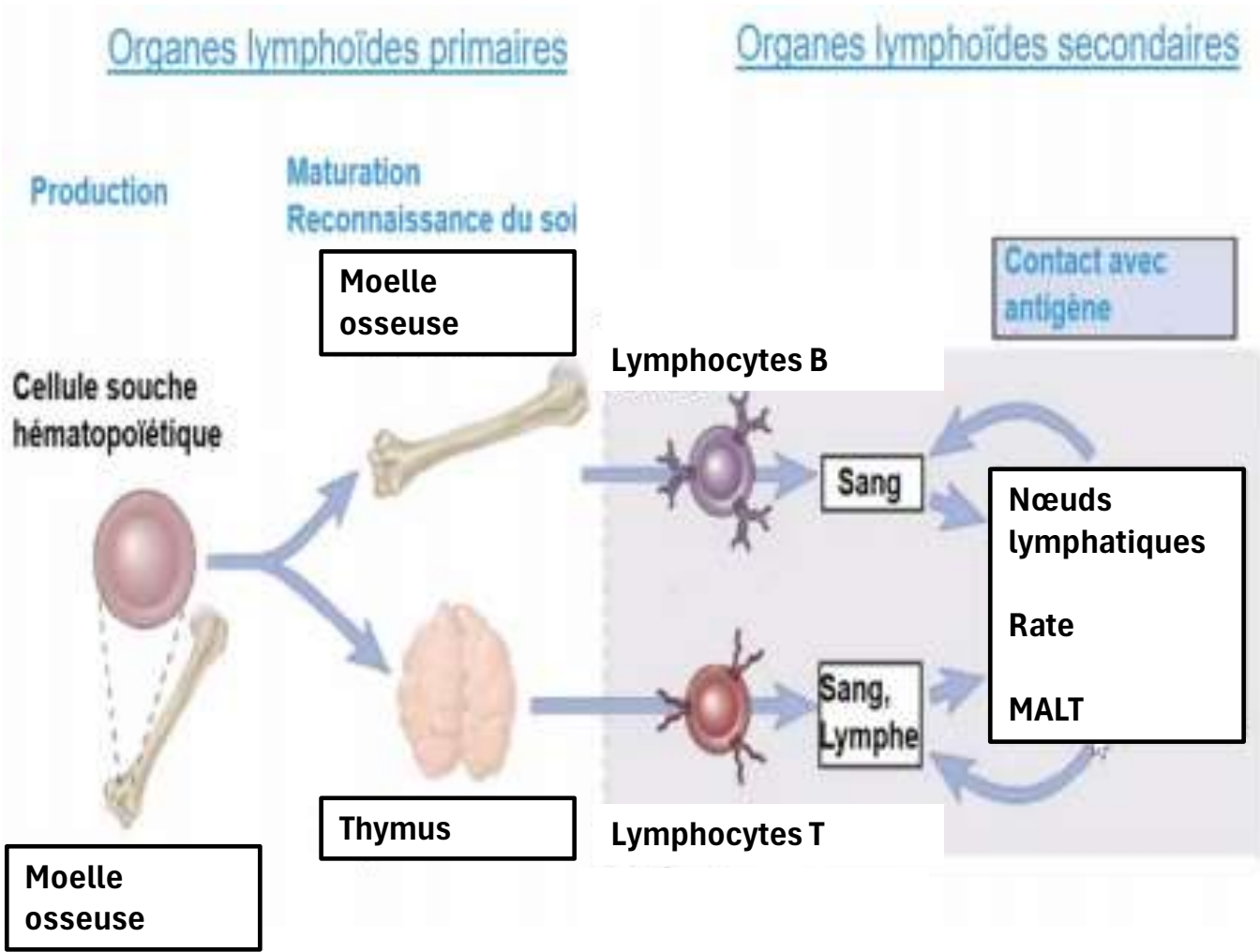
Animaux : 50 poulets **white leghorn** (B19/B19 haplotype) SPF dépourvus d'immunité humorale maternelle anti-MDV

Infection : Inoculation IM d'une souche MDV virulente (RB-1B strain; 2000 pfu). Animaux contrôles inoculés avec le milieu de culture





RAPPEL : LES ORGANES LYMPHOÏDES – MAMMIFÈRES

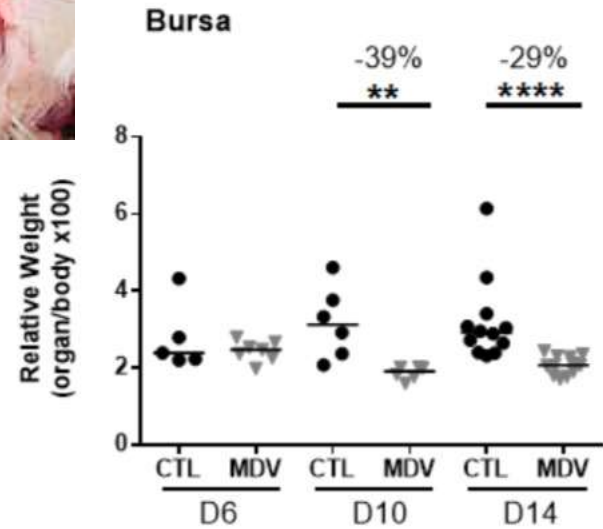
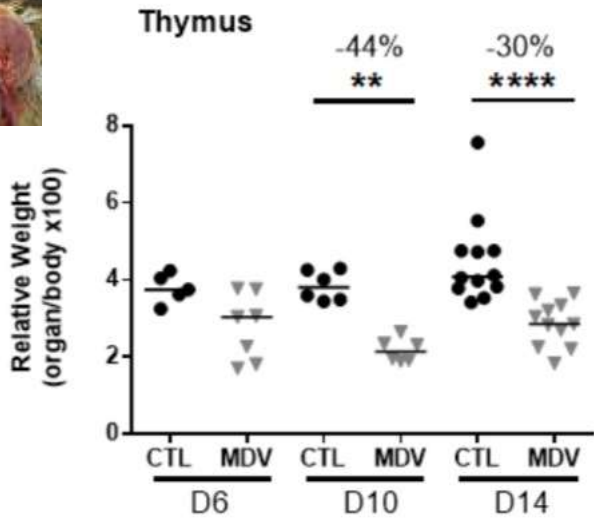
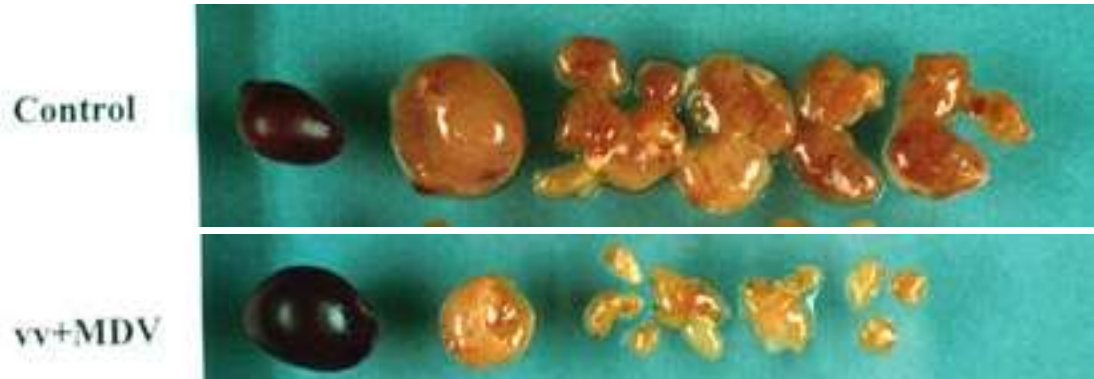


Organes lymphoïdes primaires

Organes lymphoïdes secondaires



RÉSULTATS : AUTOPSIE

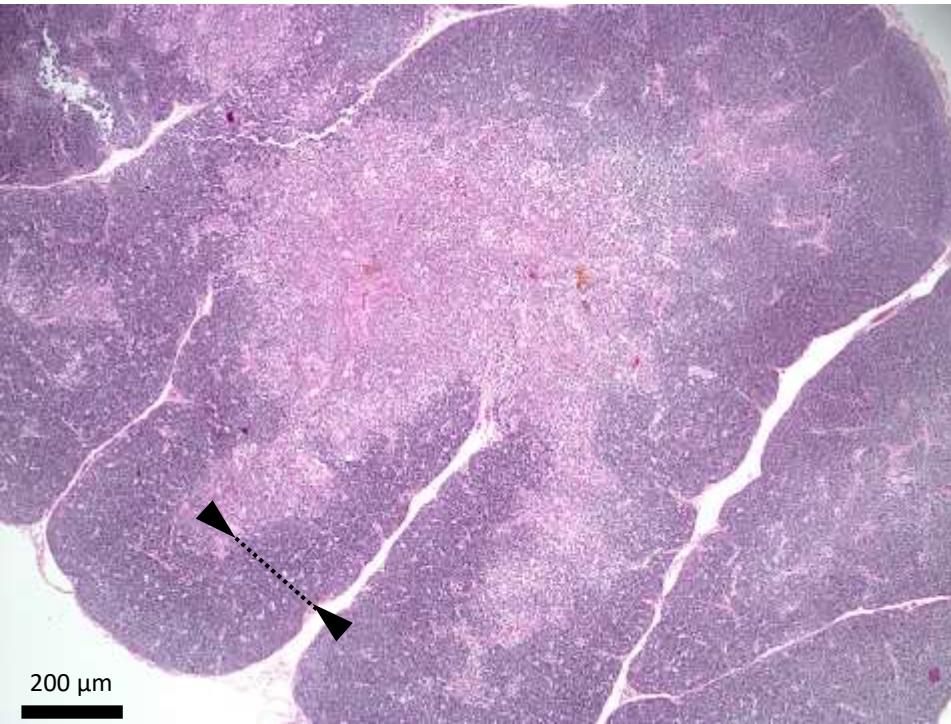


À 10 et 14 dpi, atrophie sévère précoce de la bourse de Fabricius et du thymus

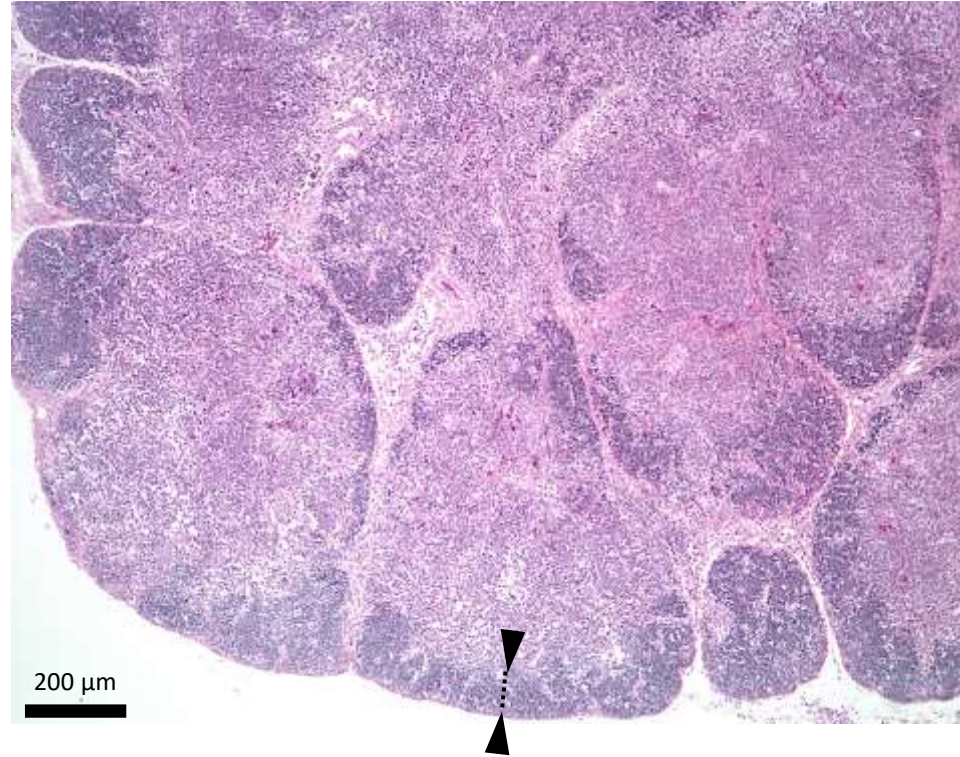


Thymus : atrophie corticale sévère chez les animaux infectés MDV (à D6 et D10)

CTL, D10 x4



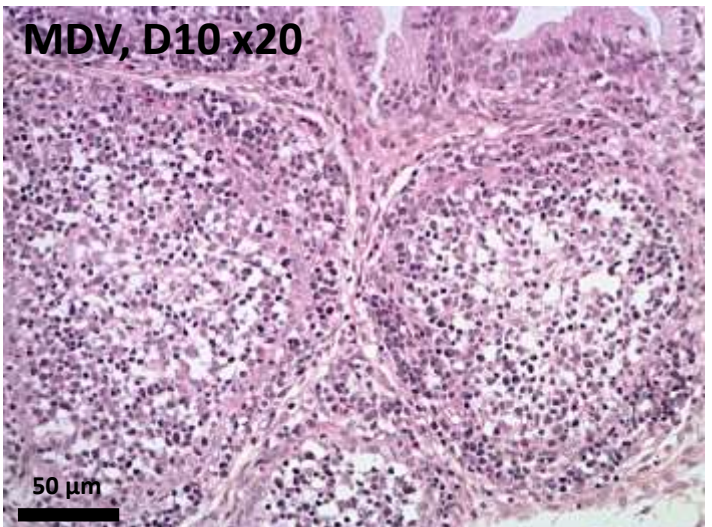
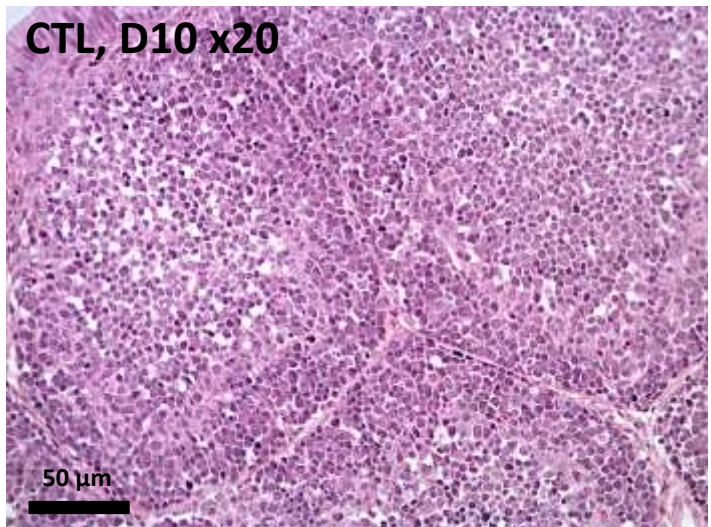
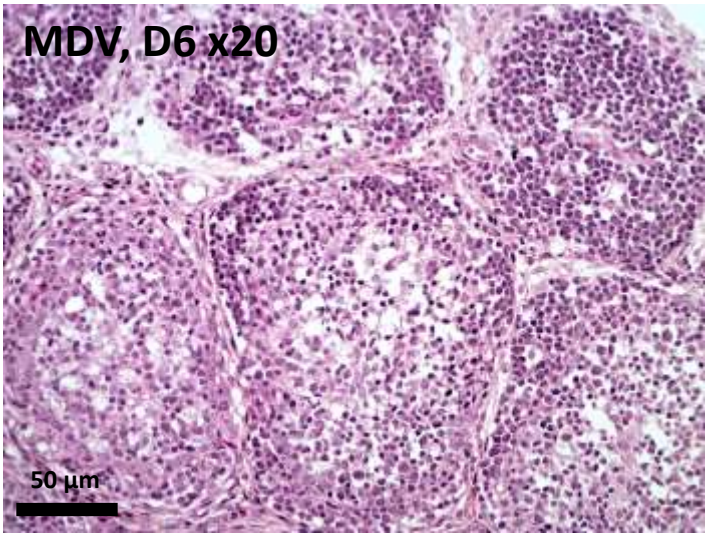
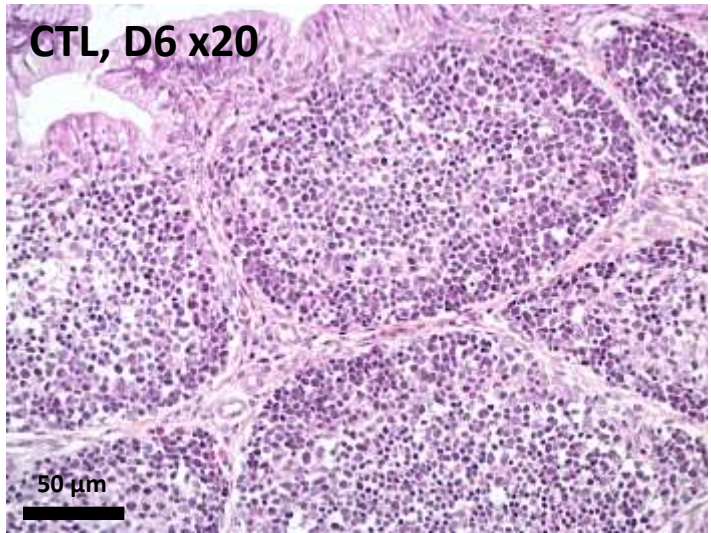
MDV, D10 x4



RÉSULTATS : ANALYSE HISTOPATHOLOGIQUE

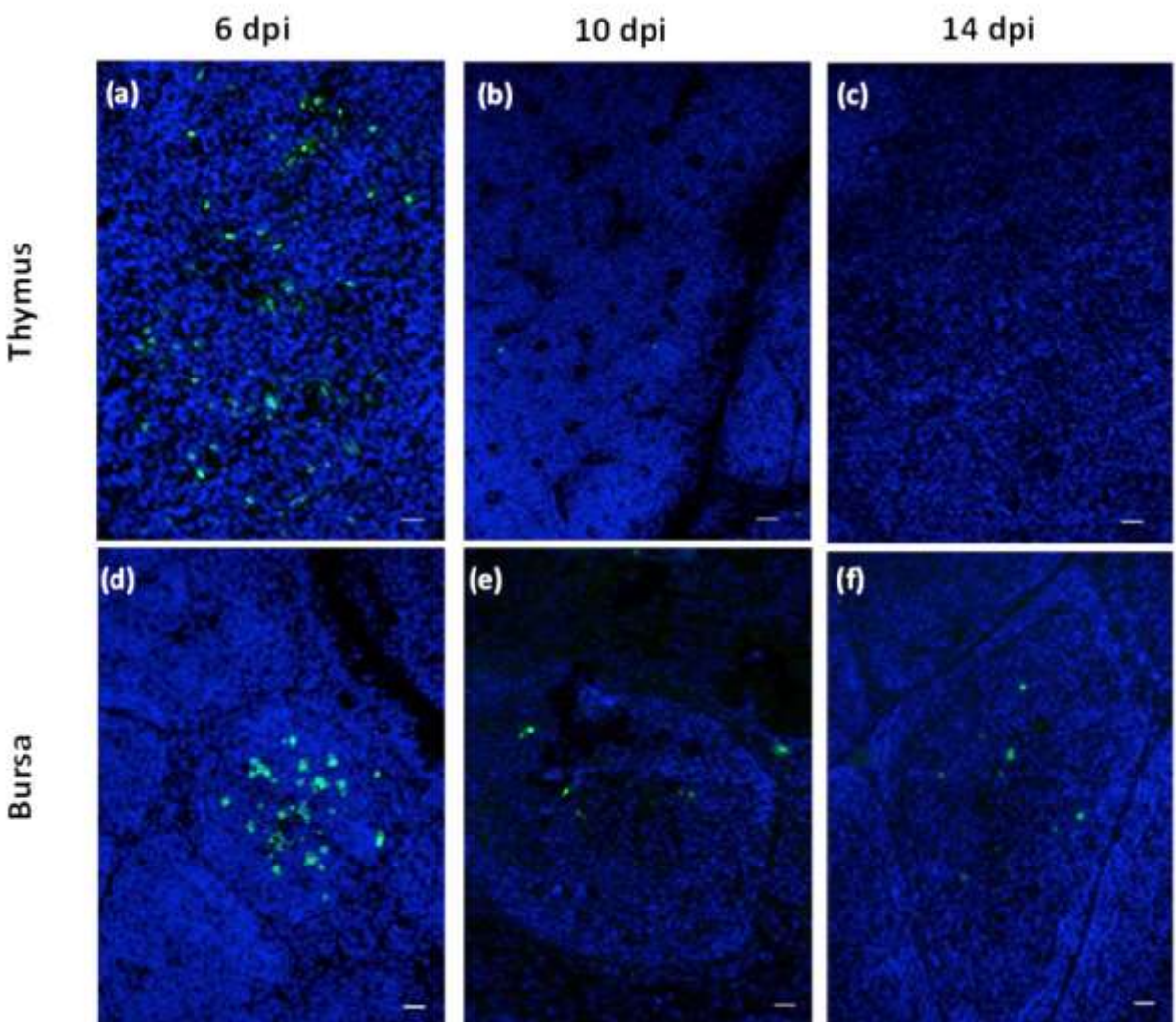


Bourse de Fabricius : atrophie folliculaire et déplétion lymphocytaire sévère chez les animaux infectés MDV



RÉSULTATS : MISE EN ÉVIDENCE DU VIRUS *IN TISSU*

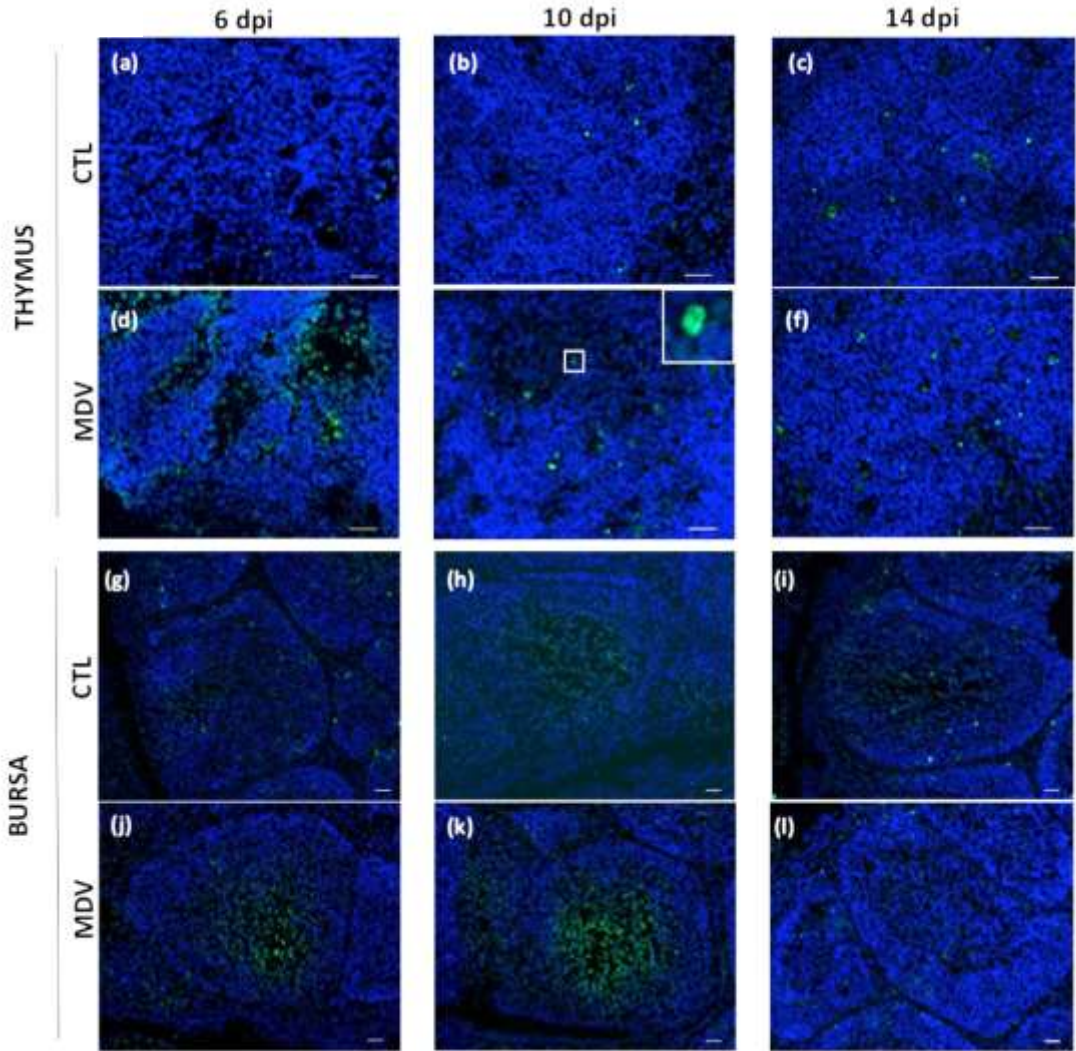
Mix de 3 anticorps contre les **antigènes lytiques** (VP22, ICP4, gB)
Noyaux (Hoescht 33342)



Détection du virus dès 6 dpi (avant l'atrophie)

RÉSULTATS : MISE EN ÉVIDENCE DE L'APOPTOSE

Thymus et bourse : *in situ* TUNEL assay sur cryo-sections
Augmentation de l'index apoptotique à partir de 6 dpi



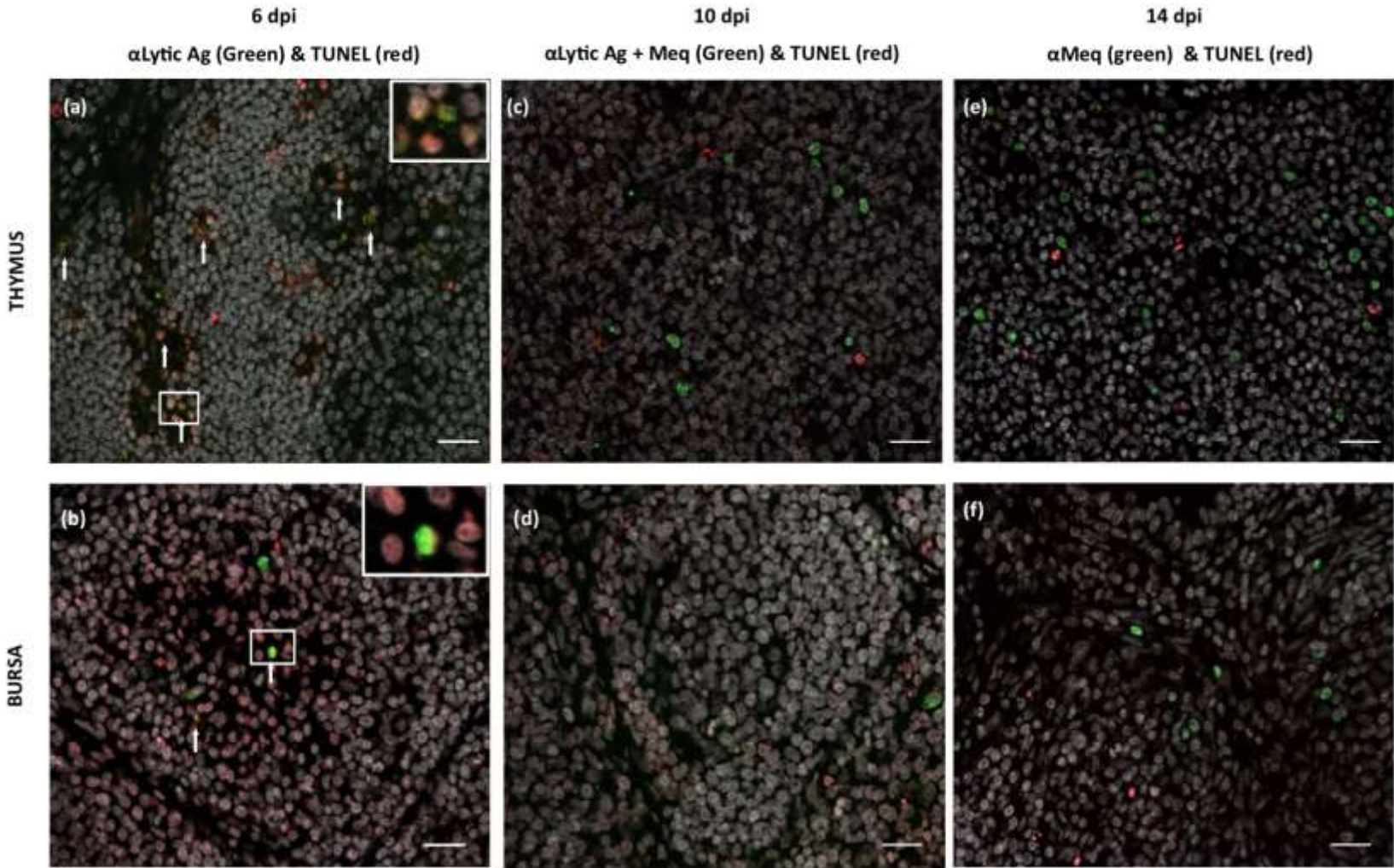
RÉSULTATS : MISE EN ÉVIDENCE DES EFFETS CYTOPATHOGENES DU VIRUS

Double-marquage **TUNEL** et **antigènes MDV** antigens

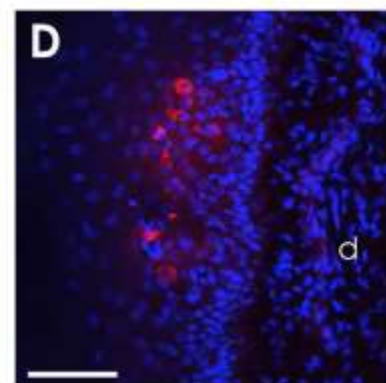
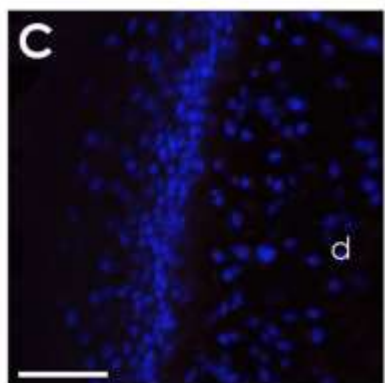
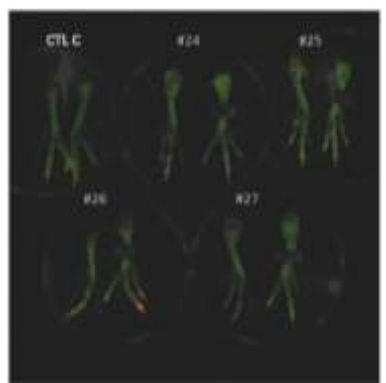
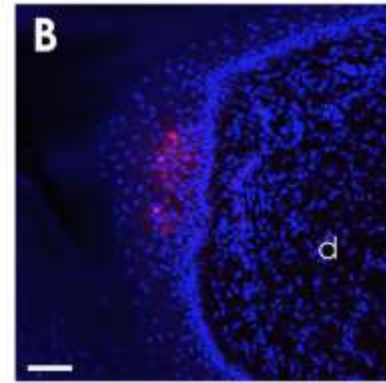
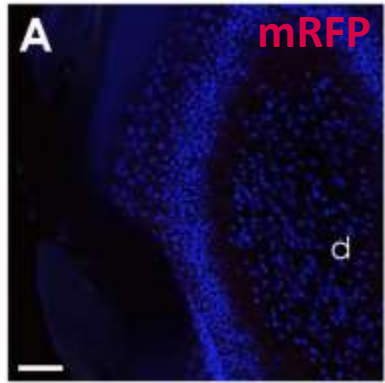
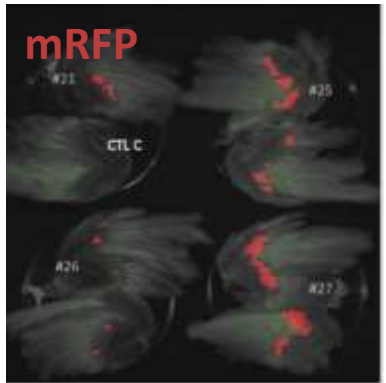
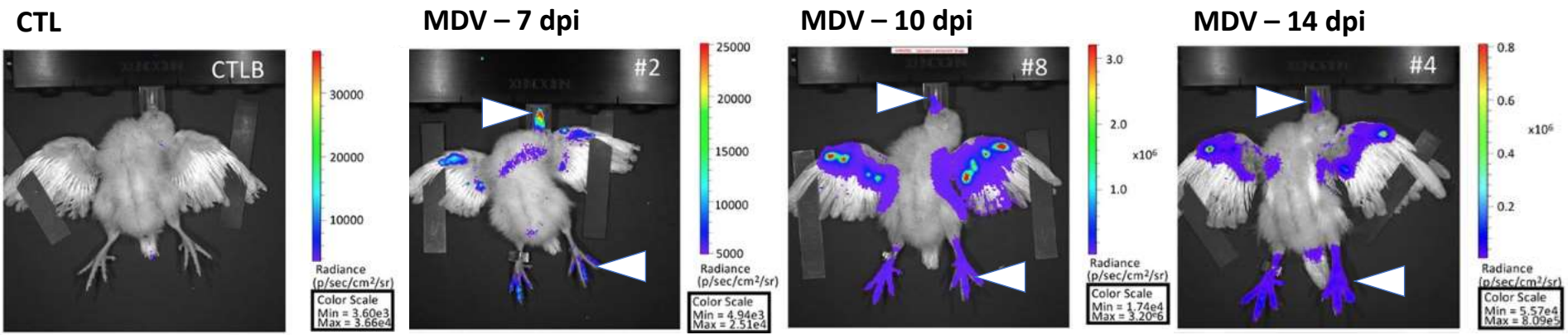
Thymus : cellules infectées apoptotiques à 6 dpi

Bourse : cellules apoptotiques à proximité des cellules infectées

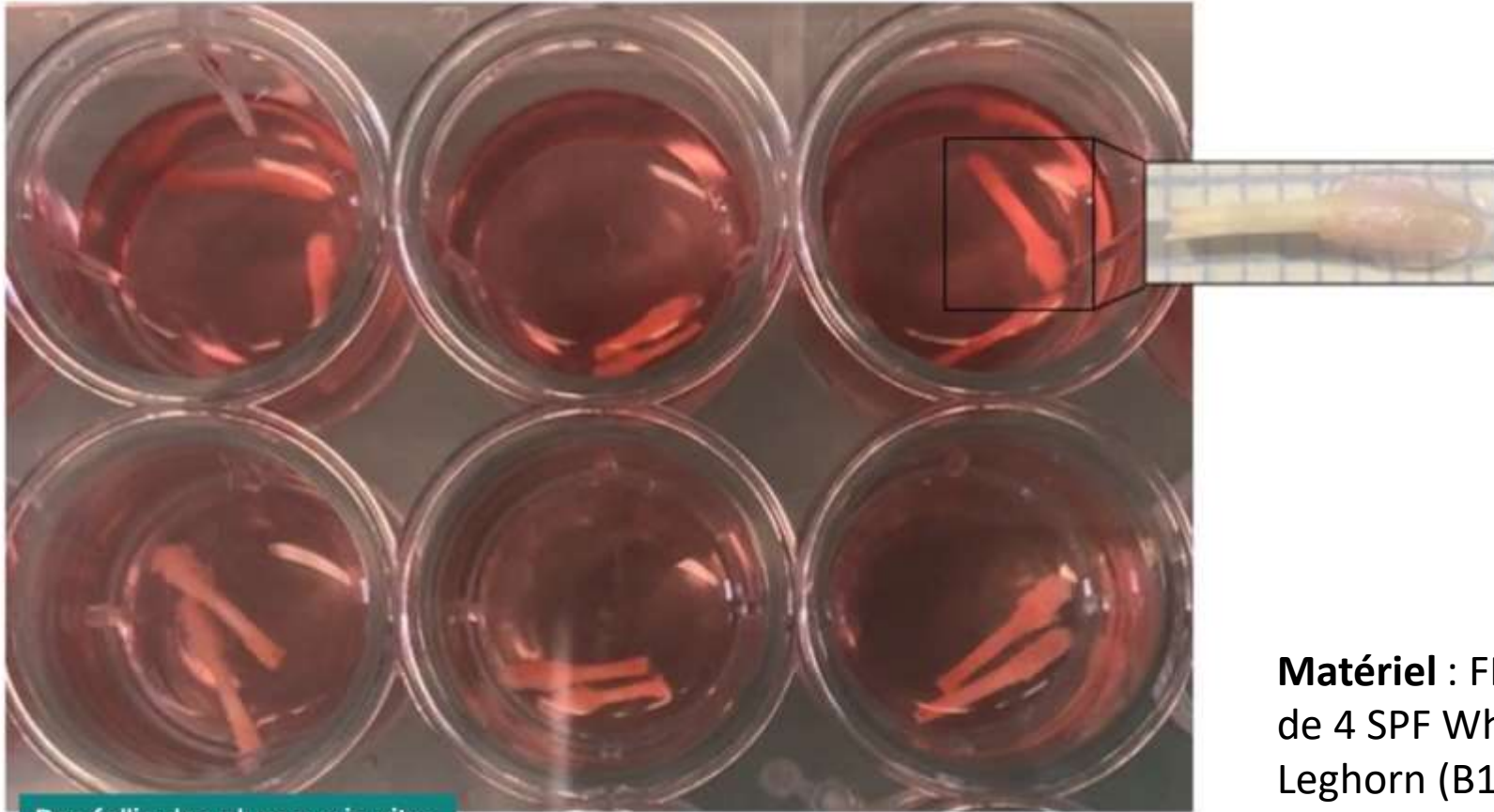
Induction directe et indirecte de l'apoptose



RÉSULTATS : SITES DE RÉPLICATION VIRALE PRÉCOCE



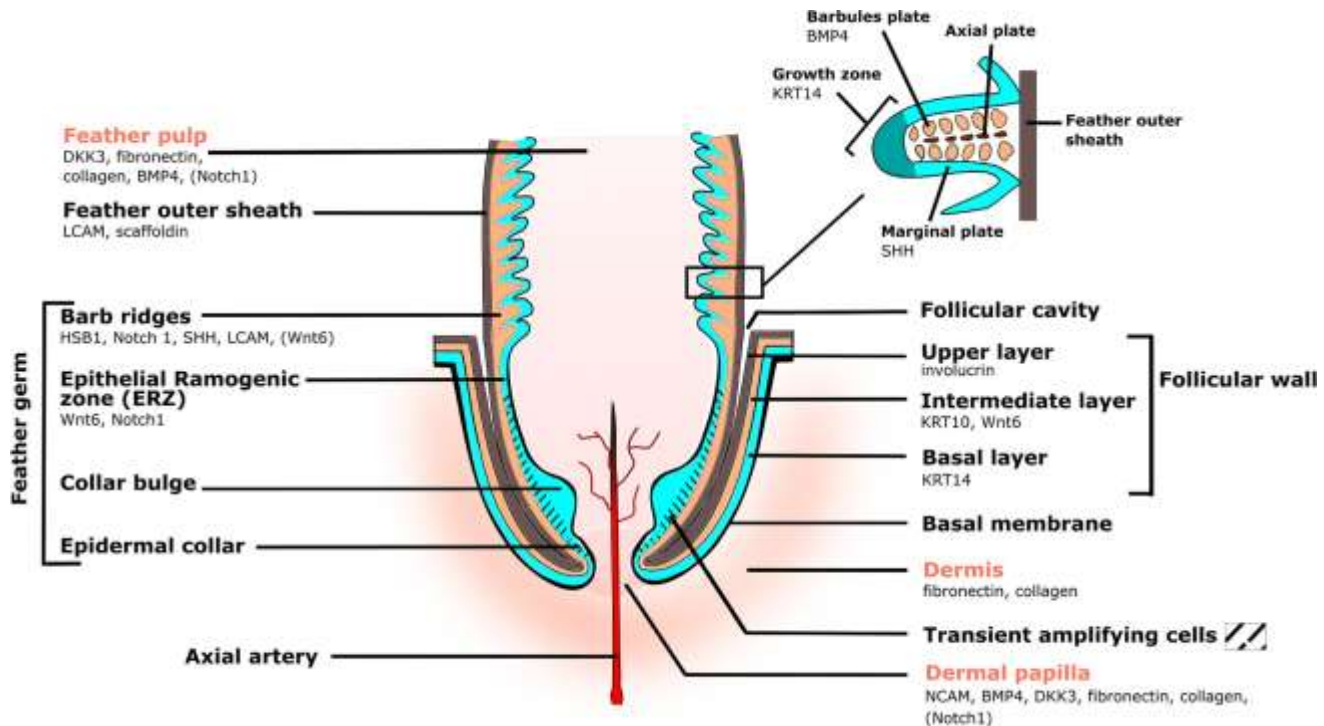
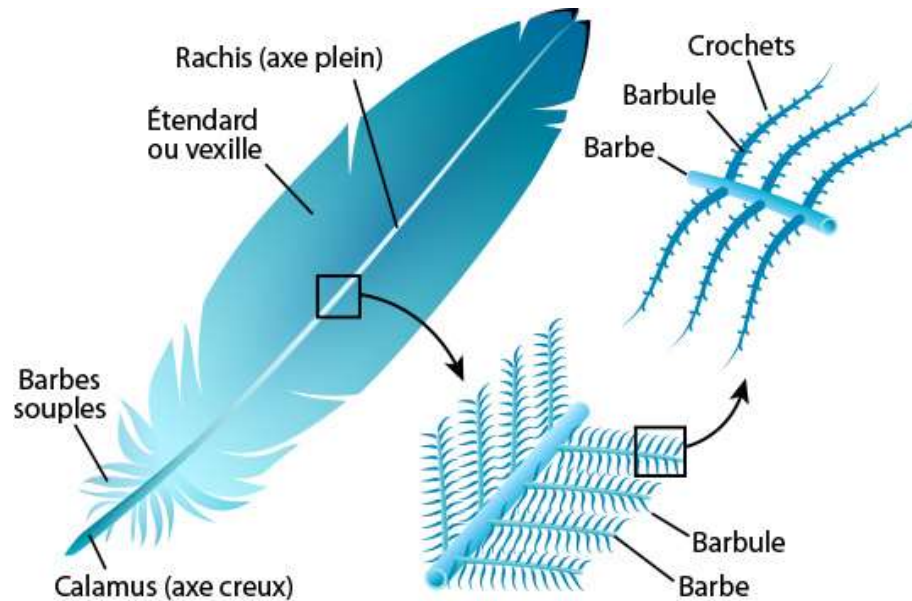
La culture de follicules plumeux (FP) in vitro : un modèle alternatif original chez la Poule



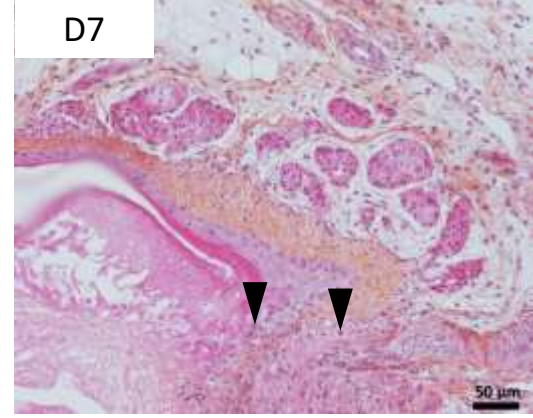
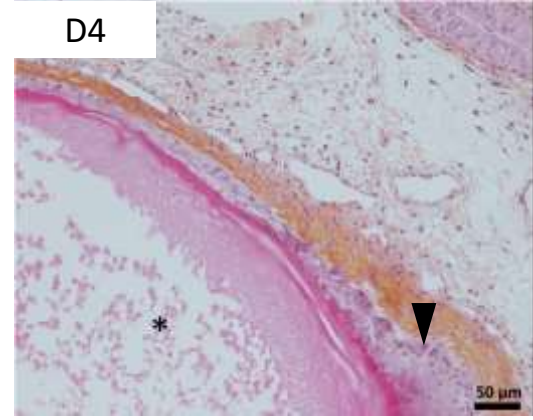
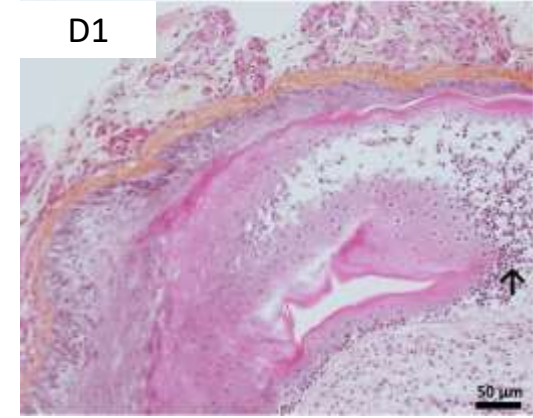
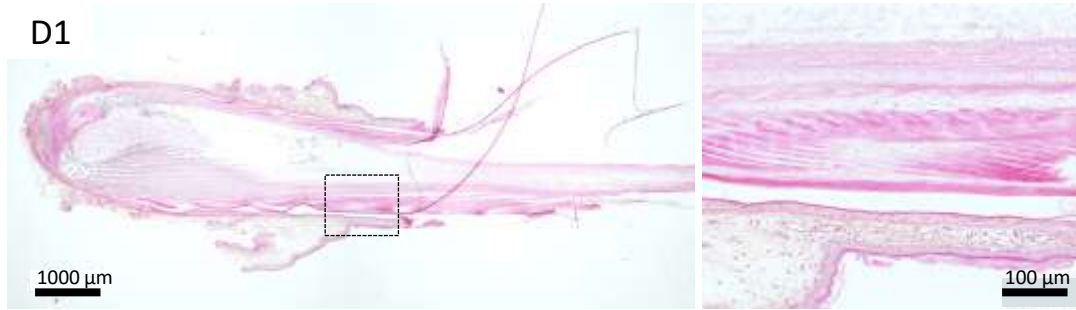
Des follicules plumeux in vitro.

Matériel : FP issus
de 4 SPF White
Leghorn (B13/B13)

ANATOMIE ET HISTOLOGIE DE LA PLUME

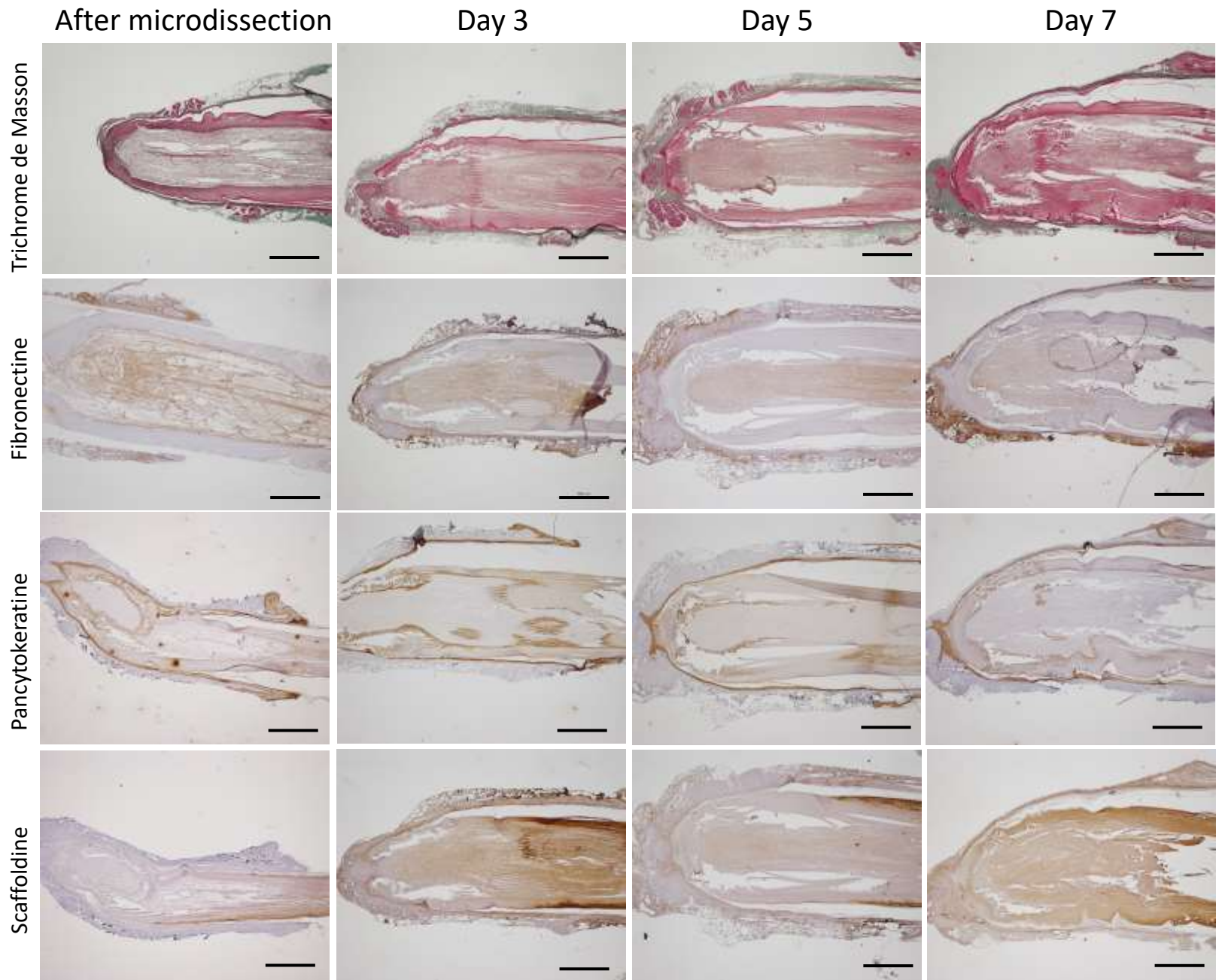


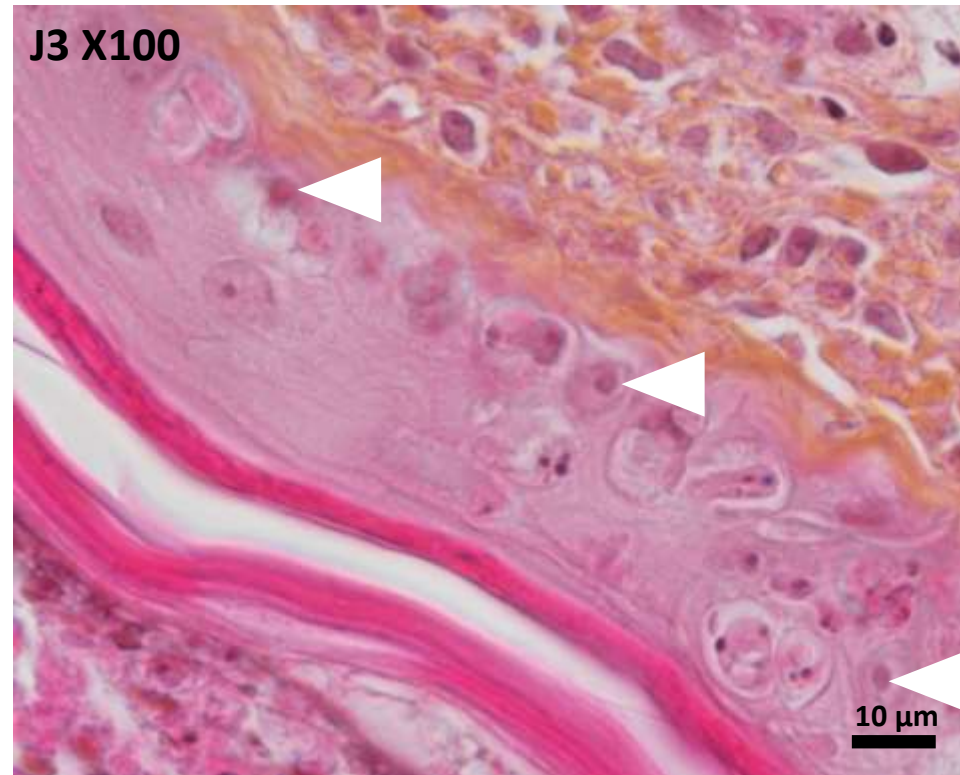
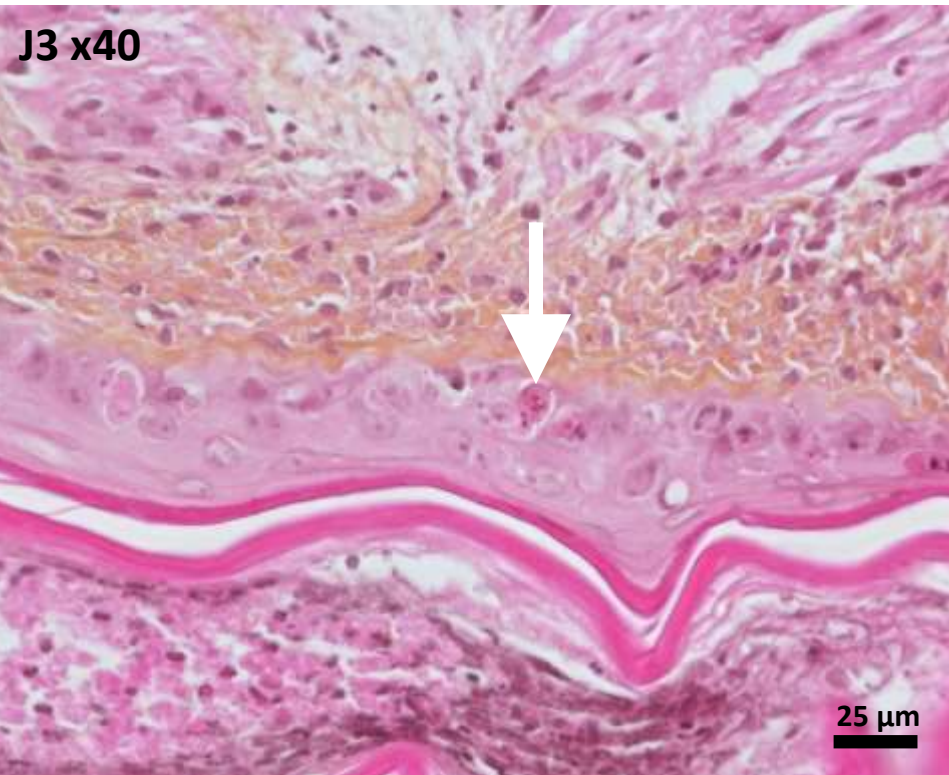
VALIDATION DU MODÈLE *IN VITRO* : MORPHOLOGIE



VALIDATION DU MODÈLE *IN VITRO* : MARQUEURS PROTÉIQUES

.022







Atrophy of primary lymphoid organs induced by Marek's disease virus during early infection is associated with increased apoptosis, inhibition of cell proliferation and a severe B-lymphopenia

Camille Berthault¹, Thibaut Larcher², Sonja Härtle³, Jean-François Vautherot¹, Laetitia Trapp-Fragnet¹ and Caroline Denesvre^{1*}

PLoSOne 2022, 17(10): e0271448

RESEARCH ARTICLE

Establishment of a culture model for the prolonged maintenance of chicken feather follicles structure *in vitro*

Corentin Mallet¹, Laurent Souci¹, Mireille Ledevin², Sonia Georgeault³, Thibaut Larcher^{2*}, Caroline Denesvre^{1*}

1 ISP, INRAE, Université de Tours, Nouzilly, France, 2 INRAE, Oniris, PAnTher, APEX, Nantes, France, 3 Plateforme IBISA des Microscopies, Université de Tours et CHRU de Tours, Tours, France

PLoS Pathog 2022, 18(8): e1010745

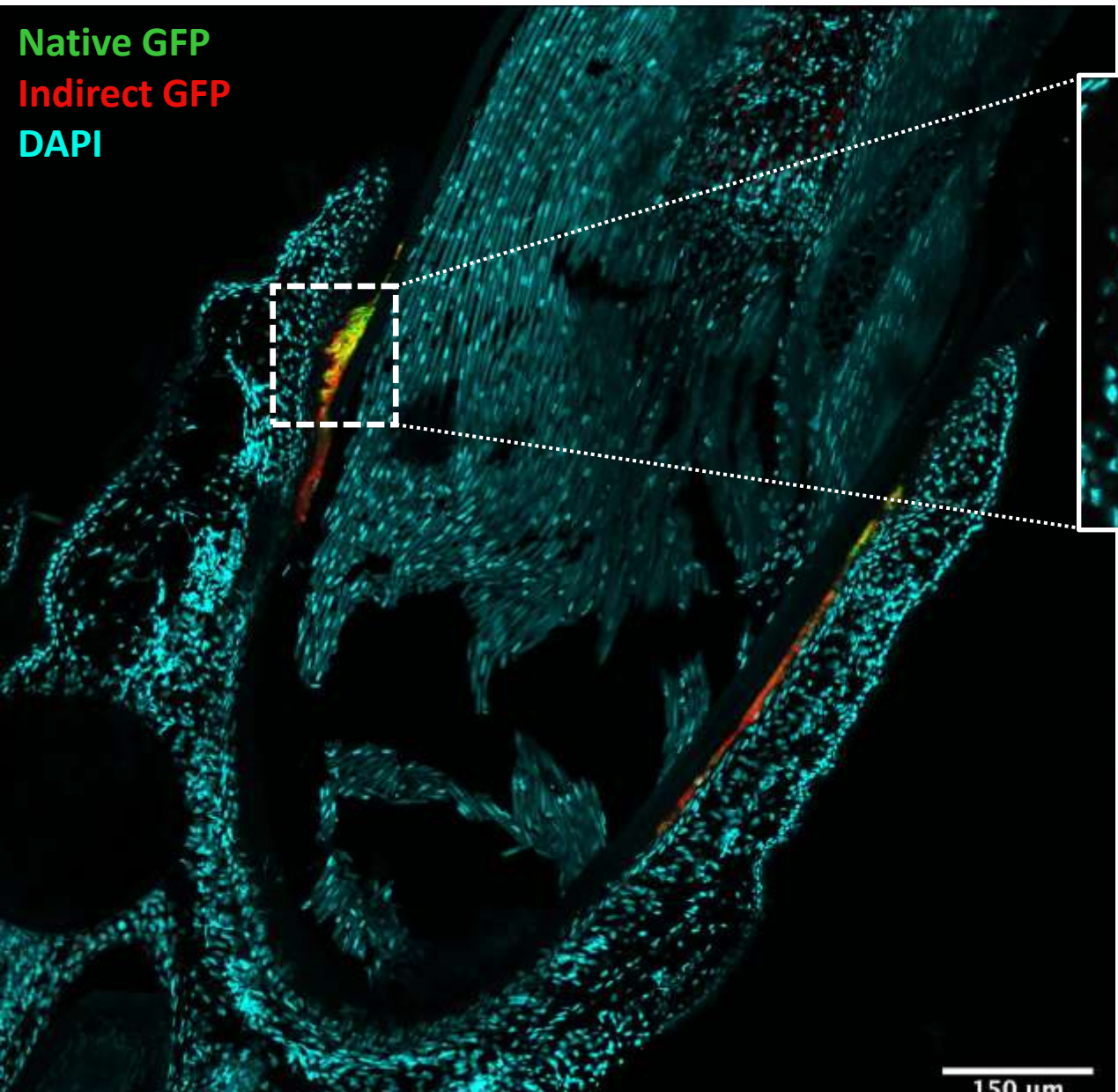
RESEARCH ARTICLE

In vivo imaging reveals novel replication sites of a highly oncogenic avian herpesvirus in chickens

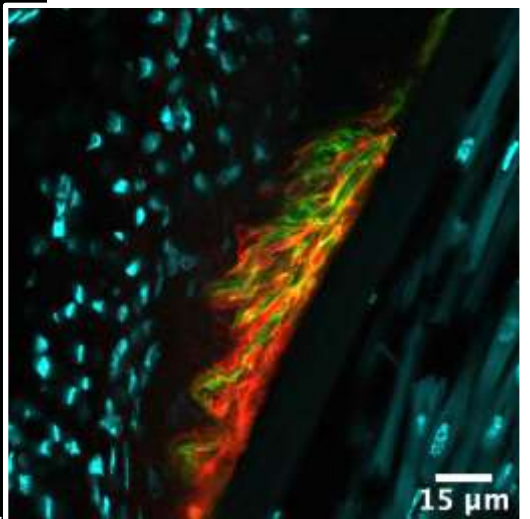
Isabelle Lantier^{1*}, Corentin Mallet^{1*}, Laurent Souci¹, Thibaut Larcher², Anede M. Conradie³, Katia Courvoisier¹, Sascha Trapp¹, David Padeloup¹, Benedikt B. Kaufer^{3,4*}, Caroline Denesvre^{1*}

1 INRAE, UMR1282 ISP, Centre INRAE Val de Loire, Nouzilly, France, 2 INRAE, Oniris, PAnTher, APEX, Nantes, France, 3 Institut für Virologie, Freie Universität Berlin, Berlin, Germany, 4 Veterinary Centre for Resistance Research (TZR), Freie Universität Berlin, Berlin, Germany

Identification des mécanismes conduisant à l'infection des follicules plumeux (FP)

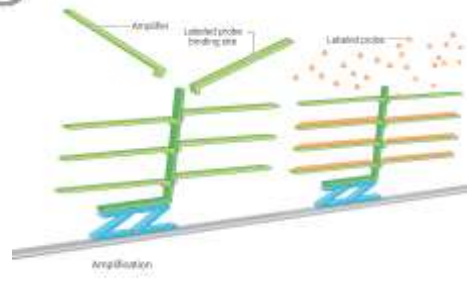


MDV-GFP en
microscopie confocale



Limites :

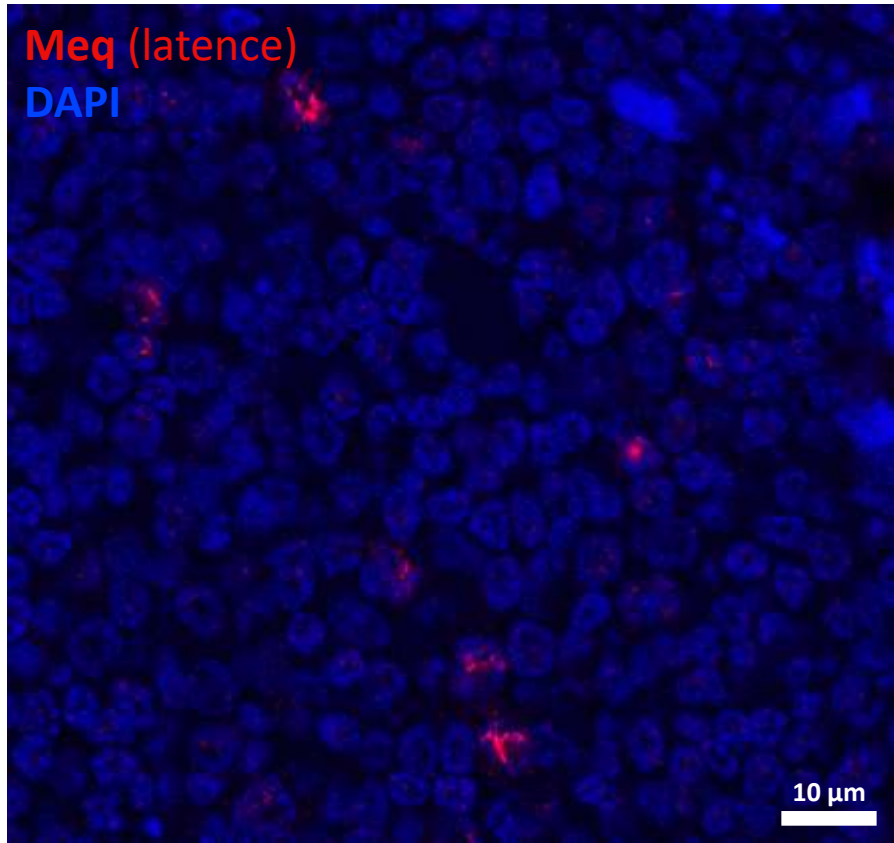
- Manque de sensibilité
- Observation 2D



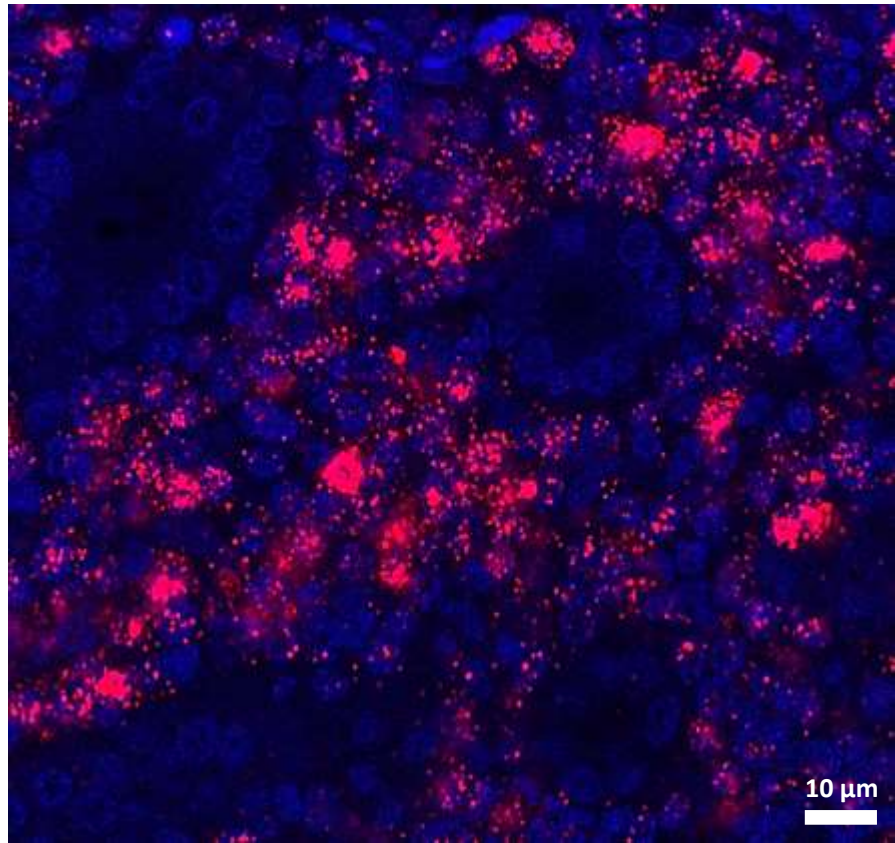
Sonde fluorescente
Amplificateurs
Pré-amplificateur
Sondes ZZ

- Avantages**
- Sensibilité et spécificité
 - Compatibles avec ARN partiellement dégradés

Rate



Lymphome rénal

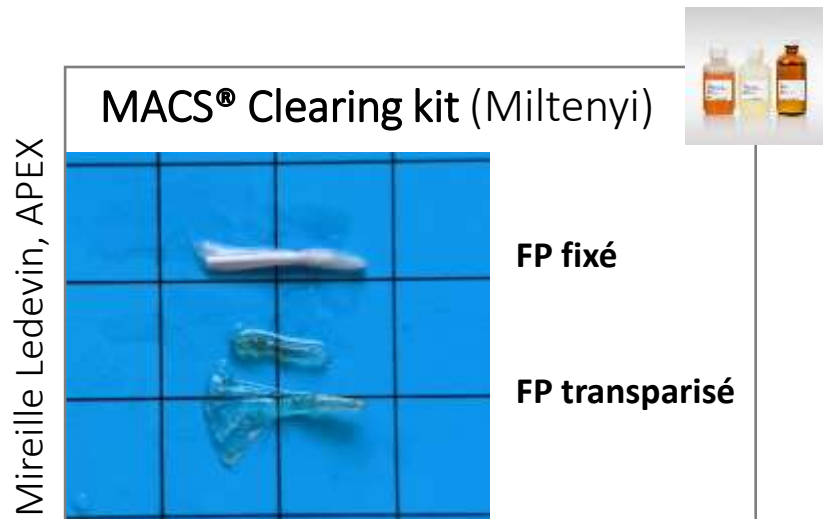


Candice Babarit, APEX

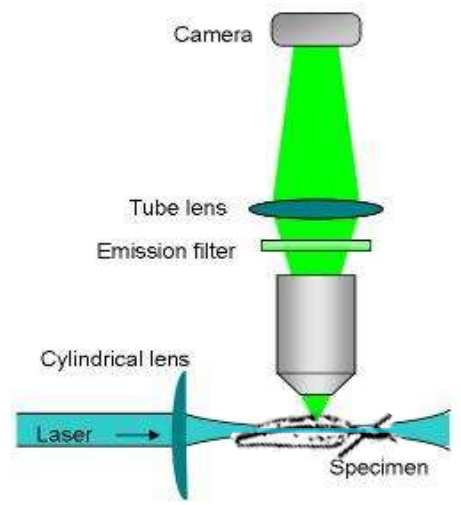
Perspectives : tracking du virus / microscopie en feuille de lumière

Préparation des follicules plumeux

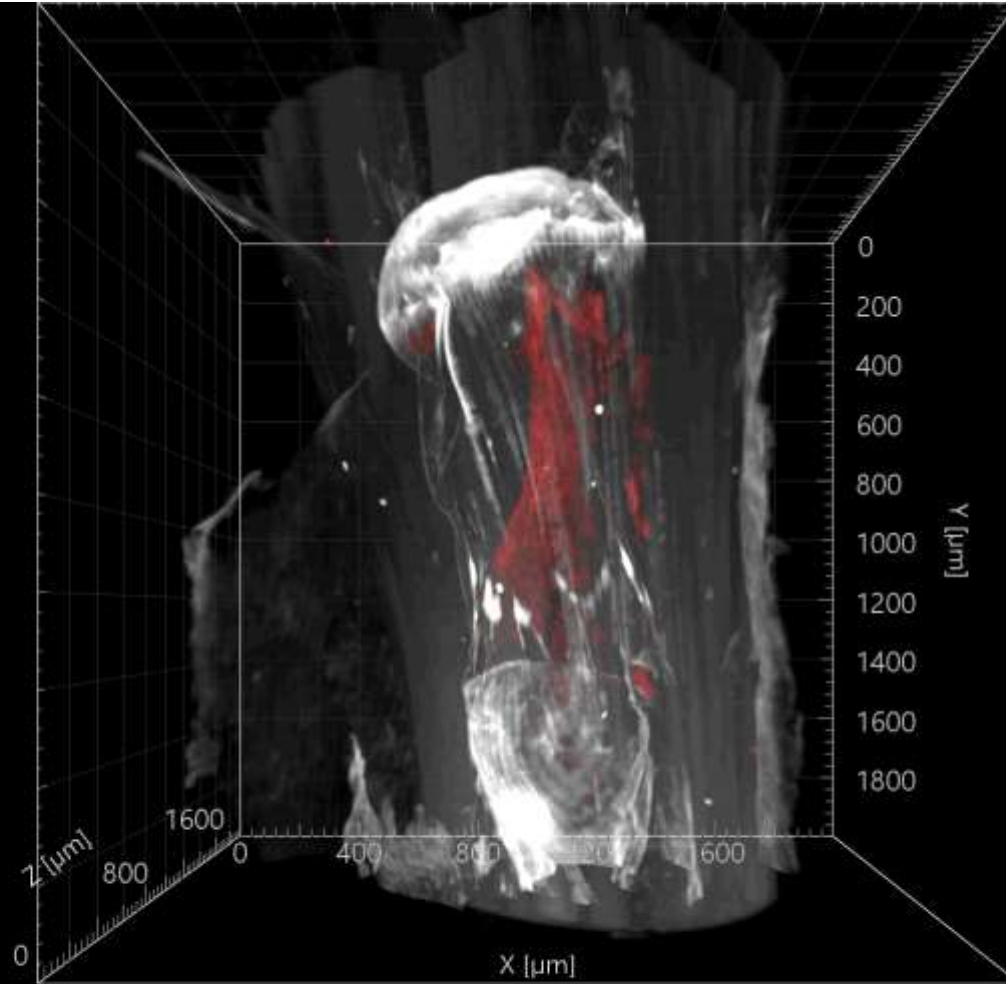
- Fixation formol
- Perméabilisation (24H)
- Immunomarquage de la GFP (Anti-GFP, 1:50, 5J)
- Déshydratation (ethanol, 2J)
- Transparisation (6H)



Ultra-microscope Blaze™
(Miltenyi Biotec)



Perspectives : tracking du virus / microscopie en feuille de lumière



Laurence Dubreil, APEX

Merci à tous...

Des questions ?!

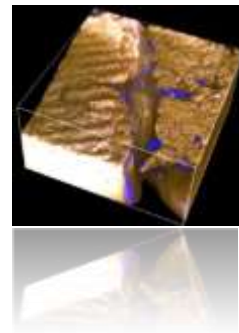
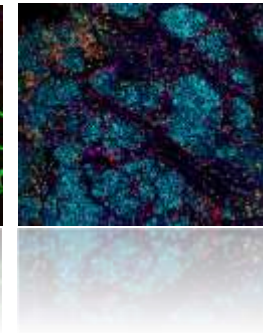
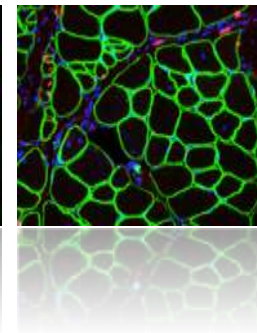
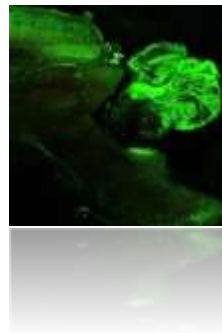
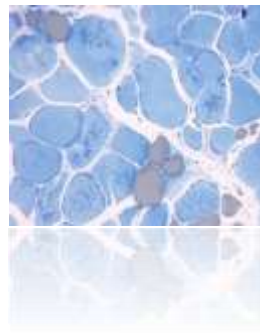
.029
AFH, Saint-Malo, 13 juin 2024





APOX

EXpertise en Anatomopathologie comparée



UMR0703 – PAnTher

INRAE / Oniris – VetAgroBio Nantes – Route de Gachet - La Chantrerie CS 40706 - 44307 Nantes Cedex 3 Tel : 02 40 68 28 21



APOX Thibaut LARCHER – DMV, PhD, diplomate ECVP
Expertise in comparative pathology

