

Virologie vétérinaire

Chapitre 14 Perspectives en virologie

Perspectives en virologie

- Diagnostic virologique de nouvelle génération
- Recherche des nouveaux virus :
virus discovery
- Les virus comme agents thérapeutiques
 - Vecteur d'expression génique
 - Vaccination
 - Thérapie génique

Diagnostic virologique de nouvelle génération

- Diagnostic génétique
 - PCR
 - Séquençage
 - Diagnostic multiplex
- Les puces électroniques
 - Micro-chips
 - Micro-arrays

Diagnostic génétique : avènement des méthodes de PCR

- Jusqu'à la PCR en temps réel
 - Quantitative
 - Unités de génome
- Avec le problème d'extrapolation au nombre de virus infectieux

Virémie infectieuse et virémie détectée par PCR

Encadré 3 : Virémies de la fièvre catarrhale ovine

Virémie infectieuse

Comme son nom l'indique, la virémie infectieuse définit la présence de virus infectieux dans le sang. Elle est mesurée par isolement viral au laboratoire, méthode qui n'est plus utilisée en routine. Les anticorps neutralisants apparaissent après 14 jours, mais ils n'éliminent pas le virus, qui peut rester étroitement associé aux cellules sanguines et aux plaquettes. La virémie infectieuse est estimée de 14 à 15 jours chez le mouton, jusqu'à 31 jours chez la chèvre et jusqu'à 60 jours chez les bovins. En conditions naturelles, la durée

de la virémie infectieuse est certainement beaucoup plus courte chez les bovins.

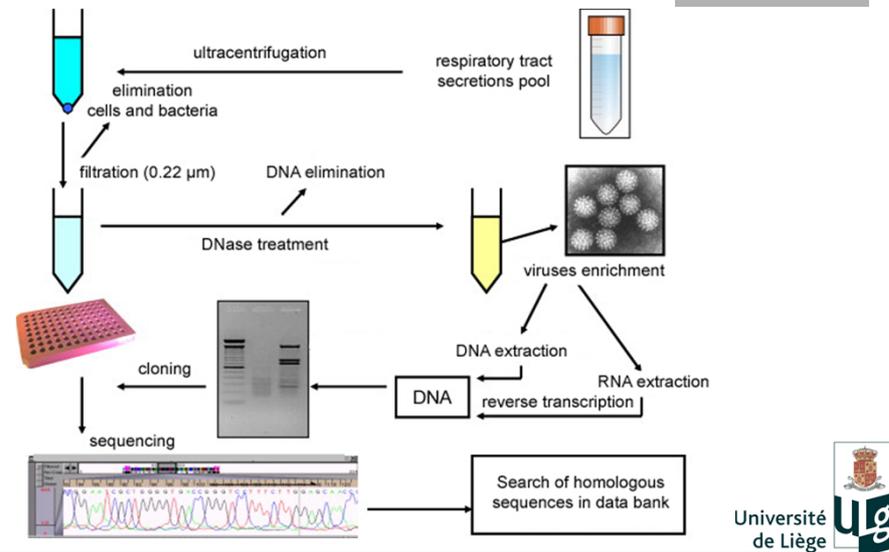
Virémie détectée par RT-PCR

Les tests actuels reposent sur la technique de RT-PCR et détectent le génome viral, sans savoir si le virus est encore infectieux ou non. La durée de virémie détectée par PCR est équivalente à la durée de vie des érythrocytes sanguins, de 140 à 150 jours au maximum. En Belgique, une durée de 105 jours a été démontrée par PCR pour le sérotype 8. À ce moment, la virémie n'est cependant plus infectieuse, car le virus ne peut pas être isolé en culture de cellules.

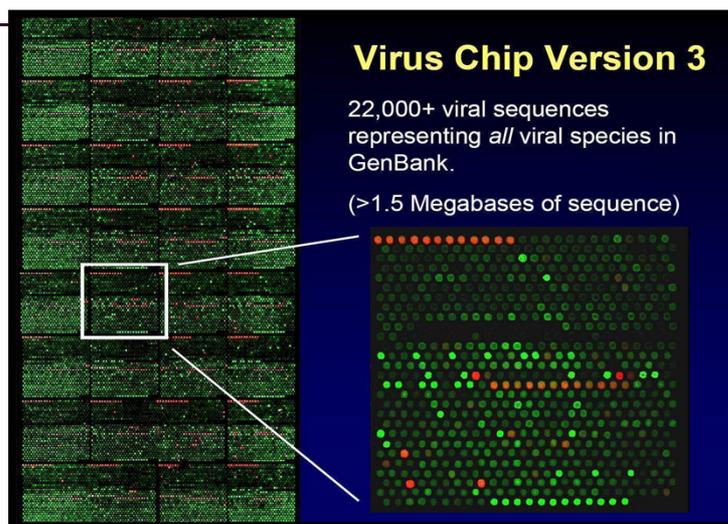
Séquençage de l'ADN

- Détermination précise de la séquence en nucléotides (laboratoires spécialisés)
- Méthode de Sanger (plus rarement Maxam et Gilbert)
- Si virus à ARN : ADN complémentaire nécessaire
- A partir du produit de PCR ou clonage de la séquence

Séquençage à haut débit : métagénomique – next generation sequencing (NGS)



Diagnostic virologique : virochips et micro-arrays

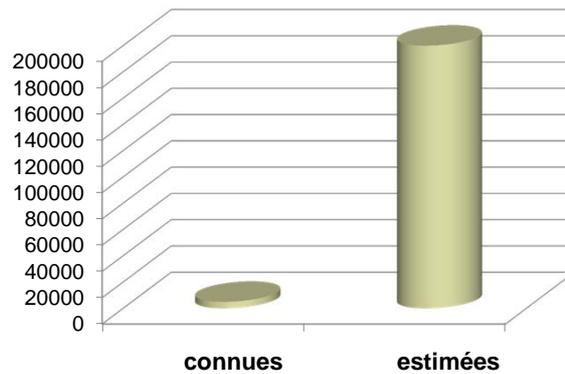


2002>

J DeRisi, W. Lipkin, others

application of microarray technology for identification of viruses

Virus discovery : un nouveau sujet



Nombre d'espèces virales

Université
de Liège



Virus discovery : un nouveau sujet

- 5416 espèces de mammifères
 - Plusieurs virus infectant chaque espèce
 - Parmi ces mammifères :



1116 chiroptères
(21%)



2277 rongeurs
(42%)

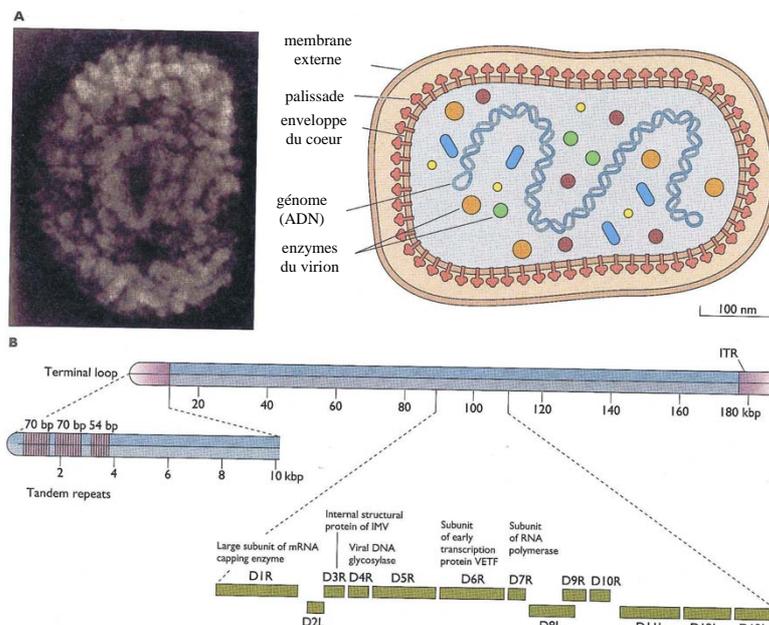
Université
de Liège



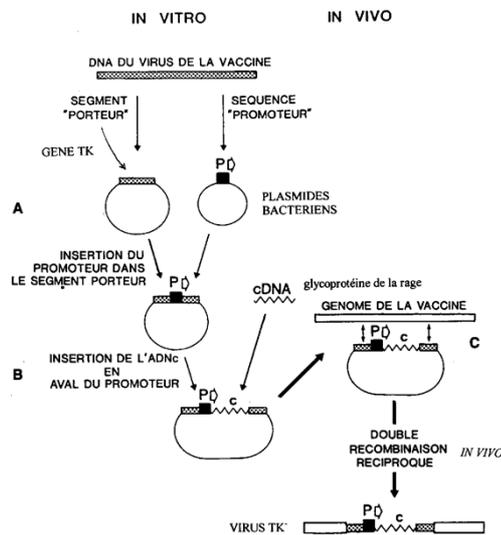
Utilisation des virus comme agents thérapeutiques

- Deux utilisations
 - Vaccin vivant atténué exprimant un transgène d'intérêt
 - Thérapie génique
- Exemples de virus vecteurs
 - Poxvirus (vaccine, canarypoxvirus)
 - Herpèsvirus (HSV-1, BoHV-1)
 - Adénovirus (HAd5)
 - Retrovirus
 - Baculovirus
 - Virus de la forêt de Semliki

Le virus de la vaccine est un excellent vecteur de gènes



Stratégie d'obtention de virus de la vaccine recombinant exprimant la glycoprotéine G du virus rabique



Obtention du virus recombinant

- Infection de la culture de cellules par le virus de la vaccine thermosensible (32°C)
- Transfection des cellules par :
 - génome (DNA) du virus de la vaccine
 - le plasmide avec le cDNA
- Double recombinaison au niveau du gène TK
- Multiplication des virus (39°C)
 - population mixte de virus

Sélection du virus recombinant

- Multiplication en cellules TK-
 - Addition de 5-bromodéoxyuridine
 - Mutations létales dans les DNA de virus TK+
- Sélection par repiquage de plages
 - Virus TK+ : virus sauvages, effet léthal des mutations
 - Virus TK- ; virus recombinants : multiplication

Développement des poxvirus comme vecteurs vaccinaux en médecine vétérinaire

- Raboral : virus de la vaccine exprimant la glycoprotéine G du virus rabique
- Purevax FeLV : canarypoxvirus exprimant les gènes gag et env du virus de la leucose féline (FeLV)
- Proteqflu : deux canarypoxvirus exprimant les gènes HA de 2 souches H3N8 (lignées américaine et européenne) du virus influenza A équin.

Vaccination antirabique orale du renard (Raboral en Belgique)



Prise de l'appât vaccinal par des renardeaux



Purevax FeLV et Proteqflu



Conclusions générales

- Virus et évolution
- Virus et émergence
- Diversité du monde viral
- Le virus et son partenaire obligé : la cellule-hôte
- Vue cinétique de l'infection virale
- Le virus est aussi utile comme vecteur d'expression de gènes