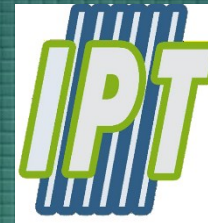


Université de Tunis El Manar



كلية العلوم بتونس
FACULTE DES SCIENCES DE TUNIS

Faculté des Sciences de Tunis
Département de Biologie



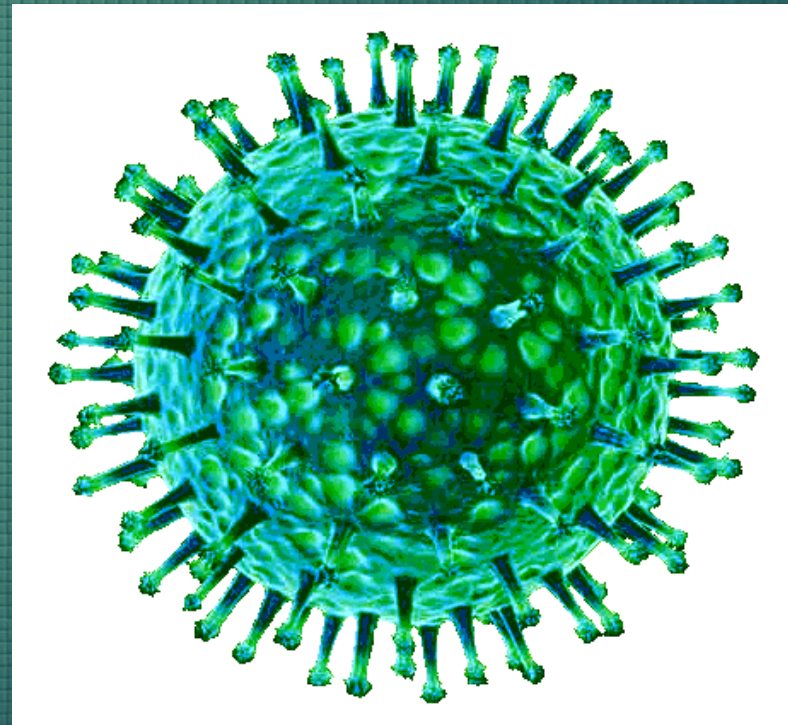
معهد باستور تونس

Institut Pasteur de Tunis

Caractérisation Moléculaire et Virologique de l'Anémie Infectieuse aviaire

Khaoula Zouaghi , Jihene Nsiri , Jihen Lacheb,
Abdeljelil Gram

Présenté par zouaghi khaoula
Laboratoire d'épidémiologie et Microbiologie Vétérinaire

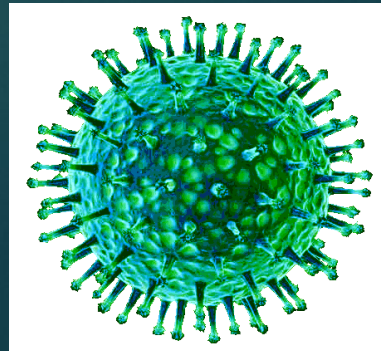




L'Anémie Infectieuse Aviaire

3

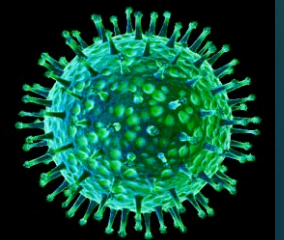
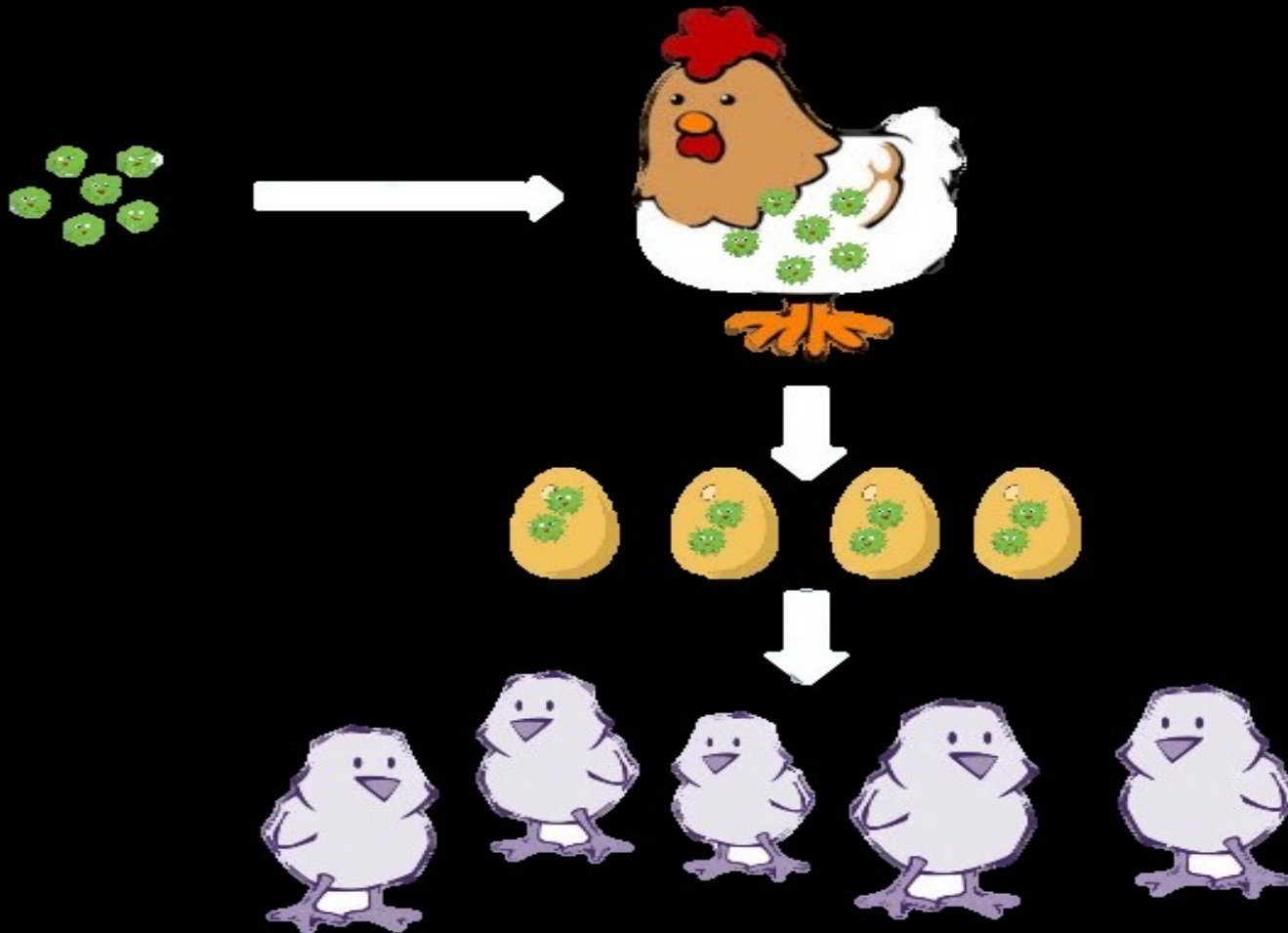
- Décrite pour la première fois en 1979 au Japon
- Ubiquitaire et est répandue mondialement
- Immunodépressive
- Contagieuse , affectant essentiellement les poulets de production



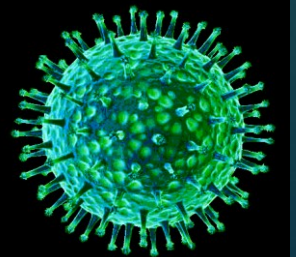
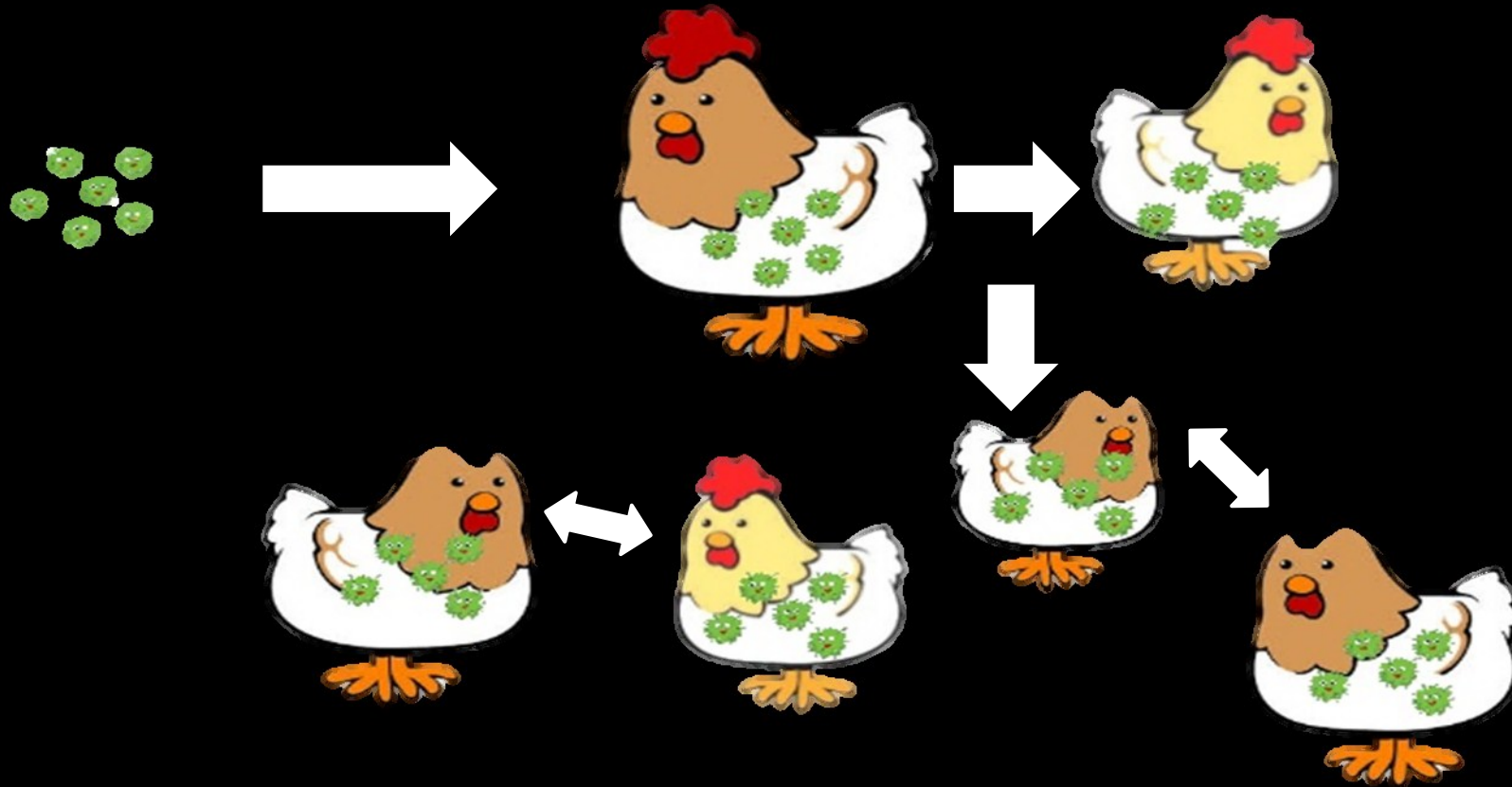
Modes de transmission

4

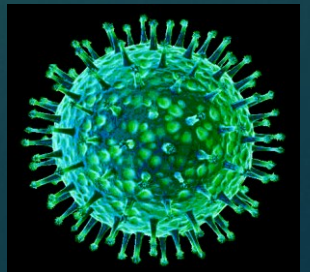
Transmission verticale



Transmission Horizontale



Symptômes et lésions



Le virus : Classification et morphologie

7

➤ Famille: Anelloviridae

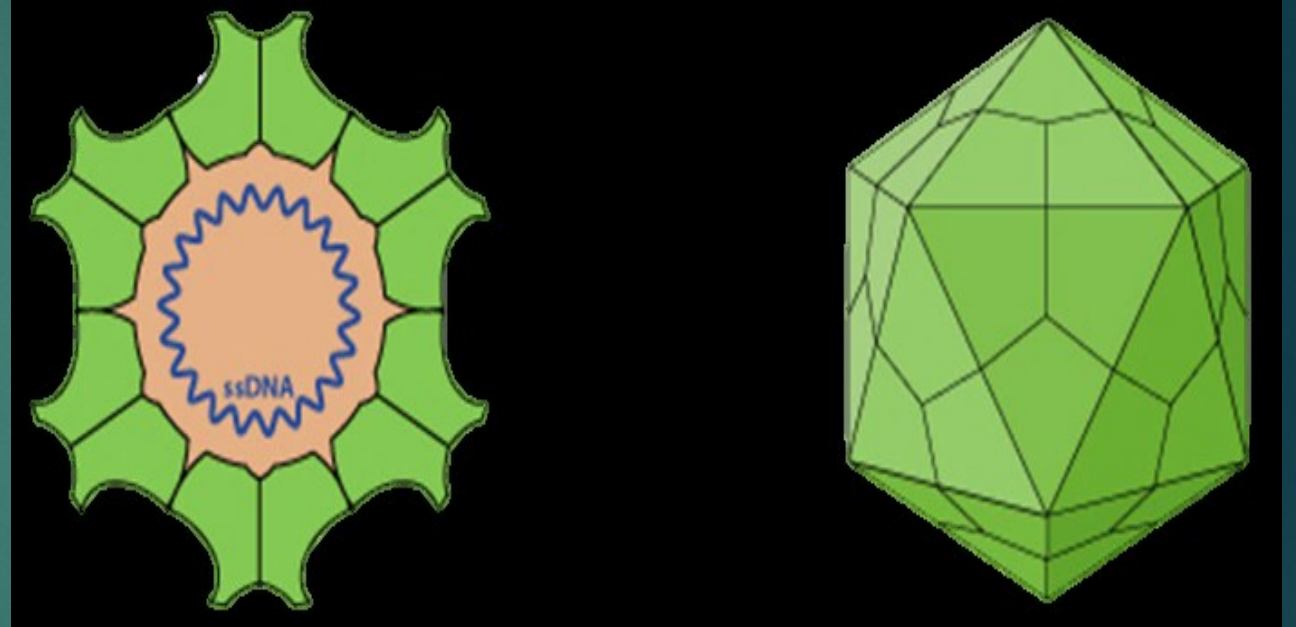
➤ Genre: Gyrovirus

➤ ADN simple brin circulaire de polarité négatif (2,3 kb environ)

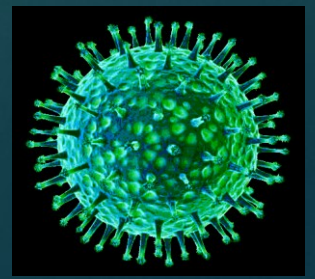
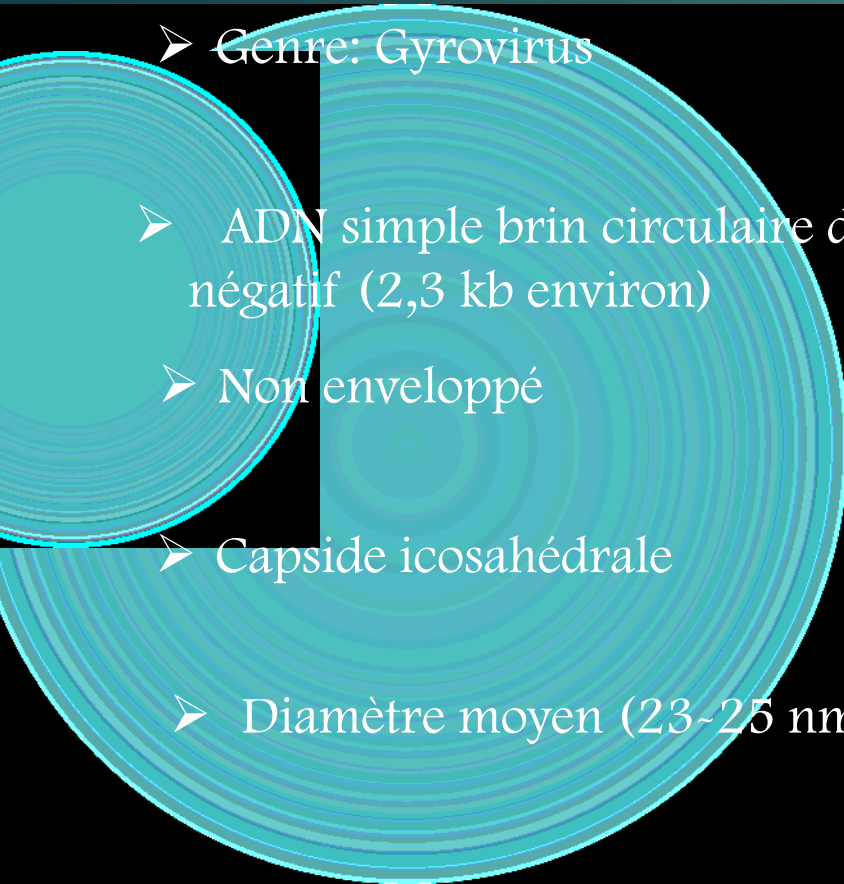
➤ Non enveloppé

➤ Capside icosahédrale

➤ Diamètre moyen (23-25 nm)



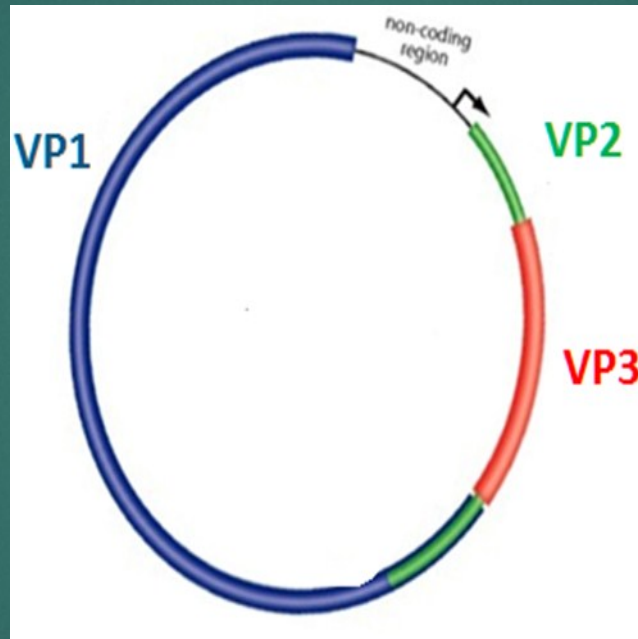
Structure du CAV



Le génome du virus du CAV

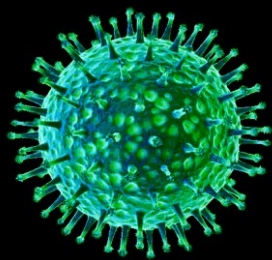
8

VP1 (ORF3)
Protéine
structurale de
52KDa



VP2 (ORF1)
protéine non
structurale de
24KDa
PTPase

VP3 (ORF2)
Proteine non
structurale de
14KDa



Les protéines virales

VP1

Protéine majeure de la capside
Réplication
Classification : Région hypervariable

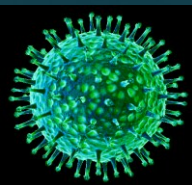
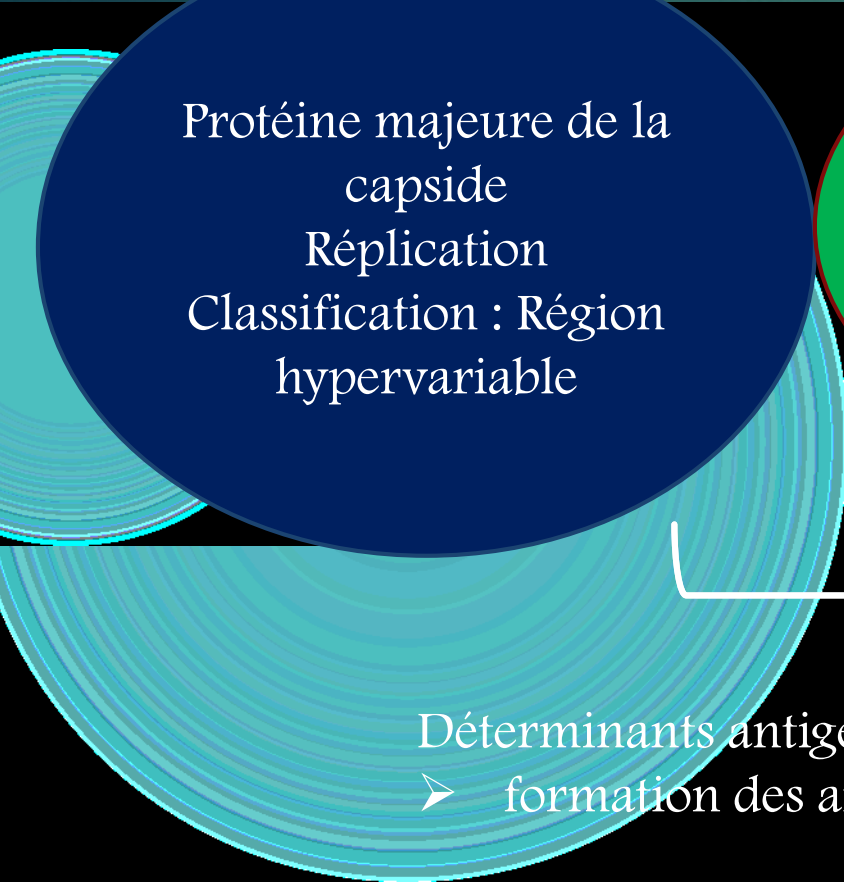
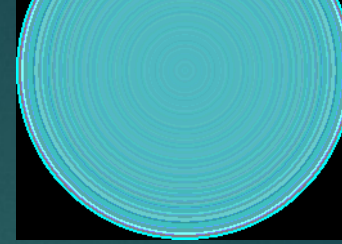
VP2

Phosphatase :
➤ Infection
Assemblage
Réplication

VP3

Induit l'apoptose dans les cellules lymphoïdes de poulets infectées : immunosuppression

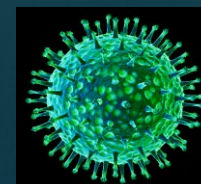
Déterminants antigéniques majeures
➤ formation des anticorps neutralisants



Objectifs



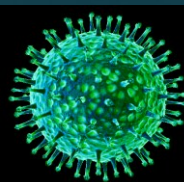
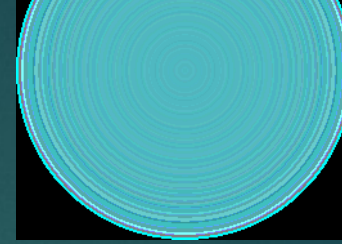
- Caractérisation virologique
- Détermination du degré de virulence
- Classification phylogénétique



Détection par PCR en temps réel

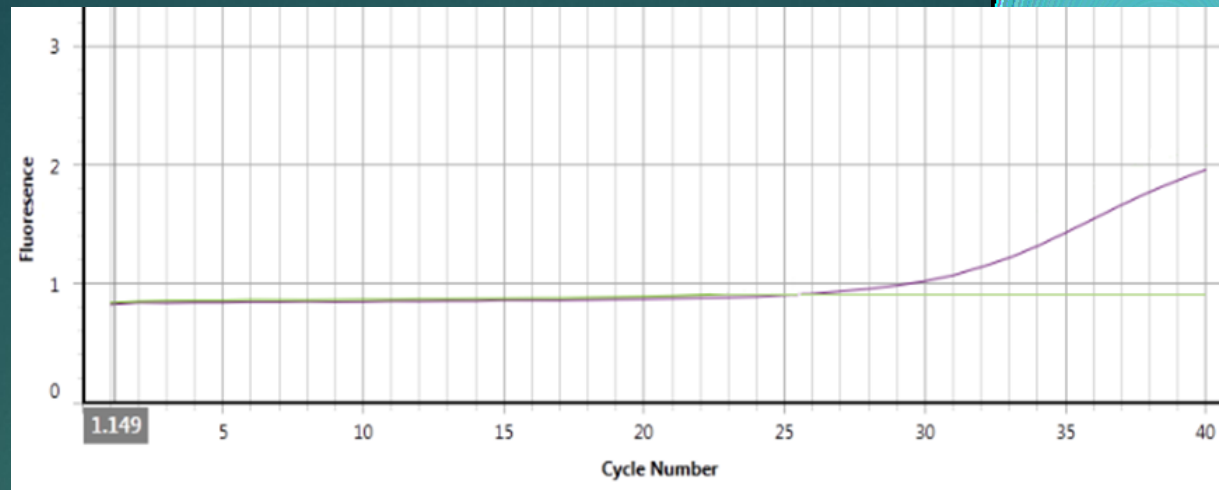


PCR en temps réel SYBER GREEN

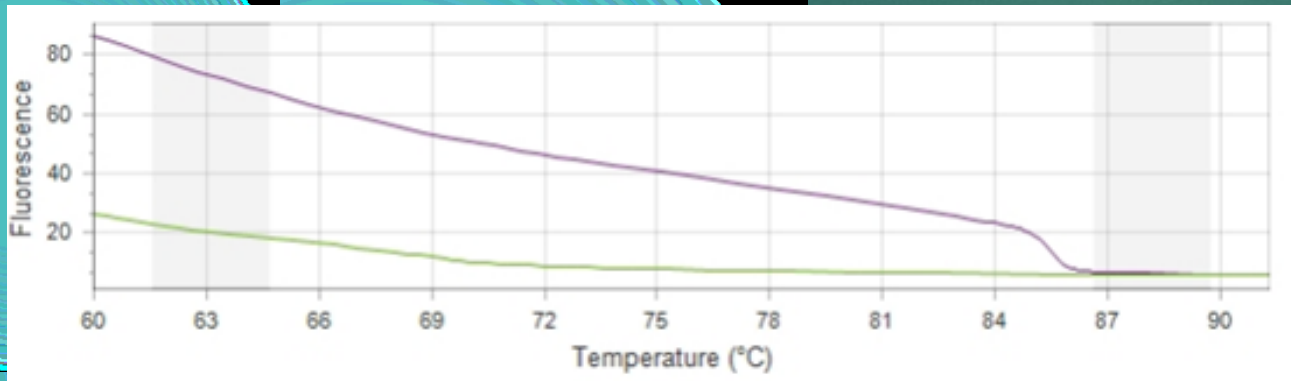


Résultats

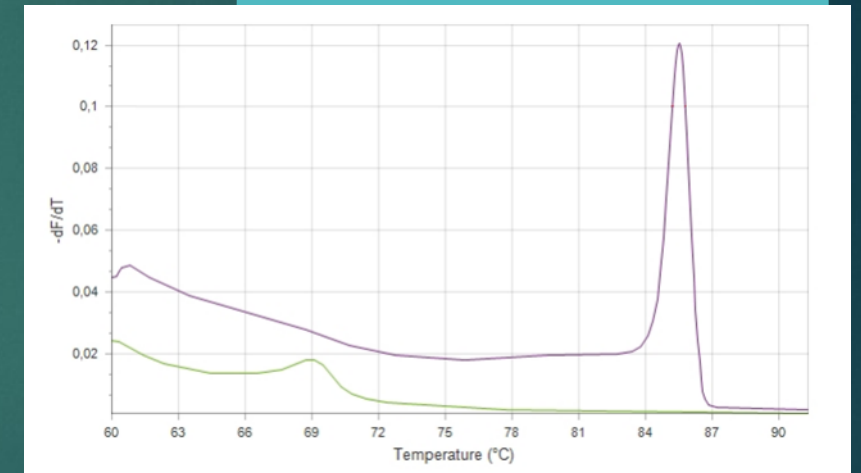
12



Courbe d'amplification du fragment VP3 du CAV de l'isolat 126/16 par PCR en temps réel.



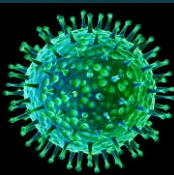
courbe de fusion



Profil du pic de fusion du gène VP3
Pic 85.5°C

■ Echantillon TN 126/16

■ Témoin Négatif



Etude virologique

➤ Culture sur œufs embryonnés SPF



Mirage



Désinfection de l'œuf



Perçage



Inoculation



Obturation



Incubation



Désinfection de l'œuf



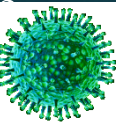
Ouverture des œufs



Test de stérilité



Recupération du liquide allantoïdien

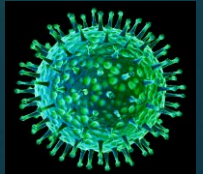


Lésions macroscopiques

14



- Retard De Croissance
- Hémorragies
- Œdèmes

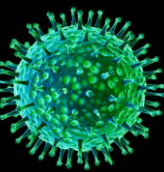


Culture cellulaire

15



Le liquide allantoïdien récupéré a été inoculé sur lignée VERO afin d'observer son effet cytopathique

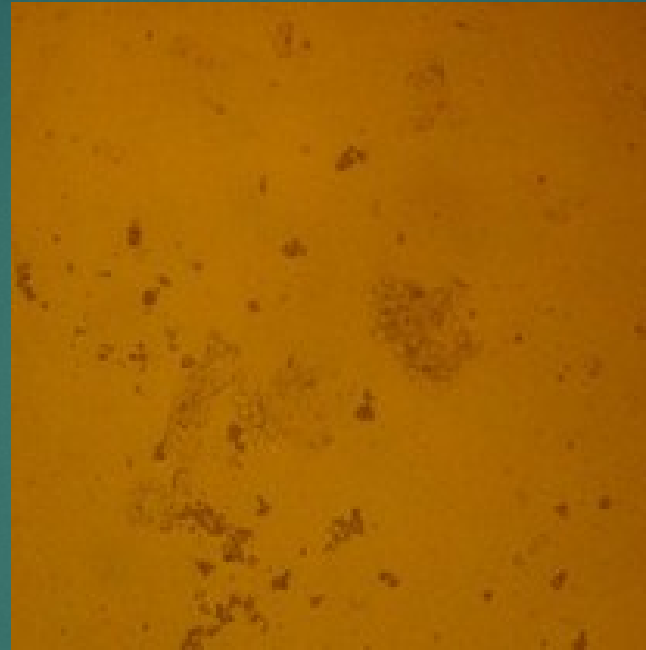


Observation d'ECP sur lignée Vero

16

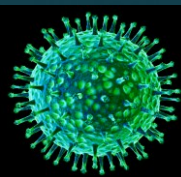
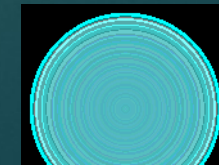
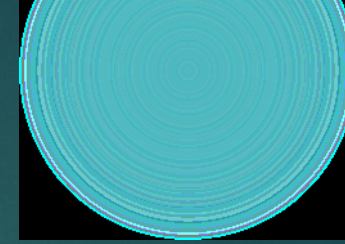


Témoin -

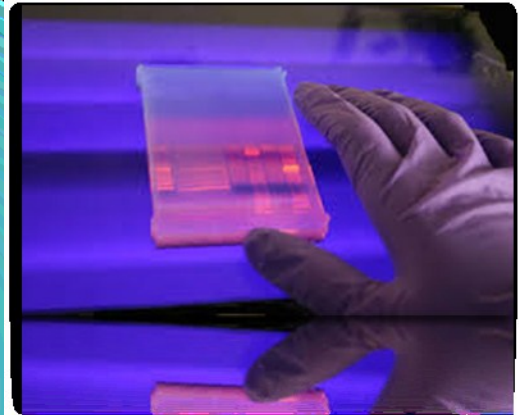


ECP du CAV après 24h

- Arrondissement des cellules
- Apoptose des cellules infectées
- Détachement du tapis cellulaire

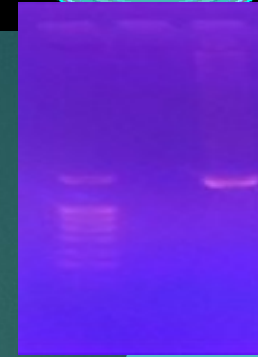


Amplification par PCR conventionnelle



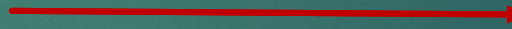
Amplification des gènes
VP1, VP2 et VP3

VP1

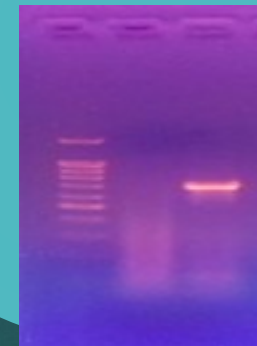


— 1390 pb

VP2



MM T-VP2

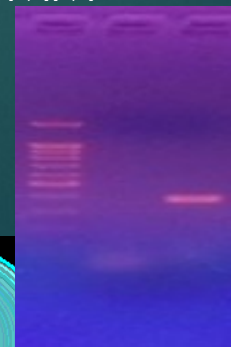


— 713 pb

VP3

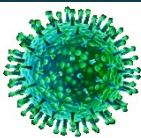


MM T-VP3

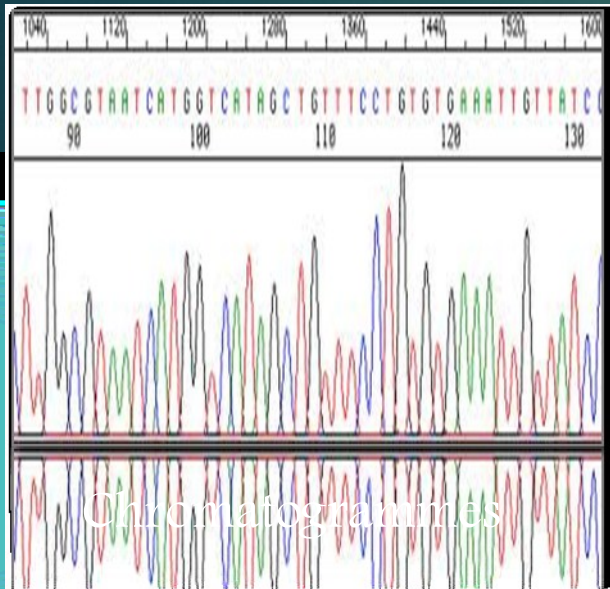


— 374 pb

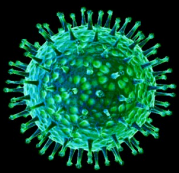
gel



Séquençage

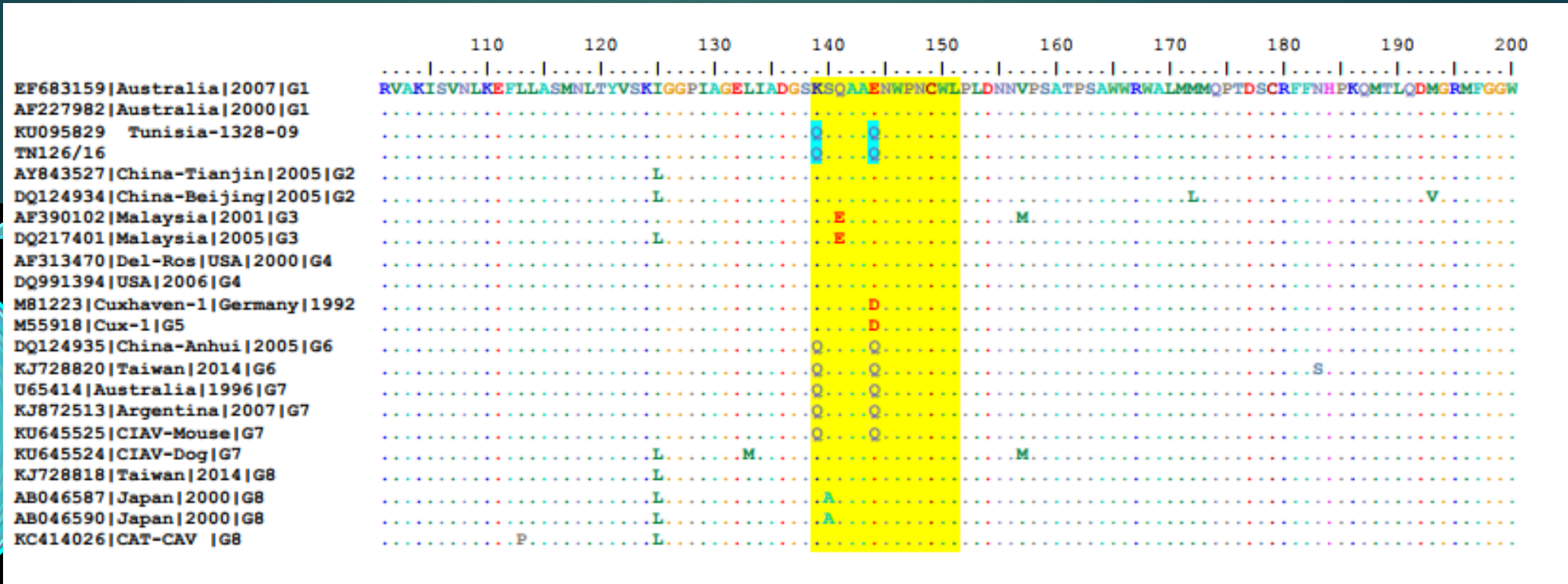


Chromatogrammes

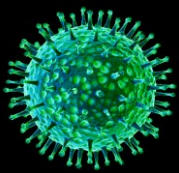


Détermination de la permissivité cellulaire

20

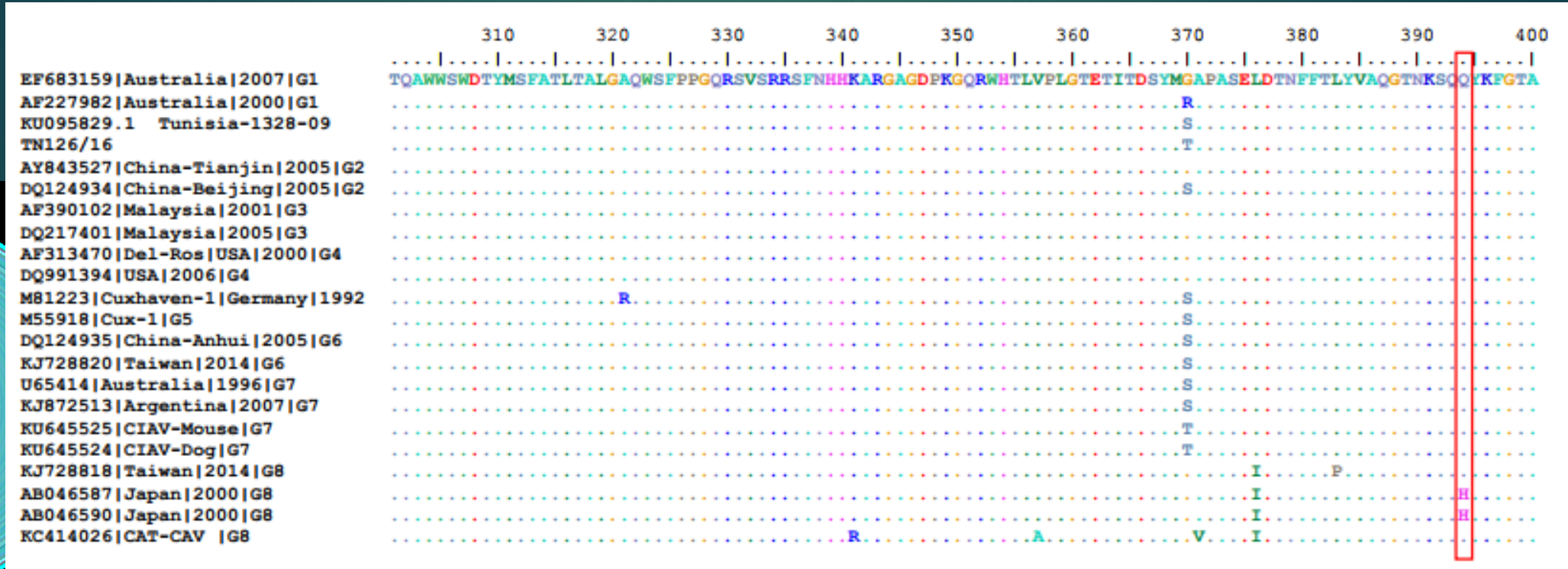


2 variations Q139 et Q144 → propagation lente sur les cellules MSB1

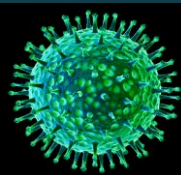


Détermination de la virulence

21

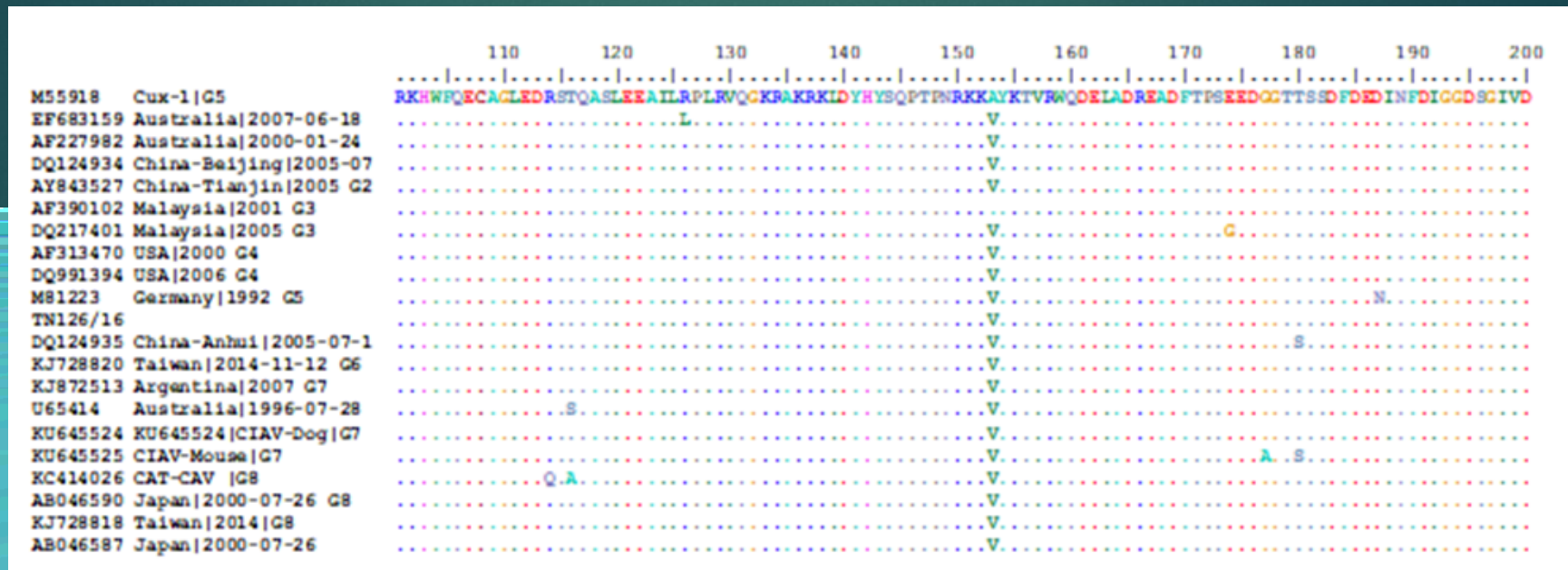


- La souche tunisienne TN126/16 possède la glutamine Q a la position 394: déterminant génétique majeur de la virulence

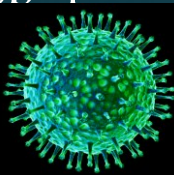


Alignement protéique du gène VP2

22

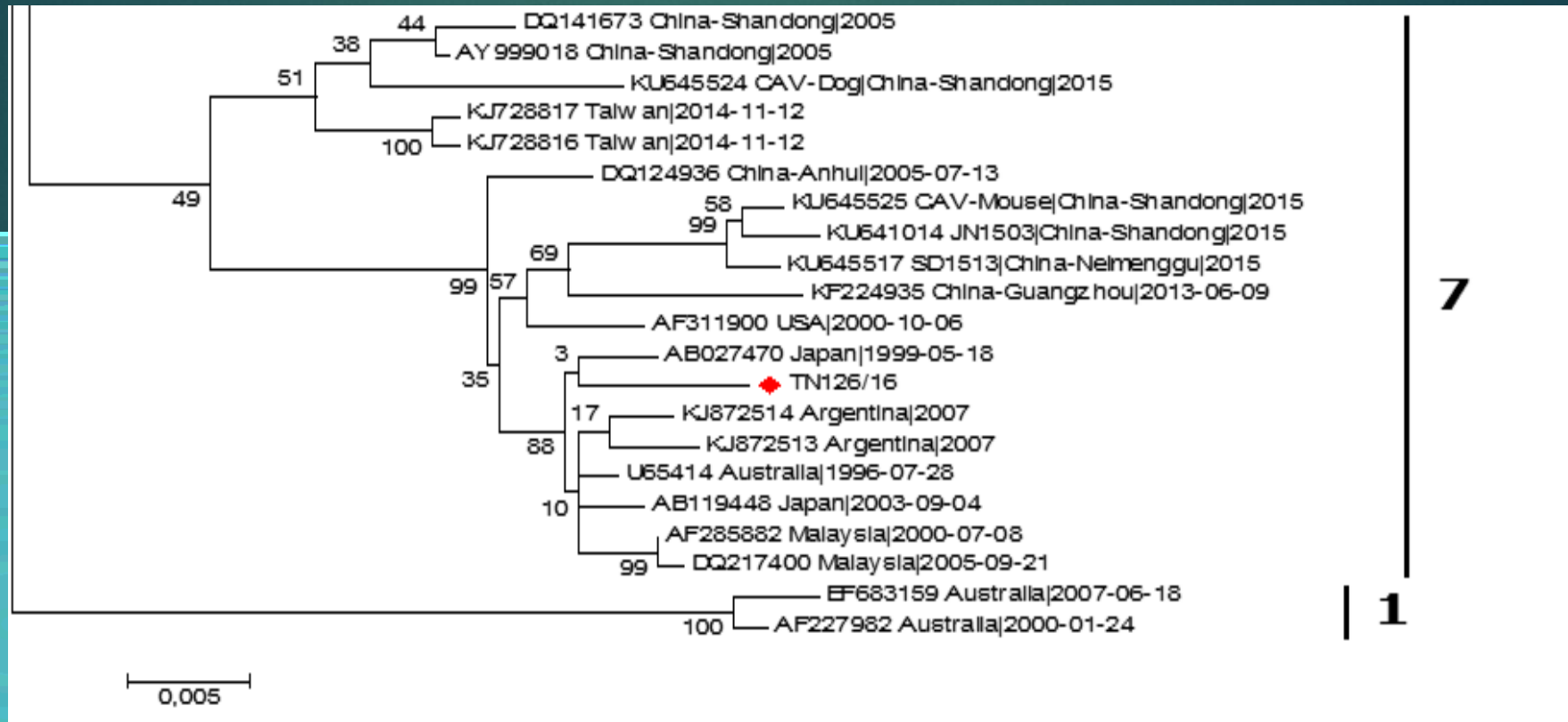


➤ l'alignement des séquences protéiques de VP2 a montré une seule variation en acides aminés entre TN126/16 et la souche de référence Cux-1, il s'agit de l'acide aminé Valine à la position 153 qui est un déterminant probable de la vitesse de propagation et du tropisme du CAV dans les cellules MSB-1

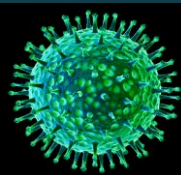


Analyse phylogénétique

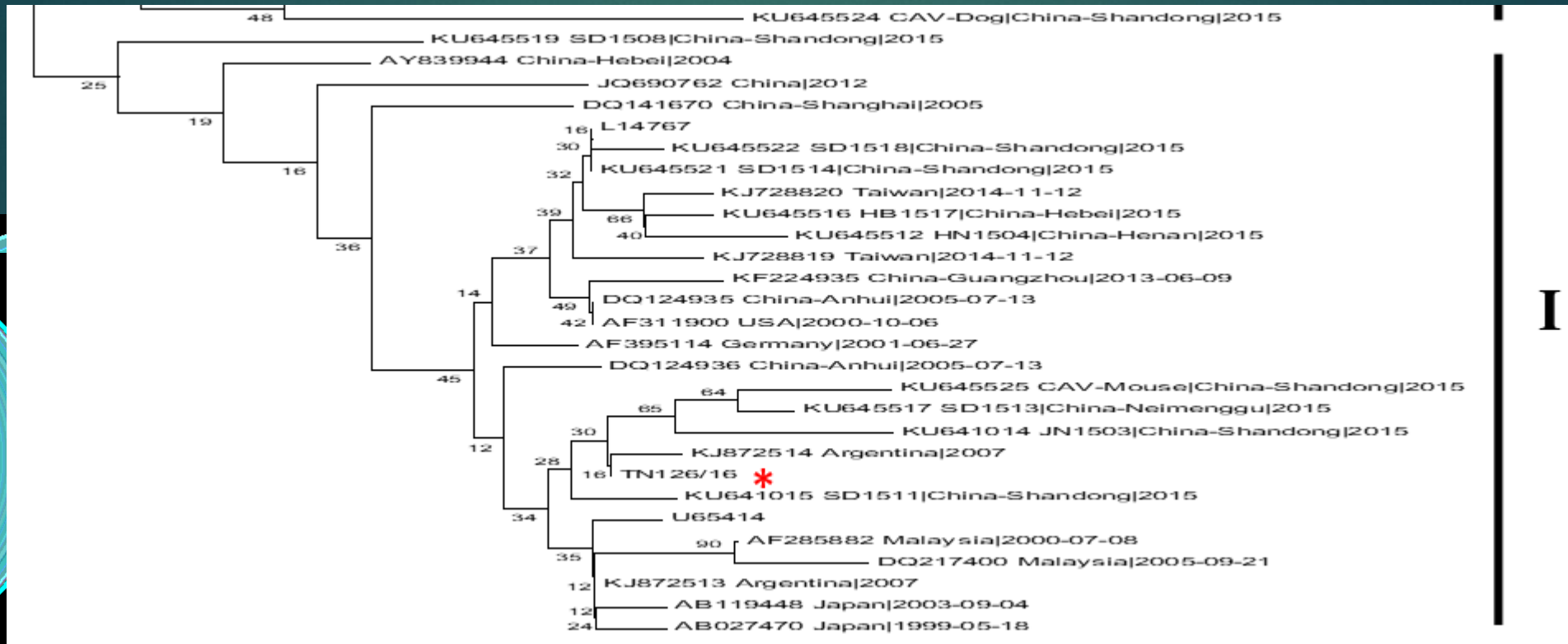
23



Arbre phylogénétique du génome complet du CAV

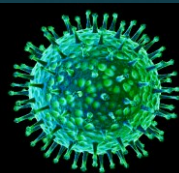
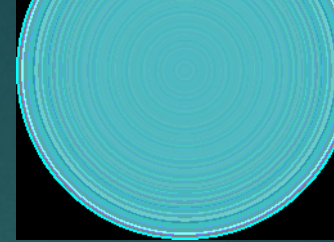


Etude de la virulence par VP1



I

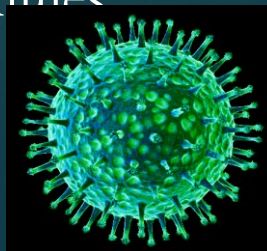
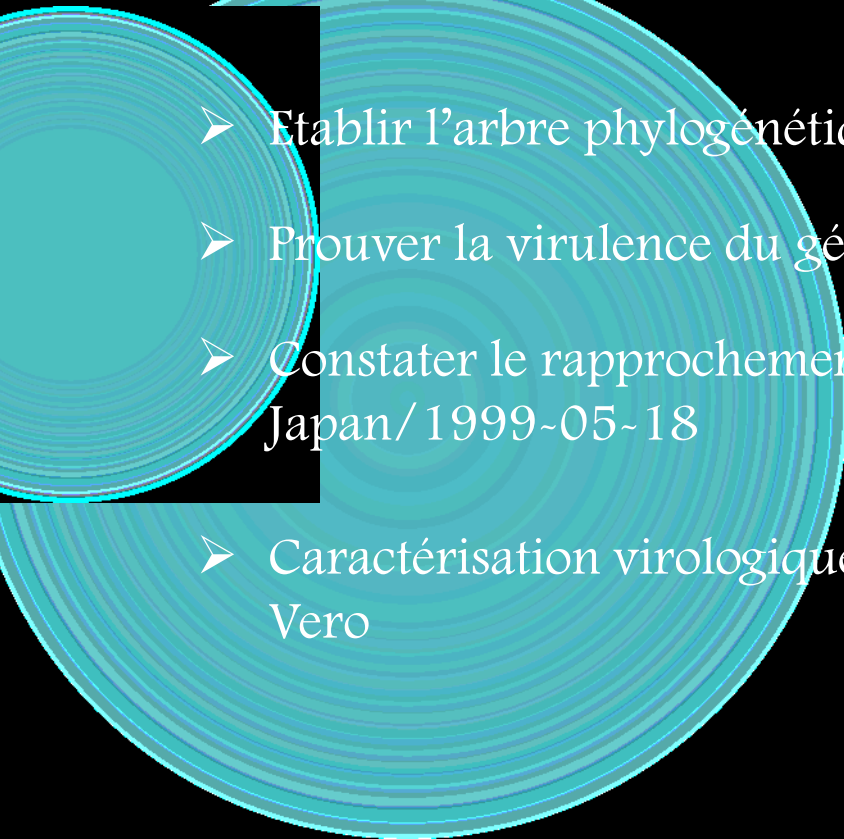
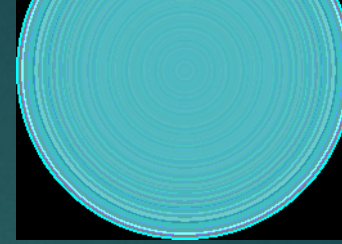
➤ I-75, L-97, Q-139 et Q-144 : Cluster 1



Conclusion

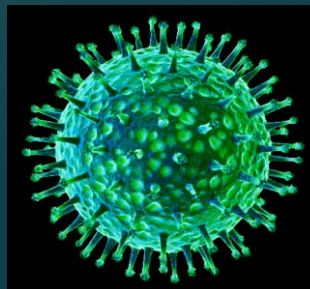
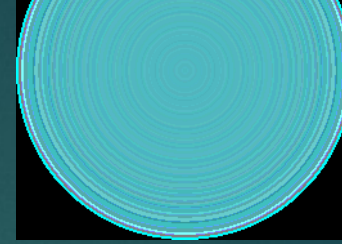
25

- Détection de la présence du génome virale par PCR en temps réel
- Détection et séquençage des différentes parties codantes VP1, VP2 et VP3 du génome du CAV
- Etablir l'arbre phylogénétique
- Prouver la virulence du génome du CAV
- Constater le rapprochement sur le plan génétique de la souche tunisienne à la souche japonaise Japan/1999-05-18
- Caractérisation virologique du virus du CAV sur des œufs embryonnés SPF et sur culture cellules Vero



La maladie de L'Anémie Infectieuse Aviaire est sous estimée → la caractérisation du virus devrait être approfondie

Les propriétés apoptotiques de manière sélective aux cellules tumorales de la protéine VP3 devraient être mis en valeur



Merci

