

Caractérisation et étude de l'évolution moléculaire et phylogénétique des gènes TK et gG du virus de la LTI entre 2013 et 2017

Ben Farhat Maha, Jihene Nsiri , Jihen Lacheb, Abdeljelil Ghram

Présenté par Ben Farhat Maha
Laboratoire d'épidémiologie et Microbiologie
Vétérinaire



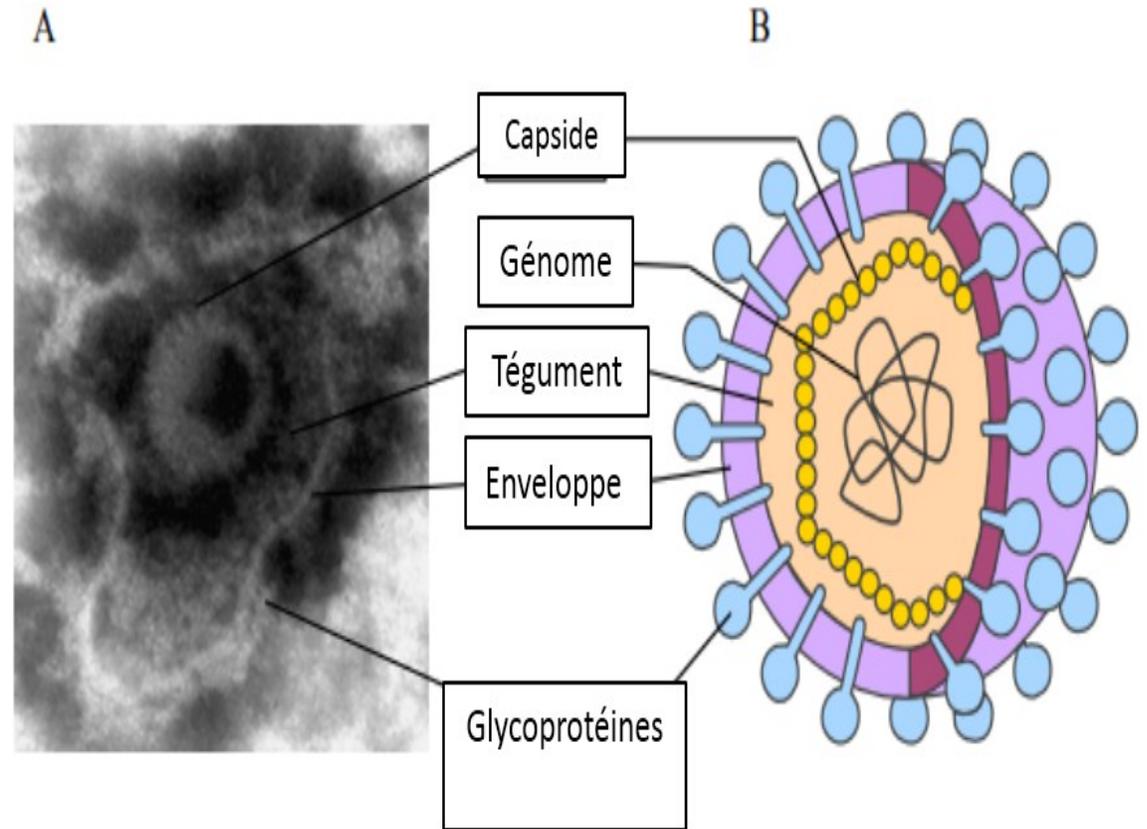
Le secteur avicole est un secteur en forte croissance et le plus dynamique sur l'échelle mondiale.

La Laryngotrachéite infectieuse (LTI)

- Décrite pour la première fois en 1925 au Canada.
- Décrite dans la plupart des pays et elle existe sous forme endémique essentiellement dans les pays chauds (Maghreb).
- les poulets ont été reconnus comme l'hôte principal de l'ILTV, mais ceci peut aussi concerner le faisan, la perdrix, la dinde et le paon qui se sont révélés sensibles.
- Transmission directe par inhalation, par ingestion ou par la sécrétion oculaire de particules virales provenant de sujets malades.

Le virus de la LTI : Classification et morphologie

- Famille : *Herpesviridae*
- Sous famille:
Alphaherpesvirinae
- Genre: *Iltovirus*
- Espèce : *Gallid herpesvirus 1*
(*GaHV-1*)
- Virus **enveloppé** ayant une capsidie icosaédrique.
- Génome: **ADN double brin** non segmenté (155 Kb)



**Structure du virus de la
LTI**

Symptômes et lésions



OBJECTIFS

- ❖ **Identifier et déterminer la virulence des isolats circulants actuellement dans notre pays et les distinguer des souches vaccinales.**
 - **Diagnostic virologique et moléculaire**
- **Caractérisation moléculaire et étude phylogénique des gènes codants pour la TK et pour la gG des isolats tunisiens de la LTI**

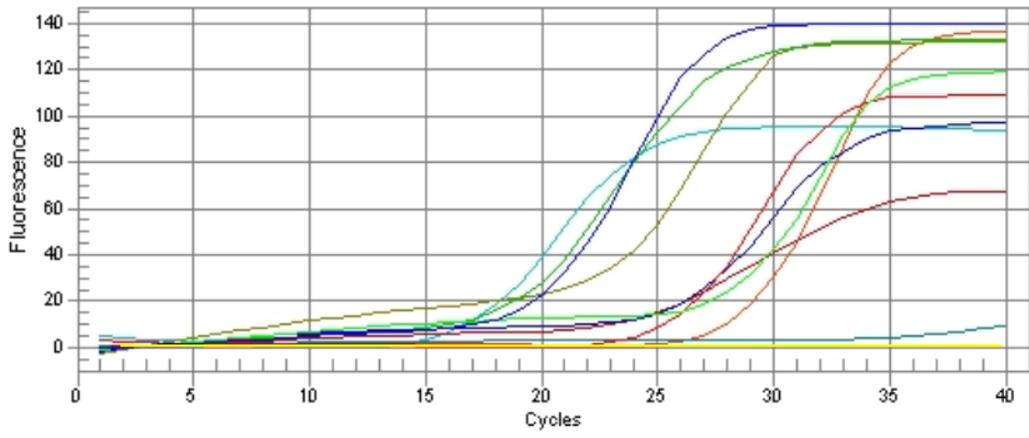


Détection par PCR en temps réel

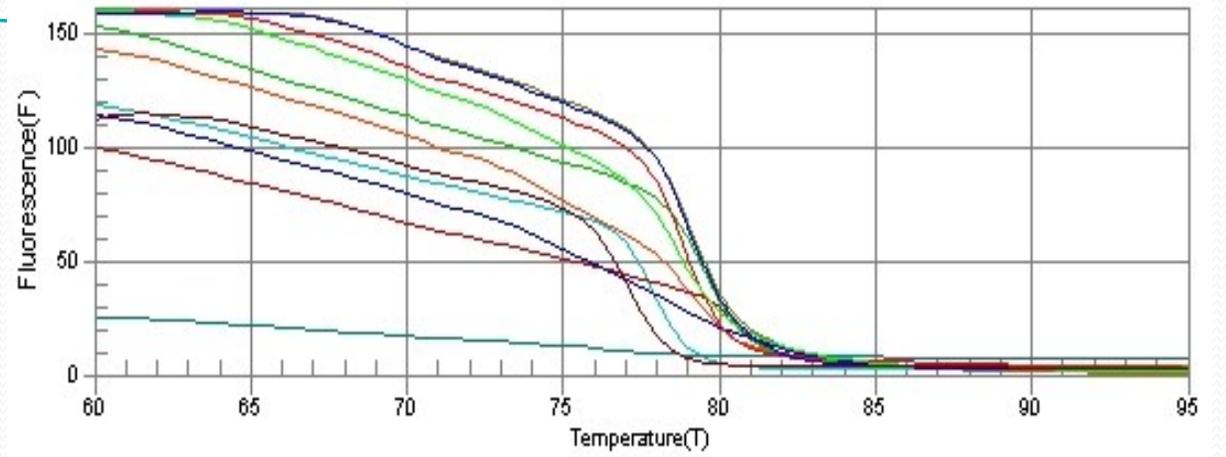


Extraction de l'ADN

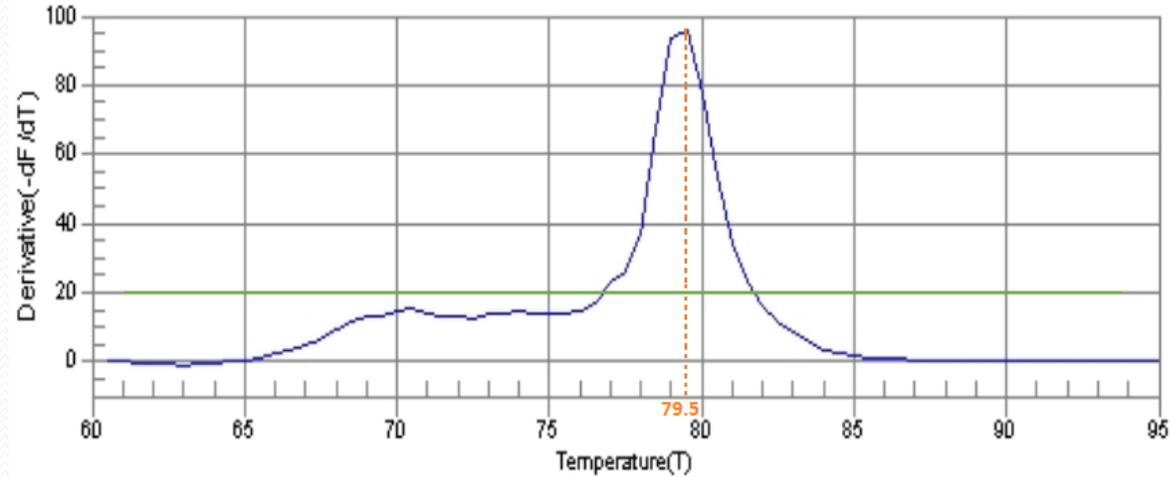
PCR en temps réel SYBER GREEN



Courbes d'amplification du fragment de 113pb du gène UL15a des isolats par PCR en temps réel



Courbes de fusion des isolats



Profil du pic de fusion du gène « UL15a »

Culture sur œufs embryonnés SPF





Mirage



Désinfection de l'œuf



Perçage



Inoculation



Obturation



Incubation



Désinfection de l'œuf



Ouverture des œufs

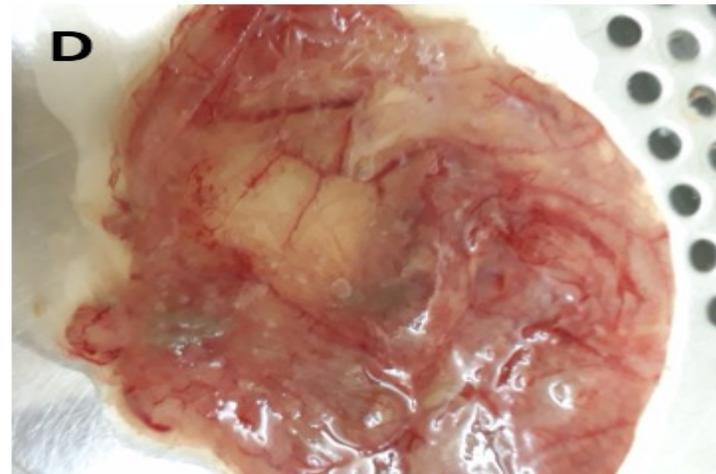
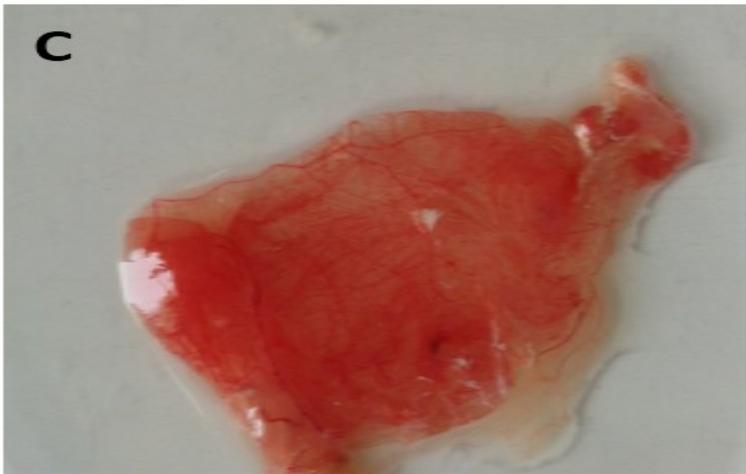
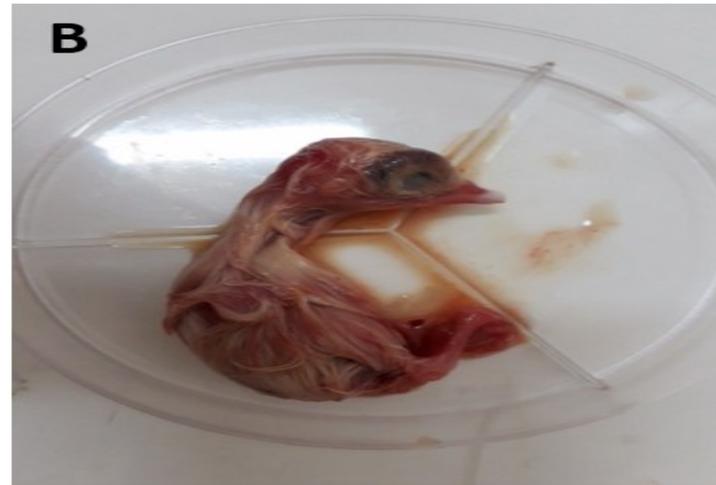


Test de stérilité



Récupération du liquide allantoïdien

Lésions macroscopiques spécifiques à la LTI



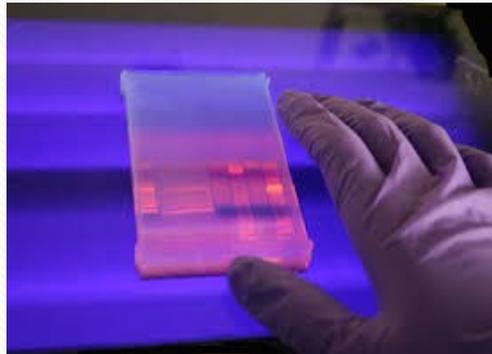


PCR

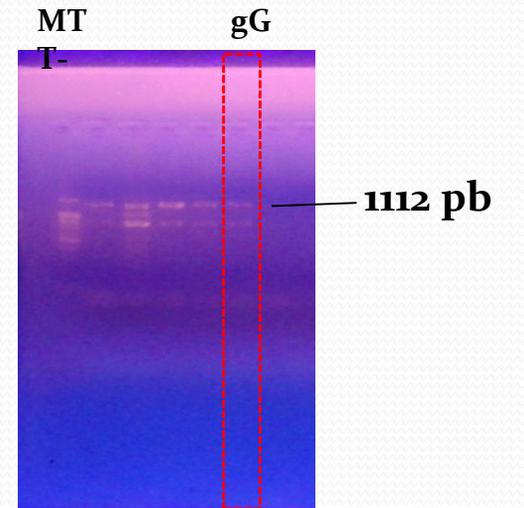
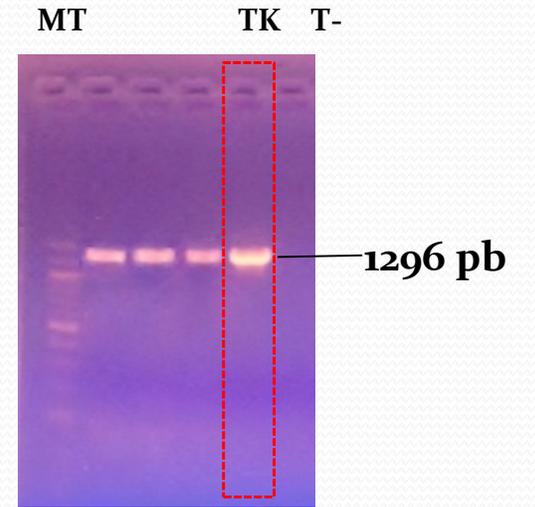
PCR

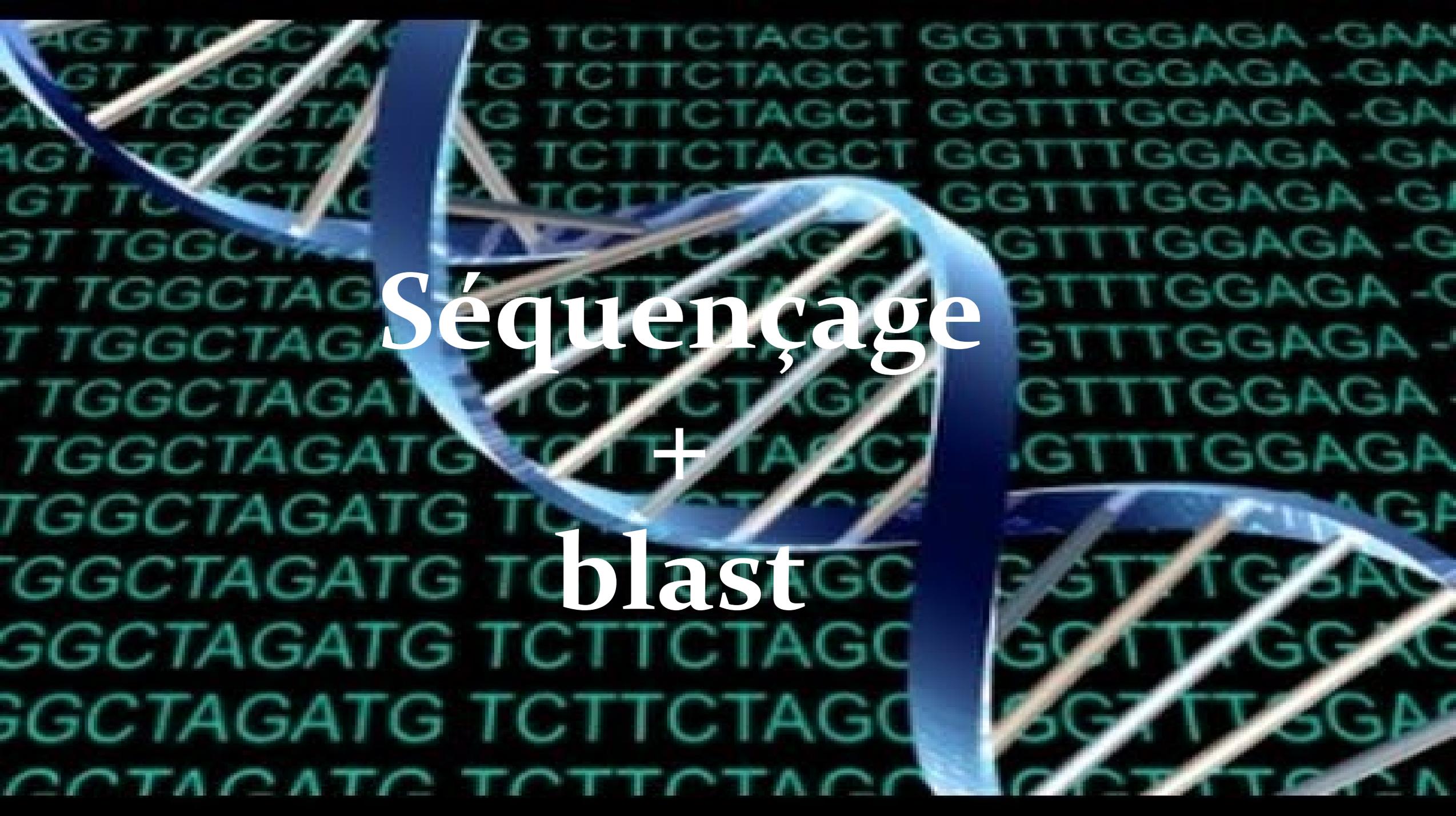


Amplification des gènes
de la TK et de la gG



Electrophorèse sur gel
d'agarose





**Séquençage
+
blast**

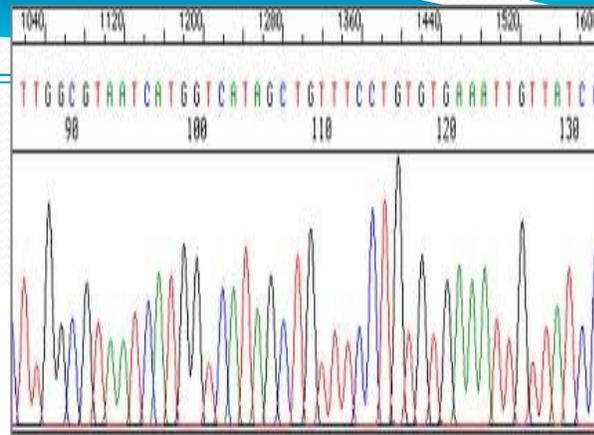
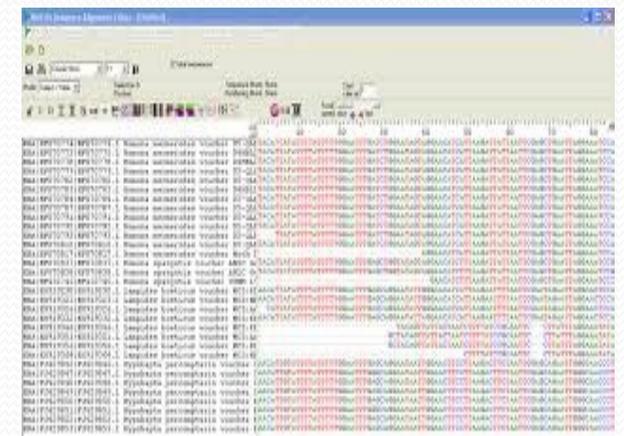
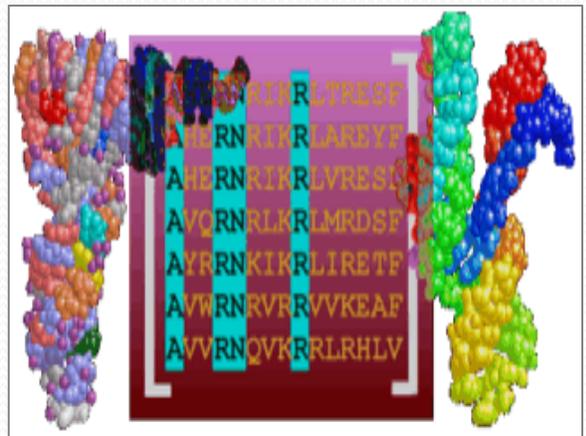


Plate forme du séquençage

Chromatogrammes

GenBank



Bioedit

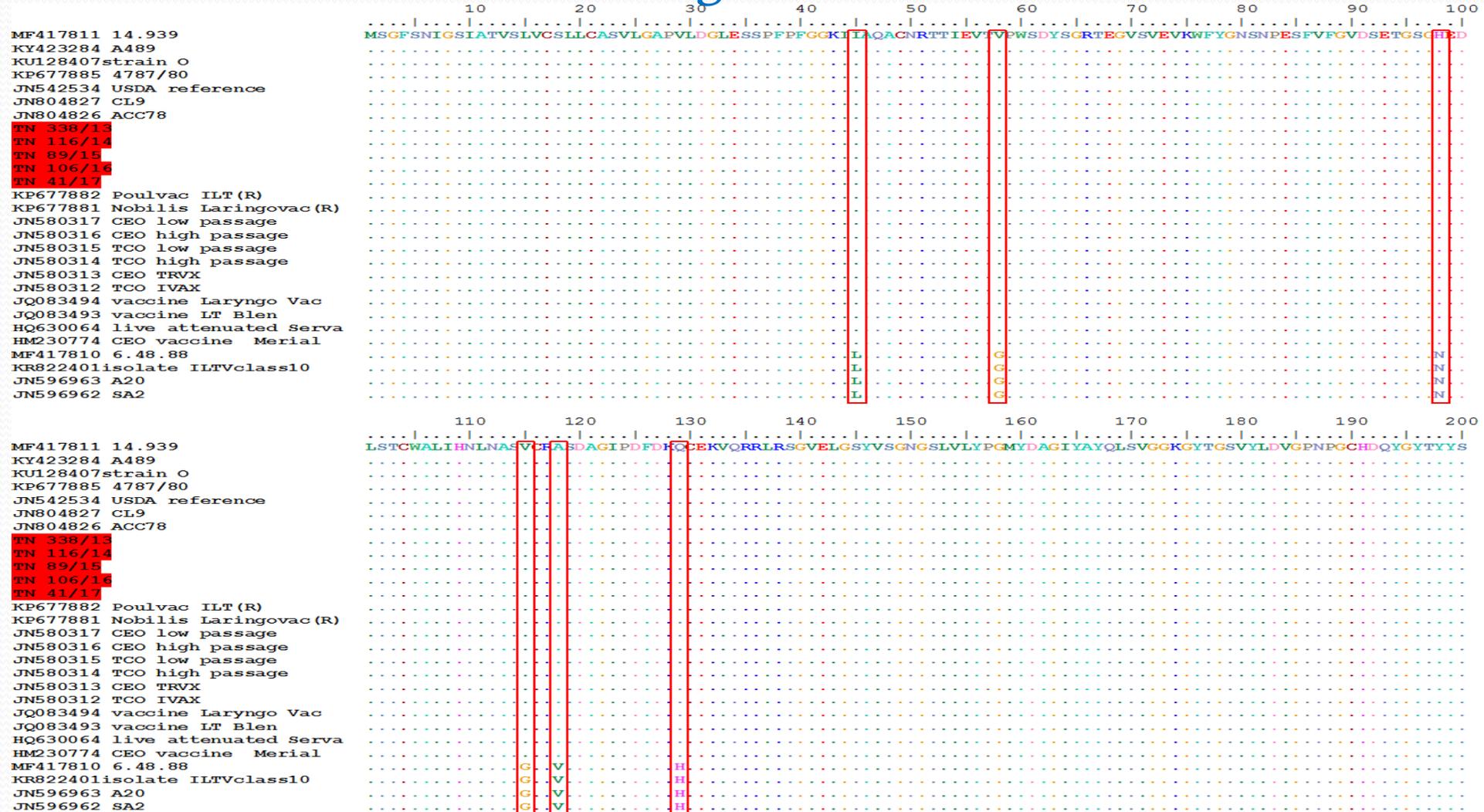
Alignment

Analyse Phylogénétique



Molecular Evolutionary Genetics Analysis

Alignement protéique du gène codant pour la gG



Les isolats tunisiens possèdent une similarité de 100% avec les souches vaccinales



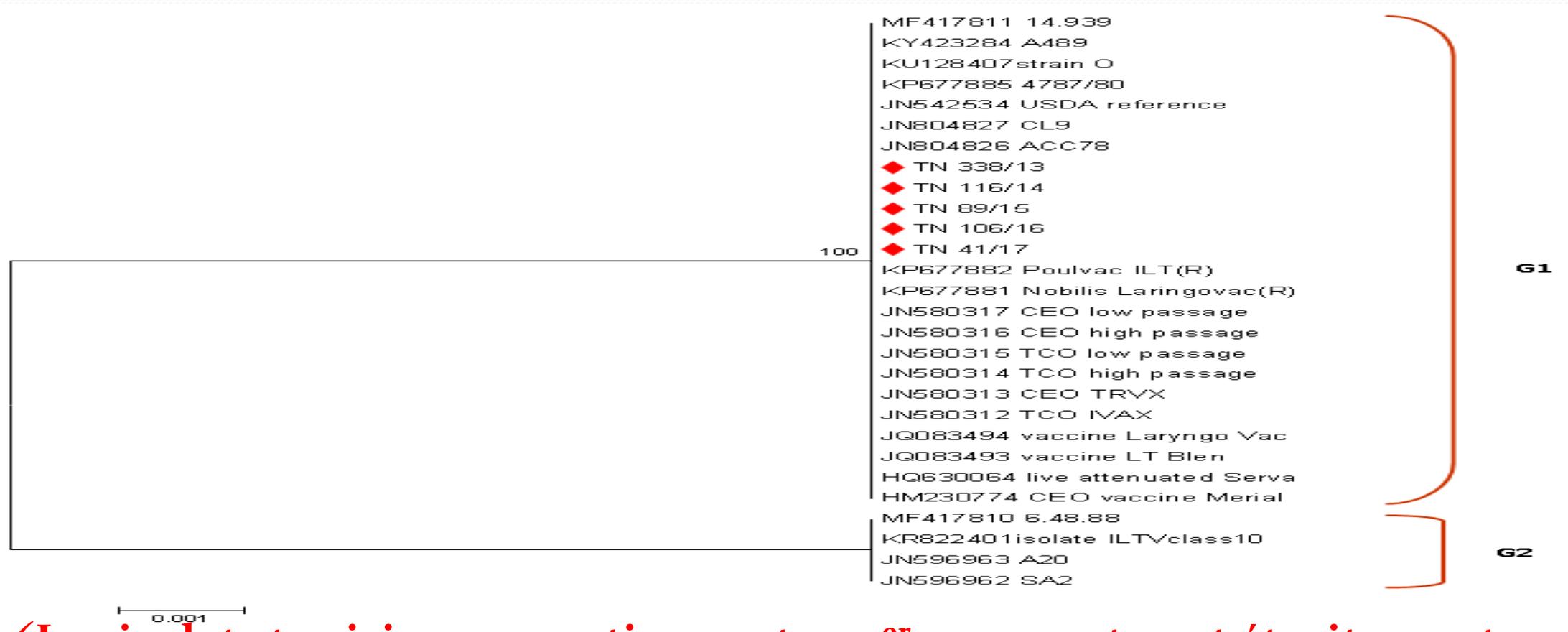
Ces résultats ont montrés que la variabilité génétique des gènes codant pour TK et Gg, des isolats tunisiens ont été bien conservée au cours des 5 dernières années.

Arbre phylogénétique du gène UL23 codant pour la TK



✓ Les isolats tunisiens appartiennent au 2^{ème} groupe et sont étroitement liés entre eux et apparentés à des souches d'origine italienne.

Arbre phylogénétique du gène US4 codant pour la gG



✓ Les isolats tunisiens appartiennent au 1^{er} groupe et sont étroitement liés entre eux et avec les souches vaccinales et des souches de terrains issus de différents pays à savoir la Russie, l'Amérique et l'Italie.



- Les isolats tunisiens et les souches vaccinales appartiennent à 2 groupes distincts dans l'arbre de TK alors qu'ils se trouvent dans le même groupe dans l'arbre de Gg. **Une explication possible est que nos isolats peuvent provenir d'une souche vaccinale ayant subi une mutation au niveau de TK.**
- Sachant que la vaccination contre la LTI n'était pas encore instaurée lors de l'apparition des 1^{er} cas. **Ces résultats suggèrent que ce virus a pu provenir de volailles importés illégalement des pays voisins. Le typage par séquençage d'ADN de l'ILTV des isolats de terrain de pays voisins pourrait clarifier cette hypothèse.**
- Une autre hypothèse peut être émise, celle que nos isolats peuvent résulter **d'une recombinaison** entre une souche vaccinale et une autre souche sauvage, mais pour confirmer ceci, la caractérisation du génome complet s'avère nécessaire.

Conclusion

- ✓ Notre étude nous amène à conclure que les gènes gG et TK ont été stables durant les cinq dernières années et nous avons constaté que les isolats tunisiens sont faiblement virulents.
- ✓ Nous avons également constaté qu'il existe un lien phylogénétique avec les souches vaccinales.
- ✓ Malgré l'introduction de la vaccination contre la LTI à la fin de 2014, des cas de LTI continuent à être observés d'où la nécessité de renforcer les mesures d'hygiène et de biosécurité, de revoir le protocole vaccinal et de faire face à l'importation de volailles par voie clandestine.

Meerkat

