

COLLÈGE
DE FRANCE
— 1530 —

CHAIRE DE MICROBIOLOGIE ET MALADIES INFECTIEUSES
Année académique 2018-2019

Philippe SANSONETTI

Infections chroniques et récurrentes

Cours les mercredis de 16h à 17h30, suivis des séminaires
Amphithéâtre Maurice Halbwachs

16 janvier 2019

16h00, Leçon#4

Redéfinir la latence et la chronicité des infections virales

17h30, Séminaire#4

Hépatite C, peut-on refermer le livre ?

(Stanislas Pol, APHP et Institut Pasteur)

Des virus et des hommes: virome entre mutualisme et maladie

Virome = tous virus présents de manière persistante à surface ou dans le corps humain = composante virale microbiote humain

Trois catégories:

- **Virus "classiques"/eucaryotes** infectant cellules eucaryotes de l'hôte = pathogènes ET non pathogènes (passagers fréquents ? symbiotes commensaux ? mutualistes ?)
- **Rétrovirus endogènes** = rétrovirus intégrés dans le génome, +/- complets, transmis verticalement
- **Rétrovirus intégrés** dans lignages cellulaires non germinaux lors infections chroniques = VIH...

Virus organismes constitutifs microbiote = bactériophages, virus des archea, levures/champignons, protistes, protozoaires

Découverte de nouveaux virus

Jusqu'à présent = processus long, complexe avec nombreux obstacles techniques

Biaisé

Portant largement sur virus pathogènes responsables d'infections chroniques

Au total = rendement assez faible, inadapté à inventaire virome

Glorieuses exceptions:

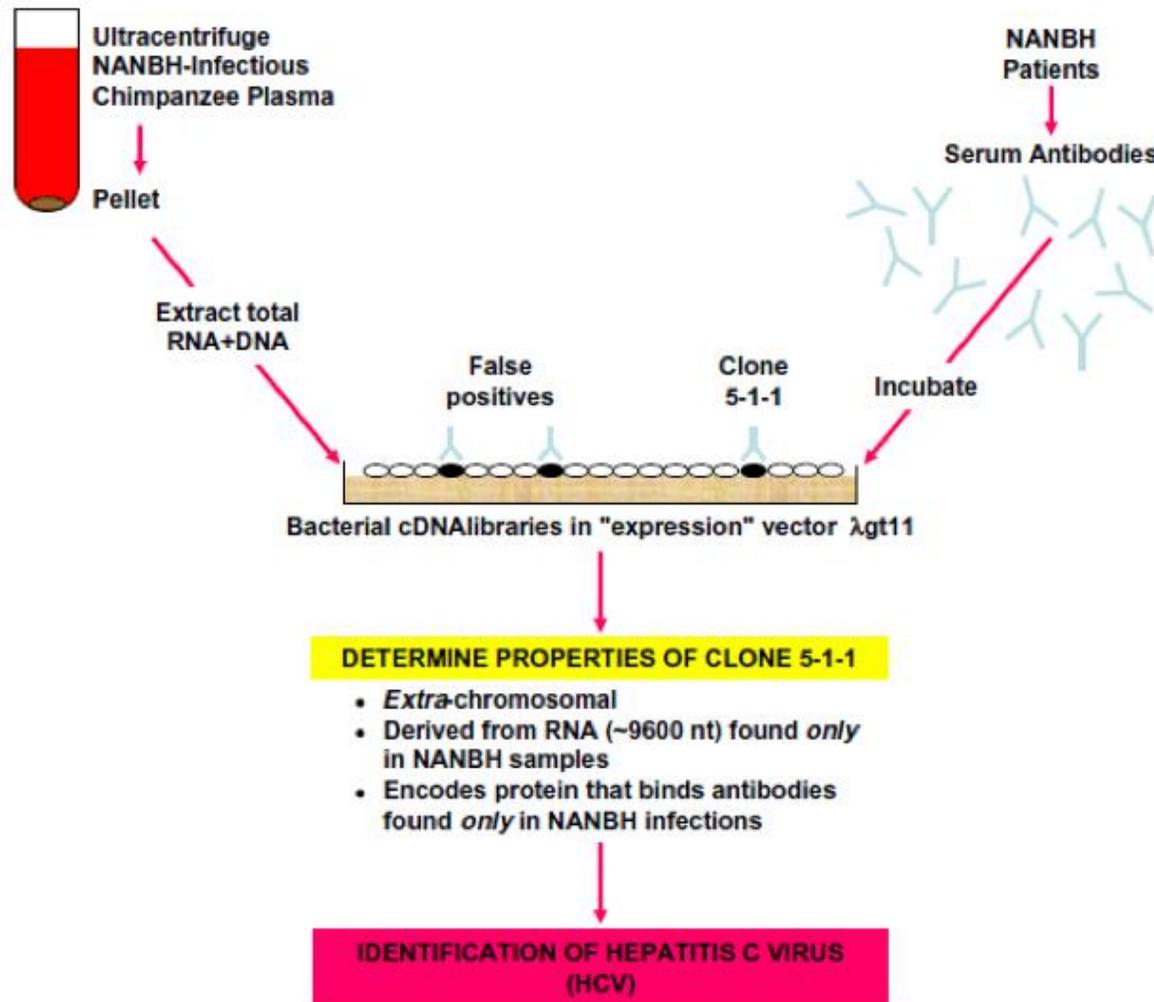
Découverte VIH = (rétro)virologie classique

Découverte du virus de l'hépatite C = virologie moléculaire et immunologie

Découverte KSV8 = virologie moléculaire

Temps des approches "héroïques"

Successful Molecular Identification of HCV in 1989



Michael Houghton Qui-Lim Choo

Chiron/CDC



George Kuo Daniel W. Bradley

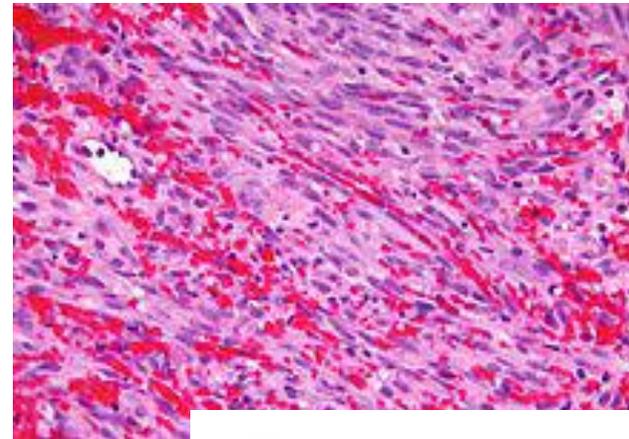
- **Clone 81 (overlapping with clone 5-1-1):** not hybridize with human or chimpanzee DNA by Southern blot [clone 5-1-1 and clone 81 are not derived from host genome]
- **Cloned cDNA:** hybridize with infectious chimpanzee liver, but to hybridize with uninfected chimpanzee liver or control
- **Single positive-stranded:** only one strain of Clone 81 could hybridize with infectious chimpanzee liver

Temps des approches "héroïques"

Identification of Herpesvirus-Like DNA Sequences in AIDS-Associated Kaposi's Sarcoma

= HHV8

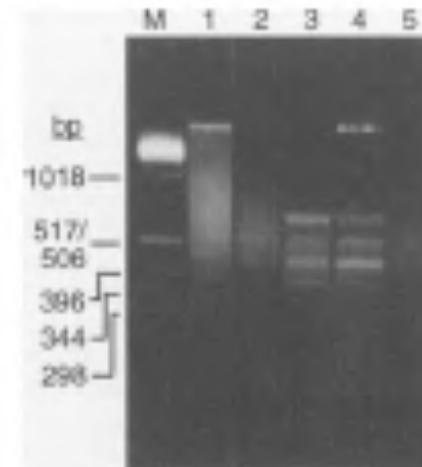
Yuan Chang,* Ethel Cesarman,† Melissa S. Pessin, Frank Lee, Janice Culpepper, Daniel M. Knowles,† Patrick S. Moore
Columbia University, New York, USA



Sarcome de Kaposi

Representational Differential Analysis
RDA

Bam H1



Chang et coll. 1994. Science

Nouvelles approches, nouvelles opportunités

Etudes sur virome chronologiquement décalées par rapport microbiote bactérien

Pas outil métataxonomique équivalent à 16S disponible pour diagnostic OTU bactériennes

Deux groupes de techniques ont changé la donne:

- **"DNA arrays"** (Berthet et coll. 2006. Microb Biotechnol)
- **Séquençage de nouvelle génération = NGS** (Cheval et coll. 2011. J Clin Microbiol)

Découverte rapide, **non biaisée** et sensible virus pathogènes ou non... = adapté caractérisation virome

Renforcement réseaux à interface homme-animal + cohortes = chances accrues découverte nouveaux virus

Découverte VIH aujourd'hui: < probablement 1 mois ...

VIROME HUMAIN

Métagénomique **chez individus sains** a permis de détecter:

1 - Séquences virus petits ADN circulaires

appartenant à quatre familles:

- **Papillomavirus et Polyomavirus** (dsDNA),

- **Anellovirus et Circovirus** (ssDNA)

Génomes = 2-4 kb (King et coll.2011. *Virus Taxonomy*)

Présent dans tractus gastro-intestinal, oral/respiratoire, peau et sang

Nombreux types identifiés, pathogènes et asymptomatiques

Quantification difficile persistance soutenue > exposition transitoire

2 - Autre famille fréquemment détectée = Herpesvirus

Génome linéaire dsDNA, 125-240 kb infectant large gamme hôtes

8 = pathogènes humains

(Arvin et coll. 2007. Human Herpesvirus: biology, therapy and immunoprophylaxis):

= HSV1 & 2, VZV, EBV, CMV, HHV6-8

Infections sévères chez fœtus, enfants et sujets immunodéprimés

(génétique, infection, thérapeutique)

Virome humain: entre commensalisme et pathogénicité

De la santé à la maladie

Cell. 2014 March 27; 157(1): 142–150. doi:10.1016/j.cell.2014.02.032.

The virome in mammalian physiology and disease

Herbert W. Virgin, M.D., Ph.D.
 Department of Pathology and Immunology, Molecular Microbiology and Medicine, Washington University School of Medicine, Campus Box 8118, 660 South Euclid Avenue, Saint Louis, MO 63110, Phone: 314-362-9223, FAX: 314-362-4096

Herbert W. Virgin: virgin@wustl.edu

Herbert W (Skip) Virgin

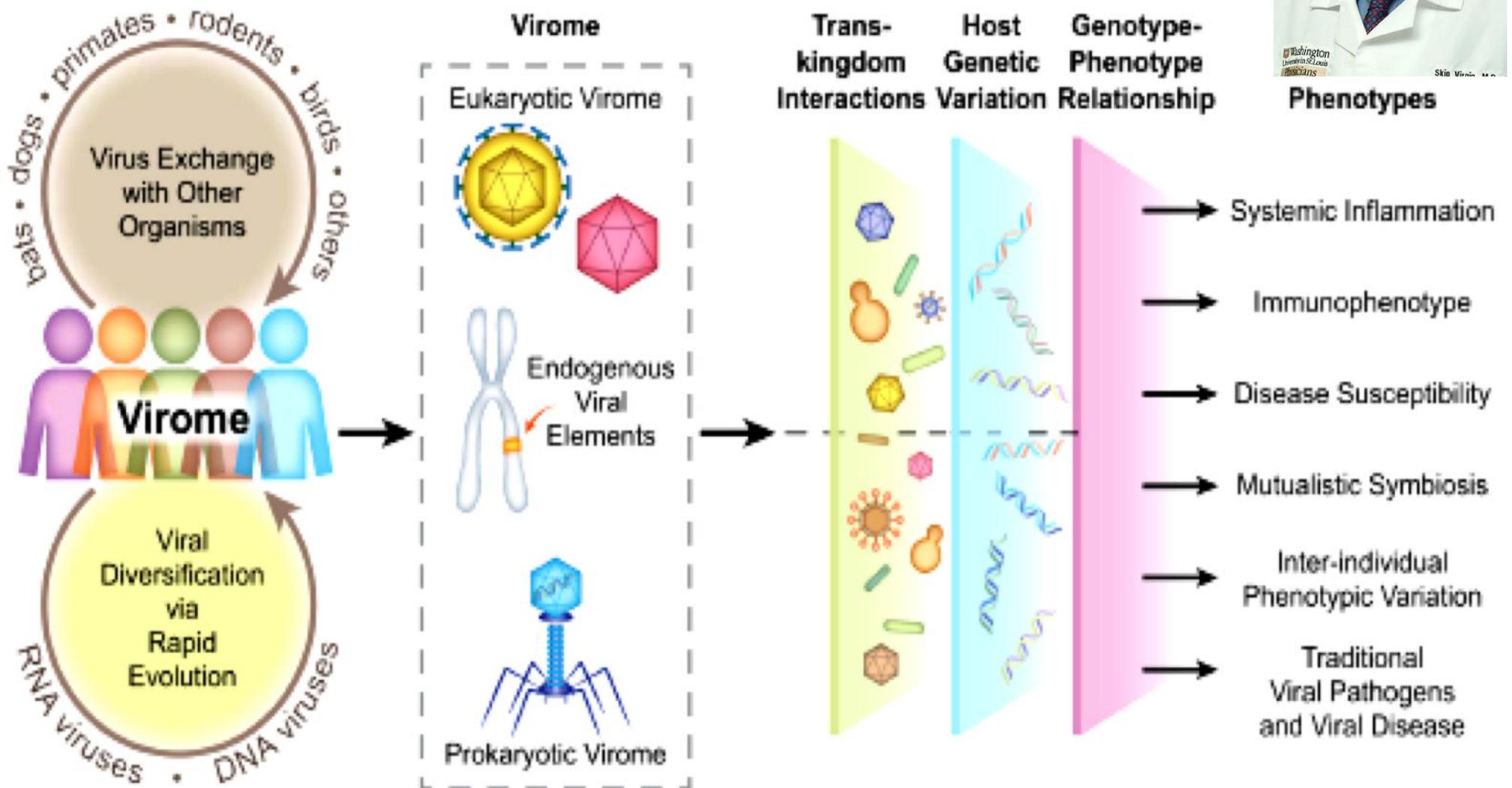
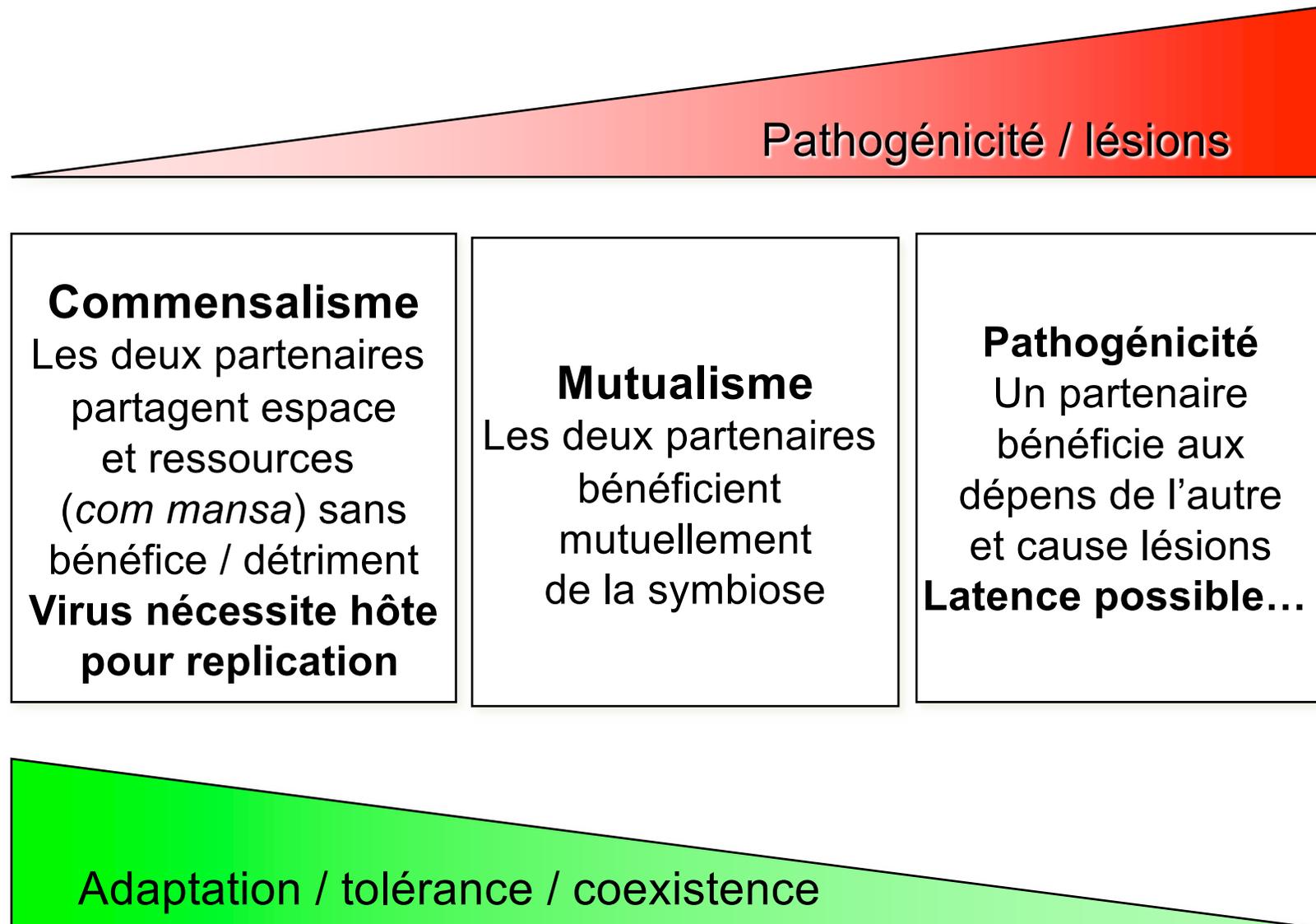


Diagramme parasitisme viral: commensalisme mutualisme et pathogénicité



Infections virales chroniques: de commensalisme à pathogénicité

Caractéristiques/rôle physiopathologique latence à définir:

- Commensalisme = neutralité
- Mutualisme = protection contre agents infectieux hétérologues (Barton et coll. 2007. Nature)
- Pathogénicité = récurrences, inflammation chronique, immunosuppression, autoimmunité, immunosénescence, cancer :

VIH, HBV, HCV

HPV5,8,16,18

EBV, HHV8

Polyomavirus (MCPyV)

= potentiel oncogène (McLaughlin-Drubin et Munger. 2008. BBA)

Infections virales chroniques: grande diversité de situations

Virus responsables infections chroniques = spectre stratégies distinctes permettant survie persistante dans hôte:

- **Intégration dans génome hôte =**

Rétrovirus endogènes intégrés dans génomes de tous membres d'une espèce pour toute existence et transmis verticalement à descendance ou individuel dans certains lignages cellulaires (Kassiotis. 2014. J Immunol)

- **Latence virale =**

Herpesvirus = primo-infection cliniquement patente, puis entrée en latence marquée par réactivations sporadiques

Durant période latence, virus en état silence transcriptionnel = pas production nouveaux virions = évitement surveillance immunitaire (Virgin et Ahmed. 2009. Cell). Maintenant discuté...

- **Réplication persistante =**

HIV, SIV, HBV, HCV, certains HPV = activité transcriptionnelle, réplication active/production soutenue de virions malgré réponse immunitaire antivirale (Zuniga et coll. 2016. Annu Rev Virol)

Infections virales chroniques: de commensalisme à pathogénicité

Intégration, latence, réplication persistante = 3 stratégies efficace pour établir infection chronique. Certains virus associent plusieurs stratégies = VIH (intégration, réplication persistante, « sanctuaires » cellulaires de latence (sous AARV))
Infections virales chroniques = poids+++ sur santé publique

Exemples:

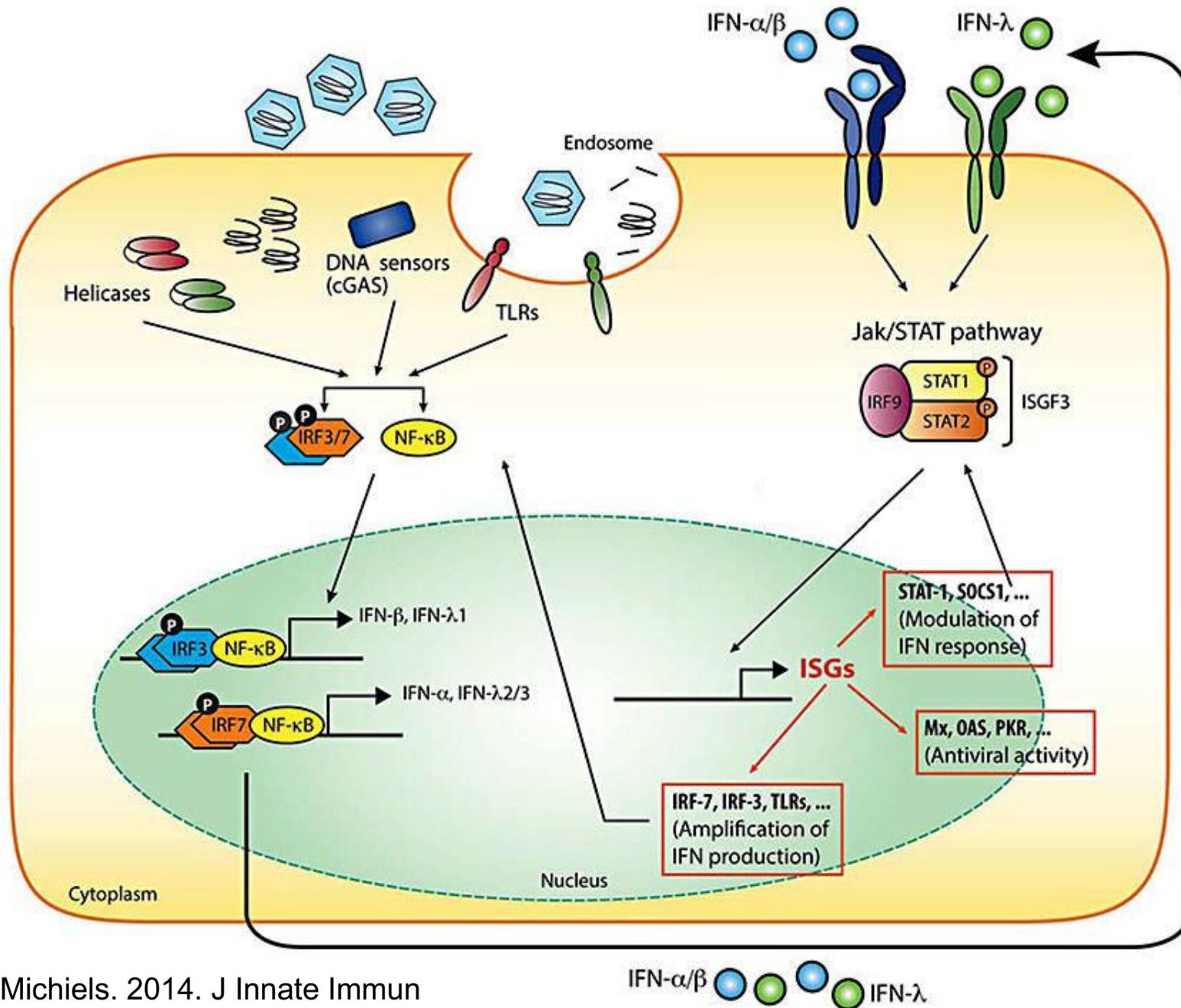
SIDA (VIH1,2) = 1,5 millions décès/an

HBV, HCV = cause principale hépatites et carcinomes hépatocellulaires

HPV (génotypes oncogènes) = première étiologie cancer col

Réplication virale chronique et médiateurs produits en conséquence causent altération soutenue profil réponses Immunitaire hôte infecté

Voies signalisation interférons type I et III



Défi infections virales chroniques pour immunité hôte

Infections virales chroniques = défi particulier pour hôte infecté

Réplication persistante virus = dépasse ou subvertit réponse

immunitaire antivirale établie lors primo-infection

Etablit état infection chronique résultant en stimulation continue

immunité innée et adaptative

Entraine reprogrammation système immunitaire:

Atténuation + bas niveau production Interferons type 1

Perte progressive (épuisement ?) fonctions lymphocytes CD8+

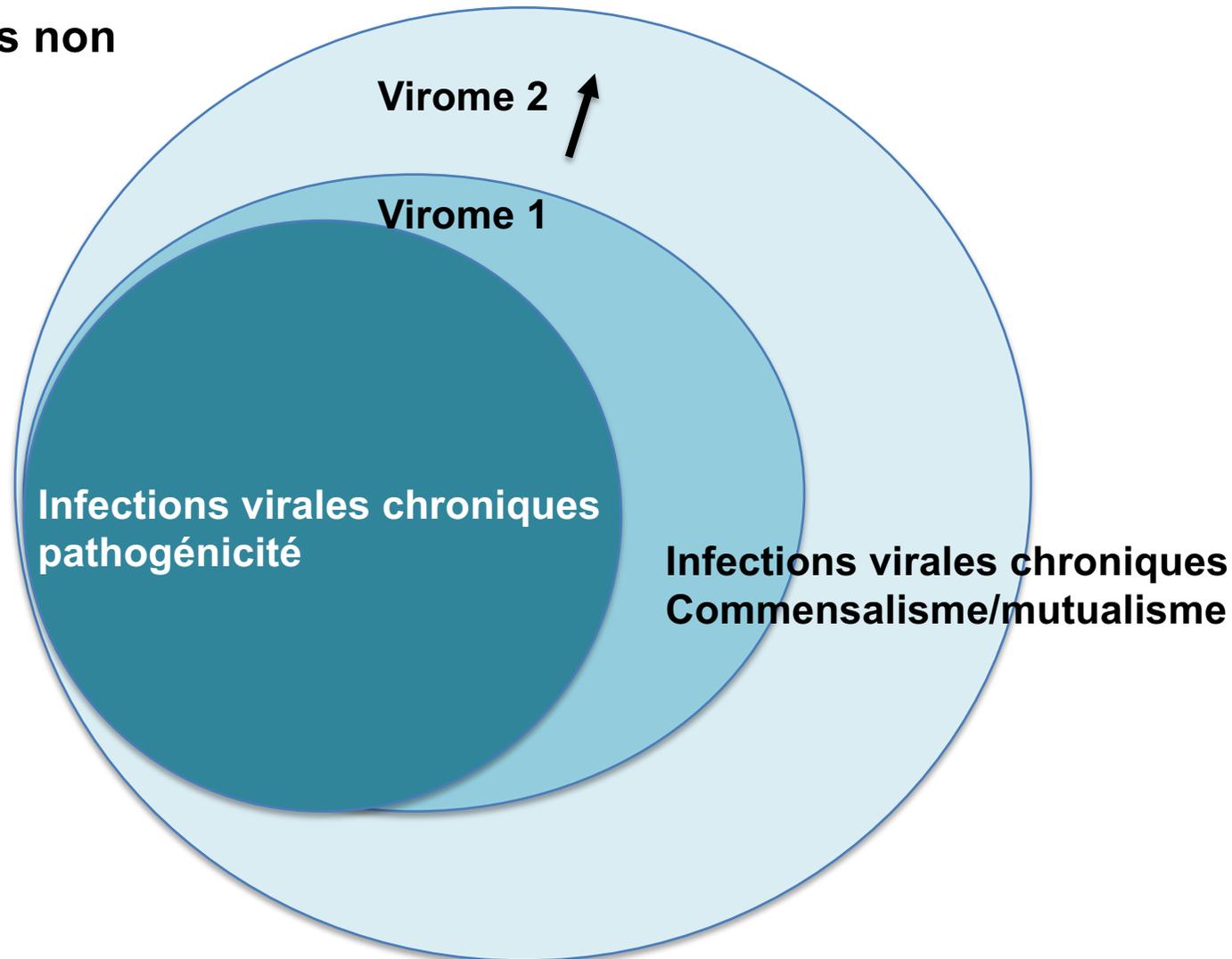
Spécialisation lymphocytes CD4+ dans production IL-21

Promotion réponse anticorps et immunorégulation

Recalibration réponse immunitaire médiée par mécanismes transcriptionnels, post-transcriptionnels, épigénétiques, et métaboliques

Expansion inventaire virome humain: quid nouveaux virus, nouveaux génotypes viraux sur échelle commensalisme – pathogénicité ?

- Quid de virus non
associés à
pathologies ?
(Anellovirus,
plupart HPV..)



Virome dans compartiment systémique

Chez sujets en bonne santé: peu de virus retrouvés dans plasma à l'exception **Anellovirus**

Couramment considérés comme non pathogènes

Caused virémies persistantes

Présence peau, selles

Peuvent être identifiés dans plus de 70 % population planète (Okamoto et coll. 2009. Curr Top Microbiol Immunol)

Echantillons plasma enfants <3 ans fébriles/non fébriles étudiés par PCR ciblée et NGS (Wylie et coll. 2012. PLoS One):

- non fébriles: pas de séquences virales autres qu'Anellovirus

- fébriles: 70% fièvres inexplicées = séquences virales autres qu'Anellovirus:

Les plus représentés:

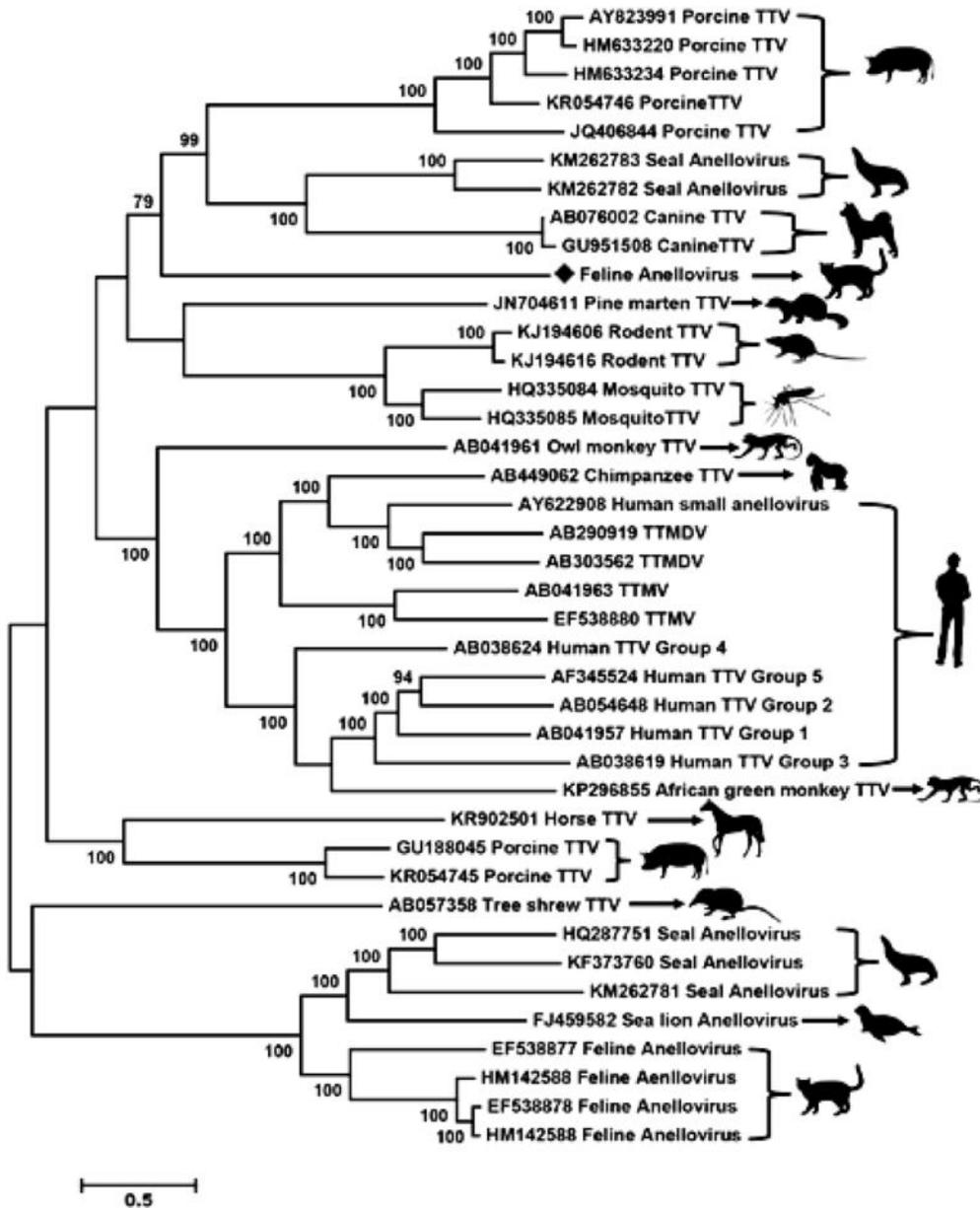
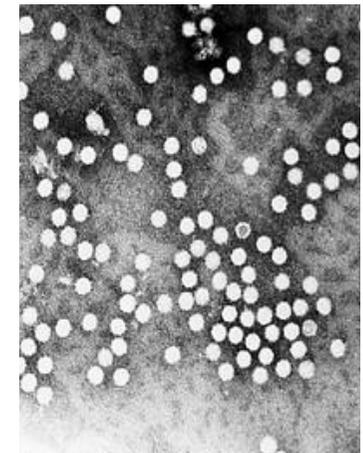
Entérovirus

Rhinovirus

Parvovirus

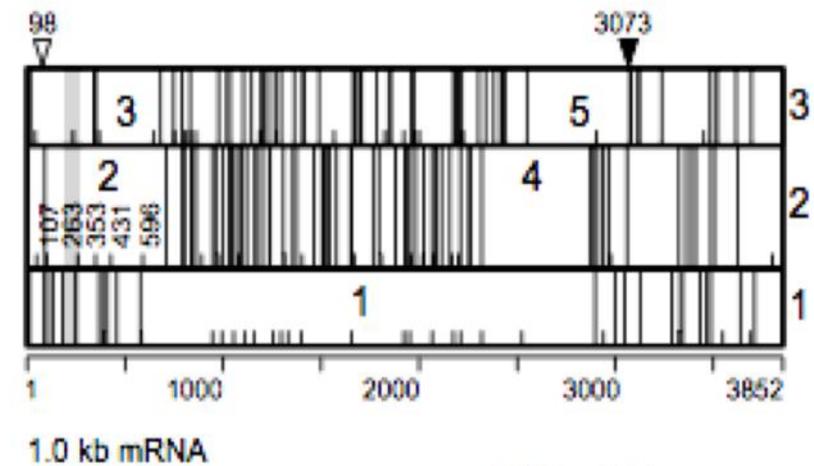
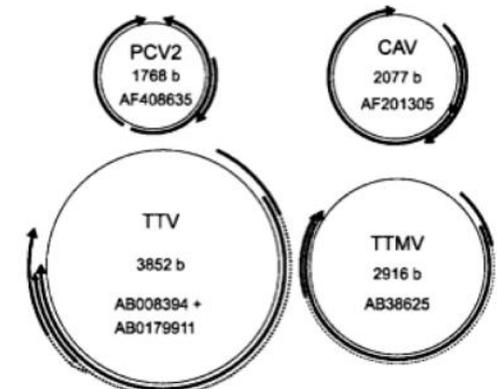
Anellovirus

Alphatorquevirus = Torque teno virus 1-29 (TTV)
 Betatorquevirus = Torque teno mini virus (TTMV)



Virus à ADN simple
 brin circulaire non
 (2-3,9 kb), non
 enveloppé, 30 nm
 diamètre

2 ORF en overlap
 partiel codant 5-7
 protéines par
 initiation transcription
 alternative



Latence Anellovirus: commensalisme, mutualisme, pathogénicité ?

Pas système culture = incertitudes sur biologie interaction cellules et hôte

ORF1 = capsid ?

+ autres ORF probables =

Effecteur inhibant NF-kappa B ?

Effecteur facilitant persistance virale ?

Effecteur induisant apoptose dépendante de P53 ?

Epidémiologie

Distribution globale dans population générale, prévalence >90%

Séropositivité pour VP1 = 100% (Ott et coll. 2000 J Gen Virol)

Suspicion initiale transmission par transfusion, mais plus global (mère-enfant)

Rôle symbiose à long terme persistance Anellovirus ?

Neutre = commensalisme simple

Favorable = mutualiste = immunostimulation ?

Défavorable = pathogénicité = hépatites, maladies respiratoires, hémopathies autoimmunité, immunosénescence ?? (Reddy et coll. 2013. Curr Opin Rheumatol)

Bases latence Anellovirus

Virémie dépendante état immunitaire inné et adaptatif hôte (Maggi et coll. 2011 Clin Vaccine Immunol; Moen et coll. 2003. J Med Virol)

Echappement TTV et TTMV chez sujets sains ?

Variabilité du virus:

Contrairement génomes virus ADN double-brin relativement stables

Virus ADN simple-brin hautement variables (Biagini P. 2009. Current Top Microbiol Immunol) = 29 espèces de TTV / 5 génogroupes, 12 espèces TTMV / 15 espèces TTMDV

Génome très petit: 1,2 – 2,9 kb

Variabilité sérotypique intense sans affecter capacités infection/réplication ?
(Biagini P. 2009. Curr Top Microbiol Immunol)

95 % des enfants suivis prospectivement séroconvertissent pour l'ensemble de ces espèces (McElvaniaTeKippe et coll. 2012. PLoS One)

Persistance = persistance réelle ou réinfections permanentes par des virus ubiquitaires ?

Virome latent et santé

Hypothèse: virus parfaitement adaptés à leur hôte =
cliniquement silencieux

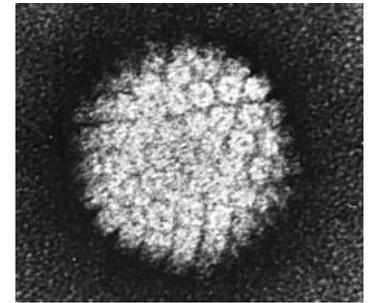
Equilibre idéal avec hôte = absence de contre-sélection =
persistance et transmission facilitée

Situation plus complexe ?

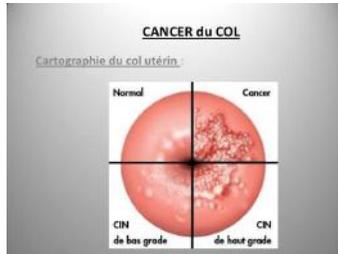
Possibilité que certains des virus reconnus comme associés à portage asymptomatique chez l'homme jouent un rôle jusqu'à présent ignoré sur sa santé comme microbiote bactérien, dans domaines en rapport avec potentiel d'interférence qu'ont les virus avec la physiologie des mammifères:

- Maturation/modulation des réponses immunitaires
- Maturation du système nerveux et modulation activités cognitives comportement...
- Autres ?

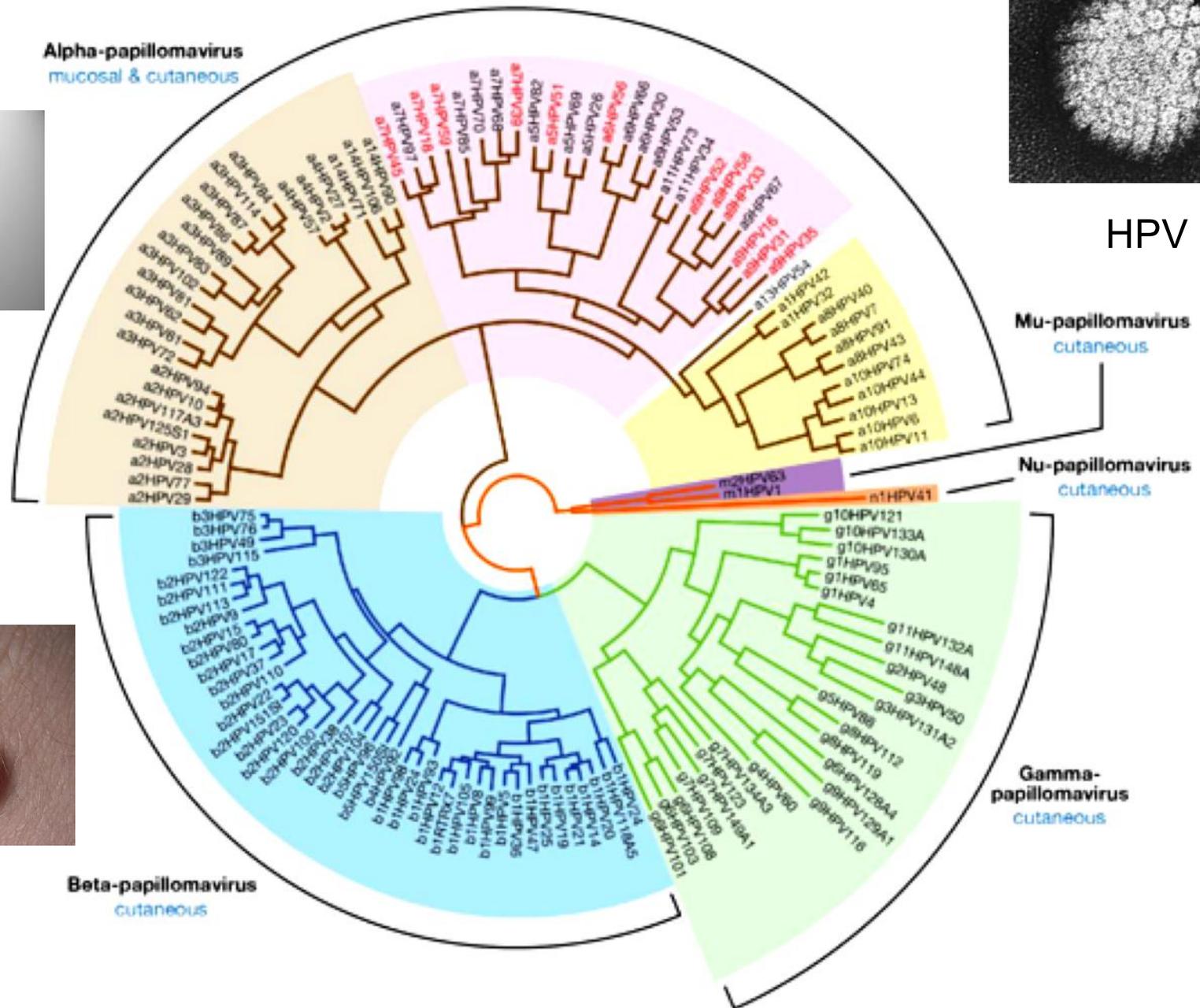
Virome épithélial humain: les papillomavirus (HPV)



HPV



Verrues



Virome épithélial humain: les papillomavirus (HPV)

Papillomavirus humains (Human papillomavirus [HPV])

Définis par génotype (et non sérotype)

> 120 génotypes caractérisés selon séquence ADN

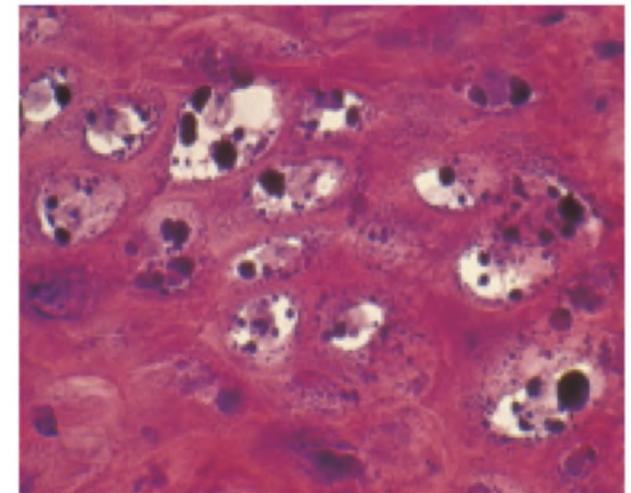
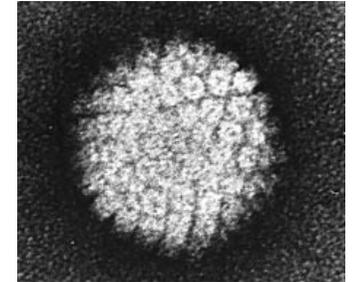
- **soit réplication virale** profitant prolifération kératinocyte hôte = effet cytopathogène spécifique (koilocytes)

- **soit persistance état latent** sous forme épisomale ADN viral libre (infection latente, porteur sain)

- **soit intégration dans génome cellulaire** avec risque oncogène (HPV16, 18...)

Tropisme exclusif pour épithéliums malpighiens

Très résistants froid et chaleur, transmis par contact



Koilocytes couche granuleuse

13 nouvelles souches identifiées chez gamma-HSV par NGS !

(Foulongne et coll. 2012. PLoS One) = groupe gamma-HSV très large...

Infections HPV très fréquentes, responsables lésions épithéliales cutanées ou muqueuses bénignes (verrues et condylomes), aussi néoplasies (carcinomes cutanés/épidermodysplasie verruciforme et anogénitaux)

Virome épithélial humain: les papillomavirus (HPV)

Sujet largement ouvert:

La plupart des HPV sont considérés comme des commensaux de la peau ne causant pas de lésions significatives = réplication et excrétion chroniques asymptomatiques (symbiose avec conséquence à sens unique, la peau n'assurant que la réplication et la diffusion des virus excrétés)

Hypothèse récente = mutualisme: certains beta-HPV pourraient activement participer à prolifération kératinocytes durant processus de réparation de blessures cutanées (Lazareczyk et coll. 2009. Microbiol Mol Biol Rev)

Virome latent et mutualisme: protection anti-infectieuse, GBV-C & VIH



GBV-C

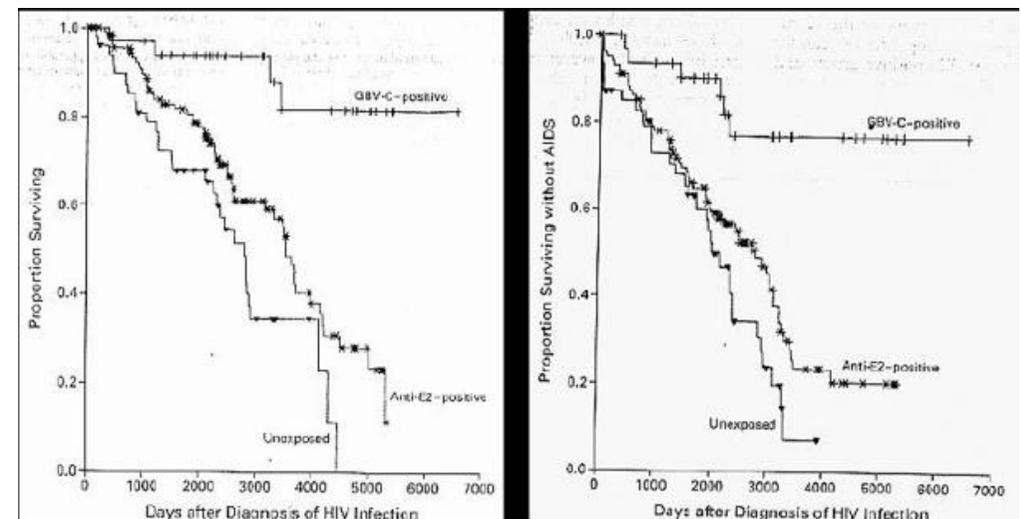
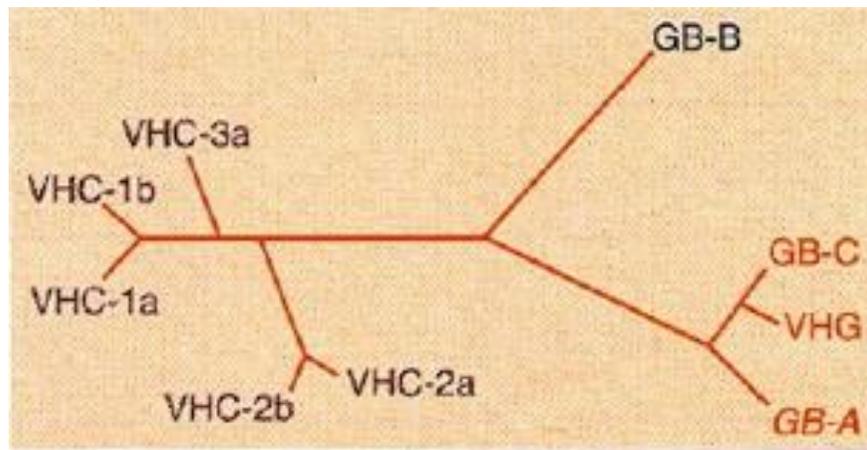
Certaines infections virales chroniques modulent réponses immunitaires et protègent contre "tierce-infection"

GBV-C (GB Virus type C) = Virus Hépatite G, Flavivirus lymphotrophique (parenté avec HCV) ayant équivalents chez primates Nouveau Monde (GBV-A & GBV-B)

Retrouvé chez 1-4% individus en Europe et 20 % dans pays à bas revenus

Pas d'effet sur évolution hépatite C si co-infection (Bralet et coll. 1997. Gastroenterol)

Aucune maladie associée à GBV-C mais plusieurs études ont montré effet bénéfique sur pronostic patients VIH+ (Tillmann et coll. 2001. New Engl J Med; Williams et coll. 2004. New Engl J Med)



Virome latent et mutualisme: protection anti-infectieuse, GBV-C & VIH

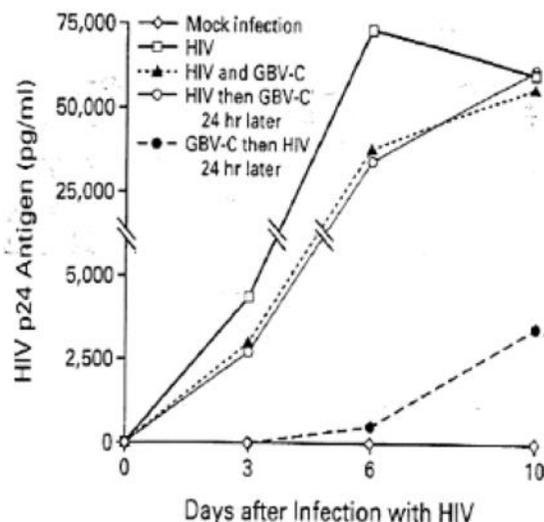
Données épidémiologiques soutenues par observation inhibition réplication VIH dans lymphocytes CD4+ infectés par GBV-C

Mécanismes = probablement multifactoriels (Bhattarai et coll. 2012. Trends Microbiol):

Diminution expression récepteur entrée VIH dans lymphocytes

Inhibition réplication VIH

Activation réponses innées: biais Th1, diminution apoptose lymphocytes, interférence avec expansion lymphocytes CD4+ en présence d'IL-2



Williams et coll. 2004. New Engl J Med

Retour sur latence Herpesvirus humains

Herpes simplex virus 1 & 2 (HSV1, HSV2)

Virus Varicelle Zona (VZV)

Cytomegalovirus humain (HCMV),

Herpesvirus humains 6 & 7 (HHV6, HHV7)

Virus Epstein Barr (EBV)

Herpesvirus du Sarcome de Kaposi (KSHV).

Virus divisés en 3 sous-familles (α , β , γ) sur base de similarités génétiques et biologiques

Bien qu'un adulte héberge en général plusieurs de ces virus, maladies sévères qui peuvent leur être attribués = rares en absence de déficits immunitaires congénitaux ou acquis

3 phases: infection aiguë (primo-infection), latence, réactivation(s)

Infection chronique latente et mutualisme: protection anti-infectieuse, gamma-herpes murin contre pathogène

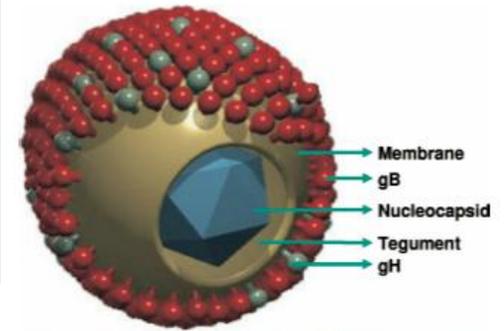


FIG. 2. Virtual three-dimensional model of HCMV showing various components of the virus. (Adapted from <http://www.biografix.de/> with permission.)

Infection chronique de la souris par virus Herpes de profil similaire aux infections humaines par EBV et CMV activent système immunitaire inné et protègent contre infection par "tiers pathogènes, y compris bactériens = *Listeria monocytogenes* et *Yersinia pestis* (Barton. 2007. Nature)

Humains tous en contact avec des Herpesvirus multiples, surtout durant enfance et l'adolescence

Suite à guérison primo-infection, ces virus établissent état de latence

Latence persiste toute la vie, généralement vue comme symbiose parasitaire avec réactivations virales et maladies pouvant s'y rapporter (lymphomes, cancers, maladies inflammatoires intestinales, oculaires, etc...)

Autres situations:

Protection souris contre Plasmodium (Haque et coll. 2004. Clin Exp Immunol)

Protection contre Adenovirus type 1 (Nguyen et coll. 2008. Virology)

LETTERS

Herpesvirus latency confers symbiotic protection from bacterial infection

Erik S. Barton¹†, Douglas W. White^{1,5}, Jason S. Cathelyn², Kelly A. Brett-McClellan¹, Michael Engle³, Michael S. Diamond^{1,2,3}, Virginia L. Miller^{2,4} & Herbert W. Virgin IV^{1,2}

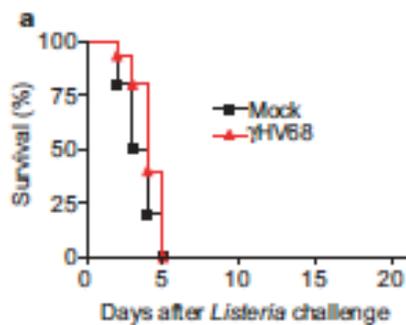
Souris infectées de façon latente par un gamma-Herpesvirus 68 (proche EBV humain) ou un Cytomégalovirus murin (proche CMV humain) sont rendues résistantes à infection par *Listeria monocytogenes* ou *Yersinia pestis*. Protection induite par latence virale non spécifique = innée impliquant production prolongée Interféron-gamma et activation systémique macrophages.

Latence virale active niveau immunité innée, permettant protection contre infection subséquente.

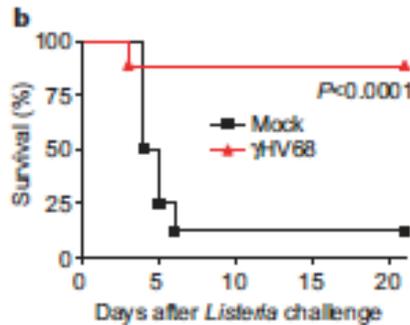
Possibilité réglage de l'immunité systémique du fait du biais de production de cytokines maintenu par l'infection virale latente.

Infection chronique latente et mutualisme: protection anti-infectieuse, gamma-herpes murin contre *Listeria*

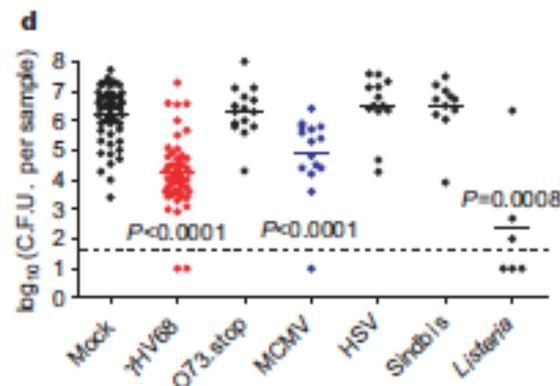
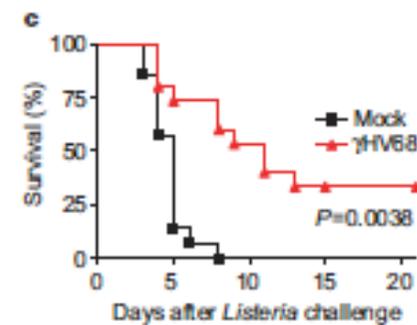
+ 1 semaine
post inoculation virus



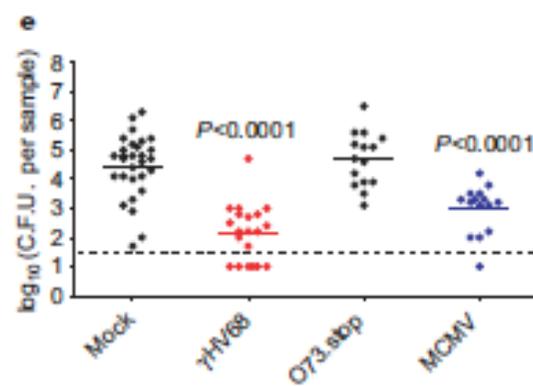
+ 4 semaine



+ 12 semaine



Rate



Foie

Confirmé par Yager et coll. 2009. *Viral Immunol*

Symbiose mutualiste ou simplement guérison tardive ?

Débat important:

Yager et coll montrent que la protection croisée contre *L. monocytogenes* dure 5 mois, (2 mois de plus que celle observée par Barton et coll), mais cesse au bout de 6,5 mois après infection par HV68...

Deux questions essentielles (Barton et coll. 2009. *Viral Immunol*):

1 – Est-ce qu'une protection croisée temporaire, contemporaine de la phase aiguë et disparaissant, en dépit de l'entrée en latence du virus peut être considérée comme une symbiose mutualiste au sens où il ne s'agit pas d'un événement circonstanciel, mais d'un processus qui a pu peser dans l'évolution de l'espèce concernée, lui permettant de résister à certains pathogènes

2 – L'effet de protection croisée disparaît-il totalement après l'entrée en latence ou se poursuit-il sur un mode plus atténué ou différent non pris en compte par les modèles expérimentaux ?

Empreinte infection aiguë sur immunité innée laisse mémoire en phase de latence ?

Cell Host & Microbe
Perspective

Cell
PRESS

Trained Immunity: A Memory for Innate Host Defense

Mihai G. Netea,^{1,*} Jessica Quintin,¹ and Jos W.M. van der Meer¹

¹Department of Medicine and Nijmegen Institute for Infection, Inflammation, and Immunity, Radboud University Nijmegen Medical Center, Nijmegen, The Netherlands

*Correspondence: m.netea@aig.umcn.nl

DOI 10.1016/j.chom.2011.04.006

Immune responses in vertebrates are classically divided into innate and adaptive, with only the latter being able to build up immunological memory. However, although lacking adaptive immune responses, plants and invertebrates are protected against reinfection with pathogens, and invertebrates even display transplant rejection. In mammals, past “forgotten” studies demonstrate cross-protection between infections independently of T and B cells, and more recently memory properties for NK cells and macrophages, prototypical cells of innate immunity, have been described. We now posit that mammalian innate immunity also exhibits an immunological memory of past insults, for which we propose the term “trained immunity.” Understanding trained immunity will revolutionize our view of host defense and immunological memory, and could lead to defining a new class of vaccines and immunotherapies.

La phase de latence est-elle si latente ?

Concept de quiescence immunologique et virale en regard de notion de « phase de latence » remis en question:

Ni le virus, ni les réponses de l'hôte à ce virus ne sont réellement quiescentes durant latence

Méthodes très sensibles (qPCR) montrent que trois sous-familles Herpesvirus produisent virions infectieux aux surfaces épithéliales/muqueuses de manière quasi continue chez des sujets a priori sains (Hadinoto et coll. 2009. PLoS Pathogens; Tronstein et coll. 2011. JAMA)

Latence maintenant vue comme phase marquée par entrée permanente, à faible niveau, de cellules infectées en cycle de réplication virale

Réactivations à bas bruit vs vraie phases de réactivation

Profil immunologique phase latence Herpesvirus

Infection IN par Herpesvirus

Humain = HSV1 (pas d'alpha-herpesvirus murin)

Murins = MCMV et MHV68

Respectivement équivalents HCMV et EBV

Infection résolue après 1 mois = latence

Souris sacrifiées, rate prélevée (analyse réponses systémiques), **transcriptome global**

Patterns complexes d'induction et de répression de gènes = latence pas situation biologiquement neutre

Induction gènes prolifération cellulaire

(cohérent avec prolifération *ex vivo*)

Seul MHV68 produit – seul ou en association –

pattern indiquant inflammation et réponse immunitaire

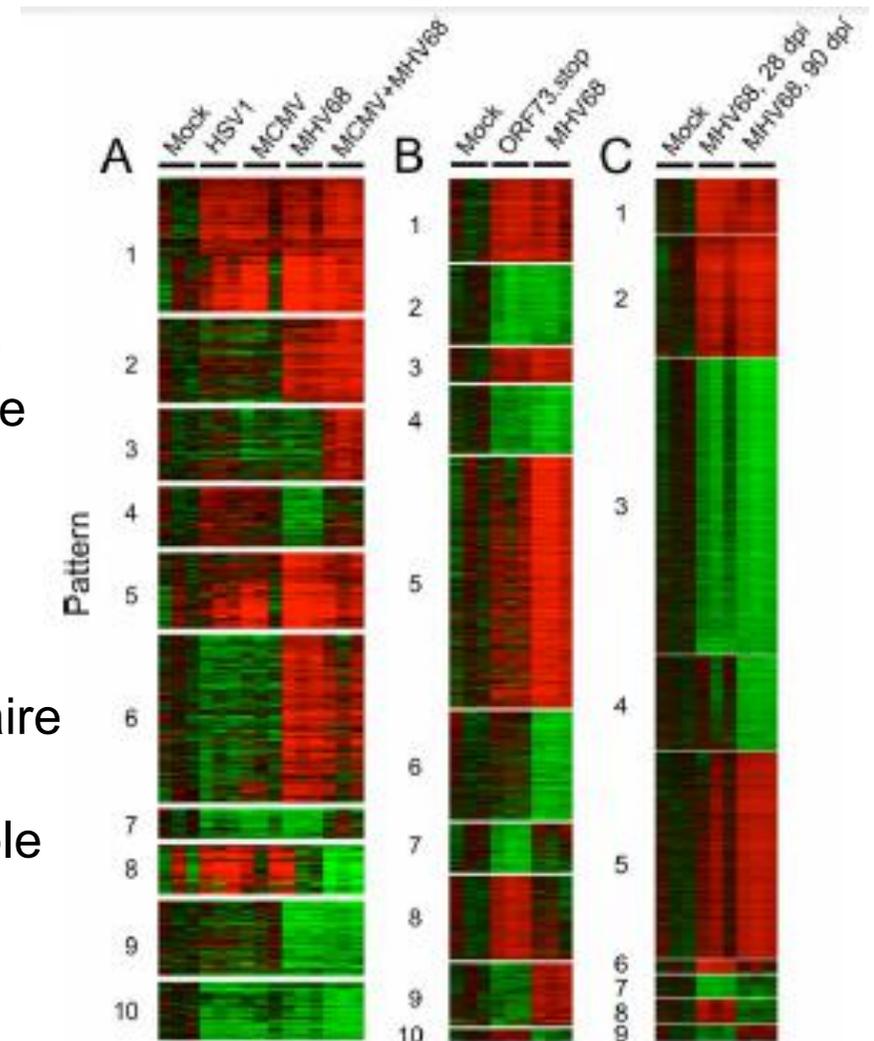
Surtout IFN-gamma

Mutant ORF73 cause infection aiguë, mais incapable

de soutenir infection latente = perte signatures

Difficile de généraliser

White et coll. 2012. Immunol Rev



Profil immunologique phase latence Herpesvirus

En dépit absence de symptômes cliniques, période de latence (HCMV, EBV) marquée par interaction virus-hôte résultant en génération large pool de lymphocytes CD4+ et CD8+ hautement fonctionnel se maintenant pour la vie

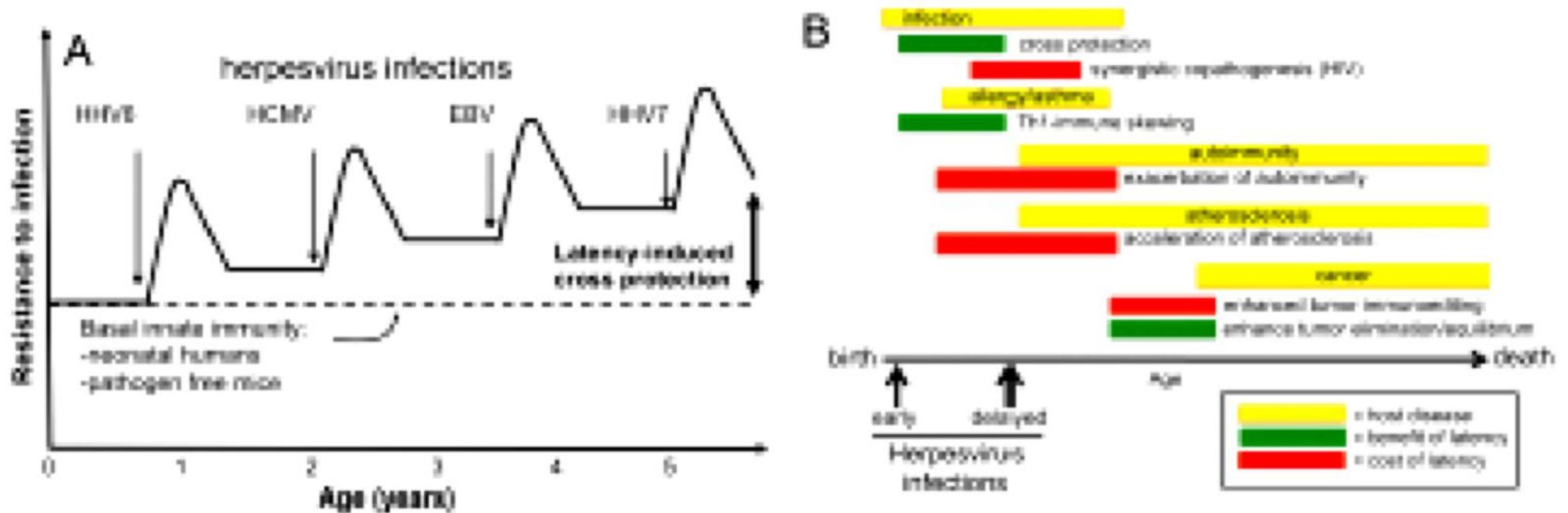
Large compartiment lymphocytes T essentiel pour contrôler réactivation virale dont risque est permanent

Offre donc aussi possibilité de maintien d'une immunité hétérologue (Welsch et coll. 2010. Immunol Rev)

Modèle de "symbiose collective mutualiste"

Equivalent holobiotte homme/mammifères-bactéries ?

Unité de sélection = homme/mammifère-collectif herpesvirus ?



Virome: pour le meilleur... et pour le pire HCMV et sénescence du système immunitaire

Réponse spécifique aux Herpesvirus médiée par lymphocytes T varie avec âge
Portion croissante population lymphocytes CD8+ (moins pour lymphocytes CD4+) dirigée contre CMV

Chez certains sujets âgés, > 40 % du répertoire cellules T spécifiques du CMV
= **"inflation mémorielle"**

Lymphocytes T CMV-spécifiques présentent signes différenciation terminale mais demeurent capables de réactivation en présence antigènes viraux, sont cytotoxiques, produisent IFN-gamma et TNF-alpha et contrôlent la réactivation du CMV, même chez personnes très âgées (Libri et coll. 2011. Immunology; Snyder et coll. 2008. Immunity)

Cependant ces lymphocytes (CD28-CD57+) sont hypofonctionnels et submergent lymphocytes T naïfs dont disponibilité permettrait reconnaissance nouveaux antigènes (Khan N. 2007. Arch Immunol Ther Exp; Pawelec et coll. 2010. J Comp Pathol; Gress et coll. 2009. J Clin Invest)

Virome: pour le meilleur... et pour le pire HCMV et sénescence du système immunitaire

Présence d'un grand nombre de ces cellules corrèle avec:

- Une réponse diminuée à l'infection par EBV (Khan et coll. 2004. J Immunol)
- Une mauvaise réponse au vaccin contre la grippe (Trzonkowski et coll. 2003. Vaccine)

Cependant, "inflation mémorielle" au CMV peut débuter très tôt – dès l'enfance – et pour autant ne semble pas altérer la réponse aux infections (vaccin rougeole et enterotoxine B staphylococcique) (Miles et coll. 2008. Immunology)

Lien entre inflation mémorielle au CMV et immunosénescence demeure à démontrer

N'est au mieux qu'un élément de l'immunosénescence

Futur du virome...

Virus amis, ennemis... ou les deux ?

Catalogage du virome des mammifères

Nécessité connaître diversité et prévalence virus présents dans et sur hôte
Séquençage profond" = métaviromique = approche la plus adaptée compte tenu exhaustivité et de abaissement coûts

Développer méthodes de culture *in vitro* de ces virus (ex: Anellovirus incultivables) afin de progresser dans expérimentation

Etablir modèles *in vitro* d'infection nécessitant innovation en cultures cellulaires, approches 3D comme organoïdes
Ces systèmes peuvent être complexifiés en ajoutant d'autres "acteurs": bactéries, cellules immunitaires, etc...

Etablir/améliorer modèles animaux infection (murins) afin d'identifier nouvelles propriétés virales en rapport avec modulation immunité, oncogénèse, sénescence: modèles (MNV, MCMV, MNV, etc...)
Tenter adapter à modèles murins des virus commensaux (ex: virus ADN simple brin)

Développer études systémiques, multiparamétriques sur cohortes sujets sains ou patients afin de dégager, en complément des études expérimentales, les complexes en interaction: virus, bactéries, gènes, environnement