

**Proposition de stage de 6 mois dans un institut
du Pasteur Network
pour les internes - DES maladies infectieuses et tropicales.**

Institut Pasteur de :

Pays: Nouvelle-Calédonie

Ville: Nouméa

Directeur : Dr Marc JOUAN

Contact : mjouan@pasteur.nc

Activités de l'Institut : Arboviroses, Leptospirose, Entomologie médicale, Bactériologie Environnementale et Médicale, Bioactivité des substances naturelles

Responsable du stage

Nom du responsable de stage : Catherine INIZAN

Qualification et spécialité du responsable de stage : docteur en Virologie, spécialiste des relations hôte-pathogène

Mail : cinizan@pasteur.nc

Téléphone : +687 27 26 66

Prérequis attendus de l'interneNombre de semestres : Ou sans importance (case à cocher)

Autres prérequis ou compétences souhaités : Détenteur d'un M1 en Biologie ou Infectiologie (Immunologie ou Virologie)

Description du stage proposéType de stage : Microbiologie Epidémiologie/Santé publique

Thématiques étudiées au cours du stage: Virologie, Immunologie, Réponse anticorps ciblant le virus de la dengue

Objectifs du stage :

La Nouvelle-Calédonie (NC) est un territoire insulaire français de 270 000 habitants situé dans la région du Pacifique Sud, où la population reflète la diversité génétique de la région, avec 41,2 % de la population se déclarant Kanak (ascendance Mélanésienne), 24 % Européenne, 8,3 % Wallisienne-Futunienne (ascendance polynésienne) et 26,5 % appartenant à d'autres communautés. En Nouvelle-Calédonie, le virus de la dengue de type 1 (DENV-1) a circulé de façon quasi-ininterrompue entre 2002 et 2018. De façon singulière, l'incidence et la séroprévalence de la dengue sur l'archipel sont les plus élevées dans les communes où les Mélanésiens sont majoritaires. Cependant, les Mélanésiens ne sont pas sur-représentés parmi les formes sévères de dengue. Des singularités immunitaires pourraient contribuer à ce profil épidémiologique particulier. L'immunité humorale joue un rôle central dans la réponse immunitaire à l'infection par le virus de la dengue : la capacité neutralisante des anticorps contribue à médier la protection contre une réinfection. Les profils de reconnaissance, et notamment la réactivité croisée des anticorps anti-DENV, sont donc des déterminants importants de la qualité de la réponse humorale anti-DENV.

L'objectif de ce stage est de mesurer l'amplitude du profil de neutralisation des anticorps ciblant le DENV-1 chez des participants appartenant aux quatre principales communautés ethniques de Nouvelle-Calédonie

Méthodes mises en œuvre au cours du stage :

Pour répondre à cet objectif, ce projet repose sur une collection de près de 600 échantillons de sérum collectés en Nouvelle-Calédonie auprès de personnes s'estimant appartenir à la communauté Mélanésienne, Européenne, Polynésienne et à d'autres communautés ayant contracté une unique infection par le DENV-1 au cours de leur vie. Un sous-échantillon de 30 séra par communauté sera caractérisé dans le cadre de ce stage, soient 120 séra. Ce sous-échantillon sera représentatif de la gamme de titres en anticorps anti-DENV-1 préalablement détectés par Luminex dans les 600 séra. Nous emploierons également une collection de souches de virus de la dengue couvrant la diversité antigénique du DENV-1. Des expériences de cytoneutralisation seront réalisées avec les échantillons de séra et ces virus, afin de mesurer la capacité neutralisante des séra vis-à-vis de ces diverses souches virales. Des cartes antigéniques seront construites et comparées à travers les communautés d'appartenance.

Description des missions et activités qui seront confiées à l'interne :

L'interne aura la charge de réaliser les expériences et analyses suivantes :

- **Tâche 1** : produire les stocks viraux.

Pour produire les stocks viraux, nous utiliserons un panel de 5 souches représentatives de la diversité antigénique du DENV-1 (une souche de chaque génotype I à V), ainsi qu'une souche de chacun des 3 autres sérotypes ayant circulé en Nouvelle-Calédonie. L'interne aura la charge d'amplifier les virus par une inoculation d'un stock viral sur cellules de moustique C6/36 en milieu L15 supplémenté de 10% de tryptose phosphate et de 2% de Sérum de Veau Foetal. Après 5 jours de culture, le surnageant sera récolté et conservé à -80°C.

Les surnageants viraux seront titrés : pour ce faire, ils seront dilués par une dilution en cascade de raison 10 et inoculés en microplaque sur cellules Véro. Après 5 jours de culture, l'interne réalisera une lecture des effets cytopathogènes et le calcul du titre en utilisant la méthode Spearman-Kärber (Kärber, 1931).

- **Tâche 2** : réaliser les expériences de séroneutralisation.

Pour réaliser les expériences de cytoneutralisation, les 120 séra sélectionnés seront décomplémentés 1 heure à 56°C. Puis, l'interne effectuera une dilution en cascade de raison 2 des 120 séra de 1/20 à 1/2560 en milieu DMEM supplémenté de 2% de Sérum de Veau Foetal.

Les dilutions de séra seront ensuite incubées 1 heure à 37°C avec les différentes souches virales produites et titrées à la tâche 1. Le mélange sérum-virus sera alors inoculé en microplaque sur cellules Véro. Après 5 jours de culture, l'interne collectera et fixera les cellules, les marquera avec un anticorps fluorescent ciblant le DENV et révélera le pourcentage de cellules infectées par cytométrie en flux. Une réduction du nombre de cellules infectées sera indicative de la présence d'anticorps neutralisants. La dilution du sérum pour laquelle une réduction de 50% du nombre de cellules infectées sera collectée.

- **Tâche 3** : construire les cartes antigéniques.

A partir des titres de neutralisation obtenus à la tâche 2, l'interne construira des cartes antigéniques en utilisant le Package "Racmacs" sur R. <https://acorg.github.io/Racmacs/> Une carte antigénique reprend les données de titrage qui mesurent la force de la réactivité d'un sérum contre un groupe d'antigènes, ici les souches diverses d'un même sérotype. Elle permet la visualisation des données : le positionnement des échantillons de sérum sur la carte antigénique révélera les similitudes et les différences dans les profils de reconnaissance des anticorps au sein des communautés ethniques de Nouvelle-Calédonie.

Formalités administratives et médicales nécessaires avant départ :

Vaccinations à jour (y compris Hépatite B)

Facilités proposées

Logement : - fourni par l'Institut avec charges seules ou avec loyer & charges
- à l'extérieur de l'Institut à la charge du stagiaire

Cantine du personnel ouverte aux stagiaires : Oui Non Pas de cantine du personnel