

# Bi●VirAl



Les Densovirus comme agent de lutte biologique contre le moustique tigre,  
*Aedes albopictus*

**Aurélie Perrin**

[aurelie.perrin@ird.fr](mailto:aurelie.perrin@ird.fr)

UMR MIVEGEC, IRD 224 - CNRS 5290 - Université de Montpellier



## Appel à projets de la région Occitanie : Soutien à la pré-maturation en laboratoire



### Objectifs du programme de financement :

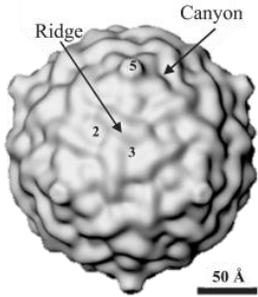
- Accélérer la « maturation » de résultats issus de la recherche publique,
- Favoriser les transferts technologiques vers l'industrie ou la création d'entreprises.



Porteur : F. Chandre



# Les densovirus comme agent de lutte biologique



- Famille des Parvovirus
- Virus non enveloppés
- Caspide icosaédrique (≈20 nm)

- Génome à ADN simple brin linéaire (taille ≈ 4 kb)
- **Intérêt en tant qu'agent de lutte biologique**
  - Spectre d'hôte restreint
  - Infectieux aux stades larvaires

Ex.

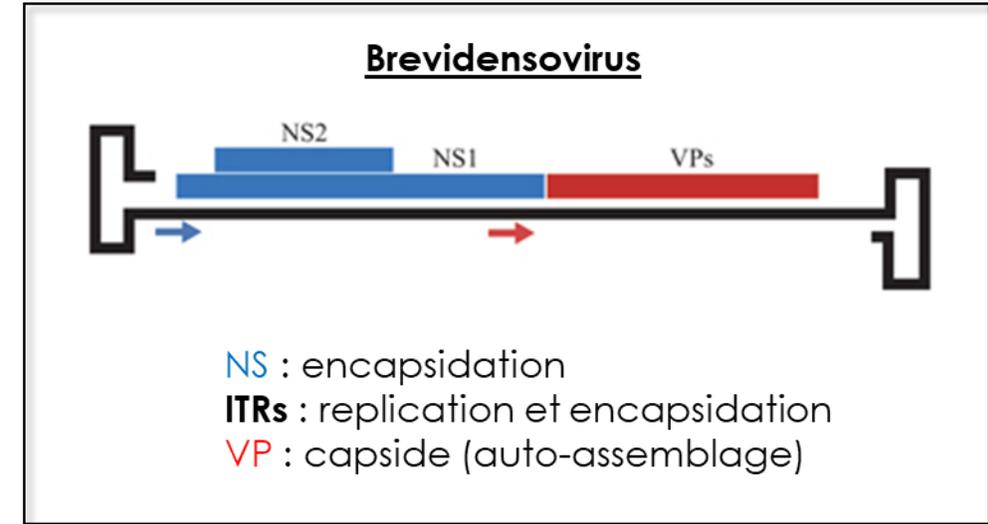
GmDV vs *Galleria mellonella*, teigne de la ruche (1965)



SfDV et CeDV vs *Sibine fusca* et *Casphalia extranea* (années 70, 80)



AaeDV vs *Aedes aegypti* (années 80)



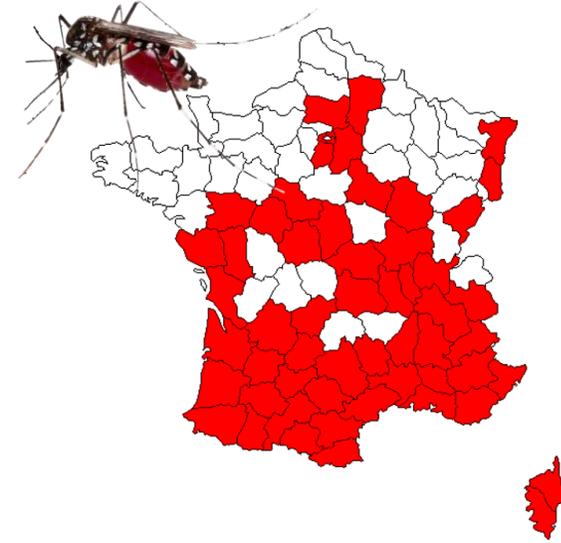
**Contexte du projet :** Lutte anti-vectorielle contre *Aedes albopictus* et autres vecteurs appartenant au genre *Aedes*

**Objectif :** Contribution au développement d'un larvicide à usage direct dans les gîtes larvaires

**Modèle :** AalDV2, *Aedes albopictus* densovirus 2

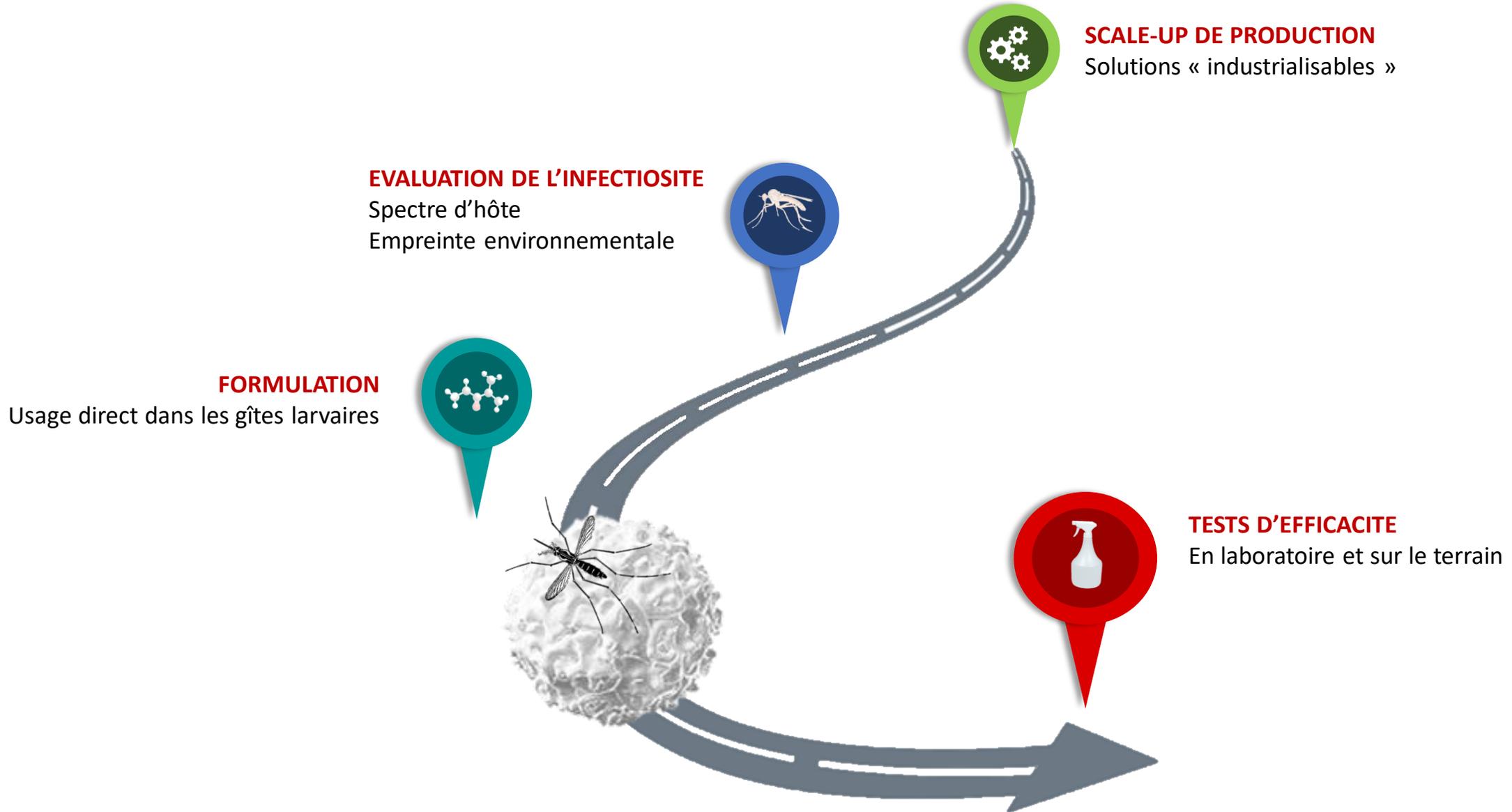
- Découvert dans les années 90 sur une lignée cellulaire C6/36 produisant chroniquement le virus (C6/36P).
- Infectieux pour *Ae. aegypti* (souche N'goyé).

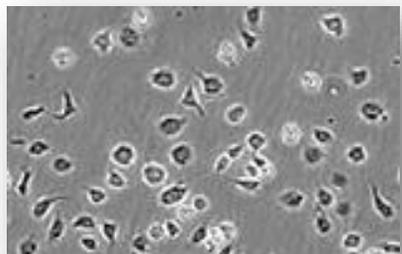
**Verrous technologiques :** production haut débit et formulation du larvicide



<https://solidarites-sante.gouv.fr>

# La stratégie scientifique : de la production des densovirus jusqu'à leur utilisation





## Densovirus d'*Aedes albopictus* 2, Aa1DV2

Production actuelle en culture cellulaire dans une lignée C6/36 chroniquement infectée (lignée C6/36P).

### Scale-up

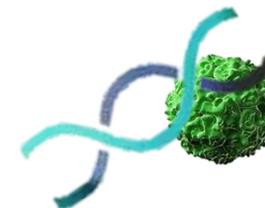
Stratégie 1 : Culture cellulaire

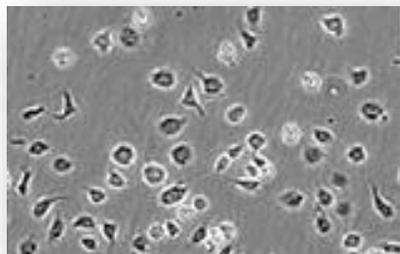


Stratégie 2 : *In vivo*, en larves



Stratégie 3 : Approche biotechnologique





## Densovirus d'Aedes albopictus 2, Aa1DV2

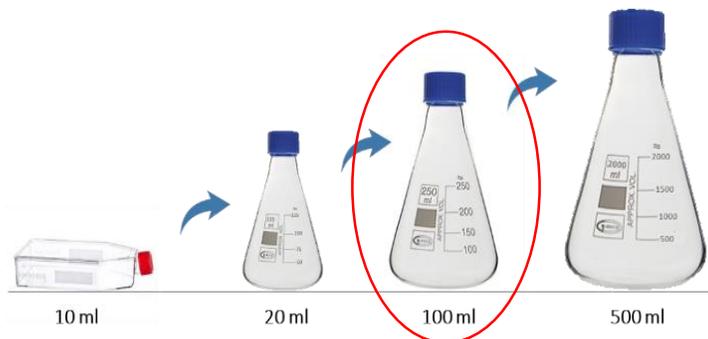
Production actuelle en culture cellulaire dans une lignée C6/36 chroniquement infectée (lignée C6/36P).

### Scale-up

#### Stratégie 1 : Culture cellulaire

Adaptation à une culture en suspension (augmentation des volumes)

Pré scale-up de production en expérimentation

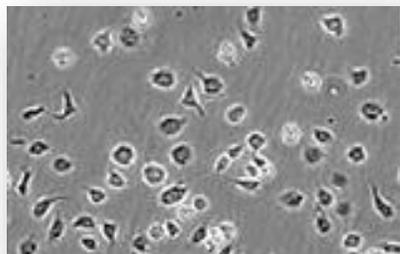


Projection à long terme



Culture à grande échelle en spinners, rollers ou fermenteurs (jusqu'à 2000L)

- Adaptation de la lignée cellulaire C6/36P à la culture en suspension ✓



## Densovirus d'Aedes albopictus 2, Aa1DV2

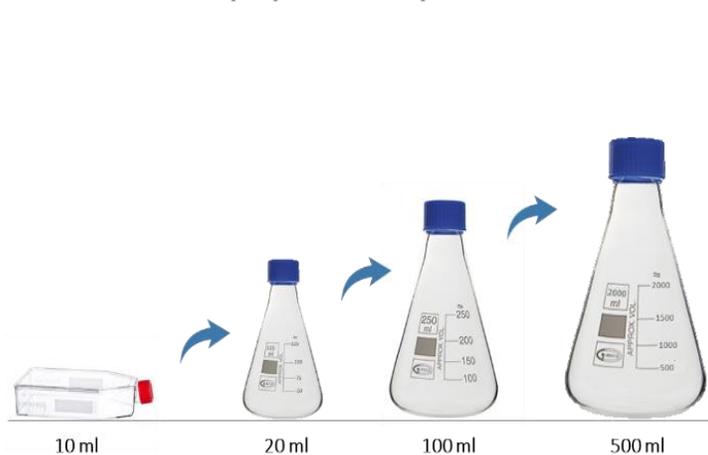
Production actuelle en culture cellulaire dans une lignée C6/36 chroniquement infectée (lignée C6/36P).

### Scale-up

#### Stratégie 1 : Culture cellulaire

Adaptation à une culture en suspension (augmentation des volumes)

Pré scale-up de production en expérimentation

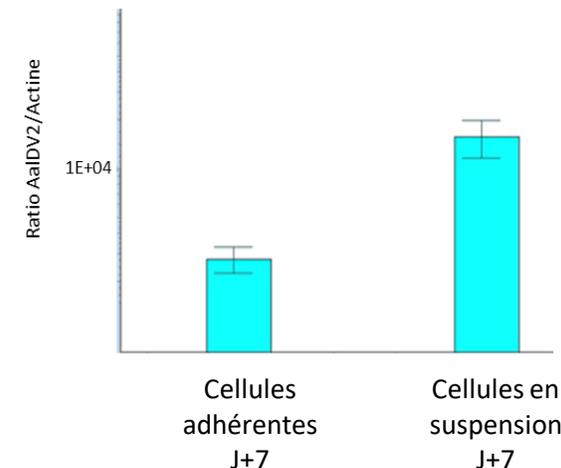


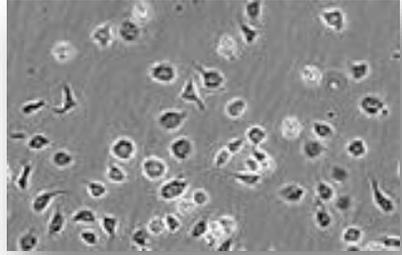
Projection à long terme



Culture à grande échelle en spinners, rollers ou fermenteurs (jusqu'à 2000L)

- Production des virus maintenue ✓





## Densovirus d'*Aedes albopictus* 2, Aa1DV2

Production actuelle en culture cellulaire dans une lignée C6/36 chroniquement infectée (lignée C6/36P).

**Scale-up**

## Stratégie 2 : Production en larves d'*Aedes sp.*

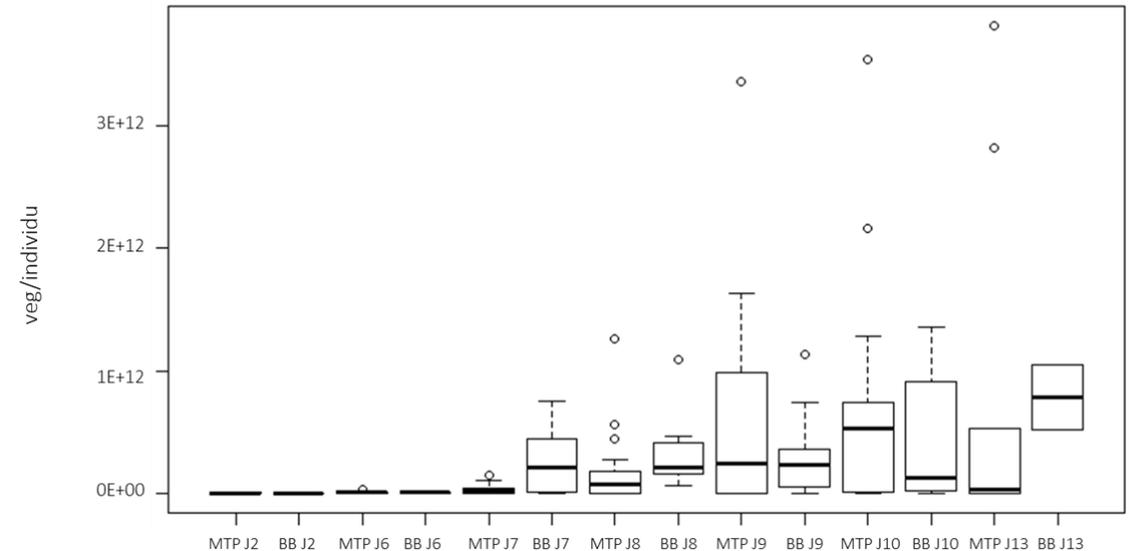
Infection *in vivo* de larves d'*Aedes sp.* et purification des virus

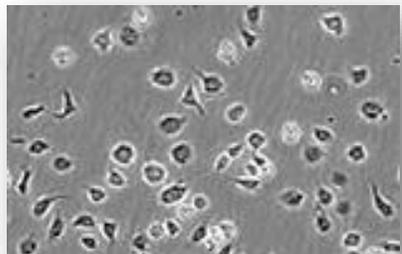


*Ae. albopictus* (Montpellier)

*Ae. aegypti* (Bora)

Charge virale observée de J2 à J13 post-infection chez *Aedes albopictus* (souche Montpellier, MTP) et *Ae. aegypti* (souche Bora, BB)





## Densovirus d'*Aedes albopictus* 2, Aa1DV2

Production actuelle en culture cellulaire dans une lignée C6/36 chroniquement infectée (lignée C6/36P).

Scale-up

## Stratégie 2 : Production en larves d'*Aedes sp.*

Infection *in vivo* de larves d'*Aedes sp.* et purification des virus

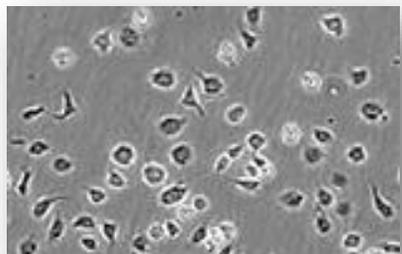


*Ae. albopictus* (Montpellier)

*Ae. aegypti* (Bora)



Production en bol de 150 larves



## Densovirus d'*Aedes albopictus* 2, Aa1DV2

Production actuelle en culture cellulaire dans une lignée C6/36 chroniquement infectée (lignée C6/36P).

Scale-up

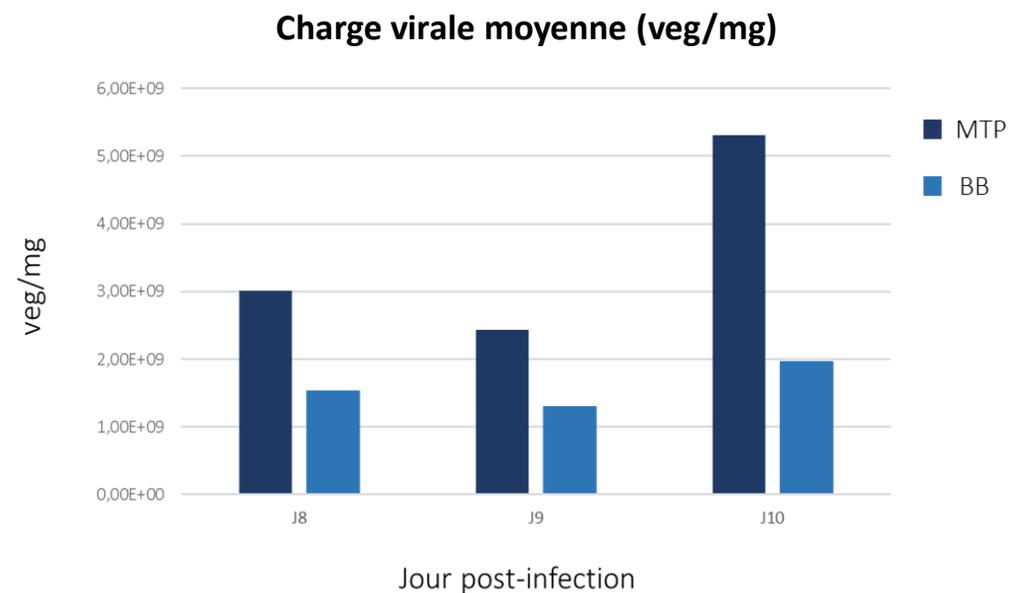
## Stratégie 2 : Production en larves d'*Aedes sp.*

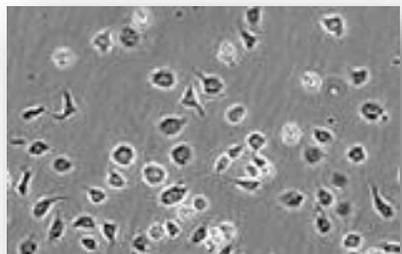
Infection *in vivo* de larves d'*Aedes sp.* et purification des virus



*Ae. albopictus* (Montpellier)

*Ae. aegypti* (Bora)





## Densovirus d'Aedes albopictus 2, Aa1DV2

Production actuelle en culture cellulaire dans une lignée C6/36 chroniquement infectée (lignée C6/36P).

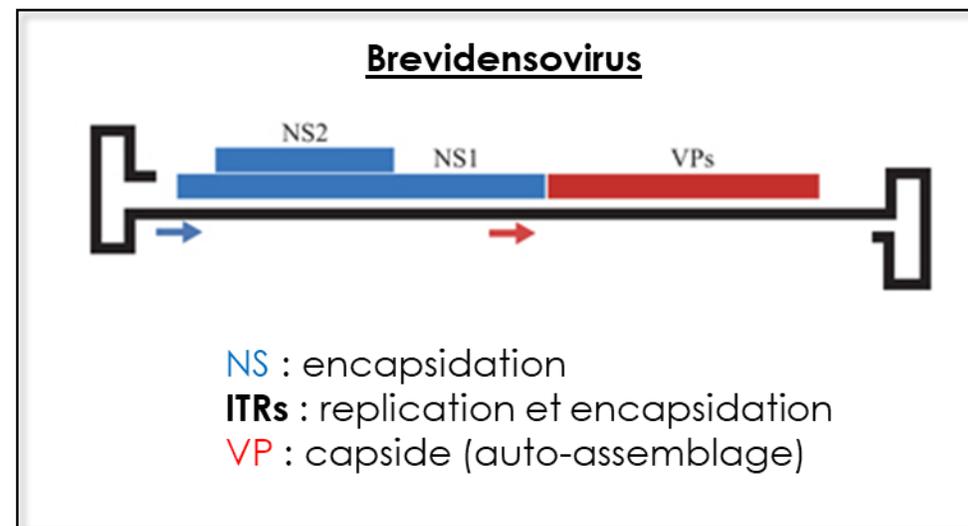
Scale-up

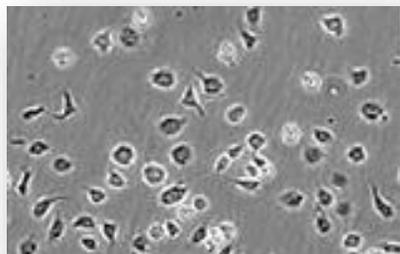
### Stratégie 3 : Approche biotechnologique

#### Production en système hétérologue

Système d'expression des protéines virales

- 1- Expression des protéines virales
- 2- Assemblage et encapsidation du génome viral





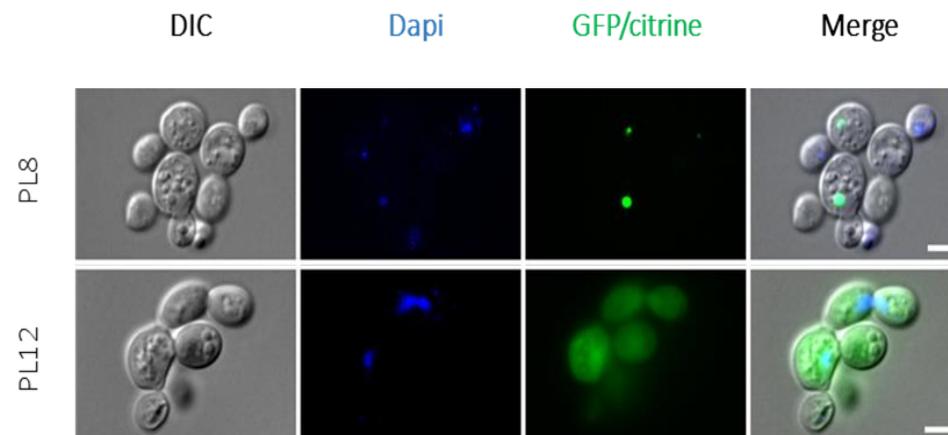
## Densovirus d'*Aedes albopictus* 2, Aa1DV2

Production actuelle en culture cellulaire dans une lignée C6/36 chroniquement infectée (lignée C6/36P).

Scale-up

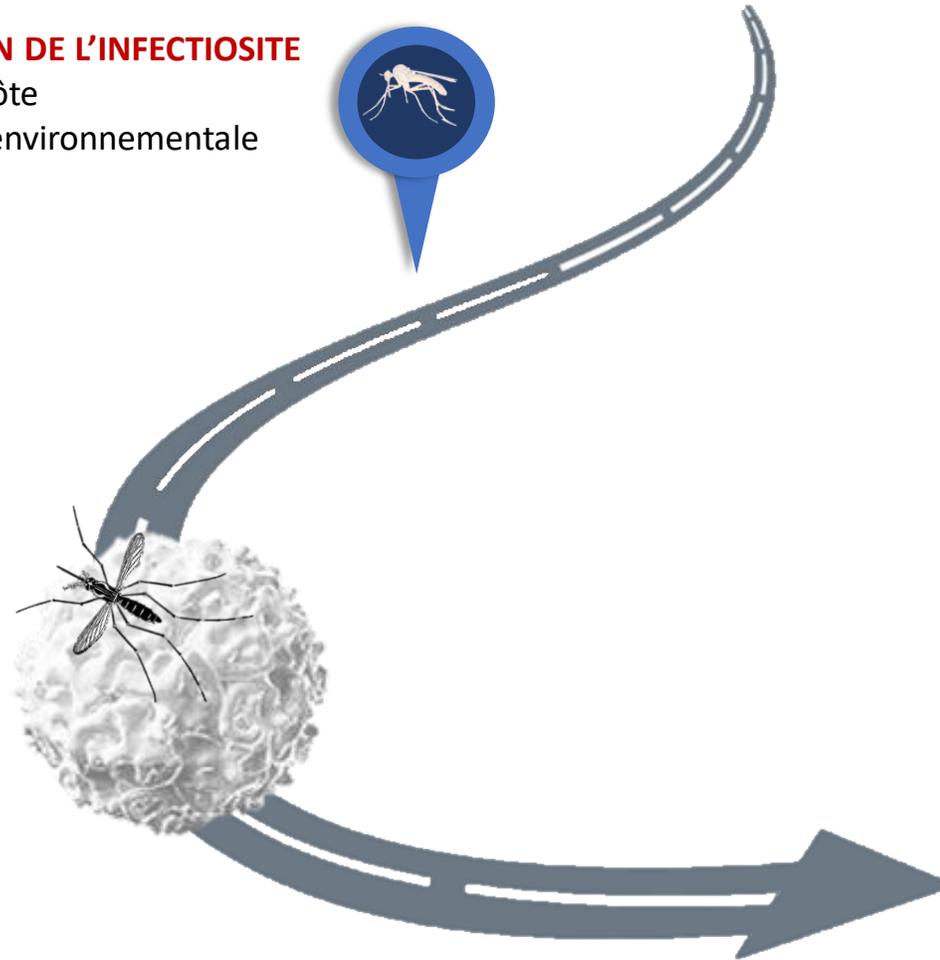
**Stratégie 3 : Approche biotechnologique**  
**Production en système hétérologue**  
Système d'expression des protéines virales

- 1- Expression des protéines virales
- 2- Assemblage et encapsidation du génome viral



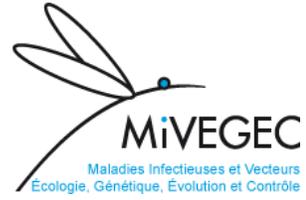
# La stratégie scientifique : de la production des densovirus jusqu'à leur utilisation

**EVALUATION DE L'INFECTIOSITE**  
Spectre d'hôte  
Empreinte environnementale

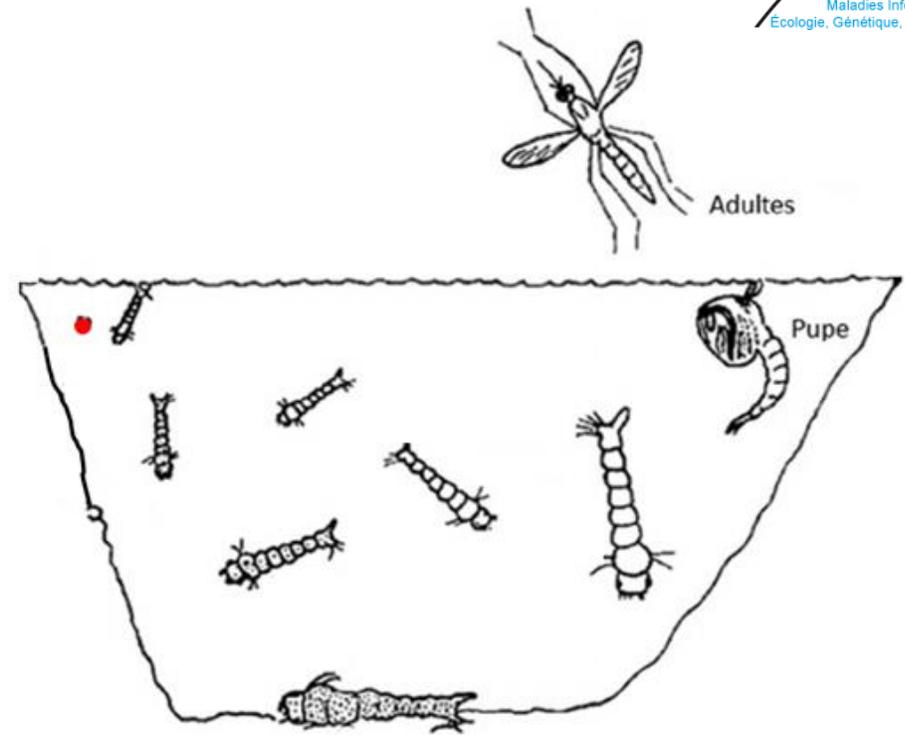




## Démonstration de l'activité larvicide sur *Aedes albopictus* et *Aedes aegypti*

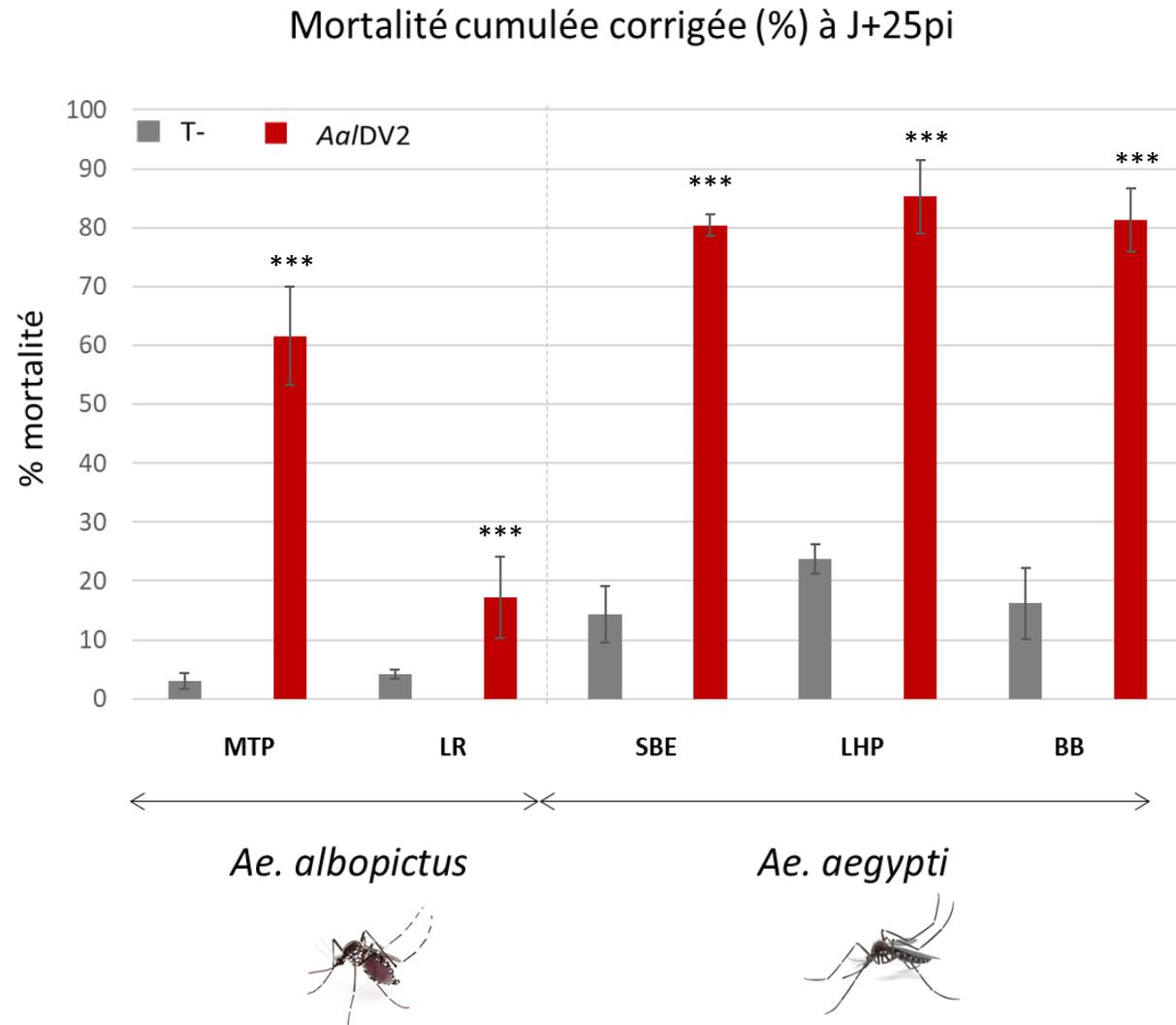


Species	Strains	Origin	Status
<i>Ae. aegypti</i>	BB	French Polynesia	Susceptible <sup>1</sup>
	SBE	Benin	Susceptible <sup>1</sup>
	LHP	Vietnam	Resistant <sup>2</sup> ( <i>kdr</i> )
<i>Ae. albopictus</i>	MTP	France	Susceptible <sup>1</sup>
	LR	Overseas France	Resistant <sup>2*</sup>



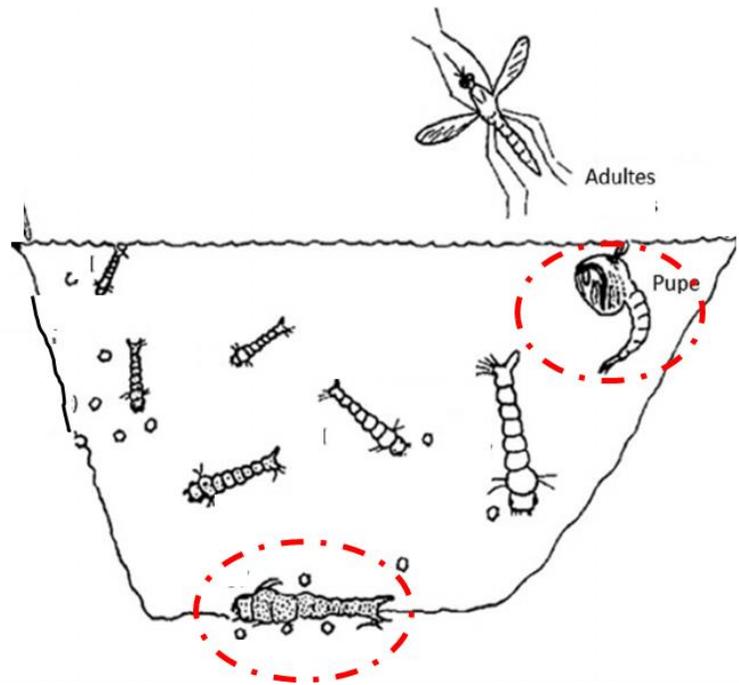


- *Aa*DV2 pathogène pour *Ae. aegypti* et *Ae. albopictus*
- Variabilité interspécifique
- Variabilité intraspécifique
- Mortalité à tout les stades de développement



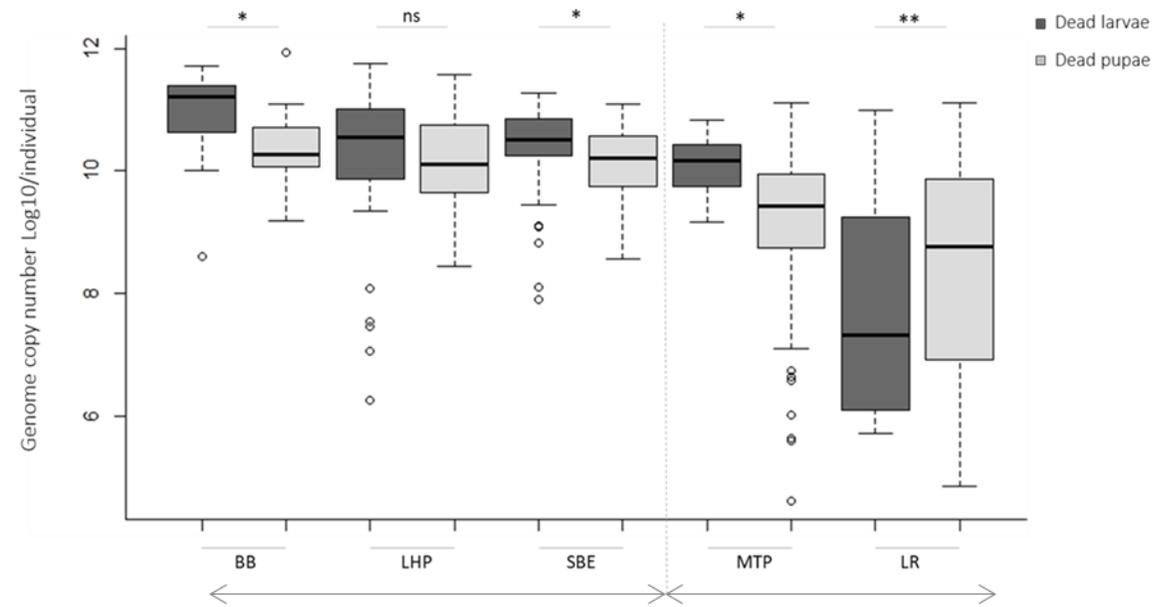


# Evaluation de l'infectiosité



- 100% de la mortalité est liée à l'infection

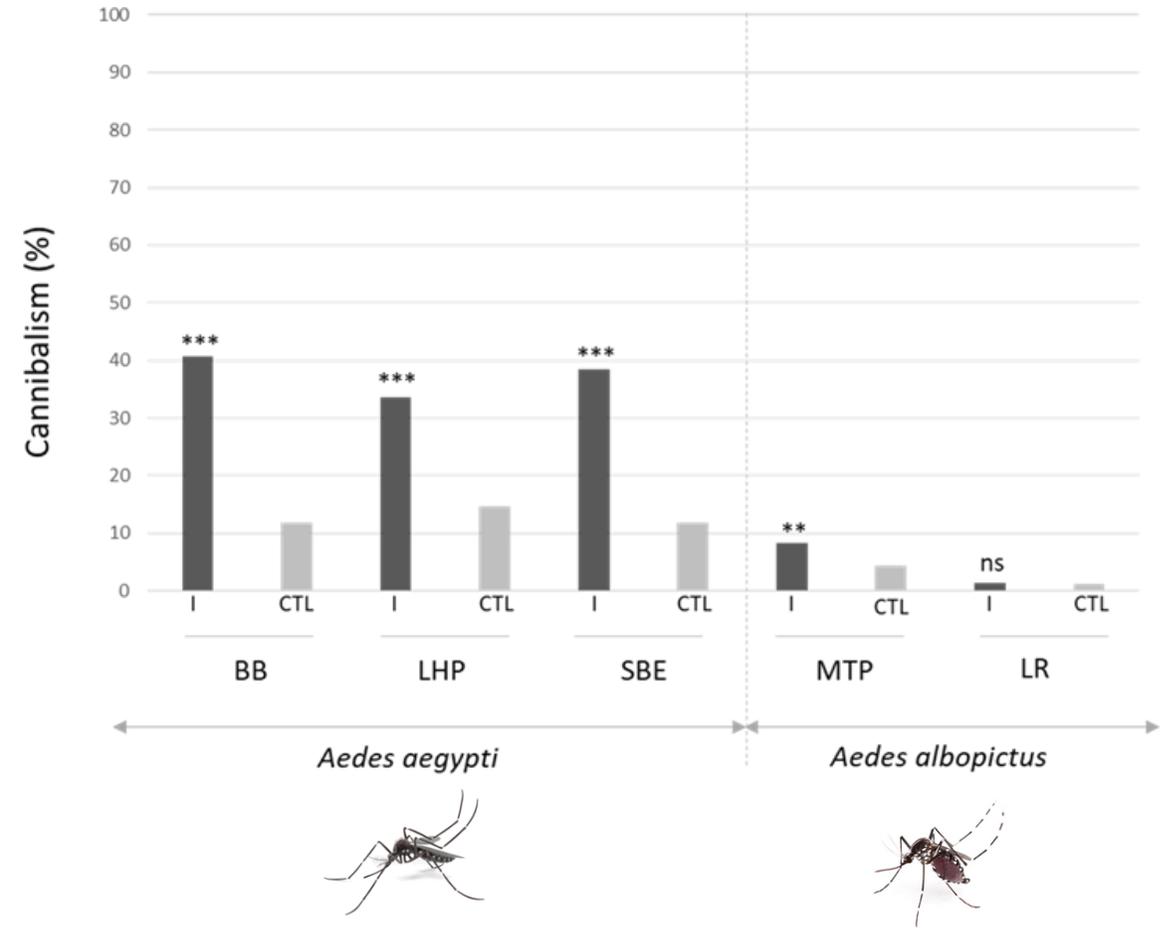
Charge virale individuelle chez les larves et pupes mortes de l'infection





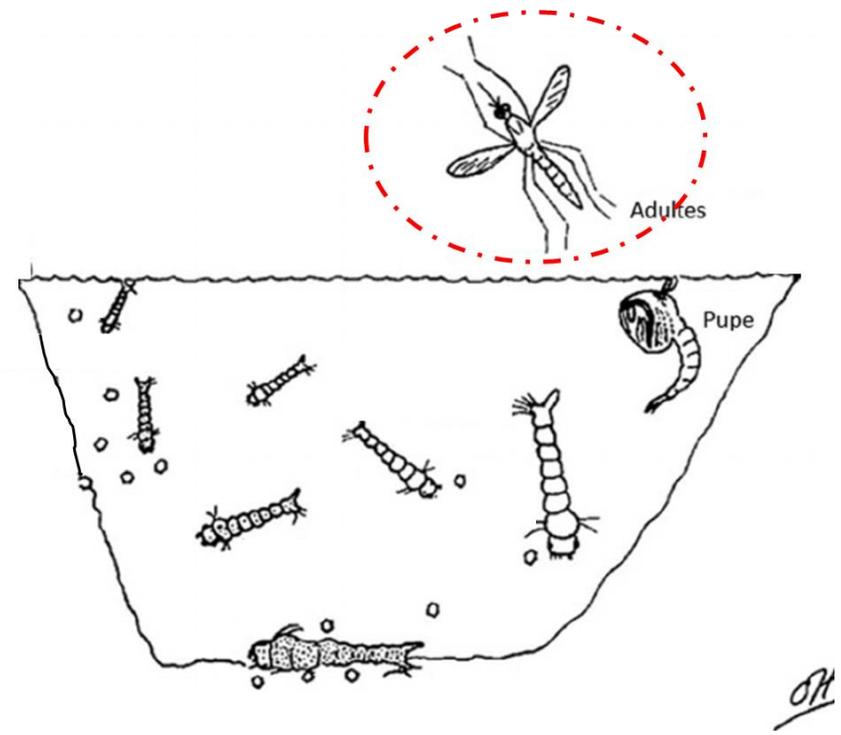
## Beaucoup de perte par cannibalisme ou nécrophagie

- Peut favoriser la transmission horizontale du virus dans les gîtes de reproduction





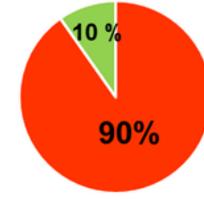
## Taux de contamination des adultes vivants émergés



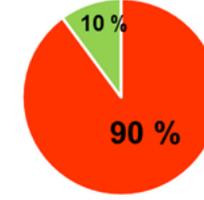
■ Non infectés  
■ Infectés



*Ae. albopictus*



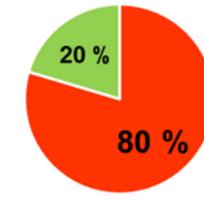
LR



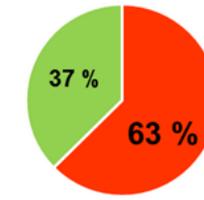
MTP



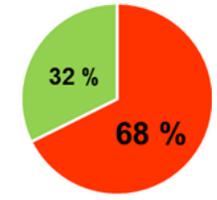
*Ae. aegypti*



BB



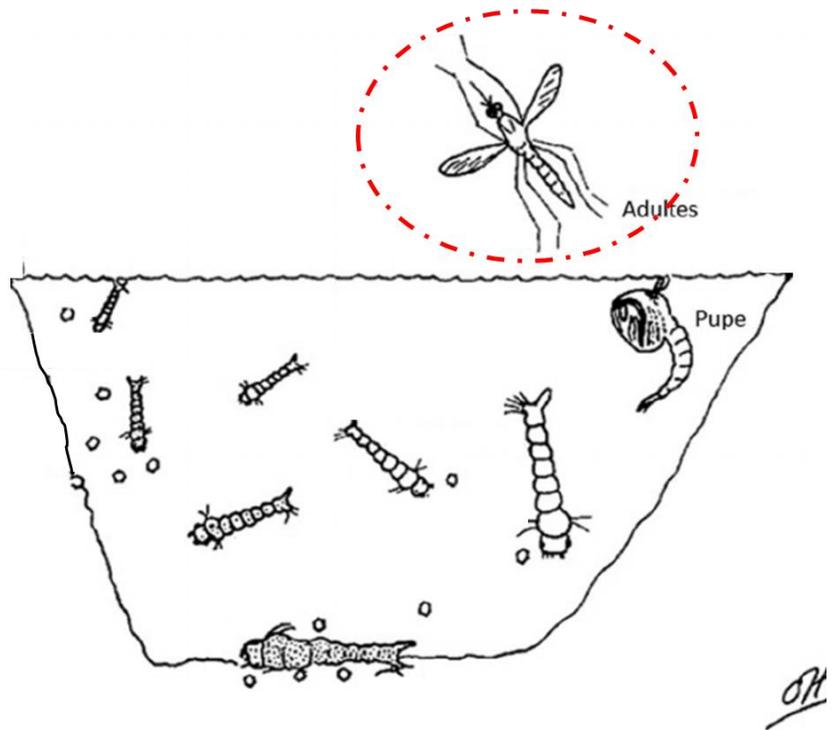
SBE



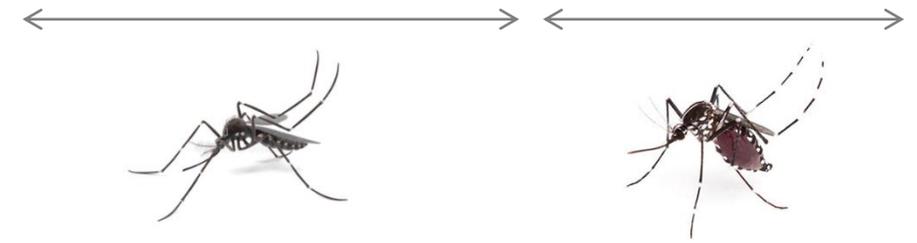
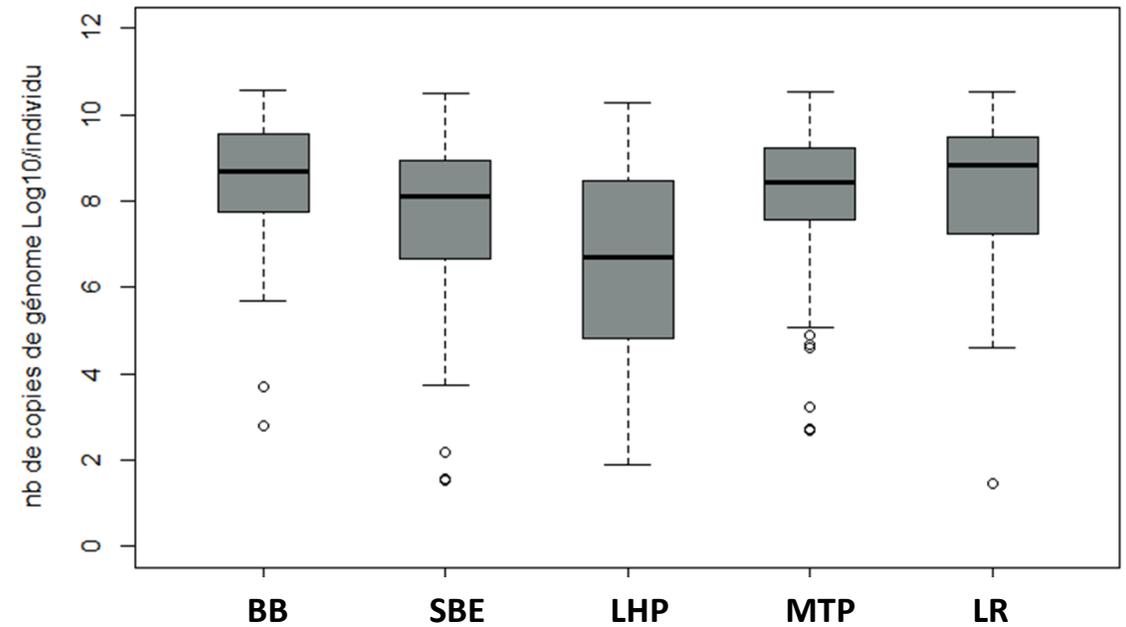
LHP



## Des charges virales relativement élevées

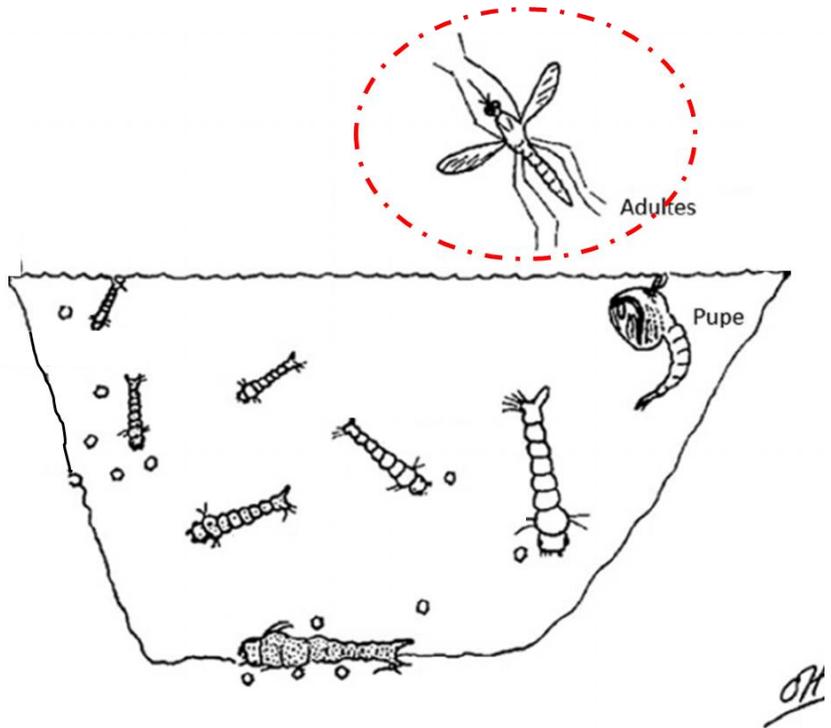


Charge virale individuelle chez les adultes vivants émergés





## Biais du sex-ratio



**Tab.2** – Sex ratio (female number / male number) in control and infected groups for each strains of *Ae. aegypti* (LHP, SBE, BB) and *Ae. albopictus* (MTP, LR).

		Female	Male	sex-ratio F/M	$\chi^2$ , df=1, p-value
LHP <sup>1</sup>	Control	117	141	0.83	
	Infected	21	14	1.5	2.65, p=0,10
SBE <sup>1</sup>	Control	135	134	1.01	
	Infected	73	43	1.70	5.30, p<0.05
BB <sup>1</sup>	Control	111	138	0.80	
	Infected	38	14	2.71	13.98, p<0.001
MTP <sup>2</sup>	Control	111	115	0.97	
	Infected	32	31	1.03	0.05, p=0.81
LR <sup>2</sup>	Control	154	144	1.07	
	Infected	128	124	1.03	0.04, p=0,83

1: *Aedes aegypti*; 2: *Aedes albopictus*



# Evaluation de l'infectiosité : spectre d'hôte et empreinte environnementale

Sous-ordre :

*Nematocera*

Famille :

*Culicidae*

*Chironomidae*



*Chironomus riparus*

Sous-famille :

*Anophelinae*

*Culicinae*

Tribu :

*Aedini*

*Culicini*

*Toxorhynchitini*

Genre :

*Anopheles*

*Aedes*

*Ochlerotatus*

*Culex*

*Toxorhynchites*



*Anopheles gambiae*



*Aedes albopictus*  
*Aedes aegypti*



*Ochlerotatus caspius*  
*Ochlerotatus detritus*

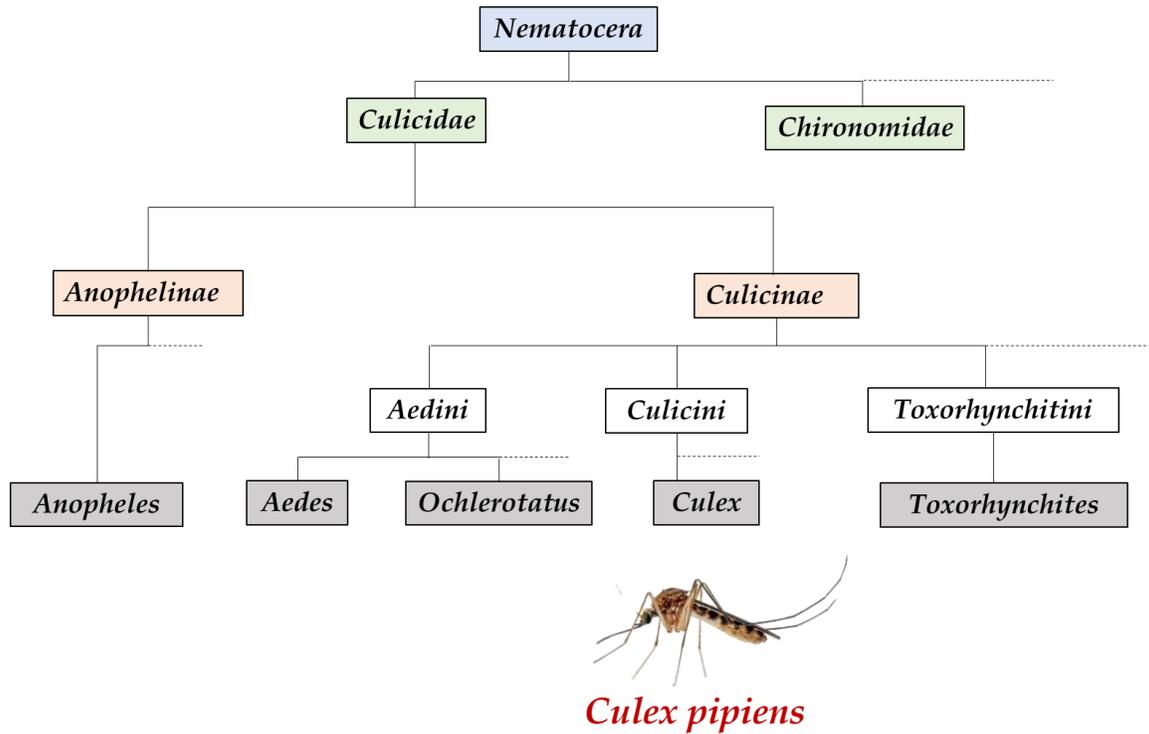


*Culex pipiens*





# Evaluation de l'infectiosité : spectre d'hôte et empreinte environnementale



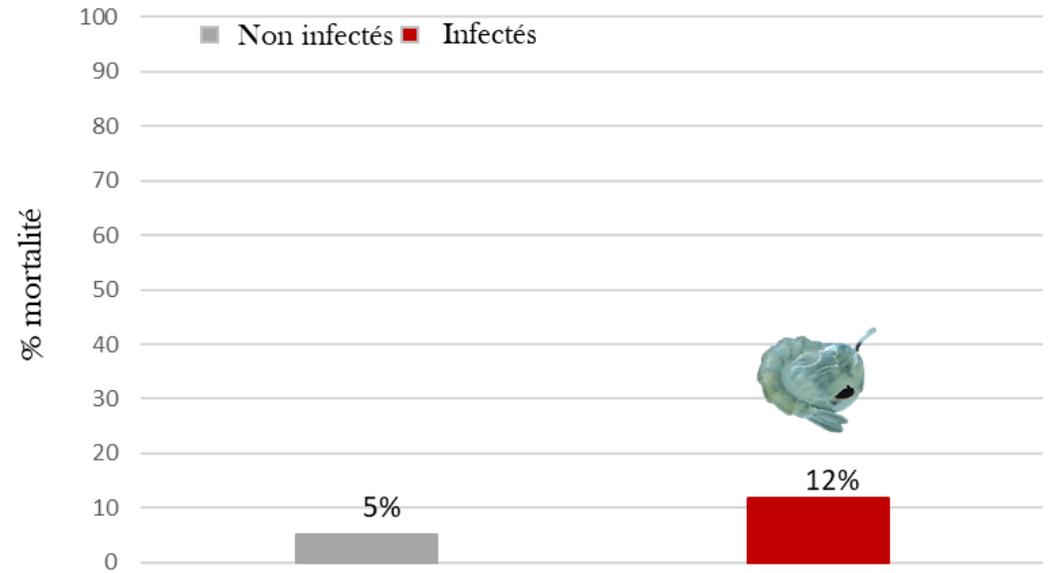
## *Culex pipiens quinquefasciatus* (souche S-Lab)

Forme tropicale et subtropicale de *Culex pipiens*

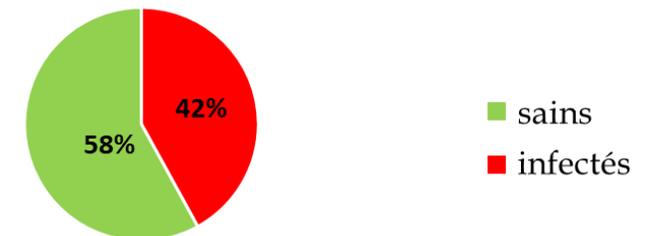
Moustique anthropophile présent dans les zones urbaines

Vecteur du virus de la West Nile

Mortalité cumulée corrigée (%) à J+12 pi (dose 10<sup>e</sup>10 veg/larves)

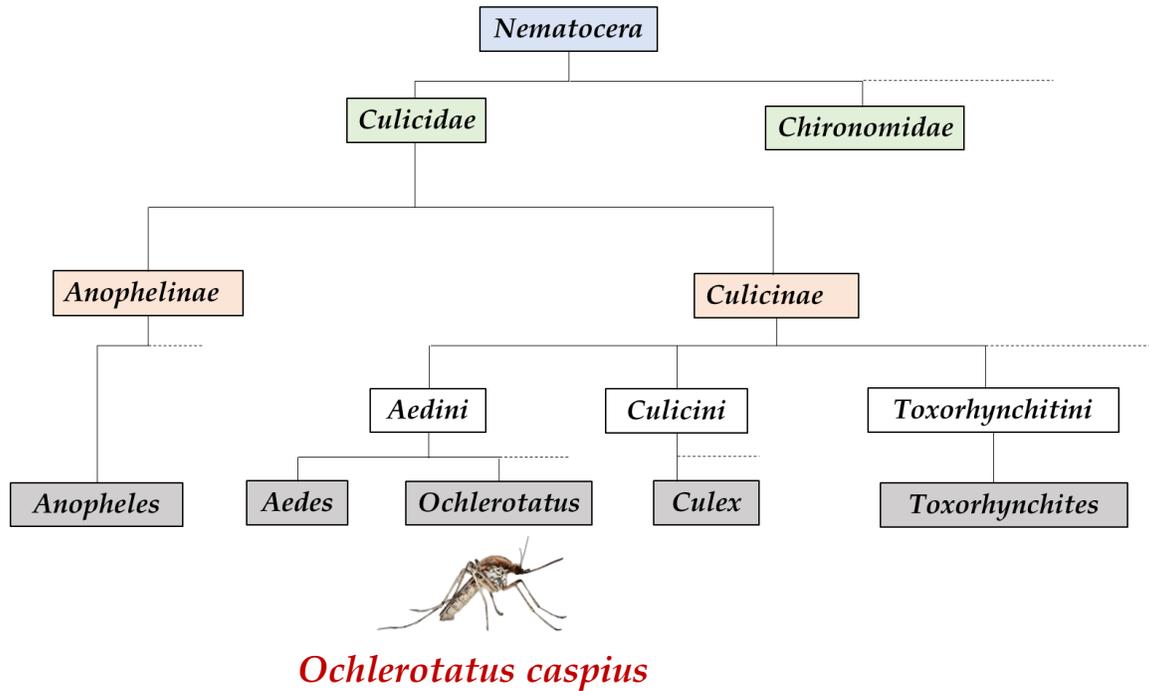


Proportion d'individus vivants infectés par AalDV2

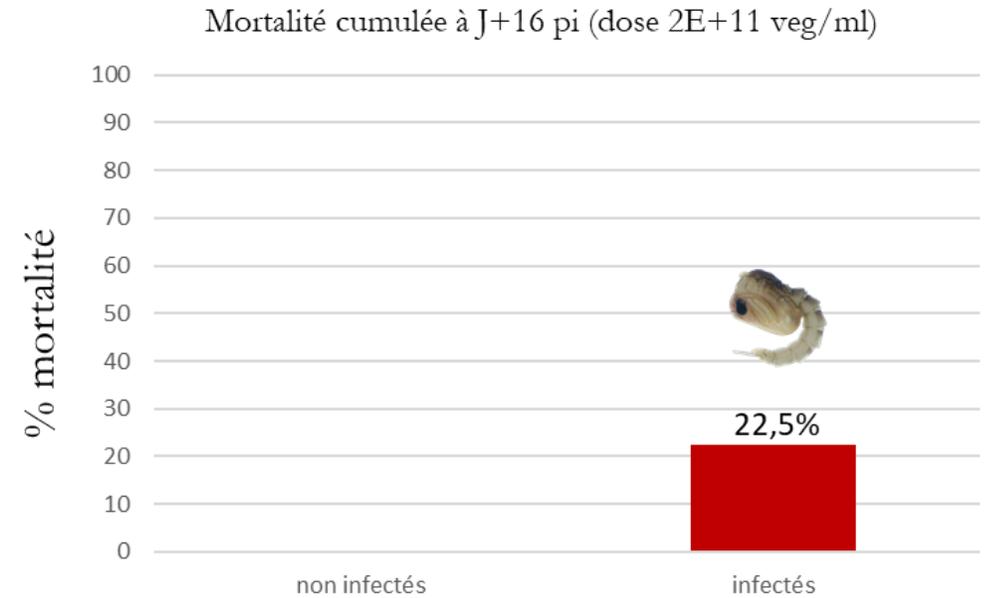




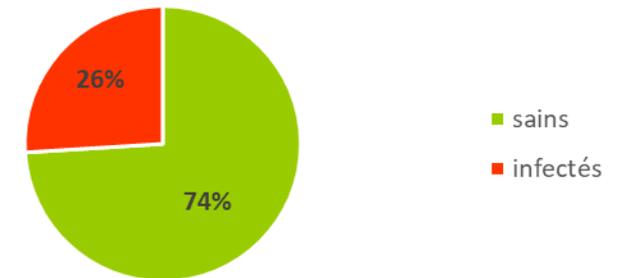
# Evaluation de l'infectiosité : spectre d'hôte et empreinte environnementale



Espèce présente sur le littoral (zones humides)  
Souche de terrain (Fréjorgues)



Proportion d'individus vivants infectés par AalDV2

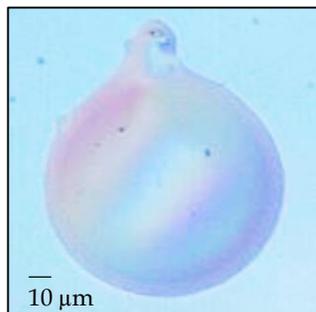


# La stratégie scientifique : de la production des densovirus jusqu'à leur utilisation

## FORMULATION

Usage direct dans les gîtes larvaires





Formulation des densovirus à l'aide d'un matériau biodégradable et bioassimilable

*Brevet en cours de dépôt*

**Démonstration de la conservation des propriétés biologiques sur deux modèles :**

- JcDV, *Junonia coenia* densovirus sur *Spodoptera frugiperda*, un ravageur de culture



**Plateforme Insecte de  
Quarantaine  
(PIQ)**

- AalDV2, sur *Aedes albopictus*



**Vectopôle**

# La stratégie scientifique : de la production des densovirus jusqu'à leur utilisation



## TESTS D'EFFICACITE

En laboratoire et sur le terrain



## A venir...



**Vectopôle**

Tests d'efficacité en laboratoire sur la souche Montpellier d'*Aedes albopictus*



Tests d'efficacité en conditions semi-field ou en cages avec une souche du terrain



# BiVirAl



Fabrice Chandre  
Marie Rossignol  
Bethsabée Scheid (Vectopôle)  
Carole Ginibre



Jeremy Bouyer  
Thierry Baldet



Virginie Galéoté  
Thérèse Marlin  
Charline Mathiot (M2)



Mylène Ogliastro  
Anne Sophie Gosselin  
Noun Ibrahim mgady Fouad (M1)  
Magali Eychenne (PIQ)



Christophe Lagneau  
Charles Jeannin  
Jean-Baptiste Ferré



David Cornu  
Julien Cambedouzou