الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

**REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE**

**Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique**

**Université Yahia Fares- Médéa**

**Faculté des sciences**

**Département des sciences de la nature et de la vie**





**Polycopié de cours de :**

# VIROLOGIE GENERALE


**Présenté par:** Mohamed el Amine Bennadji


Novembre 2023

## AVANT-PROPOS

Ce polycopié de cours s'adresse aux étudiants de Master I en microbiologie appliquée du département des Sciences de la Nature et de la Vie, Faculté des Sciences de l'université Yahia Fares de Médéa.

Le but de ce document pédagogique est de permettre aux étudiants de Master I en microbiologie appliquée d'acquérir certaines notions fondamentales en virologie. Ce polycopie va leur servir comme point de départ pour étendre et approfondir leurs connaissances dans cette discipline scientifique.

Ce polycopié s'articule sur cinq (05) chapitres :

- Le premier chapitre comporte des généralités sur les virus avec des notions de base, mise en lumière de la diversité du monde viral.
- Le deuxième chapitre est consacré à la multiplication des virus et leur classification en fonction de leur mode de multiplication en donnant des exemples de plusieurs virus.
- Le troisième chapitre expose les différentes interactions qui peuvent exister entre les virus et entre les virus et les cellules ainsi que les mécanismes de défense de cellules à l'infection virales et la riposte virales.
- Le quatrième chapitre est consacré à la lutte contre les infections virales à l'aide de sérothérapie, la vaccination et la chimiothérapie.
- Le cinquième chapitre consacré à l'épidémiologie des malades virales traite le mode de propagation et d'évolution de l'infection virale.

Ce polycopié est une synthèse des cours de virologie tirée de différents ouvrages et le fruit d'un effort intrinsèque émanant de mon expérience propre en tant qu'enseignant de cours de virologie.

**Table des Matières**


**Chapitre I : Généralités**…….. 1

1.1. Historique……. 1

1.2. Définition des virus……. 2

1.3. Structure des virions……. 3

1.4. Classification des virus……..……..... 12

**Chapitre II : Multiplication des virus**…… 16

II.1. Cycle de Multiplication viral……... 16

II.2. Exemple de réplication de génomes viraux……..…….. 25

II.3. Multiplication des bactériophages…….. 33

**Chapitre III : Intéractions entre virus et cellulues**…….…….. 42

III.1. Intéractions virus/virus …… 42

III.2. Intéractions virus/cellules…… ;…… 45

III.2.1. Mécanismes de défense des cellules…….. 48

III.2.2. Contre mesures virales……... 57

**Chapitre IV : Diagnostic viral**……. 59

IV. 1. Recherche de Virus et de ses constituants…….. 60

IV.1-2. Les techniques de détection de virus et des constituants……. 61

IV.2. Recherche des anticorps, Sérologies Virales……. 63

**Chapitre V : Epidémiologie des maladies virales**……...…….…… 65

V.1.. Propagation des virus dans l'organisme…….……...… 65

V.2. Voies d'excrétion des virus…….…….. 71

V.3.. Manifestation cliniques liées aux infections virales……...…… 72

**Chapitre VI : Lutte contre les infections virales**…….. 76

VI.1. Immunothérapie passive……...…… 76

VI.2. Immunothérapie active ……. 76

VI.3. Chimiothérapie antivirale…… 78

# Références bibliographiques

**Baltimore D. (1970).** RNA-dependent DNA polymerase in virions of RNA tumour viruses. Nature, 226 :1209-11.

**Fenner F, Henderson DA, Arita I, Ježek Z, Ladnyi ID.** Small-pox and its eradication, World Health Organization, geneva, 1988, pp 1460.

**Nigel J. Dimmock, abdrew J. easton, Keith n. leppard,** Introduction to Modern Virology, sixth edition, Blackwell Publishing, 2007.

**Huraux J.-M., nicolas J.-C., agut H., Peigue-lafeuille H. (ed) 2003,** Traité de Virologie Médicale, estem De Boeck Diffusion, Paris, France. (uCl-bibliothèque de Médecine).

**Jean-Marie Huraux (2007).** Virologie.Université Pierre et Marie Curie. 307 pages.

**Pasteur l, Chamberland C, roux e. (1884).** Physiologie expérimentale : nouvelle communication sur la rage. C.R. Acad. Sci.98 : 457-63.

**Pierre Aubry. (2013)**. Maladie de Kaposi. Revue de médecine tropicale.P 1-4**.**

**Rous P. (1911).** A sarcoma of the fowl transmissible by an agent separable from tumor cells. J Exp Med, 13:397-9.

**Temin HM, Mitzutani s. (1970).** RNA-dependant DNA polymerase in virions of Rous sarcoma virus. Nature, 226 : 1211-1213.

**Urs Karrera, David Nadalb.** Virus d'Epstein-Barr et mononucléose infectieuse. Forum Med Suisse 2014;14(11):226–232.

**Watson JD. The double helix.** a personal account of the discovery of the structure of Dna, new american library, new-York, 1968.

**http://www.iums.org/comcofs/comcofs-virology.html,**

**http://www.mcb.uct.ac.za/ictv/ICtv.html,**

**http://www.danforthcenter.org/iltab/ictvnet/asp/_MainPage.asp**

**http://www.ncbi.nlm.nih.gov/ICtvdb/**

# Chapitre I : Généralités

" *A virus is a bad news surrounded by proteins* "

(*P.Medawar, prix Nobel, 1960*)

## 1. Historique :

Avant 1884 : Pasteur (rage), Ivanowsky (mosaïque du tabac) et Loeffler et Frosch (fièvre aphteuse) : étude de certaines maladies virales.

1884 : C. Chamberland : mise au point du filtre bactérien avec bougie à porcelaine.

1885 : L. Pasteur : première vaccination humaine (vaccination antirabique à Joseph Meister).

1892 : D. Ivanovsky : expériences indiquant un agent ultrafiltrable dans la mosaïque du tabac.

1898 : M. Beijerinck : confirmation et interprétation de l'agent ultrafiltrable.

1898 : F. Loeffer et P. Frosh : agent de la fièvre aphteuse du bétail est ultrafiltrable.

1901 : W. Reed, J. Carroll, J. Lazear : découverte du premier virus humain (fièvre jaune).

1908 : W. Ellerman et O. Bang : leucémie transmise par un agent ultrafiltrable (fowl leukosis).

1911 : P. Rous : description de la première tumeur solide causée par un virus (sarcoma du poulet).

1915 : F. Twort : découverte des virus des bactéries.

1921 : F d'Hérelle : nomme «bactériophages» les virus de *Shigella dysenteriae*.

1935 : W.M. Stanley : cristallisation du virus de la mosaïque du tabac.

1939 : G. Kausche, P. Ankuch, H. Ruska : Après invention du microscope électronique, visualisation directe de virus (mosaïque du tabac).

1948 et suivantes : mise au point des techniques de culture cellulaire.

1953 : A. Lwoff : définition des virus.

1955 : R. Franklin : description de la structure hélicoïdale du virus de la mosaïque du tabac et de l'association ARN-capside.

1970 : H. Temin et D. Baltimore : décrivent indépendamment la transcriptase inverse (reverse transcriptase) et reçoivent le prix Nobel en 1975.

1979 : Certifcation de l'éradication mondiale de la variole par la vaccination.

1983 : F. Barré-Sinoussi, Montagnier et collaborateurs : découverte du VIH

2003 : D. Raoult : découverte des *Mimivirus.*

Actuellement, de nouveaux virus continuent à être découverts, plus de 6000 espèces virales sont identifiées, mais probablement beaucoup plus sont encore à découvrir.

## 2. Définition des virus :

Les virus sont de petites particules biologiques de 20 à 300 nm de diamètre dont la structure résulte de l'assemblage de deux ou trois éléments : un seul type d'acide nucléique ; une capside et parfois une enveloppe. Il s'agit de parasites cellulaires obligatoires qui ne peuvent pas fabriquer des ribosomes ni générer de l'ATP. On appelle virion la particule virale mature, infectieuse et extracellulaire.

En 1953, A. Lwoff a défini le concept de virion : C'est une particule virale mature et infectieuse libre dans le milieu extérieur, phase ultime de la biosynthèse des virus.

Un virion a 4 caractères essentiels :

1- Le virion possède un seul type d'acide nucléique qui peut être soit de L'ADN, soit de l'ARN. Les deux molécules ne coexistent jamais dans la particule virale, ce qui oppose les

virus aux autres formes vivantes connues jusqu'à ce jour. L'acide nucléique viral porte l'intégralité de l'information génétique du virus et constitue ce que l'on appelle le génome viral.

2- Le virion se reproduit uniquement à partir de son matériel génétique par réplication de son génome. Il n'existe pas de scissiparité comme chez les bactéries et il n'y a pas de mitose comme dans les cellules eucaryotes.

3- Les virus sont doués d'un parasitisme intracellulaire obligatoire. Ils ne peuvent se reproduire qu'au sein d'une cellule hôte vivante. Du fait d'un parasitisme intracellulaire absolu le virus ne possède aucun système enzymatique ou énergétique lui permettant d'assurer sa propre auto-réplication. Il est donc amené à détourner et à utiliser pour sa propre biosynthèse l'ensemble des macromolécules de la cellule qu'il parasite (ribosome, ARNt, activité enzymatique, système de régulation).

4- le virion présente une structure particulaire qui l'oppose aux être vivants à structure cellulaire procaryote (les bactéries) ou eucaryote. L'agencement des principaux constituants de la particule permet de reconnaître aux virions un type de symétrie caractéristique (par exemple, symétrie hélicoïdale ou symétrie cubique).

## 3. Structure des virions :

Le virus est composé de deux éléments constants : un génome et une capside, l’ensemble constitue la nucléocapside. La particule virale peut posséder une membrane (enveloppe ou peplos).

**3.1. Génome viral :**

Un virus comporte toujours un génome qui est de l'ADN ou de l'ARN, de faible capacité codante. Ce génome peut être monocaténaire ou bicaténaire. Chez les gros virus, le génome peut être associé à une ou plusieurs protéines. L'ensemble génome + protéine forme un nucléoïde ou "core".

**3.1.1. Génomes à ADN :**

Les ADN des virus animaux sont, le plus souvent, bicaténaires et linéaires, présentent pour la plupart une structure tridimensionnelle classique appelée en double hélice (double chaîne désoxyribonucléotidique, complémentaire et anti-parallèle).

Les exceptions suivantes doivent cependant être notées :

- le génome des *Parvoviridae* est monocaténaire, apparaissant dans les virus sous deux aspects moléculaires complémentaires capable de s'hybrider in vitro.
- le génome bicaténaire du virus de l'Hépatite B est circulaire.
- le génome des *Papovaviridae* , bicaténaire circulaire.

La masse moléculaire des ADN viraux s'étale sur une large échelle allant de 1 à 180 $x10^6$ dalton :

- les plus petits génomes (*Parvoviridae*, virus de l'Hépatite B) ont une masse moléculaire voisine de 1,1 x $10^6$ dalton.
- $3\times10^6$ daltons: *Papovaviridae* ( virus BK et JC; v des papillomes).
- 160 à $180\times10^6$ daltons: *Poxviridae* ( virus de la variole).

Les taux de mutation dans le cas des virus à ADN sont donc extrêmement faibles (de $1/10^8$ à $1/10^9$), puisque elles utilisent l'ADN polymérase cellulaire.

### 3.1.2. Génomes à ARN :

Généralement monocaténaire et linéaire sauf dans le cas des *Reoviridae* (bicaténaire). Le génome des *Reovirus* et des virus grippaux est constitué de plusieurs fragments reliés par des liaisons non covalentes.

Les fréquences de mutation des virus à ARN sont élevées (de $1/10^3$ à $1/10^4$), comme les ARN polymérases cellulaires, les ARN polymérases virales n'ont pas de fonction de relecture.

Leur poids moléculaire est moins variant :

- $2\times10^6$ daltons: *Picornaviridae* (poliovirus, virus du rhume). *Papovaviridae* (virus des papillomes).
- $15\times10^6$ daltons: *Reoviridae*.

**Tableau 1 :** Diversité des génomes viraux.

| Virus à ADN | Virus à ARN |
|---|---|
| ADN bicaténaire (le plus souvent) | ARN monocaténaire (le plus souvent) |
| soit ADN linéaire | soit ARN linéaire |
| soit ADN circulaire | soit ARN segmenté |
| ADN partiellement bicaténaire et circulaire (rarement) | ARN bicaténaire segmenté (rarement) |
| ADN monocaténaire (rarement) | |

## 3.2. Capside :

Le génome est emballé dans une structure protéique appelée capside. Elle a une conformation géométrique qui, selon les virus est, soit tubulaire, soit polyédrique. On appelle nucléocapside la structure compacte formée par l'assemblage de la capside autour du génome.
La capside se forme le plus souvent par un processus d'auto-assemblage. Les éléments assemblés sont retenus dans leurs positions par des forces d'attraction moléculaire. L'auto-assemblage implique un arrangement symétrique. Selon la symétrie engendrée par l'agencement des protéines de la capside autour de l'acide nucléique, on distingue plusieurs types de virus :

### 3.2.1. Virus à symétrie hélicoïdale (tubulaire) :

La capside de ces virus est directement constituée par l'assemblage de sous-unités identiques. Ces sous-unités ont une conformation telle qu'elles s'assemblent automatiquement entre elles pour former des disques constitués par une double couche d'unités de structure. Chaque sous-unité a une forme particulière qui ménage une rigole au sein de laquelle l'acide nucléique va pouvoir se loger. Au centre des disques se trouve un site de reconnaissance d'un segment particulier de l'ARN génomique qui permet l'initiation de l'auto-assemblage de la capside.
La nucléocapside forme un cylindre creux dont l'acide nucléique est caractéristique du virus étudié.
L'exemple le plus classique est celui du virus de la mosaïque du tabac. Le virus à la morphologie de bâtonnets allongés rigides. Il s'agit en fait d'un cylindre creux de 300 nanomètres de long et 18 nanomètres de diamètre délimitant un canal central de 4 nanomètres

de diamètre. L'acide nucléique est un ARN linéaire monocaténaire qui s'enroule dans l'espace selon une spirale. La capside est constituée de 2 200 unités de structure protéiques toutes identiques. Chaque sous-unité est formée d'une protéine unique.

De nombreux virus animaux (*Orthomyxoviridae*: grippe; *Paramyxoviridae*: rougeole) sont à symétrie hélicoïdale mais la structure n'est pas rigide, ils s'enroulent donnant une forme sphérique.

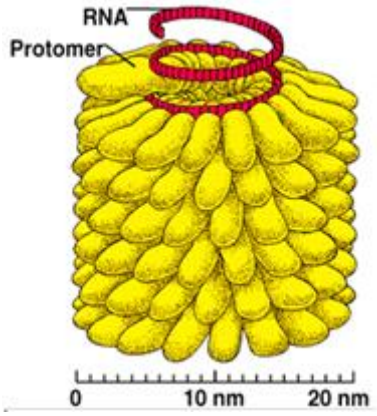



**Figure 1 :** Virus de la mosaïque du tabac

### 3.2.2. Virus à symétrie icosaédrique (cubique) :

La caractéristique essentielle des virus à symétrie cubique est que les unités de structure protéique se groupent en unités. Ces unités morphologiques, qui prennent le nom de capsomères peuvent être constituées de : 2 unités de structure : bimère ; 3 unités de structure : trimère ; 5 unités de structure : quintamère ou penton ; 6 unités de structure : hexamère ou hexon.

La plupart des virus sphériques révèlent en fait un contour hexagonal. Une observation plus fine révèle que ces capsides, quasiment sphériques, sont des icosaèdres.

L'icosaèdre est un polyèdre obtenu par l'assemblage de 20 triangles équilatéraux. L'icosaèdre possède : 12 sommets, 20 faces et 30 arêtes. À chacun des sommets on trouve 5 versants : on doit donc trouver au moins une unité de structure sur chaque versant. Comme il y a 12 sommets, il faut au moins 60 unités de structure. À chaque sommet les capsomères sont entourés de 5 autres : ce sont des pentaméres (pentons). Il y a toujours 12 pentons par virion. Sur les arêtes et sur les faces, les capsomères sont entourés de 6 autres : ce sont des héxaméres (hexons). Le nombre d'hexons varie selon la taille du virus étudié.

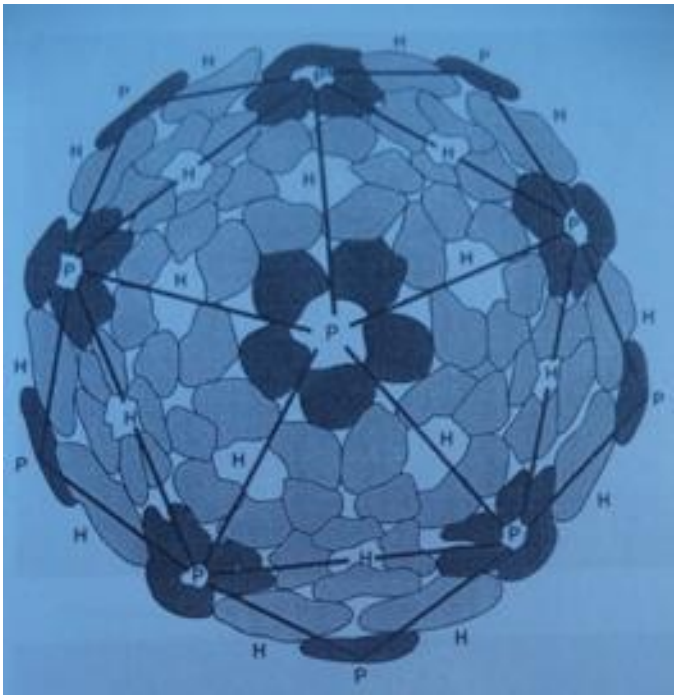


**Figure 2 :** Les pentons sont situés au 12 sommets. Les hexons forment les arêtes et les faces de l'icosaèdre. Une telle capside contient 42 capsomères, tous les protomères sont identiques.

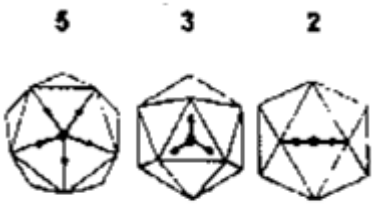



**Figure 3 :** Les trois axes de symétrie de l'icosaèdre.

### 3.2.3. Virus à symétrie complexe :

#### a. *Poxvirus* :

Ce sont les plus gros virus animaux connus, leur forme rappelle celle d'un petit bacille. Un nucléoïde central semble entouré d'une coque protéique déprimée au centre par deux corps latéraux. Une membrane externe apparaît comme recouverte d'une série de tubes composés d'une double rangée de sous-unités sphériques réparties au hasard ou sous la forme d'un filament continu encerclant la particule.

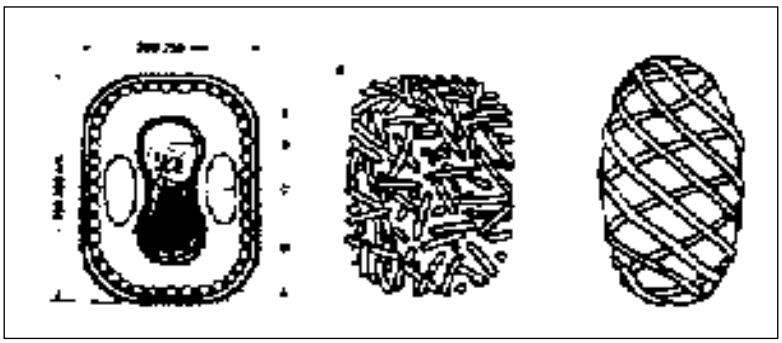


**Figure 4 :** Structure des *Poxvirus* (capside à symétrie complexe).

#### b. Les phages caudés :

Ces phages ont en fait une symétrie binaire : la tête a une symétrie icosaédrique, elle abrite le génome tandis que la queue a une symétrie hélicoïdale : c'est un tube creux entouré d'une gaine contractile et terminé par des fibres.

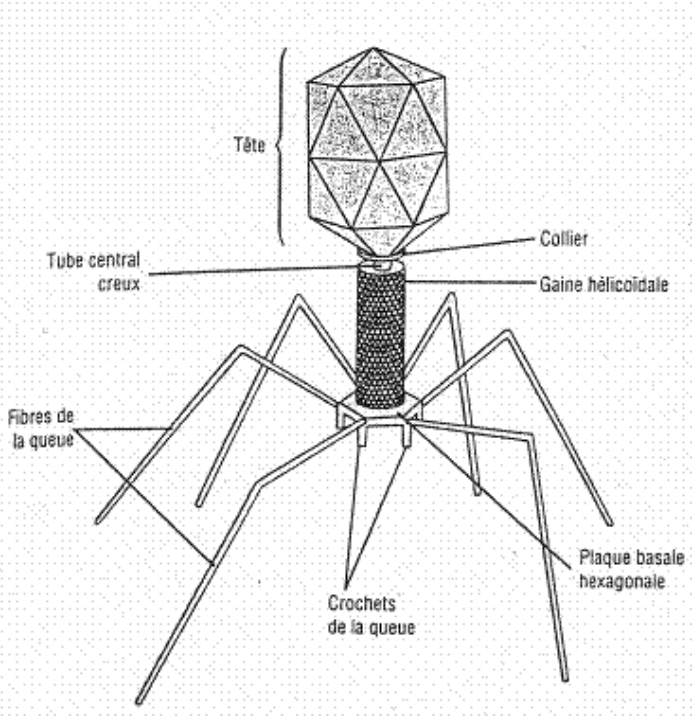



**Figure 5 :** Structure d'un bactériophage (capside à symétrie binaire ou complexe)

### 3.2.4. Fonction de la capside :

• fonction de protection : la capside protège l'acide nucléique des altérations physiques, chimiques ou enzymatiques.

• fonction de fixation : la capside des virus nus porte les déterminants nécessaires à la fixation aux récepteurs cellulaires.

### 3.3. Enveloppe (peplos) :

C'est l'élément le plus externe du virion. Elle provient par bourgeonnement des systèmes membranaire des cellules hôtes. Son origine peut être la membrane nucléaire, les

membranes intracytoplasmiques ou la membrane cytoplasmique. L'enveloppe est très sensible aux agents physiques, chimiques et à la chaleur.

L'enveloppe virale possède 02 spécificités antigéniques : virales et cellulaires. Ces derniers vont disparaitre et remplacées par des protéines et des glycoprotéines virales. Parmi les proteines retrouvées au niveau des enveloppes, on peut citer :

**A. Spicules (peplomères) :**

Il s'agit de protéines virales mais la glycosylation est assurée par la cellule. Les glycoprotéines s'insèrent dans la membrane lipidique par une région hydrophobe de leur chaîne polypeptidique. L'extrémité est en contact avec la nucléocapside ou avec la matrice sous-jacente. Les glycoprotéines sont habituellement associées en oligomères (di, tri ou tétramères). Les fonctions des spicules sont multiples :

- elles portent les déterminants qui reconnaissent les récepteurs cellulaires ;
- elles favorisent la fusion de l'enveloppe avec la membrane cellulaire ;
- elles peuvent exercer des activités enzymatiques (ex : la protéine NA du virus de la grippe qui est une neuraminidase) ;
- un même spicule peut exercer successivement la reconnaissance et la fusion (ex : les protéines HA du virus de la grippe ; les spicules des virus de l'immunodéficience humaine).

**B. Matrice (proteine M) :**

La face interne de l'enveloppe est tapissée par une matrice, c'est une couche plus ou moins importante de protéine virale, la protéine M. La matrice renforce la double couche

lipidique et stabilise la nucléocapside. Encore par ses relations avec les spicules et avec la nucléocapside, la matrice intervient dans l'assemblage des futures particules virales.

**C. Pores :**

Chez certains virus, une protéine hydrophobe s'insère dans la double couche lipidique, créant des pores qui modifient la perméabilité de l'enveloppe. Ces pores permettent des échanges ioniques sont à l'origine de modifications internes nécessaires à la maturation de la particule et au développement de l'infectivité.

**4. Classification des virus :**

Difficile, d'abord selon des éléments subjectifs: hôte, tropisme, pouvoir pathogène.

En 1960 : LHT (Lwoff, Horne, Tournier) : 04 caractères objectifs :

- Nature de l'acide nucléique: ADN(D), ARN(R).
- La symétrie de la capside : H, C.
- La présence d'une enveloppe: E, N.
- Le nombre des capsomères (icosaèdriques), diamètre de l'hélice (hélicoïdaux).

En 1975 le Comité International de Taxonomie virale (ICTV) a dressé une classification en : ordres (suffix : -*virales*), familles (suffix : -*viridae*), sous-familles (suffix : -*virinae*), et genres (suffix : -*virus).* Ces noms officiels des sont écrits en italique et leur première lettre est écrite en majuscule. Le comité exécutif de l'ICTV a décidé d'étendre cette règle à l'orthographe des espèces virales.

L’espéce virale représente l’unité fondamentale de taxonomie virale. Elle se définie comme un concept représenté par un groupe de souches possédant une série de propriétés stables qui les séparent d'autres groupes de souches et constituant une lignée réplicative qui occupe une niche écologique particulière.

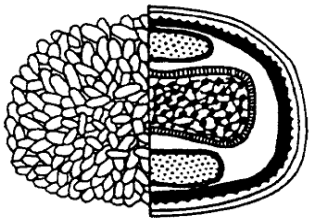
Désormais, elle repose sur la structure des virus et non plus sur leur pouvoir pathogène ou leur taille. Les trois premiers critères de la classification sont, dans l’ordre, la nature de l’acide nucléique du génome (ADN ou ARN), la conformation de la capside (hélicoïdale ou icosaédrique), et enfin la présence ou l’absence de l’enveloppe.

**Tableau 2 :** Exemples de familles virales d'intérêt médical.

| Famille | Acide nucléique | Enveloppe | Symétrie | Genres | Espèces et pouvoir pathogène |
|---|---|---|---|---|---|
| ***Poxviridae*** | ADN | Env | ? | *Orthopoxvirus* | variole, vaccine |
| ***Herpesviridae*** | ADN | Env | C | *Simplexvirus*<br>*Varicellovirus*<br>*Lymphocryptovirus*<br>*Cytomegalovirus* | *Herpesvirus* types 1 et 2 HHV<br>virus varicelle - zona VZV<br>virus Epstein Barr EBV<br>virus cytomégalique CMV |
| | | | | | *Herpesvirus* types 6, 7, 8 HHV |
| ***Adenoviridae*** | ADN | Nu | C | *Adenovirus* | adénites, conjonctivites<br>inf. respiratoires , digestives |
| ***Papillomaviridae*** | ADN | Nu | C | *Papillomavirus* | virus des verrues, cancer du col |
| ***Polyomaviridae*** | ADN | Nu | C | *Polyomavirus* | virus BK (BKV), virus JC (JCV) |
| ***Parvoviridae*** | ADN | Nu | C | *Erythrovirus* | virus B 19 (mégalérythème) |
| ***Picornaviridae*** | ARN + | nu | C | *Enterovirus A*<br>*Enterovirus B*<br>*Enterovirus C*<br>*Enterovirus D*<br>*Hepatovirus*<br>*Rhinovirus* | 12 sérotypes dont virus Coxsackie<br>36 sérotypes dont echovirus<br>dont *Poliovirus* (sérotypes 1- 2 -3)<br>2 sérotypes<br>**virus de l'hépatite A** (= 1) HAV<br>*Rhinovirus* (> 100) |
| ***Caliciviridae***<br>non assigné | ARN + | nu | C | *Norovirus* | agent de Norwalk<br>**virus de l'hépatite E** HEV |
| ***Astroviridae*** | ARN + | nu | C | *Astrovirus* | gastro-entérites infantiles (5 types) |
| ***Flaviviridae*** | ARN + | Env | C | *Flavivirus*<br>*Hepacivirus* | virus de la fièvre jaune, de la dengue<br>**virus de l'hépatite C** HCV |
| ***Togaviridae*** | ARN + | Env | C | *Alphavirus*<br>*Rubivirus* | encéphalites (arboviroses)<br>virus de la rubéole |
| ***Coronaviridae*** | ARN + | Env | H | *Coronavirus* | inf. respiratoires (et digestives ?) |
| ***Paramyxoviridae*** | ARN – | Env | H | *Paramyxovirus*<br>*Rubulavirus*<br>*Morbillivirus*<br>*Pneumovirus* | virus parainfluenzae types 1 et 3<br>virus des oreillons<br>virus de la rougeole<br>virus respiratoire syncytial HRSV |
| ***Rhabdoviridae*** | ARN – | Env | H | *Lyssavirus* | virus de la rage |
| ***Filoviridae*** | ARN – | Env | H | *Filovirus* | virus Marburg<br>virus Ebola |
| ***Orthomyxoviridae*** | ARN – | Env | H | *Influenzavirus* | virus grippaux |
| ***Arenaviridae*** | ARN – | Env | H | *Arenavirus* | fièvres d'Amérique du Sud<br>fièvre de Lassa (Afrique de l'Ouest) |
| ***Bunyaviridae*** | ARN – | Env | H | *Bunyavirus*<br>*Hantavirus*<br>*Phlebovirus* | fièvres hémorragiques<br>fièvre hémorrag. avec synd. rénal<br>fièvres, encéphalites |
| ***Deltavirus*** | ARN – | (Env) | ? | (virus défectif) | **virus de l'hépatite D** HDV |
| ***Reoviridae*** | ARN (+/–) | nu | C | *Orthoreovirus*<br>*Rotavirus* | Infections inapparentes<br>gastro-entérites infantiles |
| ***Hepadnaviridae*** | ADN | Env | C | *Orthohepadnavirus* | virus de l'hépatite B HBV |
| ***Retroviridae*** | ARN (+,+) | Env | ?<br>C | *Lentivirus*<br>*Deltaretrovirus* | virus du sida HIV<br>virus du lymphome T de l'adulte HTLV-1 |

*- Classification des virus, JC Lemahieu et A. Decoster, p. 3 -*

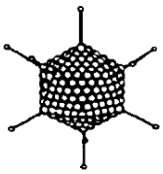
## Les virus ADN



***Poxvirus***
250 - 350 nm
*130 - 300 kb*



***Herpesvirus***
120 - 220 nm
*125 - 230 kb*



***Adenovirus***
60 - 90 nm
*35 - 40 kb*



***Papillomavavirus***
55 nm
*8 kb*



***Polyomavirus***
45 nm
*5 kb*



***Parvovirus***
20 nm
*5 kb*

## Les virus ARN



***Picornavirus***
20 - 30 nm
*7-9 kb*



***Calicivirus***
35 - 40 nm
*8 kb*



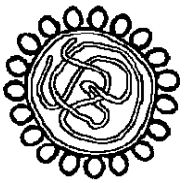
***Astrovirus***
28 - 30 nm
*8 kb*



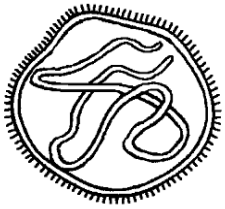
***Flavivirus***
40 - 50 nm
*10 kb*



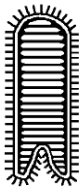
***Togavirus***
60 - 70 nm
*12 kb*



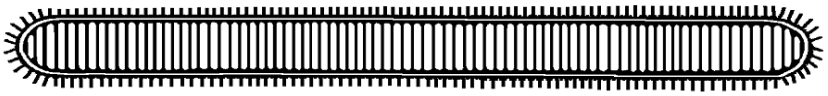
***Coronavirus***
80 - 150 nm
*27 - 32 kb*



***Paramyxovirus***
125 -300 nm
*10 - 15 kb*



***Rhabdovirus***
180 x 75 nm
*12 kb*



***Filovirus***
1000 x 80 nm
*13 kb*



***Orthomyxovirus***
80 - 120 nm
*13 kb*



***Arenavirus***
110 - 130 nm
*10 - 14 kb*



***Bunyavirus***
90 - 120 nm
*10 - 14 kb*



***Reovirus***
60 - 80 nm
*18 - 30 kb*



***Deltavirus***
35 nm



***Hepadnavirus***
42 nm



***Lentivirus***
80 - 100 nm



***Deltaretrovirus***
80 - 110 nm

# Chapitre II : Multiplication Des Virus

Quel que soit le virus, le cycle de multiplication s'effectue en six étapes :

- Fixation
- Pénétration
- Décapsidation
- Phase d’éclipse
- Assemblage des nucléocapsides
- Libération des virions

## 1. Cycle de multiplication viral :

### 1.1. Fixation

C'est l'étape préalable à l'entrée du virus dans la cellule. La fixation des virions nécessite l'interaction entre un ligand viral (sur le virus) et un récepteur cellulaire (sur la cellule). Les récepteurs utilisés par les virus sont souvent des molécules d'adhésion cellulaires (CAM), qui interagissent avec des molécules portées par la membrane plasmique d'autres cellules.

Le spectre d'hôte est défini par les espèces animales et par les tissus que le virus peut infecter. Il dépend aussi de la présence de récepteurs cellulaires.

Quand le virus est nu, c'est une conformation particulière des protéines de la capside. Quand le virus est enveloppé, ce sont les glycoprotéines d'enveloppe.

### 1.2. Pénétration

Plusieurs mécanismes sont possibles, selon que le virus est enveloppé ou nu.

#### 1.2.1. Pénétration directe du génome :

La fixation au récepteur cellulaire déstabilise la capside fermement attachée à la membrane plasmique. Le génome s'en échappe et pénètre directement dans le cytoplasme. C’est un procédé peu courant, utilisé par les *Picornavirus*.

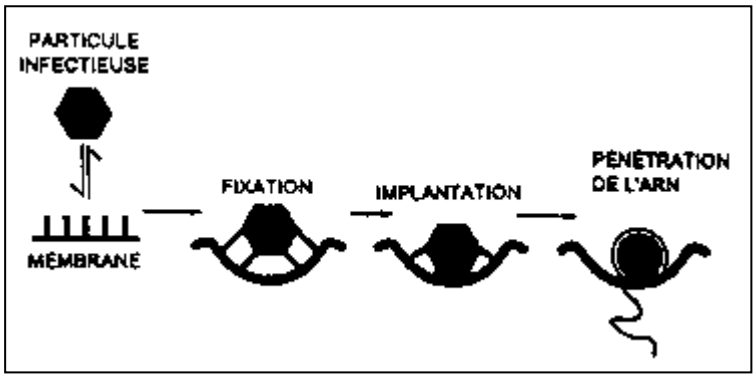



**Figure 1 :** Pénétration directe du génome.

#### 1.2.2. Endocytose :

Ce mécanisme est commun aux virus nus et enveloppés. Quand un ligand se fixe à son récepteur, il est endocyté. Le virion subit le même traitement, il ne se retrouve pas directement dans le cytoplasme, mais à l'intérieur d'une vésicule dont il doit s'échapper, soit par rupture de l'endosome, soit par franchissement de la membrane vésiculaire par le génome.

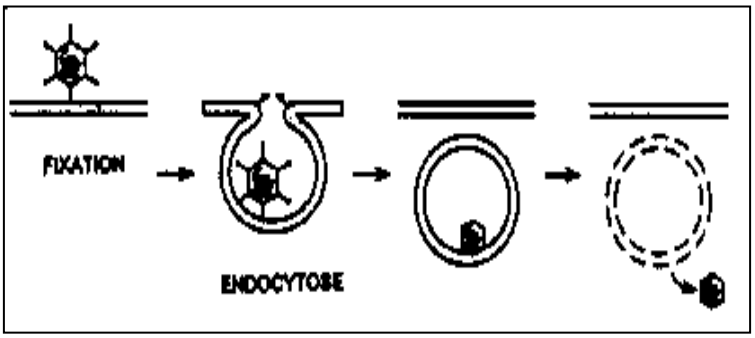



**Figure 2 :** Pénétration par endocytose.

### 1.2.3. Fusion avec la membrane plasmique :

C’est un mécanisme propre aux virus enveloppés. Il nécessite l'intervention d'une autre glycoprotéine virale qui est la protéine de fusion. L'enveloppe fusionne avec la membrane cytoplasmique et libère la nucléocapside dans le cytoplasme.

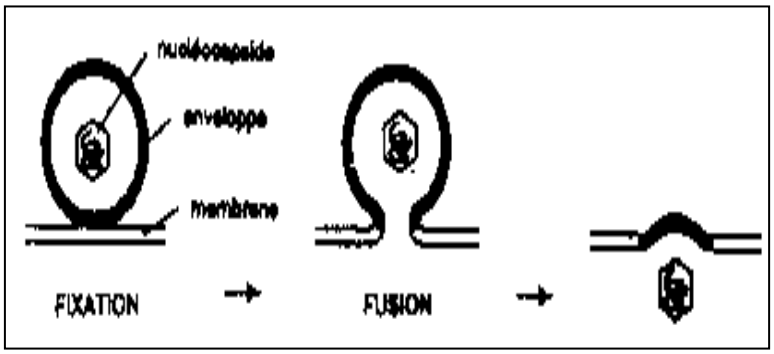



**Figure 3 :** Pénétration par fusion des membranes.

### 1.2.4. Endocytose puis fusion avec la membrane de l'endocyte :

C’est un mécanisme qui est également propre aux virus enveloppés. La fixation du virus aux récepteurs cellulaires déclenche l'endocytose et le virus est entouré d’une vésicule d'endocytose, l'acidification du contenu de la vésicule révèle les régions hydrophobes des spicules virales qui, en s'implantant dans la membrane vésiculaire, permettent la fusion de l'enveloppe et de la membrane, par la suite, la nucléocapside est libérée dans le cytoplasme.

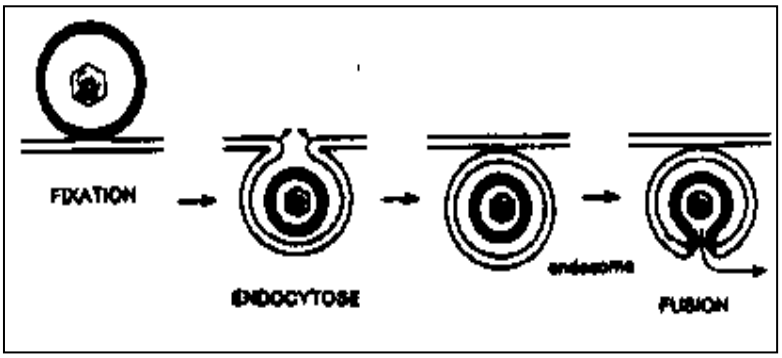



**Figure 4 :** Endocytose et fusion des membranes.

**1.3. Décapsidation :**

La capside doit se dissocier du génome viral pour qu'il puisse s'exprimer. Cette étape est encore mal connue, on sait seulement que des protéases cellulaires interviennent dans la décapsidation.

Pour la plupart des virus à ADN, la nucléocapside est prise en charge par une MAP motrice (Microtubule Associated Protein), liée aux microtubules du cytosquelette cellulaire, qui la transporte vers la membrane nucléaire.

Une fois décapsidé, le virus a cessé d'exister en tant que particule organisée, on ne voit plus de virion. La phase d'éclipse commence.

**1.4. La phase d'éclipse :**

L'acide nucléique des virus peut être de l'ADN ou de l'ARN, double brin (db) du simple brin (sb), et dans ce cas brin (+) ou brin (-). La classification de Baltimore (1970), distingue 07 classes, selon la nature de l'acide nucléique et le mode de réplication et de transcription.

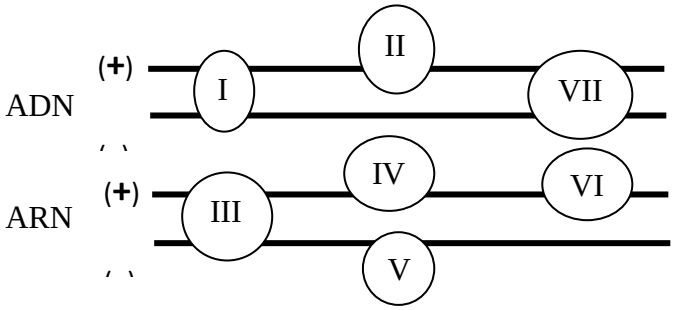



**Figure 5 :** Classification de Baltimore.

Par définition la polarité (+) est celle de l'ARNm ; donc le brin qui sert de matrice à la transcription en ARN est dit (-) et antisens tandis que l'autre brin dit (+) et sens.

**Tableau 1 :** Exemples de classification selon le génome viral.

<table>
<tr><th colspan="2">Acide Nucléique</th><th>ADN</th><th>ARN</th></tr>
<tr><td colspan="2">db</td><td>I :<br>Adénovirus (gastroentérite, infections respiratoires)<br>Herpesvirus (Herpès, varicelle, CMV)<br>Poxvirus (vaccine, variole)<br>VII :<br>Hépadnavirus (hépatite B)</td><td>III :<br>Réovirus, Birnavirus</td></tr>
<tr><td rowspan="2">sb</td><td>+</td><td>II :<br>Parvovirus</td><td>IV :<br>Picornavirus (polio, hépatite A)<br>VI :<br>Rétrovirus (sida)</td></tr>
<tr><td>-</td><td></td><td>V :<br>Orthomyxovirus (grippe)<br>Paramyxovirus (oreillons)<br>Rhabdovirus (rage)</td></tr>
</table>

Les virus de la classe VI et VII possèdent une transcriptase reverse nécessaire à la réplication de leur génome.

Au sein de la cellule, le virus a deux objectifs : répliquer son génome et synthétiser ses protéines, la traduction exige un ARN (+), c'est à dire codant. Selon le type de virus, ces deux objectifs sont atteints de façons différentes. Cette multiplication s'accompagne le plus souvent d'une inhibition des fonctions cellulaires.

### 1.4.1. Virus à ADN :

**Virus à ADN db :** La réplication se calque à celle des procaryotes. Elle s'effectue généralement dans le noyau, à l'exception des *Poxvirus* qui se répliquent dans le cytoplasme et le virus de l'hépatite B qui possède une rétrotranscriptase. La nucléocapside migre près d'un pore nucléaire, le génome pénètre dans le noyau. La transcription et la réplication du génome peuvent être assurées par les enzymes cellulaires.

On observe deux périodes de transcription :

- **La transcription de gènes précoce :** les protéines précoces sont des protéines non structurales, certaines détournent les systèmes de transcription et de réplication cellulaires, d'autres sont des facteurs nécessaires à la réplication du génome viral. La réplication est assurée soit par les ADN polymérases cellulaires, soit par une ADN polymérase virale qui synthétisent les génomes des futurs virions.

- **La transcription des gènes tardifs :** c'est à partir de ces nouveaux génomes que sont transcrits les ARN-messagers qui sont traduits en protéines tardives, ces derniers sont les protéines structurales, c'est à dire les protéines de capside, la protéine de matrice et les glycoprotéines d'enveloppe.

**Virus à ADN sb (+) :** La synthèse d'un brin (-) est nécessaires comme matrice à la synthèse du brin (+) génomique et à la transcription en ARN (+).

**1.4.2. Virus à ARN :**

C'est dans le cytoplasme que s'effectue la transcription du génome viral ainsi que sa réplication, exceptionnellement dans le noyau pour les *Orthomyxovirus* et les *Retrovirus.*

En dehors des *Retrovirus*, tous les virus à ARN vont synthétiser de l'ARN à partir d'une matrice d'ARN, ce qui exige une ARN polymérase-ARN dépendante. Cette enzyme étant absente des cellules hôtes, le génome viral doit donc apporter ou coder cette enzyme. L'ARN polymérase-ARN dépendante porte le nom de transcriptase lorsqu'elle assure la synthèse des ARN-messagers et le nom de réplicase lorsqu'elle assure la synthèse des intermédiaires de réplication ou des ARN génomiques.

Le processus diffère selon la nature de l'ARN génomique :

- **virus à ARN (+) :** l'ARN se comporte comme un ARN-messager et il est immédiatement traduit en protéines. Parmi ces protéines, une réplicase permettra la synthèse de l'ARN complémentaire (ARN -) qui servira de matrice pour la synthèse des nouveaux génomes. C'est à partir de ces nouveaux génomes que les protéines de structure sont synthétisées.

- **virus à ARN ( - ):** il ne peut être traduit directement par les ribosomes et doit donc être préalablement transcrit en ARN-messagers par une transcriptase virale associée au génome.

Les glycoprotéines d'enveloppe sont synthétisées par les ribosomes liés au réticulum endoplasmique. Elles sont insérées, par une séquence hydrophobe, dans la membrane du RE. Par la suite, elles sont glycosylées, puis transportées à l'appareil de Golgi où certaines spicules subissent un clivage protéolytique indispensable à leurs fonctions (virus de la grippe, virus du Sida). Enfin, une vésicule les achemine enfin vers une membrane cellulaire.

**1.5. Assemblage :**

C’est l’étape qui marque la fin de la période d'éclipse. Les protéines de la capside s'assemblent autour des nouveaux génomes et forment une procapside perméable à l'acide nucléique génomique, le plus souvent par un processus d'auto-assemblage. L’assemblage se fait soit vers le pôle apical, soit vers le pôle basolatéral.

**Tableau 2 :** Exemple d’assemblage des protéines de la capside.

| **Virus** | **Lieu d’assemblage** |
|---|---|
| *Paramyxovirus*<br>*Orthomyxovirus* | la bordure apicale |
| *Rhabdovirus* | la bordure basolatérale |
| *Herpesvirus* | la membrane nucléaire |
| *Flavivirus* | la lumière du réticulum endoplasmique |
| *Bunyavirus* | l'appareil de Golgi |

**1.6. Libération :**

Les virions assemblés quittent la cellule selon 3 modalités :

### 1.6.1. Lyse de la cellule :

Mécanisme spécifique aux virus nus. L'assemblage a lieu dans le cytoplasme pour le *Picornavirus* et le *Reovirus*, ou dans le noyau pour l'*Adenovirus*, le *Papovavirus* et le *Parvovirus*. La libération des virions dépend totalement de la lyse cellulaire.

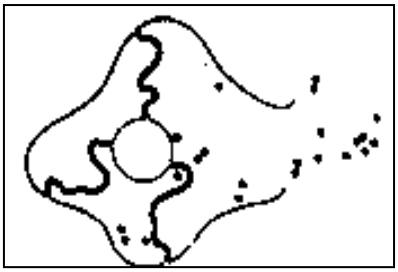


**Figure 6 :** Libération par lyse cellulaire.

### 1.6.2. Bourgeonnement :

C'est le mode habituel de sortie des virus enveloppés, l'assemblage et la libération sont étroitement associés. Le bourgeonnement des nucléocapsides a lieu au niveau des membranes modifiées, ce qui indique des interactions spécifiques entre la nucléocapside et les protéines d'enveloppe (spicules ou protéines de matrice). Le bourgeonnement n'implique pas la destruction de la cellule.

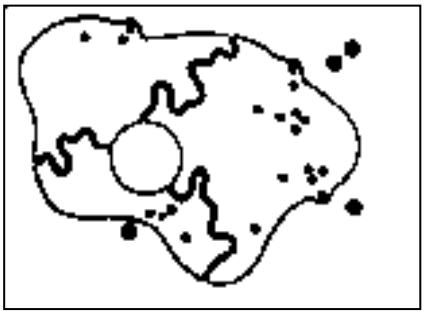


**Figure 7 :** Libération par bourgeonnement.

### 1.6.3. Transport :

C’est un mécanisme spécifique aux *Herpesvirus*. La nucléocapside est assemblée dans le noyau. Le virus acquiert son enveloppe par bourgeonnement à travers la membrane nucléaire et se retrouve dans la lumière du réticulum endoplasmique. Les *Herpesvirus* assemblés s'accumulent entre les membranes nucléaires ou dans le réticulum endoplasmique. Enveloppés dans des vésicules, ils sont transportés du noyau vers la membrane cytoplasmique. La fusion des membranes vésiculaire et cytoplasmique libère les particules virales à l'extérieur.

## 2. Exemple de réplication de génomes viraux :

### 2.1. Le VIH :

C’est un virus de la classe VI de Baltimore. Le génome du VIH est constitué de deux segments d’ARN (+), monocaténaires, identiques. Bien que de polarité (+), ils ne sont pas utilisés comme ARNm. Ces deux ARN sont étroitement associés à des protéines de la nucléocapside. Un ARNt est fixé à chaque extrimité 5' Le virus pénètre dans le lymphocyte T4 en fixant la gp 120 (tête du clou) au récepteur CD4 en présence de corécepteur CCR5 qui est la gp 41 (tige du clou). La nucléocapside libère dans le cytoplasme les deux brins d’ARN et les enzymes viraux (rétrotranscriptase, protéase et ligase).

L'ARN brin (+) est copié par la transcriptase inverse à l'ADN brin (-). Ici, la polymérase agit comme une polymérase à ADN dépendante de l'ARN. Puisque la transcriptase inverse est une

polymérase à ADN, elle a besoin d'une amorce. Il s'agit d'un ARNt qui est incorporé dans la particule virale à partir de la cellule hôte précédente.

L'ARN est déplacé et dégradée par une activité RNase H. La transcriptase inverse agit maintenant comme une ADN polymérase ADN-dépendante et copie le nouvel ADN brin (-) en une copie ADN double brin. Cette forme de l'ADN du virus est appelée un provirus.

L'ADN proviral double brin est inséré dans l'ADN de la cellule hôte à l'aide d'une ligase virale incorporée dans la particule virale. Cet ADN est copié à chaque fois que l'ADN cellulaire est copié. A ce stade, au niveau moléculaire, le provirus est exactement comme un gène cellulaire normal.

La totalité de l'ARN génomique brin (+) est transcrit à partir de l'ADN proviral intégré par l'ARN polymérase II de l'hôte.

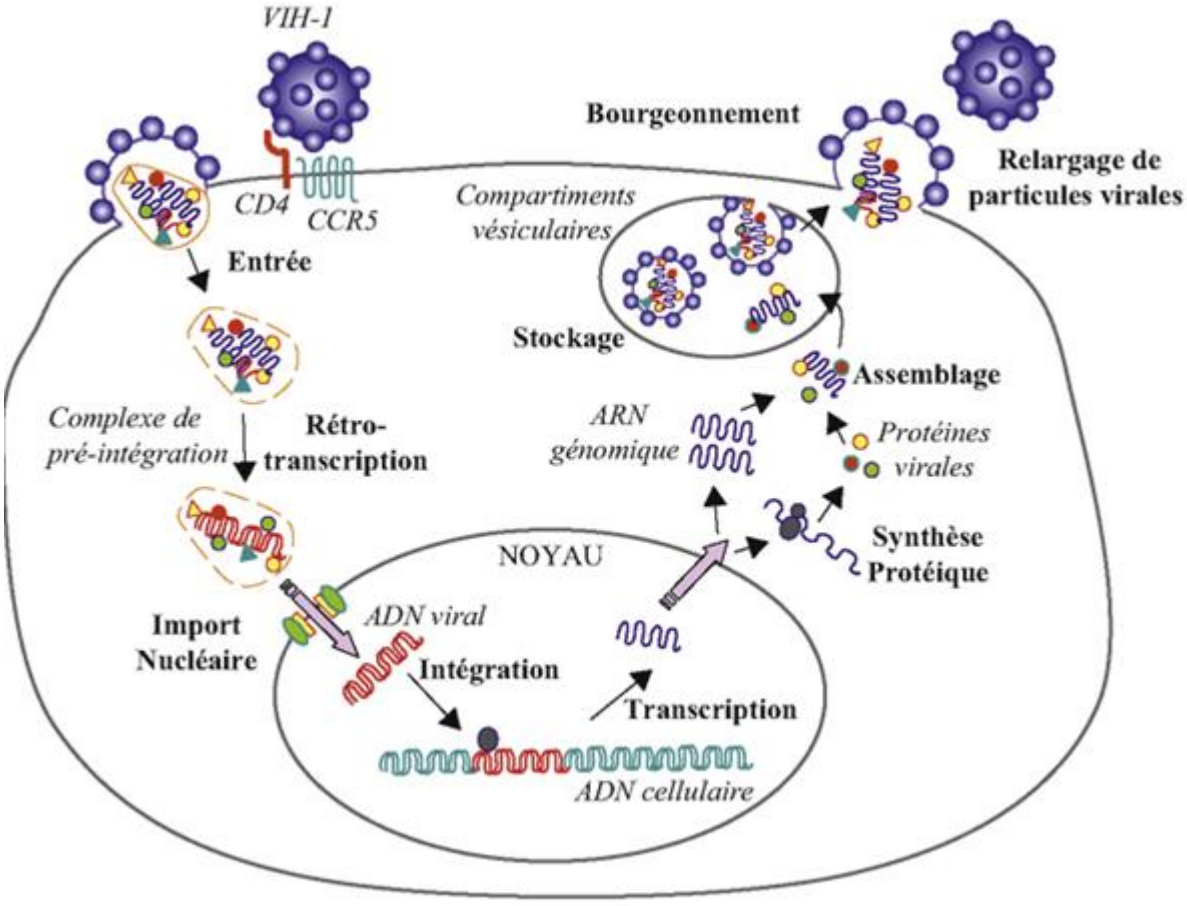



**Figure 8 :** Cycle de réplication du VIH

**2.2. Le VHB :**

C’est un virus de la classe VII de Baltimore. Le génome est formé d’un ADN db, circulaire, partiellement bicaténaire et non clos. Il est composé d’un brin long et d’un brin court. Le virus dans l’hépatocyte, se défait de son enveloppe et sa capside et libère son génome.

L’ADN entre dans le noyau et est complété en ADN circulaire covalentiellement clos (ADNccc) grâce à l’ADN polymérase virale (par allongement du brin et ligature). L’ADNccc est transcrit en ARN par l’ARN polymérase cellulaire. Certains ARNm sont traduits en protéines virales et d’autres sont appelés des ARN prégénomiques (matrice du génome). L’ARN prégénomique et l’ADN polymérase sont encapsidés. L’ADN polymérase exerce cette fois une activité rétrotranscriptase synthétisant un brin d’ADN (-). Après hydrolyse de l’ARN matrice, la synthèse du brin complémentaire est interrompue lorsque l’enveloppe recouvre la capside ce qui a pour conséquence un deuxième brin court.

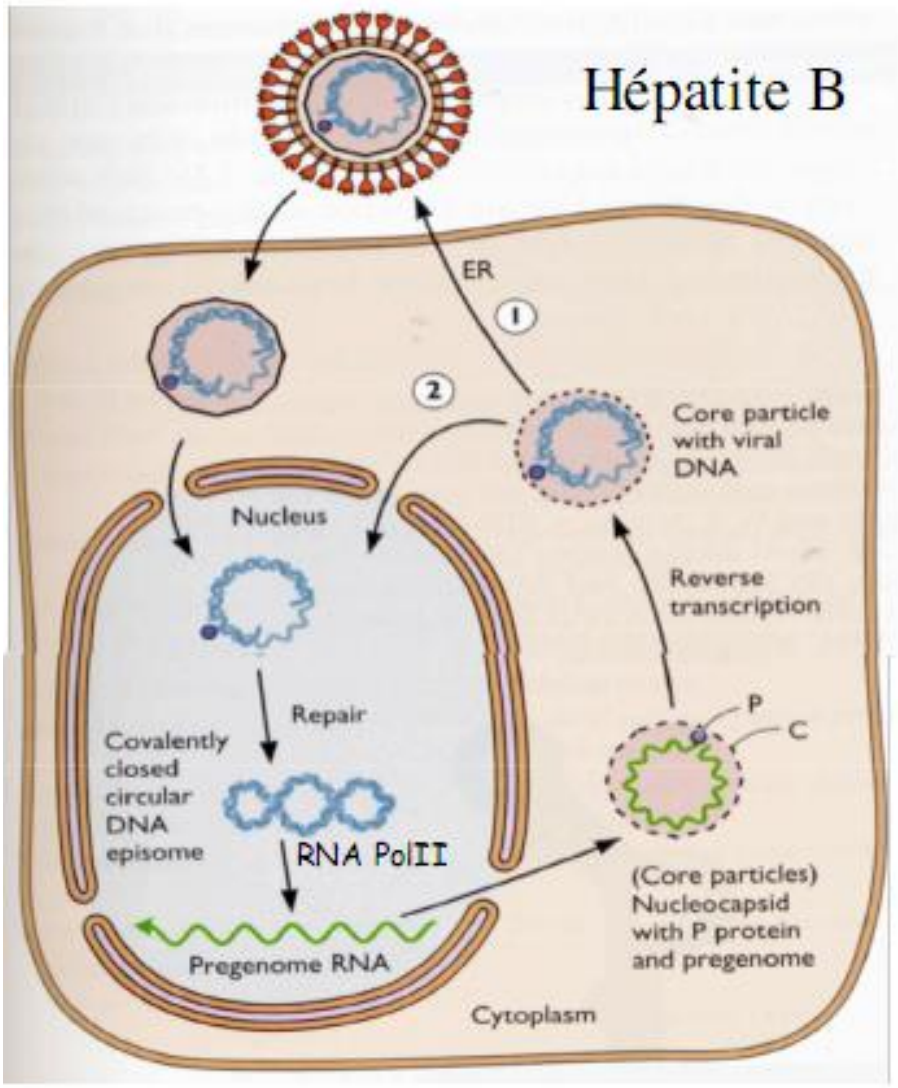



**Figure 9 :** Cycle de réplication du virus de l'hépatite B.

## 2.3. Le virus de la grippe :

Le génome du virus *Influenza* A est composé de **8 segments** d'ARN de polarité négative (*Influenza B* en a également 8 mais *Influenza C* n'a que 7 segments). Chaque segment d'ARN est associé à des protéines et forme un complexe ribonucléoprotéique. Ces ribonucléoprotéines (RNP) sont en contact avec la protéine M1 (matrice), qui forme une couche protéique à l'interface des RNP et de l'enveloppe.

L'enveloppe porte deux types différents de glycoprotéines : l'hémagglutinine (H ou HA), qui est responsable de l'attachement du virus au récepteur, et la neuraminidase (N ou NA), qui a une fonction enzymatique de sialidase (clive les acides sialiques). Le virus s'attache à une cellule par son hémagglutinine. L'internalisation du virus dans un endosome.est suivie de la libération des RNP dans le cytoplasme cellulaire. Les ARN viraux sont ensuite transportés vers le noyau cellulaire ou le cycle de réplication se déroule.

Dans le noyau, chaque segment de l'ARN viral (négatif) est, d'une part, transcrit en ARN messager (polarité positive) et, d'autre part, répliqué pour former de nouveaux segments génomiques viraux. Les ARNm produits à partir des segments 7 et 8 subissent un épissage différentiel ce qui permet la synthèse de deux protéines différentes à partir d'un même segment (le segment 7 fournit deux protéines: la protéine M1 qui forme la matrice et la protéine M2 qui forme les canaux ioniques). Dans le cytoplasme les différentes protéines virales sont produites et ensuite assemblées. Les glycoprotéines d'enveloppe sont transportées vers la membrane. Les nucléoprotéines se lient aux brins d'ARN de polarité négative pour former les RNP qui s'allient à la protéine M1 formant la matrice. Les virus sont libérés par bourgeonnement.

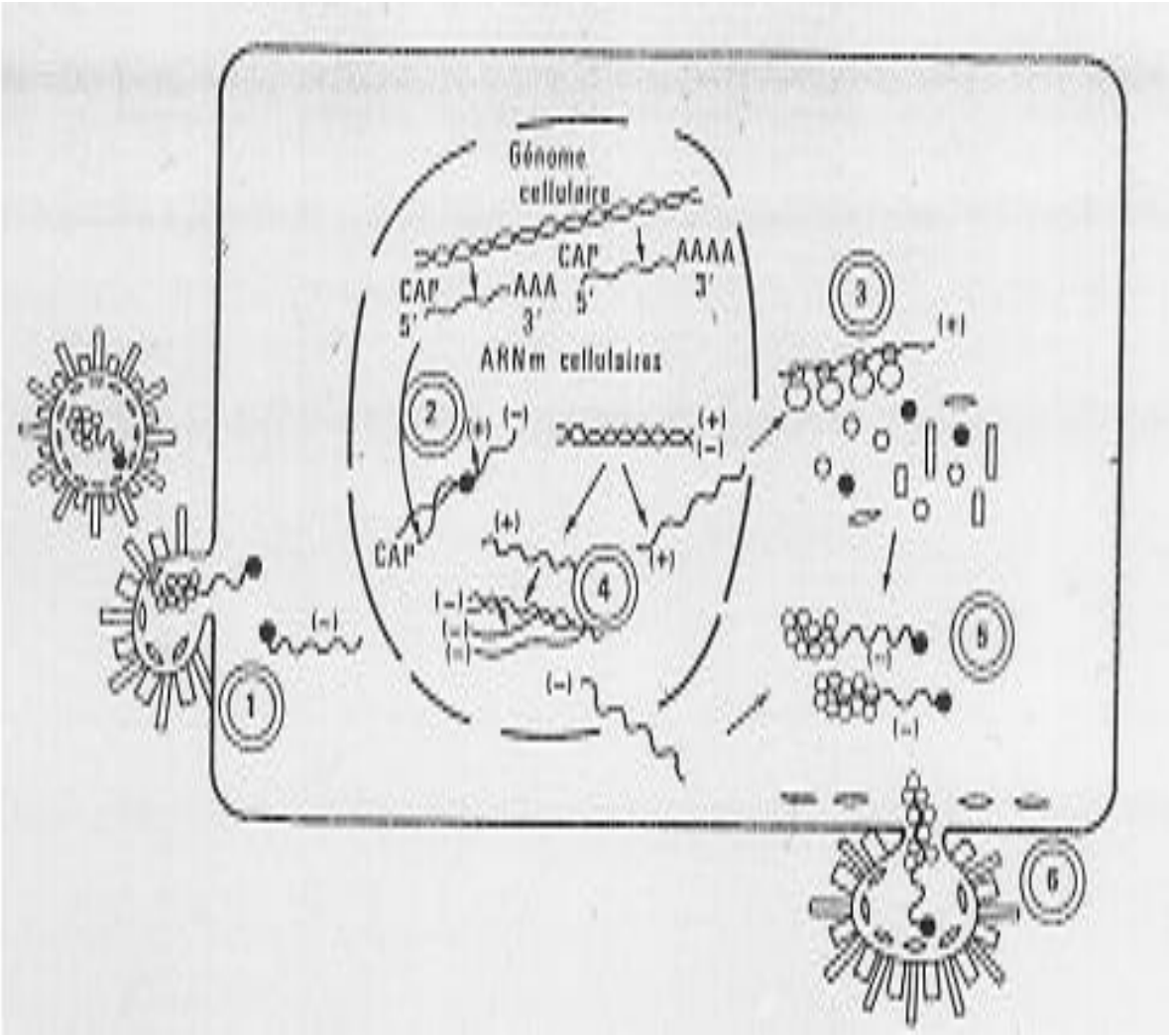



**Figure 10 :** Réplication du virus grippal.

## 2.4. Cycle de réplication du virus de la variole :

Le virus de la variole est un *Poxvirus*. C'est un virus à ADN db entrent dans la cellule avec une ADN polymérase ARN dépendante Le génome est transcrit en ARNm précoce qui code pour des enzymes dont L'ADN polymérase, et d'autres facteurs pour la transcription des gènes tardifs. Le génome est répliqué par l'ADN polymérase, ensuite la transcription des gènes tardifs et leur traduction aboutit enfin à la formation de nouvelles particules virales et

sont transportés jusqu'à l'appareil de Golgi pour acquérir l'enveloppe et libérés par lyse des cellules infectés.

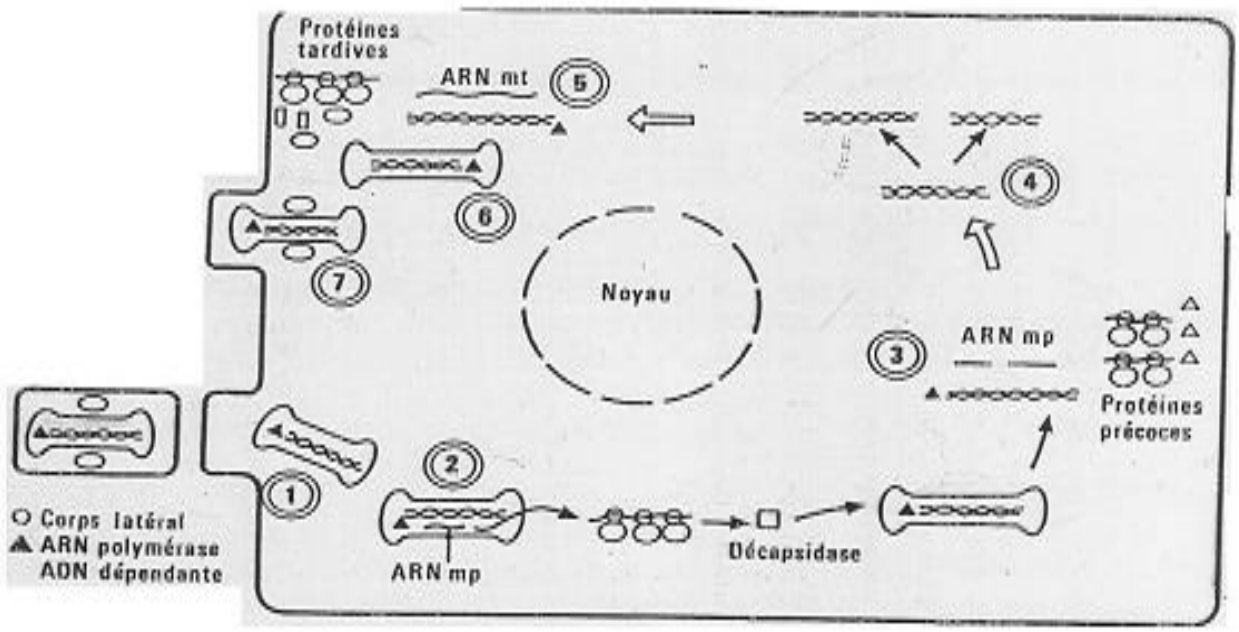



**Figure 11 :** Cycle de réplication de la variole.

## 2.5. Virus de fièvre hémorragique humaine :

Appartient à la famille des A*renaviridae* qui sont des virus à ARN ambisens ; ils possèdent un génome ARN bisegmenté, chacun des segments comportant deux cadres ouverts de lecture (ORF) en orientation inverse séparés par une région intergénique. Un segment code les protéines non structurales : la protéine L en 3' (polymérase virale) et la protéine Z en 5' (impliquée dans la réplication virale et le bourgeonnement). Le 2ème segment permet l'expression des protéines structurales : la protéine NP en 3' (nucléoprotéine) et le précurseur GP des glycoprotéines de surface en 5'.

Après infection de la cellule par un *Arenaviridae,* le génome est libéré dans le cytoplasme. La partie négative du génome est transcrite en ARNm positif qui code pour des protéines non structurales et copié jusqu'à la rencontre d'une épingle à cheveux formée par le repliement de l'ARN dans la région intergénique. La polymérase va synthétiser un ARN de la partie positive du génome, qui est devenue négative et qui peut être donc transcrite et traduite. Enfin, après levée de l'épingle à cheveux, la polymérase forme un génome à partir de l'antigénome.

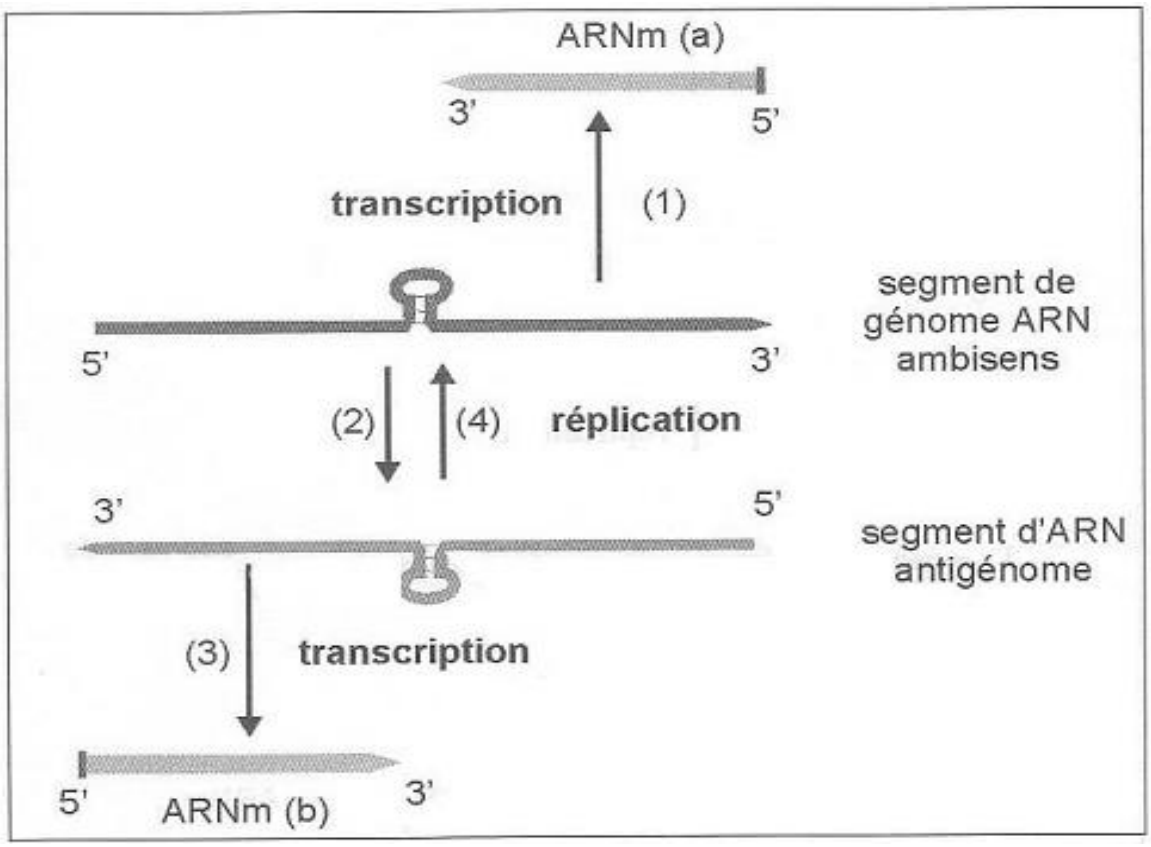



**Figure 12 :** Cycle de réplication des *Arenavirus*.

# Multiplication des bactériophages

En 1915 Twort décrivait la transformation vitreuse de quelques colonies de microcoques. En 1917 d'Hérelle à l'institut pasteur de paris découvrait dans les selles de convalescent de dysentérie un agent infectieux capable de détruire *Shigella dysenteria* et depuis ces agents sont appelés bactériophages. Plus de 5000 phages avaient été observés et décrits. Pour plus de 95 % des phages connus, le matériel est une molécule d'ADN double brin de 5 à 650 kb et leur taille varie de 24 à 200 nm. Plus de 95 % d'entre eux possèdent une queue. L'infection d'une bactérie par un seul phage peut provoquer au bout de 20 mn la lyse de la bactérie avec libération d'une centaine de particules phagiques.

Les phages caudés appartiennent à 3 familles :

- *Myoviridae* : phages à queue contractile ;
- *Siphoviridae* : phages à queue longue non contractile ;
- *Podoviridae* : phages à queue courte.

On distingue 2 types de phages :

- Phage lytique : phage qui produit un cycle lytique ;
- Phage tempéré : phage qui produit un cycle lysogène.

## 1. Structure des bactériophages :

Les phages présentent une architecture analogue aux virus, c'est-à-dire des unités protéiques entourant l'acide nucléique ; on distingue des phages à ADN et d'autres à ARN.

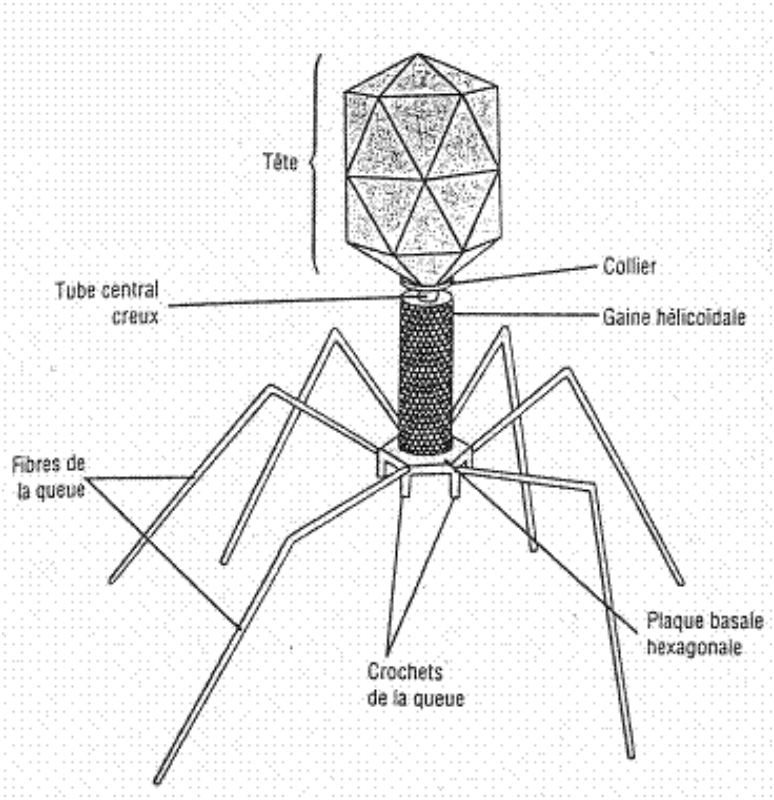



**Figure 1 :** Structure d'un bactériophage caudé.

**a- Bactériophages à ADN :**

Les plus connus sont les phages de la série T actifs sur *E.coli*. Ils comprennent 7 types différents, de $T_1$ à $T_7$, que l'on classe en 2 groupes : les T pairs ($T_2$, $T_4$, $T_6$) dont l'ADN contient l'hydroxyméthylcytosine, et les T impairs ($T_1$, $T_3$, $T_5$, $T_7$), la structure de l'ADN est en double hélice.

**b- Bactériophages à ARN :**

Les mieux étudiés sont les phages antimâles d'*E.coli* ($MS_2$, $M_{12}$, $F_2$, $R_{17}$), la molécule d'ARN est monocaténaire et linéaire.

**Multiplication des bactériophages :**

L'infection d'une bactérie par un bactériophage présente deux aspects :

1- Le bactériophage se reproduit aux dépens de la bactérie hôte et la détruit. C'est l'infection lytique causée par des bactériophages dits virulents.

2- L'acide nucléique du bactériophage ne se réplique pas, il s'attache au chromosome bactérien et se comporte comme un gène bactérien, on lui donne le nom de prophage. Ce type de relation est connu sous le nom de lysogénie causée par des bactériophages dits tempérés. Les bactéries qui portent un prophage et le perpétuent dans leur descendance sont des bactéries lysogènes.

**2. Multiplication des phages lytiques :**

**Modèle du bactériophage $T_2$ :**

Le bactériophage se fixe au niveau de la paroi bactérienne. Les bactériophages sont incapables de se fixer sur les sphéroplastes chez lesquels les structures de la paroi sont presque disparues. Les récepteurs du phage $T_2$ sont situes dans la couche lipoprotéique de la paroi d'*E.coli*. Une seule bactérie peut fixer 200 à 300 bactériophages.

**a- Fixation :**

Se fait grâce aux fibres caudales. Un enzyme (lysozymes) situés dans la queue dépolymérise le muccocomplexe de la paroi bactérienne en coupant les liaisons glycosidiques.

**b- Injection de l'ADN :**

La contraction de la gaine externe de la queue sous l'effet des produits libérés par le muccopolysaccharide, le tube interne de la queue traverse la paroi, perce la membrane et l'ADN pénètre dans le cytoplasme.

**c- Phase d'éclipse :**

D'une durée de 12 minutes, la croissance bactérienne est stoppé, le chromatine bactérien est détruit par une désoxyribonucléase qui apparait 2 à 3 minutes après l'infection c'est l'arrêt total de toutes les synthèses enzymatiques et protéiques. Le premier élément synthétisé est un ARNm phagique. Il est facile de le connaitre car il est formé par hydroxyméthylcytosine. En même temps des protéines nouvelles ou précoces apparaissent ; ce sont des enzymes nécessaires à la réplication de l'ADN viral.

**Synthèse de l'ADN :**

L'ADN viral est mis en évidence dans la bactérie après 5 minutes.

**Synthèse des protéines :**

Les protéines de structure apparaissent après 9 minutes.

**d- Assemblage et libération :**

Les premiers virions apparaissent après 12 minutes. L'ADN se condense en ce qui est appelé fond commun ; chaque ADN va être entouré par des protéines. L'endolysine agit de l'intérieur sur la paroi bactérienne. La bactérie libère son contenu vers la $25^{ème}$ minute.

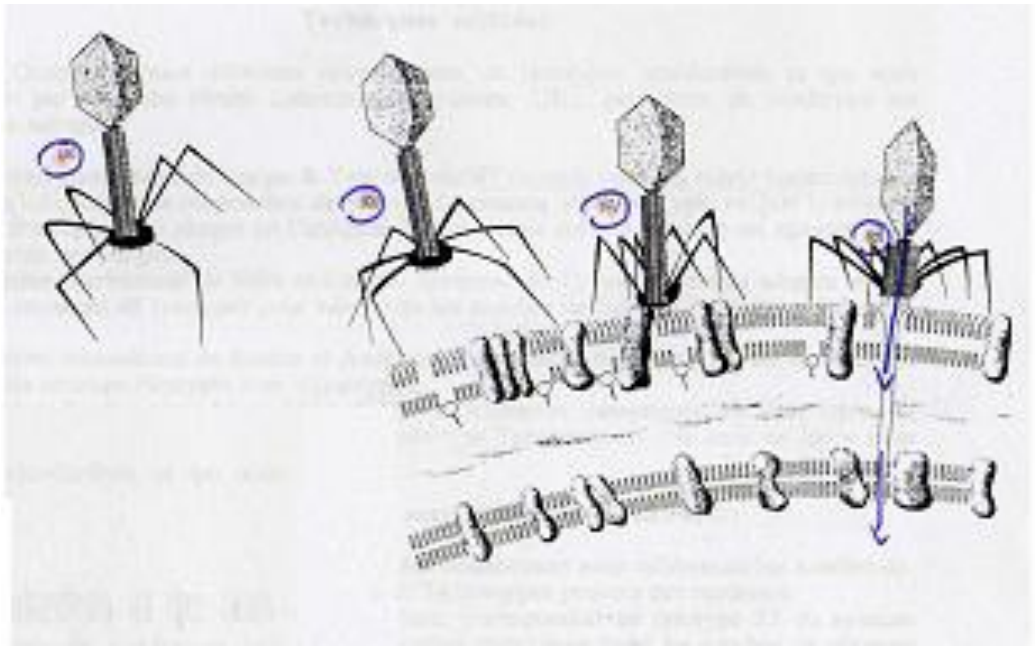


**Figure 2 :** Injection de l'ADN viral par le bactériophage $T_2$.

### 3. Multiplication d'un phage lysogène (phage λ) :

La fixation et la pénétration du phage sont pareilles avec les phages lytiques.

L'intégration de l'ADN du phage λ sous forme de prophage dans le chromosome bactérien est rendu possible par 2 systèmes :

- **Système de répression** : qui empêche le développement du cycle végétatif normal du phage. Ce système repose sur l'activité du répresseur produit du *gène cl.*
- **Système d'intégration :** qui permet l'intégration de l'ADN phagique à l'ADN de la bactérie hôte. Il repose sur celle d'une intégrase produite du *gène int.*

Le prophage λ n'est plus répliqué comme génome viral autonome, mais comme une partie intégrante du chromosome bactérien. Il est transmis héréditairement de cellule mère à cellules

filles à chaque division cellulaire. Son expression est limitée à celle du seul opéron de son *gène cI*, car tous ses autres gènes sont maintenus silencieux par le répresseur.

Si la concentration intracellulaire du répresseur dans la bactérie lysogène vient à s'abaisser en dessous du seuil requis pour maintenir la répression, les opérons *N* et *cro* du prophage devient libres de s'exprimer, on assiste à l'induction du cycle de multiplication végétative du prophage.

Mais, l'excision de l'ADN proviral provoquée par l'induction n'est pas toujours rigoureuse. Il arrive qu'au lieu de se produire exactement à la jonction de l'ADN du phage et de la bactérie, elle soit décalée d'un coté ou de l'autre, ce qui conduit à l'excision d'un ADN hybride (une partie virale et une partie bactérienne. Par exemple, les phages λ produits par induction de bactéries lysogènes contient sur la séquence complète de l'ADN l'opéron *gal*, on dit d'eux qui sont transducteurs, car ils peuvent transférer d'une cellule à une autre l'information *gal* d'origine bactérienne dont ils ont hérité. Ainsi, en s'intégrant dans une bactérie $gal^-$, un phage λ*gal* rend la bactérie $gal^+$, puisqu'il lui apporte l'opéron fonctionnel qui lui faisait défaut. On dit qu'il y a transduction du marqueur *gal*.

Tout en sachant que le phage λ s'intègre toujours en un point unique sur le chromosome d'*E. coli*, entre les marqueurs *gal* et *bio*, les seuls transducteurs qu'il forme spontanément sont soit λ*gal* soit λ*bio*, on dit pour cette raison du phage λ que c'est un transducteur spécialisé, et ceci par opposition aux phages comme P22 ou P1, qui pouvant transduire un très grands nombre de marqueurs génétiques de l'hôte, ils sont donc qualifiés de transducteurs généralisés.

**Exemples :**

Un exemple bien connu est celui des gènes des toxines *Stx* des *Escherichia coli* entérohémorragiques. Ces gènes *Stx* sont localisés dans des séquences de bactériophages lambdoïdes intégrés dans le chromosome. On connait d'autres exemples de ce type, comme la toxine cholérique de *Vibrio cholerae* qui est portée par le phage CTX.

La majorité des souches du sérovar *Typhimurium* du genre *Salmonella* abritent entre 4 à 6 prophages dans leur génome. Les prophages Gifsy-1, Gifsy-2 et Gifsy-3 portent des gènes qui contribuent à la pathogénicité.

### 3.1. Etablissement de la lysogénie

Au moment de l'infection, le phage se trouve placé devant deux possibilités : lysogénie ou cycle lytique. Le choix final entre son intégration ou sa multiplication dépend de plusieurs facteurs de régulation qui tiennent à la cellule hôte, au phage lui même et aux conditions de la culture.

Certains mutants du phage λ dits mutants clairs ne synthétisent que très peu de répresseurs, ils ne lysogénisent que rarement les bactéries qu'ils infectent. Contrairement au mutants du *gène cro* qui produisent des quantités considérables de répresseurs, ils lysogénisent toutes les bactéries qu'ils infectent. Donc, l'établissement de la lysogénie dépend essentiellement de la synthèse du répresseur et le maintien de la répression est constamment nécessaire au maintien de l'état lysogène.

## 4. Applications pratiques des bactériophages :

Les bactériophages tempérés constituent des vecteurs d'un grand intérêt pour les manipulations génétiques chez les bactéries, ils peuvent êtres utilisés comme agents thérapeutiques antibactériens, comme outil de diagnostic bactériologique et surtout épidémiologique.

**4.1. En thérapeutique :**

Dés leurs découvertes les bactériophages suscitaient de nombreux travaux ou les traitements à base de bactériophages ont reconnus d'énormes succès, mais ils étaient rapidement abandonnés pour les raisons suivantes :

- Manquent de spécificité et peuvent se fixer sur d'autres substrats que les bactéries sensibles.
- La sélection de mutants résistants
- Apparition d'anticorps neutralisants entravant l'adsorption du phage.
- Avènement des sulfamides et des antibiotiques, plus actifs dans le traitement des maladies infectieuses.

**4.2. En diagnostic :**

Le diagnostic direct d'une maladie infectieuse met en œuvre des techniques d'isolement et d'identification du germe responsable. Il est également possible de démontrer la présence d'un germe donné en ayant recours aux bactériophages.

**4.2.1. Recherche directe :**

Les bactériophages accompagnent toujours les bactéries dans les milieux ou elles végètent. Ils peuvent être directement mis en évidence et témoigner alors de la présence des bactéries correspondantes.

**4.2.2. Recherche indirecte :**

Repose sur l'augmentation du titre des bactériophages spécifiques introduits expérimentalement dans un milieu, lorsqu'il contient les bactéries correspondantes. Ainsi dans une susceptible de renfermer Salmonella typhi, on peut ajouter des bactériophages spécifiques à l'espèce à un titre donné et rechercher ensuite si ce titre reste égal à lui-même ou, au contraire, augmente. L'accroissement se produit uniquement dans le cas ou l'échantillon est contaminé par le bacille typhique.

**4.2.3. Identification :**

Un bactériophage, lorsqu'il est spécifique d'une espèce bactérienne, peut être utilisé à des fins d'identification. Cela est particulièrement utile pour différencier des espèces très proches par leurs caractères physiologiques. Il existe, par exemple, des bactériophages spécifique de *Pasteurelle pestis*, capable de lyser toutes les souches de cette espèce quelle que soit leur provenance et inactifs sur les autres *Pasteurella*.

**4.2.4. Etude épidémiologique ( la lysotypie) :**

La taxonomie classe les bactéries en familles, en tribus, en genres et en espèces. Lorsqu'il s'agit d'espèces pathogènes responsables d'épidémies comme *Salmonella typhi*, l'étude de la filiation des cas exige souvent des renseignements très précis sur les germes. Les caractères biochimiques et antigéniques sont ici insuffisants. D'autres procédés permettent d'affiner l'identification dans un but épidémiologique beaucoup plus qu'à des fins de systématique. Ce sont par exemple la lysotypie ou < phage typing>.

# Chapitre III : Interactions entre Virus et Cellules

Les virus ne sont pas des organismes autonomes, ils dépendent de la cellule infectée pour la réplication de leur génome et la production de leurs constituants (protéines, enveloppe...). La multiplication virale dépend aussi de la présence d'autres virus dans la cellule infectée. Les virus entretiennent une relation particulière avec la cellule dans la mesure où ils en exploitent les ressources. Ils détournent le fonctionnement de la cellule à leur profit tout en la ménageant pour que les ressources cellulaires ne s'épuisent pas prématurément.
Par ailleurs, la cellule peut aussi réagir à la présence d'une infection en activant certains processus de défense anti-virale, comme la sécrétion de cytokines, en particulier les interférons, ou en déclenchant un programme de mort cellulaire programmée (apoptose) bloquant rapidement la réplication virale.

## 1. Les interactions virus/virus :

Les interactions virus/virus se rencontrent dans le cas d'infection d'une même cellule par plusieurs virus différents. Il existe plusieurs types d'interactions virus/virus.

### 1.1- Virus défectueux :

Un virus assistant, ou virus auxiliaire, est un virus intervenant dans la production de copies d'un vecteur viral dépendant, qui n'a pas la capacité de se répliquer de lui-même. Le virus assistant infecte les cellules en même temps que le vecteur viral et fournit les enzymes nécessaires pour la réplication du génome de ce dernier.
Un exemple classique de virus assistant est le virus de l'hépatite B qui est nécessaire pour la réplication et l'expression du virus de l'hépatite D.

Par exemple, chez les virus des plantes, la co-infection par un virus satellite est le plus souvent associée avec phytopathologie atténuée, par rapport avec une infection par le virus auxiliaire tout seul. En revanche, la co-infection par le virus de l'hépatite delta à tendance à exacerber la pathologie des infections par le virus de l'hépatite B.

**1.2- Stimulation** : L'infection d'une cellule par un virus permet la multiplication d'un autre virus déjà présent;

**Exemple** :

Pour se répliquer, le virus du fibrome du lapin *(Poxvirus)* provoque l'exaltation de divers virus à ARN.

**1.3- Interférence**: Il peut y avoir résistance d'un premier virus à la surinfection par un second virus, nous parlons alors d'interférence;

**Exemple** : En situation de co-infection avec le HSV1, le cytomégalovirus humain exerce une inhibition spécifique sur le cycle de multiplication du HSV1. Cette inhibition résulte de l'expression d'un gène très précoce ou précoce qui empêche la synthèse des protéines α, β et γ du HSV1.

**1.4- Recombinaison génétique classique** : C'est l'intégration d'une partie du matériel génétique d'un virus dans un autre virus;

**Exemple** :

*Picornaviridae, coronaviridae*.

**1.5- Réassortiment génétique**: Le réassortiment est un mécanisme non-classique de la recombinaison qui n'implique pas de cassure de l'acide nucléique du génome viral. Lorsque

les virus sont porteurs de plusieurs fragments comme le virus de la grippe, il peut y avoir échange de fragments, c'est le réassortiment génétique;

**Exemple :**

Les *influenzavirus A* de sous-type H5N1

**1.6- Réactivation génétique**: L'un des deux virus est inactif dans la cellule et l'arrivée du deuxième virus entraîne la réactivation de la multiplication;

**Exemple** :

Activation du VHB lors d'une infection par d'autres virus hépatotropes.

**1.7- Mélange phénotypique**:

En cas d'infection par deux virus, les virus descendants peuvent contenir des composants d'enveloppe ou de capside provenant de deux virus parents. C'est ce qu'on appelle le mélange phénotypique. Elle n'entraîne pas de modification dans le matériel génétique, et la descendance de ces virions sera déterminée par le génome à l'intérieure de la particule virale, et non par la nature de l'enveloppe ou de la capside à l'extérieur de la particule.

**Exemple :**

La nucléocapside d'un rétrovirus peut être associée avec l'enveloppe d'un rhabdovirus. Ce genre de mélange phénotypique est souvent appelé un pseudotype, et de telles particules sont désignées de pseudovirions.

**1.8. Parasitisme**

Récemment (septembre 2008), des chercheurs ont pu isoler dans une amibe un très petit virus qui s'appelle Sputnik, il est capable de détruire un autre virus géant qui s'appel le *Mamavirus.* On qualifie le virus Sputnik de « virophage ».

**2. Les intéractions virus/cellule :**

Du fait de leur parasitisme absolu, les virus ne peuvent se multiplier qu'au sein même des cellules vivantes. Cependant, l'infection d'une cellule par un virus ne conduit pas obligatoirement à la multiplication de ce dernier. La cellule est dite résistante lorsqu'elle ne permet pas l'adsorption du virus. La cellule est permissive, lorsqu'elle permet le développement d'un cycle viral complet. Il existe quatre types d'interactions virus-cellule:

1. l'interaction productive. Ce mode d'interaction conduit à la production effective de nouveaux virus. Lorsque cette production entraîne la lyse de la cellule, c'est à dire la mort de la cellule, nous parlons de cycle lytique. Si, au contraire, il y a multiplication sans mort cellulaire comme avec les rétrovirus, nous parlons de cycle végétatif;

2. l'interaction abortive. Dans certains cas, l'infection de la cellule par un virus n'aboutit pas à la production de nouveaux virus, le cycle est abortif. Ce phénomène se produit lorsque la cellule ne permet pas le développement complet du cycle de multiplication. La cellule est dite non permissive. Ce type d'interaction a lieu quand le virus infecte un hôte non naturel; ex : polyomavirus en cellules d'hamster ; le HSV en cellules canines.

3. l'interaction intégrative : le matériel génétique du virus s'intègre à celui de la cellule. Dans ce cas, le virus est transmis à toute la descendance de la cellule. Le génome persiste dans la cellule hôte, on l'appelle provirus. La persistance du provirus est accompagnée d'une expression continuelle de certaines parties des gènes viraux intégrés, ce qui se manifeste par la transformation tumorale chez les animaux et la transformation lysogénique chez les bactéries.

- Chez les virus ADN : seule une partie du génome viral s'exprime dans la cellule, le reste demeure silencieux. Son activation éventuelle conduit à la mise en route du développement du génome viral complet, c'est le phénomène d'induction.
- Chez les virus ARN : à l'interaction intégrative, se superpose une de type productif, c'est-à-dire la cellule porteuse du provirus est en même temps productrice de virus (elle se multiplie tout en excrétant des virus).

4. l'interaction persistante. Il existe deux types d'infections persistantes. Soit, toutes les cellules d'un même tissu sont infectées par un virus et produisent le virus en grande quantité sans subir de dommage. Nous sommes alors en présence d'une infection chronique. Soit une faible partie des cellules est infectée et produit le virus. Nous sommes alors en présence d'un état de porteur sain ; ex : les *Herpesvirus.*

**2.1. Modification du comportement cellulaire par les virus :**

Si les virus adaptent leur cycle de réplication au fonctionnement de la cellule, ils peuvent aussi considérablement modifier ce fonctionnement.

**2.1.1. Apport direct de composants**:

L'infection par un virus peut apporter à la cellule des acides nucléiques (génome viral), des protéines. Le génome viral codera une série de protéines structurales entrant dans la composition du virion : les capsomères, les glycoprotéines d'enveloppe, et non-structurales exprimée dans les cellules infectées, mais n'entrant pas dans la composition du virion. Les

protéines non-structurales ne sont détectées que dans la cellule infectée et sont, par définition, absentes des particules virales. Elles participent au processus de réplication virale et ont souvent pour rôle de modifier le fonctionnement de la cellule au profit du virus.

Certaines protéines non-structurales participent essentiellement ou uniquement au processus de réplication du virus. Un exemple type en est l'ARN-polymérase ARN-dépendante codée par les virus à ARN. D'autres protéines non-structurales sont produites par les virus pour modifier le fonctionnement de la cellule. Souvent, les protéines non-structurales virales peuvent avoir les deux fonctions: elles participent à la réplication du génome viral, tout en modifiant le fonctionnement cellulaire. Par exemple, la protéase 3C des picornavirus est requise pour assurer le clivage de la polyprotéine virale en ses composants mais elle clive aussi certaines protéines cellulaires, notamment impliquées dans la voie de l'apoptose.

### 2.1.2. Perturbation du cycle de réplication cellulaire:

De nombreux virus à ADN codent pour une ou plusieurs protéines qui favorisent la progression du cycle cellulaire vers la phase S (phase de synthèse des acides nucléiques), de manière à pouvoir exploiter les métabolites et enzymes produits au cours de cette phase pour assurer la réplication de leur propre génome.

Une conséquence de cette activité est que ces virus ont souvent pour effet de favoriser la mitose avec pour conséquence la possibilité de provoquer l'immortalisation et la transformation cellulaire. Ceci ne survient cependant qu'en cas d'échec du cycle lytique. Des exemples types de telles protéines virales sont la protéine T produite par les *Polyomaviridae* (SV40 ou le virus polyoma) ou les protéines E6 et E7 codées par les *papillomavirus*.

### 2.1.3. Perturbation de l'expression des gènes cellulaires:

L'expression de gènes cellulaires peut être activée ou inhibée par certaines protéines virales. Par exemple, la protéine *Tax* du virus HTLV-I peut activer l'expression de gènes de cytokines comme l'IL-13 ou moduler le cycle cellulaire en activant l'expression de la protéine suppresseur de tumeurgène dont la mutation est souvent responsable de l'immortalisation cellulaire et de la formation de tumeurs.

### 2.1.4. Perturbation du trafic des composants cellulaires:

Les virus à ARN ont le plus souvent un cycle de réplication cytoplasmique car ils ne requièrent pas les enzymes nucléaires de la cellule. Néanmoins, la réplication de ces virus peut être favorisée par la présence de facteurs cellulaires, normalement présents dans le noyau. Plusieurs *Picornavirus* ont, par exemple, développé une stratégie visant à perturber le fonctionnement des pores nucléaires pour entraîner une redistribution de protéines nucléaires vers le cytoplasme, où elles s'associent avec le génome viral pour en faciliter la réplication ou l'expression.

## 3. Mécanismes de défense des cellules :

Le premier niveau de résistance à une infection virale est le niveau cellulaire. Les mécanismes de résistance, induits par l'infection virale, peuvent être passifs ou actifs.

### 3.1. Résistance intrinsèque (constitutive ou induite) :

On appelle résistance intrinsèque une propriété de la cellule qui empêche l'infection ou la réplication du virus. Les cas les plus simples sont les cellules dépourvues de récepteur à un virus donné ou, par exemple les globules rouges (dépourvus de noyaux), qui ne permettent pas la réplication de virus à ADN. Certaines cellules expriment des protéines qui répriment la réplication de virus spécifiques. Par exemple, les lymphocytes T de singe Rhésus expriment une protéine appelée Trim5a, qui inhibe les premières étapes de l'infection de la cellule par le virus du Sida (HIV). On pense qu'il y aurait une interaction entre Trim5a et la nucléocapside virale qui empêcherait la décapsidation et la rétrotranscription.

### 3.2. Granules de stress et P Bodies :

Une cellule infectée peut, suite au stress lié à l'infection, enclencher différents programmes de défense intracellulaire menant à la compaction, sous forme d'agrégats, d'ARNs messagers dont la traduction est bloquée. Les ARNm sont alors rassemblés dans des complexes cytoplasmiques spécialisés appelés "granules de stress" et "PBodies (Processing Bodies)". Les granules de stress sont des complexes protéiques qui se forment et séquestrent les ARNm et les composants du système de traduction, en les maintenant temporairement dans un état inactif. La formation de ces complexes est notamment initiée par des kinases comme PKR ou PERK qui phosphorylent le facteur de traduction eIF2a, et bloquent ainsi l'initiation de la traduction des ARNm. Ce phénomène est réversible. Les PBodies sont des structures similaires qui assurent la dégradation progressive des ARNm.

### 3.3. RNAi et silencing :

L'interférence à ARN (RNAi: "RNA interference") est un ensemble de processus basés sur l'activité d'ARNs de petite taille appelés micro-ARNs (miRNA) ou "silencer RNA" (siRNA) qui peuvent, par complémentarité de séquence nucléotidique, bloquer la traduction d'ARN messagers spécifiques ou entraîner leur dégradation. Ce processus implique généralement la formation de "PBodies". Les miRNA sont des molécules d'ARN exprimées dans la plupart des cellules. Plus de 400 miRNA distincts ont été identifiés chez l'homme. Ils participent à des fonctions physiologiques comme le développement embryonnaire et la différenciation cellulaire. Dans la mesure où leur action est spécifique d'une séquence donnée, on pense qu'ils sont susceptibles d'interagir avec les ARNm produits par les virus à ADN ou avec les ARN génomiques ou messagers des virus à ARN. Les miRNA cellulaires peuvent fortement inhiber la réplication de virus à ARN dans lesquels une séquence cible des miRNA a été insérée.

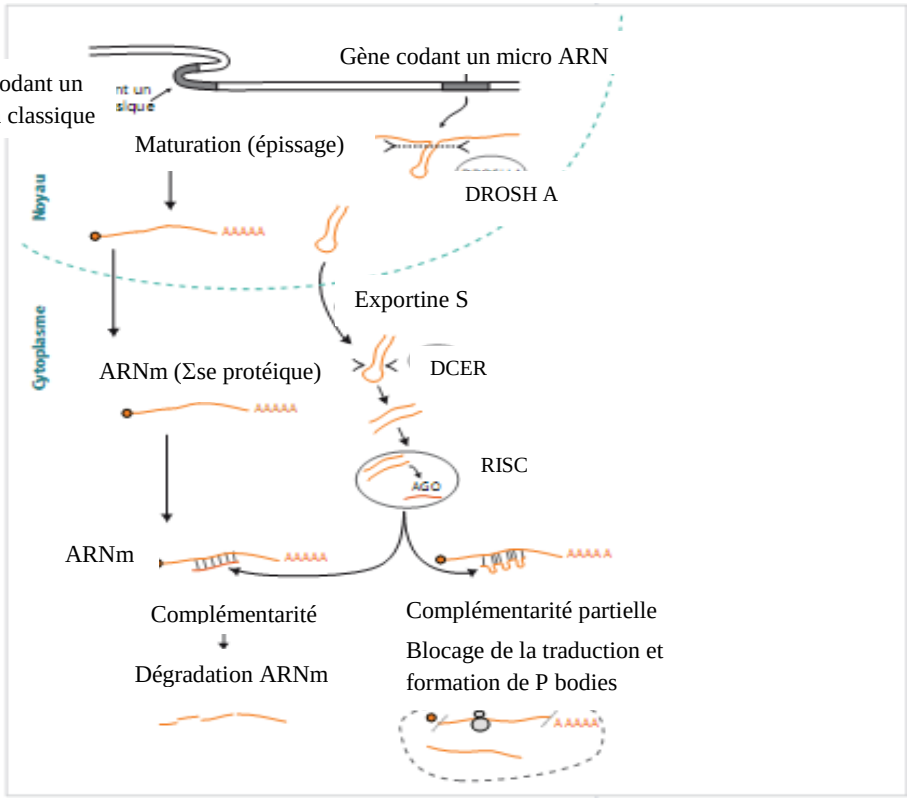



**Figure1 :** Interférence à ARN.

1. Transcription d'un pri-miRNA (primary miRNA) : ARN formant une structure tige boucle. Ce pri-miRNA peut contenir une ou plusieurs de ces séquences "tiges boucles" destinées à devenir des miRNA.
2. Clivage de la structure tige-boucle pour former un "pré-miRNA" par un complexe nucléaire impliquant une endonucléase de la famille Drosha.
3. Exportation du pré-miRNA du noyau vers le cytoplasme, par l'exportine 5.
4. Clivage du pré-miRNA par un complexe impliquant la nucléase DICER. Ce clivage libère un miRNA: ARN double brin ("brin passager" et "brin guide").
5. Enfin, un complexe nommé RISC, comportant des enzymes de la famille "argonaute" (Ago), dégrade le brin "passager" de l'ARN double brin, en maintenant le brin "guide".
6. Le brin guide maintenu dans le complexe RISC est alors hybridé par complémentarité de séquence, à un ARNm cible.
7. L'appariement du brin guide du miRNA à l'ARNm cible entraîne l'acheminement de ces ARNm vers des stuctures cellulaires de types "P-Bodies" où ils seront dégradés ou vers les "granules de stress" où ils subissent l'inhibition de la traduction. En cas de complémentarité totale du miRNA et de l'ARNm cible, il y aura plutôt dégradation. En cas de complémentarité partielle, on assistera plutôt à l'inhibition de la traduction.

### **3.4. Mort cellulaire et autophagie** (apoptose - autophagie - nécrose) :

Suite à un stress ou une infection, la cellule peut subir des dommages qui mènent à sa mort de manière non-contrôlée, on parle alors de nécrose. La cellule peut parfois réagir en enclenchant un programme de suicide cellulaire bien régulier appelé apoptose. Lors d'une carence en nutriments ou suite à un stress moins important, la cellule peut entreprendre un cycle de dégradation de portions de son cytoplasme par un mécanisme appelé autophagie.

#### **3.4.1. Nécrose :**

C'est une mort cellulaire dite "accidentelle" qui survient lors d'un dommage tissulaire et qui implique des groupes de cellules. Lors de la nécrose, la cellule gonfle puis la membrane

cellulaire éclate déversant le contenu cellulaire dans le tissu environnant et provoquant localement une inflammation. Cette inflammation est provoquée par la présence d'enzymes et de substances inflammatoires présentes dans le cytoplasme. Les organelles (notamment les mitochondries et le noyau) restent intactes tout au long de ce processus.

### 3.4.2. Apoptose :

L'apoptose (du grec : chute des feuilles en automne), découvert en 1972, est une forme « physiologique » de mort cellulaire, c'est un suicide cellulaire hautement régulée et qui est indispensable à la survie des organismes pluricellulaires. Morphologiquement, l'apoptose correspond à une rétraction progressive de la cellule, avec condensation de la chromatine et du cytoplasme, suivie d'une fragmentation caractéristique de l'ADN aboutissant à la formation de fragments cellulaires ou corps apoptotiques. Les organites intracellulaires contenus dans les corps apoptotiques sont structurellement intacts. Le mécanisme de l'apoptose met en œuvre une cascade de réactions assurées par des facteurs présents à l'état latent dans les cellules. Parmi ces acteurs, les caspases (protéases) jouent un rôle important en assurant une cascade ordonnée d'événements protéolytiques. On note aussi l'activation de nucléases qui coupent l'ADN chromosomique au niveau des nucléosomes en formant ainsi une échelle caractéristique de segments d'ADN de tailles multiples d'environ 200 nucléotides.

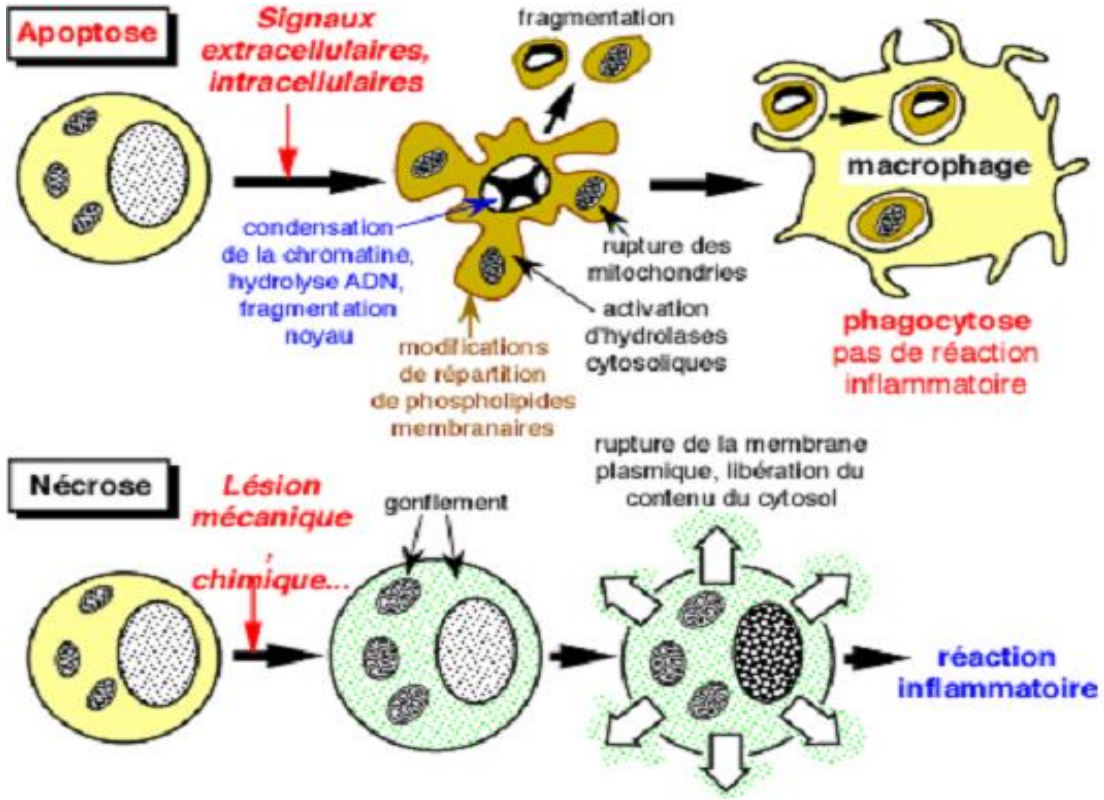



**Figure 2 :** Apoptose et nécrose

L'apoptose est la segmentation du noyau cellulaire puis de la cellule elle même en multiples fragments conduisant à la perte de viabilité cellulaire. Les corps apoptotiques formés sont ensuite phagocytés par les macrophages ou des cellules épithéliales de voisinage normales. La formation de corps apoptotiques avec membrane plasmique intacte prévient le relargage des constituants intracellulaires et donc la réaction inflammatoire. En ce sens, l'apoptose doit être distinguée de la nécrose qui aboutit à l'éclatement de la cellule suivi d'une réaction inflammatoire locale. Le fait que tous les acteurs de l'apoptose soient présents à l'état latent dans la cellule, permet que le processus soit très rapide (< 2 heures). Suite à une infection virale, une cellule peut déclencher un processus d'apoptose de sorte que la cellule meure avant que le virus n'ait pu réaliser son cycle de réplication. Il s'agit donc d'un processus très efficace pour limiter la dispersion des virus. La cellule se suicide pour protéger les cellules voisines.

La nécrose donne finalement l'image d'un phénomène anarchique et désordonné à caractère explosif, tandis que l'apoptose est un processus actif et bien contrôlé d'implosion cellulaire.

**Tableau 1 :** Différence entre apoptose et nécrose.

| Principales différences entre apoptose et nécrose | | |
|---|---|---|
| | **APOPTOSE** | **NECROSE** |
| Evénement | Actif, programmé (activation de gènes spécifiques) | Passif, accidentel |
| Stimulus | Physiologique ou pathologique | Pathologique |
| Morphologie | | |
| Volume cellulaire | Diminution | Augmentation |
| Chromatine | Condensation | Pas de condensation |
| Organites | Maintien global | Dilatation du RE, des mitoch |
| Membrane plasmique | Perte tardive d'asymétrie membranaire: la phosphatidylsérine passe sur le feuillet externe Bourgeonnement, constitution de corps apoptotiques | Rupture cellulaire |
| Cellules voisines | Phagocytose des corps apoptotiques par les macrophages | Libération du contenu intracellulaire (dont substances inflammatoires au contact des cellules voisines qui sont lésées |
| Inflammation | Non | Oui, nécessite une réparation |
| ADN | Fragmentation internucléosomale régulière (échelle) | Fragmentation irrégulière et aléatoire |

### 3.4.3. Autophagie :

Lorsqu'une cellule subit une carence en éléments nutritifs ou en facteurs de croissance, elle peut initier un processus de destruction/recyclage local, intracytoplasmique, appelé "autophagie". Ainsi, la destruction d'organites, la dégradation de protéines et d'acides nucléiques permet de récupérer certains composés de base du métabolisme comme des acides aminés, des bases, etc. L'autophagie peut aussi survenir suite à un stress comme une infection virale. Elle est considérée comme un moyen limité de contrecarrer la réplication de certains virus, en les englobant dans les structures à dégrader. Il semble que, dans certains types de cellules, l'autophagie permette aussi d'activer la réponse immunitaire acquise, en assurant la

récupération intracellulaire d'antigènes viraux et leur présentation sur les molécules HLA. Lorsque l'autophagie est induite à un point irréversible, elle peut se transformer en processus apoptotique.

### 3.4.4. Les interférons (IFNs) de type I et de type III :

Les interférons ; protéines messagères sécrétées par les cellules; sont produits par les cellules animales en réponse à la détection de molécules "anormales", le plus souvent suite à une infection virale. Elles ont pour but de sensibiliser les cellules avoisinantes qui possèdent des récepteurs pour ces IFNs. La réponse IFN est un système à deux composants, Elle implique, d'une part, la production d'IFN par une cellule ayant détecté la présence d'une infection, via des protéines "senseurs", et, d'autre part, une série de cellules qui répondent à la présence de l'interféron, suite à la fixation de celui-ci sur un récepteur spécifique. Le traitement de cellules par l'IFN induit l'expression de plusieurs centaines de gènes (ISG pour "IFN stimulated genes") dont les produits sont impliqués dans la résistance des cellules à l'infection virale mais aussi dans la modulation de la réponse immunitaire systémique et dans la croissance cellulaire.

Il existe 3 types d'interférons:

- Les IFNs de type I sont une famille de plus de 20 cytokines incluant les nombreux sous-types d'IIFN-α, l'IFN-β, l'IFN-ω, l'IFN-κ, etc. Leur action est principalement antivirale.
- L'IFN de type II est l'IFN-γ, une molécule immunorégulatrice produite par les cellules du système immunitaire. Il reconnaît un récepteur différent. Il possède aussi une certaine activité antivirale.

- Les interférons de type III sont les IFNs-λ. Bien qu'ils reconnaissent un récepteur distinct de celui des IFNs de type-I, ils ont une activité très similaire dans les cellules cibles de type-I (IFNs-α/β).

**Les interférons de type I** :

Appelés aussi IFN-α/β, utilisée par la cellule comme messager pour une autre cellule de l'organisme possédant un récepteur pour la cytokine en question. Ils jouent un rôle majeur dans le contrôle de l'infection virale. Le rôle incontournable de l'interféron sur les infections virales est illustré par la sensibilité extrême de souris dépourvues de récepteur aux IFNs de type I, face à l'infection par divers virus. Chez l'homme, le rôle majeur de l'IFN est illustré par le fait que des mutations de la voie IFN aient été identifiées dans le génome de nouveaux nés morts d'encéphalites virales fulminantes.

**Les interférons de type III ou IFN-λ** :

Ont été découverts récemment. Bien qu'ils interagissent avec un récepteur différent de celui des IFNs de type I, ils induisent une cascade de signalisation très semblable à celle des IFNs de type I et stimulent l'expression des mêmes ISGs. La spécificité de la réponse aux IFN-λ proviendrait de l'expression différentielle de leur récepteur. Alors que la quasi-totalité des cellules expriment le récepteur aux IFNs de type I, l'expression du récepteur à l'IFN-λ semble principalement restreinte aux cellules épithéliales de l'organisme. L'IFN-λ serait donc essentiellement impliqué dans la défense des épithéliums contre l'entrée des virus.

**4. Contre-mesures virales :**

Le génome viral, vu la rapidité de la réplication, évolue beaucoup plus rapidement que le génome de son hôte. Les virus s'adaptent constamment aux défenses mises en place par l'organisme. Les défenses mises en place par les virus peuvent être globales ou spécifiquement dirigées contre un mécanisme de défense de l'hôte. On peut citer le cas de nombreuses protéines virales qui inhibent de manière non-spécifique l'expression de protéines cellulaires, en inhibant soit la transcription, soit la traduction. Parmi les défenses spécifiques, il est remarquable que la majorité des virus animaux/humains codent pour des protéines qui interfèrent avec le processus d'apoptose ou avec la voie interféron. Ceci souligne l'importance de ces 2 mécanismes dans la défense de l'organisme face aux infections virales.
Parmi les réactions virales aux défenses cellulaires, on note :

**- Des mesures globales :**

- Inhibition de la transcription, de l'épissage ou de la traduction : permet de détourner la machinerie cellulaire au profit de la réplication virale et d'empêcher la production de signaux de défense (IFNs) par les cellules infectées.
- Interférence avec le trafic nucléo-cytoplasmique : permet au virus de recruter certains composants d'un autre compartiment cellulaire et aussi d'inhiber la régulation d'une série de systèmes de défense cellulaires.
- Interférence avec les voies de sécrétion des protéines : permet au virus d'inhiber la sécrétion de cytokines et chimiokines, impliquées dans la stimulation du système immunitaire.

**- Des mesures spécifiques:**

- Protéines anti-apoptotiques : la plupart des virus à ADN et certains virus à ARN codent pour une protéine qui module le timing de l'apoptose cellulaire, soit en la retardant, soit en l'activant.
- Inhibition de la production et de la réponse IFN : presque tous les virus animaux produisent au moins une protéine destinée à antagoniser la production d'IFN ou la réponse à cette cytokine.
- Inhibiteurs de silencing produits par de nombreux virus de plantes.

## Chapitre VI : Diagnostic viral

**Introduction :**

La majorité des infections virales présentent un tableau clinique très évocateur et régressent d'elles-mêmes sans que le clinicien ait recours au diagnostic virologique. Par contre, dans certaines situations, le diagnostic précis d'un virus responsable de la pathologie observée est nécessaire et il faut faire appel au laboratoire de Virologie pour :

- Apporter la preuve de l'origine virale des signes cliniques observés et diagnostiquer le virus en cause (ex : hépatites, herpès) suivre l'évolution biologique de l'infection (ex : quantification du virus dans le sang : VIH, VHB, VHC),
- Suivre une évolution biologique de l'infection (ex : VIH, Hépatite B),
- Permettre une décision thérapeutique et juger de l'efficacité des traitements antiviraux (ex : traitement d'une infection à cytomégalovirus par ganciclovir),
- Prévenir la transmission d'infections virales à l'occasion du don de sang, d'organes et de tissus,
- Apprécier l'état immunitaire (ex : rubéole),
- Etudier les marqueurs sériques en population (ex : enquêtes de prévalence, études épidémiologiques.

Le diagnostic virologique doit se fair uniquement dans des conditions précises. Les infections virales fréquentes chez les sujets immunodéprimés nécessitent tout particulièrement des diagnostics rapides et le suivi des traitements antiviraux. Le diagnostic virologique fait appel à deux groupes de techniques réalisant :

- soit la mise en évidence du virus ou de ses constituants,

- soit celle de la réponse immunitaire spécifique.

**V.1. Recherche de Virus et de ses constituants :**

**1-1. les prélèvements :**

Différents types de prélèvements peuvent être utilisé pour la recherche de virus. On peut utiliser le sang (virémie), les selles, les sécrétions nasales, les urines, les prélèvements cutanés (vésicules, ulcérations), les prélèvements génitaux, les liquides de lavage broncho-alvéolaire (LBA), les liquides céphalo-rachidien (LCR).

Les virus sont fragiles, ils sont présents dans les cellules infectées qui elles-mêmes survivent dans des conditions particulières. Plusieurs éléments conditionnent la réussite d'un bon prélèvement l'aboutissement au diagnostic d'une infection virale:

- Le prélèvement doit être bien fait (quantité suffisante, bonnes conditions de transport, transfert rapide vers le laboratoire),
- Le choix du site de prélèvement doit être fait selon les signes cliniques, selon les virus recherchés et en fonction de la physiopathologie de l'infection virale,
- L'identification du nom, prénom date de prélèvement et lieu de prélèvement sont indispensables; les principaux signes cliniques peuvent aider et orienter la recherche des virus (feuille de prescription systématiquement associée aux tubes).

Les contacts et discussion avec le virologue peuvent guider et faciliter les recherches et les explorations à réaliser. Il faut souligner le caractère infectieux des prélèvements (Hépatite B, VIH) qui imposent un conditionnement protégé et propre (sac plastique).

**1-2. Les techniques de détection de virus et des constituants :**

**A. La recherche de virus par cultures cellulaires :**

Pendant longtemps les techniques d'isolements de virus en cultures cellulaires étaient les plus utilisées, elles sont de plus en plus abandonnées au profit des techniques de détection des antigènes viraux et surtout de celles d'acides nucléiques (PCR). Cependant, il peut être utile de faire des isolements de virus pour préparer des stocks importants de virus complets vivants et infectieux (caractérisation des types de souches virales : épidémies, recherche de mutations de résistance au traitement : HIV, CMV, HBV). Les cultures cellulaires utilisent des lignées de cellules d'origine humaine ou animale. On citera les cellules épithélioïdes humaines en lignée continue (Hela, Hep, KB) ou les cellules fibroblastiques humaines (MRC5 : pour les CMV). Les signes de multiplication virale induisent l'apparition de l'effet cytopathogène (ECP) défini par un changement de l'aspect des cellules, visible en microscopie optique (accumulation des virus produits ou des antigènes dans le noyau, ou dans le cytoplasme des cellules infectées). On peut observer des modifications de la nappe cellulaire par examen au microscope. On peut aussi colorer les cellules pour identifier les inclusions. Les techniques de culture de virus sont indispensables pour effectuer des titrages de virus et quantifier le nombre de virus infectieux. Elles restent à la base des techniques de recherche de molécules antivirales (screening d'antiviraux).

**B. La recherche des génomes viraux :**

Les techniques de PCR sont les plus utilisées. Elles sont sensibles, elles sont spécifiques de chaque type de virus. Les appareils de PCR en temps réel constituent un progrès important puisqu'ils permettent des diagnostiques rapides ; de plus le coût de ces

techniques est peu élevé. L'application de ces techniques permet le diagnostic d'infections à Cytomégalovirus, (CMV) et Eptein-Barr-Virus (EBV), adénovirus, herpès-virus…. Elles sont quantitatives et permettent de suivre l'efficacité d'un traitement antiviral.

**C. La recherche des antigènes viraux :**

La recherche des antigènes viraux consiste à identifier l'infection virale directement au sein des cellules infectées présentes dans les prélèvements des patients. Le meilleur exemple est celui du diagnostic des infections respiratoires. A partir des prélèvements naso-pharyngés, on peut rechercher les antigènes viraux dans les cellules du nez ou de la gorge et dans les LBA. Les virus grippaux, le virus respiratoire syncitial (VRS), les virus para-influenzae s'accumulent dans le cytoplasme des cellules infectées. Les antigènes viraux peuvent être visualisés par technique d'immuno-fluorescence, en utilisant des anticorps spécifiques de chaque virus marqués par la fluoréscéine. On utilise des anticorps monoclonaux. Cette technique est simple et rapide (une à deux heures), elle permet de rechercher simultanément plusieurs virus sur un même prélèvement.

**D. la recherche de virus résistants :**

La technique la plus utilisée est celle du séquençage des gènes cibles (ex : reverse-transcriptease, protéase du HIV). L'analyse des séquences obtenues permet d'identifier les mutations induites par la réplication virale en présence d'antiviral (concentration insuffisante, mais difficile à augmenter du fait du risque de toxicité). Chaque traitement antiviral induit des modifications conformationelles particulières de l'enzyme et des modifications spécifiques

des séquences. Ces techniques sont lourdes et chères ; elles permettent d'arrêter un traitement inefficace, d'adapter des doses et/ou de choisir un nouveau traitement.

## 2. Recherche des anticorps, Sérologies Virales :

### 2-1. Objectifs

L'infection virale est le plus souvent suivie par une réponse immunitaire humorale traduite par la production d'anticorps spécifiques des antigènes du virus (immunoglobulines IgG et IgM). La connaissance d'un statut sérologique présente différents intérêts : elle permet de connaître l'état immunitaire du sujet : un titre positif permet d'affirmer que le sujet est immunisé et a rencontré une fois le virus dans sa vie (CMV, HIV, Rubéole) ou bien qu'il est vacciné (hépatite B). Elle permet aussi de suivre l'évolution de l'infection virale (anticorps anti HBc et HBs).

### 2-2. Prélèvements :

Les anticorps sont présents dans les différents liquides biologiques de l'organisme et notamment dans le sang périphérique (plasma ou sérum selon que le sang est prélevé avec ou sans anticoagulant). Cinq à dix millilitres de sang veineux suffisent pour effectuer la recherche de plusieurs marqueurs ou faire plusieurs sérologies. Les échantillons de plasmas ou de sérums se conservent au congélateur et doivent être gardés un an par le laboratoire (sérologie rubéole).

**2-3. Techniques :**

Différentes techniques sont utilisées : ELISA, agglutination, Western blot et immunoblot. L'ELISA est devenue la technique la plus utilisée car elle est rapide simple spécifique et adaptable sur automate. Elle permet d'utiliser différents types d'antigènes : lysats de virus, protéines virales natives, protéines de recombinaison génétique ou peptides de synthèse. Ceci permet des sérologies analytiques selon les antigènes utilisés (exemple suivi de l'infection par le virus de l'hépatite B).

# Chapitre V : Epidémiologie des maladies virales

## 1. La propagation des virus dans l'organisme :

### I.1. Les portes d'entrée des virus :

#### I.1.1. La peau :

Constitue à priori une barrière du fait de cellules mortes qui ne peuvent être le support de la réplication virale, cependant les virus peuvent pénétrer par voie cutanée en cas :

- d'abrasions ou de lésions (ex : variole, molluscum contagiosum),
- de piqûres d'insectes (ex : arbovirus, flavivirus : virus de la fièvre jaune)
- de morsure d'animal (ex : rage)
- de piqûres par aiguilles ou tatouages (ex : HBV, fièvres hémorragiques)

#### I.1.2. La voie sanguine :

- Transfusion de globules ou plasma (ex : HBV, HCV, VIH)
- Toxicomanie intraveineuse (ex : HBV, HCV, VIH)

#### I.1.3. La conjonctive :

- Piscines, contacts accidentels, mains souillées (ex : HSV, VZV, adénovirus, entérovirus).

**I.1.4. La voie respiratoire** :

Les virus qui sont excrétés dans l'air ambiant sont inhalés par aérosols. Le tractus respiratoire est à priori constitué d'une barrière : le mucus, qui s'oppose à l'implantation d'agents pathogènes ; il est secrété par les cellules caliciformes, il peut contenir des IgA spécifiques. Le bon état général de l'épithélium nasal est un des facteurs de protection contre les infections des voies respiratoires. Les macrophages de l'arbre respiratoire ont pour rôle la destruction des virus, notamment les macrophages des alvéoles pulmonaires. Certains virus induisent des infections respiratoires hautes qui restent localisées (ex : les rhinovirus responsables de rhumes). D'autre virus peuvent diffuser à tout l'arbre respiratoire : larynx, trachées, bronches, poumons (ex : virus de la grippe, para-influenzae, virus respiratoire syncytial ou VRS). Enfin, certains virus pénètrent par voie respiratoire ou ils peuvent établir une infection localisée. Ils diffusent ensuite à tout l'organisme (ex : virus de la rougeole).

**I.1.5. La voie génitale :**

De nombreuses infections virales sont des infections sexuellement transmises (IST). Certains virus sont présents dans les lésions (lésions génitales dues à HSV-1 ou HSV-2). D'autres virus peuvent être présents dans les sécrétions génitales (sperme, sécrétions vaginales) sous forme de particules virales libres (VIH, VHB, VHC) ou sous forme intégrée dans des lymphocytes et des monocytes circulants (VIH, CMV).

**I.2. Les voies de dissémination :**

La diffusion des virus dans l'organisme se fait par voie lymphatique : ce sont les macrophages qui véhiculent les virus jusqu'aux tissus, organes lymphoïdes périphériques proches de la porte d'entrée (ganglions, amygdales, plaques de Peyer…). La diffusion aux ganglions est essentielle puisqu'ils vont être le site d'une réplication virale permettant une amplification du nombre de virus qui vont pouvoir diffuser par voie sanguine. La virémie définit la présence de virus dans le sang, soit sous forme de particules virales libres dans le plasma (poliovirus, flavivirus, VHB, VHC, VIH), soit sous forme associée aux leucocytes (rougeole) aux macrophages (VIH), aux lymphocytes (EBV, VIH) aux érythrocytes (virus de la vallée du Rift).

La virémie est maintenue par la réplication dans d'autres organes qui ont été infectés. De nombreux virus peuvent se multiplier dans le foie, la rate, la moelle, les endothéliums des vaisseaux. La virémie peut aussi être entretenue par une réplication virale au sein des leucocytes eux-mêmes (CMV, EBV, VIH).

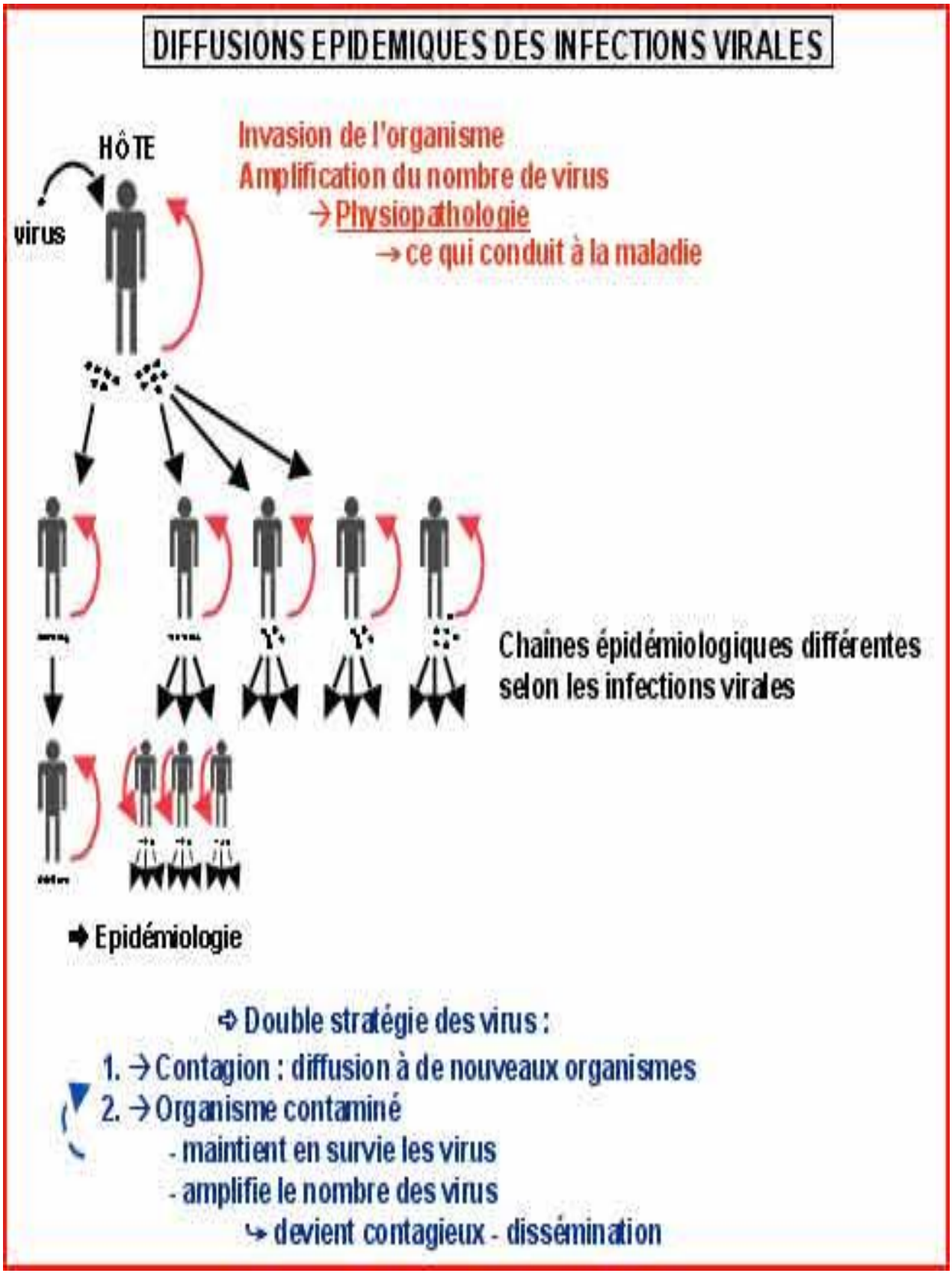



**Figure 1 :** Propagation d'une infection virale.

### 1.3. L'atteinte de l'organe-cible :

Les voies sanguine et lymphatique vont permettre l'acheminement des virus vers l'organe-cible qui peut être :

#### 1.3.1. La peau :

Macules, papules, vésicules sont dues à des infiltrats cellulaires et/ou à la réplication virale locale (ex : varicelle). Dans le cas de la rougeole, la physiopathologie de l'infection est différente, le rash est dû à la réponse immunitaire inflammatoire (présence de complexes Antigènes/Anticorps).

#### 1.3.2. Le système nerveux central :

Certains virus peuvent diffuser par voie nerveuse (ex : la rage, VZV, HSV) et atteindre le cerveau. Les virus polio, les flavivirus, et les HSV peuvent induire des lésions cérébrales du fait de réplication virale locale et d'un effet lytique de l'infection virale : nécrose cellulaire, phagocytose par les cellules gliales et infiltration péri-vasculaire peuvent être associées. La réplication virale n'est pas toujours présente, dans certains cas l'effet délétère est lié à un mécanisme auto-immun (présence d'une réaction inflammatoire locale très forte et absence d'isolement de virus à partir du LCR ; ex : encéphalite post rougeoleuse).

Le schéma présentant les mécanismes de diffusion des virus dans l'organisme fait apparaître plusieurs étapes de diffusion avec pour chacune une phase de réplication indispensable pour amplifier un stock viral. Plus le nombre d'étapes est élevé et l'atteinte de l'organe cible tardive, plus l'incubation de la maladie sera longue. A l'inverse, la grippe qui implique une

réplication virale au niveau de la porte d'entrée aura un temps d'incubation très court. Le foie peut constituer l'organe-cible, il peut aussi constituer un site de réplication intermédiaire, avec une réplication virale qui sera transitoire Des sites secondaires de réplications virales sont souvent établis : il s'agit notamment des reins, des glandes salivaires et du poumon qui sont à l'origine d'excrétions virales.

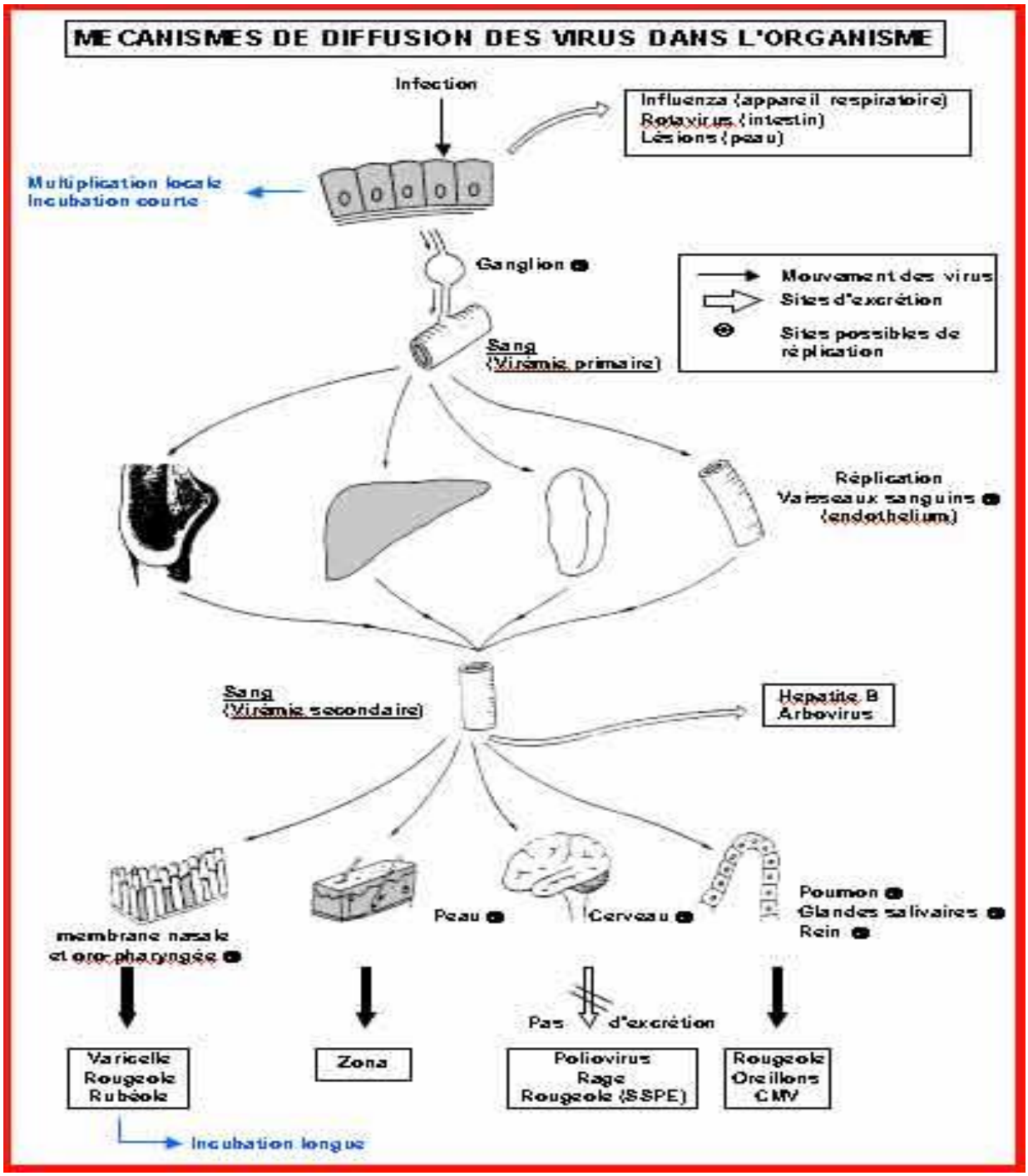



**Figure 2 :** diffusion du virus dans l'organisme.

### 1.4. Les voies d'excrétion des virus:

L'excrétion de virus par l'organisme infecté constitue la dernière étape du cheminement des virus dans l'organisme. Les objectifs sont la contamination d'autres sujets : pour le maintien de la survie des virus dans la population (maintien de la chaîne épidémiologique). Le sujet infecté doit éliminer du virus (dans le cas de la rage, l'homme n'excrète pas de virus, c'est un hôte accidentel, la chaîne est rompue).

Différents territoires de l'organisme peuvent être porteurs de virus et donc à l'origine de transmissions virales :

#### 1.4.1. La salive :

Les glandes salivaires peuvent être un site de réplication virale supplémentaire et diffèrent de l'organe-cible. La salive conduit à des transmissions virales lors de contacts proches (ex : les baisers : EBV, CMV).

#### 1.4.2. L'arbre respiratoire :

Tousser, se moucher, parler diffusent très facilement des virus présents dans la gorge et le tractus respiratoire (ex : virus respiratoires, rhinovirus, virus grippaux, VRS, autres virus : rougeole, EBV, HSV).

#### 1.4.3. La peau :

Lésions (ex : HSV, Varicelle VZV, rougeole).

**1.4.4. Le tube digestif :**

Très nombreux virus sont présents dans les selles (adénovirus, rotavirus, coxsakievirus, poliovirus, coronavirus, entérovirus).

**1.4.5. Le tractus urinaire :**

Présence de virus dans les urines (ex : oreillons CMV, rougeole).

**1.4.6. Le lait maternel :**

Ex :VIH, HLTV.

**1.4.7. Le sang :**

Et le don d'organe (ex : VIH, VHB, VHC, CMV, HTLV).

**1.4.8. Les sécrétions génitales :**

Les virus sont présents dans les leucocytes, le liquide séminal, le liquide vaginal, mais aussi dans les cellules muqueuses et le col utérin (ex ; HSV 1 et HSV 2, CMV, VHB, VIH).

**2. Manifestations cliniques liées aux infections virales :**

**2.1. Les infections virales aigues :**

La majorité des infections virales sont aiguës. L'exemple type est celui de la grippe, des gastro-entérites qui aboutissent après plusieurs jours de manifestations cliniques (liées à la fois à la réplication virale et à la réponse immunitaire) à l'éradication de l'infection avec une immunité protectrice définitivement établie contre le type de virus en cause. L'évolution des

maladies virales aiguës dépend de la virulence du virus et de l'hôte. Les réactions de défense sont différentes d'un sujet à l'autre qu'elles soient spécifiques ou non spécifiques. Nombreuses infections virales aiguës sont asymptomatiques : la réplication virale peut passer totalement inaperçue. Seule la présence d'anticorps révèle la trace de l'infection (ex : la rubéole : 50% des femmes immunisées n'ont pas développé de symptômes cliniques ; autres exemples CMV, EBV).

**2.2. Les infections virales persistantes :**

La persistance de virus dans l'organisme est due au fait que la réponse immunitaire est insuffisante pour éliminer les cellules infectées et bloquer définitivement la réplication virale. Il existe deux modes de persistance virales : les infections latentes et les infections chroniques.

**Les infections latentes** sont observées pour les virus capables d'intégrer leur génome viral dans le génome cellulaire (ex : virus du groupe Herpès : HSV, CMV, EBV, VZV et le VIH : la reverse transcription du génome ARN en ADN double brin permet cette intégration au génome cellulaire). Plusieurs mécanismes de réactivation des génomes viraux induisent une nouvelle réplication virale dans l'organisme à l'origine d'infections récurrentes différentes selon les virus en cause.

Au cours des **infections chroniques**, le virus persiste et la réplication virale se poursuit malgré la réponse immunitaire qui s'avère insuffisante (ex : hépatite B chronique). La balance avec la réponse immunitaire est en faveur du virus ; cependant, même après plusieurs années le phénomène peut basculer et la réplication virale s'arrêter.

**3. Evolution de l'infection virale d'un individu :**

L'infection d'un individu (à l'instar de l'infection d'une cellule) peut être abortive, persistante, latente, ou aiguë :

**3.1. L'infection abortive** :

Se manifeste par la disparition rapide du virus, liée à une faible capacité infectieuse (rareté ou absence de récepteur, absence d'un facteur cellulaire nécessaire à la réplication...).

**3.2. L'infection aiguë :**

C'est l'infection la plus classique. Elle se manifeste par une réplication et une propagation rapides du virus. En absence d'une réponse immunitaire appropriée, une telle infection peut évoluer en **infection fulminante**, c'est-à-dire une propagation très rapide et non contrôlée de l'infection, souvent mortelle. En cas de fonctionnement adéquat de la réponse immunitaire, les infections aiguës sont généralement rapidement contrôlées.

**3.3. L'infection persistante :**

Certains virus peuvent provoquer des infections persistantes à savoir qu'ils se répliquent en continu dans leur hôte malgré la réponse immunitaire. Cependant, le contrôle par la réponse immunitaire maintient la quantité de virus faiblement évolutive. Un exemple type d'infection persistante est l'infection par le virus de l'hépatite c.

### 3.4. L'infection latente :

Après la primo-infection, le virus persiste dans l'organisme, mais en absence de réplication active (maintien du génome dans certaines cellules avec peu ou pas de réplication). Néanmoins, lors de certains épisodes de "réactivation", la réplication et l'infection du virus reprend avant d'être à nouveau contrôlée par le système immunitaire. Nous voyons ce type d'infection chez l'homme essentiellement avec les *Herpesviridae*.

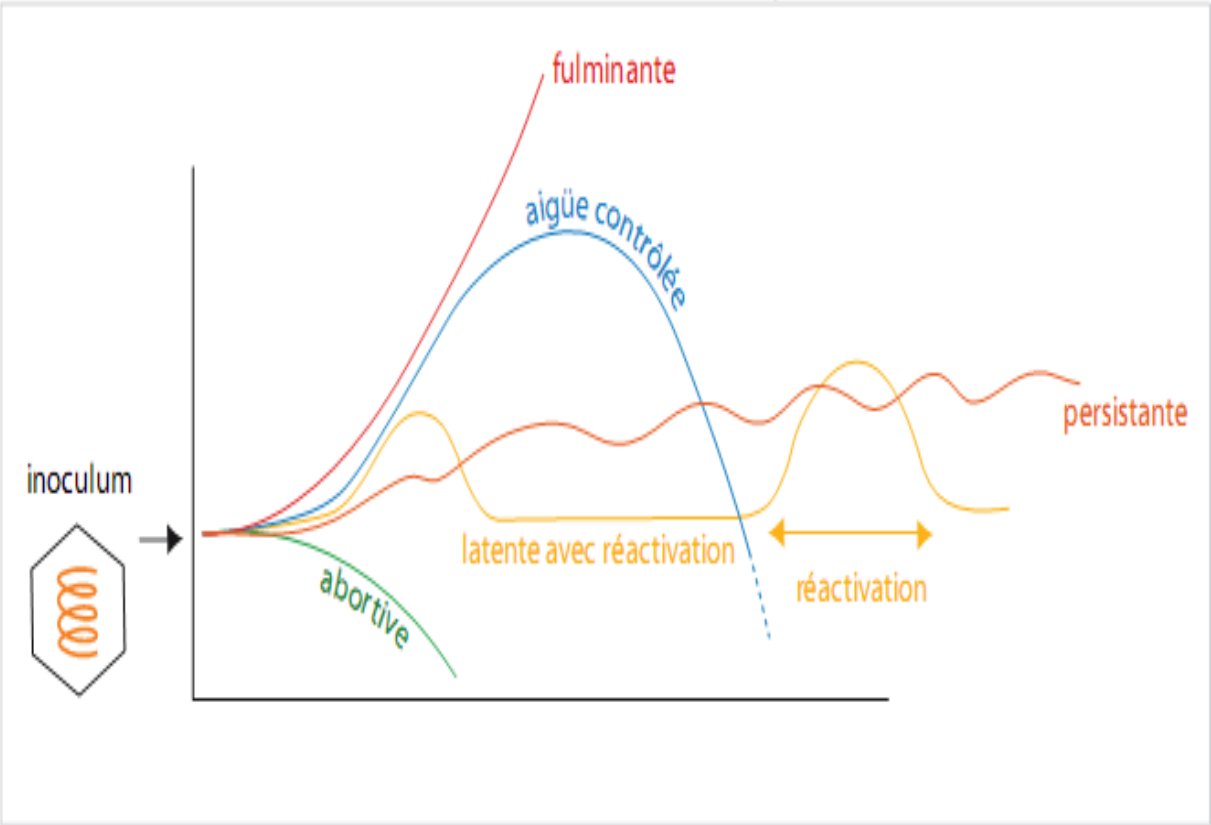



**Figure 3 :** Evolution d'une infection virale.

# Chapitre IV : Lutte contre les infections virales

## 1. Immunothérapie passive :

C'est l'administration à titre préventif d'immunoglobulines humaines préparées à partir du plasma de donneurs, et injectées généralement par voie intramusculaire.

Donneurs de sang tout-venants pour la préparation d'immunoglobulines ordinaires efficaces dans la prévention de la rougeole et de l'hépatite A.

Des donneurs sélectionnés fournissent des immunoglobulines spéciales visant tel ou tel virus. Trois exemples : les immunoglobulines varicelle-zona obtenues grâce à des donneurs convalescents de zona (non disponible en France) ; les immunoglobulines antirabiques provenant de sujets vaccinés contre la rage ; les immunoglobulines anti-HBs contre le virus de l'hépatite B, obtenues à partir de plasmas riches en anticorps contre ce virus.

## 2. Immunothérapie active :

C'est la vaccination.

### 2.2. Vaccins inactivés (« tués ») :

Ce sont des préparations de virus dont on a détruit le pouvoir infectieux sans en altérer le pouvoir immunogène (par traitement physico-chimique : chaleur ou formol par exemple). Ce sont des antigènes inertes, injectés par voie intramusculaire, sous cutanée voire intradermique,

pour stimuler le système immunitaire et protéger l'organisme vis-à-vis d'une infection future éventuelle par le virus correspondant.

**2.2. Vaccins atténués (« vivants ») :**

Ils visent le même but, mais ce sont des mutants du virus vis-à-vis duquel on veut protéger l'organisme, mutants non pathogènes (du moins pour l'homme aux défenses normales), et administrés sous forme infectante, éventuellement par voie naturelle : exemple des poliovaccins oraux. Deux contre-indications : les états d'affaiblissement des défenses antivirales - les états d'immunodépression notamment - et la grossesse.

**3. Nouveaux vaccins :**

**3. 1.** les vaccins à base de protéines recombinantes :
C'est-à-dire fabriquées par des cellules en culture ayant incorporé par génie génétique un gène viral (exemple : le vaccin actuel contre l'hépatite B est de l'antigène de surface du virus, produit par des cellules en culture ou dans d'autres cas par des levures).

**3. 2.** Les peptides viraux produits par synthèse chimique ;

**3.3.** La vaccination par inoculation d'un gène viral isolé sous forme d'ADN nu, encore expérimentale, semble très prometteuse. Il peut s'agir d'un segment d'ADN viral soit « nu » (approche encore expérimentale), soit intégré par « transgenèse » dans un vaccin vivant (la vaccination des renards contre la rage utilise un vaccin antivariolique ayant intégré le gène de la glycoprotéine d'enveloppe du virus de la rage).

## 4. Chimiothérapie antivirale :

C'est l'introduction dans l'organisme de molécules de synthèse pour inhiber la multiplication Virale. Les principales cibles des antiviraux sont les enzymes virales du cycle de la réplication virale. Les bases de la chimiothérapie antivirale nécessitent de rappeler le mécanisme des réactions enzymatiques et l'importance de la constante de Michaelis qui prend en compte les constantes de vitesse de réaction impliquant l'enzyme, le substrat et le produit.

### 4.1 IDU (Iduviran®) :

C'est le premier antiviral ; mis au point par William Prusoff c'est un nucléoside artificiel à base modifiée, iodée. C'est la 5 iodo 2' désoxyuridine, analogue structural de la 5 méthyl 2' désoxyuridine qui est la thymidine, le nucléoside caractéristique de l'ADN. L'IdU est comme tout nucléoside actif sous la forme triphosphorylée (IdUTP).

Ainsi, l'ADN se répliquant en présence d'IdU va incorporer de l'IdU à la place de la thymidine. Il en résulte des erreurs de codage, de sorte que, par voie générale, l'IdU est, expérimentalement, aplasiant, tératogène, cancérigène, hépato-toxique, alopéciant. Son usage thérapeutique n'est possible que par voie locale dans les conditions très particulières de la kératoconjonctivite herpétique où l'ADN des cellules cornéennes à divisions très espacées incorpore infiniment moins d'IdU que l'ADN viral à réplication rapide.

**4.2 Aciclovir (ACV) :**

C'est le premier antiviral bien toléré, mis au point par Gertrude Elion ; il a pour nom scientifique l'acycloguanosine. Dans ce nucléoside artificiel, la modification ne porte pas sur la base, la guanine, mais sur le pentose remplacé par une structure acyclique, une chaîne hydrocarbonée linéaire, et donc dépourvue de 3'OH.

L'ACV est principalement utilisé dans la prévention et le traitement des infections à herpès simplex virus (HSV-1 et -2) et à virus de la varicelle et du zona (VZV).

Ce nucléoside agit, comme tout nucléoside (et comme l'IdU), sous la forme de nucléotide triphosphate ACV-TP, mais deux phénomènes vont faire de l'ACV un produit très peu toxique par voie générale (intraveineuse, ou orale).

1. D'abord le fait que la 1ère phosphorylation en ACV-MP (monophosphate) n'est assurée que par une enzyme virale, la thymidine kinase (TK) de l'HSV et du VZV. Cela fait que l'ACV n'est actif que dans les cellules infectées par ces virus.

2. L'ACV-TP interagit de façon élective avec une autre enzyme virale, l'ADN polymérase de l'HSV et du VZV, sans interagir avec aucune des ADN polymérases cellulaires. La production d'ADN viral sera bloquée, de deux façons : tantôt l'ADN polymérase virale est bloquée de façon compétitive par l'ACV-TP agissant comme leurre, tantôt l'ACV-TP est incorporé dans la chaîne d'ADN viral en formation, ce qui bloque la croissance de cet ADN viral car l'ACV est un arrêt de chaîne, une butée : cela par manque du radical 3'OH nécessaire à l'accrochage d'un autre nucléotide triphosphate (liaison sucre-phosphate constituant le montant de l'échelle pour la construction de l'ADN, les paires de base appariées constituant les barreaux). L'ACV-TP agit donc comme leurre et comme butée. D'où un

excellent index de sélectivité (rapport de la dose cytotoxique sur la dose antivirale) de l'ordre de 1000 à 10000.

**4.3. Nucléosides anti-HIV :**

L'azidothymidine (AZT), premier antiviral anti-HIV, est, elle aussi, un nucléoside à base normale mais à pentose modifié : sans 3'OH, remplacé par un radical azide N3 ; c'est donc un 2' 3' didésoxynucléoside (ddN). Là encore, l'AZT nécessite, pour être active, une triphosphorylation en AZT-TP. La différence avec l'ACV est que les 3 étapes de phosphorylation de l'AZT sont toutes assurées par des kinases cellulaires. Heureusement, car l'HIV ne code aucune kinase. Cela étant, sa transcriptase inverse (reverse transcriptase, RT) est spécifiquement sensible à l'AZT-TP avec, là encore, deux mécanismes possibles, leurre ou butée : ou bien inhibition de la RT ou bien incorporation de l'AZT-TP dans l'ADN proviral avec arrêt d'élongation de chaîne.

Une différence avec l'ACV est que l'AZT-TP n'est pas aussi bien ciblée que l'ACV-TP. L'AZT-TP, contrairement à l'ACV-TP, a une action parallèle sur l'ADN polymérase gamma (mitochondriale) de la cellule. Cela, joint au fait que l'activation de l'AZT en AZT-TP se passe d'enzyme virale, aboutit à ce que l'AZT soit notablement plus cytotoxique que l'ACV, avec des effets secondaires, indésirables : anémie et neuropathies périphériques.

**4.4. Autres catégories d'anti-HIV :**

—les inhibiteurs non nucléosidiques de la transcriptase inverse ou rétrotranscriptase (INNTI) qui agissent spécifiquement sur l'HIV-1 (et non sur l'HIV-2).

—les inhibiteurs de la protéase de l'HIV (IP).

—les inhibiteurs de la fusion, fusion de l'enveloppe virale à la membrane cytoplasmique qui résulte de l'action de la gp41 virale. Le T20 est un peptide de synthèse qui bloque l'action de la gp41.

**5. Mesures d'hygiène :**

Les mesures d'hygiène restent à la base de la lutte contre les infections virales et sont dans bien des cas les seules mesures disponibles.

Ce sont la fourniture en eau potable, une alimentation quantitativement et qualitativement suffisante, le lavage des mains, la lutte et la protection contre moustiques, l'éducation et notamment l'éducation sexuelle, les bonnes pratiques de soins et notamment la désinfection du matériel et le contrôle des dons de sang.