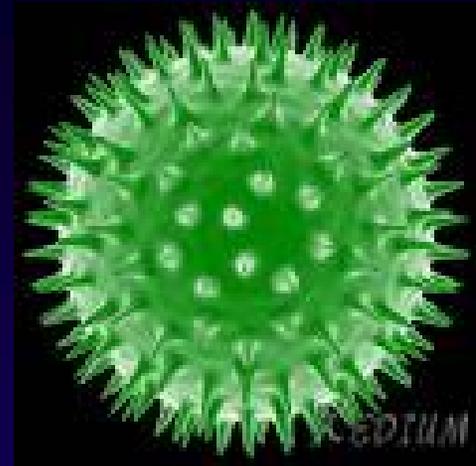


# Bases théoriques de Virologie

Dr Corinne Amiel  
Pr Paul Deny

Octobre 2007

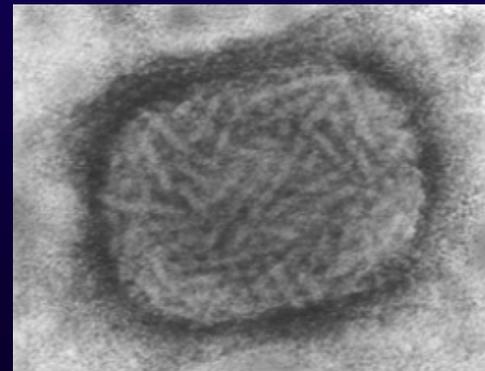
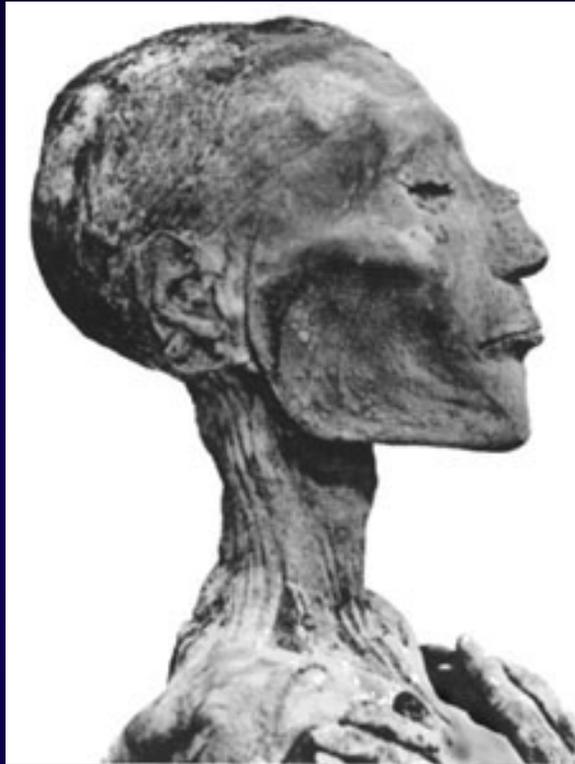


Les premières représentations de maladies virales .....

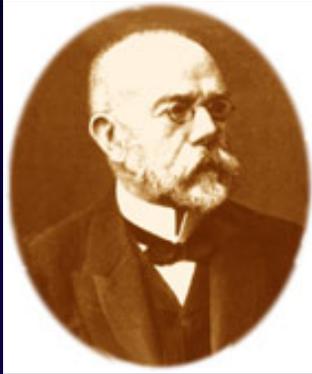


**Hiéroglyphe de Memphis, capitale de l'ancienne Egypte  
datant de – 1400 avant JC**

**variole**

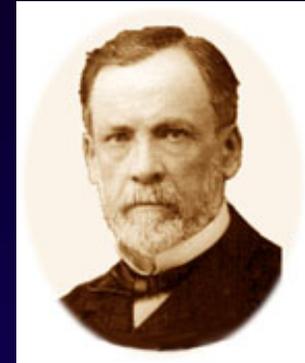


**Ramses V**  
**Décédé en – 1196 avant JC**



Koch (1843-1910)

naguère....



Pasteur (1822-1895)

### **Le postulat de Koch :**

**pour attribuer à un agent infectieux la responsabilité d'une maladie, il faut que :**

- 1) l'agent soit présent dans tous les cas**
- 2) L'agent puisse être isolé de l'hôte et croître in vitro**
- 3) La maladie soit reproduite si une culture pure de l'agent est inoculée à un hôte sain et sensible à l'infection**
- 4) Le même agent soit retrouvé chez l'hôte infecté expérimentalement**

# Chronologie de la découverte des virus

- **XIX<sup>e</sup> siècle: caractères négatifs**

*(invisible au microscope, non cultivable, non arrêté par les filtres)*

*(1892-98 : notion de virus filtrant :D.Iwanowski  
virus mosaïque tabac)*

- **1930 : de l'invisible au visible**

*(microscopie électronique → taille et forme)*

- **1950 : les cultures cellulaires**

- **1957 : André Lwoff (1902-1994) :**

- les virus sont infectieux et potentiellement pathogènes
- ce sont des entités nucléoprotéiques possédant un seul type d'acide nucléique,
- Ils sont reproduits par la cellule à partir de leur matériel génétique , ils sont incapable de croître et de se diviser



# Le VIRUS

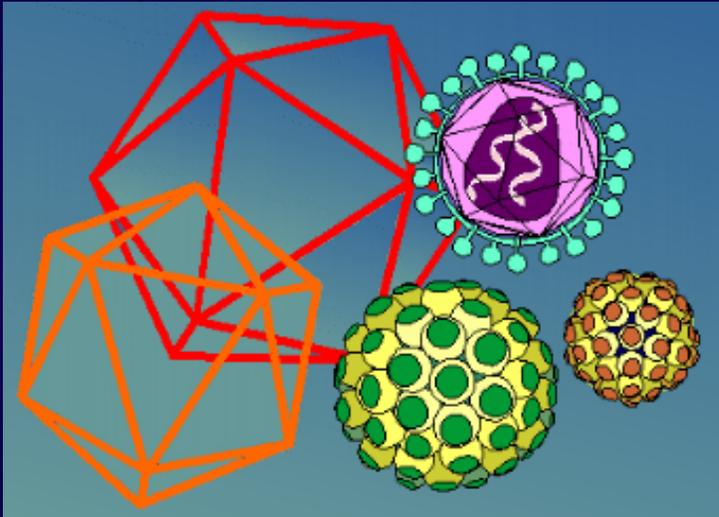
Très petite taille

Nombre de gène réduit

Doit obligatoirement parasiter un organisme  
hiérarchiquement supérieur

En économisant au maximum ses gènes

# Les trois missions d'un virus



Protéger  
l'information

Faire pénétrer  
l'information dans  
la cellule

Répliquer  
l'information

L'infection virale est la  
prise de pouvoir des  
fonctions cellulaires  
par le virus



# Structure des virus : Méthodes d'analyse

Culture virale

Sérologie/Immunologie

Etudes ultrastructurales

- microscopie électronique (niveau de résolution de 5 nm)
- cristallographie (diffraction rayons X)
- résonance magnétique nucléaire

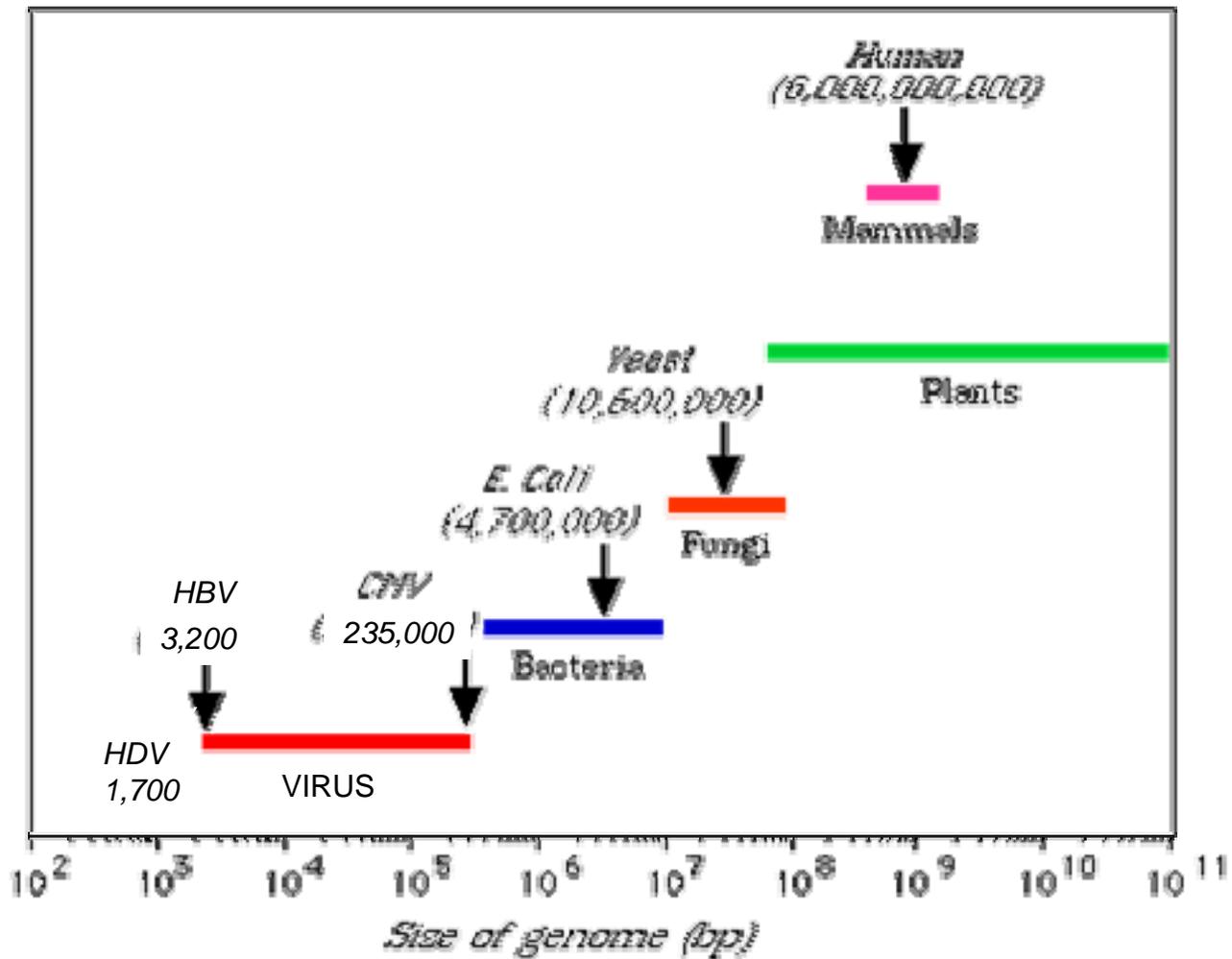
Biologie moléculaire

- clonage et séquençage de gène

# Structure des virus : taille et génome

- taille = **25 nm de diamètre (parvovirus) à 300 nm (poxvirus)**
- génome : **1700 pb (HDV) à 235.000 pb (CMV) (375 kbp pox)**
- nombre gènes : **4 gènes (HBV) à 150-200 gènes**

# Taille du génome



# Structure des virus : composants de la structure

- **Le génome** :
  - ADN ou ARN;
  - simple ou double brin;
  - segmenté ou non
  
- **La capside** (symétrie icosaédrique, hélicoïdale, complexe)
  - = répétition de s/s U protéiques = capsomères
  
- **Virus nu ou enveloppé**

# Structure des virus: Grande variété des génomes viraux

<b>ADN</b>	<b>ARN</b>
<p><b>simple brin</b> (<i>Parvoviridae</i>)</p> <p><b><u>double brin</u></b> (<i>Herpesviridae</i>, <i>Adenoviridae</i>, <i>Poxviridae</i>)</p> <p><b>partiellement double brins</b> (<i>Hepadnaviridae</i>)</p>	<p><b><u>simple brin</u></b> (<i>Flaviviridae</i> <i>Myxoviridae</i> <i>Rhabdoviridae</i> <i>Picornaviridae</i>, <i>Retroviridae</i>)</p> <p><b>double brin</b> (<i>Reoviridae</i>)</p>
<p><b>linéaire</b> (<i>HSV, ADV,...</i>)</p> <p><b>circulaire</b> (<i>HBV</i>)</p>	<p><b>linéaire</b> (<i>HCV, Oreillons,...</i>)</p> <p><b>circulaire</b> (<i>HDV</i>)</p> <p><b>segmenté</b> (<i>Grippe, Rotavirus,...</i>)</p>

# Structure des virus : la capside

## Pourquoi une encapsidation du génome ?

### → Protection :

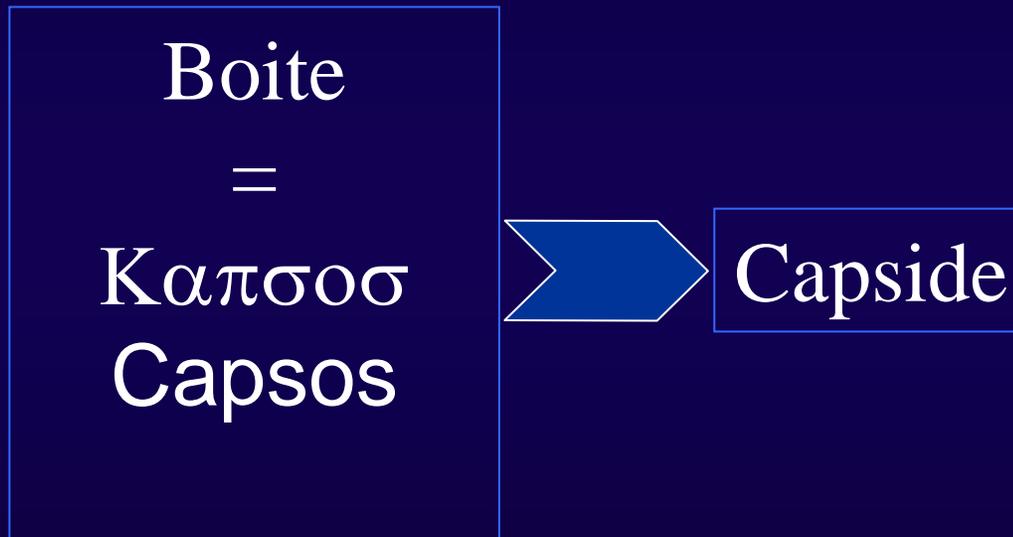
- acides nucléiques fragiles
- environnement hostile : physique, chimique, enzymatique (UV, pH, nucléases)

### → Transport du matériel génétique

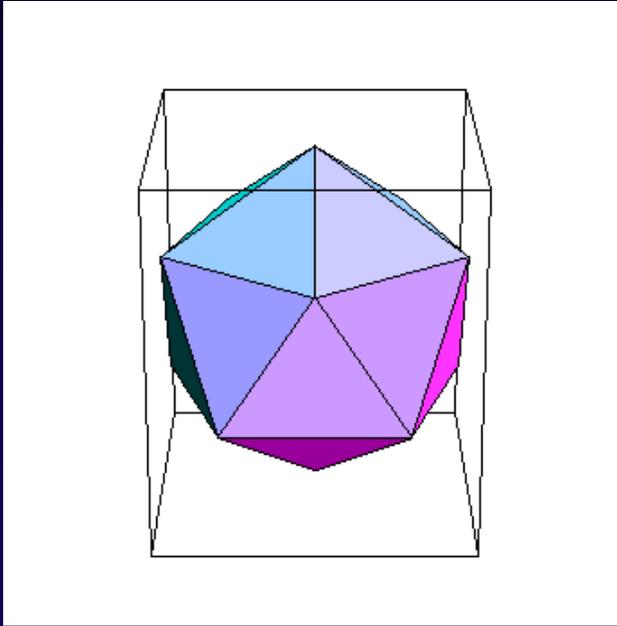
→ Reconnaissance de la cellule hôte : **attachement** protéine virale à un récepteur cellulaire

## Structure des virus : la capside

Protéger l'information



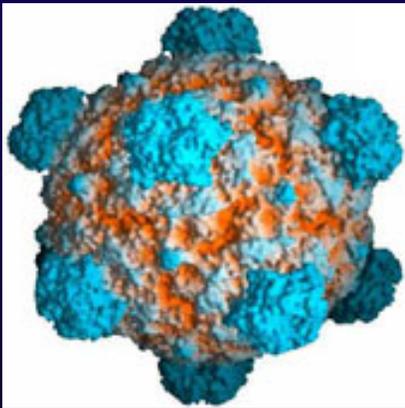
## Structure – Capside icosaédrique (cubique)



Icosaèdre =  
Polyèdre régulier à  
12 sommets,  
30 arêtes et 20 faces  
(triangles équilatéraux)

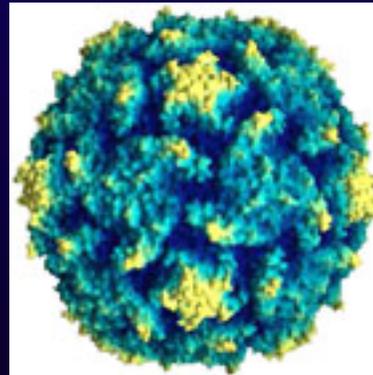
Structure réputée pour sa  
résistance

Symétrie 2 – 3 - 5

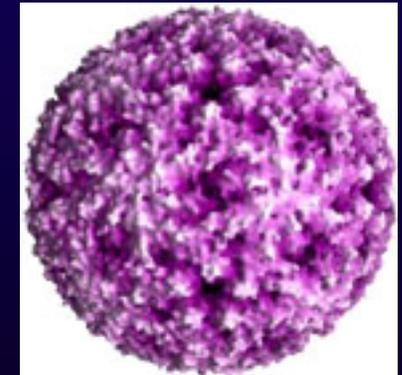


*Bactériophage Phi X 174*

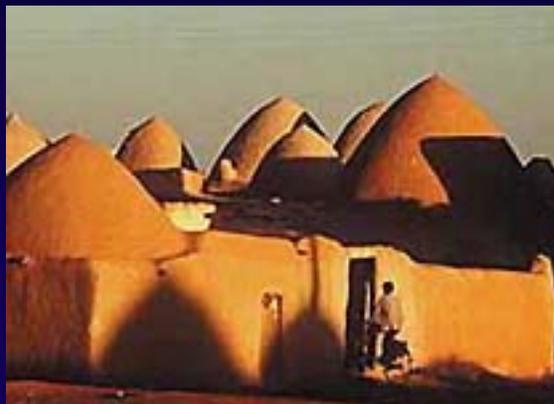
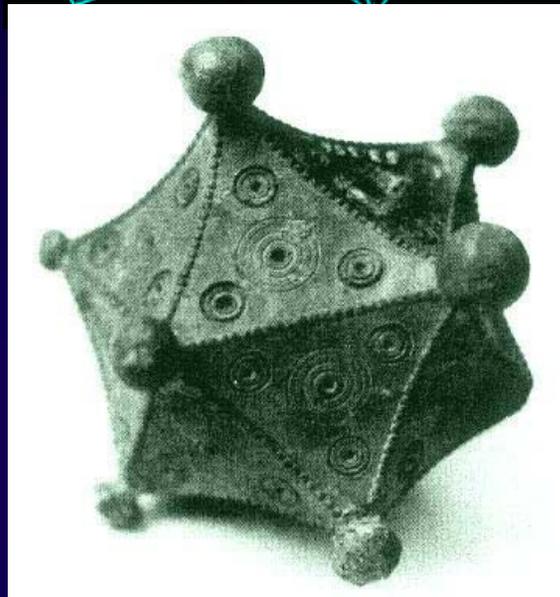
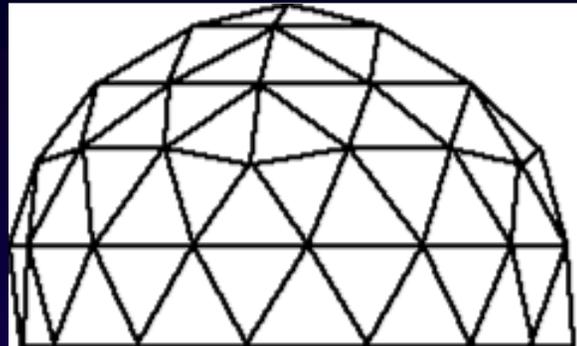
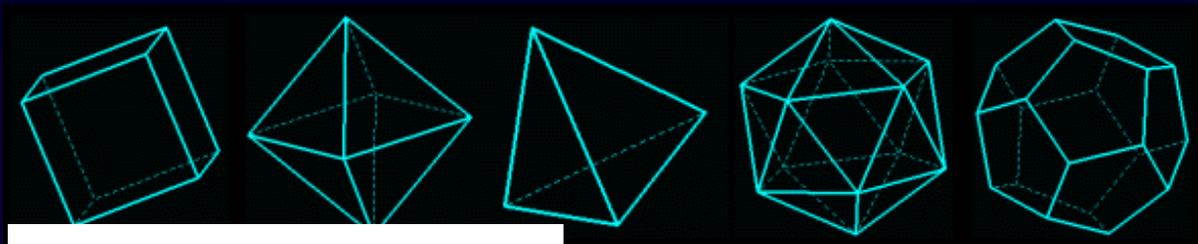
**Le plus simple : 60 s/s U id**



*poliovirus*

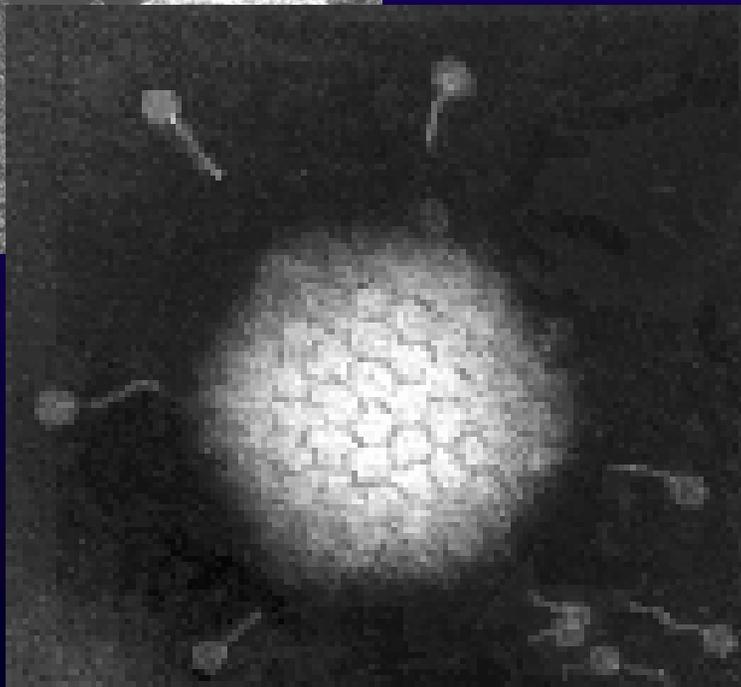
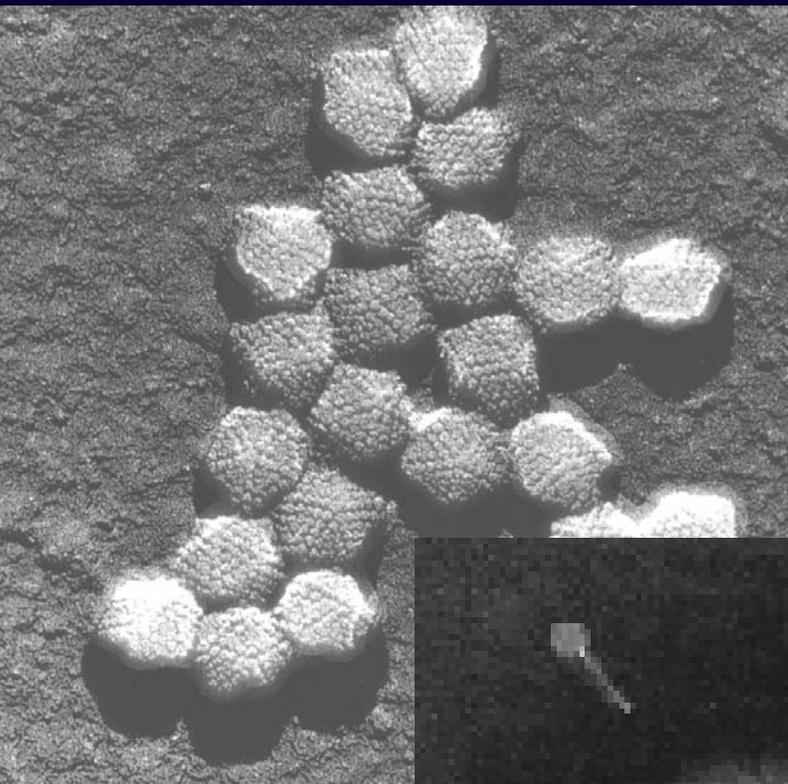


*coxsackievirus*



# Structure – Capside icosaédrique (cubique)

adénovirus

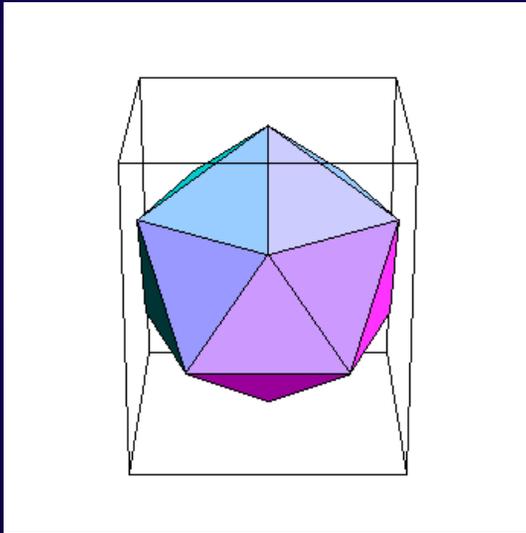


Herpes simplex virus



# Structure capside virus

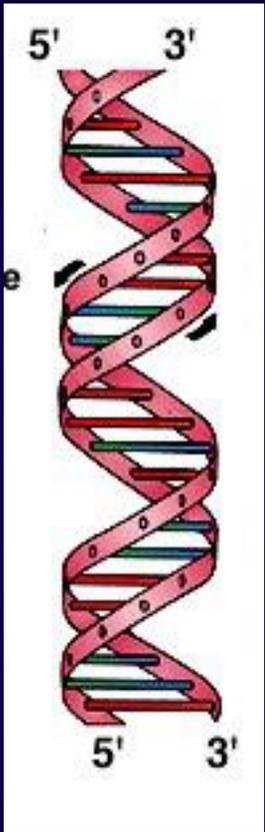
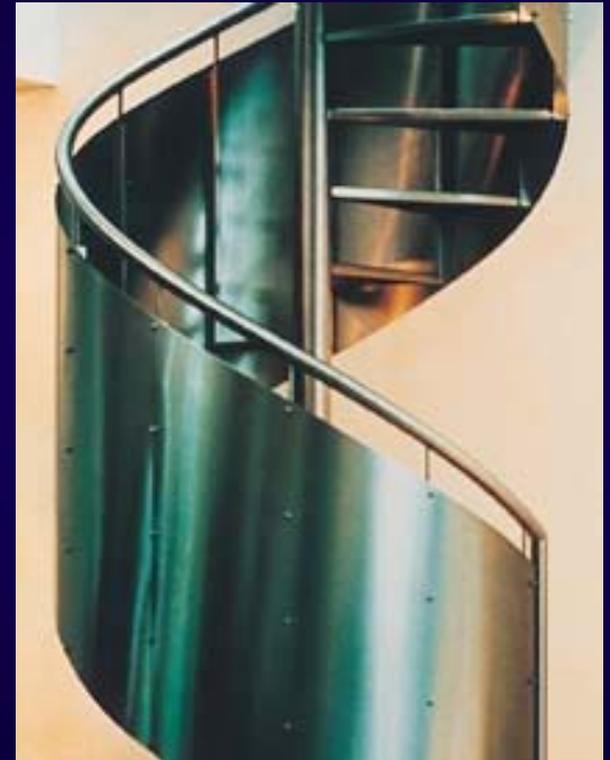
50%  
icosaèdre



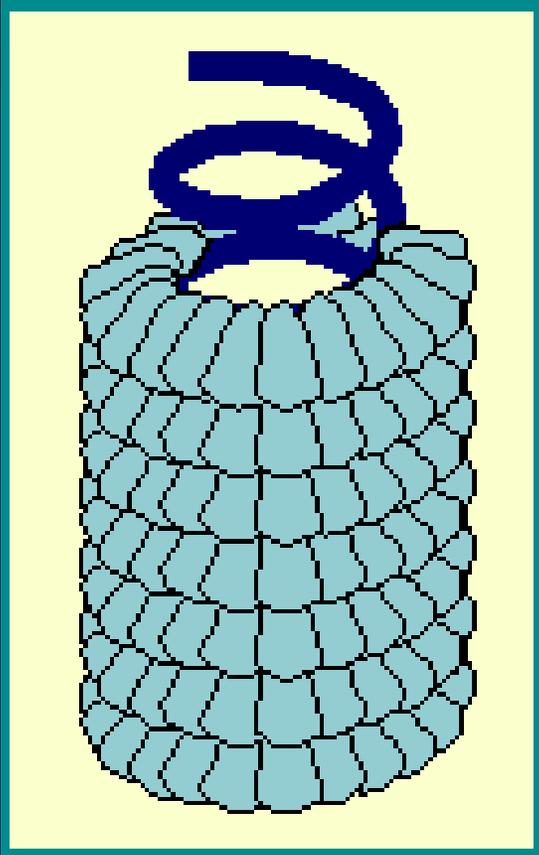
50%  
hélicoïdale



La nature précède  
l'architecture

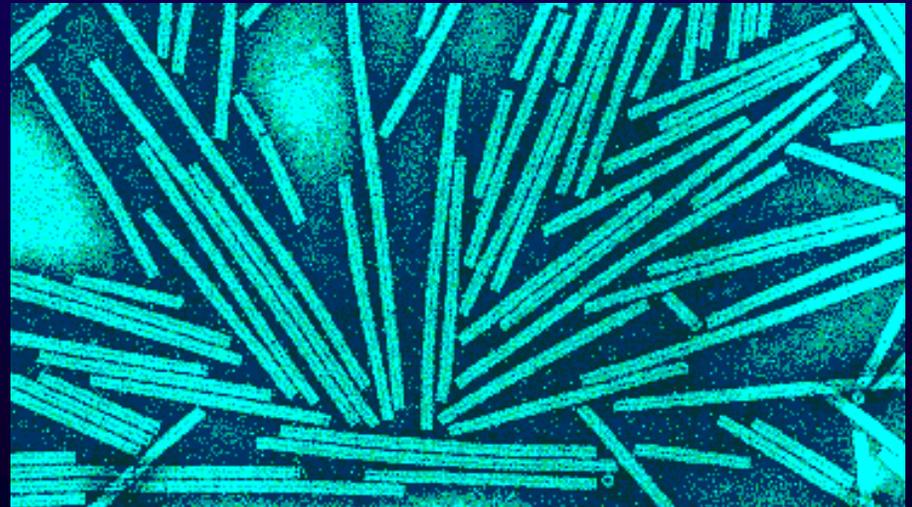
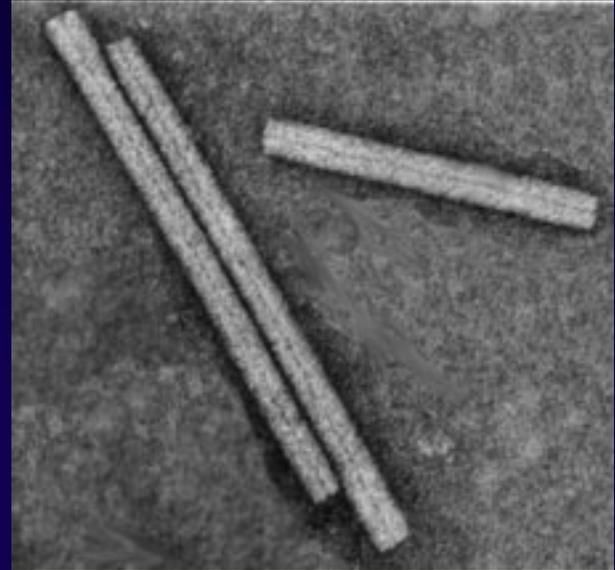


## Structure – Capside hélicoïdale



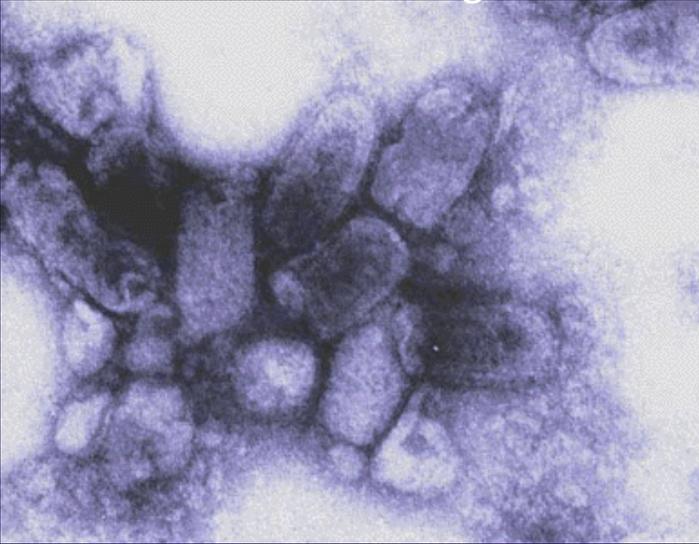
Tous les virus filamenteux  
ont une structure hélicoïdale

Virus de la mosaïque du tabac

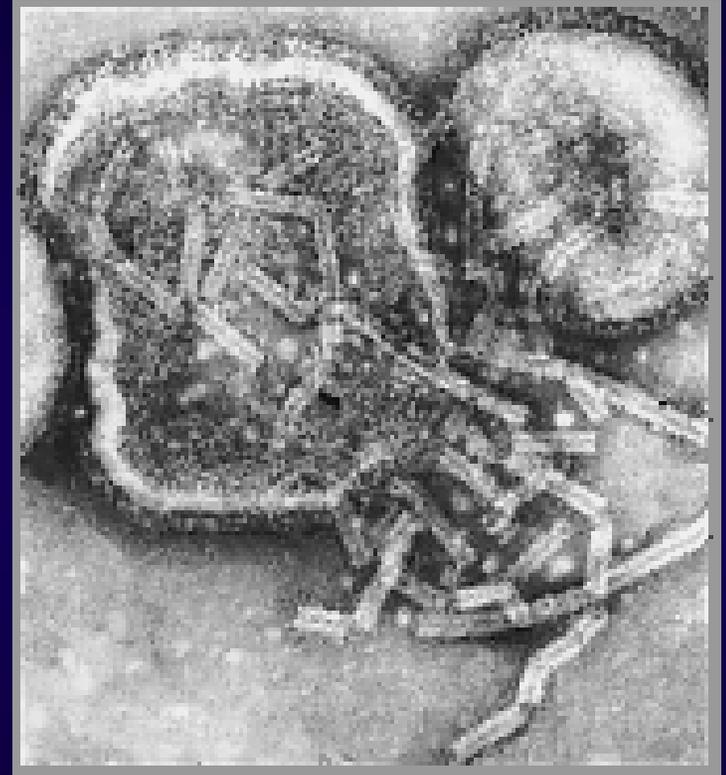


## Structure – Capside hélicoïdale

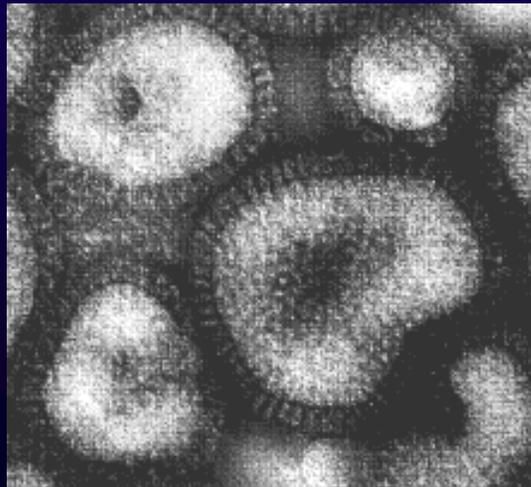
Virus de la rage



Paramyxovirus



Virus de la grippe



# Structure des virus : les Virus enveloppés

Enveloppe empruntée aux  
**membranes cellulaires**

*(cytoplasmique (HIV), nucléaire (HerpesV), Golgi, RE, vacuoles (rubéole))*

---

Confère une certaine **fragilité** au virus (stocker à  $-80^{\circ}\text{C}$ )  
( $\Rightarrow$  transmission directe : rubéole, grippe, HIV, HCV)

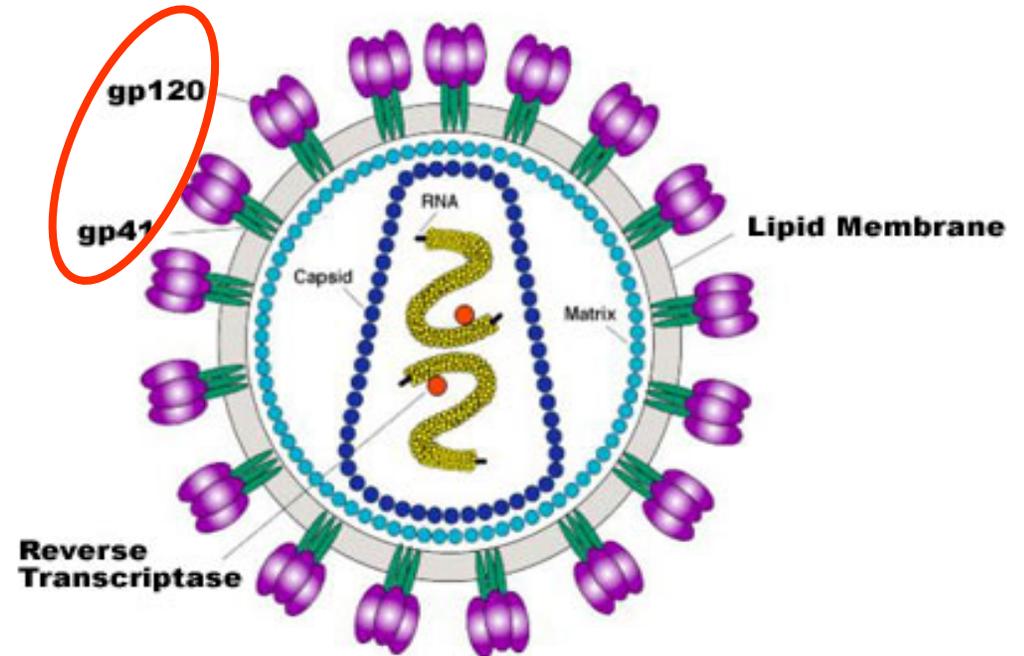
---

Enveloppe modifiée par insertion de protéines virales  
Sous forme spicules (projections)  
très souvent glycosylées (glycoprotéines)  
 **$\rightarrow$  attachement et antigénicité**

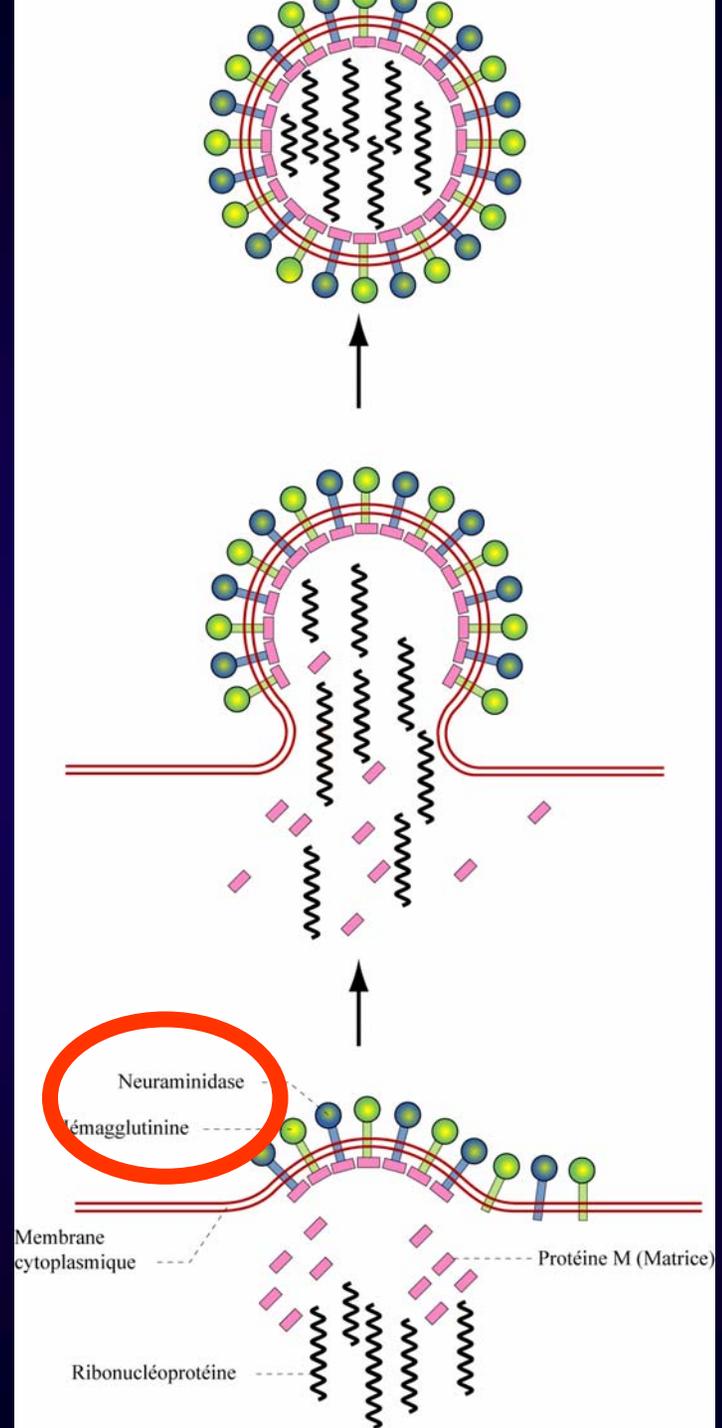
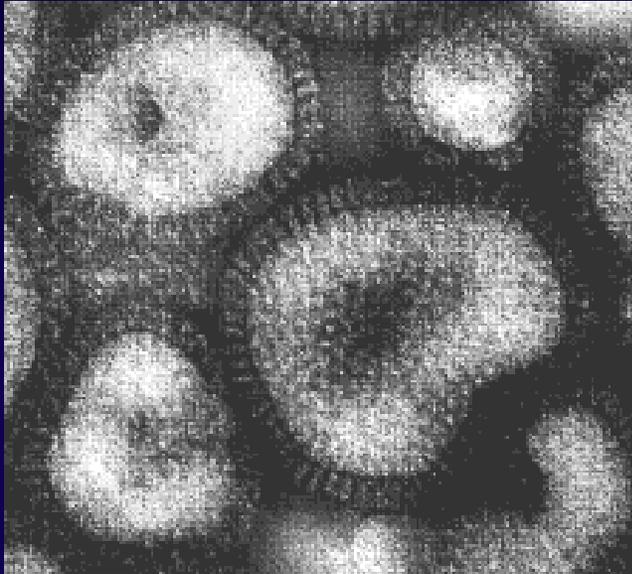
# virus enveloppé : VIH



## Organization of the HIV-1 Virion



# Virus enveloppé : la grippe

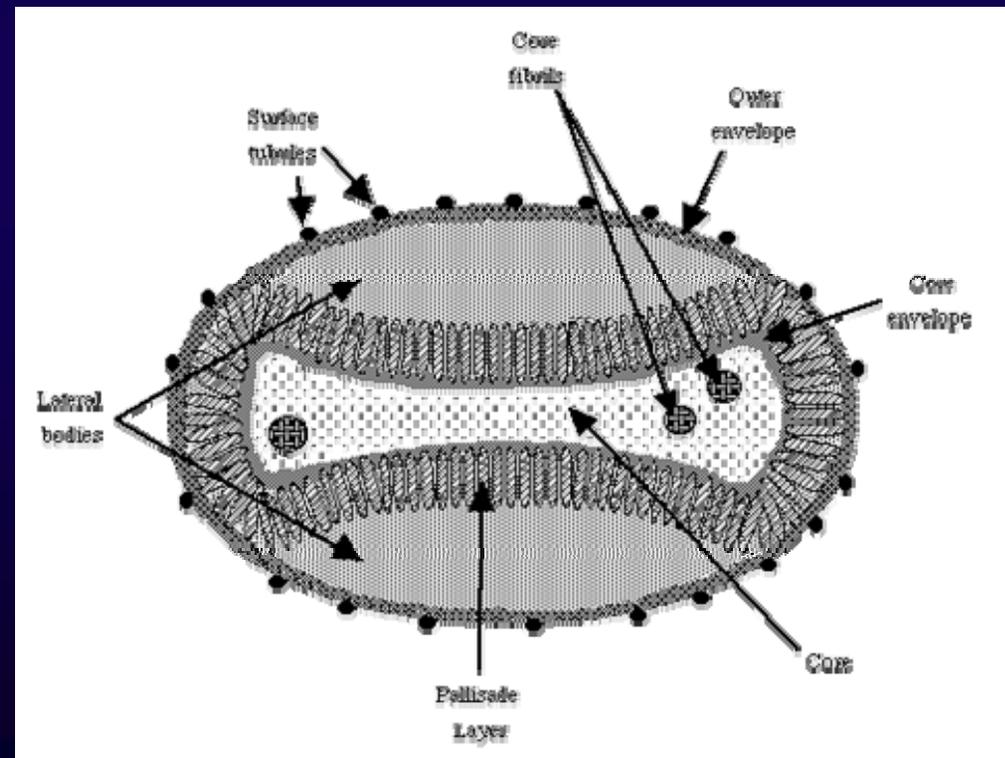
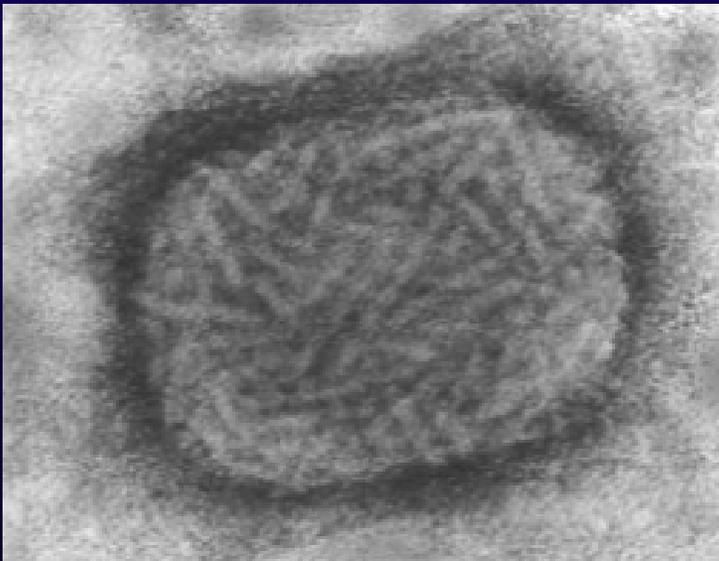


# Structures complexes

Trois classes structurales : hélicoïdale - icosaédrique - complexe

**Poxvirus** (*varirole; mollusc.contag. ...*)

Plus de 100 protéines  
Plus de 10 enzymes  
200-400 nm de long



# Classification des virus

## Classique (1962) :

- 1) le type d'acide nucléique,
- 2) la symétrie de la capside,
- 3) le caractère nu ou enveloppé,
- 4) les caractéristiques morphologiques du virion

## Actuelle :

analyses phylogénétiques basées sur données de séquence

**Ordre**



**Famille**



**Genre**



**Type**



**Sous-type**



**Isolat**



**Quasi-espèce**

*Orthomyxoviridae*

*Influenza A,B,C*

A

A H1N1

## Classification par analyse phylogénétique

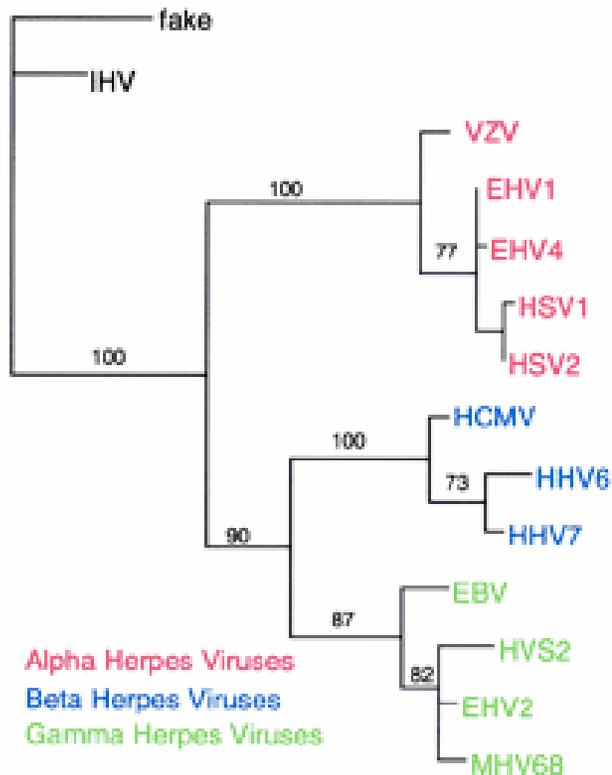
- Virus (ou échantillon)
- Extraction acide nucléique
- Synthèse cDNA
- Séquençage
- Banque de données : alignement
- Reconstruction phylogénétique
  - méthode maximum de parcimonie
  - maximum de vraisemblance
  - distance génétique

# Classification des virus à ADN

Symétrie capside	Enveloppe	Conformation ADN	Famille	Pathologies associées
icosaèdre	nu	Linéaire SS	PARVOviridae	Parvovirus B19 → Megaleryth (5è) → Erythroblastopénies
		Circulaire DS	PAPILLOMAviridae	Papillomavirus → condylome; papillomatose
		Linéaire DS	ADENOviridae	Adénovirus → respir, ocul (APC), intest
	enveloppé	Linéaire DS	HERPESviridae	HSV, CMV, VZV, EBV, HHV6-7-8
		Circulaire DS	HEPADNAviridae	HBV
complexe	enveloppe complexe	Linéaire DS	POXviridae	Variole, vaccine Molluscum contagiosum

# Virus à ADN : Herpesviridae

B.



**Table 1.** Viruses, abbreviations, and accession numbers

Virus name	Abbrev.	Accession
Epstein-Barr virus	EBV	<a href="#">V01555</a>
Equine herpesvirus 1	EHV1	<a href="#">M86664</a>
Equine herpesvirus 2	EHV2	<a href="#">U20824</a>
Equine herpesvirus 4	EHV4	<a href="#">AF030027</a>
Herpes simplex virus1	HSV1	<a href="#">X14112</a>
Herpes simplex virus2 strain H652	HSV2	<a href="#">Z86099</a>
Human cytomegalovirus strain AD169	HCMV	<a href="#">X17403</a>
Human herpesvirus 6 variant A	HHV6	<a href="#">X83413</a>
Human herpesvirus 7 JI	HHV7	<a href="#">U43400</a>
Ictalurid herpesvirus (channel catfish virus)	IHV	<a href="#">M75136</a>
Murine herpesvirus 68 strain WUMS	MHV68	<a href="#">U97553</a>
Saimiriine herpesvirus 2	HVS2	<a href="#">X64346</a>
Varicella-Zoster virus	VZV	<a href="#">X04370</a>

# Classification des virus à ARN

Symétrie capside	Enveloppe	Conformation ARN	Polarité	Famille	Pathologies associées
icosaèdre	nu	Non segmenté SS	+	PICORNAVIRIDAE CALICIVIRIDAE	Entéro, rhino, HAV V. Norwalk
		Segmenté DS		REOVIRIDAE	rotavirus
	enveloppé	Non segmenté SS	+	TOGAVIRIDAE FLAVIVIRIDAE	Rubivirus (rubéole) Flavi (dengue; f. jaune) Hépacivirus (HCV)
		Non segmenté SS	+	CORONAVIRIDAE	coronavirus
hélicoïdal	enveloppé	Segmenté SS	-	BUNYAVIRIDAE ORTHOMYXOVIRIDAE	f. hémorr grippe
		Non segmenté SS	-	PARAMYXOVIRIDAE RHABDOVIRIDAE FILOVIRIDAE	V. parainfl; rougeole, oreillons, VRS Rage Marburg et Ebola
		Segmenté SS	-	ARENAVIRIDAE	Lassa
		Diploïde SS	+	RETROVIRIDAE	HIV
complexe	complexe				

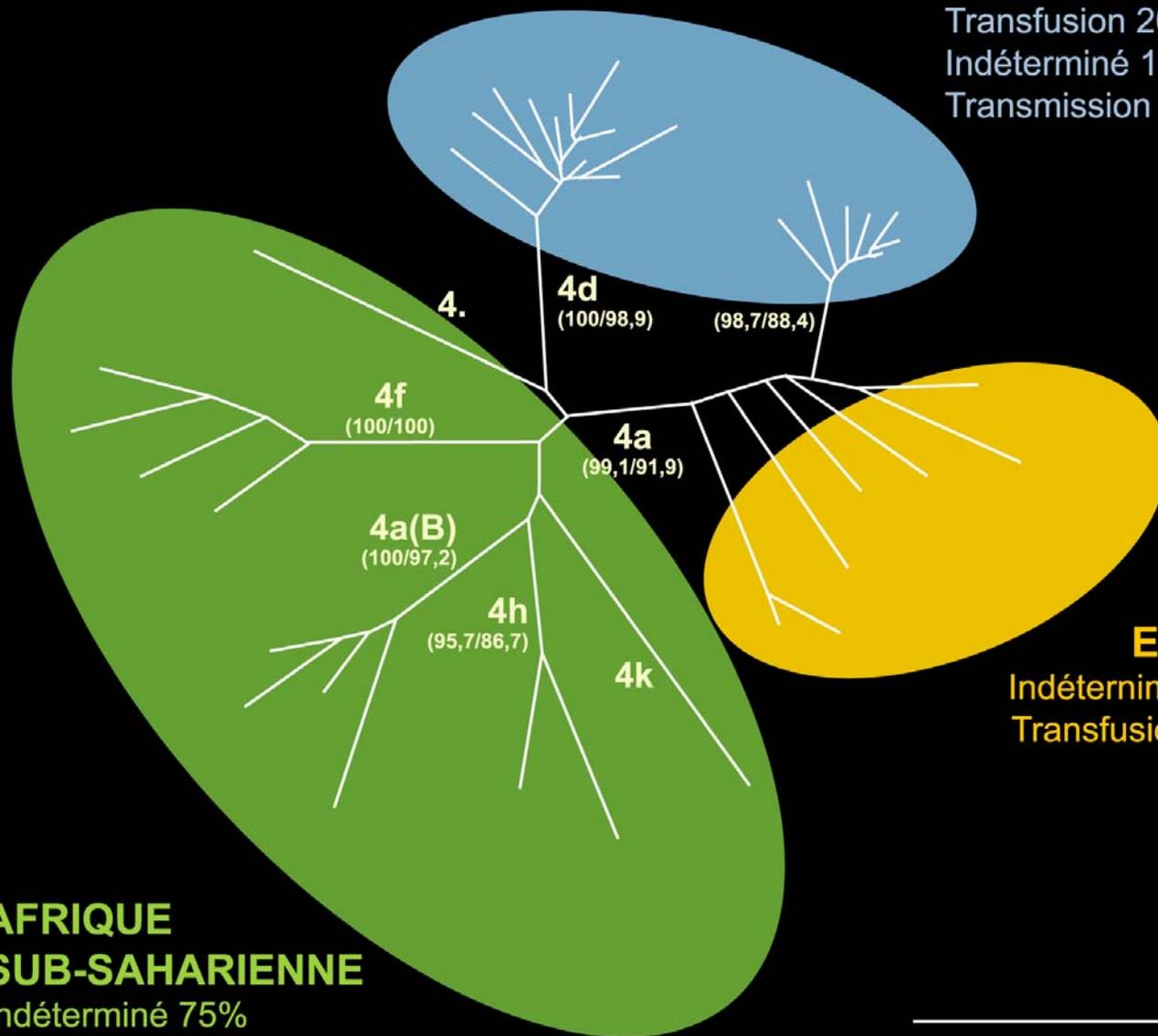
## Classification des virus à ARN : Polarité

- **ARN +** : cadre(s) ouvert(s) de lecture(s) situé(s) sur le brin génomique viral  
=> Traduction directement  
(ex: Picorna, Flavi...)
- **ARN -** : cadre(s) ouvert(s) de lecture(s) situé(s) sur le brin antigénomique viral  
=> La transcription précède la traduction  
(ex: Orthomyxo, Paramyxo...)
- **Génome ambisens** : Il existe des cadres de lectures sur les brins génomiques et antigénomiques (ex: Arena, certains Bunya...)

# Hépatite C : Phylogénie et données épidémiologiques en Seine Saint Denis

## FRANCE

Toxicomanie intraveineuse 65%  
Transfusion 20%  
Indéterminé 10%  
Transmission mère-enfant 5%



## EGYPTE

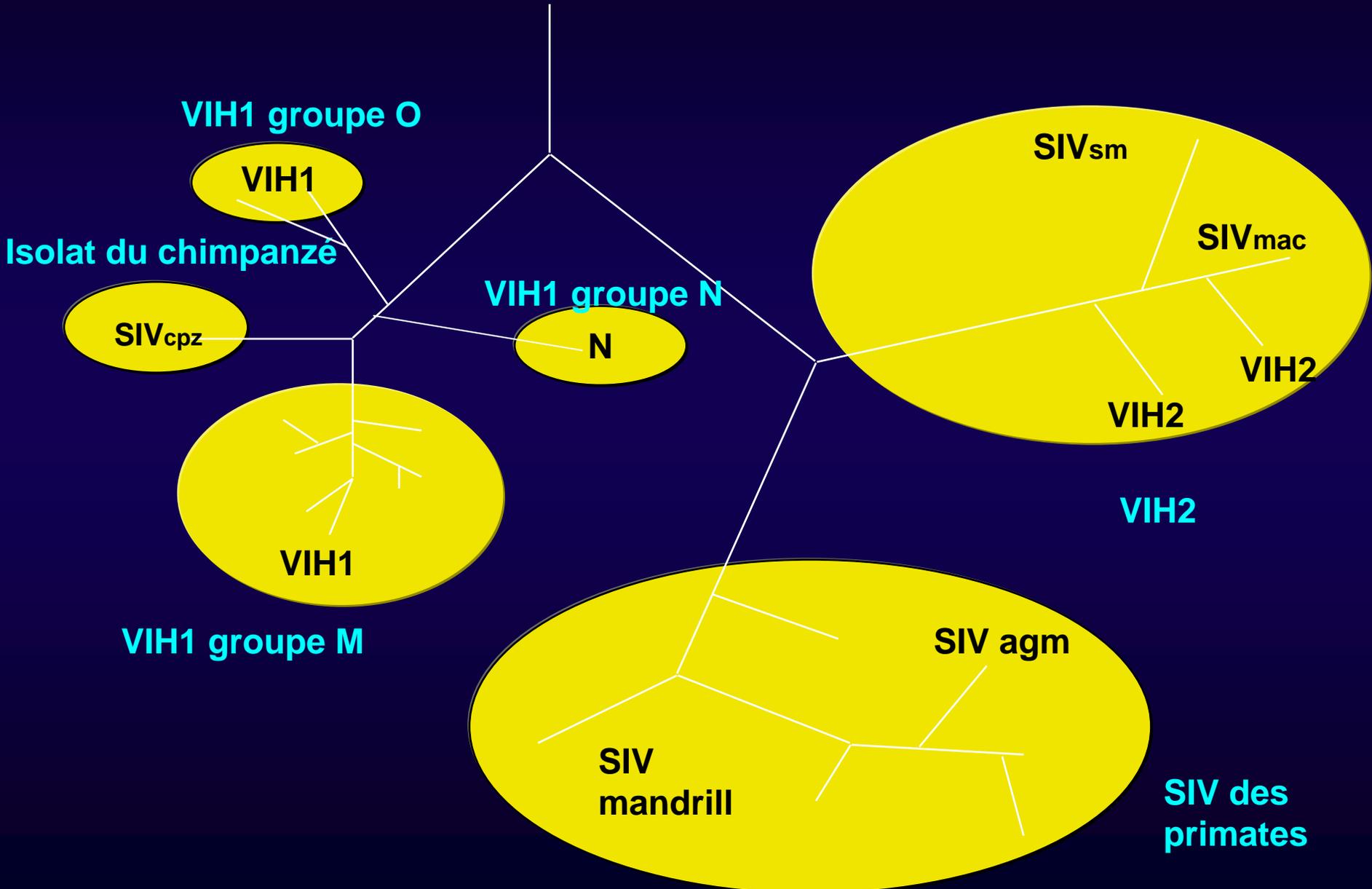
Indéterminé 83,3%  
Transfusion 16,7%

## AFRIQUE SUB-SAHARIENNE

Indéterminé 75%  
Transfusion 25%

0,1 substitutions/site

# Retrovirus des primates



# Classification fonctionnelle ?

## Les virus possédant une reverse transcriptase

---

### Les rétrovirus

### Les hépadnavirus

génom

ARN "diploïde"  
2 molécules  
d'ARN identiques

ADN circulaire  
partiellement  
double brin



intermédiaire  
de replication  
taille > génom

ADN  
provirus

ARN  
Pré-génomique et  
messagers

← *Intégrase*



Poursuite de  
la réplication

ARNm et ARNg  
dans Noyau cellule

ADNg  
dans cytoplasme  
(dans la capside)

# Multiplication virale à l'échelle cellulaire (*in vitro*)

## Infection productive

expression de tous les gènes viraux et cycle lytique le plus souvent  
(Ebola, grippe, ...)... multiplication virale

## Infection abortive

expression génomique interrompue : virus défectif ou cellule non permissive  
(parvovirus B19, ...) ... élimination du virus

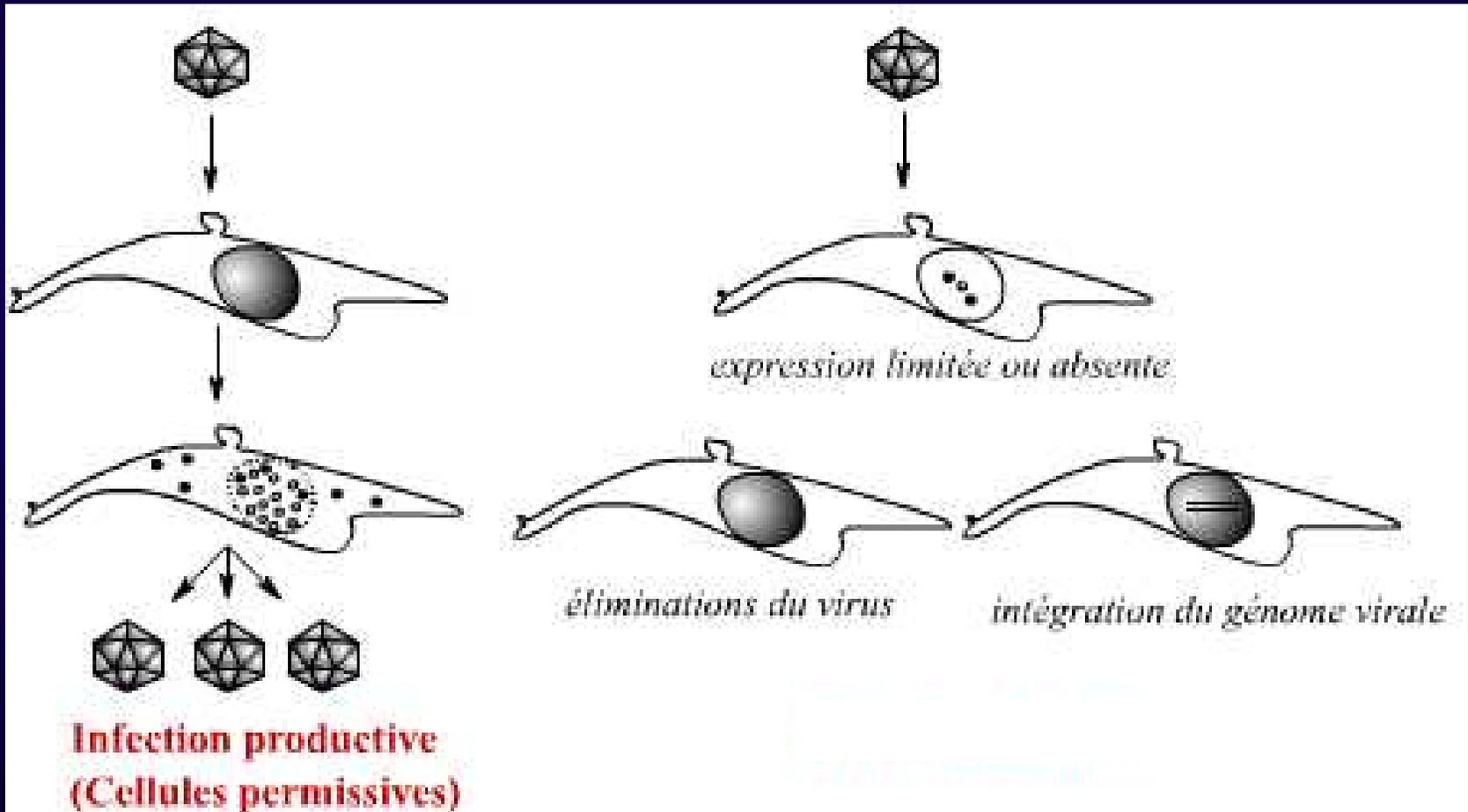
## Infection persistante ou latente

expression partielle du génome qui persiste dans la cellule (herpesviridae,  
hépatite B?, ...)

# Cycle de multiplication virale

Infection productive

Infection abortive ou persistante



# Etapes de la multiplication virale

1) **ATTACHEMENT - PENETRATION - DECAPSIDATION**

2) **REPLICATION des constituants** (génomme et protéines)

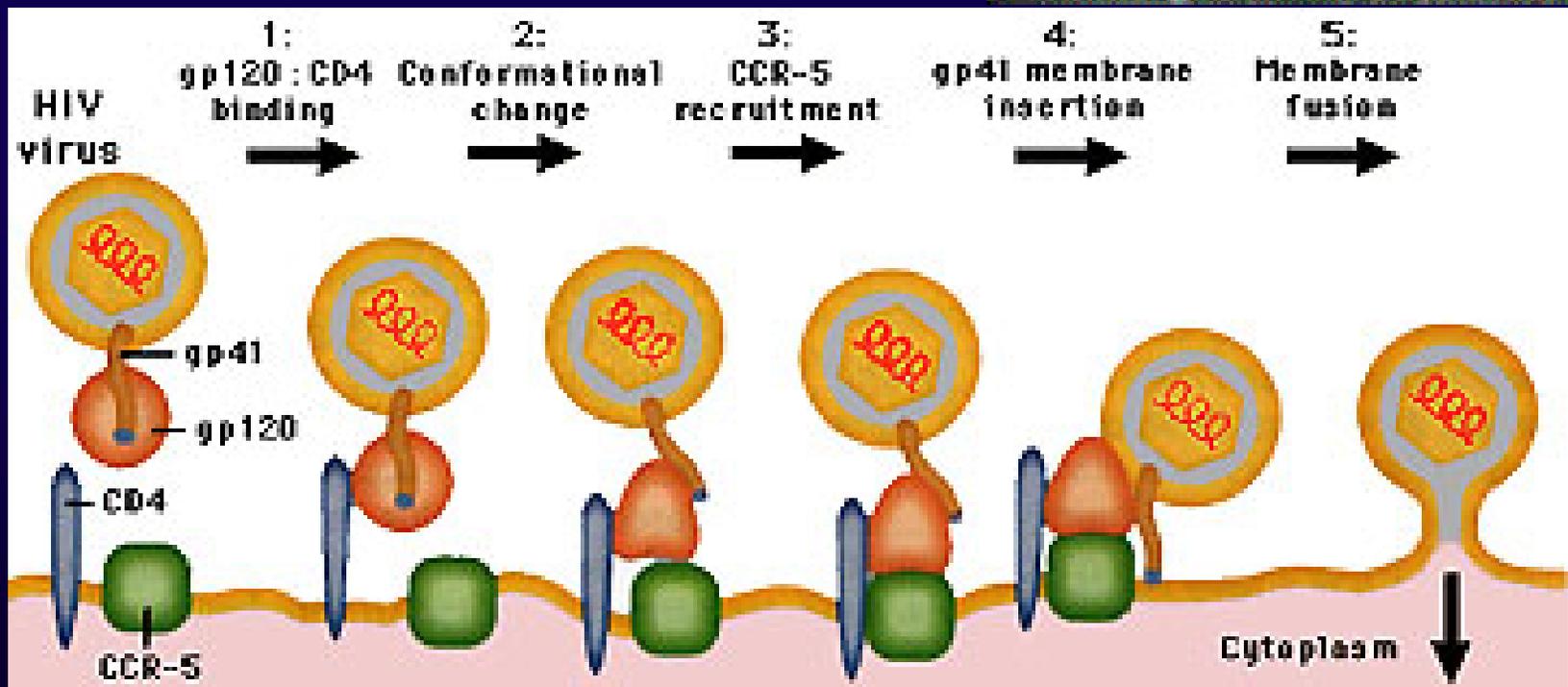
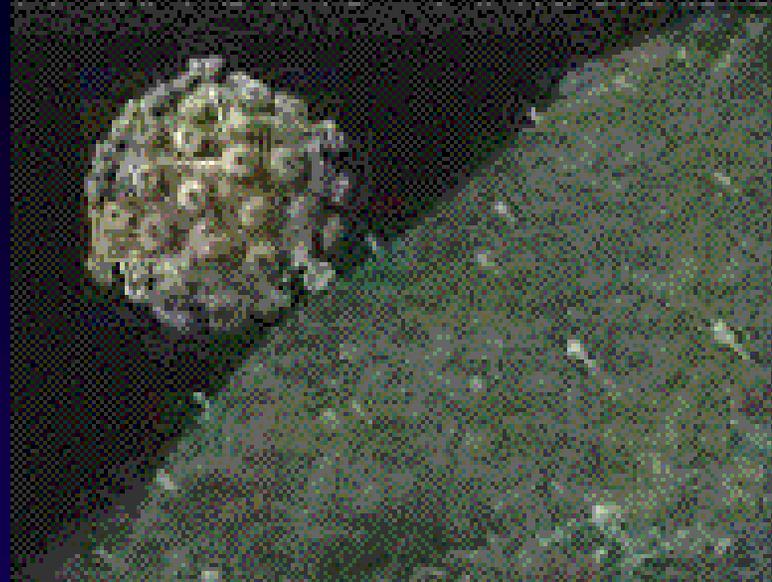
grâce à la cellule (ATP, synthèse protéines, transport intracellulaires ...)

3) **ASSEMBLAGE et LIBERATION** de particules virales extra-cellulaires :  
le virion

# Cycle de multiplication virale : 1.a.attachement

- Notion de **récepteur cellulaire** (et co-récepteur) :  
conditionne **tropisme** (ex HIV GP120 et CD4; influenza HA et acide sialique)
- Interaction physico-chimique spécifique entre virus (anti-récepteur) et cellule (recepteur) → **cible chimio antivirale**
- Importance **titre infectieux et nombre molécules récepteur**
- Sites d'attachement viraux = (glyco)protéines à la surface de la capsid ou de l'enveloppe ; induisent Ac qui neutralisent (+/-) le pouvoir infectieux

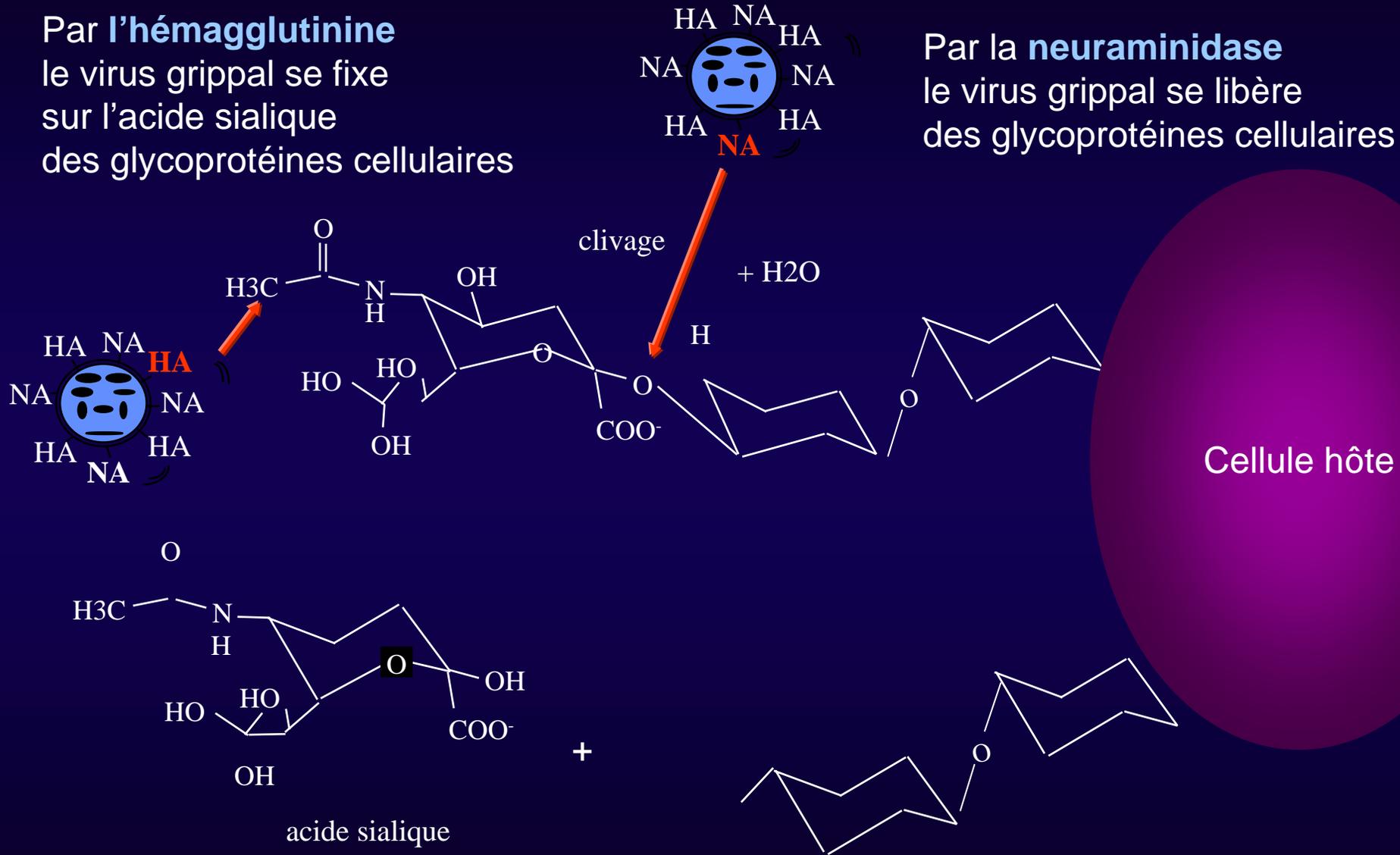
# Le virus HIV : attachement et fusion



# Le virus de la grippe: attachement et libération

Par l'hémagglutinine le virus grippal se fixe sur l'acide sialique des glycoprotéines cellulaires

Par la neuraminidase le virus grippal se libère des glycoprotéines cellulaires

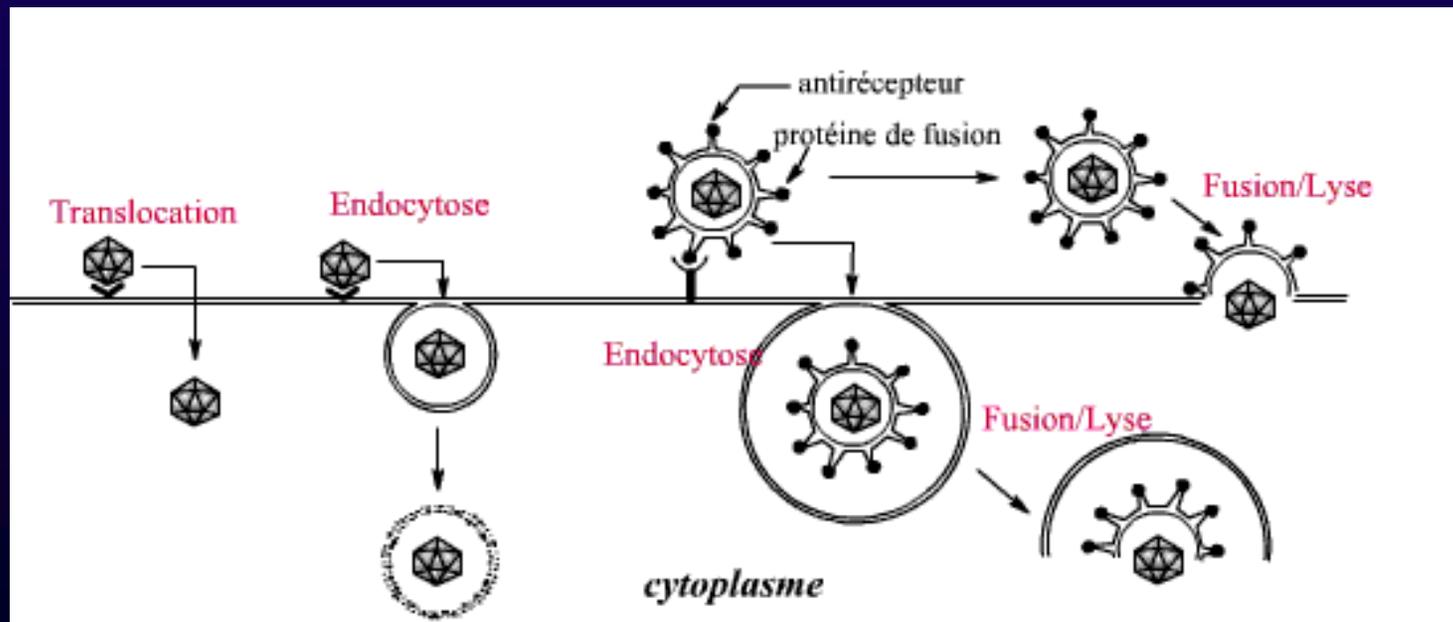


Oseltamivir et Zanamivir bloquent l'action de la neuraminidase

# Cycle de multiplication virale : 1.b. Pénétration

C'est la cellule vivante qui fait pénétrer le virus (énergie; +/- pH et t°-dép )

- par **translocation** directe(rare) (*poliovirus*)
- par **endocytose** : obligatoire pour virus nus (*polio*); +/- pour virus enveloppés (*influenza*); virus retrouvé dans vésicule cytoplasmique. Méc pH-dépendant
- par **fusion** mb cellulaire avec enveloppe virale avec libération de la capsidie dans le cytoplasme; pH-indépendant (ex *HIV*, *paramyxo*, *herpès*) : rôle des protéines de fusion



## Cycle de multiplication virale : 1.c. décapsidation.

- Dernière étape de la phase initiale du cycle de multiplication
- Dans majorité cas : **cytoplasmique** (parfois transport de la nucléocapside vers les pores nucléaires)
- Le plus souvent **complète** (sauf rotavirus = partielle)
- Phénomène
  - **passif avec enzymes cellulaires protéolytiques**
  - **ou actif avec décapsidases virales**
- Antidécapsidases à l'étude

## 2. Réplication des constituants viraux

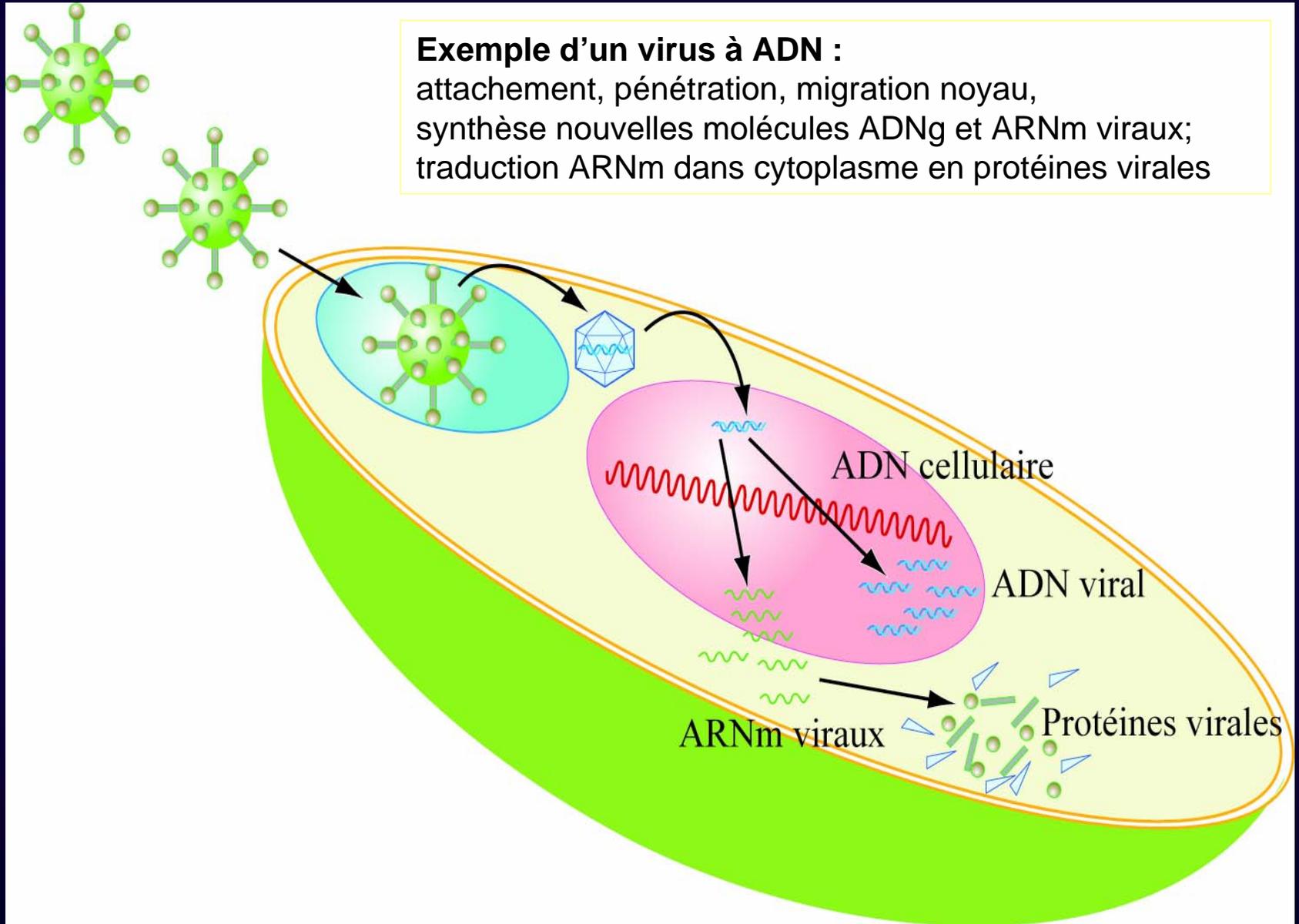
**But du virus : détourner la cellule pour :**

**1) recopier son génome (réplication génome)**

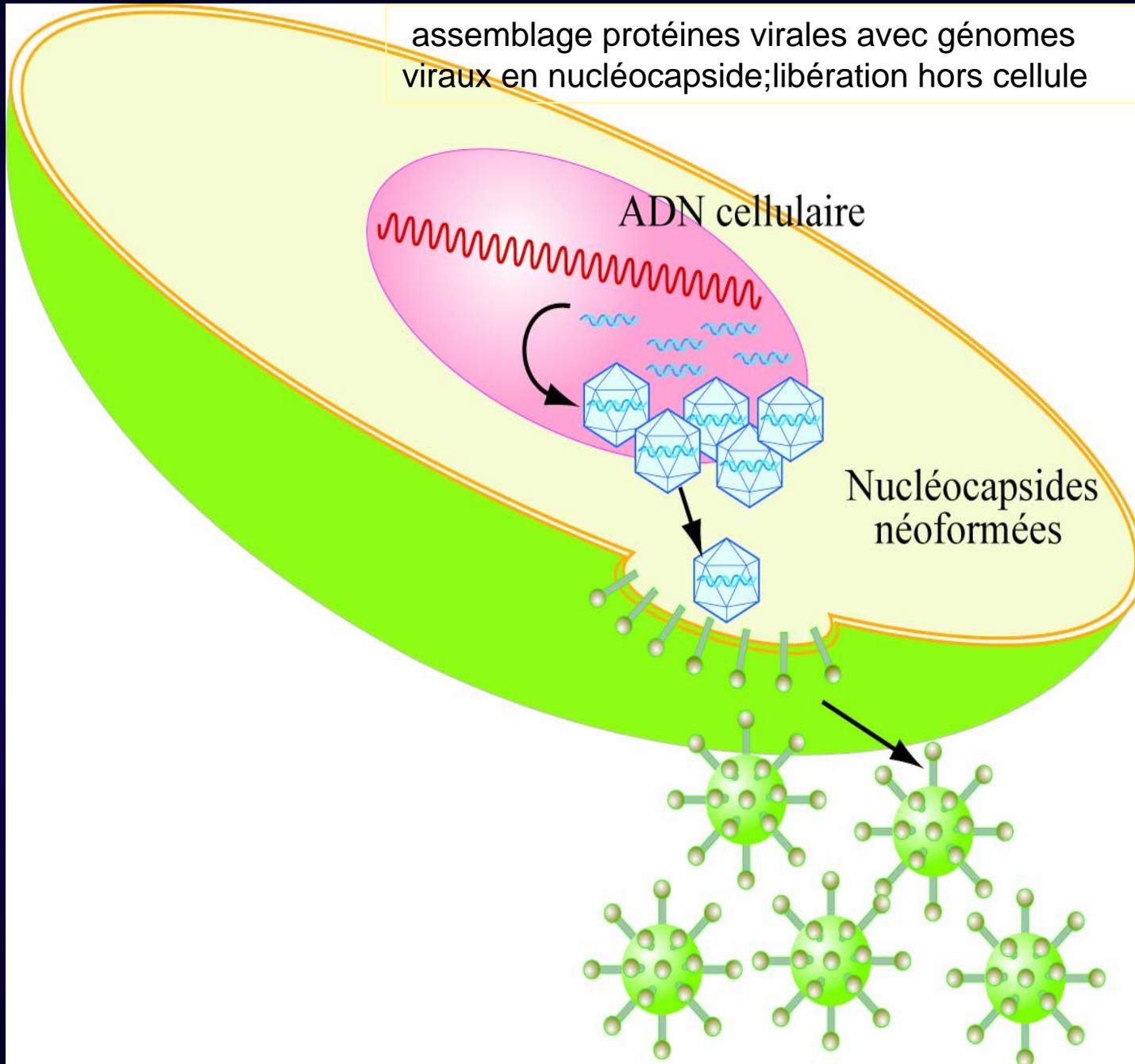
**2) synthétiser ses protéines virales (transcription, traduction)**

- **L'acide nucléique comprend l'info nécessaire pour synthèse composants structuraux et non struct.**
- **La machine traductionnelle est cellulaire (ribosomes cell.)**
- **L'information génétique fournie par le virus à cette machinerie (ARNm) doit être conforme aux contraintes des cellules eucaryotes**
  - **ARN de polarité positive**
  - **ARN monocistronique : 1 ARNm = 1 polypeptide**

De nombreux virus à ADN bicaténaires utilisent **enzymes cellulaires** situées dans noyau pour transcription et réplication

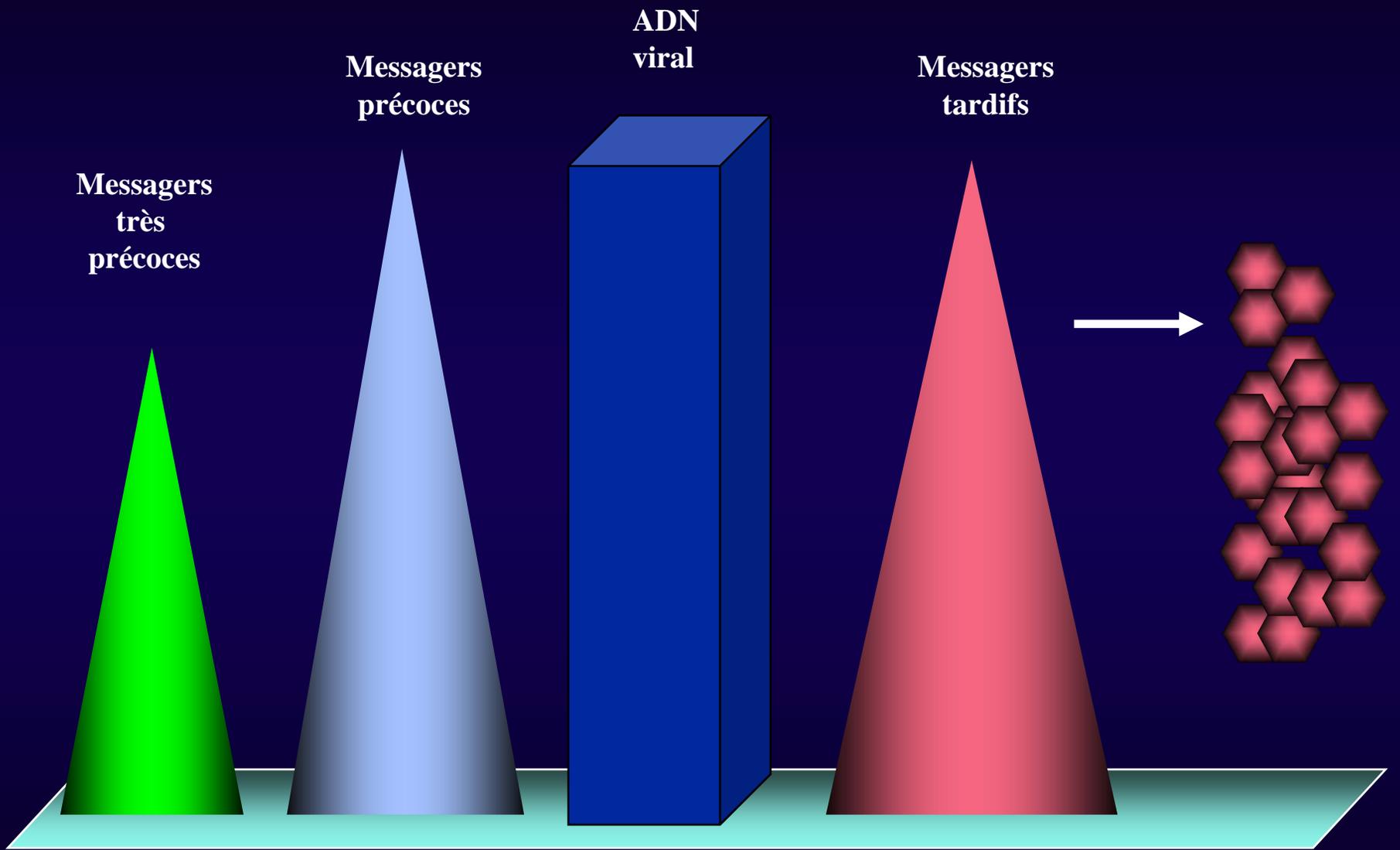


assemblage protéines virales avec génomes  
viraux en nucléocapside; libération hors cellule



# Cycle de multiplication virale : **les virus à ADN**

- production le plus souvent **intranucléaire** (herpesvirus, adeno, papilloma)
- enzymes nécessaires pour **transcription et réplication dans noyau**
- nécessite **pls activités enzymatiques** : hélicase, ADN pol, ribonucléase, ligase, ARN polymérase-ADN dépendante (pour débiter transcription)...
- **# unités de transcription** (= partie du génome située entre site d'initiation et site de terminaison de la transcription)
- souvent sont transcrites selon une **chronologie donnée** (séparation temporelle) avec phase très précoce / précoce / intermédiaire / tardive
- **modifications post-transcriptionnelles** avant exportation vers cytoplasme (queue polyA en 3', coiffe en 5', élimination intron par épissage...)



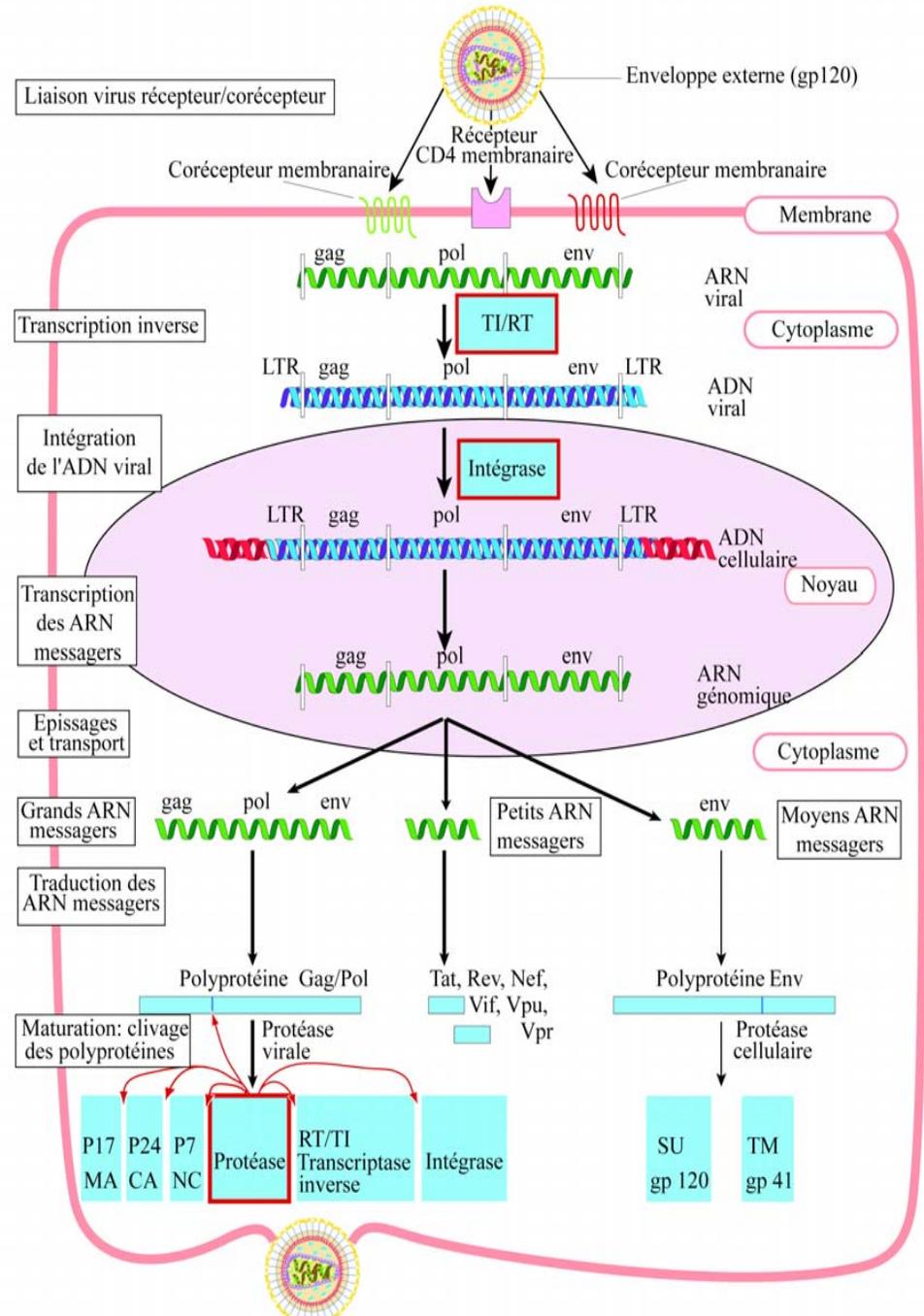
## Cycle de multiplication virale : **virus à ARN positif**

- ▶ **taille génome limitée** (picorna 7,5 kb → corona 30kb);
- ▶ **mutations** + fréq que virus à ADN
  
- ▶ **pour les protéines** : ARN+ = **ARN codant** (picornavirus);  
remplit la fonction d'ARNm  
pas de transcription donc pas de transcriptase !  
**traduction directe** par ribosomes cell
  
- ▶ **pour la réplication du génome** : **ARN pol ARN dép pour réplication génome**

## Cycle de multiplication virale : **virus à ARN négatif**

- ▶ **ARN ss à polarité négative (anti-messenger) :**
- ▶ plus diversifiés que virus à ARN+ ; génome + gros; + d'info génétique  
→ **segmentation fréquente**
- ▶ contient une **transcriptase virale = ARN-polymérase ARN-dépendante**  
→ transcription **ARN - → ARNm** (transcription précède traduction)

# Cycle de multiplication virale : réplication l'exemple du VIH

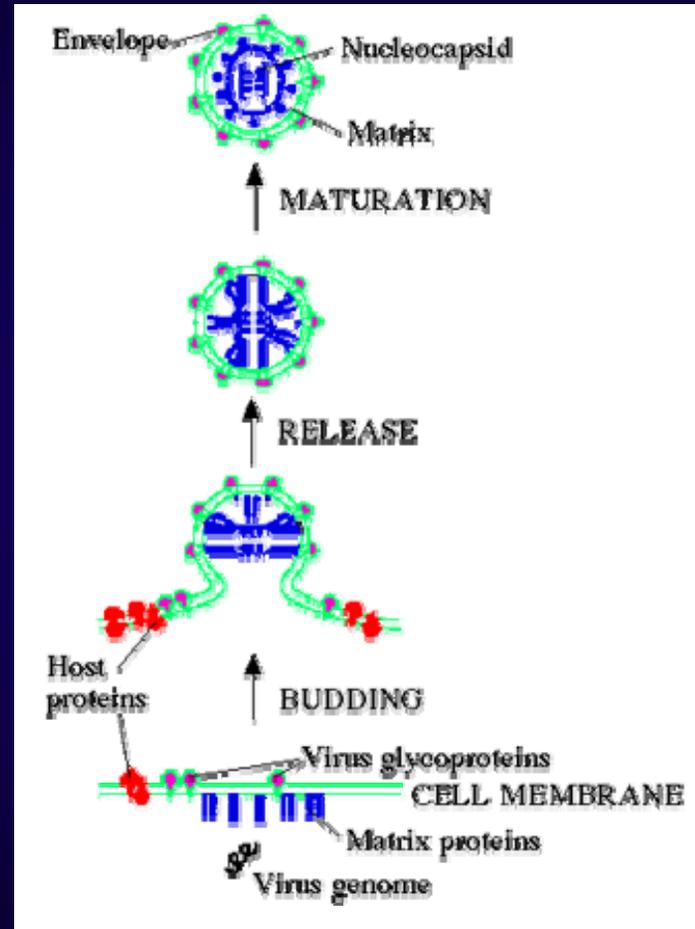


# Cycle de multiplication virale :

assemblage - maturation - libération des virus - +/- lyse cellulaire

## Sites mb d'acquisition de l'enveloppe

- **Herpès virus** : mb nucléaire interne puis golgi
- **Poxvirus** : golgi
- **Flavivirus** : mb endoplasmique
- **Orthomyxovirus, Paramyxovirus, Rhabdovirus, Rétrovirus**: mb plasmique externe



# Physiopathologie des infections virales

## I. Quelques notions initiales

### ▶ Virus = parasitisme intracellulaire obligatoire

Pas de machinerie pour	production énergie synthèse protéique réplication génome viral assemblage
------------------------	--

⇒ **détourne la machinerie de la cellule infectée**

### ▶ Notion d'Hôte ++ :

#### ▶ le patient ? (le terrain)

- patient immunodéprimé -> infections opportunistes
- patient immunocompétent : +/- élimination du virus ; effet +/- délétère de la réponse immune;

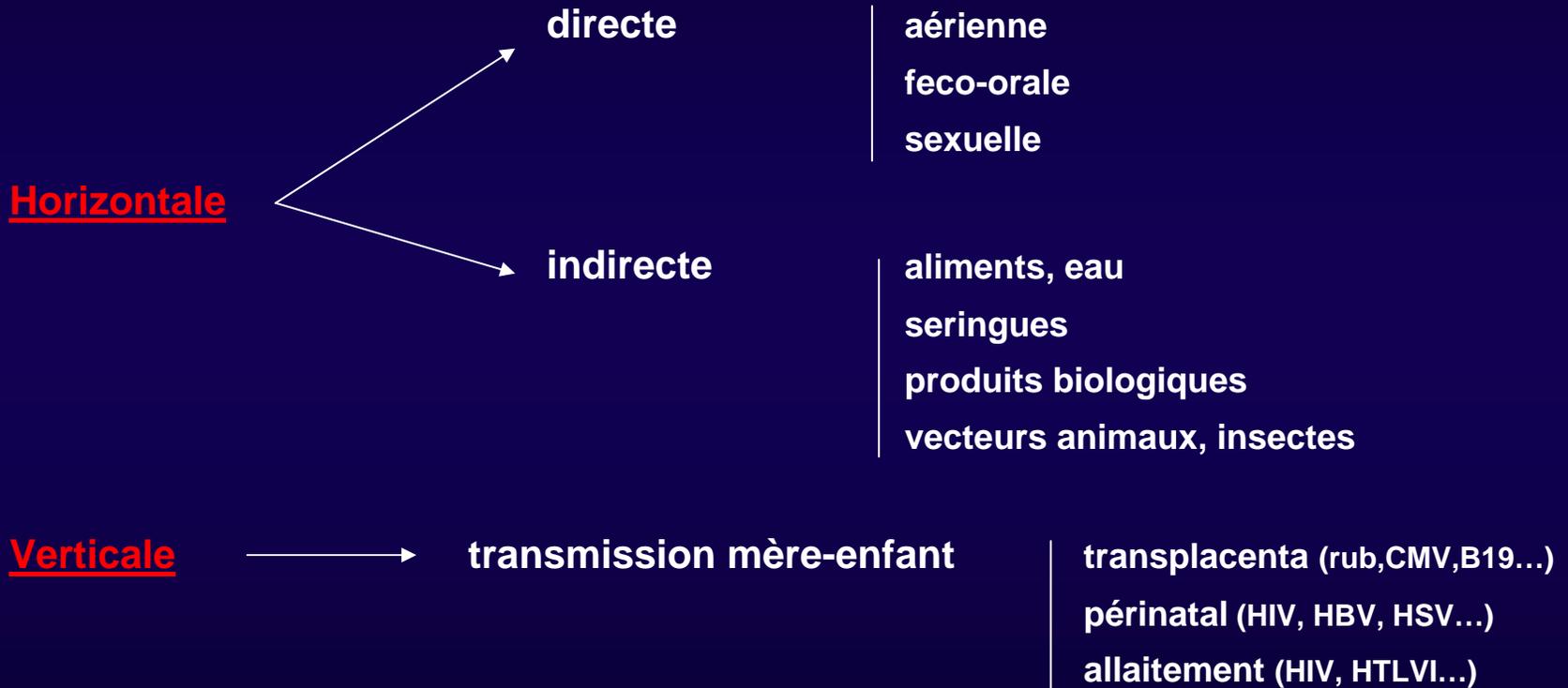
#### ▶ le tropisme cellulaire ?

## Les étapes de la pathogénèse

- **Transmission → Porte d'entrée :**
  - **peau** (effraction)
  - **muqueuses**: respiratoires, digestives, urogénitales, oculaire
- **Diffusion de l'infection :**
  - **diffusion locale** → incubation courte
  - **diffusion systémique** → incubation longue
- **Tropisme** : variable ⇒ symptomatologie variable

# Physiopathologie des infections virales

## 1) Transmission



# Physiopathologie des infections virales

## 2) Diffusion

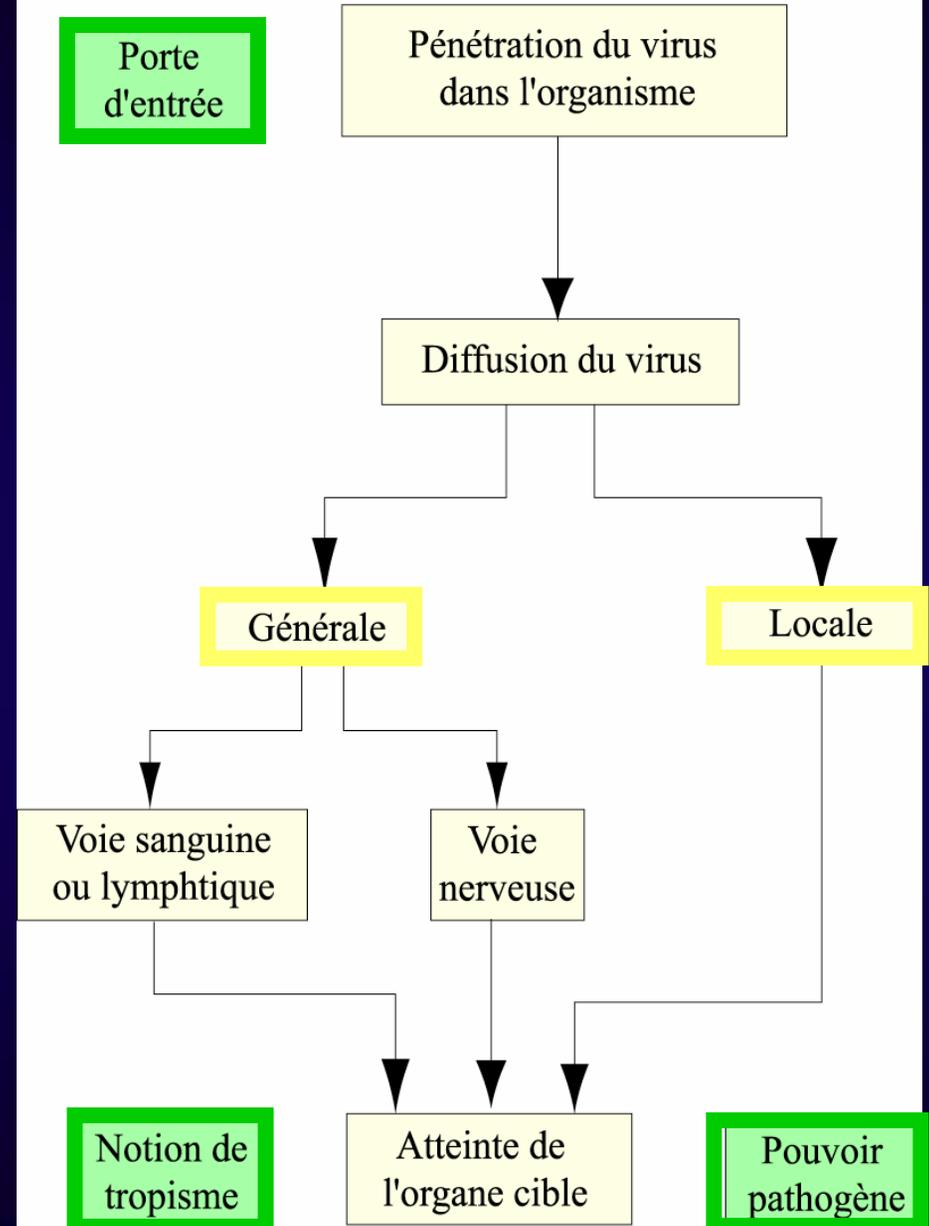
**Locale :**

**Incubation  
courte**

**Générale :**

**Incubation  
longue**

## L'infection virale



# Physiopathologie des infections virales

**3) Tropisme** : Sensibilité d'une cellule à l'infection : nécessite présence de récepteurs viraux « spécifiques »

**Mais ...**

- **Récepteurs parfois pas suffisants**

(ex : molécule CD4 et HIV; nécessité co-rct = rct chimiokines :CCR5/CXCR4)

- **Récepteurs parfois pas indispensables**

(ex : récepteur pour Fc des Ac et particule opsonisée par Ac)

- **Récepteurs parfois pas spécifiques**

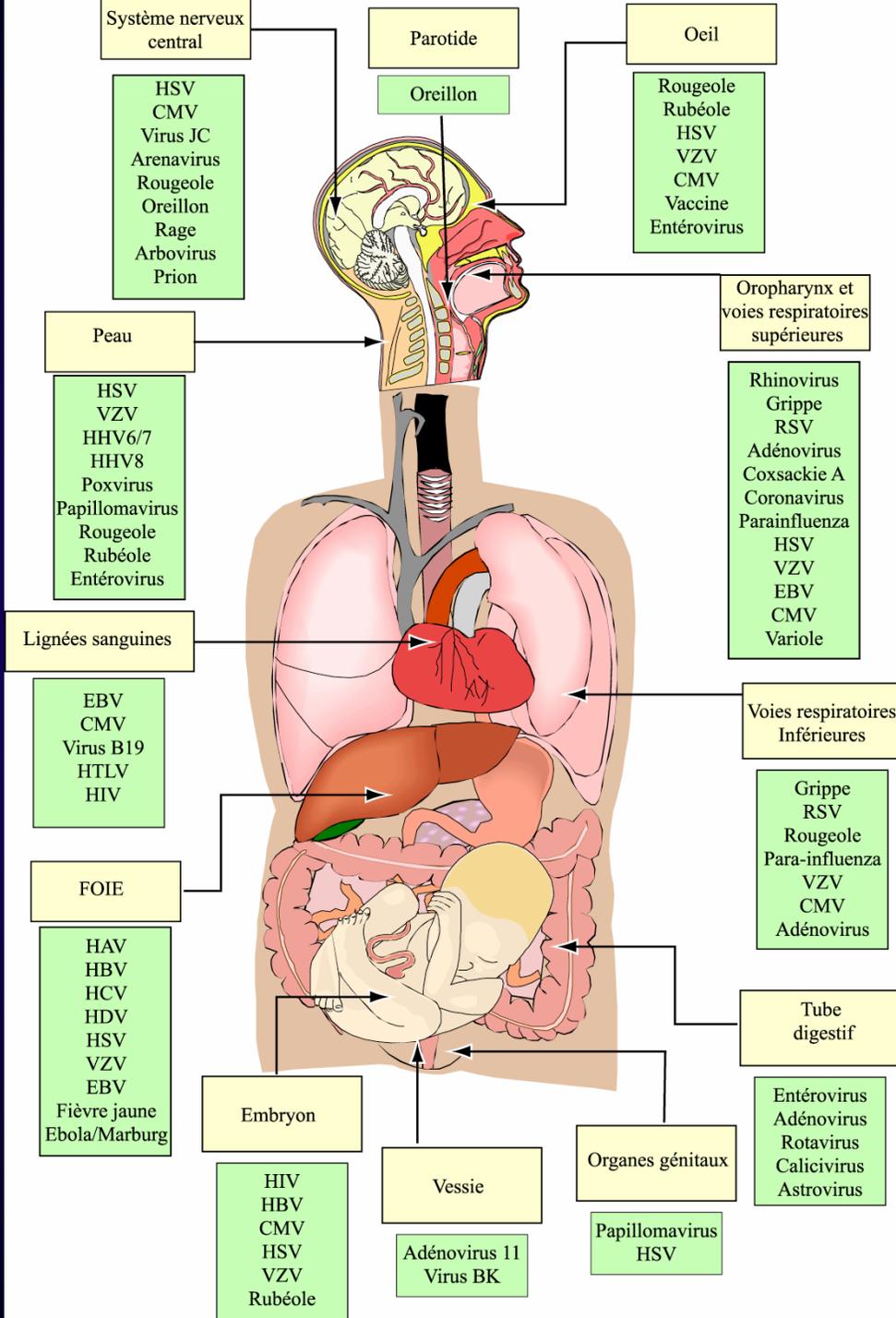
(ex heparan sulfate et CMV / HSV)

**cellule « sensible »** = capacité à être infectée (pénétration);

**cellule « permissive »** = capacité à multiplier le virus (réplication)

*toute cellule sensible n'est pas permissive (infection abortive, latente)*

# Tropisme des virus : variable +++



# Diffusion de l'infection - Tropisme

**Infection virale localisée**

**ex: grippe humaine(H3N2)**

Pénétration

Pénétration  
par inhalation de  
microgoutelettes

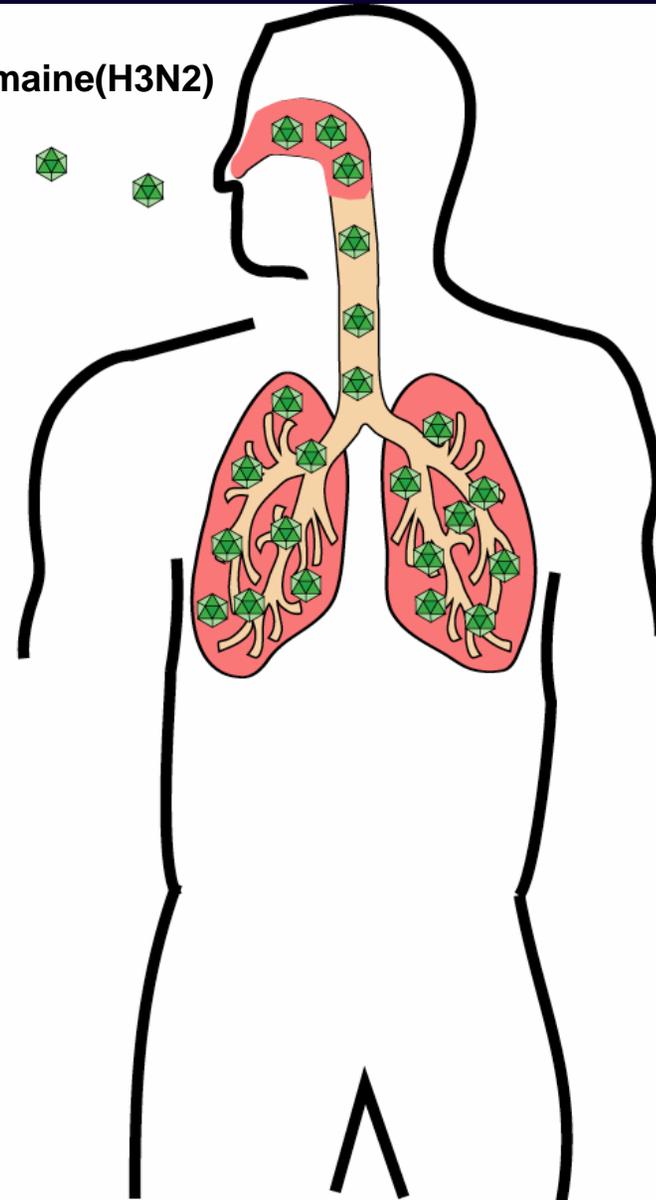
Multiplication dans la  
muqueuse respiratoire  
ciliée des fosses nasales

Diffusion

Diffusion de proche en  
proche jusqu'à  
l'épithélium cilié des  
bronchioles

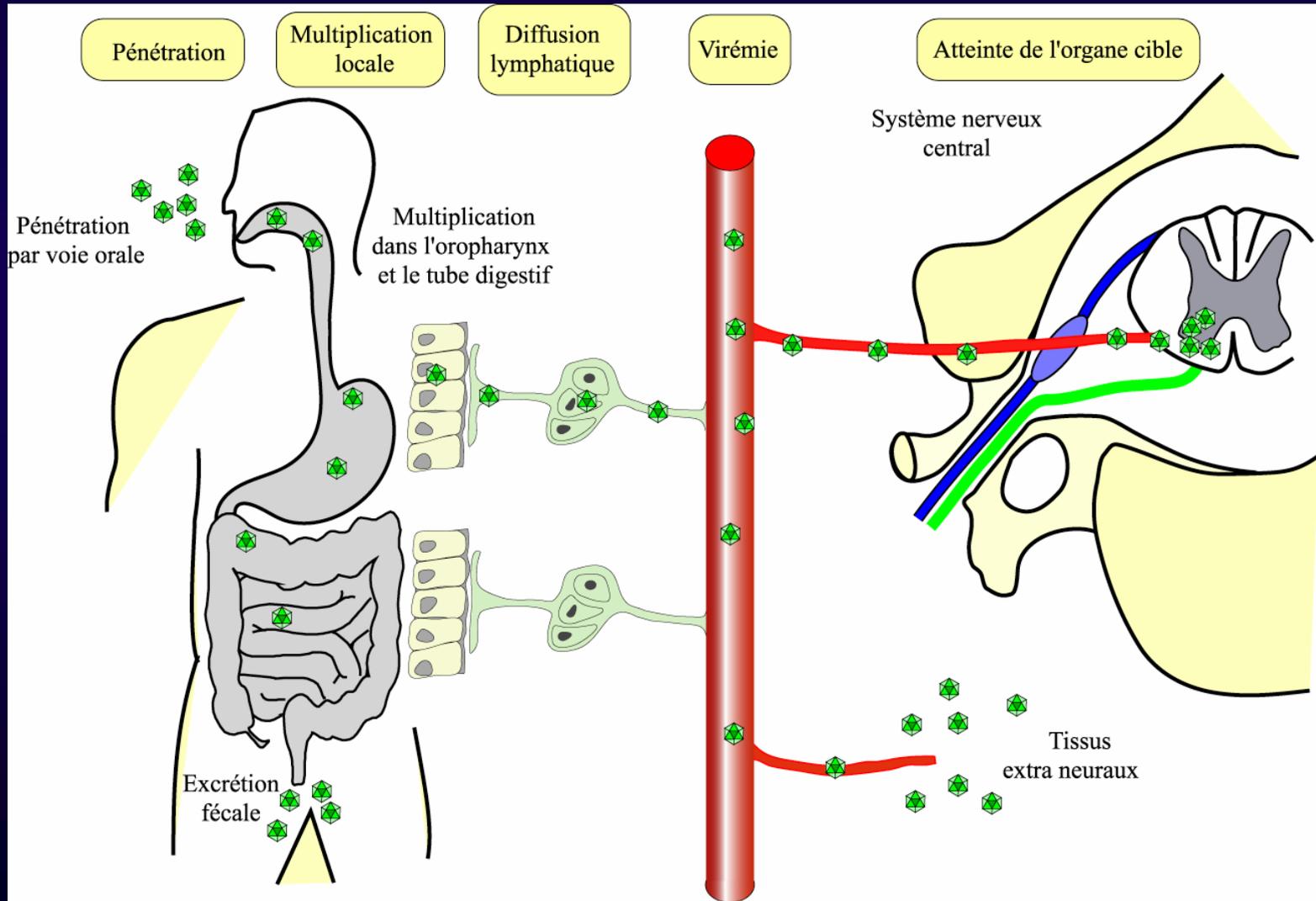
Atteinte de  
l'organe cible

La multiplication du  
virus grippal reste localisée  
à l'épithélium bronchique  
sans jamais traverser  
la membrane basale



# Diffusion de l'infection - Tropisme

## Infection virale systémique : la poliomyélite



# Les infections virales sont des icebergs ....

## Organisme infecté

## Cellule infectée

**Mort**

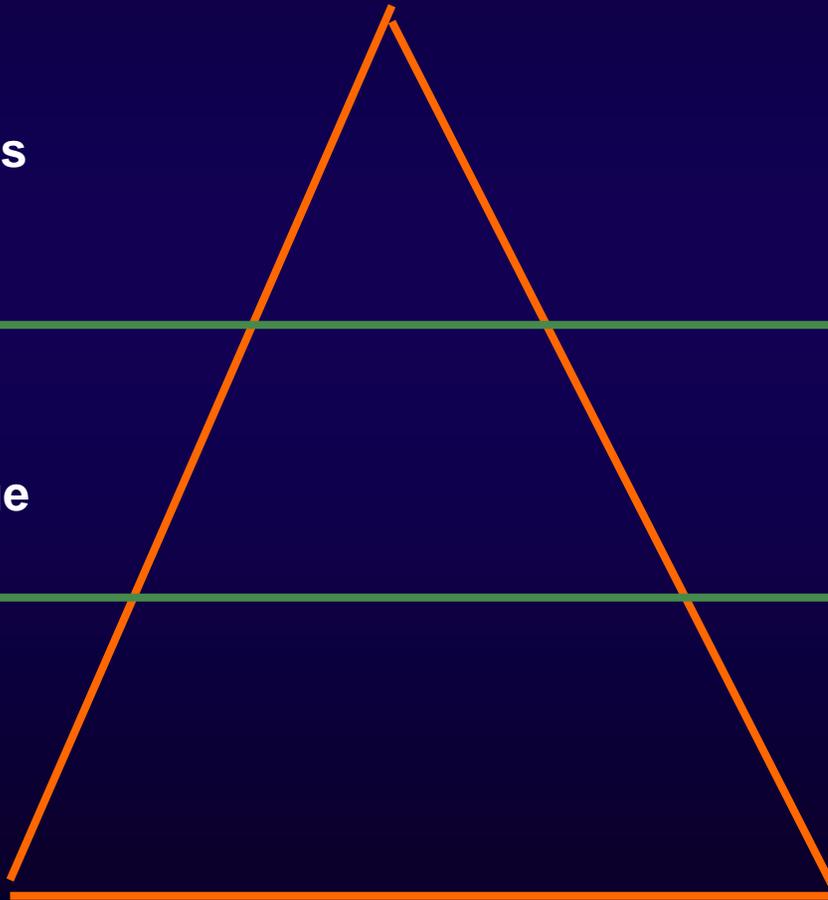
**Lyse cellulaire**

**Signes cliniques**

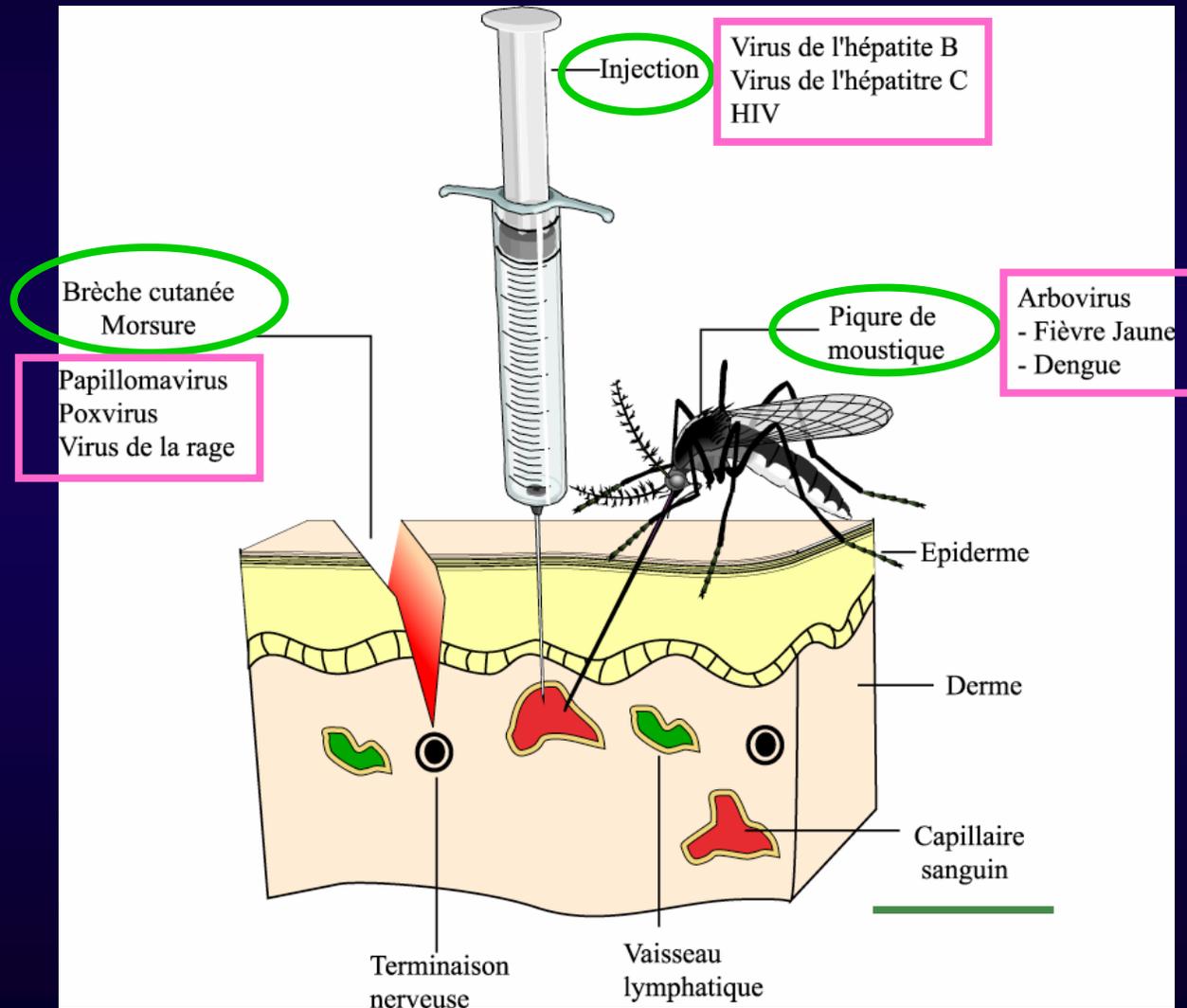
**Effet cytopathique *et/ou*  
Transformation *et/ou*  
Dysfonctionnement**

**Infection  
asymptomatique**

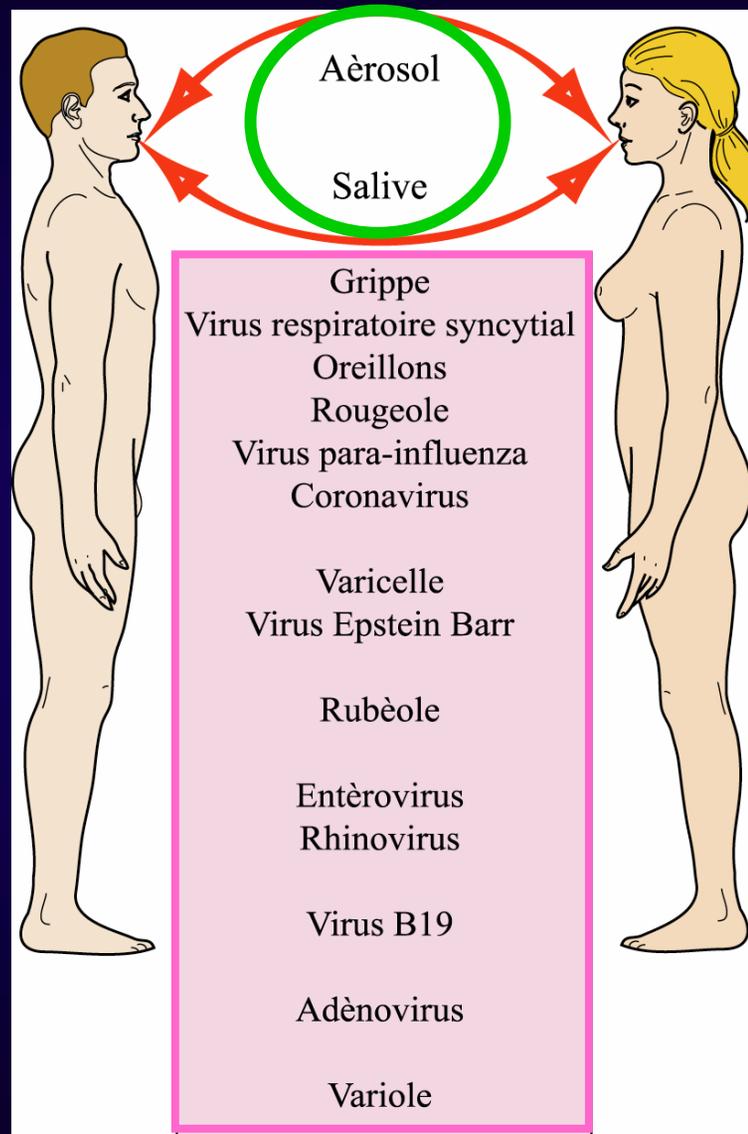
**multiplication virale  
sans altération cellulaire  
ou expression incomplète**



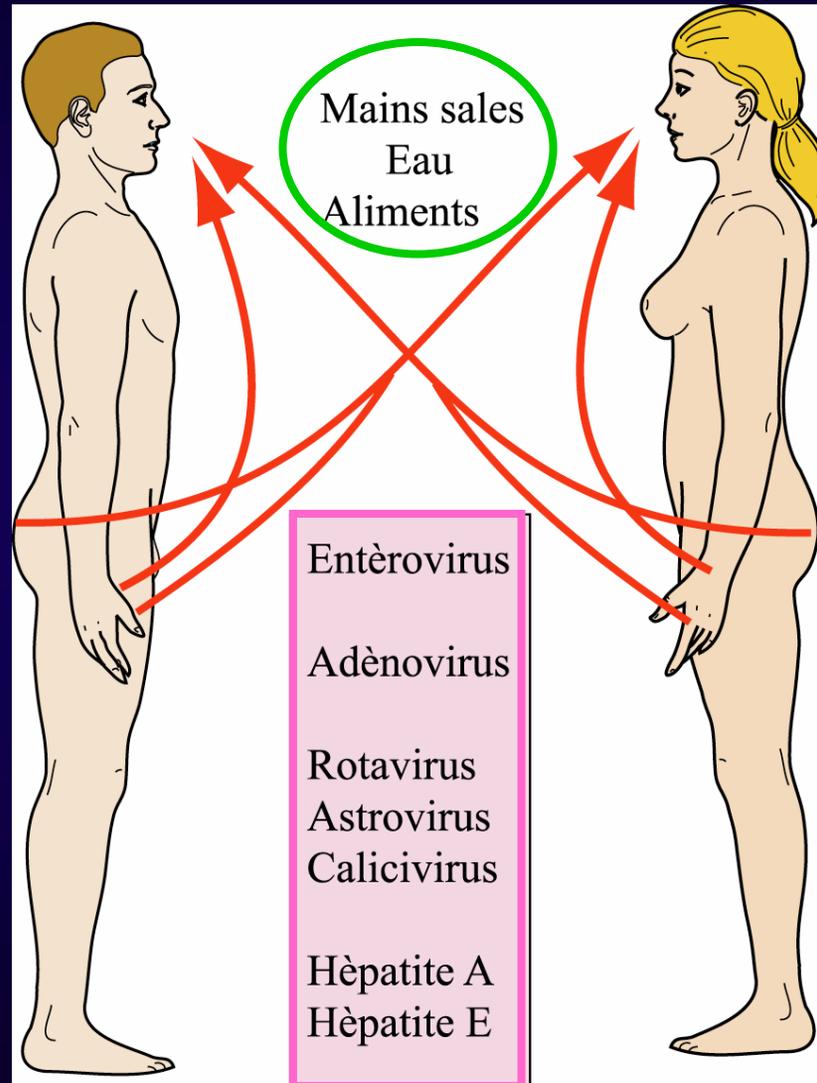
# Porte d'entrée cutanée



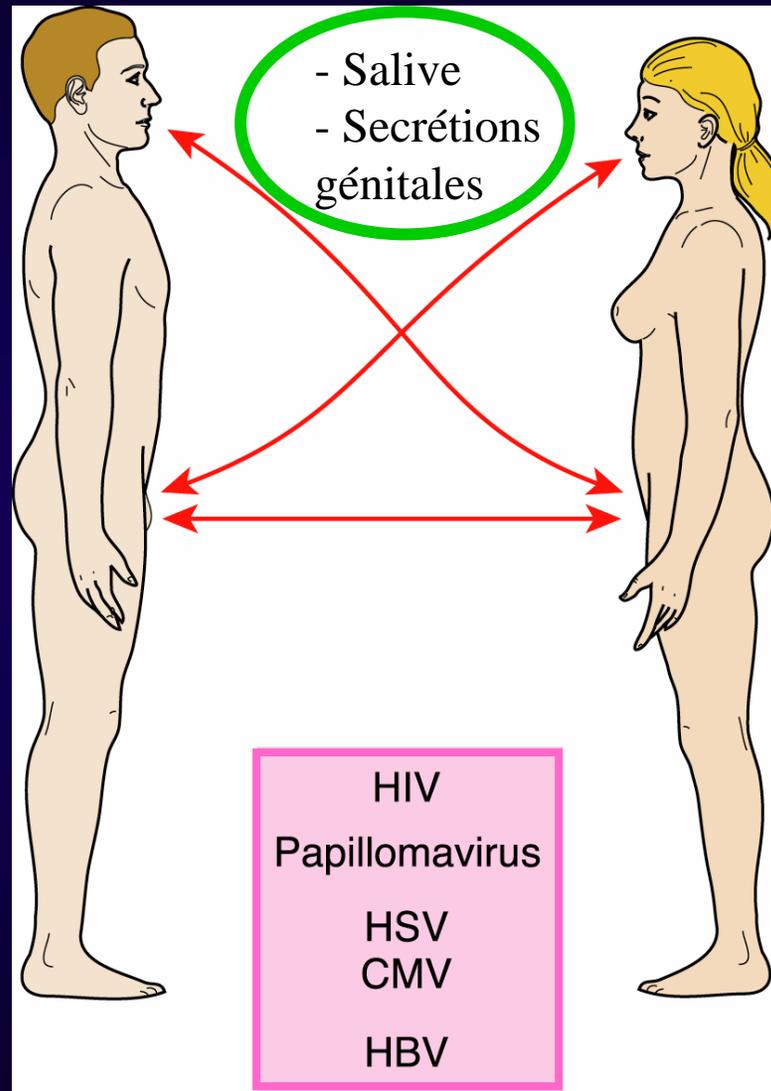
# Transmission respiratoire ou salivaire



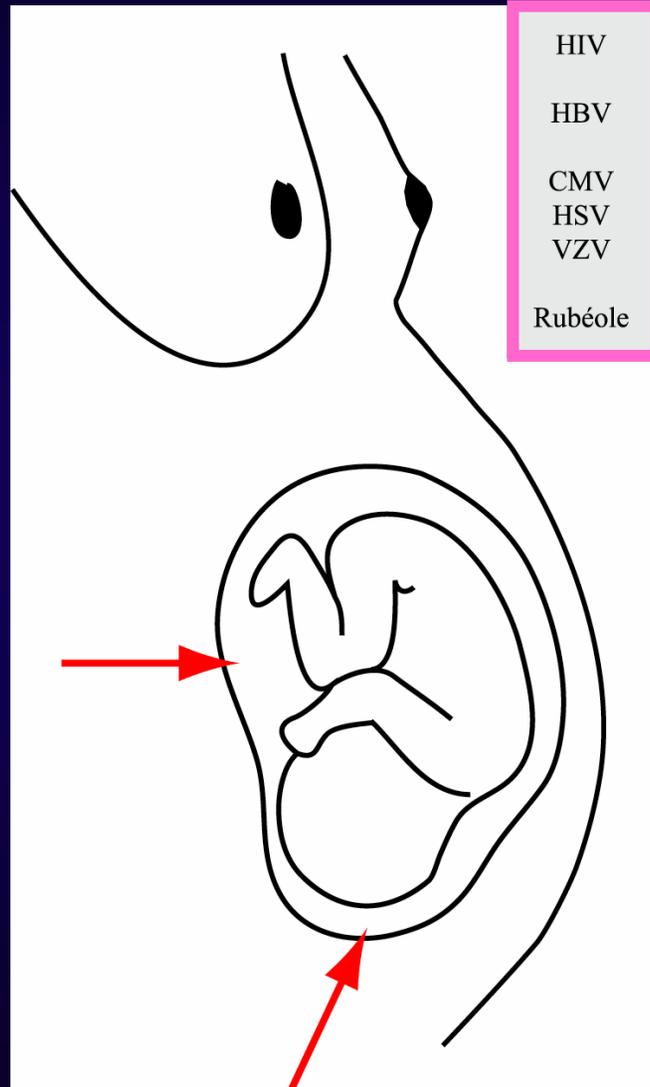
# Transmission féco-orale



# Transmission sexuelle

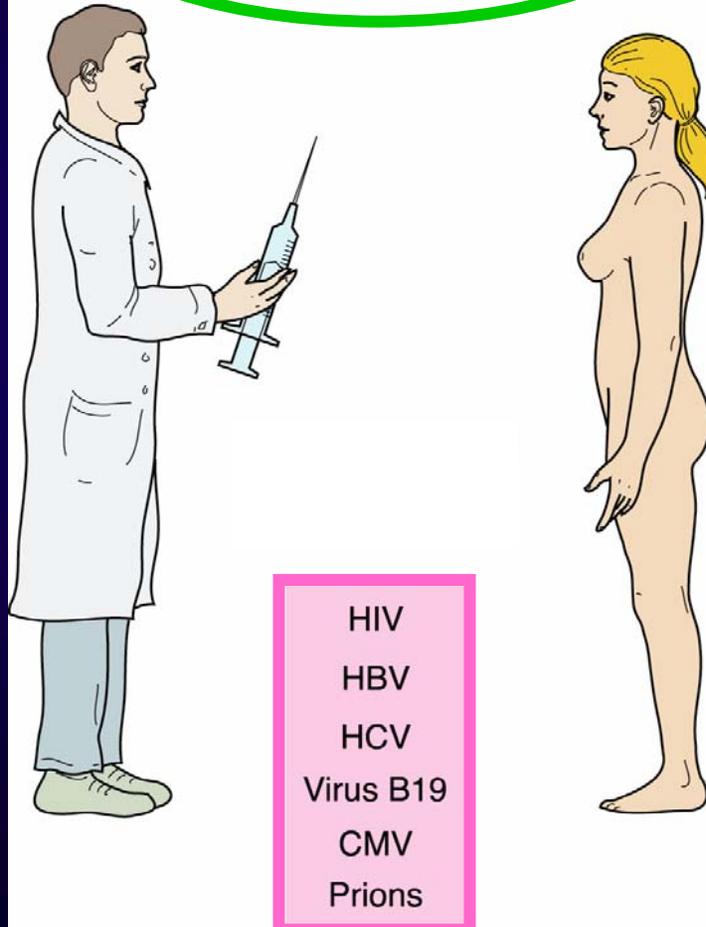


# Transmission mère-enfant



# Transmission iatrogène

Seringue  
Explorations invasives  
Médicaments dérivés du sang  
Greffes



# Epidémiologie

## Circonstances de survenue de l'infection virale

**Homme = hôte principal** (et réservoir) : majorité +++

**Homme = hôte intermédiaire :**

ex.: **arthropodes** → arbovirose  
(fièvre jaune, dengue, encéphalite japonaise....)

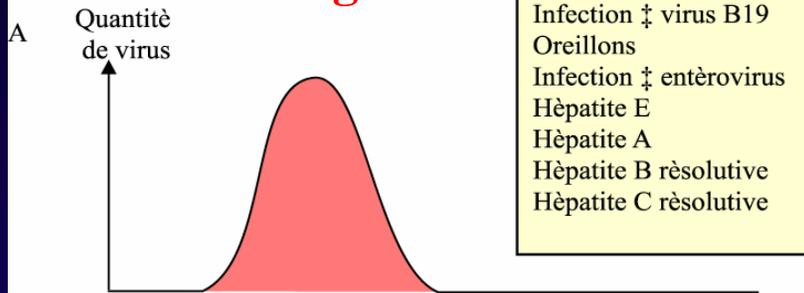
**Homme = hôte accidentel**

réservoir animal;  
contamination par

- morsure (rage, virus d'Ebola)
- aérosol (hantavirus, arenavirus)

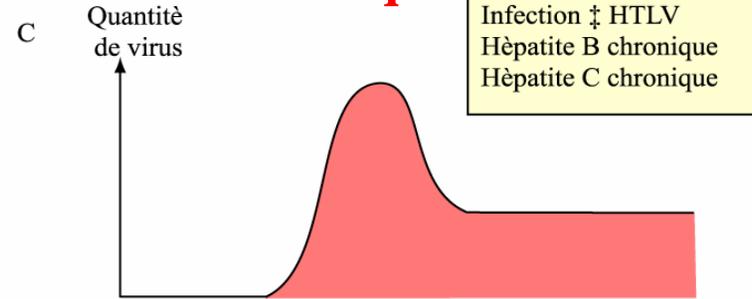
# Différents types d'évolution des infections virales

## aiguë



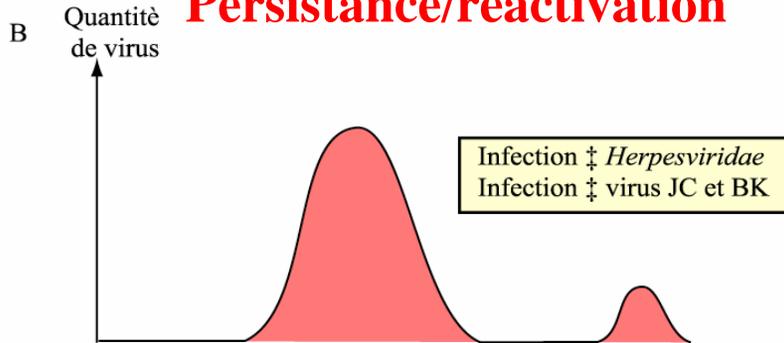
Infection aiguë avec disparition du virus

## chronique



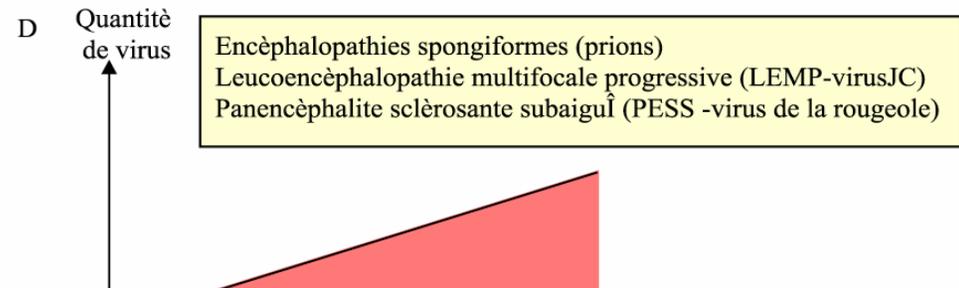
Infection aiguë suivie d'une infection chronique

## Persistance/réactivation



Infection aiguë suivie de persistance et de réactivation(s)

## Inf. lentement progressive



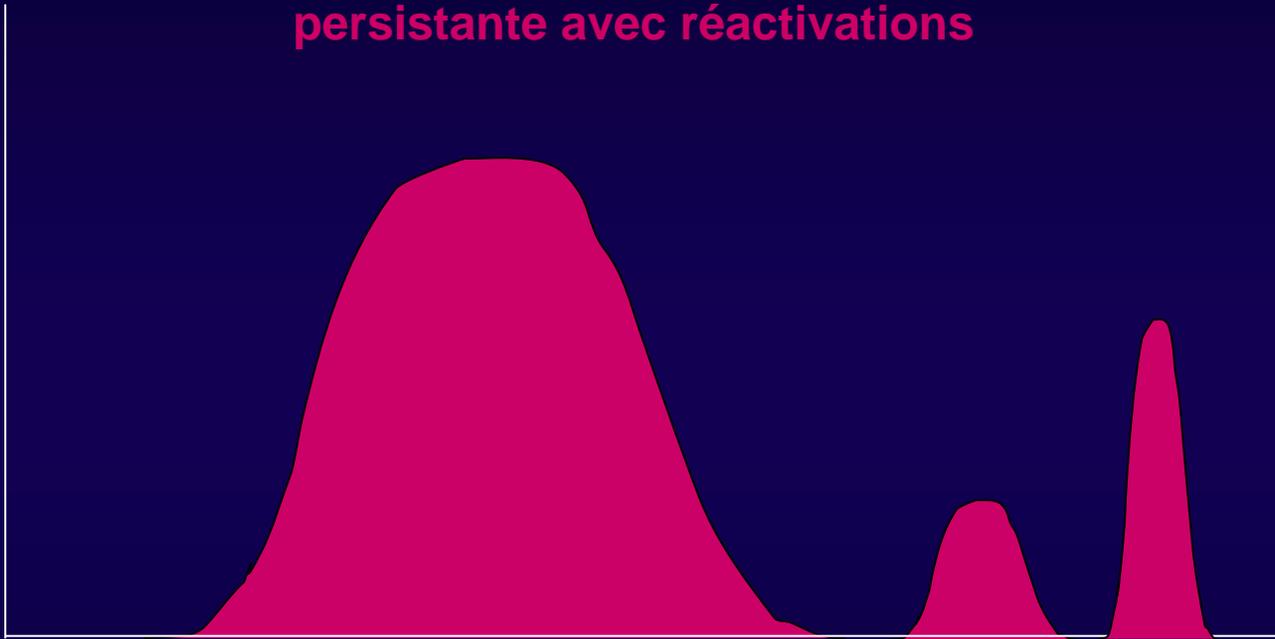
Infection lentement progressive

**Infection aiguë, non persistante**



**influenza, rotavirus, hépatite A**

**Infection « latente » =  
persistante avec réactivations**



**Herpesviridae, virus JC**

**Infection chronique, active à long terme**



**HIV, hépatite B, hépatite C**

# Mécanismes de défense de l'hôte

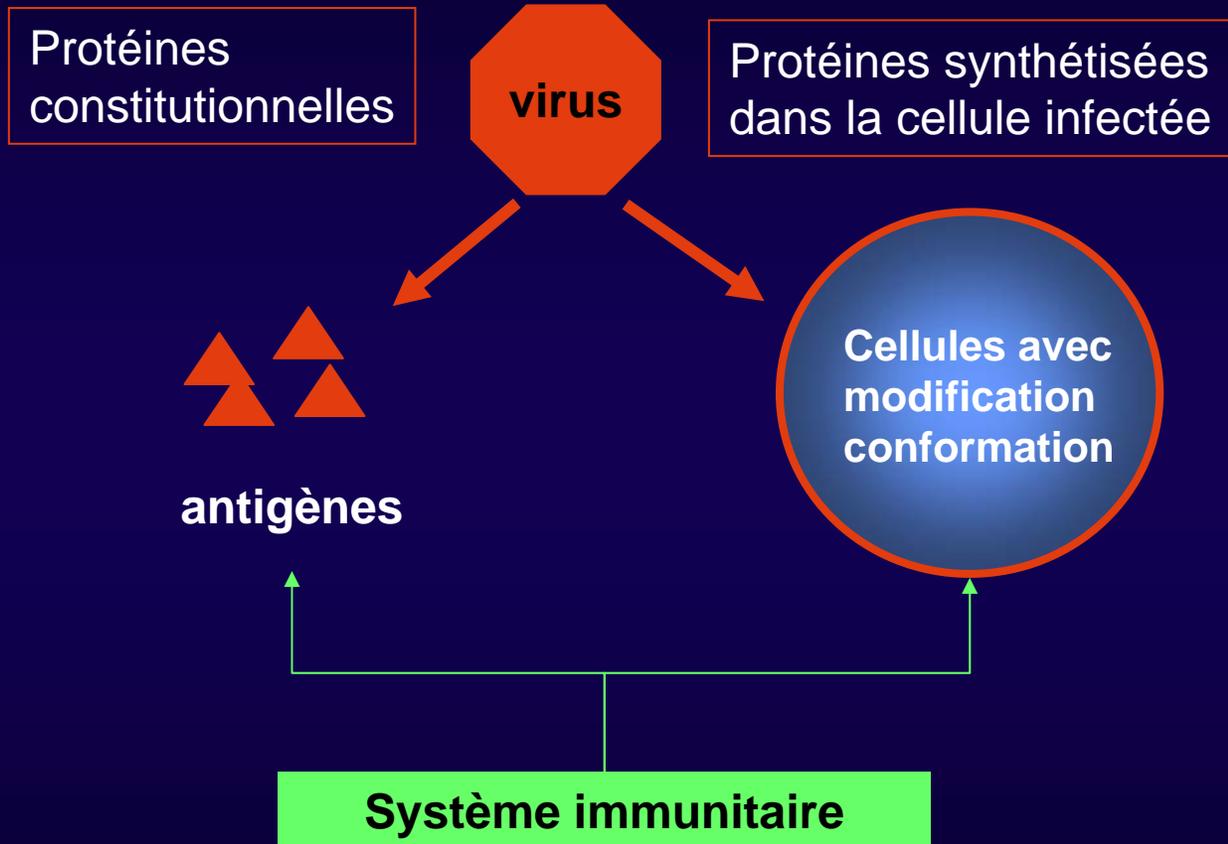
## Barrières naturelles

Réponse immunitaire naturelle (innée)

Réponse immunitaire spécifique (acquise)

**Possible Persistance virale  
avec échappement à la réponse immunitaire**

# Immunité antivirale



# Immunité antivirale

Immunité naturelle  
= innée

Système immunitaire

Immunité acquise  
= spécifique

- Cellules phagocytaires (macrophages...)
- Cellules tueuses (NK)

**Lyse cellules infectées**

Médiateurs solubles

Interférons  $\alpha/\beta$  pour cellules infectées  
Intérféron  $\beta$  pour cellules immunitaires

**Résistance à l'infection**  
**Augmente réponse immune**

Complément + Ac :  
**lyse V, lyse cell inf,**  
**opsonisation**

# Immunité antivirale

## Systeme immunitaire

Immunité naturelle  
= innée

Immunité acquise  
= spécifique

Immunité humorale

Immunité cellulaire

Lymphocytes B

Plasmocytes

Anticorps

Ly CD4+

Ly CD8+

IFN $\gamma$

« sérologie »

- Ac facilitants
- Ac neutralisants
- ADCC

Augmente réponse Immune (CD8, LB, NK)

Favorise cytotoxicité : lyse cell inf