

## 1- Historique

Les maladies virales sont connues depuis des millénaires, sous les Babyloniens, on savait que la rage se transmettait par morsure de chiens enragés. D'autre part, on a retrouvé des stigmates de la variole sur des momies égyptiennes. Mais il fallait la fin du 19<sup>e</sup> siècle pour identifier les virus en tant que tels, et que naisse la science des virus : la virologie. Les progrès dans le domaine de la virologie étaient plus lents que ceux de la bactériologie et la mycologie. Les virus ne sont pas visibles en microscopie optique, et ils ne sont pas cultivables en laboratoire sur les milieux usuels. Il faudra donc attendre la seconde moitié du 20<sup>e</sup> siècle pour que leur mode de réplication intracellulaire soit connu.

La mosaïque du tabac qui est une maladie des plantes a servi de modèle d'étude des virus. Elle est décrite comme une maladie transmissible mais dont l'agent infectieux est inconnu. En 1884, Charles Chamberland a mis au point un système d'ultrafiltration qui permet l'élimination des microorganismes. Les filtrats obtenus étaient normalement stériles mais en 1892, Dimitri Iossifovitch Ivanovski démontra que l'agent responsable de la maladie est d'une taille très inférieure aux microorganismes. Il démontre également que le facteur responsable de la mosaïque est un agent ultrafiltrable et transmissible.

## 2- Introduction

Les virus (latin, poison) forment un groupe unique d'agents infectieux dont le génome est un élément d'acide nucléique, acide désoxyribonucléique (ADN) ou acide ribonucléique (ARN), qui se reproduisent à l'intérieur de cellules vivantes et qui utilisent leur machinerie de synthèse pour diriger la synthèse de particules spécialisée appelées virions. Les virus diffèrent des cellules vivantes par 3 caractères au moins : leur organisation simple et acellulaire, l'absence d'ADN et d'ARN ensemble dans le même virion et incapable de se multiplier indépendamment des cellules, et il se reproduit uniquement à partir de son matériel génétique.

## 3- Structure

La morphologie des virus est déterminée grâce à la microscopie électronique, diffraction aux rayons X, analyses biochimiques et immunologiques.

### 3-1- Taille des virus

La taille des virus se situe entre 10 et 300 ou 400 nm de diamètre. Les plus petits virus sont un peu plus grands que les ribosomes (ex. parvovirus) et les grands virus (poxvirus) sont proches des plus petites bactéries.

### 3-2- Propriétés générales des virus (Figure 1)

Le virus est composé :

- d'un acide nucléique ADN ou ARN porteur de l'information génétique ;
- d'une la capsidie qui est une structure protéique protégeant l'acide nucléique ; l'ensemble acide nucléique-capsidie est appelé nucléocapsidie. Pour certains virus la nucléocapsidie est appelée core ;
- parfois d'une enveloppe.

Il y a 4 types morphologiques de capsidies et de virus :

1- Les sous unité protéiques composant la capsidie se répartissent sur un icosaèdre (polyèdre régulier à 20 faces triangulaires et 12 sommets). Sur les faces, les sous- unités protéiques se regroupent par 6 ainsi que sur les arêtes pour constituer des capsomères appelés hexons. Au sommet de chaque triangle, partent 5 plans différents. Les sous- unités s'y assemblent par 5, le capsomère du sommet s'appelle penton. Le nombre de capsomères varie selon les virus mais non celui des pentons. Ex. parvovirus.

2- des capsidies hélicoïdales en forme de cylindre protéique creux. Les rotomères tous identiques s'associent suivant un arrangement en spirale pour former un tube rigide (virus de la mosaïque du tabac) ou flexible (virus influenza).

3- Certains virus possèdent une enveloppe entourant la nucléocapsidie. Ces virus enveloppés sont sphériques même si la nucléocapsidie est icosaédrique ou hélicoïdale.

L'enveloppe virale ou peplos (manteau) est acquise à la fin du cycle de multiplication par bourgeonnement de la nucléocapsidie à travers les membranes (cytoplasmique, nucléaire, réticulum endoplasmique...) de la cellule-hôte. Cette dernière fournit la double couche lipidique alors que les spicules ont une origine virale.

Les spicules sont des glycoprotéines virales appelées également péplomères qui permettent, principalement, aux virus de reconnaître et de se fixer sur les récepteurs cellulaires de l'hôte.

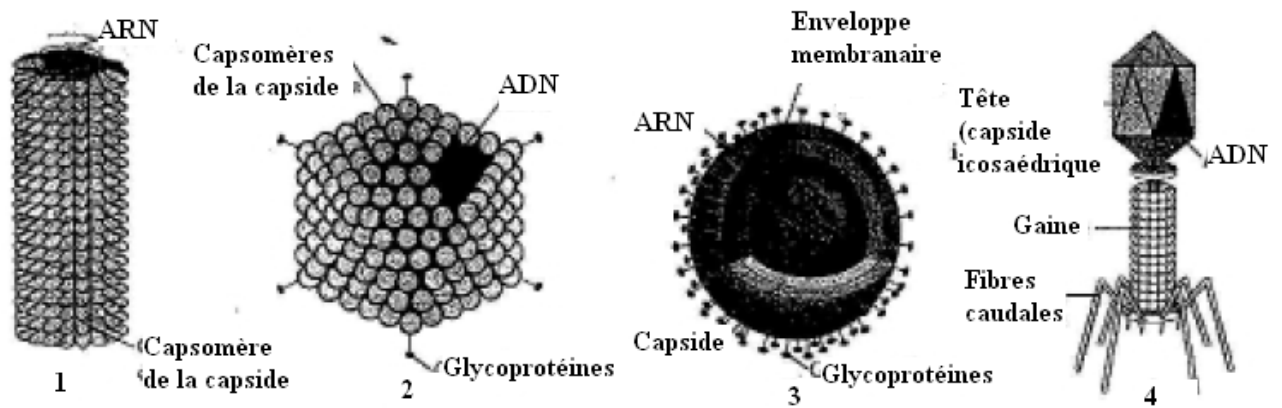


Figure 1. Structures des virions

#### 4- Virus complexes

Les virus complexes sont ceux dont la nucléocapside n'est pas icosaédrique ni hélicoïdale :

- Poxvirus

Ce sont les plus gros virus animaux connus. Dans le cas du virus de la variole, la surface des virus est recouverte d'une série de tubes composés d'une double rangée d'unités sphériques réparties au hasard (figure 2).

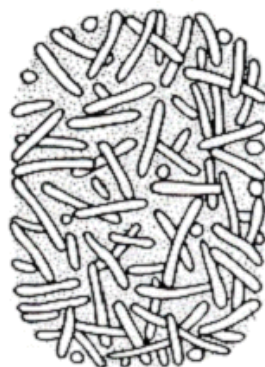


Figure 2. Structure du virus de la variole

- Bactériophage

Les phages T2, T4 et T6 infectent *E. coli* possèdent une tête fixée par un collier à une queue faite d'un tube central creux rigide, d'un manteau ou gaine entourant le tube et d'une plaque basale. Cette dernière est hexagonale et porte à chaque angle un crochet et des fibres articulaires responsables de la fixation.

Les virus bactériens complexes avec tête et queue sont dits binaires.

### 3-3- L'acide nucléique (ou génome)

Un virus comporte donc un génome qui est de l'ADN ou de l'ARN. Ce génome peut-être monocaténaire (à simple brin) ou bicaténaire (à double brin). La taille du génome varie considérablement parmi les virus à ADN (3 à 300 kpb), alors qu'elle est comprise entre 10 et 20 kb pour la plupart des virus à ARN.

Le matériel génétique de la plupart des virus à ADN est un double brin et linéaire. Il peut aussi être bicaténaire circulaire (virus de l'hépatite B), monocaténaire et circulaire (bactériophage X174), le phage lambda a un ADN double brin linéaire se terminant par des bouts collants.

Le matériel génétique des virus à ARN est simple brin. Lorsque l'ARN génomique est identique à l'ARNm, l'ARN est dite chaîne positive (ou plus) ou au contraire complémentaire de l'ARNm, il s'agit de chaîne négative (ou moins). Les réovirus sont bicaténaires. Le génome des rétroviridae est constitué de deux molécules d'ARN monocaténaires, linéaires, identiques, reliées par des liaisons covalentes à leur extrémités'.

### 3-4- Enveloppes et enzymes virales

Certaines familles virales possèdent, autour de la nucléocapside, une structure ou un ensemble de structures périphériques facultatives que l'on appelle enveloppe. Les virus qui possèdent une enveloppe sont dits enveloppés, les autres sont dits nus.

Tous les virus animaux ARN à nucléocapsides à symétrie hélicoïdale sont enveloppés : orthomyxovirus, paramyxovirus, rhabdovirus. Quelques virus icosaédriques à ARN (togavirus) et des virus à ADN (herpesvirus, poxvirus) possèdent également une enveloppe.

Les enveloppes virales sont de composition macromoléculaire complexe, lipido-glucido-protéique. La structure lipido-protéique rend les enveloppes très sensibles aux actions physico-chimiques, à l'action des solvants des lipides et en particulier à l'éther, aux détergents, aux sels biliaires, aux variations de pH. Elle confère d'autre part au virion une thermosensibilité. De ce fait, la présence d'une enveloppe, loin d'être un élément de protection supplémentaire de la nucléocapside confère au contraire aux virus enveloppés une certaine fragilité, dans le milieu extérieur où ils survivent peu de temps et dans les milieux hostiles de l'organisme (matière fécale).

La plupart des enveloppes virales des animaux proviennent des systèmes membranaires de la cellule hôte (elles prennent le nom de peplos). Trois origines membranaires sont possibles : la membrane nucléaire, au niveau de son feuillet interne (herpès virus), les systèmes membranaires intra cytoplasmiques comme le réticulum endoplasmique ou l'appareil de Golgi, la membrane plasmique (myxovirus). Les sucres et les lipides des enveloppes

proviennent des cellules hôtes alors que les protéines sont codées par des gènes viraux. Les protéines peuvent dépasser l'enveloppe comme des projections ou spicules. Ces structures permettent la fixation du virus à la surface de la cellule hôte.

En plus des protéines structurales, des enzymes sont associées à la capsidie et à l'enveloppe.

#### 4- Classification et nomenclature des virus

La classification des virus est basée sur :

- La nature de l'acide nucléique, permettant de distinguer des virus à ADN (D), des virus à ARN ;
- La symétrie de la nucléocapsidie : hélicoïdale (H), cubique (C) ou mixte ;
- La présence (E) ou l'absence (N) d'une enveloppe ;

Les virus sont ordonnés en ordres, familles, sous-familles puis en genres :

|                                  |           |
|----------------------------------|-----------|
| Ordre (le Taxon le plus élevé) : | - virales |
| Familles                         | - viridae |
| Sous-familles                    | - virinae |
| Genres                           | - virus   |

Ces noms sont écrits :

- capitale et *italique* pour les familles, ex : *PARAMYXOVIRIDAE*
- en *italique* sans capitale pour les sous-familles et genres.

Pour les espèces noms communs, romain sans capitale, ex : la rougeole.

#### 4-1- Classification et multiplication des bactériophages

Les caractères les plus importants pour la caractérisation des bactériophages sont la morphologie de la particule et le type d'acide nucléique. Le matériel génétique est de l'ADN ou de l'ARN et la majorité possède un ADN bicaténaire. Ils sont placés dans les groupes morphologiques suivants : icosaédrique sans queue, à queue contractile, à queue non contractile et virus filamenteux.

##### 4-1-1- La multiplication des phages à ADN double brins (cycle lytique)

Le cycle lytique : cas du phage T2 de *E. coli*. La multiplication des phages est plus rapide que celle des virus à animaux et à végétaux. Elle débute par :

- une adsorption : le phage se fixe au niveau de récepteurs spécifiques (qui peuvent être les protéines ou lipopolysaccharides de la paroi, l'acide teichoïque, les flagelles ou les pili). Elle débute par un contact des fibres avec le récepteur, la plaque basale s'approche de la surface.

Le lysozyme situé dans la queue du phage dépolymérise le mucocomplexe de la paroi bactérienne en coupant les liaisons glycosidiques. La gaine se réorganise et se raccourcit et s'élargit. Le tube central est propulsé à travers la paroi et l'ADN est injecté dans la bactérie. Le virion, après avoir injecté son ADN, cesse d'exister en tant que particule infectieuse indépendante.

- synthèse des acides nucléiques et des protéines phagiques : cette phase débute par un arrêt de toute synthèse de la cellule hôte. L'ARN polymérase commence à synthétiser l'ARNm du phage. Ces derniers dirigent la synthèse des protéines et des enzymes nécessaires à construire l'acide nucléique du phage, à dégrader le génome bactérien. Les protéines de structure (tête et queue) apparaissent 9 minutes environ après l'infection et cette synthèse est dirigée par l'ADN phagique et les ARN messagers.

- phase de maturation et de libération : l'ADN phagique se condense puis s'entoure d'unités protéiques reconstituant la tête du phage. Les éléments de la queue s'associent ensuite. De nouveaux virions sont ainsi formés. Les virions formés au cours de la maturation sont en nombres de 100 à 200. Grâce à l'endolysine, ils agissent sur la paroi bactérienne. La bactérie éclate et libère son contenu vers la 24<sup>ème</sup> minute. La multiplication des virions s'appelle phase végétative.

#### 4-1-2- Bactériophage à ARN (phage MS-2)

- Les phages à ARN se fixent aux niveaux des pili F des bactéries mâles qui sont seuls sensibles.

- L'ARN génomique sert de messagers pour la synthèse de 3 protéines correspondant à sa triple information : protéine de capsid, protéine A, réplicase. Puis l'ARN sert de matrice pour la synthèse de nouvelles chaînes d'ARN en présence de la réplicase selon ce schéma :

→ A partir de l'ARN génomique (chaîne positive) sont synthétisés des chaînes complémentaires (chaînes négatives) ;

→ La chaîne négative sert pour la synthèse de chaînes positives.

- Maturation et libération des virions.

#### 4-1-3- Lysogénie des bactériophages tempérés

L'infection lytique est propre aux bactériophages virulents. Il en existe un 2<sup>e</sup> type de bactériophages appelés tempérés. Lorsqu'une bactérie sensible est infectée par de tels phages, deux réponses peuvent avoir lieu :

- le phage déclenche le même cycle lytique que précédemment.

- les bactéries résistent aux phages, c'est une infection lysogénique car dans certaines conditions, les cellules pourront se lyser et libérer des phages.

### Bactéries lysogènes

Ce sont des bactéries qui hébergent le génome viral et qu'elles peuvent transmettre à leur descendance. Un exemple est donné par le phage lambda de *E. coli* K12 dont le génome est un double brin à extrémités cohésives une fois à l'intérieur de la bactérie, il se circularise. Il peut soit suivre le cycle lytique soit lysogénique. Sous cette dernière forme, il s'intègre au chromosome bactérien, c'est le prophage. Ce dernier se comporte comme un gène bactérien qui sera transmis à la descendance. La bactérie est devenue immune et rarement le prophage se détache pour déclencher le cycle lytique.

Il y a des conséquences de la lysogénie, cas de la conversion. La bactérie portant un prophage peut acquérir de nouvelles propriétés. Un exemple est donné par l'espèce *Corynebacterium diphtheriae* qui en abritant un prophage devient capable d'une production de la toxine.

## 4-2- Interaction virus- cellules animales

L'infection d'une cellule animale par un virus peut donner lieu à plusieurs réponses possibles :

- Interaction productive : la pénétration du génome viral dans la cellule conduit à la formation et à la libération de virions.
- Interaction abortive : l'infection de la cellule par un virus n'aboutit pas à la production de virions. La cellule ne leur permet pas de développer.
- Interaction intégrative: le virus s'intègre au génome de la cellule hôte (par liaison covalente) : provirus ou sous forme de plasmide libre. Il sera ainsi transmis après division cellulaire.

### 4-2-1- Cycle de multiplication de virus à ARN (modèle poliovirus):

- adsorption et pénétration :

L'adsorption a lieu au niveau de sites membranaires de la cellule et certains constituants de surface du virus. Les poliovirus se fixent sur des glycoprotéines membranaires puis leur ARN pénètre par pinocytose.

- synthèse des constituants viraux :

Durant 2 à 3 heures, la cellule est le siège d'une synthèse de constituants viraux, alors que ses propres synthèses sont arrêtées. L'ARNm viral est une chaîne positive, son rôle est (i), transcrit son information pour la synthèse de protéines virales, une réplicase, des protéines

capsidales (ii) donne son complémentaire (chaîne négative) et à partir de cette dernière, des chaînes positives sont obtenues.

- encapsidation : les constituants viraux synthétisés vont s'assembler en incorporant une molécule d'ARN.

#### 4-2-2- Cycle de multiplication de virus à ADN (modèle adénovirus, virus cubique)

Les virus à ADN se multiplient dans le noyau cellulaire à l'exception de poxvirus.

- adsorption et pénétration :

Le virus s'adsorbe grâce à ses fibres à propriétés hémagglutinantes et des récepteurs spécifiques chez la cellule. Il pénètre par pinocytose et la décapsidation a lieu au passage de la membrane nucléaire.

- synthèse et réplication :

L'ADN donne naissance à des ARNm codant pour des protéines et enzymes. La réplication de l'ADN se fait de manière semi-conservative.

- encapsidation : l'assemblage des virions se fait dans le noyau, ils traversent la membrane nucléaire puis la membrane cytoplasmique par lyse cellulaire.

#### 4-3- Principaux virus pathogènes pour l'homme

Aujourd'hui, bien des affections restent pour le moins inquiétantes même si les vaccinations ont permis de juguler l'apparition ou la gravité de certaines d'entre elles (rubéole, grippe, poliomyélite). De plus, l'apparition de nouvelles souches virales est responsable de syndromes pathologiques tout à fait singuliers (fièvre d'Ebola, du virus du syndrome d'immuno-déficience acquise.....) (Tableau 1). D'une manière générale, le virus infectant vise particulièrement une famille cellulaire dans l'organisme et exerce un pouvoir cytopathogène qui dérègle le métabolisme de la cellule atteinte au profit de la seule population virale en pleine expansion.

Tableau 1. Exemples de virus humain.

| Virus           | Infection                      |
|-----------------|--------------------------------|
| Herpes virus    | Varicelle, zona, herpes divers |
| Pox virus       | Variolle, vaccine              |
| Poliovirus      | Poliomyélite                   |
| Influenza virus | Grippes                        |
| Paramyxovirus   | Oreillons                      |



|             |  |
|-------------|--|
| Rhabdovirus | Rage                                       |
| Togavirus   | Rubéole                                    |
| Retrovirus  | Syndrome de déficience immunitaire acquise |

### 5- Méthodes d'étude des virus

Les virus ne peuvent se multiplier que dans des cellules vivantes. On peut utiliser 3 types de cultures :

#### 5-1- Inoculation d'un animal

Au début, le seul moyen de cultiver les virus était de les inoculer à des animaux sensibles. Ainsi, la poliomyélite pouvait être reproduite chez le singe par inoculation intracérébrale. Le virus de la rage par voie intracérébrale chez le singe.

#### 5-2- culture sur œuf embryonné

Plusieurs types d'inoculations peuvent avoir lieu selon les virus étudiés.

- inoculation sur la membrane chorio- allantoïdienne : elle est réalisée sur des œufs embryonnés de 10 à 12 jours. On enlève un petit fragment de la coquille et de la membrane coquillière, on dépose une goutte de l'inoculat et on referme. Sur la membrane chorio-allantoïdienne, les Poxvirus et les Herpès virus se multiplient en formant des lésions.
- inoculation dans le sac amniotique : on utilise des embryons de 7 jours. Les Myxovirus influenzae A, B et les Myxovirus para-influenzae peuvent se multiplier.
- inoculation dans la cavité allantoïdienne : elle s'effectue sur des embryons de 7 à 10 jours
- inoculation dans le sac vitellin : on utilise des embryons de 5 à 7 jours. La multiplication des virus dans le sac vitellin s'accompagne de la mort de l'embryon (virus de l'herpès, Arbovirus).

#### 5-3- Culture sur des cellules animales

On cultive in vitro des virus sur des cellules animales. Ces dernières sont mises en suspension dans un milieu de croissance contenu dans un récipient en verre. Elles se fient sur la paroi en formant une seule couche. Trois types de cellules sont utilisés :

- cellules obtenues à partir de tissus sous l'action d'enzymes, exemples, cellules de rein de singe, cellules humaines comme thyroïdiennes récoltées au cours des interventions chirurgicales.
- cellules en lignée continue : ce sont des cellules cancéreuses de lignée Hela provenant de carcinome cervical de l'utérus et lignée KB obtenus à partir d'un épithélioma pavimenteux de la bouche.

- cellules diploïdes : provenant de tissus embryonnaires humains (poumons, cœur, rein, thyroïde).

#### 6- Sensibilité aux agents physiques et chimiques

Généralement, les virus sont plus résistants que les bactéries aux agents physiques tels que la chaleur, les rayons UV et X. ils résistent très bien à la dessiccation en particulier à la lyophilisation (dessiccation sous vide et à basse température).

Certaines substances antibactériennes sont aussi actives sur les virus (l'éther, chlore et dérivés).

#### 7- Lutte contre les virus

La lutte contre le virus est une lutte prophylactique et qui est de 2 types :

##### 7-1- chimioprophylaxie

Les substances chimiques ont pour rôle soit de modifier la coque du virus, le rendant incapable de se fixer sur les récepteurs de la cellule sensible. Ils peuvent modifier aussi la structure superficielle de la cellule sensible et donc les récepteurs cellulaires interdisant ainsi la fixation des virus.

##### 7-2- Prophylaxie immunologique

Elle consiste à utiliser un matériel viral non virulent mais qui possède des propriétés antigéniques. Il peut s'agir de virus tués (inactifs) ou par des virus vivants à virulence atténuée.

→ Les virus tués sont obtenus par culture de virus sur tissus vivants. Ils sont recueillis, purifiés puis traités par la chaleur ou le formol. Ces virus sont tués par ces agents, puis on leur ajoute des adjuvants qui favorisent l'apparition des anticorps antiviraux après leur administration dans l'organisme.

→ Les virus vivants : ces vaccins sont constitués soit par des souches atténuées spontanément soit artificiellement.

##### 7-3- Chimiothérapie

Les substances chimiques antivirales sont nombreuses mais peu d'entre elles sont utilisées en thérapeutique. Elles agissent à 2 niveaux, soit empêcher la multiplication des virions en empêchant la réplication de son génome (pas de synthèse de ses constituants, dénaturation de l'acide nucléique), soit empêcher le passage de la cellule infectée vers la cellule saine.