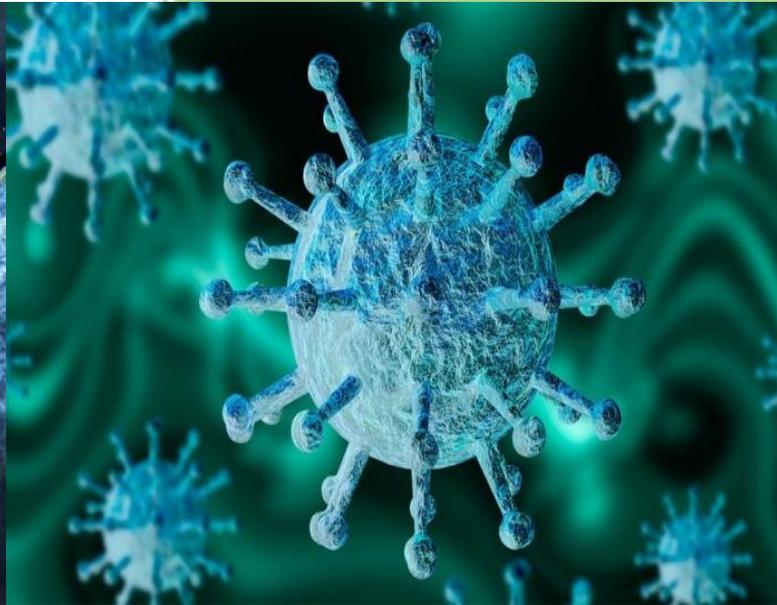


République Algérienne Démocratique et Populaire  
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique  
Université Akli Mohand Oulhadj – Bouira  
Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie et des Sciences de la Terre  
Département de Biologie



# Virologie fondamentale



*Polycopié de cours destiné aux étudiants en Master I du département de Biologie  
Spécialité : Biotechnologie Microbienne*

Présenté par :  
Dr YALAOUI-GUELLAL Drifa  
Enseignante-Chercheur

2020-2021

## AVANT-PROPOS

Ce polycopié de cours s'adresse aux étudiants de Master I en biotechnologie microbienne de département de biologie, Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie et des Sciences de la Terre.

Le but de ce document pédagogique est de permettre aux étudiants de Master I en biotechnologie microbienne 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 deux (02) grands chapitres :

- Le premier chapitre comporte des généralités sur les virus avec des notions de base, mise en lumière de la diversité du monde viral et classification des virus en fonction de leur mode de multiplication.
- Le deuxième chapitre est consacré au traitement des bactériophages avec la mise en évidence des aspects importants de la biologie des bactériophages, incluant l'adsorption, la réplication ainsi que leur rôle dans l'évolution des procaryotes.

Ce polycopié est une synthèse des cours de virologie, tirée de différents ouvrages en relation avec le thème, que j'ai assuré depuis 2019 à ce jour au sein du département de biologie de la Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie et des Sciences de la Terre de l'université de Bouira. Ce travail est le fruit d'un effort intrinsèque émanant de mon expérience propre en tant qu'enseignante de cours de virologie.

# Plan de cours

I. Introduction à la virologie.....	1
I.1. Définition des virus .....	1
I.2. Découverte des virus .....	3
I. 3. Structure des virus .....	5
I.4. Classification des virus.....	12
I.5. Multiplication des virus.....	17
Chapitre II. Les bactériophages.....	41
II.1. Généralités .....	41
II.2. Bactériophages lytiques à ADN double brin .....	47
II.3. Bactériophages à ADN ou à ARN simple brin .....	51
II.4. Bactériophages tempérés ou lysogéniques.....	59
II.5. Les Bactériophages et leur rôle dans l'évolution procaryotique.....	64
Liste des exposés pour les séances des travaux dirigés.....	69

## Liste des tableaux

<b>Tableau 1.</b> Comparaison entre les virus nus et les virus enveloppés .....	11
<b>Tableau 2.</b> Classification de quelques virus pathogènes pour l'homme.....	12
<b>Tableau 3.</b> Groupes taxonomiques de virus .....	14
<b>Tableau 4.</b> Exemples de protéines servant de récepteurs viraux.....	19
<b>Tableau 5.</b> Classification des bactériophages.....	42
<b>Tableau 6.</b> Caractéristiques distinctives du genre <i>Myoviridae</i> .....	44
<b>Tableau 7.</b> Caractéristiques distinctives du genre <i>Siphoviridae</i> .....	45
<b>Tableau 8.</b> Caractéristiques distinctives du genre <i>Podoviridae</i> . .....	45

## Liste des figures

<b>Figure I.1.</b> Taille des virus .....	2
<b>Figure I.2.</b> Exemple d'arbre phylogénétique montrant les liens des NCLDV avec les trois domaines du vivant décrits (Bacteria, Archea et Eukarya). .....	3
<b>Figure I.3.</b> Les éléments constituant d'un virus .....	6
<b>Figure I.4.</b> Schéma de capsidie hélicoïdale .....	8
<b>Figure I.5.</b> Schéma de capsidie icosaédrique .....	9
<b>Figure I.6.</b> Schéma d'un virus enveloppé ( <i>Myxovirus influenzae</i> ).....	10
<b>Figure I.7.</b> Classification de Baltimore basé sur la nature du génome viral .....	13
<b>Figure I.8.</b> Schéma générale de la classification des virus .....	16
<b>Figure I.9.</b> Etapes de la multiplication d'un virus .....	18
<b>Figure I.10.</b> Attachement cellulaire du VIH.....	19
<b>Figure I.11.</b> Pénétration du génome virale.....	21
<b>Figure I.12.</b> Transport du génome vers le noyau .....	22
<b>Figure I.13.</b> Réplication des virus à ADN .....	25
<b>Figure I.14.</b> Cycle de multiplication des <i>Herpesviridae</i> .....	26
<b>Figure I.15.</b> Réplication des virus à ARN+ (sans ARNm sub-génomique).....	28
<b>Figure I.16.</b> Réplication des virus à ARN+ (avec ARNm sub-génomique).....	29
<b>Figure I.17.</b> Cycle de multiplication du virus à ARN sb (+) (Poliovirus).....	30
<b>Figure I.18.</b> Réplication des virus à ARN-.....	31
<b>Figure I.19.</b> Cycle de multiplication du virus à ARN sb (-) (Rhabdovirus).....	32
<b>Figure I.20.</b> Réplication des rétrovirus.....	33
<b>Figure I.21.</b> Cycle de multiplication du virus VIH .....	35
<b>Figure I.22.</b> Cycle de multiplication du virus de l'hépatite B .....	36
<b>Figure I.23.</b> Assemblage des virus complets et libération par exocytose .....	38
<b>Figure I.24.</b> Libération des nouveaux virus par bourgeonnement ou par lyse cellulaire .....	38
<b>Figure I.25.</b> Libération des virus enveloppés .....	40
<b>Figure II.1.</b> Différentes structures des bactériophages.....	46
<b>Figure II.2.</b> Etapes précoces du cycle infectieux du phage T4 .....	49
<b>Figure II.3.</b> Cycle lytique du phage T4 en fonction du temps .....	50
<b>Figure II.4.</b> Structure du phage M13 .....	51
<b>Figure II.5.</b> Structure du phage PhiX174.....	52
<b>Figure II.6.</b> Cycle d'infection du phage M13 .....	54
<b>Figure II.7.</b> Cycle d'infection du phage PhiX174 .....	56
<b>Figure II.8.</b> Structure du phage Ms2 .....	57
<b>Figure II.9.</b> Cycle lytique du phage Ms2 .....	58
<b>Figure II.10.</b> Exemple des phages.....	60
<b>Figure II.11.</b> Carte génétique du bactériophage $\lambda$ .....	61
<b>Figure II.12.</b> Cycle de vie du bactériophage $\lambda$ .....	63

## I. Introduction à la virologie

La virologie est la science qui entre dans le cadre de la microbiologie en raison de la taille des virus ( $< 0,3 \mu\text{m}$ ), elle étudie les virus (en latin, "virus" désigne le poison, le venin, la bave).

### I.1. Définition des virus

La définition, classiquement utilisée, des virus a été proposée par André Lwoff en 1962, un des pères de la virologie moderne. Ce sont des entités biologiques caractérisées par une structure nucléoprotéique simple et des propriétés fonctionnelles particulières. Ce sont des parasites intracellulaires absolus, car ils ne contiennent pas de systèmes métaboliques et de synthèse capables d'assurer une réplication autonome.

Récemment il a été proposé de définir les virus comme des agents capables de produire une capsid mais pas de ribosome. Par opposition, l'ensemble des cellules produisent et possèdent des ribosomes mais pas de capsid.

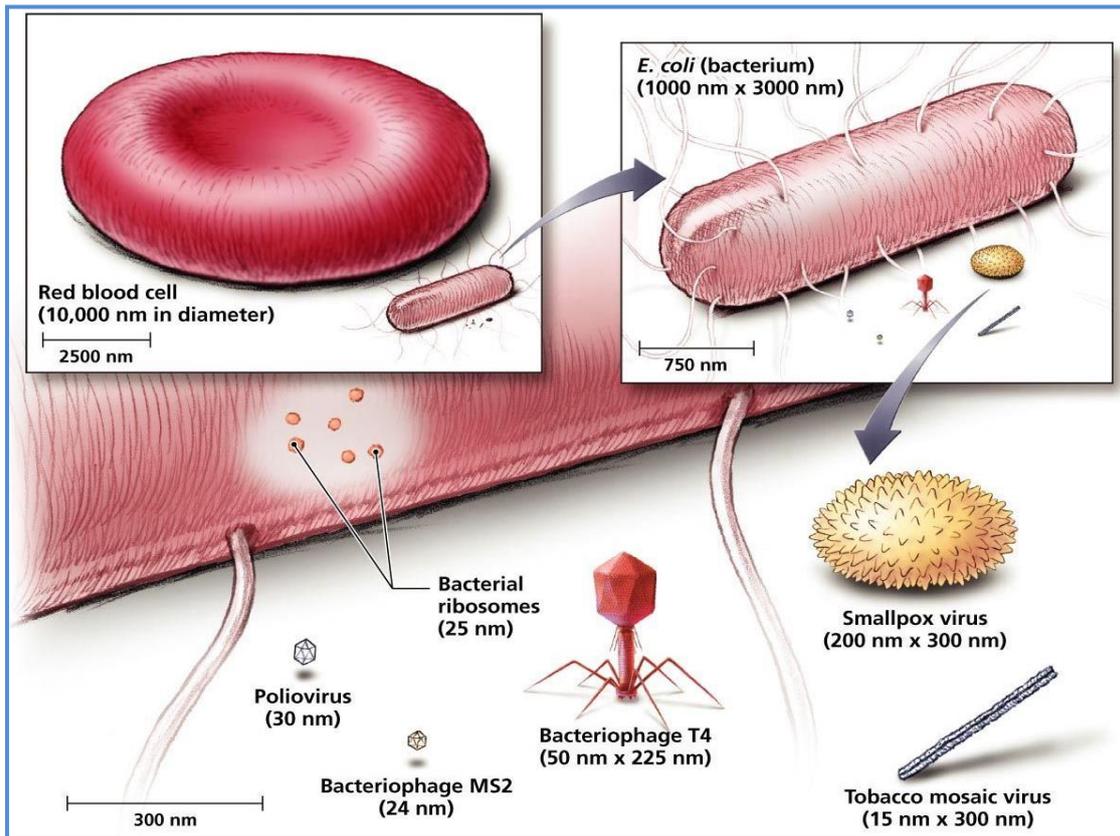
Les virus donc sont des agents biologiques et infectieux de très petite taille, parasites obligatoires des cellules. Ils sont inertes à l'extérieur d'une cellule (état libre), et ont une structure propre appelée virion (ou particule virale). À l'intérieur d'une cellule, ils peuvent, à partir de leur génome, se multiplier, persister et parfois induire des perturbations responsables de maladies.

#### I.1.1. Caractéristiques des virus

Ils se définissent par certains caractères communs qui sont :

❖ **La taille** : Les virus sont des agents infectieux de très petite taille de 20-300 nm de diamètre (100 fois plus petits qu'une bactérie) ; uniquement visible au microscope électronique, agent « ultrafiltrable », non visibles en microscopie optique, (très gros virus : variole ; *Mimivirus* à la limite du visible en microscopie optique). Acaryotes (à la limite entre le vivant et le non vivant (eucaryotes/procaryotes) (Figure I.1.).

❖ **La structure** : La structure spécifique acellulaire avec organisation simple, on parle de particule virale, 2 éléments de structure obligatoire le génome, porteur de l'information génétique, et la capsid, structure externe. Pour certains virus, la capsid est entourée d'une enveloppe.



**Figure I.1.** Taille des virus

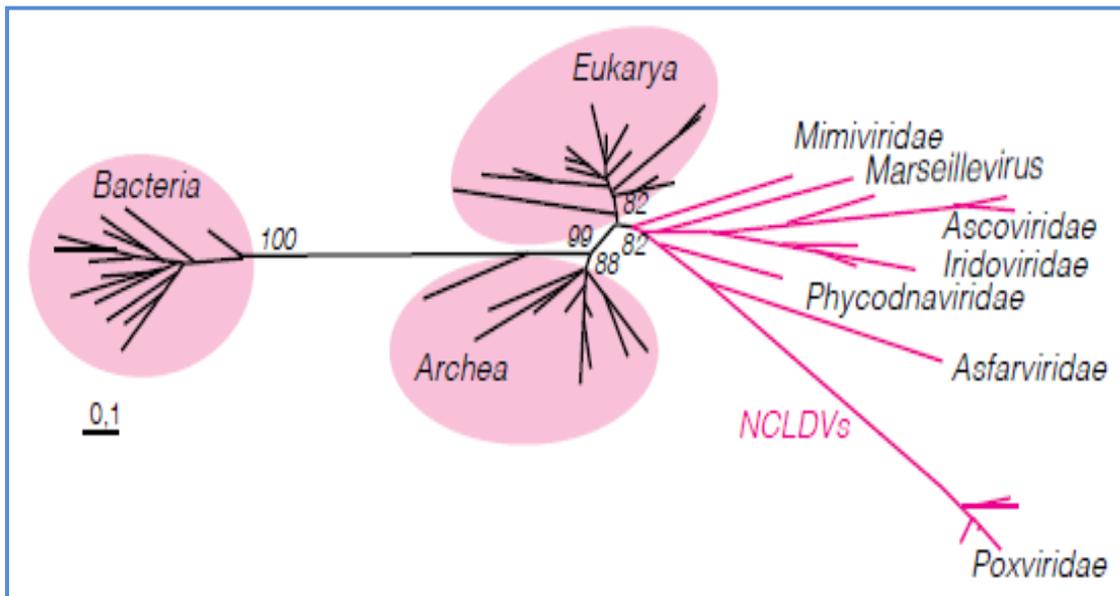
- ❖ **Le génome** : Ils contiennent un seul type d'acide nucléique (ARN ou ADN).
- ❖ **La réplication** : Le virus se multiplie à partir de son seul acide nucléique (leur génome) et par réplication, il ne se divise pas (comme pour les bactéries).
- ❖ **Parasites intracellulaires obligatoires** : Il ne peut pas se multiplier en dehors de la cellule qu'il infecte : eucaryotes (animaux, végétaux, champignons, protistes), bactéries et archées. Les virus infectent les organismes appartenant aux trois domaines d'êtres vivants : *Archae*, *Bacteria* et *Eucarya*. Plus de 200 virus peuvent infecter l'Homme avec des degrés de gravité variés.
- ❖ **La spécificité d'hôte** : Elle est contrôlée par un récepteur à la surface de la cellule, auquel correspond des structures de surface du virus. C'est grâce à la reconnaissance de ce récepteur que le virus pénètre et infecte la cellule hôte pour provoquer la maladie.

### I.1.2. Origine des virus

Selon une hypothèse récente, les virus seraient à l'origine de l'utilisation de l'ADN comme support génétique et auraient, au cours de l'évolution, transmis cette capacité aux cellules

primitives (utilisant initialement uniquement l'ARN) pour créer les trois domaines cellulaires actuels (eucaryotes, archées et bactéries).

Du fait de la communauté de certains gènes entre les cellules et les virus géants (NCLDV pour Nucleo-Cytoplasmic Large DNA Viruses, probable futur ordre des *Megavirales*), les génomes de ces derniers et des cellules peuvent être comparés grâce à des analyses phylogénétiques. Les virus pourraient former un quatrième domaine du vivant (Fig. I. 2.).



**Figure I.2.** Exemple d'arbre phylogénétique montrant les liens des NCLDV avec les trois domaines du vivant décrits (Bacteria, Archea et Eukarya).

En utilisant d'autres méthodes d'analyses qui seraient plus adaptées, les NCLDV ne sont pas systématiquement regroupés et paraissent avoir différents ancêtres.

L'origine des virus est probablement multiple et reste à préciser. Certains proviendraient de gènes cellulaires ou d'éléments transposables ayant acquis une certaine indépendance, d'autres seraient des micro-organismes parasites intracellulaires simplifiés à l'extrême, suite à une longue évolution, ou des descendants des premières molécules terrestres capables de se répliquer, les réplicons ARN. Les virus semblent des précurseurs de la vie et peuvent être également un moyen de la définir grâce leur capacité à infecter tous les êtres vivants.

### I.2. Découverte des virus

Les débuts de la virologie furent pénibles et difficiles, et le concept de virus n'a évolué que très progressivement en fonction des apports de la technologie. Près de soixante ans ont été

nécessaires pour passer de la notion assez vague de *Contagium vivum fluidum*, formulée en 1898 par Martinus Beijerinck, à la définition moderne, fonctionnelle et structurale des virus, proposée en 1957 par André Lwoff.

Les grandes étapes de la découverte des virus se décomposent de la façon suivante :

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

1892 : Expériences indiquant un agent ultrafiltrable (n'est pas retenu par les filtres bactériens) dans la mosaïque du tabac par le biologiste russe Dmitri Ivanovski, fit un premier pas vers la découverte des virus.

1898 : Confirmation et interprétation de l'agent ultrafiltrable qu'il qualifia de « *contagium vivum fluidum* », en spécifiant que celui-ci n'est nullement contaminé par des bactéries, et l'utilisation le terme virus par le microbiologiste Martinus. Beijerinck

1898 : Découverte de l'agent de la fièvre aphteuse du bétail est ultrafiltrable par F. Loeffler et P. Frosh

1901 : Découverte du premier virus humain, celui de la fièvre jaune par W. Reed, J. Carroll, J. Lazear

1908 : Description : Fowl leukosis, une leucémie est transmise par un agent ultrafiltrable par Wilhelm Ellerman et Olaf Bang

1911 : Rous sarcoma du poulet : Description de la première tumeur solide causée par un virus par Peyton Rous

1915 : Découverte des virus des bactéries par Frederick Twort.

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

1935 : Purification et cristallisation du virus de la mosaïque du tabac (*Tobacco mosaic virus*) (TMV/MTV) par W.M. Stanley.

1937, Bawden et Pirie démontrent que le virus contient également de l'acide nucléique.

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

Après 1948, les techniques de cultures cellulaires permettront l'isolement et la caractérisation de nouveaux virus.

1953 : Description de la structure de l'ADN par James Watson et Francis Crick en se basant sur les travaux de Maurice Wilkins et surtout de Rosalind Franklin.

1955 : Description de la structure hélicoïdale du virus de la mosaïque du tabac et de l'association ARN-capside par Rosalind Franklin.

1970 : Howard Temin et David Baltimore décrivent indépendamment la transcriptase inverse (Reverse transcriptase) et reçoivent le prix Nobel en 1975.

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

1983 : Découverte du LAV, («lymphadenopathy associated virus», la cause du SIDA, qui deviendra le VIH par Françoise Barré-Sinoussi, Luc Montagnier et collaborateurs

1985 : Description et la mise au point de la réaction de la polymérase en chaîne (PCR) par Kary Mullis et de nouveaux virus continuent à être découverts chaque année.

Actuellement, de nouveaux virus continuent à être découverts, comme par exemple le virus de l'hépatite C en 1989, le virus Nipah en 1999 (infection respiratoire du porc et encéphalite chez l'homme), le *Metapneumovirus* en 2001, le virus du SARS ou en français SRAS (Syndrome Respiratoire Aigu Sévère) en 2003, le virus Covid-19 (Coronavirus= SARS-CoV-2= Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 2) en 2019.

### I. 3. Structure des virus

Toute particule virale (virion) est composée de 2 éléments obligatoires : le génome, une structure protéique le protégeant, la capside (ou capsa qui signifie boîte)=Unité fonctionnelle : la nucléocapside. Pour certains virus, la nucléocapside est entourée d'une structure externe : Enveloppe ou Peplos (Fig. I. 3.).

#### I.3.1. L'acide Nucléique : Le génome

Le génome viral est le porteur de l'information génétique nécessaire à la réplication des virus. Il constitue, selon sa nature (ADN ou ARN), le premier critère de classification actuelle des virus. L'acide nucléique se trouve sous 4 types possibles :

-ADN simple brin (monocaténaire)

-ADN double brin (bicaténaire)

-ARN simple brin (monocaténaire)

-ARN double brin (bicaténaire)

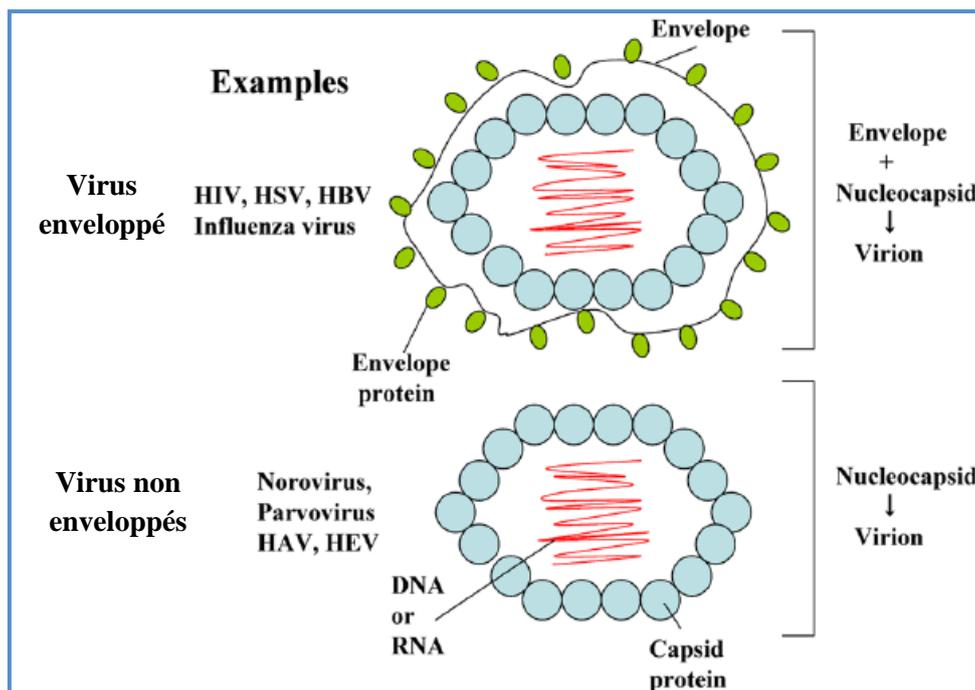


Figure I.3. Les éléments constituant d'un virus

Les virus d'animaux possèdent les 4 types de génomes.

Les génomes en ARN simple brin sont le plus souvent rencontrés chez les virus des végétaux.

Les génomes en ADN double brin sont généralement fréquents chez les bactériophages, ces derniers peuvent également contenir de l'ADN ou de l'ARN simple brin.

La structure du génome peut être : linéaire, circulaire ou segmenté. Exemple : Virus grippe (segmenté), *Rotavirus* (linéaire), Virus hépatite B (circulaire).

La longueur et le poids moléculaire du génome sont variables selon la nature de l'acide nucléique :

**Génome à ADN :** leur taille varie de 3,2 kpb (kilopaire de bases) pour le virus de l'hépatite B, jusqu'à 375 kpb pour le Poxvirus. Les ADN viraux sont généralement bicaténaires, exceptionnellement monocaténaires comme les *Parvoviridae*.

**Génome à ARN :** leur taille limitée, elle diffère grandement de 7kb (kilobases) pour les *Picornaviridae* à 30 kb pour les *Coronaviridae*. Les ARN viraux sont généralement monocaténaires, à l'exception des *Reoviridae* et des *Birnaviridae*.

Les virus ne codent pas la synthèse des différentes enzymes de leur métabolisme à cause de nombre restreint de leurs gènes. Comme ils utilisent les éléments indispensables à leur biosynthèse trouvant dans la cellule hôte.

❖ **Types d'information sont portés par le génome viral :** Ce sont des produits génétiques et des signaux de régulation qui permettent :

- La réplication du génome viral ;
- L'assemblage et l'empaquetage du génome viral ;
- La régulation et la synchronisation du cycle de réplication ;
- La propagation à d'autres cellules ;
- L'inactivation de la réponse innée antivirale ;
- La perturbation des fonctions/intégrité cellulaire(s).

❖ **Types d'information ne sont pas portés par le génome viral :**

- Aucun gène ne permet la synthèse protéique complète ;
- Aucun gène impliqué dans la synthèse d'énergie ou la biosynthèse de membrane.

### **I.3.2. La capsid**

C'est une coque de nature protéique qui entoure le génome viral. Elle Protège le matériel génétique et favorise son transfert d'une cellule hôte à une autre. C'est une structure stable et résistante, elle résulte de la polymérisation de sous-unités protéiques identiques codées par le génome (protomère : Sous-unité protéique qui compose la capsid). L'assemblage de ces unités (protomère) donne des Capsomères. L'organisation des capsomères selon une symétrie, constitue la capsid.

Les principalement rôles de la capsid sont :

- La protection du génome viral dans le milieu extracellulaire.
- L'attachement du virus à la cellule hôte pour les virus nus, puisqu'elle porte les sites d'attachement au récepteur cellulaire.

-Un rôle antigénique : elle porte des structures antigéniques à sa surface (antigénicité du virus).

-L'ensemble génome et capsid porte le nom de nucléocapside.

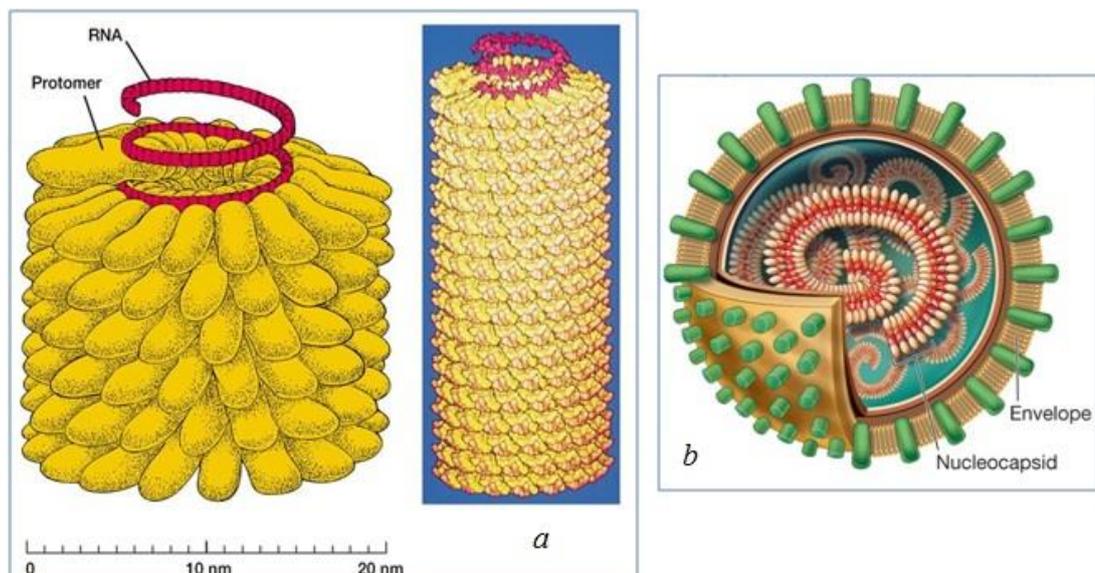
-La nature de la capsid constitue un critère de classification des virus.

La capsid s'organise selon 3 types de symétrie :

### I.3.2.1. Capsid tubulaire à symétrie hélicoïdale

La capsid de ces virus est en règle générale une nucléocapsid (complexe capsid-génome). Les protéines de la capsid sont étroitement liées avec le filament d'acide nucléique (le plus souvent ARN), et forment une hélice. Le complexe protéines-acide nucléique (nucléocapsid), organisé sous forme spiralée, a un axe de symétrie long qui passe par le centre du squelette en forme de cylindre (Fig. I.4.a.).

La nucléocapsid est aussi désignée comme complexe ribonucléoprotéique ou, en abréviation, vRNP. Chez la plupart des virus à ARN, elle constitue l'unité centrale qui dirige activement toutes les fonctions de transcription et de réplication du génome viral. Chez les virus enveloppés, la nucléocapsid filamenteuse est disposée en pelote à l'intérieur de l'enveloppe (Fig. I.4.b.).



**Figure I.4.** Schéma de capsid hélicoïdale

*a* : Virus de la mosaïque du tabac, Nucléocapsid rigide. Disposition en hélice des sous-unités autour du génome. *b* : virus influenza, leur ARN sont inclus dans des capsides en hélices fines et flexibles, repliées dans une enveloppe.

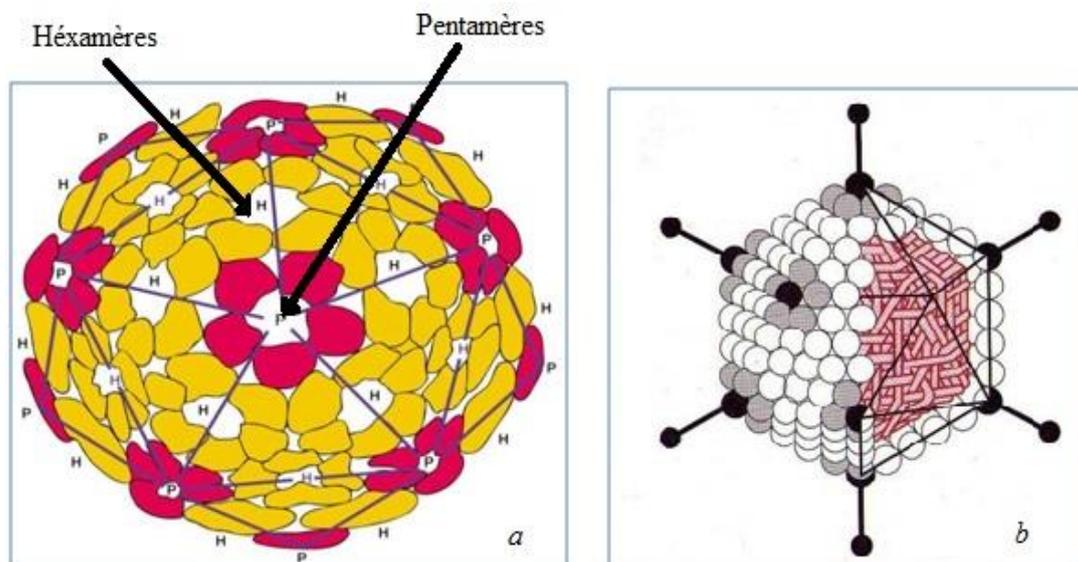
Les virus à capsidie hélicoïdale sont plus complexes et toujours enveloppés, ce sont, pour la plupart, des virus à ARN. C'est le cas des virus animaux, Exemples : *Orthomyxoviridae* (virus de la grippe), *Paramyxoviridae* (virus de la Rougeole), *Rhabdoviridae* (virus de la Rage).

### I.3.2.2. Capsides icosaédriques à symétrie cubique

La capsidie de ces virus est un polyèdre régulier constitué de 20 faces triangulaires équilatérales (icosaèdre) et de 12 sommets et 30 arrêtes.

Les capsides icosaédriques s'intègrent spontanément dans la cellule infectée comme structures à haute organisation, sont visibles en microscopie électronique sous forme de « corps d'inclusion ». La nature cristalline des capsides purifiées permet une représentation tridimensionnelle au moyen de procédés de visualisation en haute résolution.

Les unités de structure protéique se groupent en capsomères formés de 6 sous-unités, hexamères, situés sur les faces ou 5 sous-unités, pentamères, situés sur les sommets, portant les récepteurs du virus pour la cellule (Fig. I. 5.a.), la structure est proche à celle des géodes (polyèdre convexe : sphère).



**Figure I.5.** Schéma de Capsidie icosaédrique.

**a :** Représentation schématique d'une symétrie cubique. **b :** Représentation schématique d'Adénovirus

- Les Adénovirus sont parmi les plus gros virus nus icosaédriques, avec 252 capsomères dont 240 hexons et 12 pentons, alors que les plus petits sont les virus des familles *Picornaviridae* et *Parvoviridae* (32 capsomères) (Fig. I. 5.b.).

### I.3.2.3. Capsides à symétrie mixte ou complexe

Ce type de capsides est souvent rencontré chez les bactériophages qui ont une tête icosaédrique et une queue à symétrie hélicoïdale (voir chapitre II).

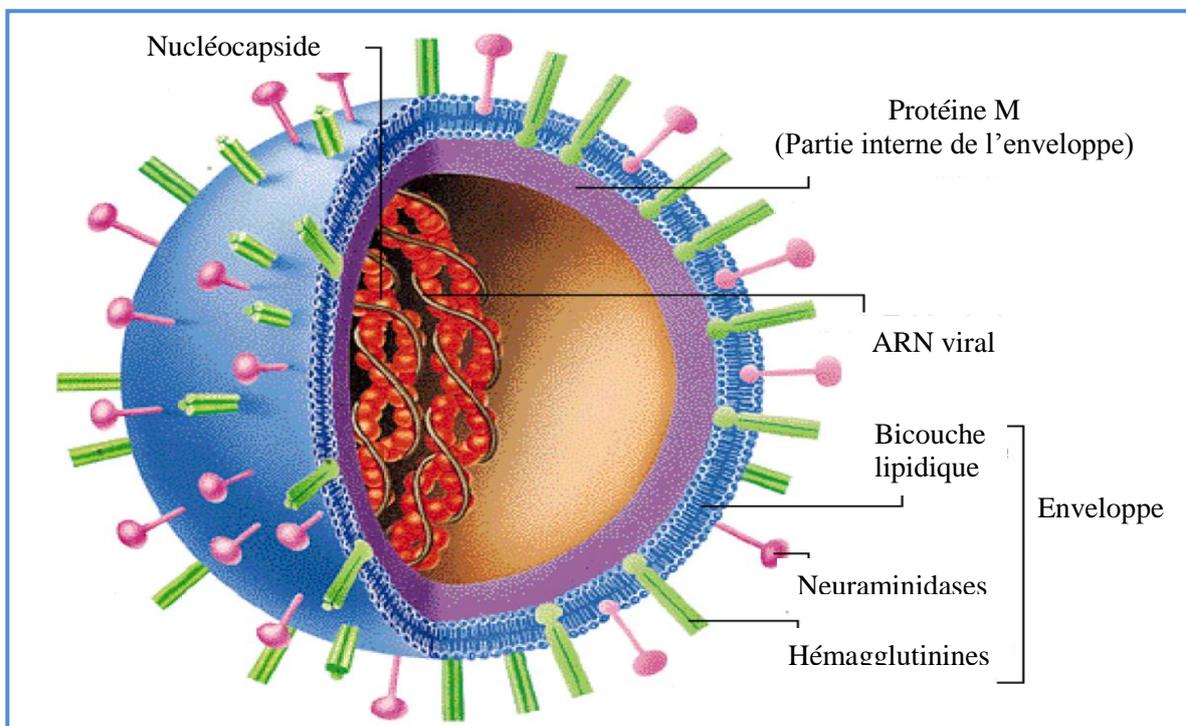
### I.3.3. L'enveloppe ou Peplos

C'est l'élément le plus externe des virus enveloppés. La présence (virus enveloppés) ou l'absence d'enveloppe (virus nus) a un rôle important dans le mode de transmission des maladies virales. Elle constitue un critère de classification des virus.

L'enveloppe est constituée d'une bicouche de phospholipides et des glycoprotéines spécifiques qui apparaissent sous forme de spicules qui sont les récepteurs du virus pour la cellule (Fig. I.6.).

La face interne de l'enveloppe virale peut être dans certains cas liée à une protéine virale (Matrice).

Les protéines de l'enveloppe peuvent avoir une ou plusieurs fonctions différentes dans la biologie du virus : morphologique, antigénique, enzymatique ou de site d'attachement au récepteur cellulaire.



**Figure I.6.** Schéma d'un virus enveloppé (*Myxovirus influenzae*)

L'acquisition de l'enveloppe par le virus se fait dans la dernière phase du cycle de réplication virale, en général par bourgeonnement de la nucléocapside à travers l'une des membranes cellulaires suivantes (Fig.1.7.) :

- La membrane cytoplasmique : cas des virus de la grippe, de la rage, du VIH.
- La membrane nucléaire : cas des virus herpès.
- Plus rarement au niveau des membranes intra-cytoplasmiques : l'appareil de golgi et réticulum endoplasmique : (Rubéole : *Togavirus*).

L'enveloppe ne constitue pas un élément de protection virale, au contraire c'est un élément de fragilité du à son caractère lipidique. Elle confère au virus sa sensibilité aux traitements par les solvants organiques. Les virus enveloppés sont plus fragiles que les virus nus, et donc résistent mal dans le milieu extérieur et dans le tube digestif (Tableau 1).

**Tableau 1.** Comparaison entre les virus nus et les virus enveloppés

<b>Virus nus</b>	<b>Virus enveloppés</b>
Survivent dans le milieu hydrique (les entérovirus survivent à 4°C :10 à 15 jours, à 20 °C : 296 jours).	Ne persistent pas dans le milieu extérieur.
Se retrouvent dans les selles.	Ne se retrouvent pas dans les selles.
Résistent aux solvants des lipides y compris le savon.	Sensibles aux solvants organiques (alcool, acétone,...).
Seuls les antiseptiques halogénés (l'eau de javel) sont actifs (Hépatite A résiste).	Inactivés par les antiseptiques et Eau de Javel est le meilleur virulicide.
Sensibles aux ultraviolets qui provoquent l'altération des acides nucléiques.	Sensibles aux ultraviolets qui provoquent l'altération des acides nucléiques.
Leur transmission se fait par contact indirect fécale-orale.	Leur transmission se fait par contact direct, immédiat et rapproché entre les individus.

La présence d'une enveloppe joue un rôle dans la transmission des virus :

Les virus nus résistent aux sucs gastriques et biliaires, sont éliminés par les selles et sont stables dans l'environnement. Il en résulte une transmission interhumaine indirecte fécale-orale, comme dans le cas des *Poliovirus* dans l'eau contaminée.

Les virus enveloppés, fragiles, sont transmis par contacts rapprochés. La contamination interhumaine est directe par voie respiratoire, salivaire ou sexuelle.

**Remarque :** La perte de l’enveloppe inactive le virus puisqu’ il a perdu en même temps les déterminants qui lui permettent de se fixer aux cellules sensibles.

Les virus nus sont assez résistants : Virus poliomyélitiques (isolé de l’eau des égouts), Virus responsables d’infection intestinales (transmission oro-fécale)

Les virus enveloppés sont très fragiles : Virus de l’herpès ou du sida (Transmission sexuelle ou sanguine). Exceptions : les *Poxvirus* (variole) et les *Hepadnavirus* (hépatite B) sont des virus enveloppés mais résistants.

#### I.4. Classification des virus

La classification des virus suit certaines règles, servant à une meilleure compréhension des relations entre virus. Elle repose sur des caractères morphologiques, biologiques, biochimiques et de plus en plus aussi génétiques (Tableau 2).

**Tableau 2.** Classification de quelques virus pathogènes pour l'Homme

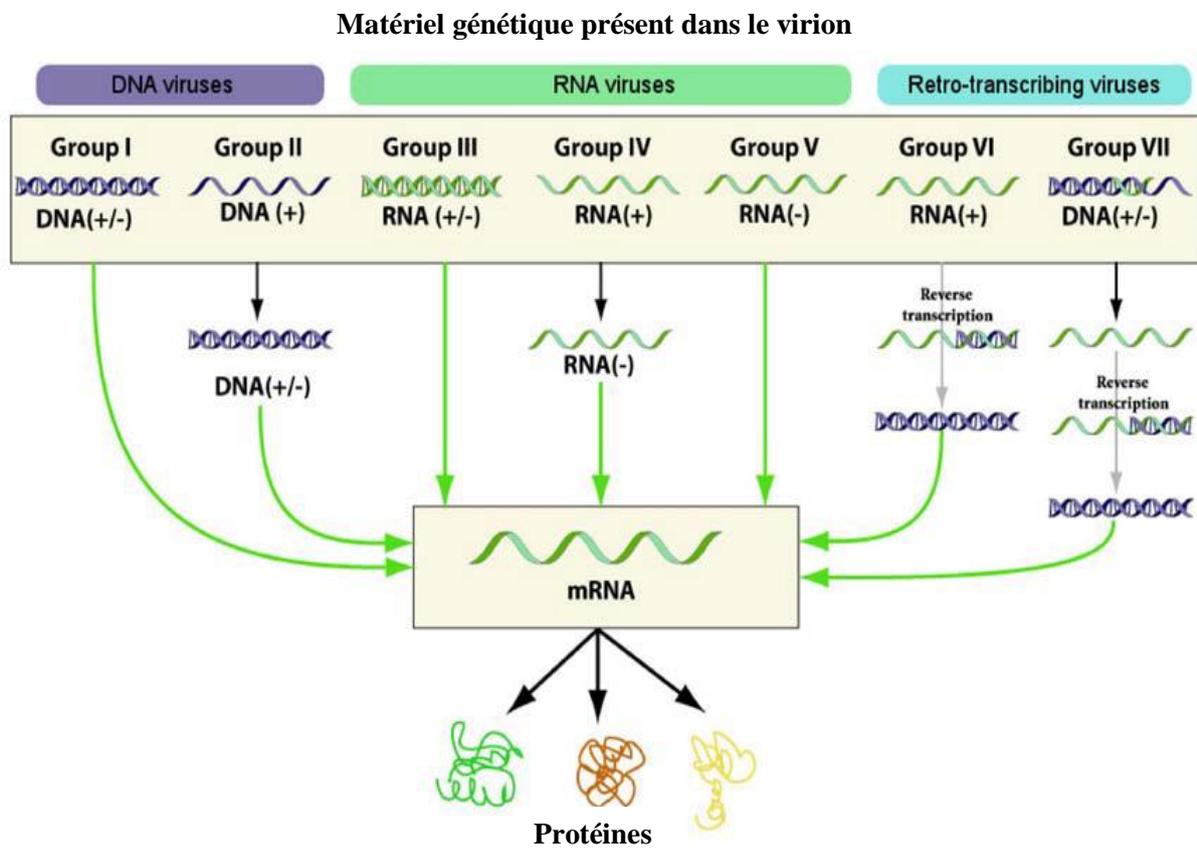
<i>Famille</i>	<i>A. N.</i>	<i>Env.</i>	<i>Sym.</i>	<i>Genres</i>	<i>Espèces et pouvoir pathogène</i>
<i>Poxviridae</i>	ADN	+	?	<i>Orthopoxvirus</i>	variole, vaccine
<i>Hepadnaviridae</i>	ADN	+	Cub.		virus de l'hépatite B (HBV)
<i>Orthomyxoviridae</i>	ARN	+	Hél.	<i>V. influenza</i> <i>A,B,C</i>	Virus de la grippe
<i>Paramyxoviridae</i>	ARN	+	Hél.	<i>Morbillivirus</i>	virus de la rougeole
<i>Picornaviridae</i>	ARN	-	Cub.	<i>Rhinovirus</i>	virus de l'hépatite A (HAV) rhumes
<i>Rhabdoviridae</i>	ARN	+	Hél.	<i>Lyssavirus</i>	virus de la rage
<i>Retroviridae</i>	ARN	+	?	<i>Lentivirus</i>	VIH (sida)
<i>Filoviridae</i>	ARN	+	Hél.		virus Ebola

A.N. : A. nucléique, Env. : Enveloppe, Sym. : Symétrie, Cub.: Cubique, Hél. : Hélicoïdale

Il en existe deux types de classification :

### I.4.1. La classification Baltimore

Elle est proposée par David Baltimore, lauréat du prix Nobel de médecine en 1975. Cette classification est basée sur le type d'acide nucléique des virus (ADN ou ARN) et son mode d'expression (Fig.I.7.).



**Figure I.7.** Classification de Baltimore basé sur la nature du génome viral et le mécanisme utilisé pour la transcription.

### I.4.2. La classification de l' ICTV (International Committee on Taxonomy of Viruses)

Elle utilise une méthode assez semblable à celle existant pour les êtres vivants où les virus sont rangés par ordre, famille, sous-famille, genre et espèce (Tableau 3).

Ces deux méthodes de classifications ne sont pas antagonistes et peuvent tout à fait s'intégrer l'une à l'autre, car la classification de l'ICTV reprend certains critères de la classification Baltimore. (Fig. I.8.). Aucune des classifications n'est censée être phylogénétique, car les virus ne partagent pas d'origine commune.

**Tableau 3.** Groupes taxonomiques de virus.

Niveau taxonomique	Suffixe	Exemple 1	Exemple 2
<b>Ordre</b>	– <i>virales</i>	<i>Herpesvirales</i>	<i>Nidovirales</i>
<b>Famille</b>	– <i>viridae</i>	<i>Herpesviridae</i>	<i>Coronaviridae</i>
<b>Sous-familles</b>	– <i>virinae</i>	<i>alpha - Herpesvirinae</i>	-
<b>Genre</b>	– <i>virus</i>	<i>Herpesvirus</i> (Herpes simplex)	<i>Coronavirus</i>
<b>Espèce</b>		HSV-1	Virus du syndrome respiratoire aigu sévère (SRAS)

### I.4.3. Critères de classifications des virus

**1. La nature du génome :** les critères essentiels sont : le type d'acide nucléique (ADN ou ARN), la forme simple ou double brin, la polarité des virus à ARN (orientation négative ou positive du brin). Accessoirement, on distingue la présentation du génome sous forme segmenté (en fragments) ou non segmenté (en ensemble). On tient aussi compte de la taille du génome et de son organisation. On a :

**a. Virus à ADN :** (Fig. I.8.a.)

Groupe I : Virus à ADN à double brin,

Groupe II : Virus à ADN à simple brin

**b. Virus à ARN :** (Fig. I.8.b.)

Groupe III : Virus à ARN à double brin

Groupe IV : Virus à ARN simple brin à polarité positive, (Virus de type ARN messenger)

Groupe V : Virus à ARN simple brin à polarité négative :

\*Virus à polarité négative non-segmentés : Exemples *virus de la rougeole*, *virus de la Rage*

\*Virus à polarité négative segmentés : Exemples *virus de l'influenza A, B, et C* (*virus de la grippe*).

**c. Virus à ADN ou à ARN à transcription inverse :**

Groupe VI : Rétrovirus à ARN simple brin : Exemples VIH 1.

Groupe VII : Rétrovirus à ADN double brin : Exemple *virus* de l'Hépatite, virus de la mosaïque du chou-fleur.

**2. La forme de symétrie de la capside :** cubique (icosaédrique), hélicoïdale ou complexe.

**3. La présence d'une enveloppe :** virus enveloppé, virus nus.

**4. Le site de multiplication :** élaboration de la nucléocapside dans le noyau ou le cytoplasme de la cellule hôte.

**5. La taille du virion :** les diamètres varient entre 18 et 250 nm. Les plus petits virus pathogènes chez l'homme sont les *Parvovirus* (18 nm) et les *Picornavirus* (30 nm) ; les plus grands sont les virus de la variole (250 × 350 nm).

**6. Les critères épidémiologiques :** virus peuvent être regroupés selon des critères épidémiologiques exemple :

\*Virus entériques : infectent par ingestion : *Rotavirus*, *Réovirus*, *Picornavirus*

\*Virus respiratoires : transmis par inhalation ou par aérosols : *Paramyxovirus*

\*Virus oncogènes : transmis par contact direct : Herpès virus, *Papovavirus*.

\*Les arbovirus : transmis par piqûre d'insecte : *Flavivirus*

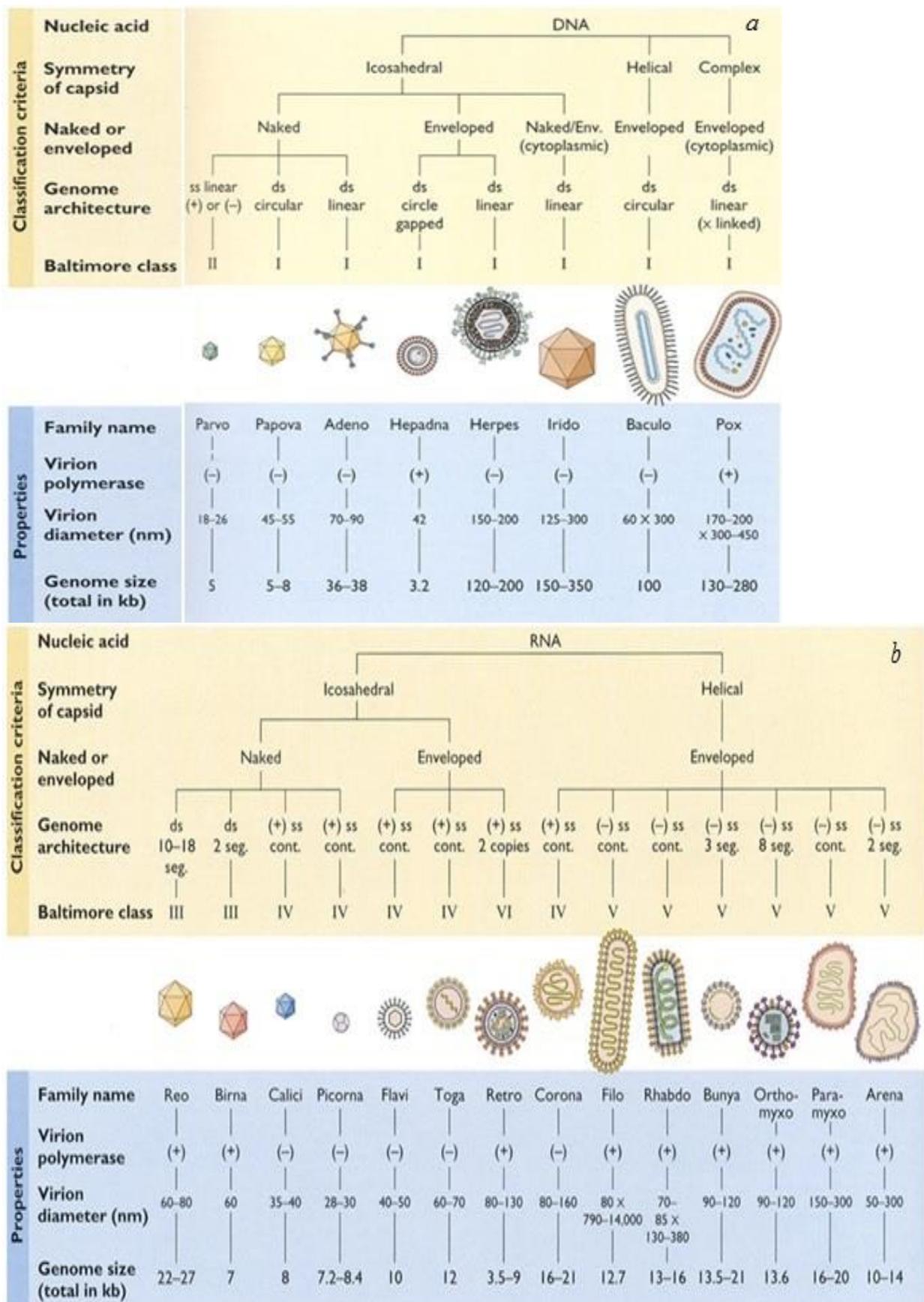


Figure I.8. Schéma générale de la classification des virus. a. selon l'ADN, b. selon l'ARN.

## I.5. Multiplication des virus

La multiplication virale est un phénomène complexe qui consiste à synthétiser de nouveaux virus. Au cours de la multiplication le virus va détourner la machinerie cellulaire à son profit, ils utilisent le système producteur d'énergie (ATP), les ARN de transfert et les ribosomes de la cellule ainsi que toutes les petites molécules nécessaires à leur multiplication en diminuant plus ou moins complètement les synthèses cellulaires : ainsi, certaines protéines virales peuvent inhiber la transcription et empêcher la traduction des ARN messagers cellulaires.

En effet, les virus sont incapables de se multiplier par eux-mêmes du fait de leur simplicité extrême. L'étude de différentes étapes du cycle de multiplication virale est un objectif majeur pour le développement de molécules antivirales. Certaines étapes sont spécifiques du virus et constitue une cible idéale pour une molécule antivirale.

La multiplication d'un virus consiste en l'introduction du génome viral dans une cellule qui va fabriquer de nouveaux virus selon un procédé de biosynthèse que l'on appelle réplication.

Le temps du cycle viral peut varier d'un virus à l'autre en fonction de la taille du génome et de la complexité du cycle viral (4 à 8 heures pour le poliovirus, plus de 40 heures pour les *Herpesviridae*).

Selon la nature du virus, la multiplication se situe au niveau du cytoplasme ou du noyau de la cellule. La multiplication d'un virus comporte trois étapes distinctes (Fig. I.9.) :

**Etape précoce :** 1. L'attachement aux cellules cibles

2. La pénétration
3. La décapsidation

**Etape de biosynthèse :** 4. Réplication, transcription et traduction :

- 4.1. La multiplication des virus à ADN
- 4.2. La multiplication des virus à ARN

**Etape tardive :** 5. L'assemblage et la maturation

6. La libération des virus

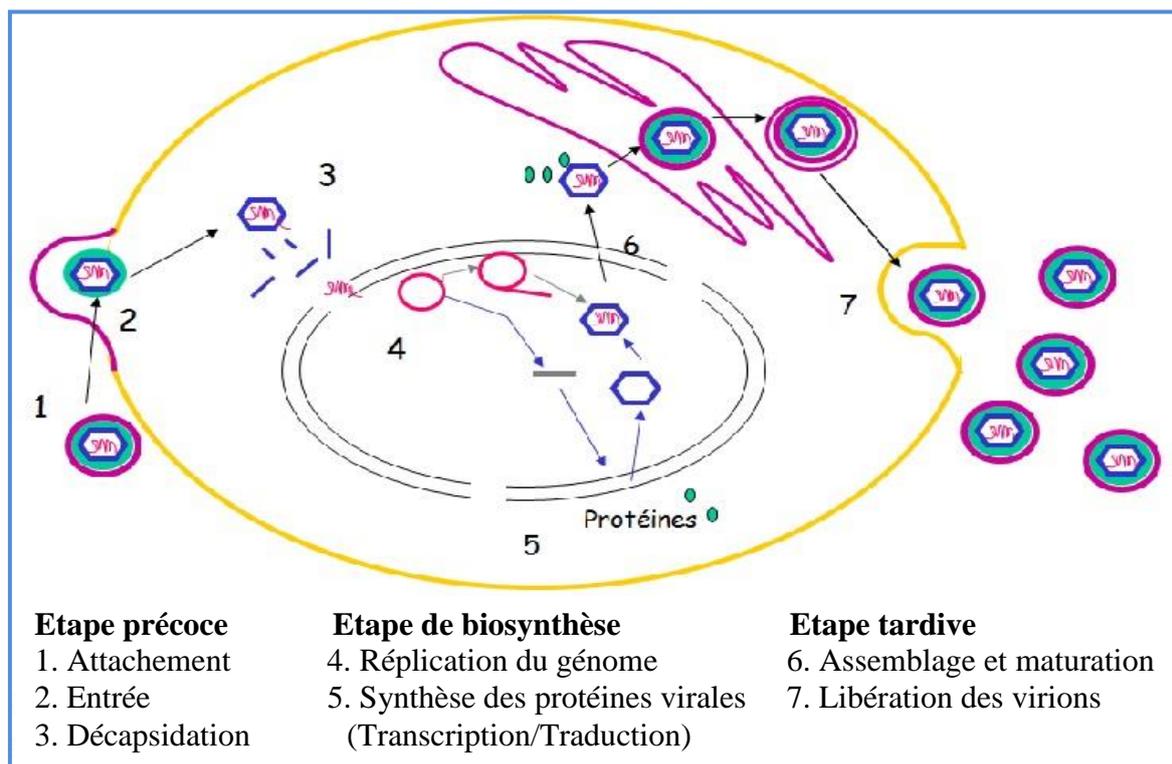


Figure 1.9. Etapes de la multiplication d'un virus.

### I.5.1. L'attachement aux cellules cibles

Le cycle viral commence par l'attachement de la surface virale à la surface cellulaire. Il se fait par des protéines de la capsid pour les virus nus, par des glycoprotéines de l'enveloppe pour les virus enveloppés. Ces protéines ou glycoprotéines s'attachent à des récepteurs spécifiques situés sur la membrane cytoplasmique de la cellule hôte.

La fixation virale nécessite l'interaction : entre un ligand viral (sur le virus) et un récepteur cellulaire (sur la cellule).

Ce besoin de récepteurs cellulaires spécifiques pour les virus explique qu'un virus donné ne peut infecter qu'un nombre restreint d'espèces animales (tropisme d'hôte).

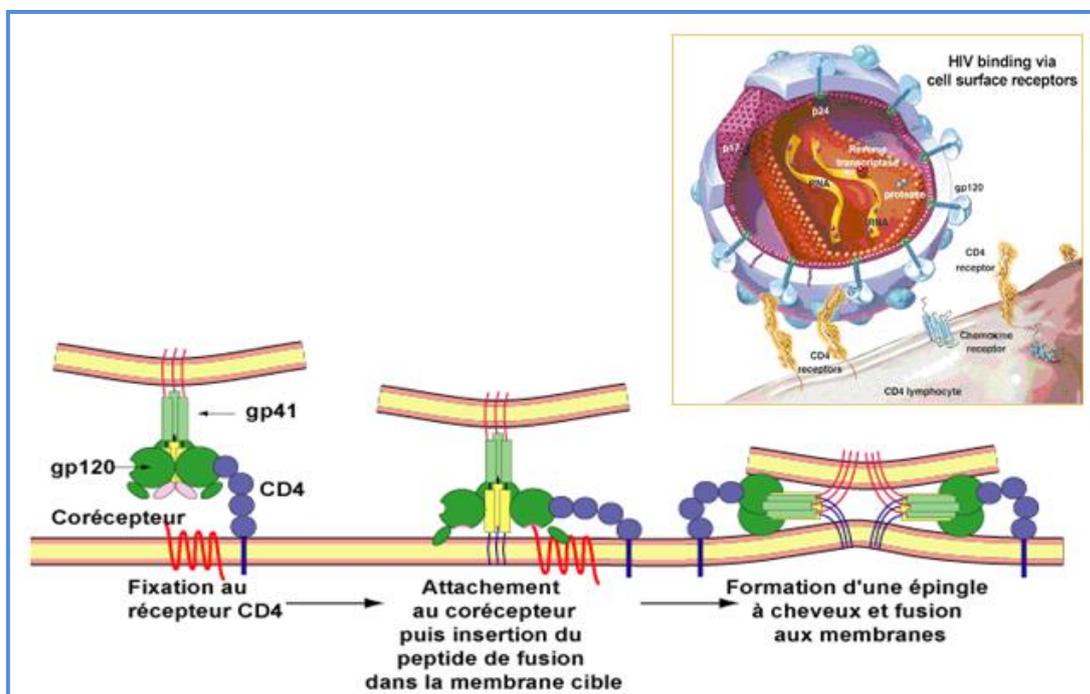
Le spectre d'hôtes d'un virus est défini par l'ensemble des cellules sensibles à ce virus. Ce spectre est variable selon les virus, certains peuvent infecter de nombreuses cellules, d'autres sont spécifiques d'un type cellulaire pour un animal donné (Tableau 4).

Les virus de l'immunodéficience humaine (HIV) infectent principalement les lymphocytes T CD4+ car leur enveloppe peut s'attacher sur la molécule CD4, récepteur spécifique de ces virus. La structure d'attachement de l'HIV est la glycoprotéine de surface de l'enveloppe, la gp120 (glycoprotéine de 120 000 daltons, 120 kDa de poids moléculaire) (Fig. I.10.).

**Tableau 4.** Exemples de protéines de surface de la cellule hôte servant de récepteurs viraux.

Récepteurs cellulaires utilisés par des virus		
Virus	Récepteur	Fonction physiologique
Poliovirus	PVR (NCAM) <sup>1</sup>	Inconnue
Virus du sida (HIV)	CD4 (lymphocytes Th, macrophages)	Reconnaît les molécules CMH de classe II
Rhinovirus	ICAM I <sup>2</sup>	Molécule d'adhésion
Virus d'Epstein-Barr (EBV)	CR2 <sup>3</sup> (cellules du pharynx, lymphocytes B)	Récepteur de C3d
Virus de la grippe	NANA <sup>4</sup>	Constituant des gangliosides membranaires

*1 = PVR Polio Virus Receptor (Molécule d'adhésion cellulaire neuronale (NCAM) la fonction normale n'étant pas connue)*  
*2 = ICAM I Inter Cellular Adhesion Molecule*  
*3 = CR2 Complement Receptor 2*  
*4 = NANA N-acetyl neuraminic acid (greffé sur un ganglioside membranaire)*



**Figure 1.10.** Attachement cellulaire du VIH (Récepteur spécifique pour chaque virus et cellules cibles).

## **I. 5. 2. La pénétration**

Selon que le virus est nu ou enveloppé, plusieurs mécanismes sont possibles :

### ***a. Pénétration directe du génome***

La fixation au récepteur cellulaire provoque la déstabilisation de la capsidie fermement attachée à la membrane plasmique et formation d'un pore (trou). Le génome s'en échappe et pénètre directement dans le cytoplasme. Ce phénomène n'est pas courant, il est utilisé par les *Picornavirus* (Fig. 1.11.a.).

### ***b. Endocytose seule***

Lorsqu'un ligand se fixe à son récepteur, il est endocyté. Le virion est 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 (cas du virus poliomyélitique). Ce procédé est commun aux virus nus et enveloppés. (Fig. I.11.b.).

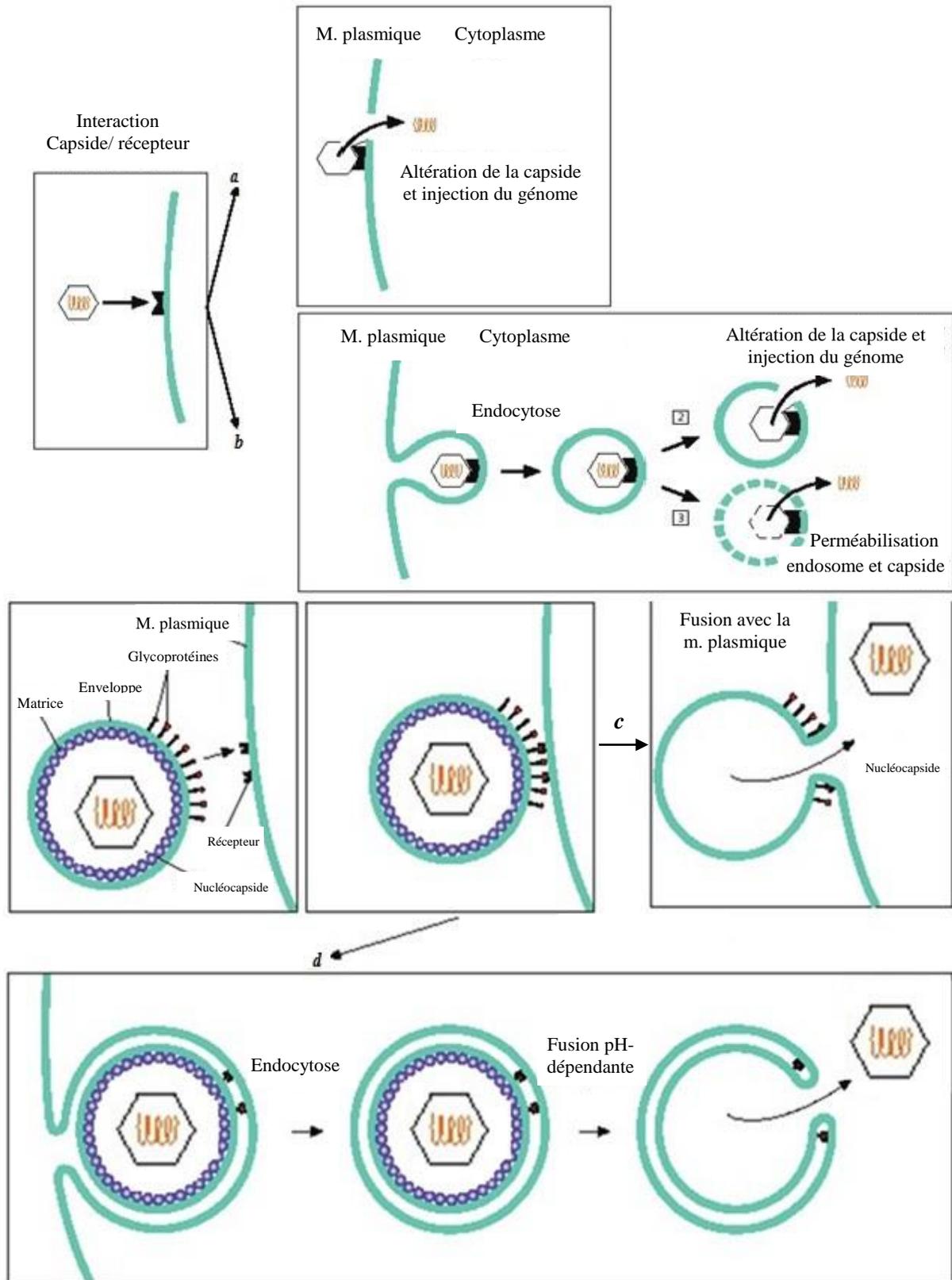
### ***c. Fusion avec la membrane plasmique***

Ce mécanisme est propre aux virus enveloppés car il demande l'intervention d'une autre glycoprotéine virale : la protéine de fusion. On appelle récepteur la structure cellulaire d'attachement primaire et corécepteur la structure cellulaire d'attachement secondaire nécessaire pour l'étape de fusion.

L'enveloppe fusionne avec la membrane cytoplasmique et libère la nucléocapside dans le cytoplasme. (Fig. I.11.c.). L'enveloppe de certains virus enveloppés (*Paramyxovirus*, Herpès, VIH) fusionne directement avec la membrane plasmique cellulaire, la nucléocapside est ainsi introduite dans la matrice cytoplasmique.

### ***d. Endocytose puis fusion avec la membrane de l'endocyte***

La fixation du virus aux récepteurs cellulaires déclenche l'endocytose et le virus se retrouve captif dans la vésicule d'endocytose : l'acidification du contenu de la vésicule d'endocytose 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 : la nucléocapside est libérée dans le cytoplasme. Ce mécanisme est également propre aux virus enveloppés (Fig. I.11.d.).



**Figure I.11.** Pénétration du génome virale.

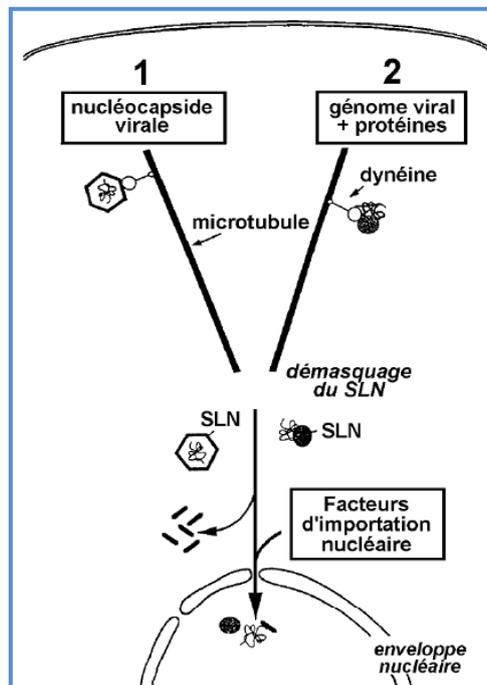
*a. Pénétration directe, b. Endocytose seule, c. Fusion avec la membrane plasmique, d. Endocytose puis fusion avec la membrane de l'endocyte.*

### I.5.3. La décapsidation

La décapsidation est une étape indispensable, elle doit se désolidariser la capsidie du génome viral pour que celui-ci puisse s'exprimer. Les structures virales vont ensuite être dégradées, à l'exception du génome qui, débarrassé de la capsidie, se trouve libéré. Il est nécessaire que la capsidie soit détruite pour que le génome, décortiqué, puisse fonctionner, livrer son information génétique à la machinerie cellulaire.

La décapsidation se fait à l'aide de décapsidases cellulaires sauf chez le *Poxvirus* qui possède sa propre décapsidase. Chez les *Picornavirus*, la décapsidation se fait au cours de la pénétration, puisque la capsidie reste à l'extérieur de la cellule ou dans la vésicule.

Pour la plupart des virus à ADN, la nucléocapsidie est prise en charge par une MAP motrice (Microtubule Associated Protein : kinésine, dynéine), liée aux microtubules du cytosquelette cellulaire, qui la transporte vers la membrane nucléaire (Fig. I.12.). Cette étape est obligatoire pour la plupart des virus à ADN et certain virus à ARN dont le cycle comprend une étape nucléaire comme les virus de la grippe.



**Figure I.12.** Transport du génome vers le noyau.

(1) Une MAP motrice liée aux microtubules du cytosquelette cellulaire, la dynéine, prend en charge la nucléocapsidie et la transporte à proximité de la membrane nucléaire.

(2) Si le génome est libre dans le cytosol, il s'associe à des protéines cellulaires et/ou virales avant d'être pris en charge par la dynéine.

Dans ces deux cas, il faut qu'au moins une des protéines associées au génome viral possède un signal de localisation nucléaire (NLS) pour mobiliser des facteurs cytosoliques responsables de l'approche finale de la membrane nucléaire et de l'entrée du complexe nucléoprotéique dans le nucléoplasme au travers d'un pore nucléaire.

Ces 3 étapes, fixation, pénétration, et décapsidation échouent très souvent pour plusieurs raisons : - Fixation sans endocytose ou sans fusion ;

- Endocytose sans libération de la nucléocapside ;
- Destruction du génome viral par des nucléases.

Mais une cellule possède, selon les récepteurs, de 10.000 à 500.000 récepteurs, ce qui permet de comprendre : que de nombreuses particules virales peuvent se fixer à une cellule, et que, par conséquent, de nombreux génomes sont introduits à l'intérieur de la cellule infectée.

#### **1.5.4. La multiplication (phase d'éclipse)**

La multiplication, l'étape de biosynthèse, se fait, quel que soit le virus, en deux étapes distinctes :

- 1- La réplication du génome ;
- 2- La transcription des nouveaux génomes en ARN-messagers dont la traduction assure la formation des protéines nécessaires à la construction de la capsidie et de l'enveloppe.

Cette multiplication s'accompagne le plus souvent d'une inhibition des fonctions cellulaires.

Au cours de cette étape, le génome viral libéré prend la direction des synthèses, dans la cellule, il se substitue en totalité ou en partie au génome cellulaire qui organisait les synthèses cellulaires. Le génome viral doit être transcrit, traduit et répliqué.

La cellule, désormais dirigée par le génome viral, va détourner la machinerie cellulaire au profit du virus et va ainsi former des virus provoquant dans certains cas une inhibition des synthèses d'ARN et d'ADN cellulaires. Plus précisément, la cellule va fabriquer des copies, (répliques) du génome viral, des répliques de protéines virales, protéines de capsidie et glycoprotéines d'enveloppe.

La stratégie de multiplication est dépendante de la nature et de la structure du matériel génétique : ADN ou ARN, génome bicaténaire ou monocaténaire, segmenté ou non, circulaire ou linéaire. Selon le type de virus la réplication sera plus ou moins complexe.

Seuls les virus à ADN dont la réplication est intranucléaire peuvent utiliser les enzymes cellulaires pour la transcription. Les autres virus doivent posséder leurs propres enzymes (ex. *Poxvirus* qui ont une réplication cytoplasmique, virus à ARN).

#### **I.5.4.1. La multiplication des virus à ADN**

Les virus à ADN double brin (Groupe I selon Baltimore) utilisent généralement la machinerie cellulaire, tant pour leur réplication que pour la transcription de leurs gènes en ARNm et ensuite pour la maturation de ces ARNm. Leur cycle est donc nucléaire (Fig.I.13).

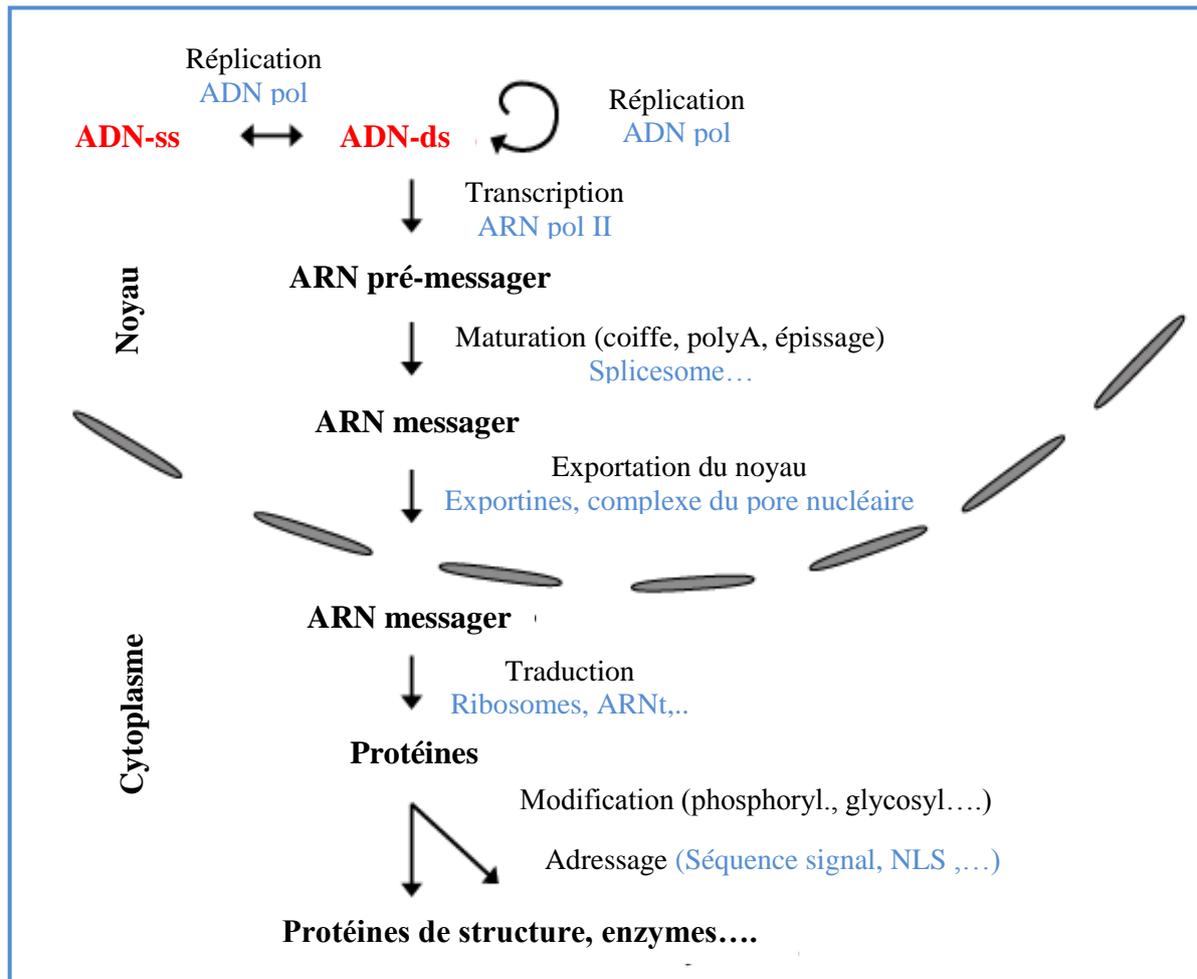
Certains virus, comme les *Parvovirus*, ont un génome monocaténaire (ADN simple brin) (Groupe II selon Baltimore). Ces virus utilisent néanmoins les ADN-polymérase cellulaires pour leur réplication (qui passe transitoirement par une forme double brin), et l'ARN-polymérase II cellulaire pour la transcription du génome en ARNm (Fig.I.13).

La dépendance de la réplication virale aux enzymes cellulaires nécessite que les cellules soient elles-mêmes en phase de réplication. Par exemple, les *Parvovirus* infectent préférentiellement, voire exclusivement, les cellules en mitose.

Il existe, pour les virus à ADN, une régulation dans le temps de l'expression des gènes. On distingue, selon les cas, les ARNm immédiats, précoces et tardifs. Donc le cycle viral peut être divisé en 2 phases sauf pour les *Herpesviridae* chez lesquels on distingue 3 phases :

\* **Une phase précoce** où une petite partie du génome est transcrite grâce à une ARN polymérase-ADN dépendante cellulaire. Les ARN messagers précoces migrent dans le cytoplasme cellulaire pour être traduits par les ribosomes de la cellule en protéines régulatrices non structurales ou en enzymes impliquées dans la synthèse de l'ADN. Il y a ensuite réplication de l'ADN viral par l'ADN polymérase cellulaire ou virale aboutissant en un grand nombre de copies d'ADN viral.

\* **Une phase tardive** où les ADN néoformés vont servir de matrices pour une deuxième transcription aboutissant à la formation d'ARN messagers tardifs qui après traduction vont former des protéines de structure (capside, enveloppe).



**Figure I.13.** Réplication des virus à ADN.

Le génome des virus à ADN (à l'exception de celui des Poxvirus) est répliqué dans le noyau. Il est généralement répliqué et transcrit par les polymérases cellulaires (en bleu sur le schéma). Le génome des virus à ADN simple brin (ADN-ss) est converti en ADN double brin (ADN-ds) par la polymérase cellulaire. La maturation des ARNm et leur traduction sont assurées par la machinerie cellulaire.

Les Papillomaviridae, Polyomaviridae, Adenoviridae et Herpesviridae se multiplient dans le noyau. Ils interagissent largement avec les composants cellulaires les détournant pour assurer leur propre transcription virale. Malgré leur cycle nucléaire (et donc malgré la présence des enzymes cellulaires requises pour la réplication et la transcription), les virus Herpès codent pour leur propre ADN-polymérase, ce qui leur assure une certaine indépendance vis-à-vis du cycle cellulaire pour leur réplication.

Par contre, les virus de la famille des Poxviridae constituent une exception notoire, ils se multiplient exclusivement dans le cytoplasme. Ces virus codent donc pour toutes les enzymes

responsables de la réplication de l'ADN viral et pour les enzymes nécessaires à la production des ARNm et ils sont indépendants de la machinerie cellulaire.

### ➤ Cycle de multiplication des *Herpesviridae*

Les protéines virales sont synthétisées en trois phases : très précoce (protéines  $\alpha$ ), précoce (protéines  $\beta$ ) et tardive (protéines  $\gamma$ ). Grâce à la protéine virale VP16 amenée par le virus dans la cellule, la transcription des gènes très précoces est initiée. Les protéines synthétisées ont des fonctions de contrôle sur la transcription des gènes précoces et tardifs alors qu'elles inhibent par un phénomène d'autorégulation la transcription des gènes très précoces. Les protéines précoces  $\beta$  sont des enzymes impliquées dans la réplication de l'ADN viral. Elles activent également la transcription des gènes tardifs aboutissant à la synthèse de protéines structurales  $\gamma$  (Fig. I.14).

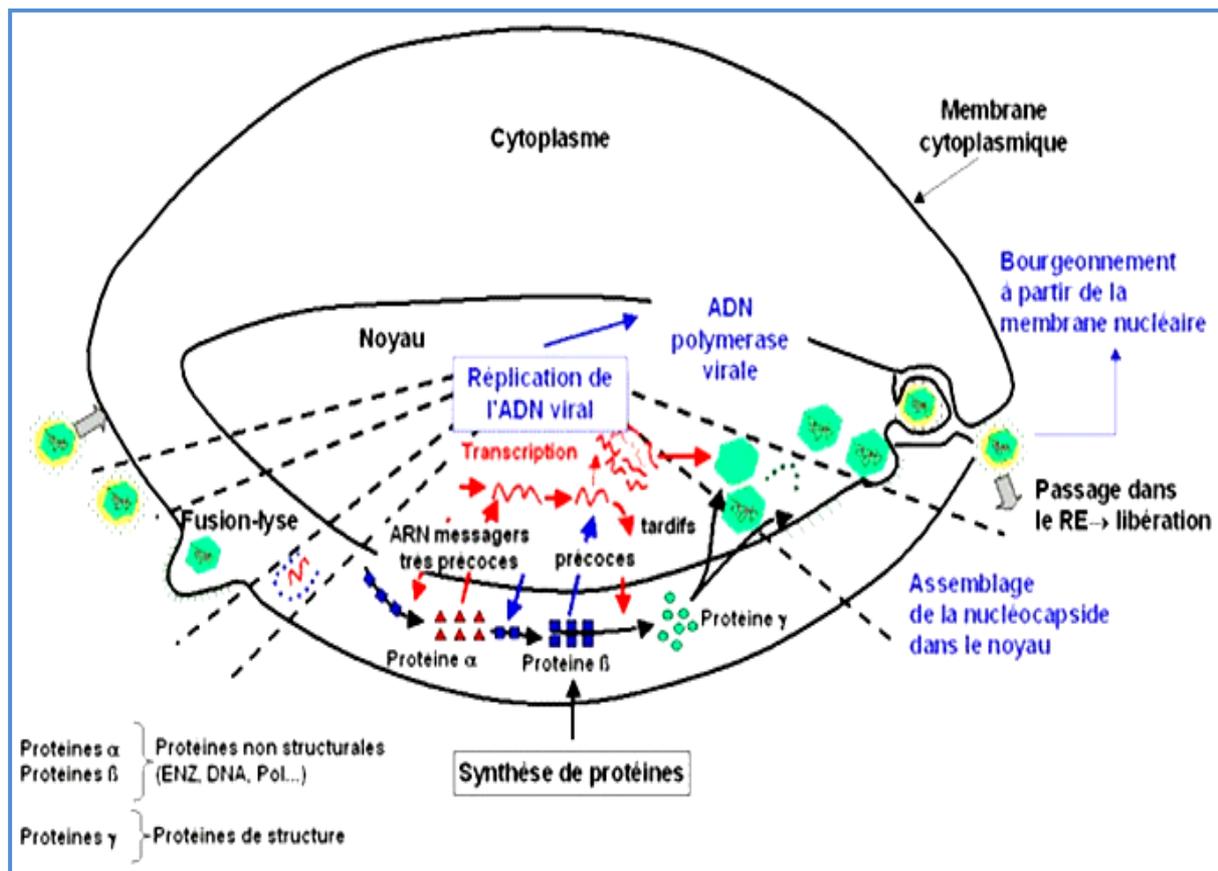


Figure I.14. Cycle de multiplication des *Herpesviridae*.

#### I.5.4.2. La multiplication des virus à ARN

Les virus à ARN ont un cycle de réplication cytoplasmique. Aucune enzyme nucléaire de la cellule ne peut leur être utile pour la réplication ou la transcription étant donné qu'à ce jour,

aucune ARN-polymérase ARN-dépendante capable de retranscrire de longs segments d'ARN n'a été décelée dans les cellules de mammifères.

Les virus à ARN codent donc leur propre polymérase. La polymérase virale est généralement une enzyme multifonctionnelle qui assure les fonctions de réplication du génome, de transcription en ARNm et parfois d'addition de coiffe et de queue de poly A sur les ARNs messagers. En se répliquant dans le cytoplasme des cellules, ils peuvent exploiter la présence des ribosomes cellulaires pour assurer la traduction de leurs ARNm.

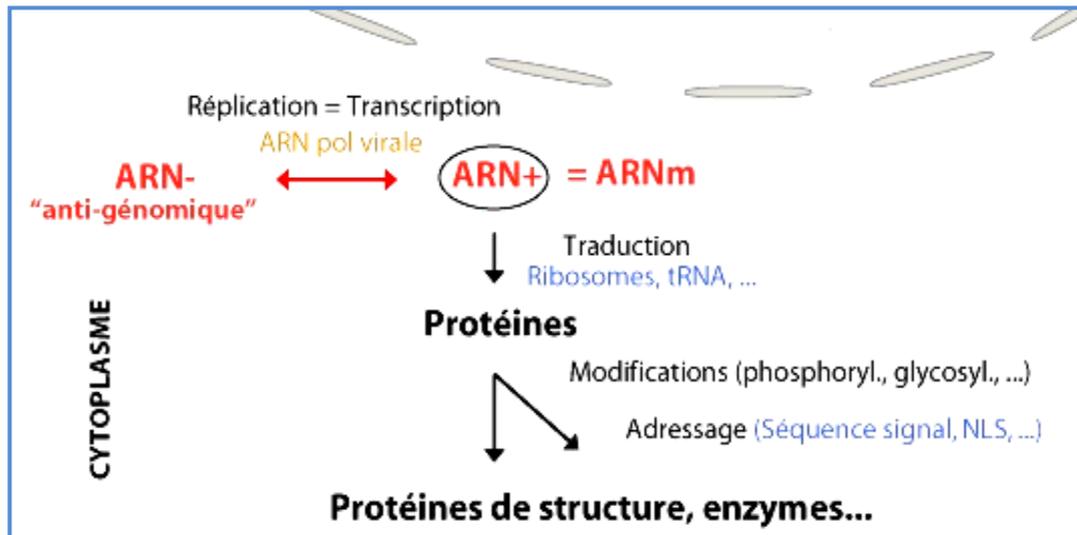
Certains virus à ARN, dont le virus de la grippe (*Orthomyxovirus*) ou le virus de Borna (famille des *Bornaviridae*, apparenté aux *Rhabdoviridae*), font exception à cette règle en se répliquant dans le noyau de la cellule. Ces virus exploitent la machinerie d'épissage de la cellule (nucléaire) pour augmenter leur capacité codante, grâce à l'épissage différentiel.

Le génome des virus à ARN peut prendre différentes configurations : segmenté ou non, bicaténaire ou monocaténaire, de polarité positive ou négative. Suivant les virus, l'élaboration des messagers viraux ou transcription est une opération plus ou moins complexe.

#### **a. Les virus à ARN de polarité positive (groupe IV selon Baltimore)**

On appelle "ARN de polarité positive" ou "ARN<sup>+</sup>" les ARNs qui ont la même polarité que l'ARN messager codant pour les protéines. La plupart des virus à ARN<sup>+</sup> ont un génome qui possède les signaux requis pour être traduit directement par les ribosomes cellulaires en protéines de capsid (et enzymes viro-induites).

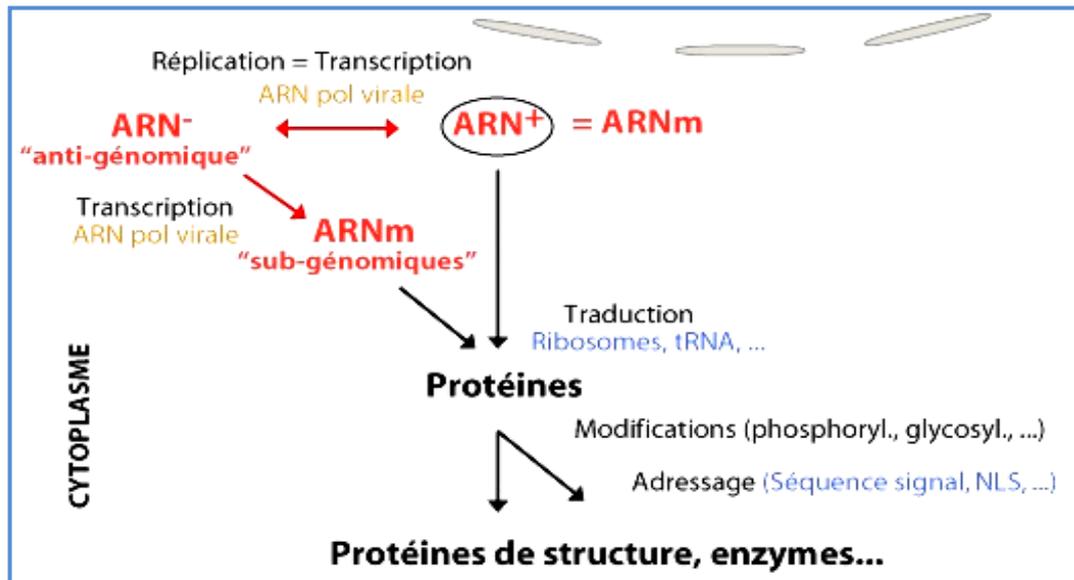
Chez certains virus, comme les *Picornavirus* ou les *Flavivirus*, la totalité des protéines virales peuvent être synthétisées à partir de l'ARN génomique. Chez ces virus, un seul cadre de lecture ouvert (ORF pour "open reading frame") assure la synthèse d'une polyprotéine qui est clivée par un processus autocatalytique (protéases virales contenues dans la polyprotéine) pour fournir l'ensemble des protéines virales (Fig.I.15).



**Figure I.15.** Réplication des virus à ARN<sup>+</sup> (sans ARNm sub-génomique).

Le génome de certains virus à ARN<sup>+</sup> code pour une polyprotéine unique qui subit un clivage par une ou plusieurs protéase(s) virale(s) pour donner l'ensemble des protéines nécessaires au cycle viral. Dans ce cas, toutes les protéines du virus sont donc traduites à partir de l'ARN génomique. La réplication du génome est assurée par une polymérase virale qui recopie l'ARN génomique (+) en ARN anti-génomique (-) et ensuite recopie cet ARN anti-génomique en ARN génomique. Le cycle de réplication des virus à ARN<sup>+</sup> est cytoplasmique. La réplication et la transcription sont dues à une polymérase virale. La traduction est assurée par la machinerie cellulaire.

Chez d'autres virus comme les *Togavirus* ou les *Coronavirus*, seule une partie des protéines peut être produite en utilisant le génome comme ARNm. Parmi ces protéines, on trouve la polymérase virale. Cette polymérase assurera la synthèse d'un brin complémentaire au génome (antigénome) puis la synthèse d'ARNm génomiques ou sub-génomiques, ces derniers permettant la traduction des autres protéines virales (souvent les protéines structurales) (Fig.I.16).



**Figure I.16.** Réplication des virus à ARN<sup>+</sup> (avec ARNm sub-génomique).

Chez certains virus à ARN<sup>+</sup>, la traduction du génome fournit une partie des protéines virales. Les ARNm codant pour les autres protéines sont transcrits par la polymérase virale à partir de l'ARN anti-génomique. Ces ARNm ne correspondent qu'à une portion du génome et sont donc appelés ARNm sub-génomiques. Le cycle de réplication des virus à ARN<sup>+</sup> est cytoplasmique. La réplication et la transcription sont dues à une polymérase virale. La traduction est assurée par la machinerie cellulaire.

➤ **Cycle de multiplication du virus à ARN simple brin de polarité positive (Poliovirus)**

Le génome de polarité positive est traduit directement en une grande polyprotéine qui est ensuite clivée pour donner naissance à trois protéines P1, P2 et P3. La maturation de ces protéines virales fait intervenir plusieurs clivages en cascade. La région P1 contient l'information génétique codant pour les protéines de capsid (Fig. I.17).

Les régions P2 et P3 codent pour des protéines non structurales dont l'ARN polymérase-ARN dépendante ou réplacase. La réplacase va synthétiser un brin (-) pour aboutir à la forme réplacative constituée d'un brin (-) et d'un brin (+) appariés en double hélice.

Le brin (-) va servir à la synthèse de nouveaux brins (+) toujours grâce à la réplacase dans un complexe appelé « intermédiaire de réplication ». Ces nouveaux brins (+) vont être encapsidés afin de former de nouveaux virions (Fig. I.17).

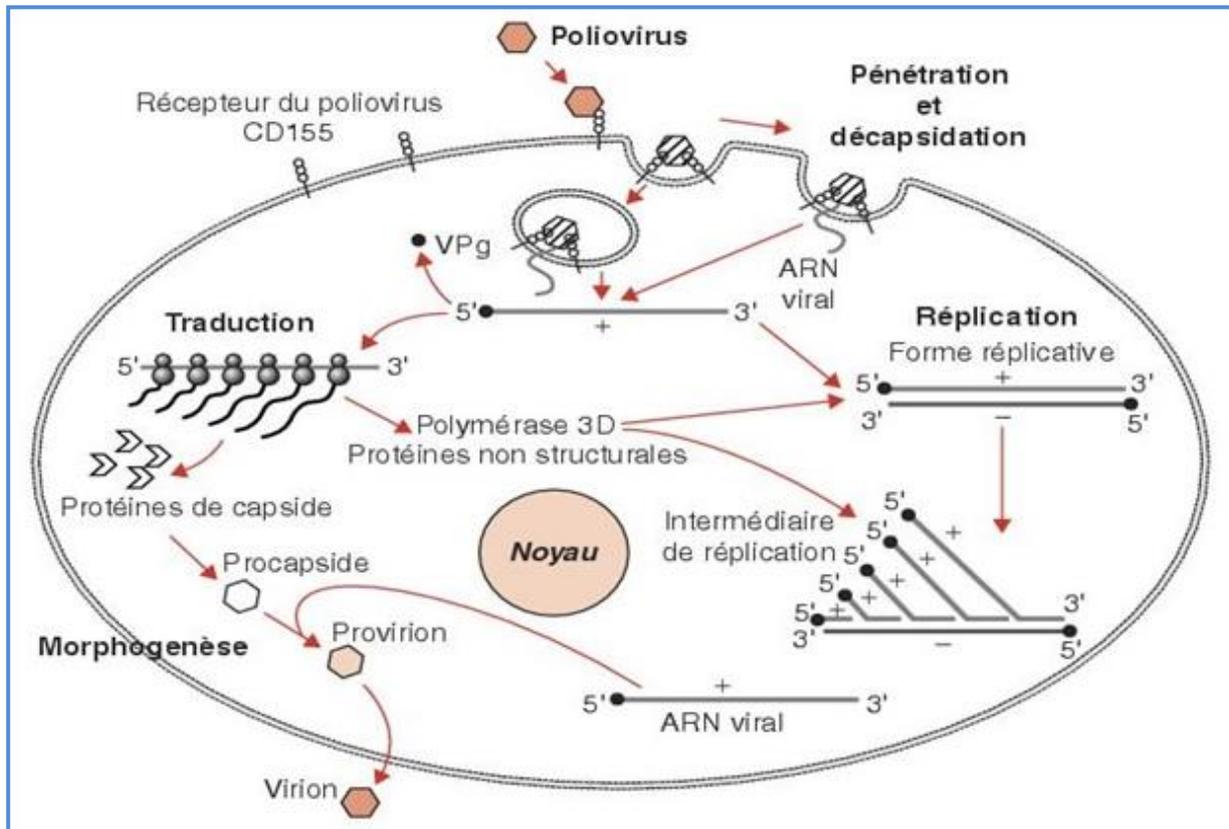


Figure I.17. Cycle de multiplication du Poliovirus.

### b. Les virus à ARN de polarité négative (Groupe V selon Baltimore)

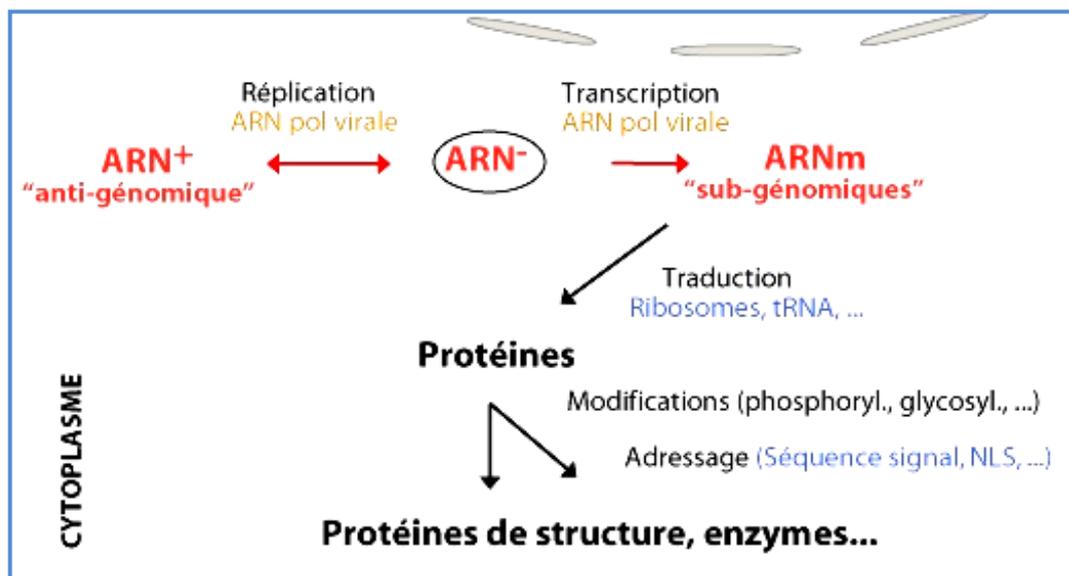
Par contre, les virus à ARN de polarité négative ont un génome dont la polarité est complémentaire à celle des ARNs messagers. Ils comprennent des virus à génome segmenté (*Orthomyxoviridae*, *Bunyaviridae*) ou non segmenté (*Bornaviridae*, *Filoviridae*, *Paramyxoviridae* et *Rhabdoviridae*).

Les génomes de ces virus ne peuvent donc en aucun cas être utilisés directement par les ribosomes cellulaires pour assurer la traduction. Donc il faut passer par un ARN messager de polarité positive. Cette étape de transcription sera réalisée par une enzyme virale.

Comme dans le cas des virus à ARN<sup>+</sup>, la polymérase utilisée par ces virus est codée par le génome viral. Il s'agit d'une ARN-polymérase ARN-dépendante qui assure les fonctions de transcription et de répliation du génome.

Pour la transcription, la polymérase codée par le virus forme, à partir du génome à ARN<sup>-</sup>, des ARNm sub-génomiques correspondant à chaque "gène". Ces ARNm sont alors pris en charge par les ribosomes cellulaires pour être traduits. Pour la répliation, la même polymérase

synthétise un antigénome (copie complémentaire de la totalité du génome) qui sert ensuite de matrice pour la production de nouveaux génomes à  $ARN^-$  (Fig.I.18).



**Figure I.18.** Réplication des virus à  $ARN^-$ .

Le génome des virus à  $ARN^-$  est transcrit en  $ARNm$  sub-génomiques par l' $ARN$ -polymérase virale. Cette même  $ARN$ -polymérase assure aussi la réplication du génome viral ( $ARN^- > ARN^+ > ARN^-$ ). La traduction des  $ARNm$  est assurée par les ribosomes cellulaires.

On note qu'une étape de transcription est nécessaire pour produire les  $ARNm$  viraux à partir du génome à  $ARN^-$ . L' $ARN$ -polymérase virale ne peut donc être produite par les cellules infectées sans transcription préalable du génome en  $ARNm$  (par l' $ARN$ -polymérase virale). Les virus à  $ARN^-$  sont donc obligés de transporter quelques copies de la polymérase virale dans leur virion pour pouvoir initier leur cycle de réplication dans la cellule hôte.

### ➤ Cycle de multiplication Virus à $ARN$ simple brin de polarité négative (*Rhabdovirus*)

Il s'agit d'un virus non segmenté. Le génome est constitué de gènes séparés par des séquences intergéniques situées entre chaque gène. Ces séquences contiennent un signal de polyadénylation, de terminaison et d'initiation pour la transcription du gène suivant.

La transcription des gènes est réalisée par l' $ARN$  polymérase associée au virion. La quantité de messagers synthétisés varie selon la localisation des gènes (diminution de 3' en 5'). Les  $ARN$  messagers sont traduits en protéines. Lorsque la concentration de nucléoprotéines (protéine N) atteint un certain seuil, celles-ci se fixent sur l' $ARN(+)$  nouvellement synthétisé et permettent à l' $ARN$  polymérase de copier les jonctions intergéniques sans s'arrêter afin d'obtenir un  $ARN$  génomique entier (Fig. I.19).

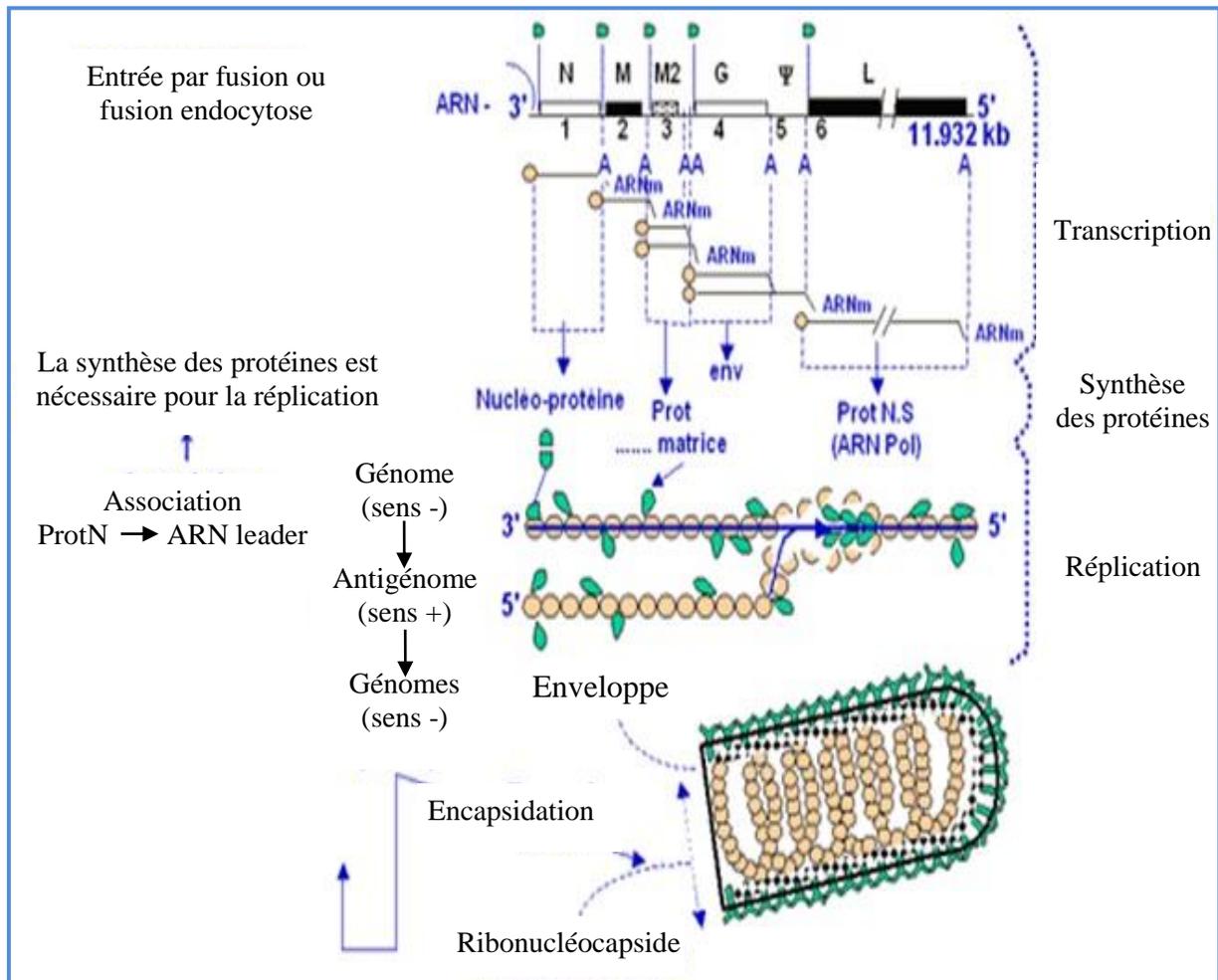


Figure I.19. Cycle de multiplication du *Rhabdovirus*.

➤ **Remarque**

De même, la répliation du génome des virus à ARN nécessite l'apport d'enzymes spécifiques : ARN polymérase-ARN dépendante virale qui n'existe pas dans la machinerie cellulaire.

En effet dans la cellule normale, une telle opération et une telle enzyme n'ont pas de raison d'être et n'existent pas : les RNA cellulaires, qu'il s'agisse des RNA messagers, ribosomiques ou de transfert, sont synthétisés par des RNA polymérases DNA-dépendantes, travaillant sur une matrice de DNA, le génome cellulaire.

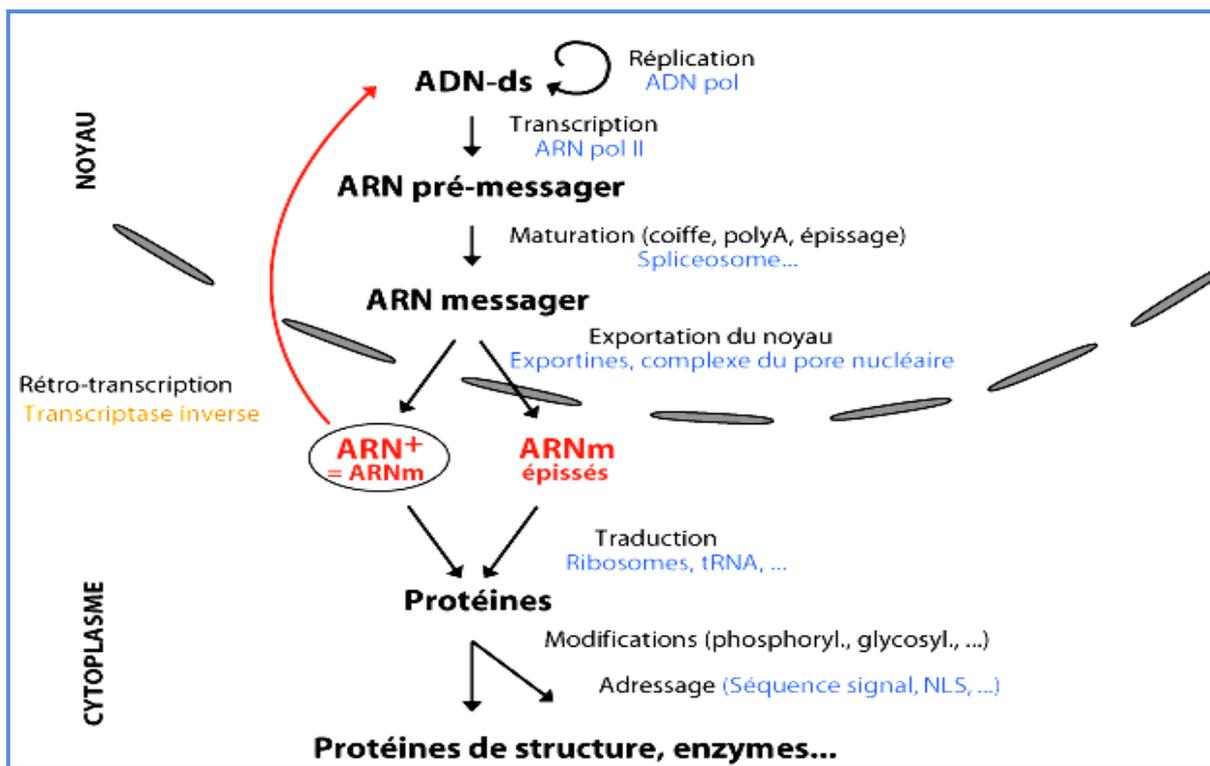
Donc, pour se multiplier dans une cellule, tous les virus à RNA doit faire fabriquer à la cellule infectée une RNA répliacase, enzyme nouvelle, viro-induite, absente de la cellule normale, inutile au fonctionnement normal de la cellule, mais nécessaire à la multiplication virale.

**c. Les virus à ARN double brin (ARNds) (Groupe III selon Baltimore)**

Certains virus comme les *Réovirus*, les *Rotavirus*, et les *Birnavirus* ont un génome segmenté constitué d'ARN bicaténaire. Le brin d'ARN- sert de matrice pour la production des différents ARNs messagers. Comme pour les autres virus à ARN, une polymérase codée par le virus est responsable de la transcription et de la réplication du génome.

**I.5.4.3. La multiplication des virus utilisant la transcriptase inverse**

Les Rétrovirus (virus HIV, HTLV...), les *Hépadnavirus* (virus de l'hépatite B) et les *Caulimovirus* (virus de la mosaïque du chou-fleur) ont la particularité de coder pour une transcriptase inverse (reverse transcriptase/RT) qui, au cours de leur cycle de réplication, convertit un ARN+ viral en ADN double brin (rétrotranscription). Cette étape indispensable est rendue possible par la présence d'une enzyme virale, la transcriptase inverse (reverse transcriptase : RT) (Fig.I.20).



**Figure I. 20.** Réplication des rétrovirus.

Le génome des rétrovirus est un ARNm transcrit initialement par l'ARN-polymérase II cellulaire. La transcriptase inverse recopie cet ARN en ADN double-brin qui migre dans le noyau et est intégré dans le génome de la cellule. L'ARNm viral transcrit par l'ARN-polymérase II cellulaire peut soit subir un épissage soit rester non-épissé, et est exporté vers le cytoplasme où il est traduit par les ribosomes cellulaires.

### a. Cas Rétrovirus

Dans le cas des *Rétrovirus* (virus HIV, HTLV...), c'est la molécule d'ARN qui est encapsidée pour former le virion et la rétrotranscription s'effectue au moment où la nucléocapside virale pénètre dans le cytoplasme de la cellule infectée (groupe VI selon Baltimore).

#### ➤ Cycle de multiplication du virus de l'immunodéficience humaine (VIH)

Une fois entré dans la cellule, l'ARN viral va être rétrotranscrit dans le cytoplasme en ADN par la transcriptase inverse virale (TI). La TI dégrade l'ARN viral puis copie l'ADN viral monocaténaire en ADN double brin qui passe dans le noyau de la cellule (Fig. I.21).

Grâce à l'intégrase virale, l'ADN chromosomique est clivé et l'ADN viral s'intègre dans cet ADN chromosomique au sein du noyau de la cellule infectée, sous le nom d'ADN proviral. Une fois intégré et si il y a activation de la cellule, l'ADN proviral est transcrit en ARN messagers et en ARN génomique par l'appareillage de transcription de la cellule.

La traduction d'ARN messagers peu ou pas épissés donne naissance à des polyprotéines virales correspondant d'une part aux gènes *gag* et *pol* et d'autre part au gène *env*. La polyprotéine *env* va être clivée par une protéase cellulaire en deux protéines d'enveloppe qui seront glycosylées par les enzymes de la cellule (Fig. I.21).

L'assemblage des protéines virales et de 2 molécules d'ARN viral se fait au niveau de la membrane cellulaire. Quant à la polyprotéine Gag-Pol, c'est au moment du bourgeonnement du virus hors de la cellule qu'elle va être clivée par la protéase virale pour donner les protéines constitutives internes du virus et ses 3 enzymes. Cette dernière étape s'appelle la maturation et est indispensable à la production de virus infectieux capables d'infecter d'autres cellules (Fig. I.21).

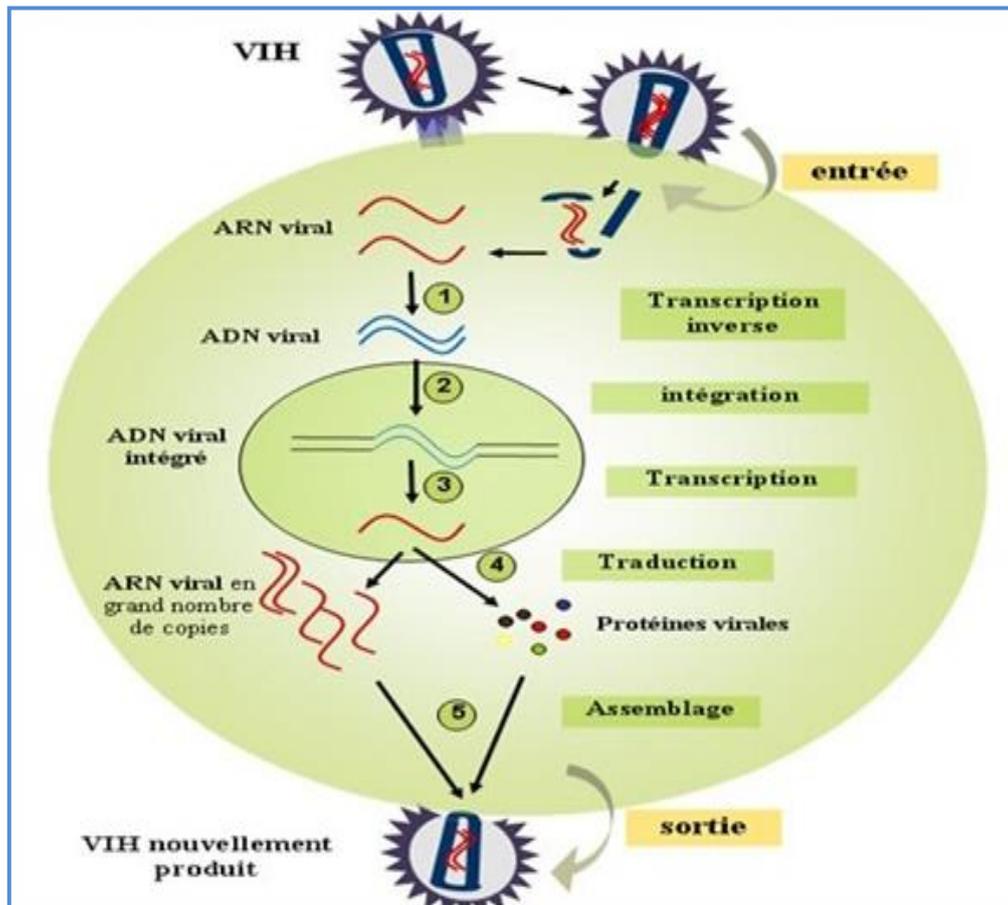


Figure I.21. Cycle de multiplication du virus VIH.

### b. Cas *Hepadnavirus* et *Caulimovirus*

Dans les deux autres cas (*Hepadnavirus* et *Caulimovirus*), la rétrotranscription s'effectue au moment où le virus quitte le cytoplasme de la cellule infectée. C'est donc un génome à ADN qui est encapsidé pour former les virions (groupe VII selon Baltimore).

#### ➤ Cycle de multiplication du virus de l'hépatite B

Contrairement aux autres virus à ADN infectant l'homme, le HBV se caractérise par un intermédiaire de répllication qui est une molécule d'ARN pré-génomique. C'est donc un virus à ADN (partiellement double brin, 1 brin négatif long, 1 brin positif court) qui se rapproche des rétrovirus par sa polymérase qui possède une activité de transcription inverse. (Fig. I.22)

L'attachement du virus sur la cellule-cible (les hépatocytes) se ferait par interaction entre l'antigène préS1 côté virus et par l'albumine humaine polymérisé côté hépatocyte. La nature du récepteur de l'HBV n'est toutefois pas encore définie. Après migration des nucléocapsides dans le noyau, le génome viral y est libéré. Il acquiert une configuration circulaire superenroulée (Fig. I.22).

Les ARN transcrits sont traduits en protéines dans le cytoplasme de l'hépatocyte (capside, protéines de surface, protéine X, polymérase virale). Un ARN viral pré-génomique est également synthétisé puis encapsidé par 240 molécules de capsidène associée à la polymérase. La polymérase virale synthétise par son activité de transcription inverse le brin complémentaire négatif d'ADN (brin long) (Fig. I.22).

Après dégradation du brin d'ARN par son activité RNaseH, l'enzyme grâce à son activité ADN polymérase-ADN dépendante synthétise le brin + court pour aboutir à l'ADN circulaire partiellement double brin qui constitue le génome du virus (Fig. I.22).

Le HBV représente pour les virus à ADN un modèle en miroir des rétrovirus. Toutefois l'intégration de l'ADN viral dans le chromosome de la cellule n'est pas indispensable au cycle viral, elle peut cependant survenir au cours de l'infection chronique (Fig. I.22).

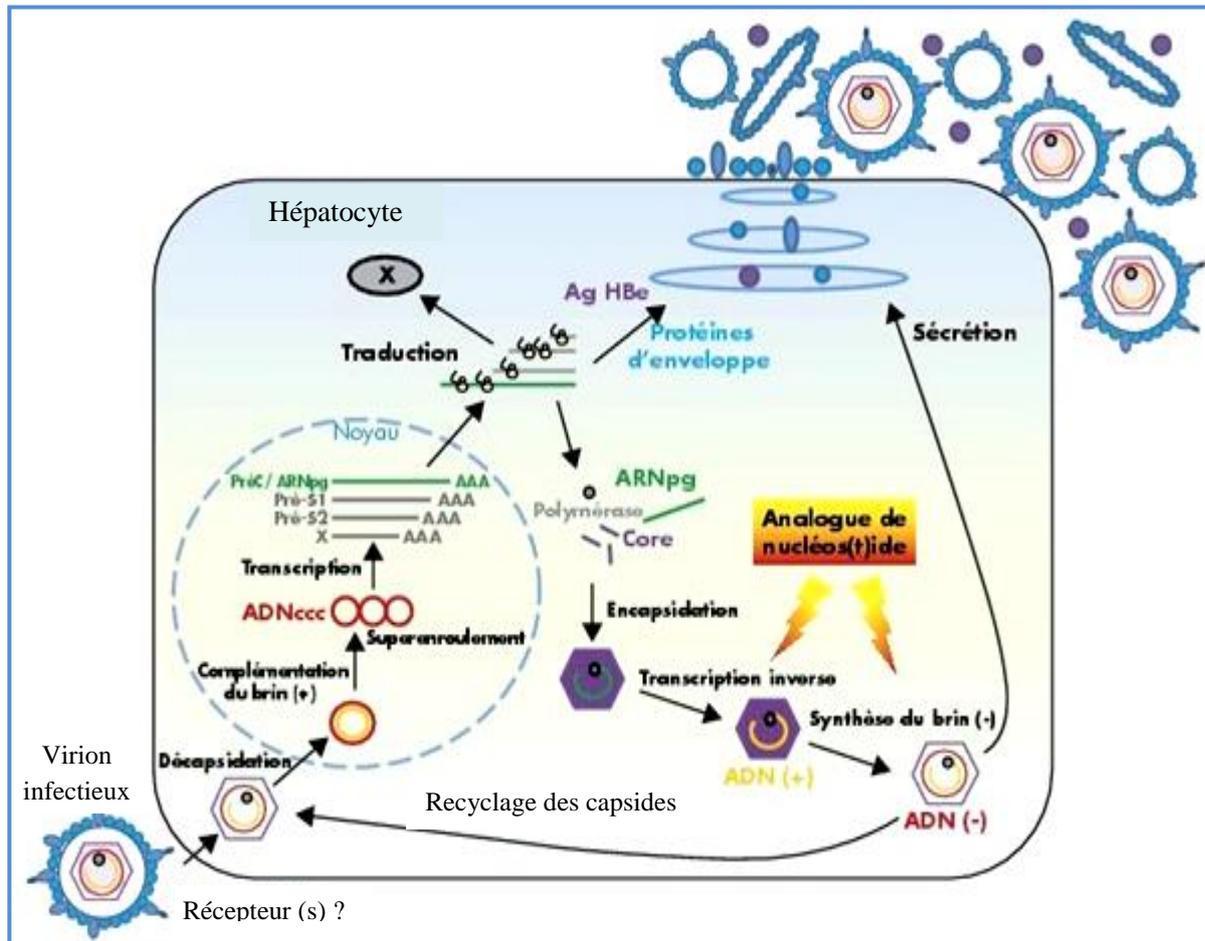


Figure I.22. Cycle de multiplication du virus de l'hépatite B.

### **I. 5.5. L'assemblage et la maturation**

Les nouveaux génomes fabriqués par la cellule s'entourent de nouvelles protéines virales fabriquées par la cellule. C'est l'encapsidation des génomes qui aboutit à la formation de nouveaux virus. Les mécanismes peuvent être simples avec auto-assemblage des protéines de capsidation et encapsidation du génome. Ils peuvent être plus complexes avec l'intervention de protéines virales spécifiques.

#### **a. Virus non-enveloppés**

L'assemblage des virus non-enveloppés résulte d'un processus très efficace d'auto-assemblage associant le génome viral et les protéines de capsidation. Les virus matures s'accumulent dans le noyau ou le cytoplasme de la cellule infectée puis sont le plus souvent libérés par lyse cellulaire.

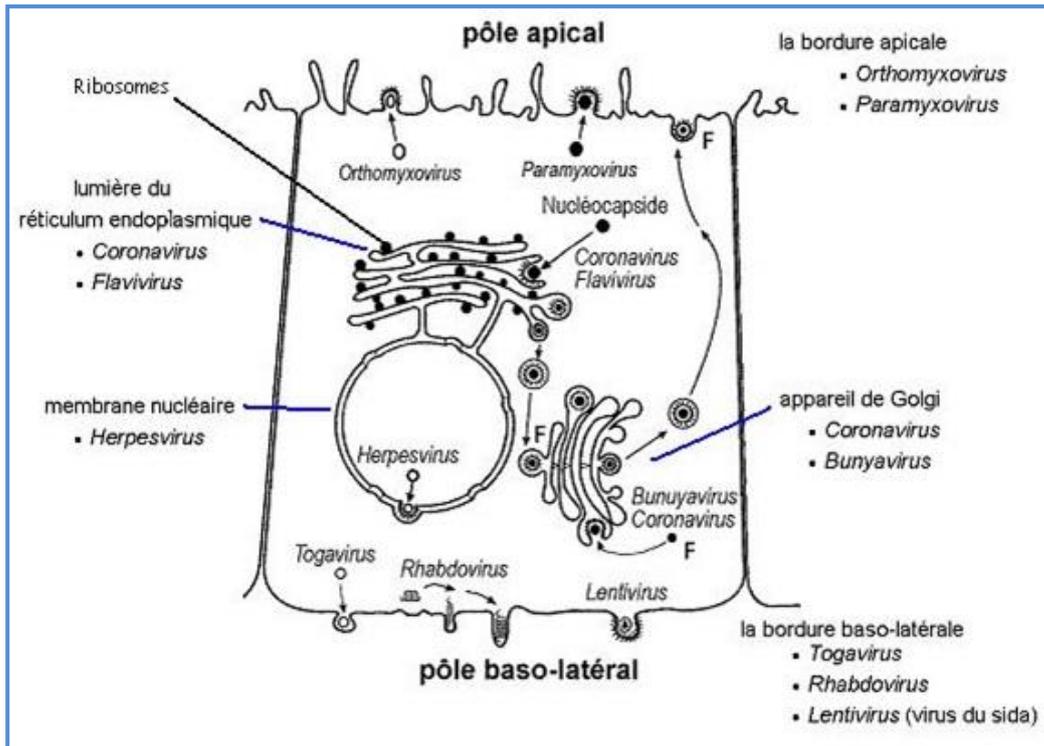
#### **b. Virus enveloppés**

Les glycoprotéines codées par ces virus sont insérées dans la membrane plasmique cellulaire. Les nucléocapsides assemblés dans le noyau ou le cytoplasme vont aller interagir avec les régions de membrane hérissées de glycoprotéines. Cette interaction se fait le plus souvent par l'entremise d'une protéine de matrice, localisée à la surface interne de la membrane plasmique.

Comme l'indique la figure I. 23, l'adressage des protéines d'enveloppe et de matrice est remarquable : soit vers le pôle apical, soit vers le pôle basolatéral.

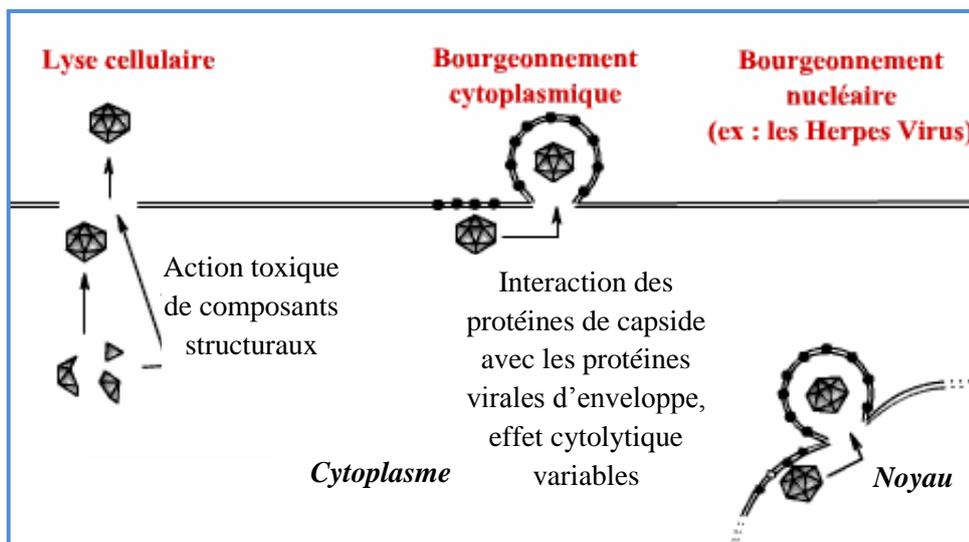
### **I.5. 6. La libération des virus**

Ces nouveaux virus sortent de la cellule par éclatement pour les virus nus, par bourgeonnement pour les virus enveloppés. C'est lors du bourgeonnement que les virus à enveloppe constituent leur enveloppe qui est une bicouche lipidique cellulaire hérissée de spicules glycoprotéiques.



**Figure I.23.** Assemblage des virus complets et libération par exocytose et acquisition de l’enveloppe lors du passage à travers la membrane cytoplasmique cellulaire.  
*F = fusion de la membrane vésiculaire, soit avec l’appareil de Golgi, soit avec la membrane plasmique.*

Certains virus comme les *Herpesvirus* s’entourent d’une enveloppe provenant de la membrane nucléaire de la cellule infectée, d’autres comme les rétrovirus s’entourent d’une enveloppe provenant de la membrane cytoplasmique de la cellule. Une cellule produit de l’ordre de 100 à 1000 virus. Les virions assemblés quittent la cellule selon trois modalités (Fig. I. 24) :



**Figure I.24.** Libération des nouveaux virus par bourgeonnement ou par lyse cellulaire.

**a. Lyse de la cellule : les virus nus**

L'assemblage a lieu dans le cytoplasme (*Picornavirus, Reovirus*) ou dans le noyau (*Adenovirus, Papovavirus, Parvovirus*). La libération des virions dépend totalement de la lyse cellulaire.

Cette lyse survient suite à la désorganisation structurale et métabolique de la cellule infectée causée par la production massive des éléments viraux au détriment des protéines cellulaires.

Il existe cependant une série de données récentes montrant que la libération des virus nus peut s'observer en absence de lyse cellulaire, via la formation de vésicules extracellulaires. Ce type de relargage a notamment été documenté dans le cas de *Picornavirus* comme le virus de l'hépatite A ou le virus de la poliomyélite.

**b. Bourgeonnement : les virus enveloppés**

C'est le mode habituel de sortie des virus enveloppés : assemblage et 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 s'initie et aboutit à la libération de nucléocapsides entourées d'une enveloppe correspondant à la membrane plasmique de la cellule productrice, dans laquelle sont insérées les glycoprotéines virales (Fig. I. 25).

A l'inverse de la libération par lyse cellulaire, la production de virus enveloppés par bourgeonnement ne s'accompagne pas forcément de la mort de la cellule productrice.

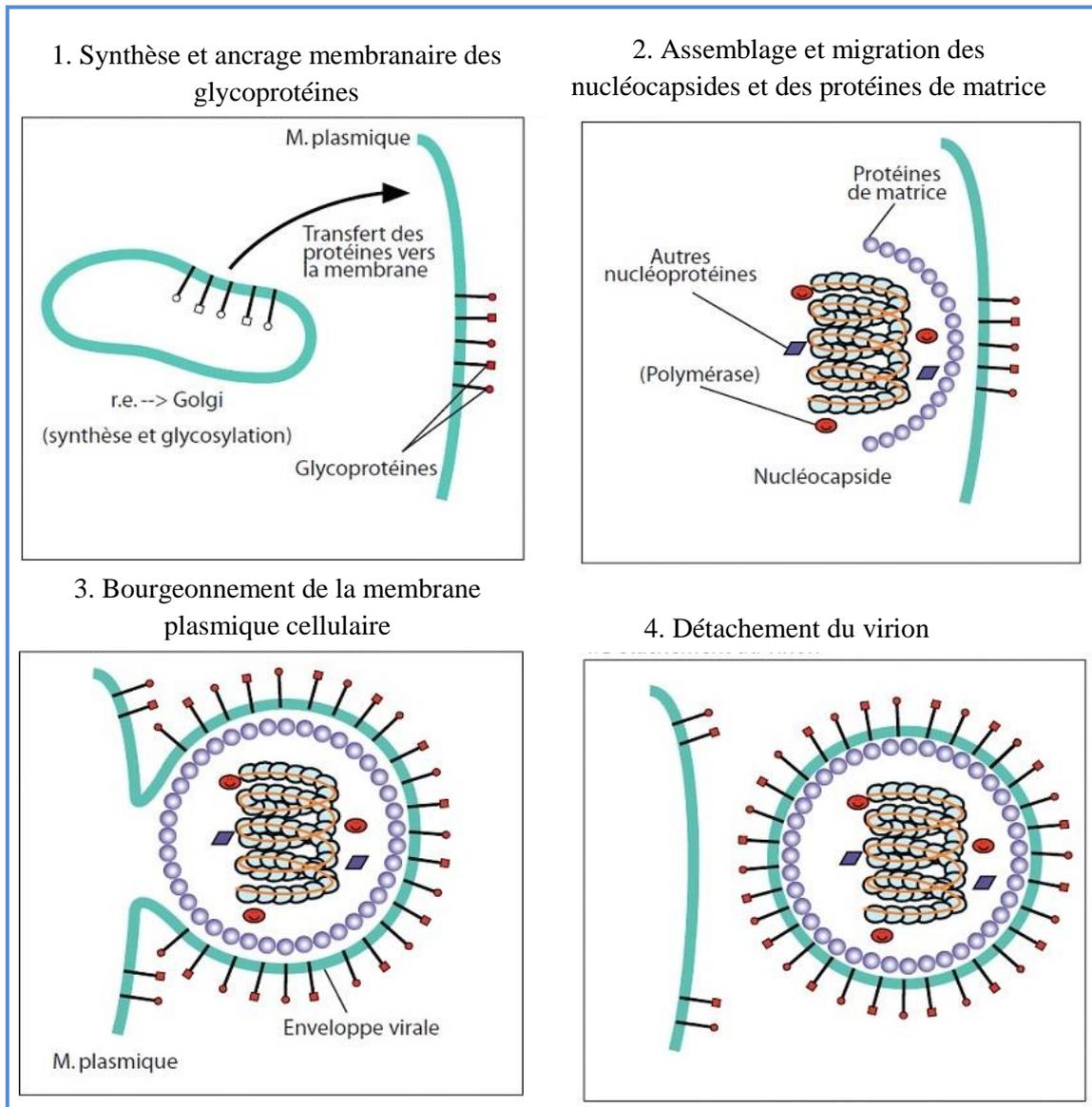
**c. Transport : les *Herpesvirus***

La nucléocapside des *Herpesvirus* 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 enfin transportés du noyau vers la membrane cytoplasmique. La fusion des membranes vésiculaire et cytoplasmique libère les particules virales à l'extérieur.

Le bourgeonnement n'implique pas la destruction de la cellule. Certains virus enveloppés sont peu cytotoxiques (ainsi le virus de la rage), et la libération des virions se poursuit pendant d'assez longues périodes.

La multiplication d'un virus est donc très différente de la multiplication d'une bactérie ou d'une cellule eucaryote car le virus n'augmente pas de taille et ne se divise pas : il sort sous forme complète de la cellule et ne se modifie plus avant d'infecter une autre cellule.



**Figure I.25.** Libération des virus enveloppés.

## Chapitre II. Les bactériophages

### II.1. Généralités

Les virus de bactéries ou bactériophages (appelés aussi phages) sont des virus qui infectent spécifiquement les bactéries. Chaque type de phages reconnaît une espèce, voir une sous-espèce de bactérie. De par sa grande spécificité, un bactériophage ne pourra jamais infecter une de nos propres cellules.

Les bactériophages sont présents dans l'ensemble de la biosphère. Ils sont présents en quantité plus importante dans les excréments, le sol et les eaux d'égout ( $5 \cdot 10^{31}$  phages sur toute la planète),  $\approx 1$  million de phages /goutte d'eau de mer,  $\approx 100$  millions / gramme de terre.

Ils jouent un rôle environnemental essentiel, notamment en régulant la croissance bactérienne mais également en contribuant à l'évolution génétique de nombreux micro-organismes. Très utilisés dans la recherche en génétique moléculaire.

Actuellement, avec l'émergence de souches bactériennes résistantes aux antibiotiques, les phages sont considérés comme une alternative plus que prometteuse aux antibiothérapies classiques. Applications thérapeutiques potentielles (Phagothérapie).

#### II.1.1. Histoire des phages

La découverte de l'activité des bactériophages en 1915 par Frederick W. Twort (à Londres) qui a remarqué que des colonies de microcoques (virus de la vaccine (sorte de variole)) prennent parfois un aspect vitreux, en 24 h à  $37^\circ\text{C}$  dû à une destruction des cellules bactériennes, et que cette caractéristique est transmissible à des colonies normales par simple contact.

En 1917, Félix d'Hérelle fait la même observation et développe les premières applications thérapeutiques. Le support de l'information génétique (génome) des bactériophages peut être un ADN ou un ARN. Si Twort a découvert les bactériophages, c'est d'Hérelle qui a découvert la *phagothérapie*.

### II.1.2. Classification des phages

Un système de classification de phages a été élaboré par le Comité International de Taxonomie des Virus (ICTV) au cours des dernières décennies. Les phages sont actuellement (au début de 2005) classés en 13 familles mais il existe un genre qui n'est pas classé (Tableau 5).

**Tableau 5.** Classification des bactériophages

Ordre Famille genre	Description : Ordre et famille	Type espèce
	<b><u>Phages à ADN bicaténaire</u></b>	
<b><i>Caudovirales</i></b>	Phages à queue, génome linéaire	
<b><i>Myoviridae</i></b>	Queue contractile	
“T4-like viruses” “P1-like viruses” “P2-like viruses” “Mu-like viruses” “SP01-like viruses” “H-like viruses”		<i>Coliphage T4</i> <i>Coliphage P1</i> <i>Coliphage P2</i> <i>Coliphage Mu</i> <i>Bacillus phage SP01</i> <i>Halobacterium phage H</i>
<b><i>Siphoviridae</i></b>	Queue longue, non contractile	
“-like viruses” “T1-like virus” “T5-like viruses” “L5-like viruses” “c2-like viruses” “M1-like viruses”		<i>Coliphage</i> <i>Coliphage T1</i> <i>Coliphage T5</i> <i>Mycobacterium phage L5</i> <i>Lactococcus phage c2</i> <i>Methanobacterium phage ψM1</i>
<b><i>Podoviridae</i></b>	Courte queue, non contractile	
“T7-like viruses” “P22-like viruses” “29-like viruses”		<i>Coliphage T7</i> <i>Enterobacteria phage P22</i> <i>Bacillus phage 29</i>
<b><i>Tectiviridae</i></b>	Phages à symétrie cubique, génome linéaire ds DNA	
<i>Tectivirus</i>		<i>Polyvalent phage PRD1</i>
<b><i>Corticoviridae</i></b>	Capside icosahédrique, génome circulaire ds DNA	
<i>Corticovirus</i>		<i>Alteromonas phage PM2</i>

<p><b>Plasmaviridae</b> <i>Plasmavirus</i></p>	<p>Enveloppée, poléomorphe, génome circulaire ds DNA</p>	<p><i>Acholeplasma phage L2</i></p>
<p><b>Lipothrixviridae</b> <i>Lipothrixvirus</i></p>	<p>Enveloppée, forme bâtonnet, génome linéaire ds DNA</p>	<p><i>Thermoproteus virus TTV1</i></p>
<p><b>Rudiviridae</b> <i>Rudivirus</i></p>	<p>Non enveloppée, en forme bâtonnet, génome linéaire ds DNA</p>	<p><i>Thermoproteus virus TTV4</i></p>
<p><b>Fuselloviridae</b> <i>Fusellovirus</i></p>	<p>Non enveloppé, en forme de citron, génome circulaire ds DNA</p>	<p><i>Sulfolobus virus SSV1</i></p>
<p><b>Genre non classé</b> <i>SNDV</i></p>	<p>En forme de gouttelette, génome circulaire ds DNA</p> <p><b><u>Phages à ADN monocaténaire</u></b></p>	<p><i>Sulfolobus virus SNDV</i></p>
<p><b>Inoviridae</b> <i>Inovirus</i> <i>Plectrovirus</i></p>	<p>Non enveloppée, filamenteux ou en forme bâtonnet, génome circulaire ss DNA</p>	<p><i>Coliphage Ff</i> <i>Acholeplasma phage L51</i></p>
<p><b>Microviridae</b> <i>Microvirus</i> <i>Spiromicrovirus</i> <i>Bdellovibrio</i> <i>Chlamydia micro-virus</i></p>	<p>Non enveloppée, icosahédrique, génome circulaire ss DNA</p> <p><b><u>Phages à ARN bicaténaire</u></b></p>	<p><i>Coliphage X174</i> <i>Spiroplasma phage SpV4</i> <i>Bdellovibrio phage MAC1</i> <i>Chlamydia phage Chp1</i></p>
<p><b>Cystoviridae</b> <i>Cystovirus</i></p>	<p>Enveloppés, icosahédrique, génome Linéaire fragmenté ds ARN</p> <p><b><u>Phages à ARN monocaténaire</u></b></p>	<p><i>Pseudomonas phage 6</i></p>
<p><b>Leviviridae</b> <i>Levivirus</i> <i>Allolevirus</i></p>	<p>Non enveloppés, icosahédrique, génome Linéaire ss ARN</p>	<p><i>Enterobacteriophage Ms2</i> <i>Enterobacteriophage Q<math>\beta</math></i></p>

Comme tous les virus, les phages sont classés en fonction de la nature de leur acide nucléique et de leur structure (type de symétrie, présence ou absence d'une enveloppe).

L'ICTV récemment établit l'ordre *Caudovirales*, comprenant les 3 familles : les familles *Myoviridae* (virus avec queues contractile), *Siphoviridae* (virus à longue queue non contractile) et *Podoviridae* (virus à queue courte non contractile) (Tableau 4).

En outre, la plupart des genres de phages ont été assignés par un nom vernaculaire latinisé, 6 genres ont été créés au sein de la famille *Myoviridae* (Tableau 6), 6 dans la famille *Siphoviridae* (Tableau 7) et 3 dans la famille *Podoviridae* (Tableau 8).

**Tableau 6.** Caractéristiques distinctives du genre *Myoviridae*

Propriétés	Infection	Génome	Hôtes
Genres des phages			
<i>T4-like phages</i>	Virulents	≈ 170 kbp, avec permutation circulaire, cytosine remplacé par le 5 hydroxyméthylcytosine.	<i>Acinetobacter</i> , <i>Aeromonas</i> , <i>Pseudomonas</i> , <i>Vibrio</i> .
<i>P1-like phages</i>	Tempérés	≈ 100 kbp, avec permutation circulaire limitée.	<i>Aeromonas</i> , <i>Vibrio</i> .
<i>P2-like phages</i>	Tempérés	≈ 33 kbp, le génome unique.	<i>Hemophilus</i> .
<i>Mu-like phages</i>	Tempérés	≈ 40 kbp, consistant du génome de phage avec DNA de cellule	<i>Enterobacterie</i>
<i>SPO1-like phages</i>	Virulents	140-160 kbp, le génome unique, thymine remplacé par le 5 hydroxyméthyluracil.	<i>Bacillus spp.</i>
<i>ΦH-like viruses</i>	Tempérés	≈ 59 kbp, linéaire ds DNA, avec permutation circulaire.	<i>Halobacterium</i>

**Tableau 7.** Caractéristiques distinctives du genre *Siphoviridae*

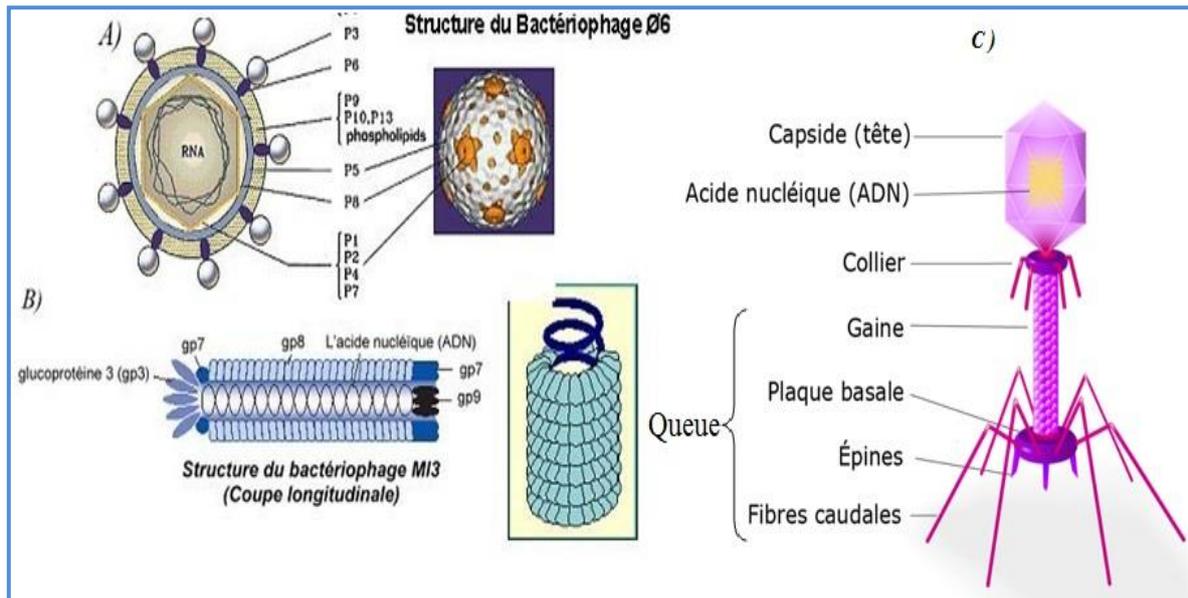
Propriétés	Infection	Génome	Hôtes
Genres des phages			
<i>λ-like phages</i>	Tempérés	≈ 49 kbp, le génome unique.	<i>Enterobacterie.</i>
<i>T1- like phages</i>	Virulents	≈ 49 kbp, avec permutation circulaire limitée.	<i>Enterobacterie</i>
<i>T5- like phages</i>	Virulents	≈ 121 kbp, le génome unique.	<i>Vibrio.</i>
<i>L5-like phages</i>	Tempérés	≈ 49 kbp, le génome unique.	<i>Mycobacterium spp.</i>
<i>c2-like phages</i>	Virulents	≈ 49 kbp, le génome unique.	<i>Lactococcus spp.</i>
<i>ψM-like viruses</i>	Virulents	≈ 30 kbp, linéaire ds DNA, avec permutation circulaire.	<i>Methanobacterium thermoautotrophicum</i>

**Tableau 8.** Caractéristiques distinctives du genre *Podoviridae*

Propriétés	Infection	Génome	Hôtes
Genres des phages			
<i>T7-like phages</i>	Virulents	≈ 40 kbp, le génome unique.	<i>Kluyvera, pseudomonas, vibrio.</i>
<i>P22- like phages</i>	Tempérés	≈ 43 kbp, linéaire ds DNA, avec permutation circulaire.	<i>Enterobacterie.</i>
<i>Φ29- like phages</i>	Virulents	≈ 19 kbp, le génome unique.	<i>Bacillus, streptococcus spp.</i>

### II.1.3. Morphologie des bactériophages

Les bactériophages sont réunis en trois grands groupes morphologiques : cubique, filamenteux, mixte. A la fin de l'année 2000, environ 5100 phages ont été signalés, 4950 parmi eux possèdent une queue (soit 96%) et 186 phages (soit 4%) sont dépourvus de queue (Fig.II.1.).



**Figure II.1.** Différentes structures des bactériophages.

a) Cubique, b) Filamenteux, c) Mixte.

Au microscope électronique les phages à queue (*Caudovirales*) apparaissent constitués de deux éléments distincts : la tête et la queue séparées par un col :

### a. La tête

La tête du bactériophage a généralement une structure icosaédrique qui est constituée par un noyau très compact d'acide nucléique, entouré d'une capsid. Cette dernière est uniquement constituée de protéines dont l'ensemble forme une enveloppe contenant et protégeant l'ADN viral.

### b. Le col

Le connecteur est un complexe multi protéique situé à l'un des sommets de la capsid. Il est à la fois en interaction avec la capsid mais aussi avec l'ADN et les éventuelles protéines internes ainsi qu'avec la queue du phage. Le connecteur est l'élément central de la machinerie servant à l'incorporation de l'ADN viral dans la capsid lors de la réplication des phages dans la bactérie. Et c'est aussi en passant par le connecteur puis la queue que l'ADN viral est injecté dans le cytoplasme de la bactérie. Le composant principal du connecteur est la protéine portail à laquelle s'ajoutent d'autres protéines de compléments suivant les phages.

### c. La queue

La queue est un complexe multi protéique assemblé indépendamment de la capsidie et du connecteur. La queue des phages est impliquée dans la reconnaissance et l'attachement aux bactéries hôtes, dans le transpercement des membranes bactériennes ainsi que dans le transfert de l'ADN viral de la capsidie dans le cytoplasme. Pour les phages qui n'ont pas de queue, 57% ont une morphologie polyédrique, 35% filamenteuse et 8% pleomorphique.

Les phages polyédraux qui ont été étudiés sont icosaèdres, soit nus soit enveloppés, avec une capsidie contenant le génome du phage, qui peut être soit à simple ou à double-brin d'ADN ou ARN. Les phages filamenteux peuvent être rigides ou souples avec des protéines sous forme de filaments à symétrie hélicoïdale, soit nus ou enveloppés, contenant un génome simple brin d'ADN.

Un petit nombre de phages avec une morphologie pleomorphique, contenant des génomes d'ADN double brin.

## II.2. Bactériophages lytiques à ADN double brin

Les phages lytiques (sont dit virulents) sont des phages qui ne peuvent se multiplier que dans les bactéries et qui tuent la cellule par lyse à la fin de leur cycle.

Tous les virus bactériens sont lytiques, à l'exception des phages filamenteux et des *Plasmaviridae*. La plupart des bactériophages à capsidie complexe utilisent le mécanisme de lyse endolysines / holines / spanines. *Microviridae* et *Leviviridae* inhibent la biosynthèse de la paroi cellulaire et induisent une cytolysse.

### II.2.1. Phage de la série T

Tous les phages de la série T possèdent un ADN linéaire bicaténaire et possèdent une structure avec « tête et queue ».

Les T pairs comme les T2, 4, 6 appartiennent à la famille des *Myoviridae*. A la place de la Cytosine il y a de l'Hydroxy-Méthyl-Cytosine dans leur génome. L'intérêt est que cela leur permet de résister aux enzymes de restriction lors de l'infection.

Les T impairs appartiennent à la famille des *Podoviridae*.

### II.2.2. Cycle lytique du phage T4

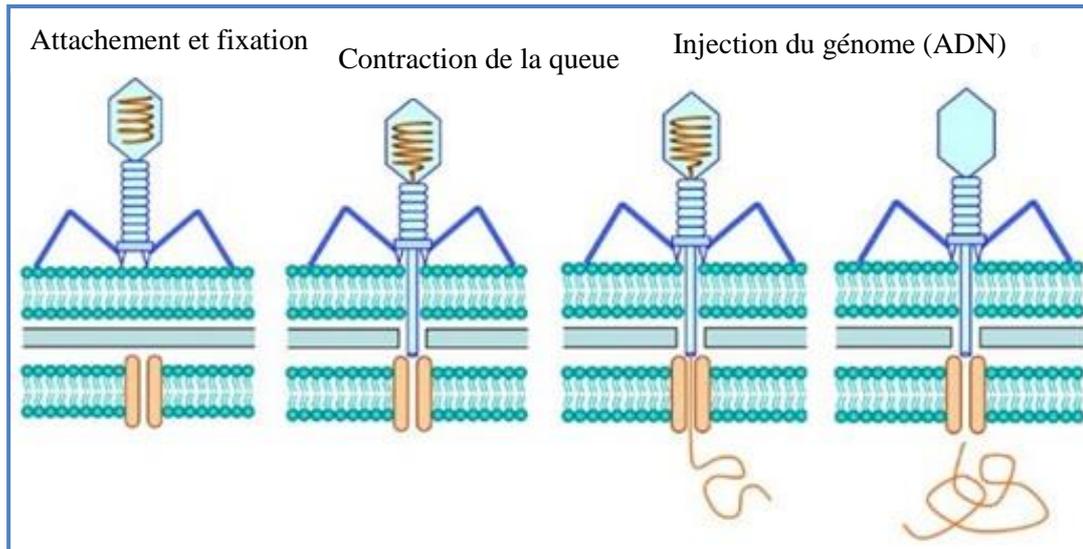
Le phage T4 développe un cycle strictement lytique d'environ 25 minutes lorsqu'il se déroule à 37°C chez *E. coli*. Les principales étapes sont schématisées en Figure II.3.

#### 1. Phase d'adsorption et de pénétration (Fig. II.2.)

- Attachement spécifique du récepteur bactérien par les adhésines du phage situées à l'extrémité de chacune des fibres longues.
- La fixation réversible au début, est assurée par l'intermédiaire des fibres caudales courte et de la plaque terminale, elle devient rapidement irréversible par modification des structures et formation des liaisons avec d'autre type de récepteur bactérien.
- Puis intervient le lysozyme situe dans la queue du phage (plaque terminale), il provoque une destruction du peptidoglycane et fragilise la paroi.
- La gaine caudale (queue) se contracte, la contraction déclenchée par les produits d'hydrolyse du peptidoglycane, le tube central rédige traverse la paroi fragilisée et percé la membrane.
- L'ADN db phagique présent dans la tête du phage transite dans le tube central creux et il est injecté dans le cytoplasme bactérien. Les enveloppes vides restent à l'extérieur (Fig.II.2.).

#### Remarque :

Lors d'une infection, la première priorité d'un phage va être de contrecarrer les stratégies bactériennes visant à stopper son développement. Par exemple, *E. coli* dispose de nombreuses enzymes de restrictions et est capable de produire de nombreuses nucléases, constituant une des défenses immunitaires contre la présence d'ADN étranger. Pour sa protection, le phage possède un génome dont la structure chimique très particulière constitue sa meilleure protection.



**Figure II.2.** Etapes précoces du cycle infectieux du phage T4.

## 2. Phase d'éclipse

Elle dure une dizaine de minutes (Fig. II.3).

- Après injection, il y aura synthèse des macromolécules du phage, tout comme lors des infections des cellules animales par les virus.
- Des ARNm précoces codent pour les protéines précoces qui sont nécessaires à la synthèse de l'ADN phagique, et des DNase phagique qui va dégrader le génome bactérien (environ 2 à 3 min après injection).
- Après que l'ADN du phage soit fabriqué, des ARNm et des protéines tardives sont fabriqués.
- Les protéines tardives sont les protéines structurales que contient le phage de même elles sont nécessaires à la lyse de la cellule bactérienne (Fig.II.3.).

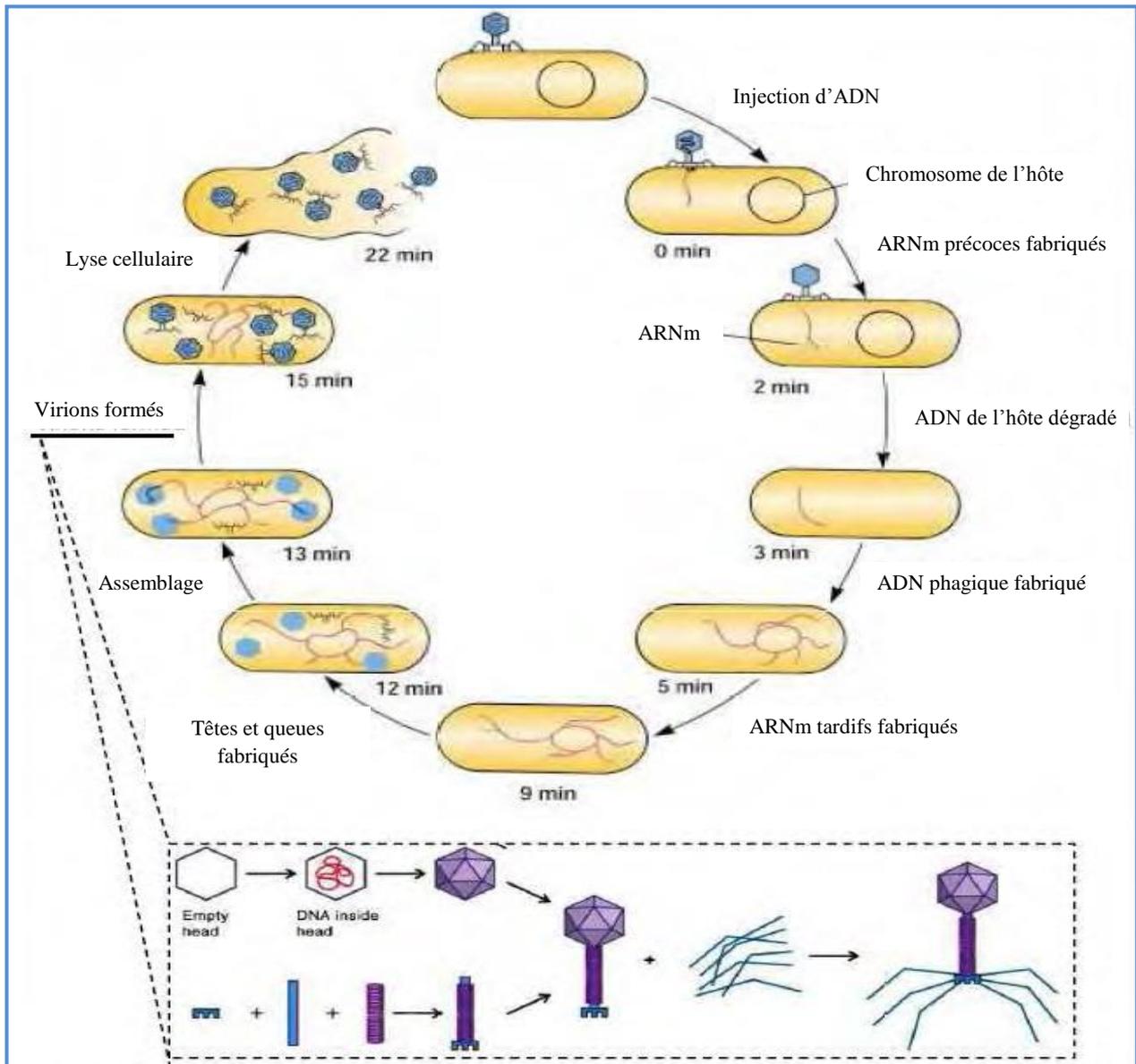
## 3. Phase d'assemblage et de maturation

- Entre 12 à 15 min, la nucléocapside se structure, l'ADN se condense et s'entoure d'éléments constitutifs de la capsidie puis il y a association de la queue construite séparément, il y a alors apparition de la particule virale = virions dans la bactérie.
- Dès que l'ADN est encapsidé il ne se réplique plus.

#### 4. Phase de lyse et de libération

-Après un moment, les bactéries commencent à se lyser à cause de l'accumulation de l'endolysine (protéines de lyse du phage) dans le cytoplasme bactérien.

- La bactérie éclate et libère plus de 300 phages à 25min.



**Figure II.3.** Cycle lytique du phage T4 en fonction du temps.

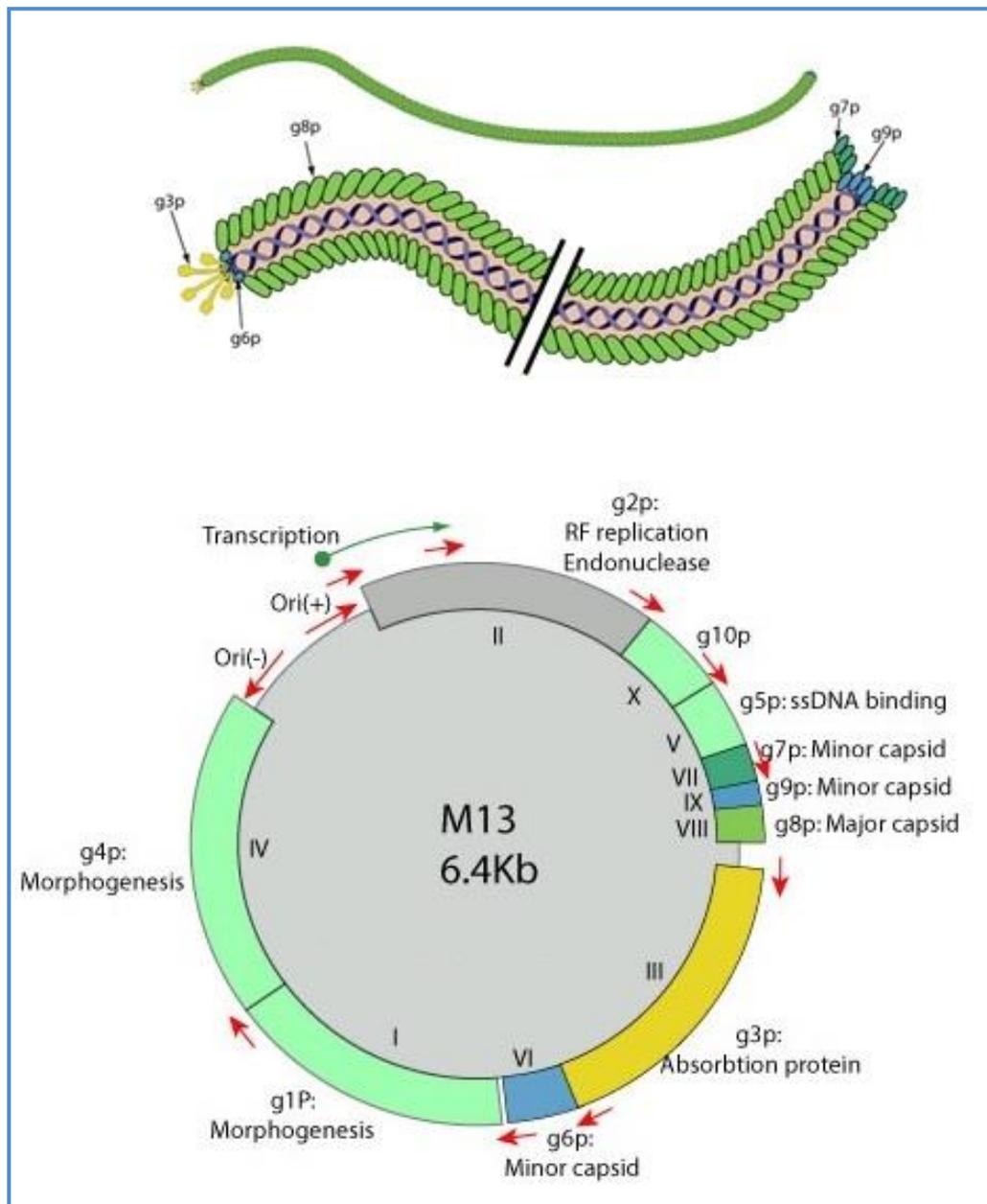
Les principales étapes du cycle infectieux et du développement de T4 sont représenté : de l'infection de l'hôte à la lyse cellulaire. Au-dessous du cycle est schématisé l'assemblage indépendant de la tête, queue, plaque basal et fibres caudales, qui ne seront associés qu'une fois l'ADN néo synthétisé encapsidé.

## II.3. Bactériophages à ADN ou à ARN simple brin

### II.3.1. Les phages à ADN simple brin

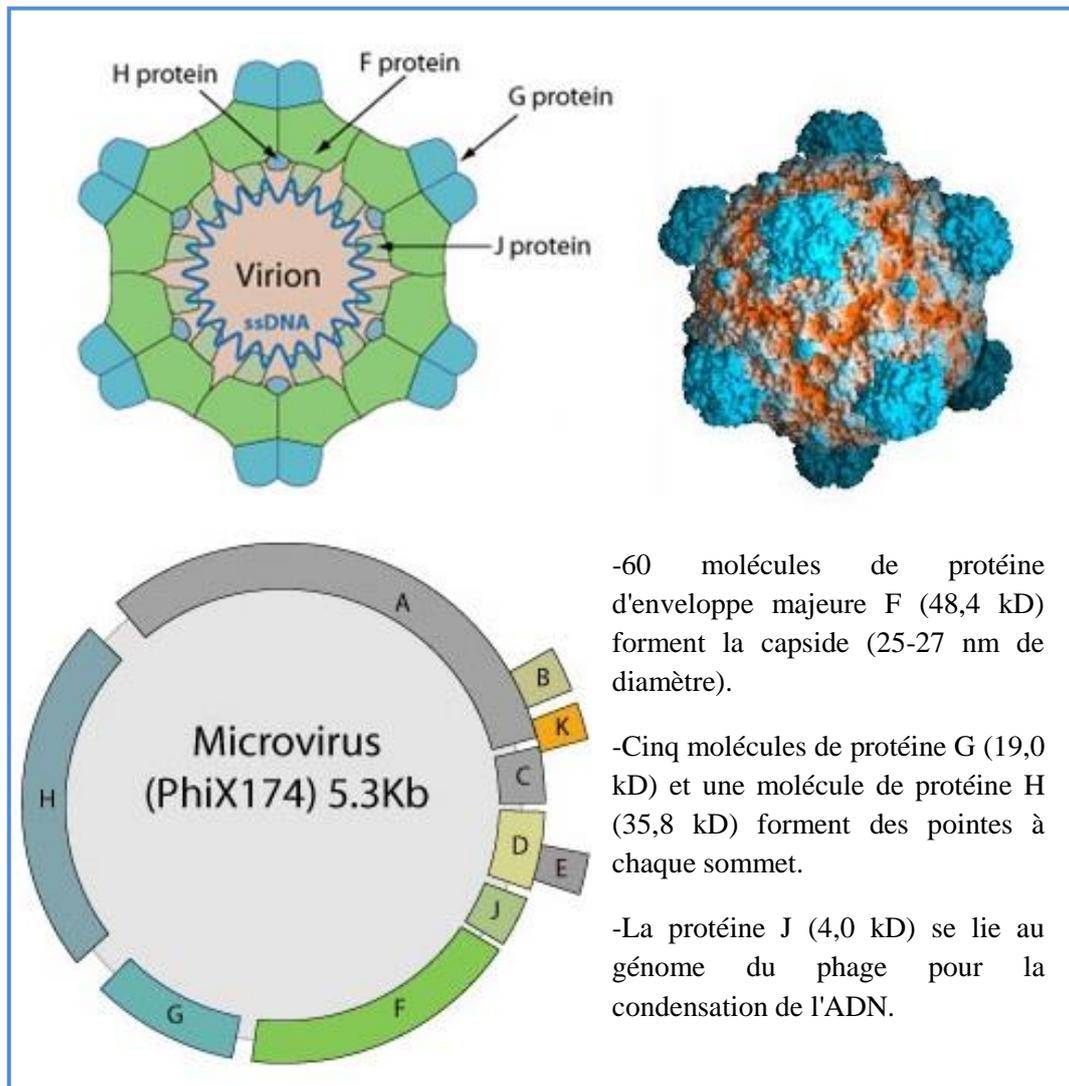
Ces virus appartiennent à deux familles :

- *Inoviridae*, ils ont une nucléocapside filamenteuse comme phage Fd, phage M13. Ces phages ne sont pas lytiques (très utilisés car ils sont facilement séquençable) (Fig. II.4.).



**Figure II.4.** Structure du phage M13

- *Microviridae*, ils ont une nucléocapside icosaedrique comme phage PhiX174. Ces phages sont très utilisés car ils sont facilement séquençable. Ces phages sont lytiques (Fig. II.5.). Génome circulaire, ADNsb (+) de 4,4 à 6,1 kb. La réplication se fait via un cercle intermédiaire et un cercle tournant.

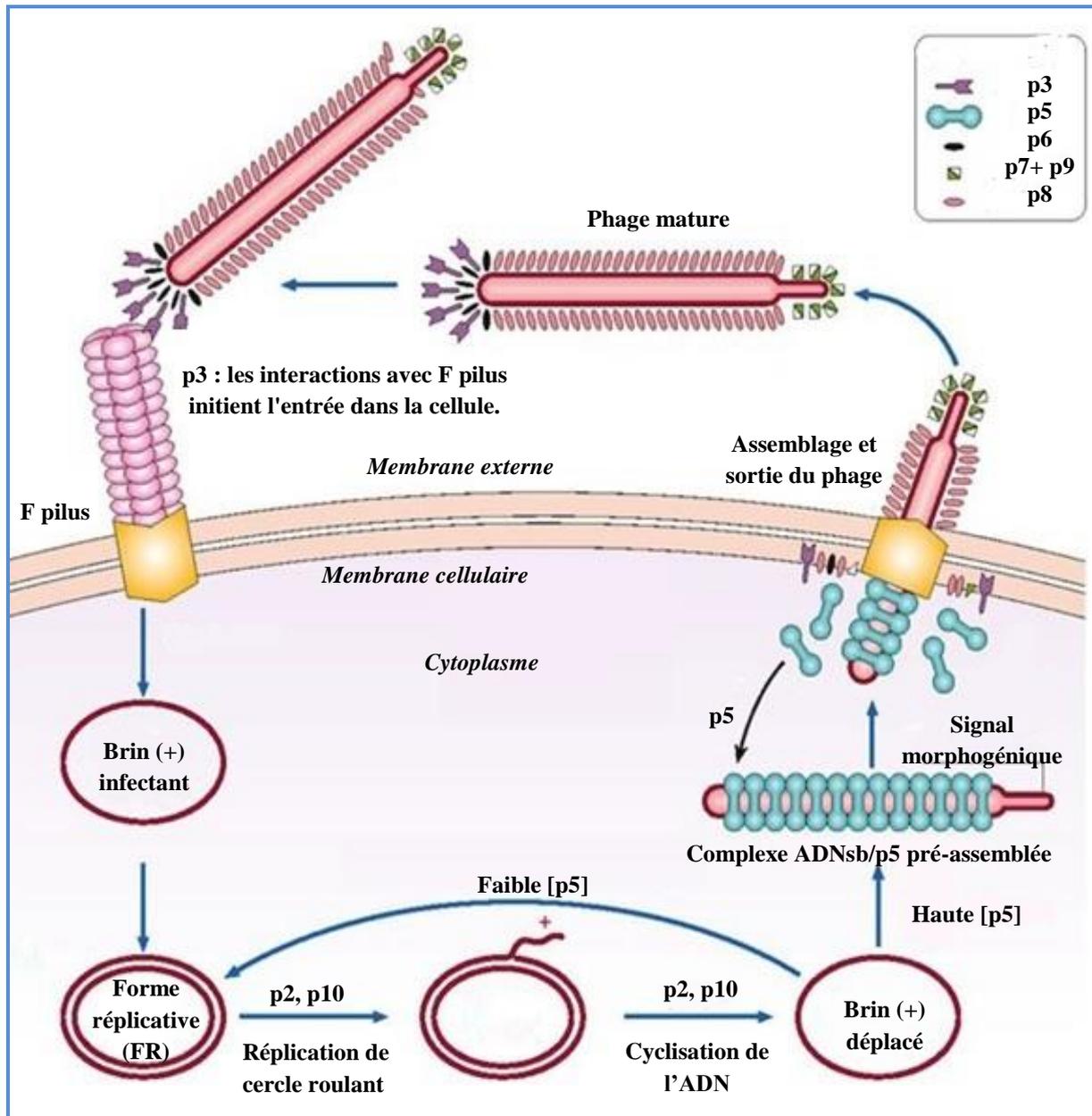


**Figure II.5.** Structure du phage PhiX174.

### II.3. 2. Cycle d'infection du phage M13

1. La protéine g3p virale intervient dans l'adsorption du virus par le pilus sur la cellule hôte. La rétraction du pilus tire le virion vers la membrane interne de l'hôte pour permettre une interaction ultérieure de g3p avec la protéine membranaire intégrale TolA (corécepteur) (Fig. II. 6.).

2. Les protéines de la capsidie réalisent l'injection de l'ADN viral à travers les membranes bactériennes dans le cytoplasme cellulaire.
3. La polymérase hôte convertit le génome viral (+) ADNsb en un ADNdb fermé par covalence, appelé ADN sous forme réplivative (RF).
4. La transcription de l'ADNdb par l'ARN polymérase de l'hôte donne naissance à des ARNm viraux.
5. Pseudonymes de la protéine g2p virale le brin d'ADN RF à l'origine de la réplification.
6. La réplification de brin (+) se fait par cercle tournant.
7. Les nouveaux génomes (+) ADNsb sont convertis en nouvelles molécules RF et la transcription se poursuit.
8. Lorsque suffisamment de protéine g5p est synthétisée, la conversion en ADNdb RF est inhibée, car le sADNs génomique néo-synthétisé est recouvert de g5p.
9. Les g5p sont remplacés par des protéines g8p pour déclencher l'assemblage de la capsidie virale.
10. Les nouveaux virions sont sécrétés par la cellule hôte.
11. Les cellules infectées continuent à se diviser et produisent des virions indéfiniment (Fig. II.6.).



### II.3.3. Cycle lytique du phage *PhiX174*

Les promoteurs de gènes précoces et tardifs régulent étroitement le moment de l'expression des gènes, ce qui est crucial pour le cycle de réplication (Figure II.7).

1. La particule virale se fixe à la cellule hôte en liant les lipopolysaccharides hôtes.
2. Les protéines de la capsid réalisent l'injection de l'ADN viral à travers les membranes bactériennes dans le cytoplasme cellulaire.

3. La polymérase hôte convertit le génome viral de (+) ADNsb en un ADNdb fermé par covalence, appelé forme répllicative ADN I (RF-I).
4. Les gènes viraux précoces sont transcrits par l'ARN polymérase de l'hôte, produisant des protéines de réplication virale.
5. La protéine virale A coupe le brin d'ADN RF-I (+) à l'origine de la réplication et se lie de manière covalente à l'ADN.
6. La réplication du brin (+) se produit par roulement, qui est converti en ADNdb par la polymérase hôte, générant des molécules RF-II (amplification de RF-I).
7. Les gènes viraux tardifs sont transcrits par l'ARN polymérase de l'hôte.
8. Assemblage de la procapside dans le cytoplasme.
9. La protéine C virale se lie au complexe de réplication, induisant la synthèse et le conditionnement des génomes néo-synthétisés (+) d'ADNsb (RF-III) en procapsides.
10. La maturation des procapsides se produit dans le cytoplasme de l'hôte.
11. Les virions matures sont libérés de la cellule par lyse, la protéine E est produite par phiX174 lui permet de décomposer la membrane cellulaire d'*E. coli* provoquant la lyse cellulaire (Fig. II.7.).

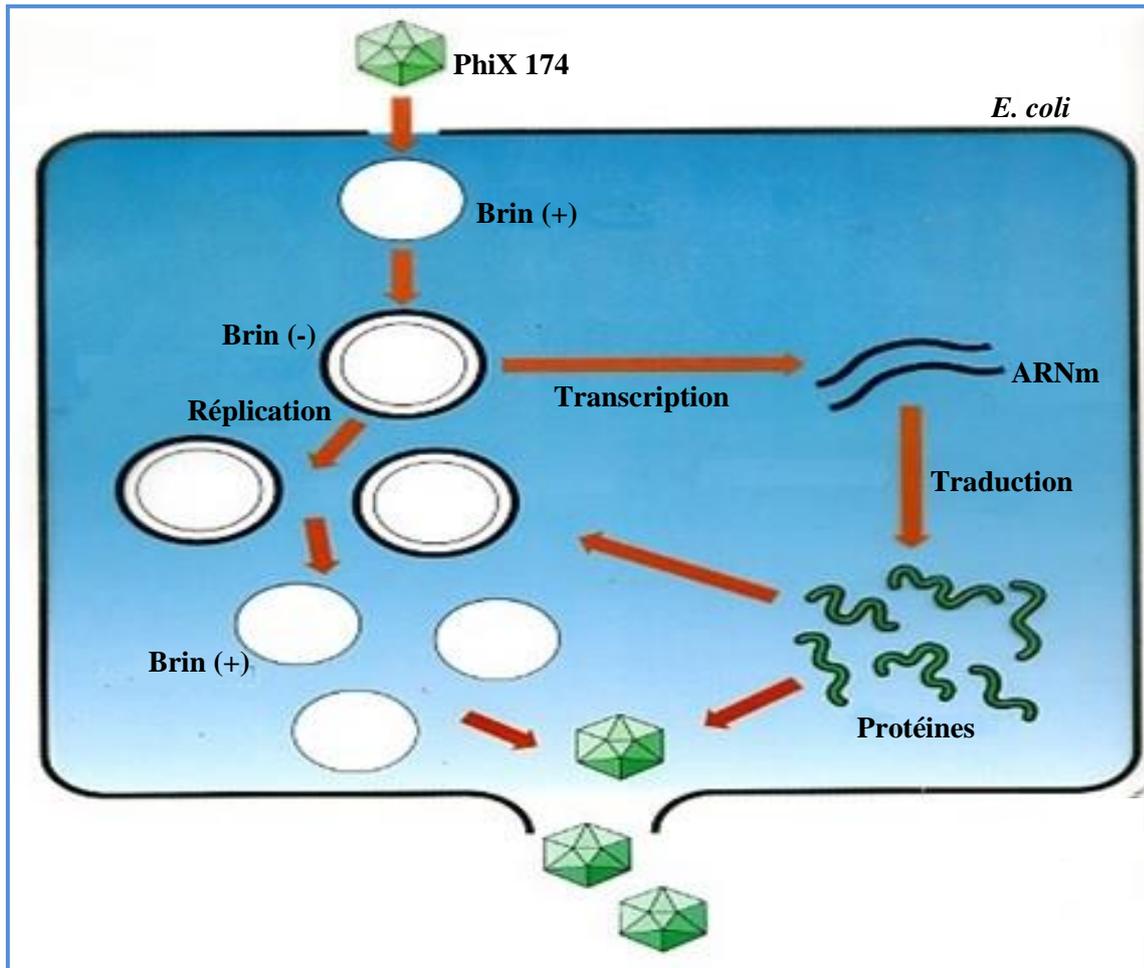


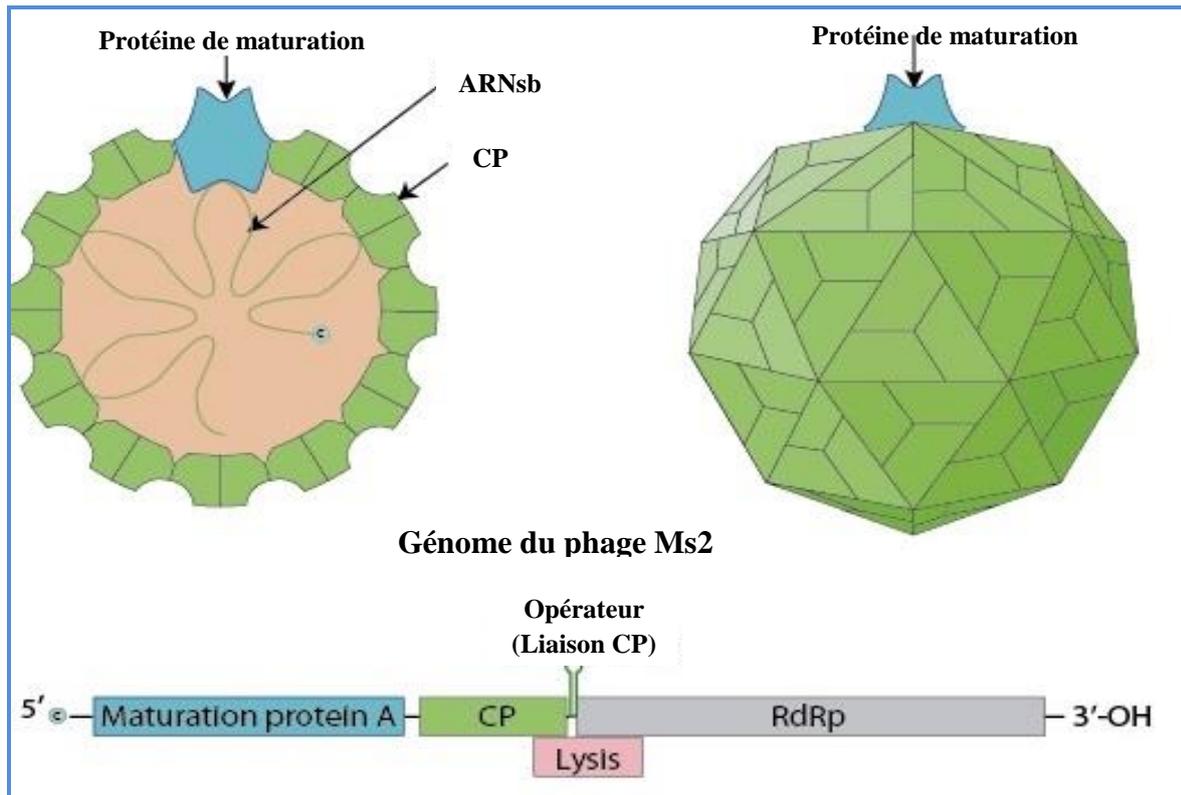
Figure II.7. Cycle d'infection du phage PhiX174.

### II.3.4. Les phages lytiques à ARN simple brin

Ils appartiennent à la famille des *Leviviridae*. Ce sont des virus non enveloppés qui possèdent une capsidie icosaédrique comme le phage Q $\beta$ , Ms2. Ils servent de modèles pour la traduction de l'ARN (Fig. II.8.).

Génome d'ARNs (+) linéaire, monopartite (non segmenté), d'une taille d'environ 3,4 à 4,3 kb, codant quatre protéines.

Ces bactériophages à ADN ou à ARN simple brin utilisent des pili sexuels ou F-pili comme chez les entérobactéries telles qu'*Escherichia coli* pour se fixer à la cellule hôte et pour leur répllication. A l'exception des *Microviridae* qui utilisent les LPS bactérienne pour se fixer.



**Figure II.8.** Structure du phage Ms2

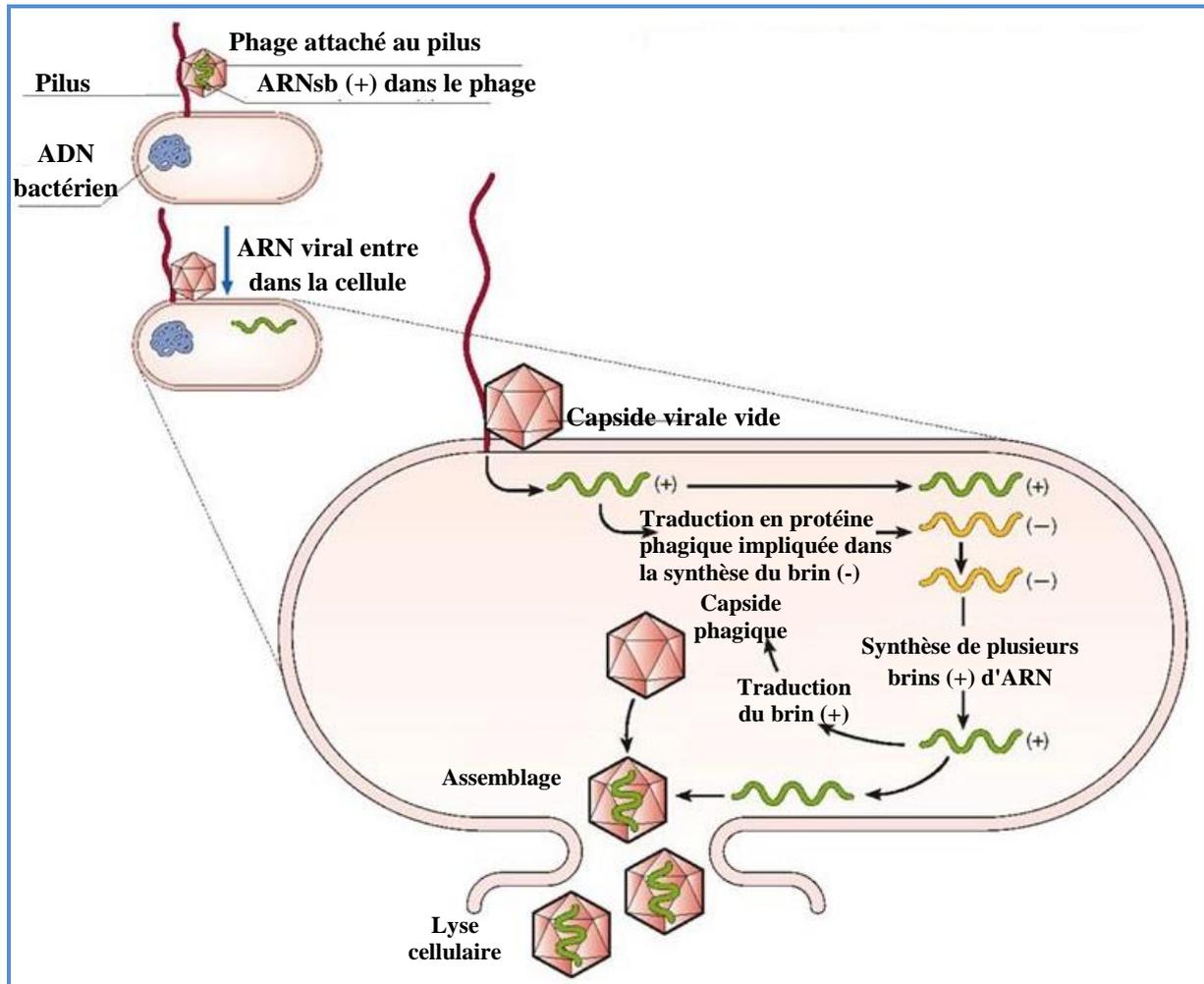
Les pili sont des filaments protéiques rétractiles atteignant 20 micromètres de long qui dépassent des bactéries à Gram négatif. Certains bactériophages à ARN et à ADN utilisent des pili pour se fixer à la cellule hôte.

### II.3. 5. Cycle lytique du phage Ms2

L'ARN du virion est infectieux et sert à la fois d'ARN génomique et d'ARN messager viral (Fig. II.9.).

1. L'adsorption sur les pili F des cellules cibles induit le clivage et la libération de la protéine de maturation.
2. L'ARN génomique pénètre dans la bactérie.
3. Les protéines virales sont traduites.
4. La réplicase virale s'assemble avec les protéines de l'hôte (protéine ribosomale S1, facteurs d'élongation de la traduction EF-Tu et EF-Ts) pour former l'ARN polymérase active.

5. Réplication de l'ARN génomique dans un brin moins, qui sert de matrice pour produire de nouveaux génomes de brin positif.
6. En fin d'infection, la protéine CP se lie à une épingle à cheveux d'ARN sur le génome et de nouvelles particules virales sont assemblées dans le cytoplasme.
7. Libération par lyse cellulaire.



**Figure II.9.** Cycle lytique du phage Ms2.

### II.3.6. Lyse par inhibition de la biosynthèse de la paroi cellulaire

*Microviridae* et *Leviviridae* effectuent la lyse de l'hôte bactérien en exprimant les inhibiteurs de la biosynthèse de la paroi cellulaire. Une seule protéine inhibe la régénération de la paroi cellulaire, ce qui induit des ruptures dans la paroi. La cellule perd alors sa paroi pour devenir un protoplaste, qui est à son tour lysé par la pression osmotique.

## II.4. Bactériophages tempérés ou lysogéniques

### II.4.1. Caractéristiques des phages tempérés

Le phage virulent conduit toujours à la mort cellulaire après infection, mais les phages tempérés ou lysogéniques sont ceux qui peuvent :

- \* Soit entraîner un cycle complet de multiplication, avec lyse des bactéries
- \* Soit intégrer leur ADN dans le chromosome bactérien : la bactérie ne meurt pas et elle réplique le génome phagique en même temps que son propre génome : elle est dite **lysogène** (Une bactérie **lysogène** est une bactérie qui possède et transmet à sa descendance le pouvoir de produire des phages en l'absence d'infection).

Le plus étudié est le phage Lambda ( $\lambda$ ) notamment pour les clonages, autres : phage P1, P22, P5 et phage Mu.

L'ADN phagique intégré au chromosome bactérien est appelé **prophage**.

Les bactéries lysogènes sont immunes vis-à-vis du phage qu'elles portent : lors de la réinfection, le phage s'adsorbe, injecte son ADN, mais celui-ci ne peut se répliquer ni provoquer la lyse cellulaire.

La **lysogénie**, type de cycle de vie qui se produit lorsqu'un phage infecte certains types de bactéries. Le prophage dans la cellule infectée subit des réplifications en même temps que le reste du génome bactérien et transmis aux cellules filles (c'est le **cycle lysogénique**). Aucun virus de descendance n'est produit. (Fig. II.12.). Suite à certains événements d'induction, tels que la lumière ultraviolette, le virus entre dans un cycle lytique dans lequel son génome est excisé du chromosome bactérien et commence à se multiplier, formant ainsi de nouveaux virus descendants.

### II.4.2. Le phage Lambda ( $\lambda$ )

Le phage prototype, il s'agit d'un phage qui infecte *E. coli* K12 (Fig. II.10.)

Le phage  $\lambda$  appartient à la famille *Siphoviridae*, La structure est "tête et queue", ADN db, l'expression du phage est réprimée.

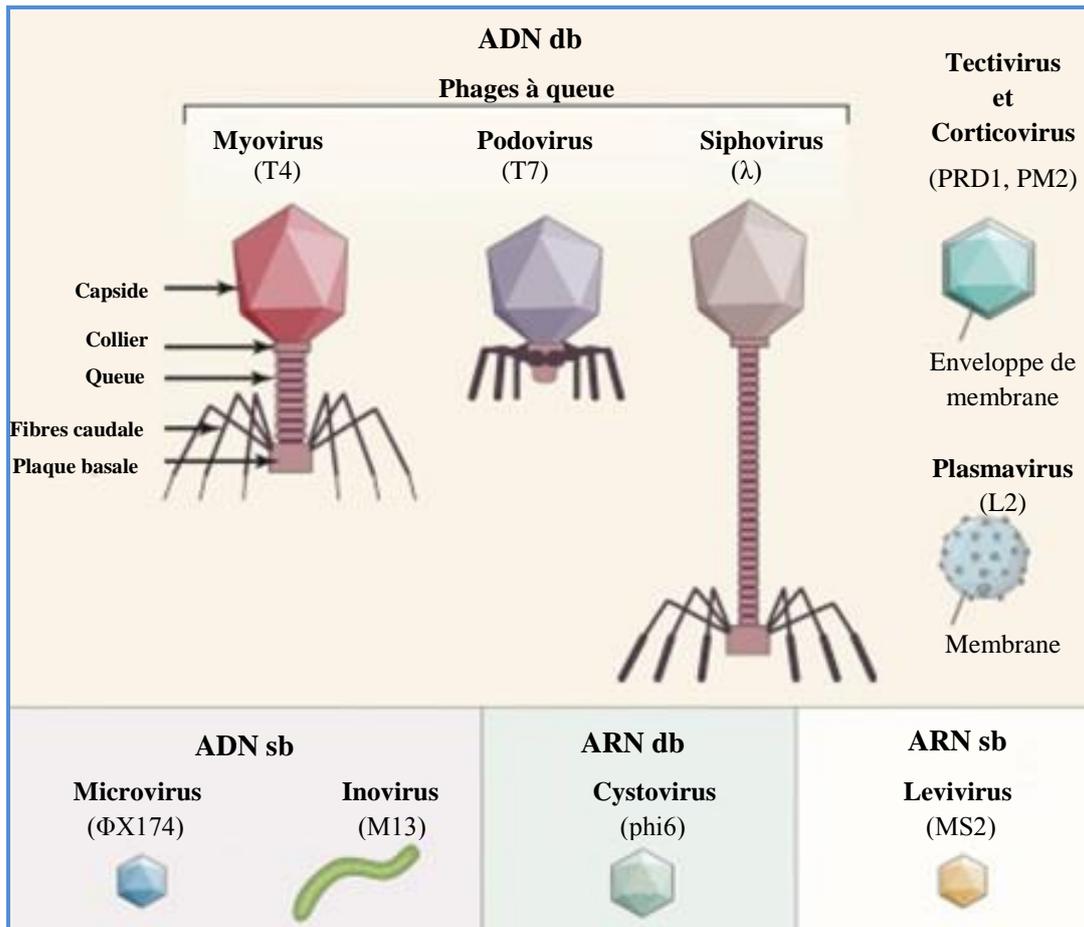


Figure II.10. Exemple des phages

### - Carte génétique

L'ADN double brin du bactériophage contient 48 502 paires de nucléotides qui codent 50 à 60 protéines différentes.

Le passage de la forme linéaire (dans la particule phagique libre) à la forme circulaire (dans l'ADN après injection dans la cellule hôte) est dû à la présence aux extrémités de la molécule linéaire de bouts collants de 12 nucléotides (les extrémités cos).

Dans ce génome se trouve une région où l'on n'a jamais identifié ni mutants ni gènes, c'est la région non essentielle b2. Elle est immédiatement suivie par les gènes nécessaires pour la lysogénie mais pas pour le cycle lytique. L'ensemble fait à peu près 10 kbp (Fig. II.11.).

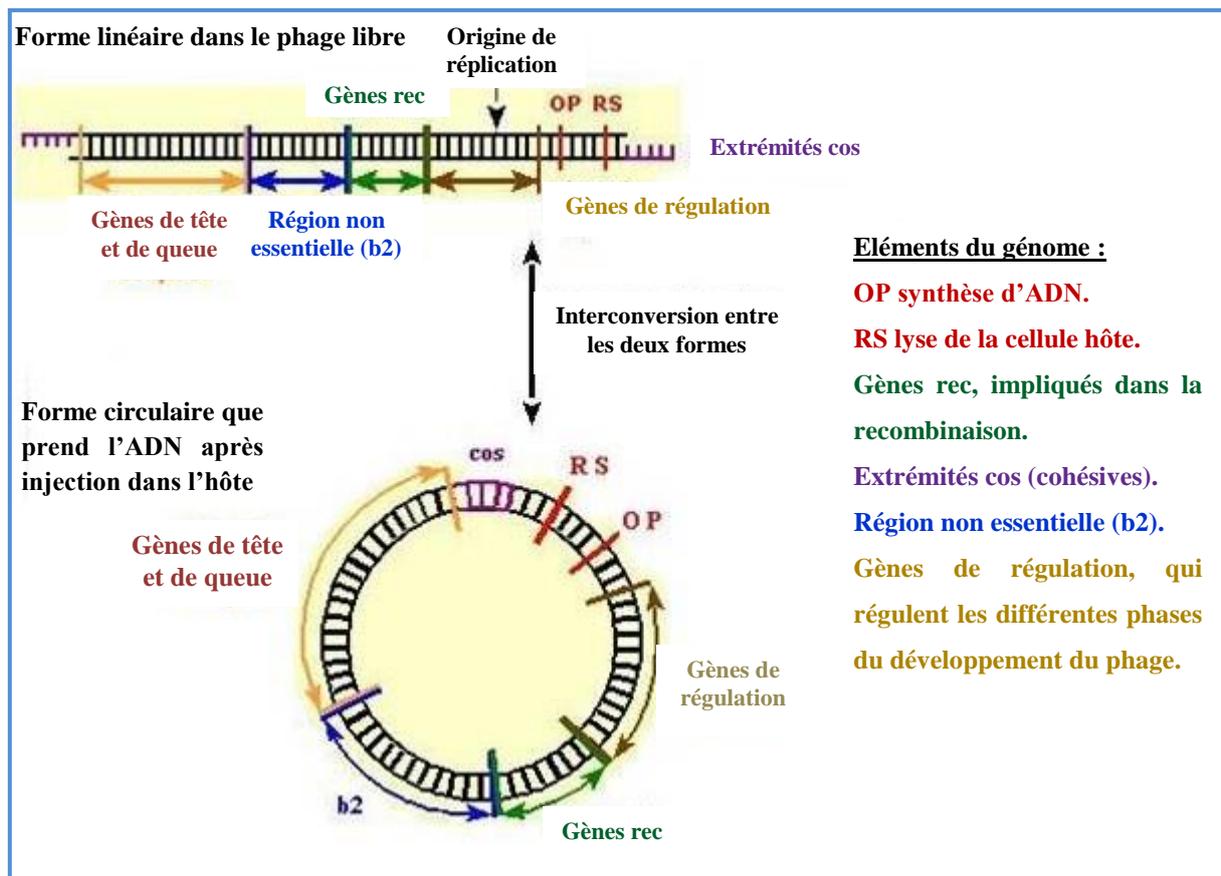


Figure II.11. Carte génétique du bactériophage  $\lambda$ .

#### II.4.2. Cycle de vie du bactériophage $\lambda$

Après infection par le phage  $\lambda$ , la voie suivie dépend du dosage de plusieurs facteurs de régulation codés par le génome phagique dans les stades précoces de l'infection.

La décision du phage Lambda d'entrer dans un cycle lytique ou lysogénique quand il entre pour la première fois dans une cellule est déterminé par la concentration intracellulaire en protéine répresseur et en une autre protéine du phage appelée Cro.

La protéine Cro inhibe la synthèse de répresseur et ainsi prévient l'établissement de la lysogénie. Les conditions environnementales qui favorisent la production de Cro vont mener au cycle lytique alors que celles qui favorisent la production de répresseur vont mener à la lysogénie (Fig. II.12.).

**a. Cycle lytique du phage lamda ( $\lambda$ )**

Il débute comme le phage T2. Quand le génome est injecté, il se circularise et il débute sa transcription. Dans la phase lytique, il y a augmentation du régulateur Cro, il bloque alors les protéines qui activent la lysogénie (rétrocontrôle +).

Le phage produit alors des ARNm longs et donc fabrique sa tête et sa queue puis la libération des nouveaux virions par la lyse cellulaire (Fig. II.12.).

**b. Cycle lysogène du phage  $\lambda$** 

Pour qu'il soit induit il faut réprimer les gènes tardifs, qui codent pour la tête et la queue et activer les gènes de recombinaison. La protéine régulatrice est CI. Par un système de régulation génique, CI s'exprime et augmente ce qui inhibe les gènes tardifs. Il y a alors activation du cycle lysogène ou le génome viral s'intègre au génome bactérien (Fig. II.12.).

Pour sortir de cette phase lysogène il faut que la bactérie hôte subisse "un stress" (rayons X, UV, agent mutagène,...) alors le phage devient productif -> cycle lytique.

La sortie de cette phase lysogène (phase naturelle du phage) se fait par Rec A (protéine bactérienne) qui est produit en cas de stress (Rec A hydrolyse CI ce qui induit le cycle lytique).

**❖ Effets du prophage sur les fonctions de l'hôte**

Certains prophages changent le phénotype de la cellule car ils apportent des gènes qui vont exprimer de nouvelles fonctions : c'est la **conversion lysogénique**.

Exemple 1 : modification des antigènes de surface de certaines souches (antigène O de *Salmonella*).

Exemple 2 : production de toxines (cas de *Corynebacterium diphtheriae*)

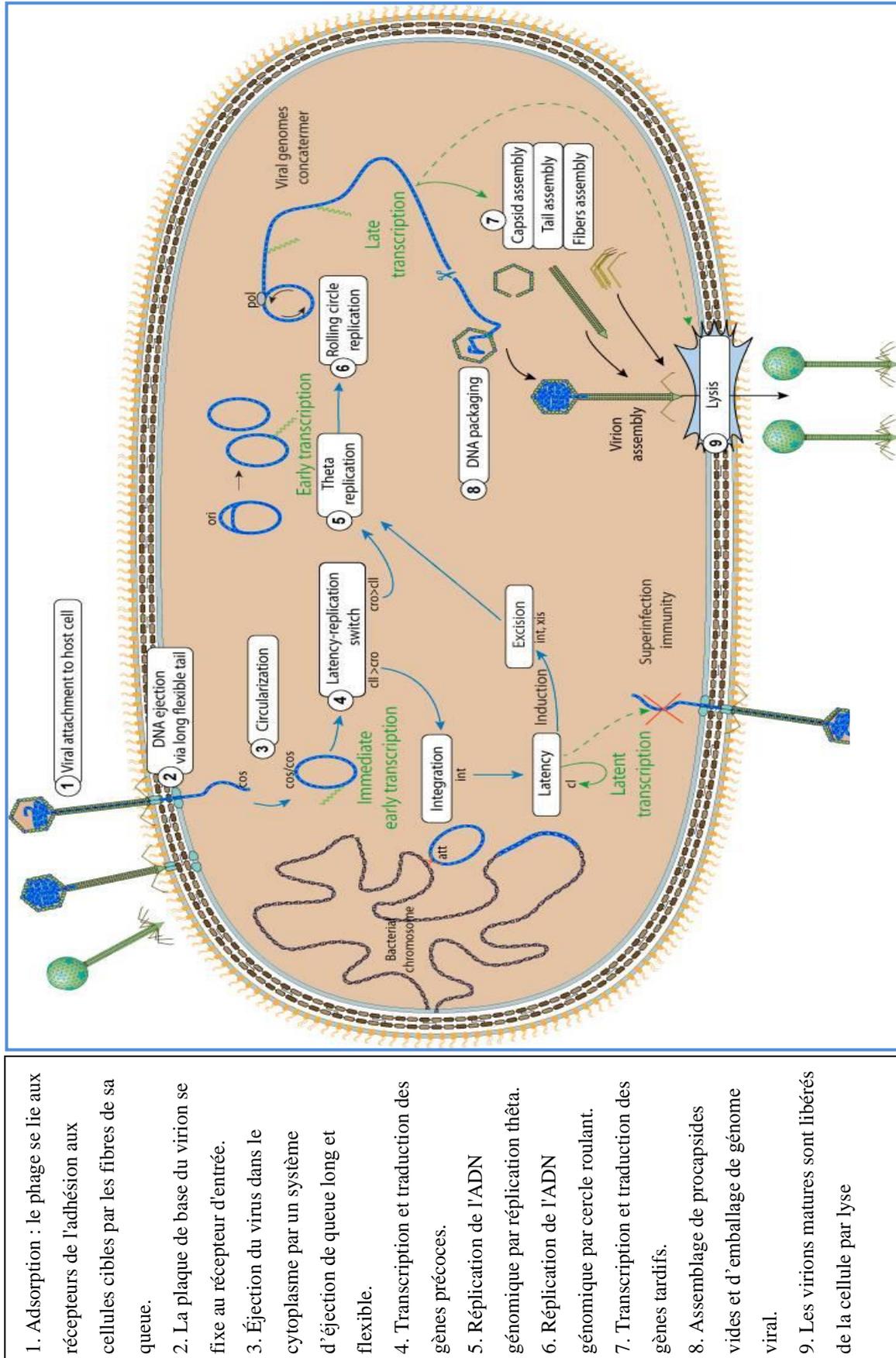


Figure II. 12. Cycle de vie du bactériophage  $\lambda$

1. Adsorption : le phage se lie aux récepteurs de l'adhésion aux cellules cibles par les fibres de sa queue.
2. La plaque de base du virion se fixe au récepteur d'entrée.
3. Éjection du virus dans le cytoplasme par un système d'éjection de queue long et flexible.
4. Transcription et traduction des gènes précoces.
5. Réplication de l'ADN génomique par réplication théta.
6. Réplication de l'ADN génomique par cercle roulant.
7. Transcription et traduction des gènes tardifs.
8. Assemblage de procapsides vides et d'emballage de génome viral.
9. Les virions matures sont libérés de la cellule par lyse

## II.5. Les Bactériophages et leur rôle dans l'évolution procaryotique

### II.5.1. Les phages comme moteur de l'évolution bactérienne

Les phages constituent une partie importante du patrimoine génomique de la bactérie. D'un point de vue évolutif, l'intégration de prophages et leur maintien dans le génome bactérien impliquent un certain nombre de considérations. D'un côté, les phages représentent un danger permanent pour la bactérie, pouvant être induits et lyser l'hôte. D'un autre côté, ces mêmes virus peuvent apporter de nombreux avantages sélectifs à la bactérie qu'ils infectent. Le génome des phages peut apporter des gènes non essentiels à l'hôte, mais augmentant la compétitivité et l'adaptabilité de cet hôte dans une niche écologique déterminée. Ces gènes peuvent être de nature très variée et conférer à l'hôte des caractéristiques bien définies, comme par exemple :

- La résistance à des antibiotiques ou métaux lourds,
- La production de toxines,
- Des pili améliorant l'invasion de l'hôte et les gènes de virulence associés,
- Des systèmes de sécrétion,
- Des facteurs de résistance au système immunitaire, notamment aux macrophages,
- L'immunité contre l'infection par d'autres phages.

De telles fonctions ne servent pas, a priori, au développement du phage, mais confèrent un avantage sélectif favorisant le maintien du prophage. C'est ce qu'on appelle la **conversion lysogénique** de l'hôte.

La biologie moléculaire, ainsi que les récentes méthodes d'analyse des génomes, ont vite permis d'établir un lien entre l'acquisition de prophages et l'émergence de nouveaux pathogènes. Les exemples qui suivent illustrent de façon notoire ce chapitre de l'évolution bactérienne.

**a. L'entéropathogène *E. coli* O157 :H7**

La majorité des souches *E. coli* trouvées dans l'intestin des mammifères sont inoffensives, alors que certains sérotypes sont des pathogènes pouvant causer des affections graves chez l'humain. Le meilleur exemple est *E. coli* O157: H7, responsable de diarrhées et de colites hémorragiques et, dans les cas les plus sévères, du syndrome hémolytique et urémique (SHU) conduisant à la défaillance rénale. La virulence de la souche O157: H7 est essentiellement due à la présence de deux phages, Stx1 et Stx2, codant pour les toxines qui sont à l'origine des symptômes. Ces toxines, mieux connues sous le nom de « Shiga toxines » car initialement identifiées chez le genre *Shigella*, sont des inhibiteurs puissants de la synthèse de protéines.

**b. La virulence des staphylocoques dorés**

La plupart des souches *Staphylocoques dorés* isolées dans les hôpitaux résistent aux antibiotiques les plus puissants (vancomycine et méthicilline).

Ces résistances sont en général acquises par le biais d'éléments génétiques mobiles et sont le plus souvent accompagnées d'un ensemble de gènes de virulence. De nombreuses toxines sont encodées par des phages et valent à *S. aureus* son efficacité d'invasion de l'hôte.

Ainsi, la Leucocidine Panton-Valentine (PVL) cause des nécroses de la peau et muqueuses qui s'insèrent dans la membrane des cellules immunitaires (globules blancs, macrophages, monocytes), causant leur lyse rapide.

D'autres exemples de toxines codées par des phages sont les nombreuses entérotoxines et les superantigènes responsables des symptômes d'intoxication alimentaire ou bien encore la staphylokinase qui permet à *S. aureus* d'échapper au système immunitaire.

La diversité de *S. aureus* et de ses toxines associées rend la prévention et le traitement des infections particulièrement difficile, et présente de sérieux défis à vaincre dans les milieux cliniques.

**II.5.2. Les phages en tant qu'agents antibactériens**

Félix d'Hérelle fut parmi les premiers à réaliser le potentiel des phages dans le traitement des infections bactériennes chez l'humain. En 1933, il co-fonda avec George Eliava en République soviétique de Géorgie (aujourd'hui, la République de Géorgie) un institut de

recherche entièrement dédié aux phages. On y guérit jusqu'à ce jour de nombreuses infections ayant résisté aux antibiotiques les plus puissants.

Le traitement par les phages, aussi connu sous le nom de phagothérapie, est une voie prometteuse dans la lutte contre les bactéries pathogènes en médecine humaine et vétérinaire.

Toutefois, des réticences, comme l'éventuelle sélection de bactéries résistantes ou encore la réponse immunitaire associée au traitement par des virus, ont ralenti la mise en route d'essais cliniques. Une solution au problème est offerte en traitant les infections par un mélange de différents phages ciblant la même espèce bactérienne.

Ceci permet de réduire la probabilité de sélection de pathogènes résistants. Aussi, des composants isolés du phage, tels que les enzymes lytiques qui détruisent l'hôte, sont actuellement déjà utilisés et ont un pouvoir immunogène très limité.

Les organismes régulateurs insistent sur la nécessité de séquencer les phages destinés à la thérapie, ainsi que sur la bonne connaissance de leur mode de propagation. Ils doivent en effet être virulents et dépourvus de gènes ayant un quelconque rôle autre que la destruction de l'hôte. Etant donné l'émergence permanente de nouvelles souches multi-résistantes, la phagothérapie est une prometteuse alternative aux antibiotiques qui ne suffisent plus, à eux seuls, à combattre les infections.

### **II.5.3. Utilisation des bactériophages à des fins thérapeutiques (phagothérapie)**

L'utilisation thérapeutique des bactériophages présente des avantages et des limites. Compte tenu de la rapidité de leur multiplication et du nombre de clones issus de chaque cycle lytique, il est logique d'attendre de la phagothérapie une bactéricidie intense et rapide.

Celle-ci est plus rapide que celle obtenue par les antibiotiques. Elle sera d'autant plus importante que les populations bactériennes sont élevées, à la différence des antibiotiques. Du fait de la spécificité des phages pour une espèce bactérienne donnée, la pression de sélection est sans doute réduite et leur impact sur les écosystèmes sera, en principe, limité. Par ailleurs, la résistance bactérienne aux phages est connue comme rare *in vivo* et surtout particulièrement labile. L'efficacité du produit à usage thérapeutique est ainsi espérée comme stable dans le temps. Dans la mesure où notre organisme héberge des phages, il n'y a pas de raison pour que

la tolérance des solutions de phages à usage thérapeutique soit mauvaise, et l'expérience de plus de 80 ans d'utilisation en Géorgie nous renforce dans cette conviction.

### ***Limites de la phagothérapie***

\*Dans la mesure où leur cible est la bactérie, il ne faut en espérer aucun bénéfice sur les infections fongiques, parasitaires et virales.

\*Leur application chez l'homme paraît limitée aux seules infections où le bactériophage peut être amené au contact de la bactérie. Tout ce qui nécessite l'injection de phages (septicémies, infections parenchymateuses) paraît voué à l'échec puisque les phages seront en principe détruits par le système immunitaire. De la même manière il ne faut en attendre aucun bénéfice sur les infections produites par des bactéries intracellulaires (tuberculose, légionellose).

\*Plus préoccupant est l'absence de cadre réglementaire quant à l'usage de la phagothérapie. Les bactériophages n'existent pas aux yeux du législateur : ce ne sont ni des médicaments, ni des organes, ni des tissus, ni des vaccins, ni des dispositifs médicaux. Ils ne sont pas reconnus par les autorités de tutelle, et ne seront donc pas remboursés par les assurances de santé. On n'a théoriquement pas le droit de les utiliser...mais rien ne nous interdit de le faire.

\*Les solutions à usage thérapeutique peuvent théoriquement constituer un vecteur potentiel de gènes. Ces solutions à usage thérapeutique ne doivent en effet contenir que des phages lytiques et jamais de phages tempérés. Il est vraisemblablement prudent de n'utiliser, à des fins thérapeutiques, que des phages naturels et d'éviter de tenter d'utiliser des phages génétiquement modifiés (si tant est qu'il en existe).

\*Dans la mesure où les produits destinés à la phagothérapie ne contiennent que des phages naturels, ceux-ci seront impossibles à protéger par un brevet, puisqu'inventés par la nature. Pour une firme pharmaceutique ou une société commerciale, le retour sur investissement est sans doute difficilement garanti.

### ***Facteurs-clé de succès***

Pour se prémunir contre l'apparition de résistances (même si celles-ci ne semblent pas aussi problématiques qu'avec les antibiotiques) et garantir une efficacité thérapeutique optimale, il est recommandé que le produit contienne au moins 3 phages différents actifs sur la souche

bactérienne à traiter. Le titre de la solution doit également s'avérer suffisant, c'est-à-dire dépasser le seuil de  $10^5$  PFU/ml (pFU = phages formant unité).

Les préparations à usage thérapeutique doivent respecter un certain nombre de bonnes pratiques (bonnes pratiques de laboratoire, bonnes pratiques pharmaceutiques) et notamment ne contenir ni pyrogènes, ni cytokines, ni endotoxines... ni phages tempérés.

Les phages doivent être administrés au contact de la bactérie (application directe, pulvérisation, aérosols...). Pour les produits destinés à traiter les infections bactériennes du tube digestif, il faut ainsi préserver le produit du contact avec le pH acide de l'estomac et donc soit modifier le pH gastrique, soit utiliser des vecteurs qui ne libèrent les phages qu'après le passage de la cavité gastrique.

**Liste des exposés pour les séances des travaux dirigés**

<b>N°</b>	<b>Thème</b>
<b>01</b>	Méthodes d'études des virus (culture, dénombrement et identification)
<b>02</b>	Application des virus en biotechnologie
<b>03</b>	Adénovirus
<b>04</b>	Papillomavirus
<b>05</b>	Herpes
<b>06</b>	Virus de la grippe
<b>07</b>	Coronavirus
<b>08</b>	Virus Ebola
<b>09</b>	Poliovirus
<b>10</b>	HIV-1 et SIDA
<b>11</b>	Virus du sarcome aviaire
<b>12</b>	Virus de l'Hépatite B
<b>13</b>	Transformation cellulaire et tumorigénèse par des virus ADN ou des rétrovirus
<b>14</b>	Les agents transmissibles non conventionnels : Prions et viroïdes
<b>15</b>	Tobamovirus : virus de la mosaïque de la tomate
<b>16</b>	Maladies virales de la pomme de terre : Potyvirus : virus Y de la pomme de terre
<b>17</b>	Virus de la tristeza des agrumes : Citrus Tristeza Virus

- Bragard Claude, Ruelle Jean et Michiels Thomas.2016.** Initiation à la virologie. UCLouvain - Université catholique de Louvain. <https://www.virologie-uclouvain.be> [Consulter le 08/2020].
- Brié Adrien. 2017.** Étude des propriétés de surface du bactériophage MS2 et du norovirus murin au cours de différents traitements d'inactivation. Université de Lorraine.
- Bouzeghoub Salima. 2016.** Les virus : définition, structure et classification. [https://cours-examens.org/images/An\\_2016\\_1/Etude%20Superieures/Medecine/Alger/Microbio2/Les\\_virus\\_definition\\_structure\\_classification.pdf](https://cours-examens.org/images/An_2016_1/Etude%20Superieures/Medecine/Alger/Microbio2/Les_virus_definition_structure_classification.pdf) [Consulter le 08/2020].
- Boyer Mickaël, Madoui Mohammed-Amine, Gimenez Gregory, et al. 2010.** Phylogenetic and phyletic studies of informational genes in genomes highlight existence of a 4th domain of life including giant viruses. PLoS One.5 (12): e15530.
- Cann Alan J. 2001.** Principles of Molecular Virology (Standard Edition). Academic press.
- Coddeville Michele. 2006.** Le module de lysogénie du bactériophage mv4 de *Lactobacillus delbrueckii* : le commutateur génétique et le contrôle directionnel de la recombinaison spécifique de site. Université de Toulouse, Université Toulouse III-Paul Sabatier.
- Dimmock Nigel J., Easton Andrew J. et Leppard Keith N. 2016.** Introduction to modern virology. John Wiley & Sons.
- Drouji Sliman. 2009.** Mise au point des bactériophages : caractéristiques et applications. Thèse de Doctorat. Faculté de Médecine et de pharmacie Rabat.
- Carter John, Saunders Venetia, et Saunders Venetia A. 2007.** Virology: principles and applications. John Wiley & Sons.
- Gandon Sylvain. 2016.** Why be temperate: lessons from bacteriophage  $\lambda$ . Trends in microbiology. 24(5) : 356-365.
- Jacob François et Wollman E. L. 1954.** Etude génétique d'un bactériophage tempéré d'*Escherichia coli*. 1. Le système génétique du bactériophage. In Annales de l'Institut Pasteur. 87(6) : 653-673.
- Jean-Marie Huraux, Henri Agut, Anne-Marie Fillet, Vincent Calvez, Vincent Thibault, Agnès Gautheret-Dejean, Anne-Geneviève Marcelin et Claire Deback. 2008.** Virologie. Niveau DCEM1. Faculté de Médecine Pierre et Marie Curie. Université Pierre et Marie Curie. France. 29-39.
- Kortright Kaitlyn E., Chan Benjamin K., Koff Jonathan L. et al. 2019.** Phage therapy: a renewed approach to combat antibiotic-resistant bacteria. Cell host & microbe. 25(2): 219-232.
- Lin Derek M., Koskella B. et Lin Henry C. 2017.** Phage therapy: An alternative to antibiotics in the age of multi-drug resistance. World journal of gastrointestinal pharmacology and therapeutics. 8(3): 162.
- Malik Danish J., Sokolov Ilya J., Vinner Gurinder K. et al. 2017.** Formulation, stabilisation and encapsulation of bacteriophage for phage therapy. Advances in colloid and interface science. 249: 100-133.

- Michel Alix Cavalié. 2010.** La coévolution antagoniste bactérie - bactériophage : contraintes génétiques appliquées au modèle expérimental *Escherichia coli*-PhiX174. Université Pierre et Marie Curie - Paris VI.
- Michel Dubois.** Définition des virus : Les virus biologiques. On the <http://vaccin.sourceforge.net/docs/definition1.html> [Consulter le 08/2020].
- Muriel Delaunay.** Les virus : structure, classification, multiplication, phylogénie, évolution. On the: <https://fr.readkong.com/page/les-virus-structure-classification-multiplication-5372464> [Consulter le 08/2020].
- Renault Tristan, Le Deuff Rose-Marie, Cochenec Nathalie, et al. 1993.** Contribution à l'étude de mollusques marins : Iridovirus-like et Herpèsvirus-like. Description, caractérisation biochimique, cycle de multiplication viral, diagnostic et étude épidémiologique.
- Roux Simon. 2013.** Diversité, évolution et écologie virale : des communautés aux génotypes. Analyse bioinformatique de métagénomiques viraux. Thèse doctorale. Université Clermont-Ferrand 2.
- Sander David. 2006.** All the virology on the <http://www.virology.net/> [Consulter le 08/2020].
- Smeal Steven W., Schmitt Margaret A., Pereira Ronnie Rodrigues et al. 2017.** Simulation of the M13 life cycle I: Assembly of a genetically-structured deterministic chemical kinetic simulation. *Virology*. 500: 259-274.
- Trojet Sabrina. 2011.** Etude de la reconnaissance phage-bactérie : analyse fonctionnelle de l'adhésine gp38 des phages de la superfamille de type T4. Thèse de doctorat. Université de Toulouse, Université Toulouse III-Paul Sabatier.
- Pasquier Christophe, Bertagnoli Stéphane, Dunia Daniel et Izopet Jacques. 2013.** Virologie humaine et zoonoses Cours et fiches de synthèse. Edition Dunod. Paris. 3-14.
- Suzuki Tetsuro, Ishii Koji, Aizaki Hideki et al. 2007.** Hepatitis C viral life cycle. *Advanced drug delivery reviews*. 59(12): 1200-1212.
- Samji Tasleem. 2009.** Influenza A: understanding the viral life cycle. *The Yale journal of biology and medicine*. 82 (4): 153.
- Touchon Marie, Bernheim Aude et Rocha Eduardo PC. 2016.** Genetic and life-history traits associated with the distribution of prophages in bacteria. *The ISME journal*. 10(11): 2744-2754.
- Viralzone, SIB.** Swiss Institute of Bioinformatics. On the: <https://viralzone.expasy.org/> [Consulter le 08/2020].
- Virologie générale, la multiplication:** <http://www.microbes-edu.org/etudiant/multivirale.html> [Consulter le 08/2020].