

connaissances et pratique

# Virologie humaine

H.J.A. Fleury



□ 5<sup>e</sup> édition

- Le panorama de la discipline
- QROC et cas cliniques commentés

 MASSON

# ***Virologie humaine***

*H.J.A Fleury*

Professeur de virologie à l'université Victor-Segalen, Bordeaux 2  
Chef de service du laboratoire de virologie du CHU de Bordeaux

*5<sup>e</sup> édition*



ELSEVIER  
MASSON



Ce logo a pour objet d'alerter le lecteur sur la menace que représente pour l'avenir de l'écrit tout particulièrement dans le domaine universitaire, le développement massif du « photocopillage ».

Cette pratique qui s'est généralisée, notamment dans les établissements d'enseignement, provoque une baisse brutale des achats de livres, au point que la possibilité même pour les auteurs de créer des œuvres nouvelles et de les faire éditer correctement est aujourd'hui menacée.

Nous rappelons donc que la reproduction et la vente sans autorisation, ainsi que le recul, sont passibles de poursuites.

Les demandes d'autorisation de photocopier doivent être adressées à l'éditeur ou au Centre français d'exploitation du droit de copie : 20, rue des Grands-Augustins, 76006 Paris Tél. 01 41 07 47 70.

*Maquette intérieure de Christian Blangez*

#### Avertissement

Les DCI sont en caractères droits minuscules.

Les marques déposées sont en caractères italiques, commençant par une majuscule.

Tous droits de traduction, d'adaptation et de reproduction par tous procédés réservés pour tous pays.

Toute reproduction ou représentation intégrale ou partielle, par quelque procédé que ce soit, des pages publiées dans le présent ouvrage, faite sans l'autorisation de l'éditeur est illicite et constitue une contrefaçon. Seules sont autorisées, d'une part, les reproductions strictement réservées à l'usage privé du copiste et non destinées à une utilisation collective et, d'autre part, les courtes citations justifiées par le caractère scientifique ou d'information de l'œuvre dans laquelle elles sont incorporées (art. L. 122-4, L. 122-5 et L. 335-2 du Code de la propriété intellectuelle).

© 2009, Elsevier Masson SAS. Tous droits réservés.

ISBN : 978-2-294-70432-1

# Table des matières

Préface .....	V
Abréviations .....	XVII

Connaissances

## Virologie humaine

Connaissances

<b>I. Virologie générale</b> .....	<b>3</b>
<b>1 ► Historique, définition et structure des virus</b> .....	<b>5</b>
Historique .....	5
Définition des virus .....	6
Structure .....	6
<i>Acide nucléique (7). Capside (9). Enveloppe (11).</i>	
Action des agents physiques et chimiques .....	11
<i>Agents physiques (11). Agents chimiques (13).</i>	
<b>2 ► Classification des virus</b> .....	<b>15</b>
<b>3 ► Réplication des virus à ARN</b> .....	<b>18</b>
Introduction .....	18
<i>Virus à ARN positif : ARN (+) (18). Virus à ARN négatif : ARN (-) (18).</i>	
Virus à ARN (+) : virus de la poliomyélite .....	18
<i>Première étape (19). Seconde étape (19). Troisième étape (19). Quatrième étape (20). Cinquième étape (20).</i>	
Virus à ARN (-) .....	20
<i>Virus Sendai (20). Virus de la grippe (22).</i>	
Rétrovirus .....	25
<b>4 ► Réplication des virus à ADN</b> .....	<b>27</b>
Introduction .....	27
Adénovirus .....	27
Herpesvirus .....	28
Poxvirus .....	30
Hépadnavirus .....	30

<b>5 ► Chimiothérapie antivirale</b> .....	<b>32</b>
Attachement et pénétration .....	<b>32</b>
<i>Amantadine et rimantadine (32). Zanamivir et oseltamivir (32).</i>	
Synthèse protéique .....	<b>33</b>
<i>Interféron <math>\alpha</math> (33). Ribavirine (33).</i>	
Acides nucléiques viraux et enzymes de réplication .....	<b>33</b>
<i>5-iodo-désoxyuridine (IdU) et trifluorothymidine (TFT) (34). Cytosine arabinoside et adénine arabinoside (Ara-A, vidarabine, Vira-A) (34). Acycloguanosine (aciclovir, Zovirax) (34). Valaciclovir (35). Ganciclovir (Cymévan) (35). Penciclovir (35). Famciclovir (36). Foscarnet (Foscavir) (36). Lamivudine (36).</i>	
Avenir de la chimiothérapie antivirale .....	<b>36</b>
<b>6 ► Interféron</b> .....	<b>38</b>
Propriétés biologiques .....	<b>38</b>
<i>Aspécificité antivirale (38). Spécificité d'espèce (38).</i>	
Propriétés physicochimiques et antigéniques .....	<b>38</b>
Mécanisme d'action .....	<b>39</b>
Propriétés immunologiques et antitumorales .....	<b>40</b>
Obtention .....	<b>40</b>
Utilisation thérapeutique et dosage .....	<b>41</b>
<b>7 ► Méthodes du diagnostic virologique</b> .....	<b>42</b>
Isolement viral et détection directe des composants structuraux .....	<b>42</b>
<i>Isolement viral (42). Détection directe des composants structuraux (44).</i>	
Diagnostic sérologique des infections virales .....	<b>53</b>
<i>Prélèvement (53). Techniques sérologiques (53). Choix de la technique sérologique (54). Réaction de déviation du complément (55). Inhibition de l'hémagglutination (IHA) (56). Hémagglutination passive (58). Réaction ELISA (Enzyme-linked immunosorbent assay) (59). Radio-immunologie : radio-immunosorbent test (RIST) (61). Immune adherence hemagglutination (IAHA) (61). Réaction de neutralisation (62). Western blot (ou immunoblot) (63). Recherche des anticorps dans les fractions d'immunoglobulines IgG et IgM (64).</i>	

Connaissances

<b>II. Virologie systématique</b> .....	<b>69</b>
<b>8 ► Virus influenza (virus de la grippe)</b> .....	<b>71</b>
Morphologie et composition chimique .....	<b>71</b>
Réplication .....	<b>72</b>
Action des agents physiques et chimiques .....	<b>72</b>
Antigènes .....	<b>72</b>
<i>Antigènes internes (72). Antigènes d'enveloppe (73). Variations antigéniques et nomenclature (73).</i>	
Épidémiologie, physiopathologie et clinique .....	<b>76</b>
<i>Épidémiologie (76). Physiopathologie (77). Clinique (77).</i>	
Diagnostic virologique .....	<b>78</b>
<i>Diagnostic direct et isolement (78). Diagnostic indirect (78).</i>	

Traitement et prophylaxie .....	79
<i>Traitement précoce (79). Chimio prophylaxie (79). Vaccination (79).</i>	
<b>9 ▶ Paramyxoviridae</b> .....	<b>81</b>
Virus parainfluenza .....	82
<i>Clinique et épidémiologie (82). Principaux caractères antigéniques (82). Diagnostic virologique (82).</i>	
<i>Myxovirus parotidis, le virus des oreillons</i> .....	<b>83</b>
<i>Clinique et épidémiologie (83). Principaux caractères antigéniques (83). Diagnostic virologique (83). Prévention (84).</i>	
Virus de la rougeole .....	84
<i>Clinique, physiopathologie et épidémiologie (84). Principaux caractères antigéniques (85). Diagnostic virologique (85). Prévention (86).</i>	
Virus respiratoire syncytial (VRS) .....	86
<i>Clinique, physiopathologie et épidémiologie (86). Principaux caractères antigéniques (87). Diagnostic virologique (87). Traitement (87).</i>	
Métapneumovirus .....	87
<b>10 ▶ Picornaviridae</b> .....	<b>89</b>
Entérovirus .....	89
<i>Épidémiologie (89). Pathologie chez l'homme (90). Diagnostic virologique (90). Traitement et prévention (92).</i>	
Rhinovirus .....	93
<b>11 ▶ Herpesviridae</b> .....	<b>94</b>
Caractères généraux .....	94
<i>Herpes simplex virus types 1 et 2 (HSV-1 ET HSV-2)</i> .....	<b>94</b>
<i>Pathologie humaine et physiopathologie (95). Diagnostic de laboratoire (95). Traitement et prévention (96).</i>	
Virus de la varicelle et du zona (VZV) .....	96
<i>Pathologie (96). Diagnostic virologique (97). Traitement et prévention (98).</i>	
Cytomégalovirus (CMV) .....	98
<i>Épidémiologie et physiopathologie (98). Pathologie (98). Diagnostic virologique (99). Traitement et prévention (100).</i>	
Virus d'Epstein-Barr .....	100
<i>Historique (100). Épidémiologie (101). Physiopathologie et réplication (101). Mononucléose infectieuse (101). Lymphome de Burkitt, cancer du nasopharynx et lymphomes des immunodéprimés (102).</i>	
HHV-6, HHV-7, HHV-8 .....	103
<i>HHV-6 (Human herpesvirus 6) (103). HHV-7 (Human herpesvirus 7) (104). HHV-8 (Human herpesvirus 8) (104).</i>	
<b>12 ▶ Adénovirus</b> .....	<b>105</b>
Caractères structuraux et antigéniques .....	105
Clinique et épidémiologie .....	106
Diagnostic virologique .....	107
<i>Diagnostic direct et isolement (107). Diagnostic sérologique (107).</i>	

<b>13</b>	<b>► Virus de la rubéole</b> .....	<b>108</b>
	Caractères généraux .....	<b>108</b>
	Clinique et épidémiologie .....	<b>108</b>
	<i>Rubéole de l'enfant et de l'adulte (108). Rubéole congénitale (109).</i>	
	Diagnostic virologique .....	<b>109</b>
	<i>Diagnostic sérologique (109). Isolement viral (110).</i>	
	Prévention .....	<b>110</b>
	Le point sur la rubéole congénitale en France .....	<b>111</b>
<b>14</b>	<b>► Papillomavirus et polyomavirus</b> .....	<b>112</b>
	Généralités .....	<b>112</b>
	Papillomavirus .....	<b>112</b>
	<i>Hôtes naturels et classification chez l'homme (112). Épidémiologie et pouvoir pathogène (113). Méthodes d'étude (114). Traitement (115).</i>	
	Polyomavirus .....	<b>115</b>
	<i>Épidémiologie et pouvoir pathogène des virus JC et BK (115). Diagnostic virologique (115).</i>	
<b>15</b>	<b>► Parvovirus</b> .....	<b>117</b>
	Parvovirus B19 .....	<b>117</b>
	<i>Clinique et pathogénèse (117). Diagnostic virologique (117).</i>	
	Bocavirus .....	<b>118</b>
<b>16</b>	<b>► Virus des gastroentérites</b> .....	<b>119</b>
	Rotavirus .....	<b>119</b>
	Autres virus .....	<b>121</b>
	<i>Calicivirus (121). Astrovirus (121). Coronavirus (122). Adénovirus non cultivables (122). Virus apparentés au virus Breda (122).</i>	
<b>17</b>	<b>► Virus des hépatites</b> .....	<b>123</b>
	Manifestations clinico-biologiques des hépatites .....	<b>123</b>
	<i>Manifestations hépatiques (123). Manifestations extrahépatiques (123).</i>	
	Virus de l'hépatite A (VHA, HAV) .....	<b>124</b>
	<i>Virus (124). Épidémiologie (124). Marqueurs viraux au cours de la maladie (124). Diagnostic virologique (124). Prévention (125).</i>	
	Virus de l'hépatite B (VHB, HBV) .....	<b>126</b>
	<i>Virus (126). Épidémiologie et physiopathologie (128). Détection et évolution des marqueurs antigéniques et moléculaires (128). Traitement et prévention (130).</i>	
	Virus de l'hépatite D (VHD, HDV, agent Delta) .....	<b>131</b>
	Virus de l'hépatite C (VHC, HCV) .....	<b>132</b>
	<i>Circonstances de la mise en évidence (132). Structure virale (132). Épidémiologie (133). Aspects physiopathologiques (133). Diagnostic et suivi virologique (133). Traitement (134).</i>	
	Virus de l'hépatite E (VHE, HEV) .....	<b>135</b>
	Virus de l'hépatite G (VHG, HGV) .....	<b>135</b>

<b>18</b>	<b>Arbovirus : généralités</b> .....	<b>137</b>
	Définition et historique .....	137
	Classification simplifiée .....	137
	Pathologie générale chez l'homme .....	138
	Diagnostic virologique général .....	138
	<i>Isolement viral (138). Étude sérologique (139).</i>	
	Principaux arbovirus en France .....	139
<b>19</b>	<b>Virus de la fièvre jaune</b> .....	<b>141</b>
	Définition de la fièvre jaune .....	141
	Virus .....	141
	Épidémiologie (modèle africain) .....	142
	Grandes zones géographiques de la fièvre jaune .....	142
	Physiopathologie et clinique .....	142
	Diagnostic de laboratoire .....	143
	<i>Diagnostic virologique (143). Diagnostic histopathologique (143).</i>	
	Prévention .....	144
<b>20</b>	<b>Virus des fièvres hémorragiques</b> .....	<b>145</b>
	Chikungunya .....	146
	Fièvre jaune .....	146
	Dengue .....	146
	Maladie de la forêt de Kyasanur .....	147
	Fièvre hémorragique d'OMSK .....	147
	Fièvre hémorragique de Crimée-Congo .....	147
	Fièvre de la vallée du RIFT .....	148
	<i>Arenaviridae</i> .....	148
	<i>Fièvre de Lassa (148). Fièvre hémorragique d'Argentine (Junin) Fièvre hémorragique de Bolivie (Machupo) (149).</i>	
	Marburg et Ebola .....	149
	Fièvre hémorragique avec syndrome rénal (FHSR) .....	150
<b>21</b>	<b>Rage</b> .....	<b>153</b>
	Épidémiologie .....	153
	Pathologie .....	153
	<i>Rage humaine (153). Rage animale (154).</i>	
	Physiopathologie .....	154
	Virus .....	154
	Diagnostic de rage au laboratoire .....	155
	Conduite à tenir et prévention .....	156
	Point épidémiologique sur la rage .....	157

<b>22</b>	<b>▶ Rétrovirus</b> .....	<b>158</b>
	HTLV-I ET HTLV-II .....	<b>159</b>
	<i>HTLV-I (159). HTLV-II (160). Diagnostic virologique de HTLV-I et HTLV-II (160). Prévention (161).</i>	
	VIH-1 et VIH-2 .....	<b>161</b>
	<i>Historique (161). Structure du VIH-1 (162). Réplication, structure génétique et régulation (162). Cellules cibles et physiopathologie de l'infection (165). Transmission du VIH-1 et modèles épidémiologiques (166). Classification chimique et biologique (167). Classification pédiatrique (170). Diagnostic et suivi biologiques de l'infection par le VIH-1 (170). Chimiothérapie anti-rétrovirale (175).</i>	
<b>23</b>	<b>▶ Encéphalopathies spongiformes subaiguës transmissibles</b>	
	<b>Agents transmissibles non conventionnels et prions</b> .....	<b>181</b>
	Définition .....	<b>181</b>
	Histopathologie, clinique et épidémiologie .....	<b>181</b>
	<i>Tremblante du mouton (182). Encéphalopathie transmissible du vison (182). ESB (182). Kuru (182). MCJ (183). Insomnie fatale familiale et GSS (183).</i>	
	Propriétés biologiques et biochimiques des agents infectieux incriminés ; transmission expérimentale et facteurs génétiques .....	<b>183</b>
	<i>Propriétés biologiques (183). Propriétés biochimiques (184). Transmission expérimentale et facteurs génétiques (185).</i>	
	Examens de laboratoire pour le diagnostic de la MCJ .....	<b>186</b>
	<i>Histopathologie (187). Détection de PrP-res (187).</i>	
	Existe-t-il des perspectives thérapeutiques ? .....	<b>188</b>
<b>24</b>	<b>▶ Diagnostic virologique des méningo-encéphalites et des encéphalopathies spongiformes subaiguës</b> .....	<b>189</b>
	Introduction .....	<b>189</b>
	Méningites virales .....	<b>190</b>
	<i>Entérovirus (190). Virus des oreillons (Myxovirus parotidis) (190). Choro-méningite lymphocytaire (CML) (191). Virus d'Epstein-Barr (EBV) (191). West Nile (191). Virus de l'immunodéficience humaine (VIH) (192).</i>	
	Méningo-encéphalites aiguës .....	<b>192</b>
	<i>Herpesvirus (192). Virus de la rage (194). Arbovirus (194). Rougeole (195). Vaccine (195). VIH-1 (195). Autres virus (195).</i>	
	Méningo-encéphalites subaiguës et chroniques .....	<b>196</b>
	<i>À virus conventionnels (196). Agents transmissibles non conventionnels (ATNC) (196).</i>	
<b>25</b>	<b>▶ Virus et cancers</b> .....	<b>198</b>
	Rétrovirus .....	<b>198</b>
	Papillomavirus .....	<b>198</b>
	Herpesvirus .....	<b>199</b>
	<i>EBV (199). KSHV, HHV-8 (200).</i>	
	Virus des hépatites .....	<b>200</b>

<b>26 ▶ Vaccins antiviraux</b> .....	<b>202</b>
Virus et immunité .....	202
Vaccins disponibles ou à l'essai .....	203
<i>Vaccins vivants (203). Vaccins inactivés (204).</i>	
Vaccins du futur .....	205
Problèmes particuliers de la vaccination anti-VIH .....	205
Calendrier vaccinal en France .....	206
Vaccinations ciblées et à destination des voyageurs en pays tropicaux ...	208
<i>Vaccinations ciblées (208). Voyages en pays tropicaux (208).</i>	
<b>27 ▶ Virus émergents</b> .....	<b>209</b>
SRAS coronavirus .....	209
<i>Maladie (212). Évolution et traitement (212). Diagnostic virologique (212).         Transmission (212).</i>	
Grippe aviaire .....	213
<i>Réservoir aviaire de virus grippaux (214). Épidémies de grippe aviaire chez         les oiseaux domestiques (214). Transmission des virus grippaux à d'autres         animaux (214). Épizootie de H<sub>5</sub>N<sub>1</sub> et contamination humaine (215). Com-         ment se transmet H<sub>5</sub>N<sub>1</sub> chez les oiseaux, les mammifères et l'homme ?         (215). Pouvoir pathogène chez les animaux (215). Pouvoir pathogène chez         l'homme (218). Traitement par les antiviraux (219). Vaccination (219).         Diagnostic virologique (220).</i>	
West Nile .....	220
Chikungunya .....	221
<i>Maladie (221). Diagnostic virologique (221). Réglementation (221).</i>	
Hantavirus .....	222
Ebola .....	222
Morbillivirus équin ( <i>Equine Morbillivirus</i> , EMV) Hendra, Nipah .....	223
Nouveau variant de la maladie de Creutzfeldt-Jakob (vMCJ) .....	223
<i>Borna disease virus</i> (BDV) .....	224
VIH .....	225
Poxvirus infectant les humains .....	227
<i>Rappel sur la classification, la morphologie et la composition chimique         (227). Épidémiologie et pathologie (227). Diagnostic virologique (228).</i>	
Mimivirus .....	229
<b>28 ▶ Virus et transmission par le sang</b> .....	<b>230</b>
<i>Hepadnaviridae</i> .....	230
<i>Retroviridae</i> .....	231
<i>Flaviviridae</i> .....	231
<i>VHC (231). VHG (GBV-C) (232).</i>	
<i>Parvoviridae</i> .....	232
<i>Picornaviridae</i> et <i>Caliciviridae</i> .....	232
<i>Herpesviridae</i> .....	233

VIROLOGIE HUMAINE

Agents transmissibles non conventionnels (ATNC) .....	233
Arbovirus et/ou virus associés à des fièvres hémorragiques : West Nile ...	233
Autres virus .....	234
<i>SEN virus (234). Virus spumeux simien (VSS) (234).</i>	
Évolution de la détection des marqueurs viraux en France chez les donneurs de sang .....	235
Accidents d'exposition au sang (AES) chez les professionnels de santé ...	236

Pratique

**Virologie humaine**

<b>QROC</b> .....	241
<b>Cas cliniques</b> .....	249
<b>Index</b> .....	259

## Abréviations

aa	Acides aminés
AAV	<i>Adenovirus-associated viruses</i>
Ac	Anticorps
ACG	Acycloguanosine
ADN	Acide désoxyribonucléique
ADNc	ADN complémentaire
AES	Accidents d'exposition au sang
Ag	Antigène
AIDS	<i>Acquired immune deficiency syndrome</i>
ALAT	Alanine amino-transférase
ANRS	Agence nationale de recherche sur le sida
APC	Adéno-pharyngo-conjonctivaux (virus –)
ARDS	<i>Acute respiratory distress syndrome</i>
ARN	Acide ribonucléique
ARNm	ARN messenger
ARV	Antirétroviraux
ARV	<i>AIDS-related virus</i>
ASAT	Aspartate amino-transférase
ATL	<i>Adult T cell leukemia</i>
ATNC	Agents transmissibles non conventionnels
ATP	Adénosine triphosphate
ATU	Autorisation temporaire d'utilisation
Bc	Bicaténaire
BCBL	<i>Body cavity based lymphoma</i>
BCG	Bacille de Calmette et Guérin
bDNA	<i>Branched DNA</i>
BDV	<i>Borna disease virus</i>
β-ME	β-mercaptoéthanol
bFGF	<i>Basic fibroblast growth factor</i>
BIV	<i>Bovine immunodeficiency virus</i>
BLV	<i>Bovine leukemia virus</i>
BSE	<i>Bovine spongiform encephalopathy</i>
CCA	<i>Chimpanzee corysa agent</i>
CD	<i>Cluster of differentiation</i>
CDC	<i>Centers for diseases control</i>
CEAV	<i>Caprine arthritis encephalitis virus</i>
CHC	Carcinome hépato-cellulaire
CHO	<i>Chinese hamster ovary (cells)</i>
CI	Concentration inhibitrice
CJD	<i>Creutzfeldt-Jakob disease</i>
CMH	Complexe majeur d'histocompatibilité
CML	Chorioméningite lymphocytaire
CMV	Cytomégalovirus

Virologie humaine

CRF	<i>Circulating recombinant form</i>
CTL	<i>Cytotoxic T lymphocytes</i>
Da	Dalton
DL	Dose létale
DNA	<i>Deoxyribonucleic acid</i>
dsDNA	<i>double-stranded DNA</i>
dTTP	<i>Désoxythymidine tritiée</i>
EA	<i>Early antigen</i>
EBL	<i>European bat Lyssavirus</i>
EBNA	<i>Epstein-Barr nuclear antigen</i>
EBV	<i>Virus d'Epstein-Barr, Epstein-Barr virus</i>
Echo	<i>Enteric cytopathogen human orphan</i>
ECP	Effet cytopathogène
EDTA	Acide éthylène-diamine-tétraacétique
EEE	<i>Eastern equine encephalitis</i>
EIAV	<i>Equine infectious anemia virus</i>
ELISA	<i>Enzyme-linked immunosorbent assay</i>
EMA	<i>Early membran antigen</i>
EMV	<i>Equine Morbillivirus</i>
env	Enveloppe
ESB	Encéphalopathie spongiforme bovine
ESST	Encéphalopathies spongiformes subaiguës transmissibles
EVNP	Entérovirus non polio
Fc	Fixation du complément
FeLV	<i>Feline leukemia virus</i>
FHSR	Fièvre hémorragique avec syndrome rénal
FIV	<i>Feline immunodeficiency virus</i>
FR	Facteur rhumatoïde
gag	<i>group antigen</i>
GC %	Pourcentage en cytosine et guanine
GM-CSF	<i>Granulocyte-macrophage colony stimulating factor</i>
GRM	Globules rouges du mouton
GSS	Syndrome de Gerstmann-Straussler-Scheinker
HA/H	Hémagglutinine
HAART	<i>Highly active antiretroviral therapy</i>
HAD	Hémadsorption
HAM	<i>HTLV-I-associated myelopathy</i>
Hav	Hémagglutinine aviaire
HBLV	<i>Human B lymphotropic virus</i>
Heq	Hémagglutinine équine
HFRS	<i>Hemorrhagic fever with renal syndrome</i>
HHV	<i>Human herpesvirus</i>
HLA	<i>Human leucocyte antigen (complex)</i>
hMPV	<i>Human metapneumovirus</i>
HPAI	<i>Highly pathogenic avian influenza</i>
HPS	<i>Hantavirus pulmonary syndrome</i>
HSV	<i>Herpes simplex virus</i>
HTLV	<i>Human T leukemia virus</i>
IAHA	<i>Immune adherence hemagglutination</i>

IC	Intracrânienne
IdU	5-iodo-désoxyuridine
IF	Immunofluorescence
IFN	Interféron
IFN PEG	Interféron pégylé
Ig	Immunoglobulines
IHA	Inhibition de l'hémagglutination
IL	Interleukine
IP	Inhibiteurs de protéase
IST	Infection sexuellement transmissible
IV	Intraveineux
j	Jour
JC	<i>Jamestown Canyon (virus)</i>
kDa	kilodalton
KSHV	<i>Kaposi sarcoma herpesvirus</i>
LAV	<i>Lymphadenopathy-associated virus, Lymphadenopathy AIDS virus</i>
LB	Lymphome de Burkitt
LCR	Liquide céphalorachidien
LDH	Lactate déshydrogénase
LEMP	Leuco-encéphalopathie multifocale progressive
LiPA	<i>Line probe assay</i>
LMA	<i>Late membran antigen</i>
LPAI	<i>Low pathogenic avian influenza</i>
LTR	<i>Long terminal repeat</i>
LYDMA	<i>Lymphocyte-defined membran antigen</i>
Mc	Monocaténaire
MCJ	Maladie de Creutzfeldt-Jakob
MDCK	<i>Madin-Darby canine kidney</i>
MMLV	<i>Moloney murine leukemia virus</i>
MMTV	<i>Mouse mammary tumor virus</i>
MNI	Mononucléose infectieuse
NA/N	Neuraminidase
NASBA	<i>Nucleic acid-based amplification</i>
Nav	Neuraminidase aviaire
NC	Non codante
Nef	<i>Negative factor</i>
Neq	Neuraminidase équine
NIH	<i>National institutes of health</i>
NK	<i>Natural killer</i>
NLV	<i>Norwalk-like viruses</i>
NP	Nucléoprotéine
Nt	Neutralisation
NUC	Analogues de nucléosides
OMS	Organisation mondiale de la santé
onc	Oncogène
ORF	<i>Open reading frame</i>
pb	Paires de bases
PBMC	<i>Peripheral blood mononuclear cells</i>
PBH	Ponction biopsie hépatique

Virologie humaine

PBS	<i>Primer binding site</i>
PCR	<i>Polymerase chain reaction</i>
PESS	Panencéphalite sclérosante subaiguë
PGL	Lymphadénopathie persistante généralisée
PILC	Pneumonie interstitielle lymphoïde chronique
PM	Poids moléculaire
pol	Polymérase
prot.	Protéase
PrP	<i>Proteinase resistant protein</i>
RCM	Rubéole congénitale malformative
RCT	<i>Reproductive capacity temperature</i>
RDE	<i>Receptor destroying enzyme</i>
Rev	<i>Regulator of viral expression</i>
RIA	<i>Radio-immunological assay</i>
RIBA	<i>Recombinant immunoblot assay</i>
RIST	<i>Radio-immunosorbent test</i>
RNA	<i>Ribonucleic acid</i>
ROR	Rougeole-oreillons-rubéole
RS	Rein de singe (cellules de -)
RSV	<i>Rous sarcoma virus</i>
RT	<i>Reverse transcriptase</i>
RT	Retrotranscriptase
RVA	<i>Recombinant viral assay</i>
S	Svedberg
SARS	<i>Severe acute respiratory syndrome</i>
SC	Sous-cutanée
SDF	<i>Stroma cell-derived factor</i>
SH	Sérum hémolytique
Sida	Syndrome d'immunodéficience acquise
SIV	<i>Simian immunodeficiency virus</i>
SK	Sarcome de Kaposi
SNC	Système nerveux central
SNV	<i>Sin nombre virus</i>
SPRIST	<i>Solid phase reverse immunosorbent test</i>
SRSV	<i>Small round structured viruses</i>
ssRNA	<i>Single-stranded RNA</i>
SV40	<i>Simian virus n° 40</i>
tat	<i>Trans-activator of viral transcription</i>
TI	Transcriptase inverse
TFT	Trifluorothymidine
TME	<i>Transmissible mink encephalopathy</i>
TNF	<i>Tumor necrosis factor</i>
TSE	<i>Transmissible spongiform encephalopathies</i>
TSP	<i>Tropical spastic paraparesis</i>
TTV	<i>Transfusion transmitted virus</i>
UI	Unité internationale
UV	Ultraviolets
VCA	<i>Virus capsid antigen</i>
VHA	Virus de l'hépatite A

VHB	Virus de l'hépatite B
VHC	Virus de l'hépatite C
VHD	Virus de l'hépatite D, agent Delta
VHE	Virus de l'hépatite E
VHG	Virus de l'hépatite G
vif	<i>Virion infectivity factor</i>
VIH	Virus de l'immunodéficience humaine
vMCJ	variante de la MCJ
VMT	Virus de la mosaïque du tabac
VP	<i>Viral protein</i>
VPB	Virus du papillome bovin
VPH	Virus de papillome humain
vpr	<i>Viral protein regulatory</i>
vpu	<i>Viral protein unknown</i>
VRS	Virus respiratoire syncytial
VZV	Virus de la varicelle et du zona
WB	<i>Western blot</i>
WEE	<i>Western equine encephalitis</i>

*Connaissances*

***Virologie  
humaine***

*Connaissances*

***I. Virologie  
générale***

# Historique, définition et structure des virus

# 1

I. HISTORIQUE  
II. DÉFINITION DES VIRUS

III. STRUCTURE  
IV. ACTION DES AGENTS PHYSIQUES ET CHIMIQUES

## I. HISTORIQUE

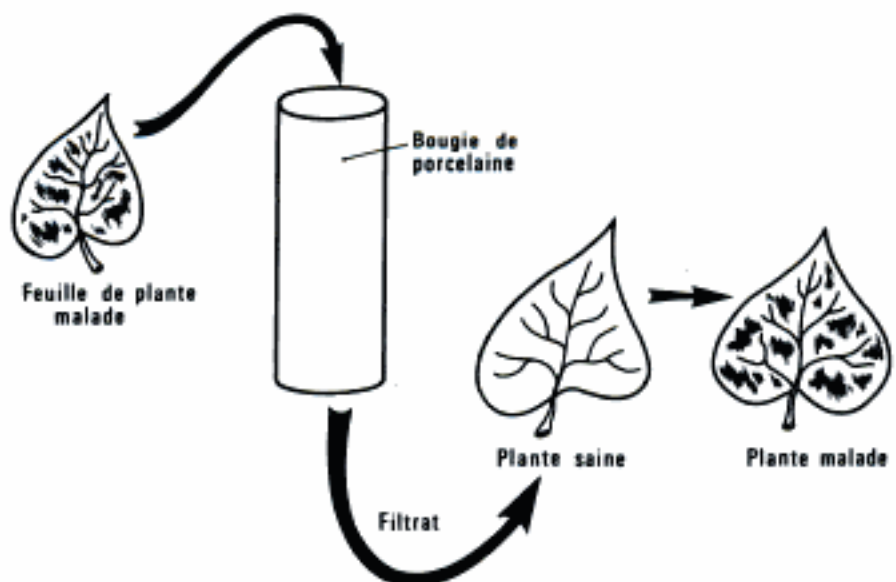
Au début de l'ère pastoriennne, le mot virus signifiait agent infectieux au sens large, s'appliquant tout autant aux bactéries qu'aux champignons et protozoaires. La définition de l'époque était qu'ils étaient visibles au microscope photonique, et qu'ils ne traversaient pas les filtres de porcelaine.

En 1892, un botaniste russe, Ivanowski, va transmettre la mosaïque du tabac d'une plante malade à une plante saine par l'intermédiaire d'un filtrat sur bougie de porcelaine d'un broyat de feuilles de plante malade (fig. 1.1). Ivanowski va conclure à la responsabilité d'une toxine.

En 1898, un Hollandais, Beijerinck, démontre qu'il s'agit bien d'un agent infectieux nouveau dans le filtrat : les agents correspondants sont appelés agents ultrafiltrables. Cette notion va rapidement permettre de mettre en évidence la responsabilité d'agents ultrafiltrables dans l'étiologie de maladies animales et humaines :

- la fièvre aphteuse des bovidés ;
- le myxome du lapin ;
- la fièvre jaune chez l'homme (1901) ;

► Fig. 1.1. L'expérience d'Ivanowski. ►



## CONNAISSANCES – I. VIROLOGIE GÉNÉRALE

- la rage (1903 ; Pasteur l'avait attribuée dès 1884 à une « infrabactérie ») ;
- le sarcome de Rous (tumeur chez les oiseaux, 1911).

En 1915, Twort et d'Herelle découvrent des agents ultrafiltrables responsables de la lyse des bactéries, appelés bactériophages.

Le terme « agent ultrafiltrable » n'est plus utilisé et est remplacé par le terme « virus », excluant donc désormais les autres agents infectieux.

Le microscope électronique (1935), en permettant d'observer ce que l'on devinait, accélère les découvertes virologiques. De plus, les diagnostics médicaux progressent dans les années cinquante par la généralisation de l'emploi des cultures cellulaires dans les laboratoires.

La virologie a bénéficié des techniques d'ultracentrifugation (pour l'étude chimique) et de la diffraction des rayons X (étude morphologique). Elle sert aussi à la biologie moléculaire : le SV40 (*Simian Virus* n° 40), virus du singe, induit chez le hamster des tumeurs cancéreuses et représente un modèle moléculaire de transformation cellulaire.

La recherche sur les encéphalopathies spongiformes subaiguës transmissibles (ESST) (dont la maladie de Creutzfeldt-Jakob chez l'homme) a fait émerger une nouvelle classe d'agent infectieux dont nous ne mesurons pas encore l'importance à l'heure actuelle ; il s'agit des prions (autrefois appelés agents transmissibles non conventionnels ou ATNC), protéines infectieuses dépourvues d'acide nucléique génomique. Les prions ne font pas partie des chapitres suivants qui concernent la définition et la structure des virus.

## II. DÉFINITION DES VIRUS

Pour le biophysicien Luria : « Les virus sont des entités dont le génome est un élément d'acide nucléique, acide désoxyribonucléique (ADN) ou acide ribonucléique (ARN), qui se reproduisent à l'intérieur de cellules vivantes et qui utilisent le mécanisme synthétique de ces cellules pour diriger la synthèse de particules spécialisées (les virions) qui contiennent le génome viral et le transfèrent à d'autres cellules. »

### **Remarques**

On ne retrouve jamais simultanément ADN et ARN.  
Il y a déviation du métabolisme synthétique de la cellule normale au profit de la multiplication du virus.

## III. STRUCTURE

Le virus est constitué :

- d'un acide nucléique (ADN ou ARN) porteur de l'information génétique ;
- d'une structure protéique, la capsid, qui protège l'acide nucléique ; l'ensemble acide nucléique-capsid est appelé nucléocapsid. Pour certains virus (comme les rétrovirus que nous étudierons plus loin) la nucléocapsid porte le nom de « core » ;
- parfois d'une enveloppe...

En somme, les structures du virus autour de l'acide nucléique protègent l'information génétique, permettent au virus de se fixer sur un récepteur cellulaire, et c'est contre ces structures qu'est dirigée la réponse immunitaire.

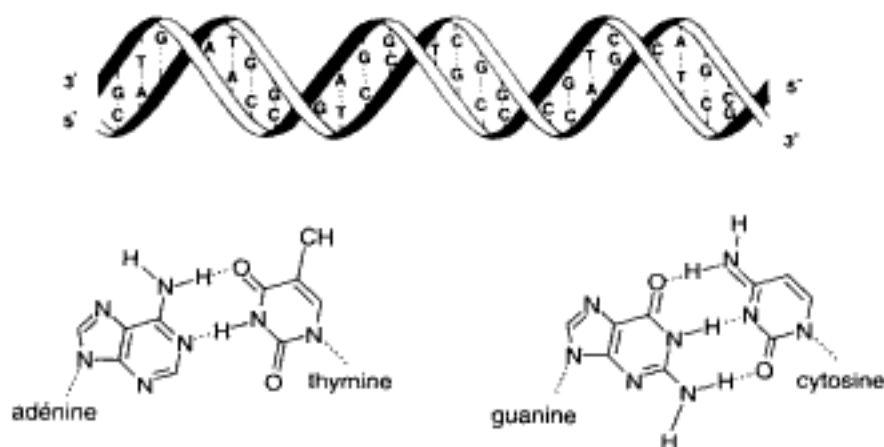
## A. Acide nucléique

### 1. ADN

L'ADN est l'acide désoxyribonucléique, DNA (*Deoxyribonucleic acid*) des Anglo-Saxons ; cet acide nucléique est le plus souvent constitué de deux brins complémentaires : il est bicaténaire (*double-stranded DNA*, dsDNA, pour les Anglo-Saxons). Les brins sont constitués d'une succession de sucres (le désoxyribose) liés par l'acide phosphorique ; chaque sucre porte une base purique ou pyrimidique ; ces bases, en se complétant par des liaisons hydrogène, assurent la cohésion des deux brins. L'ensemble prend la forme d'une double hélice de Watson et Crick (fig. 1.2). Le sens va de 5' vers 3'. Les bases sont puriques ou pyrimidiques et se complètent de la façon suivante :

- thymine/adénine avec 2 liaisons hydrogène ;
- guanine/cytosine avec 3 liaisons hydrogène.

► Fig. 1.2. Structure de l'ADN. ►



#### a. Fonction de l'ADN

##### *Duplication (ou réplication)*

C'est la première et fondamentale étape du processus de survie du virus ; celui-ci va, à partir d'une molécule génomique, faire synthétiser des centaines voire des milliers de molécules identiques ; chaque brin de l'ADN sert de matrice à l'ADN polymérase pour la synthèse d'un brin complémentaire ; toute nouvelle molécule d'ADN synthétisée porte un brin parental et un brin néoformé : on dit que la duplication est semi-conservative (fig. 1.3).

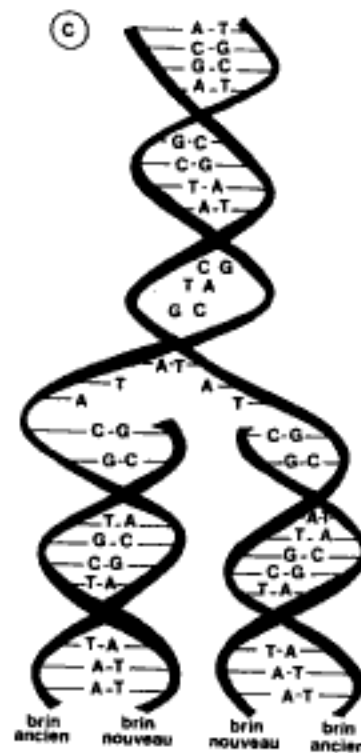
##### *Expression génomique*

Elle suit le schéma classique de transcription de l'ADN en ARN messager (ARNm) et de traduction de l'ARNm en peptide. L'organisation génomique consiste en la succession de gènes porteurs d'une information génétique spécifique d'un peptide structural ou fonctionnel. La figure 1.4 présente en exemple l'expression d'un gène codant un peptide capsidial.

#### b. ARN messenger

La transcription se fait grâce à une enzyme appelée ARN polymérase ADN-dépendante (car elle travaille sur une matrice ADN) (fig. 1.4b).

► **Fig. 1.3.** Duplication semi-conservative de l'ADN viral. ►



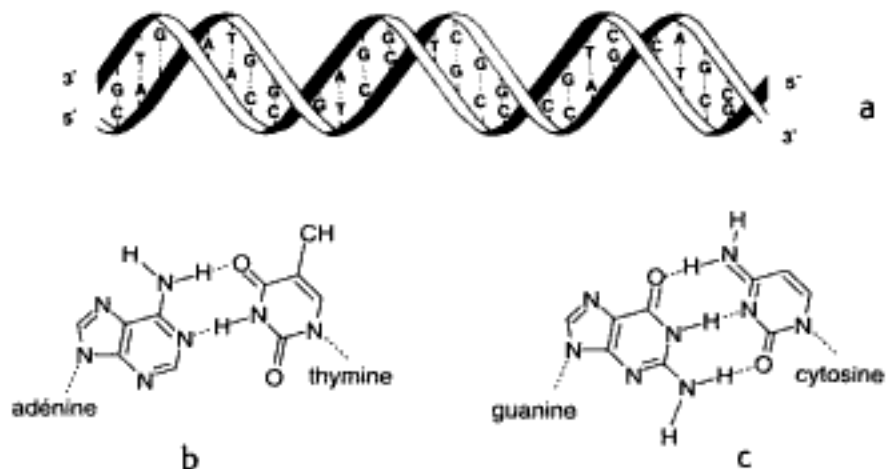
### c. Traduction

Les ARN de transfert cellulaires amènent les acides aminés (aa) activés ; les polyribosomes cellulaires dirigent l'élaboration du peptide C en présence d'énergie (ATP cellulaire).

On aboutit à la synthèse du peptide codé par le génome viral mais élaboré grâce à la machinerie cellulaire (fig. 1.4c).

► **Fig. 1.4.** Expression du peptide C.

**a.** Gène pour le peptide C (capside). **b.** ARNm transcrit. **c.** Obtention du peptide C par traduction de l'ARNm. D'après Gros F., Grunberg-Manago M., *Biosynthèse des acides nucléiques*, Hermann, Paris, 1974, p. 5. ►



#### d. Classification des acides nucléiques viraux

Plusieurs paramètres peuvent être utilisés pour classer les ADN viraux, par exemple le GC %, le poids moléculaire, ou la forme, linéaire ou circulaire, de la molécule.

##### *Selon le poids moléculaire (PM)*

Il est exprimé en daltons (Da). L'ADN du SV40 a un PM de  $3 \times 10^6$  Da, celui du virus de la variole  $160 \times 10^6$  Da. De la taille de l'ADN vont dépendre les possibilités de codage peptidique : 6 à 12 peptides pour le SV40, 400 pour le virus variolique, 1 000 pour une bactérie.

##### *Selon la forme de l'ADN*

L'ADN est généralement linéaire mais il peut parfois se présenter sous forme circulaire ; c'est le cas de l'ADN du virus de l'hépatite B (VHB) qui de plus n'est bicaténaire que sur les trois quarts du cercle (fig. 1.5).

► **Fig. 1.5.** ADN circulaire du VHB. ►



## 2. ARN

L'ARN est l'acide ribonucléique, RNA (*Ribonucleic acid*) des Anglo-Saxons ; le désoxyribose est ici remplacé par le ribose et la thymine est remplacée par l'uracile. Généralement, il est monocaténaire (*single-stranded RNA*, ssRNA, pour les Anglo-Saxons).

Certains ARN monocaténaires peuvent être segmentés ; c'est le cas du virus grip-pal dont le génome est constitué de 8 segments d'ARN ce qui, nous le verrons ultérieurement, peut favoriser des recombinaisons génétiques entre des souches différentes et avoir d'importantes conséquences sur l'épidémiologie de la grippe. Quelques rares virus possèdent un ARN bicaténaire segmenté comme les rotavirus responsables de diarrhées chez l'enfant.

## B. Capside

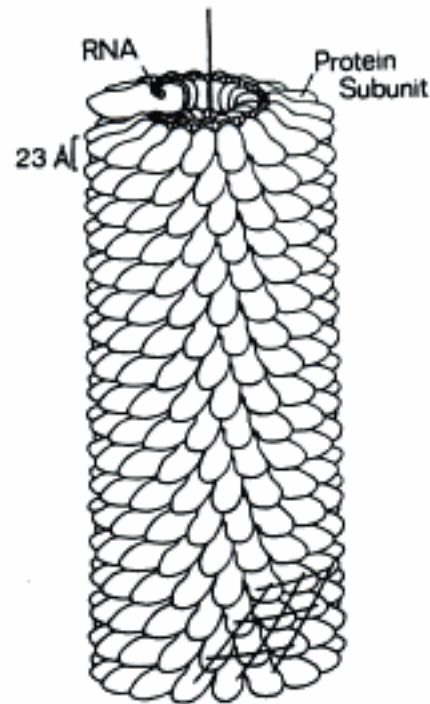
C'est une structure polymérisée dont les protéines constitutives sont codées par le génome viral. Il existe deux types de capsidie du point de vue morphologique.

### 1. Capsidie hélicoïdale

C'est le cas, par exemple, chez le VMT (virus de la mosaïque du tabac, fig. 1.6). Cette capsidie est constituée par la succession de sous-unités protéiques identiques entre elles qui s'accrochent le long de l'acide nucléique.

Pour le VMT, il y a 2 200 sous-unités protéiques identiques. Chacune est constituée de 158 aa. Dans le cas du VMT, la nucléocapsidie reste rigide comme un bâtonnet. Pour de nombreux virus humains, elle est souple et peut donc se replier sur elle-même (ceci est nécessaire pour réaliser l'enveloppement).

► **Fig. 1.6.** Virus de la mosaïque du tabac.  
(D'après Fields, *Virology*, 2<sup>nd</sup> ed., vol. 1, p. 41) ►



## 2. Capside icosaédrique ou cubique (ou parasphérique)

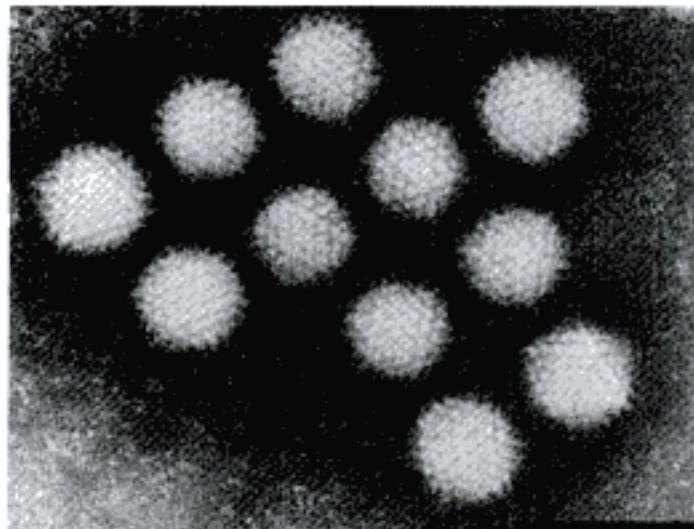
Les sous-unités protéiques composant la capside se répartissent sur un icosaèdre (polyèdre régulier possédant 20 faces et 12 sommets). Chaque face est un triangle équilatéral (fig. 1.7).

Sur les faces, les sous-unités protéiques se regroupent par 6 ainsi que sur les arêtes pour constituer des capsomères appelés hexons. Au sommet de chaque triangle partent 5 plans différents. Les sous-unités s'y assemblent par 5. Ainsi, le capsomère du sommet se nomme penton (fig. 1.8).

Selon le virus, le nombre de capsomères diffère, mais le nombre de pentons est le même, égal à 12. Seul le nombre d'hexons est différent. Ainsi, les *Adenoviridae* possèdent 252 capsomères (12 pentons, 240 hexons) et les *Herpesviridae* 162 capsomères (12 pentons, 150 hexons).

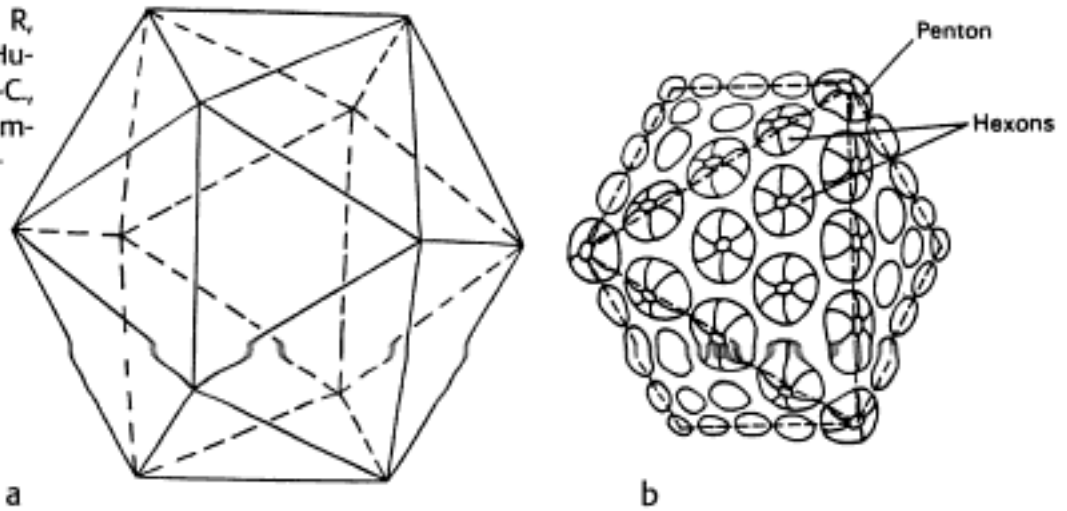
► **Fig. 1.7.** Particules virales dont la capside est de symétrie icosaédrique.

Il s'agit d'adénovirus. Microscopie électronique après coloration négative. La barre représente 100 nm. (Cliché : Lamouliatte F, Thèse pour le doctorat d'État en sciences pharmaceutiques, 1982, n° 3, université de Bordeaux II.) ►



► **Fig. 1.8.** Virus icosaédrique ; penton, hexon.

**a.** D'après *Virologie médicale*, Éditions C et R, 1975. **b.** D'après Hureau J.-M., Nicolas J.-C., Agut H., *Virologie*, Flammarion, 1985, p. 2. ►



## C. Enveloppe

C'est une structure glucido-lipido-protidique provenant d'une membrane cellulaire et contenant des protéines d'information virale (fig. 1.9).

Dans le cas du virus grippal, la nucléocapside traverse la membrane cytoplasmique cellulaire lors du phénomène de bourgeonnement. La membrane cytoplasmique est au préalable recouverte de protéines virales formant des spicules (projections) de deux longueurs différentes, plantés dans la membrane. Le bourgeon se referme et le virus est libéré (fig. 1.10).

On distingue donc deux types de spicules. Les grands correspondent à l'hémagglutinine (HA) cependant que les plus trapus forment la neuraminidase (NA). L'HA sert au virus à se fixer sur une cellule et plus spécifiquement sur un récepteur composé d'acide N-acétylneuraminique (ou acide sialique). C'est ainsi que l'HA peut « ponter » plusieurs hématies et provoquer un phénomène visible d'hémagglutination utile au diagnostic de laboratoire.

La NA est une enzyme qui clive le récepteur (acide N-acétylneuraminique) du reste de la cellule ; elle est active à 37 °C et participe à la libération définitive du virion à la fin du bourgeonnement ; elle rend l'hémagglutination fugace et c'est la raison pour laquelle cette réaction est pratiquée à 4 °C au laboratoire afin d'éliminer l'instabilité liée à l'action de la neuraminidase.

## IV. ACTION DES AGENTS PHYSIQUES ET CHIMIQUES

### A. Agents physiques

#### 1. Chaleur

Dans l'ensemble, les virus, lorsqu'ils sont en position intracellulaire, sont bien adaptés à la température de 37 °C, idéale pour le fonctionnement des enzymes de réplication. En position extracellulaire, en revanche, ils sont très sensibles à

► **Fig. 1.9.** Enveloppe (1) et nucléocapsides (2) d'un paramyxovirus aviaire.

**1.** Particules virales enveloppées, d'aspects polymorphes, rondes (R) ou filamenteuses (F) ; l'enveloppe est recouverte d'un tapis de spicules. **2.** Une fois l'enveloppe rompue, on aperçoit la nucléocapside hélicoïdale. Il s'agit ici de l'observation par microscopie électronique après coloration négative de particules d'un paramyxovirus aviaire. La barre représente 100 nm. (Fleury HJA et coll. *Comptes Rendus de l'Académie des Sciences de Paris*, série D, 1979, 289 : 375-376). ►

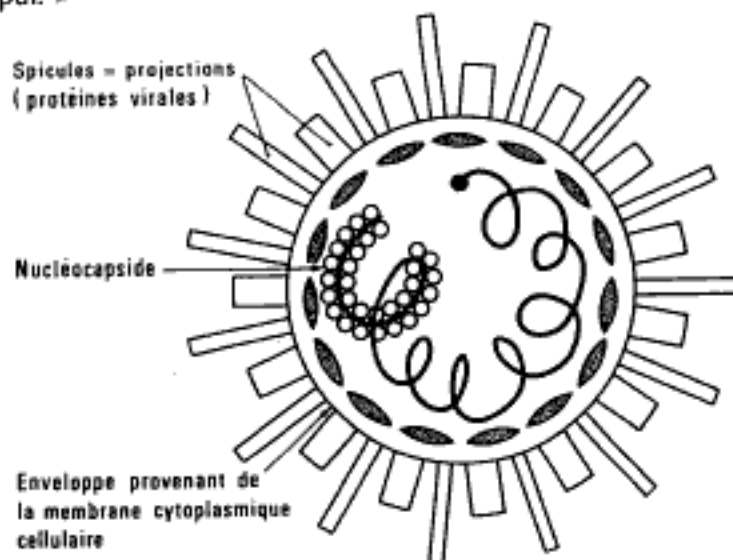


la chaleur (le virus de la rougeole par exemple est inactivé en 45 minutes à 37 °C) ; donc, quand on souhaite isoler un virus d'un prélèvement pathologique, il faut adresser ce prélèvement au laboratoire dans une glacière à 4 °C. Les virus, en dehors d'un système cellulaire, peuvent être conservés à moins 80 °C pendant des années ; certains peuvent être lyophilisés.

## 2. Dessiccation

Les virus sont très sensibles à la dessiccation (exception : le virus de la variole, présent dans les croûtes).

► **Fig. 1.10.** Structure du virus grippal. ►



### 3. Ultraviolets

Les ultraviolets provoquent des altérations des acides nucléiques viraux, induisent des mutations et donc une perte du pouvoir infectieux (inactivation).

## B. Agents chimiques

### 1. Oxydants comme l'eau de Javel

Le virus de l'immunodéficience humaine (VIH) y est très sensible. Les entérovirus à transmission hydrique sont résistants (par exemple, virus de la poliomyélite et virus de l'hépatite A (VHA) qui résistent à la chloration usuelle des eaux).

### 2. $\beta$ -propiolactone

Elle est utilisée pour préparer des vaccins inactivés ou tués par altération de l'acide nucléique viral sans modification des antigènes de surface.

#### **Remarque**

Il existe deux sortes de vaccin :

- vivant atténué : souche vivante ayant perdu sa virulence ;
- tué ou inactivé.

### 3. Solvants des lipides

L'éther, le désoxycholate de sodium inactivent les virus avec enveloppe.

#### **Remarque**

Les antibiotiques, efficaces sur les bactéries, sont inactifs sur les virus. Les virus, qui sont des parasites intracellulaires obligatoires, posent un problème d'abord thérapeutique ; en effet, beaucoup de molécules qui auraient un effet antiviral atteignent également les cellules cibles et ont donc un effet cytotoxique incompatible avec une utilisation thérapeutique. Malgré ces difficultés, la chimiothérapie connaît des progrès considérables, comme nous le verrons au chapitre 5.

### ① **Points clés**

Ce chapitre reprend l'histoire des virus depuis la fin du XIX<sup>e</sup> siècle.

Il montre comment la science a évolué vers la connaissance d'un monde plus petit.

Il indique qu'il existe actuellement une autre catégorie d'agents infectieux, les prions, qui ne sont pas intégrables dans la classification actuelle des virus.

Il présente la structure des virus du génome à la capside avec éventuellement une enveloppe.

# Classification des virus

# 2

La classification des virus repose sur les caractéristiques génomiques, morphologiques et antigéniques des virus. Nous en présentons dans les tableaux 2.I et 2.II une version simplifiée, limitée aux agents viraux décrits ou évoqués dans cet ouvrage et concernant les infections humaines.

**Tableau 2.I. Virus à ADN.**

Famille	Genre	Virus	Acide nucléique Bc : bicaténaire Mc : monocaténaire	Capside Symétrie Nombre de capsomères	Enveloppe	Taille (nm)
<i>Adenoviridae</i>	Mastadenovirus	Adénovirus (42 types)	ADN Bc	Icosaédrique 252	(-)	70 à 90
<i>Hepadnaviridae</i>		Virus de l'hépatite B (VHB)	ADN Bc (circulaire)	Icosaédrique	(+)	42
<i>Herpesviridae</i>	$\alpha$ Herpesvirinae	<i>Herpes simplex virus type 1</i> (HSV-1)	ADN Bc	Icosaédrique 162	(+)	150 à 200
		<i>Herpes simplex virus type 2</i> (HSV-2)				
		Virus de la varicelle et du zona (VZV)				
	$\beta$ Herpesvirinae	Cytomégalovirus (CMV)				
		<i>Human herpesvirus 6</i> (HHV-6)				
		<i>Human herpesvirus 7</i> (HHV-7)				
	$\gamma$ Herpesvirinae	Virus d'Epstein et Barr (EBV)				
		<i>Human herpesvirus 8</i> (HHV-8)				
<i>Parvoviridae</i>	Parvovirus	B19	ADN Mc	Icosaédrique 32	(-)	25
<i>Papillomaviridae</i>	Papillomavirus	Virus des papillomes humains (VPH) (120 types)	ADN Bc superenroulé	Icosaédrique	(-)	45 à 55
<i>Polyomaviridae</i>	Polyomavirus	BK, JC	ADN Bc superenroulé	Icosaédrique	(-)	40 à 50
<i>Poxviridae</i>	Orthopoxvirus	Variole Vaccine Cowpox Monkeypox	ADN Bc	?	(+)	200 à 300 x 100

CONNAISSANCES – I. VIROLOGIE GÉNÉRALE

**Tableau 2.II.** Virus à ARN.

Famille	Genre	Virus	Acide nucléique Bc : bicaténaire Mc : monocaténaire	Capside Symétrie Nombre de capsomères	Enveloppe	Taille (nm)
<i>Arenaviridae</i>	Arenavirus	Chorioméningite lymphocytaire (CML)	ARN Mc Segmenté	Hélicoïdale	(+)	80 à 150
		Fièvre de Lassa				
		Junin				
		Machupo Tacaribe Sabia				
<i>Bunyaviridae</i>	Bunyavirus	Bunyamwera	ARN Mc Segmenté	Hélicoïdale	(+)	90 à 100
		California				
		Tahyna...				
		Hantaan				
	Nairovirus	Crimée-Congo				
	Phlebovirus	Fièvre à phlébotomes				
Rift						
<i>Coronaviridae</i>	Coronavirus	Coronavirus entériques 229 E SARS Coronavirus	ARN Mc	Hélicoïdale	(+)	80 à 120
<i>Filoviridae</i>	Filovirus	Marburg, Ebola	ARN Mc	Hélicoïdale	(+)	800 à 1 000 × 80
<i>Flaviviridae</i>	Flavivirus	Fièvre jaune (amaril)	ARN Mc	Icosaédrique	(+)	40
		Dengue 1, 2, 3, 4				
		West Nile				
		Encéphalite de St Louis				
		Encéphalite japonaise				
		Virus de l'hépatite C (VHC)				
		Virus de l'hépatite G (VHG)				
	Rubivirus	Rubéole				
<i>Orthomyxoviridae</i>	Influenzavirus	Influenza A, Influenza B, Influenza C	ARN Mc Segmenté	Hélicoïdale	(+)	80 à 20

suite du tableau 2.II

Famille	Genre	Virus	Acide nucléique Bc : bicaténaire Mc : monocaténaire	Capside Symétrie Nombre de capsomères	Enveloppe	Taille (nm)
<i>Paramyxoviridae</i>	Paramyxovirus	Parainfluenza 1, 2, 3, 4	ARN	Hélicoïdale	(+)	150 à 300
		Oreillons				
	Morbillivirus	Rougeole				
	Pneumovirus	Virus respiratoire syncytial (VRS) Métapneumovirus				
<i>Picornaviridae</i>	Entérovirus	Poliovirus 1, 2, 3	ARN Mc	Icosaédrique	(-)	20 à 30
		Coxsackie A (23)				
		Coxsackie B (6)				
		Entérovirus 68 à 71				
		Héparnavirus ex-Entérovirus 72 = virus de l'hépatite A (VHA)				
<i>Reoviridae</i>	Rotavirus	Rotavirus humains	ARN Bc Segmenté	Icosaédrique double 32	(-)	70 à 80
<i>Retroviridae</i>	Oncornavirus	HTLV-I, HTLV-II	ARN Mc + Transcriptase inverse	? (core)	(+)	100
	Lentivirus	VIH-1 (HIV-1), VIH-2 (HIV-2)				
<i>Togaviridae</i>	Alphavirus	Chikungunya, WEE, EEE, O Nyong Nyong	ARN Mc	Icosaédrique	(+)	40

### ① Points clés

La classification des virus repose sur le type d'acide nucléique génomique, sur la symétrie icosaédrique ou hélicoïdale de la capsidie et sur la présence éventuelle d'une enveloppe.

# 3

## Réplication des virus à ARN

I. VIRUS À ARN (+) :  
VIRUS DE LA POLIOMYÉLITE

II. VIRUS À ARN (-)  
III. RÉTROVIRUS

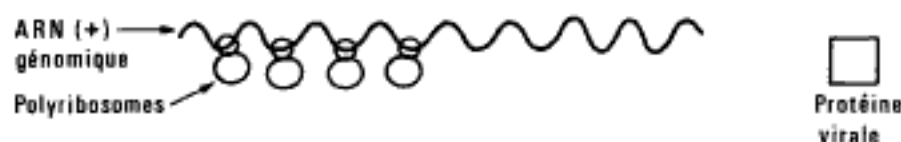
### INTRODUCTION

La réplication des virus à ARN (mis à part les rétrovirus) se fait selon deux grandes stratégies.

#### A. Virus à ARN positif : ARN (+)

Les virus correspondants possèdent un ARN génomique directement messager qui, dès sa libération dans la cellule, sert à la synthèse protéique (fig. 3.1).

► **Fig. 3.1.** Virus à ARN (+). ►



#### B. Virus à ARN négatif : ARN (-)

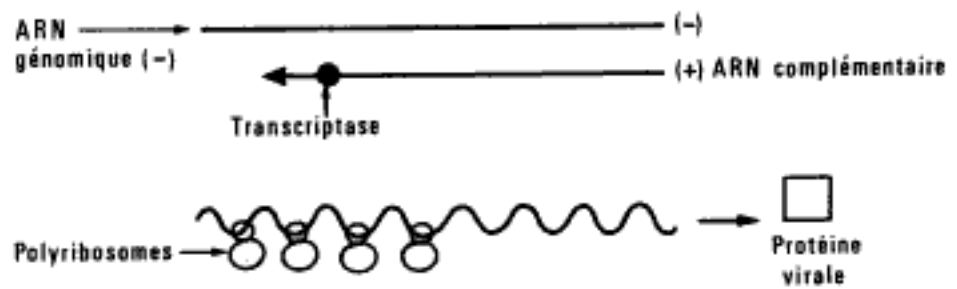
Le génome viral n'est ici pas directement messager ; une transcription de l'ARN (-) en ARN (+) est nécessaire ; ceci se fait grâce à une enzyme constitutive du virus, une ARN polymérase ARN-dépendante, qui porte dans ce cas le nom de transcriptase. L'ARN (+) synthétisé servira alors d'ARNm pour la traduction protéique (fig. 3.2).

### I. VIRUS À ARN (+) : VIRUS DE LA POLIOMYÉLITE

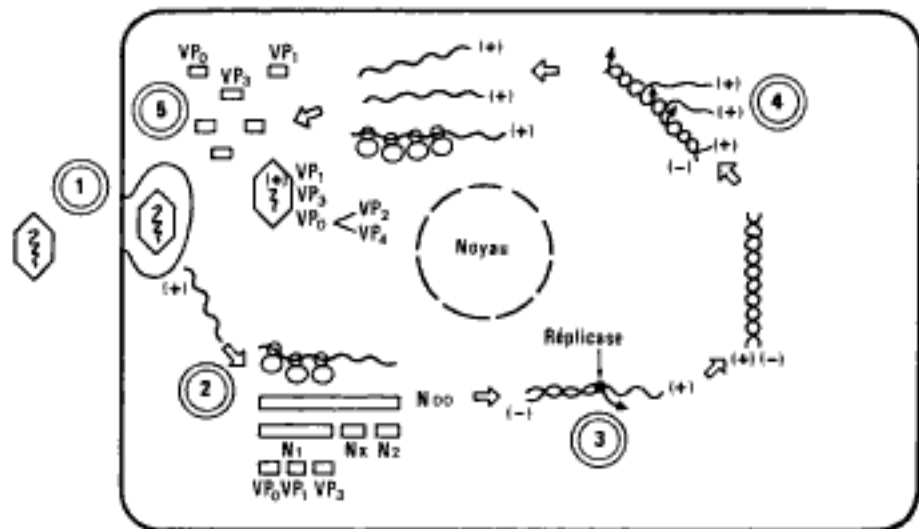
Il s'agit d'un petit virus à ARN (picornavirus). L'ARN génomique est protégé par une capsidie icosaédrique sans enveloppe.

La réplication peut se décomposer en 5 étapes (fig. 3.3).

► Fig. 3.2. Virus à ARN (-). ►



► Fig. 3.3. Réplication du virus de la poliomyélite. ►



## A. Première étape

Le virus se fixe sur un récepteur cellulaire. Il pénètre dans la cellule à l'intérieur d'une vacuole de pinocytose ; la décapsidation, non spécifique, se fait par des enzymes cellulaires ; l'ARN viral est libéré.

## B. Seconde étape

L'ARN viral (+) sert directement d'ARNm. La lecture étant polycistronique, un grand polypeptide N<sub>00</sub> est synthétisé qui est ensuite clivé en N<sub>1</sub>, N<sub>2</sub> et N<sub>x</sub> ; N<sub>1</sub> est clivé en VP<sub>0</sub>, VP<sub>1</sub> et VP<sub>3</sub> (*Viral protein [VP]*) qui participent à l'élaboration de la capside ; parmi les autres protéines, on distingue une protéase et une ARN polymérase ARN-dépendante.

## C. Troisième étape

Le génome viral étant un ARN (+), les virions devront incorporer également un ARN (-) ; pour assurer la duplication de l'ARN (+), un intermédiaire (-) est nécessaire ; ce brin (-) apparaît sur la matrice (+) grâce à l'ARN polymérase ARN-dépendante néosynthétisée qui porte ici le nom de répliquase. Cette étape est dépendante d'une enzyme cellulaire, la terminale uridyl-transférase, qui synthétise une séquence poly (U) face au poly (A) de l'extrémité 3' de

l'ARN (+) viral, aboutissant ainsi à une structure en épingle à cheveux permettant à la réplicase d'initier son travail.

Il apparaît donc à un moment donné des ARN bicaténaires dont nous verrons au chapitre 6 que ce sont d'excellents inducteurs de l'interféron.

## D. Quatrième étape

À partir de l'ARN (-), il y a synthèse d'ARN (+), une molécule d'ARN (-) générant plusieurs ARN (+) ; les ARN (+) synthétisés sont les ARN génomiques viraux ; ils peuvent également participer à l'amplification de la synthèse protéique.

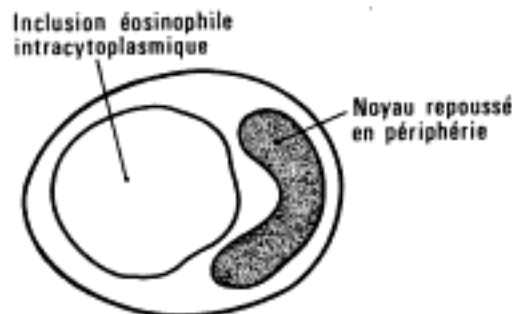
## E. Cinquième étape

Les particules virales vont être assemblées ; des polymères de VP<sub>0</sub>, VP<sub>1</sub> et VP<sub>3</sub> s'associent pour former une procapside dans laquelle pénètre un ARN génomique (+) ; le clivage de VP<sub>0</sub> en VP<sub>2</sub> et VP<sub>4</sub> assure la fermeture de la procapside en capside dont les protéines capsidales sont donc formées des peptides VP<sub>1</sub>, VP<sub>2</sub>, VP<sub>3</sub> et VP<sub>4</sub>.

Les nucléocapsides virales s'accumulent dans le cytoplasme de la cellule, réalisant parfois des amas pseudocristallins. La cellule finit par éclater et les virions passent dans les espaces intercellulaires.

Cette multiplication entraîne une anomalie cellulaire décelable en microscopie photonique et utilisable au laboratoire pour le diagnostic virologique : l'effet cytopathogène ou ECP. Dans le cas du virus de la poliomyélite, l'isolement chez le malade se fait à partir de selles ; celles-ci sont mises en culture au laboratoire sur un système cellulaire adapté ; la multiplication virale entraîne en 24 heures un arrondissement des cellules qui se détachent du tapis sous-jacent (ECP à l'état frais) ; si l'on fixe ces cellules et si on les colore par l'hémalun-éosine, on peut apprécier l'ECP après coloration : on distingue une volumineuse inclusion éosinophile intracytoplasmique correspondant à l'accumulation des nucléocapsides et qui repousse le noyau en périphérie (fig. 3.4).

► **Fig. 3.4.** Effet cytopathogène (ECP) en microscopie photonique. ►



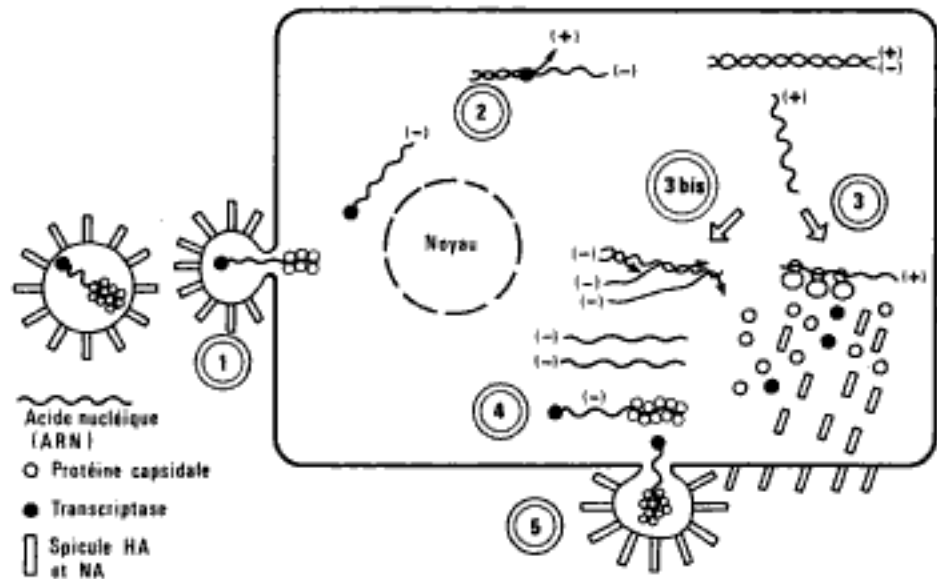
## II. VIRUS À ARN (-)

### A. Virus Sendai

Découvert au Japon, ce virus appartient à la famille des *Paramyxoviridae*, genre paramyxovirus ; d'origine murine, il est apparenté aux parainfluenzae humains.

Ce virus possède un ARN monocaténaire (-) associé à une transcriptase dans une capside hélicoïdale ; la nucléocapside est enveloppée et cette enveloppe porte des spicules d'information virale à activités hémagglutinante et neuraminidase (HA et NA) (fig. 3.5).

► **Fig. 3.5.** Réplication du virus Sendaï. ►



### 1. Première étape

Le virus se fixe grâce à son hémagglutinine sur un récepteur cellulaire, il y a fusion entre l'enveloppe virale et la membrane cytoplasmique ; la nucléocapside entre dans le cytoplasme de la cellule et la capside est dégradée ; il y a libération de l'acide nucléique viral associé à sa transcriptase.

### 2. Deuxième étape

La transcriptase synthétise un brin d'ARN (+) sur la matrice génomique ARN (-) ; il y a donc apparition d'un ARN bicaténaire.

### 3. Troisième étape

L'ARN (+) est traduit en protéines virales par les polyribosomes cellulaires (stade 3) ; les protéines structurales et enzymatiques du virus apparaissent et sont mises en réserve.

L'ARN (+) sert de matrice pour la synthèse de nombreux ARN (-) (stade 3bis) car, à l'inverse du poliovirus, c'est de brins (-) dont le virus Sendaï aura besoin comme ARN génomique.

### 4. Quatrième étape

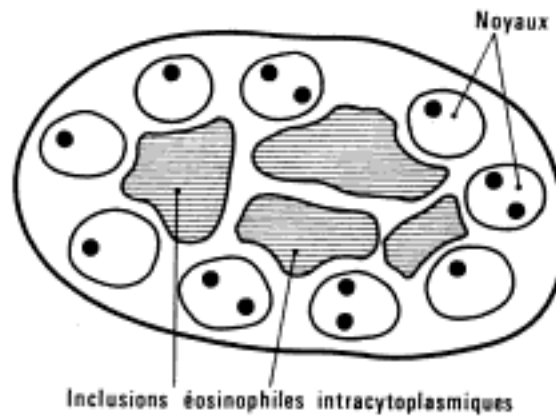
L'ARN (-) s'associe à la transcriptase puis les protéines capsidales réalisent l'encapsidation. La nucléocapside hélicoïdale ainsi constituée migre vers la membrane cytoplasmique déjà recouverte de spicules viraux.

## 5. Cinquième étape

La nucléocapside traverse la membrane cytoplasmique de la cellule et acquiert, au passage, son enveloppe hérissée de spicules viraux : c'est le phénomène de bourgeonnement. Les virus synthétisés quittent alors la cellule infectée pour gagner d'autres cellules cibles.

Au total, la multiplication est plus lente que celle du poliovirus ; l'ECP est parfois apparent et correspond alors à la fusion de plusieurs cellules aboutissant à ce que l'on nomme syncytia ; la coloration à l'hémalun-éosine permet d'observer des inclusions éosinophiles intracytoplasmiques (fig. 3.6).

► Fig. 3.6. Syncytium. ►



Souvent, l'ECP n'est pas appréciable et il faut utiliser un artifice pour détecter la présence virale : on met en présence le surnageant de la culture avec des hématies, l'hémagglutinine virale entraînant alors une hémagglutination visible ; les hématies peuvent, de même, se fixer sur les cellules infectées : c'est l'hémadsorption (HAD).

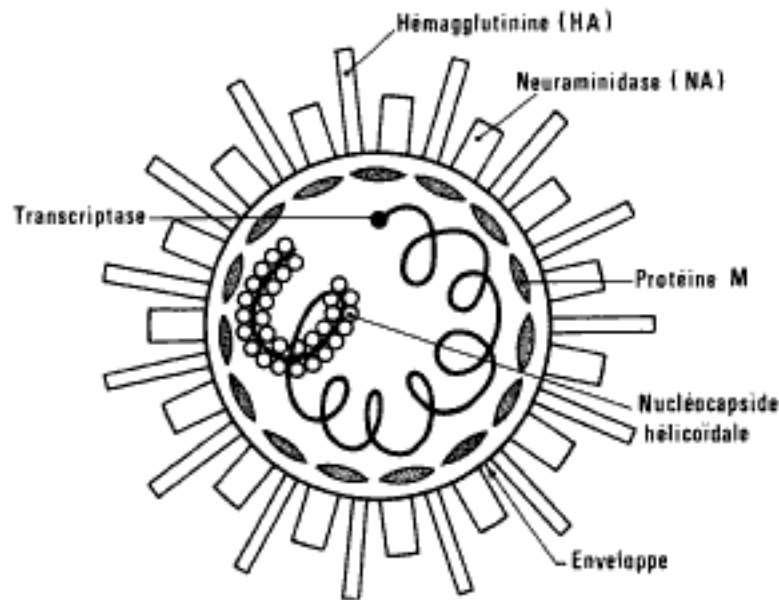
## B. Virus de la grippe

La structure du virus grippal est schématisée dans la figure 3.7. L'ARN génomique est un ARN monocaténaire (–) en 8 fragments. Ces huit fragments codent dix protéines dont trois à activité polymérasique, l'hémagglutinine (HA), la neuraminidase (NA) la nucléoprotéine (NP) ; le fragment génomique M code, grâce à un changement de cadre de lecture, deux protéines : M1 et M2, M1 s'accumulant sous la membrane cytoplasmique de la cellule et dirigeant le bourgeonnement tandis que M2 est intégrée dans la particule virale et est à l'origine de la décapsidation ; de même, le fragment génomique NS code deux protéines dont NS1, qui sont retrouvées au niveau du noyau cellulaire, ne sont pas incorporées à la particule virale et jouent un rôle dans la régulation de la réplication. Il faut souligner d'emblée que cette structure génomique fragmentée favorise la recombinaison entre souches grippales et l'on verra que ce phénomène est à l'origine de la variabilité antigénique des souches grippales de type A. La réplication est schématisée en figure 3.8.

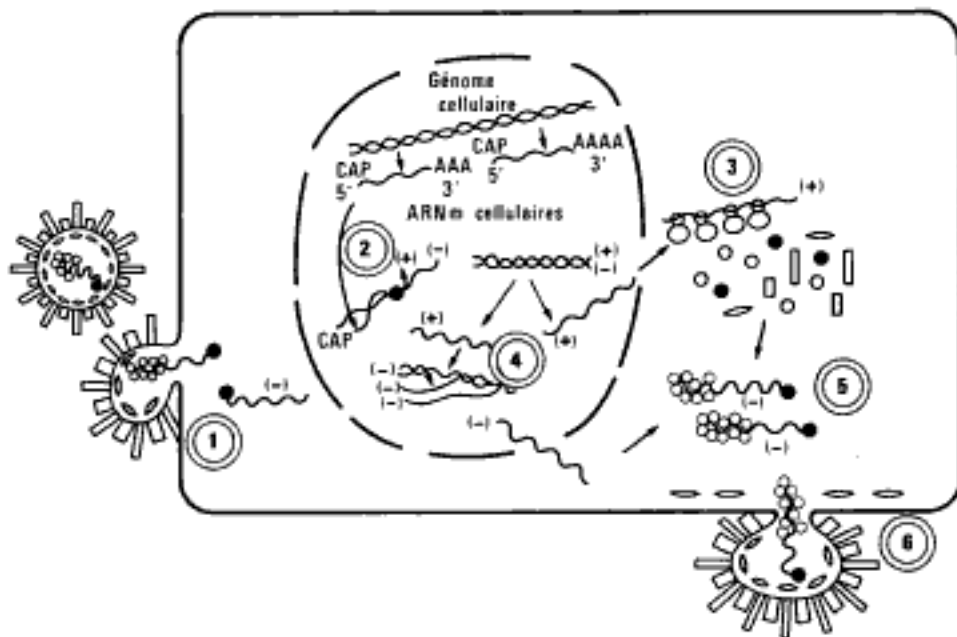
### 1. Première étape

Le virus se fixe grâce à son HA sur un récepteur cellulaire (acide sialique), comme cela a été décrit précédemment pour le virus Sendai ; il y a fusion entre l'enveloppe virale et la membrane cytoplasmique de la cellule. La nucléocapside

► **Fig. 3.7.** Structure du virus grippal. ►



► **Fig. 3.8.** Réplication du virus grippal. ►



est libérée dans le cytoplasme, la décapsidation est réalisée grâce à la protéine M2 qui est traversée par un flux de protons (canal à protons) et l'ensemble ARN viral transcriptase migre dans le noyau.

## 2. Deuxième étape

Avant de décrire cette étape de transcription, il est nécessaire de rappeler que les ARNm cellulaires possèdent une coiffe (CAP, 7-méthylguanosine) à l'extrémité 5' et un poly (rA) en position 3'. Le CAP sert au positionnement des ribosomes sur l'ARNm, le poly (rA) stabilisant l'ARNm pour qu'il soit dégradé moins rapidement dans la cellule.

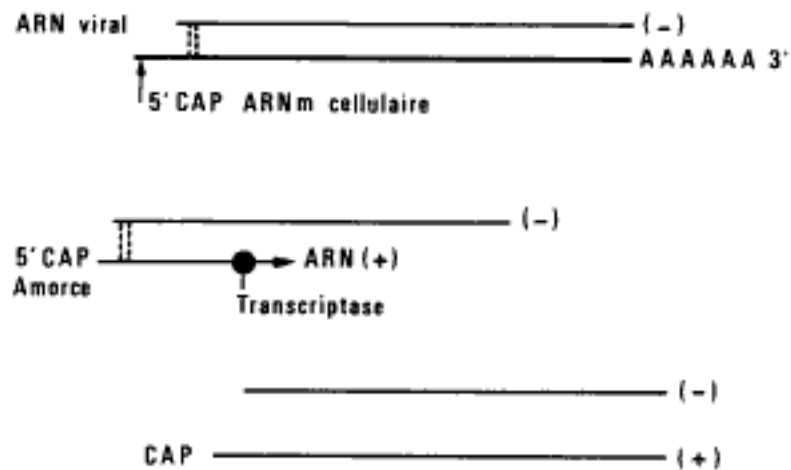
L'ARN génomique viral étant (-), il doit être transcrit en ARN (+) par la transcriptase virale ; cependant, celle-ci ne peut débuter la transcription sur la matrice (-) qu'à partir d'une amorce ; cette amorce correspond à l'extrémité 5'

CONNAISSANCES – I. VIROLOGIE GÉNÉRALE

d'un ARNm cellulaire ; en effet, un ARNm cellulaire vient s'accrocher par son extrémité 5' à l'ARN viral (-) ; la partie 3' de cet ARNm est dégradée ; l'extrémité 5' sert alors d'amorce à la transcriptase qui synthétise un ARN (+) (fig. 3.9).

En bloquant l'ARN polymérase ADN-dépendante cellulaire par l'actinomycine D dans les premières heures de la réplication du virus grippal, on inhibe l'apparition d'ARNm cellulaires *de novo* donc le processus d'amorçage et par conséquent la transcription virale.

► Fig. 3.9. Virus grippal : amorçage de la transcription par un ARNm cellulaire. ►



### 3. Troisième étape

L'ARN (+) ainsi pourvu de l'extrémité 5' d'un ARNm – et en particulier du CAP – passe dans le cytoplasme et joue le rôle d'ARNm pour les protéines virales.

### 4. Quatrième étape

L'ARN (+) peut également servir de matrice pour la synthèse d'ARN (-) génomique.

### 5. Cinquième étape

L'ARN (-) associé à la transcriptase est encapsidé ; la nucléocapside migre vers la périphérie cellulaire où la membrane cytoplasmique est hérissée de spicules.

### 6. Sixième étape

Le bourgeonnement se fait sous le contrôle de la protéine M1 ; le virion se dégage ensuite définitivement de la cellule infectée sous l'action de la neuraminidase.

Au total, deux éléments caractérisent la réplication du virus grippal : la participation du noyau cellulaire et la nécessité d'une fonction cellulaire (transcription pour fournir une amorce à la transcriptase virale). À noter également les fonctions spécifiques des protéines M2 et neuraminidase qui sont utilisées comme cibles thérapeutiques.

### III. RÉTROVIRUS

Les rétrovirus sont des virus à ARN possédant une enzyme capable d'effectuer la transcription de l'ARN génomique viral en ADN. Cette enzyme est nommée transcriptase inverse (TI) ou rétrotranscriptase (RT).

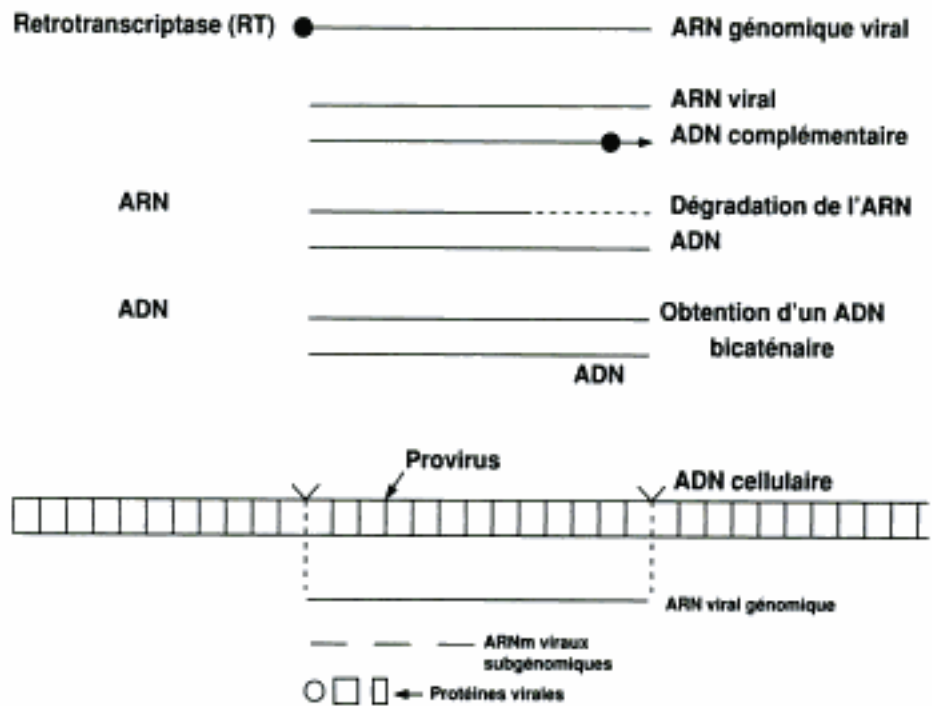
On distingue trois sous-groupes selon des critères de pathogénie et de phylogénie : les oncovirus associés à des cancers ou des leucémies ; les lentivirus responsables de pathologies d'évolution lente et toujours fatale ; les spumavirus dont on ignore l'implication pathologique.

La structure de base du génome, commune aux différents virus de la famille, comporte de 5' vers 3' les zones séquentielles suivantes : R, séquence non codante ; U5, séquence non codante unique en 5' ; PBS (*Primer binding site*), permettant l'accrochage d'un ARNt cellulaire qui va servir d'amorce à la TI ; *gag* (*group antigen*), séquence codant les protéines de structure du core (nucléocapside) ; *pol*, codant les protéines enzymatiques – TI, intégrase, protéase – ; *env*, codant les protéines d'enveloppe ; U3, séquence non codante unique en 3' ; *onc*, gène facultatif présent chez certains oncovirus animaux et qui est responsable du pouvoir transformant.

La réplication des rétrovirus est caractérisée par l'étape de transcription inverse ; en effet, après la fusion de l'enveloppe virale et de la membrane cellulaire, le core est dégradé et l'ARN viral va servir de matrice pour la synthèse d'un ADN bicaténaire ; cette synthèse débute au niveau d'un ARNt qui se positionne face au PBS ; la TI (qui possède une triple activité : ADN polymérase ARN-dépendante, ribonucléase H, ADN polymérase ADN-dépendante) va synthétiser un brin d'ADN complémentaire et générer ainsi un hybride ADN/ARN ; l'ARN est dégradé grâce à l'activité RNase H de la TI, puis un second brin d'ADN est synthétisé. L'ADN bicaténaire ainsi obtenu correspond à l'ADN proviral ; il passe dans le noyau de la cellule, se circularise puis est intégré dans le génome cellulaire grâce à l'intégrase.

Le provirus est stable et se comporte comme un gène cellulaire ; il peut rester latent ; il peut être activé par des facteurs viraux ou cellulaires et entre alors dans une phase active de réplication avec production de particules virales infectieuses. À partir de cet ADN proviral intégré sont transcrits des ARNm subgénomiques ainsi que des ARN génomiques qui seront les ARNs viraux encapsidés ; les ARNm sont traduits en protéines structurales, enzymatiques et de régulation ; les ARN viraux accompagnés de la TI sont assemblés avec les protéines structurales internes pour former le core ; celui-ci va bourgeonner à travers la membrane cytoplasmique de la cellule et incorporer dans l'enveloppe ainsi acquise des protéines viraux d'enveloppe (fig. 3.10).

► **Fig. 3.10.** Réplication des Rétrovirus. ►



### ① Points clés

La réplication des virus à ARN aborde les virus à ARN positif (directement messager), les virus à ARN négatif, ainsi que les rétrovirus qui sont équipés d'une enzyme appelée transcriptase inverse et qui sont capables de synthétiser de l'ADN sur une matrice ARN.

# Réplication des virus à ADN

# 4

I. ADÉNOVIRUS  
II. HERPESVIRUS

III. POXVIRUS  
IV. HÉPADNAVIRUS

## INTRODUCTION

La réplication des virus à ADN a le plus souvent lieu dans le noyau cellulaire où des enzymes cellulaires pourront alors être impliquées. On distingue une phase précoce avec transcription d'ARNm viraux précoces et traduction de protéines précoces ; celles-ci sont principalement des protéines régulatrices et enzymatiques non structurales. La duplication du matériel génétique, grâce à une ADN polymérase, va précéder la phase tardive où, sur les génomes néoformés, vont être transcrits les ARNm tardifs dont la traduction va générer des protéines tardives, en majorité structurales.

Nous aborderons la réplication des adénovirus, des herpesvirus ainsi que les particularités de la réplication des poxvirus et du virus de l'hépatite B.

## I. ADÉNOVIRUS

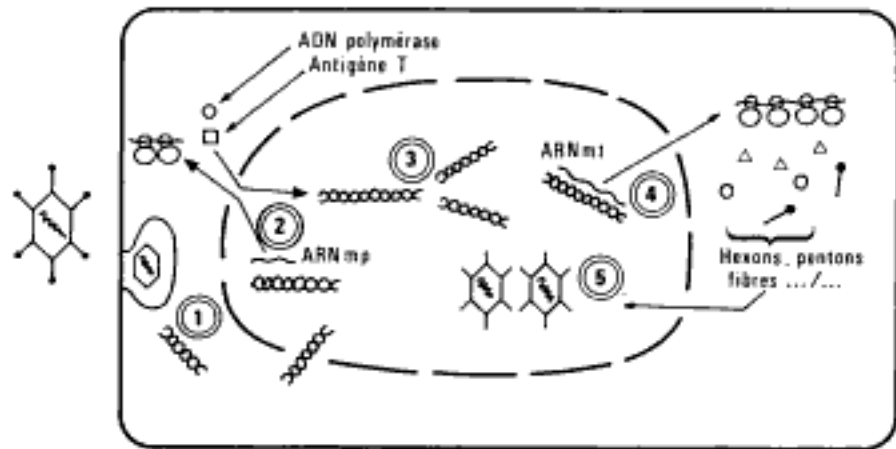
La particule virale contient un ADN linéaire bicaténaire lié de façon covalente à une protéine de 55 kDa ; l'ensemble est associé à des protéines basiques de type histone dans un nucléoïde protégé par une capsidie icosaédrique de 252 capsomères (12 pentons, 240 hexons) sans enveloppe ; chacun des 12 pentons est porteur d'un spicule à activité hémagglutinante.

Le cycle lytique (fig. 4.1) aboutit à la destruction de la cellule cible en 24 à 72 heures.

Le virus se fixe sur la cellule par reconnaissance entre un site spécifique et un spicule puis pénètre dans la cellule par pinocytose. La décapsidation a lieu de façon non spécifique dans le cytoplasme ; le nucléoïde migre vers le noyau dans lequel il pénètre (fig. 4.1, 1).

La phase précoce (fig. 4.1, 2) va alors débiter par la transcription d'ARNm précoces viraux (par une ARN polymérase ADN-dépendante cellulaire) ; une partie seulement de l'information génétique virale est transcrite ; les ARNm correspondants sont maturés comme les messagers cellulaires. Les ARNm viraux passent dans le cytoplasme pour être traduits par les ribosomes cellulaires en une quinzaine de protéines dont l'antigène T (associé à l'apparition d'une tumeur liée aux adénovirus chez la souris et le hamster) et une protéine de 72 kD qui va protéger les ADN viraux des nucléases cellulaires.

► **Fig. 4.1.** Réplication des adénovirus. ►



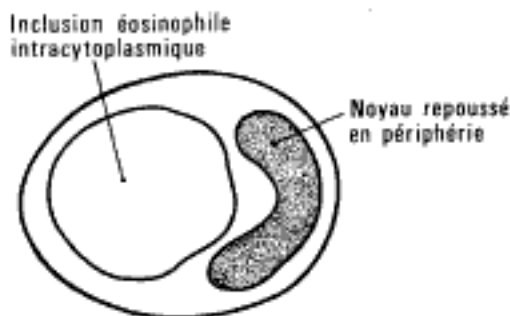
L'ADN viral entre dans sa phase de duplication (fig. 4.1, 3) grâce à l'intervention d'une ADN polymérase cellulaire ; les ADN viraux néoformés s'accumulent dans le noyau.

La phase tardive de transcription (fig. 4.1, 4) va générer des ARNm qui sont traduits en protéines, principalement de structure, dans le cytoplasme.

L'assemblage viral a lieu dans le noyau (fig. 4.1, 5) ; la polymérisation des hexons amorce l'élaboration de la capsid dont la maturation va être achevée après pénétration de l'ADN viral et positionnement des pentons porteurs de leur fibre. Les virions accumulés seront libérés par la lyse de la cellule.

Sur certains types cellulaires l'ECP à l'état frais est constitué de l'apparition de mailles dans le tapis cellulaire infecté ; après coloration à l'hémalum-éosine, on distingue des noyaux dont la chromatine est rétractée au centre et reliée à la périphérie par des cloisons de refend séparant des inclusions basophiles (fig. 4.2).

► **Fig. 4.2.** Effet cytopathogène des adénovirus. ►



## II. HERPESVIRUS

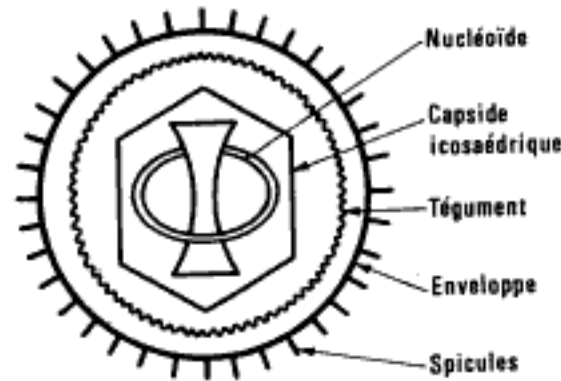
Il s'agit d'une famille de virus très importants sur le plan pathologique chez l'homme ; on y décrit les *Herpes simplex virus* de types 1 et 2 (HSV-1 et HSV-2), le virus de la varicelle et du zona (VZV), le cytomegalovirus (CMV), le virus d'Epstein-Barr (EBV) et plus récemment un sixième (HHV-6 : *Human herpesvirus 6*), septième (HHV-7) et huitième (HHV-8) virus.

Nous présenterons ici les principaux caractères de la réplique de HSV.

Le virus est constitué d'un ADN bicaténaire linéaire sous forme de cercle entourant un axe protéique central (l'ensemble est appelé nucléoïde), dans une cap-

side icosaédrique de 162 capsomères ; cette capsidite est séparée de l'enveloppe périphérique par une structure fibrillaire (le tégument) ; l'enveloppe porte des spicules courts qui n'ont pas d'activité hémagglutinante ; la particule virale a une taille de 150 à 200 nm (fig. 4.3).

► Fig. 4.3. Schéma de l'HSV. ►

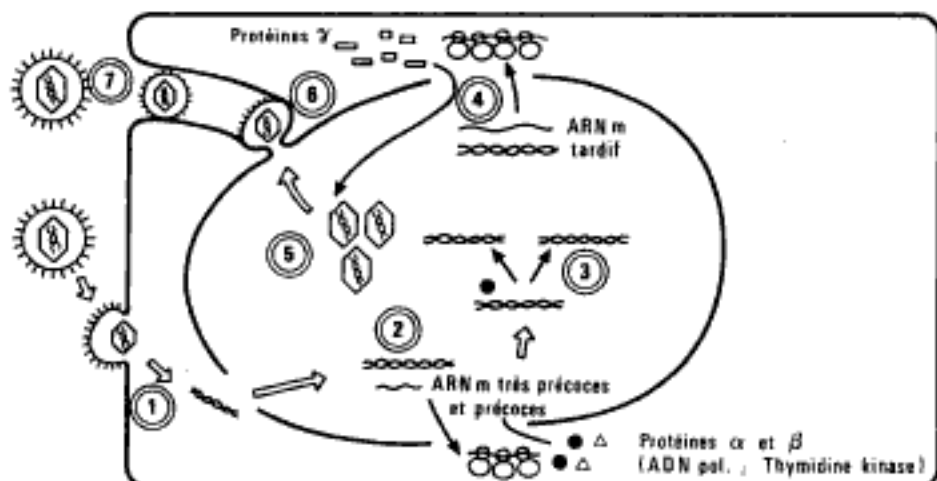


Schématiquement, la multiplication de HSV va suivre les grandes étapes décrites pour les adénovirus (fig. 4.4).

Le virus se fixe sur la cellule cible ; il y a fusion de l'enveloppe virale et de la membrane cytoplasmique, décapsidation et migration du nucléoïde vers le noyau (fig. 4.4, 1). Une transcription très précoce et précoce (fig. 4.4, 2) va générer des protéines  $\alpha$  et  $\beta$  correspondant notamment à des enzymes dont une ADN polymérase et une thymidine kinase (on verra plus loin l'importance de cette enzyme dans la chimiothérapie spécifique de l'infection par HSV et VZV). La duplication de l'ADN a alors lieu (fig. 4.4, 3). La phase tardive de transcription (fig. 4.4, 4) va générer des protéines  $\gamma$  qui sont des protéines de structure, en particulier capsidales. La nucléocapsidite est assemblée dans le noyau (fig. 4.4, 5) puis va s'envelopper aux dépens de la membrane interne de l'enveloppe nucléaire (fig. 4.4, 6) avant de cheminer vers la périphérie cellulaire dans les canaux du réticulum endoplasmique (fig. 4.4, 7).

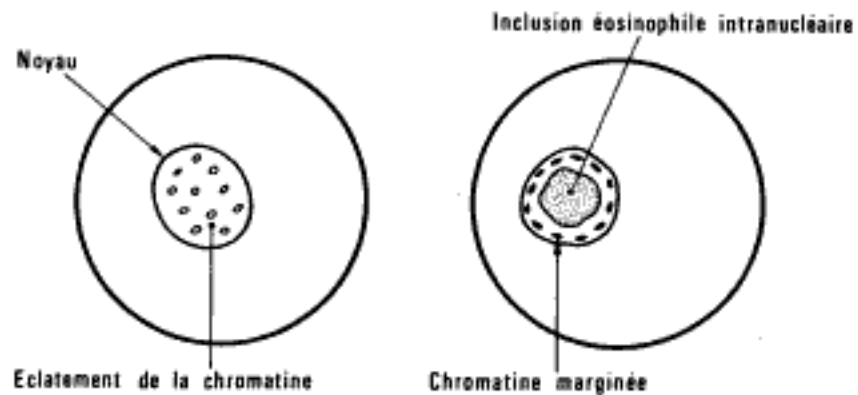
L'ECP se caractérise par un arrondissement des cellules infectées qui se détachent du tapis sous-jacent ; après coloration, on observe un éclatement de la chromatine ; cette chromatine va marginer en périphérie du noyau sous la pres-

► Fig. 4.4. Réplication de l'HSV. ►



sion d'inclusions éosinophiles intranucléaires qui correspondent aux nucléocapsides icosaédriques virales (fig. 4.5).

► **Fig. 4.5.** Effet cytopathogène de l'HSV. ►



### III. POXVIRUS

Deux virus intéressent plus particulièrement l'homme : le virus de la variole et celui de la vaccine ; grâce à l'utilisation de la vaccine (« vaccination » au sens premier du terme) la variole, a été la première maladie virale humaine éradiquée.

Ces virus possèdent un ADN génomique linéaire de  $160 \times 10^6$  Da, dans une capsidie en forme d'haltère, l'ensemble étant dans une enveloppe rectangulaire de grande dimension ; entre la nucléocapside et l'enveloppe, on note la présence de deux corps latéraux.

La réplication est représentée sur la figure 4.6.

Deux particularités sont à souligner :

- la réplication a lieu dans le cytoplasme de la cellule et le virus doit donc posséder l'information génétique nécessaire à la synthèse des enzymes de réplication (ADN polymérase...)
- après adsorption et pénétration par pinocytose, une étape de transcription de l'ADN viral est réalisée par une ARN polymérase ADN-dépendante constitutive virale à l'intérieur même de la nucléocapside et aboutit, entre autres, à la synthèse d'une décapsidase qui digère la nucléocapside et libère l'ADN viral. Contrairement à ce que nous avons vu précédemment pour les autres virus, la décapsidation est, ici, spécifique.

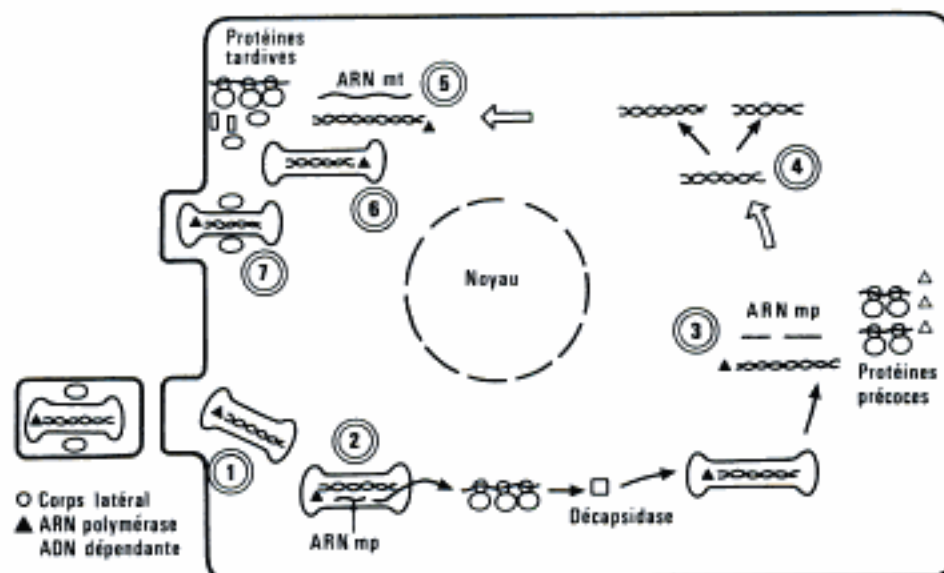
### IV. HÉPADNAVIRUS

La réplication de ces virus auxquels appartient le virus de l'hépatite B (VHB) est particulièrement complexe. Comme nous l'avons déjà noté précédemment, le génome viral est constitué d'un ADN circulaire dont le brin interne est incomplet. La particule virale possède, associée à l'ADN, une ADN polymérase qui va compléter le brin interne de l'ADN génomique et générer un ADN bicaténaire super-enroulé (fig. 4.7a).

L'ADN ainsi constitué va être transcrit en ARNm subgénomiques pour la synthèse protéique (avec un recouvrement des phases de lecture augmentant ainsi les capacités de codage) et en un ARN (+) génomique.

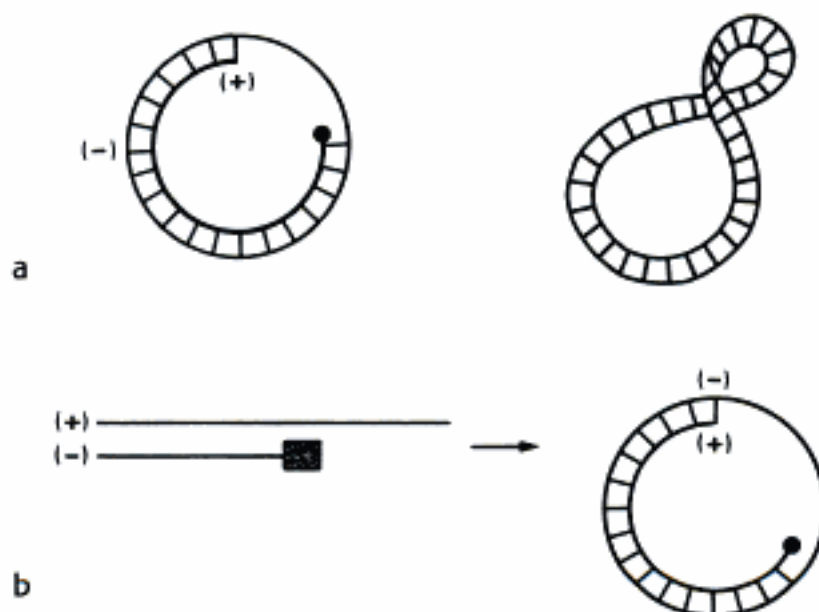
► **Fig. 4.6.** Réplication des Poxvirus.

1. Fixation, entrée, libération de la nucléocapside.
2. Décapsidation spécifique et libération de l'ADN.
3. Transcription des ARNm précoces et traduction des protéines précoces.
4. Duplication de l'ADN.
5. Transcription des ARNm tardifs et traduction des protéines tardives.
6. Assemblage de la nucléocapside.
7. Bourgeonnement.



► **Fig. 4.7.** Étapes de la réplication des Hepadnavirus.

- a. Complétion du brin interne de l'ADN génomique et superenroulement.
- b. Réplication de l'ADN génomique à partir de l'ARN (+).



Cet ARN (+) sert de matrice à une RT virale qui synthétise un brin d'ADN (-) ; ce brin d'ADN (-) circularisé servira alors de matrice à l'ADN polymérase qui synthétise le brin complémentaire (+) sur les trois quarts du cercle (fig. 4.7b). On obtient ainsi l'ADN génomique du VHB.

### ① Points clés

La réplication des virus à ADN est décrite pour différents virus (adénovirus, herpesvirus, poxvirus) et elle aborde le modèle particulier des hépadnavirus (hépatite B).

## 5

# Chimiothérapie antivirale

I. ATTACHEMENT ET PÉNÉTRATION  
II. SYNTHÈSE PROTÉIQUE

III. ACIDES NUCLÉIQUES VIRAUX ET ENZYMES DE RÉPLICATION  
IV. AVENIR DE LA CHIMIOTHÉRAPIE ANTIVIRALE

Ce chapitre ne concerne pas la chimiothérapie antirétrovirale qui est traitée au sein du chapitre consacré aux rétrovirus (chapitre 22) et plus précisément dans les sections concernant le VIH. On peut présenter les principales molécules en tenant compte de leur point d'impact dans le cycle de réplication virale.

## I. ATTACHEMENT ET PÉNÉTRATION

### A. Amantadine et rimantadine

Ces deux molécules sont constituées d'un cycle de 10 carbones surmonté par un groupement d'hydroxychlorure d'ammonium ( $\text{NH}_2\text{-HCl}$ ) ; dans le cas de la rimantadine, ce groupement est précédé par un pont méthyle ( $\text{H-C-CH}_3$ ) ; les deux molécules sont actives sur les virus influenza de type A en bloquant le canal ionique de la protéine virale M2, son aptitude à moduler le pH intracellulaire et à participer à la décapsidation virale. Elles ont été utilisées dans la prévention et le traitement de la grippe A ; les posologies pour les adultes sont de 100 mg/j (*per os*) pendant 5 jours pour l'amantadine et de 200 mg/j pendant 5 à 7 jours pour la rimantadine. La biodisponibilité est supérieure à 90 % avec une demi-vie de 10-30 heures pour l'amantadine et de 25-36 heures pour la rimantadine ; les effets secondaires sont plus importants chez les sujets de plus de 60 ans : il s'agit de nausées et d'anorexie voire plus rarement de troubles du système nerveux central. L'élimination de l'amantadine est rénale tandis que la rimantadine est métabolisée dans le foie.

### B. Zanamivir et oseltamivir

Ces molécules inhibent l'activité neuraminidase des virus influenza de types A et B ; ceci entraîne une diminution voire une suppression du détachement des virions néosynthétisés de la surface des cellules infectées ; la dissémination virale est ainsi diminuée. Le zanamivir est administré par inhalation tandis que l'oseltamivir est utilisable *per os* ; les deux molécules doivent être utilisées aussi vite que possible au cours de l'infection grippale (dans les deux jours suivant le début de l'infection) ; la durée de synthèse virale est diminuée ainsi que l'importance et la durée des signes cliniques (céphalées, angine, fièvre, arthralgies). Au total, on considère que la durée de la maladie est réduite de 2 à 3 jours ; en outre, il semble que la fréquence des complications soit diminuée.

## II. SYNTHÈSE PROTÉIQUE

### A. Interféron $\alpha$

Les interférons naturels sont des protéines cellulaires glycosylées induisant des enzymes cellulaires interférant avec la synthèse protéique virale. L'interféron  $\alpha$  utilisé en thérapeutique est obtenu par recombinaison et a un poids moléculaire de 19 000 ; sa biodisponibilité orale est nulle et il doit être injecté par voie intramusculaire ou sous-cutanée. L'effet antiviral *in vivo* est complexe et résulte d'une inhibition de la transcription virale et de la traduction des protéines virales mais aussi d'une augmentation de l'immunité cellulaire. L'interféron  $\alpha$  est utilisé dans le traitement des hépatites chroniques virales B et C, dans les infections à papillomavirus (papillome laryngé juvénile) et à HHV-8 (sarcome de Kaposi). Pour l'hépatite chronique B, la posologie est de 5 millions d'unités/j ou 10 millions 3 fois/semaine associées à 100 mg/j (*per os*) de lamivudine (cf. *Lamivudine* p. 30, et *Chimiothérapie antirétrovirale* au chapitre 22) pendant un an. Pour l'hépatite chronique C, la posologie de base est de 3 millions d'unités 3 fois/semaine associées à 500-600 mg (*per os*) 2 fois/j de ribavirine pendant 6 mois ; cependant, des paramètres virologiques — et en particulier le génotype viral 1 — amènent à augmenter les doses d'interféron et à prolonger le traitement pour une durée d'un an.

### B. Ribavirine

Cet analogue de la guanosine doit être triphosphorylé puis interfère avec des événements précoces de la transcription virale tels que l'acquisition de la coiffe et l'élongation des ARN messagers viraux. La ribavirine est utilisée dans le traitement d'infections liées à des virus à ARN : virus respiratoire syncytial (VRS), virus de l'hépatite C (VHC), virus associés à des fièvres hémorragiques (fièvre de Lassa, fièvre hémorragique avec syndrome rénal [FHSR]). Cette molécule peut être administrée *per os*, par voie intraveineuse ainsi que par aérosol (dans le cas du VRS). La biodisponibilité orale est de 32 % et la demi-vie plasmatique de 30 à 60 heures. L'effet secondaire le plus souvent noté est une anémie. La ribavirine est efficace par aérosol chez des enfants hospitalisés pour une infection à VRS ; cependant, il existe une autre stratégie avec une prophylaxie par immunoglobulines spécifiques anti-VRS pendant la saison des infections respiratoires chez des enfants fragiles.

## III. ACIDES NUCLÉIQUES VIRAUX ET ENZYMES DE RÉPLICATION

La plupart des molécules rencontrées ici sont des formes modifiées (analogues) de nucléosides (nucléoside : base purique ou pyrimidique associée à un sucre) ; cette modification peut porter sur la base (analogue de base) ou sur le sucre (analogue de sucre). La molécule ainsi modifiée peut participer à l'inhibition compétitive (avec le composé normal) de l'enzyme de réplication, par exemple l'ADN polymérase.

## A. 5-iodo-désoxyuridine (IdU) et trifluorothymidine (TFT)

Ces analogues de bases sont efficaces sur la réplication de HSV ; cependant, du fait de leur toxicité par voie générale, ils ne peuvent être utilisés que localement, par exemple sous forme de collyre devant une kératite herpétique.

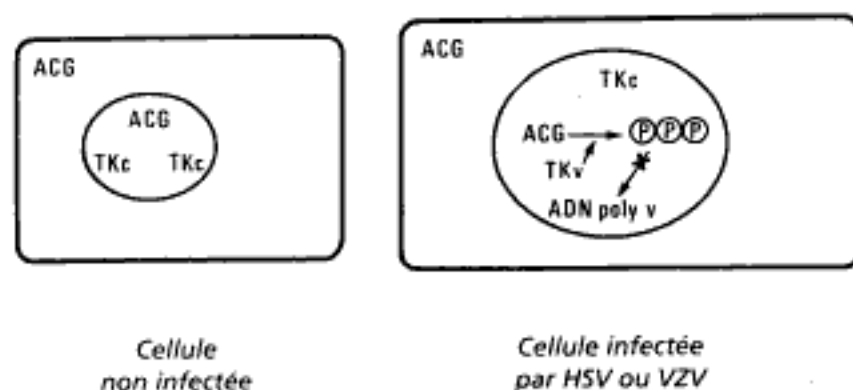
## B. Cytosine arabinoside et adénine arabinoside (Ara-A, vidarabine, *Vira-A*)

Ces analogues de sucre (le désoxyribose est remplacé par l'arabinose) sont actifs sur HSV et VZV. La vidarabine a été la première molécule utilisée par voie veineuse pour le traitement de l'encéphalite temporale nécrosante aiguë liée à HSV. La vidarabine a été également utilisée dans le traitement de l'hépatite B chronique mais la prise en charge actuelle fait maintenant appel à l'interféron  $\alpha$  et à la lamivudine.

## C. Acycloguanosine (aciclovir, *Zovirax*)

Il s'agit de la première molécule antivirale spécifique quasiment dépourvue d'effet toxique sur la cellule normale. L'aciclovir est un analogue de la 2'-désoxyguanosine ; pour être active, elle doit d'abord être monophosphorylée puis di- et triphosphorylée ; la première étape de phosphorylation ne peut pas être réalisée par la thymidine kinase cellulaire ; en revanche, dans une cellule infectée par HSV ou VZV, la thymidine kinase virale est capable de monophosphoryler l'acycloguanosine (ACG  $\rightarrow$  ACG-P) ; l'ACG-P est ensuite di- puis triphosphorylée ; l'ACG-P-P-P va inhiber la synthèse de l'ADN viral en entrant en compétition avec la 2'-désoxyguanosine-P-P-P pour l'accès à l'ADN polymérase ; de plus elle va être incorporée dans la chaîne d'ADN sans pouvoir en être excisée par la 3',5' exonucléase et entraîne ainsi l'inactivation de l'ADN polymérase (fig. 5.1). L'ACG-P-P-P est 50 fois plus active sur l'ADN polymérase virale que sur l'ADN polymérase  $\alpha$  cellulaire ce qui explique sa très faible toxicité. La concentration inhibitrice 50 (CI50) est de 0,1  $\mu$ M pour HSV-1, 0,4  $\mu$ M pour HSV-2, 2,6  $\mu$ M pour VZV et 47,1  $\mu$ M pour le CMV ; la biodisponibilité orale est de 10-20 % avec une demi-vie plasmatique de 2-3 heures. La toxicité est faible avec en particulier une peu fréquente néphropathie réversible liée à la cristallisation de la molécule dans les tubules rénaux après une administration de hautes doses par voie veineuse. L'herpès labial ou génital peut être traité par 200 mg d'aciclovir *per os* 5 fois/j ou 400 mg 3 fois/j pendant 5 jours. Chez un sujet présentant une encéphalite herpétique, l'aciclovir doit être utilisée par voie IV à une dose de 10-15 mg/kg toutes les 8 heures pendant 14 à 21 jours ; dans le cas d'un herpès néonatal, les mêmes doses que celles précédemment citées sont employées par voie veineuse pour une durée de 14 jours. Chez un patient immunodéprimé avec une infection cutanéomuqueuse herpétique, le traitement recommandé est de 5 mg/kg par voie IV toutes les 8 heures pendant 7 jours, un traitement alternatif étant de 400 mg *per os* 5 fois/j pendant 10 jours. La varicelle chez un sujet immunocompétent peut être traitée avec 20 mg/kg d'aciclovir *per os* 4 fois/j pendant 5 jours ; les adolescents et adultes représentant des cas secondaires à l'intérieur d'une famille doivent bénéficier de ce traitement. Lorsque l'infection varicelleuse survient dans un contexte d'immunodépression, l'aciclovir est utilisé par voie IV à une dose de 10 mg/kg

► **Fig. 5.1.** Mode d'action de l'acyclovir. ►



toutes les 8 heures pendant 7-10 jours et est associé à l'injection intramusculaire d'immunoglobulines spécifiques. Les patients présentant un zona doivent être traités car on obtient ainsi une diminution de la durée d'évolution des lésions et une diminution de la douleur post-zostérienne ; dans l'ensemble, on traite les sujets de plus de 50 ans mais, dans le cas d'une possible atteinte ophtalmique, on traitera quel que soit l'âge du malade ; l'acyclovir est alors utilisé *per os* à la posologie de 800 mg 5 fois/j pendant 7 jours ; lorsqu'une immunodépression est associée, la molécule est injectée par voie IV à la dose de 10 mg/kg toutes les 8 heures pendant 7 jours ; chez des patients bénéficiant d'une greffe (rein, foie, moelle osseuse), un traitement prophylactique est entrepris pendant 3 mois après la transplantation avec des doses orales de 400 à 800 mg 4 fois/j ce qui permet de lutter contre les résurgences de VZV et CMV.

## D. Valaciclovir

Cet ester L-valyle de l'acyclovir n'est disponible que par voie orale ; sa biodisponibilité est largement supérieure à celle de l'acyclovir (plus de 50 %) et ses indications sont proches de celles de l'acyclovir : infections à HSV, VZV et prophylaxie de l'infection à CMV.

## E. Ganciclovir (Cymévan)

Cette molécule diffère de l'acyclovir par l'adjonction d'un groupement hydroxyméthyle en position 3' de la partie acyclique. Le fait marquant est que cette molécule est phosphorylée par une phosphotransférase codée par le CMV dans la cellule infectée ; le ganciclovir est donc un traitement de choix de l'infection à CMV. Il est utilisé à la posologie de 5 mg/kg 2 fois/j par voie IV pendant 14 à 21 jours. Chez les transplantés, il est administré à titre prophylactique soit par voie IV soit *per os* ; la dose IV est alors de 5 mg/kg 5 à 7 j/semaine pendant 3 mois chez les greffés de cœur, de foie et de moelle osseuse ; dans ce dernier cas, on ne débute pas le traitement avant la greffe car la molécule entraîne une granulocytopenie.

## F. Penciclovir

Très proche structurellement du ganciclovir, il n'est disponible actuellement que sous forme topique pour le traitement de l'herpès labial.

## G. Famciclovir

C'est l'analogue diacétyl-6-désoxy du penciclovir ; sa biodisponibilité orale est de 77 % et la demi-vie du dérivé triphosphate intracellulaire est de 7 à 20 heures suggérant ainsi la possibilité de l'utiliser en une seule dose journalière. Il est actif sur HSV et VZV ; son éventuel effet sur VHB mérite d'être approfondi.

## H. Foscarnet (*Foscavir*)

Le foscarnet est un analogue du pyrophosphate ; il forme un complexe avec l'ADN polymérase au site de fixation du pyrophosphate empêchant ainsi la séparation entre pyrophosphate et nucléoside triphosphate et inhibant l'extension. Il n'est pas utilisable *per os* ; il est donc utilisé par voie IV lors des infections à CMV ainsi que face à des souches d'HSV et de VZV résistantes à l'aciclovir. Pour la maladie à CMV, les doses sont de 60 mg/kg toutes les 8 heures pendant 14 à 21 jours ; pour les infections liées à des souches d'HSV résistantes à l'aciclovir, la posologie est de 40 mg/kg 2-3 fois/j pendant 7 à 21 jours. Les effets secondaires sont principalement une insuffisance rénale ainsi qu'un déséquilibre électrolytique (en particulier une hypocalcémie) qui nécessitent une réduction de dose avec une surveillance rigoureuse de la fonction rénale.

## I. Lamivudine

La lamivudine est un analogue pyrimidique qui est actif sur la transcriptase inverse du VIH-1 ainsi que sur l'ADN polymérase du VHB. Sa biodisponibilité orale est de 86 % et sa demi-vie plasmatique de 5 à 7 heures. Comme nous l'avons indiqué précédemment, elle est utilisée en association avec l'interféron  $\alpha$  dans le traitement de l'hépatite B chronique. Les effets secondaires (rarement rencontrés) sont une acidose lactique avec une hépatomégalie accompagnée d'une stéatose ; on note une interférence avec la fonction mitochondriale.

# IV. AVENIR DE LA CHIMIOTHÉRAPIE ANTIVIRALE

Dans la mesure où les virus sont des parasites intracellulaires obligatoires, l'émergence d'une chimiothérapie antivirale efficace sans être trop cytotoxique a longtemps été considérée comme une gageure ; cependant, de nets progrès ont été réalisés dans ce domaine et le développement d'une chimiothérapie antirétrovirale va probablement accélérer l'évolution déjà engagée. L'avenir dépend de l'émergence de nouvelles molécules avec des points d'impact différents et de l'utilisation d'associations médicamenteuses avec une meilleure efficacité sur la réplication virale et une meilleure maîtrise de la résistance virale ; en effet, comme nous le verrons de façon plus détaillée à propos du VIH (chapitre 22), l'échec thérapeutique est souvent lié à l'apparition de mutants viraux résistants qui vont acquérir, à l'intérieur d'une population sauvage sensible, un avantage sélectif et vont représenter à terme la population virale dominante. On sait déjà qu'il existe des souches grippales A résistantes à l'amantadine et à la rimantadine avec des mutations ponctuelles dans la séquence de la protéine de matrice M2 ; de même, à l'intérieur des herpesvirus, les souches d'HSV, VZV ou CMV qui sont mutées au niveau des enzymes induisant une phosphorylation

des analogues nucléosidiques de la guanosine, sont résistantes à l'aciclovir (HSV, VZV) ou au ganciclovir (CMV) ; dans ce cas le traitement de sauvetage est représenté par le foscarnet. Une des questions techniques posées à l'heure actuelle concerne les places respectives des tests phénotypique et génotypique pour la mise en évidence de la résistance virale ; si l'on se réfère à l'évolution de la prise en charge de la résistance lors d'une chimiothérapie antirétrovirale, on peut raisonnablement penser que l'avenir est à la détermination génotypique et que le séquençage, voire les techniques faisant appel à l'hybridation (*micro-arrays*), seront largement utilisées en routine dans les laboratoires de virologie spécialisés.

### **① Points clés**

Ce chapitre décrit les différentes molécules antivirales utilisables au niveau de l'attachement et de la pénétration, de la synthèse protéique et de la réplication des acides nucléiques viraux. Il n'aborde pas les antirétroviraux qui sont présentés dans le chapitre sur le VIH.

# 6

## Interféron

- I. PROPRIÉTÉS BIOLOGIQUES
- II. PROPRIÉTÉS PHYSICOCHIMIQUES ET ANTIGÉNIQUES
- III. MÉCANISME D'ACTION
- IV. PROPRIÉTÉS IMMUNOLOGIQUES ET ANTITUMORALES
- V. OBTENTION
- VI. UTILISATION THÉRAPEUTIQUE ET DOSAGE

Découvert en 1975 par Isaacs et Lindenmann au cours d'expérimentations sur le virus grippal, l'interféron (IFN) est une protéine d'information cellulaire, induite par une infection virale, et qui va conférer aux cellules un état de résistance non seulement au virus inducteur mais également aux autres virus. Comme nous le verrons plus loin, on décrit maintenant trois types d'interférons.

### I. PROPRIÉTÉS BIOLOGIQUES

#### A. Spécificité antivirale

Un interféron produit par un type cellulaire va donc être actif contre des virus différents.

#### B. Spécificité d'espèce

L'interféron produit par les cellules d'une espèce donnée ne protège pas les cellules d'une autre espèce ; il y a quelques exceptions, l'interféron humain, par exemple, exerçant un certain pouvoir protecteur sur des cellules de bovins. Ceci a une conséquence importante ; il est impossible d'utiliser de l'interféron produit par des cellules animales pour un traitement chez l'homme ; seul l'interféron humain doit, dans ce cas, être considéré.

### II. PROPRIÉTÉS PHYSICOCHIMIQUES ET ANTIGÉNIQUES

Inaffecté par les DNase et RNase, l'interféron est dépourvu d'acide nucléique ; il est inactivé par des enzymes protéolytiques ; il s'agit donc d'une protéine. Après la découverte du concept d'interféron, il a été montré qu'il existait en fait deux interférons, le premier (type I) étant antiviral et le second (type II) étant immunitaire ; de plus, à l'intérieur du type I, on distinguait l'interféron produit par les leucocytes de celui produit par les fibroblastes (tableau 6.1). Cette nomenclature a évolué et comprend actuellement trois types d'interférons :

- IFN  $\alpha$  (IFN type I leucocytaire) ;

- IFN  $\beta$  (IFN type I fibroblastique) ;
- IFN  $\gamma$  (IFN type II).

Les IFN  $\alpha$  et  $\beta$ , antigénétiquement distincts, ont la propriété d'être stables en milieu acide.

L'IFN  $\alpha$  a un PM de 15 000 à 21 000 Da et provient d'environ 18 gènes légèrement différents situés sur le chromosome 9 ; il est synthétisé par des cellules mononucléées (lymphocytes, monocytes).

L'IFN  $\beta$  est synthétisé par les fibroblastes épithéliaux et endothéliaux ; il s'agit d'une molécule unique glycosylée de 20 000 Da dont le gène est également situé dans le chromosome 9.

L'IFN  $\gamma$  est différent des deux précédents par ses propriétés biologiques et chimiques ; il est induit par des antigènes au sens large et est synthétisé par des lymphocytes T ; c'est une molécule glycosylée dont le gène est situé sur le chromosome 12.

**Tableau 6.1.** Nomenclature originelle des interférons et nouvelles dénominations.

Nom originel	Activité	Origine	Nom actuel
IFN type I	Antivirale	Leucocytaire	IFN $\alpha$
		Fibroblastique	IFN $\beta$
IFN type II	Immunitaire	Lymphocytaire	IFN $\gamma$

### III. MÉCANISME D'ACTION

Nous prendrons pour exemple le mécanisme de fonctionnement de l'IFN  $\alpha$  au sens large (sans prendre en considération le fait que sa synthèse dépend de 18 gènes). Le gène de l'IFN  $\alpha$  est réprimé dans la cellule normale.

Au cours d'une infection virale, des composants viraux (acide nucléique viral, protéine virale) vont dérprimer le gène IFN  $\alpha$  par un mécanisme encore inconnu ; le gène est transcrit en ARNm IFN  $\alpha$  qui est traduit en IFN  $\alpha$  et la cellule infectée devient productrice d'IFN  $\alpha$ . Il faut préciser que les meilleurs inducteurs d'IFN  $\alpha$  sont les ARN bicaténaires viraux qui apparaissent au cours du cycle de réplication de certains virus (grippal, par exemple) (fig. 6.1).

L'IFN  $\alpha$  passe dans les espaces intercellulaires et va transmettre un message de résistance aux cellules non encore infectées. Pour cela, il se fixe sur un récepteur spécifique (dont l'information génétique est dans le chromosome 21) ; comme dans les modèles récepteurs-hormones, la fixation de l'IFN  $\alpha$  sur son récepteur déclenche une série de réactions chimiques aboutissant à un état antiviral. Ainsi, en présence d'ATP, il y a activation d'une protéine kinase qui phosphoryle eIF<sub>2</sub> (facteur d'initiation de la synthèse protéique) et le rend inactif ; il y a en outre, activation d'une 2'-5'-oligoadénylate synthétase qui active à son tour une RNase assurant la dégradation des ARNm viraux.

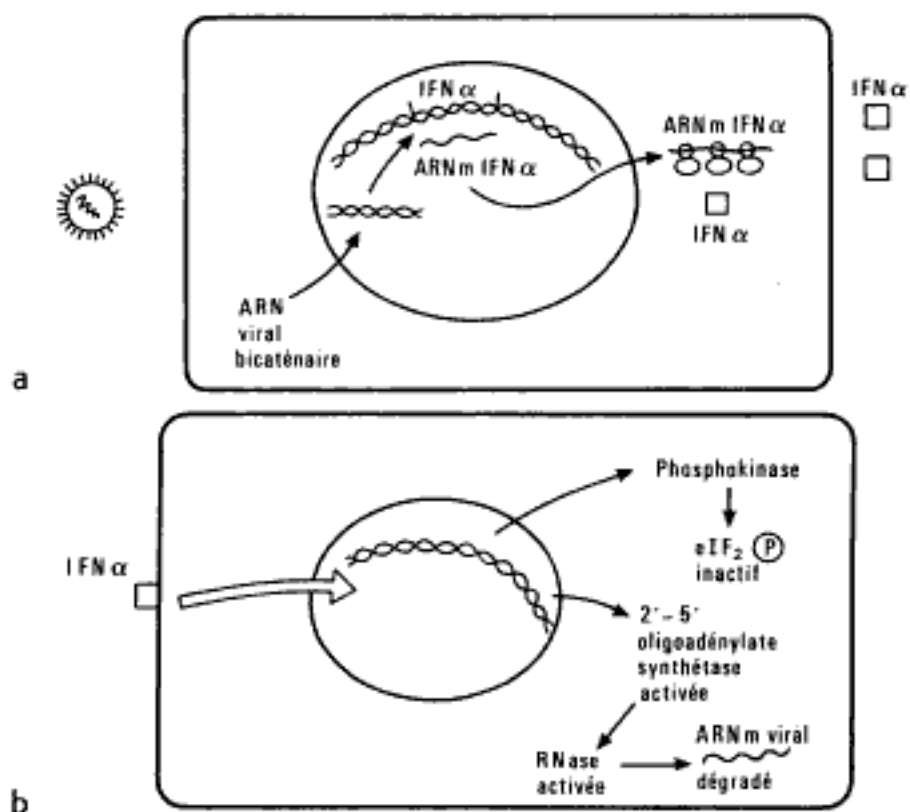
L'induction d'interféron après une infection virale va durer plusieurs jours puis va s'arrêter ; les cellules connaissent alors un état réfractaire avant d'être de nouveau inductibles par une nouvelle infection virale.

Jusqu'à l'obtention d'interféron recombinant et devant les difficultés de production initiales (cf. plus loin), il avait été envisagé d'utiliser des ARN bicaténaires synthétiques, par exemple le poly (rI-rC), pour induire la synthèse d'interféron ; les effets secondaires à l'injection de ces acides nucléiques synthétiques chez des humains furent cependant tels que cette solution, *a priori* élégante, fut abandonnée.

► **Fig. 6.1.** Mécanisme d'action de l'IFN  $\alpha$ .

**a.** Production et libération d'IFN  $\alpha$  dans la cellule.

**b.** La fixation de l'IFN  $\alpha$  sur son récepteur déclenche une série de réactions chimiques aboutissant à la dégradation de l'ARNm viral.



## IV. PROPRIÉTÉS IMMUNOLOGIQUES ET ANTITUMORALES

À côté de l'effet antiviral, on s'est aperçu que l'interféron avait d'autres propriétés :

- il augmente l'activité cytotoxique des lymphocytes T cytotoxiques ainsi que des cellules NK et des macrophages ;
- il ralentit la vitesse de croissance des cellules normales et tumorales ;
- un effet antitumoral de l'interféron peut être observé qui est associé à l'action de cytokines (telles que le *Tumor necrosis factor* [TNF]).

## V. OBTENTION

Dans un premier temps, l'interféron a été produit à partir de cultures leucocytaires humaines induites par des paramyxovirus. Le rendement étant trop faible, la substance était alors extrêmement coûteuse, et les essais thérapeutiques limités.

À partir de 1980 et grâce aux travaux de Weissmann à Zurich, le clonage de l'interféron a débuté et aboutit, non seulement à une meilleure caractérisation des différents interférons  $\alpha$ ,  $\beta$  et  $\gamma$  mais également à une production spécifique. Les différentes étapes du clonage sont les suivantes :

- obtention de l'ARNm de l'IFN  $\alpha$  (par exemple) à partir d'une cellule induite ;
- transcription de l'ARNm IFN  $\alpha$  en ADN bicaténaire *in vitro* grâce à une transcriptase reverse empruntée à un rétrovirus ;

- introduction de l'ADN IFN  $\alpha$  dans un plasmide de résistance aux antibiotiques ;
- expression du plasmide dans une bactérie avec transcription de l'ADN IFN  $\alpha$  en ARNm IFN  $\alpha$  et traduction de l'ARNm IFN  $\alpha$  en IFN  $\alpha$ .

L'interféron dit recombinant ainsi obtenu est maintenant utilisé en thérapeutique.

## VI. UTILISATION THÉRAPEUTIQUE ET DOSAGE

Il faut préciser que les premiers essais thérapeutiques ont été réalisés avec de l'interféron obtenu à partir de cultures leucocytaires humaines et donc non cloné ; actuellement on utilise des interférons recombinants (notamment de l'interféron  $\alpha$  recombinant).

On a montré une efficacité de l'interféron sur la kératite herpétique (voie locale), sur l'hépatite B (par voie intramusculaire), le résultat enregistré étant cependant transitoire dans ce dernier cas. Les résultats concernant le traitement de la pneumonie à CMV ont été totalement contradictoires et l'interféron n'est plus utilisé dans cette indication ; l'infection à VIH-1 est, dans certains protocoles, traitée par l'interféron associé à des analogues de nucléosides (par exemple, ddC-IFN). L'aspect le plus important à l'heure actuelle est le traitement de l'hépatite C chronique.

En ce qui concerne l'oncologie, des essais thérapeutiques ont été réalisés sur des myélomes, lymphomes, mélanomes, cancers du col de l'utérus, cancers du sein, leucémies aiguës, cancers du rein, papillomes laryngés, ostéosarcomes, sarcome de Kaposi... Actuellement, les indications ainsi que les essais thérapeutiques les plus pertinents concernent : la leucémie à tricholeucytes, le papillome laryngé, le cancer du rein, le sarcome de Kaposi.

### ① Points clés

L'interféron est une molécule naturelle qui est utilisée pour le traitement de certaines maladies virales, en particulier les hépatites virales B et C.

# 7

## Méthodes du diagnostic virologique

I. ISOLEMENT VIRAL ET DÉTECTION DIRECTE  
DES COMPOSANTS STRUCTURAUX

II. DIAGNOSTIC SÉROLOGIQUE DES INFECTIONS  
VIRALES

Le diagnostic d'une maladie virale associe, dans l'idéal, l'isolement du virus responsable (ou la détection directe de ses composants structuraux) et la mise en évidence d'une ascension des anticorps spécifiques.

### I. ISOLEMENT VIRAL ET DÉTECTION DIRECTE DES COMPOSANTS STRUCTURAUX

#### A. Isolement viral

##### 1. Prélèvements

L'isolement viral est une technique de base, souvent longue. Les virus sont des parasites intracellulaires obligatoires et il va falloir leur « offrir » des cellules vivantes pour leur permettre de se multiplier et de révéler ainsi leur présence. Le premier problème à résoudre est celui du prélèvement chez le malade. Le choix du prélèvement, sa qualité et son envoi au laboratoire de virologie vont conditionner l'efficacité diagnostique.

On n'isole un virus grippal que dans un prélèvement de gorge ou de sécrétions bronchiques dans les 48 premières heures de la maladie clinique ; après, il est trop tard ; lorsque le patient est hospitalisé pour une complication (surinfection bactérienne, par exemple) après une semaine d'évolution, on ne peut plus isoler le virus.

HSV et HZV sont isolés de vésicules cutanéomuqueuses. Le CMV est isolé de la salive, des urines mais surtout de la fraction leucocytaire du sang et le prélèvement adressé au laboratoire doit donc être un tube de sang sur héparine.

Devant une méningite lymphocytaire aiguë en été et donc une suspicion d'entérovirus, ce sont des prélèvements de gorge et de selles (outre le liquide céphalorachidien) qu'il faut envoyer au laboratoire.

L'acheminement des prélèvements, s'ils ne sont pas réalisés au laboratoire ou dans son très proche environnement, devra être effectué à 4 °C afin de maintenir intacte la structure et le pouvoir infectieux des virus lorsqu'ils sont en dehors d'un système cellulaire vivant.

##### 2. Inoculation à l'animal

L'HSV déposé dans le cul-de-sac inférieur d'un œil de lapin entraîne une kératite. Le virus rabique injecté au lapin par voie intracérébrale induit une encéphalite.

Ce mode d'isolement est maintenant abandonné pour la plupart des virus à l'exception, par exemple, des arbovirus. Ces derniers, dont le plus connu est le virus de la fièvre jaune, cheminent d'un vertébré réservoir infecté à un vertébré sain par l'intermédiaire d'arthropodes hématophages (moustiques, tiques, phlébotomes) chez lesquels ils se multiplient ; notamment présents dans les zones tropicales, ces virus continuent à être isolés par inoculation intracérébrale au souriceau nouveau-né ; on peut être parfois amené à effectuer un passage sur moustique non piqueur par voie intrathoracique.

### **3. Inoculation à l'œuf de poule embryonné**

De moins en moins utilisée, l'inoculation d'un produit pathologique dans des œufs de poule embryonnés reste cependant encore un bon moyen d'isolement du virus grippal où l'on utilise les voies amniotique et allantoïque.

Le vaccin antigrippal inactivé utilisé en France est préparé à partir de souches grippales cultivées dans des œufs, purifiées par centrifugation et inactivées par la  $\beta$ -propiolactone.

### **4. Cultures cellulaires**

Depuis les années cinquante, les cultures cellulaires *in vitro* sont largement utilisées dans les laboratoires de virologie. Les virus ont leurs préférences et les laboratoires devront donc avoir à leur disposition une palette de cultures cellulaires différentes. Trois grands types de cultures cellulaires sont décrits.

#### **a. Cellules de primo-explantation**

Elles proviennent d'organes frais trypsinés (la trypsine rompant les ponts intercellulaires et permettant ainsi une culture en monocouche) ; elles sont sensibles à de nombreux virus mais ont l'inconvénient de ne pas supporter de passage, le passage étant le dédoublement après trypsination d'une boîte de culture dont le tapis cellulaire est arrivé à confluence. Les cellules les plus connues sont les cellules de rein de singe (RS) dont l'utilisation est maintenant freinée par le coût ; en effet, n'étant pas maintenues au laboratoire, ces cultures doivent être régulièrement réinitiales à partir d'animaux sacrifiés.

#### **b. Cellules diploïdes**

Ce sont des cellules normales qui peuvent supporter une cinquantaine de passages et peuvent donc être maintenues un certain temps au laboratoire. Les plus utilisées sont les MRC5, fibroblastes humains d'origine embryonnaire, qui sont les seules cellules permettant l'isolement du CMV.

#### **c. Cellules en lignées continues**

Ces cellules, généralement d'origine cancéreuse, souvent hétéroploïdes ont acquis la possibilité de proliférer *ad vitam aeternam* au laboratoire. La lignée HeLa a été initiée il y a plusieurs dizaines d'années à partir d'un cancer du col de l'utérus chez une patiente des États-Unis (Helen Lane). La lignée Vero correspond à du rein de singe (mais il ne faut pas confondre cette lignée avec des cellules de primo-explantation). Pour certaines activités spécifiques, par exemple l'étude des arbovirus, on peut utiliser des lignées de moustique comme celle provenant d'*Aedes albopictus*.

Les cellules sont cultivées stérilement à 37 °C dans des milieux synthétiques contenant des sels minéraux, des acides aminés, des vitamines, du glucose, un

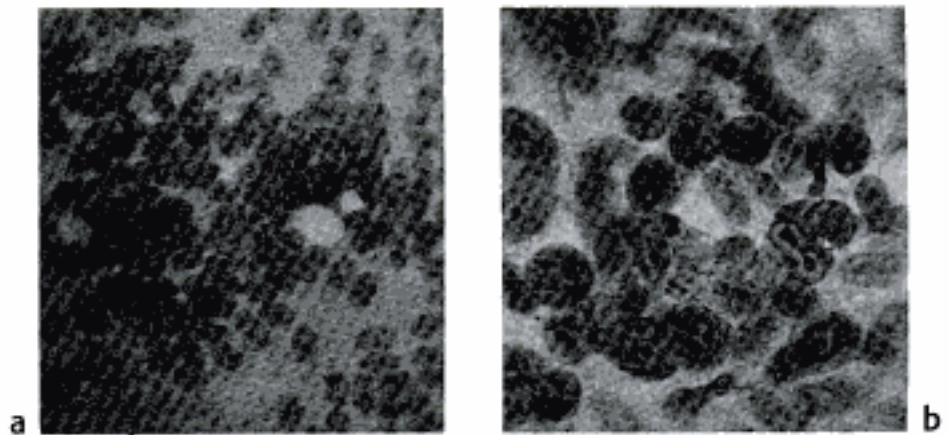
tampon, un indicateur coloré (rouge de phénol), des antibiotiques et supplémentés en sérum de veau foetal ou nouveau-né.

Les cellules sont réparties dans des tubes et les prélèvements des malades sont inoculés à plusieurs types cellulaires. Les tubes sont alors observés chaque jour à la recherche d'un ECP à l'état frais ; cet ECP peut se manifester en 24 heures (poliovirus) mais, parfois, il faudra attendre une semaine (cytomégalovirus). Les cellules peuvent être fixées et colorées par l'hémalun-éosine : l'ECP pourra alors être précisé (fig. 7.1).

Certains virus n'entraînent pas d'ECP et il existe alors d'autres techniques de détection ; ceux qui possèdent une hémagglutinine provoquent une agglutination de globules rouges.

► **Fig. 7.1.** Effets cytopathogènes dans des cellules infectées.

**a.** ECP par le virus des oreillons qui a un effet fusionnant (syncytialisant) avec accumulation dans une même masse cytoplasmique de nombreux noyaux. **b.** ECP par le virus varicello-zonateux. On note dans les noyaux l'apparition de fines inclusions virales soulignées par un halo clair. ►



## B. Détection directe des composants structuraux

Les techniques utilisées pour mettre directement en évidence les composants antigéniques et/ou structuraux des virus sont généralement plus rapides que l'isolement viral et peuvent concerner des virus que l'on ne sait pas cultiver.

### 1. Immunofluorescence

Les antigènes recherchés sont détectés par des anticorps spécifiques liés à une molécule fluorescente. Les virus grippaux, le virus respiratoire syncytial pourront être diagnostiqués dans des frottis de l'arbre respiratoire.

### 2. Techniques immuno-enzymatiques (ELISA)

Des anticorps dirigés contre un antigène viral sont fixés sur une plaque de polystyrène ; si le prélèvement étudié contient l'antigène correspondant, ce dernier va se fixer ; un deuxième anticorps lié à une enzyme viendra alors s'accrocher et, après lavages, lorsqu'on rajoutera le substrat de l'enzyme, il se produira une réaction colorée.

C'est par cette technique que l'on peut mettre en évidence les rotavirus dans les selles, les antigènes HBs et HBe du virus de l'hépatite B dans le sang ainsi que l'antigène p24 du VIH-1.

### 3. Techniques moléculaires

Elles se développent à l'heure actuelle de façon accélérée et vont prendre une part de plus en plus importante dans le diagnostic virologique.

#### a. Sondes nucléiques et hybridation

Les sondes, constituées d'acides nucléiques marqués (généralement par des éléments radioactifs), sont complémentaires du génome (ou d'un ARNm) d'un virus que l'on veut mettre en évidence même s'il ne s'exprime pas. Le principe va être de révéler une hybridation entre la sonde radioactive et son complément (si celui-ci est présent). Plusieurs méthodes existent que nous allons décrire rapidement.

##### Dot blot

Les acides nucléiques d'une cellule (dans laquelle on recherche un acide nucléique  $x_1$ ) sont extraits et hybridés avec la sonde anti- $x_1$  radioactive ; le tout est filtré sur un filtre de nylon où seuls les complexes hybridés  $x_1 + \text{anti-}x_1$  sont fixés ; le filtre est alors autoradiographié, c'est-à-dire recouvert d'un film sensible aux rayonnements éventuellement émis par le complexe  $x_1 + \text{anti-}x_1$ .

Le film est développé ; les spots observables révèlent la présence de l'acide nucléique  $x_1$  recherché.

##### Southern blot

Cette méthode concerne les ADN ; ceux-ci sont extraits d'une cellule, traités par des enzymes de restriction et soumis à une électrophorèse en gel d'agarose, donc séparés selon leur poids moléculaire. Ils sont colorés par le bromure d'éthidium ce qui permet l'observation de bandes d'ADN sous illumination ultraviolette ; on transfère alors le gel sur un filtre de nylon puis le filtre, portant donc les bandes d'ADN correspondant à celles observées dans le gel, est hybridé avec une sonde radioactive et autoradiographié. L'apparition d'une bande sur le film lors du développement indique qu'un des fragments d'ADN porte l'information complémentaire de la sonde.

##### Northern blot

Ici, ce sont les ARN qui sont concernés mais la technique est très proche de celle qui a été décrite ci-dessus.

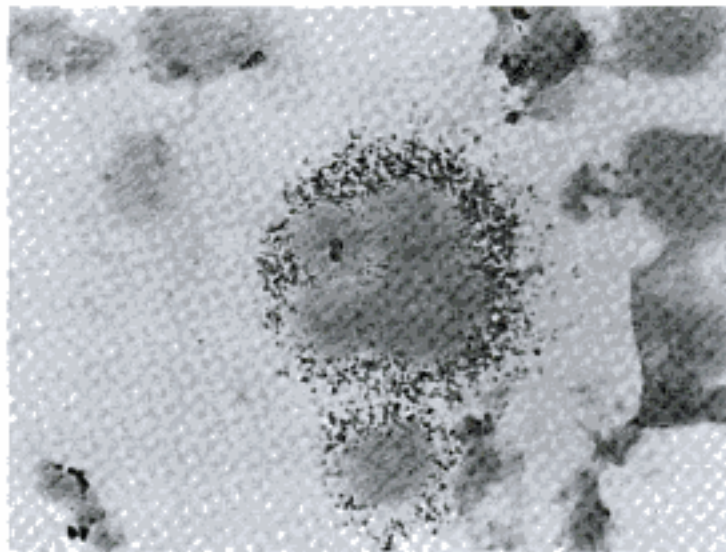
##### Hybridation in situ

Dans les exemples précédents, les acides nucléiques étudiés étaient extraits de cellules par des méthodes chimiques aboutissant à la destruction de la structure cellulaire. Dans l'hybridation *in situ*, au contraire, on va chercher à maintenir l'intégrité cellulaire de façon à pouvoir identifier dans quelle cellule et à quel endroit (noyau, cytoplasme) se trouve l'acide nucléique recherché.

Les cellules étudiées sont donc traitées afin de permettre l'entrée d'une sonde marquée ; si celle-ci ne trouve pas l'acide nucléique complémentaire, elle est éliminée au cours des lavages ; si, en revanche, elle trouve la cible recherchée, elle forme un hybride radioactif qui n'est pas éliminé ; les cellules sont alors recouvertes d'une émulsion photographique puis on pratiquera le développement ; les cellules abritant un hybride radioactif et donc porteuses de l'information génétique recherchée, présentent des grains liés à l'impression de l'émulsion par l'émission radioactive (fig. 7.2).

► **Fig. 7.2.** Hybridation *in situ* réalisée à l'aide d'une sonde marquée permettant la détection des ARN viraux et/ou messagers du virus HTLV-1.

L'observation d'une activité granuleuse traduit la présence de ces ARN dans le groupe de cellules correspondant. (Cliché : Delord B et Fleury HJA, laboratoire de virologie, université de Bordeaux II.) ►



### b. Amplification génique ou PCR (*Polymerase chain reaction*)

On va chercher à amplifier un fragment d'ADN bicaténaire (virus à ADN, provirus rétroviral). On dénature l'ADN par la chaleur à 94 °C (on sépare ainsi les brins d'ADN) puis on positionne des amorces (*primers*), c'est-à-dire des oligonucléotides courts d'environ 20 bases complémentaires de l'ADN recherché et encadrant la séquence à amplifier ; afin de permettre l'accrochage des amorces (*annealing*), on réduit la température entre 45 et 55 °C ; puis une ADN polymérase, en présence de désoxynucléotides, va s'accrocher aux amorces et synthétiser les brins complémentaires ; l'opération dénaturation-accrochage-extension est renouvelée 30 à 40 fois dans un appareil automatique en présence d'une ADN polymérase résistant à de hautes températures (94 °C) et provenant d'une bactérie marine (*Thermus aquaticus* : Taq polymérase) (fig. 7.3).

On fait ensuite migrer le produit de l'amplification dans un gel d'agarose ; le facteur d'amplification étant de l'ordre du million, il devient alors possible de voir, sous illumination ultraviolette après coloration par le bromure d'éthidium, une bande à la dimension attendue et généralement exprimée en paires de bases (pb). On achève généralement la manipulation par un *southern blot* et une hybridation avec une sonde spécifique afin de s'assurer de l'identité du fragment amplifié (fig. 7.4 et 7.5).

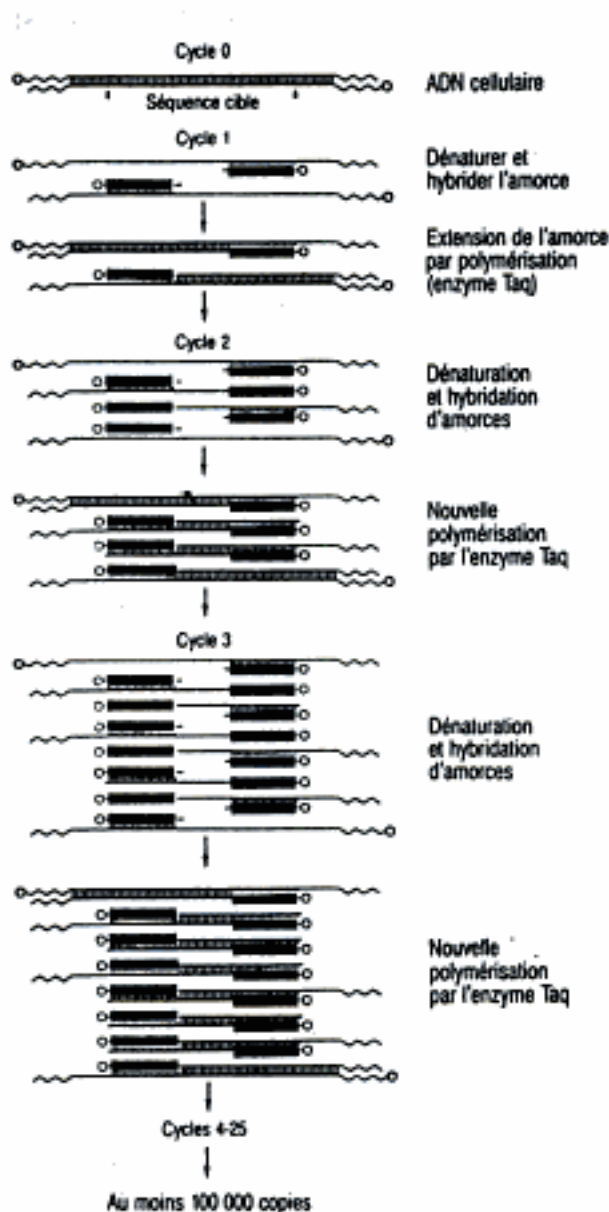
Une autre technique de PCR ADN s'est plus récemment développée : la *nested PCR*. Il s'agit d'une première PCR conventionnelle suivie d'une deuxième PCR utilisant le produit de la première et des amorces internes au premier fragment amplifié. On aboutit ainsi à une augmentation de la sensibilité de la méthode (fig. 7.6).

Dans le cas où l'on doit amplifier une information génétique portée par un ARN, cet ARN doit être au préalable transcrit en ADN par une transcriptase inverse de rétrovirus (on utilise souvent celle du MMLV [*Moloney murine leukemia virus*]). La PCR réalisée ensuite est conventionnelle.

### c. Détection d'une activité transcriptase inverse

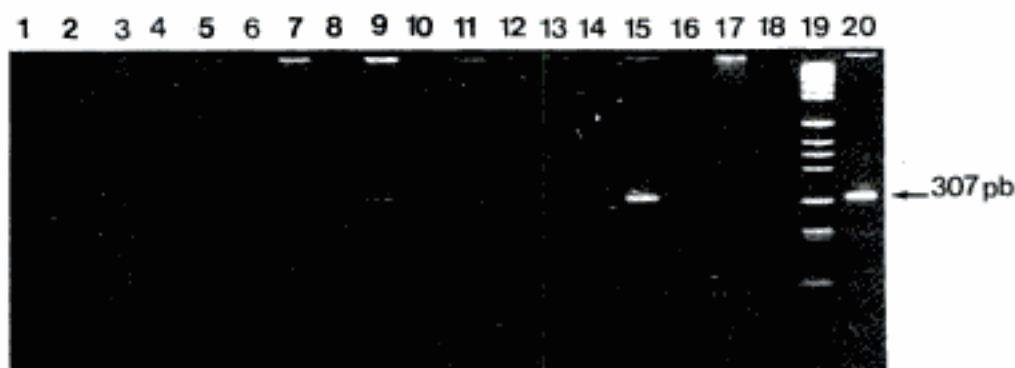
Le VIH est un rétrovirus ; le développement d'activités diagnostiques concernant ce virus a amené certains laboratoires à aborder les techniques de mise en

► **Fig. 7.3.** Principe de l'amplification génétique.  
(In : *Le Technoscope du futur*, n° 22, septembre 1988.) ►



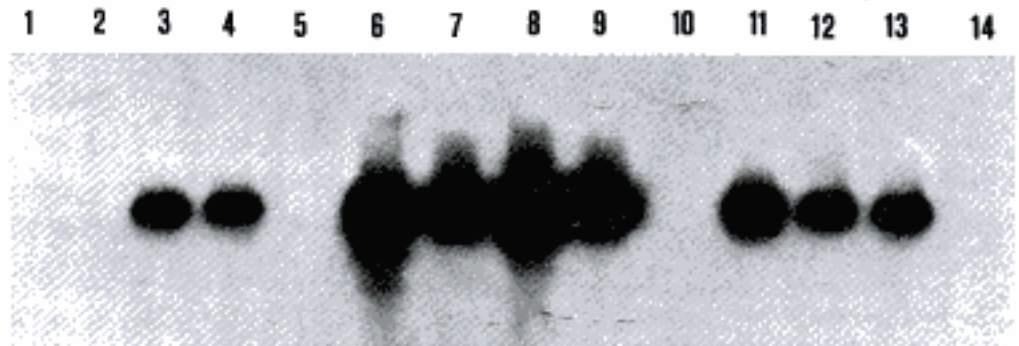
► **Fig. 7.4.** PCR. Analyse d'un gel d'agarose après coloration par le bromure d'éthidium et observation sous UV.

Il s'agit ici d'une PCR d'un fragment de 307 pb du gène *pol* du VIH-1. Pistes 1 à 8 : patients étudiés ; piste 19 : témoin de poids moléculaire ; piste 20 : témoin positif (cellules H9V3 chroniquement infectées par VIH-1). La réaction est positive pour les patients 9 et 15. ►



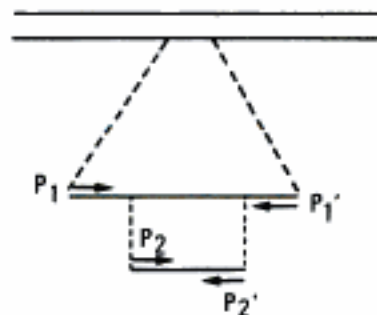
► **Fig. 7.5.** PCR. Analyse en autoradiographie d'un *Southern blot*.

Après amplification par PCR d'un fragment du gène *gag* du VIH-1, le produit de l'amplification est observé comme décrit ci-dessus en gel d'agarose après coloration au bromure d'éthidium et transillumination UV. Puis, on transfère les produits du gel sur une membrane de nylon ; on incube cette membrane avec une sonde radioactive complémentaire du fragment de *gag* amplifié ; on pratique alors une mise en contact avec un film photographique (autoradiographie) puis on développe le film. La présence d'un signal sur le film traduit la détection du fragment spécifique de *gag* recherché. Ici, le signal est positif pour les pistes 3, 4, 6, 7, 8, 9, 11, 12 et 13. ►



► **Fig. 7.6.** *Nested PCR*.

Première PCR : amorces  $P_1$ - $P_1'$  ; deuxième PCR : amorces  $P_2$ - $P_2'$ . ►



évidence de la transcriptase inverse ou rétrotranscriptase (RT). Le VIH est isolé des cellules mononucléées du sang circulant d'un patient après mise en culture de ces cellules en présence de sérum anti-interféron et d'interleukine-2 ; le surnageant de la culture est testé pour une activité RT compatible avec celle du VIH : on utilise un ARN synthétique poly (rA), une amorce oligo(dT) et de la désoxythymidine tritiée dTTP ; si la RT du VIH est présente, il y a synthèse d'un polymère radioactif de désoxythymidine complémentaire du poly (rA) (fig. 7.7).

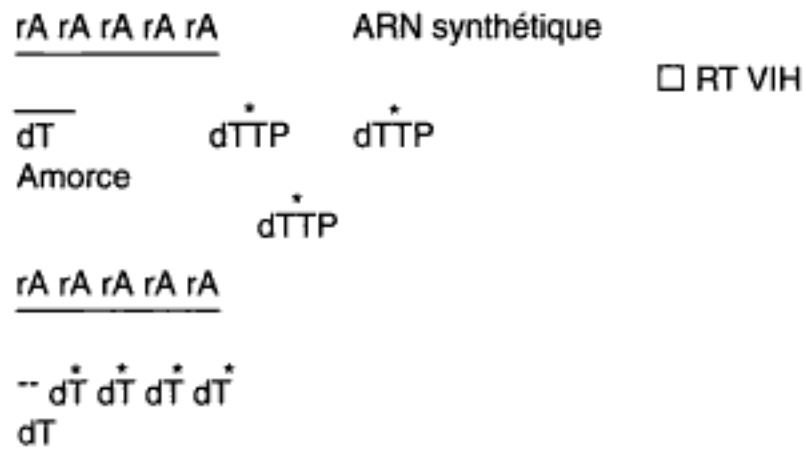
**d. Exemples d'applications diagnostiques**

Les techniques d'hybridation sont utilisées pour la recherche de l'ADN du VHB, la détection de l'ADN du papillomavirus de type 16 (VPH-16) dans des condylomes génitaux. La PCR permet la mise en évidence dans le sérum de l'ARN du virus de l'hépatite C (VHC) (dans ce cas, on utilise une PCR après transcription inverse), celle du provirus VIH-1 chez des nouveau-nés infectés...

**e. Quantification des acides nucléiques viraux**

La culture virale et la mise en évidence des antigènes viraux sont de plus en plus souvent supplantées par la détection et la quantification des acides nuclé-

► **Fig. 7.7.** Mise en évidence d'une activité transcriptase inverse. ►



iques viraux ; ces investigations font appel à des techniques de biologie moléculaire (principalement la PCR) qui sont spécifiques et automatisables ce qui permet d'augmenter le potentiel de diagnostic et de suivi (par exemple, dans le domaine des transplantations). Deux méthodes principales sont utilisées.

**PCR quantitative**

La première fait appel à la PCR quantitative (après transcription inverse s'il s'agit d'un ARN) et réalise donc une amplification de la cible (*cf.* ci-dessus le principe de la PCR classique) ; la quantification est possible grâce à la présence dans le tube réactionnel d'un standard interne, c'est-à-dire d'un acide nucléique très proche de celui de la cible recherchée (qui est notamment amplifiable avec les mêmes amorces) mais qui présente une séquence interne spécifique permettant sa détection par une sonde différente de celle s'hybridant à l'acide nucléique cible et dont la quantité est connue de façon très précise ; l'amplification de la cible et du standard est alors réalisée dans la même réaction puis on hybride chaque produit d'amplification avec une sonde spécifique marquée par une enzyme ; après action enzymatique sur les substrats, on compare les densités optiques ELISA obtenues pour la cible et le standard interne et on peut en déduire le nombre de copies initiales de la cible.

**ADN branché**

La deuxième méthode repose sur une hybridation de la cible (l'acide nucléique viral recherché) par l'intermédiaire de sondes avec une amplification du signal grâce à un ADN branché (bDNA) doté de ramifications qui captent d'autres sondes porteuses de molécules enzymatiques ; la fixation du bDNA sur le complexe acide nucléique viral-sonde va, en présence du substrat de l'enzyme, induire une réaction lumineuse qui est mesurée et est proportionnelle à la quantité d'acide nucléique viral capté.

**Applications**

Prenons quelques exemples : chez un patient VIH-1\*, la réplication du VIH dans l'organisme est proportionnelle au nombre de particules virales libérées dans la circulation sanguine et en l'occurrence dans le plasma ; pour apprécier cette quantité de virus, on mesure le nombre de copies d'ARN viral/mL de plasma par des méthodes faisant appel à l'amplification (PCR) ou à l'hybridation (bDNA) ; le sang du patient est recueilli sur anticoagulant (EDTA) puis les ARN viraux sont quantifiés dans ce compartiment ; cette mesure correspond à ce que l'on appelle la détermination de la charge virale qui permet d'apprécier l'inten-

sité de la réplication virale et donc la vitesse d'évolution vers l'immunodépression ainsi que, chez un patient traité par une chimiothérapie antirétrovirale, l'efficacité du traitement, la charge devant être maintenue au-dessous du seuil des méthodes utilisées (environ 50 copies/mL).

Chez un patient présentant une sérologie positive pour le VHC, il va falloir déterminer si ce patient est en phase chronique de synthèse du VHC ; à partir du sérum ou du plasma, on va mettre en évidence par PCR dite qualitative l'ARN viral avec une sensibilité de détection très basse (environ 100 copies d'ARN viral/mL) ; si l'ARN viral est positif, on va ensuite le quantifier par PCR ou par bDNA ; ceci permettra d'apprécier le niveau de réplication virale et d'évaluer l'efficacité d'un traitement par interféron-ribavirine.

Une des complications majeures des transplantations est liée à la résurgence du CMV ; après la primo-infection, ce virus (comme tous les herpesvirus) reste dans l'organisme sous forme latente et est susceptible d'entrer dans un cycle de réplication active lorsque le patient est immunodéprimé (ici de façon thérapeutique) ; devant une résurgence du CMV, il faut établir rapidement le diagnostic virologique pour initier un traitement antiviral (*Cyomevan*, par exemple) ; depuis quelques années une des méthodes les plus utilisées est l'antigénémie pp65, c'est-à-dire la détection dans les polynucléaires d'un antigène précoce du CMV (pp65) associé à la réplication virale productive ; cette détection, réalisée par immunofluorescence, permet de quantifier le nombre de polynucléaires (par exemple, sur 100 000 cellules comptées) porteurs d'antigène pp65 ; cependant, cette technique, bien que fiable, est limitée par son débit et certaines équipes (dont la nôtre au CHU de Bordeaux) se sont tournées vers la détection et la quantification de l'ADN du CMV dans deux compartiments : les polynucléaires et le plasma ; dans notre cas, nous réalisons une recherche qualitative de l'ADN du CMV par PCR : si l'ADN est positif dans les cellules et négatif dans le plasma, nous concluons que le patient héberge du CMV mais que celui-ci n'est pas en situation de réplication active et qu'il faut donc continuer la surveillance sans initier de traitement ; si l'ADN est positif dans les deux compartiments, cela signifie que des cellules déversent du virus dans le plasma et que la réplication est productive ; cette situation entraîne l'initiation d'un traitement antiviral.

Il existe maintenant d'autres situations où la biologie moléculaire a remplacé les techniques de culture virale ; devant une méningo-encéphalite, on ne met plus en culture le liquide céphalorachidien (LCR) sur cellules mais on cherche à mettre en évidence par PCR l'acide nucléique génomique des différents virus impliqués dans ce type de pathologie : HSV, VZV, CMV, EBV, entérovirus, JC...

### ***Une technique récente, la PCR en temps réel***

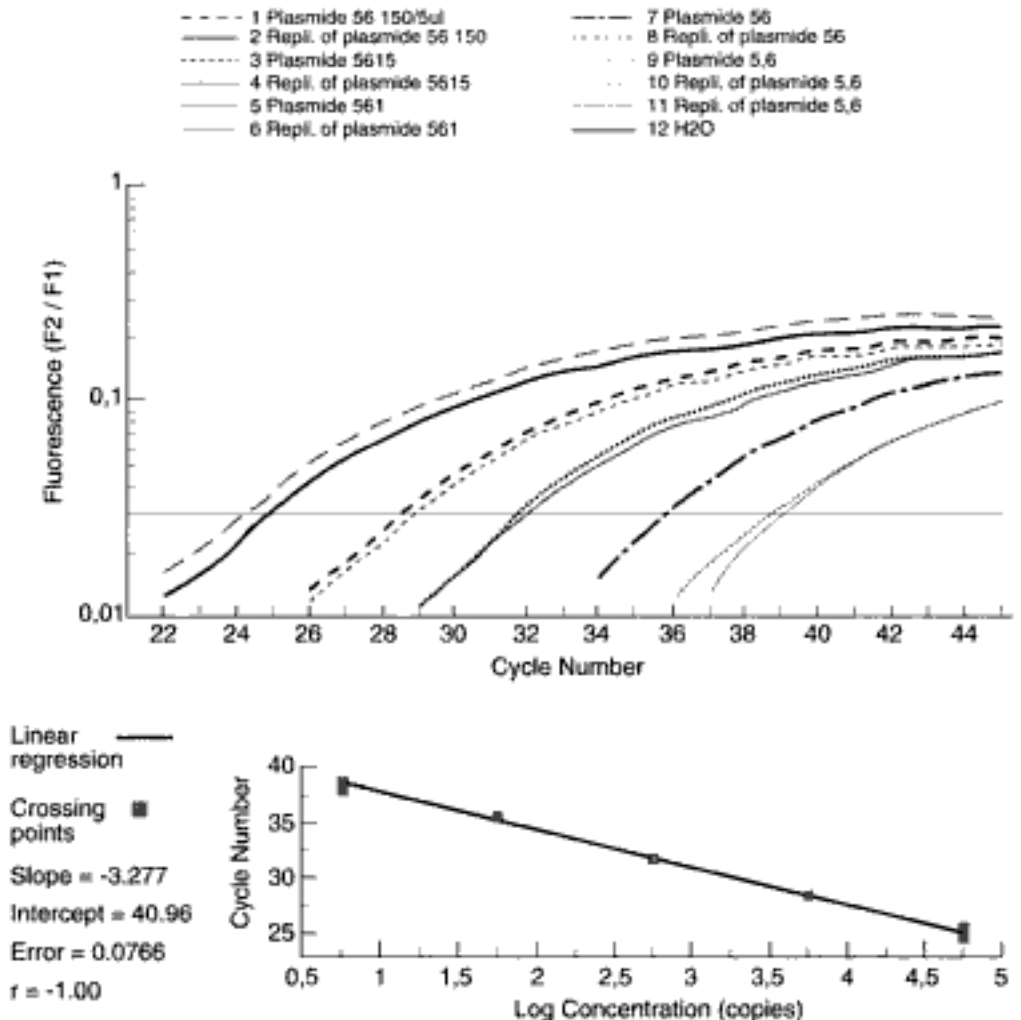
Depuis peu, se développent des techniques basées sur la PCR en temps réel (ou PCR cinétique) ; dans ce type de réaction, la fixation des amorces sur la cible et l'élongation du brin d'acide nucléique sous l'effet de la polymérase entraînent une modification d'un signal fluorescent, ce signal étant analysé en permanence par un système optique ; un logiciel trace les courbes de cinétique (fig. 7.8) et permet de déduire la quantité initiale de cible. Ces techniques sont plus rapides et moins chères ; de plus, elles sont automatisables et connaissent donc une expansion significative dans les laboratoires de virologie.

### **f. Analyse des séquences nucléotidiques des génomes viraux**

Cette analyse, encore récemment effectuée dans le cadre de la recherche, est entrée dans la routine hospitalière de laboratoires de virologie spécialisée à propos, plus particulièrement, du VIH-1 (mutations de résistance aux antirétroviraux) et du VHC (détermination du génotype). La méthode la plus utilisée fait

► **Fig. 7.8.** PCR en temps réel (dessin de V. Rolland).

Ici, on quantifie l'ADN du cytomegalovirus (CMV) ; le signal fluorescent détecté augmente avec la réaction d'amplification jusqu'à un plateau ; selon la quantité d'ADN présente au début de la réaction de quantification, le signal fluorescent et la courbe d'amplification vont apparaître de façon plus ou moins précoce ; ainsi, l'échantillon le plus riche en ADN CMV voit sa courbe d'amplification apparaître dès le 22<sup>e</sup> cycle d'amplification ; avec des échantillons d'étalonnage contenant des quantités variables et connues d'ADN CMV, on obtient une droite de régression linéaire ; il ne restera plus qu'à effectuer la manipulation avec l'échantillon du patient (ADN CMV extrait du plasma ou des leucocytes) et à calculer la concentration en ADN grâce à la droite de régression. (Manipulation : Garrigue I, laboratoire de virologie, CHU de Bordeaux). ►



appel au séquençage mais d'autres méthodes, notamment celle dite des « puces », sont en cours de validation avant développement.

### Séquençage

Il repose sur la méthode chimique de Maxam et Gilbert ou (de plus en plus fréquemment) sur la méthode enzymatique dérivée de celle de Sanger et qui est seule abordée ici.

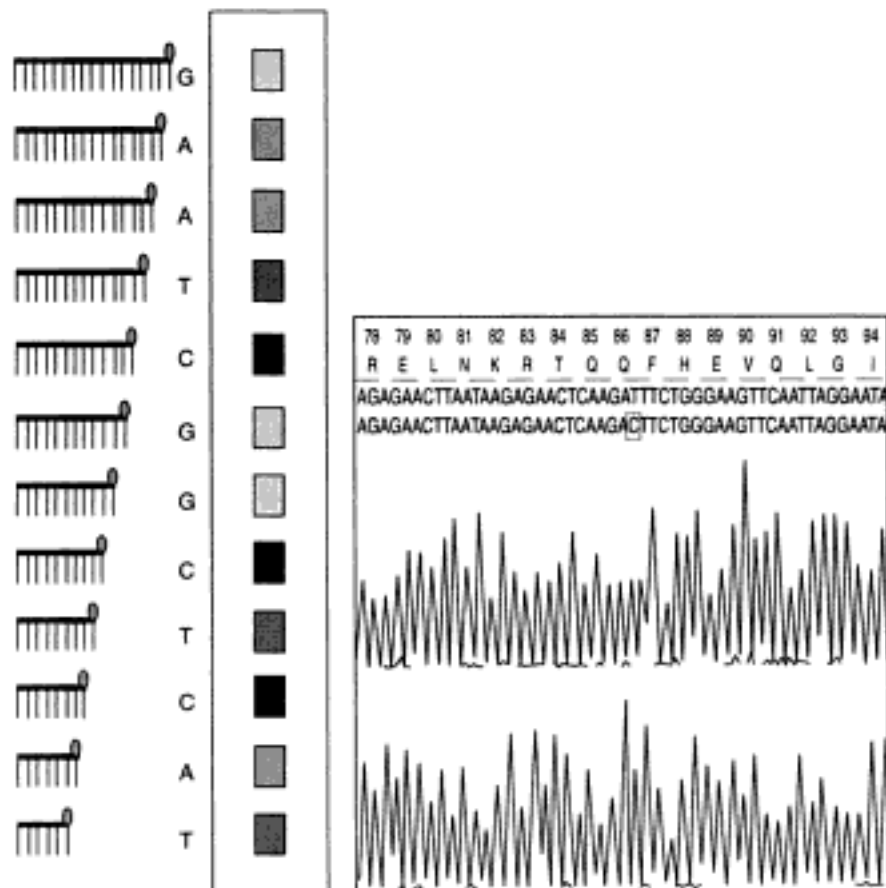
À côté des désoxynucléotides nécessaires à la synthèse des brins d'acide nucléique, on utilise des didésoxyynucléotides où un groupement OH est remplacé par un H ce qui entraîne un arrêt de la synthèse d'ADN. Dans le cas d'un séquençage par PCR (*cycle sequencing*), on met en présence la matrice ADN double brin à séquencer, la Taq polymérase, l'amorce, des désoxyynucléotides et des didésoxyynucléotides. À partir de l'amorce, la Taq polymérase ajoute au

CONNAISSANCES – I. VIROLOGIE GÉNÉRALE

hasard des désoxynucléotides ou des didésoxynucléotides complémentaires au brin d'ADN que l'on est en train d'étudier ; l'élongation du brin d'ADN en cours de synthèse est stoppée chaque fois qu'un didésoxynucléotide est incorporé ; au bout de 20 à 30 cycles d'amplification, il y a de multiples copies de tous les fragments possibles terminés par un didésoxynucléotide (du plus petit au plus grand) ; la réaction de séquence est alors chargée sur un gel de polyacrylamide et les différents fragments vont migrer dans un champ électrique selon leur taille ; un rayon laser va alors analyser les différents fragments de bas en haut du gel c'est-à-dire du plus petit au plus grand en sachant que chacun des 4 didésoxynucléotides terminateurs de chaîne émet un signal coloré dans une longueur d'onde spécifique ; l'informatique de l'appareil simule alors une image du gel et fournit un électrophorégramme avec des pics colorés représentant les différents nucléotides ; l'image simulée est lue de bas en haut et commence donc par le plus petit fragment (fig. 7.9). Si l'on veut être rigoureux, on doit séquencer les deux brins de l'ADN à étudier. Des logiciels permettent d'aligner les séquences sur des séquences de référence et les mutations sont automatiquement signalées avec leurs conséquences éventuelles sur un changement d'acide aminé.

► **Fig. 7.9.** Séquençage avec didésoxynucléotides fluorescents (dessin de V. Rolland).

Dans le séquençage par *Dye primer terminator*, la synthèse d'ADN sur le brin complémentaire en cours d'analyse est stoppée chaque fois qu'un didésoxynucléotide est incorporé ; chaque didésoxynucléotide présente une fluorescence spécifique ; la synthèse génère ainsi des fragments de longueurs différentes qui vont être séparés par chromatographie ; la transcription des signaux de fluorescence en pics permet une analyse du chromatogramme ; connaissant la succession des bases complémentaires du brin d'ADN étudié, on en conclut la séquence du brin ; il est nécessaire de répéter la manipulation sur l'autre brin de l'ADN étudié lorsqu'il est bicaténaire. ►



### **Puces à ADN (DNA chips)**

Elles sont constituées d'un support de petite taille en plastique, en verre ou en silicium, sur lequel sont fixées des sondes permettant d'interroger les triplets normaux et mutés d'une séquence à étudier ; le nombre de sondes fixées peut être considérable dépassant plusieurs dizaines de milliers ; l'acide nucléique à étudier est amplifié (notamment par PCR), segmenté, dénaturé puis hybridé aux sondes de la puce ; après lavage, l'hybridation est appréciée par un laser en sachant que chaque sonde possède un emplacement précis sur la puce et qu'elle émet un signal fluorescent. Cette technique pourrait, dans certaines situations remplacer le séquençage ; cependant, elle ne détecte que des mutations déjà notifiées par le séquençage.

## **II. DIAGNOSTIC SÉROLOGIQUE DES INFECTIONS VIRALES**

Tous les virus induisent la formation d'anticorps spécifiques après une primo-infection, et une élévation du titre en anticorps après une réinfection ou une réactivation. À quelques exceptions près, ce n'est pas la présence d'anticorps dans le sérum mais leur apparition ou l'ascension de leur titre qui est significative lors du diagnostic d'une maladie virale. Il est donc indispensable d'examiner deux sérums du malade, l'un prélevé dès le début des signes cliniques, l'autre prélevé quinze jours plus tard. Sur un seul sérum, la présence d'anticorps spécifiques d'un virus dans la fraction IgM des immunoglobulines est, le plus souvent, témoin d'une infection récente ou actuelle. En plus de son intérêt diagnostique, la sérologie virale présente un intérêt épidémiologique :

- étude de l'impact d'une maladie virale dans la population ;
- détection des individus réceptifs à une maladie virale (en vue de vaccination, par exemple : rubéole, hépatite B).

Lors du diagnostic viral, les anticorps spécifiques d'un virus sont donc titrés dans deux sérums, l'un précoce, l'autre tardif.

On parle de « séroconversion » lorsque le titre en anticorps passe de 0 à un titre positif (apparition d'anticorps chez un sujet préalablement séronégatif) : signe de primo-infection.

On parle d'« élévation significative » lorsque le titre en anticorps s'élève d'au moins deux dilutions (une seule dilution d'écart représente la marge d'erreur normale d'une technique).

Les deux sérums doivent être titrés le même jour dans le même laboratoire.

### **A. Prélèvement**

Le sang doit être prélevé de façon aseptique sur tube sec. Le sérum, séparé par centrifugation peut être conservé plusieurs années, congelé à  $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ , ou, éventuellement à  $+5\text{ }^{\circ}\text{C}$ , après adjonction d'un inhibiteur de la croissance bactérienne comme l'azide de sodium.

### **B. Techniques sérologiques**

De nombreuses techniques sont actuellement utilisées en microméthodes (par exemple : plaques à 96 cupules de 0,4 mL en plastic).

Un grand nombre de techniques sont applicables aux diagnostics virologiques :

- fixation du complément (déviation du complément) (Fc) ;
- inhibition de l'hémagglutination (IHA) ;
- hémagglutination passive ;
- neutralisation (Nt) ;
- techniques utilisant des anticorps antiglobulines :
  - immunofluorescence (IF),
  - radio-immunologie (RIA),
  - ELISA (*Enzyme-linked immunosorbent assay*).

Les réactions d'agglutination et de précipitation ne sont plus classiquement utilisées pour la recherche des anticorps dirigés contre les virus, car trop peu sensibles.

## C. Choix de la technique sérologique

Pour choisir la technique à utiliser dans une situation donnée, il faut tenir compte :

- de la spécificité de la technique ;
- de la rapidité d'apparition et de la durée de la réponse en anticorps ;
- de la sensibilité de la technique et... de son coût.

### 1. Spécificité

Les virus possèdent le plus souvent plusieurs antigènes : certains sont spécifiques de chaque souche virale, d'autres se retrouvent chez différents virus du même groupe.

Par exemple, dans le cas de diagnostic sérologique des adénovirus, il vaut mieux utiliser la Fc que l'IHA, la première technique s'adressant à un antigène de groupe alors que la seconde est spécifique de type (il existe 42 types donc il faudrait 42 IHA).

### 2. Cinétique des anticorps

Même si les préparations d'antigènes ont la même spécificité, les anticorps détectés par différentes techniques peuvent ne pas apparaître et disparaître au même moment.

Dans le cas de la rubéole, les anticorps détectés en IHA apparaissent plus rapidement et persistent plus longtemps que les anticorps détectés en Fc. La réaction d'IHA est donc plus adaptée au diagnostic de la rubéole.

### 3. Sensibilité

Les techniques utilisant des anticorps-antiglobuline marqués (ELISA, IF, RIA) sont beaucoup plus sensibles que les autres.

Il n'est pas toujours intéressant d'utiliser une technique très sensible (qui peut être d'interprétation difficile), lorsqu'une technique moins sensible (et aussi moins onéreuse) suffit pour faire le diagnostic, régulièrement, chez toutes les personnes infectées.

## D. Réaction de déviation du complément

### 1. Définition du complément

Le complément est un complexe sérique plurimoléculaire de 9 glycoprotéines désignées par  $C_1, C_2, C_3, \dots, C_9$ . La fraction  $C_1$  est subdivisée en trois sous-unités désignées  $C_{1q}, C_{1r}, C_{1s}$ .

Le complément a la particularité de se fixer par sa fraction  $C_1$  aux complexes Ag-Ac. Cette fixation provoque une activation du  $C_1$  ce qui déclenche une réaction enzymatique en chaîne, dite « en cascade », jusqu'à l'activation de la fraction  $C_9$ . L'activation de  $C_9$  a pour conséquence l'apparition de certaines propriétés biologiques telles que l'hémolyse.

### 2. Principe de la mise en évidence des anticorps fixant le complément

#### a. Matériel

- Sérum à étudier qui doit être au préalable décomplémenté (56 °C pendant 30 minutes).
- Antigène (Ag) vis-à-vis duquel on recherche les anticorps (Ac).
- du complément de cobaye préalablement titré (on utilise 5 U.  $CH_{50}$  pour la réaction).
- Globules rouges du mouton (GRM).
- Sérum de lapin anti-GRM préalablement titré appelé sérum hémolytique (SH).

#### b. Méthode

Le sérum à étudier est mis en présence de l'Ag et du complément. Après une nuit à + 4 °C, on ajoute des GRM et le SH. Le tout est incubé une heure à + 37 °C.

Deux possibilités sont alors à envisager.

#### Première possibilité

Le sérum à étudier présente des Ac spécifiques de l'Ag :

$Ac + Ag + C' \rightarrow Ac-Ag-C'$  (tout le  $C'$  est fixé par ce complexe Ac-Ag).

$GRM + SH \rightarrow GRM-SH$

Tout le  $C'$  ayant été fixé par le premier complexe Ac-Ag, il n'y en aura plus de disponible pour le deuxième complexe GRM-SH. Il n'y aura donc pas d'hémolyse. Le tube ou la cupule réactive aura l'aspect présenté figure 7.10a. La visualisation de cet aspect est donc la preuve de la présence d'Ac spécifiques de l'Ag connu, introduit dans la réaction, dans le sérum étudié. Si l'on a, au préalable, pris soin de diluer le sérum à étudier, on rend comme titre en Ac, l'inverse de la dilution laissant encore au moins 50 % de GRM intacts.

#### Deuxième possibilité

Le sérum à étudier ne possède pas d'Ac spécifiques de l'Ag :

$Pas\ d'Ac + Ag + C' \rightarrow Ac + \underline{C' libre}$

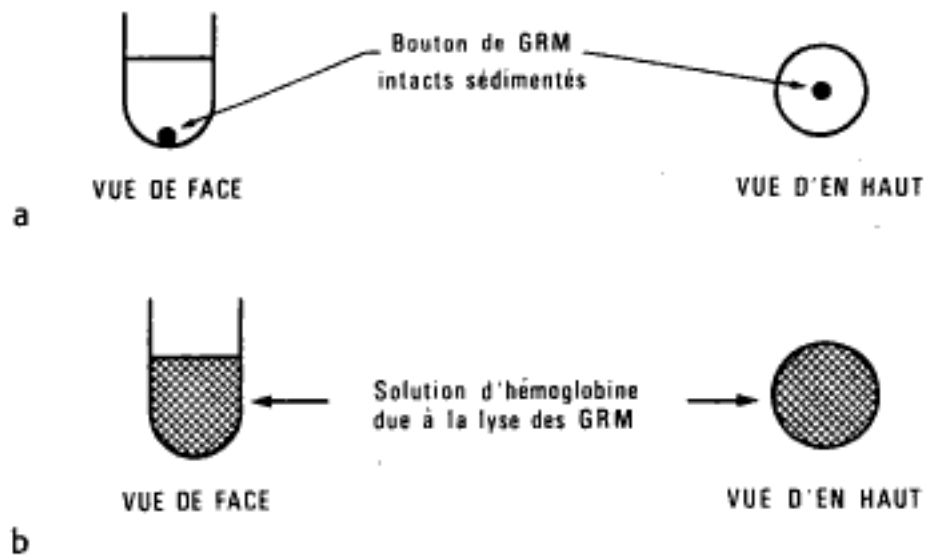
$GRM + SH \rightarrow GRM-SH \leftarrow$

Le complément n'ayant pas été fixé pendant le premier temps de la réaction va venir se fixer sur le complexe GRM-SH où il va provoquer, par son activation, la

► **Fig. 7.10.** Mise en évidence des anticorps fixant le complément.

**a.** Test positif.

**b.** Test négatif. ►



lyse des GRM. Le tube ou la cupule réactive aura l'aspect présenté figure 7.10b. La visualisation d'une coloration rouge orangé uniforme dans le tube ou la cupule réactive est donc la preuve de l'absence d'Ac spécifique de l'Ag connu introduit dans la réaction.

### 3. Applications en virologie

La réaction de déviation du complément est utilisée en virologie pour mettre en évidence les Ac dirigés contre la quasi-totalité des virus. Toutefois, du fait de sa faible sensibilité, elle est à l'heure actuelle parfois remplacée par des réactions sérologiques plus sensibles telles que la réaction ELISA, l'IF ou la réaction d'IHA virale dans la mesure où cette dernière est applicable.

## E. Inhibition de l'hémagglutination (IHA)

Technique très largement utilisée pour le diagnostic sérologique des infections par des **virus hémagglutinants** comme le virus de la rubéole, de la grippe, de la rougeole, les adénovirus, de nombreux arbovirus...

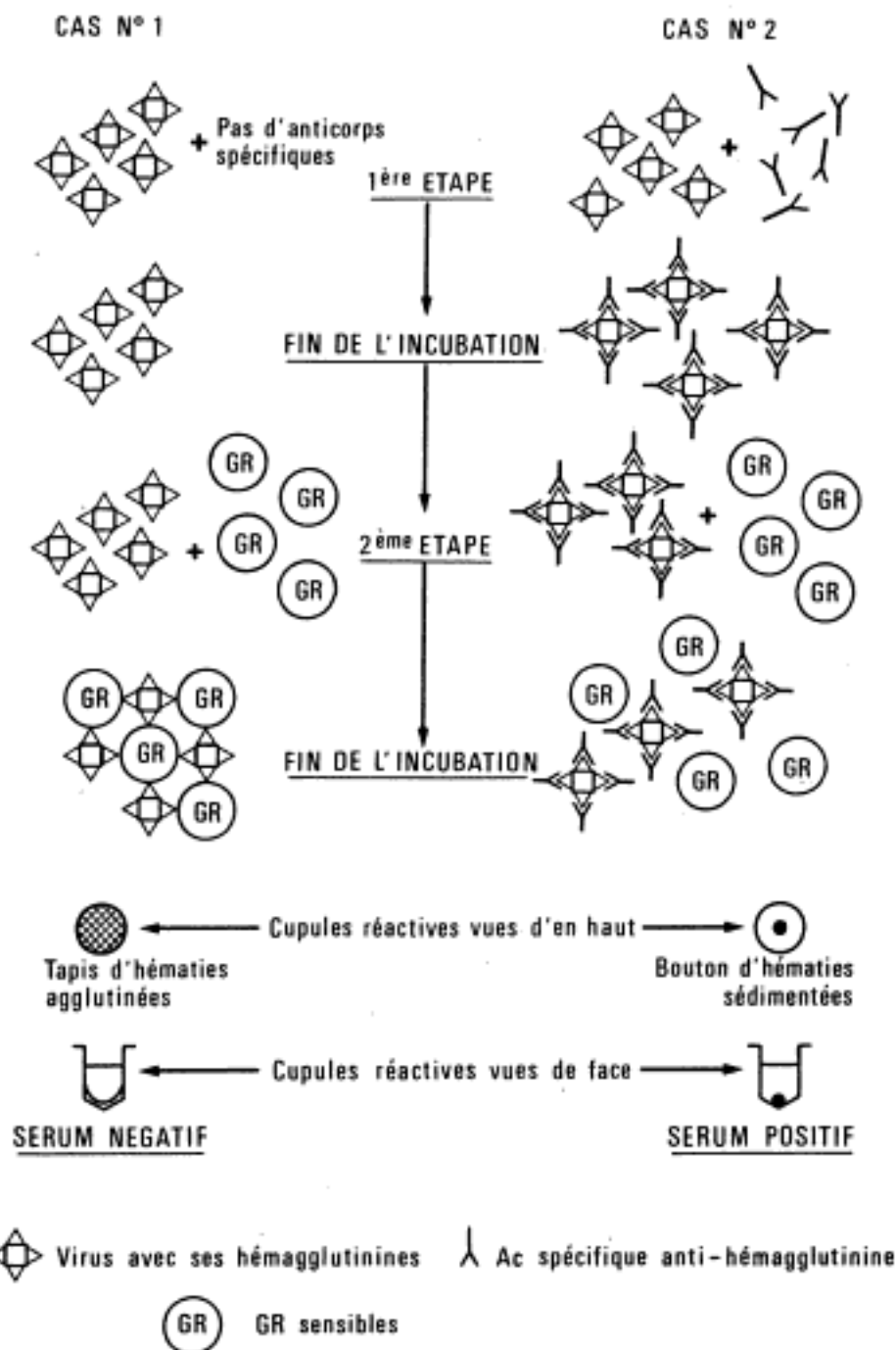
### 1. Principe

La réaction est basée sur la propriété du virus de se fixer à la surface de certaines hématies par l'intermédiaire d'hémagglutinines, et de former des ponts entre les hématies (hémagglutination virale). Les anticorps spécifiques du virus se fixent sur le virus. Lorsque le virus est ainsi entouré d'anticorps, il n'a plus accès à la surface de l'hématie : il y a inhibition de l'hémagglutination (fig. 7.11). Chaque virus agglutine les hématies d'espèces animales déterminées.

**Exemples :**

- rougeole : hématies de singe ;
- grippe : hématies de cobaye.

► **Fig. 7.11.** Schéma de principe de l'inhibition de l'hémagglutination virale. ►



## 2. Traitement des sérums

Il existe dans les sérums et liquides biologiques des « inhibiteurs non spécifiques », lipoprotéines présentes indépendamment de toute infection et capables de gêner l'hémagglutination en se fixant sur les virus.

Ces substances doivent être éliminées par traitement préalable des sérums. Selon les virus en cause, différents traitements des sérums sont possibles :

- au kaolin ;
- à l'héparine ;
- au *Receptor destroying enzyme* (RDE) de *Vibrio cholerae*.

### 3. Technique du titrage

Pour effectuer le titrage des anticorps les sérums sont dilués en dilution géométrique de raison 2 (par exemple : 1/10, 1/20, 1/40, 1/80). Ces dilutions sont mises en contact avec une quantité donnée de virus hémagglutinant. (La quantité de virus hémagglutinant ajoutée dans chaque cupule est déterminée par dosage de l'antigène par hémagglutination.) Pendant le premier temps d'incubation, les anticorps, s'ils sont présents, se fixent sur le virus. Au cours du deuxième temps de la réaction, une suspension d'hématies est ajoutée aux mélanges virus + dilutions du sérum.

Si, au cours du premier temps de la réaction, des anticorps spécifiques du virus étaient présents dans le sérum, ils se sont fixés sur les virus, et ceux-ci ont perdu leur pouvoir agglutinant. Par contre, si le sérum examiné ne contient pas d'anticorps, les virus agglutinent les hématies.

### 4. Résultats

Ils sont rendus sous forme d'un nombre appelé titre de sérum. C'est l'inverse de la dernière dilution où il y a encore inhibition totale de l'hémagglutination : par exemple, si un sérum inhibe l'hémagglutination jusqu'à la dilution de 1/160, son titre est 160.

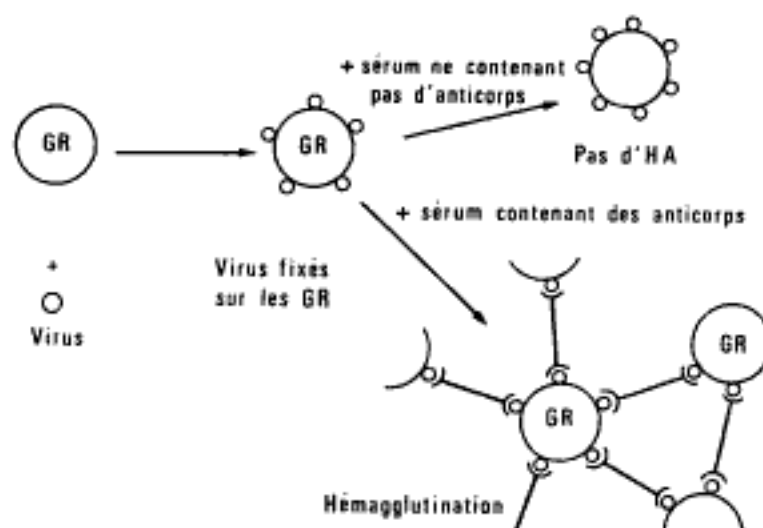
## F. Hémagglutination passive

De nombreux virus **non hémagglutinants** peuvent être fixés à la surface d'hématies soit par simple contact, soit par des procédés chimiques en utilisant des agents couplant comme l'acide tannique dans des conditions particulières. En présence d'un sérum contenant des anticorps spécifiques du virus, les hématies sont agglutinées de façon passive (par l'intermédiaire des anticorps) (fig. 7.12). C'est une méthode souvent très sensible.

#### Exemples :

- recherche des anticorps anti-HBs ;
- recherche des anticorps anti-CMV.

► Fig. 7.12. Principe de l'hémagglutination passive. ►



## G. Réaction ELISA (*Enzyme-linked immunosorbent assay*)

Cette méthode met à profit la propriété des protéines de se fixer en tampon alcalin sur un support tel que papier, verre ou plastique.

### 1. Matériel

#### a. Pour la fixation de l'antigène

- Support (en général on utilise des plaques en polystyrène à 96 cupules à fond plat).
- Antigène (Ag).
- Tampon alcalin.
- Solution de lavage.

#### b. Pour la réaction proprement dite

- Sérum à étudier.
- Conjugués à la peroxydase : ce sont des immunoglobulines (Ig) animales anti-Ig humaines (G ou M) sur lesquelles on a fixé (greffé) une enzyme qui est la peroxydase ; il existe des conjugués dirigés contre les IgG humaines et des conjugués contre les IgM humaines.
- Solution de substrat spécifique de la peroxydase (comme l'eau oxygénée) + chromogène (comme l'orthophénylènediamine) ; lorsque le substrat est dégradé par l'enzyme, il provoque l'oxydation du chromogène qui passe alors de la forme réduite incolore à la forme oxydée qui est colorée en jaune orangé.
- Solution de lavage permettant d'éliminer tout ce qui n'est pas fixé d'une manière immunologique dans la cupule réactive.
- $H_2SO_4$  comme solution de blocage de la réaction enzymatique.

### 2. Méthode (fig. 7.13)

#### a. Fixation de l'antigène sur le support

L'Ag (en solution alcaline) est distribué dans toutes les cupules de la plaque. Après une nuit à température ambiante, les plaques sont lavées, séchées (étape n° 1) et peuvent être conservées au congélateur.

#### b. Réaction proprement dite

Les sérums à tester sont distribués dans les cupules à raison de deux cupules par sérum (étape n° 2). Après une incubation d'une heure à 37 °C, les plaques sont lavées et le conjugué (anti-G ou anti-M) distribué dans toutes les cupules (étape n° 3). Après une incubation d'une heure à 37 °C, les plaques sont à nouveau lavées et le substrat-chromogène distribué dans toutes les cupules (étape n° 4). Après une incubation d'une demi-heure à température ambiante, la réaction enzymatique éventuellement développée est stoppée par l' $H_2SO_4$ . La coloration est alors appréciée soit à l'œil nu soit avec un spectrophotomètre par rapport à la coloration des témoins sérums positif et négatif que l'on a pris soin d'introduire dans la réaction.

Un sérum est rendu positif en Ac lorsque la densité optique des cupules réactives lui correspondant est supérieure à la densité optique des cupules correspondant au témoin négatif.

CONNAISSANCES – I. VIROLOGIE GÉNÉRALE

En utilisant des conjugués anti-IgG et anti-IgM on met en évidence, et cela sans séparation préalable, vis-à-vis de l'Ag introduit, l'existence d'Ac spécifiques appartenant à la classe G ou à la classe M des Ig.

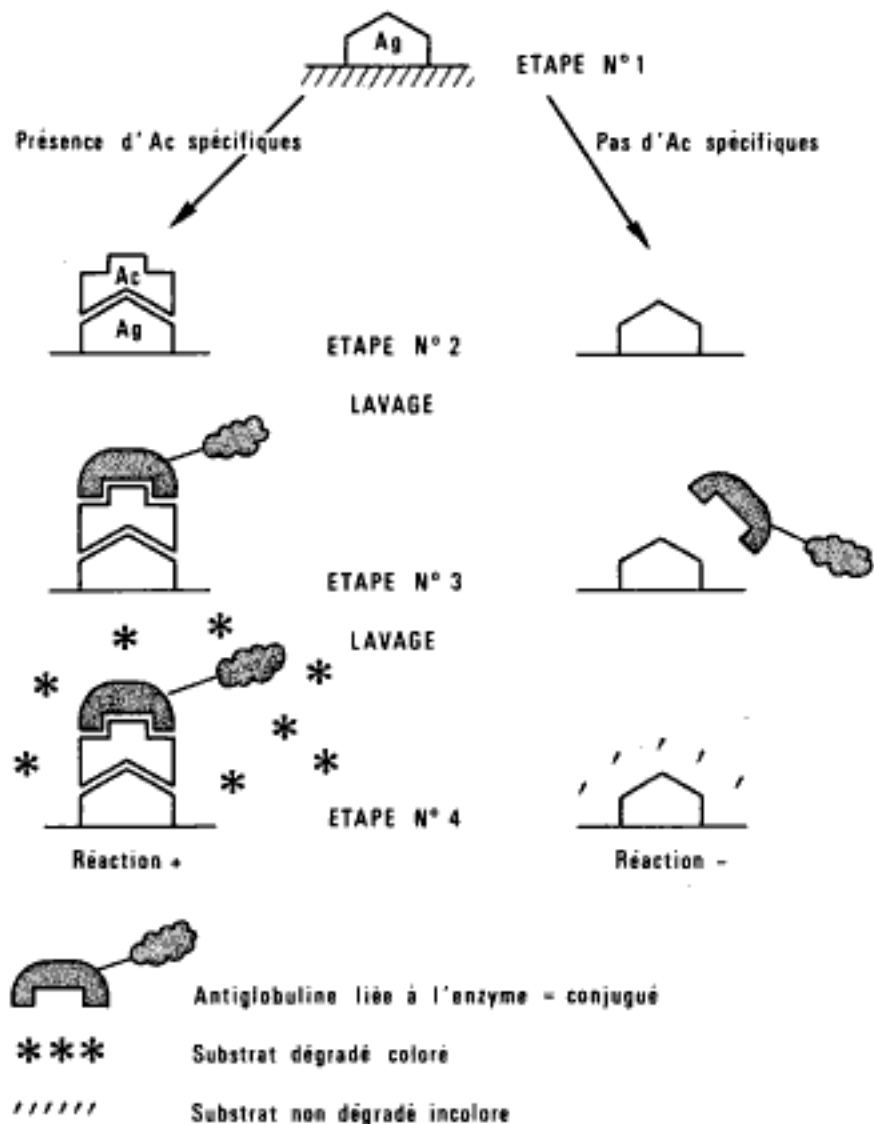
**c. Applications**

La technique ELISA est une technique très développée à l'heure actuelle du fait de sa grande sensibilité (voisine de la RIA), de son faible coût, de sa reproductibilité et de sa lecture objective (lecture au spectrophotomètre) ainsi que de son automatisation possible. Son application en virologie s'étend de plus en plus et cela notamment pour les sérologies suivantes :

- VHB : Ac anti-HBs, Ac anti-HBe, Ac anti-HBc ;
- VHA : IgM anti-VHA, IgG anti-VHA ;
- VIH : Ac anti-VIH-1 et VIH-2.

La méthode est aussi utilisée pour la mise en évidence directe de certains antigènes viraux : rotavirus dans les selles, HBs dans le sérum, antigène VIH-1 dans le sérum (antigénémie)... (se reporter au diagnostic direct).

► **Fig. 7.13.** Principe de la réaction ELISA. ►



### 3. Immunofluorescence indirecte

Cette technique repose sur l'utilisation comme anticorps d'une antiglobuline humaine, préparée chez l'animal, couplée à la fluorescéine (ou, éventuellement, la rhodamine).

Le virus (l'antigène) est cultivé en culture de cellules. Les cellules ainsi infectées sont fixées, étalées sur une lame de microscope.

Le sérum à titrer est dilué de façon géométrique. Les différentes dilutions de sérum sont mises à incuber sur les cellules contenant l'antigène.

Les anticorps spécifiques, s'ils sont présents se lient à l'antigène fixé sur la lame.

Les lames sont alors lavées en eau physiologique : seuls les anticorps spécifiques de l'antigène (du virus) fixé sur la lame restent liés aux cellules.

Dans un deuxième temps, on ajoute un antisérum fluorescent :

- anti-immunoglobulines totales humaines ;
- ou anti-IgG ;
- ou anti-IgM.

Cet antisérum fluorescent se lie aux anticorps fixés à l'antigène des cellules.

Après un nouveau rinçage, les lames sont observées au microscope à fluorescence (UV). Il y a fluorescence dans les cellules infectées lorsque le sérum à tester possède les anticorps spécifiques du virus.

Lorsque le sérum ne possède pas d'anticorps spécifique, les cellules ne sont pas fluorescentes.

C'est une technique sensible, mais dont la lecture est parfois délicate ou d'interprétation difficile.

## H. Radio-immunologie : *radio-immunosorbent test (RIST)*

Surtout utilisé pour le diagnostic de l'hépatite B, le RIST est une technique extrêmement sensible.

L'antigène (le virus) est fixé sur un support solide de verre ou de plastique (billes, tubes...).

La fixation de l'anticorps éventuellement présent dans le sérum est détectée par adjonction, après rinçage, d'une antiglobuline liée à un isotope radioactif.

Après un nouveau rinçage, le tube est passé au compteur à scintillation.

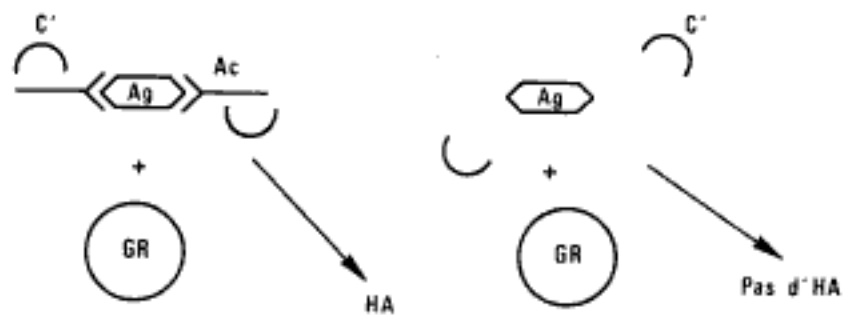
Le principe est le même que pour la réaction ELISA. Seul le mode de détection change.

## I. Immune adherence hemagglutination (IAHA)

Réaction encore peu utilisée mais intéressante, fondée sur la propriété que possèdent les complexes antigène-anticorps-complément, de s'accrocher à certains types de globules rouges (fig. 7.14).

Cette méthode paraît beaucoup plus sensible que la fixation du complément, et est moins sujette à l'action anticomplémentaire de certains sérums. Cette réaction est actuellement utilisée pour la recherche des anticorps antihépatite A.

► **Fig. 7.14.** Réaction IAHA. ►



## J. Réaction de neutralisation

C'est la neutralisation de l'infectivité d'un virus. La technique, très ancienne, est souvent la technique sérologique de référence.

La mise en contact d'un virus avec un sérum contenant des anticorps dirigés contre lui, avant son inoculation sur un système-hôte vivant sensible, inhibe l'infectivité du virus.

Le système-hôte varie selon le virus : animaux, œufs embryonnés, cultures de cellules.

L'infection peut être détectée par examen direct (ECP, mort des animaux, plages...) ou doit être mise en évidence par différentes techniques (hémadsorption, interférence, immunofluorescence ou hémagglutination du surnageant de culture).

La séroneutralisation en culture de cellules est la technique la plus facile et la moins onéreuse, à condition de posséder un système cellulaire sensible au virus. Le plus souvent, on met en contact une dose donnée de virus avec des dilutions géométriques de sérum à tester.

Après ce temps de contact, le mélange virus-sérum dilué est mis sur un tapis cellulaire. On fait, en même temps, deux témoins :

- cellules sans virus ni sérum ;
- et cellules + virus sans sérum.

Ceci pour vérifier le bon état des cellules en l'absence d'infection, et la vitalité du virus.

Dans les jours suivants, les cultures sont observées au microscope inversé, à la recherche d'un éventuel effet cytopathogène (ECP). Dans le cas de virus n'induisant que peu ou pas d'ECP, la pousse virale est mise en évidence par interférence, immunofluorescence, ou hémadsorption (*cf.* Remarques ci-dessous).

On détermine la dernière solution de sérum qui protège les cellules de l'infection virale.

La technique de séroneutralisation est une technique de référence, spécifique et sensible, mais de manipulation délicate, longue et onéreuse.

### **Remarques**

#### **Interférence**

Lorsque des cellules sont infectées par un virus non cytopathogène, ces cellules paraissent saines à l'observation microscopique, mais elles sont devenues réfractaires à l'infection par un autre virus qui entraîne, lui, régulièrement, un ECP.

#### **Immunofluorescence**

La recherche d'antigènes viraux présents dans les cellules peut se faire par immunofluorescence : les cellules sont mises en présence d'un antiserum, spécifique antiviral, fluorescent.

**Hémadsorption**

Lors de la sortie hors des cellules, par bourgeonnement, des virus hémagglutinants enveloppés, les spicules hémagglutinants se trouvent à la surface des cellules au niveau des bourgeons. Si on met dans le milieu des globules rouges, ceux-ci se fixeront à la surface des cellules infectées.

**K. Western blot (ou immunoblot)**

Cette technique s'est développée avec la recherche sur le VIH et elle est maintenant largement répandue dans les laboratoires de virologie.

On sait qu'il existe au moins deux virus de l'immunodéficience humaine : VIH-1 et VIH-2. Le VIH-1 est le plus prévalent actuellement en France.

Après avoir cultivé, concentré et purifié du VIH-1, on peut séparer par électrophorèse les diverses protéines qui le constituent ; c'est ainsi que l'on décrira du plus grand poids moléculaire au plus petit les protéines suivantes : Gp160 (pour glycoprotéine de 160 000 Da), (Gp110), p68, p55, Gp41, p40, p34, p25 et p18. Ces protéines sont alors transférées sur un filtre de nitrocellulose puis celui-ci est découpé en bandes utilisées pour le diagnostic sérologique. Chaque bande est incubée avec un sérum (généralement dilué au 1 : 100), rincée puis incubée avec un conjugué anti-immunoglobuline humaine lié à une enzyme et le substrat de l'enzyme ajouté. Lorsque les bandes apparaissent, cela signifie que le patient a les anticorps correspondants (fig. 7.15).

Cette technique est utilisée comme confirmation d'un test de détection ELISA positif.

**► Fig. 7.15. Western blot VIH-1.**

Le sérum correspondant possède des anticorps contre toutes les protéines structurales du VIH-1. Ce profil signe une infection par le virus. Le *western blot* est utilisé pour la confirmation d'une positivité par un test ELISA. ►



## L. Recherche des anticorps dans les fractions d'immunoglobulines IgG et IgM

### 1. Intérêt

La présence d'anticorps spécifiques d'un virus dans la fraction des immunoglobulines M est témoin d'une infection virale en cours ou très récente. La présence d'anticorps dans les IgG uniquement ne représente qu'une cicatrice sérologique d'une infection ancienne.

Selon les familles de virus, la présence d'IgM peut correspondre :

- à une primo-infection : lors d'une primo-infection, on observe la présence d'IgM (exemple : la rubéole). Lors d'une réinfection, la réponse immunitaire humorale mobilise les IgG seules (sauf exception) ;
- à une infection en cours, primo- ou résurgence ou réinfection (exemple : cytomégalovirus).

Dans le cas d'une infection néonatale, la présence d'anticorps dans la fraction IgM chez le nouveau-né est le témoin d'une infection en cours. En effet, les IgM ne traversent pas la barrière fœtoplacentaire. Les IgM sont donc fabriquées par le nouveau-né lui-même, et ne peuvent pas être transmises passivement par la mère.

### 2. Techniques

#### a. Techniques par séparation préalable des immunoglobulines

Il s'agit de :

- l'ultracentrifugation en gradient de saccharose : les Ig sont séparés d'après leur coefficient de sédimentation (IgG, IgA : 7S ; IgM : 19S) ;
- le gel filtration : la séparation des Ig se fait d'après leur poids moléculaire.

Ces deux techniques permettent de récupérer les IgG et les IgM dans des fractions différentes, et de pratiquer, sur chaque fraction, les tests sérologiques.

Ce sont actuellement les techniques de référence pour le sérodiagnostic de la rubéole, bien qu'il puisse exister de faux résultats positifs par contamination des fractions IgM avec des IgG ou des IgA agrégées (les IgG ou IgA agrégées ont alors un coefficient de sédimentation voisin de l'IgM).

Ces techniques sont longues, nécessitant un appareillage lourd, et ne sont à la portée que de laboratoires spécialisés.

#### b. Techniques utilisant une dénaturation ou une absorption spécifique d'une des classes d'Ig

##### *Dénaturation « spécifique » des IgM par le $\beta$ -mercaptoéthanol ( $\beta$ -ME)*

Cette technique est fondée sur le principe suivant : les IgM, pentamériques, sont très sensibles à la réduction par le  $\beta$ -ME et perdent alors leurs propriétés immunologiques, contrairement à la majorité des IgG qui y sont insensibles. Lorsqu'un sérum présente un titre élevé en Ac, avant traitement, et voit ce titre nettement diminué après traitement par le  $\beta$ -ME, on peut en déduire que la baisse de titre

est due à la dénaturation des IgM spécifiques. Cette technique est abandonnée, car elle conduit à de faux positifs, certaines IgG étant aussi sensibles au  $\beta$ -ME.

### **Adsorption « spécifique » des IgG par la protéine A du staphylocoque**

Cette protéine fixe les IgG. Après traitement, seules resteraient libres les autres classes d'Ig. Cette technique, elle aussi, ne doit pas être utilisée, car certaines IgG ne se fixent pas, et peuvent donner de faux résultats positifs. On l'utilise cependant pour l'élimination partielle des IgG afin d'éviter les phénomènes de compétition entre IgG et IgM dans les techniques suivantes.

### **c. Techniques sans séparation ni dénaturation des Ig**

On met en évidence chaque classe d'Ig en utilisant des réactifs immunologiques : anticorps anti-IgG ou anti-IgM.

#### **Techniques où l'antigène est fixé sur un support solide**

**Immunofluorescence.** Les cellules infectées par du CMV, par exemple ; les IgM anti-CMV du sérum sont révélées par un anticorps anti-IgM conjugué à la fluorescéine.

**ELISA ou RIA.** L'antigène est fixé sur un support plastique. Les IgM spécifiques de l'antigène sont révélées par une anti-IgM conjuguée à une enzyme ou à un élément radioactif.

**Faux positifs et faux négatifs.** On peut, dans ces techniques, observer de faux résultats positifs ou négatifs.

Les *faux négatifs* sont dus à l'interférence du facteur rhumatoïde (FR : IgM anti-IgG). Le FR, lié à des IgG spécifiques du virus, est détecté par les antisérums anti-IgM, comme une IgM spécifique. Pour éviter ces faux positifs, plusieurs traitements des sérums sont possibles :

- élimination du FR par adsorption :
  - sur particules de latex recouverts d'IgG,
  - sur IgG agrégées (par la chaleur ou par le glutaraldéhyde) ;
- élimination de toutes les IgG par un anticorps anti-IgG.

Les *faux positifs* sont dus au fait que les IgG, présentes en grande quantité dans un sérum, peuvent entrer en compétition avec les IgM, présentes en plus faible quantité, vis-à-vis des sites antigéniques. Une élimination des IgG, partielle (protéine A du staphylocoque), ou totale (anticorps anti-IgG), permet de mettre en évidence de faibles quantités d'IgM.

#### **Technique où des anticorps anti-IgM sont fixés sur un support solide**

Toutes les IgM du sérum sont, dans un premier temps, liées à ces anti-IgM. Après lavage, les IgM spécifiques d'un virus sont mises en évidence par une technique immuno-enzymatique (immunocaptation ou immunocapture) ou par hémadsorption (SPRIST : *Solid phase reverse immunosorbent test*).

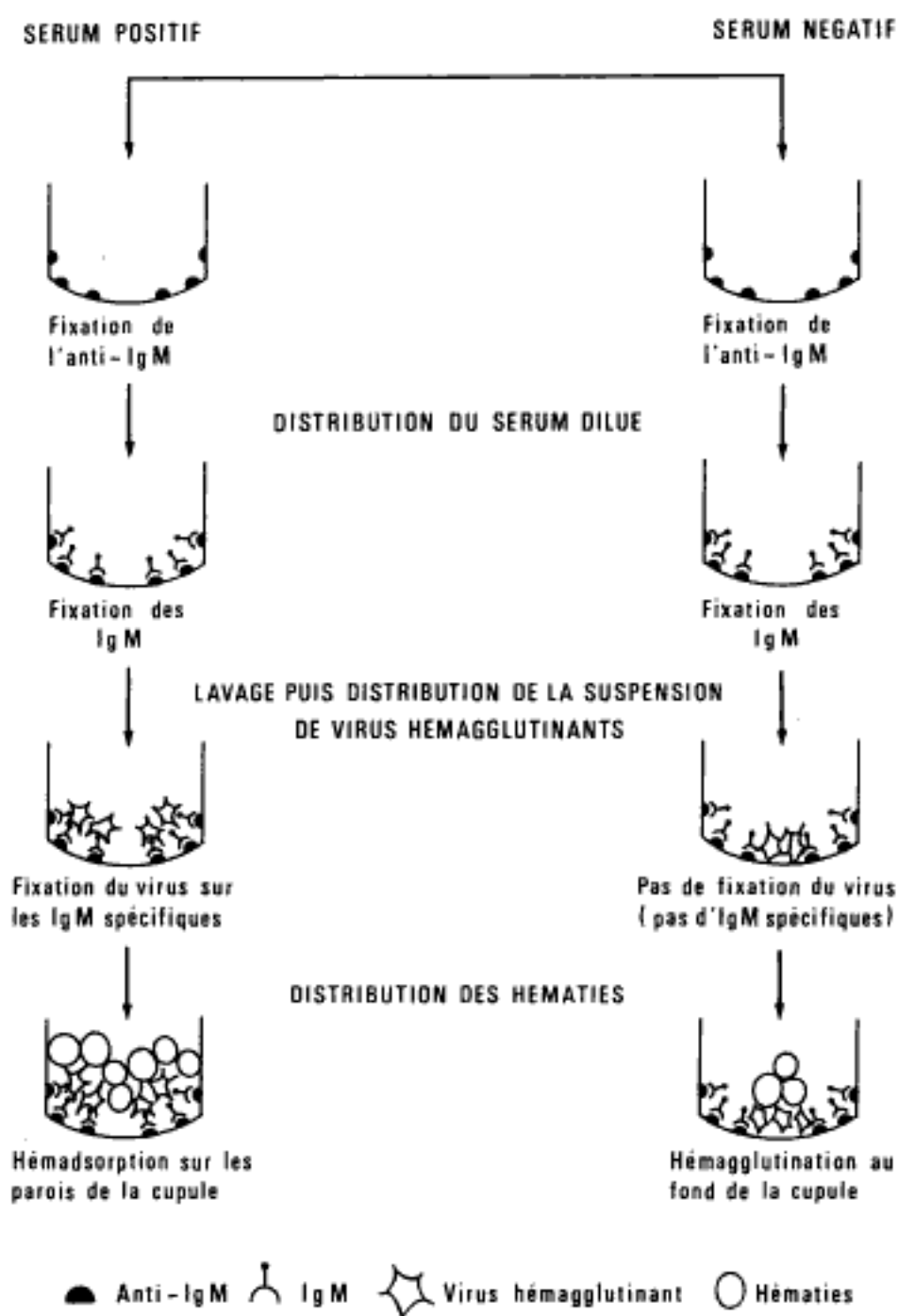
**Immunocapture.** Après l'étape de fixation des IgM, on ajoute :

- soit un antigène (virus) conjugué à une enzyme (fig. 7.16) ;
- soit un antigène non lié, puis, après lavage, un anticorps conjugué spécifique antiviral (fig. 7.17).

La réaction, après lavage, se termine par l'addition de substrat de l'enzyme et évaluation de la coloration obtenue.

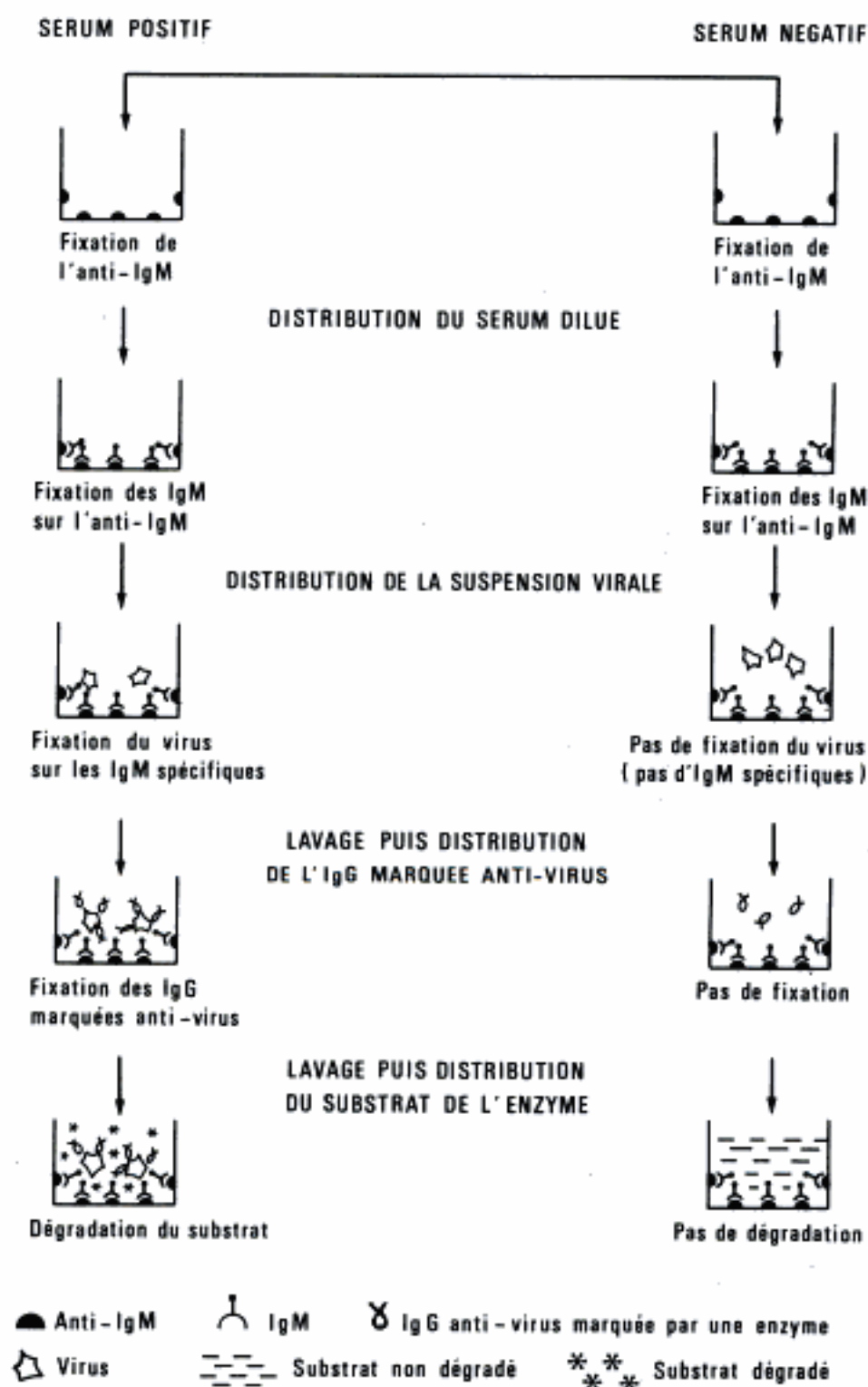


► Fig. 7.17. Immunocapture en deux étapes. ►



**SPRIST.** Le SPRIST n'est utilisable que pour les virus hémagglutinants (rubéole, rougeole). Après l'étape de fixation des IgM, on ajoute du virus, qui se lie aux IgM spécifiques fixées sur la phase solide, puis, sans lavage, on dépose des globules rouges (fig. 7.18). Si la réaction est positive, on observe une hémadsorption sur les parois de support solide. Si la réaction est négative, les agglutinats virus-globules rouges tombent au fond.

► Fig. 7.18. SPRIST. ►



**Points clés**

Le diagnostic d'une maladie virale repose d'une part sur la mise en évidence du virus par culture, par détection des antigènes viraux ou par détection, voire quantification de l'acide nucléique génomique et, d'autre part, sur la détection des anticorps spécifiques.

Il est clair que les techniques de détection des acides nucléiques faisant appel à la biologie moléculaire (notamment l'amplification génique ou PCR) sont devenues prédominantes dans les laboratoires de virologie spécialisés.

*Connaissances*

***II. Virologie  
systématique***

Hidden page

# Virus influenza (virus de la grippe)

8

- |   |  |
|---|--|
| I. MORPHOLOGIE ET COMPOSITION CHIMIQUE        | V. ÉPIDÉMIOLOGIE, PHYSIOPATHOLOGIE ET CLINIQUE |
| II. RÉPLICATION                               | VI. DIAGNOSTIC VIROLOGIQUE                     |
| III. ACTION DES AGENTS PHYSIQUES ET CHIMIQUES | VII. TRAITEMENT ET PROPHYLAXIE                 |
| IV. ANTIGÈNES                                 |  |

## Items

Item 82. Grippe.  
Item 86. Infections bronchopulmonaires du nourrisson, de l'enfant et de l'adulte.  
Item 96. Méningites infectieuses et méningo-encéphalites.

Ces virus, responsables des gripes humaine et animale, appartiennent à la famille des *Orthomyxoviridae* ; cette famille comprend un genre, *influenzavirus*, et trois types, A, B et C. La grippe est une infection respiratoire aiguë évoluant sous forme d'épidémies, parfois mondiales. Le premier isolement de virus grippal humain a été effectué en 1933.

## I. MORPHOLOGIE ET COMPOSITION CHIMIQUE

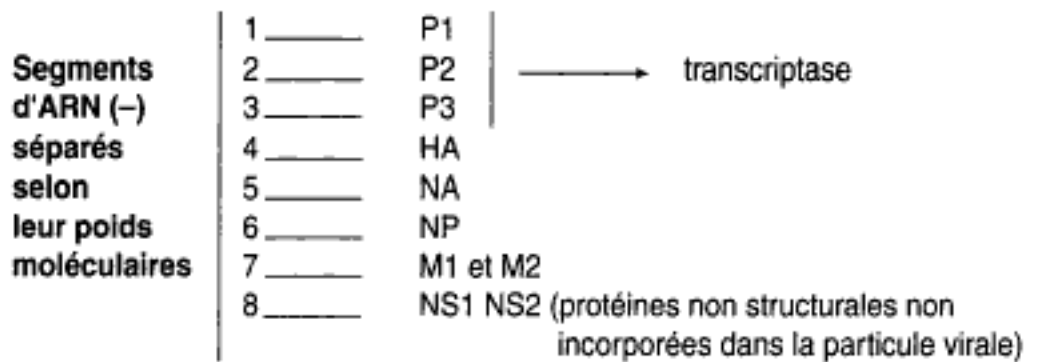
Il s'agit de particules rondes de 80 à 120 nm de diamètre ; parfois ces particules sont filamenteuses (virus grippal de type A). On distingue :

- une nucléocapside contenant un ARN monocaténaire segmenté (8 segments) de polarité négative dans une capsidie hélicoïdale ;
- une enveloppe glucido-lipido-protidique provenant de la membrane cytoplasmique de la cellule et porteuse de spicules de deux types :
  - l'hémagglutinine (HA) correspond à un trimère de deux glycoprotéines ; elle permet la fixation du virus sur le récepteur, l'acide sialique ou acide N-acétylneuraminique ;
  - la neuraminidase (NA) est un tétramère d'une seule protéine glycosylée, elle rompt le pont entre l'acide sialique et le reste de la cellule et participe donc à la libération virale en fin de bourgeonnement.

Il est particulièrement intéressant de noter dès maintenant quelles sont les relations entre segments d'ARN viral et protéines virales ; ces relations sont schématisées figure 8.1.

La segmentation du génome viral favorise la recombinaison génétique entre des souches différentes et nous verrons plus loin combien cette notion est importante pour comprendre l'épidémiologie des virus grippaux de type A.

**Fig. 8.1.** Correspondance entre les différents segments d'ARN et leurs produits de traduction. ➤



## II. RÉPLICATION

Elle a été décrite dans le chapitre consacré à la répllication des virus à ARN (-) (chapitre 3). On rappelle que la transcription est intranucléaire et que l'amorce nécessaire à l'enzyme virale est constituée de l'extrémité 5' d'un ARNm cellulaire. Signalons ici l'intérêt de deux protéines virales qui seront la cible des antiviraux : la protéine M2, canal à protons, qui joue un rôle majeur dans la décapsidation virale et qui est la cible des adamantanes (amantadine et rimantadine) ; et la neuraminidase qui assure la libération virale à la fin du cycle de répllication et qui est la cible des inhibiteurs de neuraminidase (*Tamiflu* et *Relenza*).

## III. ACTION DES AGENTS PHYSIQUES ET CHIMIQUES

Les virus influenza sont sensibles à la chaleur qui les inactive rapidement ; on peut les conserver à + 4 °C en présence de stabilisateurs protéiques ; le liquide allantoïque infecté constitue ainsi un bon milieu de conservation à + 4 °C. Étant enveloppés, ces virus sont sensibles aux solvants des graisses comme l'éther et le désoxycholate de sodium ; ils sont donc détruits dans le tube digestif et ne sont pas retrouvés dans les selles chez l'homme. La  $\beta$ -propiolactone agit sur l'acide nucléique viral et inactive le virus sans modifier ses propriétés antigéniques ; elle est utilisée pour la préparation des vaccins antigrippaux inactivés.

## IV. ANTIGÈNES

### A. Antigènes internes

Les protéines NP et M donnent lieu à l'apparition d'anticorps déviant le complément ; elles sont spécifiques de type grippal A, B ou C. Nous n'étudierons plus loin que les types A et B ; précisons d'emblée que le type B n'est présent que chez l'homme, alors que le type A est retrouvé chez l'homme et chez certaines espèces animales, notamment les oiseaux sauvages qui en sont le réservoir naturel le plus important.

## B. Antigènes d'enveloppe

L'hémagglutinine génère des anticorps qui inhibent l'hémagglutination et assurent la neutralisation du pouvoir infectieux ; elle est spécifique de sous-type et de variant. La neuraminidase induit des anticorps inhibant son activité enzymatique, non neutralisants mais limitant la quantité de virus produits. Elle est également spécifique de sous-type et de variant.

## C. Variations antigéniques et nomenclature

Chez les virus grippaux, HA et NA sont soumises à des variations antigéniques indépendantes ; ces variations se font selon deux modalités : les cassures (ou sauts) et les glissements.

Les cassures correspondent à un changement complet, par recombinaison génétique, du segment génomique portant l'information pour HA ou NA.

Les glissements correspondent à des modifications mineures portant sur quelques acides aminés de HA et/ou NA ; il y aurait alors sélection, dans une population immunisée, de variants viraux ayant subi une mutation ponctuelle.

La désignation d'une souche grippale humaine doit apporter les informations suivantes :

- description antigénique de NP (A ou B) ;
- origine géographique de l'isolat ;
- numéro de la souche ;
- année d'isolement.

De plus, pour les virus grippaux de type A, on ajoute entre parenthèses le caractère antigénique du sous-type de HA et celui du sous-type de NA ; chez l'homme, ces sous-types sont : H<sub>1</sub>, H<sub>2</sub> ou N<sub>3</sub> et N<sub>1</sub> ou N<sub>2</sub>. On pourrait également citer le virus H<sub>5</sub>N<sub>1</sub>, qui est aviaire et qui infecte l'homme mais qui n'est pas endémique chez l'homme ; ce virus est abordé dans le chapitre dévolu aux virus émergents. Observons la nomenclature des souches grippales A endémiques isolées chez l'homme depuis 1934 (tableau 8.1) ; le sous-type de l'hémagglutinine de la souche grippale humaine de 1918 a été identifié par des études sérologiques et porte la dénomination HSw.

**Tableau 8.1.** Nomenclature des souches grippales A isolées chez l'homme depuis 1934.

1918	HSw	H <sub>1</sub> N <sub>1</sub> (HSw et H <sub>0</sub> N <sub>1</sub> sont regroupés dans H <sub>1</sub> N <sub>1</sub> )
1934 A/Puerto Rico/8/34	H <sub>0</sub> N <sub>1</sub>	
1947 A/Fort Monmouth/1/47	H <sub>1</sub> N <sub>1</sub>	
1957 A/Singapour/1/57	<b>H<sub>2</sub>N<sub>2</sub></b>	Glissements dans H <sub>3</sub> N <sub>2</sub> et H <sub>3</sub> N <sub>1</sub> (il existe une circulation simultanée de H <sub>3</sub> N <sub>2</sub> et H <sub>1</sub> N <sub>1</sub> )
1968 A/Hong Kong/1/68	<b>H<sub>3</sub>N<sub>2</sub></b>	
1972 A/England/42/72	H <sub>3</sub> N <sub>2</sub>	
1973 A/Port Chalmers/1/73	H <sub>3</sub> N <sub>2</sub>	
1974 A/Scotland/840/74	H <sub>3</sub> N <sub>2</sub>	
1975 A/Victoria/3/64	H <sub>3</sub> N <sub>2</sub>	
1977 A/Texas/1/77	H <sub>3</sub> N <sub>2</sub>	

CONNAISSANCES – II. VIROLOGIE SYSTÉMATIQUE

suite du tableau 8.I

1979 A/Bangkok/1/79	H <sub>3</sub> N <sub>2</sub>	A/Singapore/6/86 H <sub>1</sub> N <sub>1</sub>
1985 A/Mississippi/1/85	H <sub>3</sub> N <sub>2</sub>	
1986 A/Leningrad/360/86	H <sub>3</sub> N <sub>2</sub>	
1987 A/Sichuan/2/87	H <sub>3</sub> N <sub>2</sub>	
1989 A/Beijing/353/89	H <sub>3</sub> N <sub>2</sub>	
1992 A/Beijing/32/92	H <sub>3</sub> N <sub>2</sub>	
1993 A/Shangdon/9/93	H <sub>3</sub> N <sub>2</sub>	
1994 A/Johannesburg/33/94	H <sub>3</sub> N <sub>2</sub>	A/Beijing/262/95 H <sub>1</sub> N <sub>1</sub>
1995 A/Wuhan/359/95	H <sub>3</sub> N <sub>2</sub>	
1997 A/Sydney/5/97	H <sub>3</sub> N <sub>2</sub>	A/New Caledonia/99 H <sub>1</sub> N <sub>1</sub>
1999 A/Panama/99	H <sub>3</sub> N <sub>2</sub>	
2002 A/Fujian/2002	H <sub>3</sub> N <sub>2</sub>	
2004 A/California/2004	H <sub>3</sub> N <sub>2</sub>	
2005 A/Wisconsin/2005	H <sub>3</sub> N <sub>2</sub>	A/Solomon Islands/2006 H <sub>1</sub> N <sub>1</sub>
2006		

HSw, H<sub>0</sub> et H<sub>1</sub> ont été regroupées sous la dénomination H<sub>1</sub>, car elles sont très proches et ne sont différenciées que par des mutations ponctuelles.

On note en 1957 l'émergence d'une souche dont les HA et NA sont totalement différentes de celles de la souche sévissant depuis 1947 (H<sub>2</sub> remplace H<sub>1</sub> et N<sub>2</sub> remplace N<sub>1</sub>) ; il y a ici une cassure portant sur HA et NA ; la nouvelle souche ne peut être neutralisée par des anticorps dirigés contre H<sub>1</sub> et N<sub>1</sub>, présents à cette époque dans la population humaine, et la grippe déferle alors dans une gigantesque pandémie planétaire.

En 1968, une nouvelle cassure va concerner HA (H<sub>3</sub> remplace H<sub>2</sub>) et une pandémie grippale est observée. Depuis 1968, il n'y a pas eu de nouvelle cassure mais des glissements antigéniques qui peuvent générer cependant des épidémies interpandémiques ; en effet, les anticorps dirigés contre une souche ancienne dans le même sous-type sont moins efficaces contre un variant récent ; le variant qui apparaît en dernier lieu à l'intérieur d'un sous-type est dominant sur les autres souches. On notera dans le tableau 8.I qu'il existe une circulation simultanée des souches grippales A (H<sub>3</sub>N<sub>2</sub>) et A (H<sub>1</sub>N<sub>1</sub>) dans les populations humaines, ces virus étant affectés par des glissements quel que soit le sous-type considéré.

Les virus grippaux de type A sont présents chez l'homme mais également chez les animaux : porc, cheval, oiseaux, phoques, baleines, singes. Les sous-types d'HA et de NA identifiés chez certains de ces animaux sont présentés dans le tableau 8.II.

**Tableau 8.II.** Sous-types d'hémagglutinine et neuraminidase A identifiés chez les animaux.

	Porc	Cheval	Oiseaux
HA	HSw	Heq <sub>1</sub> , Heq <sub>2</sub>	Hav <sub>1</sub> à Hav <sub>10</sub>
NA		Neq <sub>1</sub> , Neq <sub>2</sub>	Nav <sub>1</sub> à Nav <sub>6</sub>

Certains faits méritent d'être approfondis ; ainsi, en 1963, une souche grippale A a été isolée chez un canard en Ukraine : A/Duck/Ukraine/1/63 ; cette souche était porteuse du sous-type antigénique Hav<sub>7</sub>. Or, des observations de laboratoire ont montré que Hav<sub>7</sub> chez l'oiseau et H<sub>3</sub> chez l'homme étaient identiques ;

dès lors on peut imaginer que l'apparition chez l'homme de la souche A/Hong Kong/1/68 (H<sub>3</sub>N<sub>2</sub>) pourrait résulter d'une recombinaison (après co-infection) chez l'oiseau de la souche humaine A/Singapour/1/57 (H<sub>2</sub>N<sub>2</sub>) et d'une souche aviaire A porteuse de Hav<sub>7</sub>, la souche humaine « empruntant » au virus aviaire le segment génomique codant Hav<sub>7</sub>.

Ainsi, les cassures antigéniques observées chez les virus grippaux de type A seraient liées à des recombinaisons entre virus humains et animaux. Les oiseaux constituent un réservoir de virus A particulièrement intéressant car ils possèdent un grand assortiment de sous-types antigéniques. Ils sont porteurs chroniques et, lorsqu'ils sont migrateurs, peuvent véhiculer leurs virus sur des milliers de kilomètres.

Un autre aspect du rôle animal dans l'épidémiologie de la grippe A, a été mis en évidence à la suite de l'incident de Fort Dix, dans le New Jersey aux États-Unis en 1976. De jeunes recrues de l'armée américaine ont présenté un syndrome grippal et le virus isolé, A/New Jersey/76, a été rapidement considéré comme très proche de celui ayant sévi dans la population humaine en 1918 (cette pandémie avait été particulièrement meurtrière avec une estimation de vingt millions de morts).

Or, on s'apercevait que des porcs, vivant dans un élevage à proximité de la caserne, étaient porteurs du même virus possédant d'ailleurs l'hémagglutinine HSw (Sw : Swine) et l'on pouvait affirmer que les humains avaient été contaminés à partir du réservoir porcin. L'incident de Fort Dix n'est pas anodin ; en effet, il permet de proposer l'hypothèse suivante : en 1918, après la grande pandémie, le virus A humain, ne pouvant plus survivre dans des populations humaines immunisées, aurait trouvé un réservoir chez le porc ; le porc aurait conservé le virus par portage chronique ; le virus porcin mis en réserve, pouvait réinfecter l'homme lorsque les populations considérées, trop jeunes pour avoir connu la grippe de 1918, n'avaient aucune immunité contre cette souche.

Une telle mise en réserve animale, expliquerait la réapparition régulière chez l'homme de sous-types de virus grippaux A.

Des études biologiques et moléculaires ont permis de proposer une nouvelle classification des hémagglutinines et neuraminidases des virus grippaux A humains et animaux (tableau 8.III).

**Tableau 8.III.** Nouvelle classification des hémagglutinines et neuraminidases des virus grippaux A humains et animaux.

H <sub>0</sub> , H <sub>1</sub> , HSw	H <sub>1</sub>	N <sub>1</sub>	N <sub>1</sub>
H <sub>2</sub>	H <sub>2</sub>	N <sub>2</sub>	N <sub>2</sub>
H <sub>3</sub> , Heq <sub>2</sub> , Hav <sub>7</sub>	H <sub>3</sub>	Nav <sub>2</sub> , Nav <sub>3</sub>	N <sub>3</sub>
Nav <sub>4</sub>	H <sub>4</sub>	Nav <sub>4</sub>	N <sub>4</sub>
Hav <sub>5</sub>	H <sub>5</sub>	Nav <sub>5</sub>	N <sub>5</sub>
Hav <sub>6</sub>	H <sub>6</sub>	Nav <sub>1</sub>	N <sub>6</sub>
Heq <sub>1</sub> , Hav <sub>1</sub>	H <sub>7</sub>	Neq <sub>1</sub>	N <sub>7</sub>
Hav <sub>8</sub>	H <sub>8</sub>	Neq <sub>2</sub>	N <sub>8</sub>
Hav <sub>9</sub>	H <sub>9</sub>	Nav <sub>6</sub>	N <sub>9</sub>
Hav <sub>2</sub>	H <sub>10</sub>		
Hav <sub>3</sub>	H <sub>11</sub>		
Hav <sub>10</sub>	H <sub>12</sub>		
	H <sub>13</sub>		
	H <sub>14</sub>		
	H <sub>15</sub>		
	H <sub>16</sub>		

## CONNAISSANCES – II. VIROLOGIE SYSTÉMATIQUE

Les sous-types circulants sont : H<sub>1</sub>N<sub>1</sub>, H<sub>1</sub>N<sub>2</sub>, H<sub>2</sub>N<sub>2</sub>, H<sub>3</sub>N<sub>2</sub>, H<sub>3</sub>N<sub>8</sub>, H<sub>5</sub>N<sub>1</sub>, H<sub>5</sub>N<sub>2</sub>, H<sub>5</sub>N<sub>3</sub>, H<sub>5</sub>N<sub>8</sub>, H<sub>5</sub>N<sub>9</sub>, H<sub>7</sub>N<sub>1</sub>, H<sub>7</sub>N<sub>2</sub>, H<sub>7</sub>N<sub>3</sub>, H<sub>7</sub>N<sub>4</sub>, H<sub>7</sub>N<sub>7</sub>, H<sub>3</sub>N<sub>2</sub>, H<sub>10</sub>N<sub>7</sub> ; les animaux les plus importants dans cet ensemble écologique sont les oiseaux qui hébergent notamment la souche H<sub>5</sub>N<sub>1</sub> ; les humains ont été ou sont infectés par H<sub>1</sub>N<sub>1</sub>, H<sub>2</sub>N<sub>2</sub>, H<sub>3</sub>N<sub>2</sub>, H<sub>1</sub>N<sub>2</sub> (recombinant entre souches humaines H<sub>1</sub>N<sub>1</sub> et H<sub>2</sub>N<sub>2</sub>), H<sub>5</sub>N<sub>1</sub> (venant directement de l'oiseau, non pandémique), H<sub>7</sub>N<sub>7</sub> (venant de l'oiseau et ayant entraîné une centaine de cas humains en Hollande au cours de l'année 2003, non pandémique) ; les porcs sont infectés par des virus grippaux H<sub>1</sub>N<sub>1</sub>, H<sub>1</sub>N<sub>2</sub>, H<sub>3</sub>N<sub>1</sub>, H<sub>3</sub>N<sub>2</sub> ; les souches infectant les chevaux sont H<sub>7</sub>N<sub>7</sub> et H<sub>3</sub>N<sub>8</sub> ; H<sub>3</sub>N<sub>8</sub> est passée des chevaux aux chiens et est donc maintenant endémique chez oiseaux, chevaux et chiens.

Au total et pour résumer la situation épidémiologique spécifique des virus grippaux A chez l'homme, on peut considérer que l'émergence de nouvelles souches par cassure est liée à la recombinaison de souches humaines et aviaires chez un hôte intermédiaire qui serait le porc ; la cohabitation des humains, des porcs et des oiseaux, qui existe plus particulièrement en Asie, expliquerait la genèse des grandes pandémies grippales dans cette partie du monde. Une question qui s'est posée et qui a récemment reçu une réponse à prendre en considération, est la possibilité pour des virus A aviaires d'infecter directement les humains sans nécessiter de recombinaison ; ainsi, en 1997 et 1998, des cas humains d'infection par des virus A aviaires (H<sub>5</sub>N<sub>1</sub> et H<sub>5</sub>N<sub>2</sub>) ont été décrits en Chine dans la région de Hongkong ; l'émergence de la souche H<sub>5</sub>N<sub>1</sub> est relatée dans le chapitre consacré aux virus émergents (chapitre 27). Ces événements doivent être pris très au sérieux, car ils pourraient représenter les prémices d'une nouvelle pandémie grippale ; on peut en effet imaginer que, si une recombinaison se produisait entre cette souche aviaire H<sub>5</sub>N<sub>1</sub> et une souche humaine, on pourrait assister à l'émergence d'une souche humaine porteuse de l'hémagglutinine H<sub>5</sub> entraînant ainsi une très large diffusion virale dans le monde.

L'épidémiologie du virus grippal B est beaucoup plus simple dans la mesure où l'infection est limitée à l'homme et au phoque, qu'il n'y a donc pas de recombinaison et donc pas de cassures antigéniques. On assiste à des glissements générateurs d'épidémies d'importance modérée (tableau 8.IV). La mise en réserve de souches grippales B se ferait par excrétion prolongée chez des sujets bronchitiques chroniques.

**Tableau 8.IV.** Glissement des souches grippales B.

1986 B/Ann Arbor/86
1987 B/Victoria/87
1988 B/Yamagata/88
1990 B/Panama/90
1994 B/Harbin/94
1998 B/Yamanashi/98
2001 B/Hong Kong/2001
2002 B/Shanghai/2002
2004 B/Malaysia/2004

## V. ÉPIDÉMIOLOGIE, PHYSIOPATHOLOGIE ET CLINIQUE

### A. Épidémiologie

La contamination virale est directe, interhumaine. En France, la grippe sévit en hiver et au printemps. La grippe A est responsable de pandémies mondiales

(après cassure) ou d'épidémies interpandémiques (après glissement). La grippe B est associée à des épidémies plus localisées.

En France, il existe deux centres de référence pour la surveillance de la grippe : Paris (Institut Pasteur) pour la France Nord et Lyon pour la France Sud. Au niveau international, les centres nationaux travaillent en coordination avec quatre centres qui sont Atlanta, Londres, Melbourne et Tokyo. Les centres nationaux recueillent des informations épidémiologiques ainsi que des souches qui sont transmises aux centres de référence internationaux ; ceux-ci, après analyse des souches grippales, émettent chaque année (en février pour l'hémisphère Nord et en septembre pour l'hémisphère Sud) des recommandations en ce qui concerne la composition des vaccins. L'OMS a élaboré un système d'alerte électronique accessible *via* Internet. Le système de surveillance actuel devrait, à l'avenir, être renforcé par une extension de sa couverture géographique notamment en Asie du Sud-Est, en Afrique et en Amérique du Sud.

## B. Physiopathologie

Le virus pénètre par des gouttelettes en suspension dans l'air ; il est présent dans le rhinopharynx des sujets infectés jusqu'à deux jours après le début des signes cliniques.

Le virus se multiplie dans la muqueuse des voies aériennes supérieures en nécrosant les cellules ciliées et muqueuses mais pas la basale de l'épithélium. La neuraminidase contribue à diminuer la viscosité du mucus qui coule donc vers la partie inférieure de l'arbre respiratoire. Les lésions inflammatoires virales favorisent les surinfections bactériennes.

L'infection induit une protection contre la souche infestante mais pas ou peu contre des souches ultérieures ayant subi une dérive antigénique. Cette protection est assurée par des IgA neutralisantes au niveau des sécrétions muqueuses du tractus respiratoire. Signalons enfin que le virus grippal est un excellent inducteur d'interféron.

## C. Clinique

L'incubation est de 1 à 2 jours. Les signes d'invasion sont brutaux : frissons, fièvre, courbatures, rachialgies. Le patient présente des signes d'irritation laryngo-trachéale ou bronchique, le plus souvent sans catarrhe. La fièvre peut diminuer au bout de trois jours d'évolution puis remonter après 24 heures d'involution : c'est ce que l'on appelle le « V » grippal. La guérison est, dans les formes non compliquées, rapide bien que la convalescence soit de 10 à 15 jours.

Les complications sont dues au virus lui-même ou à des surinfections bactériennes. Elles touchent les voies respiratoires, la sphère ORL : otite, sinusite, bronchite aiguë, bronchopneumonie ; on décrit des œdèmes aigus du poumon, chez le vieillard ; au cours de pandémies, des formes neurologiques et des atteintes cardiaques ont été observées.

Les germes de surinfection sont représentés par les staphylocoques, streptocoques, pneumocoques, haemophiles (*Haemophilus influenza* avait d'ailleurs primitivement été considéré comme l'agent étiologique de la grippe), klebsielles. Les personnes chez lesquelles la grippe est la plus à redouter sont : les vieillards, les insuffisants respiratoires chroniques, les immunodéprimés et les femmes enceintes.

## VI. DIAGNOSTIC VIROLOGIQUE

### A. Diagnostic direct et isolement

#### 1. Prélèvements

Il s'agit de prélèvements rhinopharyngés et/ou d'expectoration bronchique qui doivent être recueillis dans les deux premiers jours de l'évolution clinique.

#### 2. Diagnostic direct

Les cellules du prélèvement sont étalées sur une lame de verre, éventuellement après traitement par un mucolytique, et la présence d'antigène viral est révélée en immunofluorescence indirecte. Plus récemment, des tests rapides ont commencé à être utilisés ; il s'agit de bandelettes qui en moins d'une demi-heure donnent une réponse négative ou positive avec différenciation de l'antigène de la grippe A de celui de la grippe B ; ces tests qui ont une sensibilité de 75 % par rapport à une technique de référence (culture) sont intéressants pour mettre en évidence les premiers cas de grippe au début du pic épidémique. Des techniques de RT-PCR diffusent également qui permettent de différencier grippe B, grippe A et à l'intérieur de grippe A les sous-types d'hémagglutinine d'intérêt pour la santé publique locale et/ou nationale (en France généralement H<sub>1</sub> et H<sub>2</sub>).

#### 3. Isolement

L'isolement peut être réalisé sur œuf de poule embryonné par inoculation intra-amniotique et intra-allantoïque. Les œufs sont incubés pendant trois jours à 36 °C ; les liquides amniotique et allantoïque sont recueillis et testés pour une éventuelle activité hémagglutinante vis-à-vis de globules rouges de cobaye. Si l'HA est positive, on pratique alors une IHA à l'aide d'antisérums spécifiques de sous-types.

Certains laboratoires utilisent des cellules de rein de chien (MDCK) trypsinées ; la présence d'un virus influenza dans la culture peut être testée par HAD de globules rouges de cobaye et l'identification pratiquée par IHAD.

Les souches du début de l'épidémie sont transmises à un des deux laboratoires nationaux et font l'objet d'étude de neutralisation avec des sérums de référence pour apprécier notamment leur identité vis-à-vis des souches vaccinales de l'hiver correspondant.

### B. Diagnostic indirect

Deux sérums sont testés ; l'un au début de l'évolution des signes cliniques et l'autre une dizaine de jours plus tard.

#### 1. Déviation du complément

La déviation du complément met en évidence des anticorps spécifiques de type A ou B. Ces anticorps apparaissent rapidement, atteignent leur titre maximum environ 15 jours après le début de la maladie puis disparaissent en quelques mois. On cherchera à mettre en évidence une séroconversion, une augmentation significative du titre des anticorps voire un titre significatif (S 1:80).

## 2. Inhibition de l'hémagglutination (IHA)

Les anticorps correspondants sont spécifiques de sous-types et de variants. L'HA est réalisée avec le ou les variant(s) le(s) plus récemment impliqué(s) ; le sérum étudié doit au préalable être débarrassé des inhibiteurs non spécifiques. On cherche à mettre en évidence une augmentation significative du titre des anticorps ou/et la présence d'IgM.

## VII. TRAITEMENT ET PROPHYLAXIE

Les différentes stratégies possibles sont la vaccination, la chimioprophylaxie et le traitement précoce.

### A. Traitement précoce

Les antiviraux sont de deux types ; ils appartiennent à la famille de l'amantadine (amantadine [*Mantadix*] ; rimantadine [*Flumadine*]) ou sont des inhibiteurs de la neuraminidase virale (zanamivir, [*Relanza*] ; oseltamivir [*Tamiflu*]). Zanamivir et oseltamivir sont efficaces dans le traitement de la grippe si ce traitement est débuté dans les 48 premières heures de la maladie. Le zanamivir est utilisé en inhalation deux fois par jour pendant 5 jours cependant que l'oseltamivir est utilisé par voie orale à raison de deux prises par jour pendant 5 jours. Si l'on prend en considération la résolution des symptômes de la grippe (diminution ou disparition du coryza, retour rapide à une activité normale, apyrexie) on note que, comparativement à une population de patients non traités, la période de résolution est raccourcie d'environ 4 jours chez les patients recevant un inhibiteur de neuraminidase.

Des cas particuliers mais probablement prioritaires dans la décision de chimiothérapie antigrippale sont représentés par les enfants et par les patients à haut risque de complication (insuffisants cardiaques et/ou respiratoires). Dans ces deux populations, l'utilisation des inhibiteurs de neuraminidase est associée à une réduction des complications secondaires (par exemple otite moyenne aiguë chez l'enfant).

### B. Chimioprophylaxie

Dans des études récentes, en particulier au Japon, des sujets non vaccinés ont reçu un inhibiteur de neuraminidase ou un placebo pendant une épidémie de grippe ; les résultats montrent une réduction de 85 % du risque de grippe chez les patients recevant l'inhibiteur de neuraminidase. Dans des populations âgées vaccinées l'utilisation d'une chimioprophylaxie pendant une épidémie grippale permet de réduire le nombre de patients infectés.

### C. Vaccination

Les vaccins antigrippaux actuellement disponibles sont des vaccins inactivés comportant deux sous-types de virus A ( $H_3N_2$  et  $H_1N_1$ ) et un virus de type B. Les souches correspondantes, qui sont spécifiées par l'OMS, sont cultivées en œuf de poule embryonné, purifiées par centrifugation en gradient avant d'être inac-

## CONNAISSANCES – II. VIROLOGIE SYSTÉMATIQUE

tivées par la  $\beta$ -propiolactone. On peut également préparer des vaccins fractionnés ne contenant que les spicules HA et NA. La vaccination est réalisée par injection sous-cutanée ou intramusculaire ; les anticorps apparaissent 10 à 15 jours plus tard. En France, on vaccine dans la première quinzaine de septembre ; chez l'adulte sain, l'efficacité de protection est de 75 % cependant qu'elle n'est que de 50 % chez des sujets de plus de 65 ans. En fait, sur le plan théorique, cette vaccination présente des inconvénients ; en effet, la vaccination parentérale induit des IgG circulantes mais pas d'immunité muqueuse ; en outre, ce type de vaccin protège mal ou peu contre des souches présentant des variations antigéniques par rapport aux souches incluses dans le vaccin.

D'autres approches vaccinales sont en cours d'étude : par exemple, on peut fixer l'hémagglutinine dans des virosomes de 150 nm de diamètre ; ce vaccin de type virosomal peut être administré par voie parentérale et est plus immunisant qu'un vaccin inactivé conventionnel ; ce vaccin virosomal peut également être utilisé par voie nasale en induisant une immunité muqueuse à médiation humorale et cellulaire.

Au total, dans les pays avec un plan de lutte contre la grippe, les recommandations sont de vacciner :

- les résidents des institutions pour personnes âgées et handicapées ;
- les adultes et enfants présentant des pathologies chroniques ;
- les personnes ayant des contacts fréquents avec des sujets à haut risque : on peut citer les professionnels de santé et notamment les médecins et les infirmières.

Les agents antiviraux ne remplacent pas la vaccination en tant que première mesure de prévention mais peuvent être recommandés dans certaines situations de santé publique comme le contrôle d'une épidémie dans une institution ou une prophylaxie chez des sujets présentant une réaction allergique aux protéines de l'œuf contenues dans les préparations vaccinales.

**Note**

La recommandation de l'OMS pour l'hiver 2008-2009 (en ce qui concerne l'hémisphère nord) est d'introduire dans la composition du vaccin antigrippal les souches suivantes : A/Brisbane/59/2007 (H<sub>1</sub>N<sub>1</sub>), A/Brisbane/10/2007 (H<sub>3</sub>N<sub>2</sub>) et B/Florida/4/2006.

**① Points clés**

La grippe chez l'homme est associée principalement à deux types de virus : A et B.

Le type B ne pose pas beaucoup de problèmes de variations antigéniques et est relativement bien contrôlé par la vaccination.

Le type A, au contraire, est sujet à des variations antigéniques qui peuvent être majeures et qui sont liées à la recombinaison entre des souches humaines et animales. La grippe A est associée à des pandémies grippales et pose de réels problèmes de contrôle par la vaccination.

# Paramyxoviridae

# 9

I. VIRUS PARAINFLUENZA  
 II. MYXOVIRUS PAROTIDIS,  
 LE VIRUS DES OREILLONS

III. VIRUS DE LA ROUGEOLE  
 IV. VIRUS RESPIRATOIRE SYNCYTIAL (VRS)  
 V. MÉTAPNEUMOVIRUS

## Items

Item 86. Infections bronchopulmonaires du nourrisson, de l'enfant et de l'adulte.  
 Item 94. Maladies éruptives de l'enfant.  
 Item 97. Oreillons.

Cette famille correspond à des virus à ARN monocaténaire non fragmenté, de polarité négative (associé donc à une transcriptase) dans une capsidé hélicoïdale entourée d'une enveloppe porteuse de spicules, l'ensemble ayant un diamètre de 150 à 300 nm (cf. fig. 1.9, p. 12).

Les virus de cette famille sont subdivisés en trois genres, paramyxovirus, morbillivirus<sup>1</sup> et pneumovirus. Dans le tableau 9.1, nous nous limiterons aux principaux caractères des virus d'intérêt en pathologie humaine.

**Tableau 9.1. Les Paramyxoviridae.**

Genre	Virus	Activité des divers spicules d'enveloppe			Manifestations cliniques
		HA*	NA**	Fusion	
Paramyxovirus	Parainfluenza 1	+	+	+	Respiratoires
	Parainfluenza 2	+	+	+	
	Parainfluenza 3	+	+	+	
	Parainfluenza 4	+	+	+	
	Myxovirus parotidis (oreillons)	+	+	+	Glandulaires nerveuses (méningites)
Morbillivirus	Rougeole	+***	-	+	Cutanéomuqueuses Nerveuses (encéphalites)
Pneumovirus	VRS (A et B) (virus respiratoire syncytial)	-	-	+	Respiratoires
Métopneumo-virus					

\* HA : activité hémmagglutinante.

\*\* NA : activité neuraminidasique.

\*\*\* HA uniquement sur des hémmaties de singe.

1. En 1994 et en 1995, dans le Queensland en Australie, furent décrits quelques rares cas humains d'infection par un morbillivirus équin (*Equine Morbillivirus* [EMV]); celui-ci entraîne un syndrome respiratoire aigu sévère chez le cheval ; l'homme, au contact de l'animal malade, peut être infecté et développer une encéphalite. Des données très récentes indiquent que des chauves-souris pourraient véhiculer ce virus d'un endroit à l'autre.

## I. VIRUS PARAINFLUENZA

### A. Clinique et épidémiologie

Transmis par voie aérienne, les virus parainfluenza vont entraîner une atteinte fébrile des voies respiratoires après 3 à 5 jours d'incubation. Les types 1 et 2 se limitent à une atteinte laryngée (faux Croup), tandis que le type 3 diffuse aux bronches et aux bronchioles. Le type 4 a une importance clinique et épidémiologique moindre.

L'infection par le parainfluenza de type 3 est très précoce (avant l'âge de 2 ans), tandis que les infections par les types 1 et 2 surviennent avant la sixième année. Il existe en hiver des poussées épidémiques ; le type 3 peut avoir un caractère explosif comparable à celui des virus influenza. La réinfection (notamment par le type 3) est possible pendant toute la vie avec une symptomatologie clinique plus modérée. L'immunité est liée à la présence d'anticorps neutralisants sériques (IgG) mais surtout à des IgA neutralisants du tractus respiratoire.

### B. Principaux caractères antigéniques

La nucléocapside entraîne l'apparition d'anticorps déviant le complément ; au cours de réinfections ou d'infections par d'autres paramyxovirus, des réactions croisées peuvent être observées (notamment entre les types 1, 3 et le virus des oreillons). Les protéines HA, NA et F entraînent l'apparition d'anticorps spécifiques qui participent à la neutralisation.

Il n'existe pas d'antigène croisé avec les virus influenza ; il n'y a pas de variabilité antigénique.

### C. Diagnostic virologique

#### 1. Diagnostic direct et isolement

Les prélèvements recueillis sont les sécrétions nasopharyngées. Un diagnostic direct par immunofluorescence à l'aide notamment d'antisérums antiparainfluenza 1 et antiparainfluenza 3 peut être réalisé. L'isolement est mené sur cellules RS ou HEK ; l'ECP à type de syncytia est inconstant et l'on cherche à mettre en évidence une HA ou HAD, à l'aide d'hématies de cobaye à 4 °C ; l'identification est réalisée par IHA ou IHAD.

#### 2. Diagnostic sérologique

On utilise le plus souvent la technique de déviation du complément sur deux sérums à 10 jours d'intervalle ; rappelons que son interprétation peut être compliquée par des réactions hétérotypiques.

## II. MYXOVIRUS PAROTIDIS, LE VIRUS DES OREILLONS

### A. Clinique et épidémiologie

Le virus des oreillons a un tropisme sur les systèmes glandulaires et nerveux. Après une incubation de 18 à 21 jours, on note une fièvre modérée accompagnée de douleurs rétro-auriculaires et d'une gêne à la mastication révélatrices d'une parotidite, d'abord unilatérale puis bilatérale. Le visage revêt un aspect piriforme. La température peut chuter et la parotidite disparaître en une dizaine de jours mais des complications peuvent survenir qui concernent le système glandulaire (orchite, ovarite, mastite, pancréatite, thyroïdite...) ou le système nerveux (méningite lymphocytaire aiguë, plus rarement une méningo-encéphalite, une atteinte des nerfs crâniens). Le virus est présent dans la salive 6 jours avant le début des signes cliniques et transmis par voie aérienne entraînant un fond endémique d'infections avec des pics épidémiques en hiver et au printemps dans les collectivités (écoles, casernes). Si l'infection concerne le plus souvent les enfants, elle peut toucher de jeunes adultes (recrues de l'armée) chez lesquels la parotidite peut être plus fréquemment associée à une complication (orchite notamment).

Sur le plan physiopathologique, on estime qu'après son entrée, le virus ourlien se multiplie dans l'épithélium du tractus respiratoire avant de gagner ses cibles glandulaires et nerveuses lors d'une phase virémique.

### B. Principaux caractères antigéniques

La nucléocapside entraîne l'apparition d'anticorps déviant le complément ; les protéines HA, NA et F génèrent des anticorps inhibant leurs activités qui sont neutralisants.

Il existe un type antigénique de virus ourlien. Ce virus possède des déterminants antigéniques croisés avec les virus parainfluenza mais pas avec les virus influenza ; il possède un antigène provoquant, chez les sujets immunisés, une hypersensibilité de type retardée décelable par intradermoréaction.

L'immunité acquise après l'infection est durable.

### C. Diagnostic virologique

#### 1. Isolement

L'isolement est réalisé, selon la symptomatologie clinique, à partir de la salive (jusqu'à 8 jours après le début de la maladie), des urines et/ou du LCR. L'inoculation sur cellules RS ou HEK permet d'observer des syncytia et on pratique une HA ou HAD d'hématies de cobaye à 4 °C ; le virus est identifié par IHA ou IHAD à l'aide d'un antiserum spécifique. On peut également isoler le virus des oreillons par inoculation amniotique à l'œuf de poule embryonné de 10 jours ; le liquide amniotique est prélevé après 3 jours d'incubation à 36 °C et testé pour son éventuel pouvoir hémagglutinant.

#### 2. Diagnostic sérologique

La recherche des anticorps anti-ourliens se fait couramment par déviation du complément sur deux sérums prélevés à 10 jours d'intervalle ; rappelons qu'il existe des réactions croisées entre le virus des oreillons et les parainfluenza 1 et 3.

Plus récemment, l'ELISA s'est imposé permettant notamment la détection des IgM spécifiques dans les tout premiers jours de la maladie.  
En dehors du diagnostic virologique, on peut mettre en évidence une augmentation de l'amylasémie.

## D. Prévention

Les immunoglobulines hyperimmunes peuvent prévenir une complication chez l'adulte lorsqu'elles sont administrées très précocement.  
Il existe des vaccins inactivés et vivants atténués efficaces dans la prévention de l'infection ourlienne ; en France, on utilise une souche vivante atténuée préparée sur œuf de poule embryonné et souvent associée aux souches vaccinales rubéolique et rougeoleuse (ROR) ; le ROR est administré par voie sous-cutanée en une seule fois à un an et assure une protection efficace contre les infections virales correspondantes.

## III. VIRUS DE LA ROUGEOLE

### A. Clinique, physiopathologie et épidémiologie

La maladie débute, après une incubation de 10 jours environ, par un catarrhe oculonasal ; dans les 5 jours qui suivent l'installation des signes cliniques, on aperçoit des macules avec un centre blanchâtre situées à la face interne des joues : c'est le signe de Köplick ; cet énanthème est accompagné d'un exanthème maculopapuleux débutant dans les régions rétro-auriculaires et s'étendant de haut en bas en une seule poussée. La guérison a lieu généralement en une semaine de jours avec une desquamation fine des téguments.

Les complications (en dehors du système nerveux central) sont le fait du virus lui-même et/ou de surinfections bactériennes et sont particulièrement importantes chez les enfants souffrant de malnutrition, notamment en Afrique subsaharienne : laryngites, bronchites, pneumonies, otomastoidites, kératites, déshydratations aiguës. Les complications nerveuses sont de deux types :

- une encéphalite postéruptive (dite aussi périveineuse) qui apparaît dans les 15 jours qui suivent le début de l'exanthème ; cette encéphalite se caractérise par une démyélinisation probablement d'origine auto-immune, du cerveau et de la moelle épinière ;
- la panencéphalite sclérosante subaiguë (PESS, encéphalite de van Bogaert) est une complication à distance de la rougeole (plusieurs années après) ; elle est rare (du moins en Europe) mais constamment mortelle ; elle se caractérise chez des enfants de 6 à 15 ans par l'apparition de troubles scolaires puis par des paralysies en flexion et une dégradation neurologique inéluctable ; sur le plan anatomopathologique, on note une démyélinisation des substances blanche et grise, une prolifération astrocytaire et une dégénérescence neuronale ; les neurones hébergent dans leur noyau des inclusions dont on sait maintenant qu'il s'agit de nucléocapsides rougeoleuses ; les titres d'anticorps antirougeoleux dans le sérum et le LCR sont très élevés. La PESS serait liée à la persistance d'un variant rougeoleux présentant une mutation dans le gène de la protéine M (qui contrôle le bourgeonnement).

Sur le plan physiopathologique, le virus est transmis par voie aérienne à partir de l'homme infecté ; après une multiplication au niveau de la conjonctive et de la gorge, une première phase de virémie a lieu avec dissémination du virus aux cellules du système réticulo-endothélial. Une deuxième virémie se produit avec atteinte des tissus et organes cibles accompagnée de l'exanthème. Le virus est lymphotrope : il se multiplie dans les lymphocytes et entraîne une leucopénie ; cette leucopénie est accompagnée d'une diminution transitoire de l'immunité cellulaire à lymphocytes T CD4, objectivée par une anergie à la tuberculine. Dans les organes cibles, le virus rougeoleux induit l'apparition de cellules géantes multinucléées lymphoïdes ou épithéliales associées à une infiltration lymphomonocytaire avec notamment des cellules T cytotoxiques. Ces dernières cellules sont chargées de détruire les cellules porteuses à leur surface d'antigènes rougeoleux et jouent un rôle important dans l'éradication virale. Le signe de Köplick et l'exanthème sont liés à une hypersensibilité aux antigènes viraux présents dans les cellules endothéliales des vaisseaux sanguins. Dans certains cas, notamment celui de la PESS, le virus rougeoleux (ou un variant) peut persister dans l'organisme probablement, du moins au début, dans des cellules lymphocytaires.

Le seul réservoir de virus rougeoleux est donc l'homme malade ; la dissémination a lieu par voie aérienne pendant la phase prodromale et au moment du catarrhe oculonasal ; la rougeole sévit à l'état endémique avec des poussées en hiver et au printemps ; elle va concerner des enfants entre 4 et 10 ans. Aux États-Unis, où la vaccination antirougeoleuse est systématique, la maladie ne concerne plus que quelques jeunes adultes non vaccinés ainsi que des immigrants clandestins. Dans les pays en voie de développement et plus particulièrement en Afrique subsaharienne, les épidémies de rougeole touchent les enfants très précocement dans la vie ; les taux de complications et de mortalité enregistrés sont 1 000 fois supérieurs à ceux des pays développés.

## B. Principaux caractères antigéniques

Il existe un seul type de virus rougeoleux ; l'infection entraîne une immunité définitive.

La nucléocapside génère des anticorps détectables par déviation du complément ; les protéines HA et F entraînent l'apparition d'anticorps inhibant leurs activités, notamment IHA et IHAD, qui participent à la neutralisation.

## C. Diagnostic virologique

### 1. Diagnostic direct et isolement

Les antigènes viraux peuvent être mis directement en évidence par IF dans des cellules de sécrétions nasopharyngées.

Le virus peut être isolé des prélèvements conjonctivaux, nasopharyngés, de la fraction leucocytaire du sang, des urines ; l'isolement est réalisé sur cellules RS ou HEK, voire Vero ou MRC5. On cherchera à mettre en évidence des syncytia qui apparaissent 5 à 10 jours après l'inoculation ; la coloration par hémalum-éosine permet d'observer des inclusions éosinophiles intracytoplasmiques mais également intranucléaires ; en effet, et ceci différencie le virus rougeoleux des autres membres des *Paramyxoviridae* humains, des nucléocapsides viraux s'accumulent dans les noyaux des cellules infectées. On pratique une HAD d'hématies de singe ; le virus est identifié par IHAD ou par IF.

En ce qui concerne la PESS, le diagnostic direct peut être pratiqué à partir d'une biopsie cérébrale ; on met en évidence des inclusions intranucléaires dans les

neurones et les oligodendrocytes. L'IF permet de confirmer la nature rougeoleuse des antigènes correspondants et la microscopie électronique objective des nucléocapsides de paramyxovirus. L'isolement, difficile, peut être réalisé par coculture de cellules permissives avec des cellules provenant d'une biopsie cérébrale ou ganglionnaire.

## 2. Diagnostic sérologique

On cherchera à mettre en évidence des IgM spécifiques par immunocapture ELISA ; celles-ci sont présentes dès le début de l'exanthème. Dans le cas d'une PESS, les titres d'anticorps sont très élevés dans le sérum et le LCR, quelle que soit la technique utilisée ; en outre, on note, dans le LCR, une augmentation des immunoglobulines avec un aspect oligoclonal.

## D. Prévention

L'utilisation de gammaglobulines dans les 5 jours qui suivent le contagage permet une séroprévention mais n'est bien sûr pas une solution dans le cadre de mesures de santé publique.

Il existe un vaccin efficace faisant appel à une souche vivante atténuée utilisée en une seule injection sous-cutanée (souvent en association dans le ROR) à un an ; 95 % des sujets vaccinés présentent une séroconversion rougeoleuse.

Les problèmes de la vaccination dans les pays tropicaux sont importants : en effet, il faut maintenir une chaîne de froid pour préserver le pouvoir infectieux de la souche vaccinale et assurer ainsi le succès de la campagne de vaccination ; d'autre part, la rougeole étant très précoce, il faudrait vacciner avant l'âge de 6 mois, à un moment où les anticorps maternels peuvent rendre inefficace une vaccination par voie sous-cutanée.

## IV. VIRUS RESPIRATOIRE SYNCYTIAL (VRS)

### A. Clinique, physiopathologie et épidémiologie

D'abord isolé chez le chimpanzé sous le nom de *Chimpanzee coryza agent* (CCA), le VRS entraîne chez l'homme une atteinte du tractus respiratoire. Après une incubation de 4 à 5 jours, la maladie se manifeste par une rhinopharyngite chez l'adulte mais c'est surtout chez le nourrisson qu'elle revêt une importance particulière ; elle se caractérise par une bronchite voire une pneumopathie qui peut nécessiter une réanimation respiratoire en service spécialisé ; elle concerne l'enfant dans les 6 premiers mois de la vie malgré la présence d'anticorps d'origine maternelle ; au contraire, les IgG exerceraient un effet aggravant lié à la présence, au niveau pulmonaire, de complexes immuns et des conséquences immunologiques en chaîne qui en découlent : synthèse d'IgE, libération de médiateurs chimiques à la suite de la dégranulation des mastocytes.

La transmission virale a lieu par voie aérienne ; elle est d'autant plus facile que la libération de particules virales dans les sécrétions respiratoires est importante et prolongée. L'infection évolue par épidémies hivernales concernant principalement les nourrissons et les jeunes enfants ; à l'âge de 5 ans, plus de 90 % des sujets ont

réalisé leur primo-infection à VRS ; des réinfections sont possibles chez l'adulte, pouvant revêtir un caractère de gravité chez les vieillards et les immunodéprimés.

## B. Principaux caractères antigéniques

Des virus proches existent chez la souris, les bovins et les caprins ; ils constituent le genre pneumovirus à l'intérieur des *Paramyxoviridae*. Le VRS n'a pas de communauté antigénique avec les autres virus humains de la famille des *Paramyxoviridae*, il a, en revanche, des réactions croisées avec les virus respiratoires syncytiaux bovin et caprin. L'obtention d'anticorps monoclonaux a permis de définir deux sous-types de VRS : A et B.

L'infection par le VRS entraîne l'apparition d'anticorps décelables en déviation du complément, neutralisation, ELISA.

## C. Diagnostic virologique

### 1. Diagnostic direct et isolement

Le prélèvement de choix est constitué par une aspiration nasale ; le diagnostic direct est alors réalisé par IF sur un frottis cellulaire ou par ELISA à l'aide d'anticorps monoclonaux ; l'isolement peut être réalisé sur lignée continue (HeLa) avec apparition, en 6 à 10 jours, de syncytia non hémadsorbants ; l'identification virale est menée avec un antisérum spécifique par déviation du complément à partir du surageant de culture.

### 2. Diagnostic sérologique

Classiquement, les anticorps sont recherchés par déviation du complément sur deux sérums à 10 jours d'intervalle ; cependant l'interprétation des résultats est particulièrement difficile chez le nourrisson qui possède des anticorps d'origine maternelle et qui, de plus, a une faible réponse quantitative. On peut alors s'adresser à la détection des IgM par ELISA.

## D. Traitement

Depuis quelques années, on utilise la ribavirine en aérosol dans le traitement de l'infection à VRS chez le nourrisson ; une autre stratégie fait appel à l'utilisation d'immunoglobulines spécifiques anti-VRS pendant la saison épidémique chez des enfants fragiles. On notera que l'infection à VRS n'entraîne pas aisément de surinfections bactériennes.

## V. MÉTAPNEUMOVIRUS

Le métapneumovirus humain (*Human metapneumovirus* [hMPV]) a été identifié chez l'homme en 2001 et est apparenté aux métapneumovirus aviaires. L'organisation génomique est sensiblement différente de celle du VRS ; l'analyse phylogénétique montre qu'il y a deux génotypes A et B.

CONNAISSANCES – II. VIROLOGIE SYSTÉMATIQUE

Ce virus a une diffusion mondiale et semble sévir en épidémies hivernales en Europe de l'Ouest ; il est associé à des infections respiratoires basses chez les jeunes enfants et pourrait être la seconde étiologie de ces infections après le VRS. À l'âge de cinq ans, la plupart des enfants ont été infectés par hMPV mais les réinfections paraissent communes ; si l'infection est généralement bénigne chez le jeune enfant, elle peut être plus sévère chez des patients âgés ou immunodéprimés.

Le diagnostic peut être réalisé par RT-PCR à partir des prélèvements respiratoires.

① **Points clés**

Ce chapitre décrit les différents virus de la famille des *Paramyxoviridae* qui sont associés à une éruption infantile (rougeole) ou à des infections respiratoires (parainfluenzae, virus respiratoire syncytial, métapneumovirus).

Il présente aussi le virus des oreillons qui entraîne une atteinte glandulaire parfois associée à une méningite lymphocytaire.

# Picornaviridae

# 10

- I. ENTÉROVIRUS
- II. RHINOVIRUS

## Items

Item 73. Risques sanitaires liés à l'eau et à l'alimentation. Toxi-infections alimentaires.  
 Item 86. Infections bronchopulmonaires du nourrisson, de l'enfant et de l'adulte.  
 Item 96. Méningites infectieuses et méningo-encéphalites.

Il s'agit d'un ensemble de petits virus à ARN (*Pico-RNA-virus*) possédant un ARN génomique de polarité positive dans une capsidie icosaédrique non enveloppée ; ces virus de petite taille (20 à 30 nm), résistants dans le milieu extérieur, se multipliant dans le cytoplasme des cellules infectées, contiennent deux principaux genres, les entérovirus, ayant un tropisme pour le tractus digestif et souvent pour le système nerveux, et les rhinovirus, agents des rhumes banals (ou dits tels) (tableau 10.I).

**Tableau 10.I. Picornaviridae.**

<b>Entérovirus</b>	Poliovirus	Types 1, 2 et 3
	Coxsackie	A : 23 types ; A1 à A22, A24*
		B : 6 types ; B1 à B6
	Echovirus**	32 types ; E1 à E9, E11 à E27, E29 à E32
Entérovirus	68 à 72***	
<b>Rhinovirus</b>	Ils sont très nombreux (plus de 110 types)	

\* Le Coxsackie A23 est en fait l'échovirus 9.

\*\* Echo = *Enteric cytopathogen human orphan*.

\*\*\* L'entérovirus 72 est en fait le virus de l'hépatite A (VHA) ; il est présenté dans le chapitre 17 consacré aux virus des hépatites et appartient maintenant au genre héparnavirus.

## I. ENTÉROVIRUS

### A. Épidémiologie

Le réservoir de ces virus est strictement humain ; l'homme infecté émet le virus dans ses selles et la transmission est soit directe interhumaine (voie aérienne, mains sales) soit indirecte par l'intermédiaire de l'eau souillée, de fruits ou légumes arrosés d'une eau souillée, de coquillages ayant concentré des particules virales... Cette transmission indirecte est facilitée par la survie relativement longue des entérovirus dans le milieu extérieur et plus particulièrement dans l'eau. En France, la circulation des entérovirus est plus intense de juin à septembre ; dans les pays (Afrique, Asie du Sud-Est) où la prévalence est élevée, il existe un fond endémique permanent.

## B. Pathologie chez l'homme

### 1. Poliovirus : poliomyélite

Le virus, introduit par voie orale, va se multiplier dans les amygdales ainsi que dans le tissu lymphoïde (plaques de Peyer) du tractus digestif ; la traversée du tractus digestif est explicable par le fait que le virus non enveloppé, est résistant aux solvants des graisses (éther mais plus particulièrement désoxycholate de sodium et ferments digestifs). Au cours d'une virémie secondaire, le virus peut gagner les neurones des cornes antérieures de la moelle épinière ; l'inflammation locale et la destruction de ces neurones vont entraîner l'apparition d'une paralysie brutale.

L'incubation de la maladie est de 10 à 14 jours ; elle débute alors par une fièvre associée à des douleurs musculaires ; certains sujets vont présenter une forme fruste limitée aux signes d'invasion, d'autres enfin des paralysies flasques, asymétriques, d'installation brutale intéressant le plus souvent les membres inférieurs. Lorsque le syndrome paralytique est ascendant et qu'il intéresse alors les muscles respiratoires ou les centres bulbaires, le pronostic vital est mis en jeu.

### 2. Coxsackie, echovirus et autres entérovirus

Ils sont responsables de pathologies non spécifiques : méningites lymphocytaires aiguës, fièvres isolées, diarrhées, éruptions maculopapuleuses, paralysies (généralement sans séquelles).

Ils sont également associés à des pathologies plus spécifiques dont on trouvera le résumé dans le tableau 10.II.

Signalons encore que l'utilisation de sondes moléculaires a permis de suspecter les entérovirus et en particulier les *Coxsackie B* dans l'étiologie de pathologies musculaires chroniques.

**Tableau 10.II.** Pathologies spécifiques des entérovirus.

Virus	Pathologie
Coxsackie A	Herpangine (angine vésiculeuse au niveau du pharynx et du palais) Syndrome pied-main-bouche Conjonctivite hémorragique ( <i>Coxsackie A24</i> )
Coxsackie B	Myocardite, péricardite Maladie de Bornholm Fièvre et douleurs musculaires Diabète juvénile ( <i>Coxsackie B4</i> ) ?
Echovirus	Exanthème de Boston (echovirus 16)
Entérovirus 70	Conjonctivite hémorragique

## C. Diagnostic virologique

### 1. Isolement

L'isolement est réalisé à partir d'un prélèvement de gorge (au tout début de l'infection), de selles (où la présence virale est prolongée) et, selon le tableau clinique constaté, de LCR, de vésicules, d'un prélèvement conjonctival. Certains réflexes doivent être acquis par le médecin : par exemple, devant une méningite

lymphocytaire aiguë en période estivale, il faut adresser au laboratoire de virologie non seulement le LCR mais encore les selles.

L'inoculation est réalisée sur cellules humaines ou simiennes (HEK, RS) ; l'ECP (cellules arrondies se détachant du tapis cellulaire et présentant, après coloration une volumineuse inclusion éosinophile intracytoplasmique repoussant le noyau) est précoce pour les poliovirus (24 à 48 heures), plus lents pour les autres entérovirus.

Toutefois, les *Coxsackie A* ne peuvent être isolés que par inoculation intracérébrale au souriceau nouveau-né chez lequel ils induisent une paralysie flasque associée à une myosite.

L'identification du type viral par neutralisation de l'ECP en culture ou de l'effet pathogène chez le souriceau est difficile dans la mesure où, en dehors des antisérums anti-poliovirus 1, anti-poliovirus 2 et anti-poliovirus 3, il faut recourir à des mélanges croisés d'antisérums spécifiques pour couvrir l'ensemble des types existants. Quelques entérovirus, ayant un pouvoir hémagglutinant, peuvent être identifiés par IHA.

Le problème peut se poser d'une différenciation entre une souche de poliovirus sauvage et une souche de poliovirus vaccinale vivante atténuée ; cette différenciation intratypique repose sur différents tests dont le RCT (*Reproductive capacity temperature*) (les souches poussant à une température supérieure à 37 °C sont pathogènes) et la neutralisation à l'aide d'anticorps monoclonaux.

## 2. Diagnostic sérologique

On recherche en routine des anticorps (déviants le complément ou neutralisants) dirigés contre les poliovirus types 1, 2 et 3. On peut aussi rechercher des anticorps neutralisant la souche éventuellement isolée chez le patient.

L'étude sérologique des autres entérovirus est difficile, les anticorps étant spécifiques de type. On dispose de mélanges d'antigènes mais les réactions sérologiques sont souvent faibles ou ininterprétables. En cas d'épidémie, on recherche des anticorps déviants le complément, neutralisants, éventuellement IHA dirigés contre la souche isolée.

## 3. Diagnostic direct par biologie moléculaire

Des tests de PCR semi-nichée (*semi-nested*) ont été utilisés pour la mise en évidence d'ARN viral dans le LCR. Ces tests permettent d'une part le diagnostic rapide d'une méningite à entérovirus et d'autre part la distinction entre poliovirus et entérovirus non polio (EVNP). Le principe du test est le suivant : on pratique une transcription inverse après extraction de l'ARN du LCR ; une première amplification est alors réalisée avec des amorces communes aux entérovirus (PCR EV) ; si elle est positive, on considère que l'on a affaire à un entérovirus ; on pratique une deuxième PCR avec des amorces spécifiques des polio 1, 2 et 3 ; si l'une des PCR est positive, elle donne le type du poliovirus correspondant ; si les 3 PCR sont négatives, on conclut à un EVNP.

Dans des travaux d'épidémiologie moléculaire dont le but est d'étudier l'origine géographique de poliovirus sauvages non vaccinaux, on amplifie la région 5' UTR ou VP1-2A de l'ARN viral et on pratique une étude par séquençage.

De plus en plus fréquemment en routine dans des laboratoires spécialisés de virologie, on utilise des tests moléculaires assemblés au laboratoire (« in house ») ou commerciaux ; l'ARN viral éventuellement présent est extrait par méthode chimique des selles et/ou du LCR, rétrotranscrit puis une PCR est réalisée dans une zone génomique commune à de nombreux entérovirus d'intérêt clinique ; le produit amplifié est alors identifié par hybridation avec une sonde. On peut aussi utiliser directement après extraction une PCR temps réel.

## D. Traitement et prévention

Il n'existe pas de traitement antiviral spécifique. La prévention des entérovirus est limitée à celle de la poliomyélite.

### 1. Vaccins anti-poliovirus

Deux vaccins anti-poliovirus existent, l'un inactivé (type Salk), l'autre vivant atténué (type Sabin).

#### a. Vaccin inactivé

Il contient les trois types de poliovirus et est inactivé par la  $\beta$ -propiolate. Il est utilisé par voie sous-cutanée (3 injections à un mois d'intervalle avec rappel un an plus tard).

Il est d'une innocuité absolue, peut être utilisé chez un sujet immunodéprimé, génère des anticorps protecteurs sériques qui vont empêcher un éventuel virus sauvage de gagner le SNC.

Par contre, il n'entraîne pas la synthèse d'anticorps au niveau du tractus digestif et le sujet vacciné pourra héberger et disséminer des poliovirus sauvages.

#### b. Vaccin vivant atténué

Il contient des souches de poliovirus types 1, 2 et 3 ayant perdu leur neurovirulence pour le singe ; il est administré par voie orale (3 prises sur un sucre à un mois d'intervalle avec rappel un an plus tard).

Il est plus facile à administrer lors d'une vaccination de masse (par exemple, dans un pays en voie de développement) ; il entraîne la constitution d'une barrière digestive (présence d'IgA sécrétoires) empêchant ainsi l'installation puis la diffusion d'un poliovirus sauvage.

Par contre, des résurgences du pouvoir pathogène ont pu être notées ce qui a entraîné récemment une certaine polémique. En outre, un tel vaccin vivant ne peut pas être prescrit chez une femme enceinte, un sujet immunodéprimé ou un membre de son entourage.

Dans les pays en voie de développement et malgré la facilité d'administration du vaccin oral, les résultats ont été parfois décevants du fait de la rupture de la chaîne du froid (et donc de la perte du pouvoir infectieux du virus vaccinal) ainsi que de la présence dans les zones géographiques correspondantes de nombreux entérovirus pouvant interférer dans le tractus digestif avec les souches de poliovirus vaccinales.

### 2. Le point sur la poliomyélite dans le monde et en France

Malgré les efforts de l'OMS pour faire de la poliomyélite la deuxième maladie virale éradiquée (après la variole), la poliomyélite persiste encore sur un mode endémique dans certains pays incluant le Nigeria, l'Inde, le Pakistan et l'Afghanistan ; le nombre de cas de 1988 à fin 2006 était passé de 350 000/an à 1 400/an dont environ 1 300 dans les pays endémiques sus-cités. Pendant cette période, des pays qui avaient éradiqué la poliomyélite ont été de nouveau atteints sporadiquement : Somalie, Indonésie, Yémen, Angola, Éthiopie, Tchad, Soudan, Mali, Érythrée et Cameroun. L'efficacité des actions vaccinales dépend de la volonté politique, de l'acceptation sociale, de l'approvisionnement en vaccins ainsi bien entendu que de considérations purement stratégiques et politi-

ques (situation de guerre ou guerre civile par exemple). La région des Amériques a déclaré son dernier cas en 1991 et l'élimination de la maladie a été prononcée en 1994. Dans la région européenne de l'OMS, on observait environ 200 cas par an dans les années quatre-vingt-dix ; quelques épidémies ont été notées aux Pays-Bas en 1992-1993 et en Albanie en 1995-1996. En 1999 et 2000, aucun cas n'a été enregistré et le processus de certification de l'élimination a été engagé. En France, le dernier cas autochtone remonte à 1989.

## II. RHINOVIRUS

Deux propriétés biologiques les différencient des entérovirus : ils sont très sensibles à des pH acides ( $\text{pH} < 6$ ) et ne peuvent se multiplier qu'à 33 °C et non pas à 37 °C (ils sont adaptés à la température des fosses nasales qui est plus basse que celle du reste de l'organisme).

Transmis par voie aérienne ou par les mains ou objets contaminés, ils sont responsables des « rhumes de cerveau » conséquence de l'atteinte des cellules cylindriques ciliées de l'épithélium nasal associée à une inflammation et une rhinorrhée. Dans certains cas, ils peuvent induire des bronchites.

L'isolement peut être réalisé à partir d'un prélèvement nasal sur MRC5 cultivées à 33 °C ; l'ECP est tardif (une à trois semaines). La recherche des anticorps n'est pas réalisable en pratique courante sauf si l'on dispose de la souche infectante. Avec l'arrivée des techniques moléculaires, on note un regain d'intérêt pour les rhinovirus en particulier dans des atteintes respiratoires parfois sévères qui ne sont généralement pas diagnostiquées sur le plan virologique. C'est ainsi que des PCR multiplex sont proposées qui, après extraction ARN/ADN et retrotranscription, peuvent amplifier à l'aide d'amorces multiples des fragments génomiques des virus grippaux, VRS, métapneumovirus, parainfluenzae, SARS-CoV, H<sub>5</sub>N<sub>1</sub>, bocavirus et rhinovirus. Après amplification par PCR, les acides nucléiques amplifiés sont étudiés par électrophorèse en gel d'agarose ; la position des bandes (et donc la longueur en paires de bases) des fragments amplifiés donne l'identité du virus ou des virus détecté(s). Une autre technologie fait son apparition avec une révélation des produits amplifiés par hybridation à des sondes spécifiques accrochées à des microbilles de couleurs différentes qui sont ensuite analysées dans un cytomètre.

Des essais thérapeutiques ont montré que l'interféron  $\alpha$  pouvait avoir une certaine efficacité dans la prévention de l'infection. Des recherches sont orientées vers des vaccins vivants atténués ; très récemment, le récepteur cellulaire des rhinovirus a été identifié.

### ① Points clés

Les *Picornaviridae* sont des virus à ARN qui incluent d'une part les entérovirus associés au risque hydrique et responsables de méningites lymphocytaires et, d'autre part, les rhinovirus qui induisent les rhumes banals.

# 11

## Herpesviridae

- I. CARACTÈRES GÉNÉRAUX
- II. *HERPES SIMPLEX VIRUS* TYPES 1 ET 2 (HSV-1 ET HSV-2)
- III. VIRUS DE LA VARICELLE ET DU ZONA (VZV)
- IV. CYTOMÉGALOVIRUS (CMV)
- V. VIRUS D'EPSTEIN-BARR
- VI. HHV-6, HHV-7, HHV-8

### Items

Item 84. Infections à herpesvirus de l'enfant et de l'adulte immunocompétents.  
 Item 127. Transplantation d'organes : aspects épidémiologiques et immunologiques ; principes de traitement et surveillance ; complications et pronostic ; aspects éthiques et légaux.

Il s'agit d'un vaste ensemble qui comprend le *Herpes simplex virus* types 1 et 2 (HSV-1 et HSV-2), le virus de la varicelle et du zona (VZV), le cytomégalovirus (CMV), le virus d'Epstein-Barr (EBV), les herpesvirus lymphotropes de découverte récente, HHV-6 (*Human herpesvirus 6*) et HHV-7 (*Human herpesvirus 7*) ainsi que HHV-8 (*Human herpesvirus 8*) associé au sarcome de Kaposi.

### I. CARACTÈRES GÉNÉRAUX

Il s'agit de virus à ADN bicaténaire linéaire dans un nucléoïde central à l'intérieur d'une capsidie icosaédrique possédant 162 capsomères ; l'ensemble est enveloppé et la particule virale a une taille de 150 à 200 nm. Cette enveloppe est porteuse de protéines et glycoprotéines virales formant des spicules qui n'ont pas d'activité hémagglutinante.

Au cours de la multiplication, l'assemblage des nucléocapsides a lieu dans le noyau et les particules virales vont s'envelopper en bourgeonnant à travers la membrane nucléaire avant de cheminer dans le réticulum endoplasmique et de gagner la périphérie cellulaire.

Après une infection primaire aiguë, ces virus ont la particularité de pouvoir rester à l'état latent dans des cellules infectées ; dans certaines conditions et notamment au cours d'une immunodéficience (greffe, infection par le VIH), le virus est réactivé, le cycle de multiplication va à son terme et des virus sont produits au cours de ce que l'on appelle une résurgence.

### II. *HERPES SIMPLEX VIRUS* TYPES 1 ET 2 (HSV-1 ET HSV-2)

Ces deux virus proches présentent cependant des différences antigéniques et épidémiologiques. HSV-1 est transmis par voie orale, HSV-2 par voie sexuelle ; HSV-1 est ainsi associé à des infections « *au-dessus de la ceinture* » et HSV-2 « *au-dessous de la ceinture* » ; cette classification « géographique » n'est cependant pas absolue.

## A. Pathologie humaine et physiopathologie

La primo-infection par HSV-1 peut atteindre le très jeune enfant en induisant une gingivo-stomatite avec gencives enflammées, vésicules, adénopathies régionales et fièvre. Le plus souvent, HSV-1 est responsable de l'herpès labial et de l'herpès buccal avec apparition de vésicules fines en bouquet sur une base érythémateuse.

On décrit des atteintes plus importantes comme des kératoconjonctivites avec kératites dendritiques (en carte de géographie) pouvant aboutir à une opacité cornéenne. L'encéphalite temporale aiguë nécrosante est observée chez l'adulte jeune présentant un coma fébrile brutal ; le virus va nécroser les lobes temporaux et la prise en charge de cette infection sévère nécessite la mise en route le plus précocement possible d'une chimiothérapie antivirale adaptée. Chez l'enfant atteint d'une dermatose suintante chronique (eczéma), l'éruption vésiculeuse herpétique peut être généralisée : c'est le syndrome de Kaposi-Juliusberg.

La primo-infection par HSV-2 va entraîner l'apparition de vésicules sur la vulve, le col utérin, le pénis. Chez la femme enceinte présentant une primo-infection, le risque majeur est la contamination du nouveau-né au moment de l'accouchement lors de la traversée de la filière génitale infectée (transmission périnatale ; une transmission transplacentaire peut avoir lieu mais elle est rare) ; le nouveau-né développe un herpès néonatal qui, lorsqu'il est complet, associe une éruption vésiculeuse généralisée à une encéphalite, une hépatite, un syndrome hémorragique et une atteinte oculaire.

Après la primo-infection, HSV va rester latent dans des ganglions sensitifs (par exemple, ganglion de Gasser pour HSV-1 et ganglions lombosacrés pour HSV-2) et se manifester de nouveau cliniquement lors des résurgences, dans le même territoire cutané que lors de la primo-infection ; la réactivation virale qui a lieu est induite ou favorisée par des facteurs psychologiques (stress), physiques (UV), hormonaux (herpès cataménial) et immunitaires (immunodéficience). Notons que certains des tableaux cliniques décrits pour la primo-infection (kératite, méningo-encéphalite) peuvent être la conséquence d'une résurgence.

Les anticorps qui apparaissent sont d'abord des IgM puis des IgG ; cependant, des IgM peuvent être observées au cours des résurgences et ne seraient donc pas le témoin de la seule primo-infection mais également de toute multiplication active. Les immunoglobulines circulantes ne sont pas protectrices puisque les résurgences ont lieu en présence d'anticorps ; l'immunité, à médiation cellulaire (lymphocytes T cytotoxiques notamment) joue un rôle important comme en témoignent la répétition et la gravité des infections à HSV chez les immunodéprimés. Signalons enfin le rôle de l'interféron  $\alpha$  dans la maîtrise de l'infection ; cet interféron  $\alpha$  peut, par exemple, être retrouvé dans le LCR de sujets présentant une encéphalite aiguë.

## B. Diagnostic de laboratoire

### 1. Isolement et diagnostic direct

L'isolement est réalisé à partir du liquide des vésicules ponctionnées par mise en culture sur des cellules MRC5 ou en lignée continue ; devant une encéphalite, le LCR peut être ensemencé (la biopsie cérébrale est rarement réalisée en France). HSV induit un ECP en 24 heures au minimum, avec une ballonnisation des cellules et parfois (HSV-2) de petits syncytia. La coloration à l'hémalum-

## CONNAISSANCES – II. VIROLOGIE SYSTÉMATIQUE

éosine montre un éclatement puis une margination de la chromatine cependant que le centre du noyau présente des inclusions éosinophiles correspondant à l'accumulation des nucléocapsides virales. Le typage (HSV-1/HSV-2) peut être effectué par immunofluorescence avec des anticorps monoclonaux.

Un diagnostic rapide peut être réalisé par immunofluorescence sur des cellules provenant de lésions cutanéomuqueuses (par grattage), ou des empreintes de biopsies. Des antigènes viraux extraits de ces mêmes prélèvements peuvent être mis en évidence par ELISA.

Ces techniques de diagnostic qui deviennent maintenant historiques sont remplacées de plus en plus souvent par les tests de biologie moléculaire. Que ce soit à partir de vésicules ou de LCR, l'ADN viral est extrait puis amplifié avec des amorces et une sonde spécifique dans le cadre d'une PCR temps réel ; en fonction de la température de fusion entre sonde et produit amplifié, il est possible d'identifier le type d'HSV. Ces tests sont plus sensibles que les techniques plus anciennes ; d'autre part, dans un laboratoire entraîné et automatisé dans le domaine de la biologie moléculaire, il faut environ 4 heures pour, dans le cas d'une urgence, extraire l'ADN, l'amplifier et l'identifier dans le cadre d'une PCR temps réel.

## 2. Sérodiagnostic

Le sérodiagnostic fait appel aux techniques de déviation du complément, ELISA et immunofluorescence. On cherche à objectiver une séroconversion ou une ascension du titre des anticorps sur deux sérums prélevés à 8 jours d'intervalle. La présence d'IgM est à associer soit à une primo-infection soit à une résurgence. Outre la présence d'interféron  $\alpha$  dans le LCR lors d'une encéphalite herpétique, on recherche l'augmentation du titre des anticorps intrathécaux.

## C. Traitement et prévention

Les molécules utilisables pour le traitement des infections herpétiques sont la 5-iodo-désoxyuridine et la trifluorothymidine (localement) ainsi que des molécules prescrites *per os* ou par injection/perfusion comme la cytosine arabinoside, l'adénine arabinoside, l'acycloguanidine, le valaciclovir, le famciclovir et le foscarnet. Les indications et les modalités d'utilisation de ces drogues sont présentées dans le chapitre 5 consacré à la chimiothérapie antivirale.

En ce qui concerne la prévention de l'herpès néonatal, il est généralement admis que l'on pratique une surveillance clinique et virologique des éventuelles lésions génitales au cours du dernier trimestre de la grossesse et, en cas de positivité à proximité du terme, l'on réalise une césarienne.

## III. VIRUS DE LA VARICELLE ET DU ZONA (VZV)

### A. Pathologie

#### 1. Primo-infection : la varicelle

Le virus est transmis par voie aérienne ou cutanée pour induire une maladie de l'enfance dont l'incubation est de 14 jours. Il s'agit d'une éruption vésiculeuse fébrile qui débute au niveau du tronc et évolue de façon centrifuge en plusieurs

poussées successives ; cette éruption peut également concerner les muqueuses. Les complications classiques sont la pneumopathie varicelleuse et l'atteinte du système nerveux central (méningite lymphocytaire, ataxie cérébelleuse, méningo-encéphalite).

Chez l'enfant immunodéprimé présentant, par exemple, une leucémie, la varicelle peut revêtir une forme maligne, bulleuse ou hémorragique, avec une dissémination virale généralisée.

Chez la femme enceinte, la varicelle peut entraîner une embryofœtopathie lorsqu'elle survient dans les 20 premières semaines de la grossesse ; une varicelle généralisée risque de se manifester chez un enfant qui naît dans les cinq jours précédant ou les deux jours suivant l'apparition de la varicelle chez sa mère.

## 2. Résurgence : le zona

Le VZV est resté latent pendant de longues années dans un ou plusieurs ganglions sensitifs. La résurgence va se manifester par une éruption vésiculeuse unilatérale, localisée au territoire cutané d'un nerf sensitif (intercostal ou crânien) et accompagnée de douleurs et d'une sensation de brûlure. On peut noter une atteinte cornéenne lorsque la branche ophtalmique du nerf trijumeau (V) est impliquée.

Le cas des paralysies faciales périphériques est intéressant ; le syndrome de Ramsay-Hunt est clairement la conséquence d'une réactivation de VZV dans le ganglion géniculé avec une éruption vésiculeuse au niveau de la conque (le virus a cheminé le long de la *chorda tympani*, branche sensitive du nerf facial) ; l'œdème qui en résulte induit une compression du nerf facial dans son trajet intrapétreux. Les paralysies faciales *a frigore* (ou paralysies de Bell) pourraient être, dans un certain nombre de cas, liées à une résurgence du VZV.

## B. Diagnostic virologique

### 1. Isolement et diagnostic direct

L'isolement est réalisé à partir du liquide de vésicules par culture sur cellules comme les MRC5. L'effet cytopathogène évolue par foyers lentement progressifs de cellules ballonnées qui, fixées et colorées, présentent des inclusions intranucléaires éosinophiles. L'ECP est cependant long à se manifester (plusieurs jours) et on peut raccourcir le délai de réponse par la détection, en immunofluorescence, d'antigènes viraux intracellulaires.

Le diagnostic direct repose sur la mise en évidence d'antigènes viraux par immunofluorescence ou immunoperoxydase au sein de cellules obtenues par grattage de lésions.

Les mêmes commentaires que pour HSV peuvent être faits ici ; en effet, ces techniques anciennes sont maintenant de plus en plus souvent remplacées par la PCR temps réel.

### 2. Diagnostic sérologique

On utilise des techniques de déviation du complément, immunofluorescence et ELISA. On prélève deux sérums à huit jours d'intervalle pour observer la séroconversion ou l'augmentation du titre des anticorps. Les IgM sont présentes lors de la primo-infection varicelleuse mais peuvent être également observées au moment des résurgences zonateuses. Les IgM permettent, chez le nouveau-né, de signaler une infection congénitale.

## C. Traitement et prévention

Les molécules utilisables dans le traitement des infections varicello-zonateuses sont l'aciclovir, le valaciclovir, le famciclovir et le foscarnet (se référer au chapitre 5 consacré à la chimiothérapie antivirale). On peut prévenir la varicelle dans certains cas particuliers (femme enceinte) si des immunoglobulines sont injectées dans les trois jours qui suivent le contagé. Un vaccin atténué (souche Oka) est disponible ; son utilisation est, à l'heure actuelle, encore limitée à la prévention de la varicelle chez des enfants immunodéprimés (par exemple présentant une leucémie).

## IV. CYTOMÉGALOVIRUS (CMV)

### A. Épidémiologie et physiopathologie

Le réservoir du CMV est strictement humain. Le virus infecte les macrophages, les cellules endothéliales, les lymphocytes B et T, les cellules souches de la moelle osseuse, les cellules épithéliales des canaux glandulaires. La réaction immunitaire (notamment à médiation cellulaire par l'intermédiaire des cellules NK et des lymphocytes cytotoxiques) va limiter l'infection en éliminant des cellules répliquant activement le virus ; celui-ci va cependant rester dans l'organisme dans un état de latence avec la possibilité d'être réactivé de façon intermittente.

Le sujet infecté produit du CMV dans les sécrétions respiratoires, la salive, les urines, le sperme, les sécrétions vaginales, le lait.

La transmission chez l'homme implique un contact étroit, notamment sexuel. Le fœtus peut être infecté *in utero* par voie transplacentaire ; l'infection périnatale est liée à la traversée de la filière génitale infectée et/ou à l'allaitement.

Les infections iatrogéniques sont liées à des transfusions sanguines et à des transplantations d'organes provenant de sujets séropositifs pour le CMV.

Le diagnostic virologique du CMV représente une part importante des activités d'un laboratoire de virologie depuis l'émergence de l'immunodépression liée au VIH et la multiplication des greffes d'organes.

### B. Pathologie

#### 1. Enfant et adulte

La primo-infection peut revêtir l'aspect d'un syndrome mononucléosique à Paul-Bunnell-Davidsohn négatif (se reporter aux paragraphes concernant le virus d'Epstein-Barr ci-après). Elle est souvent asymptomatique. En France, un peu plus de 50 % des sujets à l'âge adulte ont réalisé leur primo-infection à CMV. Chez les patients immunodéprimés, la primo-infection et les résurgences liées au CMV peuvent entraîner des atteintes sévères : pneumopathie, hépatite, colite, encéphalite, rétinite.

#### 2. Femme enceinte et nouveau-né

Il est utile de considérer le cas de la femme enceinte ; en effet, le CMV peut être transmis de la mère au fœtus pendant la grossesse et cette infection, difficile à diagnostiquer, serait, en France, la plus fréquente des infections materno-fœtales.

Durant la grossesse, la primo-infection est plus dangereuse pour le fœtus que l'infection secondaire (réinfection/réactivation) ; dans le premier cas, la transmission du CMV au fœtus est de l'ordre de 30 à 50 % alors qu'elle n'est que de 1 à 3 % dans le second. En prenant en compte la prévalence de l'infection à CMV, on peut considérer que la primo-infection va concerner 0,5 à 2 % des femmes séronégatives en cours de grossesse ; 10 % des enfants présenteront une infection symptomatique à la naissance ; lorsque le tableau est complet, il correspond à ce qui a été appelé : maladie des inclusions cytomégaliennes avec ictère, hépatosplénomégalie, *purpura* thrombopénique, pneumopathie, micro-céphalie avec calcifications intracrâniennes, chorioretinite. Quarante-vingt-dix pour cent des enfants naissent donc asymptomatiques après une primo-infection maternelle, mais certains vont manifester à distance des anomalies neurosensorielles comme, par exemple, une surdité.

## C. Diagnostic virologique

### 1. Isolement et diagnostic direct

L'isolement peut être réalisé à partir de la fraction leucocytaire du sang, des urines, de lavages bronchoalvéolaires, de prélèvements d'organes... par ensemencement sur cellules MRC5 ; l'ECP se manifeste, en sept jours au mieux, par l'apparition de foyers de quelques cellules réfringentes dont le volume est considérablement augmenté ; ces foyers progressent le long de l'axe principal des cellules fibroblastiques ; la coloration à l'hémalum-éosine permet d'observer des inclusions éosinophiles au centre des noyaux et des inclusions basophiles intracytoplasmiques.

Pour raccourcir le délai de réponse, on cherche, dès 24 heures après la mise en culture, à mettre en évidence des inclusions d'antigène viral dans les cellules grâce à un anticorps monoclonal anti-CMV et une révélation par réaction immunoperoxydasique.

Le diagnostic direct d'une réplication active du CMV repose principalement sur l'antigénémie pp65 ; le sang veineux du patient est prélevé sur héparine ; la fraction leucocytaire est cyto-centrifugée sur une lame de verre puis on recherche dans les cellules l'antigène pp65 du CMV, témoignant d'une réplication virale ; on dispose d'un anticorps monoclonal anti-pp65 et la révélation se fait sous microscope à fluorescence. De plus en plus, on rend des résultats quantitatifs (par exemple, nombre de cellules fluorescentes pour 100 000 cellules observées) ; les résultats de cet examen sont transmis dans la journée au clinicien ce qui permet, le cas échéant, l'initiation rapide d'un traitement antiviral.

Dans des laboratoires de virologie et notamment dans ceux qui sont confrontés à des cohortes importantes de sujets immunodéprimés (infectés par le VIH, transplantés), les techniques de culture et de diagnostic direct sont remplacées par la mise en évidence de l'ADN du CMV par PCR à partir des leucocytes et du plasma (cf. chapitre 7) ; lorsque l'ADN est détecté dans les deux compartiments, cela signifie qu'une infection productive est en cours et qu'il faut initier un traitement antiviral. Plus récemment, des tests « in house » ou commerciaux sont apparus qui font appel à la PCR temps réel quantitative à partir du sang total obtenu sur anticoagulant (EDTA mais pas l'héparine qui entraîne une inhibition de la PCR) ; après extraction automatique de l'ADN viral (qu'il soit intracellulaire ou en position plasmatisque), on amplifie la cible dans une PCR temps réel en même temps qu'une gamme d'ADN viral ce qui va permettre de rendre un résultat quantitatif (nombre de copies d'ADN CMV/mL de sang) ; des seuils ont été établis qui permettent au clinicien en charge par exemple d'un patient en post-transplantation, d'initier un traitement préventif contre le CMV. En ce qui

concerne l'atteinte congénitale, on distingue le diagnostic prénatal du diagnostic postnatal ; le diagnostic prénatal est réalisé par mise en culture du liquide amniotique ou détection de l'ADN du CMV par PCR dans ce même liquide ; le diagnostic postnatal repose sur la culture du CMV à partir des urines ou du rhinopharynx dans les 15 jours qui suivent l'accouchement.

## 2. Diagnostic sérologique

Les méthodes de déviation du complément, immunofluorescence et ELISA sont utilisées en routine. L'immunocapture ELISA permet de mettre en évidence des IgM qui sont liées à la primo-infection et aux résurgences ; chez le nouveau-né, la présence d'IgM, associée à une virurie, signe une infection *in utero*.

Le dépistage de l'infection à CMV chez la femme enceinte repose essentiellement sur la sérologie ; la séroconversion signe la primo-infection mais elle est difficile à mettre en évidence sans dépistage systématique ; la présence d'IgM n'est pas une preuve de primo-infection, les IgM pouvant être associées à une réactivation ou apparaître lors d'une infection par un autre virus de la famille des *Herpesviridae* en raison de réactions croisées et de stimulation polyclonale du système immunitaire ; on peut recourir, dans certains cas, à l'étude de l'avidité des IgG : celles-ci ont une faible avidité pour l'antigène CMV au cours de la primo-infection alors qu'elles ont une forte avidité à distance (la dissociation antigène-anticorps étant alors difficile).

Chez les sujets potentiellement donneurs d'organes ou de tissus (rein, moelle osseuse...), il est important de déterminer s'ils peuvent héberger le CMV de façon latente et être ainsi source de contamination ou de surinfection pour un receveur ; on cherche alors des IgG, traces d'un contact avec le virus, par une technique très sensible (ELISA).

## D. Traitement et prévention

L'aciclovir est utilisé dans la prévention de l'infection à CMV chez des patients transplantés ; une fois l'infection débutée, les drogues prescrites sont le ganciclovir et le foscarnet. Des précisions concernant l'utilisation de ces molécules sont présentes dans le chapitre 5 sur la chimiothérapie antivirale. Il faut noter que des mutants viraux résistants sont susceptibles d'être sélectionnés lors de la chimiothérapie ; cette résistance est associée à des mutations dans les gènes viraux UL97 et UL54.

## V. VIRUS D'EPSTEIN-BARR

### A. Historique

Le virus d'Epstein-Barr (EBV) résulte d'une découverte fortuite ; dans les années cinquante, Denis Burkitt, chirurgien anglais, décrit en Afrique une tumeur de l'enfant africain : le lymphome de Burkitt.

C'est ensuite en cultivant *in vitro* des cellules de tumeur de Burkitt que Epstein, Barr et Achong décrivent un nouveau virus ayant les caractéristiques d'un herpesvirus et qui va être appelé virus d'Epstein et Barr.

Puis, en 1966, Henlé observe qu'une technicienne de son laboratoire développant une mononucléose infectieuse (MNI) présente une séroconversion vis-à-

vis d'EBV ; des études épidémiologiques plus larges vont confirmer qu'EBV est l'agent étiologique de la MNI.

Enfin, en 1970, Zur Hausen met en évidence le génome d'EBV dans les cellules de lymphome de Burkitt africain et dans celles d'une autre tumeur, le cancer du nasopharynx des Chinois.

## B. Épidémiologie

Le réservoir du virus est strictement humain. Le virus est transmis par la salive (échange d'objets en contact avec la salive chez les enfants, baisers profonds chez les adolescents...). Ce virus est un des plus prévalents de la planète puisque, quelle que soit la zone géographique concernée, plus de 95 % des adultes portent une trace sérologique de primo-infection.

## C. Physiopathologie et réplication

Le virus se multiplie dans les cellules épithéliales de l'oropharynx ; puis il gagne sa cellule cible principale qui est le lymphocyte B. C'est contre les lymphocytes B porteurs d'antigènes de l'EBV que vont réagir des lymphocytes T ; ces lymphocytes T activés correspondent aux cellules mononucléées à grand cytoplasme hyperbasophile décrites dans la MNI. Après la primo-infection, le virus va demeurer au niveau de l'oropharynx (avec possibilité de passage chronique de virus dans la salive) ainsi qu'à l'état latent dans quelques lymphocytes B qui, bien que non cancéreux, sont ainsi immortalisés et ont acquis la propriété de se multiplier indéfiniment. L'immunité à médiation cellulaire T contrôle en permanence une éventuelle prolifération de ces cellules B immortalisées.

Au cours de sa multiplication, le virus EBV va exprimer les antigènes suivants :

- antigènes précoces :
  - LYDMA (*Lymphocyte-defined membran antigen*) ; antigène présent à la surface de la cellule infectée,
  - EBNA (*Epstein-Barr nuclear antigen*) ; antigène nucléaire,
  - EMA (*Early membran antigen*) ; antigène précoce de la membrane cellulaire ;
- duplication du matériel génétique :
  - EA (*Early antigen*) ; antigène cytoplasmique correspondant à des protéines enzymatiques virales assurant la duplication du matériel génétique ;
- antigènes tardifs :
  - LMA (*Late membran antigen*) ; antigène tardif de la membrane cellulaire,
  - VCA (*Virus capsid antigen*) ; antigène de la capsid virale.

Dans les cellules en phase active de réplication, tous les antigènes sont observés et les virions assemblés sont libérés. Dans les cellules où le virus est en état de latence, seuls les antigènes précoces (LYDMA, EBNA, EMA) sont exprimés.

## D. Mononucléose infectieuse

La primo-infection par l'EBV est silencieuse lorsqu'elle a lieu précocement dans la vie ; à l'adolescence, elle se traduit par la MNI.

Après une incubation d'un mois environ, on observe de la fièvre associée à une angine et à des adénopathies cervicales bilatérales indolores ; le tableau peut

être complété par une splénomégalie, une hépatite le plus souvent discrète avec augmentation des transaminases, une éruption morbilliforme (plus particulièrement chez les patients recevant de l'ampicilline).

Le diagnostic biologique repose principalement sur la mononucléose ; les grandes cellules à cytoplasme hyperbasophile peuvent représenter jusqu'à 10 % des leucocytes. Des agglutinines hétérophiles apparaissent qui sont recherchées par le MNI test (agglutination d'hématies de cheval) et/ou par la réaction de Paul-Bunnell-Davidsohn (agglutinines dirigées contre les hématies de mouton et non adsorbables par du rein de cobaye) ; ces agglutinines correspondent à des IgM mais ne sont pas spécifiques d'un antigène de l'EBV. Dans 10 % des MNI vraies, le Paul-Bunnell-Davidsohn est cependant négatif.

Le diagnostic virologique est le plus performant ; on recherche les anticorps contre des antigènes spécifiques de l'EBV par immunofluorescence sur des lignées lymphoïdes productrices ou non productives d'EBV et exprimant donc la totalité ou certains des antigènes viraux décrits. Le tableau 11.1 résume l'interprétation diagnostique d'une MNI.

**Tableau 11.1.** Interprétation diagnostique d'une mononucléose infectieuse.

Anticorps	MNI phase aiguë	Infection ancienne
Anti-VCA (IgM)	+	-
Anti-VCA (IgG)	+	+
Anti-EBNA	-	+

Il est important de noter que, sur le plan clinique et sur le plan hématologique (mononucléose), le diagnostic différentiel de la MNI peut être posé avec les infections à VIH et à CMV.

## E. Lymphome de Burkitt, cancer du nasopharynx et lymphomes des immunodéprimés

Le lymphome de Burkitt africain concerne l'enfant de 7 à 14 ans ; dans 60 % des cas, il s'agit d'une tumeur de la mandibule qui peut également toucher l'orbite ; dans 40 % des cas, c'est une tumeur abdominale isolée qui va entraîner une paralysie par compression. La tumeur est une prolifération monoclonale de lymphocytes B portant le génome EBV. Les zones de prévalence sont représentées par les pays d'Afrique équatoriale où chaleur et humidité permettent une importante endémie palustre : Ouganda, Nigeria, Ghana, Côte d'Ivoire... Un lymphome de Burkitt est décrit en Europe qui est rarement associé à EBV. En fait, le lymphome de Burkitt semble être lié à une translocation, notamment (8 ; 14) aboutissant à l'activation d'un gène *onc*. Il est rare en Europe, la translocation spontanée (8 ; 14) étant un événement peu fréquent. En Afrique, sous la stimulation antigénique d'une endémie palustre, la multiplication de lymphocytes B immortalisés par EBV serait accrue, augmentant ainsi les chances statistiques d'une translocation. Dans le lymphome de Burkitt associé à EBV, on note la présence à hauts titres d'IgG anti-VCA et anti-EA.

Le cancer du nasopharynx est présent en Chine du Sud et en Afrique du Nord. Il s'agit d'une tumeur épithéliale avec métastases cervicales. Toutes les cellules contiennent le génome EBV. On met en évidence de hauts titres d'IgG anti-VCA et anti-EA ainsi que spécifiquement, d'IgA anti-VCA.

Des lymphomes non hodgkiniens liés à EBV sont de plus en plus souvent diagnostiqués chez des sujets fortement immunodéprimés par le VIH.

Les méthodes employées pour associer le développement d'un lymphome à une réactivation de l'EBV (chez un immunodéprimé VIH<sup>+</sup>, chez un transplanté) reposent sur la biologie moléculaire. En effet, les titres d'anticorps anti-VCA et anti-EA sont augmentés mais les renseignements ainsi fournis par la sérologie sont insuffisants. Ce qui compte est d'apprécier la quantité de virus synthétisé ; on va quantifier l'ADN de l'EBV dans les cellules mononucléées et/ou le plasma par des techniques de PCR avec standard interne ou par PCR cinétique (cf. chapitre 7) ; dans le cas d'un lymphome post-transplantation, le nombre de copies d'ADN EBV par µg d'ADN cellulaire va dépasser 1 000 et le nombre de copies d'ADN viral par mL de plasma peut atteindre 500 000. Ce suivi de charge virale permettra également d'apprécier l'efficacité d'un traitement dirigé contre le lymphome. Dans les cas de lymphome du système nerveux central, il est indiqué de quantifier l'ADN EBV dans le liquide céphalorachidien.

Actuellement, des techniques moléculaires plus performantes sont en cours de développement dans les laboratoires spécialisés ; elles sont tout à fait superposables à ce qui a été décrit ci-dessus pour la CMV c'est-à-dire qu'elles font appel à une PCR temps réel quantitative à partir d'un prélèvement de sang total sur EDTA. Elles sont principalement appliquées au suivi des patients transplantés. Le lymphome de Burkitt endémique est très souvent associé à l'EBV. Les titres d'anticorps IgG anti-VCA et anti-EA sont très élevés ; comme dans le cas précédent, la biologie moléculaire apporte des informations importantes : on va chercher à mettre en évidence, dans les cellules tumorales, les ARN EBERs par hybridation *in situ* et l'ADN EBV par PCR. Dans le cancer du nasopharynx, on note l'existence de titres élevés d'IgA anti-VCA et anti-EA ; on détecte également des IgG anti-Zebra et anti-LMP-1 ; le génome viral est mis en évidence par PCR dans les cellules épithéliales de la tumeur.

## VI. HHV-6, HHV-7, HHV-8

### A. HHV-6 (*Human herpesvirus 6*)

HHV-6 a été isolé pour la première fois en 1986 à partir de cultures de cellules mononucléées du sang circulant. D'abord considéré comme infectant les lymphocytes B (d'où son premier nom : *Human B lymphotropic virus* [HBLV]), le HHV-6 a en réalité pour cellules-cibles les lymphocytes T (CD4<sup>+</sup> et CD8<sup>+</sup>), les monocytes macrophages, des cellules épithéliales ainsi que, dans le système nerveux central, les cellules gliales. Son génome est proche de celui du CMV et on décrit deux types A et B. Le HHV-6 est responsable de l'exanthème subit ou roséole de la petite enfance entre 6 mois et 3 ans ; la maladie est caractérisée par une fièvre élevée (40 °C) d'apparition brutale suivie d'une chute de la température accompagnée d'une éruption érythémateuse maculopapulaire qui persiste un à trois jours ; l'exanthème débute au niveau du cou et des régions rétro-auriculaires pour gagner ensuite le tronc. L'infection par HHV-6 est très commune puisque 90 % des enfants à 3 ans ont des anticorps contre ce virus. Chez l'adulte, HHV-6 a été associé à un syndrome mononucléosique avec fièvre, adénopathies et atteinte hépatique. Chez les sujets immunodéprimés (VIH<sup>+</sup>, transplantés), la résurgence de HHV-6 peut entraîner une pneumonie interstitielle, une atteinte de la moelle osseuse, une encéphalite. Lors d'une infection par le VIH, HHV-6 qui co-infecte des lymphocytes T CD4<sup>+</sup>, pourrait transactiver le LTR et stimuler ainsi la réplication du VIH. Il serait un cofacteur de l'évolution de

l'infection asymptomatique vers le sida. Le virus peut être isolé à partir de cellules mononucléées du sang circulant ; un effet cytopathogène (cellules augmentées de volume et polynucléées) peut être observé. L'ADN viral peut être détecté par PCR au niveau des cellules mononucléées du sang circulant, de la salive, du liquide céphalorachidien et/ou, le cas échéant, d'organes. Les anticorps sont détectables par immunofluorescence, ELISA ou *western blot* ; au cours d'une infection primaire, ils apparaissent 5 à 7 jours (IgM) et 7 à 10 jours (IgG) après le contagement.

Depuis quelques années, devant l'augmentation des transplantations en France, l'intérêt pour HHV-6 s'est accru ; dans des centres spécialisés associant unités de transplantation et laboratoire de virologie, le suivi de l'infection HHV-6 en post-greffe est devenu systématique ; il fait appel à la PCR temps réel quantitative à partir du sang total sur anticoagulant.

## **B. HHV-7 (*Human herpesvirus 7*)**

Isolé en 1989, HHV-7 a un pouvoir pathogène inconnu, à l'exception de cas de roséole chez de jeunes enfants. HHV-7 est distinct de HHV-6 ; il infecte les enfants un peu plus tardivement que le HHV-6. Soixante-quinze pour cent des adultes l'excrètent dans la salive. Il peut être isolé à partir de la salive et des cellules mononucléées du sang circulant par culture dans les lymphocytes de sang de cordon. L'abord diagnostique pourra se faire par PCR et par la détection d'anticorps spécifiques.

## **C. HHV-8 (*Human herpesvirus 8*)**

Associé au sarcome de Kaposi, ce nouvel herpesvirus, primitivement appelé *Kaposi sarcoma herpesvirus* (KSHV), est présenté dans le chapitre 25 « Virus et cancers ».

### **① Points clés**

Les *Herpesviridae* sont une vaste famille de virus qui possède la possibilité d'entrer en latence après la primo-infection et d'entraîner des résurgences.

L'un de ces virus, le cytomegalovirus, a une importance particulière chez les sujets qui ont bénéficié d'une transplantation de moelle osseuse ou d'organe.

# Adénovirus

# 12

I. CARACTÈRES STRUCTURAUX ET ANTIGÉNIQUES    III. DIAGNOSTIC VIROLOGIQUE  
II. CLINIQUE ET ÉPIDÉMIOLOGIE

## Items

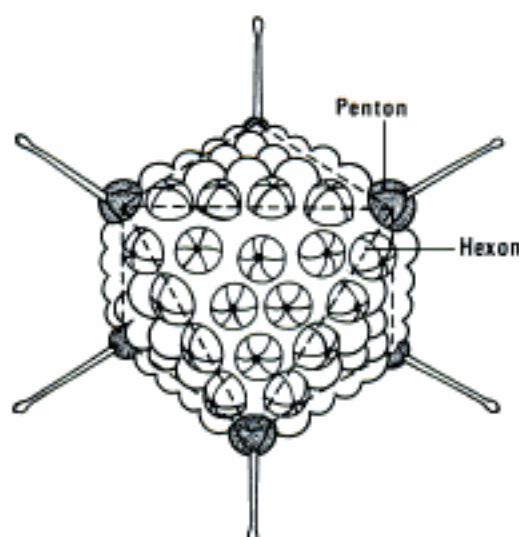
Item 77. Angines et pharyngites de l'enfant et de l'adulte.  
Item 86. Infections bronchopulmonaires du nourrisson, de l'enfant et de l'adulte.  
Item 96. Méningites infectieuses et méningo-encéphalites.

Anciennement appelé APC (adéno-pharyngo-conjonctivaux), les adénovirus ont été isolés pour la première fois chez l'homme en 1953. Hôtes fréquents des tissus lymphoïdes, ils sont responsables d'adénopathies, d'atteintes des voies aériennes et/ou de conjonctivites (le terme APC rend d'ailleurs compte de ces cibles cliniques). Quarante-deux sérotypes ont été jusqu'à présent identifiés chez l'homme ; certains types sont oncogènes par le hamster nouveau-né et représentent un modèle d'étude de transformation cellulaire d'origine virale.

## I. CARACTÈRES STRUCTURAUX ET ANTIGÉNIQUES

Ces virus possèdent un ADN bicaténaire dans une capsidie icosaédrique de 252 capsomères (240 hexons et 12 pentons) ; l'ensemble a un diamètre de 70 à 90 nm (fig. 12.1). Les pentons portent une fibre terminée par une petite sphère ; cette fibre a une activité hémagglutinante (HA) ; l'appellation penton correspond au penton base associé à la fibre HA.

► **Fig. 12.1.** Structure des adénovirus. ►

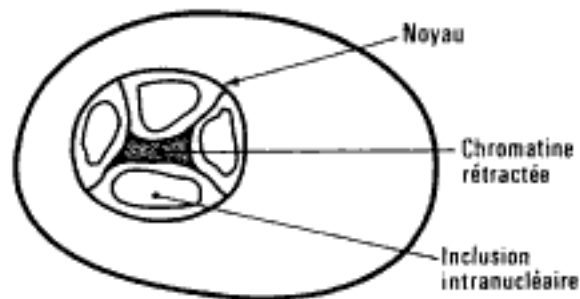


## CONNAISSANCES – II. VIROLOGIE SYSTÉMATIQUE

Les adénovirus possèdent un antigène de groupe décelable par déviation du complément. Leurs propriétés hémagglutinantes, totales ou partielles, sur hématies de singe ou de rat ont permis de dégager 4 sous-groupes. Plus récemment, grâce notamment à l'analyse de l'homologie des ADN, 6 sous-genres ont été décrits (A à F) qui regroupent 42 types viraux ou espèces virales.

Les adénovirus sont cultivables sur cellules de lignée continue comme, par exemple, les Hela. Ils induisent un effet cellulo-détachant précoce suivi par l'apparition d'un ECP en mailles de filet dans le tapis cellulaire infecté ; après coloration à l'hémalun-éosine, on constate un arrondissement des cellules qui présentent un ECP intranucléaire à type de « roue de vélo » avec une rétraction chromatiniennne centrale reliée à la périphérie du noyau par des cloisons de refend ; ces cloisons de refend délimitent des inclusions intranucléaires qui correspondent à l'accumulation des nucléocapsides virales. Certains sérotypes induisent un ECP tardif pouvant se manifester au bout de trois semaines ; d'autres en particulier les types 40 et 41, associés à des gastroentérites, ne sont pas cultivables (fig. 12.2).

► **Fig. 12.2.** Effet cytopathogène des adénovirus. ►



## II. CLINIQUE ET ÉPIDÉMIOLOGIE

Les adénovirus sont transmis par voie aérienne ; ils se multiplient dans la gorge puis sont excrétés dans les selles de façon prolongée. Ils induisent :

- des infections respiratoires : rhinopharyngites avec adénopathies cervicales, pneumopathies aiguës (type 7) ;
- des conjonctivites épidémiques pouvant à terme concerner la cornée (kératoconjonctivites aiguës) (type 8) ;
- des adénites mésentériques ;
- des gastroentérites (types 40 et 41) ;
- des exanthèmes maculopapuleux ;
- des cystites hémorragiques ;
- plus rarement des méningo-encéphalites.

Les infections à adénovirus évoluent sous forme endémique ou épidémique, cette dernière forme concernant plus particulièrement les kératoconjonctivites.

### III. DIAGNOSTIC VIROLOGIQUE

#### A. Diagnostic direct et isolement

Les prélèvements réalisés pourront être : sécrétions nasopharyngées, écouvillonnage de gorge, écouvillonnage conjonctival, selles...

À l'aide d'un anticorps monoclonal anti-hexon assurant la détection d'un antigène de groupe des adénovirus, on peut mettre en évidence une infection à adénovirus par immunofluorescence ou immunopéroxydase dans des frottis cellulaires fixés. Le même anticorps peut être utilisé par ELISA à partir d'un extrait cellulaire ou tissulaire. La microscopie électronique permet d'observer dans les selles d'un patient atteint de gastroentérite, les adénovirus types 40 et 41 non cultivables. L'isolement est réalisable sur cellules Hela ou MRC5. On surveillera l'apparition d'un ECP à type de maillage avec des inclusions intranucléaires. L'identification est menée à partir d'un surnageant de culture par déviation du complément (groupe), hémagglutination d'hématies de singe ou de rat (sous-groupe) et IHA ou neutralisation (type).

Les différents prélèvements d'intérêt (sécrétions pulmonaires, selles, LCR, etc.) sont utilisés pour une extraction d'ADN, puis une PCR temps réel est réalisée avec des amorces et une sonde permettant la détection des adénovirus les plus intéressants en pratique clinique.

#### B. Diagnostic sérologique

Il est généralement réalisé par déviation du complément sur deux sérums prélevés à 7-10 jours d'intervalle ; on cherche à mettre en évidence une séroconversion ou une augmentation significative du titre des anticorps ; cependant, les titres restent souvent bas et la sérologie, notamment chez l'enfant, est difficile à interpréter.

#### ① Points clés

Anciennement appelés APC (adéno-pharyngo-conjonctivaux), les adénovirus peuvent entraîner des adénopathies, des atteintes des voies aériennes inférieures et supérieures, des encéphalites ainsi que des épidémies de conjonctivites.

# 13

## Virus de la rubéole

- I. CARACTÈRES GÉNÉRAUX
- II. CLINIQUE ET ÉPIDÉMIOLOGIE
- III. DIAGNOSTIC VIROLOGIQUE

- IV. PRÉVENTION
- V. LE POINT SUR LA RUBÉOLE CONGÉNITALE EN FRANCE

**Item**

Item 94. Maladies éruptives de l'enfant.

### I. CARACTÈRES GÉNÉRAUX

Bien qu'appartenant à la famille des *Flaviviridae* (genre rubivirus), le virus de la rubéole n'est pas un arbovirus. Son réservoir est strictement humain et sa transmission s'effectue par contact direct.

Ce virus possède un ARN génomique de polarité positive d'environ  $3 \times 10^6$  daltons dans une capsidie icosaédrique avec une enveloppe porteuse de spicules hémagglutinants actifs sur les hématies d'oiseaux (notamment de poussin). L'ensemble de la particule virale a un diamètre de 40 nm.

La multiplication virale a lieu dans le cytoplasme des cellules infectées et la libération des particules virales se fait par bourgeonnement. Au laboratoire, le virus de la rubéole peut être cultivé dans des RK13, des SIRC (lignées continues de lapin), des BHK21 (lignée continue de rein de hamster) ou des Vero. Sur RK13 et SIRC, il produit un ECP parfois long à apparaître (plus de deux semaines) ; sur BHK21, le virus n'induit pas d'ECP mais rend ces cellules insensibles à la multiplication et donc à l'ECP d'un entérovirus révélateur, généralement l'échovirus de type 11 (réaction d'interférence) ; sur Vero, l'ECP est difficile à apprécier mais on peut détecter une HA d'origine virale lorsqu'on teste le surnageant avec des hématies de poussin.

### II. CLINIQUE ET ÉPIDÉMIOLOGIE

#### A. Rubéole de l'enfant et de l'adulte

Après une incubation de 16 à 18 jours, on note, un catarrhe accompagné d'adénopathies occipitales et rétromastoïdiennes ; l'exanthème qui apparaît ensuite est maculopapuleux, rose pâle parfois morbilliforme ; il débute à la face avant de se généraliser à l'ensemble du corps.

La rubéole chez l'enfant et l'adulte est une maladie bénigne qui entraîne rarement des complications : purpura, arthralgies, encéphalite périveineuse voire très rarement PESS non lié au virus rougeoleux.

Il faut insister par contre sur le fait que bon nombre de primo-infections rubéoliques ne sont pas accompagnées de signes cliniques et peuvent passer inaperçues (notamment chez la femme enceinte, d'où l'importance du diagnostic de laboratoire). D'autre part, certaines éruptions maculopapuleuses (comme, par exemple, des éruptions estivales liées à des entérovirus) sont attribuées à tort à la rubéole.

## B. Rubéole congénitale

La rubéole congénitale correspond à une atteinte foetale lors d'une primo-infection maternelle dans les 20 premières semaines de la grossesse ; plus elle est précoce et plus elle est sévère. Les malformations liées à des perturbations de l'embryogenèse vont toucher le cœur (persistance du canal artériel), l'oreille (surdité) et l'œil (cataracte) ; à l'atteinte de l'embryogenèse se surajoute une foetopathie, conséquence de la multiplication du virus dans les tissus : hépatite, encéphalite, purpura thrombocytopénique, lésions osseuses.

La rubéole évolue sur un mode endémo-épidémique avec des épidémies au printemps ; la contamination s'effectue par voie aérienne, interhumaine, chez l'enfant et l'adulte ; un sujet développant une rubéole est contagieux 5 à 8 jours avant et après l'exanthème. La contamination foetale au cours d'une primo-infection maternelle en absence d'anticorps, se fait par voie transplacentaire.

Il existe un seul type antigénique de virus rubéolique et l'immunité acquise après la primo-infection est considérée comme solide.

## III. DIAGNOSTIC VIROLOGIQUE

Ici, c'est le diagnostic sérologique qui est fondamental.

### A. Diagnostic sérologique

La déviation du complément n'est pas utilisée car elle correspond à des anticorps relativement tardifs ; pendant longtemps l'IHA a été une technique de base et le demeure dans certains laboratoires ; les anticorps IHA apparaissent au moment de l'exanthème et atteignent un titre maximal en une quinzaine de jours ; ils persistent ensuite pendant des années à des niveaux très variables d'un sujet à l'autre. D'autres techniques de mise en évidence des anticorps totaux se sont développées faisant appel à l'ELISA ou à l'agglutination de particules de latex sensibilisées par l'antigène rubéolique.

Au cours d'une primo-infection, les premiers anticorps spécifiques à apparaître sont dans la classe des IgM ; ces IgM antirubéoliques persistent, en moyenne, pendant 3 à 6 semaines après la séroconversion. Diverses techniques ont été utilisées pour la mise en évidence des IgM dont l'ultracentrifugation et la séparation des IgG (7S) et IgM (19S) sur colonne de *Séphadex* (se reporter au chapitre sur les techniques séro-immunologiques). On fait maintenant généralement appel à l'immunocapture ELISA.

Le diagnostic sérologique de la rubéole concerne surtout la femme enceinte ou susceptible de l'être :

- le diagnostic d'immunité mené chez une femme avant une grossesse repose sur la mise en évidence des anticorps antirubéoliques sur un seul prélèvement de sérum ;

## CONNAISSANCES – II. VIROLOGIE SYSTÉMATIQUE

- la situation est nettement plus complexe lorsque l'on aborde le problème d'une éventuelle contamination rubéolique (avec ou sans notion de contagion) chez une femme enceinte sans statut défini vis-à-vis du virus rubéolique avant la grossesse. Deux prélèvements de sérum sont nécessaires, l'un le plus précoce possible et l'autre 10 jours plus tard. On trouvera dans le tableau 13.1 quelques exemples et leur interprétation.

Le diagnostic sérologique d'infection rubéolique chez le nouveau-né repose sur la détection des IgM non transmises par la mère et seules susceptibles d'avoir été élaborées par le fœtus infecté.

**Tableau 13.1.** Démarche diagnostique chez une femme enceinte recherchant une éventuelle contamination rubéolique.

Sérum 1	Sérum 2	
< 1:10*	+ 1:640	Primo-infection avec séroconversion rubéolique On cherche à mettre en évidence des IgM dans le sérum 2
+ 1:80	+ 1:640	Primo-infection avec un sérum un peu tardif ou réinfection avec réaction de rappel ; on différencie les deux cas par la recherche des IgM dans le sérum 1
+ 1:80	+ 1:80	Immunité ancienne
+ 1:640	+ 1:640	Primo-infection avec prélèvements tardifs ou immunité ancienne avec titre résiduel élevé On différencie les deux cas par la recherche d'IgM dans le sérum 1
+ 1:80	Pas de sérum 2	Ininterprétable sans la recherche d'IgM dans le sérum disponible En l'absence d'IgM, la conclusion est cependant difficile car celles-ci sont transitoires et labiles
+ 1:1 280	Pas de sérum 2	

\* Inverse de la dilution sérique ; IHA. La dilution de départ testée est 1:10. Les deux sérums doivent être testés le même jour, dans le même laboratoire.

## B. Isolement viral

L'isolement viral n'est utilisé que pour une confirmation d'infection rubéolique chez un nouveau-né et un produit d'interruption de grossesse ou d'avortement ; chez le nouveau-né on ensemence des prélèvements de gorge et d'urines sur cultures cellulaires ; dans les autres cas, on est amené à ensemencer des débris ovulaires, des prélèvements d'organes et de placenta. L'isolement viral est maintenant remplacé par la détection du génome viral par PCR.

## IV. PRÉVENTION

L'efficacité de gammaglobulines spécifiques après un contagion avec un sujet infecté est douteuse ; de plus, elle peut compliquer l'interprétation des tests sérologiques et ne doit donc pas être conseillée.

La prévention repose sur un vaccin vivant atténué utilisé maintenant à un an associé, dans le ROR, aux souches vaccinales ourlienne et rougeoleuse. L'administration se fait en une injection par voie sous-cutanée.

Chez les femmes en âge de procréer actuellement et n'ayant pas bénéficié de la vaccination précoce, on doit déterminer le statut immunitaire vis-à-vis du virus rubéolique avant la première grossesse ; si des anticorps spécifiques sont présents attestant d'une immunité, la surveillance ultérieure devient inutile. Si la sérologie est négative (ou en tout cas inférieure au titre considéré comme protecteur), on vaccine la femme en proposant une contraception un mois avant et deux mois après l'injection.

## V. LE POINT SUR LA RUBÉOLE CONGÉNITALE EN FRANCE

Le taux d'incidence des infections rubéoliques chez les femmes enceintes était d'environ 40 pour 100 000 naissances en France entre 1979 et 1984 ; il a diminué à partir de 1985 évoluant entre 4,5 et 12,5 pour 100 000 naissances. En 2005, selon les résultats du réseau Renarub de l'Institut national de veille sanitaire (INVS), l'incidence était de 2,1 pour 100 000 et le taux de rubéole congénitale malformative (RCM) de 0,26 pour 100 000.

### Note

Le diagnostic de primo-infection rubéolique est bien sûr très important chez la femme enceinte ; la présence d'IgM contre le virus de la rubéole signe le plus souvent une primo-infection mais peut être parfois associée à une stimulation polyclonale, une réinfection rubéolique ainsi que, rarement, à un maintien de ces IgM pendant plusieurs mois. Dans ces cas, on peut définir l'affinité des anticorps à l'antigène rubéolique ; les anticorps de forte avidité suggèrent une infection ancienne. On va donc dans des protocoles établis, provoquer une dissociation antigène-anticorps ; cette dissociation est facile lorsque l'affinité des anticorps est faible ; elle est difficile dans le cas contraire.

### ① Points clés

Le virus de la rubéole induit une éruption bénigne chez l'enfant ; il est par contre redoutable pour le fœtus lors de la primo-infection rubéolique chez la femme enceinte.

## 14

# Papillomavirus et polyomavirus

I. GÉNÉRALITÉS  
II. PAPILOMAVIRUS

III. POLYOMAVIRUS

*Items*

Item 96. Méningites infectieuses et méningo-encéphalites.  
Item 147. Tumeurs du col utérin, tumeur du corps utérin.

## I. GÉNÉRALITÉS

Ces virus étaient autrefois au sein d'une même famille virale appelée *Papoviridae*. Le nom de cette famille virale provenait de la juxtaposition des premières syllabes de trois virus : *papillome* (pa), *polyome* (po) et *vacuolating agent* (va). En fait, cette famille a été démembrée et a généré deux familles distinctes : papillomavirus et polyomavirus (regroupant polyome et vacuolating agent ou SV40).

Ces virus possèdent un ADN bicaténaire de 3 à 5 × 10<sup>5</sup> daltons qui se présente sous forme superhélicoïdale ou circulaire (structure relâchée par rupture d'un des deux brins) ; la capside, non enveloppée, est icosaédrique avec 72 capsomères. Ils se multiplient à l'intérieur du noyau des cellules cibles.

## II. PAPILOMAVIRUS

Ils provoquent chez l'homme et chez les animaux des tumeurs bénignes de la peau et de certaines muqueuses malpighiennes. Ces tumeurs, de nature épithéliale, sont des papillomes.

### A. Hôtes naturels et classification chez l'homme

Les papillomavirus existent chez le lapin, le chien, le cheval, le cerf, les bovins et l'homme. Il existe ainsi plus de 140 génotypes différents dont 120 chez l'homme qui sont appelés virus du papillome humain (VPH ; *Human papilloma virus* [HPV]).

Les VPH possèdent un antigène interne de groupe détectable par déviation du complément et des antigènes spécifiques de types à la surface de la particule

virale ; ce sont surtout les techniques d'hybridation des acides nucléiques qui ont permis de relier les différents types de VPH aux différentes localisations et formes cliniques ; en effet, les VPH possèdent une grande spécificité de tissu. On trouvera la liste des entités cliniques chez l'homme et les principaux types de VPH associés dans le tableau 14.I.

**Tableau 14.I.** Entités cliniques et papillomavirus associés.

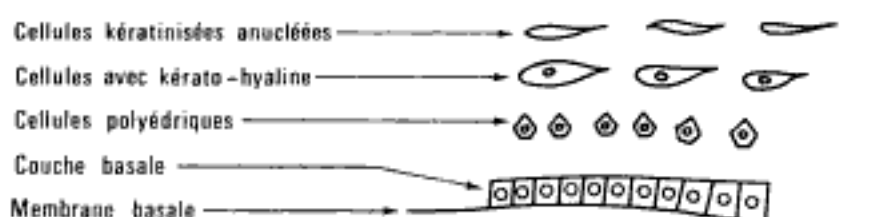
Verrues vulgaires	VPH-2
Verrues plantaires douloureuses (myrmécies)	VPH-1
Verrues planes	VPH-3, VPH-10
Épidermodysplasie verruciforme de Lutz-Lewandovsky (affection susceptible de dégénérer en carcinome surtout lorsqu'elle est associée à VPH-5)	VPH-5, VPH-8, VPH-17
Verrues anogénitales (condylomes, crêtes de coq)	VPH-6, VPH-11
Tumeur de Buschke-Loewenstein	VPH-6, VPH-11
Carcinomes du col utérin, carcinomes anaux, carcinomes de l'oropharynx	VPH-16, VPH-18
Papillomatose orale	VPH-13
Papillomatose laryngée de l'enfant	VPH-6, VPH-11

## B. Épidémiologie et pouvoir pathogène

Le mode de transmission des VPH est variable ; ainsi les VPH associés aux verrues cutanées sont transmis directement ou indirectement (sol des piscines dans le cas des VPH responsables de verrues plantaires). Les VPH associés aux condylomes anogénitaux sont transmis par voie sexuelle ; l'enfant atteint de papillomatose laryngée juvénile aurait été contaminé lors de la traversée de la filière génitale par un VPH-6 ou VPH-11 provenant d'un condylome génital maternel.

Les papillomavirus ont une spécificité d'hôte, de tissu (déjà évoquée ci-dessus) et de cellules puisque, *in vivo*, ils ne peuvent réaliser un cycle de multiplication productif que dans des cellules épithéliales différenciées (kératinocytes). À l'exception du virus du papillome bovin (VPB), ils ne sont pas cultivables *in vitro*. Le modèle expérimental le plus étudié a été celui du papillome de Shope (papillome du lapin *cottontail* décrit initialement par Shope en 1933). Rappelons que la peau est constituée du derme et de l'épiderme ; l'épiderme est un épithélium stratifié présentant successivement au-dessus de la membrane basale une couche cellulaire basale, des cellules polyédriques, des cellules avec kérato-hyaline et des cellules kératinisées anucléées (fig. 14.1).

► **Fig. 14.1.** Structure de la peau. ►



Le virus du papillome de Shope entraîne une hyperplasie de l'épiderme ; l'ADN viral peut être détecté par hybridation moléculaire dans les cellules de la couche basale et les cellules polyédriques ; cependant dans ces cellules, les protéines de structure virale ne sont pas exprimées ; l'expression protéique et la synthèse de particules virales complètes vont se réaliser progressivement avec le processus de kératinisation ; on a donc, selon l'état de différenciation de la cellule hôte, une réplication abortive ou productive. Les cellules kératinisées superficielles libèrent des virus transmissibles. L'organisme infecté élabore des anticorps antiviraux mais la régression spontanée de ces tumeurs bénignes serait surtout due à l'immunité cellulaire dirigée contre les cellules porteuses d'antigènes viraux de surface. Chez l'homme, la physiopathologie est similaire ; chez un sujet immunodéprimé notamment infecté par le VIH, les papillomes peuvent connaître un développement considérable.

Le papillome de Shope est une tumeur bénigne ; cependant dans certains cas et plus particulièrement lors d'un badigeonnage expérimental avec du méthylcholanthrène, le papillome peut se transformer en carcinome avec rupture de la basale. Chez la vache, on sait que des papillomes digestifs peuvent se transformer en épithéliomas sous l'effet de produits de dégradation de fougères ingérées. Les condylomes anogénitaux humains et notamment ceux du col utérin associés à VPH-16 et VPH-18 peuvent évoluer vers la dysplasie, le carcinome *in situ* puis le carcinome invasif ; l'ADN viral peut être détecté sous forme épisomique dans les cellules des lésions bénignes ; dans les cellules cancéreuses il est par contre sous forme intégrée<sup>1</sup>. Parmi les protéines exprimées par les VPH oncogènes en particulier VPH-16 et VPH-18, on note E6 et E7 qui vont se lier à la protéine cellulaire p53 ; celle-ci joue un rôle dans l'apoptose ainsi que dans la diminution de réplication et la réparation de l'ADN cellulaire ; son inactivation entraîne donc la multiplication cellulaire incontrôlée.

## C. Méthodes d'étude

La caractérisation des lésions est tout d'abord histologique. La microscopie électronique et les méthodes immunohistochimiques peuvent permettre d'observer les particules virales ou les antigènes correspondant dans les noyaux des cellules productrices.

Ce sont surtout les techniques de détection des acides nucléiques qui se sont développées ; à l'aide de sondes larges ou spécifiques, chaudes ou froides, on peut mettre en évidence les acides nucléiques des VPH par hybridation *in situ*, *dot blot* ou *southern blot*. Plus récemment, ce sont les techniques d'hybridation et d'amplification par PCR qui ont, comme dans tous les champs de la virologie, connu une expansion très significative. Ainsi, des tests commerciaux existent sur le marché qui permettent de détecter les VPH à fort pouvoir oncogène (VPH-16, VPH-18, VPH-31, VPH-33, etc.) ; cette détection se fait en un seul temps c'est-à-dire que la réponse est globale : présence ou non d'un VPH oncogène dans la liste de ceux qui sont recherchés sans précision sur le type. De nouveaux tests sont apparus qui permettent de génotyper les VPH ; par exemple, une partie commune à plusieurs types de VPH est amplifiée par PCR puis le produit d'amplification est hybridé sur des bandelettes contenant des sondes permettant de différencier les types de virus ; l'amplification d'une zone génomique commune suivie de l'hybridation sur *DNA chips* peut également être utilisée. Prenons l'exemple du dépistage du cancer du col de l'utérus en France ; 6 millions de frottis cervicaux vaginaux sont réalisés par an ; 1,42 % des frottis présen-

1. Découverte du virologue allemand Harald zur Hausen, co-lauréat du prix Nobel de médecine 2008.

tent des anomalies cytologiques (ASC-US) qui peuvent précéder les lésions de bas grade (CIN1) et de haut grade (CIN2/3) ; dans ces cas d'ASC-US, on réalise la recherche d'un VPH oncogène par hybridation en milieu liquide ou par PCR.

## D. Traitement

Le traitement des verrues fait appel à la cryothérapie à l'azote liquide, à l'acide salicylique voire à la chirurgie. Les condylomes sont traités par coagulation, cryothérapie, laser à CO<sub>2</sub> ; la conisation est utilisée devant une dysplasie ou un carcinome du col utérin. Les papillomes laryngés sont traités par chirurgie et interféron.

## III. POLYOMAVIRUS

Chez les animaux, on décrit le virus du polyome de la souris et le SV40 (*Simian Virus 40, vacuolating agent*) du singe. Le SV40 induit une infection inapparente chez son hôte naturel, le singe, mais est responsable de tumeurs cancéreuses lorsqu'il est injecté au hamster ; à ce titre, il constitue un modèle d'oncogenèse virale. Chez l'homme, deux virus ont été identifiés : JC (*Jamestown Canyon virus* [JCV]) et BK (d'après les initiales du patient chez lequel il fut isolé).

### A. Épidémiologie et pouvoir pathogène des virus JC et BK

Ces virus sont ubiquitaires et transmis tôt dans la vie au cours d'une primo-infection inapparente. Ils restent ensuite à l'état latent dans le rein et probablement le système nerveux central et peuvent être réactivés en cas d'immunodépression (infection par le VIH, greffes).

Le virus JC est associé à la leucoencéphalopathie multifocale progressive (LEMP), maladie grave caractérisée histologiquement par une démyélinisation cérébrale et une atteinte des oligodendrocytes. Les cas de LEMP sont actuellement en très nette augmentation puisque cette pathologie est une des infections opportunistes du sida.

Le virus BK, dont l'excrétion urinaire est prolongée lors d'une réactivation, est associé à des cystites hémorragiques et des sténoses urétérales chez des greffés rénaux. Son rôle dans l'étiologie de tumeurs cérébrales a été suspecté.

### B. Diagnostic virologique

#### 1. Diagnostic direct et isolement

On peut mettre en évidence les antigènes viraux par immunohistochimie (immunoperoxydase) dans les cellules du culot urinaire voire, devant une suspicion de LEMP, dans des cellules du système nerveux central. Dans certains cas, la microscopie électronique a pu permettre une orientation diagnostique basée sur la morphologie des particules virales.

L'isolement de JC est réalisé sur cellules gliales embryonnaires humaines enrichies en spongioblastes ; le virus BK peut être cultivé sur Vero. Dans les deux

cas, l'ECP est tardif et non spécifique et l'identification virale fait appel à l'immunomarquage.

Là encore, les techniques moléculaires utilisant des sondes connaissent des développements intéressants ; la PCR en temps réel est maintenant l'outil de choix pour la détection de l'ADN du virus JC dans le LCR ou des biopsies cérébrales de patients VIH<sup>+</sup> avec suspicion de LEMP.

## **2. Diagnostic sérologique**

Les virus JC et BK sont hémagglutinants et les anticorps correspondants peuvent être recherchés par IHA ; d'autres techniques ont été développées comme l'ELISA. Cependant, la mise en évidence d'anticorps dirigés contre les polyomavirus n'est pas aisée à interpréter ; dans le cas d'une LEMP, on compare le titre des anticorps anti-JC dans le LCR et le sérum.

### **① Points clés**

Les papillomavirus sont nombreux chez l'Homme et sont, pour certains, responsables du cancer du col de l'utérus chez la femme.

Les polyomavirus incluent notamment le virus JC, susceptible d'entraîner une encéphalite démyélinisante chez les sujets immunodéprimés.

# Parvovirus

# 15

- I. PARVOVIRUS B19
- II. BOCAVIRUS

*Item*

Item 94. Maladies éruptives de l'enfant.

## I. PARVOVIRUS B19

Les *Parvoviridae* sont de petits virus à ADN monocaténaire linéaire dans une capsidie icosaédrique de 18 à 26 nm ; certains sont défectifs et nécessitent, pour accomplir un cycle de réplication productif, l'aide d'un adénovirus (virus *helper*) : ce sont des *Adenovirus-associated viruses* (AAV). D'autres sont totalement autonomes, comme par exemple le B19. Ce virus a été récemment impliqué dans une pathologie humaine identifiée.

### A. Clinique et pathogenèse

Le B19 est associé à l'érythème infectieux (cinquième maladie) de l'enfant ; cet érythème commence au niveau de la face pour atteindre ensuite le tronc et les membres ; des adénopathies et des douleurs articulaires peuvent être notées.

Le B19 peut entraîner, chez l'adulte, une arthropathie isolée sans érythème, une anémie (notamment chez le sujet immunodéprimé), une atteinte foetale lors d'une primo-infection de la femme enceinte.

Le virus pénètre par voie aérienne ; une virémie très importante se produit une semaine environ après le contagage ; les précurseurs érythroïdes de la moelle osseuse sont détruits, les réticulocytes disparaissent du sang circulant tandis que l'hémoglobine diminue ; au cours de la troisième semaine qui suit le contagage, apparaissent l'érythème et les arthralgies, conséquences probables de la réponse du système immunitaire aux antigènes viraux. La virémie étant importante avant l'apparition des anticorps, le B19 va, lors d'une grossesse, atteindre le placenta et le foetus chez lequel il va détruire les cellules hématopoïétiques.

### B. Diagnostic virologique

Le virus n'est isolable que sur cellules précurseurs érythroïdes médullaires ou de foie foetal. Le diagnostic direct peut être mené sur le sérum où la concentration virale est élevée dans les premiers jours de l'infection : on utilise la PCR. Le diagnostic sérologique repose sur une séroconversion, une augmentation significative du titre des anticorps et/ou la présence d'IgM anti-B19 en ELISA.

## II. BOCAVIRUS

Ces virus font partie de la famille des *Parvoviridae* ; un virus humain a été décrit (*Human bocavirus*) (HBoV) qui est apparenté à des bocavirus bovins et canins. Clairement, dans notre pays, HBoV circule de décembre à juin et aurait une prévalence d'environ 4 % chez les enfants de moins de 5 ans ce qui en ferait le troisième agent étiologique des atteintes respiratoires basses après le VRS et hMPV. Les co-infections seraient fréquentes. Le diagnostic peut être mené par RT-PCR à partir des sécrétions nasopharyngées.

### ① Points clés

Les parvovirus infectant l'hôte sont : le B19 qui induit une éruption et une anémie ; le bocavirus récemment associé à une atteinte pulmonaire.

# Virus des gastroentérites

# 16

- I. ROTAVIRUS
- II. AUTRES VIRUS

## Item

**Item 73. Risques sanitaires liés à l'eau et à l'alimentation. Toxi-infections alimentaires.**

Un certain nombre de virus sont responsables de gastroentérites qui associent diarrhée, vomissements et parfois déshydratation.

## I. ROTAVIRUS

Ces virus appartiennent à la famille des *Reoviridae* ; ils possèdent un ARN génomique bicaténaire en 11 segments répartis en 4 classes de poids moléculaire dans un core lui-même protégé par une capsidie icosaédrique double de 70 nm de diamètre (fig. 16.1A). L'ARN viral est associé dans la particule virale, à une activité ARN polymérase. L'analyse électrophorétique de la migration des 11 segments d'ARN a permis de classer les rotavirus en groupes (A à G), les groupes A, B et C étant retrouvés chez l'homme. Les protéines virales portent des antigènes spécifiques qui ont notamment permis de classer les rotavirus du groupe A en sous-groupe (I et II) et sérotypes.

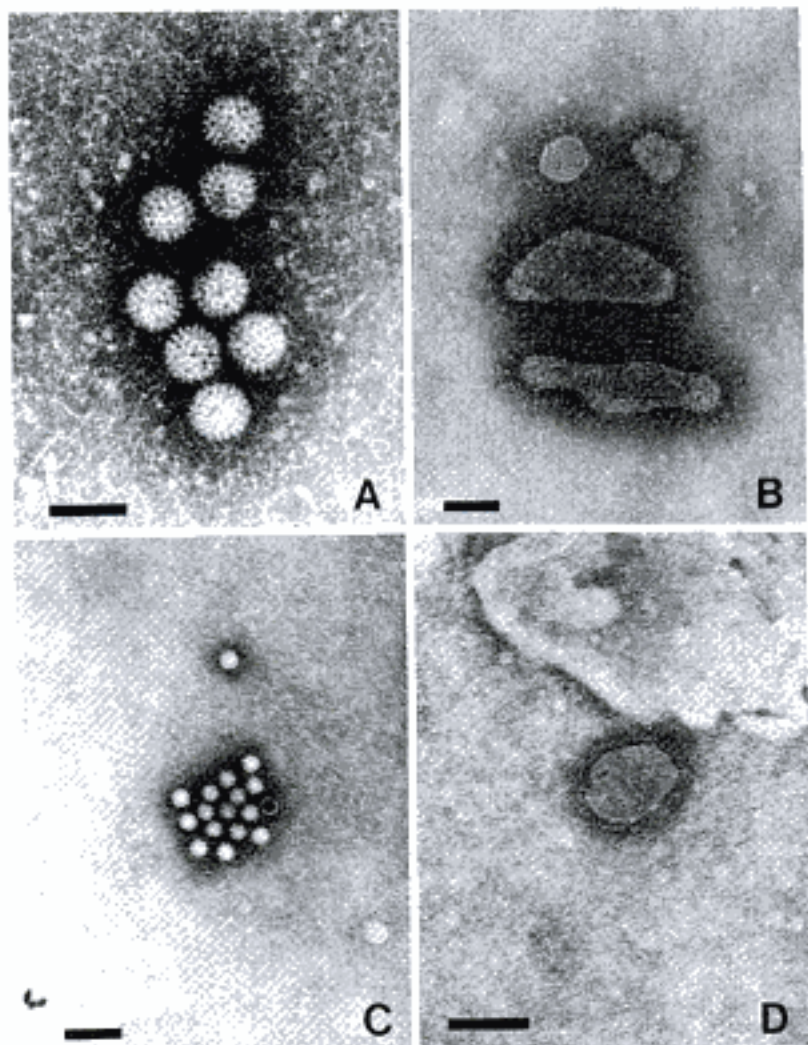
Très résistants dans le milieu extérieur, les rotavirus sont transmis par voie oro-fécale ; la transmission se fait en consommant des aliments contaminés ou lorsque l'on est en contact avec les selles et/ou vomissements d'un patient infecté et que l'on prépare ensuite des aliments sans hygiène des mains stricte ; la contamination peut également être directe interhumaine ou par le relais de jouets, objets ou surfaces contaminés. Les rotavirus sont ubiquitaires et évoluent, en France, sous forme d'épidémies hivernales. L'infection va concerner les enfants avant l'âge de 3 ans. Le virus se multiplie dans les entérocytes des villosités de l'intestin grêle entraînant une perturbation de l'activité électrolytique de ces cellules avec une perte d'eau et d'électrolytes. L'excrétion virale, très abondante au début, va cesser avec la guérison ; l'épithélium intestinal est régénéré cependant que des anticorps spécifiques, IgM, IgG et IgA sont synthétisés ; les IgA locales ont le rôle le plus important dans l'établissement et le maintien de l'immunité. Des réinfections sont possibles avec d'autres sérotypes. Globalement, les rotavirus entraînent le décès d'environ 600 000 enfants par an au niveau mondial avec une prédominance dans les pays les plus démunis. En France, on estime qu'il y a environ 300 000 épisodes infectieux par an chez les enfants entraînant 18 000 hospitalisations. Le diagnostic virologique nécessite un prélèvement de selles. Leur multiplication *in vitro* en culture cellulaire étant difficile, les rotavirus ont été longtemps observés par microscopie électronique après coloration négative. Actuellement, on utilise en première intention un test ELISA permettant de détecter, à l'aide d'un anticorps monoclonal, un antigène de groupe des rotavirus. On peut aussi utiliser la détection de l'acide nucléique viral par PCR.

CONNAISSANCES – II. VIROLOGIE SYSTÉMATIQUE

Il n'y a pas de chimiothérapie spécifique ; le traitement est symptomatique et doit assurer, le cas échéant, une réhydratation par voie orale ou veineuse. Il existe actuellement en France deux vaccins à virus vivants : *Rotarix* et *Rotateq*. Ces vaccins sont administrés par voie orale au nourrisson à partir de la 6<sup>e</sup> semaine en deux à trois doses, la vaccination devant être terminée à 6 mois du fait de complications qui ont pu être observées après. L'enfant vacciné émet du virus dans les selles avec un maximum vers le 7<sup>e</sup> jour post-vaccinal et des cas de transmission des souches vaccinales à des sujets contacts ont été décrits ; il importe, dans ces conditions, de vacciner avec prudence des enfants qui ont, dans leur entourage, des personnes immunodéprimées.

► **Fig. 16.1.** Virus associés à des gastroentérites et observés dans les selles de patients par microscopie électronique après coloration négative.

- A.** Rotavirus.
  - B.** Coronavirus.
  - C.** Astrovirus.
  - D.** Virus apparenté au virus Breda.
- Clichés : Trimoulet P, laboratoire de virologie, CHR de Bordeaux. La barre est pour 100 nm. ►



## II. AUTRES VIRUS

### A. Calicivirus

Les calicivirus humains sont de petits virus non enveloppés de 27 à 35 nm de diamètre ; leur information génomique est portée par un ARN linéaire de polarité positive d'environ 7 600 nucléotides ; la capsid est constituée d'une protéine unique ; elle est de symétrie icosaédrique et présente en microscopie électronique l'aspect d'une étoile à 6 branches.

Ces virus ont été classés en 3 génotypes ; les génotypes 1 et 2 ont été regroupés sous le nom de norovirus et correspondent aux virus de type Norwalk (*Norwalk-like viruses* [NLV], autrefois appelés *Small round structured viruses* [SRSV]) et comprennent les virus *Norwalk*, *Desert Shield* (qui s'est manifesté dans les troupes américaines engagées en Arabie Saoudite pendant l'opération Tempête du désert en 1990), *Hawaii*, *Snow Mountain*, *Mexico*. Le prototype du génotype 3 est le virus *Sapporo* ; les virus apparentés au virus *Sapporo* sont les sapovirus.

Les norovirus sont hautement contagieux et transmis par la voie orofécale, soit par contact direct avec une personne malade soit par des aliments ou de l'eau contaminés. Ils peuvent aussi être transmis par des aérosols lors des vomissements. La responsabilité de ces virus dans des épidémies de gastroentérites survenant en collectivités (maisons de retraite, bateaux de croisière...) est maintenant bien admise. Des épidémies de gastroentérites liées à la consommation d'eau et de coquillages souillés ont été décrites. Les norovirus sont maintenant considérés comme les premiers responsables des gastroentérites épidémiques non bactériennes. Il faut également noter que ces virus peuvent atteindre tous les âges de la population et qu'il ne semble pas y avoir de prédominance saisonnière évidente pour ces infections.

La période d'incubation est de 12 à 48 heures ; les signes cliniques associent vomissements, diarrhée aqueuse, douleurs abdominales, myalgies, céphalées ; la déshydratation est la complication la plus commune ; les symptômes durent habituellement 24 à 60 heures.

Le diagnostic virologique peut être réalisé par détection d'un antigène norovirus dans les selles par ELISA ; cependant, la sensibilité de ce test n'est pas élevée et il doit être utilisé dans des circonstances épidémiques à partir de selles recueillies dans les 2 à 3 jours après le début des signes cliniques. On peut aussi faire appel à la RT-PCR qui est plus sensible et est potentiellement positive jusqu'à une semaine après le début des signes cliniques.

Dans des laboratoires de virologie spécialisés, le diagnostic peut être mené à partir des selles des patients par RT-PCR dans le gène de la polymérase des NLV avec ensuite, dans certains cas, une étude par séquençage automatique des fragments amplifiés afin de réaliser une comparaison de séquences avec les souches référencées.

### B. Astrovirus

Ces virus, qui possèdent un ARN génomique monocaténaire positif, présentent une morphologie en étoile (fig. 16.1C). L'infection qu'ils entraînent est souvent asymptomatique. Des astrovirus ont été découverts chez les agneaux et les veaux ce qui a permis de préciser leur cible intestinale (cellules épithéliales des villosités de l'intestin). La mise en évidence des Astrovirus se fait par microscopie électronique.

## C. Coronavirus

Ces virus présentent une morphologie différente des précédents ; en effet, leur génome (ARN monocaténaire) est protégé par une capsidie hélicoïdale dans une enveloppe hérissée de spicules en club de golf (fig. 16.1B). Le diagnostic repose, là encore, sur la microscopie électronique.

## D. Adénovirus non cultivables

Dans certains cas pédiatriques, on a pu observer en microscopie électronique des adénovirus (types 40 et 41) non cultivables. Ils peuvent maintenant être détectés par des tests directs (ELISA, agglutination) ou par PCR à partir de prélèvements de selles.

## E. Virus apparentés au virus Breda

Découvert chez le veau, le virus Breda est enveloppé et spiculé (fig. 16.1D) ; des particules virales présentant une similitude morphologique avec le virus Breda ont été associées à des gastroentérites chez l'homme.

### ① Points clés

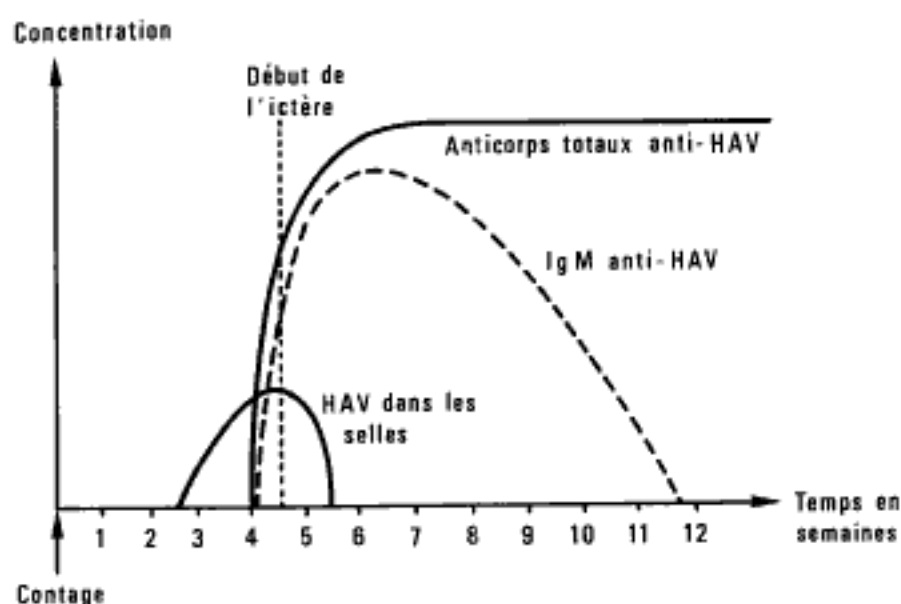
Les principaux virus associés à des gastroentérites sont les rotavirus et les calicivirus, ces derniers regroupant norovirus et sapovirus.

Ils font partie du risque hydrique et sont également transmissibles par les aliments souillés ainsi que par des contacts directs interhumains (mains sales).

Hidden page

Hidden page

► **Fig. 17.1.** Marqueurs viraux de l'hépatite A (dessin de V. Rolland). ►



de ces particules par un sérum anti-VHA et ce sont donc les agrégats que l'on mettra en évidence au cours d'une deuxième observation.

### b. Test radio-immunologique (RIA) et immuno-enzymatique (ELISA)

Ils permettent de détecter l'antigène viral dans les selles du malade. Comme il ne semble pas exister de portage chronique de VHA, la présence du virus ou de son antigène permet d'affirmer le diagnostic. Cependant, le virus disparaissant rapidement après l'installation de l'ictère, ce diagnostic est d'intérêt limité.

## 2. Mise en évidence des anticorps spécifiques

Elle est effectuée par RIA ou ELISA. Comme on l'a vu précédemment, la présence d'IgM anti-VHA signe une infection actuelle ou très récente. Elle est le meilleur moyen du diagnostic virologique.

## E. Prévention

Les règles d'hygiène restent ici primordiales ; dans quelques situations particulières (exemple : voyage d'un sujet non immunisé dans une zone de forte incidence de VHA), on peut utiliser des immunoglobulines en injection intramusculaire avec une protection passive d'environ trois mois.

Un excellent vaccin a été mis au point ; il s'agit d'une souche de VHA cultivée sur cellules MRC5 et qui est ensuite purifiée et inactivée. Le vaccin correspondant est commercialisé sous le nom d'*Havrix* avec plusieurs doses disponibles selon que l'on s'adresse à des patients de moins ou de plus de 15 ans ; *Havrix 360* et *Havrix 720* sont utilisés chez le sujet de moins de 15 ans ; par exemple, avec *Havrix 360*, on réalise une première injection IM, une deuxième un mois plus tard, une troisième 6 à 12 mois après la première et des rappels tous les 10 ans si le patient voyage dans des zones d'endémie. *Havrix 1440* est utilisé chez le sujet de plus de 15 ans avec une seule injection et des rappels tous les 10 ans. Un vaccin, appelé *Twinrix*, est un vaccin mixte antihépatite A et antihépatite B avec une forme adulte et une forme enfant.

### III. VIRUS DE L'HÉPATITE B (VHB, HBV)

Il est responsable de ce que l'on appelait auparavant hépatite sérique ou hépatite d'inoculation, dont l'incubation est plus longue que celle liée à VHA (90 jours en moyenne contre 30 jours pour l'hépatite A).

#### A. Virus

C'est un virus complexe dont certaines propriétés (mode de répllication et possibilité d'intégration dans le génome cellulaire) le rapprochent des rétrovirus. Son appartenance à une nouvelle famille virale, les *Hepadnaviridae*, a été proposée ; l'appellation *Hepadnaviridae* (contraction de *Hepatitis-DNA-viridae*) concerne des virus à ADN responsables d'hépatites (des virus proches sont connus chez le canard, l'écureuil, la marmotte).

Dans le sang d'un malade en phase active de synthèse virale, on peut observer trois types de structure :

- des sphères de 20 nm de diamètre ;
- des tubules de 20 nm de diamètre et de 200 à 700 nm de longueur qui sont un empilement de sphères ;
- des particules de Dane de 42 nm de diamètre qui sont constituées d'un *core* (nucléocapside contenant un ADN bicaténaire associé à une ADN polymérase) et d'une enveloppe.

Les particules de Dane représentent le virus complet, cependant que les sphères et tubules correspondent à l'enveloppe (autrefois appelée antigène Australia).

Le génome du VHB (fig. 17.2) est constitué d'un ADN circulaire bicaténaire sur les trois-quarts du cercle et donc monocaténaire sur un quart. L'information génétique est comprise dans son intégralité sur un seul des deux brins, le brin long qui a une polarité négative. Il existe quatre cadres de lecture ouverts (*Open reading frame* [ORF]) codant les protéines de surface (gènes pré-S1, pré-S2, S), les protéines de *core* (gène pré-C, gène C), la polymérase (gène P) et la protéine de transactivation (gène X). Il y a chevauchement entre les cadres de lecture ce qui amplifie les capacités d'expression du génome.

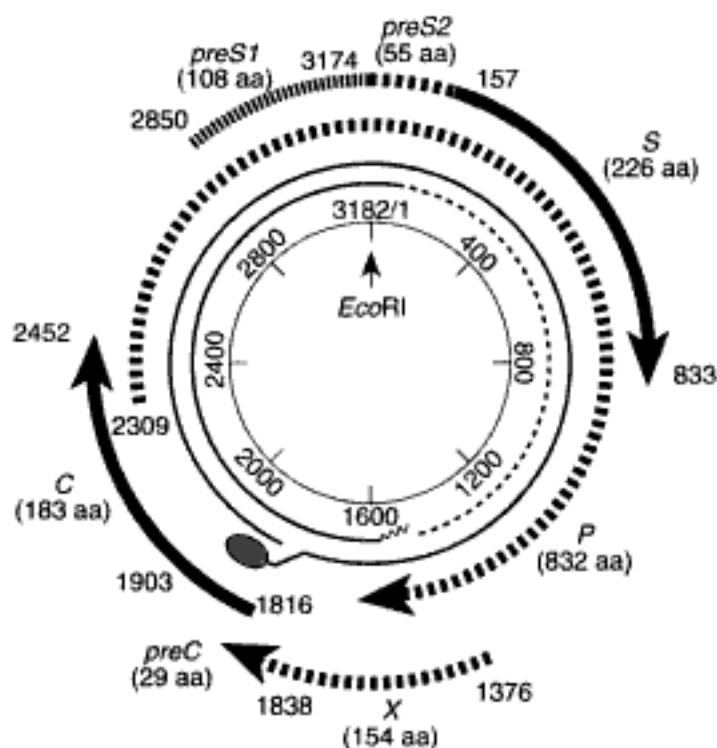
#### 1. Protéines de surface

Trois codons d'initiation fonctionnels permettent d'obtenir trois polypeptides de tailles différentes : S (protéine majeure de 24 kDa), S+pré-S2 (protéine moyenne de 33 kDa) et S+pré-S2+pré-S1 (grande protéine de 39 kDa). L'ensemble de ces protéines constitue l'antigène HBs (Ag HBs). La protéine S induit des anticorps protecteurs ; il existe un épitope B majeur dans la région pré-S2 ce qui est pris en compte dans certaines situations vaccinales.

#### 2. Protéines de capsid

Deux codons d'initiation sont à l'origine de deux polypeptides ; le premier codon correspond à une phase de lecture pré-C+C avec synthèse d'un polypeptide de 212 aa ; cette protéine est soluble et est retrouvée dans le sérum des malades ; elle est appelée antigène HBe (Ag HBe). Le deuxième codon d'initiation permet l'obtention d'un polypeptide plus court (183 aa) qui correspond à la protéine de *core* (capsid), l'antigène HBc (Ag HBc) ; l'Ag HBc est détectable dans les hépatocytes mais pas dans le sérum.

► **Fig. 17.2.** Organisation de l'ADN génomique du VHB (dessin de V. Rolland). ►



### 3. Polymérase

Codée par le gène P, la polymérase est comparable à la transcriptase inverse des rétrovirus.

### 4. Gène X

Le gène X code deux petits polypeptides qui participent à la transactivation de la transcription virale (augmentation des ARNm) ainsi qu'à l'augmentation d'activité de gènes intervenant dans la croissance cellulaire (c-myc, c-fos) contribuant ainsi au processus d'oncogenèse de la cellule infectée.

Pour le diagnostic et le suivi d'une infection par le VHB, les systèmes antigènes-anticorps sériques spécifiques utilisables sont les suivants :

- HBs et anti-HBs ;
- anti-HBc ;
- HBe et anti-HBe.

Il existe pour HBs un déterminant antigénique de groupe (a) associé à des sous-déterminants (d ou z et w ou r). En Amérique du Nord, on assiste à une prédominance de adw ; azw est le plus souvent rencontré dans le bassin méditerranéen.

HBe est associé à la réplication virale active puisqu'il est le résultat de la transcription pré-C+C et accompagne la synthèse de la protéine de core.

D'autres marqueurs sont recherchés dans le sérum : l'ADN polymérase et les anticorps correspondants ainsi que l'ADN viral qui est détectable et quantifiable par des techniques de biologie moléculaire. Ce dernier marqueur est de plus en plus utilisé dans les laboratoires spécialisés en particulier pour le suivi thérapeutique.

L'analyse des séquences nucléotidiques des virus circulants révèle l'existence de génotypes différents (A à H) dont la répartition géographique peut varier : ainsi,

le génotype A est pandémique cependant que B et C sont observés en Asie, D en Europe du Sud, E en Afrique, F aux États-Unis, G aux États-Unis et en France, H en Amérique centrale. On ne connaît pas encore de façon certaine le rôle de ces différents génotypes dans la physiopathologie ; les patients infectés par un virus de génotype A auraient plus de chances d'éliminer l'ADN viral et l'antigène HBe que des patients infectés par un génotype D.

## B. Épidémiologie et physiopathologie

Le réservoir viral est humain. La transmission se fait par voie percutanée notamment par le sang et ses dérivés ou par l'utilisation de matériel injectable mal stérilisé. Grâce à l'élimination des produits sanguins contaminants, l'hépatite à VHB ne représente plus que 10 à 20 % de l'ensemble des hépatites post-transfusionnelles. Ce mode de contamination concerne cependant encore certaines populations comme les polytransfusés, les drogués et le personnel médical (piqûres accidentelles). Les excoirations cutanées au contact du sang (infirmières, personnel de laboratoire) représentent également une voie d'entrée du virus VHB au cours d'activités médicales.

Les voies non parentérales sont liées à l'infectiosité notamment de la salive, du sperme, des sécrétions vaginales. Les transmissions sexuelle et périnatale sont sans doute les modes de contamination les plus usuels dans les zones d'endémie importante.

La physiopathologie de l'hépatite B est complexe. Le virus VHB se multiplie dans les hépatocytes (HBc est présent dans le noyau, HBs dans le cytoplasme). La lyse cellulaire ne semble pas être directement liée à la multiplication virale ; elle est la conséquence de l'intervention de lymphocytes NK (*Natural killer*) qui détruisent les cellules présentant à leur surface des néo-antigènes viraux.

Certains aspects pathologiques d'une hépatite B (périartérite noueuse, glomérulonéphrite, polynévrite) sont liés à la circulation et au dépôt de complexes immuns circulants.

Les infections chroniques sont fréquentes (5 à 10 % des hépatites à VHB en France) et d'autant plus fréquentes que l'infection concerne un sujet dont l'immunité est diminuée. La contamination périnatale est un grand facteur de passage à la chronicité dans certains pays (comme, par exemple, le Sénégal et Taïwan).

## C. Détection et évolution des marqueurs antigéniques et moléculaires

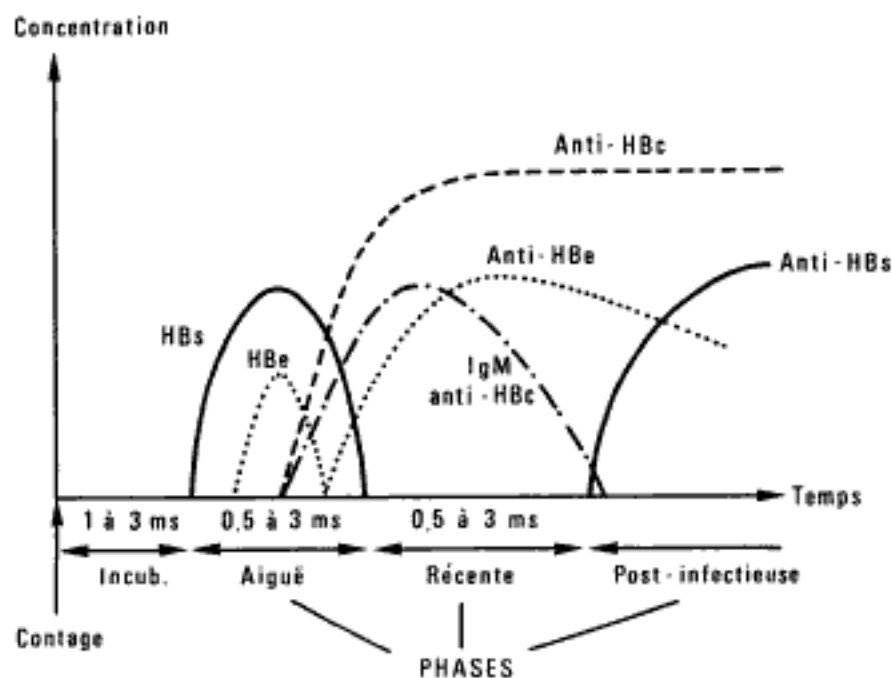
La détection des marqueurs antigéniques se fait par RIA ou ELISA dans le sérum, et par immunofluorescence au niveau hépatique. Celle des marqueurs moléculaires (acide nucléique viral et situation par rapport au génome cellulaire) est effectuée dans les hépatocytes, parfois dans le sérum, à l'aide de sondes clonées ; cet abord diagnostique est réservé à quelques centres seulement.

L'évolution des marqueurs antigéniques dans le sérum d'un malade atteint d'une hépatite aiguë d'évolution normale est schématisée par la figure 17.3.

### 1. Hépatite aiguë

L'étude des marqueurs antigéniques permet de définir la phase d'évolution de l'hépatite B (tableau 17.1).

► Fig. 17.3. Marqueurs sérologiques viraux de l'hépatite B. ►



**Tableau 17.1.** Évolution des marqueurs antigéniques et moléculaires au cours de l'hépatite B.

Hépatite aiguë		Hépatite persistante	
HBs + HBe + Anti-HBe - Anti-HBc + (IgM) Anti-HBs - ADN ++	Phase aiguë	HBs + Anti-HBs - Anti-HBc + (IgG) HBe - ADN - Anti-HBe ~ ADN polymérase ~	~ signifie « variable »
HBs - HBe - Anti-HBe + Anti-HBc + (IgM) Anti-HBs -	Infection récente C'est la « fenêtre » : l'antigène HBs a disparu ; l'anticorps correspondant n'est pas encore présent		
HBs - HBe - Anti-HBe - Anti-HBc + (IgG) Anti-HBs + ADN -	Phase post-infectieuse Hépatite guérie ; les anticorps anti-HBs signifient la guérison et l'immunité		

## 2. Hépatite persistante

Le passage à la persistance est marqué par le maintien de HBs au-delà de six mois sans apparition des anticorps correspondants : l'anti-HBc est présent ; HBe et ADN polymérase sont fluctuants (tableau 17.1).

De plus en plus souvent, le laboratoire de virologie est amené à détecter l'ADN viral par PCR qualitative puis à quantifier (en cas de positivité) l'ADN viral par PCR avec standard interne ou par bDNA (ADN branché) ; dans certains cas, l'antigène HBs n'est pas accompagné de l'antigène HBe et l'on pourrait en conclure que la

réplication n'est pas complète ; en fait, il peut s'agir d'une souche virale mutée dans la région du core (mutant pré-C) et la mise en évidence de l'ADN viral par PCR indique qu'il y a bien un cycle répliatif complet. La quantification de l'ADN du VHB est également un marqueur utile du suivi d'une chimiothérapie par interféron et lamivudine.

Les malades peuvent être asymptomatiques ou au contraire présenter des perturbations cliniques et/ou biologiques.

### a. Hépatite chronique persistante

Elle se traduit par un maintien à un niveau modéré des transaminases. La biopsie hépatique révèle une réaction inflammatoire sans modification architecturale et sans fibrose.

### b. Hépatite chronique active

L'inflammation est présente dans les zones portales et lobulaires ; elle est accompagnée d'une nécrose hépatocellulaire puis d'une fibrose faisant évoluer le malade vers la cirrhose.

En fait, si le portage HBs est accompagné au début de celui de HBe, on assiste régulièrement chez les malades à une séroconversion HBe → anticorps anti-HBe (disparition de l'antigène HBe et apparition de l'anticorps anti-HBe) ; cette conversion a été un moment considérée comme un événement systématiquement rassurant ; on sait maintenant que cette conversion n'est pas associée à la disparition virale mais à une diminution du niveau de la réplication virale ; des exacerbations sévères peuvent se produire aussi bien chez les sujets porteurs d'antigène HBe que chez ceux ayant réalisé une séroconversion anti-HBe ; le tableau est compliqué par le fait que des mutants pré-core peuvent être sélectionnés pendant la séroconversion et être associés à une réplication virale élevée après la conversion, ; on comprend que la quantification de l'ADN viral est devenue dès lors le meilleur marqueur de suivi de ces patients.

## 3. Hépatocarcinome

Le cancer primitif du foie est associé au portage chronique de VHB. On le trouve donc dans des zones géographiques où le portage est particulièrement important (10 à 15 % de la population au Sénégal ; 15 à 20 % à Taïwan). Les techniques diagnostiques issues de la biologie moléculaire permettent de mettre en évidence le génome viral intégré dans les chromosomes des hépatocytes.

On peut supposer que cette intégration activerait un gène cellulaire oncogène.

## D. Traitement et prévention

Après diagnostic du portage chronique (Ag HBs persistant depuis plus de 6 mois, IgM anti-HBc négatifs, étude du couple antigénique antigène HBe/anticorps anti-HBe, quantification de l'ADN viral), le bilan associera le dosage des transaminases (ASAT, ALAT), une éventuelle ponction biopsie du foie avec établissement du score METAVIR, le dosage des gamma-GT, des phosphatases alcalines, de la bilirubine, de l'alphafetoprotéine avec une échographie abdominale. On éliminera une co-infection par le VIH, le VHC et le VHD. Le traitement antiviral aura pour objectif principal de diminuer la charge en ADN viral au-dessous de 100 000 copies/mL pour l'hépatite chronique Ag HBe positif et en dessous de 10 000 pour l'hépatite chronique Ag HBe négatif avec une normalisation des transaminases, une séroconversion HBe si l'hépatite est associée à l'antigène HBe et si possible une séroconversion HBs (événement malheureusement beaucoup plus rare).

Les antiviraux utilisés sont l'interféron (IFN) alpha-2a ou IFN alpha-2b, l'IFN pégylé alpha-2a, la lamivudine, l'adéfovir dipivoxil, le ténofovir, l'entécavir, la telbuvudine. Les traitements antiviraux sont entrepris pour des durées de 24 à 72 semaines avec un suivi des paramètres viraux et biologiques ; il est important de noter que des mutants résistants aux molécules peuvent être sélectionnés ; ainsi, des mutants VHB au niveau du motif YMDD (tyrosine-méthionine-acide aspartique-acide aspartique) dans le domaine catalytique de la transcriptase inverse/ADN polymérase virale présentent une résistance à la lamivudine ; ces mutants sont fréquents puisque leur incidence d'apparition au cours d'une année de traitement par la lamivudine est de 15-32 % ; même avec cette mutation de résistance, les niveaux d'ADN viral et de transaminases tendent à être plus bas qu'avant la mise sous traitement car le virus résistant a une capacité répliquative diminuée ; cependant, l'émergence dans le génome viral d'une mutation concomitante rL180M restaure la compétence virale et obère l'efficacité de la lamivudine. La résistance à l'adéfovir dipivoxil est un événement beaucoup plus rare ; elle est associée à la mutation rN236T ; les mutants YMDD résistants à la lamivudine restent sensibles à l'adéfovir.

La prévention repose sur la vaccination avec de l'antigène HBs obtenu par recombinaison génétique ; le schéma vaccinal est de deux injections intramusculaires (dans le deltoïde pour les adultes et dans la cuisse pour les nourrissons) à un mois d'intervalle avec rappel six mois après la première injection. Si, dans l'idéal, le contrôle sérologique des anticorps anti-HBs est effectué, la protection est acquise pour des titres supérieurs à 10 UI/mL. En France, cette vaccination concerne obligatoirement les personnels de santé ; elle est proposée aux enfants scolarisés ; malgré une polémique, aucune donnée sérieuse et définitive ne permet de relier la vaccination contre le VHB au développement d'une sclérose en plaques. Des échecs de la vaccination anti-VHB sont décrits chez les personnes âgées, les patients immunodéprimés notamment infectés par le VIH, les patients atteints de défaillance rénale chronique. Des infections VHB ont pu survenir après vaccination et sont liées à la circulation de virus mutés au niveau d'épitopes HBs qui échappent aux anticorps neutralisants vaccinaux et qui peuvent d'ailleurs échapper aux tests de détection de l'antigène HBs ; ce problème émergent est maintenant identifié et fait l'objet d'efforts de surveillance. Dans les zones de haute prévalence (Afrique, Chine, Asie du Sud-Est) la vaccination (couplée à l'injection d'immunoglobulines) des enfants naissant de mères atteintes d'une hépatite B chronique devrait permettre à terme d'éviter la transmission périnatale et le portage chronique ultérieur.

## IV. VIRUS DE L'HÉPATITE D (VHD, HDV, AGENT DELTA)

Il s'agit d'un virus défectif dont la répliquaison est conditionnée par la présence de VHB. Ce virus est constitué d'un ARN, d'une capsid (antigène Delta) et d'une enveloppe qui est empruntée à VHB et qui n'est autre que HBs. La co-infection simultanée VHB-agent Delta pourrait être à l'origine d'hépatites fulminantes. L'infection de malades porteurs chroniques de VHB par l'agent Delta entraînerait une poussée d'hépatite. On note une forte prévalence chez les drogués et les polytransfusés. La distribution géographique de l'agent Delta est irrégulière : en Europe, c'est en Italie du Sud que sa prévalence est la plus forte. L'antigène Delta peut être détecté dans le foie par immunofluorescence notamment au niveau du noyau des hépatocytes. Cet antigène peut être également détecté transitoirement dans le sérum par RIA ou ELISA. En pratique, pour affirmer le diagnostic, ce sont les IgM anti-Delta que l'on cherche à mettre en évidence par RIA ou ELISA.

## V. VIRUS DE L'HÉPATITE C (VHC, HCV)

On savait depuis longtemps qu'outre VHA et VHB, il existait d'autres virus des hépatites que l'on appelait alors non A non B ; parmi ces virus non A non B, l'un avait manifestement un type de transmission entérique (cf. Virus de l'hépatite E) et l'autre un type épidémiologique proche de VHB (voies sanguine et sexuelle) ; ce dernier virus est maintenant identifié comme étant le virus de l'hépatite C.

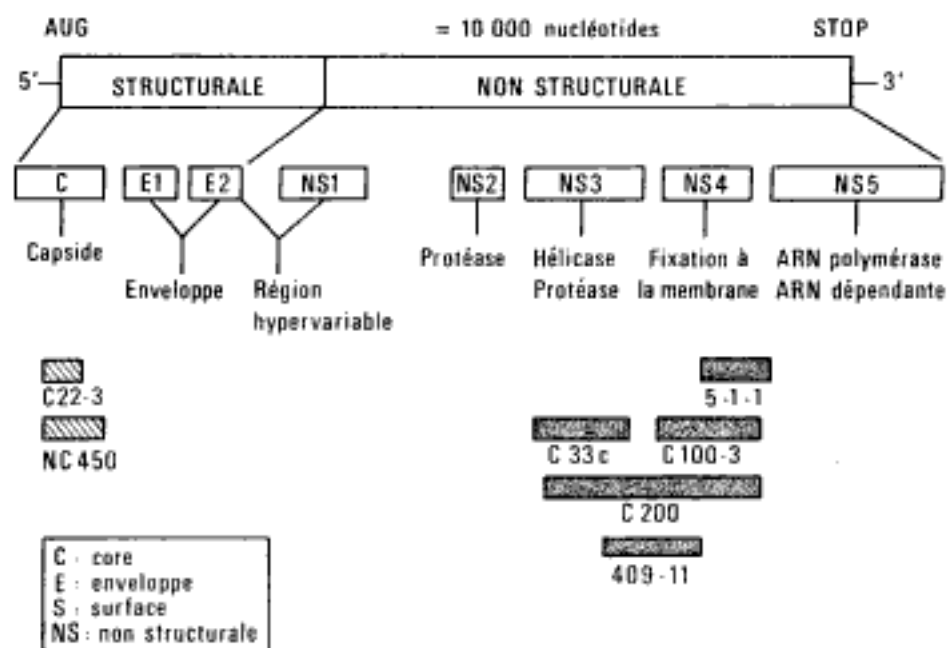
### A. Circonstances de la mise en évidence

Elles méritent d'être rappelées car elles fournissent les preuves de la grande utilité de techniques de biologie moléculaire appliquées à la découverte d'un agent infectieux. Un agent viral était suspecté chez les patients présentant une hépatite post-transfusionnelle sans marqueur VHB ; aucune particule virale n'était cependant observable en microscopie électronique dans le plasma de ces patients. L'un de ces plasmas, injecté à un chimpanzé, allait entraîner chez cet animal une hépatite expérimentale ; les acides nucléiques présents dans le plasma de ce chimpanzé étaient alors extraits et purifiés ; les ARN étaient transcrits en ADNc grâce à une transcriptase inverse puis l'ensemble des ADN était cloné dans *E. coli*. Les produits antigéniques des clones étaient alors systématiquement testés avec des sérums de malades et de l'animal infecté jusqu'à l'obtention de clones réactifs (les premiers furent appelés 5-1-1 et C 100-3). Depuis, le génome viral a été cloné et séquencé dans sa totalité avant même que les particules virales soient visualisées (en 1996).

### B. Structure virale

L'acide nucléique viral est un ARN simple brin de polarité positive et d'environ 10 000 nucléotides possédant des gènes structuraux (C, protéine de core ; E, glycoprotéines d'enveloppe) et des gènes non structuraux (NS1 à NS5) (fig. 17.4).

► Fig. 17.4. Génome du VHC. ►



Ce virus est classé dans *Flaviviridae* et il est donc enveloppé avec une taille de 50 à 60 nm.

Des analyses moléculaires fines, notamment de la région 5' non codante (5' NC) et de la région NS5, ont montré qu'il existait 6 différents géotypes de VHC avec une répartition géographique qui varie d'un continent à l'autre.

## C. Épidémiologie

La répartition géographique n'est pas encore aussi bien connue que pour VHB. Le virus semble cependant être présent partout dans le monde avec une prévalence suivant les grands caractères de celle de VHB (plus forte par exemple en Afrique qu'en Europe et aux États-Unis où elle est évaluée à environ 1 %). Le virus est transmis par le sang (transfusion, toxicomanie intraveineuse), tatouages, mésothérapie, acupuncture, sclérose de varices dans des conditions d'hygiène défectueuses. Des inconnues existent quant à la possibilité de transmission par d'autres voies. La transmission sexuelle existerait mais de façon relativement peu efficace ; la transmission maternofoetale a été observée même si elle est faible (inférieure à 5 % lorsque la mère est virémique) ; par contre, la transmission de VHC au nouveau né (qui a lieu probablement au moment de l'accouchement) est significativement augmentée lorsqu'il y a une co-infection VIH-VHC.

La détection systématique des anticorps dirigés contre VHC telle qu'elle est pratiquée dans les centres de transfusion en France permet de réduire considérablement la transmission par transfusion ; le traitement par détergents de certaines fractions (facteur VIII) détruit le pouvoir infectieux viral.

## D. Aspects physiopathologiques

VHC se multiplie dans le foie et est libéré dans le sang. Les cellules mononucléées du sang sont également la cible du virus. L'aspect clinique d'une hépatite C aiguë est proche de celui des autres hépatites ; les formes asymptomatiques sont cependant très fréquentes et ne peuvent être associées qu'à une élévation des transaminases.

La caractéristique majeure d'une hépatite C est la fréquence élevée de passage à la chronicité ; cette fréquence dépasse 60 % dans les cas de contamination transfusionnelle. Enfin VHC semble associé à la cirrhose et au cancer primitif du foie.

## E. Diagnostic et suivi virologique

Le diagnostic de routine a reposé dans un premier temps sur la détection d'anticorps dirigés contre C 100-3 en ELISA ; cependant, la séroconversion pouvait alors apparaître relativement tardivement par rapport à l'épisode aigu ; la spécificité de ces anticorps était vérifiée par un test de confirmation portant le nom de RIBA et incluant les protéines C 100-3 et 5-1-1.

Les tests ELISA de troisième génération contiennent des antigènes recombinants du core (C 22-3), de NS3-NS4 (C 200 ; chimère C 33c-C 100-3) et parfois de NS5. Les tests de confirmation de troisième génération (dont le RIBA) contiennent les peptides et/ou les protéines recombinants 5-1-1/C 100-3, C 22, C 33c, NS5.

En France, on utilise un test ELISA pour la détection des anticorps dirigés contre le VHC ; en cas de positivité, un deuxième test ELISA d'origine commerciale différente doit être pratiqué.

Devant une séropositivité pour le VHC, il va falloir déterminer s'il s'agit d'une infection guérie sans synthèse virale ou s'il s'agit (hypothèse la plus probable) d'une infection chronique avec réplication virale. On pratique alors une détection de l'ARN du VHC dans le sérum avec une PCR qualitative réalisée dans la région 5' non codante ; le seuil de sensibilité le plus bas est actuellement de l'ordre de 100 copies d'ARN viral par mL de sérum ; cette détection est partiellement automatisable.

Le recours à cet examen est nécessaire dans certains cas de séronégativité si l'on soupçonne une primo-infection (réplication virale avant la séroconversion), si l'on considère un patient immunodéprimé ou un enfant né d'une mère infectée.

Dans le bilan préthérapeutique, on va quantifier l'ARN viral dans le sérum avec des tests commerciaux faisant appel à la PCR avec standard interne ou au bDNA. Cependant, ces techniques ont des performances et des seuils différents ce qui a entraîné la définition d'un standard international exprimé en unités internationales (UI) par mL ; dès lors, les résultats des tests quantitatifs sont exprimés en UI/mL.

Il est également nécessaire de déterminer le génotype du VHC ; on sait en effet que certains génotypes (en particulier le génotype 1) sont moins sensibles aux traitements antiviraux standards ; dans les laboratoires expérimentés, une des options est de séquencer les produits d'amplification de la région 5' non codante ; il existe également un test commercial faisant appel au séquençage de la région NS5B ; on peut utiliser des tests d'hybridation sur nitrocellulose ou sur microplaque dans lesquels des sondes spécifiques des différents génotypes captent, selon qu'elles rencontrent ou pas les séquences complémentaires, des fragments de l'acide nucléique VHC préalablement amplifié : ces tests sont cependant moins précis que les études de séquence.

## F. Traitement

Chez un patient découvert positif pour les anticorps anti-VHC, avec une PCR ARN positive indiquant qu'il est infecté chronique, la charge virale est déterminée ainsi que le génotype viral. Un bilan hépatique (ASAT, ALAT, gamma GT, échographie abdominale) est réalisé ainsi qu'une ponction biopsie hépatique (PBH) ou un FibroScan. Chez les patients atteints d'hépatite chronique minime (score METAVIR F0 ou F1) sans facteur aggravant (consommation d'alcool ou de drogue), une surveillance sans traitement peut être instaurée. Lorsque la décision ne dépend pas de l'histologie et que le but est l'éradication virale, il est alors possible de traiter sans PBH en évaluant la fibrose par FibroScan devant une infection par génotype 2 ou 3, une femme ayant un projet de grossesse, une co-infection VIH-VHC lorsque la priorité est donnée au traitement de l'hépatite C.

Le traitement associe IFN PEG alpha-2a (180 µm/semaine) + ribavirine (800 à 1 200 mg/j) ou IFN PEG alpha-2b (1,5 µm/kg/semaine) + ribavirine (800 à 1 200 mg/j). La durée du traitement dépend du génotype viral : pour les génotypes 2, 3 et 5, le traitement recommandé est de 24 semaines ; pour les génotypes 1, 4 et 6 la durée de traitement dépend de la réponse virologique à la 12<sup>e</sup> semaine ; si celle-ci est supérieure ou égale à 2 log de la charge virale, le traitement est prolongé jusqu'à 48 semaines au total. Les facteurs prédictifs de bonne réponse sont une charge virale faible, une fibrose peu sévère et surtout une appartenance de la souche virale au génotype 2 ou 3. Dans ce dernier cas, le taux de guérison avec négativation de la charge virale VHC atteint 80 %.

Les non-répondeurs à un des traitements précédents peuvent avoir une vraie résistance thérapeutique ; se pose alors la question d'une monothérapie au long cours avec l'IFN PEG ; si, au contraire, on a la notion d'un traitement antérieur qui ne correspond pas à l'état de l'art actuel, on peut alors initier un traitement selon les recommandations actuellement en vigueur.

En cas de contre-indication à la ribavirine, on utilise une monothérapie par IFN PEG. Chez le patient co-infecté VIH-VHC, l'immunodépression accélère l'évolution des lésions hépatiques liées à VHC et la survenue des complications que sont la cirrhose et le carcinome hépatocellulaire est plus précoce ; il est donc recommandé de traiter l'infection VHC par IFN PEG alpha-2a + ribavirine en sachant que l'association avec AZT, d4T et ddI est contre-indiquée et que le taux de réponse au traitement est inférieur, quel que soit le génotype viral, aux taux observés chez les patients VIH négatifs.

En dehors de la période thérapeutique, la grossesse n'est pas contre-indiquée chez une femme présentant une hépatite C chronique ; l'accouchement par voie basse et l'allaitement sont possibles. Si l'enfant est infecté, le diagnostic est porté dans les semaines suivant la naissance par détection de l'ARN viral par PCR dans le plasma du nouveau-né ; une surveillance de l'enfant est mise en route en sachant que l'évolution de l'hépatite C y est généralement bénigne.

## VI. VIRUS DE L'HÉPATITE E (VHE, HEV)

Responsable d'épidémies à transmission orofécale en Asie (Inde, Bangladesh) en Afrique et en Amérique du Sud, le virus de l'hépatite E a été transmis au singe en 1983 et caractérisé en 1990.

Il s'agit d'un virus de 34 nm proche des *Caliciviridae*, possédant un ARN (+) monocaténaire de 7 600 nucléotides dans une capsidie icosaédrique en forme d'étoile. Il entraîne une hépatite aiguë chez le singe mais n'est pas cultivable en cultures cellulaires.

Entrant chez l'homme par voie digestive, il entraîne une hépatite aiguë en 2 à 10 semaines ; cette hépatite peut être particulièrement grave chez la femme enceinte.

Le diagnostic direct peut être réalisé à partir de selles par immunomicroscopie électronique et, depuis peu, par mise en évidence de l'ARN viral à l'aide d'une PCR.

Les cas de transmission du virus en France ont augmenté depuis quelques années et il ne faut plus exclure systématiquement l'hépatite E chez un patient ne s'étant pas déplacé dans une zone d'endémie.

## VII. VIRUS DE L'HÉPATITE G (VHG, HGV)

En 1995, plusieurs flavivirus différents de VHC et associés à une hépatite parentérale ont été mis en évidence : il s'agit de GBV-A, GBV-B et GBV-C ; ce dernier virus a été découvert par une autre équipe et baptisé virus de l'hépatite G (VHG). Ces flavivirus possèdent un ARN génomique d'un peu moins de 9 500 nucléotides qui code des séquences peptidiques d'environ 2 900 aa. L'analyse des séquences génomiques montre que ces virus sont éloignés de VHC ; la comparaison de la région NS3 de GBV-C et VHG révèle une identité de 85 % pour les nucléotides et de 90 % pour les peptides ce qui confirme qu'il s'agit d'un seul et même virus.

VHG serait responsable de 0,4 % des hépatites virales aiguës aux États-Unis, de 1,4 % des hépatites non A non B et de 18 % des hépatites non A-E.

La transmission parentérale serait prédominante ; la présentation clinique ressemble à celle de VHC ; une hépatite chronique est possible mais elle semble peu sévère. Le diagnostic virologique repose actuellement sur la détection de l'ARN VHG sérique ou plasmatique par RT-PCR.

① **Points clés**

Les principales hépatites virales sont liées aux virus A, B, et C. Les virus B et C posent le problème de leur passage à la chronicité. Les traitements des hépatites chroniques B et C ont progressé et de nouvelles molécules devraient apparaître dans les prochaines années.

# Arbovirus : généralités

# 18

I. DÉFINITION ET HISTORIQUE  
II. CLASSIFICATION SIMPLIFIÉE

III. PATHOLOGIE GÉNÉRALE CHEZ L'HOMME  
IV. DIAGNOSTIC VIROLOGIQUE GÉNÉRAL

## Items

Item 102. Pathologie infectieuse chez les migrants.

Item 107. Voyage en pays tropical : conseils avant le départ, pathologies du retour : fièvre, diarrhée.

## I. DÉFINITION ET HISTORIQUE

L'appellation arbovirus est une appellation écologique qui dérive de la terminologie anglo-saxonne : *Arthropod Borne Virus*. Ce sont des virus des vertébrés transmis par des arthropodes hématophages (moustiques, tiques, phlébotomes) chez qui ils se multiplient avant la transmission. Le cycle de maintien fait donc intervenir un vertébré réservoir et un arthropode. Chacun de ces arthropodes ayant une écologie bien déterminée conditionnera l'épidémiologie du virus correspondant. Certains arbovirus peuvent concerner l'homme et induire des pathologies, les arboviroses, que l'on trouve surtout dans les régions tropicales.

C'est à la fin du siècle dernier que Carlos Finlay à La Havane associa la transmission de la fièvre jaune chez l'homme à la piqûre de moustique ; ceci fut confirmé par une commission d'étude nord-américaine dirigée par Walter Reed. Le virus de la fièvre jaune fut isolé en Amérique en 1927 et en Afrique en 1928. Dès lors, d'autres arbovirus furent rapidement mis en évidence surtout à partir des années cinquante grâce aux progrès des techniques d'isolement, d'extraction antigénique et d'identification développées notamment par Casals à Yale aux États-Unis.

Une vaccination efficace contre la fièvre jaune apparaissait aux États-Unis en 1930 (Theiler) et en Afrique à Dakar en 1932 (Mathis et Laigret).

## II. CLASSIFICATION SIMPLIFIÉE

Les arbovirus appartiennent à des familles virologiques différentes (tableau 18.I). Il est important de noter qu'à l'intérieur de ces familles virales, certains virus ne sont pas des arbovirus ; par exemple, chez les *Flaviviridae*, le virus de la rubéole (genre *rubivirus*) n'est pas un arbovirus ; de même, chez les *Bunyaviridae*, le virus Hantaan (genre *hantavirus* ; se reporter au chapitre 20 sur les virus des fièvres hémorragiques).

CONNAISSANCES – II. VIROLOGIE SYSTÉMATIQUE

**Tableau 18.I.** Classification simplifiée des arbovirus.

<i>Togaviridae</i>	<i>Flaviviridae</i>	<i>Bunyaviridae</i>	<i>Reoviridae</i>	<i>Rhabdoviridae</i>
<b>Alphavirus*</b>	<b>Flavivirus**</b>		<b>Orbivirus</b>	<b>Vésiculovirus</b>
Chikungunya WEE ( <i>Western equine encephalitis</i> ) EEE ( <i>Eastern equine encephalitis</i> ) O'Nyong Nyong	Fièvre jaune (Amaril) Dengue (types 1, 2, 3, 4) West Nile Wesselsbron Zika Bouboui Kedougou Koutango	Bunyavirus Bunyamwera California Tahyna Bwamba Nairovirus Virus de Crimée-Congo Phlebovirus	<i>Blue Tongue</i> (fièvre catarrhale ovine)	Stomatite vésiculeuse
	Encéphalite de Saint-Louis Encéphalite japonaise Encéphalite de Murray Valley Encéphalites à tiques Verno-estivale russe Europe centrale Maladie de la forêt de Kyasanur	Fièvre à phlébotomes Fièvre de la vallée du Rift		

\* Anciens arbovirus du groupe A.

\*\* Anciens arbovirus du groupe B.

### III. PATHOLOGIE GÉNÉRALE CHEZ L'HOMME

Chez l'homme, les arbovirus peuvent être responsables :

- d'infections inapparentes ;
- d'états fébriles pseudogrippaux avec début brutal, fièvre, céphalées, myalgies, arthralgies, parfois une éruption morbilliforme ;
- de fièvres hémorragiques (fièvre jaune et dengue par exemple) ;
- d'atteintes du système nerveux central (encéphalite japonaise, encéphalite de Saint-Louis, encéphalites à tiques, encéphalite de Californie, West Nile...).

### IV. DIAGNOSTIC VIROLOGIQUE GÉNÉRAL

#### A. Isolement viral

L'isolement viral s'effectue à partir de l'homme malade, du vecteur et/ou du vertébré réservoir. Chez l'homme, on utilise le sang dans les cinq premiers jours de la maladie ; le prélèvement est inoculé sous un volume de 0,02 mL à des souriceaux nouveau-nés par voie intracérébrale. On surveille alors l'apparition d'une paralysie du train postérieur chez les animaux et on prélève le cerveau pour préparation de l'antigène viral après extraction au saccharose-acétone. La plupart des arbovirus ayant une activité hémagglutinante sur les hématies

d'oiseau, on teste l'éventuel antigène viral extrait pour son activité HA sur des hématies d'oie à différents pH et différentes températures. Le virus est ensuite identifié par IHA à l'aide d'une batterie d'antisérums.

On peut également cultiver des arbovirus sur des cellules en lignée continue comme les Vero, les PS-2 (rein de porc), les cellules de moustique (*Aedes albopictus*). Parfois, on est amené à faire un enrichissement sur moustiques inoculés par voie intrathoracique avant un passage ultérieur sur souriceau nouveau-né par voie intracérébrale : on utilise alors des moustiques non piqueurs (*Aedes* mâles ou *Toxorhynchites amboinensis*).

Les techniques moléculaires se développent notamment au niveau de la PCR et sont applicables en routine dans des laboratoires spécialisés pour fièvre jaune, dengue, chikungunya, West Nile, encéphalite à tiques, etc.

## B. Étude sérologique

Classiquement, on recherche les anticorps déviant le complément, inhibant l'hémagglutination et neutralisants. Les anticorps déviant le complément, de courte durée, sont intéressants pour apprécier l'incidence virale cependant que les deux autres techniques s'adressent à des anticorps de longue durée et peuvent, par exemple, être utilisées pour des études de prévalence.

D'autres techniques ont été appliquées à la mise en évidence d'anticorps contre les arbovirus : inhibition des foyers fluorescents en cultures cellulaires, ELISA (détection des IgM antiarbovirales en immunocapture).

En zone d'endémie, les réactions sérologiques sont souvent difficiles à interpréter du fait des relations antigéniques croisées qui existent notamment entre les flavivirus.

## V. PRINCIPAUX ARBOVIRUS EN FRANCE

Même si cela ne représente pas un réel problème de santé publique en France, il existe des arbovirus identifiés qui peuvent, sporadiquement, être responsables d'arboviroses chez l'homme (tableau 18.II).

**Tableau 18.II.** Les arboviroses en France.

Virus	Cycle	Localisation	Pathologie humaine	Remarques
West Nile (Flavivirus)	Oiseaux sauvages  Moustique ( <i>Culex</i> )	Camargue	Fièvre Éruption morbilliforme Méningite lymphocytaire aiguë	Le cheval peut être contaminé et développe un méningomyélite (Lourdige) Le virus est réintroduit par les migrations aviaires
Encéphalite à tique (Flavivirus)	Rongeurs (mulots) Tique ( <i>Ixodes ricinus</i> )	Alsace	Encéphalite	
Tahyna (Bunyavirus)	Lapin Moustique ( <i>Aedes</i> )	Alsace, Camargue	Atteinte du SNC	

CONNAISSANCES – II. VIROLOGIE SYSTÉMATIQUE

Le virus West Nile mérite quelques commentaires ; le réservoir est représenté par des oiseaux sauvages et le vecteur est le moustique ; chez l'homme, West Nile induit une fièvre, une éruption morbilliforme et une atteinte du système nerveux central, méningite lymphocytaire voire encéphalite. Ce virus est fréquemment rencontré en Afrique subsaharienne ; récemment, des épidémies ont été observées en Europe (Roumanie, Russie) qui sont vraisemblablement liées à l'arrivée dans ces zones d'oiseaux migrateurs infectés en provenance d'Afrique. En août 1999, l'infection a été identifiée pour la première fois dans la ville de New York ; 62 cas humains ont été notifiés avec 7 décès. En France, des cas humains sont régulièrement observés chez des patients ayant séjourné en Camargue. Des données plus précises sur le virus West Nile sont présentées dans le chapitre consacré aux virus émergents.

① **Points clés**

Très grande famille de virus, l'appellation écologique « arbovirus » correspond à des virus de vertébrés transmissibles à l'homme *via* des insectes vecteurs qui multiplient également les virus. Parmi les arbovirus, on peut citer des virus qui préoccupent la santé publique au niveau mondial : fièvre jaune, dengue, West Nile, Chikungunya.

# Virus de la fièvre jaune

# 19

- |                                     |   |
|-------------------------------------|---|
| I. PRINCIPAUX ARBOVIRUS EN FRANCE   | V. GRANDES ZONES GÉOGRAPHIQUES DE LA FIÈVRE JAUNE |
| II. DÉFINITION DE LA FIÈVRE JAUNE   | VI. PHYSIOPATHOLOGIE ET CLINIQUE                  |
| III. VIRUS                          | VII. DIAGNOSTIC DE LABORATOIRE                    |
| IV. ÉPIDÉMIOLOGIE (MODÈLE AFRICAIN) | VIII. PRÉVENTION                                  |

## Items

Item 83. Hépatites virales. Anomalies biologiques hépatiques chez un sujet asymptomatique.  
 Item 102. Pathologie infectieuse chez les migrants.  
 Item 107. Voyage en pays tropical : conseils avant le départ, pathologies du retour : fièvre, diarrhée.

## I. DÉFINITION DE LA FIÈVRE JAUNE

C'est une maladie endémo-épidémique de l'homme liée à un flavivirus. Le cycle de maintien de l'arbovirus responsable associe, dans un foyer forestier, les singes et certaines espèces de moustiques. Chez l'homme, la maladie est caractérisée par une hépatonéphrite pouvant évoluer vers un syndrome hémorragique.

## II. VIRUS

C'est le chef de file des flavivirus à l'intérieur de la famille des *Flaviviridae*. Il est également appelé amaril.

Il s'agit d'un petit virus de 40 nm de diamètre avec un ARN monocaténaire positif dans une capsidie icosaédrique entourée d'une enveloppe porteuse de spicules HA. Cette HA est active sur les hématies d'oiseaux. Le virus est sensible aux solvants des graisses (éther, désoxycholate de sodium). Il peut être conservé à  $-80^{\circ}\text{C}$  et peut être lyophilisé.

Il est pathogène par voie intracérébrale chez le souriceau nouveau-né chez lequel il induit une paralysie du train postérieur en environ une semaine. Il est cultivable sur cellules Vero, PS-2 et *Aedes albopictus*.

Sur le plan antigénique, on considère qu'il existe un type antigénique de virus amaril mais on note de fines différences entre souches africaines et américaines. De nombreuses réactions croisées entre le virus amaril et les autres flavivirus compliquent l'interprétation des études sérologiques qui sont réalisables en déviation du complément, IHA et neutralisation.

### III. ÉPIDÉMIOLOGIE (MODÈLE AFRICAIN)

Nous présenterons le modèle épidémiologique d'Afrique de l'Ouest.

Le virus va se maintenir en forêt humide par un cycle sylvatique singe-*Aedes africanus*. L'homme peut être contaminé dans le cycle sylvatique par exemple lors d'une activité forestière (abattage d'arbres). La maladie correspondante, ou fièvre jaune de jungle, n'a pas la gravité de la fièvre jaune en zone urbaine.

Dans le secteur préforestier, ou zone d'émergence, les moustiques circulent activement à la saison des pluies ; il s'agit de moustiques plus anthropophiles qu'*Aedes africanus* : *Aedes luteocephalus*, *Aedes furcifer-taylori*, *Aedes vittatus*. Susceptibles de s'infecter au contact du foyer forestier ils peuvent ensuite contaminer l'homme. Un homme en incubation de fièvre jaune peut quitter la zone d'émergence et gagner une ville où *Aedes aegypti*, moustique anthropophile, va véhiculer rapidement le virus amaril d'homme à homme et entraîner des épidémies de fièvre jaune urbaine particulièrement meurtrières. Historiquement d'ailleurs, la fièvre jaune urbaine avec transmission homme-moustique-homme fut la seule connue (exemple de La Havane) jusqu'à la mise en évidence du cycle sylvatique.

Un élément intéressant concerne la zone d'émergence ; en effet, dans le foyer forestier proche, les singes africains sont bientôt tous immunisés contre la fièvre jaune et le foyer s'éloigne dans la forêt pour ne revenir que quelques années plus tard lorsque de jeunes animaux non immuns seront nés. Dans ce cas, on ne devrait plus noter de circulation de virus amaril lors de la saison des pluies dans la zone d'émergence puisque le « ravitaillement » dans le foyer forestier contigu n'est plus possible. Cependant, une faible circulation peut être enregistrée ; ceci s'explique par la transmission transovarienne du virus amaril chez le moustique. On peut donc maintenant considérer que le réservoir vrai du virus amaril est le moustique, le singe jouant un rôle majeur d'amplification.

### IV. GRANDES ZONES GÉOGRAPHIQUES DE LA FIÈVRE JAUNE

La fièvre jaune est présente :

- en Afrique avec pour latitude nord la frontière nord du Sénégal et pour latitude sud la frontière sud de la République Démocratique du Congo (RDC, ex-Zaïre) ;
- en Amérique du Sud (Venezuela, Colombie, Guyane, Guyana, Surinam, Brésil) et certaines îles de la Caraïbe.

Il n'y a pas de fièvre jaune en Asie alors que les conditions écologiques y sont réunies ; on a longtemps attribué cette situation à l'exclusion du virus amaril par le virus de la dengue (celui-ci étant très prévalent notamment en Asie du Sud-Est) ; on sait maintenant que cette explication n'est pas valable puisque l'on connaît des zones (par exemple, la Guyane) où circulent à la fois virus amaril et virus de la dengue.

### V. PHYSIOPATHOLOGIE ET CLINIQUE

Le moustique est porteur chronique du virus amaril ; parmi les sites de réplication, on trouve les glandes salivaires. C'est ainsi que lors d'une piqûre par un insecte infecté, le virus va passer dans le sang humain, se multiplier dans les

ganglions de voisinage puis repasser dans le sang lors d'une virémie secondaire qui existe 2 à 3 jours avant les prodromes et 4 à 5 jours après ; le virus va atteindre ensuite le foie, la rate et les reins.

L'incubation de la maladie est de 3 à 6 jours. L'invasion est pseudogrippale puis on décrit trois phases :

- la phase rouge avec congestion de la face et yeux injectés ;
- la phase dite de rémission (ou « mieux de la mort ») avec diminution de la fièvre et des signes généraux ;
- la phase jaune avec réascension de la température, ictère parfois accompagné de signes d'hémorragie cutanéomuqueux, de vomissements noirâtres (*vomito negro* : hématemèse) ; les urines sont rares, très colorées, albuminuriques. La mort peut survenir entre le sixième et le dixième jour.

Des formes cliniques pseudogrippales, anuriques ou ictériques pures ont été décrites. Le diagnostic différentiel en zone d'endémie peut se poser avec :

- les hépatites virales ;
- le paludisme ;
- des viroses hémorragiques liées à des arbovirus (dengue, chikungunya) ou à d'autres virus (fièvre de Lassa, Ebola, Marburg).

## VI. DIAGNOSTIC DE LABORATOIRE

### A. Diagnostic virologique

Il peut être porté chez le vecteur, le singe et bien sûr l'homme.

Chez le vecteur, on pratique des captures puis une inoculation de broyats de moustiques au souriceau nouveau-né par voie intracérébrale. Le diagnostic de la fièvre jaune chez le singe fait appel aux mêmes méthodes que pour l'homme. Chez l'homme, on cherche à isoler le virus du sang (dans les cinq premiers jours) par inoculation intracérébrale au souriceau nouveau-né. Un antigène saccharose-acétone extrait des cerveaux d'animaux infectés présentant une paralysie du train postérieur, est testé en HA vis-à-vis d'hématies d'oie à différents pH (6,2 ; 6,4 ; 6,8 ; 7,0) et différentes températures (4 °C, 25 °C, 37 °C). On pratique ensuite, dans les conditions idéales d'HA, une IHA avec un sérum anti-flavivirus puis un sérum anti-amaril.

Les laboratoires ayant l'expérience de la biologie moléculaire peuvent faire appel à la PCR pour la détection de l'information génomique du virus de la fièvre jaune dans le sang au cours de la période de virémie des premiers jours.

L'étude sérologique fait appel à la détection des anticorps en déviation du complément, IHA et neutralisation sur deux sérums à dix jours d'intervalle. L'interprétation est souvent rendue difficile par l'existence de réactions croisées à l'intérieur des flavivirus. Plus récemment, certaines équipes ont pu détecter des IgM anti-amarile dans les 8 premiers jours de l'évolution en utilisant des techniques d'immunocapture ELISA.

### B. Diagnostic histopathologique

En zone d'endémie, il faut assurer l'analyse histopathologique du foie de tout sujet décédé de façon suspecte. Un fragment de foie est prélevé au viscérotome, ou à l'aiguille, fixé au formol salé puis coloré (Soudan III ou hémalum-

éosine). Les anomalies recherchées sont : nécrose médiolobulaire, distorsion trabéculaire, stéatose microvacuolaire et présence de corps de Councilman (fusion d'hépatocytes avec noyaux pycnotiques).

## VII. PRÉVENTION

Il n'y a pas de traitement curatif. Aussi la lutte contre la fièvre jaune repose-t-elle sur la prévention. Il existe un vaccin efficace qui n'est malheureusement pas généralisé dans les pays d'endémie pour des raisons de structures médicales insuffisantes et de difficultés économiques.

Comme il est illusoire de penser pouvoir éliminer le foyer de maintien forestier du virus, la conduite à tenir en pays d'endémie est l'appréciation d'index de risques épidémiques (nombre de larves et nymphes de moustiques par habitant...) et, en cas d'épidémie déclarée, une démostification intensive associée à une vaccination systématique des habitants.

Deux souches vaccinales sont décrites :

- le vaccin 17 D Rockefeller dérive de la souche américaine atténuée de Theiler. Il est préparé sur œuf de poule embryonné puis lyophilisé. Il est utilisé en une injection SC dans la fosse sus- ou sous-épineuse avec une immunisation reconnue dix jours après la primo-vaccination et valable pendant dix ans. C'est le vaccin qui est maintenant utilisé par les autorités sanitaires internationales ;
- le vaccin de l'Institut Pasteur de Dakar, préparé sur cerveau de souriceau nouveau-né et utilisé par scarification au niveau du deltoïde. Ce vaccin n'est plus utilisé actuellement.

Le règlement sanitaire international exige :

- la déclaration des cas de fièvre jaune à l'OMS ;
- la vaccination des personnes allant dans les zones d'endémie et/ou en provenant ; cette vaccination doit être effectuée et certifiée dans un centre agréé par le ministère de la Santé ;
- la démostification des bateaux et des avions.

### Note

Deux cent mille cas de fièvre jaune sont notifiés annuellement dans le monde avec trente milles décès ; ces chiffres sont au-dessous de la réalité car il existe une sous-déclaration. Fin 2008, des cas de fièvre jaune ont été déclarés au Burkina Faso et en République centrafricaine.

### ① Points clés

Le virus de la fièvre jaune a pour réservoir le singe et est transmis à l'homme par piqûre de moustique. ; la fièvre jaune sévit en Afrique et en Amérique du Sud.

# Virus des fièvres hémorragiques

20

- |                                     |   |
|-------------------------------------|---|
| I. CHIKUNGUNYA                      | VI. FIÈVRE HÉMORRAGIQUE DE CRIMÉE-CONGO           |
| II. FIÈVRE JAUNE                    | VII. FIÈVRE DE LA VALLÉE DU RIFT                  |
| III. DENGUE                         | VIII. <i>ARENAVIRIDAE</i>                         |
| IV. MALADIE DE LA FORÊT DE KYASANUR | IX. MARBURG ET EBOLA                              |
| V. FIÈVRE HÉMORRAGIQUE D'OMSK       | X. FIÈVRE HÉMORRAGIQUE AVEC SYNDROME RÉNAL (FHSR) |

**Item**

**Item 107. Voyage en pays tropical : conseils avant le départ, pathologies du retour : fièvre, diarrhée.**

Limitées jadis à quelques arboviroses (fièvre jaune, dengue), les fièvres hémorragiques ont connu un regain d'intérêt à la suite de l'isolement de nouveaux agents viraux comme Marburg, Ebola, Lassa et Hantaan. Les fièvres hémorragiques sont surtout présentes dans les zones tropicales d'Afrique, d'Asie et d'Amérique ; l'une d'entre elles (la fièvre hémorragique avec syndrome rénal liée au virus Hantaan) connaît une très large répartition et intéresse les pays tempérés. Les virus concernés appartiennent à des familles différentes (*Togaviridae*, *Flaviviridae*, *Arenaviridae*, *Bunyaviridae*, *Filoviridae*) ainsi qu'à un cadre écologique variable (tous ne sont pas des arbovirus).

Nous présenterons successivement un tableau récapitulatif de ces agents viraux (tableau 20.1) avant de rappeler, pour chacun d'entre eux, les principaux signes pathologiques associés (sans évoquer à chaque fois le syndrome hémorragique qui est implicite) ainsi que les grandes lignes de leur épidémiologie.

**Tableau 20.1.** Classification des virus responsables de fièvres hémorragiques.

Arbovirus			Autres virus		
<i>Togaviridae</i>	<i>Flaviviridae</i>	<i>Bunyaviridae</i>	<i>Arenaviridae</i>	<i>Filoviridae</i>	<i>Bunyaviridae</i>
<b>Alphavirus*</b>	<b>Flavivirus**</b>				
Chikungunya	Fièvre jaune Dengue Maladie de la forêt de Kyasanur Fièvre hémorragique d'Omsk	Fièvre hémorragique de Crimée-Congo (genre <i>Nairovirus</i> ) Fièvre de la vallée de Rift (genre <i>phlebovirus</i> )	Tacaribe, Junin, Machupo, Lassa, Guanarito, Sabia	Marburg Ebola	Fièvre hémorragique avec syndrome rénal (Hantaan)

\* Anciens arbovirus du groupe A.  
\*\* Anciens arbovirus du groupe B.

## I. CHIKUNGUNYA

Transmis par les moustiques du genre *Aedes*, ce virus est présent en Afrique et en Asie. Il entraîne des arthralgies accompagnées de fièvre et d'un rash. Une présentation plus détaillée en est faite dans le chapitre 27 sur les virus émergents.

## II. FIÈVRE JAUNE

Transmis à partir du singe par des moustiques du genre *Aedes* ou *Haemagogus*, il entraîne chez l'homme une hépatonéphrite à tendance hémorragique. On le rencontre en Afrique (latitude nord : frontière nord du Sénégal ; latitude sud : frontière sud de la République Démocratique du Congo [ex-Zaïre] et du Kenya) et en Amérique du Sud (Brésil, Guyane, Colombie, Venezuela), ainsi que dans les Caraïbes.

Le cycle épidémiologique est maintenant bien connu notamment dans le cas du modèle africain :

- le virus se maintient dans les forêts par un cycle sylvatique singe-*Aedes africanus* ;
- dans le secteur préforestier (zone d'émergence) les contacts homme-moustiques (*Aedes vittatus*, *Aedes furcifer-taylori*, *Aedes luteocephalus*) sont plus fréquents et le virus circulera pendant la saison des pluies.

À partir de la zone d'émergence, le virus est susceptible de gagner les villes pour induire la fièvre jaune urbaine où le virus passe d'homme à homme par l'intermédiaire d'*Aedes aegypti*.

On avait observé que, dans certaines zones d'émergence, le virus disparaissait en l'absence de vecteurs à la saison sèche pour réapparaître à la saison des pluies suivante sans apport viral extérieur (les singes de la forêt avoisinante étant tous immunisés) ; ce phénomène a reçu son explication par la mise en évidence de la transmission transovarienne du virus de la fièvre jaune.

## III. DENGUE

Il y a 4 types de virus de la dengue ; ce virus est proche de celui de la fièvre jaune. Le réservoir forestier du virus est le singe et la transmission est assurée par les moustiques ; en zone urbaine, le réservoir est humain et le moustique impliqué dans la transmission est *Aedes aegypti*. La dengue est observée dans de nombreuses parties du monde : Asie du Sud-Est, Inde, Afrique, Amérique du Sud et Amérique centrale, de nombreuses îles de l'Océanie et de la Caraïbe (en particulier Cuba).

L'OMS considère que, chaque année, 100 millions de personnes sont infectées, 500 000 sont hospitalisées et 20 000 meurent de la maladie.

Les principaux signes cliniques apparaissent après une incubation de 2 à 7 jours et associent des céphalées, des myalgies, un exanthème morbilliforme fugace et des vomissements ; dans certaines zones, particulièrement dans le Sud-Est asiatique (Thaïlande, Vietnam, Cambodge), une fièvre hémorragique peut être observée avec pétéchies, épistaxis, saignements intestinaux et finalement une défaillance cardiovasculaire. La convalescence est réputée pour être longue avec fatigue et bradycardie.

Hidden page

Hidden page

Hidden page

Hidden page

Des cas humains liés à Hantaan ou Puumala ont été décrits en Asie (Corée, Japon, Extrême-Orient soviétique), en Europe de l'Est (République tchèque, Slovaquie, Hongrie, Serbie, Monténégro, Bulgarie), en Scandinavie (Suède, Norvège, Finlande, Danemark), en Grèce et en France.

Cette infection touche surtout des sujets ayant une activité agricole et forestière. La forme asiatique de la maladie associe des céphalées, des nausées et vomissements avec une protéinurie, une hématurie et une insuffisance rénale.

La forme scandinave est moins sévère ; elle débute souvent par des troubles visuels (conjonctivite, myopie passagère) ou un œdème des paupières.

En 1993, quelques cas d'une atteinte pulmonaire avec un haut taux de mortalité furent décrits dans des états du sud-ouest des États-Unis ; des investigations moléculaires par PCR à partir de tissu pulmonaire indiquèrent la responsabilité d'un hantavirus (proche de *Prospect Hill Hantavirus*) qui fut ensuite cultivé dans des cellules Vero ; baptisé *Muerto Canyon Virus* puis *Sin nombre virus*, ce virus est transmis par les rongeurs et se multiplie, chez l'homme, dans les macrophages et les cellules endothéliales pulmonaires.

### Le point sur la FHSR en France

Cette infection a été confirmée pour la première fois en France en 1982. De 1982 à 1999, 800 cas ont été diagnostiqués. La plupart des cas diagnostiqués sont survenus par bouffées épidémiques tous les trois ans dans le quart Nord-Est de la France : Ardennes, Picardie, Franche-Comté et Lorraine en particulier la région de Nancy. Certains facteurs sont associés à la maladie comme les professions forestières et agricoles, la localisation de la résidence à proximité d'une forêt, les expositions en forêt, la fréquentation de locaux fermés (granges, remises, caves). Le réservoir de virus est *Clethrionomys glareolus* appelé communément campagnol roussâtre. Cet animal est de couleur rousse avec une longue queue ; il est relativement omnivore ; il existe un cycle annuel des populations de campagnols, le minimum d'effectif étant rencontré en fin d'hiver et début de printemps ; à ce cycle annuel se superpose un cycle pluriannuel tous les trois ou quatre ans ; ce cycle pourrait expliquer les bouffées épidémiques de la maladie qui sont observées tous les trois ans.

### ① Points clés

Les virus des fièvres hémorragiques ne sont pas exclusivement limités à la famille des arbovirus. On trouve notamment des filovirus dont le représentant le plus célèbre est le virus Ebola qui sévit en Afrique centrale et plus particulièrement en République Démocratique du Congo.



Hidden page

Hidden page

virus : le génotype 1 correspond au virus de la rage classique (véhiculé par des mammifères carnivores et des chiroptères), les génotypes 2 à 6 étant des virus apparentés à la rage véhiculés par des chauves-souris : Lagos bat (génotype 2), Duvenhage, EBL1, EBL2 (génotypes 3, 4 et 5) ; le génotype 6 (virus Mokola) a été mis en évidence chez des micromammifères en Afrique. Les souches vaccinales appartiennent toutes au génotype 1 et les anticorps correspondants sont protecteurs contre les isolats de type 1 (de loin les plus fréquents), partiellement contre les isolats des types 4, 5 et 6 et pas contre les types 2 et 3.

Le virus rabique se présente sous la forme d'un obus de  $180 \times 80$  nm ; le génome est un ARN (-) de  $4,5 \times 10^6$  Da dans une capsidie hélicoïdale, le tout étant enveloppé avec des spicules à activité hémagglutinante sur des hématies d'oie ou de poulet.

Il est très sensible à la chaleur, à la dessiccation, à l'éther, au désoxycholate de sodium, aux savons, aux ammoniums quaternaires. Il peut être conservé à  $-80$  °C ou par lyophilisation.

Le virus rabique se multiplie sur cerveau de lapin ou cerveau de souriceau après inoculation par voie intracérébrale. Historiquement, on a décrit chez le lapin le virus des rues, recueilli au hasard chez des chiens enragés et déterminant chez cet animal une encéphalomyélite mortelle après une incubation variable de 10 à 25 jours, et le virus fixe, issu d'un bovin, ayant subi de nombreux passages sur cerveau de lapin et ayant acquis les propriétés suivantes : incubation fixée chez le lapin à 6 jours, perte du pouvoir infectieux par voie SC. Chez le souriceau, le virus rabique entraîne une encéphalite en 5 à 20 jours.

On peut également isoler et cultiver le virus de la rage sur cellules comme les MRC5. Le virus se multiplie dans le cytoplasme en donnant des inclusions qui correspondent aux corps de Négri observés dans le SNC.

Enfin, certaines souches (Flury par exemple) ont été adaptées à l'œuf de poule embryonné et, après des passages en série, ont perdu leur virulence et sont utilisées, aux États-Unis, pour la vaccination des animaux.

## V. DIAGNOSTIC DE RAGE AU LABORATOIRE

Lorsqu'il est posé, il est déjà trop tard pour l'animal ou le patient directement concerné. Comme nous aurons l'occasion de le rappeler dans le chapitre suivant, le diagnostic de rage chez un chien suspect est d'abord clinique et il importe de capturer l'animal puis de le surveiller pendant 15 jours. Ce n'est que si des signes cliniques de rage se déclarent, que l'animal sera sacrifié et la tête adressée à un centre agréé (Paris, Lyon, Nancy, Strasbourg). Pour les autres animaux, ce sont le plus souvent des prélèvements *post mortem* (tête ou encéphale) qui sont transmis aux centres.

Sur des empreintes de cerveau, on recherchera les corps de Négri, généralement par immunofluorescence. L'isolement viral peut être réalisé par voie IC au souriceau (avec sacrifice d'un animal par jour à partir du cinquième jour et recherche des corps de Négri) ou, de plus en plus fréquemment, par culture sur cellules MRC5 avec mise en évidence des antigènes rabiques par IF dans les cellules ou par ELISA dans le surnageant.

Le diagnostic virologique de rage chez l'homme en Europe est exceptionnel puisque tout doit avoir été mis en œuvre pour un traitement curatif efficace. On recherche le virus dans la salive et le LCR, les anticorps spécifiques par ELISA dans le LCR et le sérum.

## VI. CONDUITE À TENIR ET PRÉVENTION

Devant une morsure ou une griffure d'un animal susceptible de transmettre la rage on traitera la blessure et on évalue l'opportunité d'un traitement antirabique :

- la blessure est lavée minutieusement à l'eau savonneuse ; on réalise un parage de la plaie mais on diffère la suture (facteur de dissémination) ;
- la décision d'un traitement antirabique incombe à un centre antirabique auquel est immédiatement adressé le patient.

Si l'animal impliqué est enragé ou disparu, on prescrit une vaccination curative éventuellement associée à une sérothérapie si les blessures sont profondes et/ou proches de la tête.

Si l'animal est suspect, la vaccination est entreprise pour être arrêtée à la fin de la période d'observation si la rage n'est pas confirmée ; bien sûr, dans le cas contraire, le programme vaccinal est scrupuleusement respecté.

Si l'animal est apparemment sain, le traitement n'est débuté que si, pendant la période d'observation, l'animal commence à présenter des signes cliniques de rage. Dans le cas des animaux sauvages capturés, il n'y a pas de surveillance clinique vétérinaire comme pour les animaux domestiques ; l'animal sauvage est sacrifié et son cerveau sera analysé par l'un des laboratoires des centres de surveillance ; l'initiation, la poursuite ou l'arrêt d'un traitement dépend des résultats de cette analyse.

La vaccination curative met à profit la longueur d'incubation de la rage pour créer, chez le mordu, un état d'immunité principalement lié à la présence d'anticorps neutralisant le virus rabique. Dans certains pays en développement (Inde, Vietnam, Brésil...), le vaccin est préparé par passage de virus rabique sur cerveau animal (mouton, agneau, souriceau nouveau-né) avant inactivation par la  $\beta$ -propiolactone ; ces vaccins sont peu chers mais générateurs d'effets secondaires plus particulièrement allergiques car ils contiennent de la myéline. En France, des vaccins antirabiques ont été développés sur cultures cellulaires ; le virus rabique est cultivé dans des cellules diploïdes (MRC5) ou dans des cellules hétéroïdes (comme les cellules Vero) puis inactivé par la  $\beta$ -propiolactone ; les injections sous-cutanées dans le deltoïde sont réalisées à  $j_0$ ,  $j_7$  et  $j_{28}$ . Selon la gravité et l'emplacement de la blessure, on utilise, en plus du vaccin curatif, des immunoglobulines antirabiques humaines purifiées. Cette vaccination curative n'est pratiquée que dans des centres antirabiques.

Il est important d'aborder la prévention de l'infection rabique ; chez l'homme, cette prévention peut concerner des professionnels de santé (virologistes), des sujets exposés à des animaux potentiellement infectés (vétérinaires par exemple) et des coopérants allant séjourner dans des pays d'endémie rabique. Le vaccin utilisé est le vaccin inactivé préparé sur cultures cellulaires et administré à  $j_0$ ,  $j_7$  et  $j_{28}$  avec un rappel un an plus tard puis tous les 5 ans. Dans les zones d'enzootie rabique, il est pertinent de protéger les animaux domestiques (chiens, chats, bétail) en utilisant des vaccins qui sont préparés sur cerveau animal et inactivés. En France, l'enzootie rabique est presque totalement maîtrisée grâce à la vaccination du réservoir c'est-à-dire du renard ; la stratégie utilisée est décrite dans le paragraphe suivant.

## VII. POINT ÉPIDÉMIOLOGIQUE SUR LA RAGE

En 1996, le nombre officiel de décès liés à la rage chez l'homme dans le monde était de 33 209 dont 32 772 en Asie (Asie du Sud-Est, sous-continent indien).

Aux États-Unis, entre 1990 et 2000, 25 cas humains de rage ont été observés dont un lié au coyote, un au chien et 23 aux chauves-souris.

En France, entre 1968 et 1998, 49 713 cas de rage animale ont été notifiés dont 38 507 renards, 3 667 bovins, 2 438 ovins et caprins, 1 801 chats et 1 038 chiens. Parmi les animaux sauvages autres que le renard, 552 blaireaux et 329 chevreuils ont été enrégés. Le réservoir principal étant le renard roux (*Vulpes vulpes*), l'effort de prévention a porté sur cet animal avec, à partir de 1986, la vaccination orale. Des vaccins antirabiques sont introduits dans des capsules à l'intérieur d'appâts (têtes de poulet, croquettes) ; en France, les deux vaccins utilisés sont un virus recombinant (vaccin exprimant le gène de la protéine externe du virus rabique) et un virus rabique atténué ; les appâts sont distribués par hélicoptère deux fois par an, au printemps et à l'automne ; le renard, attiré par l'appât, crève la capsule et est ainsi vacciné contre la rage par voie orale. Le nombre de cas de rage enregistrés chez les animaux est passé de 4 212 en 1989 à 17 en 1996 ; les derniers cas ont été observés dans les régions frontalières avec la Belgique et la Suisse.

La rage canine n'est plus, à l'heure actuelle, qu'une maladie d'importation ; il faut alors être vigilant pour éviter la transmission de la maladie des animaux infectés importés aux animaux autochtones ; le respect des mesures de contrôle sanitaire aux frontières doit être strict.

Si le tableau paraît aujourd'hui très favorable, il faut néanmoins prêter attention au rôle des chauves-souris ; en effet, celles-ci peuvent être porteuses, en Europe, de lyssavirus (2 géotypes : EBL1 et EBL2 ; EBL, *European bat Lyssavirus*) qui peuvent être transmis à l'homme ; des chauves-souris frugivores infectées par ces souches ont été observées en France ; en outre, une chauve-souris insectivore infectée par un virus apparenté à *Lagos Bat* a été identifiée dans le Sud-Est du pays (Gard) ; il s'agissait d'un animal en captivité qui avait été importé d'Afrique.

Au total, en ce qui concerne la rage humaine en France, 3 cas ont été notifiés en 1996 et un cas en 1997 ; dans tous les cas, la contamination avait eu lieu dans des pays étrangers, notamment africains.

### ① Points clés

La rage a disparu de son réservoir en Europe de l'Ouest – et plus particulièrement en France – mais il faut surveiller les chauves-souris qui représentent le nouveau risque de contamination.

## 22

## Rétrovirus

- I. HTLV-I ET HTLV-II  
II. VIH-1 ET VIH-2

**Item****Item 85. Infection à VIH.**

Il s'agit, comme nous l'avons indiqué dans le chapitre 3, d'une vaste famille de virus à ARN équipés d'une enzyme structurale appelée transcriptase inverse ou *reverse transcriptase* (RT). Cette enzyme synthétise, à partir de l'ARN viral, un ADN bicaténaire qui va ensuite être intégré dans le génome cellulaire et porter alors le nom de provirus ; à partir du provirus, il y a transcription d'ARNm et d'ARN génomique viral ; cette étape est suivie d'une traduction protéique, d'un assemblage de la nucléocapside virale (elle porte ici la dénomination de *core*) puis d'un bourgeonnement du core à travers la membrane cytoplasmique cellulaire.

Les rétrovirus sont classés en trois sous-familles :

- les **oncovirus** sont responsables de tumeurs ou de leucémies ; chez les animaux, on y trouve notamment le virus du sarcome de Rous (*Rous sarcoma virus* [RSV]) chez la poule, le virus de la leucémie féline (*Feline leukemia virus* [FeLV]), le virus de la tumeur mammaire de la souris (*Mouse mammary tumor virus* [MMTV]), le virus de la leucémie bovine (*Bovine leukemia virus* [BLV]) ;
- les **lentivirus** entraînant des infections virales lentes toujours mortelles. On y trouve le *Maedi visna* du mouton, le virus de l'anémie infectieuse du cheval (*Equine infectious anemia virus* [EIAV]), le virus de l'arthrite et encéphalite de la chèvre (*Caprine arthritis encephalitis virus* [CAEV]) et des virus responsables d'un syndrome d'immunodéficience chez le bovin (*Bovine immunodeficiency virus* [BIV]), le chat (*Feline immunodeficiency virus* [FIV]) et le singe (*Simian immunodeficiency virus* [SIV]) ;
- les **spumavirus** ont été isolés dans des cultures cellulaires humaines et animales, mais leur éventuelle implication pathologique n'est pas connue.

Sur le plan physiopathologique, les lentivirus détruisent les cellules qu'ils infectent cependant que les oncovirus les transforment et entraînent une multiplication non régulée ; deux mécanismes peuvent être à la base de cette transformation : soit le virus porte un gène *onc* qui va alors s'exprimer dans le cadre du provirus ; soit le virus est dépourvu de gène *onc* mais vient intégrer son information génétique à proximité d'un gène *onc* cellulaire et augmenter ainsi sa transcription.

Sur le plan historique, le premier rétrovirus isolé chez l'homme fut, en 1980, le HTLV-I (*Human T leukemia virus I*), virus responsable de la leucémie à cellules T de l'adulte (*Adult T cell leukemia* [ATL]) et lié à la paraparésie spastique tropicale (*Tropical spastic paraparesis* [TSP]) ou myélopathie associée au HTLV-I (*HTLV-I-associated myelopathy* [HAM]). Ce virus fait partie des oncovirus. Un virus proche, isolé d'une leucémie à tricholeucocytes et portant le nom d'HTLV-II a été décrit. Le virus du sida, le HIV-1 (*Human immunodeficiency virus 1*) ou

VIH-1 (virus de l'immunodéficience humaine 1), a été isolé en 1983 cependant, qu'en 1986, fut décrit un deuxième virus associé à l'immunodépression chez l'homme : HIV-2 ou VIH-2 ; VIH-1 et VIH-2 sont classés dans les lentivirus.

## I. HTLV-I ET HTLV-II

Comme tous les rétrovirus, ils possèdent deux molécules identiques d'ARN génomique associées à la RT dans un core enveloppé ; l'ensemble a une taille d'environ 100 nm.

L'ARN génomique de 9 kb, présente de l'extrémité 5' vers l'extrémité 3' les gènes *gag*, *pol* et *env* codant les protéines de structure ainsi que des gènes régulateurs : *tax* et *rex*.

*Gag* (*group antigen*) code un polypeptide précurseur qui est clivé par une protéase virale en 3 protéines : p24 (protéine majeure du core), p19 et p15.

*Pol* code les protéines d'activité enzymatique : reverse transcriptase, intégrase (endonucléase) et RNase H.

*Env* code les protéines glycosylées de surface ; chez HTLV-I, un polypeptide précurseur de 61 kd est clivé en deux protéines : gp46 (glycoprotéine d'enveloppe externe) et gp21 (glycoprotéine transmembranaire).

*Tax* code une protéine transactivatrice qui, agissant au niveau du LTR, va stimuler la transcription virale ; cette protéine agit également comme activateur de promoteurs de gènes cellulaires tels ceux de l'interleukine 2 (IL-2), du GM-CSF (*Granulocyte-macrophage colony stimulating factor*) et des oncogènes *c-fos* et *c-sis*.

Le produit de traduction de *rex* a une action post-transcriptionnelle et augmente le nombre d'ARNm non épissés codant les protéines de structure.

Ces virus ne possèdent pas de gène *onc* ; l'effet transformant qu'ils exercent sur les cellules infectées est probablement lié à la protéine issue du gène viral *tax*.

### A. HTLV-I

Ce virus infecte des lymphocytes T CD4 mais aussi T CD8 ; les cellules infectées vont proliférer en synthétisant des lymphokines (IFN, GM-CSF, IL-3), en exprimant le récepteur cellulaire pour l'IL-2 et en modifiant certains antigènes de surface comme le HLA (*Human leucocyte antigen*).

#### 1. ATL

On distingue plusieurs phases : asymptomatique, pré-ATL, ATL chronique et ATL aiguë. Tout au long de son infection, le patient peut transmettre le virus. L'ATL se manifeste en moyenne 20 à 30 ans après l'infection.

Au cours de la pré-ATL, on note une lymphocytose ; le génome du HTLV-I est intégré dans certaines cellules comme on peut le montrer par *southern blot* ou PCR. L'ATL chronique est marquée par des lésions cutanées sans atteinte viscérale ; le niveau des cellules leucémiques est bas. L'ATL aiguë est associée à la sélection d'un clone cellulaire transformé dominant ; on observe de nombreux lymphocytes T au noyau lobulé, une infiltration cutanée, des lymphadénopathies, une hépatosplénomégalie, une pneumonie interstitielle, une lyse osseuse avec hypercalcémie, parfois une ascite (de mauvais pronostic) et enfin une immunodépression avec émergence d'infections opportunistes.

## 2. TSP/HAM

La maladie se caractérise par une faiblesse des extrémités, une hyperréflexie, une incontinence d'urines. On note la présence d'une lymphocytose et d'anticorps anti-HTLV-I dans le LCR. Des lymphocytes atypiques identiques à ceux de l'ATL sont observés dans le sang. L'étude histopathologique du SNC permet d'objectiver une démyélinisation.

## 3. Transmission et épidémiologie

La transmission du HTLV-I se fait par voie sexuelle, plus facilement dans le sens homme-femme. La mère infectée peut contaminer son enfant par l'allaitement ; la transmission transplacentaire est encore discutée. La contamination sanguine est liée au sang total, aux dérivés cellulaires ainsi qu'à la toxicomanie intraveineuse.

L'infection est endémique au Japon, dans les Caraïbes, en Afrique tropicale, ainsi que dans certaines zones d'Amérique du Sud. En France métropolitaine, la prévalence est très basse mais elle augmente chez les toxicomanes.

## B. HTLV-II

Il s'agit d'un virus proche du HTLV-I (présentant, selon les gènes, entre 58 et 84 % d'homologie). Ses caractéristiques de transmission sont les mêmes que celles décrites par le HTLV-I. Malgré son isolement d'un cas de leucémie à tricholeucocytes, son éventuel rôle pathologique demeure inconnu.

## C. Diagnostic virologique de HTLV-I et HTLV-II

### 1. Diagnostic sérologique

Il repose sur la détection des anticorps. Les tests de dépistage sont généralement des tests ELISA qui mettent en évidence les anticorps dirigés contre HTLV-I et HTLV-II sans pouvoir les différencier.

La confirmation doit être obtenue par le *western blot* (WB) ou le RIPA. Pour être considéré positif en HTLV-I, le WB doit présenter au moins une bande Gag (p19 ou p24) et une bande Env (gp46). Plus récemment, des protéines recombinantes, l'une spécifique de HTLV-I (rgp46) et l'autre commune à HTLV-I et HTLV-II (rgp21), ont été ajoutées aux protéines préparatives des WB et ont augmenté la sensibilité du test ainsi que dans une certaine mesure, la possibilité de différencier les anticorps dirigés contre HTLV-I (p19 ou p24(+), rgp21(+), rgp46(+)) et contre HTLV-II (p24(+), rgp21(+)).

### 2. Isolement et diagnostic direct

L'isolement est possible mais difficile et rare à partir de cellules mononucléées du sang périphérique cultivées en présence d'interleukine 2 et dont le surnageant est régulièrement testé pour une activité RT exogène.

La PCR, qui permet d'ailleurs de différencier HTLV-I et HTLV-II, est, dans ce cas, la technique la plus séduisante ; on la pratique à partir de l'ADN extrait de cellules mononucléées du sang circulant.

## D. Prévention

La prévention repose sur l'utilisation des préservatifs pour éviter la transmission sexuelle, la contre-indication formelle de l'allaitement chez une femme HTLV\*, la lutte contre la toxicomanie et le dépistage systématique (obligatoire en France) des anticorps anti-HTLV lors des dons de sang et des prélèvements d'organes.

## II. VIH-1 ET VIH-2

Ces virus sont responsables du syndrome d'immunodéficience acquise (sida). VIH-1 a une répartition mondiale tandis que VIH-2 est encore, à l'heure actuelle, limité à l'Afrique de l'Ouest. Les circonstances de la découverte de VIH-1 méritent d'être rappelées.

### A. Historique

C'est en 1981 que M. Gottlieb, à Los Angeles, est amené à observer une pneumonie à *Pneumocystis carinii* chez un sujet masculin jeune sans antécédents médicaux notables. La pneumocystose était alors une pathologie exceptionnelle, rencontrée chez les grands immunodéprimés iatrogéniques (greffés par exemple). Le patient de M. Gottlieb présentait un effondrement d'une sous-population lymphocytaire jouant un rôle majeur dans l'orchestration des défenses immunitaires : les lymphocytes T porteurs du récepteur CD4, lymphocytes T CD4. En quelques semaines aussi bien à Los Angeles qu'à New York, d'autres cas de pneumocystose parfois associée à un sarcome de Kaposi (jusqu'ici exceptionnel en Amérique du Nord et en Europe) vont être répertoriés chez des hommes jeunes qui sont tous homosexuels. Cette pathologie nouvelle, le « *Gay syndrome* » va être publiée dans le *Mortality and Morbidity Report* du CDC (*Centers for diseases control*) d'Atlanta qui va immédiatement être mis en alerte. Le CDC va rapidement confirmer l'émergence de pneumocystoses chez des sujets homosexuels à partenaires multiples et présentant en outre des pneumonies à CMV, des encéphalites à toxoplasme et/ou à CMV, des résurgences sévères d'HSV et/ou de VZV, des sarcomes de Kaposi... Infections opportunistes et/ou cancer apparaissant à la suite d'une immunodépression liée à l'effondrement des lymphocytes T CD4. Le terme de sida (*Acquired immune deficiency syndrome* : AIDS pour les Anglo-Saxons) va être retenu.

Dans la mesure où, à cette époque, le sida concerne uniquement des homosexuels très actifs qui utilisent des drogues ludiques (*poppers*) contenant du nitrite d'amyle, la première hypothèse physiopathologique pour expliquer la déplétion lymphocytaire va être la toxicité du nitrite d'amyle pour les lymphocytes T CD4. Cette hypothèse va être rapidement balayée par les événements. En effet, des cas de sida vont être observés aux États-Unis chez des polytransfusés, des héroïnomanes et des Haïtiens ; le sida est, un temps, la maladie des quatre « H » (Homosexuels, Hémophiles, Héroïnomanes, Haïtiens). L'hypothèse d'un agent infectieux transmissible par le sang et les relations sexuelles, présentant une épidémiologie comparable à celle de VHB, va faire son chemin.

Le découvreur du HTLV-I et du HTLV-II, R. Gallo, dans son laboratoire de Bethesda, (Washington DC, États-Unis) est longtemps persuadé que l'éventuel agent viral responsable du sida est proche du HTLV-I ; en effet, le HTLV-I entraîne une prolifération de lymphocytes T CD4, cependant que l'agent du sida a un effet inverse ; Gallo suppose qu'un variant ou mutant du HTLV-I peut avoir perdu son pouvoir transformant au profit de propriétés cytolitiques ; cette hypothèse est,

semble-t-il, confortée par le fait que des indicateurs de présence du HTLV-I sont positifs chez des sujets Haïtiens développant un sida (or on sait maintenant que Haïti est une zone de haute prévalence du HTLV-I sans que ce virus soit associé au sida). C'est en 1983 dans le laboratoire de L. Montagnier à l'Institut Pasteur de Paris que va être isolé pour la première fois le virus responsable du sida (F. Barré-Sinoussi<sup>1</sup>, J.-C. Chermann, F. Rey, M.-T. Nugeyre, S. Chamaret, J. Gruest, C. Dautguez, C. Axler Blin, F. Vézinet-Brun, C. Rouzioux, W. Rozenbaum, L. Montagnier<sup>1</sup>, *Science*, 1983) ; ce virus est isolé à partir de cellules d'un ganglion, prélevé chez un sujet homosexuel de retour des États-Unis et présentant en amont du sida, des lymphadénopathies. Il s'agit d'un nouveau rétrovirus qui va être baptisé LAV (*Lymphadenopathy-associated virus* ; *Lymphadenopathy AIDS virus*).

En 1984, l'équipe de R. Gallo isole à son tour le virus du sida (M. Popovic, M.G. Sarngadharan, E. Read, R.C. Gallo, *Science*, 1984) qu'elle va appeler HTLV-III, toujours persuadée qu'il existe une filiation entre ce virus et les virus HTLV-I et HTLV-II. De son côté, l'équipe de J.A. Lévy à San Francisco isole le virus du sida sous le nom de ARV (*AIDS-related virus*) (J.A. Lévy, A.D. Hoffman, S.M. Kramer, J.A. Lanois, J.M. Shimabukuro, L.S. Oskiro, *Science*, 1984). La situation devient assez rapidement confuse dans la littérature où le virus est tantôt appelé LAV/HTLV-III tantôt HTLV-III/LAV. Le Comité de nomenclature international des virus suscite une réunion des groupes de recherches concernés et un consensus est établi sur le terme HIV-1 (*Human Immunodeficiency Virus 1*) ou VIH-1 (virus de l'immunodéficience humaine 1).

Des études moléculaires ont indiqué que le VIH-1 est tout à fait distinct des HTLV et qu'il s'agit, non pas d'un oncovirus, mais d'un lentivirus.

En 1986, l'équipe de L. Montagnier à l'Institut Pasteur, isolait chez deux malades portugais hospitalisés à Lisbonne après un long séjour en Guinée-Bissau, et présentant un sida, un virus apparenté au VIH-1 mais différent au niveau de ses protéines de surface : HIV-2 ou VIH-2. Notre propos tout au long de cet enseignement concernera essentiellement le VIH-1.

## B. Structure du VIH-1

Il possède deux molécules d'ARN identiques associées à la transcriptase inverse (reverse transcriptase [RT]) dans un *core* cylindrique composé d'une protéine de 24 000 ou 25 000 daltons de poids moléculaire selon les équipes : p24 ou p25. Une protéine de 18 000 daltons (p18), la protéine de matrice, est située entre le *core* et l'enveloppe ; l'enveloppe, émanation de la membrane cytoplasmique cellulaire, porte des glycoprotéines virales très importantes ; la gp41 (41 000 daltons) en position transmembranaire et la gp110 ou gp120 (110 000 ou 120 000 daltons selon les équipes) à la surface du virus (fig. 22.1 et 22.2) ; cette gp120 permet la fixation du virus sur son récepteur cellulaire.

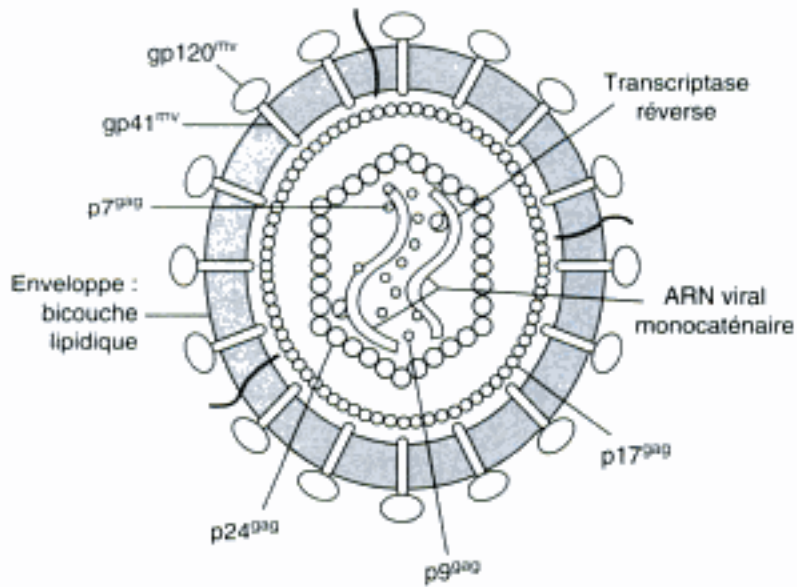
## C. Réplication, structure génétique et régulation

Comme nous aurons l'occasion de le redire plus loin, la principale cellule cible du VIH-1 est le lymphocyte T CD4.

La première étape du cycle de réplication du VIH-1 (fig. 22.3) est la fixation, grâce à la gp120, de la particule virale sur le récepteur CD4. Cette fixation est

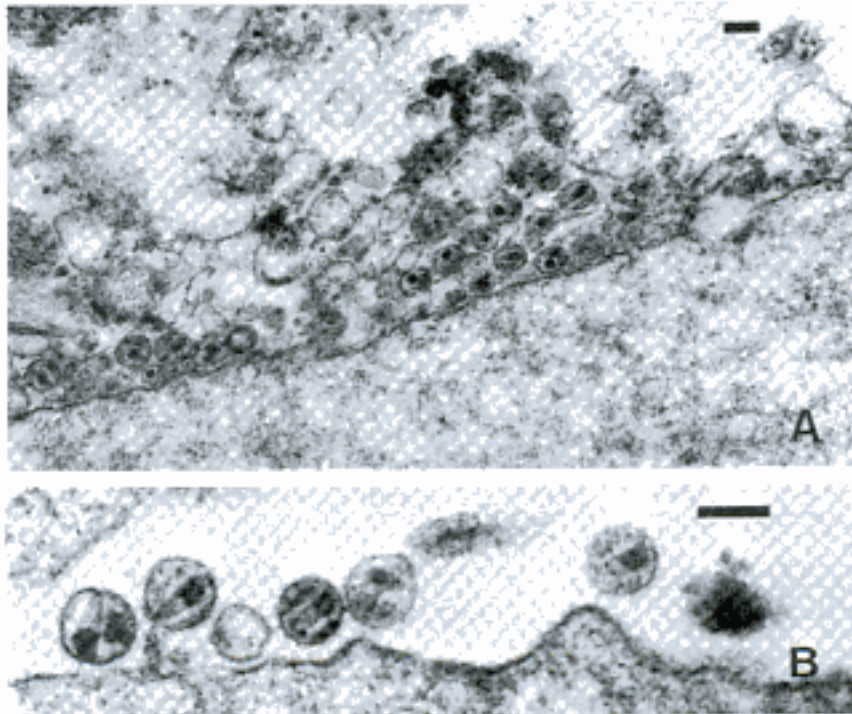
1. Le prix Nobel de médecine 2008 a été décerné aux professeurs Françoise Barré-Sinoussi et Luc Montagnier pour leurs travaux portant sur la découverte en 1983 du rétrovirus responsable du sida à l'Institut Pasteur.

► Fig. 22.1. Structure du VIH-1. ►



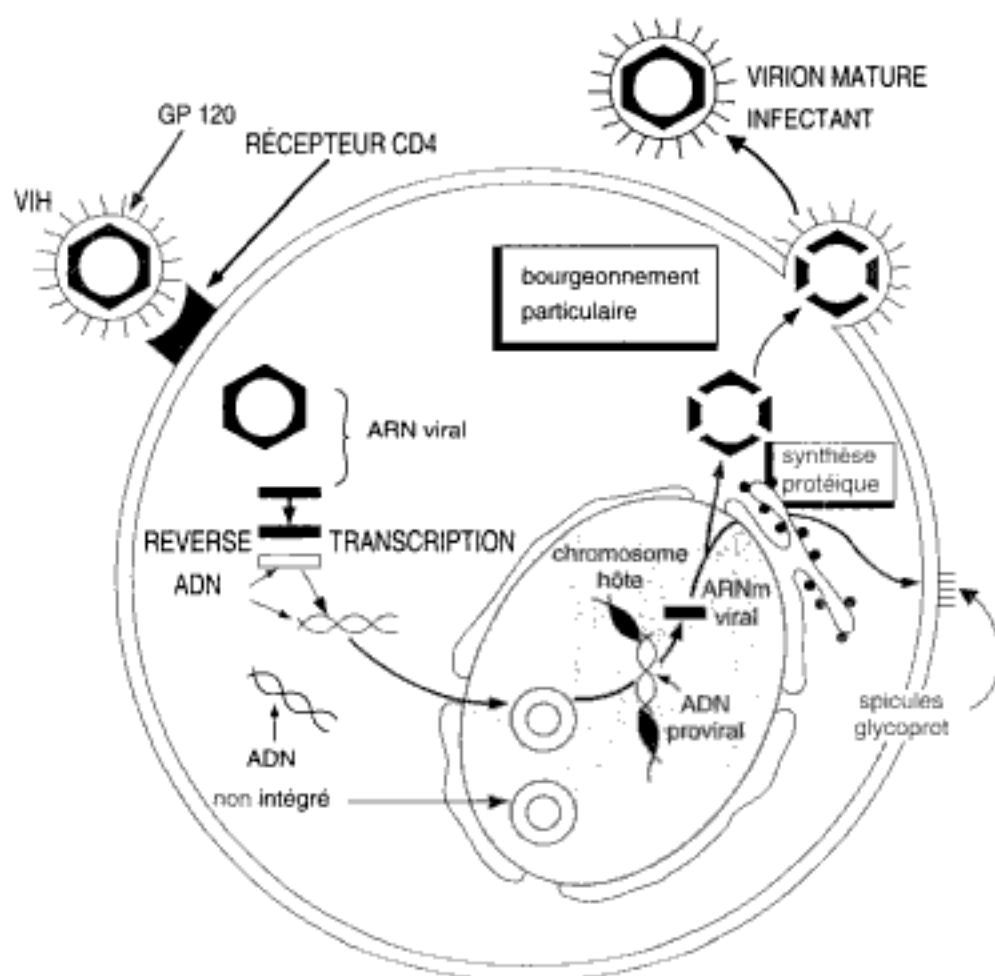
► Fig. 22.2. Particules virales du VIH-1 à la surface d'une cellule lymphocytaire infectée.

On note, à l'intérieur de l'enveloppe ronde, le core allongé. Microscopie électronique après inclusion des cellules en *Epon*, coupes fines et coloration par le citrate de plomb et l'acétate d'uranyle. A et B sont deux grossissements différents : la barre est pour 100 nm dans les deux clichés. (Boussin F, Dormont D, Merrouche Y et coll., *Lancet* 1987 ; ii : 571-572). ►



suivie de la fusion de l'enveloppe virale et de la membrane cytoplasmique cellulaire ; le core entre dans la cellule et libère les deux molécules d'ARN génomique associées à la RT. Grâce à un ARNt-lysine comme amorce, la RT synthétise un brin d'ADN complémentaire de l'ARN viral puis une activité associée, la RNase H, dégrade le brin d'ARN cependant qu'un deuxième brin d'ADN est constitué ; on aboutit ainsi à un ADN bicaténaire qui va être circularisé puis intégré (grâce à l'intégrase) dans le génome cellulaire pour donner le provirus.

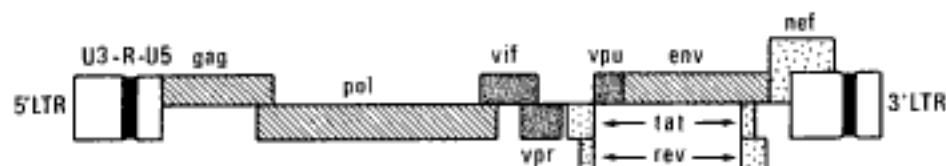
► **Fig. 22.3.** Schéma de la réplication du VIH. ►



Le provirus (fig. 22.4) est constitué de trois gènes de structure *gag* (*group antigen*), *pol* (*polymerase*) et *env* (*enveloppe*) codant respectivement les protéines p24 et p18, la RT et ses activités associées (polymérase, RNase H, intégrase, protéase) et les glycoprotéines d'enveloppe gp41 et gp120.

L'ensemble d'environ 9 000 pb, est encadré aux extrémités 5' et 3' par des séquences LTR (*Long terminal repeat*). Ce sont des régions du LTR en 5' qui contrôlent l'initiation et la régulation de la transcription du génome. Parmi les rétrovirus, le VIH-1 (ainsi d'ailleurs que le VIH-2) possède la particularité d'avoir de nombreux gènes régulateurs : *tat*, *nef*, *rev*, *vif*, *vpr* et *vpu*. *tat* code une protéine qui, agissant au niveau du LTR 5', transactive l'expression génomique. La protéine Nef (*Negative factor*) a un rôle de régulation négative cependant que la protéine Rev (*Regulator of viral expression*) favorise le passage dans le cytoplasme des ARNm non épissés codant les protéines correspondant aux gènes de structure *gag*, *pol* et *env*. Il est intéressant de noter que des protéines cellulaires (NF- $\kappa$ B) et des protéines d'origine virale (CMV, HHV-6) ont un rôle activateur de la transcription du VIH-1.

► **Fig. 22.4.** Structure génique du provirus. ►



Revenons maintenant au schéma du cycle de réplication virale (fig. 22.3). Le provirus est transcrit en ARNm épissés correspondant aux protéines régulatrices ; si la régulation est positive, des ARNm non épissés et plus longs sont générés qui vont correspondre à *gag*, *pol* et *env*. Un ARNm couvrant *gag* et *pol* va être traduit en une protéine de 160 kDa qui va être clivée par la protéase virale, en protéine p53/p55 (précurseur Gag clivé à son tour en p18 et p24 notamment), p10 (protéase), p66 (RT), p51 (RNase H), p31 (intégrase) ; de même, un précurseur Env (gp160) va être clivé en gp41 et gp120. Parallèlement, de l'ARN viral correspondant à la totalité du provirus est transcrit. Certaines protéines sont maturées par glycosylation, le core contenant les deux molécules d'ARN viral associées à la RT est assemblé puis va bourgeonner à travers la membrane cytoplasmique de la cellule. Des virions sont émis qui vont infecter d'autres cellules.

La RT est une enzyme qui commet beaucoup d'erreurs lors de la synthèse de l'ADN bicaténaire ; aussi, au fur et à mesure des cycles de réplication, des variants génétiques du virus apparaissent-ils chez le sujet infecté ; les mutations portent plus particulièrement sur le gène *env* et plus précisément sur la région qui code le segment de gp120 appelée boucle V3 ; c'est contre cette région V3 que sont dirigés les principaux anticorps neutralisants élaborés par le malade ; avec le temps, les variants viraux échappent à la neutralisation et participent à l'augmentation de la charge virale chez le patient.

Le VIH-1 ainsi que le VIH-2 appartiennent au lentivirus. Des virus responsables d'immunodéficience sont décrits chez les bovins (*Bovine immunodeficiency virus* [BIV]), le chat (*Feline immunodeficiency virus* [FIV]) et le singe (*Simian immunodeficiency virus* [SIV]) ; chez ce dernier animal, plusieurs isolats sont maintenant individualisés SIV<sub>MAC</sub> (macaque), SIV<sub>SM</sub> (mangabey), SIV<sub>MND</sub> (mandrill), SIV<sub>AGM</sub> (singe vert), SIV<sub>CPZ</sub> (chimpanzé). Le SIV<sub>MAC</sub> est proche du VIH-2 cependant que le SIV<sub>CPZ</sub> est proche du VIH-1. On peut penser que les VIH humains proviennent d'un réservoir animal sans que l'on puisse déterminer à quel moment de l'évolution ce passage s'est effectué. On peut seulement affirmer, grâce à des sérothèques africaines, que le VIH-1 était présent chez l'homme en Afrique centrale dans les années soixante.

Les études de virologie moléculaire (plus particulièrement l'analyse des séquences des gènes *env* et *gag*) de VIH-1 et VIH-2 provenant du continent africain et d'autres régions du monde ont montré qu'il existe des sous-types génomiques ; ainsi pour VIH-1, on décrit trois groupes : M (majeur), O (*outlier*) et N (« non M non O » ou *new*) ; M comporte les sous-types A à K cependant que O correspond à des isolats en provenance du Cameroun. La répartition des sous-types du groupe M est différente d'un continent à l'autre : ainsi, on trouve la plupart des sous-types en Afrique ; en Europe occidentale et en Amérique du Nord, c'est le sous-type B qui prédomine ; en Asie du Sud-Est (Thaïlande, Vietnam), le sous-type E est le plus souvent rencontré.

## D. Cellules cibles et physiopathologie de l'infection

La première cellule cible est le lymphocyte T CD4 ; le virus va se fixer sur le récepteur CD4 puis infecter le lymphocyte. Avec le temps, on assiste à une diminution inexorable des lymphocytes T CD4 alors qu'une minorité d'entre eux est infectée et exprime le virus. La déplétion lymphocytaire est probablement la conséquence de plusieurs phénomènes :

- l'effet cytolytique du VIH-1 avec pour certains isolats, l'apparition (du moins *in vitro*) de syncytia ;
- un lymphocyte infecté, recouvert de gp120, peut provoquer la fixation, la fusion puis l'involution de lymphocytes non infectés ;

## CONNAISSANCES – II. VIROLOGIE SYSTÉMATIQUE

- des lymphocytes CD8 cytotoxiques pourraient éliminer des cellules T CD4 recouvertes de gp120 ;
- des signaux (cytokines ?) pourraient précipiter l'apoptose (mort programmée de la cellule avec lyse de l'ADN génomique cellulaire).

Les monocytes-macrophages sont également infectés par le VIH-1 et ceci est particulièrement important car le virus va pouvoir ainsi pénétrer dans le SNC. Le monocyte-macrophage est infecté *via* le CD4 mais aussi de façon indirecte : des immunoglobulines anti-VIH-1 vont accrocher leur fragment Fc au récepteur Fc présent à la surface de la cellule, provoquer ainsi un rapprochement virus-cellule puis une internalisation virale et une infection cellulaire. Cette notion a d'importantes implications pour l'élaboration d'un vaccin qui devra éviter de générer des anticorps facilitants. Le monocyte infecté n'est pas lysé aussi rapidement que le lymphocyte T CD4 et jouerait donc un rôle de réservoir du VIH-1.

Très récemment, des corécepteurs du VIH-1 ont été identifiés qui, en association avec le récepteur CD4, permettent l'entrée du virus dans la cellule. Le CCR5 est le récepteur pour les souches virales à tropisme macrophagique ; le CXCR4 (fusine) est le corécepteur pour les souches à tropisme lymphocytaire T. On pense actuellement que la primo-infection se fait avec des souches à tropisme macrophagique puis que, au fur et à mesure des cycles de réplication et des mutations virales, les souches acquièrent un tropisme pour les lymphocytes T. CCR5 est un récepteur naturel pour les chimiokines MIP-1  $\alpha$ , MIP-1  $\beta$  et RANTES. CXCR4 a pour ligand naturel la chimiokine SDF-1 (*Stroma cell-derived factor 1*). Des données d'études génétiques indiquent que des sujets homozygotes pour une délétion ( $\gamma$  32) du gène *CCR5* ne seraient pas infectables par le VIH-1 ; les sujets hétérozygotes pour  $\gamma$  32 seraient infectables mais évolueraient moins vite vers la maladie.

D'autres cellules peuvent être infectées ; elles sont d'origine macrophagique : il s'agit des cellules de Langerhans de la peau, des cellules de Kupffer du foie, des cellules de la microglie du SNC. Les neurones ne sont pas une cible du VIH-1 et les dysfonctionnements enregistrés au niveau du SNC sont la conséquence de l'entrée de macrophages infectés dans le SNC avec atteinte indirecte (*via* la gp120 et/ou des cytokines) de la cellule neuronale. Soixante pour cent des sujets atteints de sida ont des signes neurologiques objectifs et 80 à 90 % présentent des anomalies neuropathologiques à l'autopsie. C'est dire qu'un antirétroviral, pour être pleinement efficace, doit être capable de traverser la barrière neuroméningée.

L'infection par le VIH-1 a d'autres retentissements hématologiques : ainsi, on assiste dès la primo-infection à une augmentation des lymphocytes T CD8 ; le rapport T CD4/T CD8 ne cesse donc de diminuer. Les lymphocytes B sont l'objet d'une stimulation polyclonale entraînant une hypergammaglobulinémie et des phénomènes auto-immuns, dont la thrombocytopénie fréquemment rencontrée chez les patients infectés.

Enfin signalons que, sur le plan de l'évolutivité, on a primitivement pensé qu'après la primo-infection et pendant une période assez longue de plusieurs années (correspondant au portage asymptomatique) le provirus était en état de latence ; on sait maintenant grâce à des travaux moléculaires (PCR, hybridation *in situ*) qu'il n'en est rien et que le provirus est transcrit en permanence dès les premières phases de l'infection et que cette transcription augmente avec le temps.

## E. Transmission du VIH-1 et modèles épidémiologiques

### 1. Transmission

Le VIH-1 est transmis par la voie sexuelle ; c'est une infection sexuellement transmissible (IST) hétérosexuelle de l'homme à la femme, de la femme à

l'homme et homosexuelle de l'homme à l'homme. Ce sont le sperme et les sécrétions vaginales qui sont contaminants par l'intermédiaire de cellules infectées (et dans une moindre mesure de virus libre en position extracellulaire). Eu égard au volume plus important du sperme, la contamination est plus facile, chez les hétérosexuels, dans le sens homme-femme.

Le VIH-1 est transmissible par le sang ; ce mode de contamination a concerné des polytransfusés et des hémophiles en France jusqu'en 1985 ; c'est en effet en août 1985 que la détection systématique des anticorps anti-VIH-1 (puis anti-VIH-1 + VIH-2) a permis d'éliminer les prélèvements de sujets infectés ; le risque de transmission est maintenant très bas (il est évalué à environ 1 pour 100 000 transfusions). Les mêmes mesures ont été adoptées en France pour les prélèvements d'organes destinés aux greffes. L'utilisation d'aiguilles/seringues contaminées joue un rôle important dans la dissémination virale chez les toxicomanes par voie veineuse dans les pays occidentaux et au cours de soins médicaux dans certains pays en voie de développement et plus particulièrement en Afrique.

La transmission maternofoetale est une voie importante de transmission notamment en Afrique ; le VIH-1 peut être transmis précocement par voie transplacentaire d'une mère infectée à son fœtus ; l'étude de jumeaux a montré que la contamination au moment de l'accouchement était également possible. En Europe, le pourcentage de transmission de la mère infectée à son enfant est compris entre 20 et 30 %.

Le VIH-1 est retrouvé dans la salive, les larmes, le lait ; il n'y a jamais eu à ce jour de cas de transmission du VIH-1 relié à la salive et aux larmes ; en revanche, il a été clairement montré que le lait d'une femme VIH-1<sup>+</sup> est contaminant et, en Europe, l'allaitement d'un nourrisson par sa mère VIH-1<sup>+</sup> n'est pas autorisé.

Enfin, notons que l'hypothèse d'une transmission du VIH-1 par le moustique a été infirmée.

## 2. Modèles épidémiologiques

Aux États-Unis, en Europe occidentale, en Australie, l'infection à VIH-1 et le sida concernent des groupes à risques : homosexuels, toxicomanes, transfusés, hétérosexuels à partenaires multiples, enfants nés de mère VIH-1<sup>+</sup>.

En Afrique, il s'agit d'une IST qui touche les hétérosexuels à partenaires multiples ; le *sex ratio* est proche de 1, la transmission maternofoetale est dès lors importante. La prévalence (qui peut atteindre 25 % en zone urbaine) est élevée en Afrique centrale, foyer présumé de l'infection à VIH-1.

L'Europe de l'Est, l'Afrique du Nord, le Moyen-Orient et l'Asie ont été concernés plus récemment. En Asie, la prostitution joue un rôle important notamment aux Indes et en Thaïlande, où l'infection connaît un développement considérable.

Comme nous l'avons déjà indiqué, l'infection par le VIH-2 reste limitée à l'Afrique de l'Ouest. L'entrée, à partir de l'Afrique centrale, du VIH-1 dans cette région du monde permet d'ailleurs d'y observer des infections VIH-2, VIH-1 ainsi que des co-infections VIH-2 + VIH-1.

## F. Classification chimique et biologique

À l'origine, deux classifications ont été proposées, celles des *Centers for diseases control* (CDC) d'Atlanta, États-Unis et celle du Walter Reed (WR). Notre propos se limitera à la classification CDC de 1987 puis à sa révision (version 1993).

## 1. Classification CDC 1987

Le stade I correspond à la primo-infection qui est souvent inaperçue mais qui lorsqu'elle existe, 2 à 6 semaines après la contamination, simule une MNI : fièvre, pharyngite, adénopathies, éruption morbilliforme, mononudéose. Parfois, le tableau clinique peut prendre l'aspect d'une méningite lymphocytaire aiguë.

Le stade II correspond au portage asymptomatique qui peut durer plusieurs années. Le sujet est séropositif, il peut transmettre le virus, il n'a aucun signe clinique mais présente déjà des signes biologiques.

Le stade III est celui des lymphadénopathies chroniques.

Le stade IV est celui des signes cliniques ou des pathologies associées :

- IV<sub>A</sub> : fièvre, amaigrissement de plus de 10 % du poids du corps, diarrhée chronique ;
- IV<sub>B</sub> : atteintes neurologiques centrales ou périphériques liées à l'infection par le VIH-1 ; on note plus particulièrement l'émergence possible d'un syndrome de démence ;
- IV<sub>C</sub> : on aborde ici les infections opportunistes qui se développent à la faveur d'une immunodéficience liée à la chute des lymphocytes T CD4 ; ces infections opportunistes sont majeures (IV<sub>C1</sub>) ou mineures (IV<sub>C2</sub>) :
  - IV<sub>C1</sub> : pneumocystose, toxoplasmose cérébrale, cryptococcose neuro-méningée, tuberculose extrapulmonaire, candidose œsophagienne...
  - IV<sub>C2</sub> : candidose orale, leucoplasie orale chevelue (conséquence de l'EBV), zona, tuberculose pulmonaire... ;
- IV<sub>D</sub> : cancers associés à l'immunodéficience ; sarcome de Kaposi (plus particulièrement chez les homosexuels), lymphomes non hodgkiniens (notamment à localisation cérébrale) ;
- IV<sub>E</sub> : autres manifestations cliniques liées à l'infection par le VIH-1. On note la pneumonie interstitielle lymphoïde chronique (PILC) et la thrombopénie.

La définition officielle du sida correspond aux stades IV<sub>A</sub> (complet), IV<sub>C1</sub> et IV<sub>D</sub>.

## 2. Révision 1993 de la classification

**Tableau 22.1.** Classification de l'infection VIH.

Nombre de lymphocytes CD4 <sup>+</sup>	Catégories cliniques		
	(A) Asymptomatique Primo-infection ou PGL	(B) Symptomatique, sans critères (A) ou (C)	(C)* Sida
(1) > 500/mm <sup>3</sup>	A1	B1	C1
(2) 200-499/mm <sup>3</sup>	A2	B2	C2
(3) < 200/mm <sup>3</sup>	A3	B3	C3

\* Définition du sida OMS/CDC 1987 (+ trois pathologies).

### a. Nombre de lymphocytes CD4<sup>+</sup>

Le résultat le plus bas, mais pas nécessairement le dernier, doit être utilisé pour classer un sujet.

La correspondance entre la valeur absolue et le pourcentage est la suivante :

- CD4<sup>+</sup> > 500/mm<sup>3</sup> : CD4<sup>+</sup> % > 29 ;
- CD4<sup>+</sup> 200-499/mm<sup>3</sup> : CD4<sup>+</sup> % = 14-28 ;
- CD4<sup>+</sup> < 200/mm<sup>3</sup> : CD4<sup>+</sup> % < 14.

## b. Catégories cliniques

### Catégorie A

Un ou plusieurs des critères listés ci-dessous chez un adulte ou adolescent infecté par le VIH, s'il n'existe aucun des critères de la catégorie B ou C :

- infection VIH asymptomatique ;
- lymphadénopathie persistante généralisée (PGL) ;
- primo-infection symptomatique.

### Catégorie B

Manifestations cliniques chez un adulte ou un adolescent infecté par le VIH, ne faisant pas partie de la catégorie C et qui répondent à au moins une des conditions suivantes :

- a) elles sont liées au VIH ou indicatives d'un déficit immunitaire ;
- b) elles ont une évolution clinique ou une prise en charge thérapeutique compliquée par l'infection VIH.

Les pathologies suivantes font partie de la catégorie B, la liste n'est pas limitative :

- angiomatose bacillaire ;
- candidose oropharyngée ;
- candidose vaginale, persistante, fréquente ou qui répond mal au traitement ;
- dysplasie du col (modérée ou grave), carcinome *in situ* ;
- syndrome constitutionnel : fièvre (38,5 °C) ou diarrhée supérieure à 1 mois ;
- leucoplasie chevelue de la langue ;
- zona récurrent ou envahissant plus d'un dermatome ;
- purpura thrombocytopénique idiopathique ;
- salpingite, en particulier lors de complications par des abcès tubo-ovariens ;
- neuropathie périphérique.

Cette classification est hiérarchique, c'est-à-dire qu'un sujet classé dans la catégorie B ne peut passer dans la catégorie A lorsque les signes cliniques ont disparu.

### Catégorie C

Cette catégorie correspond à la définition du sida. Lorsqu'un sujet a présenté une des pathologies de cette liste, il est classé définitivement dans la catégorie C :

- candidose bronchique, trachéale ou pulmonaire ;
- candidose de l'œsophage ;
- cancer du col invasif<sup>1</sup> ;
- coccidiomycose, disséminée ou extrapulmonaire ;
- cryptococcose extrapulmonaire ;
- cryptococcose intestinale supérieure à 1 mois ;
- infection à CMV (autre que foie, rate ou ganglions) ;
- rétinite à CMV (avec perte de la vision) ;
- encéphalopathie due au VIH ;
- infection herpétique, ulcères chroniques supérieurs à 1 mois ; ou bronchique, pulmonaire ou œsophagienne ;
- histoplasmose disséminée ou extrapulmonaire ;
- isosporidiose intestinale chronique (supérieure à 1 mois) ;

1. Nouvelles pathologies ajoutées en 1993.

- sarcome de Kaposi ;
- lymphome de Burkitt ;
- lymphome immunoblastique ;
- lymphome cérébral primaire ;
- infection à *Mycobacterium avium* ou *kansasii*, disséminée ou extrapulmonaire ;
- infection à *Mycobacterium tuberculosis*, quel que soit le site (pulmonaire<sup>1</sup> ou extrapulmonaire) ;
- infection à mycobactérie, identifiée ou non, disséminée ou extrapulmonaire ;
- pneumonie à *Pneumocystis carinii* ;
- pneumonie récurrente<sup>1</sup> ;
- leucoencéphalopathie multifocale progressive ;
- septicémie à *salmonelle* récurrente ;
- toxoplasmose cérébrale ;
- syndrome cachectique dû au VIH.

## G. Classification pédiatrique

Il existe pour les enfants de moins de 13 ans, une classification pédiatrique qui émane également du CDC. Nous en donnons brièvement les principaux aspects :

- P<sub>0</sub> : enfant séropositif de moins de 18 mois avec statut indéterminé ;
- P<sub>1</sub> : enfant contaminé asymptomatique ;
- P<sub>2A</sub> : signes généraux ;
- P<sub>2B</sub> : encéphalopathie ;
- P<sub>2C</sub> : pneumonie interstitielle lymphoïde chronique ;
- P<sub>2D<sub>1</sub></sub>, D<sub>2</sub>, D<sub>3</sub> : infections opportunistes, infections bactériennes sévères ou répétées, autres infections ;
- P<sub>2E</sub> : cancer ;
- P<sub>2F</sub> : autres manifestations (thrombopénie, par exemple).

## H. Diagnostic et suivi biologiques de l'infection par le VIH-1

### 1. Diagnostic

Le diagnostic repose en première intention sur la détection des anticorps anti-VIH-1 par ELISA. On utilise maintenant en France des tests mixtes (permettant la mise en évidence d'anticorps anti-VIH-1 et anti-VIH-2). Deux tests commerciaux d'origine différente sont utilisés : s'ils sont négatifs, un résultat négatif est rendu sans test complémentaire ; s'ils sont positifs ou discordants, on pratique alors un *western blot* (WB) VIH-1 voire VIH-2 si nécessaire.

Le WB est considéré comme révélateur d'une infection à VIH-1 si l'on met en évidence des anticorps contre au moins une protéine de core (p24 notamment) et une protéine de surface (gp41 ou gp120 ou gp160). Le plus souvent, on trouve des anticorps contre l'ensemble des protéines du *blot*.

Si seule est observée la bande p24 d'un WB VIH-1, plusieurs hypothèses sont à envisager.

1. Nouvelles pathologies ajoutées en 1993.

Le patient est dans la période de séroconversion, les anticorps anti-p24 étant les premiers à être aperçus en WB. Il faut redemander un contrôle sérologique 15 jours à 1 mois plus tard.

Il peut s'agir d'une réaction croisée VIH-1/VIH-2 ; la p26 de VIH-2 est en effet proche de p24 VIH-1 et des patients infectés par VIH-2 peuvent réagir avec p24 VIH-1 ; on pratique alors (d'autant plus que le sujet est originaire d'Afrique de l'Ouest) un WB VIH-2 à la recherche d'anticorps dirigés contre p26 et contre une ou plusieurs protéines glycosylées de surface de VIH-2 (gp105, gp140).

On peut avoir affaire à une réaction non spécifique ; dans ce cas, le WB doit être refait sur des prélèvements sériques ultérieurs et la positivité contre p24 n'est pas complétée par l'apparition d'autres bandes virales.

Il est important de préciser que le délai moyen entre le comptage et l'apparition des anticorps, tel qu'il a été retenu par l'Agence nationale de recherches sur le sida, est de 3 à 6 semaines.

## 2. Cas particulier des nouveau-nés de mères VIH-1<sup>+</sup>

Ces enfants naissent bien évidemment séropositifs ce qui ne veut pas dire qu'ils sont infectés. Avant l'utilisation de techniques sophistiquées, on suivait la décroissance des anticorps pour affirmer, au bout de 12 à 15 mois, qu'ils n'étaient pas infectés car ayant perdu les anticorps passifs de leur mère ; au contraire, devant une séropositivité persistante, on pouvait conclure à une synthèse active donc à une infection.

En fait, aujourd'hui, les laboratoires spécialisés peuvent permettre de faire le diagnostic dans les trois premiers mois voire les premières semaines de la vie ; les cellules mononucléées du sang circulant du nouveau-né sont mises en culture (avec des lymphocytes de sujets séronégatifs) et la production virale est recherchée par mise en évidence de l'activité RT ou de l'antigène p24 VIH-1.

On peut en outre pratiquer une PCR à partir de l'ADN extrait de ces cellules en choisissant les amorces dans les zones conservées (*gag*, *pol*, LTR) et en identifiant les fragments amplifiés par hybridation avec une sonde spécifique après *southern blot*.

On estime que le pourcentage de transmission est de 20 à 30 %.

## 3. Suivi biologique de l'infection

Une fois affirmée l'infection par le VIH-1 et quel que soit le stade clinique, il faudra assurer un suivi longitudinal de paramètres immunohématologiques et virologiques.

### a. Paramètres immunohématologiques

On effectuera une numération-formule sanguine, une détermination des sous-populations lymphocytaire (pourcentages et valeurs absolues des T CD4 et T CD8, rapport T CD4/T CD8), le dosage de la  $\beta_2$ -microglobuline et parfois des immunoglobulines. Le tableau 22.11 donne les valeurs normales de ces paramètres.

Tout au long du déroulement de l'infection, on note donc une diminution des lymphocytes T CD4, une augmentation des T CD8, une diminution du rapport T CD4/T CD8, une augmentation de la  $\beta_2$ -microglobuline et du titre des immunoglobulines. Le marqueur le plus important est le nombre absolu de lymphocytes T CD4 mais il est bien sûr d'évolution lente et doit être complété par l'étude de marqueurs virologiques.

Hidden page

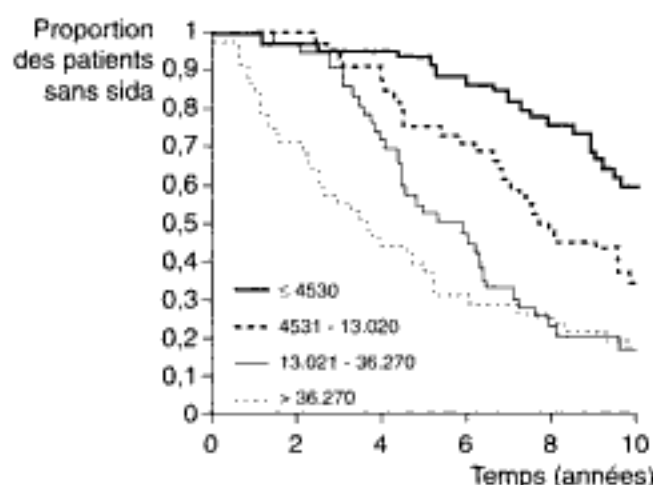
Hidden page

CONNAISSANCES – II. VIROLOGIE SYSTÉMATIQUE

4 531 à 13 020, 13 021 à 36 270, > 36 270) ; le temps médian de progression vers le sida dans ces quartiles était respectivement de > 10 ; 7,7 ; 5,4 et 3,5 ans.

Quatre tests commerciaux sont à la disposition des laboratoires de virologie ; ils font appel à deux abordés théoriques différents : l'amplification de l'ARN cible ou son hybridation sur des sondes spécifiques avec amplification du signal (tableau 22.III).

► **Fig. 22.6.** Valeur prédictive de la charge virale plasmatique. (D'après Mellors JW, Rinaldi CR Jr, Gupta P et coll. *Science* 1996 ; 272 : 1167-1170). ►



**Tableau 22.III.** Principaux tests commerciaux disponibles.

Amplification de l'ARN cible					Hybridation directe
Roche Amplicor Cobas HIV-1 Monitor	Roche Cobas Taqman HIV-1 (PCR temps réel)	Abbott Real Time Quantitative Assay (PCR temps réel)	Siemens Versant kPCR Molecular System (PCR temps réel)	BioMérieux NucliSens easy Q HIV-1 (NASBA temps réel)	Siemens Versant HIV-1 RNA 3.0 (bDNA) (ADN branché=)

Les quatre premiers reposent sur la PCR ; l'ARN viral est extrait du plasma, rétrotranscrit en ADN et amplifié par PCR ; on introduit dans le tube réactionnel, à côté de l'ARN sauvage du patient, un ARN délété ou modifié qui va servir de standard interne de quantification ; ARN sauvage et standard interne sont amplifiés dans les mêmes conditions ; après l'amplification, on quantifie grâce à des sondes spécifiques les produits correspondant à l'ARN sauvage et à l'ARN standard, on compare les densités optiques des signaux obtenus et, sachant le nombre de copies du standard introduit au début de la réaction, on en conclut le nombre de copies de l'ARN sauvage et donc la charge virale du patient.

Le cinquième est également un test d'amplification de la cible mais il fait appel à une technique d'amplification appelée NASBA (*Nucleic acid-based amplification*) ; l'ARN viral est rétrotranscrit, le brin d'ARN est alors dégradé par une RNase H puis un deuxième brin d'ADN est synthétisé ; l'ADN viral ainsi obtenu est transcrit en ARN par l'ARN polymérase T7 et les ARN repartent dans un cycle d'amplification ; le standard interne est constitué de trois ARN différents à des quantités différentes qui sont amplifiés dans le même tube réactionnel. À l'aide de sondes spécifiques des différents ARN, on compare les signaux chimiluminescents et on peut en déduire la quantité d'ARN viral au début de la réaction.

Le sixième ne repose pas sur l'amplification de l'ARN mais sur une amplification de signal après hybridation ; l'ARN viral est hybridé à des sondes de capture immobilisées sur un support solide ; d'autres sondes s'hybrident à leur tour à l'ARN viral et sont capables de capter un ADN branché (bDNA) dont les ramifications portent de nombreuses molécules d'une même enzyme ; en présence du substrat, l'enzyme génère une réaction lumineuse dont l'intensité est proportionnelle au nombre de copies d'ARN viral du plasma.

Ces techniques ont une sensibilité élevée puisque les seuils de détection sont entre 20 et 200 copies d'ARN viral/mL de plasma. Elles ont été améliorées afin d'être valides pour les différents sous-types de VIH-1 à l'intérieur du groupe M. Lors d'un traitement antirétroviral, on va chercher à faire descendre la charge plasmatique au-dessous du seuil de détection (généralement 50 copies/mL) et à maintenir cette situation le plus longtemps possible.

Dans le cadre de certains essais thérapeutiques, d'autres marqueurs sont utilisés ; ainsi, chez des patients dont la charge plasmatique est parfaitement maîtrisée au-dessous du seuil de détection, il est intéressant de savoir s'il existe toujours une réplication dans les ganglions en mesurant la charge ARN dans les cellules mononucléées obtenues par biopsie de tissu ganglionnaire. On peut également se poser la question de la quantité d'ADN proviral présent dans les cellules circulantes ou ganglionnaires ; on quantifie alors l'ADN avec, par exemple, une technique de PCR en temps réel dont la sensibilité est de 10 copies d'ADN/million de cellules.

## I. Chimiothérapie antirétrovirale

Nous n'aborderons pas, volontairement, le traitement des infections opportunistes et celui des néoplasies associées à l'immunodépression. Le problème que nous nous posons dans ce chapitre est celui d'une chimiothérapie anti-VIH-1. Le but est de réduire la charge virale (donc la réplication du VIH) à un niveau au-dessous du seuil de détection des techniques commerciales utilisées (en pratique, le seuil le plus utilisé est à 50 copies d'ARN VIH-1 par mL) et de maintenir cette réduction le plus longtemps possible. Les cibles des médicaments antirétroviraux sont la transcription inverse, la protéase et plus récemment l'entrée du virus dans la cellule ainsi que l'intégrase.

### 1. En fonction de la cible

#### a. Cible : transcription inverse

On distingue deux types de molécules : les analogues de nucléosides (NUC) qui sont incorporés dans la chaîne d'ADN par la TI et qui vont bloquer l'élongation de cette chaîne ; les inhibiteurs non nucléosidiques (non-NUC) vont agir directement sur l'enzyme TI en encombrant son site catalytique ; contrairement aux NUC, les non-NUC n'ont pas besoin d'être phosphorylés pour être actifs.

#### NUC

- AZT, zidovudine, *Retrovir* ;
- ddI, didanosine, *Videx* ;
- ddC, zalcitabine, *Hivid* ;
- d4T, stavudine, *Zerit* ;
- 3TC, lamivudine, *Epivir* ;
- FTC, emtricitabine, *Emtriva* ;
- ABC, abacavir, *Ziagen* ;
- TDF, ténofovir, *Viread* ;

## CONNAISSANCES – II. VIROLOGIE SYSTÉMATIQUE

- zidovudine et lamivudine sont associées dans le *Combivir* ;
- *Trizivir* correspond à l'association zidovudine, lamivudine, abacavir ;
- le *Truvada* associe ténofovir et FTC

**Non-NUC**

- NVP, névirapine, *Viramune* ;
- DLV, delavirdine, *Rescriptor* ;
- EFV, efavirenz, *Sustiva* ;
- ETV (TMC125), *Etravirine*

**b. Cible : protéase**

La protéase du VIH-1 est un dimère de deux chaînes protéiques identiques qui s'associent pour former un seul site actif ; elle a pour rôle de cliver des précurseurs protéiques pour générer des protéines actives ; sans ce clivage, les particules virales produites ne sont pas infectieuses. Les inhibiteurs de protéase (IP) sont des peptidomimétiques qui se fixent au site actif de l'enzyme ; ils sont métabolisés par le système enzymatique du cytochrome P<sub>450</sub> hépatique :

- indinavir, *Crixivan* ;
- ritonavir, *Norvir* ;
- saquinavir, *Invirase*, *Fortovase* ;
- nelfinavir, *Viracept* ;
- amprénavir, *Agénérase* ;
- fosamprénavir, *Lexiva* ;
- lopinavir/ritonavir, *Kaletra* ;
- atazanavir, *Reyataz* ;
- tipranavir, *Aptivus* ;
- darunavir, *Prezista*.

Pour des raisons pharmacodynamiques, il existe des associations d'IP, la première utilisée ayant été ritonavir-saquinavir ; l'association lopinavir-ritonavir correspond au *Kaletra*.

**c. Cible : entrée du virus dans la cellule**

Plusieurs étapes sont nécessaires à l'entrée du virus dans la cellule ; l'attachement à la cellule cible, la mise en jeu des corécepteurs et les mécanismes biochimiques et conformationnels aboutissant à la fusion de l'enveloppe virale et de la membrane cellulaire.

En ce qui concerne l'inhibition d'attachement, aucune drogue n'est actuellement disponible mais des avancées fondamentales sont en cours en particulier la mise en évidence d'une protéine exprimée à la surface des cellules dendritiques et appelée DC-SIGN ; cette molécule est capable de se lier à la gp120 du VIH-1 ; la cellule dendritique capte ainsi le virus et l'achemine vers les ganglions lymphatiques où elle le présente aux cellules T en les activant (*via* l'ICAM-3). Des antagonistes des corécepteurs (en particulier du CCR-5) et du récepteur CD4 sont en cours d'expérimentation *in vitro*. Ce sont les inhibiteurs de fusion qui sont déjà appliqués en thérapeutique humaine ; le T-20 est un peptide qui se lie à une portion de la gp41 après la fixation de la gp120 sur le CD4 puis les corécepteurs ; la fixation du T-20 sur la gp41 inhibe la fusion entre l'enveloppe virale et la membrane cellulaire ce qui, finalement, entraîne une inhibition de la réplication virale. Le T-20 (enfuvirtide) est commercialisé sous le nom de *Fuzeon*.

Actuellement des essais sont réalisés avec des inhibiteurs de CCR5 qui sont actifs sur des virus ayant un tropisme pour le corécepteur CCR5 ; il faut s'assurer du tropisme viral soit par test phénotypique soit par test génotypique, les acides

aminés de la boucle V3 de gp120 étant potentiellement révélateurs du tropisme viral. Une molécule est actuellement proposée : le maraviroc (*Selzentry*).

#### d. Cible : intégrase

La molécule utilisée est le raltégravir (*Isentress*).

## 2. En pratique

Devant le phénomène de résistance virale (que nous aborderons plus loin), on utilise des associations de molécules antirétrovirales. La première association recommandée est 2 NUC + 1 IP ; on tend maintenant à utiliser d'autres associations comme 2 NUC + 1 non-NUC ou 3 NUC. Les patients qui doivent être traités sont les patients symptomatiques ainsi que les patients asymptomatiques dont les T CD4 sont inférieurs à 500/ $\mu$ L et/ou dont la charge virale est supérieure à 10 000 copies/mL (5 000 aux États-Unis). Ces trithérapies sont également appelées HAART (*Highly active antiretroviral therapy*). Le but est donc de diminuer la charge virale au-dessous de 50 copies/mL et de maintenir cette situation favorable qui permet aux lymphocytes T CD4 de croître et de retrouver certaines de leurs fonctions.

En cas d'échec thérapeutique, c'est-à-dire principalement en cas de remontée de la charge virale, on va incriminer plusieurs paramètres dont l'apparition de mutants viraux résistants aux antirétroviraux (ARV), une mauvaise observance aux ARV ou un métabolisme des ARV ne permettant pas d'obtenir des doses plasmatiques efficaces. Il faudra alors changer de traitement en prenant en compte l'existence de mutations de résistance croisée entre les différents ARV. Précisons pour finir ce chapitre que le traitement des primo-infections VIH est maintenant établi ; des essais thérapeutiques sont en cours qui associent une HAART et une immunothérapie par l'IL-2 qui a pour but principal de stimuler la prolifération et l'activation des lymphocytes T CD4.

Le traitement de la femme enceinte dans le dernier trimestre par AZT *per os*, puis par AZT en perfusion au moment de l'accouchement avec traitement du nouveau-né par la même molécule pendant 6 semaines a permis de faire passer le taux de transmission de 25 % à 8 %.

Ce taux diminue encore avec des associations d'ARV comme AZT-3TC et AZT-névirapine.

## 3. Résistance du VIH-1 aux antirétroviraux

Dès 1989, il a été montré que des mutants résistants à l'AZT étaient sélectionnés chez les patients traités ; ce phénomène de résistance a été confirmé pour les différentes classes de molécules antirétrovirales. Rapidement, des mutations spécifiques dans les gènes viraux correspondant aux points d'impact des molécules antirétrovirales (transcriptase inverse, TI, et protéase, prot) ont été associées à la résistance virale. Pour déterminer la résistance d'un isolat VIH-1 à une ou plusieurs molécules, on peut étudier le comportement de cet isolat *in vitro*, en culture cellulaire, face à des concentrations variables des drogues en déterminant les concentrations inhibitrices 50 et 90 (CI50 et CI90) c'est-à-dire les concentrations de drogues inhibant respectivement 50 % et 90 % de la répllication virale ; ce test de mise en évidence de la résistance est dit phénotypique. Devant la lourdeur de mise en œuvre de ce test, une élégante méthode a été mise au point qui est appelée RVA (*Recombinant viral assay*) : dans ce test également phénotypique, on introduit le gène TI ou prot de l'isolat à étudier dans une souche VIH-1 de laboratoire délétée dans le gène correspondant puis

CONNAISSANCES – II. VIROLOGIE SYSTÉMATIQUE

on étudie la multiplication du virus recombinant en culture cellulaire en présence des différentes drogues.

Nous avons ci-dessus abordé la corrélation entre résistance virale et présence de mutations dans les gènes TI et prot ; les mutations apparaissant face aux différentes drogues des classes majeures actuellement utilisées (NUC, non-NUC, inhibiteurs de protéase, inhibiteurs de fusion et inhibiteurs d'intégrase) sont présentées dans les tableaux 22.IV, 22.V, 22.VI, 22.VII et 22.VIII. La recherche de ces mutations dans les isolats de patients traités mais en échec thérapeutique correspond à ce que l'on appelle le test de résistance génotypique ; celui-ci est pratiqué en routine dans les laboratoires de virologie spécialisés par séquençage automatique des gènes TI et prot après transcription inverse de l'ARN viral du plasma (celui qui est utilisé pour la charge virale) et amplification par PCR ; les séquences sont alignées sur une base de référence puis un logiciel détermine les acides aminés mutés aux différentes positions cruciales des gènes ; le virologiste, à l'aide d'un arbre décisionnel national (réalisé par un groupe de travail de l'Agence nationale de recherche sur le sida, l'ANRS), rend un commentaire indiquant quelles sont les molécules qui ne doivent plus être utilisées chez les patients correspondants.

**Tableau 22.IV.** Interprétation du génotype : analogues nucléosidiques et nucléotidiques (ANRS)\*.

	<b>Mutations associées à la résistance</b>	<b>Mutations associées à une « résistance possible »</b>
AZT	<ul style="list-style-type: none"> <li>- T215Y/F</li> <li>- &gt; 3 mutations parmi : M41L, D67N, K70R, L210W, T215A/C/D/E/G/H/I/L/N/S/V, K219Q/E</li> <li>- Q151M</li> <li>- Insertion au codon 69</li> </ul>	- T215A/C/D/E/G/H/I/L/N/S/V
3TC/FTC	<ul style="list-style-type: none"> <li>- M184V/I</li> <li>- Insertion au codon 69</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- K65R</li> <li>- Q151M</li> </ul>
ddl	<ul style="list-style-type: none"> <li>- un score d'au moins 2 parmi : M41L + T69D + L74V/I + 215Y/F + K219Q/E - K70R - M184V/I</li> <li>- L74V sans mutation parmi : M41L, T69D, K70R, M184V/I, T215Y/F, K219Q/E</li> <li>- Q151M</li> <li>- Insertion au codon 69</li> </ul>	- K65R
d4T	<ul style="list-style-type: none"> <li>- V75A/M/S/T</li> <li>- T215Y/F</li> <li>- &gt; 3 mutations parmi : M41L, D67N, K70R, L210W, T215A/C/D/E/G/H/I/L/N/S/V, K219Q/E</li> <li>- Q151M</li> <li>- Insertion au codon 69</li> </ul>	- T215A/C/D/E/G/H/I/L/N/S/V
ABC	<ul style="list-style-type: none"> <li>- &gt; 5 mutations parmi : M41L, D67N, L74V/I, M184V/I, L210W, T215Y/F</li> <li>- pas de TAMs** et &gt; 2 mutations parmi : K65R, L74V/I, Y115F et M184V/I</li> <li>- Q151M</li> <li>- Insertion au codon 69</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- 4 mutations parmi : M41L, D67N, L74V/I, M184V/I, L210W, T215Y/F</li> <li>- K65R</li> </ul>
TDF	<ul style="list-style-type: none"> <li>- &gt; 6 mutations parmi : M41L, E44D, D67N, T69D/N/S, L74V, L210W, T215Y/F</li> <li>- K65R</li> <li>- Insertion au codon 69</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- 3, 4 ou 5 mutations parmi : M41L, E44D, D67N, T69D/N/S, L74V, L210W, T215Y/F</li> <li>- K70E</li> </ul>

\* Mutations dans le génome du VIH-1 qui sont associées à la résistance aux analogues de nucléosides. Les mutations sont recherchées dans le gène de la TI ; par exemple, dans la résistance à l'AZT, une mutation cruciale est observée au codon 215 de la TI où une thréonine (T) est remplacée par une tyrosine (Y) ou une phénylalanine (F).

\*\* TAMs = M41L, D67N, K70R, L210W, T215Y/F, K219Q/E.

AZT : zidovudine ; 3TC : lamivudine ; FTC : emtricitabine ; ddl : didanosine ; d4T : stavudine ; ABC : abacavir ; TDF : ténofovir.

**Tableau 22.V.** Interprétation du génotype : inhibiteurs non nucléosidiques de la TI (ANRS)\*.

	<b>Mutations associées à la résistance</b>	<b>Mutations associées à une « résistance possible »</b>
EFV	<ul style="list-style-type: none"> <li>- L100I</li> <li>- K101E</li> <li>- K103H/N/S/T</li> <li>- V106M</li> <li>- Y181C/I</li> <li>- Y188C/L</li> <li>- G190A/C/E/Q/S/T/V</li> <li>- P225H</li> <li>- M230L</li> </ul>	
NVP	<ul style="list-style-type: none"> <li>- A98S (pour VIH-1 sous-type C seulement)</li> <li>- L100I</li> <li>- K101E</li> <li>- K103H/N/S/T</li> <li>- V106A/M</li> <li>- Y181C/I</li> <li>- Y188C/H/L</li> <li>- G190A/C/E/Q/S/T/V</li> <li>- M230L</li> </ul>	- A98S (pour d'autres sous-types que VIH-1 sous-type C)
ETV	- > 4 mutations parmi : V90I, A98G, L100I, K101E/P, V106I, V179D/F, Y181C/I/V, G190A/S	- 3 mutations parmi : V90I, A98G, L100I, K101E/P, V106I, V179D/F, Y181C/I/V, G190A/S

\* Mutations dans le génome du VIH-1 qui sont associées à la résistance aux inhibiteurs non nucléosidiques de la transcriptase inverse (TI). Les mutations sont recherchées dans le gène de la TI.

EFV : efavirenz ; NVP : névirapine ; ETV : étravirine.

**Tableau 22.VI.** Interprétation du génotype : inhibiteurs de protéases (ANRS)\*.

	<b>Mutations associées à la résistance</b>	<b>Mutations associées à une « résistance possible »</b>
IDV	<ul style="list-style-type: none"> <li>- M46I/L</li> <li>- V82A/F/M/S/T</li> <li>- I84A/V</li> <li>- L90M et au moins 2 parmi : K20M/R, L24I, V32I, M36I, I54V/L/M/T, A71V/T, G73S/A, V77I</li> </ul>	- L90M
SQV/RTV 1 000/100 mg BID	<ul style="list-style-type: none"> <li>- G48V</li> <li>- &gt; 4 mutations parmi : L10F/I/M/R/V, I15A/V, K20I/M/R/T, L24I, I62V, G73S/T, V82A/F/S/T, I84V, L90M</li> </ul>	- 3 mutations parmi : L10F/I/M/R/V, I15A/V, K20I/M/R/T, L24I, I62V, G73S/T, V82A/F/S/T, I84V, L90M
NFV	<ul style="list-style-type: none"> <li>- D30N</li> <li>- I84V</li> <li>- N88S/D</li> <li>- L90M</li> </ul>	- V82A/F/S/T et au moins 2 parmi : L10I, M36I, M46I/L, I54V/L/M/T, A71V/T, V77I
FPV/RTV 700/100 mg BID	<ul style="list-style-type: none"> <li>- I50V</li> <li>- V32I et I47A/V</li> <li>- &gt; 4 mutations parmi : L10F/I/V, L33F, M36I, I54A/L/M/S/T/V, I62V, V82A/C/F/G, I84V, L90M</li> </ul>	
LPV/r	<ul style="list-style-type: none"> <li>- &gt; 6 mutations parmi : L10F/I/R/V, K20M/R, L24I, L33F, M46I/L, I50V, F53L, I54M/L/T/V, L63P, A71I/L/V/T, V82A/F/S/T, I84V, L90M</li> <li>- I47A</li> <li>- L76V</li> </ul>	- 4 ou 5 mutations parmi : L10F/I/R/V, K20M/R, L24I, L33F, M46I/L, I50V, F53L, I54M/L/T/V, L63P, A71I/L/V/T, V82A/F/S/T, I84V, L90M

Hidden page

Hidden page

Hidden page

hommes consommaient les muscles et le cœur (on verra plus loin que les agents infectieux des ESST se concentrent surtout dans le SNC). À la suite de ces travaux scientifiques et médicaux, la tribu des Fore a abandonné ce rite mortuaire et le Kuru a disparu.

## E. MCJ

La MCJ a été décrite à Vienne par Creutzfeldt en 1920 puis par Jakob en 1921 ; on distingue plusieurs formes de MCJ : familiale, sporadique, iatrogène et vMCJ. La MCJ sporadique a une incidence de 0,5 à 1 nouveau cas par million d'habitants et par an ; la fréquence est identique dans les deux sexes ; l'âge de début des signes cliniques est compris entre 55 et 75 ans ; un état dépressif s'installe suivi d'une détérioration mentale avec anxiété, insomnie, asthénie, anorexie et confusion ; à ce stade, la symptomatologie neurologique associe un syndrome cérébelleux, des troubles visuels et des paresthésies d'un hémicorps ; la phase d'état est caractérisée par un syndrome démentiel sévère, des myoclonies intermittentes puis permanentes intéressant la face et les membres, un syndrome pyramidal et cérébelleux, une atteinte des nerfs crâniens ; des crises convulsives précédant un coma profond ; la mort survient après quelques mois d'évolution ; seuls 10 à 15 % des patients ont une survie à 2 ans. La MCJ familiale (10 à 15 % des cas de MCJ) s'apparente à une maladie génétiquement transmise ; l'âge de début est plus précoce (entre 40 et 50 ans) et l'évolution clinique plus longue (15 à 23 mois). La MCJ iatrogène a été observée à la suite de l'implantation d'électrodes cérébrales insuffisamment stérilisées, de greffes de cornée, de tympan, de dure-mère et de l'utilisation d'hormone de croissance extractive à partir d'hypophyses de cadavres (pratique abolie en 1988). La vMCJ est liée à la consommation de bœuf atteint d'ESB ; cette nouvelle forme de la maladie présente des caractères différentiels de la MCJ sporadique ; des informations complémentaires sur la vMCJ sont présentées dans le chapitre sur les virus émergents (chapitre 27).

## F. Insomnie fatale familiale et GSS

Ce sont des maladies à déterminisme génétique ; le GSS se caractérise par des troubles de la marche et une démence.

### III. PROPRIÉTÉS BIOLOGIQUES ET BIOCHIMIQUES DES AGENTS INFECTIEUX INCRIMINÉS ; TRANSMISSION EXPÉRIMENTALE ET FACTEURS GÉNÉTIQUES

#### A. Propriétés biologiques

Le ou les agent(s) incriminé(s) entraîne(nt) des affections dont les propriétés sont les suivantes :

- l'incubation est de plusieurs mois ou années ;
- l'évolution est progressive et toujours fatale ;

- il n'y a pas de réponse inflammatoire, pas d'altération des protéines du LCR, pas de structures virales observables en microscopie électronique, pas d'antigène nouveau donc pas de synthèse d'anticorps spécifique, pas d'acide nucléique infectieux démontrable, pas de synthèse d'interféron, pas de modification physiopathologique par immunostimulation ou immunodépression.

## B. Propriétés biochimiques

Les travaux les plus nombreux ont concerné la tremblante ; en effet, l'agent de la tremblante a pu être transmis à diverses espèces animales : mouton, chèvre, rat, hamster, vison, singe et souris ; ce dernier animal est le plus intéressant pour l'étude expérimentale car l'incubation est de 4 à 6 mois et l'évolution de la maladie d'environ 6 semaines.

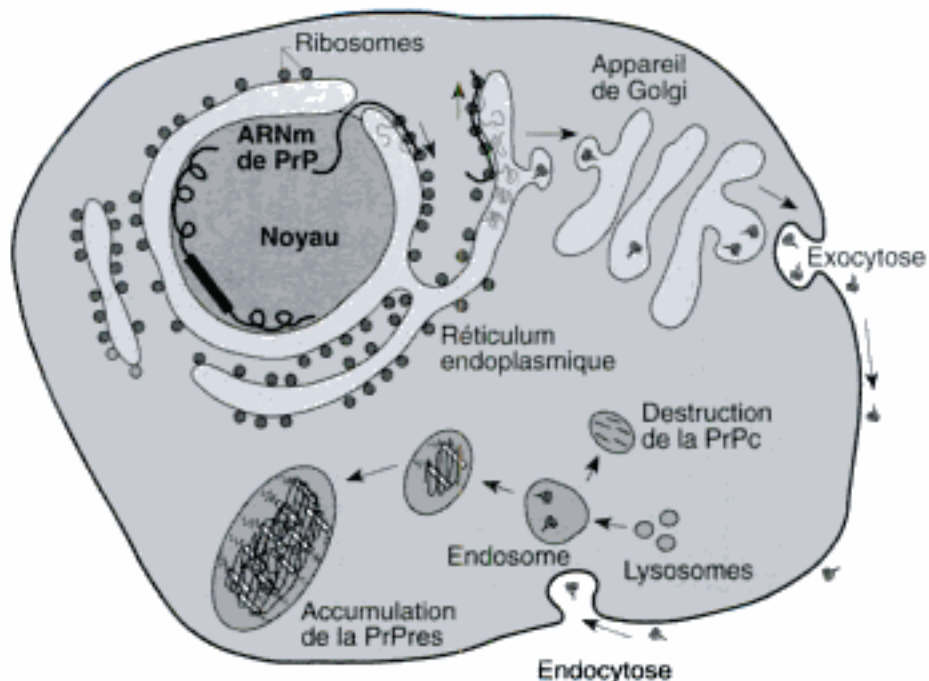
Après l'inoculation de l'agent de la tremblante par voie SC à la souris, l'activité infectieuse est retrouvée dans les ganglions, la rate, le thymus puis le SNC (moelle épinière et cerveau) ; ainsi, l'agent infectieux se localise précocement dans le tissu lymphoréticulaire avant de gagner le SNC ou les titres infectieux augmentent jusqu'aux signes cliniques ; les titres atteints dans le SNC sont très élevés, de l'ordre de 10 milliards de doses létales 50 (DL50) par gramme de tissu cérébral.

L'infection expérimentale chez la souris met en évidence le délai d'incubation qui dépend de la dose, de la voie d'inoculation (SC versus IC) mais aussi du génotype de la souris. La purification de fractions infectieuses à partir de cerveaux d'animaux infectés permet de mieux caractériser l'agent de la tremblante : sa taille est de 15 à 40 nm, il résiste à une chaleur de 100 °C pendant 30 minutes, au formaldéhyde, au glutaraldéhyde, aux rayonnements  $\gamma$  et UV ainsi qu'aux nucléases ce qui indique que cet agent infectieux serait dépourvu d'acide nucléique ; en revanche, il est sensible à la soude, à l'eau de Javel, à l'urée 6 M, au phénol et à une chaleur de 136 °C pendant 18 minutes. L'activité infectieuse est associée à une protéine de 27 à 30 kD résistante à la protéinase K (*Proteinase resistant protein* [PrP]) ; cette protéine est une protéine normale de l'hôte ; elle est présente dans certaines cellules et en particulier dans les neurones ; on l'appelle PrP-c (c : cellulaire) ; la maladie est liée à l'accumulation dans les neurones d'une isoforme anormale de PrP-c définie par sa résistance à la protéinase K et appelée PrP-res ; l'accumulation de PrP-res dans le neurone va induire une fusion des lysosomes avec de larges vacuoles et la mort neuronale ; des dépôts extracellulaires peuvent être observés dans le SNC et correspondent à ce que l'on appelle les plaques amyloïdes. Dans l'hypothèse qui prévaut actuellement, l'agent infectieux (PrP-res) est donc une protéine infectieuse dépourvue d'acide nucléique : le prion.

La PrP-c est une protéine bien conservée chez les mammifères (peu de différences de taille et de séquence) ; après sa synthèse (fig. 23.1), elle est transportée dans le réticulum endoplasmique puis exportée vers la membrane cellulaire ; elle est ensuite internalisée et dégradée dans les lysosomes ; elle existe sous trois formes : non glycosylée, monoglycosylée et diglycosylée ; son rôle n'est pas connu. PrP-c est codée par le gène *Prnp* qui, chez l'homme, est présent sur le bras court du chromosome 20 ; la séquence codante correspond au deuxième exon ; des mutations dans le gène *Prnp* sont associées aux maladies familiales.

La PrP-c a une structure V spatiale (fig. 23.2) avec une plus grande proportion d'hélices  $\alpha$  que de feuillets  $\beta$  ; au contraire, PrP-res a une plus grande proportion de feuillets  $\beta$ . La demi-vie de PrP-c est de 6 heures et celle de PrP-res de 15 heures. La PrP-c se convertit en PrP-res après l'infection par

► **Fig. 23.1.** Circulation de la PrP-c dans la cellule (dessin de V. Rolland). ►



le prion ; l'interaction entre PrP-res et PrP-c entraîne une *trans*-conformation de la protéine normale en protéine pathologique puis un processus autocatalytique.

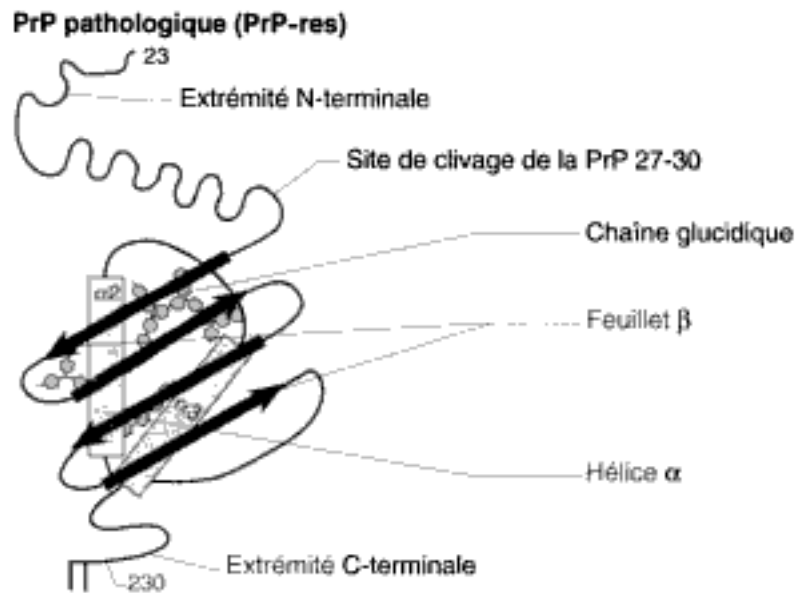
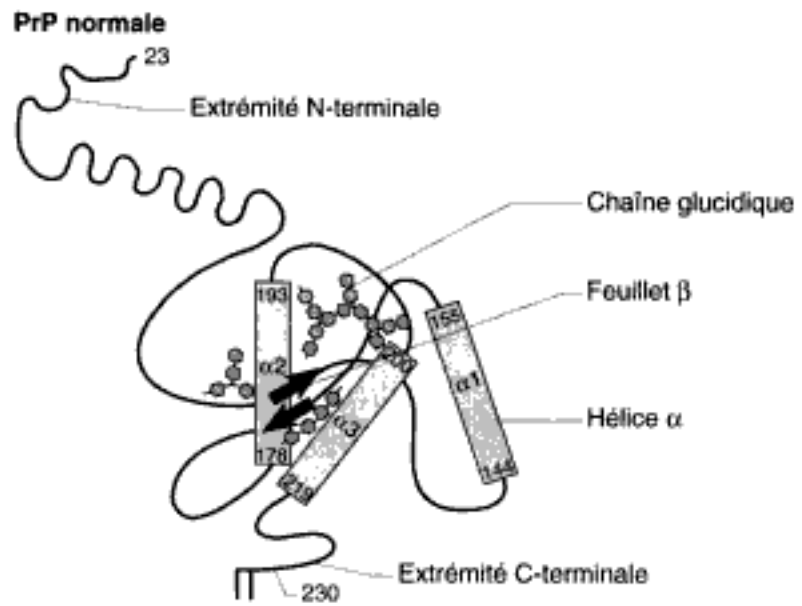
### C. Transmission expérimentale et facteurs génétiques

La transmission interspèces est possible ; cependant, le gène *Prnp* est associé à la barrière d'espèce et à la susceptibilité individuelle ; des souris exprimant le gène *Prnp* de hamster sont peu infectables par l'agent murin mais très sensibles à l'agent du hamster ; des souris dites *knock-out* (n'exprimant pas de PrP) ne sont pas sensibles aux différents agents. Les ESST ont donc un double déterminisme infectieux et génétique.

Chez l'homme, il a été possible de mettre en évidence des mutations du gène *Prnp* dans les formes familiales d'ESST ; ainsi, l'insomnie fatale familiale est associée à une mutation du codon en position 178 ; une mutation en position 200 est de même associée à la forme familiale de la MCJ. Le gène *Prnp* présente un polymorphisme au codon 129 ; la population générale est à 50 % homozygote pour ce codon (Met/Met ou Val/Val) et à 50 % hétérozygote (Met/Val) ; or, la grande majorité des patients présentant une MCJ sporadique ou iatrogène est homozygote ; la quasi-totalité des patients avec une vMCJ (plus de 100 cas) en Grande-Bretagne sont également homozygotes. L'acide aminé en position 129 de la PrP joue un rôle déterminant pour la susceptibilité à la maladie.

► **Fig. 23.2.** Structures spatiales de PrP-c et de PrP-res (dessin de V. Rolland).

Avec des séquences primaires en acides aminés qui sont identiques, on voit que les deux protéines ont une structure spatiale différente, la PrP-res (qui correspond au prion) ayant une plus grande proportion de feuillets  $\beta$  que d'hélices  $\alpha$ . Au contact de PrP-res, PrP-c subit une *trans*-conformation et devient à son tour PrP-res ; PrP-res résiste à la protéinase K et s'accumule dans la cellule. ►



## IV. EXAMENS DE LABORATOIRE POUR LE DIAGNOSTIC DE LA MCJ

Avant le décès du patient, l'électroencéphalogramme présente des anomalies transitoires pseudopériodiques qui surviennent sur un ralentissement général. Tardivement, l'imagerie cérébrale objective une atrophie corticale et sous-corticale.

Un marqueur intéressant est représenté par la protéine 14-3-3 qui est libérée dans le LCR à la suite de la mort neuronale ou astrocytaire ; cette protéine est mise en évidence par *western blot* sous la forme d'une bande de 30 kDa. Après avoir éliminé les autres pathologies susceptibles d'entraîner la présence de 14-3-3 dans le LCR (encéphalite herpétique, accident vasculaire cérébral, métastases cérébrales), la spécificité de ce marqueur pour la MCJ est très éle-

vée. Dans la mesure où la MCJ sporadique, iatrogène et la vMCJ sont associées à une homozygotie au codon 129 du gène *Prnp* on peut mener, dans un laboratoire de virologie spécialisé, une étude génétique à partir des cellules sanguines du patient.

Lorsque le patient est décédé, on réalise le diagnostic de certitude ; celui-ci repose sur l'étude histopathologique du cerveau et sur la mise en évidence de PrP-res dans les fragments cérébraux correspondants.

## A. Histopathologie

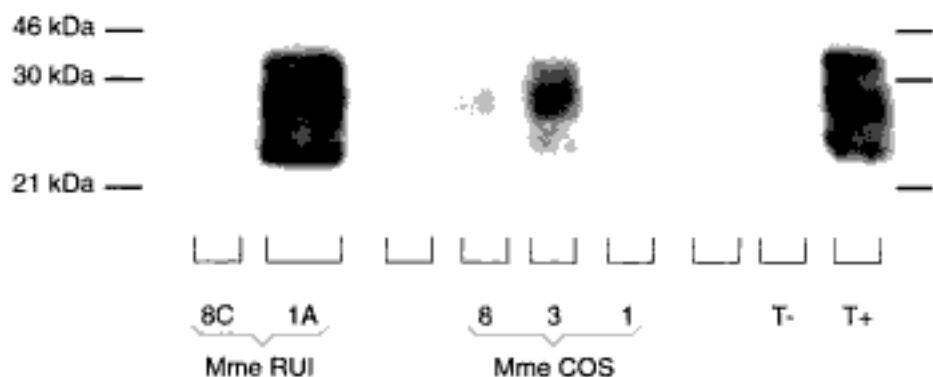
Comme cela a déjà été indiqué, on cherche à objectiver une spongiose cérébrale avec déperdition neuronale et gliose astrocytaire dans le cortex cérébral, le cervelet et les noyaux gris.

## B. Détection de PrP-res

Les fragments nécropsiques correspondant à l'étude histopathologique subissent une extraction protéique puis une digestion par la protéinase K avant ultracentrifugation ; le culot est soumis à une électrophorèse ; les protéines sont transférées sur nitrocellulose ; on traite par un anticorps anti-PrP humaine (anticorps monoclonal de souris) puis par un anticorps anti-anticorps de souris marqué à la peroxydase ; on révèle après addition du substrat chimiluminescent de la peroxydase et autoradiographie. On distingue trois bandes entre 21 et 30 kDa (fig. 23.3). Le profil des bandes permet de différencier les différentes formes de MCJ et en particulier de différencier la vMCJ de la MCJ sporadique. À propos de la vMCJ, il convient d'indiquer que sa physiopathologie diffère de celle de la MCJ sporadique ; en effet, l'accumulation du prion n'est pas limitée au SNC ; elle concerne aussi les ganglions, les amygdales et l'intestin ; dès lors, certains cas de vMCJ ont été diagnostiqués avant le décès du patient par la mise en évidence de PrP-res dans un prélèvement biopsique d'amygdale.

► **Fig. 23.3.** Détection de PrP-res dans le cerveau d'un patient atteint de MCJ.

Les protéines sont extraites d'un fragment de cerveau de patient suspect de MCJ ; elles sont ensuite traitées par la protéinase K, soumises à une électrophorèse et transférées sur une feuille de nitrocellulose ; on ajoute alors des anticorps anti-PrP dont la fixation sur la cible protéique est révélée par autoradiographie. La PrP observée sous forme de bandes entre 21 et 30 kDa correspond à PrP-res puisqu'elle a résisté à la protéinase K ; elle signe de façon certaine le diagnostic de MCJ. (Manipulation et cliché : Ponty-Ferran C, laboratoire de virologie, CHU de Bordeaux.) ►



## V. EXISTE-T-IL DES PERSPECTIVES THÉRAPEUTIQUES ?

Fin 2008, il n'existe pas de traitement des ESST et en particulier de la MCJ. La recherche repose en partie sur des modèles *in vitro* et sur des expérimentations de biophysique pour comprendre comment la PrP<sup>res</sup> entraîne une *trans*-conformation de PrP<sup>c</sup>. Les anticorps anti-PrP<sup>c</sup> pourraient être une voie de recherche thérapeutique car leur fixation sur PrP<sup>c</sup> empêcherait la *trans*-conformation de la protéine normale sous l'effet du prion.

### ① **Points clés**

Les prions, nouvelle catégorie d'agents infectieux correspondant à une protéine dépourvue d'acide nucléique, sont responsables des encéphalopathies spongiformes subaiguës chez les animaux et chez l'homme. La plus connue chez l'homme est la maladie de Creutzfeldt-Jakob.

# Diagnostic virologique des méningo-encéphalites et des encéphalopathies spongiformes subaiguës

24

I. MÉNINGITES VIRALES  
II. MÉNINGO-ENCÉPHALITES AIGUËS

III. MÉNINGO-ENCÉPHALITES SUBAIGUËS  
ET CHRONIQUES 200

## Item

Item 96. Méningites infectieuses et méningo-encéphalites.

De nombreux agents viraux peuvent être responsables de méningo-encéphalites. Les principaux virus responsables sont cités et les grandes lignes de leur diagnostic virologique sont décrites. Chemin faisant, on retiendra que le diagnostic virologique doit toujours être orienté par le contexte clinique et que, si les étiologies évoquées en Europe sont relativement limitées, elles sont par contre beaucoup plus nombreuses en zone tropicale.

## INTRODUCTION

Notre propos n'est pas de détailler les aspects cliniques des méningo-encéphalites virales mais de broser un tableau des agents viraux responsables et d'indiquer les principales méthodes du diagnostic virologique.

Les **méningites virales** sont des méningites lymphocytaires aiguës débutant brusquement par de la fièvre et des signes d'irritation méningée faisant parfois suite à une angine, un malaise général ou apparaissant dans un contexte viral qui peut déjà permettre une orientation (par exemple, les oreillons). Le LCR est hypertendu, clair ; il contient des lymphocytes (avec, au début, des polynucléaires non altérés) ; sucre et chlorures sont normaux ; l'albuminorachie est modérément augmentée.

Les **encéphalites** : leur classification est complexe ; schématiquement, elles peuvent être aiguës ou subaiguës et chroniques. Parmi les encéphalites aiguës, on différencie celles qui relèvent d'une action directe du virus (lésions neuronales dues à l'effet cytopathogène, infiltration lymphomonocytaire, prolifération de la microglie) de celles dites post-infectieuses qui sont liées à une réaction immunoallergique (avec infiltration lymphoplasmocytaire et démyélinisation périveineuses) et qui sont des complications retardées de certaines viroses (rougeole, varicelle).

## I. MÉNINGITES VIRALES

### A. Entérovirus

Les entérovirus sont composés de virus poliomyélitiques, *Coxsackie* et echo-virus. Dans notre pays, ils sévissent plus particulièrement du printemps à l'automne et sont responsables de méningites lymphocytaires aiguës estivales avec, par ordre décroissant de fréquence étiologique, *Coxsackie*, echo et polio. L'isolement viral est réalisé à partir de la gorge (surtout au début de l'évolution clinique), du LCR, mais surtout à partir des selles où l'excrétion virale peut être prolongée (2 à 3 semaines). On utilise des cellules en lignée continue et on cherche à mettre en évidence un effet cytopathogène révélateur (inclusion intracytoplasmique repoussant le noyau cellulaire après coloration à l'hémalun-éosine) qui peut apparaître en 24 heures (polio) ou plus lentement. Les *Coxsackie* sont subdivisés en *Coxsackie* A et B ; si les *Coxsackie* B sont isolables en cultures cellulaires, l'isolement des *Coxsackie* A nécessite une inoculation intracérébrale au souriceau nouveau-né.

Les virus ainsi isolés peuvent être « identifiés » par neutralisation avec des sérums immuns spécifiques. Dans le cas des souches de virus poliomyélitiques, il peut être indispensable de déterminer l'origine vaccinale ou sauvage de l'isolement ; les tests classiques d'identification intratypique (*Rct 40*, par exemple) sont maintenant primés par l'identification d'épitopes spécifiques à l'aide d'anticorps monoclonaux.

Le diagnostic sérologique doit permettre d'objectiver l'ascension du titre des anticorps dans deux échantillons de sérum prélevés l'un au début de la maladie, l'autre dix jours plus tard. Cette recherche est rendue difficile par l'existence d'une spécificité de type des entérovirus et l'impossibilité qu'il y aurait de pratiquer en routine de très nombreuses déterminations sérologiques ; classiquement, on utilise les antigènes spécifiques polio 1, 2 et 3 et un antigène de « groupe » artificiel puisqu'obtenu par mélange des entérovirus les plus fréquemment rencontrés. La réaction de déviation du complément est la plus utilisée.

En pratique, ces techniques ont actuellement tendance à devenir historiques ou limitées à des centres de référence ; le relais est pris par des PCR en temps réel qui amplifient un fragment génomique commun à différents entérovirus d'intérêt. L'extraction des acides nucléiques (ici ARN) est réalisée de façon automatique puis suivent la retrotranscription et l'amplification avec un résultat qui peut être rendu dans les 4 heures et au plus tard dans la journée.

### B. Virus des oreillons (*Myxovirus parotidis*)

Appartenant à la famille des *Paramyxoviridae*, le virus des oreillons est responsable de 10 à 15 % des méningites lymphocytaires. L'atteinte méningée apparaît dans un contexte clinique évocateur. On cherchera à isoler le virus du LCR et des urines, l'isolement à partir de la salive et du sang étant plus indiqué au début de l'évolution de la maladie.

La culture est réalisée sur des cellules humaines en lignée continue, voire sur des cellules diploïdes ; le virus est mis en évidence par hémadsorption (HAD) de globules rouges de poule, par son effet cytopathogène (apparition de syncytia avec des inclusions éosinophiles intracytoplasmiques) ou par hémagglutination (HA).

On identifie le virus ourlien par inhibition de l'HAD ou de l'HA à l'aide d'un antisérum spécifique. On peut également neutraliser l'effet cytopathogène ou pratiquer une réaction d'immunofluorescence sur les cellules infectées.

La mise en évidence d'anticorps spécifiques peut se faire par déviation du complément ; on recherche une séroconversion ou une augmentation significative du titre des anticorps sur deux sérums. Les méthodes immuno-enzymatiques (ELISA) peuvent également être employées ; elles permettent notamment la mise en évidence d'IgM spécifiques qui témoignent d'une primo-infection récente. Là aussi, le diagnostic est maintenant réalisable par PCR temps réel à partir du LCR.

### C. Chorioméningite lymphocytaire (CML)

Ce virus appartient à la famille des *Arenaviridae* dont d'autres membres sont associés à de redoutables fièvres hémorragiques en Amérique du Sud (Junin, Machupo) et en Afrique (fièvre de Lassa). La CML est une zoonose transmise accidentellement à l'homme à partir de rongeurs porteurs chroniques (souris domestique, hamster).

Le diagnostic virologique se pose devant un tableau de méningite aiguë à liquide clair, plus rarement de méningomyélite ou de méningo-encéphalite, parfois de syndrome pseudogrippal avec possibles signes de localisation pulmonaire. Des malformations congénitales ont été décrites. Le virus est isolable du LCR mais surtout du sang (jusqu'à 3 semaines après le début de la maladie) sur cultures cellulaires et/ou sur souris adultes par voie intracérébrale. L'antigène extrait du cerveau de souris est identifié par déviation du complément avec un antisérum spécifique.

Les anticorps apparaissent tardivement et il est utile de tester trois sérums (précoce, tardif trois semaines plus tard et très tardif) par déviation du complément (les titres restant peu élevés avec un maximum de 1:64) ou par immunofluorescence indirecte ; dans cette dernière réaction, les anticorps sont détectés plus précocement et les titres obtenus sont plus élevés (1:512).

### D. Virus d'Epstein-Barr (EBV)

Appartenant à la vaste famille des herpesvirus humains (*Herpes simplex virus* types 1 et 2, varicelle-zona, cytomégalovirus, herpesvirus humain 6, HHV-6) l'EBV est responsable de la mononucléose infectieuse (MNI) et est associé au lymphome de Burkitt africain et au carcinome du nasopharynx.

Transmis de façon horizontale par la salive, l'EBV infecte la quasi-totalité des humains, le plus souvent de façon asymptomatique. Chez l'adolescent ou le jeune adulte, la primo-infection peut être symptomatique et la MNI associée alors fièvre, adénopathies et rash ; les complications d'ordre neuroméningé ou hépatique sont rares.

Le diagnostic virologique repose sur la détection des anticorps spécifiques par immunofluorescence sur des lignées lymphoïdes ; la présence d'IgM anti-VCA (*Viral capsid antigen*) traduit une infection récente ; ces IgM sont relayées par les IgG anti-VCA cependant qu'apparaîtront les anticorps anti-EBNA (*Epstein-Barr nuclear antigen*).

Les méthodes moléculaires permettent de quantifier l'ADN viral dans différents compartiments, sang total et LCR.

### E. West Nile

Ce virus représente un problème pour l'instant marginal, du moins en France où il est cependant rencontré en Camargue, mais il est intéressant à signaler car il appartient aux arbovirus (*Arthropod-borne virus*), vaste ensemble de virus

Hidden page

Hidden page

## B. Virus de la rage

Transmis accidentellement à l'homme par un animal infecté, le virus rabique entraîne une méningo-encéphalite mortelle après une incubation moyenne d'environ 40 jours.

Le diagnostic d'infection rabique est porté chez l'animal mordeur. Lorsqu'il s'agit d'un chien non vacciné, celui-ci doit être soumis à une surveillance vétérinaire de 15 jours. Son comportement entraînera ou pas la vaccination curative du patient. Lorsque l'animal suspect est mort, on recherche les corps de Négri (coloration de Sellers et immunofluorescence) dans la corne d'Ammon, le cervelet, le bulbe et les glandes salivaires. On inocule également des souriceaux par voie intracérébrale ; cette technique tend maintenant à être supplantée par la mise en culture sur cellules (MRC5 par exemple) et la détection des antigènes viraux par immunofluorescence. Le diagnostic virologique de rage chez l'homme confirme l'étiologie de l'encéphalite mais la situation est alors au-dessus de toute possibilité thérapeutique. Chez le sujet vivant, on peut rechercher le virus par immunofluorescence sur empreintes de cornée ; on mettra également en culture la salive et le LCR. L'ELISA permet de détecter des IgM antirabiques dès les deux premiers jours de l'évolution clinique.

Chez le sujet décédé, le diagnostic est établi comme décrit ci-dessus pour l'animal.

## C. Arbovirus

Regroupant, on l'a vu précédemment, un nombre important de virus appartenant à des familles différentes, ils peuvent être associés à des méningo-encéphalites, surtout en zone tropicale. Les virus que nous présenterons brièvement ici appartiennent aux *Togaviridae*, aux *Flaviviridae* et aux *Bunyaviridae*.

### 1. *Togaviridae*

Le virus chikungunya, les virus des encéphalites équine (EEE, WEE, VEE), tous transmis par des moustiques, peuvent être associés à des atteintes encéphalo-méningées.

### 2. *Flaviviridae*

On peut citer les virus de l'encéphalite japonaise, de l'encéphalite de Saint-Louis, de l'encéphalite de la Murray Valley transmis par des moustiques.

En Europe et en Asie centrales, des flavivirus transmis par des tiques sont responsables de l'encéphalite européenne à tiques (qui est décrite en Alsace) et de l'encéphalite verno-estivale russe.

### 3. *Bunyaviridae*

On peut citer notamment le virus de l'encéphalite de Californie ainsi que le virus Tahyna. Le virus Crimée-Congo, responsable d'une fièvre hémorragique, entraîne dans 10 à 25 % des cas une atteinte du système nerveux central. Le virus de la fièvre de la vallée du Rift peut être associé à une encéphalite et une rétinite.

Le diagnostic des arbovirus a déjà été évoqué à propos du virus West Nile ; rappelons la difficulté d'interprétation des sérologies dans le cas des *Flaviviridae*. Rappelons une fois encore que les techniques moléculaires faisant appel à l'extraction et l'amplification des acides nucléiques viraux remplacent progressivement les techniques plus anciennes reposant sur l'isolement viral à l'animal ou en culture ainsi que sur l'étude de l'émergence et de la cinétique des anticorps.

## D. Rougeole

La méningo-encéphalite aiguë rougeoleuse survient après l'exanthème ; il s'agit d'une encéphalite de type périveineux avec localisation préférentielle des lésions dans les zones périventriculaires et les méninges. La mortalité est de 10 %. Le contexte clinique permet d'évoquer le diagnostic. La confirmation diagnostique virologique comporte la mise en évidence des anticorps spécifiques sur deux prélèvements de sang par déviation du complément ou ELISA avec recherche des IgM. L'acide nucléique viral peut être recherché dans le LCR après extraction des acides nucléiques par amplification à l'aide de la PCR temps réel.

## E. Vaccine

L'encéphalite vaccinale est également de type périveineux ; il s'agit d'une leuco-encéphalite qui apparaît 8 à 15 jours après la vaccination.

## F. VIH-1

Le VIH-1 peut entraîner ce que l'on a appelé le complexe de démence (stade IVB du CDC) qui est lié à l'entrée de macrophages infectés dans le système nerveux central. Le virus ne se multiplie pas dans les neurones et le mécanisme physiopathologique repose sur des hypothèses (similitude entre la protéine gp120 du VIH-1 et une neuroleukine ?).

Le diagnostic virologique repose sur la recherche de l'ARN viral dans le LCR et sur l'isolement viral (LCR mis en contact de lymphocytes de sujets séronégatifs ; culture de 35 jours avec recherche de l'antigène p24 VIH-1 et de l'activité transcriptase inverse dans les surageants).

## G. Autres virus

Les entérovirus (poliovirus, Cocksackie, echovirus) peuvent déborder le cadre des méningites et être responsables de méningo-encéphalites.

Les adénovirus sont rarement associés à des encéphalites. Le diagnostic virologique repose alors sur la sérologie (recherche des anticorps de groupe en déviation du complément) et sur la mise en évidence du génome viral par PCR temps réel à partir du LCR mais aussi des selles.

Au cours d'infections respiratoires aiguës, notamment liées aux pandémies grippales, on décrit une encéphalopathie apparaissant plus particulièrement dans le cadre du syndrome de Reye.

### III. MÉNINGO-ENCÉPHALITES SUBAIGUËS ET CHRONIQUES

#### A. À virus conventionnels

##### 1. *Panencéphalite sclérosante subaiguë (PESS)*

Décrite sous le nom de leuco-encéphalite sclérosante subaiguë, la PESS est une complication tardive de l'infection rougeoleuse. L'étude en microscopie électronique d'une biopsie cérébrale permet d'observer des nucléocapsides hélicoïdales intranucléaires dans les cellules neuronales et gliales. L'immunofluorescence confirme leur identité rougeoleuse. Ces patients présentent dans le sérum des titres d'anticorps antirougeoleux très élevés qui doivent attirer l'attention ; des anticorps spécifiques sont également retrouvés dans le LCR par la méthode de déviation du complément.

##### 2. *Leuco-encéphalopathie multifocale progressive (LEMP)*

Décrite chez les sujets immunodéprimés, la LEMP est associée au virus JC appartenant aux polyomavirus. L'isolement à partir d'un prélèvement cérébral n'est possible que sur cellules cérébrales embryonnaires humaines mais n'est pas réalisé en dehors de laboratoires spécialisés. Le virus JC ayant une activité hémagglutinante, il est possible de rechercher des anticorps inhibant l'hémagglutination. De plus en plus souvent, comme nous l'avons souligné précédemment, le diagnostic virologique repose sur la biologie moléculaire ; on est ainsi amené à mettre en évidence par PCR l'acide nucléique du virus JC dans le LCR.

#### B. Agents transmissibles non conventionnels (ATNC)

Ils sont associés à un groupe d'affections du SNC appelées encéphalopathies spongiformes subaiguës transmissibles (ESST). Le chapitre 23 leur est consacré. Rappelons seulement ici que la principale ESST chez l'homme est la maladie de Creutzfeldt-Jakob (MCJ) dont il existe des formes familiale, sporadique, iatrogène et une forme plus récemment mise en évidence : vMCJ (nouveau variant MCJ) qui correspond à la contamination de l'homme par l'ATNC de l'encéphalopathie spongiforme bovine. On considère actuellement que les ATNC correspondent au « prion » c'est-à-dire à une protéine infectieuse dépourvue d'acide nucléique ; le prion est une isoforme d'une protéine cellulaire normale, la PrP<sup>c</sup> ; cette isoforme a une structure spatiale différente, elle est résistante à la protéinase K d'où son appellation de PrP<sup>res</sup> ; le diagnostic de la MCJ repose sur l'étude histopathologique du cerveau (présence d'une spongiose avec perte neuronale et prolifération astrocytaire) et sur la détection de PrP<sup>res</sup> dans le SNC. En amont de l'étude histologique et étiologique, nous disposons d'un marqueur d'orientation de qualité : il s'agit de la protéine 14-3-3 dans le LCR. La présence de cette protéine est très spécifique d'une MCJ notamment dans sa forme sporadique si l'on a éliminé d'autres causes (accident vasculaire cérébral, métastases cérébrales, infection virale aiguë). La détection de la 14-3-3 est réalisée par *western blot*.

Enfin, rappelons que le vMCJ n'est pas limité au système nerveux central et connaît une répartition périphérique ; on est ainsi amené, devant une suspicion de vMCJ, à rechercher PrP-res dans une biopsie d'amygdale.

### ① Points clés

Nombreux sont les virus qui peuvent induire une atteinte du système nerveux central pendant leur réplication. Citons les entérovirus, le virus de la rougeole, les oreillons, l'*herpes simplex*, les adénovirus, etc., ainsi que des arbovirus (West Nile). N'oublions pas la rage et les prions.

## 25

## Virus et cancers

I. RÉTROVIRUS  
II. PAPILLOMAVIRUS

III. HERPESVIRUS  
IV. VIRUS DES HÉPATITES

Des liens ont maintenant été établis entre des virus et certains cancers chez l'homme. Il est évident qu'une meilleure connaissance des interactions correspondantes pourrait avoir, dans un futur proche, des implications diagnostiques, pronostiques voire thérapeutiques.

## I. RÉTROVIRUS

Le HTLV-1 est un oncovirus associé chez l'homme à une leucémie à lymphocytes T CD4 (*Adult T-Cell Leukemia* [ATL]) ainsi qu'à une maladie neurologique appelée paraparésie spastique tropicale (*Tropical spastic paraparesis* [TSP] ou *HTLV-1-associated Myelopathy* [HAM]). L'infection par le HTLV-1 est endémique au Japon, dans les Caraïbes, à Taïwan, dans certaines zones d'Amérique centrale et d'Amérique du Sud, en Afrique subsaharienne. La transmission naturelle du HTLV-1 (hors transfusions sanguines et toxicomanie intraveineuse) se fait par voie sexuelle (hétérosexuelle et homosexuelle) et de la mère à l'enfant ; dans ce dernier cas, la contamination est principalement postnatale et associée à l'allaitement. Seuls 1 à 4 % des sujets infectés par le HTLV-1 vont développer une leucémie après une période de latence de plusieurs dizaines d'années. Les différents stades de la leucémie à lymphocytes sont évoqués dans le chapitre concernant le HTLV. Le HTLV-1 code une protéine Tax qui exercerait une fonction transformante sur la cellule en augmentant la transcription de gènes cellulaires tels *c-fos*.

## II. PAPILLOMAVIRUS

Ces virus, nombreux chez l'homme, infectent des tissus épithéliaux. L'infection aboutit généralement à des lésions tumorales bénignes comme les verrues. Cependant, certains types de papillomavirus humains (VPH-16 et 18), transmis par voie sexuelle, sont associés à des lésions pré malignes et des cancers anogénitaux, principalement du col utérin mais aussi de l'anus et de la vulve. Il est donc pertinent de rechercher systématiquement par PCR les ADN des papillomavirus les plus à risque d'être associés à des cancers, cet examen moléculaire venant en complément de la classique étude cytologique ; il faut cependant signaler que seule une partie des sujets infectés par VPH-16 ou VPH-18 va développer un cancer. Sur le plan physiopathologique, on considère à l'heure actuelle que des protéines virales, E6 et E7, interagissent avec les produits protéiques de gènes suppresseurs de tumeur (comme la protéine p53) et annulent ainsi, directement ou indirectement, leur fonction.

Plus récemment, une nouvelle association entre cancers et VPH (en particulier type 16) a émergé ; il s'agit des carcinomes épidermoïdes de l'oropharynx et plus particulièrement de l'amygdale.

### III. HERPESVIRUS

Deux virus sont associés à des cancers : le virus d'Epstein-Barr (EBV) et, de connaissance très récente, le virus associé au sarcome de Kaposi (*Kaposi sarcoma herpesvirus* [KSHV], encore appelé *Human herpesvirus 8*, HHV-8).

#### A. EBV

EBV est associé au lymphome de Burkitt et au cancer du nasopharynx ; il est suspecté dans la maladie de Hodgkin, les lymphomes non hodgkiniens, les lymphoépithéliomes thymiques, les carcinomes des glandes salivaires et les carcinomes urogénitaux. Chez les patients immunodéficients (VIH<sup>+</sup>, transplantés) EBV serait le responsable de lymphomes immunoblastiques.

##### 1. Lymphome de Burkitt

Il s'agit d'un lymphome B de haut grade avec translocation, généralement (8 ; 14), impliquant l'oncogène c-Myc. On décrit trois types de lymphome de Burkitt (LB) : le LB endémique, découvert en Afrique et également observé en Nouvelle-Guinée qui est associé au paludisme et dont les cellules tumorales portent des séquences d'ADN EBV ; le LB sporadique dont l'incidence est beaucoup plus faible, qui n'est pas associé au paludisme et dont les cellules tumorales portent rarement des séquences d'ADN EBV ; le LB associé à l'immunodépression par le VIH et pour lequel on retrouve de l'ADN EBV dans les cellules tumorales dans environ 50 % des cas. Le rôle d'EBV dans le LB n'est pas clair. Dans le LB endémique, la stimulation antigénique liée au paludisme pourrait favoriser la multiplication de lymphocytes B immortalisés par EBV et augmenter les chances statistiques d'une translocation (8 ; 14).

##### 2. Carcinome du nasopharynx

Décrite plus particulièrement en Chine du Sud et en Afrique du Nord, cette tumeur épithéliale héberge toujours des séquences d'ADN EBV. La genèse d'une telle tumeur associerait, outre EBV, des facteurs génétiques et environnementaux. Comme dans le LB, il y a expression de l'antigène viral EBNA1 mais également de deux antigènes de membrane ; l'un d'eux inhibe la différenciation de cellules épithéliales en culture et pourrait jouer un rôle dans l'oncogenèse.

##### 3. Lymphomes immunoblastiques

Ils apparaissent chez des sujets immunodéprimés (atteints de sida, transplantés de moelle osseuse ou de rein) dont la fonction lymphocytaire T est profondément perturbée. Toutes les tumeurs contiennent des séquences d'ADN EBV ; elles sont constituées de cellules lymphoblastoïdes semblables à celles qui sont immortalisées par EBV ; comme il n'y a pas d'instabilité caryotypique, on peut

Hidden page

Hidden page

## 26

## Vaccins antiviraux

- |   |   |
|---|---|
| I. VIRUS ET IMMUNITÉ                                  | V. CALENDRIER VACCINAL EN FRANCE  |
| II. VACCINS DISPONIBLES OU À L'ESSAI                  | VI. VACCINATIONS CIBLÉES ET À DESTINATION DES VOYAGEURS EN PAYS TROPICAUX |
| III. VACCINS DU FUTUR                                 |   |
| IV. PROBLÈMES PARTICULIERS DE LA VACCINATION ANTI-VIH |   |

**Item**

**Item 76. Vaccinations : bases immunologiques, indications, efficacité, complications.**

La vaccination préventive est le moyen le plus efficace de limiter, voire de supprimer la diffusion et/ou la circulation d'un agent infectieux viral à l'échelle d'une population humaine. La variole a été ainsi éliminée totalement de la planète grâce à l'utilisation d'un virus vivant atténué, la vaccine.

## I. VIRUS ET IMMUNITÉ

Lors d'une infection virale, les mécanismes de la réponse immunitaire peuvent être résumés de la façon suivante : des antigènes viraux circulants, dans leur configuration native, se fixent sur des récepteurs au niveau de lymphocytes B qui vont être activés de façon clonale. D'autres antigènes viraux vont être présentés par des cellules « accessoires » (monocytes-macrophages, cellules dendritiques, cellules de Kupffer, cellules de Langerhans) à des lymphocytes T sous forme de peptides associés à des molécules du complexe majeur d'histocompatibilité (CMH) ; les peptides exogènes qui proviennent de la dégradation des protéines virales sont présentés aux lymphocytes T CD4<sup>+</sup> avec le CMH de classe II ; les peptides endogènes (qui proviennent de la protéolyse de protéines synthétisées dans les cellules présentatrices) se lient à des molécules du CMH de classe I pour présentation aux lymphocytes T CD8<sup>+</sup> cytotoxiques (CTL). Il existe une coopération entre lymphocytes B et lymphocytes T CD4<sup>+</sup> activés ; ceux-ci, grâce aux cytokines IL-4, IL-5 et IL-6 entraînent la différenciation plasmocytaire des lymphocytes B et la sécrétion d'immunoglobulines (d'abord IgM puis IgG). De même, il existe une coopération entre lymphocytes T CD4<sup>+</sup> et lymphocytes T CD8<sup>+</sup>, les T CD4<sup>+</sup> produisant l'IL-2 nécessaire à la différenciation des T CD8<sup>+</sup> en effecteurs cytotoxiques. Ainsi, les T CD4<sup>+</sup> comporteraient les Th1 (*T helper 1*, T auxiliaires 1) et les Th2 (*T helper 2*, T auxiliaires 2) impliqués respectivement dans la réponse à médiation cellulaire (coopération T/T) et la réponse humorale (coopération T/B).

Pour entraîner une protection, le vaccin doit induire l'apparition d'anticorps, notamment neutralisants, ainsi qu'une réaction CTL aboutissant à la destruction des cellules infectées. Selon le vaccin utilisé, les réponses peuvent être différentes ; avec un vaccin vivant atténué, il y a une multiplication virale et la réponse immunitaire est humorale et cellulaire ; avec un vaccin inactivé ou des sous-unités protéiques, la réponse humorale est prépondérante ; on distingue une

réponse primaire lors de la première injection avec des IgM transitoires de faible affinité ; la répétition des injections entraîne une réponse secondaire avec des titres d'IgG et d'IgA plus élevés, de plus grande affinité et l'instauration d'une mémoire immunitaire.

## II. VACCINS DISPONIBLES OU À L'ESSAI

Il ne s'agit pas ici de présenter un calendrier des vaccinations mais de dresser la liste des vaccins antiviraux qui sont déjà utilisés ou qui sont en cours d'essais.

### A. Vaccins vivants

#### 1. Atténués

- Rougeole : on note 90 % de séroconversion ; en France, on vaccine à 12 mois ; en Afrique, il est recommandé de vacciner plus précocement (9 mois) ; la question se pose d'un rappel entre 6 et 12 ans.
- Rubéole : le pourcentage de séroconversion est proche de 100 %.
- Oreillons : en France, on utilise la souche Jeryl Lynn qui n'entraîne pratiquement jamais de syndrome méningé ; la séroconversion est de l'ordre de 90 %.  
En France, un vaccin associe les trois virus rougeole, oreillons et rubéole (ROR) et il est fortement recommandé d'utiliser ce vaccin combiné chez les nourrissons à 9 mois, 12 mois et entre 16 et 18 mois.
- Poliomyélite : le vaccin Sabin est trivalent ; le risque d'une réversion vers le type sauvage est rare mais elle a été décrite, essentiellement avec le type 3. Ce vaccin n'est pas disponible en France.
- Fièvre jaune : on utilise la souche 17D ; l'immunité est acquise 10 jours après la primo-vaccination et valable pendant 10 ans. Cette vaccination peut être effectuée à partir de l'âge de 9 mois ; la vaccination doit être évitée chez la femme enceinte ; en France, la vaccination contre la fièvre jaune est obligatoire pour les résidents du département de la Guyane française.
- Varicelle : la souche Oka a pour indication majeure l'enfant avec dépression immunitaire (leucémique, par exemple) ; la vaccination généralisée des enfants contre la varicelle à partir de 12 mois n'est pas recommandée à l'heure actuelle ; cette vaccination peut être entreprise chez des adolescents de 13 à 18 ans sans antécédent de varicelle clinique et après, si possible, un contrôle sérologique ; la conduite à tenir est la même chez des femmes sans histoire clinique de varicelle et qui ont un projet de grossesse.
- CMV : la souche Towne est testée chez des sujets devant recevoir une transplantation rénale avec 95 % de séroconversion.
- Rotavirus : Un vaccin vivant atténué contre les rotavirus est disponible mais la vaccination systématique chez les nourrissons de moins de 6 mois n'est pas recommandée en France à l'heure actuelle.
- Dengue : cette maladie représente la première cause de mortalité infantile dans le Sud-Est asiatique. Un vaccin comportant les quatre sérotypes est testé en Thaïlande. Des travaux de recherche sont entrepris pour la mise au point d'un vaccin qui utiliserait un vecteur vaccinal rougeoleux ayant intégré l'information génétique d'antigènes des différents sérotypes.

- Encéphalite japonaise : redoutable arbovirose liée à un flavivirus dont le réservoir est le porc et le vecteur un moustique. Un vaccin existe qui n'est accessible en France que dans le cadre d'une autorisation temporaire d'utilisation (ATU) 3 injections sont réalisées à J0, J7 et J30, la dernière injection devant être faite au moins 10 jours avant le départ vers une zone d'endémie.

## 2. Obtenus par mutagenèse dirigée

Des essais sont actuellement initiés avec des souches HSV-1 et HSV-2 présentant une délétion dans les gènes associés à la virulence.

## 3. Obtenus par recombinaison

Le ou les gène(s) codant le ou les antigène(s) d'intérêt vaccinal sont clonés dans un vecteur comme le virus de la variole du canari (*canarypox*) ; ce virus connaît chez l'homme une réplication abortive. Citons l'exemple du *canarypox* recombiné avec le gène de la glycoprotéine rabique.

# B. Vaccins inactivés

Les vaccins inactivés contiennent du virus complet ou des fractions antigéniques du virus correspondant. Ils sont inactivés chimiquement (par exemple, par la  $\beta$ -propiolactone) et sont utilisés avec un adjuvant destiné à renforcer le pouvoir antigénique (hydroxyde d'aluminium). Conservés à 4 °C, ils sont injectés par voie SC ou IM ; la tolérance est très bonne mais il y aura nécessité d'administrations répétées et/ou de rappels.

Citons les vaccins suivants :

- grippe. Le vaccin contre la grippe saisonnière comporte les souches préconisées par l'OMS (une B, deux A : H<sub>1</sub>N<sub>1</sub> et H<sub>3</sub>N<sub>2</sub>) et doit être utilisé à partir du mois d'octobre ; il faut élargir cette vaccination au-delà du contexte des personnes âgées et des patients avec une fragilité respiratoire et cardiovasculaire ; un effort doit être fait au niveau des collectivités notamment dans les structures de soins en intégrant les patients et les personnels médicaux et paramédicaux ;
- hépatite A. La vaccination contre l'hépatite A doit être proposée chez les enfants de plus d'un an et les adultes non immunisés (négativité pour les immunoglobulines totales anti-VHA) voyageant en zone d'endémie ;
- poliomyélite. En France, le vaccin inactivé injectable est le seul recommandé et disponible ; il est associé aux vaccins antidiphtérique et antitétanique ; chez le nourrisson, la vaccination comporte 3 doses de vaccin à partir de l'âge de deux mois avec un mois d'intervalle entre chaque injection ; un rappel est effectué entre 16 et 18 mois ; des rappels sont ensuite effectués à 6 ans, entre 11 et 13 ans puis tous les 10 ans ;
- rage ;
- hépatite B : on a d'abord vacciné avec de l'Ag HBs provenant de plasma de porteurs chroniques ; on notait 95 % de séroconversion. On a ensuite utilisé de l'antigène HBs obtenu par recombinaison et produit dans la levure puis dans les cellules CHO (*Chinese hamster ovary*) ; dans ce dernier cas, le vaccin contient des déterminants antigéniques de la région pré-S ; les anticorps anti-pré-S ont une action plus précoce ; en outre, ce vaccin permet une réponse chez certains sujets qui ne répondent pas au vaccin conventionnel. On a d'abord vacciné les populations à risques

(personnels de santé, homosexuels, toxicomanes, immunodéprimés, nouveau-nés de mère VHB<sup>+</sup>). Aucune étude de grande envergure n'a pu montrer une association entre vaccination contre l'hépatite B et sclérose en plaques ; les recommandations sont de vacciner tous les enfants avant l'âge de 13 ans en privilégiant la vaccination du nourrisson (se référer au tableau vaccinal 2008) ; si la vaccination contre l'hépatite B n'a pas été entreprise dans l'enfance, un schéma complet peut être proposé à l'adulte avec deux injections à un mois d'intervalle, la troisième pouvant être réalisée 5 à 12 mois après la seconde ;

- papillomavirus. La vaccination contre certains HPV a débuté ; elle a pour but, lorsqu'elle est réalisée chez la jeune fille, de la protéger contre les infections sexuelles par les HPV correspondants et de prévenir ainsi le développement d'infections chroniques menant aux dysplasies puis aux cancers du col utérin ainsi qu'aux infections pouvant mener au papillome laryngé juvénile. Ce vaccin fait appel à des peptides L1 qui sont des peptides de la protéine de capsid ; ces peptides s'assemblent en capsomères puis en pseudocapsides qui portent donc les antigènes spécifiques entraînant la synthèse d'anticorps neutralisants. L'un des deux vaccins est bivalent et contient des antigènes HPV-16 et 18 ; l'autre est tétravalent et s'adresse aux HPV-6, 11, 16 et 18. La vaccination HPV est recommandée aux jeunes filles de 14 ans ; pour les jeunes filles et jeunes femmes de 15 à 23 ans, le vaccin peut être proposé à celles qui n'ont pas eu de rapports sexuels ou qui sont dans la première année de leur vie sexuelle.

### III. VACCINS DU FUTUR

On peut estimer que de plus en plus on utilisera des vaccins recombinants, des vaccins peptidiques (synthèse chimique d'épitopes B et d'épitopes T), des vaccins vivants réassortis ou recombinés (par exemple, *canarypox-rage*).

Une autre stratégie vaccinale se dessine : les vaccins ADN ; on introduit directement dans l'organisme des séquences de gène codant l'antigène vaccinal, ces séquences étant portées par un plasmide vecteur qui ne se multiplie pas.

### IV. PROBLÈMES PARTICULIERS DE LA VACCINATION ANTI-VIH

Les obstacles à la vaccination anti-VIH sont nombreux :

- il existe deux virus, VIH-1 et VIH-2 ;
- on décrit à l'intérieur de ces virus des sous-types génotypiques ; en ce qui concerne le VIH-1, on note deux groupes M et O, le groupe M hébergeant des sous-types A à K ainsi que des formes recombinantes circulantes (CRFs) qui sont au nombre de 43 en novembre 2008. D'un sous-type à l'autre, on assiste à une variabilité des protéines de surface (gp120 et gp41), plus particulièrement au niveau de la boucle V3 (déterminant principal de la neutralisation). On peut donc craindre que la neutralisation croisée entre les virus soit trop faible pour justifier l'utilisation d'une protéine de surface d'un sous-type unique de VIH-1 (par exemple B) comme immunogène vaccinal ;

- le rôle de la réponse CTL a été clairement démontré lors des études menées sur la période de primo-infection ; en effet, la réduction du niveau de charge virale qui accompagne l'entrée dans la phase chronique est concomitante de la réponse CTL alors que les anticorps neutralisants apparaissent plus tard. Ainsi, il est logique d'utiliser des épitopes CTL qui ont été identifiés dans les régions génomiques gag, pol et nef pour la vaccination. Cependant, la réponse CTL ne peut apparaître que si ces épitopes sont synthétisés dans les cellules présentatrices puis présentés en association avec des antigènes du HLA de type I. Il faut donc utiliser des vecteurs recombinants comme le canarypox qui effectuent un début de réplication avec synthèse et présentation des épitopes correspondants aux régions génomiques virales clonées. L'Agence nationale de recherche sur le sida (ANRS) a utilisé une technique originale : elle a synthétisé les peptides CTL gag, pol et nef en leur greffant un lipide, les lipopeptides étant internalisés par les cellules présentatrices puis présentés aux cellules effectrices avec les antigènes HLA I. Des essais de phases I et II ont été initiés avec des vecteurs ou des lipopeptides mais aucune construction n'a jusqu'ici fait la preuve de son intérêt pour un essai de phase III (protection). On peut facilement comprendre que cette stratégie se heurte à une double variabilité : celle des épitopes viraux (polymorphisme des souches) et celle des haplotypes HLA selon la génétique des populations ;
- le mode de contamination majeur est transmuqueux et peu d'éléments sont disponibles pour espérer induire des IgA sécrétoires ;
- il n'existe pas de modèle animal totalement satisfaisant ; un des derniers modèles étudiés est le macaque infecté par le SHIV-1 (SIV possédant le gène *env* du VIH-1).

**Note**

Deux essais d'importance ont été menés dans le monde qui concernaient une phase III c'est-à-dire une recherche de protection. Le premier essai a été réalisé en Thaïlande avec des protéines de surface gp120 de sous-type B et de CRF01\_AE (les deux souches dominantes dans ce pays) ; le deuxième a été réalisé aux États-Unis et en Amérique du Sud avec un adénovirus recombinant hébergeant le gène gag d'un VIH-1 sous-type B. Dans les deux cas, il y a eu autant de cas de sujets infectés dans les bras vaccinaux que dans les bras placebo.

## V. CALENDRIER VACCINAL EN FRANCE

Une version du calendrier vaccinal 2008 (extrait du *Bulletin épidémiologique hebdomadaire* de la République française, 2008, n°16-17) est présentée ci-après (tableau 26.1).

On peut faire les commentaires suivants : la vaccination contre la grippe est recommandée pour les sujets de plus de 65 ans ainsi que pour les professionnels de santé. La vaccination contre l'hépatite B est recommandée pour les nourrissons, les adolescents et les personnes qui présentent des risques individuels de contamination par ce virus ; le schéma vaccinal est de 3 injections de type 0-1-6 mois. La vaccination ROR doit être administrée avant 2 ans avec une deuxième dose avant 6 ans. Chez les adolescentes et les jeunes femmes non vaccinées, la vaccination antirubéolique est recommandée en s'assurant de l'absence de grossesse débutante au moment de la vaccination et dans les deux mois qui suivent. La vaccination antipoliomyélitique est réalisée avec du virus vaccinal tué, le vaccin vivant étant réservé à des situations épidémiques.

**Tableau 26.I. Calendrier des vaccinations 2008 (tableau synoptique).**

Âge	Vaccins									
	BCG	Diphtérie Tétanos	Polio	Coqueluche	Hib	Hépatite B	Pneumocoque	Rougeole Oreillons Rubéole	Papilloma virus humain	Grippe
Naissance						Hep B <sup>1</sup>				
2 mois		DT	Polio	Ca <sup>4</sup>	Hib	Hep B <sup>1</sup>	Ph2 <sup>2</sup>			
3 mois		DT	Polio	Ca <sup>4</sup>	Hib	Hep B <sup>1</sup>	Ph2 <sup>2</sup>			
4 mois		DT	Polio	Ca <sup>4</sup>	Hib	Hep B <sup>1</sup>	Ph2 <sup>2</sup>			
9 mois								Rougeole oreillons rubéole <sup>3</sup>		
12 mois	BCC <sup>5</sup>						Ph2 <sup>2</sup>	Rougeole oreillons rubéole <sup>3</sup>		
16-18 mois		DT	Polio	Ca <sup>4</sup>	Hib	Hep B <sup>1</sup>		Rougeole oreillons rubéole <sup>3</sup>		
24 mois							Ph2 <sup>2</sup>			
< 6 ans										
6 ans		DT <sup>6</sup>	Polio							Grippe <sup>10</sup>
11-13 ans		DT	Polio	Ca <sup>4</sup>		Rattrapage <sup>11</sup>		Rattrapage <sup>11</sup>		
14 ans								HPV <sup>12</sup>		
15 ans										
16-18 ans		dT <sup>13</sup>	Polio	Ca <sup>4</sup> Rattrapage				Rattrapage <sup>11</sup>	Rattrapage <sup>11</sup>	
23 ans						Hep B <sup>14</sup>		Rattrapage <sup>11</sup>		
26-28 ans		dT <sup>13</sup>	Polio <sup>15</sup>	Ca <sup>4</sup>				Rubéole <sup>16</sup>		
> 28 ans		dT <sup>13</sup>	Polio <sup>15</sup>							
≥ 65 ans										Grippe <sup>10</sup>

Lorsqu'un retard est intervenu dans la réalisation du calendrier de vaccinations indiqué, il n'est pas nécessaire de recommencer tout le programme des vaccinations imposant des injections répétées. Il suffit de reprendre ce programme au stade où il a été interrompu et de compléter la vaccination en réalisant le nombre d'injections reçues en fonction de l'âge.

**LEGENDE DU TABLEAU**

**Les vaccins indiqués sur fond bleu soutenu existent sous formes combinée :**

- Diphtérie (trivale adulte), tétanos, polio,
- Diphtérie, tétanos, polio, coquelucheux acellulaire,
- Diphtérie (trivale adulte), tétanos, polio, coquelucheux acellulaire,
- Diphtérie, tétanos, polio, plus coquelucheux acellulaire, Hib,
- Diphtérie, tétanos, polio, plus coquelucheux acellulaire, Hib, Hépatite B

**Les vaccins indiqués en gras correspondent aux recommandations générales.**

**Les vaccins indiqués en italique ne sont proposés que pour des risques spécifiques.**

**NOTES**

1. Le vaccin polioomyélique inactivé est le seul utilisé.
2. La vaccination BCC par voie intradermique est fortement recommandée chez les enfants à risque élevé de tuberculose ou plus tôt et si possible à la naissance ou au cours du premier mois de vie. Chez les enfants à risque non vacciné, la vaccination peut être réalisée jusqu'à l'âge de 15 ans.
3. À la naissance pour les enfants nés de mère Ag HBs positif : vaccination dans les 24 heures qui suivent la naissance avec un vaccin HBVax (Ph 3) et immunoglobulines anti-HBc administrées simultanément en deux points différents. Deuxième et troisième doses respectivement à 1 et 6 mois d'âge. Schéma en 4 doses (0-1-2-6) pour les prématurés < 32 semaines ou de moins de 2 kg. L'efficacité de cette prévention doit être évaluée à partir de l'âge de 9 mois par une recherche d'antigène et anticorps anti-HBc ou mieux un à quatre mois après la dernière dose vaccinale.
4. La vaccination est pratiquée avec le vaccin acellulaire (Ca).
5. La vaccination contre l'hépatite B est recommandée pour tous les enfants avant l'âge de 13 ans, en privilégiant la vaccination du nouveau-né, avec un schéma complet en trois injections, les deux premières à un mois d'intervalle, la troisième cinq à douze mois après la date de la deuxième injection.
6. La vaccination par le vaccin pneumocoque heptavalent conjugué (Ph7) est recommandée à partir de l'âge de 2 mois pour tous les enfants. Le rappel à lieu entre l'âge de 12 et 15 mois.
7. Vaccin combiné contre la rougeole, les oreillons et la rubéole. Pour les nourissons entrant en collectivité avant 12 mois, il est recommandé d'administrer dès l'âge de 9 mois le vaccin contre la rougeole-oreillons-rubéole. Dans ce cas, la deuxième dose est recommandée entre 12 et 15 mois d'âge et au-delà. Si le vaccin monovalent rougeoleux a été utilisé entre 6 et 8 mois, l'enfant devra recevoir deux injections de vaccin trivalent à au moins un mois d'intervalle à partir de l'âge de 12 mois.
8. La vaccination combinée comprend deux doses, la première dose à l'âge de 12 mois, la deuxième dose au moins un mois après la première, si possible avant l'âge de 24 mois.
9. Pour les enfants à partir de l'âge de 6 mois, les adolescents et les adultes, y compris les femmes enceintes, s'ils sont atteints de pathologies spécifiques (voir détails Recommandations particulières) ou dont l'état de santé nécessite un traitement prolongé par facide acétylsalicylique (essentiellement pour syndrome de Kawasaki compliqué et arthrite chronique juvénile). Pour l'entourage familial des nourissons âgés de moins de 6 mois avec des facteurs de risque ainsi que pour les personnes séjournant dans un établissement de soins de moyen ou long séjour, quel que soit leur âge.
10. En cas de pénurie de DT Polio, le vaccin contenant une dose réduite d'antigène diphtérique (dTPolio) peut être utilisé à partir de l'âge de 6 ans.
11. Si la vaccination contre l'hépatite B n'a pas été pratiquée dans l'enfance : un schéma complet en trois injections, les deux premières à un mois d'intervalle, la troisième cinq à douze mois après la date de la deuxième injection.
12. Deux doses de vaccin triple associé rougeole, oreillons, rubéole à au moins un mois d'intervalle sont recommandées pour tous les enfants entre 24 mois et 16 ans en 2008 (nés entre 1992 et 2006) n'ayant pas bénéficié, qu'ils aient leurs antécédents vis-à-vis des trois maladies.
13. Une dose de vaccin trivalent pour les personnes âgées de 12 à 28 ans (nées entre 1980 et 1991) n'ayant pas été vaccinées.
14. À partir de l'âge de 16 ans, on utilise le vaccin diphtérique contenant une dose réduite d'antigène diphtérique (dTPolio).
15. À renouveler tous les 10 ans.
16. En rattrapage à partir de 16 ans pour les enfants qui n'ont pas reçu le rappel recommandé incluant la composante coquelucheuse à l'âge de 11-15 ans. Ce rattrapage est effectué avec un vaccin d'azéfolu.
17. Pour certains professionnels de santé et de la petite enfance ainsi que les adultes ayant un projet parental dans les mois ou les années à venir, ou n'ayant pas reçu de vaccination coquelucheuse ou cours d'un dernier rappel, un rappel de vaccination coquelucheuse acellulaire (avec des doses réduites en antigènes coquelucheux) combiné au dTPolio est recommandé.
18. Pour les enfants, à risque de 24 à 59 mois d'âge non préalablement vaccinés, la vaccination pneumocoque est recommandée selon le schéma suivant : 2 doses de vaccin conjugué à 2 mois d'intervalle suivies d'une dose de vaccin polysaccharidique 23-valent au moins 2 mois après la 2<sup>e</sup> dose de vaccin conjugué.
19. La vaccination contre la rubéole est recommandée pour les jeunes femmes en âge de procréer non vaccinées, par exemple les d'une visite de contraception ou pré-natale. Si la sérologie pré-natale est négative ou incertaine, la vaccination devra être pratiquée immédiatement après l'accouchement, de préférence avant la sortie de la maternité ou à domicile au plus tôt après la sortie.
20. Tous les ans.
21. Chez l'enfant à partir de l'âge de 5 ans et l'adulte, la vaccination anti-pneumocoque avec le vaccin polysaccharidique 23-valent (Ph 23) est recommandée, tous les cinq ans pour les personnes à risque élevé d'infection à pneumocoque.
22. La vaccination contre les infections à papillomavirus est désormais recommandée à toutes les jeunes filles de 14 ans, afin de les protéger avant qu'elles ne soient exposées au risque d'infection à HPV.
23. Une mesure de rattrapage est prévue et le vaccin est également proposé aux jeunes filles et jeunes femmes de 15 à 23 ans qui n'ont pas eu de rapports sexuels ou au cours de l'année qui suit le début de leur vie sexuelle. Cette mesure de rattrapage pourrait être proposée à l'occasion d'une primo-préconception de contraception, d'un recours à une pilule ou à l'urgence ou lors d'une consultation pour tout autre motif.
24. Selon un schéma complet en trois injections, les deux premières à un mois d'intervalle, la troisième cinq à douze mois après la date de la deuxième injection, pour les personnes à risque (CC recommandations particulières).

**Cet avis ne peut être diffusé que dans son intégralité sans suppression ni ajout**

## VI. VACCINATIONS CIBLÉES ET À DESTINATION DES VOYAGEURS EN PAYS TROPICAUX

### A. Vaccinations ciblées

La vaccination contre l'hépatite A est recommandée pour les personnels de crèches, d'internats pour enfants handicapés, les personnels de traitement des eaux usées, les personnels impliqués dans la préparation alimentaire en restauration collective.

La vaccination contre la rage est recommandée pour les personnels de laboratoires de virologie manipulant du virus rabique, les vétérinaires, les équarrisseurs, les gardes-chasses, les gardes forestiers, les personnels des abattoirs...

La vaccination contre l'hépatite B est obligatoire dans les structures de santé. Même si la vaccination contre la grippe n'est pas obligatoire, il est pertinent de sensibiliser les personnels de santé aux risques qu'ils font courir à leurs patients lorsqu'ils sont grippés et les convaincre d'augmenter leur couverture vaccinale antigrippale.

### B. Voyages en pays tropicaux

Les recommandations concernant les vaccinations des voyageurs tiennent compte de la destination ; dans les zones intertropicales d'Afrique et d'Amérique, la vaccination contre la fièvre jaune est indispensable ; dans les pays à forte endémicité d'hépatite B, la vaccination contre le VHB est conseillée ; pour des séjours prolongés dans des pays d'endémie rabique (Afrique, Asie, Inde) la vaccination préventive antirabique est une mesure de précaution ; pour des séjours dans des conditions d'hygiène précaires ou pour des séjours longs en PED (coopérants), on doit recommander la vaccination contre l'hépatite A ; d'autres vaccinations sont envisageables selon la destination comme celle contre l'encéphalite japonaise en Inde et en Asie du Sud-Est et contre l'encéphalite à tiques en Europe centrale. Dans tous les cas, la vaccination antipoliomyélitique doit être mise à jour.

#### ① **Points clés**

Les vaccins antiviraux sont composés soit de vaccins inactivés (ex : grippe) soit de vaccins vivants atténués (ex : rougeole).

L'évolution moderne se fait vers des virus atténués recombinants. Le problème de la vaccination contre le VIH est particulièrement complexe et tous les essais effectués jusqu'à présent ont été des échecs. L'obtention d'un vaccin contre le VIH va encore demander beaucoup de temps et de moyens autour d'une recherche fondamentale.

# Virus émergents

# 27

- |  |   |
|--|---|
| I. SRAS CORONAVIRUS  | VIII. NOUVEAU VARIANT DE LA MALADIE DE CREUTZFELDT-JAKOB (VMCJ) |
| II. GRIPPE AVIAIRE   | IX. BORNA DISEASE VIRUS (BDV)                                   |
| III. WEST NILE   | X. VIH  |
| IV. CHIKUNGUNYA  | XI. POXVIRUS INFECTANT LES HUMAINS                              |
| V. HANTAVIRUS  | XII. MIMIVIRUS  |
| VI. EBOLA  |   |
| VII. MORBILLIVIRUS ÉQUIN (EQUINE MORBILLIVIRUS, EMV) HENDRA, NIPAH |   |

## Items

Item 86. Infections bronchopulmonaires du nourrisson, de l'enfant et de l'adulte.

Item 107. Voyage en pays tropical : conseils avant le départ, pathologies du retour : fièvre, diarrhée.

Nous n'aborderons que quelques virus dans ce chapitre ; cependant, beaucoup auraient pu être cités comme virus émergents ou réémergents : les arbovirus, avec en particulier, la dengue, la fièvre jaune, le virus de la vallée du Rift ; le virus de la rougeole face, dans certaines zones géographiques, à des campagnes de vaccinations réduites ou supprimées.

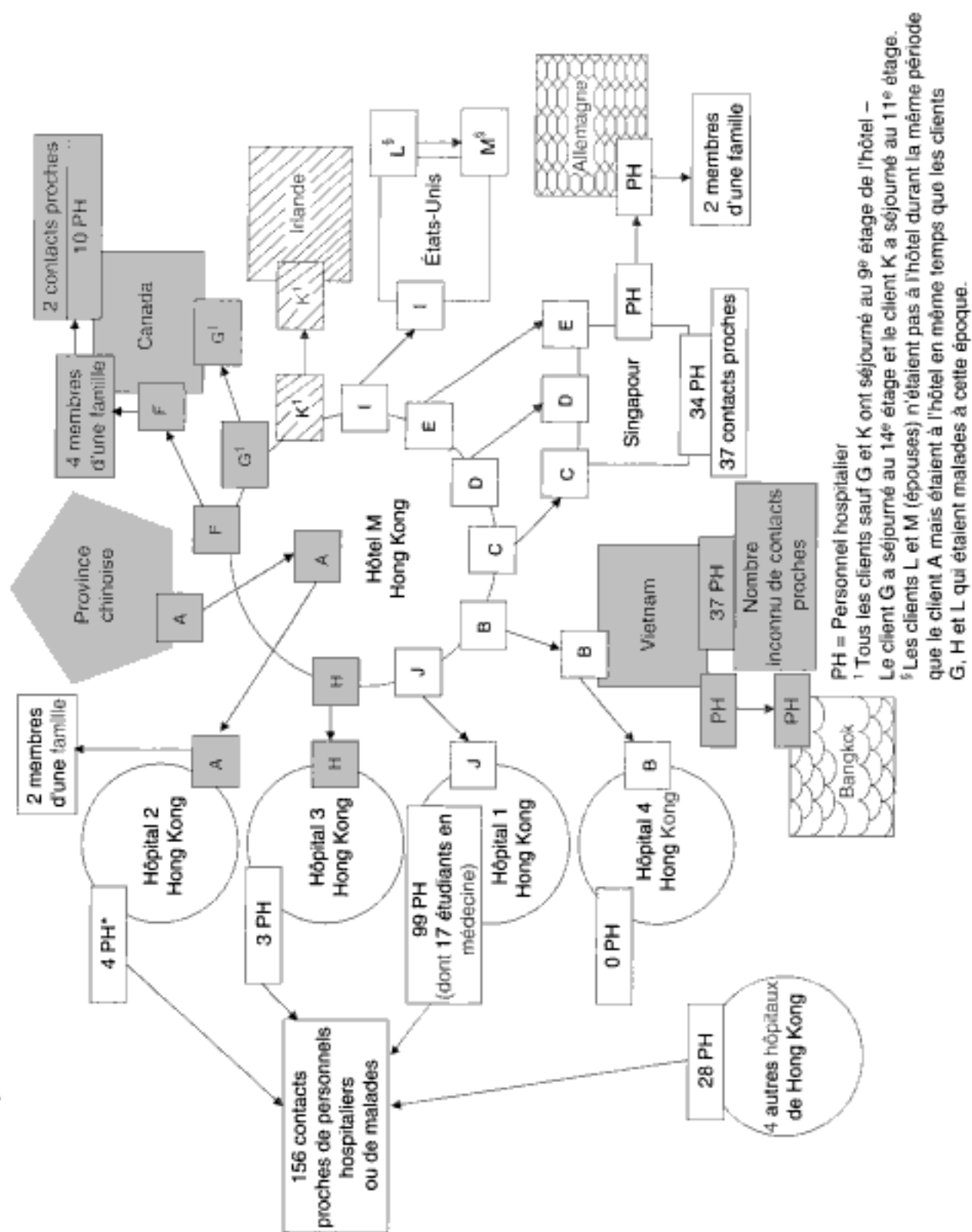
## I. SRAS CORONAVIRUS

En novembre 2002, une épidémie de pneumonie atypique est signalée en Chine dans la province de Guangdong (Canton) (« Pneumonia causes panic in Guangdong province » : *British Medical Journal* février 2003). La grippe aviaire est évoquée. Rapidement, il devient évident qu'il s'agit d'une nouvelle maladie, le syndrome respiratoire aigu sévère (SRAS) ou *severe acute respiratory syndrome* (SARS). La maladie va toucher principalement les personnels de santé et les sujets contacts proches en particulier les parents (fig. 27.1 et 27.2).

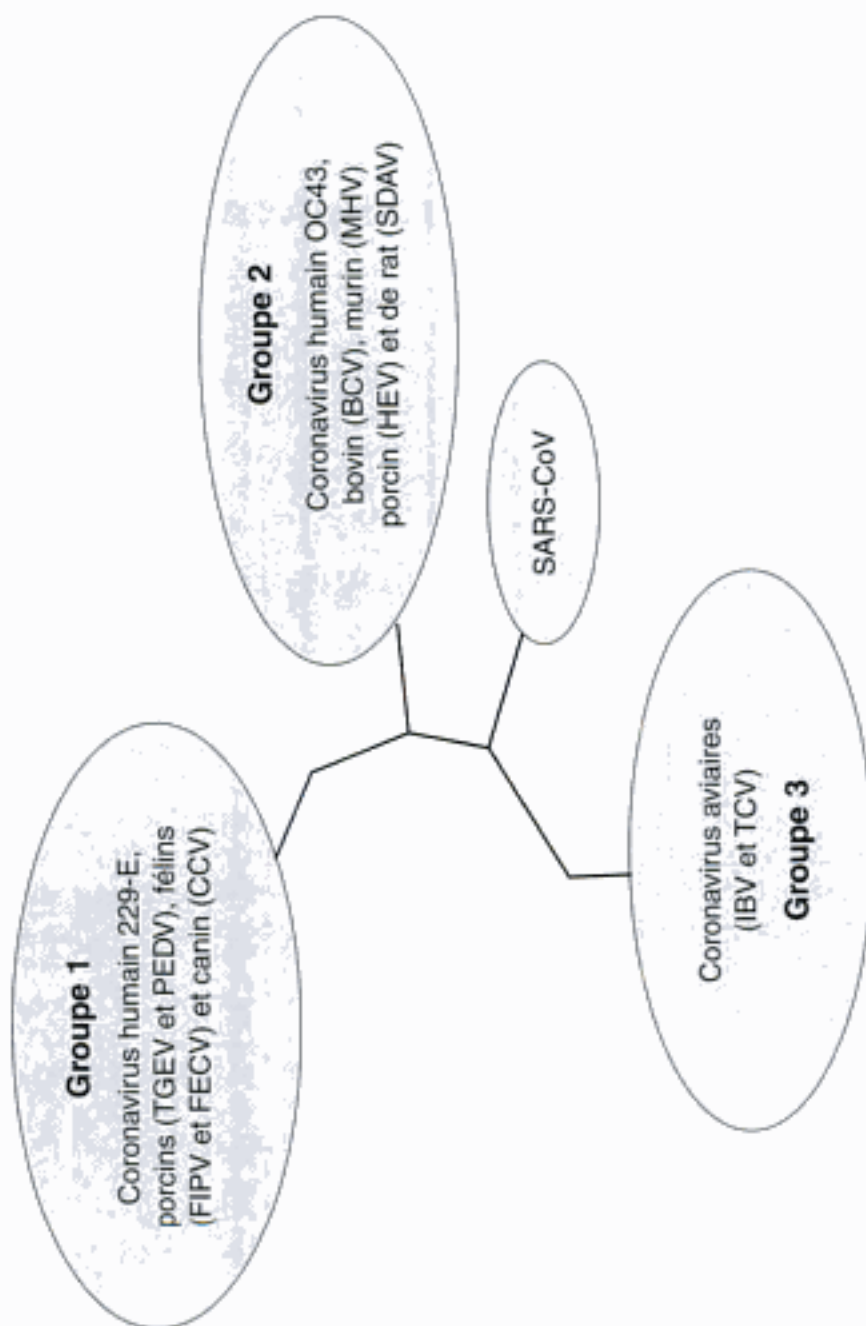
Les deux sites d'alerte sont Hanoï au Vietnam (1<sup>er</sup> cas le 6 février à l'hôpital Français) et Hong Kong qui sont d'ailleurs reliés par un patient commun (ce patient quitte Hanoï et décède à Hong Kong le 12 mars). Hong Kong a le premier cas de SRAS rétrospectif : il s'agit du sujet A, médecin contaminé à Canton et qui, séjournant à l'hôtel Métropole de Hong Kong, va contaminer d'autres sujets : B qui quitte Hong Kong pour Hanoï, est hospitalisé à l'hôpital Français puis revient dans un hôpital de Hong Kong ; C, D, E qui gagnent Singapour pour y introduire une épidémie hospitalière ; F et G qui sont à l'origine du foyer de Toronto au Canada ; H et J qui sont hospitalisés dans des hôpitaux de Hong Kong où ils vont entraîner des cas chez les soignants, etc. Cette ville connaîtra deux épicentres : le *Prince of Wales Hospital* et un groupe d'immeubles connus sous le nom de « Amoy gardens ».

Après cette première phase d'émergence, le SRAS est confirmé et/ou détecté en Chine continentale (Canton, Shanxi, Pékin), au Vietnam, au Canada, à Singapour, en Thaïlande, à Taiwan.

► **Fig. 27.1.** Chaîne de transmission parmi les clients de l'hôtel M à Hong Kong en 2003 (source : OMS). ►



► **Fig. 27.2.** Arbre phylogénétique des coronavirus de différentes origines. D'après *Médecine Sciences* 2003 ; 19 : 885-91, inspiré des travaux suivants : Rota et coll. (*Science* 2003) ; Marra et coll. (*Science* 2003) ; Enjuanes et coll. (*J Biotechnol* 2001). ►



## A. Maladie

La clinique est caractérisée par une incubation de 3 à 10 jours, une fièvre, des frissons, une toux non productive, des myalgies, des céphalées, une dyspnée, des signes radiologiques de pneumonie. La biologie objective hypoxie, anémie, lymphopénie, thrombocytopénie, augmentation de la lactate déshydrogénase (LDH).

Un cas suspect de SRAS (selon la définition internationale) associe : fièvre au-dessus de 38 °C, un ou plusieurs signes respiratoires (toux, dyspnée, radiologie), un événement épidémiologiquement significatif dans les 10 jours précédents : voyage dans une zone géographique de SRAS, contact avec un malade atteint de SRAS, contact avec une personne revenant d'une zone de SRAS.

## B. Évolution et traitement

Trente pour cent des patients reçoivent de l'oxygène, 10 % ne développent pas d'infiltrat pulmonaire ; le traitement associe à ce stade antibiotique, ribavirine et corticoïde. La plupart des patients quittent l'hôpital à J14 ; 20 % ont une hospitalisation plus longue dont certains reçoivent une ventilation assistée. La mortalité est nulle chez les moins de 8 ans et peut atteindre 50 % chez les sujets de plus de 60 ans. Globalement, la mortalité a été de 10 %.

## C. Diagnostic virologique

La recherche étiologique a concerné les influenza A et B, les parainfluenza 1, 2 et 3, les adénovirus, le VRS et les métapneumovirus. C'est finalement un coronavirus qui va être mis en évidence dans les sécrétions bronchiques et les prélèvements pulmonaires des premiers patients.

Il s'agit d'un nouveau coronavirus (qui va être appelé SRAS-CoV) distinct des coronavirus déjà connus chez l'homme (dont HCoV-229E) ; il existe des coronavirus chez les souris, les oiseaux, les bovins et les porcs ; dans l'arbre phylogénétique, on voit que le SRAS-CoV est différent des autres coronavirus déjà identifiés.

Le SRAS-CoV est un virus de 80-90 nm de diamètre ; il possède une enveloppe ; son acide nucléique est un ARN de 30 000 bases ; il existe deux sous-types très proches dont la souche Urbani du nom d'un médecin de l'OMS mort au contact de malades dans la première phase de l'épidémie. Le virus est cultivable en cellules Vero avec un effet cytopathogène en 2 à 4 jours. Il est présent dans les sécrétions respiratoires, les poumons, le sang et les selles. La quantification dans les sécrétions bronchiques par PCR temps réel a montré que certains patients (supercontamineurs ?) pouvaient héberger jusqu'à 100 millions de copies d'ARN viral/mL.

## D. Transmission

La transmission se fait de façon prédominante par voie aérienne ; les masques protègent le personnel de l'infection dans les hôpitaux (*The Lancet*, mai 2003) ; d'autres voies de contamination sont évoquées : les mains sales, les poignées de porte (des signaux positifs par PCR ont été détectés à Amoy Gardens), les boutons d'ascenseur, etc. Le virus est résistant dans le milieu extérieur (pouvoir infectieux conservé pendant 24 heures sur surface inerte).

La maîtrise de l'épidémie qui, globalement, a entraîné environ 8 500 cas avec 10 % de décès dans le monde, a indiqué que les mesures d'hygiène associant port de masque et lavage des mains étaient efficaces.

Le SRAS-CoV est en fait un virus animal qui a effectué un saut d'espèce vers l'homme ; le réservoir semble être la civette, petit mammifère de la taille d'un chat qui est très prisé comme aliment en Chine du Sud et en particulier à Canton où il est vendu vivant sur les marchés. Les autorités chinoises ont mis fin à cette tradition. Depuis l'épidémie de 2003, il n'y a eu que quelques cas de contamination humaine dans des laboratoires de virologie travaillant dans le domaine. Plus récemment, un coronavirus proche du SRAS-CoV a été identifié, en amont de la civette, chez des chauves-souris qui pourraient ainsi représenter le réservoir primaire.

## II. GRIPPE AVIAIRE

Les données qui suivent ont été actualisées fin 2008. Nous avons vu dans le chapitre sur les virus grippaux que le problème épidémique majeur chez l'homme était lié aux virus grippaux A ; ces virus, qui sont présents chez l'homme et chez les animaux en particulier les oiseaux, sont susceptibles d'effectuer des changements complets de leurs antigènes de surface (HA et NA) entraînant ainsi des pandémies : H<sub>1</sub>N<sub>1</sub> en 1918, H<sub>2</sub>N<sub>2</sub> en 1947 et H<sub>3</sub>N<sub>2</sub> en 1968. Depuis 1968, il n'y a pas eu de pandémie mais des glissements antigéniques au sein de H<sub>3</sub>N<sub>2</sub>.

Ces changements complets d'HA et/ou NA, appelés cassures antigéniques, sont considérés comme étant la conséquence de recombinaisons entre des virus grippaux humains et aviaires chez le porc qui est un hôte intermédiaire ; cette chaîne de contamination fait de la Chine et de l'Asie du Sud-Est une zone privilégiée pour l'émergence des pandémies car les humains vivent en contacts étroits avec les porcs et les volailles vivants.

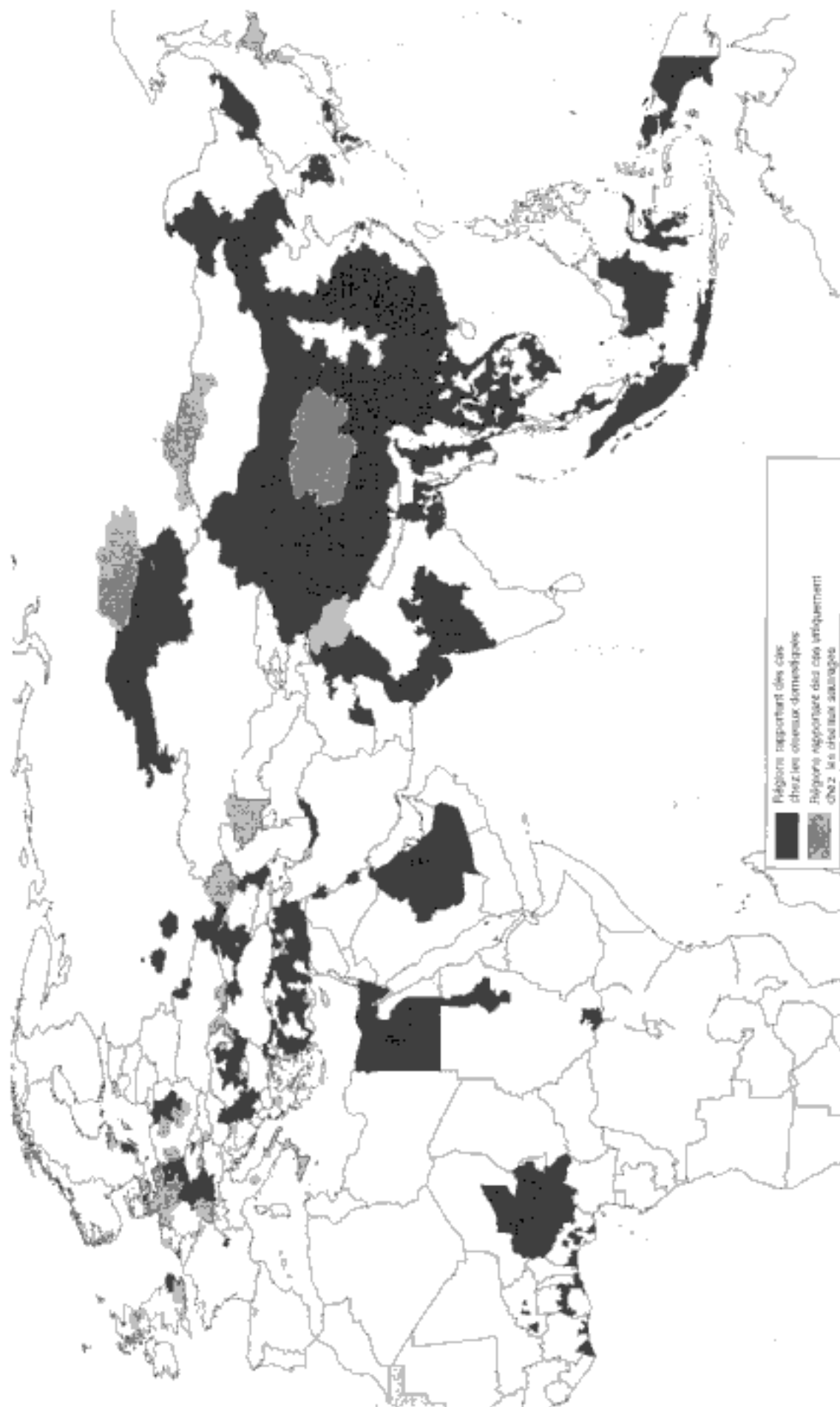
Une question importante concernait la possibilité de transmission à l'homme d'une souche grippale aviaire sans recombinaison ; cette possibilité fut objectivée en 1997 à Hong Kong avec la transmission à l'homme de la grippe du poulet liée à une souche aviaire H<sub>5</sub>N<sub>1</sub>. Une équipe des États-Unis a récemment apporté la preuve (inquiétante et modifiant la lecture que nous avons des événements) que la grippe de 1918 était liée à un virus purement aviaire qui s'était adapté à l'homme sans recombinaison ; en effet, si les gènes H<sub>1</sub> et N<sub>1</sub> sont clairement d'origine aviaire, on peut imaginer que les autres gènes (en particulier les gènes P1 à P3 correspondant à l'activité polymérasique) étaient des gènes de virus grippaux humains ; or, le séquençage de P1 et le positionnement de la séquence dans un arbre phylogénétique montrent que P1 est plus proche de P1 aviaire que de P1 humain ; ceci a été démontré pour tous les gènes de la souche grippale de 1918. Chemin faisant, on pourrait se demander comment des laboratoires de recherche ont pu avoir accès à la souche de 1918 chez l'homme et chez les oiseaux ; la souche humaine a été obtenue dans le nord du continent américain chez des cadavres de personnes décédées en 1918 et enterrés dans des sols congelés ; l'ARN grippal de la souche aviaire H<sub>5</sub>N<sub>1</sub> a été obtenu à partir d'un écouvillonnage cloacal d'un oiseau abattu en 1917 et conservé empaillé dans un musée de Washington, DC.

Il est maintenant clair qu'il existe une transmission interspécies de virus grippaux de type A où interviennent les oiseaux sauvages et domestiques, les chevaux, les animaux marins comme les baleines et les phoques, les porcs et les hommes.

Hidden page

Hidden page

► **Fig. 27.3.** Carte mondiale des régions de cas avérés de grippe aviaire H<sub>5</sub>N<sub>1</sub> chez les oiseaux domestiques et les oiseaux sauvages depuis 2003 (OMS, 2008). ▲





montrent que les souches les plus récentes de H<sub>5</sub>N<sub>1</sub> ont une pathogénicité accrue chez cet animal avec une atteinte pulmonaire, de la rate, du thymus, du SNC, de l'intestin et du foie ; sur le plan moléculaire, cette augmentation du pouvoir pathogène serait liée à une substitution Glu/Lys en position 627 de la protéine P2. L'autopsie des tigres morts en Thaïlande révèle une congestion pulmonaire hémorragique associée à une pleurésie, une méningo-encéphalite et une hépatite.

## G. Pouvoir pathogène chez l'homme

L'incubation est de 3 jours (2 à 4) ; les signes cliniques associent fièvre, toux, angine, rhinorrhée, myalgies, conjonctivite, diarrhée aqueuse ; on note leucopénie, lymphopénie et thrombocytopénie. Une évolution défavorable est possible vers une détresse respiratoire aiguë (*acute respiratory distress syndrome* [ARDS]). Il existe des formes intestinales de la maladie. Chez les patients décédés, la détection de l'ARN viral par PCR dans différents tissus est positive dans les poumons et les intestins ; l'infection est accompagnée par une production importante de TNF  $\alpha$ .

En 2008, des cas humains avaient été notifiés dans les pays suivants : Cambodge, Chine, Vietnam, Laos, Thaïlande, Indonésie, Azerbaïdjan, Irak, Djibouti, Égypte, Nigeria, Bangladesh, Birmanie, Pakistan, Turquie (tableau 27.I).

Environ 400 cas ont été répertoriés avec une mortalité autour de 50 % ; le premier pays pour le nombre de cas est l'Indonésie.

**Tableau 27.I.** Nombre total de cas avérés de grippe aviaire A/H<sub>5</sub>N<sub>1</sub> (rapportés à l'OMS, 10 septembre 2008).

Pays	2003		2004		2005		2006		2007		2008		Total	
	Nbre de cas	Nbre de morts ths	Nbre de cas	Nbre de morts hs	Nbre de cas	Nbre de morts	Nbre de cas	Nbre de morts	Nbre de cas	Nbre de morts	Nbre de cas	Nbre de morts	Nbre de cas	Nbre de morts
Azerbaïdjan	0	0	0	0	0	0	8	5	0	0	0	0	8	5
Bangladesh	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	1	0
Cambodge	0	0	0	0	4	4	2	2	1	1	0	0	7	7
Chine	1	1	0	0	8	5	13	8	5	3	3	3	30	20
Djibouti	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	1	0
Égypte	0	0	0	0	0	0	18	10	25	9	7	3	50	22
Indonésie	0	0	0	0	20	13	55	45	42	37	20	17	137	112
Irak	0	0	0	0	0	0	3	2	0	0	0	0	3	2
Laos	0	0	0	0	0	0	0	0	2	2	0	0	2	2
Birmanie	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	1	0
Nigeria	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	0	0	1	1
Pakistan	0	0	0	0	0	0	0	0	3	1	0	0	3	1
Thaïlande	0	0	17	12	5	2	3	3	0	0	0	0	25	17
Turquie	0	0	0	0	0	0	12	4	0	0	0	0	12	4
Vietnam	3	3	29	20	61	19	0	0	8	5	5	5	106	52
<b>Total</b>	<b>4</b>	<b>4</b>	<b>46</b>	<b>32</b>	<b>98</b>	<b>43</b>	<b>115</b>	<b>79</b>	<b>88</b>	<b>59</b>	<b>36</b>	<b>28</b>	<b>387</b>	<b>245</b>

## H. Traitement par les antiviraux

Deux familles de molécules sont à notre disposition : les adamantanes et les inhibiteurs de neuraminidase.

Les adamantanes (amantadine, rimantadine) sont actives sur les souches grippales A ; elles agissent sur la protéine M2 qui est un canal ionique permettant l'arrivée de protons dans le virus et sa décapsidation. La résistance contre ces molécules est fréquente chez les virus grippaux A et, de plus, les virus résistants se transmettent. Dans le cas de H<sub>5</sub>N<sub>1</sub>, une étude a montré que 35 % des isolats aviaires de la région Chine-Sud-Est asiatique présentent des mutations de résistance aux adamantanes, rendant ainsi inutile le recours à cette classe de médicaments en cas de pandémie humaine.

Les inhibiteurs de neuraminidase ont été conçus pour occuper le site actif de la neuraminidase virale et inhiber ainsi la fonction normale de la neuraminidase qui est de cliver l'acide sialique du reste de la membrane cytoplasmique et de libérer la particule virale. Deux produits sont disponibles : l'oseltamivir (*Tamiflu*) et le zanamivir (*Relenza*) ; le premier, utilisable par voie orale a fait l'objet d'essais thérapeutiques plus intensifs sur les infections par les virus grippaux circulant habituellement. Le *Tamiflu* est actif contre les virus grippaux A et B ; il doit être utilisé très tôt au cours de l'infection grippale (dans les deux jours après l'invasion) réduisant ainsi la durée de la réplication virale, les symptômes cliniques et la fréquence des complications, en particulier les surinfections bactériennes. La dose de traitement est de 2 comprimés de 75 mg/j chez l'adulte pendant 5 jours. Une prophylaxie est possible avec 1 comprimé de 75 mg/j pendant 10 jours.

Dans des études de laboratoire, le *Tamiflu* est actif sur les souches A humaines circulantes (H<sub>1</sub>N<sub>1</sub> et H<sub>3</sub>N<sub>2</sub>) ainsi que sur les souches aviaires H<sub>5</sub>N<sub>1</sub> testées. Il est possible d'obtenir en culture des mutants résistants au *Tamiflu* et de caractériser les mutations associées à cette résistance : H274Y pour N<sub>1</sub> et R292K pour N<sub>2</sub>. Les données épidémiologiques de résistance sur le terrain face aux grippe humaine A et B indiquent que le taux de résistance chez l'adulte est faible, autour de 0,4 %, mais qu'il est plus élevé chez les enfants (qui ont un niveau de réplication plus élevé).

Récemment, les isolats H<sub>5</sub>N<sub>1</sub> de deux enfants vietnamiens traités par *Tamiflu* (et décédés) ont été caractérisés sur le plan moléculaire au niveau de N<sub>1</sub> et ont été trouvés porteurs de la substitution H274Y, ce qui est évidemment un élément inquiétant.

### Note

L'hiver 2007-2008 en Europe de l'ouest et notamment en France a connu une circulation de virus H<sub>1</sub>N<sub>1</sub> dont certaines souches (jusqu'à 50 %) présentaient une mutation de résistance au *Tamiflu* (H274Y).

## I. Vaccination

La société française Sanofi-Pasteur a signé avec le NIH (*National institute of health*) des États-Unis, un contrat pour la mise au point d'un vaccin anti-H<sub>5</sub>N<sub>1</sub>. Ce vaccin a été expérimenté au cours de l'été 2005 chez 450 volontaires de 18 à 64 ans avec un succès immunologique (il ne s'agit pas ici bien évidemment d'un essai de protection mais d'un essai de phase 1). Les gènes H<sub>5</sub> et N<sub>1</sub> d'une souche aviaire ont été clonés dans des plasmides ainsi que les gènes complémentaires d'une souche humaine (PR8) ; les plasmides sont introduits dans une lignée cellulaire qui devient productrice des virus recombinants ; les antigènes de surface (H<sub>5</sub> et N<sub>1</sub>) sont alors purifiés et utilisés pour la vaccination expérimentale.

## J. Diagnostic virologique

Le diagnostic tel qu'il est prévu dans les deux centres de référence de la grippe (IP Paris et CHU de Lyon) ainsi que dans les laboratoires habilités par le ministère de la santé (dont celui du CHU de Bordeaux) fait appel à la PCR temps réel dans l'hémagglutinine H<sub>5</sub> à partir d'un prélèvement rhinopharyngé.

Parmi les différents cas de figures possibles, nous avons retenu trois hypothèses :

- 1. l'arrivée en France de patients infectés dans les zones où règne l'enzootie ; il s'agit d'un scénario proche de celui que nous avons connu au moment de l'épidémie de SRAS ;
- 2. l'entrée d'oiseaux migrateurs infectés remontant en particulier d'Afrique à la fin de l'hiver européen ; les études de migrations aviaires ont montré que des oiseaux des zones asiatiques migraient vers la partie sud de l'Afrique comme le font des oiseaux de l'hémisphère nord ; on peut imaginer que ces derniers pourraient être infectés par des oiseaux asiatiques avant de remonter vers l'Europe ;
- 3. adaptation à l'homme et pandémie ; nous ne savons pas si cette adaptation passe par une recombinaison entre souche humaine et aviaire ou si un événement plus simple est suffisant (comme cela s'est produit pour la grippe H<sub>1</sub>N<sub>1</sub> de 1918).

## III. WEST NILE

C'est un arbovirus de la famille des *Flaviviridae* genre flavivirus de 50 nm de diamètre avec un ARN monocaténaire positif dans une capside enveloppée ; on distingue les protéines C (capside), E (enveloppe) et prM (prémembrane). Il existe deux groupes phylogénétiques. La transmission à l'homme se fait par des moustiques à partir d'un réservoir représenté par des oiseaux sauvages.

L'infection à West Nile (WNV) est observée en Asie, Afrique, Inde, Europe et Amérique du Nord depuis 1999 (plus de 16 000 cas aux États-Unis de 1999 à 2004).

Les signes cliniques associent fièvre, céphalées, asthénie, myalgies, rash et symptômes gastro-intestinaux. Un pour cent des patients développe une atteinte neurologique : méningite, encéphalite, paralysie flaccide (comme la poliomyélite) et chorioretinite ; 9 % des sujets présentant une atteinte neurologique vont décéder.

Sur le plan physiopathologique, après l'inoculation, le virus se multiplie au site d'entrée puis migre vers les ganglions avant d'être présent dans le sang au cours de la période de virémie ; l'atteinte du SNC est favorisée par la synthèse de TNF  $\alpha$  qui augmente la perméabilité de la barrière méningo-encéphalique ; le virus va alors atteindre les neurones du cerveau et de la moelle épinière.

Le diagnostic virologique repose sur les IgM anti-WNV qui apparaissent dans le sérum au cours des 8 premiers jours de l'évolution ; on peut aussi trouver des IgM dans le LCR s'il existe une atteinte du SNC. Il faut noter que les IgM sériques peuvent persister plus d'un an.

L'isolement viral peut être réalisé par inoculation intracérébrale au souriceau nouveau-né.

La PCR temps réel après transcription inverse est maintenant utilisée dans les laboratoires spécialisés ; elle a une sensibilité autour de 50 copies d'ARN/mL ; en cas d'atteinte du SNC, la PCR est plus souvent positive dans le LCR que dans le sérum (57 %/14 %).

Il existe un vaccin chez le cheval, ce mammifère pouvant être infecté par WNV (en particulier en Camargue) : il s'agit d'un WNV inactivé ou d'un *canarypox* recombinant exprimant les antigènes WNV.

Des essais de vaccin inactivé ainsi que d'un vaccin fièvre jaune recombinant comportant les séquences E et prM sont en cours chez l'homme.

## IV. CHIKUNGUNYA

Le virus chikungunya est un arbovirus de la famille des *Togaviridae* genre alphavirus. Il appartient donc à une famille différente de celle des virus de la fièvre jaune et de la dengue. Le génome est un ARN monocaténaire ; la capside est de symétrie icosaédrique et la particule virale enveloppée a un diamètre d'environ 40 nm. Le virus a été identifié en Tanzanie et en Ouganda dans les années cinquante ; il est présent en Afrique subsaharienne, en Asie du Sud-Est (Philippines, Malaisie, Cambodge) et dans le sous-continent indien. En 2005, il s'est manifesté aux Comores, puis aux îles Maurice et Mayotte avant de connaître un développement important à l'île de la Réunion sur le territoire Français.

Le virus chikungunya est transmis d'homme à homme par des moustiques du genre *Aedes*. Le vecteur impliqué dans l'épidémie de la Réunion est *Aedes albopictus*.

### A. Maladie

L'incubation est de 4 à 7 jours ; l'invasion est caractérisée par une fièvre accompagnée de céphalées et d'une éruption maculopapuleuse ; des arthralgies apparaissent qui concernent les extrémités (phalanges, poignets, chevilles) ; des signes hémorragiques (par exemple des gingivorragies) peuvent être observés. L'évolution est le plus souvent favorable sans séquelle mais les arthralgies peuvent persister pendant plusieurs semaines voire plusieurs mois ; dans tous les cas, on note une asthénie importante.

L'épidémie de la Réunion, par le nombre très important de patients infectés et diagnostiqués, a permis de mettre en évidence des atteintes méningo-encéphaliques et néonatales associées à des décès.

Il n'y a aucun traitement antiviral efficace à l'heure actuelle et le traitement entrepris est symptomatique.

### B. Diagnostic virologique

Il doit accompagner le diagnostic clinique pour permettre la confirmation des cas de chikungunya. Les IgM sont présentes à partir du 5<sup>e</sup> jour après le début des signes cliniques (les IgG apparaissant 10 jours plus tard) ; entre le début des signes cliniques et l'apparition des IgM spécifiques, on peut détecter le génome viral dans le sang par RT-PCR.

### C. Réglementation

L'infection à chikungunya est une maladie à déclaration obligatoire ; un cas déclaré doit associer fièvre, arthralgies et confirmation virologique (IgM ou RT-PCR positive).

CONNAISSANCES – II. VIROLOGIE SYSTÉMATIQUE

La déclaration est faite auprès de la Ddass du département d'exercice du médecin. Des études entomologiques ont montré que *Aedes albopictus* était présent dans les départements des Alpes-Maritimes et de Haute-Corse ; dès lors, il y a lieu d'investiguer tout cas suspect de chikungunya dans ces deux départements afin d'empêcher la diffusion du virus à partir de cas importés par exemple de l'île de la Réunion. L'importation du virus par des patients infectés et sa transmission secondaire sur place par le vecteur a eu lieu récemment en Italie et cet événement est clairement un argument pour la mise en place d'une surveillance du vecteur et de l'infection dans le sud de l'Europe et en particulier dans le sud de la France.

## V. HANTAVIRUS

Appartenant à la famille des *Bunyaviridae*, on décrit à l'heure actuelle 14 hantavirus. Les premiers identifiés (dont le virus Hantaan) sont associés à la fièvre hémorragique avec syndrome rénal (HFRS).

En 1993, un syndrome pulmonaire a été observé aux États-Unis dans la Four Corners région (Arizona, Nouveau Mexique, Colorado, Utah) ; l'agent étiologique est le *Sin nombre virus* (SNV) et le syndrome correspondant est le *Hantavirus pulmonary syndrome* (HPS) ; le réservoir du SNV est un rongeur, *Peromyscus maniculatus*. L'épidémie de 1993 a été associée à la prolifération du réservoir conséquence des grandes précipitations de 1992-1993 dues à El Niño. HPS est rencontré du Canada à la Patagonie avec une mortalité supérieure à 40 %.

Au total, on peut proposer concernant les hantavirus affectant l'homme le tableau simplifié suivant (tableau 27.II).

**Tableau 27.II. Pathologies et localisations géographiques des hantavirus.**

Pathologie	Virus	Localisation géographique
HFRS modérée à sévère Mortalité : 1-15 %	Hantaan Séoul Dobrava – Belgrade	
HFRS minime Mortalité < 1 %	Puumala	
HPS prototype Mortalité > 40 %	Sin nombre New York	États-Unis, Canada États-Unis, Canada
HPS (variant rénal) Mortalité > 40 %	Bayou Black Creek Canal Andes	États-Unis (Sud-Ouest) États-Unis (Floride) Argentine Chili

## VI. EBOLA

Rappelons brièvement l'historique de l'isolement de virus Ebola et/ou apparentés :

- 1976. Épidémie humaine de virus Ebola à Yambuku, Zaire (318 cas) et à Nzara, Soudan (284 cas) avec respectivement 88 % et 53 % de mortalité ;
- 1979. Nouvelle manifestation d'Ebola à Nzara ;

- 1989. Isolement d'un virus apparenté à Ebola (Reston) chez des singes macaques expédiés des Philippines vers les États-Unis. Le même incident à partir de singes en provenance des Philippines se produira de nouveau aux États-Unis (1990), en Italie (1992) et aux États-Unis (1996) ;
- 1994. Une scientifique suisse est contaminée par Ebola à partir d'un chimpanzé en provenance de la forêt Tai en Côte d'Ivoire ;
- 1995. Nouvelle épidémie humaine à Kikwit, Zaïre, avec 315 cas et 244 décès ;
- 1996. Épidémie humaine au Gabon (en particulier Makokou) avec 37 cas, 21 décès puis 24 cas, 17 décès ;
- 2000. Apparition de la maladie en Ouganda.

En 2001, Ebola s'est de nouveau manifesté au Soudan avec 224 décès pour 425 infections. Depuis, d'autres épidémies ont été observées au Gabon et en République Démocratique du Congo (RDC, ex-Zaïre). Au total, 1 850 cas d'infection avec 1 200 décès ont été documentés depuis la découverte du virus Ebola. La contamination humaine se fait à partir de chimpanzés infectés. Le modèle Marburg étant très proche, on peut penser que les chauves-souris pourraient être aussi le réservoir primaire d'Ebola.

## VII. MORBILLIVIRUS ÉQUIN (EQUINE MORBILLIVIRUS, EMV) HENDRA, NIPAH

Le virus appelé « *Equine Morbillivirus* » puis Hendra a été découvert en 1994 en Australie (dans le Queensland) chez des chevaux et des humains présentant des atteintes respiratoires et neurologiques. Il s'agit d'un morbillivirus appartenant donc à la famille des *Paramyxoviridae* dont le réservoir est la chauve-souris (genre *Pteropus*) ; les humains sont contaminés à partir des sécrétions respiratoires des chevaux.

Un deuxième virus baptisé Nipah a été décrit en Malaisie et à Singapour, dont le réservoir est également la chauve-souris, qui est transmissible au porc et à des animaux domestiques (chien, chat) ainsi qu'à l'homme qui peut alors présenter une pathologie pulmonaire et neurologique.

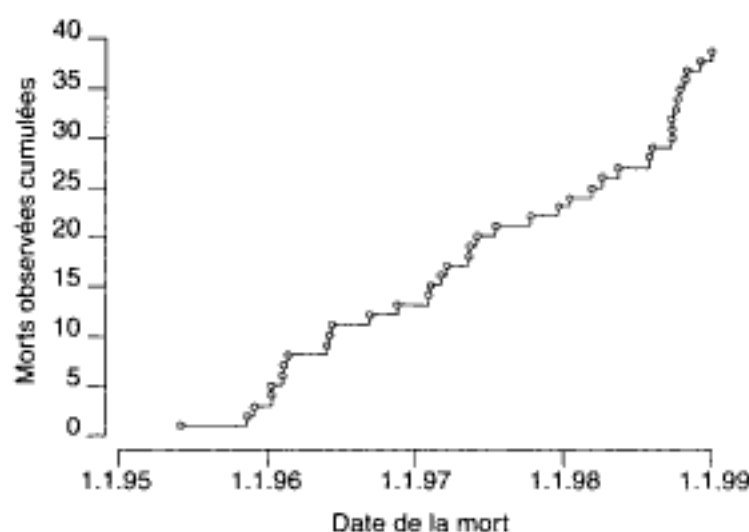
## VIII. NOUVEAU VARIANT DE LA MALADIE DE CREUTZFELDT-JAKOB (VMCJ)

L'encéphalopathie spongiforme bovine (ESB) a été décrite en 1986 chez les bovins en Grande-Bretagne. Cent soixante-dix mille cas d'ESB ont été notifiés de 1986 à 1997 avec un pic en 1992-1993 ; les études épidémiologiques ont incriminé les farines animales utilisées pour l'alimentation des bovins et on peut poser l'hypothèse du passage de l'agent de la tremblante du mouton au bovin. L'agent de l'ESB est transmissible à l'homme par voie alimentaire et induit une maladie de Creutzfeldt-Jakob (MCJ) appelée vMCJ (v : variante). Le premier cas humain fut observé en Grande-Bretagne en 1995 chez un adolescent ; depuis, ce pays a enregistré plus d'une centaine de cas (fig. 27.5) cependant que, fin 2001, la France cumulait 5 cas de vMCJ. Il existe des différences entre MCJ et vMCJ. La vMCJ touche des sujets plus jeunes ; les signes inauguraux sont très souvent psychiatriques et précèdent de 6 à 7 mois les signes neurologiques ; la durée de la

maladie (en moyenne de 14 mois) est plus longue que dans la MCJ sporadique ; les lésions histologiques sont très étendues dans la région cérébelleuse. La transmission de l'agent de l'ESB et de celui de la vMCJ à la souris permet de confirmer que ces agents sont très proches voire identiques. La physiopathologie de la vMCJ présente des caractères différentiels importants à prendre en considération : en effet, l'agent responsable s'accumule certes dans le système nerveux central (comme dans la MCJ) mais il est également présent en périphérie (amygdales, ganglions, rate, thymus, intestin) et sa présence dans le sang n'est pas exclue même si les concentrations infectieuses ne sont pas déterminées. Sur le plan génétique, la quasi-totalité des cas publiés sont homozygotes (méthionine-méthionine) en position 129 du gène *Prnp* ; fin 2008, il est impossible de dire avec certitude si les sujets hétérozygotes sont insensibles à l'infection ou si, chez eux, la période d'incubation est beaucoup plus longue.

Les estimations du nombre de cas de vMCJ, en particulier en Grande-Bretagne, sont complexes car elles doivent intégrer de nombreux paramètres ; en 2000, une étude scientifique anglaise posait l'hypothèse de l'émergence de 63 000 à 136 000 cas ; en 2001, une étude française prévoyait quelques milliers de cas en Grande-Bretagne.

**Fig. 27.5.** Cas de vMCJ en Grande-Bretagne. ➤



Quelles que soient les prévisions, la physiopathologie de la vMCJ et la présence de PrP-res en périphérie incite à prendre des précautions en transfusion sanguine (selon les pays : élimination des donneurs ayant vécu en Grande-Bretagne, filtration du plasma) ainsi qu'en endoscopie avec, en France, des procédures renforcées pour la désinfection des appareils.

## IX. BORNA DISEASE VIRUS (BDV)

La maladie de Borna a été décrite dès 1800 chez le cheval ; elle concerne aussi le mouton et le chat. Le cheval infecté présente une conduite agressive évoluant vers une paralysie. Le virus associé, BDV, possède un ARN non segmenté de polarité négative et appartient aux *Bornaviridae*. L'infection naturelle du cheval se ferait par voie intranasale avec ensuite une dissémination hématogène (BDV est retrouvé dans

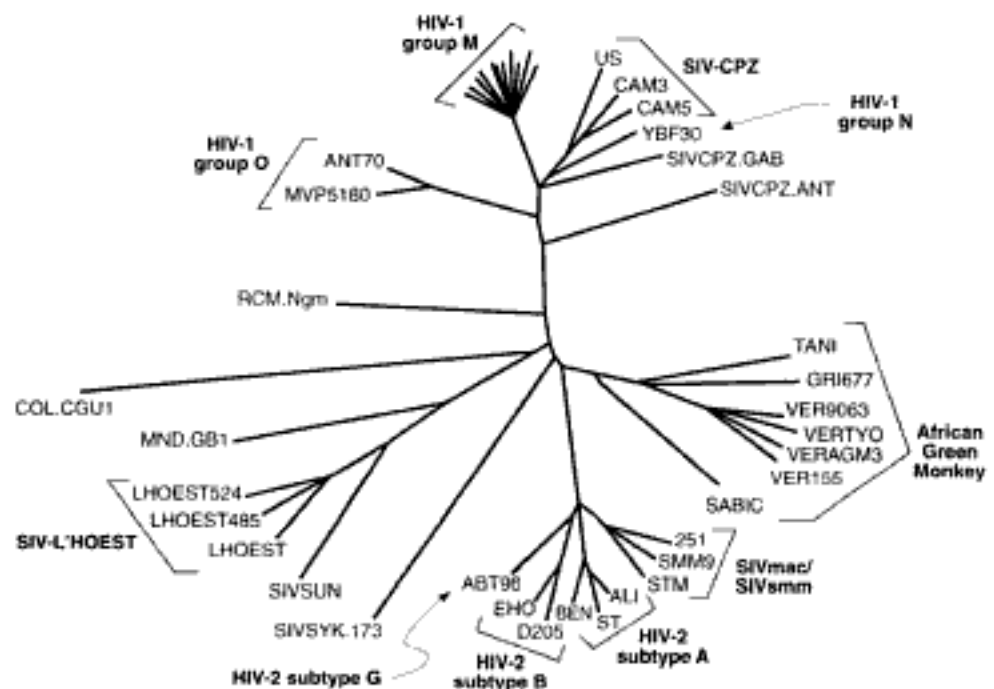
les PBMC). L'infection expérimentale de rongeurs aboutit à un portage chronique avec excrétion dans la salive, les urines et les selles. Chez l'homme, BDV serait associé à des dépressions bipolaires, ceci reposant sur des enquêtes sérologiques (IF, WB) ainsi que sur la détection de l'ARN viral par RT-PCR dans les PBMC. L'isolement de BDV est possible par coculture des PBMC avec une lignée oligodendrogliale.

## X. VIH

L'infection par le VIH chez l'homme est l'exemple type d'une virose émergente ; ce virus est passé du singe à l'homme il y a peu de temps au regard de l'évolution humaine. Deux VIH sont identifiés chez l'homme : VIH-1 et VIH-2. VIH-2 est moins pathogène que VIH-1 et est resté limité principalement à l'Afrique de l'Ouest cependant que VIH-1 est associé à une pandémie mondiale. Les études de séquences concernant les gènes des VIH (en particulier *env*, *gag* et *pol*) ont permis de dresser des arbres phylogénétiques. La figure 27.6 indique que VIH-2 est subdivisé en 6 sous-types (les deux principaux sont A et B) et qu'il est apparenté aux virus de l'immunodéficience simienne (SIV) provenant du macaque et du singe vert africain ; VIH-1 est subdivisé en groupes M (majeur), O (*outlier*) et N (non-M non-O ou *New*) et est apparenté au SIV du chimpanzé. Notre propos sera limité au VIH-1 ; les groupes N et O sont surtout observés au Cameroun ; les virus les plus répandus appartiennent au groupe M et ce sont eux qui sont associés à la pandémie ; à l'intérieur du groupe M on distingue les sous-types A, B, C, D, F, G, H, J et K ; ces virus peuvent se recombiner et générer ainsi des souches recombinantes circulantes (*Circulating recombinant form* [CRF]) qui participent à l'expansion épidémique ; ainsi, ce que l'on appelait pré-

**Fig. 27.6.** Arbre phylogénétique des virus VIH-1, VIH-2 et SIV (dessin de V. Rolland).

VIH-2 est apparenté au SIV du singe macaque ; VIH-1 provient du chimpanzé ; VIH-1 est subdivisé en trois groupes M, O et N ; le groupe M est responsable de la pandémie de sida ; à l'intérieur de ce groupe, on trouve des sous-types (A à K). ➤



Hidden page

Hidden page

## 2. Monkeypox

Le *monkeypox* est une zoonose transmissible du singe à l'homme en Afrique centrale (notamment au Congo) ; la transmission interhumaine est très faible ; la maladie ressemble à la variole ; le virus pénètre par voie aérienne ou une abrasion cutanée, se multiplie dans les ganglions de voisinage puis migre vers les organes internes au cours d'une virémie primaire ; une deuxième virémie est associée au rash et à l'exanthème qui est proche de celui de la variole ; la mortalité est d'environ 15 %.

## 3. Virus de la vaccine

Le virus de la vaccine provient de la vache et induit chez l'homme une protection croisée contre la variole (d'où l'initiative de Jenner à la fin du XVIII<sup>e</sup> siècle en Angleterre). Ce vaccin vivant a été utilisé jusque dans les années quatre-vingt ; le mode d'administration était variable, la scarification au niveau du deltoïde ayant été très utilisée en France. La primo-vaccination était suivie, après une incubation d'environ 3 jours, d'une lésion maculopapuleuse se transformant ensuite en vésicule et pustule ; cette pustule se desséchait pour laisser place à une croûte puis à une cicatrice indélébile. L'immunité antivariolique était considérée comme acquise au 12<sup>e</sup> jour après la scarification. Il faut souligner les complications de cette vaccination qui vont, selon les études de 0,35 à plus de 10 pour 10 000 vaccinations ; il peut s'agir de complications locales de surinfection, d'une vaccine généralisée (chez un sujet atopique : syndrome de Kaposi-Juliusberg), d'une atteinte neurologique (encéphalopathie post-vaccinale chez l'enfant, encéphalomyélite). Ces données ont entraîné, à l'époque où la vaccination était encore obligatoire, la prise en considération de nombreuses contre-indications : déficits immunitaires, hémopathies, maladie infectieuse en évolution, eczéma...

Les menaces de l'utilisation de virus variolique dans le cadre d'actes de terrorisme entraînent, fin 2001, une réactivation de la préparation de stocks vaccinaux et une réflexion sur les stratégies de réutilisation du virus de la vaccine pour des campagnes de vaccination.

## 4. Autres virus

Des cas de *buffalopox* ont été observés en particulier en Inde ; les lésions correspondantes ressemblent à celles de la vaccine et elles ont été décrites sur les pis des bufflonnes et les mains des humains ; le virus associé serait, en fait, le virus vaccinal qui aurait été transmis de l'homme au buffle.

Enfin, le *cowpox* peut être transmis à l'homme par contacts avec des vaches et des animaux de zoo ou de cirque (éléphants) ; les lésions correspondantes, qui ressemblent à celles de la vaccine, sont situées sur les doigts.

Parmi les parapoxvirus, on doit citer le nodule du trayeur et l'Orf ; les virus correspondants peuvent être acquis par contact direct avec les vaches, les moutons, les chèvres et des animaux sauvages comme les daims.

Le virus du *molluscum contagiosum* est limité à l'homme ; il peut être transmis par contact direct ou indirect (bains publics, piscines) ainsi que par la voie sexuelle. Les lésions sont représentées par des nodules surélevés et peuvent s'étendre par auto-inoculation.

## C. Diagnostic virologique

Précisons tout d'abord que tout cas de variole doit être immédiatement signalé aux autorités sanitaires et à l'OMS. Le virus de la variole et le *monkeypox* ne peuvent

Hidden page

Hidden page

## II. RETROVIRIDAE

VIH-1 et VIH-2 sont transmissibles par voies sexuelle et sanguine ainsi que de la mère à l'enfant (*in utero*, *per partum*, pendant l'allaitement). VIH-1 a une diffusion mondiale cependant que VIH-2 est resté limité à l'Afrique de l'Ouest et à certaines zones comme Bombay en Inde. Dès lors, les techniques diagnostiques ont été développées surtout pour VIH-1. On recherche les anticorps anti-VIH par technique ELISA, ceux-ci apparaissant 3 à 6 semaines après le contage ; la confirmation d'une séropositivité VIH se fait par *western blot*. Compte tenu de la fenêtre sérologique qui existe entre le contage et l'émergence des anticorps, on peut rechercher l'antigène p24 VIH-1 dans le sérum ou le plasma (antigénémie p24) voire, lorsqu'un laboratoire spécialisé peut réaliser la technique, rechercher l'ARN viral dans le plasma par PCR, bDNA ou NASBA. Eu égard à la variabilité du VIH-1 avec trois groupes M, N, O ainsi que des sous-types (A à K) et 43 CRF à l'intérieur de M, il est important que les réactifs sérologiques et moléculaires soient adaptés, à tout moment, à l'ensemble des groupes et sous-types. Dans les centres de transfusion, les donneurs bénéficient d'un test sérologique de détection des anticorps anti-VIH, le sang des patients positifs étant évidemment éliminé et les patients correspondants informés et dirigés vers une structure de soins spécialisée. Afin de réduire les risques résiduels liés à la phase initiale de la primo-infection (réplication virale alors que les anticorps ne sont pas encore apparus), l'ARN du VIH-1 est recherché dans des regroupements de plasmas puis individuellement si la réponse est positive dans un lot ; les techniques utilisées sont les mêmes que celles décrites pour la détermination de la charge virale du VIH-1.

HTLV-I et HTLV-II sont transmissibles par voies sexuelle et sanguine (composants cellulaires) ainsi que de la mère à l'enfant par allaitement. Le diagnostic sérologique repose sur l'ELISA et le *western blot*, la *rgp21* étant commune à HTLV-I et II alors que la *gp46* est spécifique de HTLV-I. La sérologie étant souvent difficile à interpréter, on a alors recours à une détection de l'ADN proviral par PCR (par exemple, au niveau des gènes *pol* et *tax*) à partir d'ADN extrait de cellules mononucléées du sang circulant (PBMC).

## III. FLAVIVIRIDAE

Deux virus associés à des hépatites et appartenant à cette famille peuvent être transmis par le sang : VHC et VHG.

### A. VHC

Le diagnostic d'une infection à VHC repose sur la détection des anticorps par ELISA, la confirmation pouvant être obtenue par un deuxième test ELISA. Plus de 70 % des patients infectés entrent en phase chronique et il est, dès lors, indispensable de rechercher l'ARN viral dans le sérum par PCR qualitative ou quantitative (les seuils des techniques commerciales de quantification de la charge virale étant maintenant très bas, ces techniques peuvent être utilisées pour la détection). La prise en charge d'un patient infecté va reposer sur l'identification du génotype viral (hybridation, LiPA [*Line probe assay*] ; séquençage) et la détermination du niveau de la charge virale (PCR quantitative ou bDNA). Compte tenu de la longueur potentielle de la fenêtre sérologique lors d'une primo-infection, la recherche de l'ARN viral est maintenant réalisée dans des lots de plasmas de donneurs comme cela a été décrit pour le VIH.

Hidden page

Hidden page

Hidden page

## X. ÉVOLUTION DE LA DÉTECTION DES MARQUEURS VIRAUX EN FRANCE CHEZ LES DONNEURS DE SANG

Le tableau 28.II indique la chronologie de mise en œuvre des dépistages systématiques.

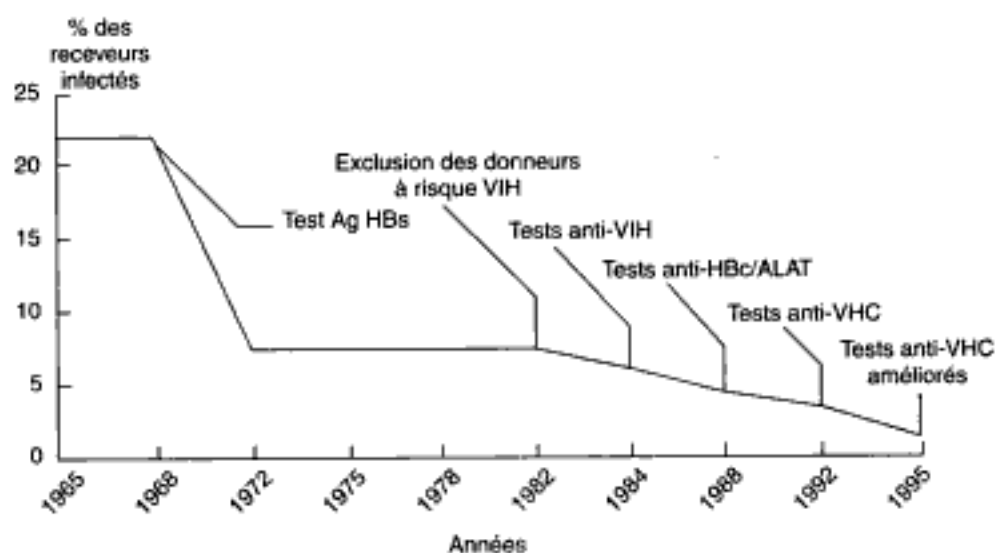
**Tableau 28.II.** Chronologie des dépistages systématiques des dons du sang.

Marqueurs	Dates
Antigène HBs	1 <sup>er</sup> octobre 1971
Anticorps anti-VIH	1 <sup>er</sup> août 1985
Transaminases (ALAT)	15 avril 1988
Anticorps anti-HBc	1 <sup>er</sup> octobre 1988
Anticorps anti-HTLV-I/II (Antilles, Guyane)	1 <sup>er</sup> janvier 1989
Anticorps anti-VHC	1 <sup>er</sup> mars 1990
Anticorps anti-HTLV-I/II (généralisation)	15 juillet 1991

La figure 28.1 montre les conséquences de cette systématisation sur la réduction du risque chez les receveurs de produits sanguins de 1968 à 1995.

► **Fig. 28.1.** Évolution du taux de receveurs infectés (1965-1995).

(D'après Holland PV, Bancroft W, Zimmerman A, Perry GW. *N Eng J Med* 1981 ; 211(1) : 175-178.) ►



Le problème des fenêtres sérologiques pour VIH, VHB et VHC est en cours de prise en compte grâce au progrès de la biologie moléculaire et son automatisation. En effet, la détection des acides nucléiques dans le sérum ou le plasma permet d'identifier une primo-infection avant l'émergence des anticorps. À partir de 2000, le dépistage moléculaire des dons du sang (sur « pools ») est devenu systématique à l'aide de chaînes robotisées.

## XI. ACCIDENTS D'EXPOSITION AU SANG (AES) CHEZ LES PROFESSIONNELLS DE SANTÉ

Notre propos sera limité aux accidents professionnels d'exposition au sang susceptibles de transmettre VIH, VHB ou VHC. Ces accidents sont nombreux et concernent surtout les médecins (chirurgiens) et infirmier(e)s ainsi que les dentistes.

Le risque de transmission du VIH après AES à partir d'un patient VIH<sup>+</sup> est estimé à 0,32 %. Le risque de transmission du VHB à partir d'un patient VHB<sup>+</sup> est plus élevé (2 à 40 %) ceci étant lié à la grande quantité de VHB présent dans le sang ; ce risque devrait être très faible puisque, légalement, l'ensemble des personnels soignants devrait être protégé par la vaccination contre le VHB ; cependant, notamment en ce qui concerne les médecins, cette obligation n'est pas strictement respectée. Le risque de transmission du VHC après exposition au sang d'un patient VHC<sup>+</sup> est de l'ordre de 2 à 3 %.

Le risque de contamination professionnelle dépend également des circonstances de l'exposition ; ainsi, les piqûres profondes avec une aiguille creuse ayant servi à un abord vasculaire ou contenant du sang sont les plus dangereuses ; le recapuchonnage des aiguilles est un moment délicat qui doit être maintenant évité grâce aux dispositifs médicaux de sécurité. Dans les blocs opératoires, les accidents percutanés surviennent en majorité lors de la suture des plans profonds et superficiels et notamment lors des sutures à l'aveugle ; les contacts cutanéomuqueux sont les AES les plus nombreux au bloc opératoire, le visage étant le plus exposé ; dans ce domaine, les équipes doivent étudier l'acte chirurgical en fonction du risque de blessure et augmenter la sécurité (port d'une double paire de gants, d'un masque avec visière...).

Après nettoyage de la plaie et/ou rinçage de la muqueuse, l'accident doit être déclaré. Le statut du patient source doit être, après avoir reçu son accord, établi pour les virus concernés ; le statut vis-à-vis du VIH peut être déterminé en moins de 30 minutes grâce aux tests sérologiques rapides en bandelettes. Le statut du patient source vis-à-vis du VHC repose sur la sérologie et, si celle-ci est positive, sur l'éventuelle détection de l'ARN du VHC par PCR. La connaissance du statut du patient source vis-à-vis du VHB n'est nécessaire que si le personnel blessé n'est pas protégé contre le VHB par une immunité naturelle (infection ancienne) ou vaccinale. Si le patient source ne peut être testé, la surveillance est globale et concerne les trois virus. Si le patient source est VIH<sup>+</sup> ou s'il y a un risque évalué de transmission de VIH, le médecin référent pour l'infection VIH, médecin présent dans chaque établissement, va initier un traitement antirétroviral conforme aux standards de prise en charge thérapeutique de l'infection VIH (généralement deux analogues de nucléosides associés à un inhibiteur de protéase).

Le tableau 28.III (extrait du *Bulletin épidémiologique hebdomadaire* de la République française, 2000, n°2) donne le rythme de suivi sérologique pour le personnel blessé.

Hidden page

Hidden page

*Pratique*

***Virologie  
humaine***

Hidden page

*Pratique*

**QROC**

Hidden page

## Série 1 – Hépatites virales

## Questions

- 1 À quelle famille de virus appartient le VHA ?
- 2 Comment se transmet le VHA ?
- 3 Quelle est l'incubation moyenne d'une hépatite A ?
- 4 Quel est le marqueur utilisé pour faire le diagnostic d'une hépatite A aiguë ?
- 5 Combien y a-t-il de sérotypes de VHA ?
- 6 Quelle est l'évolution aiguë ou chronique d'une hépatite A ?
- 7 Quel est le schéma vaccinal d'Havrix ?
- 8 À quelle famille de virus appartient le VHE ? Indiquez le type de son acide nucléique, la symétrie de sa capsidite et la présence ou non de spicules.
- 9 Comment se transmet le VHE ?
- 10 Quelle est l'incubation moyenne d'une hépatite E ?
- 11 Dans quel cas la contamination par le VHE est-elle particulièrement dangereuse ?
- 12 Indiquer brièvement à quelle famille appartient le VHB, ses caractères virologiques (acide nucléique génomique, capsidite, enveloppe...) ainsi que leur lien avec les principaux antigènes.
- 13 Énumérer les protéines de surface synthétisées pendant la réplication du VHB.
- 14 Énumérer les protéines de capsidite.
- 15 Quelle est l'évolution d'une hépatite B aiguë (passage à la chronicité ?) chez l'adulte ?
- 16 Quelles sont les zones géographiques où la prévalence de porteurs chroniques de VHB est la plus importante ?
- 17 Comment se transmet le VHB ?
- 18 Quelle est la définition d'une hépatite B chronique ?
- 19 Quelles sont les deux complications d'une hépatite B chronique ?
- 20 Indiquez dans un schéma les cinétiques en semaines des marqueurs (Ag HBs, anti-HBs, Ag HBe, anti-HBe, IgM anti-HBc, anti-HBc) lors d'une hépatite B aiguë.
- 21 Donnez un exemple de traitement par chimiothérapie d'une hépatite B chronique.
- 22 Quelle est la conduite à tenir pour lutter contre la transmission du VHB chez les enfants nés de mères porteuses d'antigène HBs ?
- 23 Indiquez quelle est la structure du virus de l'hépatite C et à quelle famille de virus il appartient.
- 24 Faites un schéma simplifié du génome du VHC en indiquant la fonction des régions d'intérêt.
- 25 Y a-t-il un ou plusieurs géotypes de VHC ? Détaillez votre réponse.
- 26 Quels sont les modes de contamination majeurs du VHC ?
- 27 Quelle est l'incubation d'une hépatite C, quel est le pourcentage de passage à une phase chronique ?
- 28 Quels sont les antigènes viraux utilisés dans les tests ELISA 3<sup>e</sup> génération pour la détection des anticorps ?
- 29 Comment met-on en évidence la réplication virale et par quelle technique ?
- 30 Quelles sont les méthodes utilisées pour la quantification de l'ARN viral dans le sérum ou le plasma ?
- 31 Comment traite-t-on une hépatite C chronique chez un sujet naïf ?
- 32 Comment objectiviez-vous la réponse au traitement ?

## Série 2 – Arbovirus et virus des fièvres hémorragiques

## Questions

- 1 Quelle est la définition d'un arbovirus ?
- 2 Quelles sont les méthodes d'isolement des arbovirus ?
- 3 Quelles sont les techniques sérologiques couramment utilisées pour la recherche des anticorps dirigés contre les arbovirus ?
- 4 Donnez les principaux caractères virologiques du virus de la fièvre jaune.
- 5 Quels sont le vertébré réservoir et le vecteur arthropode de la fièvre jaune ?
- 6 Quels sont, en Afrique de l'Ouest, les différents types géographiques de fièvre jaune ?
- 7 En zone urbaine, quel est le vecteur de fièvre jaune et quel est le pourcentage de mortalité atteint ?
- 8 Quelle est la physiopathologie de la fièvre jaune ?
- 9 Quelle est la conduite à tenir en cas d'épidémie de fièvre jaune ?
- 10 Combien y a-t-il de types de virus de la dengue et quelle est la particularité physiopathologique de cette infection virale ?

PRATIQUE

- 11 Indiquez quelles sont les principales zones géographiques dans le monde où l'on trouve de la dengue.
- 12 Quels sont les principaux réservoirs et le vecteur du virus de l'encéphalite japonaise ?
- 13 Citez les *Filoviridae* associés à des fièvres hémorragiques.
- 14 Dans quels pays africains des cas de fièvre hémorragique Ebola ont-ils été décrits ?
- 15 Quel est l'hôte intermédiaire du virus Ebola à partir duquel l'homme est contaminé ?
- 16 Quel est le réservoir de virus de la fièvre de Lassa, comment est transmis le virus à l'homme et dans quels pays sévit-il ?
- 17 Il existe une possibilité thérapeutique pour la fièvre de Lassa si le traitement est débuté très précocement : laquelle ?
- 18 La fièvre hémorragique avec syndrome rénal est associée à des virus apparentés appartenant à une même famille virale : citez les deux principaux.
- 19 En 1993 a été décrite aux États-Unis une nouvelle infection associée à un *Hantavirus* : indiquez quelle est cette infection, le nom du virus responsable et le type de réservoir impliqué dans la transmission à l'homme.
- 20 Quels sont les continents où sévit de façon endémique le virus de la fièvre jaune ?
- 21 Comment peut être transmis le virus West Nile des oiseaux sauvages à l'homme ?

Série 3 – Rétrovirus

Questions

- 1 Quels sont les deux rétrovirus pathogènes chez l'homme ?
- 2 Combien y a-t-il de groupes phylogénétiques de VIH-1 et combien de sous-types ?
- 3 Quel est le VIH-1 prédominant en Asie du Sud-Est ?
- 4 Quelles sont les principales cellules cibles du VIH-1, le récepteur et les corécepteurs du virus sur ces différentes cellules ?
- 5 Quel est le marqueur virologique permettant de mesurer le niveau de répllication virale dans l'organisme et quelles sont les deux principales méthodes utilisées pour la détermination de ce marqueur ?
- 6 Il y a une maîtrise relative de la charge virale plasmatique dans les mois qui suivent la primo-infection : quel est le mécanisme majeur de cette maîtrise ?
- 7 Comment est transmis le VIH ?
- 8 Quelles sont les trois phases de l'infection par le VIH et quels sont les niveaux correspondants de charge virale ?
- 9 Chez des patients d'Asie du Sud-Est infectés par le VIH-1 et immunodéprimés, quelles sont les infections opportunistes majeures et fréquentes que vous craignez ?
- 10 Quelles sont les cibles virales des traitements spécifiques anti-VIH ?
- 11 Citez des mutations du gène de la RT du VIH-1 qui sont associées à la résistance contre certains antirétroviraux nucléosidiques.
- 12 Chez un nouveau-né d'une mère séropositive pour le VIH-1, comment allez-vous mettre en évidence une éventuelle infection par le VIH ?
- 13 En traitant une femme enceinte dans la dernière partie de la grossesse et le nouveau-né par une chimiothérapie antirétrovirale quel est le pourcentage de transmission attendu (versus la transmission dans les cohortes non traitées) ?

Série 4 – Virus respiratoires

Questions

- 1 Combien y a-t-il de types différents de virus grippaux chez l'homme ?
- 2 Quelle est la particularité du génome du virus grippal qui va conditionner son épidémiologie ?
- 3 Quels sont les deux antigènes de surface les plus importants des virus grippaux ?
- 4 Quel est le type de virus grippal dont le réservoir est humain et animal ?
- 5 Dans les virus grippaux de type A chez l'homme, combien y a-t-il de sous-types d'HA ?
- 6 Dans les virus grippaux de type A chez l'homme, combien y a-t-il de sous-types de NA ?

- 7 Quels sont les sous-types de grippe A qui circulent habituellement en France ?
- 8 Quelle doit être la composition en types et en sous-types du vaccin antigrippal utilisé à l'heure actuelle ?
- 9 Quel est, chez le nourrisson, le virus qui sévit en hiver et qui peut entraîner une bronchiolite dyspnéisante ? Quel est le traitement admis dans ce type d'infection ?

### Série 5 – Herpesviridae

#### Questions

- 1 Quelle est la particularité physiopathologique des virus de la famille des *Herpesviridae* ?
- 2 Quelle est la complication virale à craindre au décours d'une transplantation et quelles en sont les principales manifestations cliniques ?
- 3 Quelles sont les principales méthodes de mise en évidence du CMV ? (Ne pas envisager ici la détection des anticorps spécifiques.)
- 4 Quelles sont les pathologies aiguës (primo-infection) et malignes (tumoraux) liées au virus d'Epstein-Barr (EBV) ?
- 5 Sur quel marqueur sérologique principal repose le diagnostic de MNI ?
- 6 Devant une suspicion de lymphome non hodgkinien, quel examen moléculaire spécialisé allez-vous demander ?

### Série 6 – Gastroentérites

#### Questions

Citez deux groupes de virus particulièrement impliqués dans les gastroentérites ?

### Série 7 – Creutzfeldt-Jacob

#### Questions

- 1 Citez les différentes formes de la maladie de Creutzfeldt-Jacob ?
- 2 Donnez une définition courte du prion.
- 3 Quelle est la protéine normale de l'organisme des mammifères dont le prion a la même séquence primaire et comment est appelé le prion en pratique de laboratoire ?
- 4 Dans quels organes ou tissus périphériques peut-on mettre en évidence Pr<sup>Pres</sup> dans le cas du Creutzfeldt-Jacob nouveau variant ?

### Série 8 – Questions diverses

#### Questions

- 1 Citez les virus qui sont associés à des éruptions maculopapuleuses chez l'enfant.
- 2 Quel est le type de *Papillomavirus* humain associé le plus souvent au cancer du col de l'utérus ?
- 3 Quel est le réservoir encore incontrôlé de virus rabique qui pourrait occasionner des cas de rage humaine en Europe de l'Ouest ?
- 4 Quel est le virus pouvant occasionner une encéphalite démyelinisante chez des patients VIH<sup>+</sup> très immunodéprimés ?
- 5 Comment allez-vous chez un transplanté de moelle osseuse suspect de développer une infection à CMV aborder le diagnostic de ce virus ?

## Réponses

### Série 1 – Hépatites virales

- 1 À la famille des Picornaviridae, aux Enterovirus.
- 2 Par voie entérale, orofécale. Rôle important de l'eau, des coquillages contaminés par les humains.
- 3 Un mois.
- 4 IgM anti-VHA.
- 5 Un seul.
- 6 Aiguë ; il n'y a pas de chronicité.
- 7 Deux injections espacées de 15 à 30 jours, rappels à 6 et 12 mois.
- 8 Famille des Caliciviridae ; le génome est un ARN monocaténaire de polarité positive ; la capsid est icosaédrique et porte des spicules.
- 9 Par l'eau de boisson contaminée.
- 10 Six semaines.
- 11 Chez la femme enceinte où la mortalité peut atteindre 20 %.
- 12 Famille des Hepadnaviridae ; l'acide nucléique est un ADN circulaire ; la capsid est de symétrie indéterminée et correspond à l'antigène HBc ; il existe une enveloppe qui correspond à l'antigène HBs.
- 13 Le gène S code pré-S1, pré-S2 et S.
- 14 La région C code deux protéines : l'antigène HBe et l'antigène HBc.
- 15 Dans 10 % des cas d'hépatite B aiguë, il y a passage à la chronicité.
- 16 Afrique, Chine, Asie du Sud-Est.
- 17 Par la voie sexuelle (sperme et sécrétions vaginales), par le sang, de la mère à l'enfant (néonatale), dans un cadre domestique (échange de rasoir, de brosse à dents ; rôle de la salive ?).
- 18 Persistance de l'antigène HBs et élévation des ALAT au-delà de 6 mois.
- 19 Cirrhose et cancer du foie.
- 20 Cf. fig. 17.3, page 129.
- 21 Interféron  $\alpha$  associé à la lamivudine.
- 22 Dans les 12 à 24 heures suivant la naissance, on injecte des immunoglobulines spécifiques à l'enfant puis on commence un programme de vaccination avec HBs.
- 23 Il s'agit d'un virus à ARN de polarité positive avec une capsid icosaédrique et une enveloppe ; il appartient à la famille des Flaviviridae.
- 24 Cf. fig. 17.4, page 132.
- 25 Il y a plusieurs génotypes de VHC ; dans la classification simplifiée de Simmons, il y a au moins 6 génotypes.
- 26 La plupart des cas correspondent à une transmission parentérale (transfusion sanguine et toxicomanie intravasculaire) ; la transmission mère-enfant est faible (de l'ordre de 3 % sans co-infection VIH) de même que la transmission sexuelle.
- 27 L'incubation est de 6 à 8 semaines ; 20 % des patients évoluent vers la guérison et 80 % vers la phase chronique.
- 28 C22 (core), C33 (NS3), C100 (NS4) et un antigène de NS5.
- 29 Détection de l'ARN viral dans le sérum (ou le plasma) par PCR (dite qualitative).
- 30 PCR quantitative avec un standard interne et hybridation sur plaque (Roche) ; ADN branché ou bDNA (Chiron Bayer) ; hybridation de l'ARN viral sur des sondes et amplification du signal.
- 31 Association interféron pégylé-ribavirine selon un schéma dépendant du génotype (2 ou 3 versus 1 ou 4)
- 32 Négativation de la charge virale et normalisation des transaminases.

### Série 2 – Arbovirus et virus des fièvres hémorragiques

- 1 Arthropod Borne Virus ; virus dont le réservoir est un vertébré et qui est véhiculé par un arthropode hématophage chez lequel il se multiplie.
- 2 À partir du sang du malade, inoculation au cerveau de souris, inoculation à des moustiques (Aedes, Toxorhynchites) par voie thoracique, inoculation à des cultures cellulaires (Vero, cellules de moustiques).
- 3 La fixation du complément, l'inhibition d'hémagglutination, la neutralisation ; pour les IgM, on peut ajouter l'ELISA.
- 4 Petit virus de 40 nm de diamètre ; ARN génomique monocaténaire de polarité positive, avec

Hidden page

Hidden page

Hidden page

Hidden page

Hidden page

PRATIQUE



**Cas clinique 5**

*Un patient de 69 ans est suspect d'être atteint d'une maladie de Creutzfeldt-Jakob.*

**Question**

Quel examen préconisez-vous ?



**Cas clinique 6**

*Une patiente de 78 ans, vaccinée contre la grippe en novembre 2007, présente en février 2008 une fièvre élevée accompagnée de courbatures, d'une bronchite et d'une très grande asthénie. Dix jours plus tard, elle bénéficie d'une sérologie virale par déviation du complément dont les résultats sont les suivants : grippe A : positif au 1 : 320 ; grippe B : positif au 1:40.*

**Question**

Comment interprétez-vous cette sérologie ?



**Cas clinique 7**

*Un patient rentre du sud de l'Inde après un séjour d'une semaine ; il est fébrile, nauséux, céphalalgique et se plaint surtout de douleurs articulaires aux poignets, aux phalanges et aux genoux.*

**Question**

Quel diagnostic évoquez-vous ? Pourquoi ? Quels examens allez-vous demander ? Quelle conduite administrative allez-vous avoir ?



**Cas clinique 8**

*Un jeune homme de 19 ans consulte pour une éruption fébrile accompagnée de ganglions cervicaux ; il a eu il y a 15 jours un rapport sexuel non protégé avec une partenaire inconnue.*

**Question**

Quels examens allez-vous demander et pourquoi ?



**Cas clinique 9**

*Un patient de 39 ans est admis aux urgences à la suite d'une fièvre d'apparition brutale accompagnée de convulsions puis d'un coma.*

**Question**

Quel diagnostic évoquez-vous de façon privilégiée en précisant la conduite thérapeutique ?

**Cas clinique 10**

*Un enfant de 5 ans a été admis en réanimation le 23 décembre avec une pneumopathie bilatérale ; grippe et VRS qui sont en pic épidémique ont été demandés au laboratoire de virologie à partir des sécrétions bronchopulmonaires ; le test rapide et la PCR VRS sont négatifs ; la PCR grippe AH<sub>1</sub>, AH<sub>3</sub> et B est négative.*

**Question**

Quelles sont les autres étiologies virales à évoquer ?

**Cas clinique 11**

*Une patiente est admise en ORL pour une paralysie faciale a frigore.*

**Question**

Quelles sont les étiologies virales de la paralysie faciale a frigore (dite aussi paralysie de Bell) et quelles sont les bases de la prise en charge thérapeutique ?

**Cas clinique 12**

*Un homme présente une éruption vésiculeuse du gland accompagnée de sensations de brûlure.*

**Question**

Quels examens virologiques allez-vous demander ?

**Cas clinique 13**

*Un enfant de 12 ans présente un rash accompagné d'adénopathies cervicales ; les transaminases sont augmentées.*

**Question**

Quelle est la première étiologie virale que vous allez évoquer et les examens entrepris ?

**Cas clinique 14**

*Un patient est hospitalisé pour une hépatite aiguë ; le bilan pour les hépatites A, B et C est le suivant : Ig totales VHA<sup>+</sup>, IgM VHA<sup>+</sup>, HBs<sup>+</sup>, anti-HBc<sup>-</sup>, anti-HBs<sup>-</sup> ; anti-VHC<sup>-</sup>. Comment interprétez-vous ces résultats sérologiques ? Au cours d'un interrogatoire médical plus approfondi, vous apprenez que le patient est pilote de ligne et qu'il est rentré il y a trois semaines d'un déplacement à Dacca, Bangladesh.*

**Question**

Quelle hypothèse posez-vous et quels examens allez-vous demander ?

## Réponses

---

### Cas clinique 1

On doit évoquer une primo-infection EBV (MNI) et une primo-infection VIH. Les examens demandés sont une numération-formule sanguine, une sérologie spécifique EBV, une sérologie spécifique VIH, une antigénémie VIH voire une charge virale VIH.

### Cas clinique 2

On peut évoquer une infection par le virus de la dengue et on va demander la recherche des IgM dirigées contre ce virus.

### Cas clinique 3

On évoque une méningite aiguë à Enterovirus ; on adresse un prélèvement de LCR et des selles au laboratoire de virologie.

### Cas clinique 4

On pose l'hypothèse de l'émergence de mutants résistants et on demande un test de résistance génotypique pour proposer un nouveau traitement.

### Cas clinique 5

La recherche de la protéine 14-3-3 dans le liquide céphalorachidien.

### Cas clinique 6

La patiente a été infectée par un virus grippal de type A comme en témoigne la sérologie grippale A positive à une dilution sérique du 1 : 320 (en cas de grippe elle est supérieure ou égale au 1 : 160) ; la positivité pour la grippe B

## PRATIQUE

au 1:40 témoigne de la vaccination. Cette patiente a été atteinte par la grippe malgré la vaccination (celle-ci est efficace pour la protection dans environ 75 % des cas).

### *Cas clinique 7*

Le diagnostic évoqué est celui d'une infection à chikungunya ; en effet, le patient rentre d'Inde où le virus est endémique et il présente des signes cliniques compatibles notamment des arthralgies ; le laboratoire de virologie va rechercher les IgM et tenter de mettre en évidence l'ARN viral dans le sang par RT PCR temps réel. Si le diagnostic est établi, le cas doit être signalé à la Ddass.

### *Cas clinique 8*

Le diagnostic à ne pas manquer est la primo-infection VIH ; la sérologie VIH est immédiatement prescrite en sachant que les tests de 4<sup>e</sup> génération concernent anticorps et antigène p24 ; 15 jours après l'infection virale potentielle, ce test sérologique peut être positif mais il devra être répété s'il est négatif ; si l'environnement technique le permet, on peut demander une charge virale qui détecte l'ARN viral avant la positivité de l'antigénémie p24 puis celle des anticorps. Classiquement, on répétera la sérologie à un mois et trois mois avant de clore le dossier en s'assurant que le patient ne prend pas de risques pendant la période de suivi sérologique.

### *Cas clinique 9*

On évoque une encéphalite herpétique ; une PL est réalisée cependant que commencent les examens radiologiques à la recherche d'une atteinte temporale ; le prélèvement de LCR qui est clair est adressé au laboratoire de virologie pour une PCR temps réel HSV dont les résultats sont normalement connus dans la journée voire la demi-journée. Avant tout résultat, le patient va être traité par perfusion de Zovirax.


### *Cas clinique 10*

Les virus parainfluenzae, les adénovirus, le métapneumovirus, voire les rhinovirus.


### *Cas clinique 11*

Résurgence du virus herpétique (HSV) ou du virus varicello-zonateux (VZV) au niveau du ganglion géniculé avec compression inflammatoire du nerf facial dans son trajet intracrânien.

On utilise un antiviral (Zovirax en perfusion) dans la phase précoce puis un corticoïde par voie générale avec, le cas échéant, une décompression chirurgicale.

**Cas clinique 12**

Sérologie IgM et IgG de HSV ainsi que recherche de l'ADN HSV par PCR dans le liquide de vésicule.

**Cas clinique 13**

Mononucléose infectieuse ; vous demandez la recherche des IgM anti-EBV ; attention : le MNI test n'est pas un examen fiable ; il peut être faussement négatif dans plus de 10 % des cas de MNI ; la mise en évidence des anticorps spécifiques anti-EBV est la méthode de référence.

**Cas clinique 14**

Le patient a une immunité ancienne contre l'hépatite A comme en témoignent la négativité des IgM et la positivité des Ig totales ; il a été vacciné contre l'hépatite B et n'est pas infecté par VHC.  
Il revient d'un pays d'endémie pour le virus de l'hépatite E (VHE) dans une période de temps compatible avec une hépatite E aiguë ; les examens à demander sont les IgM anti-VHE ainsi qu'une PCR à la recherche de l'ARN VHE dans les selles.

Hidden page

# Index

1592U89, ABC, abacavir, 175  
 3-TC, 175  
 3TC, lamivudine, 175  
 5-iodo désoxyuridine (IdU), 34, 96  
 7-méthylguanosine, 23

## A

Aciclovir, 34  
 Acide  
   - N acétylneuraminique, 11  
   - sialique, 11  
*Acquired immune deficiency syndrome*, 161  
 Acycloguanosine (ACG) (aciclovir, Zovirax), 34, 96  
 Adénine, 7  
   - arabinoside (Ara-A, vidarabine, Vira-A), 34  
 Adénopathies, 105  
 Adénovirus, 117, 122  
 ADN, 7  
   - branché (b DNA), 175  
   - polymérase, 25  
*Adult T cell leukemia* (ATL), 158  
*Aedes*, 139  
 Afrique, 85, 131, 135, 140  
 Agarose, 45  
 Agent Delta, 131  
   - transmissibles non conventionnels (ATNC), 233  
   - ultrafiltrable, 6  
 Alphavirus, 138  
 Alsace, 139  
 Amantadine, 32  
 Amaril, 138  
 Amérique, 135, 142  
 Amorces, 46  
 Amplification génique, 46  
 Amprenavir, 176  
 Analogues nucléosidiques (NUC), 37, 178  
 Andes, 222  
 Anémie, 117  
 Animal, 42  
 Anticorps anti-p24, 171  
 Antigène  
   - Australia, 126  
   - d'enveloppe = HBs, 126

  - du core = HBc, 126  
   - e = HBe, 126  
   - p24, 171  
   - T, 27  
*Apodemus agrarius*, 150  
 Arbovirus, 137, 233  
 ARN, 9  
   - bicaténaire, 9  
   - polymérase, 18  
 Arthropathie, 117  
 Arthropode, 137  
 Asie, 142  
   - du Sud-Est, 89, 131  
 Astrovirus, 121  
 Ataxie, 97  
 Autoradiographié, 45  
 AZT (zidovudine), 175

## B

$\beta$ -mercaptoéthanol, 64  
 b DNA (ADN branché), 175  
 B19, 232  
 Baleines, 74  
 Bayou, 222  
 Bêta-propiolactone, 13  
 Bicaténaire, 7  
 BK, 115  
*Black Creek Canal*, 222  
 Bocavirus, 118  
*Body cavity based lymphoma* (BCBL), 200  
*Borna disease virus* (BDV), 224  
*Bornaviridae*, 224  
 Bouboui, 138  
 Bourgeonnement, 11, 24  
*Bovine immunodeficiency virus* (BIV), 158  
*Bovine leukemia virus* (BLV), 158  
*Bovine spongiform encephalopathy* (BSE), 181  
 Bovins, 148  
 Breda, 122  
 Bromure d'éthidium, 45  
 Bronchite(s), 84  
 Bunyamwera, 138  
 Bunyavirus, 138

VIROLOGIE HUMAINE

Buschke-Loewenstein, 113  
Bwamba, 138

**C**

*Caliciviridae*, 232  
Calicivirus, 121  
California, 138  
Calomys, 149  
Camargue, 139, 191  
Cambodge, 146  
Campagnol, 150  
Canard, 126  
Canarypox, 204  
Cancer du nasopharynx, 102  
CAP, 23  
*Caprine arthritis encephalitis virus* (CEAV), 158  
Caprins, 148  
Capside  
– hélicoïdale, 9  
– icosaoédrique, 10  
Caraïbe, 142  
Carcinomes, 113  
Cassures (ou sauts), 73  
Cataracte, 109  
CCR-5, 166  
Cellules de Kuppfer, 166  
– de primo-explantation, 43  
– de rein de singe (RS), 43  
– diploïdes, 43  
– en lignées continues, 43  
– NK, 98  
Chacal, 153  
Charge virale plasmatique, 173  
Chat, 158  
Chauve-souris, 147, 153, 155  
Cheval, 74, 158, 224  
Chèvre, 158  
Chikungunya, 138, 221  
Chimiokines, 166  
Chimiothérapie, 32  
Chimpanzee corysa agent (CCA), 86  
Chiroptères, 153  
Classification, 15  
*Clethrionomys glareolus*, 150  
CMH I, 202  
CMH II, 202  
Colite, 98  
Combivir, 176  
Condylomes, 113  
Conjonctivite, 90  
Core, 6  
Coronavirus, 122  
Corps de Councilman, 144  
– de Nègri, 154  
Côte-d'Ivoire, 223  
Coxsackie, 89

Crêtes de coq, 113  
*Creutzfeldt-Jakob disease* (CJV), 181  
Crimée-Congo, 147  
Croup, 82  
CTL, 202  
Cuba, 146  
Cultures cellulaires, 43  
CXCR-4, 166  
Cymévan, ganciclovir, 35  
Cytomégalovirus (CMV), 98, 233  
Cytosine, 7  
– arabinoside, 34

**D**

d4T (stavudine), 175  
ddC (zalcitabine), 175  
ddl (didanosine), 175  
Décapsidase, 30  
Décapsidation, 30  
Delavirdine, 176  
Démýélinisation, 115  
Dengue, 138, 233  
*Desert Shield*, 121  
Désoxycholate de sodium, 13  
Désoxyribose, 7  
Dessication, 12  
Déviation du complément, 55  
Diagnostic sérologique, 53  
Diarrhées, 90  
DNA (ADN), 7  
*DNA chip* (puces à ADN), 53  
Dobrava - Belgrade, 222  
*Dot blot*, 45  
*Double-stranded* (DS), 7  
Duvenhage, 155

**E**

*Eastern equine encephalitis* (EEE), 138  
Eau de Javel, 13  
Ebola, 145, 149, 223, 233  
Echovirus, 89  
Écureuil, 126, 147  
Efavirenz, 176  
Effet cytopathogène (ECP), 20  
ELISA (*Enzyme-linked immunosorbent assay*), 44, 56, 59  
Encéphalite(s), 84  
– à tiques, 138  
– de Murray Valley, 138  
– de Saint-Louis, 138  
– japonaise, 138  
– temporale aiguë, 95  
Encéphalopathie spongiforme bovine (ESB), 181, 223, 233

Entérovirus, 89  
 Env, 159  
 Enveloppe, 11  
 Épidémies, 77  
 Épidermodysplasie verruciforme de Lutz-Lewandovsky, 113  
*Epstein-Barr virus* (EBV), 100, 233  
*Equine infectious anemia virus* (EIAV), 158  
*Equine Morbillivirus*, 223  
 Éruptions maculopapuleuses, 90  
 Érythème infectieux, 117  
 États-Unis, 133  
 Éther, 13  
 Europe, 133  
 – centrale, 138  
*European bat Lyssavirus* (EBL) 2, 155, 157  
 Exanthème, 106  
 – de Boston, 90

## F

Famciclovir, 36, 96, 98  
*Feline immunodeficiency virus* (FIV), 158  
 FeLV, 158  
 Fibroblastes humains, 43  
 Fièvre(s)  
 – à phlébotomes, 138  
 – de Lassa, 233  
 – hémorragique avec syndrome rénal, 145, 222  
 – hémorragiques, 137, 145, 233  
 – jaune, 138, 146  
*Filoviridae*, 145  
*Flaviviridae*, 231  
 Flavivirus, 138  
 Foscarnet (foscavir), 36  
 Foscavir (foscarnet), 36  
 France, 139

## G

Gabon, 150, 223  
 Gag (*group antigen*), 159  
 Ganciclovir (cymévan), 35  
 Gastroentérites, 119  
*Gay syndrome*, 161  
 GBV-A, 135  
 GBV-B, 135  
 GBV-C, 135  
 Gel filtration, 64  
 Gènes, 7, 39, 100, 132, 159, 160, 164, 165, 177, 198, 200, 225, 229, 231  
 – C, 126  
 – pré-C, 126  
 – pré-S1, 126  
 – pré-S2, 126

Gestmann-Straussler-Scheinker (GSS), 181  
 Glissements, 73  
 Glomérulonéphrite, 123  
 Gradient de saccharose, 64  
 Grande-Bretagne, 223  
 Greffe, 94  
 Grippe aviaire, 213  
 Guanine, 7  
 Guyane, 142

## H

Haemagogus, 146  
 HAM, 158  
 Hantaan, 222  
*Hantavirus pulmonary syndrome* (HPS), 222  
 HAV, 124  
 Hawaï, 121  
 HBc, 128  
 HBe, 127  
 HBs, 127, 129, 130  
 HBV, 126  
 HBx, 200  
 HCV, 132  
 HDV, 131  
 HeLa, 43  
 Hémodorption (HAD), 22  
 Hémagglutination, 11  
 – passive, 58  
 Hémagglutinine (HA), 11  
*Hemorrhagic fever with renal syndrome* (HFRS), 222  
 Hendra, 223  
*Hepadnaviridae*, 126  
 Hépatite(s), 123  
 – aiguë, 128  
 – chronique, 130  
 Hépatocarcinome, 130  
 Herpangine, 90  
*Herpesviridae*, 94, 233  
 Herpesvirus, 192, 199  
 HEV, 135  
 Hexons, 11  
 HGV, 135  
 HHV-6, 28, 103, 233  
 HHV-7, 28, 104, 233  
 HHV-8, 28, 104, 233  
 HPV, 112  
*HTLV-I-associated myelopathy* (HAM), 158  
*Human T leukemia virus I* (HTLV-I), 158, 231  
*Human T leukemia virus II* (HTLV-II), 158, 231  
 Hybridation, 45  
 – *in situ*, 45  
 Hyène, 153

VIROLOGIE HUMAINE

**I**

Ictère, 123  
 IgG, 64  
 IgM, 64  
*Immune adherence hemagglutination (IAHA)*, 61, 62  
 Immunoblot, 63  
 Immunocapture, 65  
 Immunodéficiência, 94  
 Immunofluorescence, 44  
 – indirecte, 61  
 Immunoglobulines, 64  
 – IgG et IgM, 64  
 Inde, 135  
 Indinavir, 176  
 Inhibiteurs  
 – d'intégrase, 180  
 – de fusion, 180  
 – de protéase (IP), 176, 179  
 – non nucléosidiques de la TI (non-NUC), 179  
 Inhibition de l'hémagglutination (IHA), 56  
 Interféron, 20, 33, 34, 36, 38, 39, 40, 41, 50, 77, 79, 93, 95, 96, 115, 130  
 IST, 166

**J**

*Jamestown Canyon (JC)*, 115  
 Junin, 149

**K**

Kaletra, 176  
 Kaposi-Juliusberg, 95  
 Kedougou, 138  
 Kératites, 84, 95  
 Köplick, 84  
 Koutango, 138  
*KSHV (Kaposi Sarcoma Herpes Virus)*, 200  
 Kyasanur, 138, 147

**L**

Lagos bat, 155  
 Lamivudine, 3TC, 33, 34, 36, 130, 175  
 Laryngites, 84  
 Lassa, 145, 148  
 Lentivirus, 158  
 Leucémie, 158  
 Leucoencéphalopathie multifocale progressive (LEMP), 115

*Long terminal repeat (LTR)*, 164  
 Loup, 153  
 Lymphocyte(s)  
 – B, 98, 166  
 – CD8 cytotoxiques, 166  
 – T CD4, 171  
 – T CD8, 166, 171  
 – T cytotoxiques, 95  
 – TCD4, 161  
 Lymphome de Burkitt, 102

**M**

Machupo, 149  
*Maedi visna*, 158  
 Maladie  
 – de Borna, 224  
 – de Bornholm, 90  
 – sexuellement transmissible, 166  
 Marburg, 145, 149  
 Marmotte, 126  
*Mastomys natalensis*, 148  
 Méningite lymphocytaire aiguë, 83, 90  
 Méningo-encéphalite(s), 83, 189  
 Métapneumovirus, 87  
 Mexico, 121  
 Mimivirus, 229  
 MIP-I  $\alpha$ , 166  
 MIP-I  $\beta$ , 166  
 Mokola, 155  
 Monocaténaires, 9  
 Monocyte-macrophage, 166  
 Mononucléose infectieuse (MNI), 100  
 Morbillivirus, 81  
 – équin (*Equine Morbillivirus*), 223  
 Mouffette, 153  
*Mouse mammary tumor virus (MMTV)*, 158  
 Mouton, 158  
 MRC5, 43  
*Muerto Canyon virus*, 151  
 Mulot, 150  
 Myocardite, 90  
*Myxovirus parotidis*, 83, 190

**N**

Nairovirus, 138  
 NASBA, 174  
 Nelfinavir, 176  
*Nested PCR*, 48  
 Neuraminidase (NA), 11  
 Neurones, 86  
 Neutralisation, 62  
 Névirapine, 177  
 New York, 140, 161, 222

Nipah, 223  
 Norovirus, 121  
*Northern blot*, 45  
 Norwalk, 121  
 Nourrisson, 86  
 Nucléocapside, 6  
 Nucléoïde, 28

## O

O'Nyong Nyong, 138  
 Œuf de poule, 43  
 Oiseaux, 74, 147  
 Oligodendrocytes, 86  
 Oligurie, 123  
 Oncovirus, 158  
 Oreillons, 83, 190  
 Oseltamivir, 32, 79  
 Otomastoïdites, 84  
 Ovins, 148

## P

Pandémies, 76  
 Panencéphalite sclérosante subaiguë, 84  
 Papillomatose, 113  
 Papillomavirus, 112  
 Papillome de Shope, 113  
 Parainfluenza, 82  
 Paralysies, 90  
 – de Bell, 97  
 – faciales « a frigore », 97  
 Paramyxovirus, 81  
 Parotidite, 83  
 Particules de Dane, 126  
*Parvoviridae*, 232  
 Parvovirus B19, 117  
 Paul Bunnell Davidsohn, 102  
 PCR (*Polymerase chain reaction*), 46  
 Penciclovir, 35, 36  
 Pentons, 11  
 Périartérite, 123  
 Péricardite, 90  
*Peromyscus maniculatus*, 222  
 Philippines, 223  
 Phlebovirus, 138  
 Phoques, 74  
*Picornaviridae*, 89, 232  
 Pinocytose, 27  
*Pneumocystis carinii*, 161  
 Pneumonies, 84  
 Pneumopathie, 86  
 Pneumovirus, 81  
 Pol, 159

Poliomyélite, 18, 90  
 Poliovirus, 89, 90  
 Poly rA, 23  
 Polyarthrite, 123  
 Polyomavirus, 115  
 Polyradiculonévrite, 123  
 Porc, 74  
 Porc-épic, 147  
 Poule, 158  
 Poxvirus, 30, 227  
 Prélèvements, 42  
 Primers, 46  
 Primo-infection, 95  
 Prion, 184  
 Prospect Hill, 150  
 Protéine 14-3-3, 186, 233  
 Protéine A du Staphylocoque, 65  
 – M, 24  
 Provirus, 25  
 PrP, 184  
 Prp-res (prion), 233  
 Puces à ADN (*DNA chips*), 53  
 Purpura, 108  
 Puumala, 150, 222

## R

Radio-immunologie, 61  
*Radio-immunosorbent test (RIST)*, 61  
 Rage, 153  
 Ramsay-Hunt, 97  
 RANTES, 166  
 Rat, 147  
 – musqué, 147  
 Raton-laveur, 153  
 Réactivation, 95  
 Récepteur CD4, 161  
*Receptor destroying enzyme (RDE)*, 57, 145  
 Recombinaison génétique, 71  
*Recombinant immunoblot assay (RIBA)*, 133  
 Renard, 153  
 Réplicase, 19  
*Reproductive capacity temperature (RCT)*, 91  
 Reston, 223  
 Résurgences, 95  
 Rétinite, 98  
 Rétrotranscriptase, 25  
*Retroviridae*, 231  
 Rétrovirus, 25, 158  
*Reverse transcriptase (RT)*, 25  
 Rhinopharyngite, 86  
 Rhinovirus, 93  
 Ribavirine, 87, 149  
*Ribonucleic acid (RNA)*, 9  
 Ribose, 9  
 Rift, 138, 148  
 Rimantadine, 32

VIROLOGIE HUMAINE

Ritonavir, 176  
 RNase H, 25  
 ROR, 84  
 Rotavirus, 119  
 Rougeole, 84  
 Roumanie, 140  
*Rous sarcoma virus* (RSV), 158  
 RT-PCR, 134, 135, 174  
 Rubéole, 108  
 Russie, 140

**S**

Sapovirus, 121  
 Sapporo, 121  
 Saquinavir, 176  
 Scrapie, 181  
 Sendai, 20  
 Séoul, 222  
 Séquençage, 37, 51, 52, 53, 91, 121, 134, 178, 231  
*Severe acute respiratory syndrome* (SARS), 209  
 SHIV, 206  
 SIDA, 161  
*Simian immunodeficiency virus* (SIV), 158  
*Sin nombre virus*, 151, 222  
 Singe(s), 74, 158  
 Snow Mountain, 121  
*Solid phase reverse immunosorbent test*, 65  
 Sondes nucléiques, 45  
 Soudan, 222  
 Sous-type, 73  
*Southern blot*, 45  
 Spicules, 13  
 Spumavirus, 158  
 SS, 9  
 Surdit , 109  
 SV40 (*Simian virus né 40*), 6  
 Syncytia, 22  
 Syndrome d'immunodéficiency acquise, 161  
     – pied-main-bouche, 90  
 Système glandulaire, 83

**T**

T20, 146  
 Tahyna, 138  
 Taq polymérase, 46  
 TCD<sub>4</sub>, 161, 165, 166, 171, 173, 202  
 TCD<sub>8</sub>, 166, 171, 202  
 Tégument, 29  
 Th 1, 202  
 Th 2, 202  
 Thaïlande, 147, 165, 167, 203  
 Thrombocytopénie, 166

Thymidine kinase, 29, 34  
 Thymine, 7  
 Tique, 147  
 Transcriptase, 18  
     – inverse, 25  
*Transfusion transmitted virus* (TTV), 232  
 Transmission périnatale, 95, 128  
     – par le sang, 231  
     – sexuelle, 128  
     – transplacentaire, 95  
 Trifluorothymidine (TFT), 34, 96  
 Trizivir, 176  
*Tropical spastic paraparesis* (TSP), 158  
 TTV (*Transfusion transmitted virus*), 232  
 Type, 72

**U**

Ultraviolets, 13  
 Uracile, 9

**V**

Vaccin(s)  
     – 17 D, 144  
     – inactiv s, 79  
 Vaccine, 30  
 Valaciclovir, 35, 96, 98  
 Vampires, 153  
 Variant, 73  
 Varicelle, 96  
 Variole, 9, 30  
 vCID, 233  
 Verno estivale russe, 138  
 Verrues, 113  
 V sicules, 95  
 VHA, 124, 232  
 VHB, 126  
 VHC, 16, 132, 231  
 VHD, 131  
 VHE, 135, 232  
 VHG, 16, 231  
 Vietnam, 146, 165  
 VIH-1, 161, 231  
 VIH-2, 161, 231  
 Virus  
     – de Crimée-Congo, 138  
     – de l'hépatite A, 124  
     – de l'hépatite B, 126  
     – de l'hépatite C, 16, 132  
     – de l'hépatite D, 131  
     – de l'hépatite E, 135  
     – de l'hépatite G, 16, 135  
     – de la grippe, 22  
     – de la mosa ique du tabac (VMT), 9  
     – des fièvres hémorragiques, 137, 145, 233

- des oreillons, 83, 190
- du papillome humain (VPH), 112
- Duvenhage, 155
- Influenza, 71
- Mokola, 155
- respiratoire syncytial (VRS), 86
- vMCJ, 223

**W**

Wesselsbron, 138

- West Nile, 138, 220
- Western blot*, 63
- Western equine encephalitis*(WEE), 138

**Z**

- Zaire, 150, 222
- Zanamivir, 32, 79
- Zika, 138
- Zona, 96

Hidden page

Hidden page

# ABRÉGÉS

## connaissances et pratique

### Virologie humaine

#### L'ouvrage

- Cet ouvrage offre une **synthèse claire** de la **virologie générale** et la **virologie systématique**.
- La partie **Connaissances** développe des **données essentielles de l'infection virale** avec la définition, la classification et la réplication des virus, la chimiothérapie antivirale, l'interféron, les méthodes du diagnostic virologique, puis propose une présentation systématique des infections virales, qu'elles soient anciennement connues (grippe, herpès, hépatites...) ou d'apparition récente (SRAS, grippe aviaire, sida, encéphalopathies spongiformes...) ou sporadique (fièvres hémorragiques, Ebola...).
- Cette 5<sup>e</sup> édition prend en compte l'évolution des connaissances depuis 2002 et comporte notamment :
  - la mise à jour du chapitre traitant des hépatites ;
  - une présentation détaillée du SRAS (première maladie émergente du XXI<sup>e</sup> siècle) et de la grippe aviaire ;
  - une actualisation du chapitre des viroses émergentes qui présente de nouveaux virus pouvant poser des problèmes de santé publique (virus Hendra et Nipah, virus Chikungunya...).L'introduction d'une rubrique **Points clés** en fin de chaque chapitre et de la référence aux **items du programme de DCEM2-DCEM4** renforce l'aspect didactique de l'ouvrage.
- La partie **Pratique** est par ailleurs enrichie de nouveaux QROC et cas cliniques permettant à l'étudiant de tester ses connaissances et de les appliquer également à la clinique.

#### Le public

- Les étudiants de **PCEM2** et de **DCEM**.
- Les étudiants des sciences de la vie.
- Les médecins généralistes.
- Les épidémiologistes.
- Les cliniciens.

#### L'auteur

**Hervé J.A. Fleury** est professeur de virologie à l'université Victor-Segalen Bordeaux 2, chef de service du laboratoire de virologie du CHU de Bordeaux et du laboratoire universitaire EA 2968. Ancien élève de l'institut Pasteur de Paris, il a été directeur de l'UFR de Médecine Tropicale de l'université de Bordeaux 2. Depuis 2002, il est expert pour le groupe HIVResNet (*HIV Resistance Network*) de l'OMS et est impliqué dans des travaux collaboratifs sur le VIH avec des équipes d'Afrique, d'Asie, du Moyen-Orient et d'Amérique du Sud.