



UNIVERSITÉ DE NANTES

Le Virome

Master Sciences et Santé
UE Microbiologie- Pathologies
Jeudi 9 mars 2023

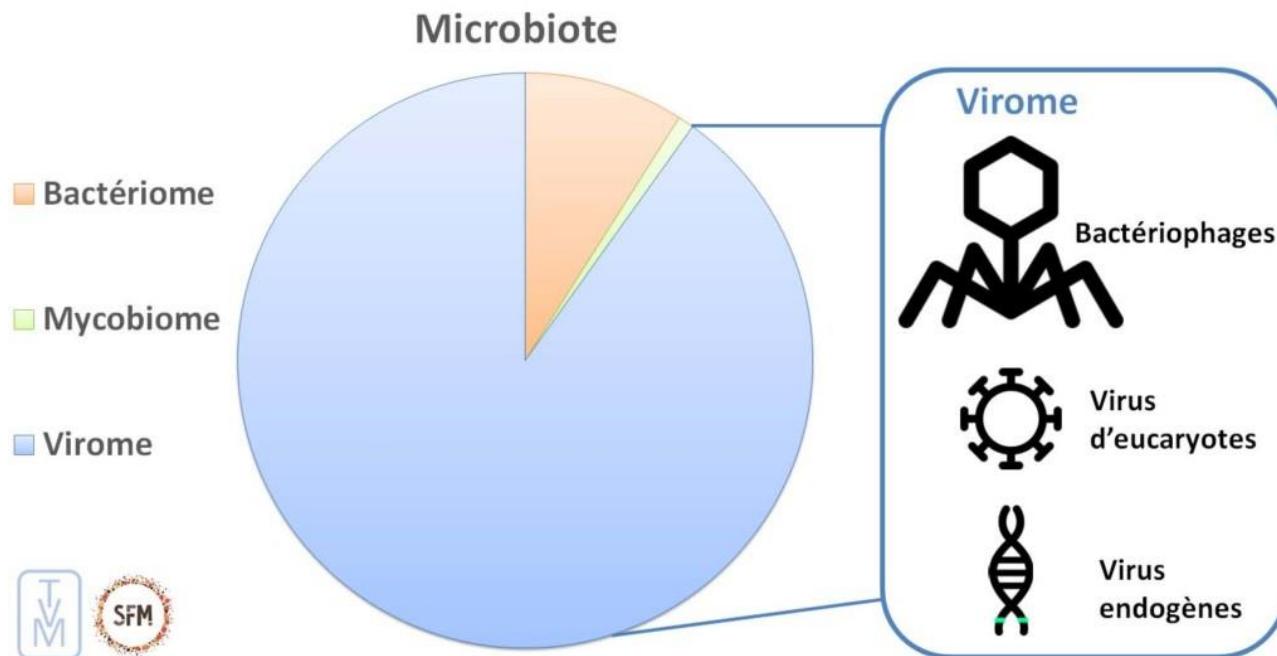
Dr Louise Castain
Laboratoire de Virologie
CHU Nantes

Le Virome humain

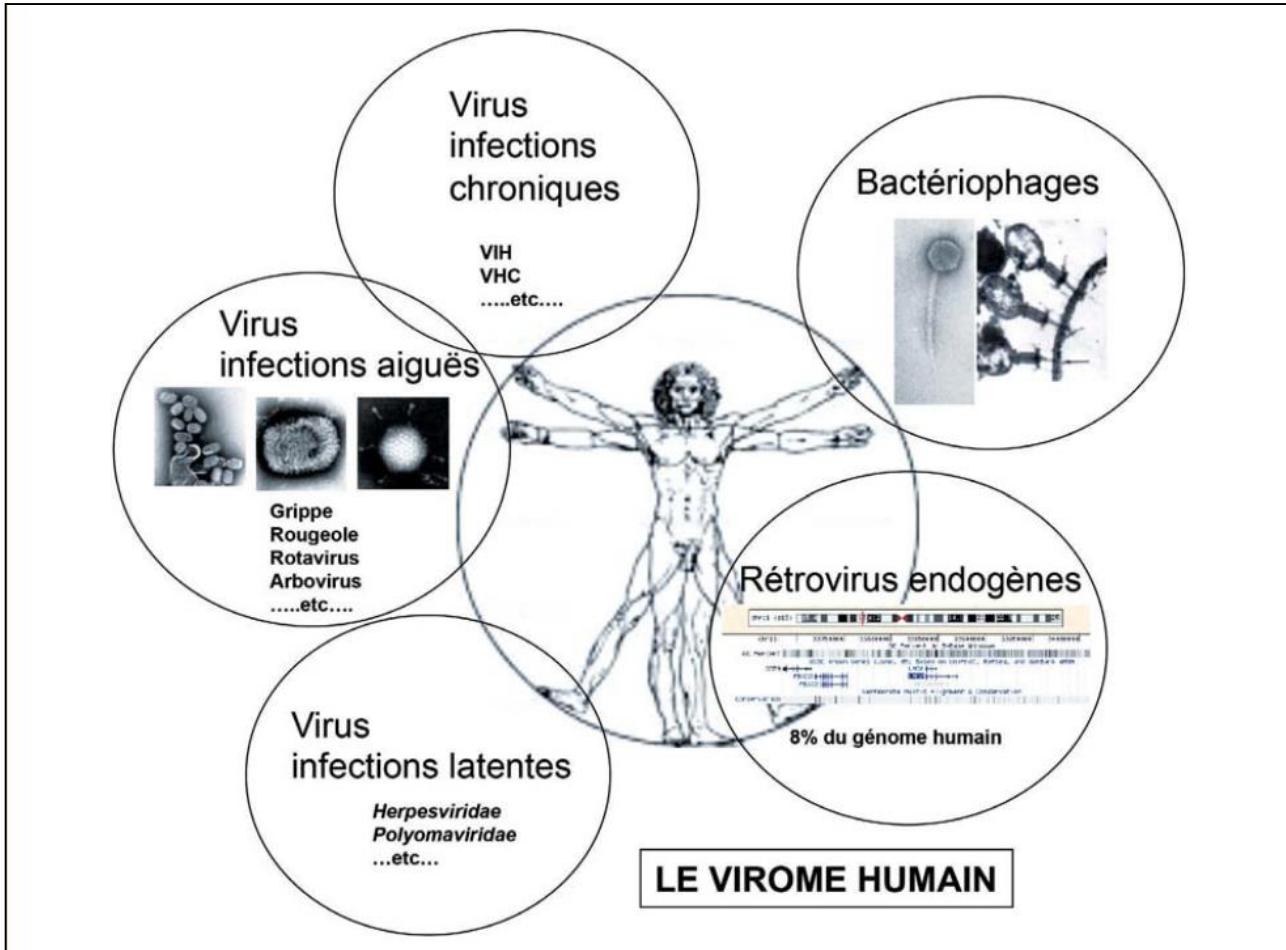
Ensemble des virus présents à la surface et dans le corps humain

= composante virale du microbiote humain

= métagénomie viral



Le virome humain



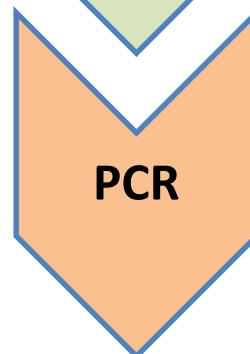
Comment étudier le virome?



- Manque de sensibilité
- Certains virus sont non cultivables



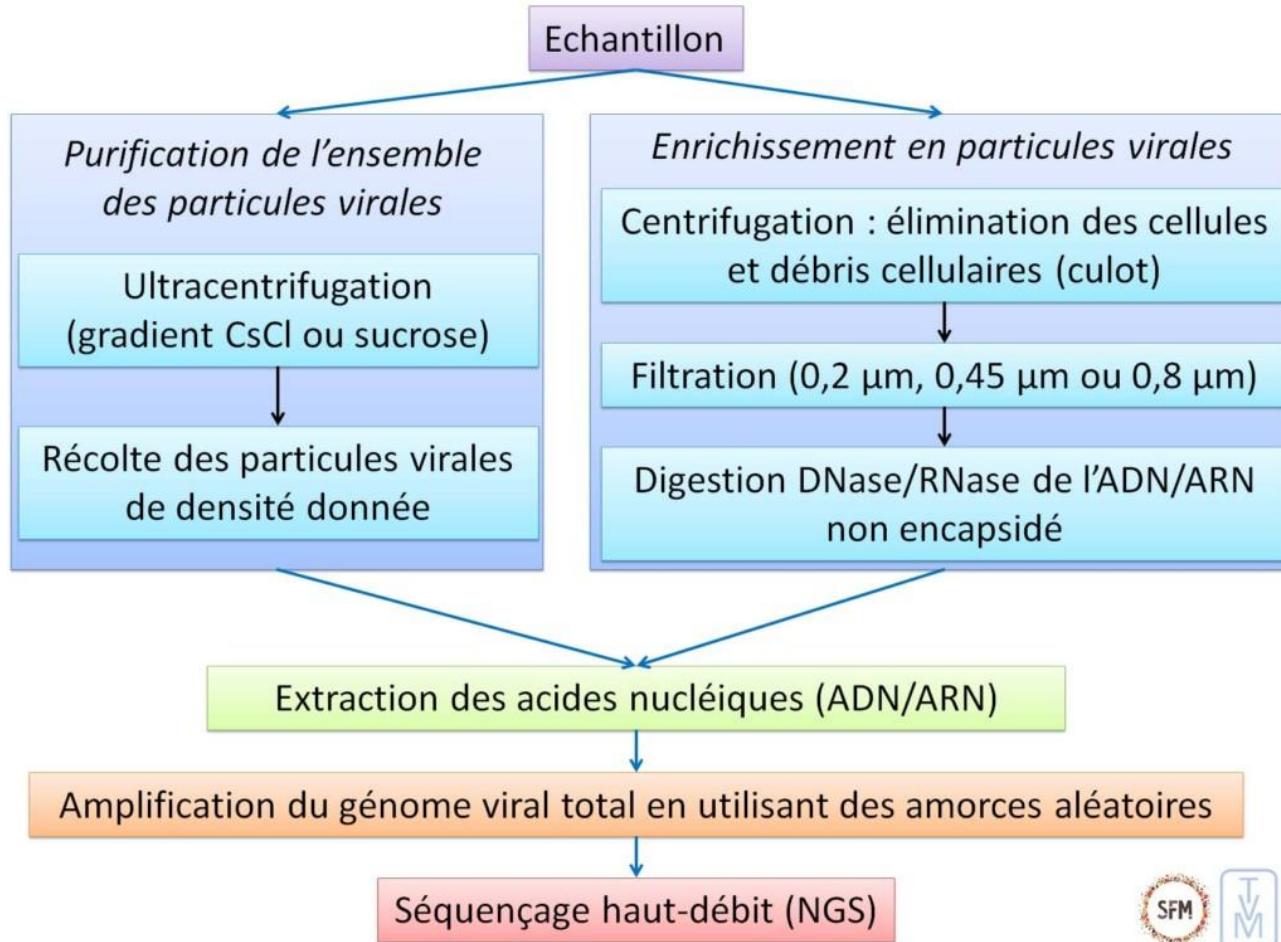
- Forte diversité antigénique
- Réactivité croisée



- Absence de gène commun à tous les virus
- Virus émergent non détecté

Etudes du virome – Métagénomique virale

Absence de
gène universel
viral

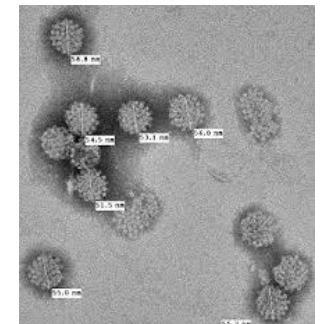


- Identification de nouveaux virus
- Compréhension du rôle du virome dans certaines maladies chroniques/aiguës
- Diagnostic d'infection dans un contexte particulier

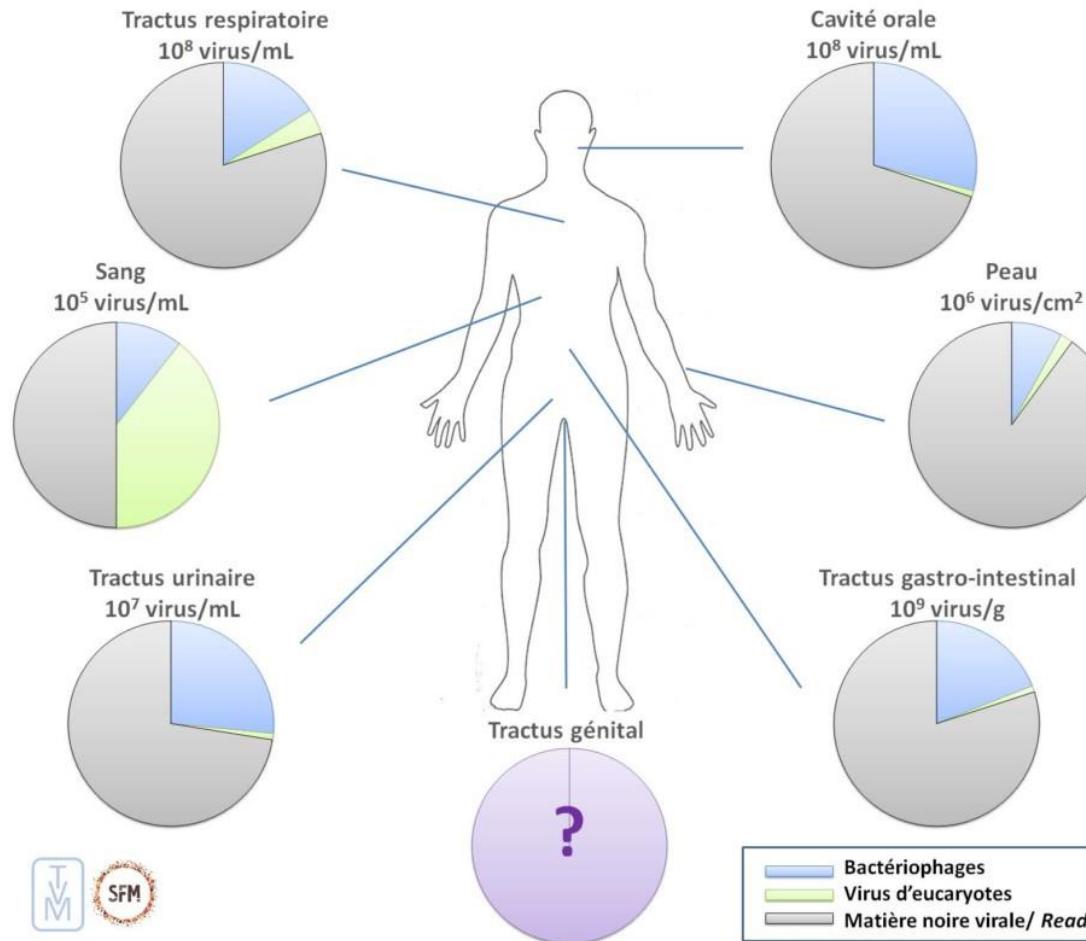


Stratégies de détection de nouveaux virus

- Etudes de métagénomique virale dans des situations pathologiques chez l'homme:
 - Diarrhées
 - Pneumopathies
 - Fièvre inexpiquée
 - Pathologies tumorales...
- Découverte en 2008 par l'équipe de Chang et Moore d'un nouveau virus à partir du séquençage haut débit sur des lésions de carcinome à cellules de Merkel (tumeur cutanée neuroendocrine): Polyomavirus des cellules de Merkel
- Découverte de nombreux virus (Anellovirus, Picornavirus, Polyomavirus...) mais pas d'implication en pathologie humaine prouvée



Composition du virome extracellulaire



Matière noire virale = séquences de métagénomique (*reads*) ne s'alignant ni sur le génome humain, ni sur les bases de données microbiennes

Caractéristiques du virome extracellulaire

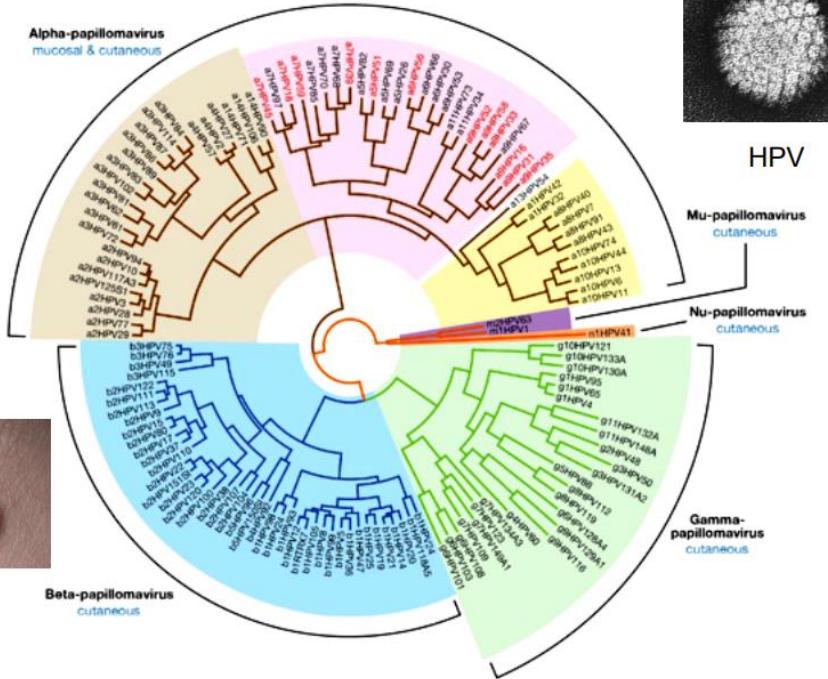
- Variabilité interindividuelle
- Seule une petite fraction du virome est partagée par 50% des individus (bactériophages++)
- Variabilité selon l'âge, le système immunitaire, facteurs environnementaux
- Stabilité temporelle intra-individuelle
- Composition du virome gastro-intestinal et oral stable chez une personne donnée
≠ de celui de la peau

Virome cutané

- Composé de virus résidents et de virus présents transitoirement
- Population virale stable (3 classes):



Verrues



1. β -papillomavirus et γ -papillomavirus humains

- Couche superficielle de la peau
- Diversité interindividuelle et temporelle
- Jusqu'à 17 génotypes différents sur un individu

2. Polyomavirus humains 6, 7 et 9 mais aussi le virus de Merkel (potentiellement oncogène)

3. *Circovirus*

- Présents sur la peau mais aussi dans les selles

Virome intestinal

- Chez l'enfant: portage et sécrétion asymptomatique permanente de virus (Entérovirus et Parechovirus ++)
- Adenovirus, Circovirus, Picornavirus, Anellovirus, Parvovirus, Bocavirus...
→ Virus qui peuvent se maintenir sous forme d'infection persistante asymptomatique
- Nombreux bactériophages
→ Reflet de la flore bactérienne résidente
- Nombreux virus de plantes → consommation d'aliments contaminés par ces virus
- Virus animaux non humains:
 - En transit avec aliments carnés?
 - Compatibles ou en adaptation à une situation de commensalisme?

Virome respiratoire

- Virus majoritaires: *Anelloviridae*, *Papillomaviridae*, *Herpesviridae* (HHV-6, HHV-7) *Siphoviridae* (bactériophages)
- Adenovirus, Picornavirus et Coronavirus fréquemment retrouvés chez l'enfant
- Perturbation de la composition du virome dans contexte de dysfonction immunitaire/pathologies chroniques:
 - Mucoviscidose...
 - Patients transplantés d'organe solide

Virome sanguin

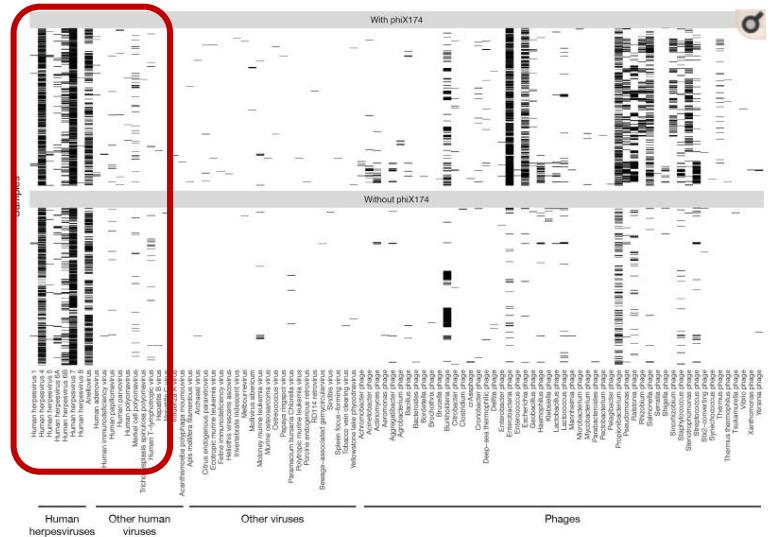
The blood DNA virome in 8,000 humans

PLOS PATHOGENS

March 22, 2017

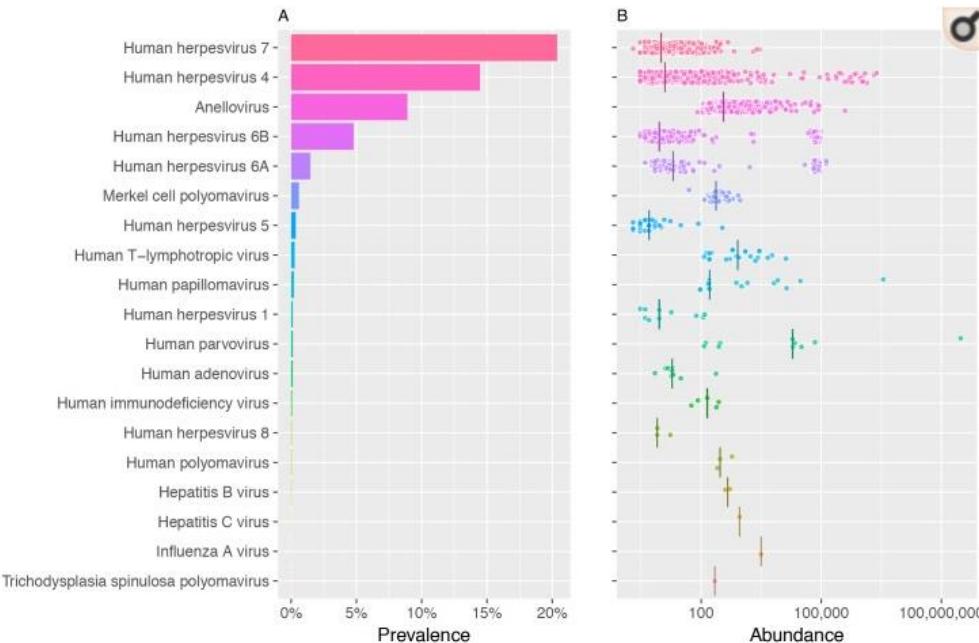
Ahmed Moustafa¹, Chao Xie², Ewen Kirkness¹, William Biggs¹, Emily Wong¹, Yaron Turpaz², Kenneth Bloom¹, Eric Delwart³, Karen E. Nelson⁴, J. Craig Venter^{1,4*}, Amalio Telenti^{1,4*}

1 Human Longevity Inc., San Diego, California, United States of America, **2** Human Longevity Singapore Pte. Ltd., Singapore, **3** Blood Systems Research Institute, Department of Laboratory Medicine, University of California San Francisco, San Francisco, California, United States of America, **4** J. Craig Venter Institute, La Jolla, California, United States of America



Virome sanguin

Fig 3



Prevalence and abundance of human DNA viruses and retroviruses in 8,240 individuals.

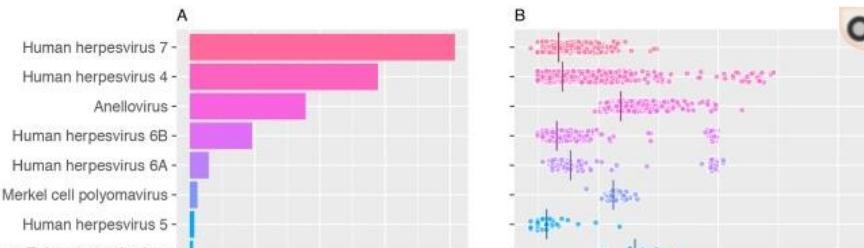
A. Frequency of 19 human viruses in the study population ranked according to their prevalence. B. The viral load of human viruses represented on the x-axis as genome copies per 100,000 human cells; the bar represents the median.

Prédominance de virus à ADN

→ *Anelloviridae, Polyomaviridae et Herpesviridae*

Virome sanguin

Fig 3



Prévalence des virus circulants plus importante chez les hommes que chez les femmes

→ Probable différence de l'immunité adaptative et cellulaire chez la femme
(œstrogènes: facteur protecteur?)

Prévalence et CV des virus circulants plus élevées chez le sujet jeune et chez
le sujet âgé
(immaturité du SI et immunosénescence)

Prevalence and abundance of human DNA viruses and retroviruses in 8,240 individuals.

A. Frequency of 19 human viruses in the study population ranked according to their prevalence. B. The viral load of human viruses represented on the x-axis as genome copies per 100,000 human cells; the bar represents the median.

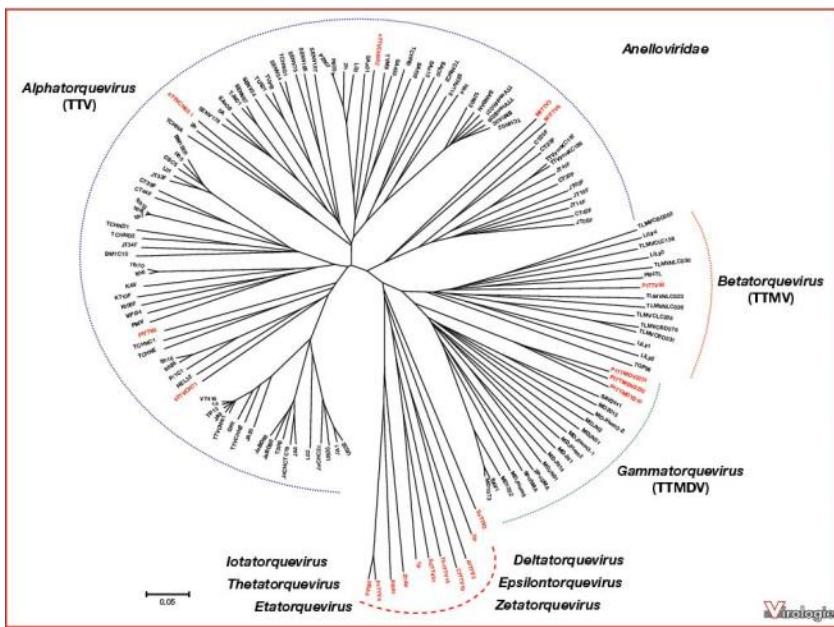
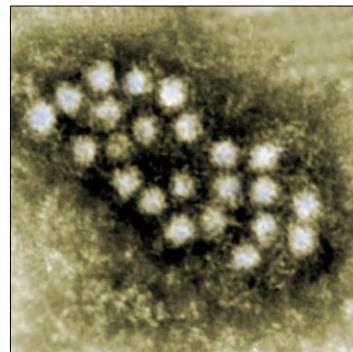
- Prévalence des Herpesvirus (0,1 à 20%)
HHV-7 (20%), EBV (14%), CMV, HHV-6, et HHV-8

- Prévalence Anellovirus = 9%
- Autres Virus < 1%

Papillomavirus, Parvovirus, Polyomavirus, Adenovirus...

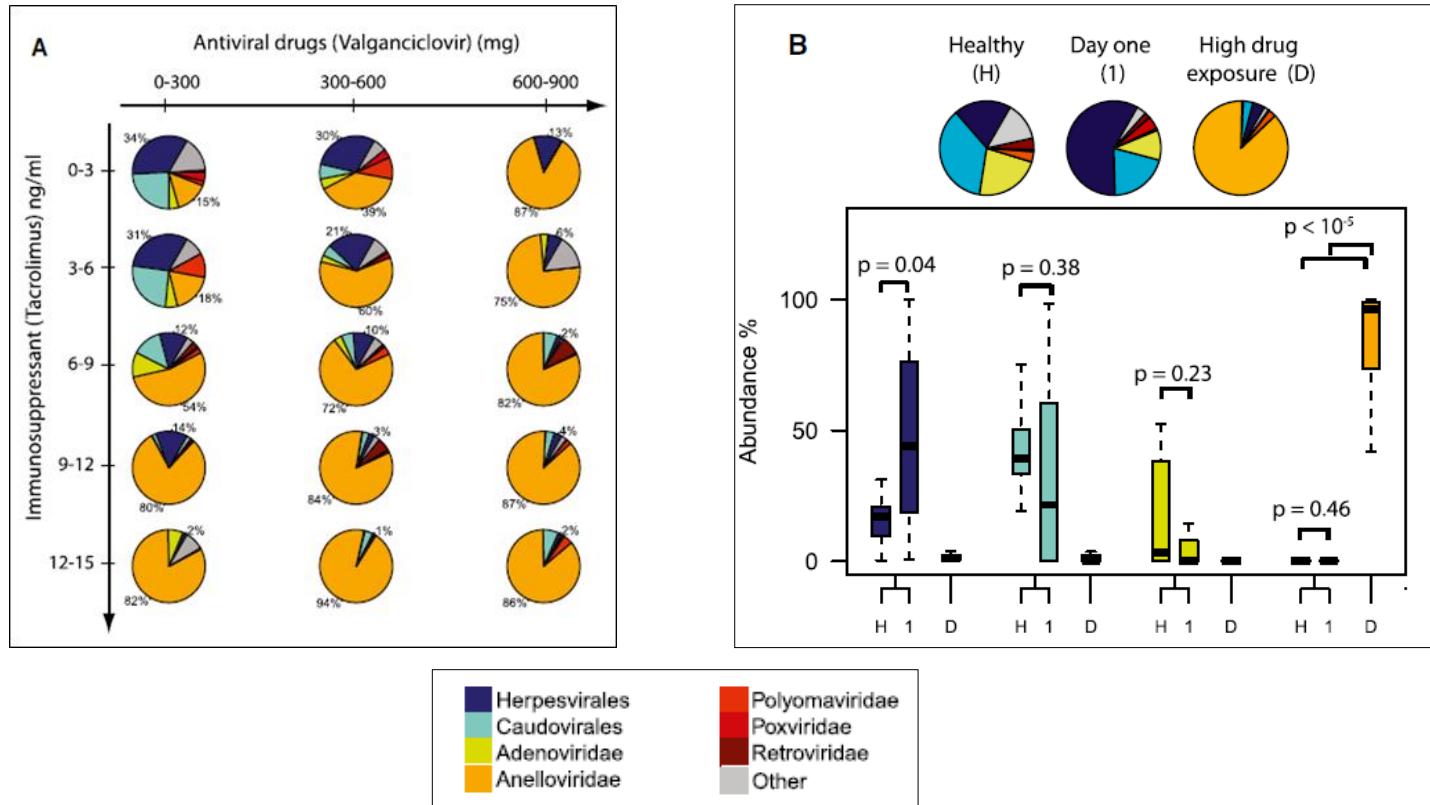
Torque Teno Virus ou TTV

- Famille des *Anelloviridae*
- Virus à ADN simple brin circulaire
- non enveloppé de 30 nm Virus
- non cultivable
- variabilité génomique ++



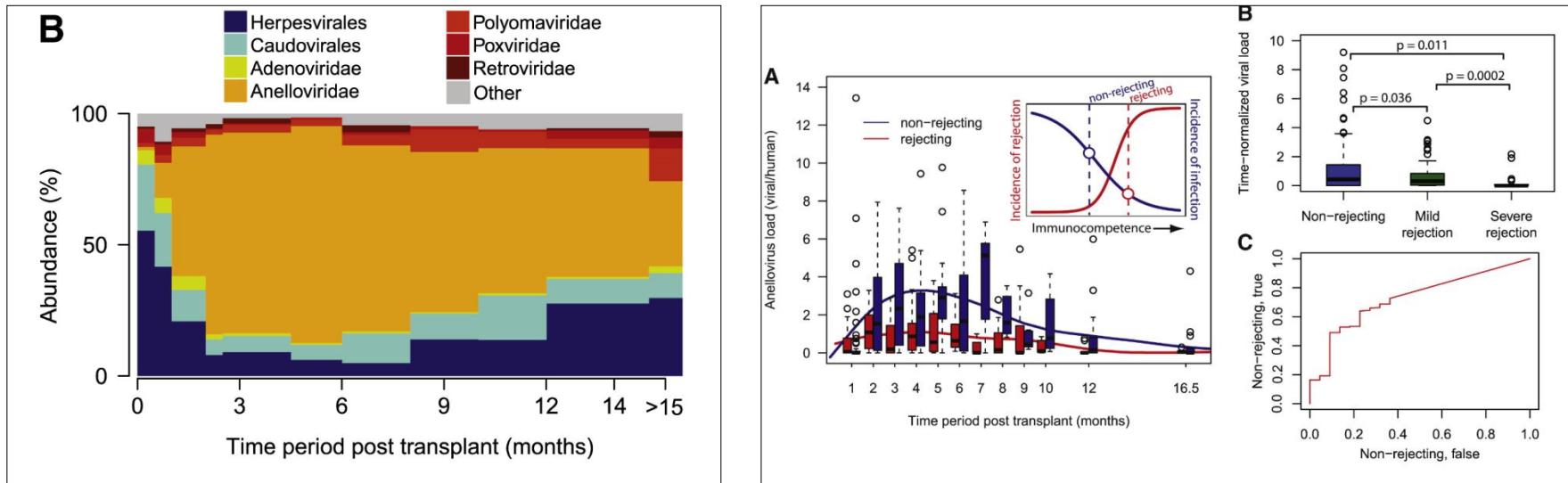
- Prévalence:
Jusqu'à 80-95% de prévalence
Distribution mondiale
- Primo-infection:
Infection chez l'enfant avec persistance tout au long de la vie
- Transmission :
Aérienne, féco-orale, salivaire, sanguine...
- Tropisme multiple :
principal site de réPLICATION
= LyT mais aussi dans MO, foie, estomac,
poumons, rate, tissus nerveux, PBMC...
- Absence de pouvoir pathogène

TTV et immunité en transplantation



Variation du virome en fonction de l'intensité du ttt IS et du ttt anti-CMV
Majorité d'anellovirus sous IS + antiviraux

TTV et immunité en transplantation

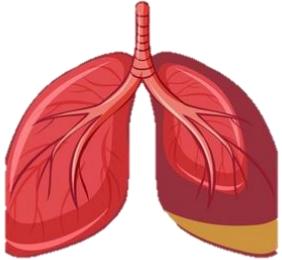


→ Charge virale Anellovirus plus faible chez les patients qui présentent un épisode de rejet de greffe

→ Plus la CV TTV est haute, plus le patient serait ID → risque majoré d'infections opportunistes
→ Plus la CV TTV est basse, plus le patient serait IC → risque majoré de rejet du greffon

TTV et immunité en transplantation

- Görzer *et al.*, 2014

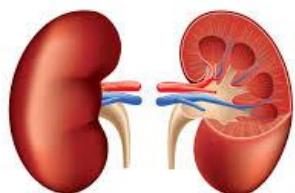


Le seuil d'une concentration $9.3 \log_{10}$ cp/mL de TTV est prédictif d'une infection

- Görzer *et al.*, 2016

La défaillance chronique de greffon est plus fréquente chez les patients greffés de poumon avec une charge virale $< 7.0 \log_{10}$ cp/mL

- Schiemann *et al.*, 2014



Association inverse de la charge TTV dans le sang périphérique des receveurs de greffe de rein présentant un rejet humoral tardif

- Strassl *et al.*, 2018

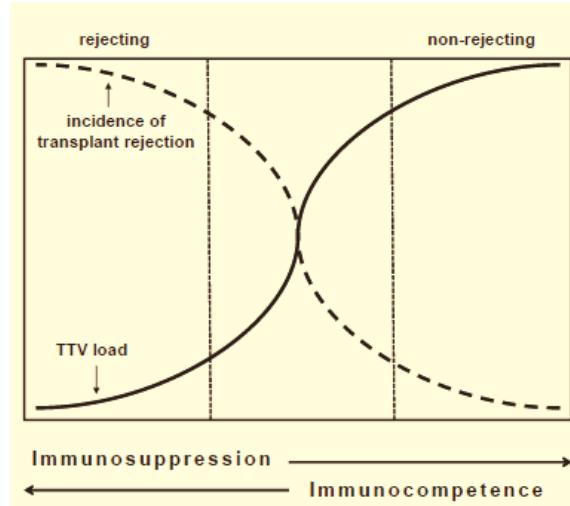
Des charges virales TTV $> 9,5 \log$ cp/mL chez les greffés rénaux seraient associées à une trop forte IS

TTV = un marqueur potentiel de l'immunité

TTV et immunité en transplantation

Problématique en transplantation:

- Déterminer un seuil discriminant
 - Immunosuppression trop importante (\rightarrow infections opportunistes)
 - Immunosuppression insuffisante (\rightarrow rejet de greffe)



Perspectives:

la virémie TTV pourrait être utilisée comme variable d'ajustement pour monitorer l'immunosuppression en greffes d'organes solides

Bactériophages

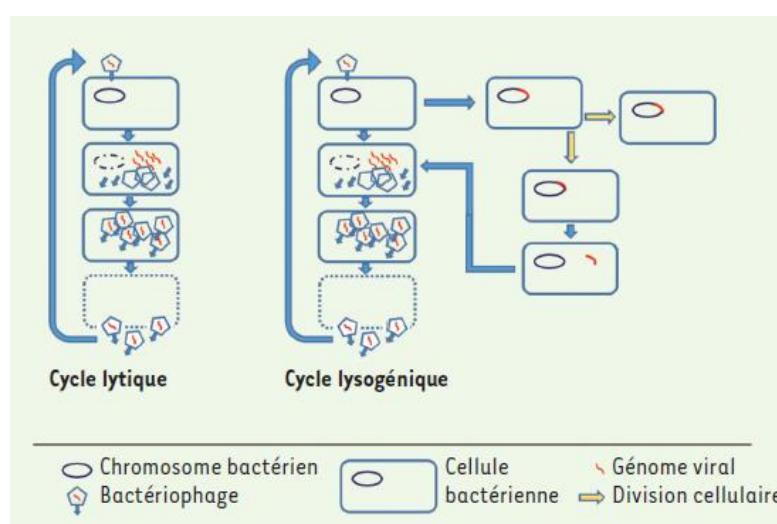
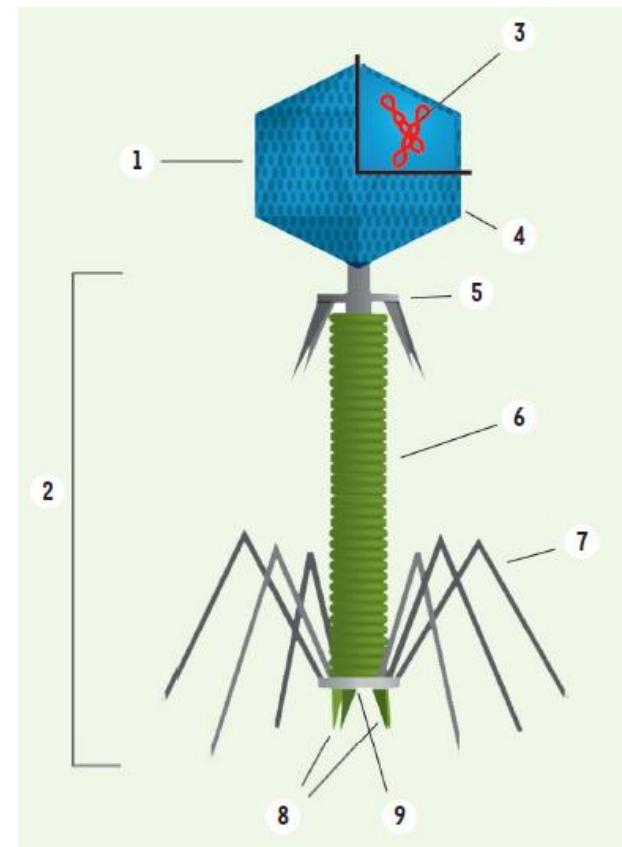
- Virus infectant les bactéries: bactériophages/ phages
- Taille de 25 à 200 nm
- Deux types de cycle de multiplication:
 - **cycle lytique – phages dits « virulents »**

Multiplication du phage → lyse de la bactérie hôte et libération de particules virales

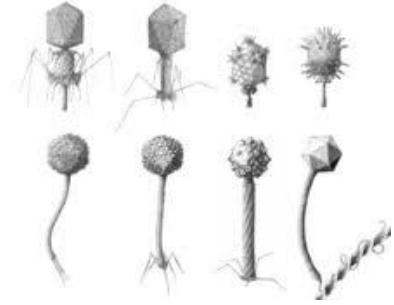
- **cycle lysogénique – phages dits « tempérés »**

Le génome du phage s'intègre dans le génome de la bactérie sans la tuer

→ Persiste sous forme de prophage et se réplique ainsi en même temps que le génome bactérien



Bactériophages



- Enorme diversité: 10^{30} bactériophages existants avec 10^8 génomes différents
- Présents dans tous les écosystèmes mais aussi au niveau de la peau, muqueuses, TD, alimentation...
- Puissants régulateurs naturels des populations bactériennes
- Ordre des *Caudovirales* est le plus représenté
→ (famille des *Siphoviridae* ++): oral, intestinal et respiratoire
- Seulement 0,001% de la diversité des bactériophages est présente dans les bases de données de séquences
- Les bactériophages sont détectés dans tous les études de métagénomique
→ Les intestins sont le réservoir principal des bactériophages

Co-évolution entre phages et bactéries

- Développement de mécanismes de résistance à l'infection par le phage
 - Mutations de récepteurs
 - Système de restriction
 - Infection abortive...
- Contournement de la résistance (mécanismes anti-restriction etc)
- Processus co-évolutif entre hôte et parasite d'infection/résistance/contournement
- « *Course aux armements* »
- *Maintien de la diversité de mutations dans les populations bactériennes et de phages*

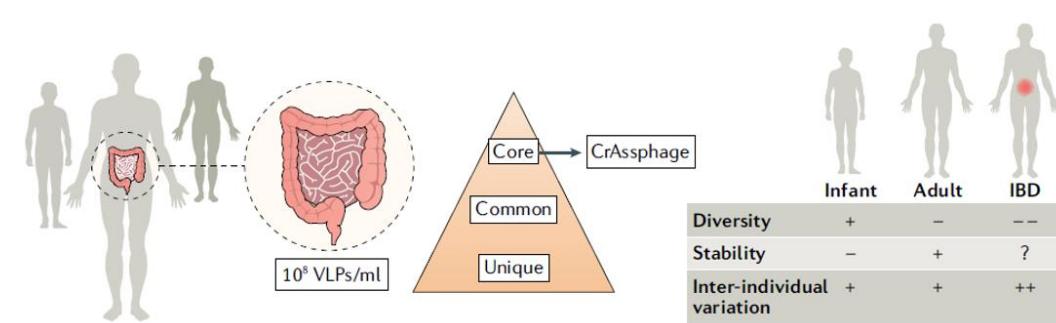
Bactériophages – Distribution

Intestins

- Migration bactérienne unidirectionnelle et interrompue par une barrière physique variable
- Composition plus stable (Caudovirales ++)
- Température stable
- anaérobie
- Densité bactérienne élevée

Poumons

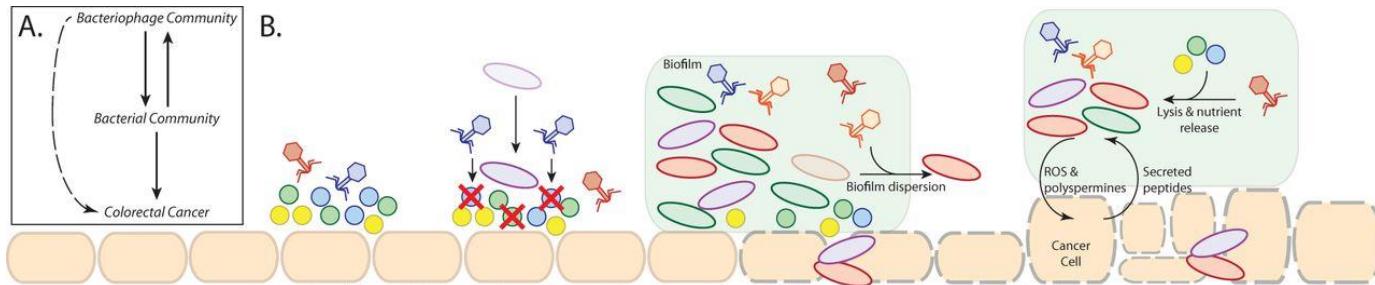
- bidirectionnelle, sans barrière physique
- Plus dynamique et transitoire
- Gradient de température de la cavité buccale aux alvéoles
 - aérobie
- Faible densité bactérienne



Bactériophages: Pathogènes humains?

➤ Cancer

- Diversité du virome au niveau du colon altérée dans le cancer colorectal
 - Hypothèse : certains phages « large spectre » peuvent favoriser la carcinogenèse en lysant les bactéries, permettant ainsi aux bactéries opportunistes tumorigènes de proliférer dans l'intestin.
- Rôle potentiel des phages dans le développement du biofilm → Invasion de l'épithélium par des bactéries oncogènes qui favorisent la transformation des cellules tumorales.



A. Soc. Microbiol– Hannigan et al – 2018

Curr Oncol Rep – Sheflin et al – 2014
Current Opinion in Virology – Stern et al – 2019

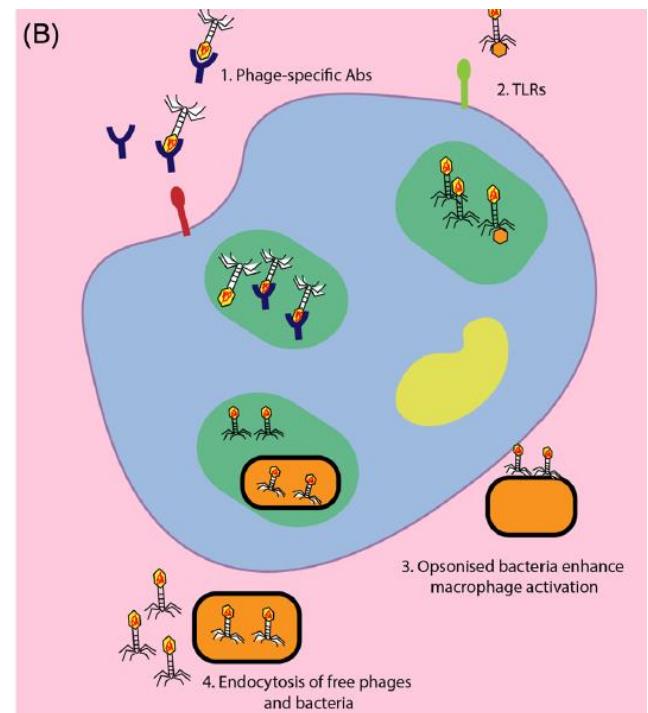
Bactériophages: interaction avec le système immunitaire

➤ Réponse immune innée

- Phagocytose des phages possible
- Endocytose des phages dans les macrophages

➤ Réponse immune adaptative

- Activation de l'immunité humorale
- Ac neutralisants contre des phages sont détectés dans les sérums humains



Phagothérapie



- Objectif: lyse de bactéries ciblées
- Intérêt dans le biofilm: capacité à hydrolyser les polysaccharides bactériens qui composent les biofilms grâce aux enzymes « dépolymérasées » → avantage spécifique comparé aux antibiotiques
- Eligibles uniquement pour traiter des infections à bactéries extracellulaires car ne peuvent pas pénétrer les cellules eucaryotes
- Outil thérapeutique prometteur car polymorphisme des bactériophages
- Attention à l'innocuité → nécessité d'utiliser des préparations purifiées

Virome intracellulaire

- Beaucoup moins caractérisé que le virome extracellulaire
1. Prophages = bactériophages intégrés dans le génome de la bactérie (70%)
 1. Virus eucaryotes latents
 - Épisome (molécule d'ADN circulaire, extrachromosomique, qui peut se répliquer de manière autonome)
 - Virus intégrés dans le génome humain (rérovirus endogènes ++)

Rétrovirus endogènes humains

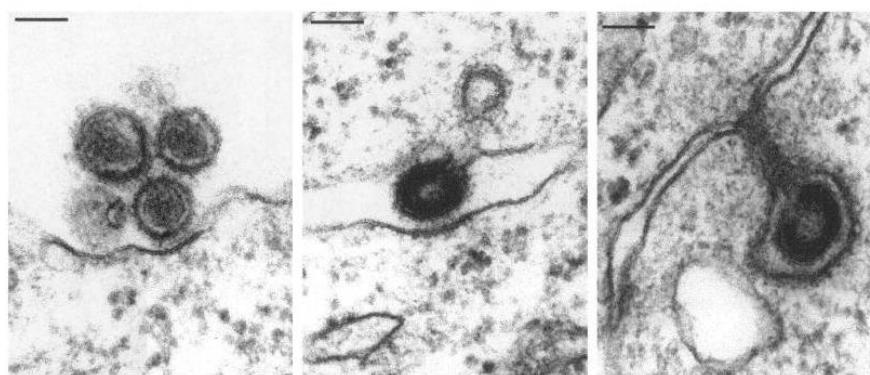
Human endogenous retrovirus – HERV

Séquences génétiques d'origine virale mobiles

Traces de rétrovirus qui se sont intégrés dans le génome humain pour la plupart il y a plus de 100 millions d'années.

= Séquences/organisations génétiques très proches des rétro-transposons dont ils ont probablement dérivés

- Inactifs de manière génétique (délétion, mutations) et épigénétique
- La plupart ne peuvent plus se multiplier
- Représentent aujourd'hui **8 % de l'ensemble du génome humain**



HERV

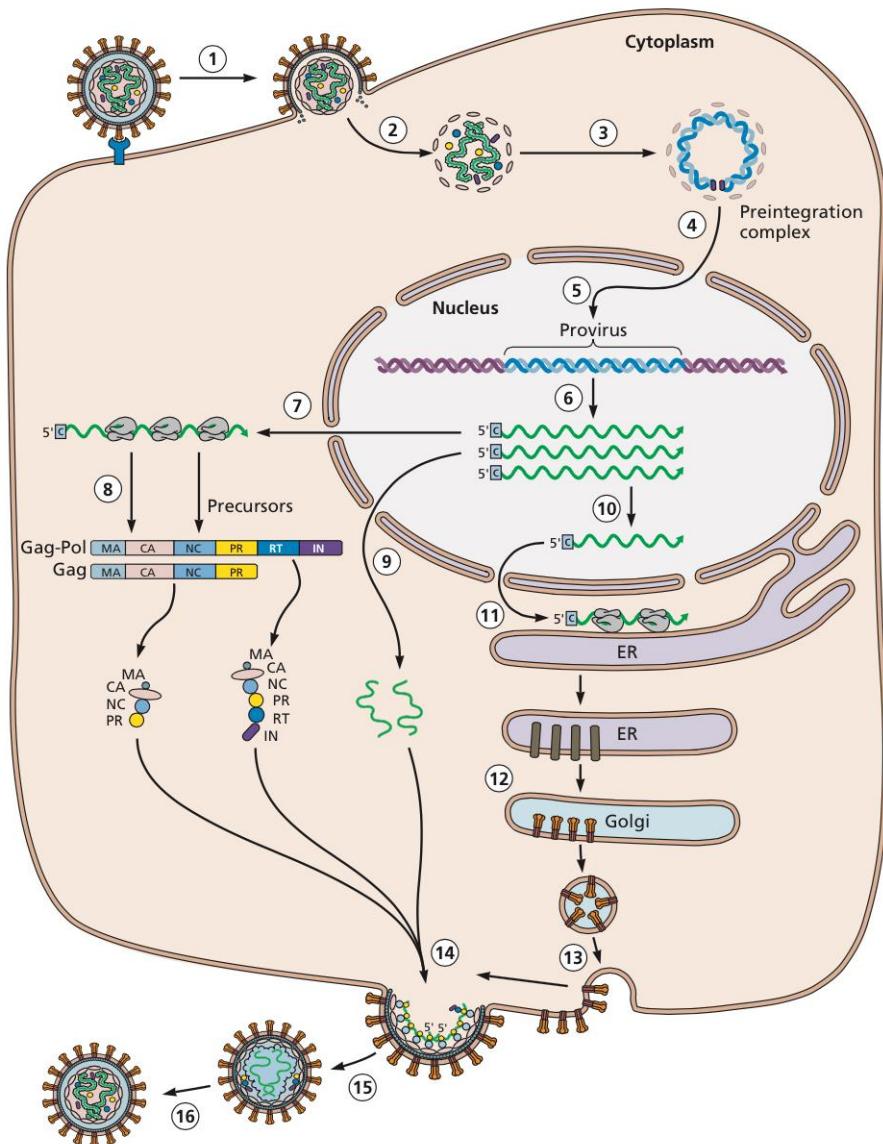
Sont constitués de 4 gènes principaux

-**gag** qui code les protéines de la capside, de la nucléocapside et de la matrice

-**pro** qui code la protéase

-**pol** qui code la **transcriptase inverse** et l'intégrase (enzymes permettant respectivement, la conversion de l'ARN en ADN et l'intégration au sein de l'ADN de l'hôte)

- **env** qui code la protéine d'enveloppe.



Rétrovirus endogènes humains

	Classe I	Classe II	Classe III
Virus apparentés	Gammarétrovirus	Bêtarétrovirus	Spumavirus
Sous-groupes	HERV-W HERV-H	HERV-K	HERV-L HERS-S

- Classe I et III les plus anciens
- Peuvent agir en tant qu'activateurs ou répresseurs de la transcription ou en modifiant le site d'expression des gènes
- LTR HERV contiennent des éléments activateurs influençant la transcription des gènes voisins
- Augmentation des transcrits HERV dans certains cancers et maladies auto-immunes → Cofacteurs dans les maladies chroniques ?

Fonctions du virome



Régulent :

Composition
du microbiote
bactérien

- Par lyse de la bactérie hôte
- Lyse de la bactérie prédominante dans l'intestin du nourrisson (« kill the winner »)

Fonctions du
microbiote
bactérien

- Par lysogénie : intégration du génome phagique dans le génome bactérien
- Transfert de gène horizontal

Immunité

- Bactériophages adhérant au mucus : protection contre les pathogènes bactériens
- Interaction avec le système immunitaire humain

Rôle pour l'être humain :

Défavorable

- Virus pathogènes, infections asymptomatiques +/- fréquentes
- Ex : Picornaviridae, Adenoviridae ...

Neutre

- Commensalisme simple
- Ex : Anelloviridae, Circoviridae, la plupart des Papillomaviridae

Favorable

- Mutualisme
- Protection anti-infectieuse : GBV-C, MCMV
- HERV-W : syncytine pour former le placenta



Fonctions du virome

Favorable

- Mutualisme
- Protection anti-infectieuse : GBV-C, MCMV
- HERV-W : syncytine pour former le placenta

- GBV-C ou HGV (Hépatite G): absence de pouvoir pathogène connu mais associés à un meilleur pronostic chez les patients VIH+ (Tillmann et coll. 2001. New Engl J Med; Williams et coll. 2004. New Engl J Med) Rydze *et al.*, Antivir Ther. 2012)
- Chez la souris: virus EBV et CMV murins protègent d'une surinfection par *L. monocytogenes* ou *Y. pestis* (Barton *et al.*, Nature 2007)
- Rôle des virus latents *Herpesviridae/Papillomaviridae*
 - Pb des infections herpétiques chez ID
 - Pouvoir oncogène EBV, HHV-8 et *Papillomaviridae* bien décrits
 - Mais effets bénéfiques de ces infections virales latentes récemment décrits
- CMV pourrait potentialiser la RI antigrippale
- Rôle protecteur de l'EBV vis-à-vis de l'asthme, atopie (Barton et al., coll. 2012. Immunol Rev)
- HERV-W car gène env code des syncytines exprimées au niveau du placenta
 - Formation du syncytiotrophoblaste pendant la grossesse (Medina *et al.*, 2017)

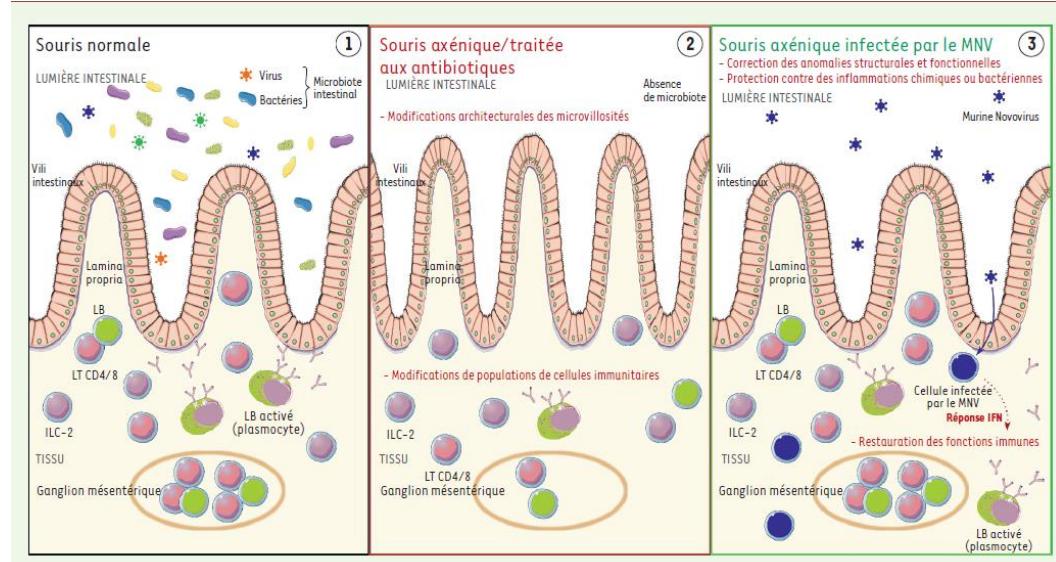
Virome – implications pathologiques

- **MICI**

- Augmentation de l'abondance des phages entériques extracellulaires
- Diminution de la diversité bactérienne

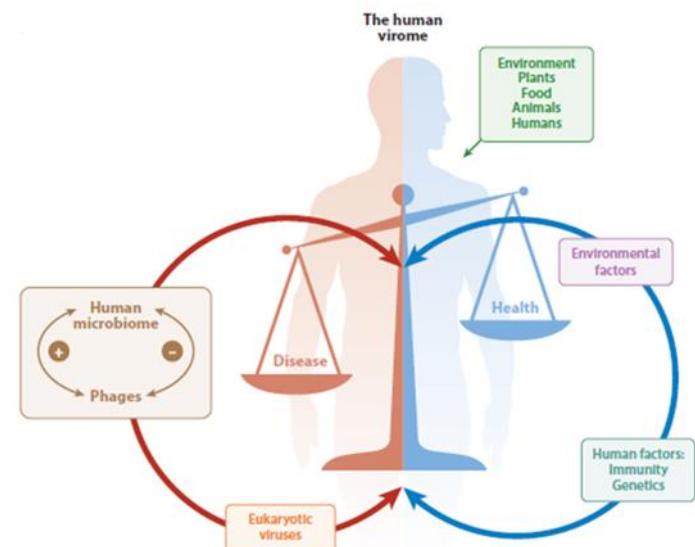
Chez la souris:

- L'infection par le MNV (norovirus murin) restaure la structure intestinale et l'activité immuno-physiologique des souris privées de microbiote bactérien
- L'infection par le MNV protègerait des inflammations intestinales



Virome – implications pathologiques

- **Virome et immunodépression**
 - De plus en plus étudié
 - Prolifération au niveau entérique des phages, Adenovirus et des Anellovirus lors des entéropathies survenues chez le patient VIH au stade SIDA
 - Augmentation du virome eucaryote entérique après greffe de CSH (Présence de *Picobirnaviridae* qui serait prédictive de la survenue d'une GvHD)
 - Augmentation des *Anelloviridae* en cas d'IS
 - Augmentation des phages sanguins chez l'ID



Virome- implications pathologiques

- Notion d'interactions entre virome et autres composants du microbiome
 - Interactions trans-règnes (au niveau intestinal++) entre microbiote bactérien, fongique, viral et génétique de l'hôte importantes pour déterminer ou non l'apparition d'une maladie chronique (MICI) ou aiguë (gastro-entérite)

Conclusion

- Virome: champ de recherche en pleine expansion
- Manque de données chez l'individu sain → problème d'interprétation du virome en situation pathologique
- Bases de données virales incomplètes (bactériophages++) et une grande partie du virome n'est pas caractérisée (« matière noire virale »)
- Développement de technologies de biologie moléculaire de plus en plus adaptées à l'étude du virome → permettant une meilleure caractérisation du virome