

Evolution génétique virale

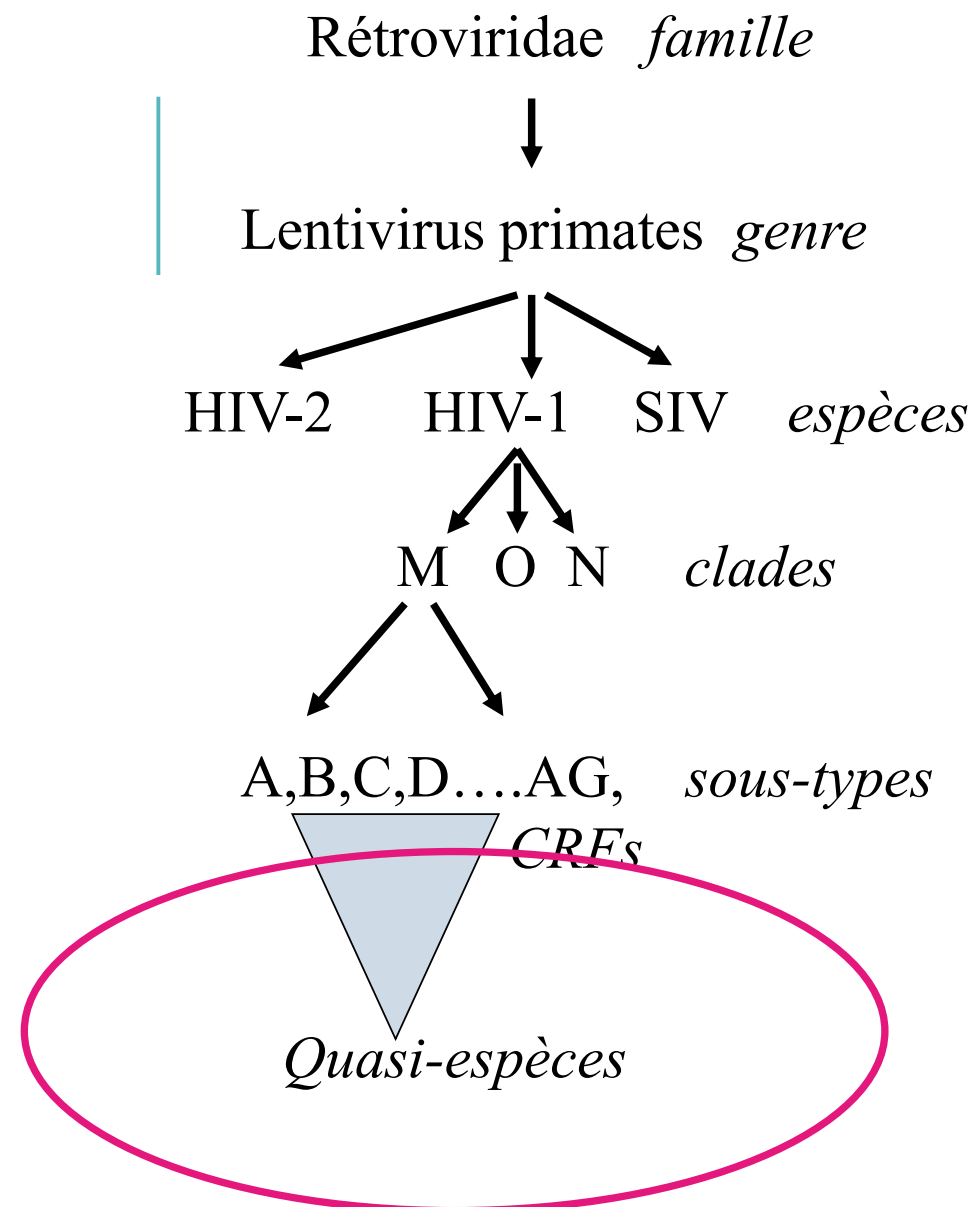
causes et conséquences

UE M1 Microbiologie 23 mars 2023

Dr C.Bressollette-Bodin

Diversité virale

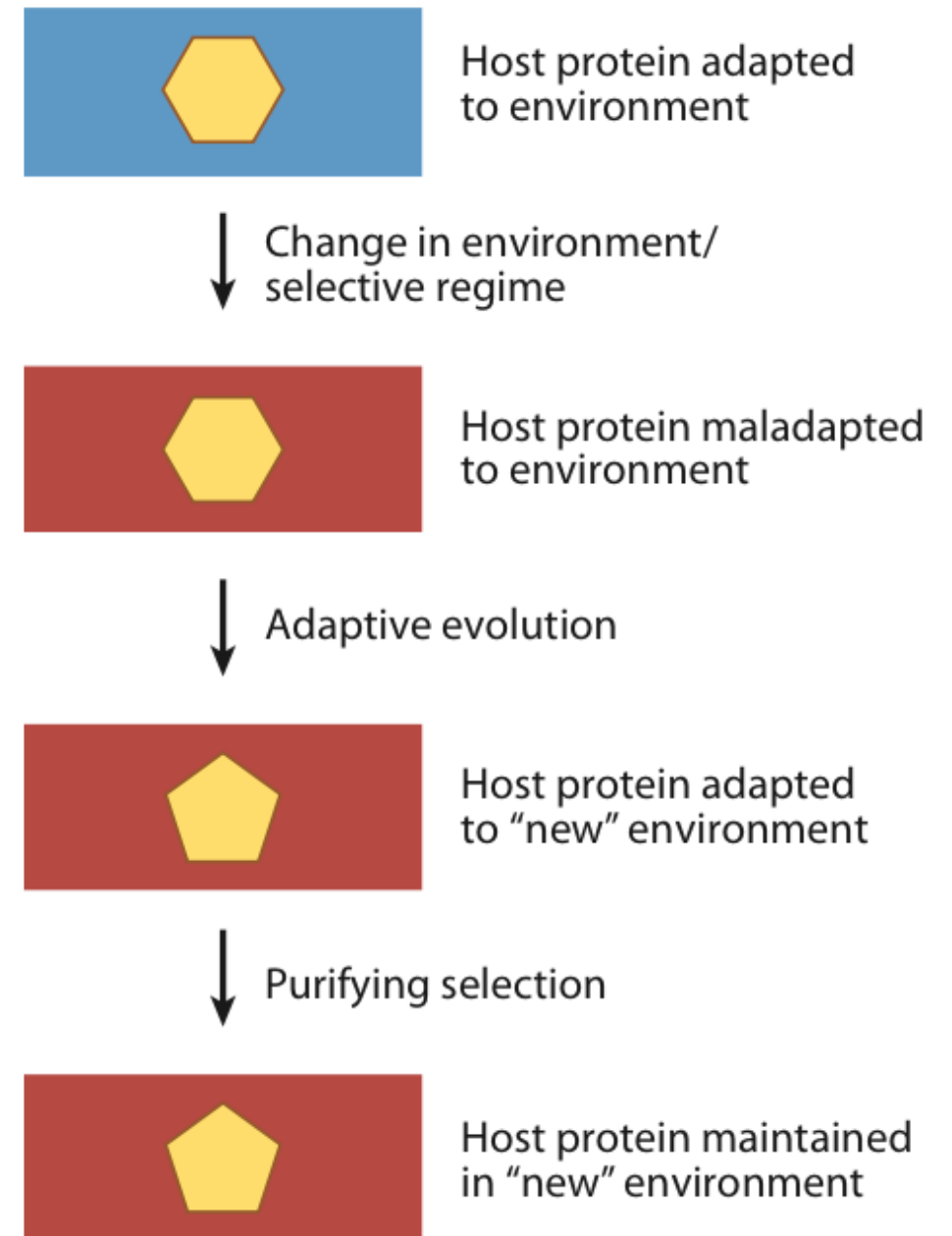
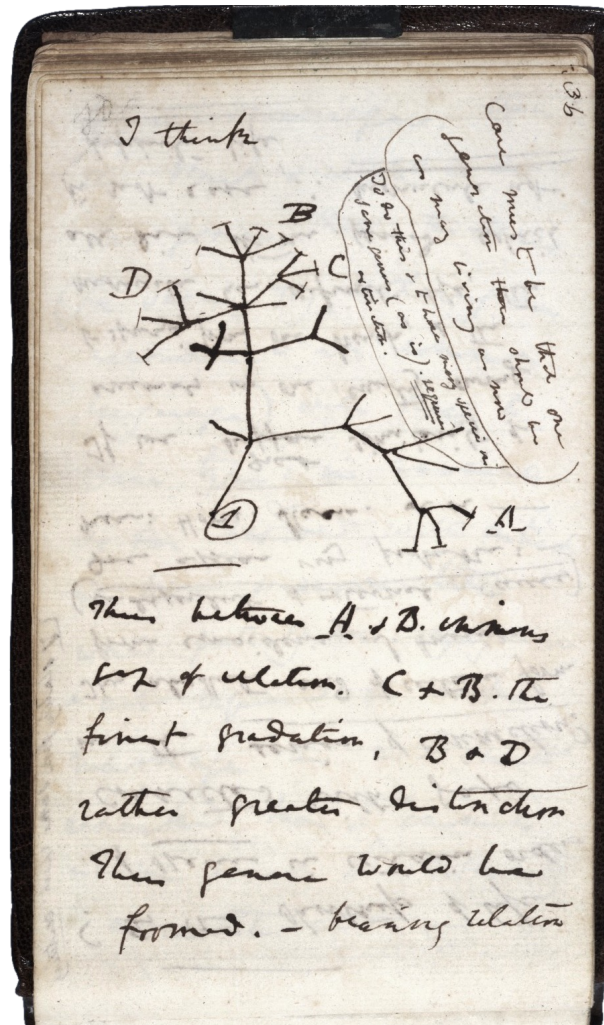
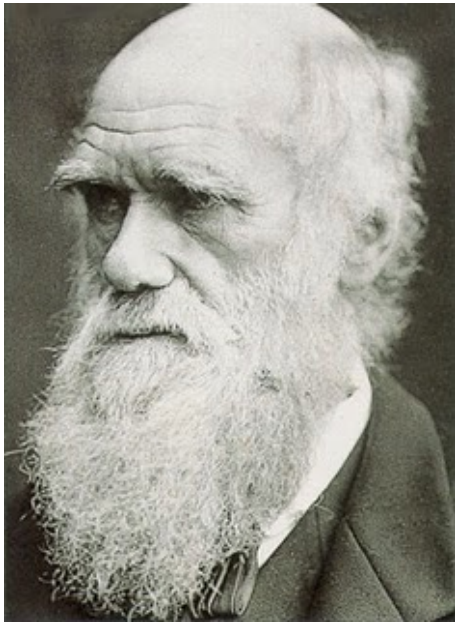
- Diversité au sein d'une espèce de virus > notion de génotypes et sérotypes



Au sein d'une espèce :

- Différences antigéniques sérotypes
- Différences de séquences génétiques : génotypes

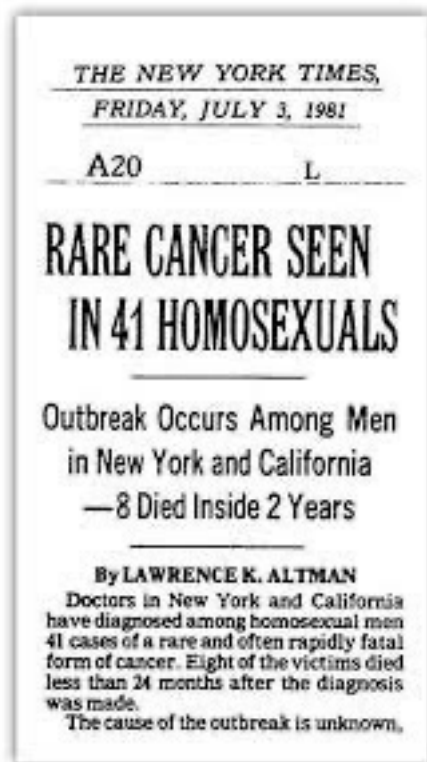
Evolution



- Evolution > succession de hasards /sélection

Evolution virale

- Nous sommes régulièrement confrontés aux conséquences de l'évolution virale
 - Nouveaux virus



EBOLA



COVID-19

HIV/AIDS

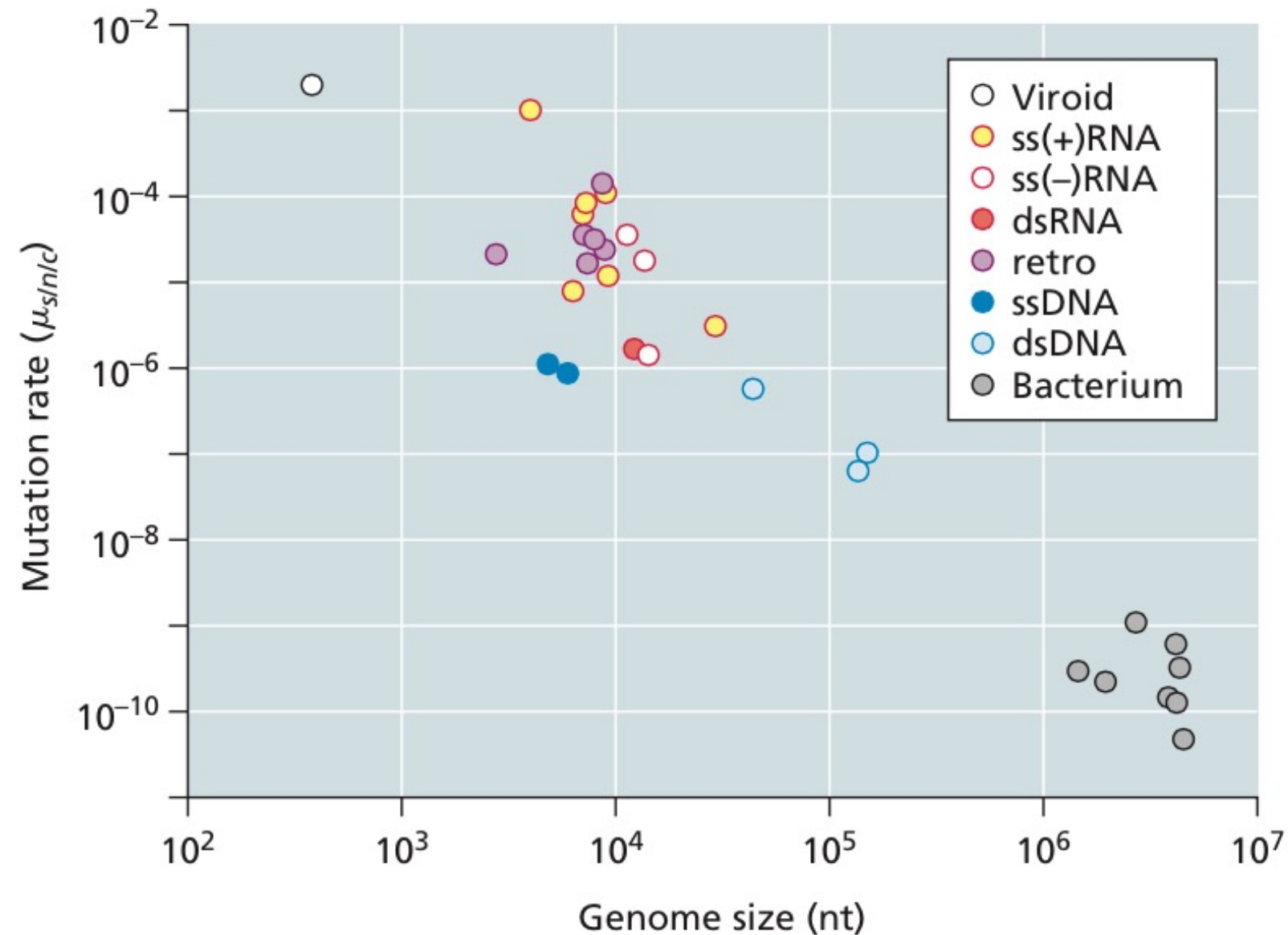
- Épidémies annuelles (grippe...)
- Résistance aux antiviraux (HIV)

Evolution virale

- Une population virale de grande taille
 - HIV: $\frac{1}{2}$ vie d'une particule virale = 6h, turnover quotidien = 90%, nb total de particules virales $> 10^9$ dans plasma
- Des mutations fréquentes
 - Mutations ponctuelles
 - Recombinaisons et réassortiments
- Qui génèrent de la diversité > notion de quasi-espèce
- Un processus de sélection
 - Notion de goulot d'étranglement
 - Sélection / immunité, environnement

Mécanismes de variabilité: mutations ponctuelles

- Source de mutations : erreurs des polymérases
- ++ erreurs d'incorporation des nucléotides par l'ARN polymérase virale > pas de correction
- +++ virus à ARN > virus ADN



Le concept de quasi-espèce

A Q β phage population is in a dynamic equilibrium with viral mutants arising at a high rate on the one hand, and being strongly selected against on the other. The genome of Q β cannot be described as a defined unique structure, but rather as a weighted average of a large number of different individual sequences.”

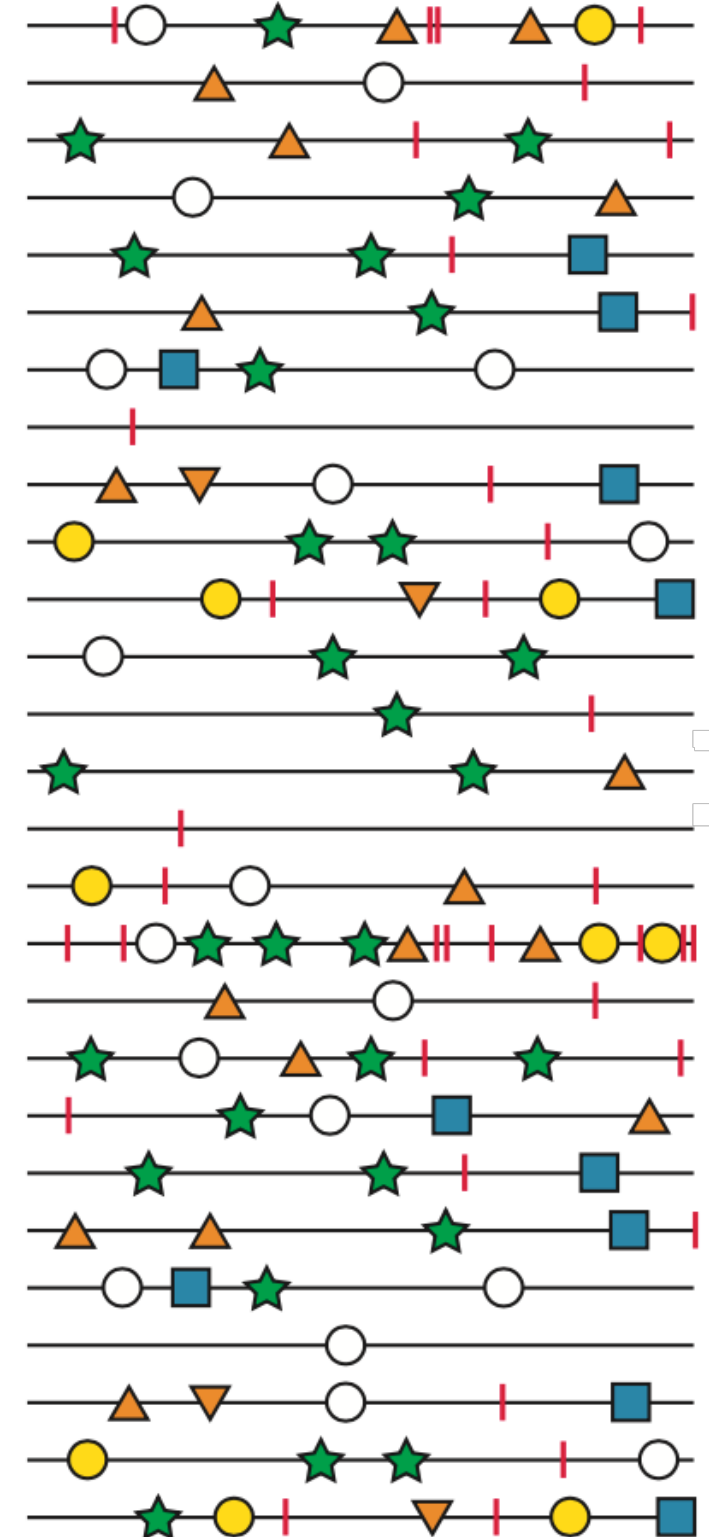
E. Domingo, D. Sabo, T. Taniguchi, C. Weissmann. 1978. Nucleotide sequence heterogeneity of an RNA phage population. Cell 13:735-744.

- Chez un individu infecté par une espèce virale, la population de virus n'est pas homogène, elle est constituée d'un ensemble de « réplicons », dont la distribution est dynamique dans le temps

Quasi-espèce = nuage de mutants , essaim de mutants

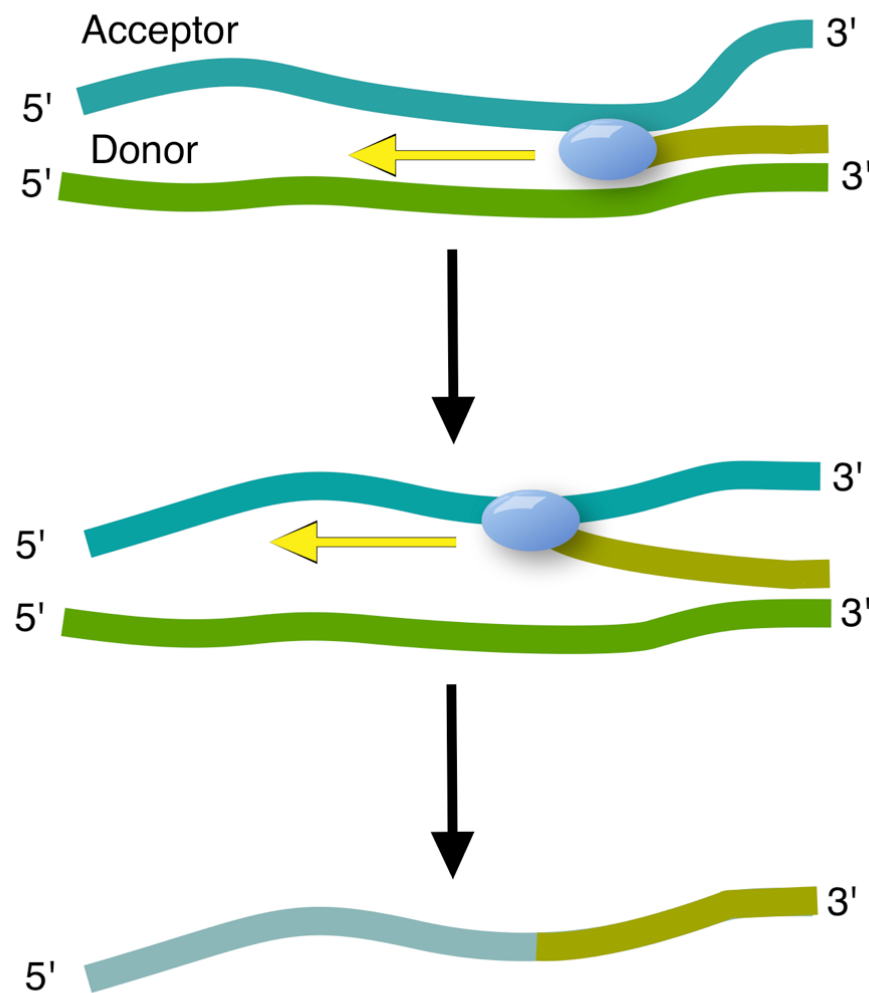
- L'ensemble des mutants évoluent comme s'ils formaient « quasiment une seule et même espèce » (au sens chimique ou moléculaire et non biologique)

≠ séquence consensus obtenue par séquençage

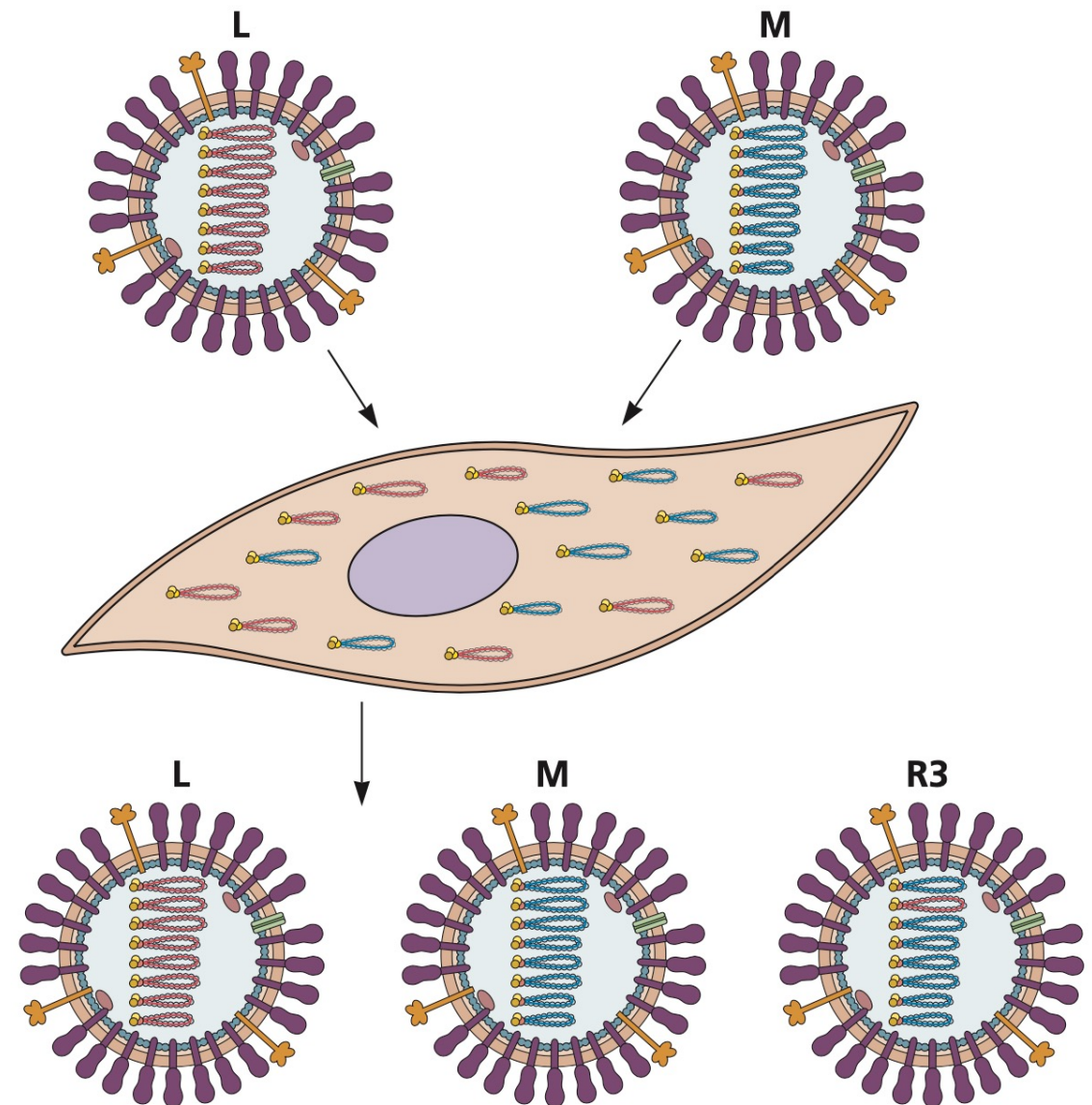


Autres mécanismes d'évolution génétique

Recombinaison



Réassortiment

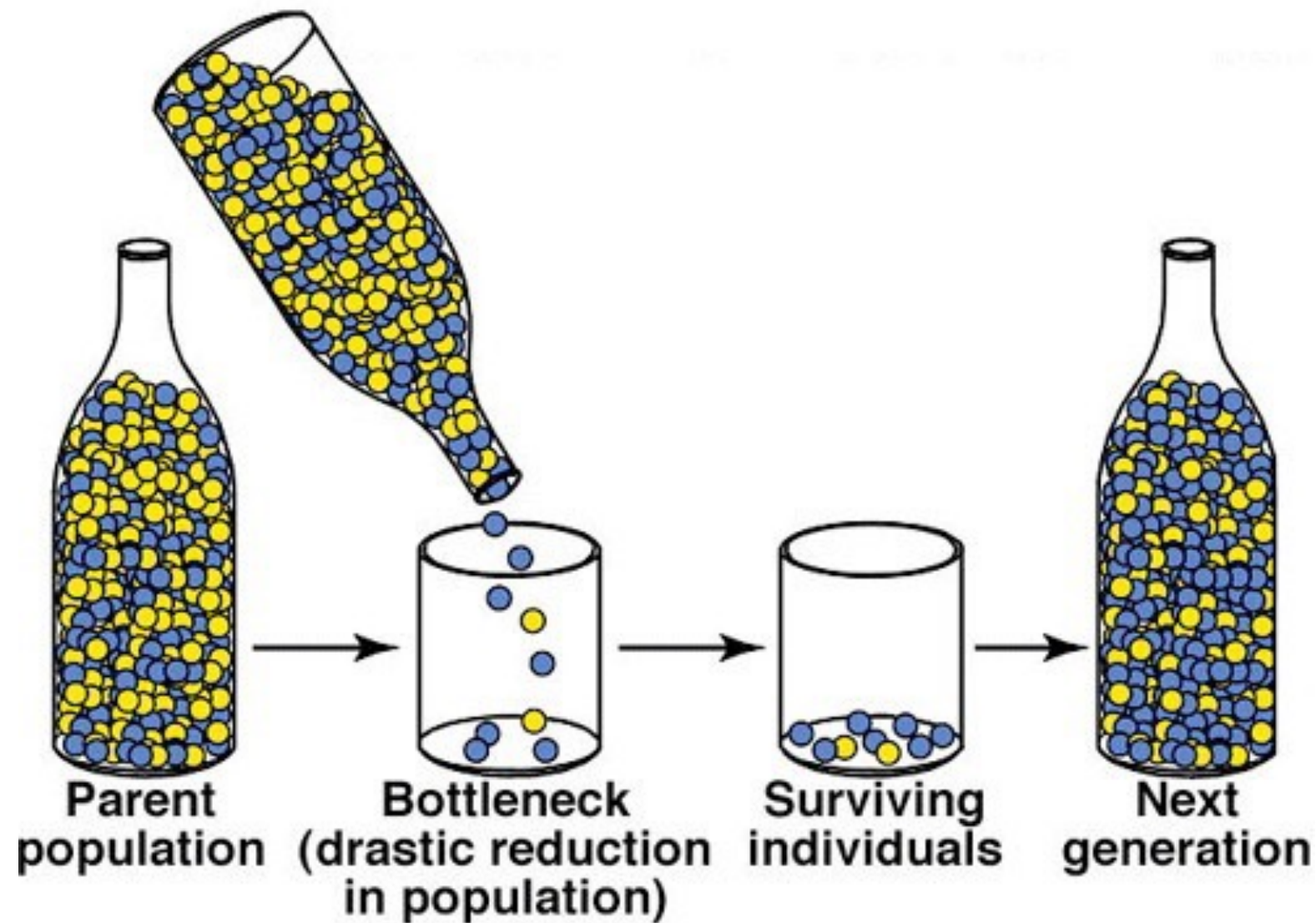


Sélection

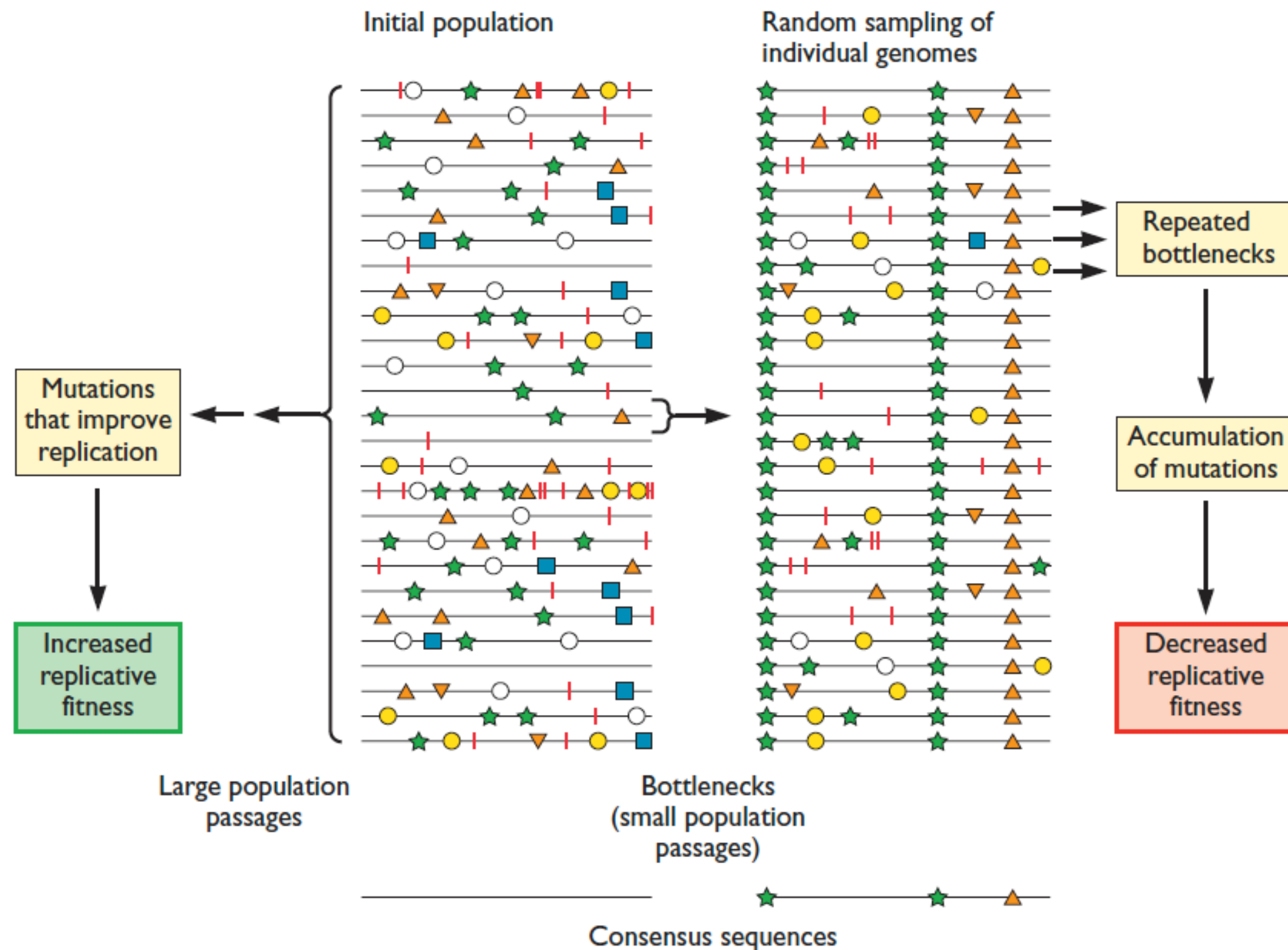
- Au sein d'une quasi-espèce, une/plusieurs mutation(s) peuvent être sélectionnées et persister dans le temps pour donner naissance à des quasi-espèces qui partagent cette/ces mutations leur ayant conféré un avantage
- Sélection ne signifie pas forcément plus de pathogénicité ou plus de transmissibilité, mais cela favorise la survie du virus
- Seuil d'erreur : équilibre entre sélection/survie et taux de mutation
 - Si taux de mutation dépasse le seuil d'erreur > perte d'infectivité
 - Si taux de mutation très inférieur > pas assez de mutation pour survivre à la sélection

Notion de goulot d'étranglement (« genetic bottlenecks »)

- Si un seul replicon survit au goulot d'étranglement > moins de diversité, fitness et survie diminués



Notion de goulot d'étranglement (« genetic bottlenecks »)



Sélection

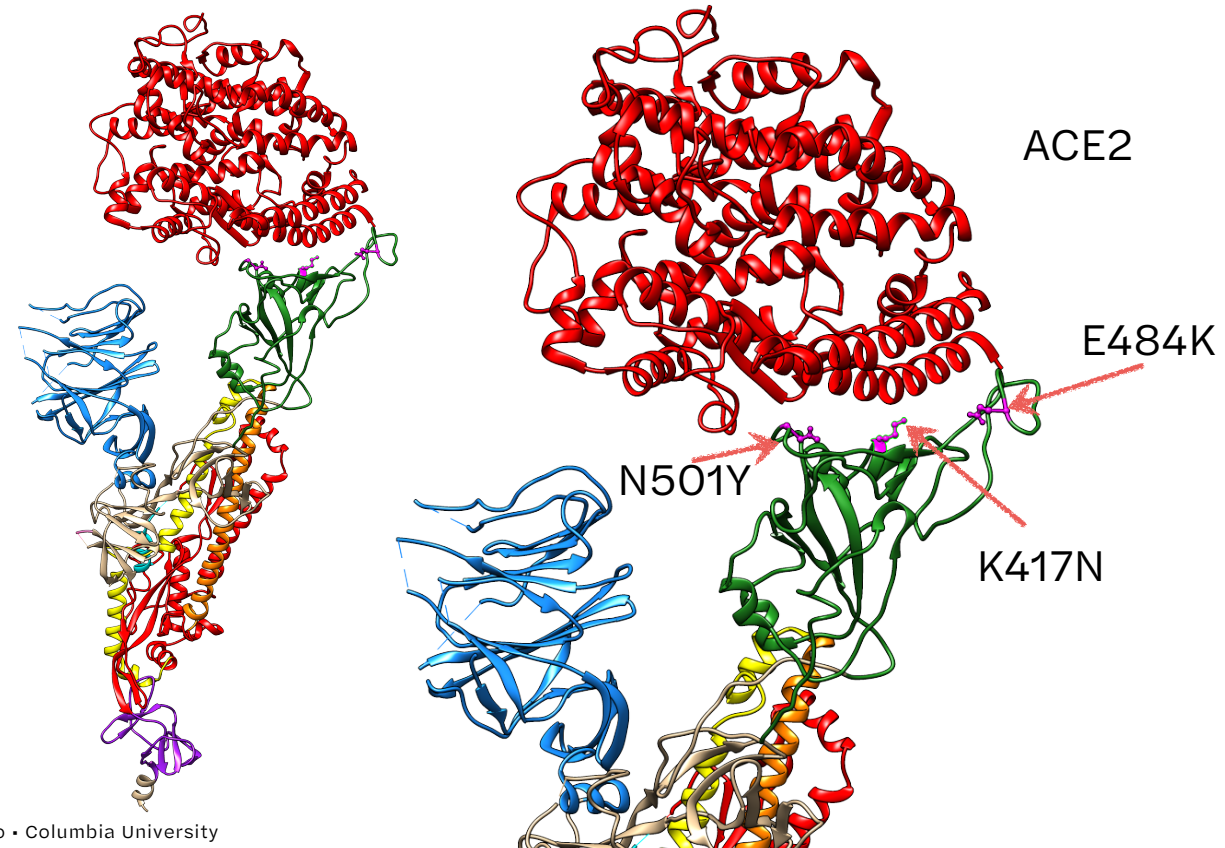
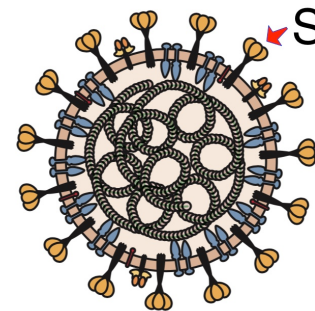
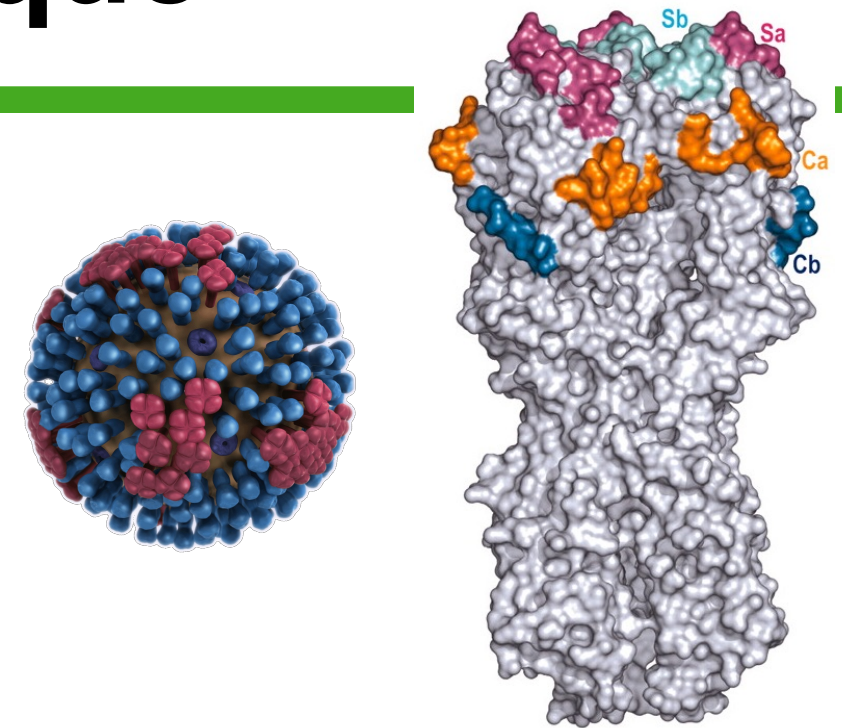
- La sélection favorise le variant adapté à un environnement donné
- Facteurs de sélection
 - Contraintes structurales de survie : sites actifs des enzymes
 - Facteurs liés à l'hôte :
 - Le système immunitaire
 - L'entrée dans la cellule cible :
 - Adaptation sur protéines de surface
 - Sites antigéniques
 - Sites de reconnaissance des récepteurs cellulaires

Sélection

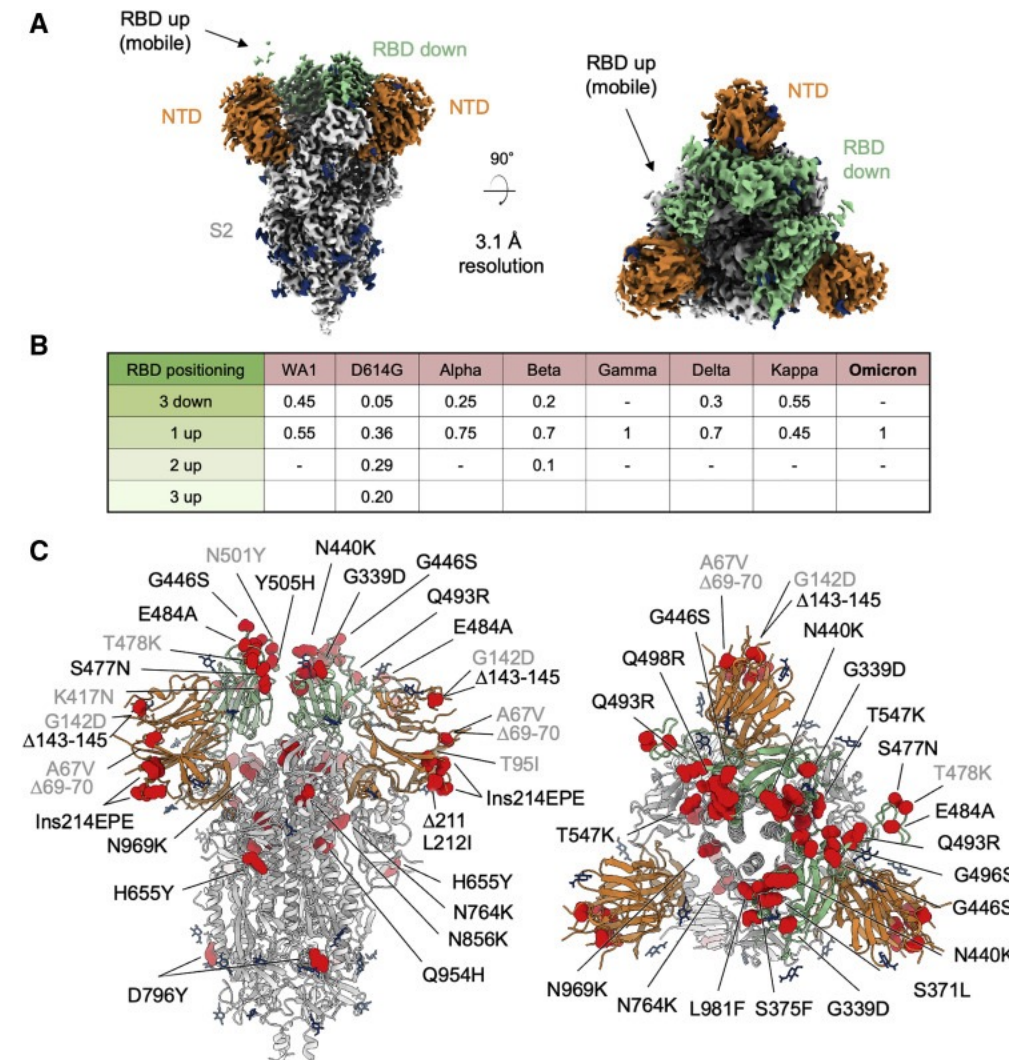
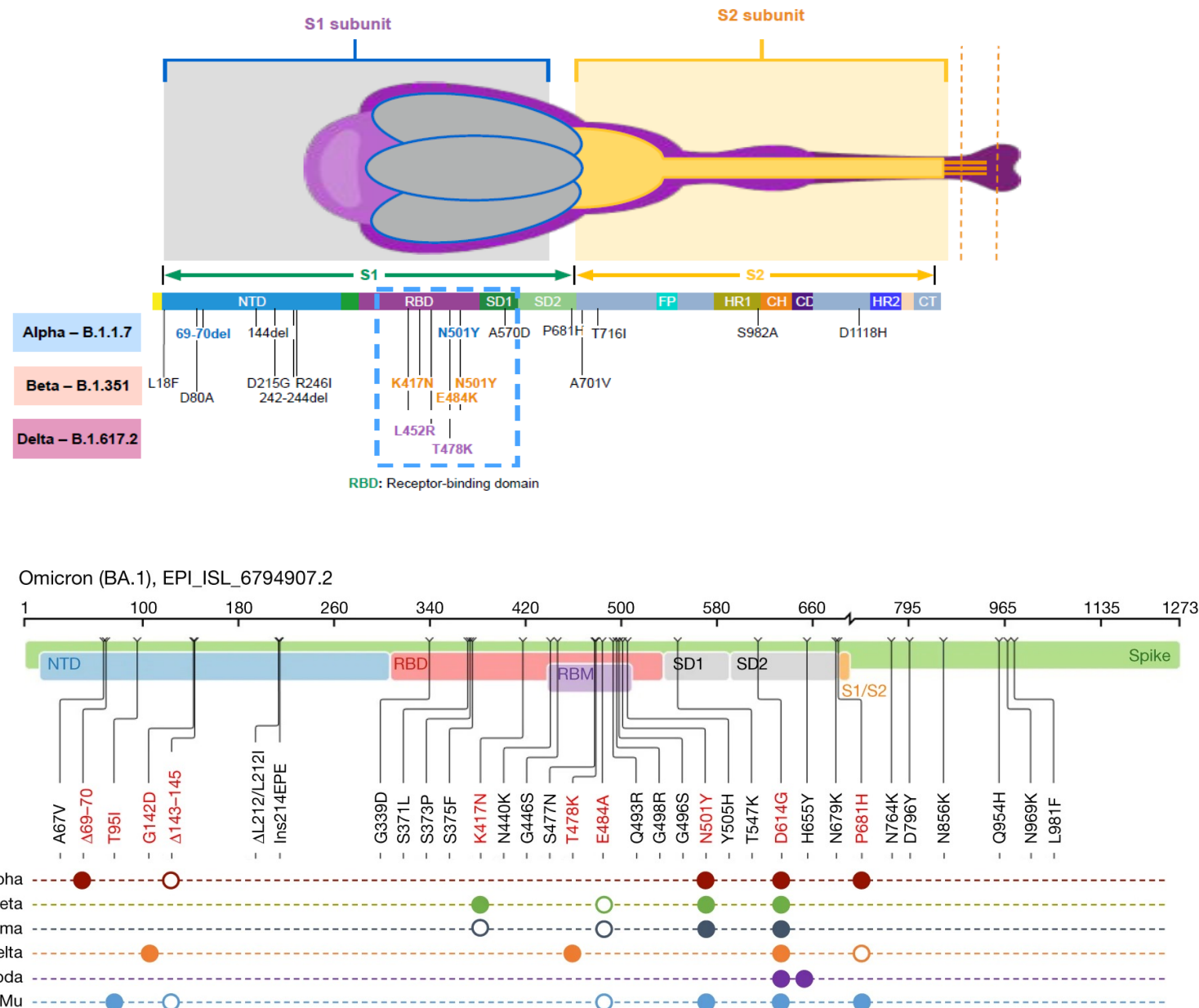
- Sélection de mutants résistants à l'élimination par les Ac ou les cellules T cytotoxiques > processus naturel au cours de la réplication virale chez un individu
 - **Drift = dérive** > diversité issue des erreurs de réplication, sélectionnées par la pression immunitaire
 - **Shift = cassure** > diversité issue des mécanismes de recombinaison ou réassortiment

Dérive antigénique

- Virus Influenza > sites de mutations ++
++ sur épitopes immunogènes de l'HA
- SARS CoV-2 > sites de mutations ++
sur épitopes immunogènes de la
protéine Spike



Exemple du SARS CoV-2





Emergence virale

zoonoses, chauve-souris et virus Ebola

UE M1 Microbiologie 23 mars 2022
Dr C.Bressollette-Bodin

-
- Notion d'émergence. Définition, principes
 - Notion de zoonose
 - Exemple des Chauve-souris
 - Les virus responsables de fièvre hémorragique virale
 - Exemple des virus Ebola

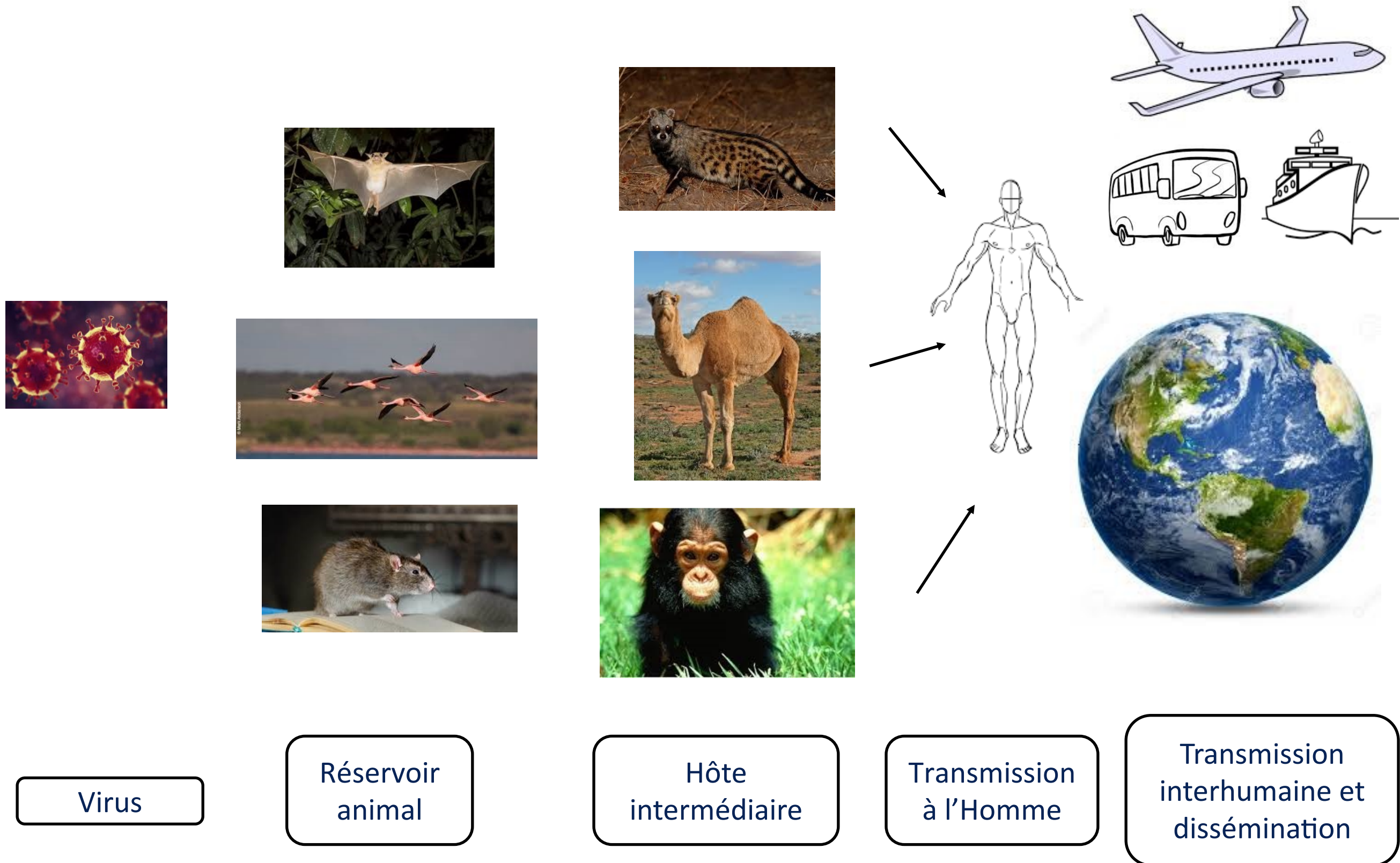
Définitions

- **Maladie infectieuse émergente** =
 - infection nouvellement apparue dans une population,
 - ou infection pré-existante dont l'incidence ou la distribution géographique augmentent rapidement
- **Zoonose** = infection transmise de l'animal à l'Homme
- **Maladie à transmission vectorielle** = infection transmise d'un hôte vertébré à un autre vertébré par l'intermédiaire d'un insecte piqueur (moustique, tique...)

Origines de l'émergence

- **Sources, non exclusives, à la base de l'émergence d'un virus :**
 - Évolution *de novo* d'un nouveau virus / nouveau variant viral
 - Passage d'un virus existant d'une espèce vers une autre espèce
 - Dissémination large d'un virus à partir d'une petite population / d'une zone géographique où il était originellement confiné.
- notion de **pool zoonotique** et de **franchissement de la barrière d'espèce**, importante en tant que source de maladies émergentes :
 - de nombreux virus sont naturellement présents dans d'autres espèces que l'homme.
 - Réservoirs animaux les plus importants: les rongeurs, chauve-souris
 - Multiplication des vecteurs possibles d'infection (moustiques, tiques...)

Emergence virale par zoonose



Facteurs favorisant l'émergence

- Facteurs humains

- Exploitation de la nature
- Flux de population humaines
- Santé publique
- Développement des outils de détection

- Autres facteurs

- Intempéries, variations climatiques

- Exploitation de la nature

- **déforestation**, par augmentation des contacts entre l'homme et les animaux vivant en forêt.
- **cultures** de terrains où les rongeurs vecteurs sont endémiques.
- mise en eau de **barrages** (pullulation de moustiques et concentrations humaines et animales).
- extension des **périmètres irrigués** (pullulation de moustiques).
- destruction des **prédateurs des vecteurs**.

- Intempéries changement climatique

Emergence virale: facteurs favorisants

- Flux de population humaine

- intensification de la circulation humaine
 - **Vols internationaux, voyages**
 - hommes porteurs de virus
 - ++ certains vecteurs (moustiques) peuvent également être transportés
- déplacements de populations
 - lors de **guerre et autres conflits**
 - Déplacements liés au **changement climatique**
- **urbanisation**

- Hygiène et santé

- Conditions de vie (eau potable, système d'assainissement et de traitement des eaux usées...)
- Accès aux soins, à la vaccination...

Emergence virale: facteurs favorisants

- Modification intrinsèque de l'agent infectieux:
 - mutations,
 - Mécanismes de recombinaison
 - réassortiment de matériel génétique,
 - transfert de matériel génétique d'une espèce à une autre, délétion de gènes...

Mécanismes d'émergence virale - Zoonose

- **Franchissement de la barrière d'espèce (« spillover »)**
Episodes zoonotiques provoquant l'apparition, chez l'homme, d'un virus habituellement hébergé par des animaux sauvages ou domestiques
 - est souvent associée à une pathogénicité différente de celle observée chez l'animal
 - Interaction directe: morsure, contact avec le sang des animaux (chasse, préparation culinaire, consommation)
 - Interaction indirecte: végétaux souillés par des liquides biologiques (urines, fientes...)
 - Adaptation du nouveau pathogène à l'homme
- Transmission peut se faire soit directement depuis l'espèce réservoir vers l'homme, soit via des espèces intermédiaires
- Réservoirs animaux les plus importants: les rongeurs, chauve-souris...

Les obstacles au passage de barrière d'espèce

- Facteurs cellulaires nécessaires à la multiplication virale peuvent être spécifiques d'espèce

Récepteur cellulaire: virus zoonotiques utilisent en général des molécules qui présentent, au moins partiellement, une forte homologie entre différentes espèces

Ex:

ACE 2 /SARS coV

NPC1 / Filovirus

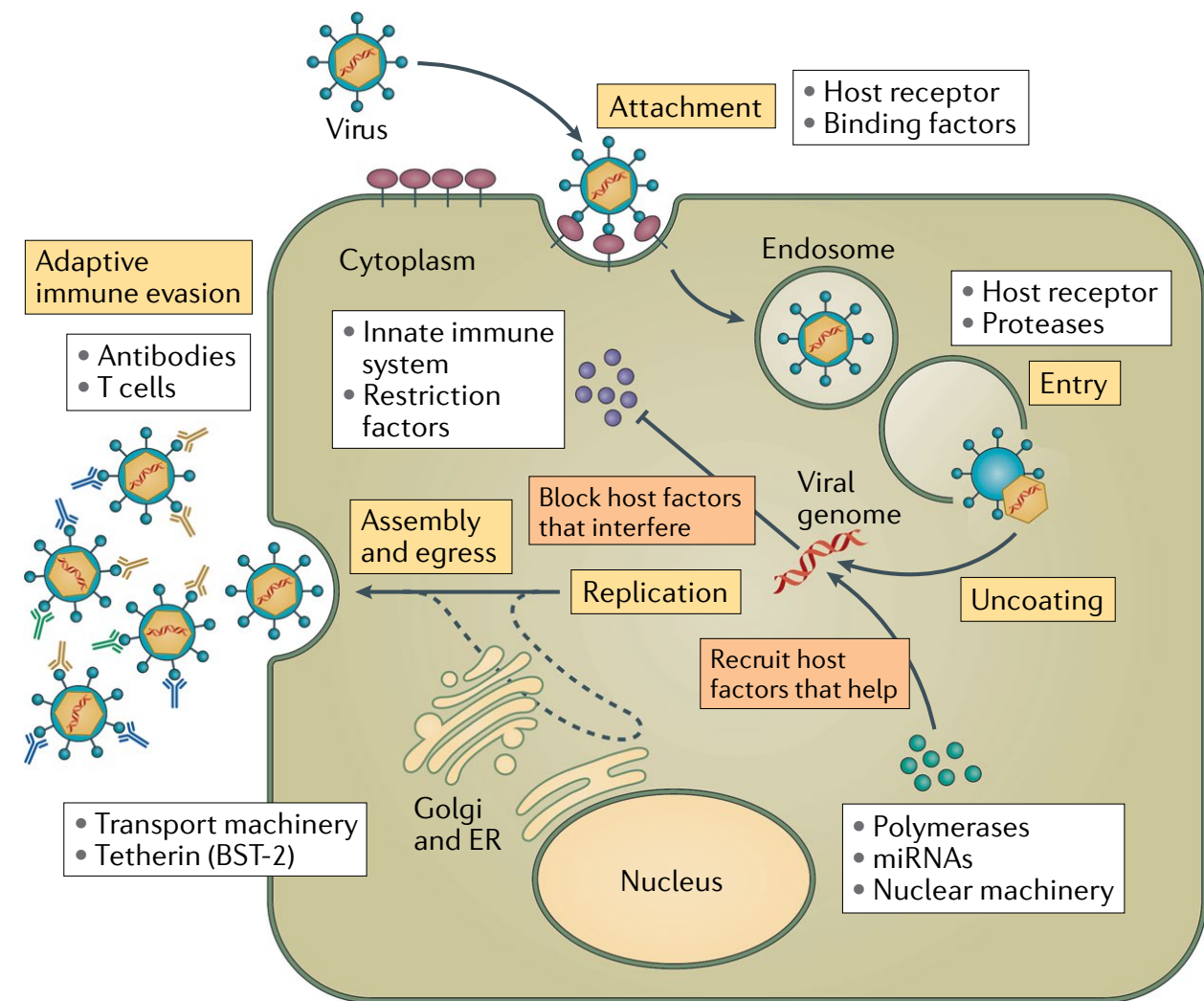


Fig. 2 | **Overview of molecular host species barriers.** Viruses rely on numerous interactions with the host cell machinery in order to replicate and transmit. Virus–host interactions occur at every stage of the viral life cycle, including attachment, uncoating, genomic replication and protein expression, viral assembly and egress. While many factors involved are still unknown, some well-described examples are indicated. ER, endoplasmic reticulum; miRNA, microRNA.

Le cas des chauves-souris



- Mammifères nocturnes volants de l'ordre des chiroptères
- Plus de 1200 espèces et 200 genres
- 2nd groupe de mammifères le plus important après les rongeurs (22%)
- Colonisation sur tous les continents sauf les latitudes extrêmes
- Se nourrissent d'insectes (microchiroptères) et fruits, pollen, sang (macrochiroptères)



Caractéristiques physiologiques des chauve-souris

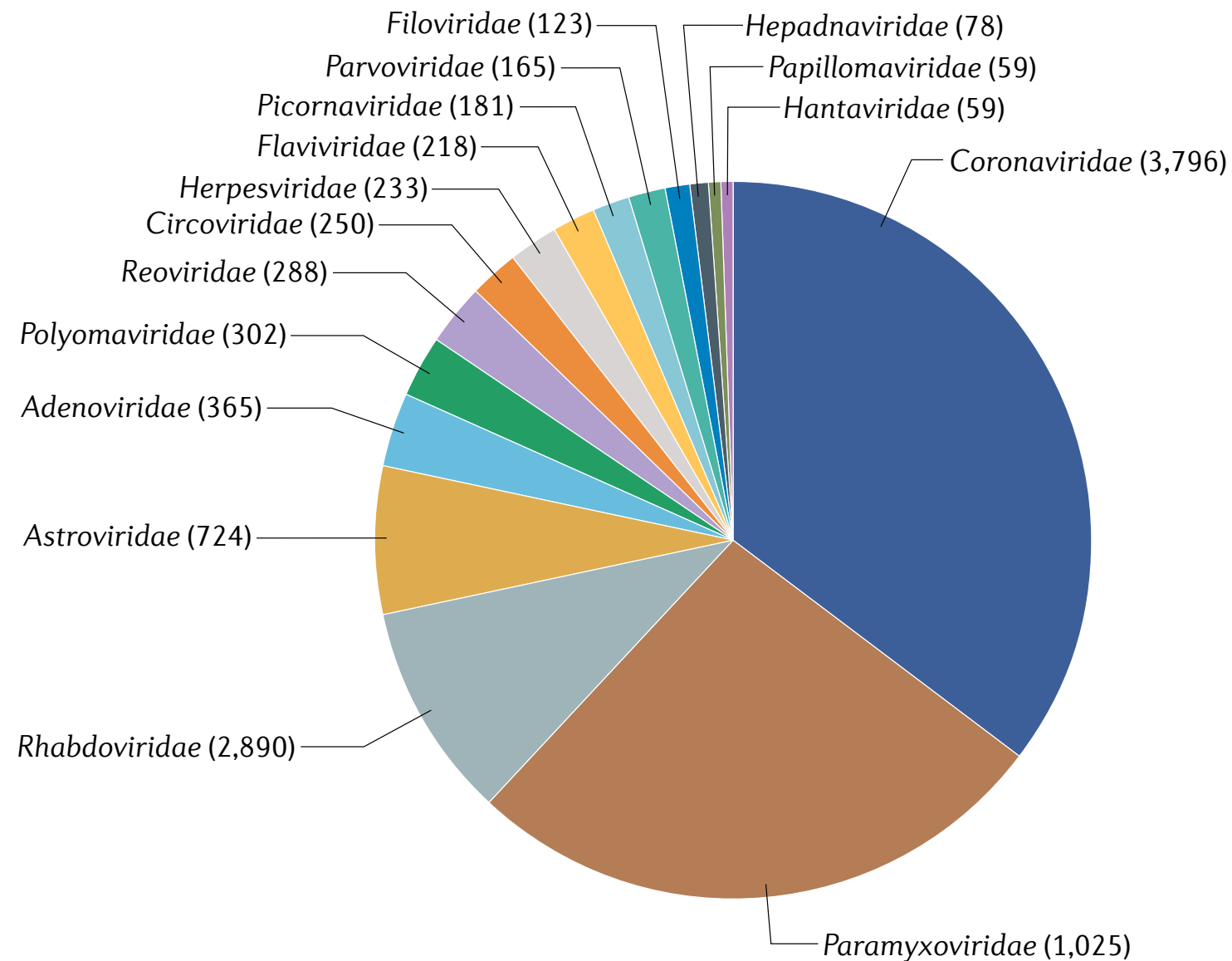
Table 1 | Natural history and physiological traits of bats

Bat traits		
Natural history	Evolutionary age	64 million years ¹⁴⁹
	Number of species	1,422 ¹¹
	Geographical distribution	Every continent except the polar regions and several oceanic islands ¹²
	Roosting habitats	Foliage, hollowed trees, rock crevices, caves and human structures ¹⁵
	Ecological roles	Pollination, seed dispersal and insect control ¹⁵
	Largest known colony size	20 million bats (Mexican free-tailed bat (<i>Tadarida brasiliensis</i>), Bracken Cave (Texas)) ¹⁵⁰
	Diet	Fruit, nectar, pollen, insects, rodents, amphibians, fish and blood ¹³
	Reproductive patterns	Bimodal, seasonal or aseasonal breeding ¹⁵¹
	Thermoregulation	Homeothermy, heterothermy, torpor and hibernation ^{16,152}
	Mode of orientation to space	Visual, echolocation and magnetoreception ^{17–19}
	Lifespan record	≥41 years (a Brandt’s bat (<i>Myotis brandtii</i>), from Siberia) ²⁹
	Body size (wingspan)	29 mm to 1.7 m ¹⁵³
	Weight range	2 g to 1.6 kg ¹⁵³
	Hibernating body temperature	≤5.8 °C ¹⁵⁴
	Hibernating heart rate	10–16 beats per minute ^{16,155}
Flight and migration	Migratory distances	Up to 2,000 km ¹⁵⁶
	In-flight body temperature	≥41 °C ¹⁵⁷
	In-flight heart rate	≤1,066 beats per minute ²⁴
	Energetic demands	Up to 1,200 calories per hour ²²
Physiological adaptations	Comparative metabolic rates	2.5–3× higher than similar-sized exercising mammals ²¹
	In-flight increase in metabolic rate	Up to 34× basal metabolic rate ²¹
	Oxidative phosphorylation	Positive selection in 23.08% mitochondrial, 4.90% nuclear-encoded OXPHOS genes ^{83,111}

Le cas des chauves-souris

- Réservoirs pour de nombreux virus à ARN

- *Coronaviridae*
- *Paramyxoviridae* (Hendra, Nipah)
- *Filoviridae* (Marburg, Ebola)
- Astrovirus



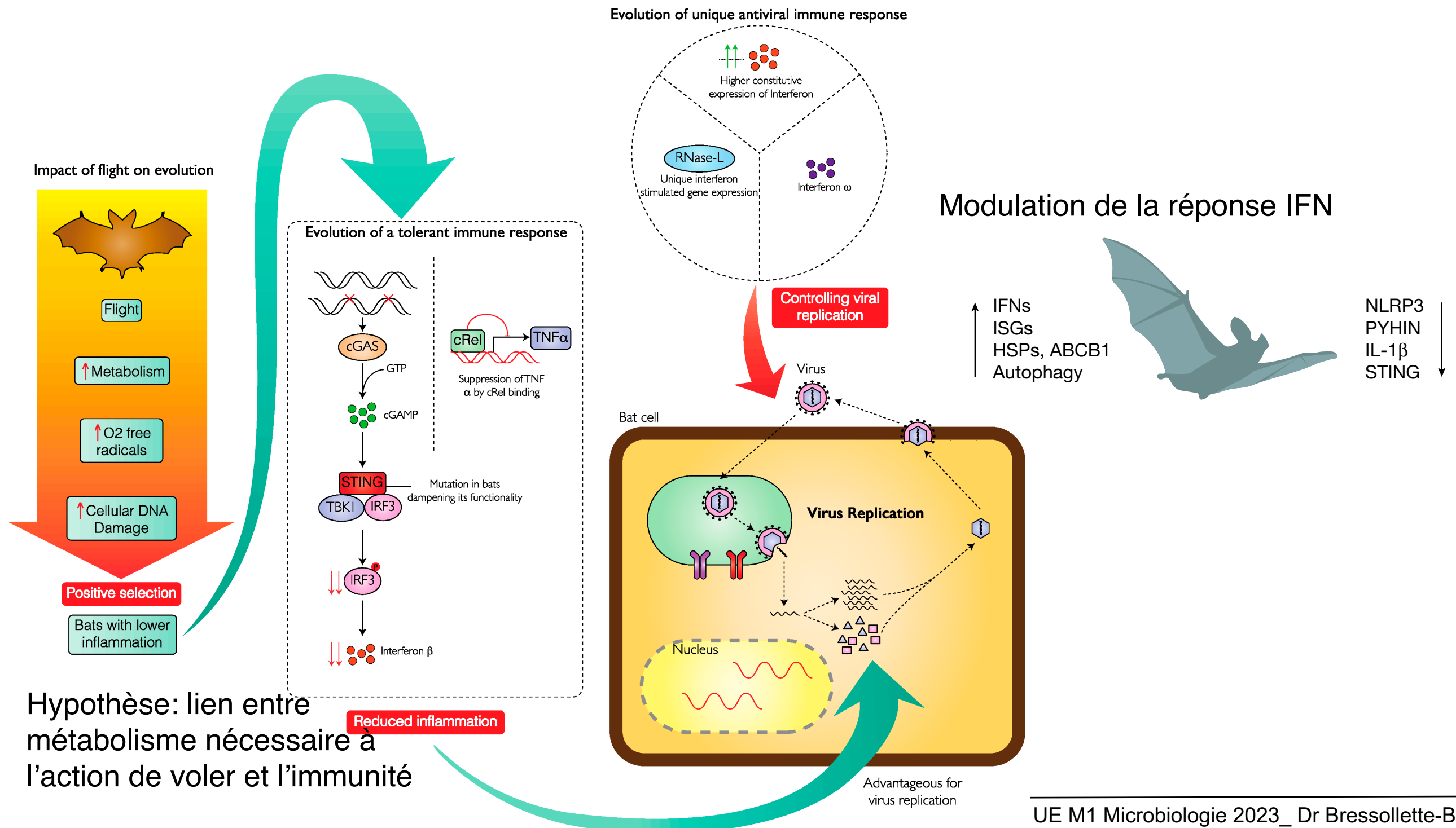
histoire naturelle des infections virales chez les chauves-souris mal connue (difficultés ++ des modèles expérimentaux, suivi des animaux à l'état sauvage très compliqué)

Les chauve-souris, réservoir de virus

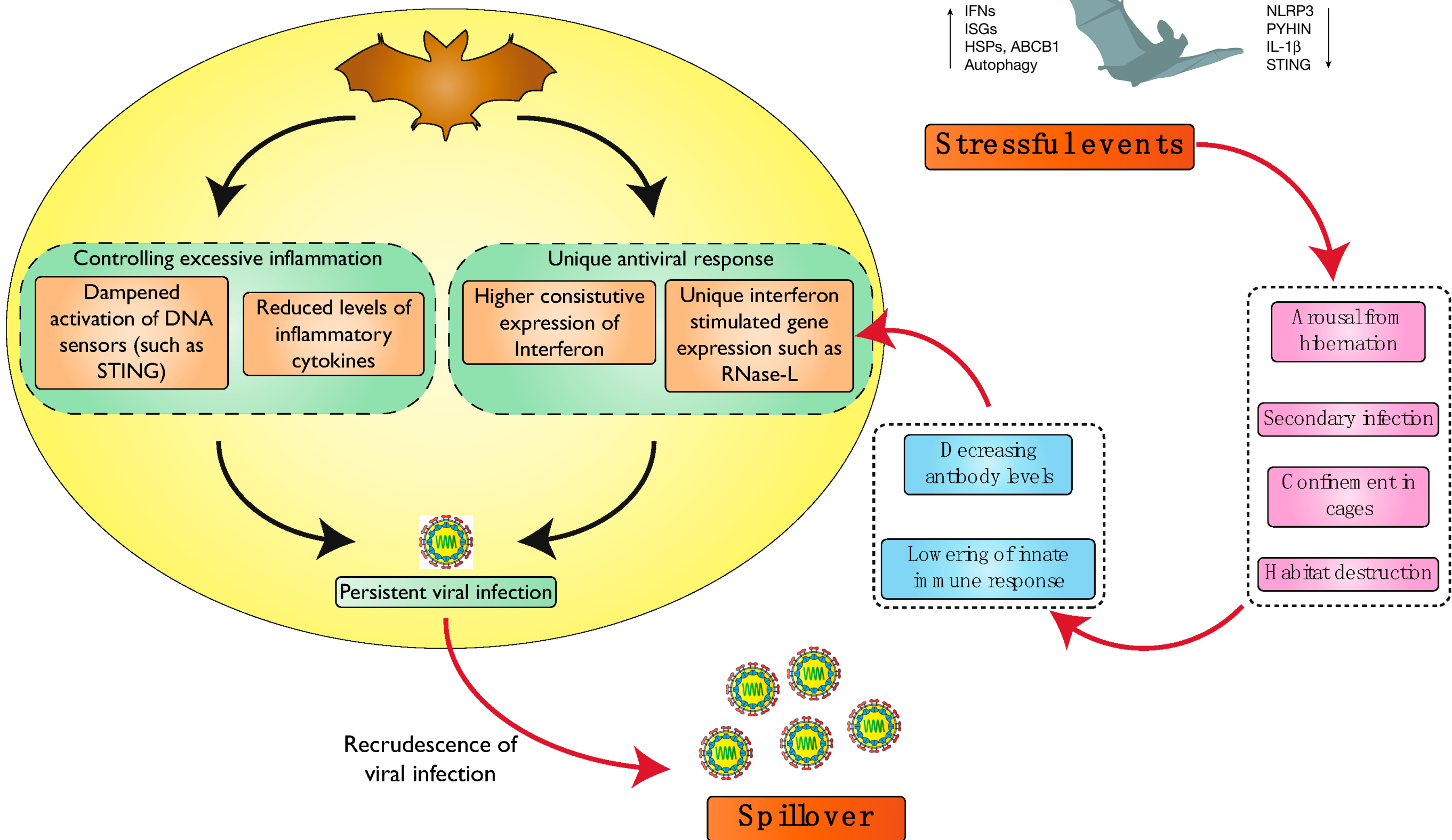
- Dynamique du réservoir viral chez les chauve-souris: Infections persistantes avec réactivations / infections récurrentes?
- Résistance des chauve-souris aux infections virales?
 - Réplication virale possible : Modèle Nipah virus ou Marburg: multiplication dans l'animal mais pas de maladie

Le cas des chauve-souris

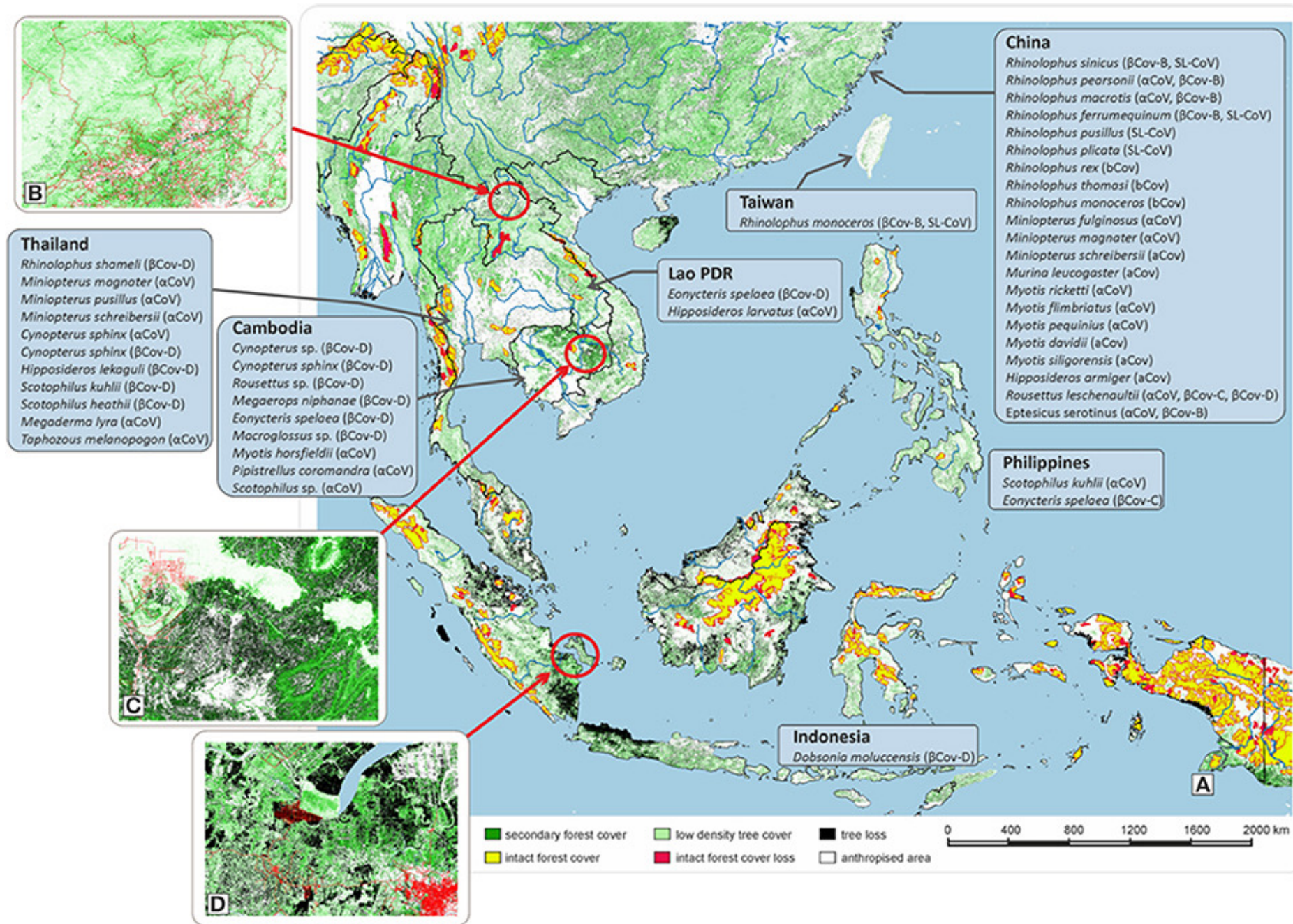
- Tolérance aux infections virales:** évite les aspects immunopathologiques liés à une activation excessive de la réponse inflammatoire dans certaines infections virales aiguës (SARS CoV-2, Marburg, Ebola...)



Le cas des chauve-souris



Des chauve-souris et des hommes

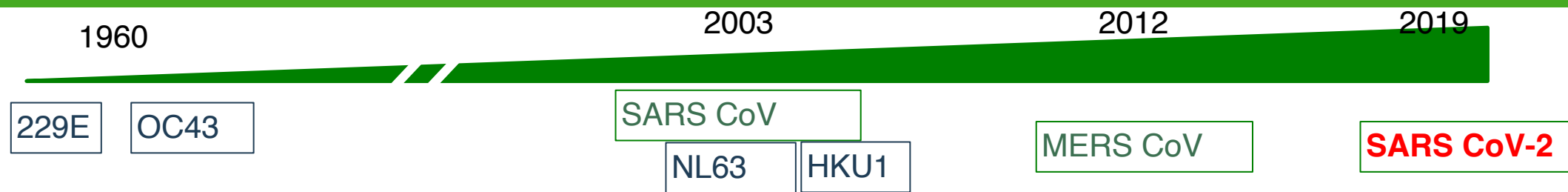
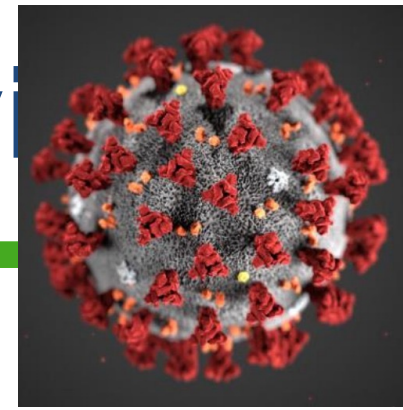


Installation des chauves-souris dans des zones plus proches de l'homme

- Conséquences de la déforestation
- Augmentation des surfaces agricoles
 - Commerce du bois
 - Expansion des zones urbaines (démographie)



Les chauves-souris et les coronavi



- Les Coronavirus = représentent environ 1/3 du virome des chauves-souris

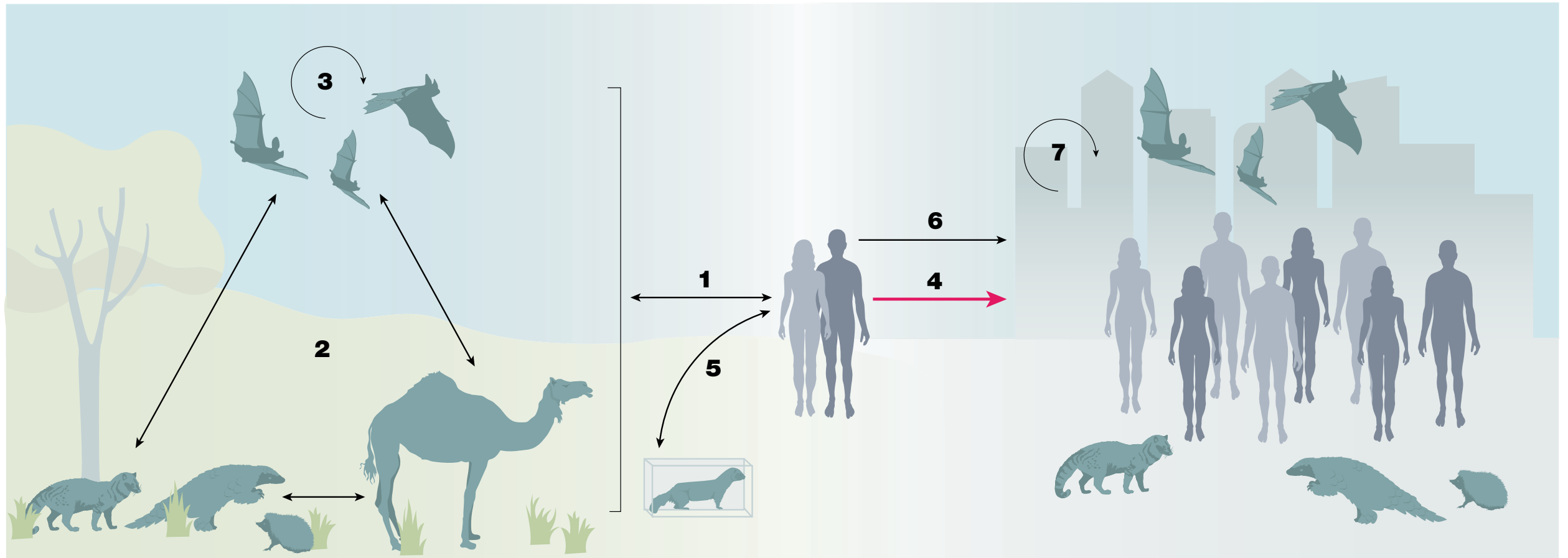
≈ 30 coronavirus identifiés chez la chauve-souris depuis 15 ans

Les coronavirus infectent plus de 500 espèces de Chiroptères

- La plupart des Coronavirus humains ont pour origine la chauve-souris
- Recombinaison possible de plusieurs coronavirus au sein d'un même animal (plusieurs espèces occupent les mêmes grottes)

Coronavirus humain (HCoV)	Origine possible (hypothèse)	Hôte intermédiaire identifié	Date d'émergence (détermination du MRCA)	Circulation chez l'humain
HCoV-229E <i>Alphacoronavirus</i>		 Camelidae, <i>Alpaca</i> sp.	Début XIX ^e siècle	Ubiquitaire, saisonnier
HCoV-NL63 <i>Alphacoronavirus</i>		?	XIII ^e siècle	Ubiquitaire, saisonnier
HCoV-OC43 <i>Betacoronavirus</i> Clade A	 ?	 Bovidae	Fin XIX ^e siècle	Ubiquitaire, saisonnier
HCoV-HKU1 <i>Betacoronavirus</i> Clade A	 ?	 ?	?	Ubiquitaire, saisonnier
SARS-CoV <i>Betacoronavirus</i> Clade B		 <i>Paguma larvata</i> (civette)	2002	Pandémie décembre 2002 – juillet 2003 Arrêt de la circulation
MERS-CoV <i>Betacoronavirus</i> Clade C		 <i>Camelus dromedarius</i>	2012	Circulation péninsule arabique. Risque pandémique lié aux voyages

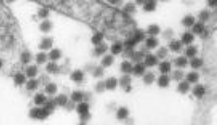
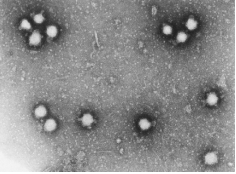
Des chauve-souris et des hommes



Fièvres Hémorragiques Virales (FHV)

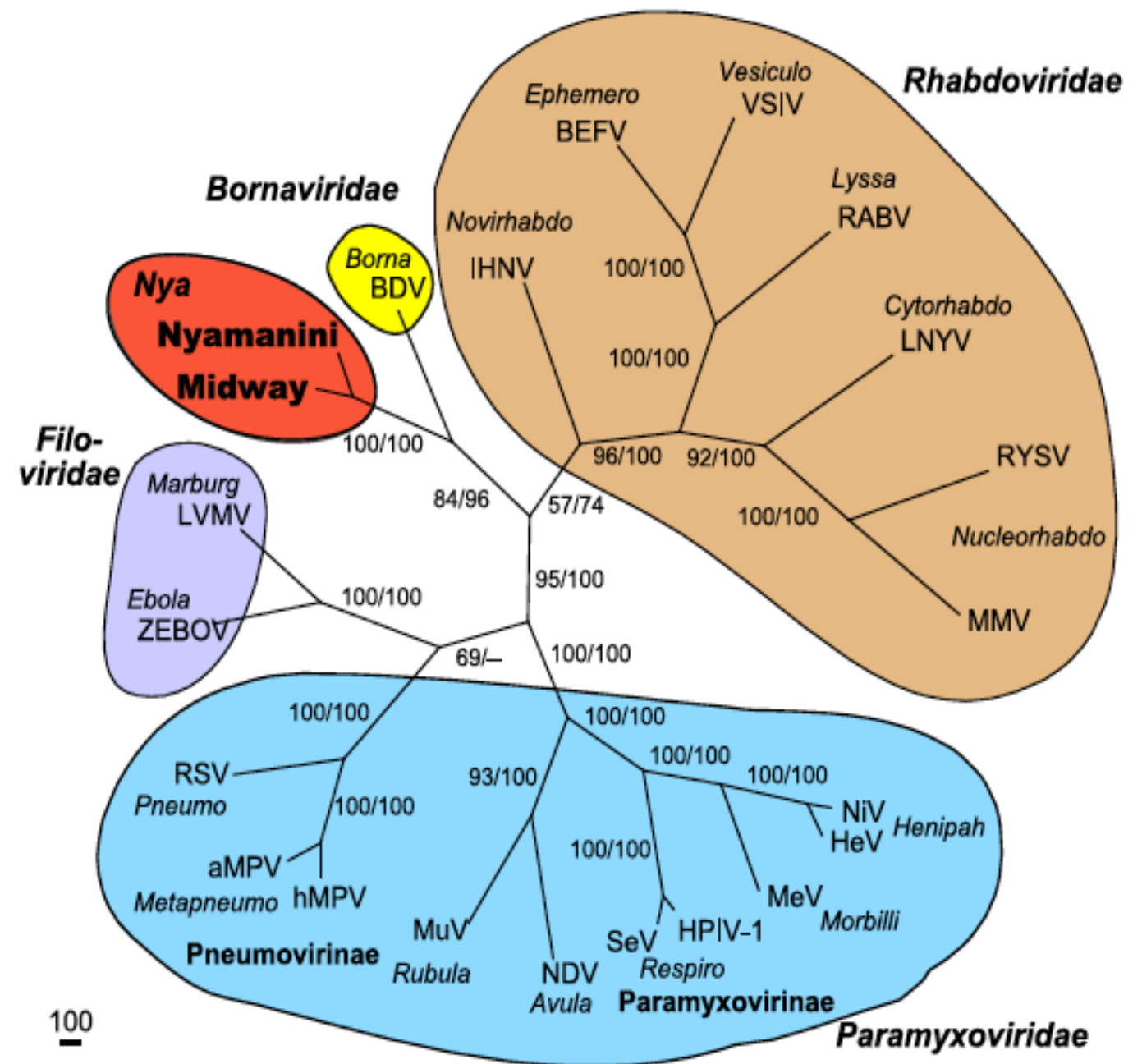
- groupe de maladies causées par différentes familles virales (4 à ce jour)
- Atteintes multi-organiques, concernant essentiellement le système vasculaire, la présence de saignements est inconstante et généralement non létale
- Virus ayant en commun:
 - Génome à ARN négatif et présence d'une enveloppe (peu résistants dans le milieu extérieur)
 - Existence d'un réservoir naturel non humain, l'homme est un hôte accidentel
 - Restriction géographique en fonction du type de réservoir

Les virus des fièvres hémorragiques virales

Famille	Genre	Maladie
<u>ARBOVIRUS</u> <i>FLAVIVIRIDAE</i> 	<i>Flavivirus</i>	Fièvre jaune Dengue hémorragique Mal. de la forêt de Kyasanur F. H. d' Omsk
 <i>BUNYAVIRIDAE</i>	<i>Phlebovirus</i> <i>Nairovirus</i>	F. Vallée du Rift F. H. Crimée-Congo
<u>NON ARBOVIRUS</u> <i>BUNYAVIRIDAE</i>	<i>Hantavirus</i>	F. H. avec syndrome rénal
<i>ARENAVIRIDAE</i> 	<i>Arénavirus</i>	F. de Lassa F. H. à virus de Junin F. H. à virus de Machupo F. de Guanarito et Sabia
 <i>FILOVIRIDAE</i>	<i>Filovirus</i>	F. d' Ebola F. à virus de Marburg

Virus Ebola: Classification

- Ordre des Mononegavirales: 5 familles
- Famille des *Filoviridae*:
 - genre Marburgvirus (1967)
 - genre Ebolavirus (1976 au Zaïre, rivière Ebola)
 - genre Lloviuvirus (Europe 2011)

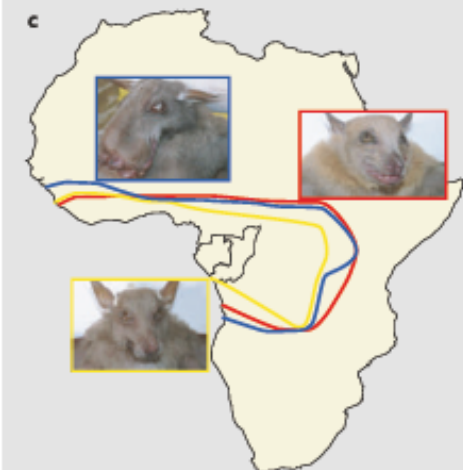
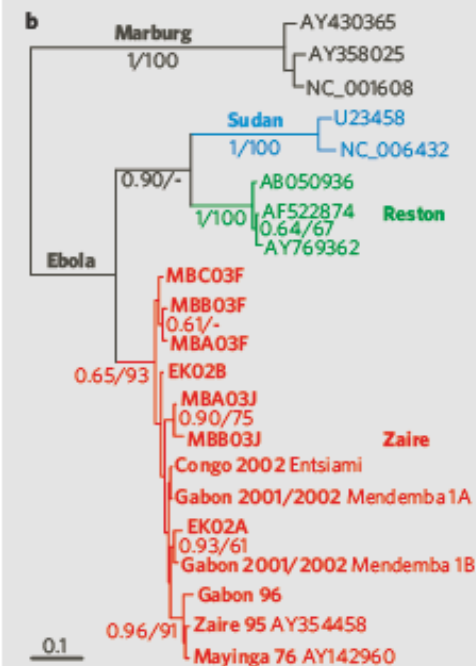
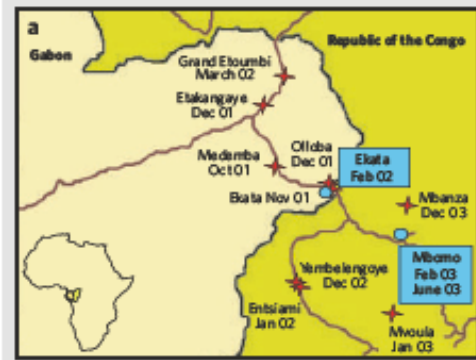


Les chauve-souris, réservoir de FHV

Fruit bats as reservoirs of Ebola virus

Bat species eaten by people in central Africa show evidence of symptomless Ebola infection.

Vol 438| December 2005

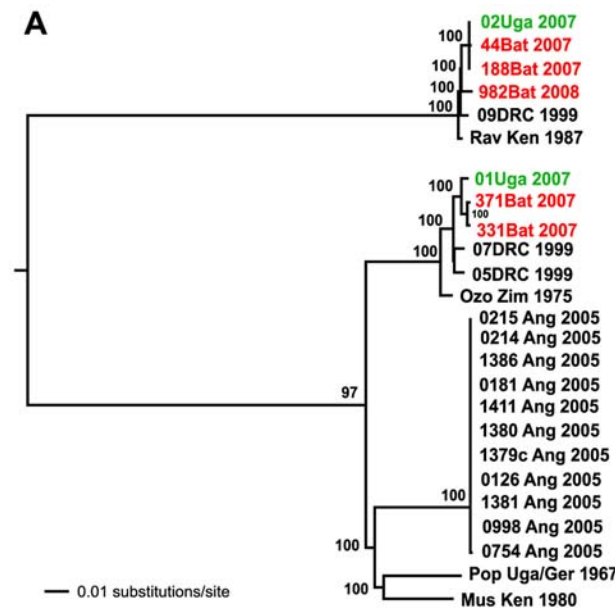


Isolation of Genetically Diverse Marburg Viruses from Egyptian Fruit Bats

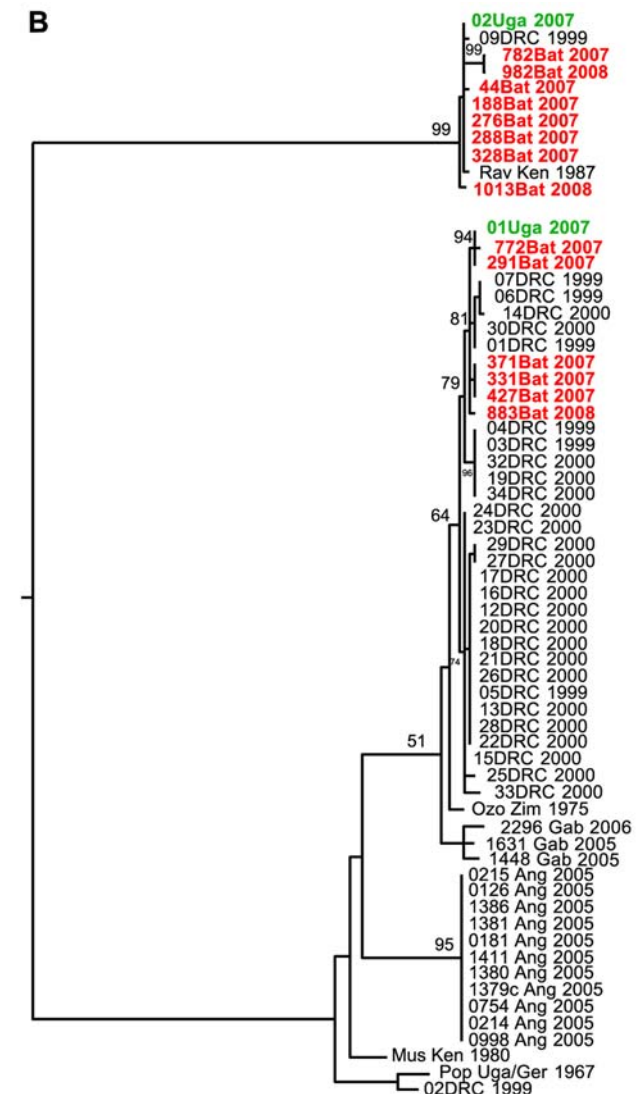
PLoS Pathogens | www.plospathogens.org

1

July 2009 | Volume 5 | Issue 7



B



0.005 substitutions/site

Le virus Ebola

- La maladie à virus Ebola (= fièvre hémorragique à virus Ebola) est une maladie grave, souvent mortelle chez l'homme.
- Le virus se transmet à l'homme à partir des animaux sauvages et se propage ensuite dans les populations par transmission interhumaine.
- Le taux de létalité moyen = environ 50%
- Famille des *Filoviridae*, genre *Ebolavirus*

Maladie Ebola

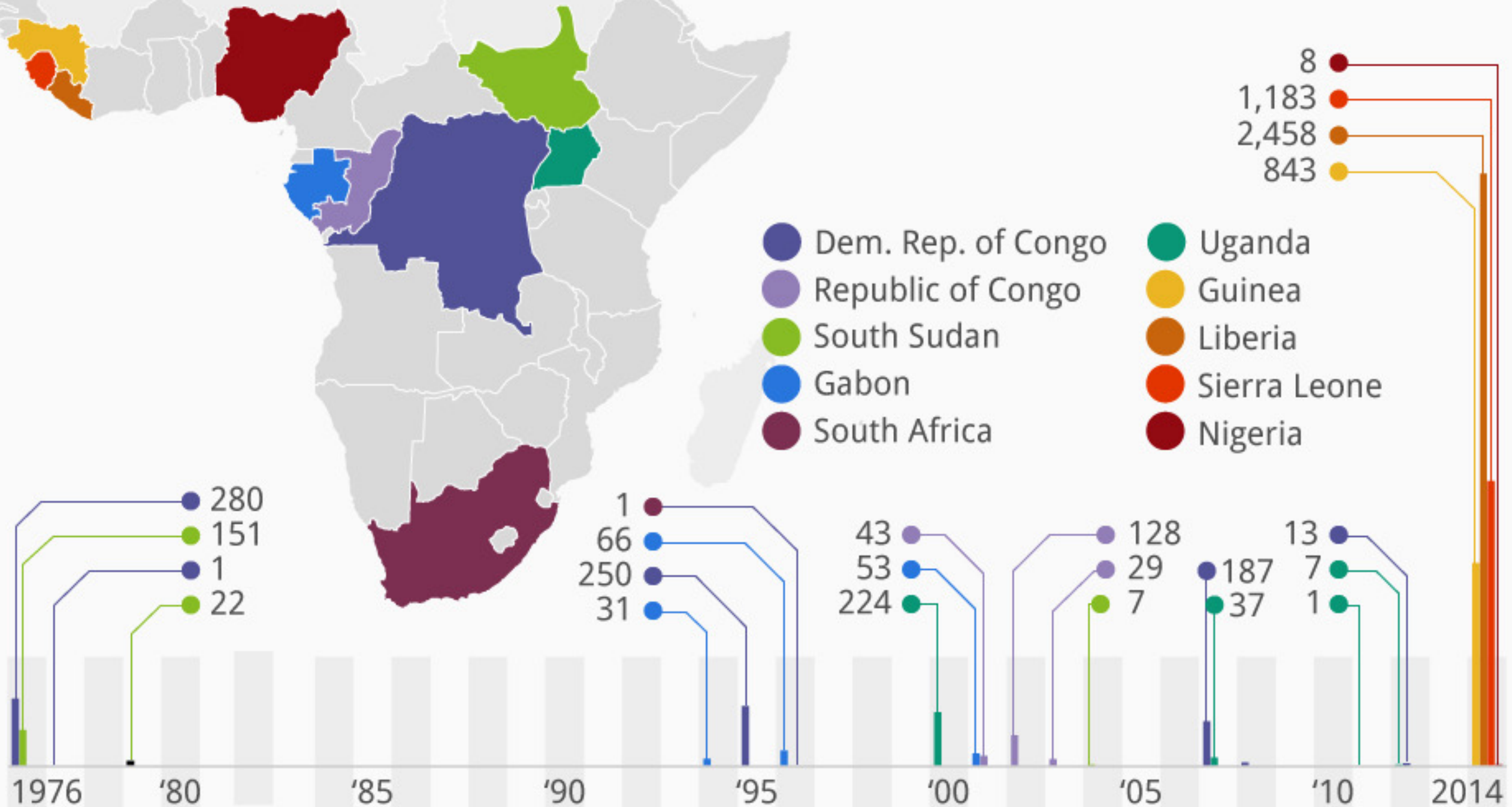
Epidémies Sud
Soudan/Ouganda

Epidémies Sud
RDC/Congo/Gabon

Species	Virus name(s)	Virus abbreviation
<i>Bundibugyo ebolavirus</i>	Bundibugyo virus	BDBV
<i>Reston ebolavirus</i>	Reston virus	RESTV
<i>Sudan ebolavirus</i>	Sudan virus	SUDV
<i>Tai Forest ebolavirus</i>	Tai Forest virus	TAFV
<i>Zaire ebolavirus</i>	Ebola virus	EBOV

Africa's Ebola Epidemics Since 1976

Deaths from the Ebola virus in Africa 1976-2014



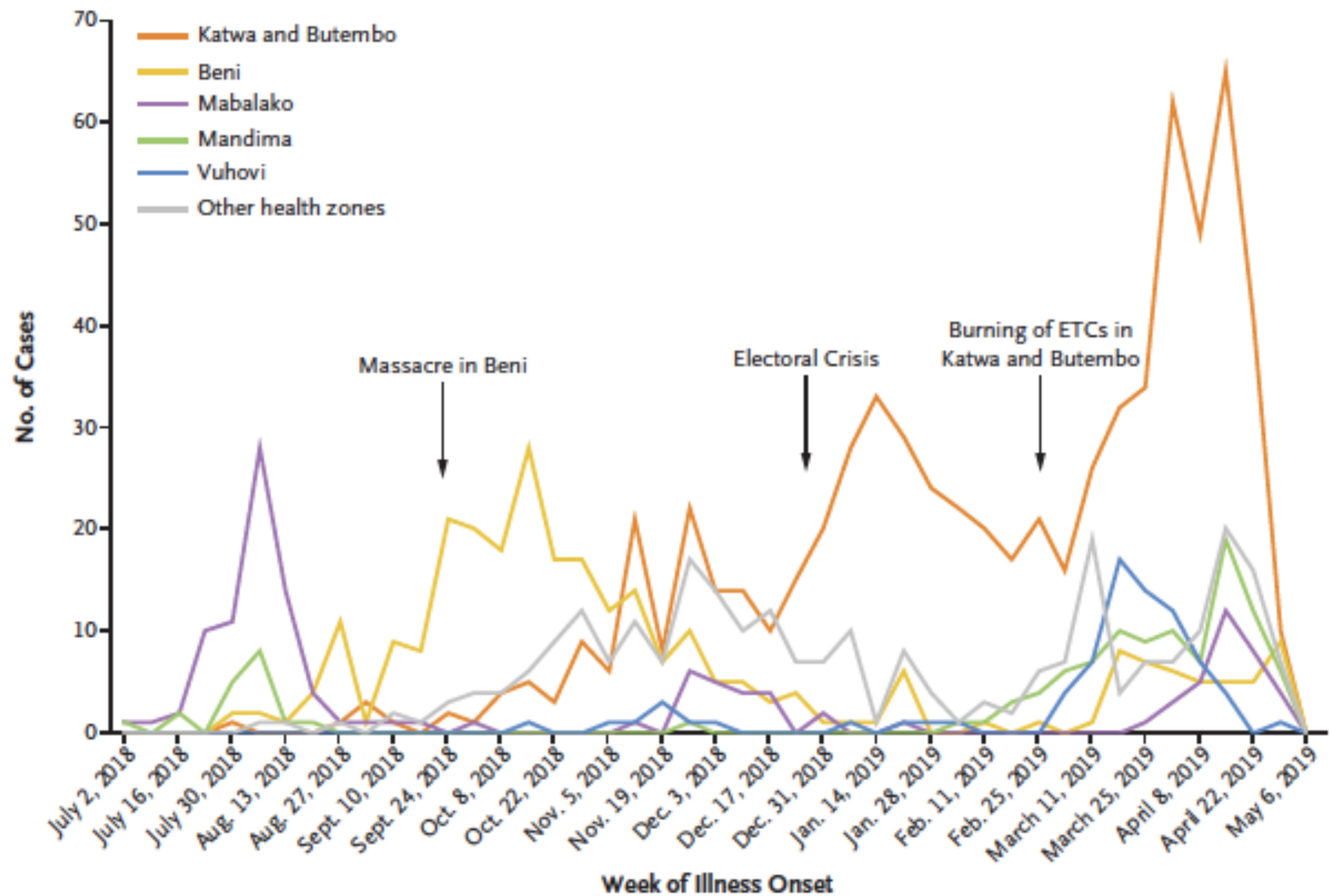
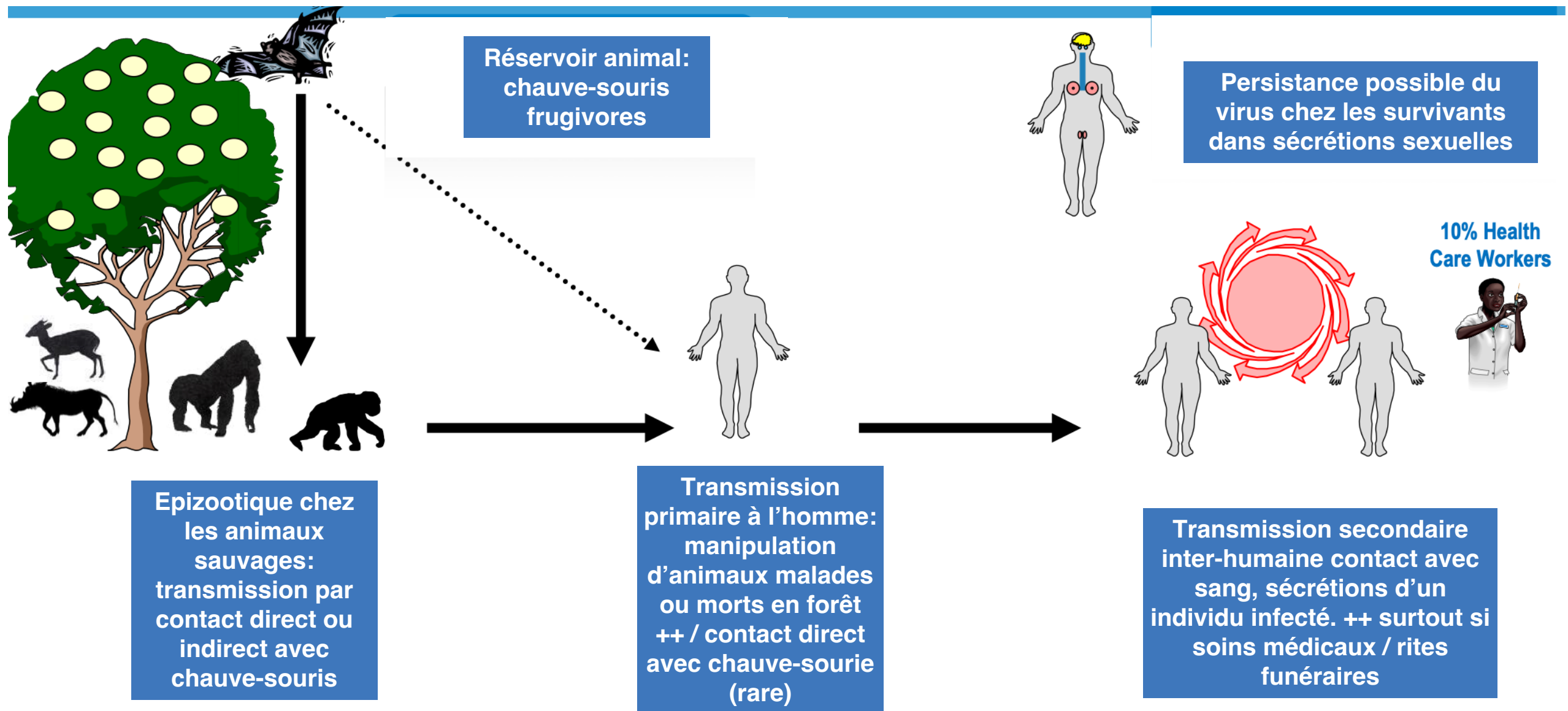


Figure 3. EVD Cases in Major Epicenters and Hotspots in Relation to Major Violence.

Each event has been accompanied by an increase in numbers of EVD cases and an adjustment of operational strategy. ETCs denotes Ebola treatment centers. Data provided by the World Health Organization and the Ministry of Health, Democratic Republic of the Congo, 2019.

Le virus Ebola



Particule virale

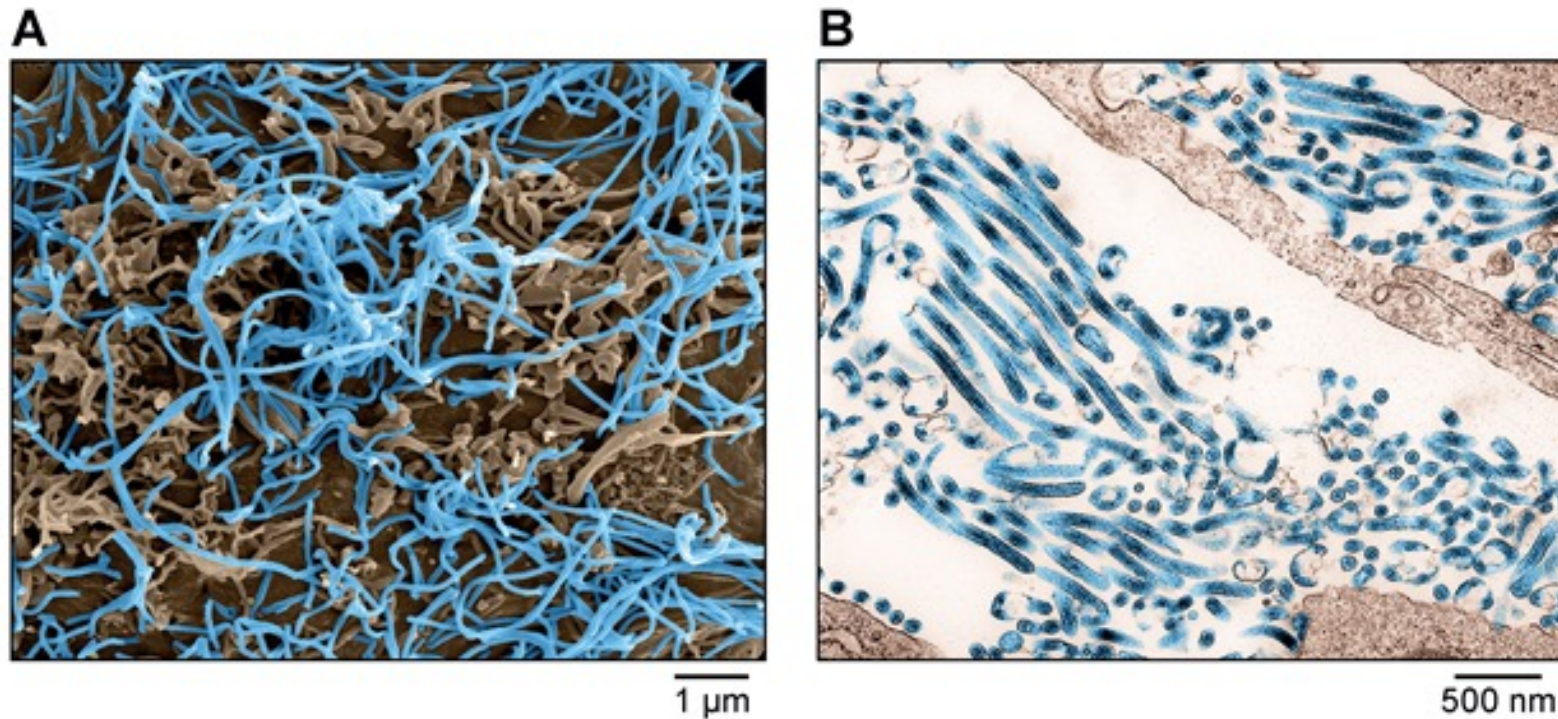
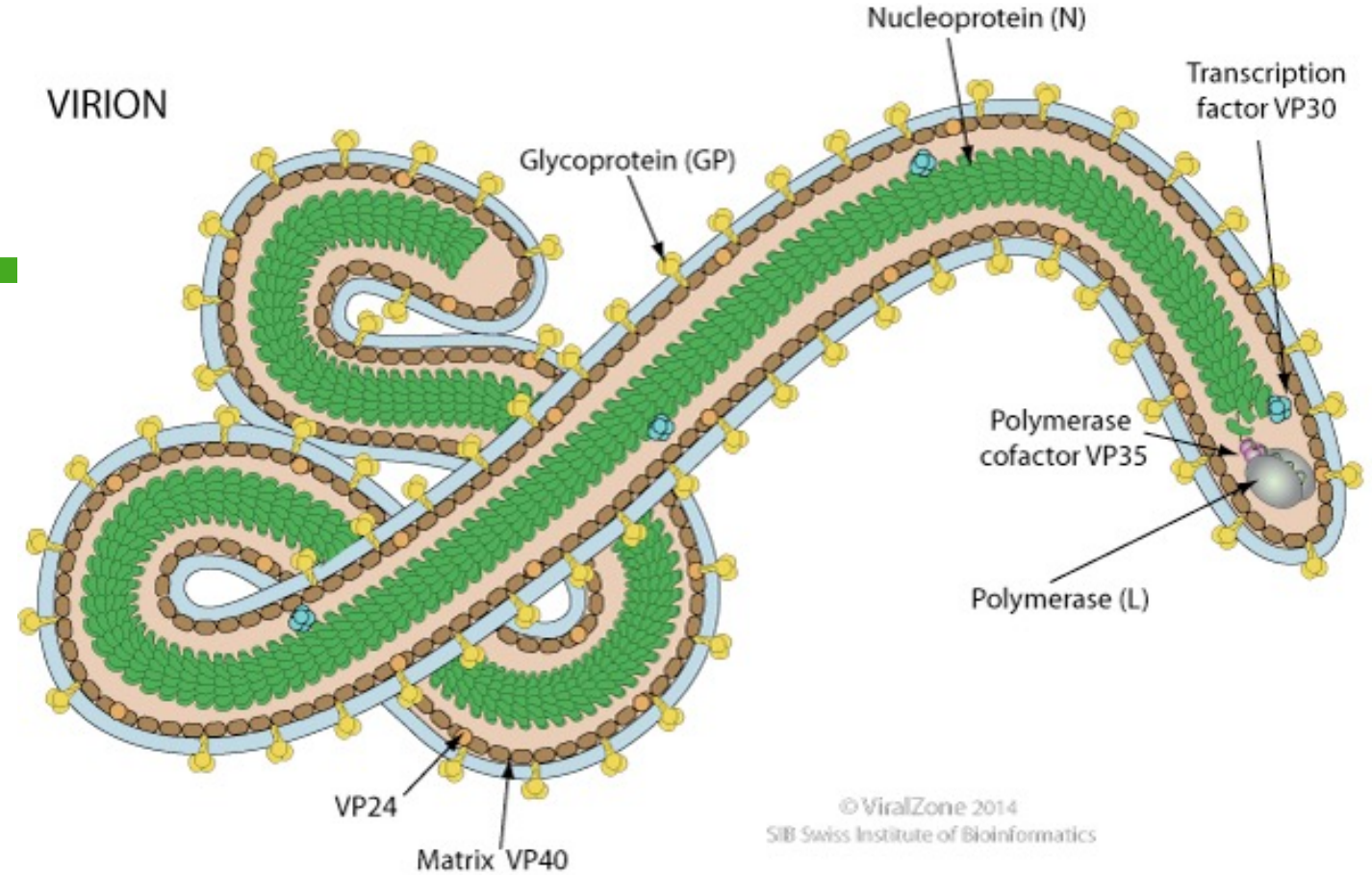
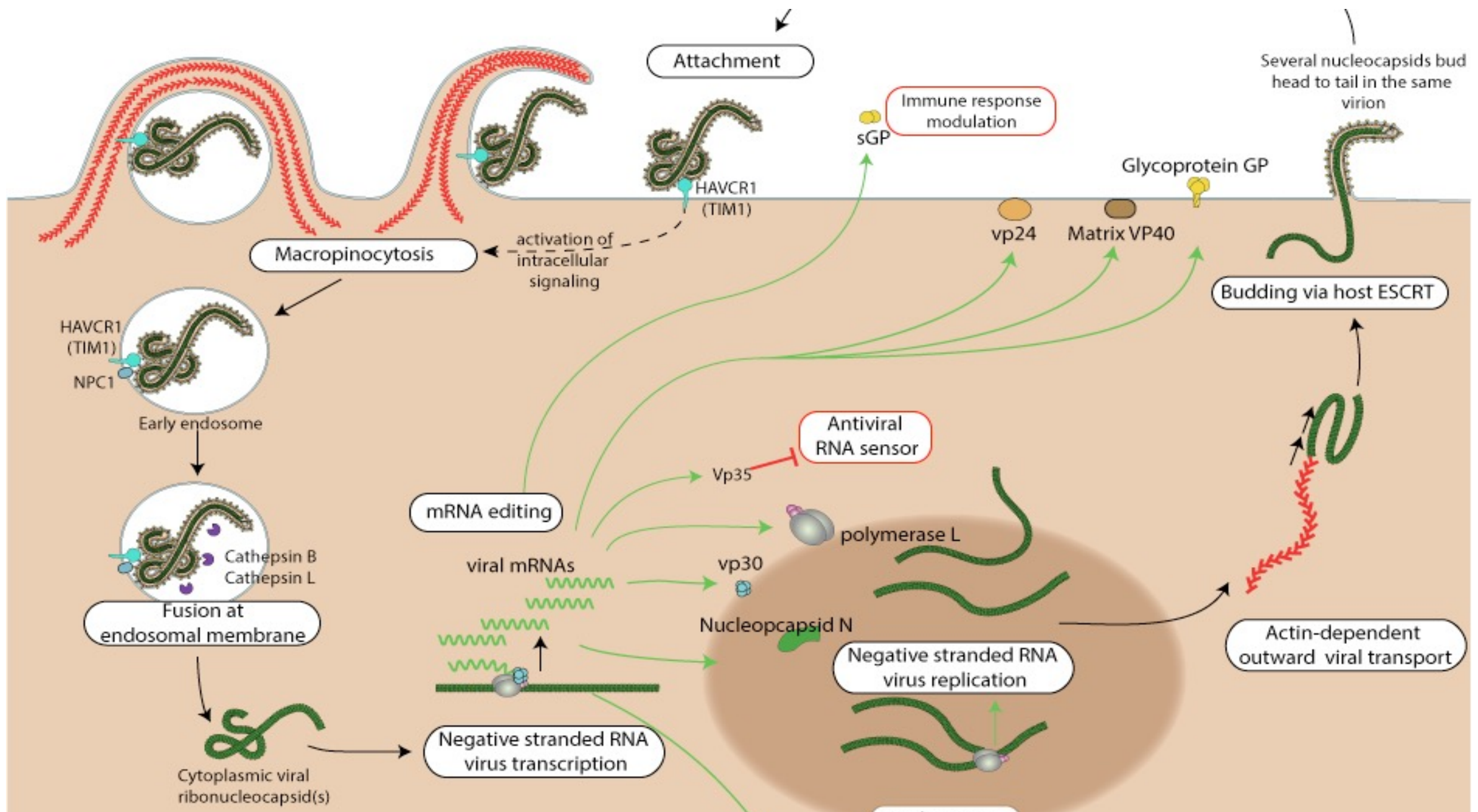


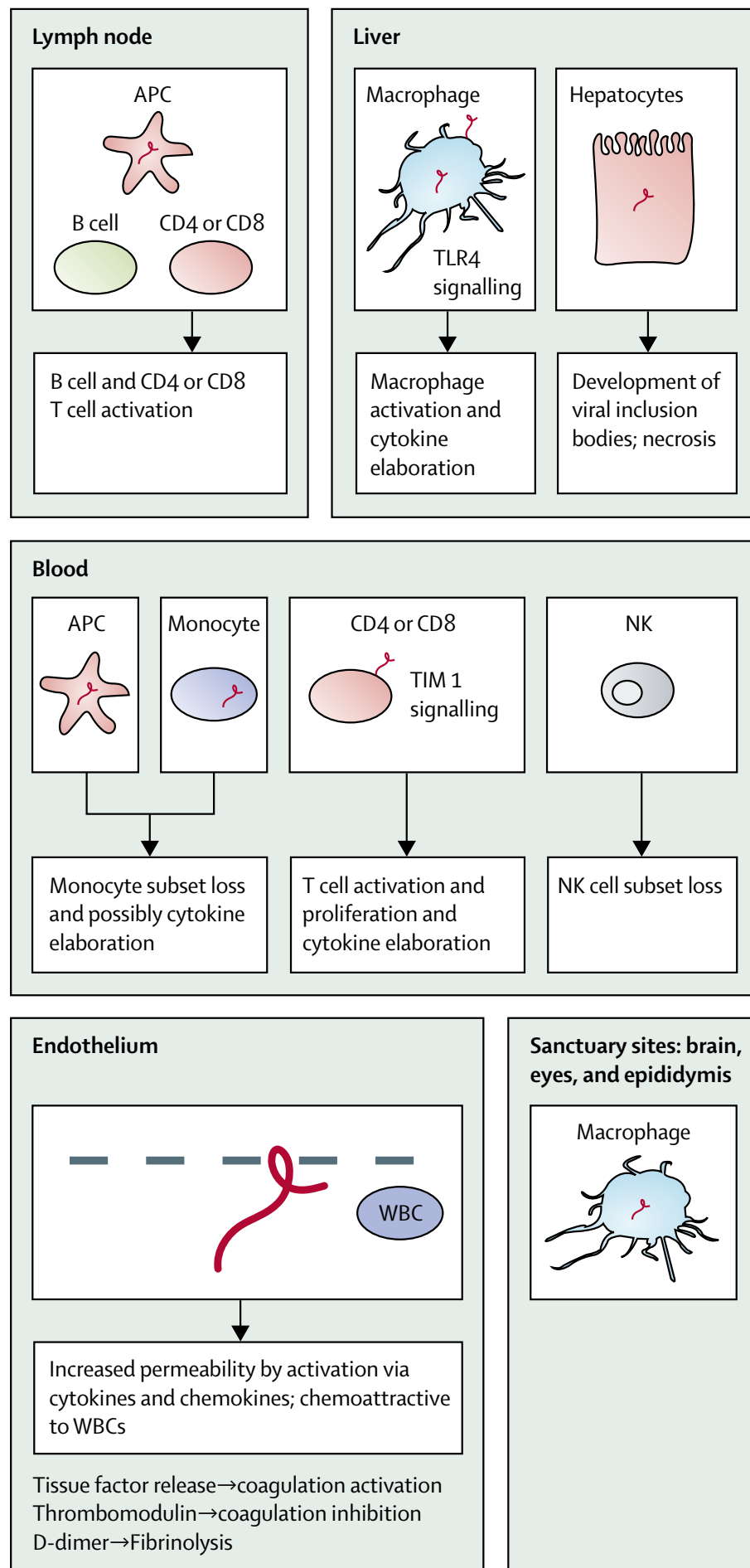
Figure 1. *Ebolavirus*. A) Scanning electron microscopograph of Ebola virus particles (blue) budding from an infected grivet (*Chlorocebus aethiops* Linnaeus, 1758) Vero E6 cell. B) Transmission electron microscopograph of Ebola virus particles (blue) found both as extracellular particles and budding particles from infected Vero E6 cells. Images are colorized for clarity. Courtesy of John G. Bernbaum and Jiro Wada, IRF-Frederick, Fort Detrick, MD, USA.

Cycle de multiplication



Tropisme cellulaire

- Large tropisme cellulaire *in vivo*, y compris cellules immunitaires (CPA)



Transmission

- Réservoir animal = chauves souris (?)
- Transmission primaire à l'homme / contact avec animaux infectés ou morts / avec chauve-souris?
- Transmission interhumaine secondaire / Sang, sécrétions, tous fluides biologiques
 - Risque ++ par contact avec corps des personnes décédées d'Ebola (soins funéraires)
 - Infection nosocomiale
 - Transmission par voie sexuelle/survivants

Infection et symptômes

- Durée d'incubation: 2 à 21 jours, 11.4 jours en moyenne
 - Apparition des signes 15.3($\pm$ 9.1) jours
 - Hospitalisation 5.0 ($\pm$ 4.7)jours (temps de contagiosité)
 - Délais décès 4.2 ($\pm$ 6.4) jours
 - Guérison 11.8 ($\pm$ 6.1) jours *(N Engl Med, oct 16 1481-95)*
- Sources de contamination: sang et fluides biologiques (larmes, salive, lait maternel, sueur, sperme), selles, vomissements
- Niveau de contagiosité:
 - Pas de contamination pendant la période d'incubation
 - La début de la contagiosité est liée à la virémie donc aux premiers symptômes
 - Plus la maladie progresse, plus la charge virale augmente et plus le patient est contagieux
- Diagnostic différentiel: surtout avec les autres FHV et avec le paludisme (attention aux co-infections, fréquentes)

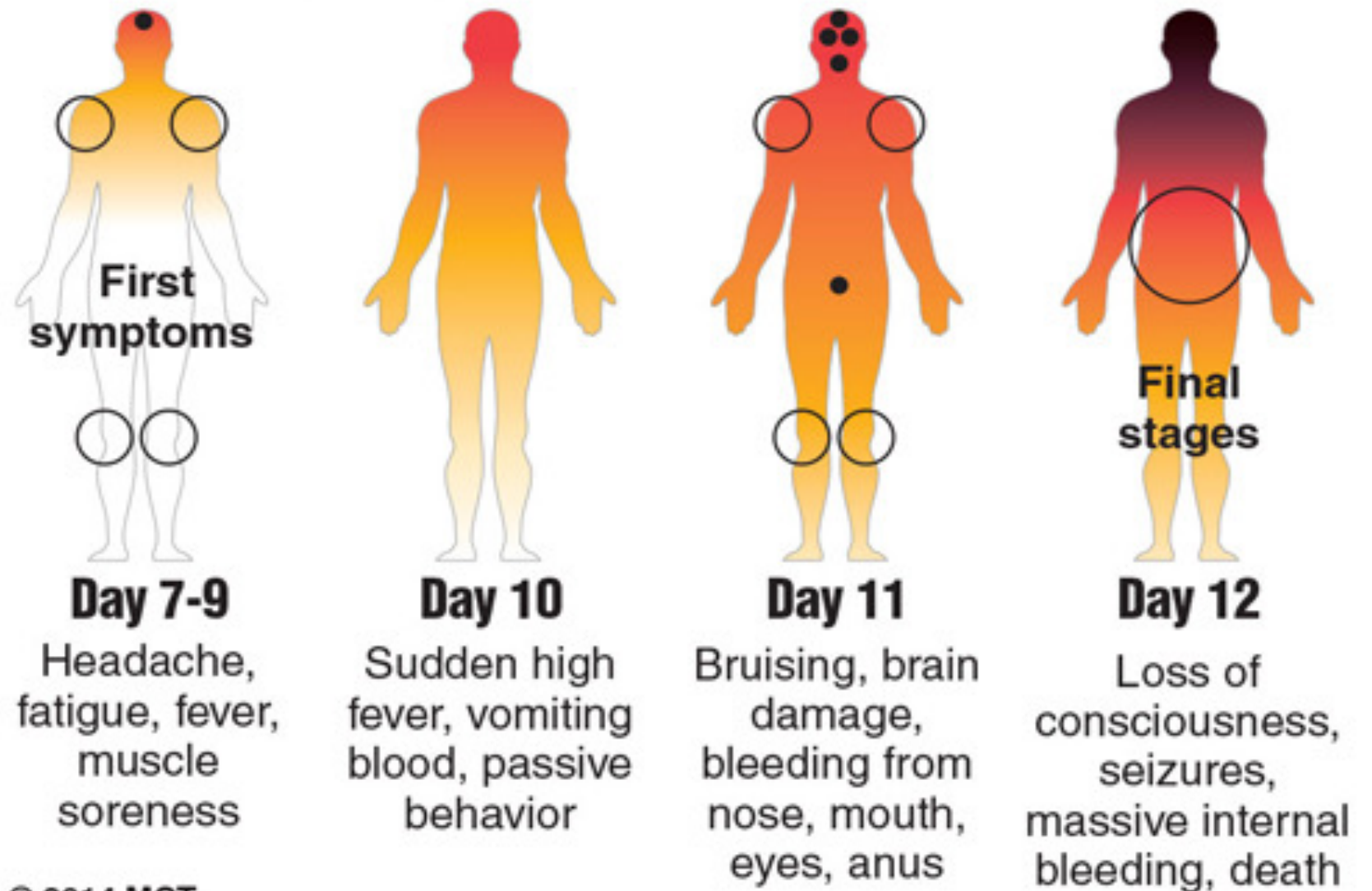
Maladie Ebola

Décès en moyenne
8 jours après le
début de la fièvre

Si survie:

- fièvre pendant environ 1 semaine, possibilité de desquamation
- Convalescence longue (asthénie, arthralgies)
- Séquelles neurologiques possibles

Ebola virus' typical path through a human being



© 2014 MCT

Source: U.S. Centers for Disease and Control, BBC

Graphic: Melina Yingling

Diagnostic

Isolement du virus en culture cellulaire en laboratoire de type P4

Diagnostic moléculaire : RT-PCR

Détection J3 à J7/J16 après le début des symptômes



Members of the European Mobile Laboratory Project use PCR tests in Guéckédou, Guinea.



G Vogel Science 2014;345:1549-1550

Science
AAAS

Published by AAAS

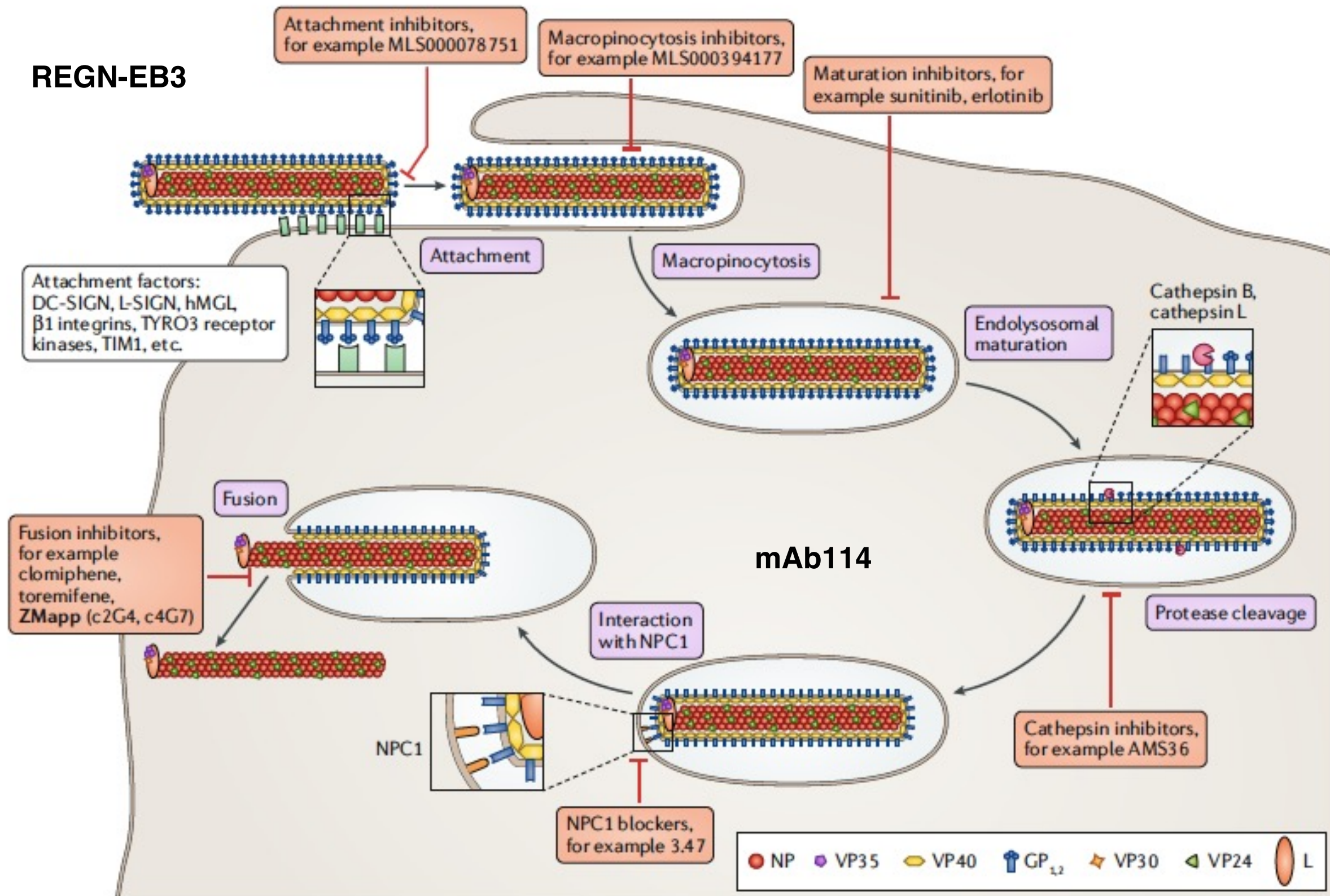
Traitements en évaluation

- Nouveaux analogues nucléosidiques= Remdesevir
- Antiviral large spectre ARN= favipiravir
- TKM-Ebola = combinaison de 3 ARNi ciblant 3 protéines virales
- mAb114= un seul AcM
- Zmapp= 3 AcM humanisés anti-gP
- REGN 3470-3471-3479 = cocktail de 3 Ac

Perspectives thérapeutiques

3 anticorps monoclonaux (Zmapp, mAb114 et REGN-EB3) et 1 inhibiteur ARN polymérase (remdesivir)

REGN-EB3

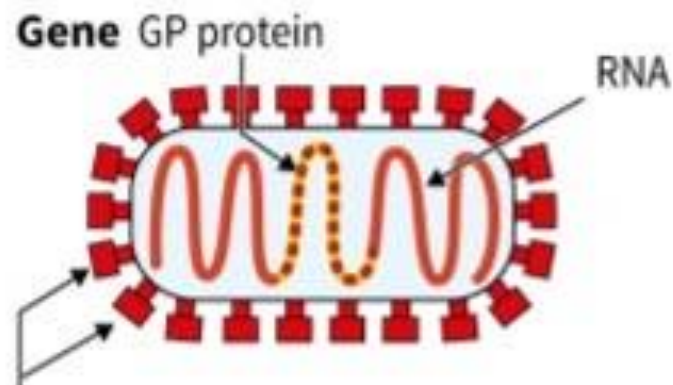


Vaccination

WHO: world “on the verge of an effective Ebola vaccine”

VSV-ZEBOV provides 100-percent protection in a field trial in Guinea

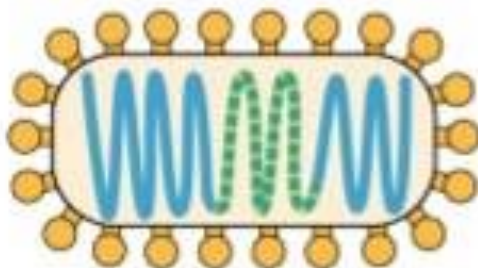
Ebola virus *Zaire type*



GP protein
The virus attacks human cells by locking on to them with the aid of this protein, which covers the virus

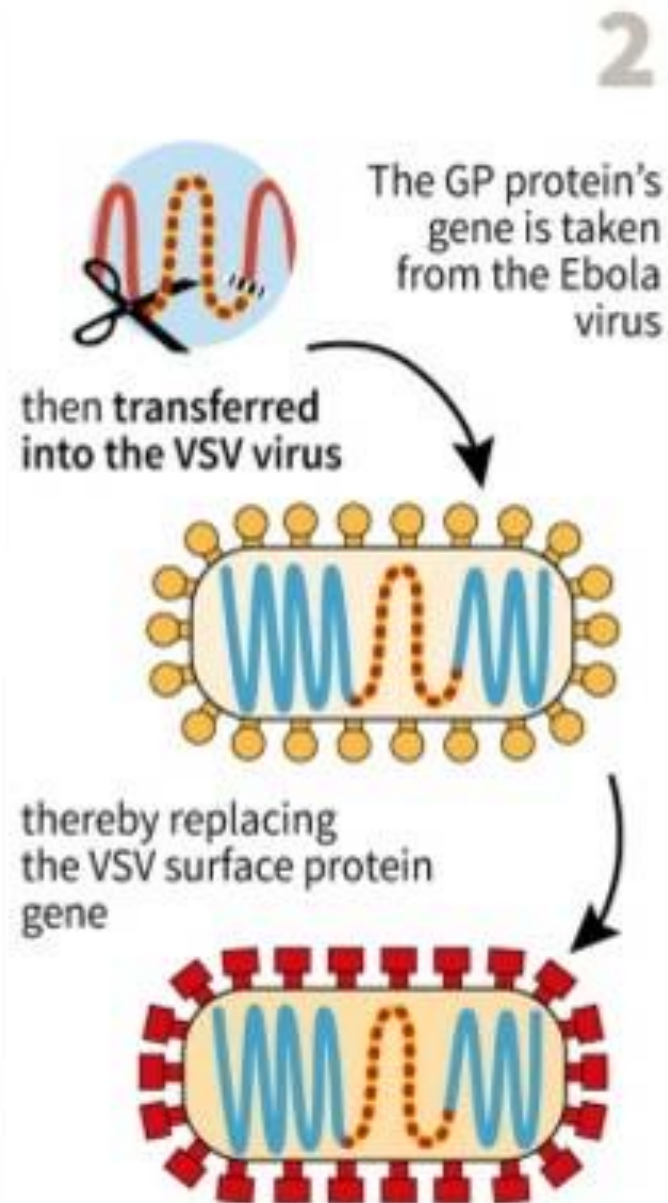
VSV

Vesicular stomatitis virus
(affects cattle)



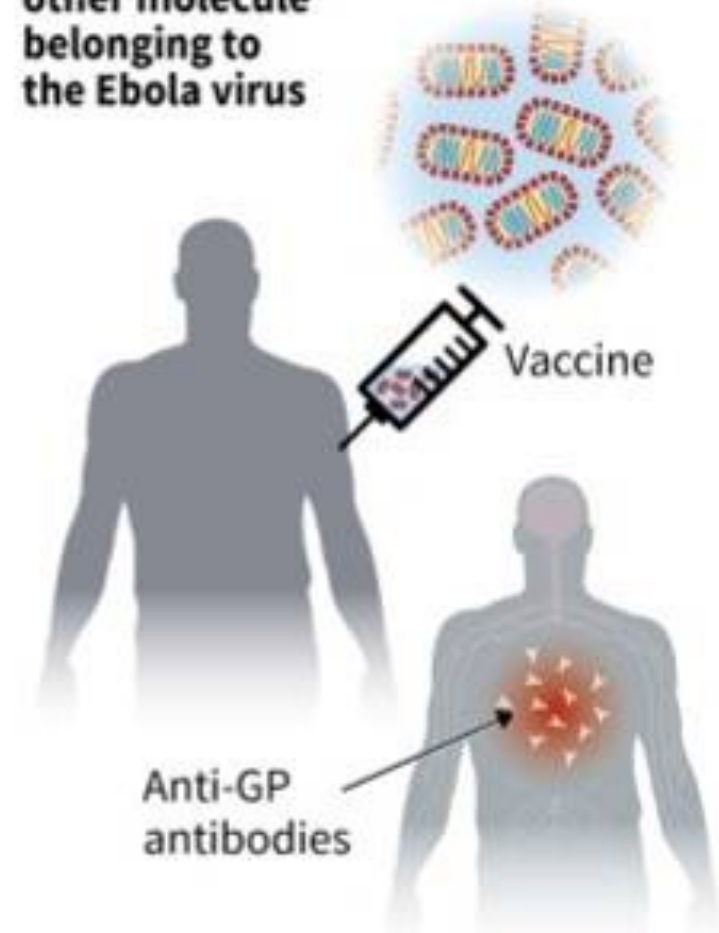
This virus is weakened and will act as a vector for the vaccine

Sources: HUG, Geneva University, WHO



2

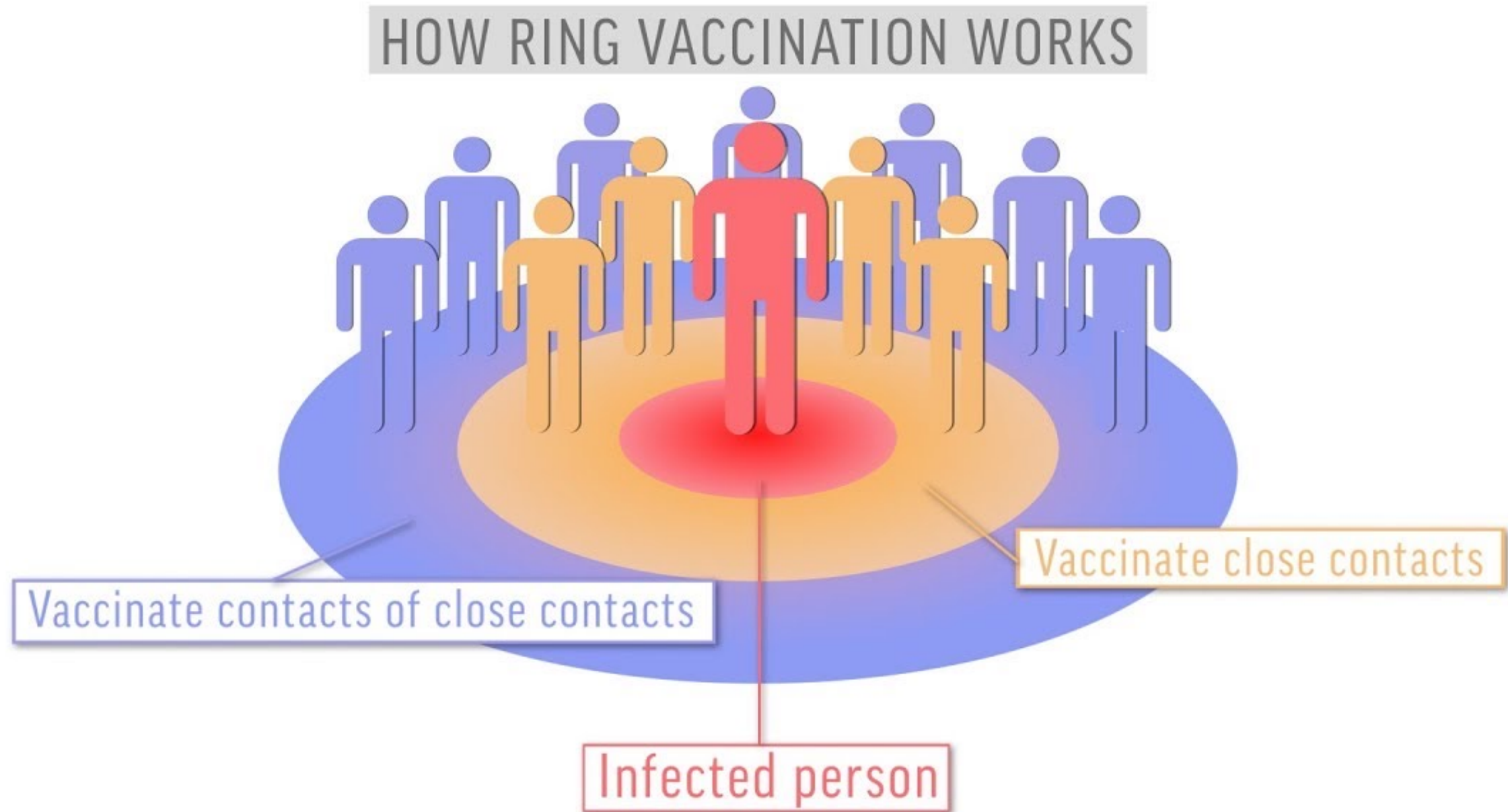
The vaccine therefore contains the modified VSV, but no other molecule belonging to the Ebola virus



The vaccinated individual produces antibodies neutralising GP proteins, thus ensuring protection against Ebola

AFP

Vaccination en anneau : « Ring vaccination »



Perspective

Lessons from the host defences of bats, a unique viral reservoir

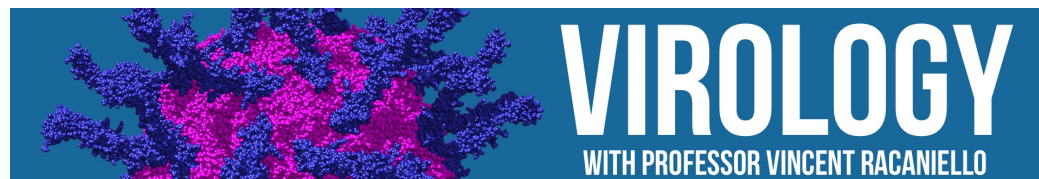
<https://doi.org/10.1038/s41586-020-03128-0>

Received: 26 May 2020

Aaron T. Irving^{1,2,3,5}✉, Matae Ahn^{1,5}, Geraldine Goh^{1,5}, Danielle E. Anderson¹ & Lin-Fa Wang^{1,4}✉

Bat-borne virus diversity, spillover and emergence

Michael Letko^{1,2}✉, Stephanie N. Seifert¹, Kevin J. Olival³✉, Raina K. Plowright⁴✉ and Vincent J. Munster¹✉



Evolution

Lecture 21
Biology 4310
Virology
Spring 2021

*Around here, it takes all the running you can do
just to stay in the same place.*
LEWIS CARROLL
Alice in Wonderland