



Since January 2020 Elsevier has created a COVID-19 resource centre with free information in English and Mandarin on the novel coronavirus COVID-19. The COVID-19 resource centre is hosted on Elsevier Connect, the company's public news and information website.

Elsevier hereby grants permission to make all its COVID-19-related research that is available on the COVID-19 resource centre - including this research content - immediately available in PubMed Central and other publicly funded repositories, such as the WHO COVID database with rights for unrestricted research re-use and analyses in any form or by any means with acknowledgement of the original source. These permissions are granted for free by Elsevier for as long as the COVID-19 resource centre remains active.

Variabilité génétique des virus à ARN

Sylvie van der Werf

Il a été postulé que dans la biosphère primitive, il y a environ 4 milliards d'années, la forme primaire du matériel génétique était constituée par l'ARN [12, 17]. Les propriétés d'autoréplication, d'autoclivage et d'autoligature de l'ARN ont alors permis de générer une immense diversité de combinaisons génétiques, aboutissant finalement à l'acquisition de la capacité de codage de protéines autorisant la formation de ribonucléoprotéines. L'évolution par échange de séquences d'ARN, recombinaison d'ARN et organisation progressive des gènes, a abouti à une augmentation de la complexité génétique des génomes primitifs. Faisant suite à cette évolution primitive, l'ARN a probablement été remplacé par l'ADN chimiquement et génétiquement plus stable, permettant un accroissement de la taille des génomes et des degrés de complexité génétique encore plus élevés. Ainsi, alors que la biosphère actuelle est à base d'ADN, l'organisation en introns et exons des génomes cellulaires pourrait constituer l'empreinte de cette évolution. De même, les rétrotransposons, et les ARN autoréplicatifs ou réplicons tels que les génomes des virus à ARN ou les viroïdes peuvent être considérés comme des réminiscences de formes de vie plus primitives.

La variabilité génétique résulte d'erreurs lors du processus de réplication et d'altérations du matériel génétique. Alors que dans le cas de l'ADN l'existence de mécanismes de relecture et de réparation permet le maintien ou la restauration de l'intégrité du matériel génétique, de tels mécanismes n'existent pas pour l'ARN, ce qui se traduit par l'accumulation de mutations et d'altérations du matériel génétique. Ainsi, l'avantage de l'ARN par rapport à l'ADN comme support de l'information génétique, réside dans son extrême plasticité et son adaptabilité aux variations environnementales. Cela est vrai non seulement pour les ribovirus mais également pour les rétrovirus et les hépadnavirus qui utilisent de façon alternative l'ARN et l'ADN comme support de leur information génétique au cours de la réplication de leur génome. Ces derniers, qui ne seront pas discutés en détail ici, tirent avantage à la fois de la plasticité et de l'adaptabilité du monde à base d'ARN et de l'intégration stable et des capacités de recombinaison et de régulation offerts par le monde à base d'ADN.

D'une manière générale, les virus à ARN se caractérisent par une population virale de grande taille, pouvant atteindre 10^{12} particules virales chez un organisme infecté, un taux de réplication élevé et un temps de génération

court, permettant de produire en moyenne 100 000 copies d'ARN viral par particule infectieuse en 10 heures environ [8]. Ces propriétés, alliées à un taux de mutations et d'altérations du matériel génétique particulièrement élevé sont à la base de l'extrême variabilité génétique des virus à ARN [10].

1. Mécanismes moléculaires de la variabilité génétique des virus à ARN

Les mécanismes moléculaires qui sous-tendent la variabilité des virus à ARN sont les mutations, les recombinaisons homologue et non homologue, et le réassortiment pour les virus à ARN à génome segmenté.

1.1. Variabilité par mutations

Les mutations se produisent pour de multiples raisons à la suite d'une mésincorporation lors du processus de réplication, et se traduiront par des substitutions, des délétions ou des insertions [23]. Ces mésincorporations peuvent résulter de mésappariements aboutissant à des substitutions nucléotidiques, ou résulter d'un dysfonctionnement de l'ARN-polymérase aboutissant alors à des délétions ou des insertions. En l'absence de mécanismes de maintien et/ou de restauration de l'intégrité de l'information génétique portée par l'ARN, la fréquence des mutations des virus à ARN, estimée après un cycle unique de réplication, est de l'ordre de 10^{-3} à 10^{-5} par site nucléotidique, alors que la fréquence des mutations est de mille à un million de fois plus faible pour les génomes ADN. Cependant, en dépit du fait que la synthèse d'ARN est généralement entachée d'erreurs, assurant par là même la grande diversité des virus à ARN, le taux d'erreur peut varier en fonction de différents facteurs. Ainsi, la nature de l'ARN-polymérase elle-même et ses propriétés de fidélité et de processivité déterminent le taux d'erreur au cours du processus de réplication. Différentes approches biochimiques ou génétiques, fondées sur la fréquence d'apparition d'une substitution nucléotidique conférant une résistance ou la réversion d'un caractère phénotypique, ont été employées pour estimer le taux d'erreur de différentes polymérases (*tableau 1*). Toutefois, ces taux d'erreurs constituent des valeurs moyennes susceptibles de varier :

- en fonction des conditions de la synthèse d'ARN (pool nucléotidique, pH, taux d'oxygène, etc.), comme cela a notamment été montré pour la transcriptase inverse du VIH-1 (virus de l'immunodéficience humaine) [30],
- également, en fonction de la nature des substitutions nucléotidiques,
- et de la séquence et/ou la structure de la matrice.

Des génomes hypermutés du fait d'une fréquence élevée d'un type de substitution nucléotidique ont été observés lors d'infections in vivo. Des formes hypermutées du génome de la rougeole ou du virus respiratoire syncytial (RSV), dues à des hypermutations A → G ont ainsi été décrites [4, 35]. En consé-

Tableau 1. Taux de mutations des virus à ARN.

Virus	Génome taille (kb)	Taux de mutation/cycle de réplication ¹ μb^2	μg^3	
			médiane	moyenne
Coliphage QB	4,2	$1,5 \times 10^{-3}$	6,5	6,5
Poliovirus	7,4	$6,3 \times 10^{-4}$	0,84	4,69
VSV	11,2	$3,2 \times 10^{-4}$	3,55	3,55
<i>Influenzavirus A</i>	13,6	$7,3 \times 10^{-5}$	0,99	0,99
Virus lytiques (moyennes)		$6,3 \times 10^{-4}$	2	4
SNV	7,8	$2,1 \times 10^{-5}$	0,16	0,16
MuLV	8,3	$3,5 \times 10^{-6}$	0,03	0,03
RSV	9,3	$4,6 \times 10^{-5}$	0,43	0,43
Rétrovirus (moyennes)		$2,3 \times 10^{-5}$	0,2	0,2

¹ D'après [9]. ² Taux de mutation par site par cycle. ³ Nombre de mutations par génome par cycle.

VSV : virus de la stomatite vésiculeuse ; SNV : *spleen necrosis virus* ; MuLV : *murine leukaemia virus* ; RSV : *Rous sarcoma virus*.

quence, des substitutions nucléotidiques spécifiques peuvent survenir à différentes fréquences, et certains sites ou régions du génome des virus à ARN peuvent correspondre à des points « chauds » de mutations alors que d'autres apparaîtront plus stables.

Compte tenu de la taille relativement réduite du génome des virus à ARN (de l'ordre de 5 à 30 kb), la fréquence d'erreurs naturelles de la polymérase se traduit en moyenne par l'introduction d'au moins une mutation par génome et par cycle de réplication. Une telle fréquence de mutation est proche du seuil d'erreur au-delà duquel un taux d'erreur plus élevé se traduit par une perte irréversible d'information et conduit pour le génome à l'« erreur catastrophique ». En effet, des expériences de mutagenèse chimique de l'ARN viral du virus de la stomatite vésiculeuse (VSV) ou du poliovirus ont montré que le taux de mutation ne peut être que légèrement augmenté, ce qui suggère que le taux d'erreur naturel de la polymérase est proche du maximum tolérable [24]. Par conséquent, la variabilité génétique est limitée par le seuil de variabilité phénotypique qui correspond aux contraintes structurales et fonctionnelles qui s'exercent tant au niveau de l'ARN qu'au niveau protéique. De telles contraintes au niveau de l'ARN sont notamment observées pour certaines régions régulatrices situées dans les régions non codantes des ARN impliquées dans l'initiation de la traduction, comme les séquences de fixation interne des ribosomes (IRES), dans l'initiation de la réplication ou de la transcription, ou dans l'encapsidation. La fonctionnalité de telles séquences qui implique des interactions spécifiques avec des protéines virales et/ou cellulaires, dépend en effet non seulement de la séquence primaire mais également de la structure secondaire, voire de la structure tertiaire de l'ARN. Ainsi,

par exemple, un nombre très limité de substitutions nucléotidiques est observé au niveau des IRES des picornavirus, et celles-ci s'accompagnent généralement de mutations compensatrices qui restaurent la structure fonctionnelle de l'ARN [3]. Au niveau protéique, les contraintes structurales et fonctionnelles se traduisent notamment par des fréquences différentes de mutations synonymes et non synonymes au niveau des phases de lecture ouvertes ainsi que par la conservation de la nature de certains résidus. Les bases moléculaires de ces contraintes sont documentées pour de nombreuses protéines virales à la suite de l'établissement des relations structure–fonction. Ainsi, de nombreuses protéines virales, notamment structurales, peuvent absorber un nombre considérable de mutations, qui en règle générale n'altèrent pas leurs structures secondaire et tertiaire, et sont localisées au niveau de boucles flexibles. Néanmoins, l'importance de la conservation de certains résidus impliqués dans des interactions fonctionnelles est illustrée, par exemple, par la conservation au sein d'une boucle flexible de la protéine de capsid VP1 du virus de la fièvre aphteuse – cible des anticorps neutralisants – du motif Arg-Gly-Asp nécessaire à la fixation de la particule virale à son récepteur, l'intégrine $\alpha v \beta 3$ [44].

Par comparaison de séquences, il a été établi que pour de nombreux virus à ARN plus de la moitié des sites nucléotidiques peuvent être mutés. Cela signifie que le nombre de variants potentiels est astronomique et laisse entrevoir que seule une infime fraction des génomes correspondant à des virus viables a émergé aujourd'hui. La diversité génétique des génomes viraux est encore accrue par les mécanismes de recombinaison génétique et de réassortiment.

1.2. Variabilité génétique par recombinaison ou réassortiment

La recombinaison implique des échanges d'information génétique au sein de segments génomiques, alors que le réassortiment implique l'échange de segments génomiques entiers dans le cas des virus à génome segmenté [50]. Bien que la recombinaison d'ARN ne semble pas ou rarement se produire pour les virus à ARN négatif, dans le cas de virus à ARN positif tels que les picornavirus et les coronavirus, la fréquence des événements de recombinaison est particulièrement élevée et peut être estimée à 1 % pour 1 500 nucléotides [28]. La recombinaison d'ARN se produirait par un mécanisme de choix de copie faisant intervenir un saut de la polymérase d'une matrice à une autre au cours de la réplication de l'ARN viral. Toutefois, l'existence d'un mécanisme de type cassure puis ligature d'ARN – comme cela a été mis en évidence *in vitro* dans le cas du coliphage Q β [5] – ne peut être formellement exclue. Le phénomène de recombinaison a été démontré *in vitro* comme *in vivo* lors d'infections expérimentales ou naturelles. Ainsi, la recombinaison entre les génomes des trois types de poliovirus est observée avec une fréquence élevée lors de la multiplication chez les vaccinés [15, 32]. De même, des variants issus d'événements de recombinaison sont fréquemment isolés dans le cas du coronavirus

de la bronchite infectieuse aviaire [26, 46] et ont été mis en évidence pour des isolats naturels de virus de la dengue [49].

Parallèlement à la recombinaison homologue qui peut se produire à la faveur d'une co-infection du même hôte par différents variants d'un même virus, des événements de recombinaison hétérologue peuvent être observés entre virus à ARN de la même famille virale. Ainsi, le virus de l'encéphalite équine de l'Ouest (WEE) serait le fruit d'une recombinaison entre les génomes du virus de l'encéphalite équine de l'Est (EEE) et d'un virus Sindbis [20], et des recombinants entre poliovirus et d'autres entérovirus ont été mis en évidence [19]. L'existence d'événements de recombinaison entre virus de familles virales distinctes semble également se produire, comme cela est suggéré notamment par la conservation du gène de l'hémagglutinine-estérase retrouvé chez des virus d'au moins trois familles virales distinctes (*Coronaviridae*, *Orthomyxoviridae*, *Toroviridae*) [39]. Enfin, la possibilité de recombinaisons entre ARN viraux et ARN cellulaires a également été documentée comme dans les cas du virus de la diarrhée bovine (BVDV), un pestivirus [31], ou du virus de la grippe A [27]. De façon remarquable, de fortes homologies de séquences sont retrouvées parmi des groupes de virus très éloignés notamment pour des protéines non structurales telles que les ARN-répliquases [1], ce qui traduit la structure modulaire des génomes à ARN, reflet de leurs origines et de la contribution des événements de recombinaison au cours de l'évolution.

Pour les virus à ARN segmenté, à savoir les *Orthomyxoviridae*, *Bunyaviridae*, *Arenaviridae* et *Reoviridae*, dont le génome se présente sous la forme de multiples segments d'ARN, des variations génétiques majeures peuvent se produire par réassortiment. Lors de ce processus, qui survient à la faveur d'une co-infection du même hôte par différents virus, les segments génomiques des virus co-infectants sont redistribués de façon aléatoire au sein des virions produits. Logiquement, ce processus se produirait à l'étape de morphogénèse virale lorsque les différents segments d'ARN génomique sont sélectionnés à partir du pool intracellulaire pour l'empaquetage au sein des particules virales. Ce processus de réassortiment observé aussi bien *in vitro* que *in vivo* lors d'infections expérimentales ou naturelles contribue de façon drastique à la diversité génétique des virus. Il peut se produire entre virus humains et virus d'origine animale comme pour les rotavirus ou les virus grippaux. Pour ces derniers, les événements de réassortiment entre virus d'origine aviaire et humaine sont à l'origine des cassures antigéniques qui ont abouti à l'émergence de virus d'un sous-type nouveau responsables des grandes pandémies de grippe [48]. Toutefois, le processus de réassortiment apparaît restreint aux virus appartenant au même genre comme pour les *Bunyaviridae*, aux virus d'un même type comme pour les virus grippaux, ou aux virus d'un même séro-groupe comme pour les rotavirus. De plus, certaines constellations de segments génomiques ne sont pas ou peu représentées, ce qui traduit vraisemblablement des incompatibilités, reflets de l'existence d'interactions entre certains gènes ou produits de gènes viraux.

Il est à noter que les mécanismes de réassortiment et de recombinaison stricto sensu ne sont pas mutuellement exclusifs. En effet, des événements de recombinaison intragéniques ont été mis en évidence pour différents virus à

ARN segmenté comme les hantavirus [37] ou les rotavirus [42], et, récemment, la possibilité qu'un événement de recombinaison dans le gène de l'hémagglutinine entre un virus porcin et un virus humain puisse être à l'origine du virus responsable de la pandémie de grippe espagnole de 1918 a été évoquée [16].

2. Dynamique de l'évolution des populations virales

2.1. Structure en quasi-espèces

Du fait de la petite taille de leur génome, d'une fréquence de mutation élevée, et d'une tolérance aux modifications génétiques, les virus à ARN même clonés ne forment pas une population homogène de virus dont les génomes ont une séquence identique, mais un ensemble complexe appelé « quasi-espèce » constitué de variants dont les génomes qui dérivent les uns des autres diffèrent par une ou plusieurs mutations. Le concept de quasi-espèce a initialement été introduit par Eigen et al. [11, 12] afin de décrire les bases moléculaires de l'adaptabilité et de l'évolution des réplicons primitifs lors des étapes précoces de la vie sur terre. Ce concept purement théorique s'applique bien pour décrire les variations et la dynamique des populations des virus à ARN d'aujourd'hui. Il implique que l'évolution de la population de variants dépend de la façon dont chaque variant individuel entre en compétition et subit les pressions de sélection naturelle au cours de sa réplication au sein de l'ensemble de la population de quasi-espèces. Une population de quasi-espèces consiste ainsi en un spectre de mutants dominé par une « séquence directrice » correspondant au génome à la vitalité la plus élevée dans un environnement donné. Cette « séquence directrice » coïncide ou non avec la « séquence consensus » définie par le nucléotide le plus fréquemment observé à une position donnée lorsque l'on séquence un ensemble de génomes de la population. Dans un environnement constant, la propagation de l'ensemble de la population de quasi-espèces se traduit par un gain progressif de vitalité de l'ensemble et par une évolution vers un état d'équilibre et une relative stase évolutive. Le gain global de vitalité sera d'autant plus élevé que la vitalité initiale de la population de quasi-espèces est faible. Ce gain de vitalité traduit l'élimination progressive des variants non fonctionnels et la sélection des variants les mieux adaptés à un environnement donné. En revanche, tout changement environnemental se traduira par un déséquilibre et une perte de vitalité initiale de l'ensemble de la population de quasi-espèces qui évoluera ensuite rapidement pour atteindre un nouvel équilibre correspondant à un niveau de vitalité élevé [23]. Ainsi, la relative stase évolutive des virus grippaux de type A circulant chez les oiseaux sauvages traduit l'atteinte d'un état d'équilibre et l'adaptation de longue date de ces virus à leur hôte réservoir naturel, alors qu'une évolution rapide des virus grippaux de type A chez l'homme reflète leur introduction récente dans la population. En revanche, dans le cas de virus tels que les arbo-

virus dont le cycle de multiplication fait nécessairement intervenir l'alternance entre deux hôtes (insecte–vecteur et mammifère), un tel équilibre ne peut être atteint.

2.2. Goulets génétiques

À l'inverse de la propagation de l'ensemble de la population qui permet l'optimisation continue des quasi-espèces, les événements d'échantillonnage constituent des « goulets génétiques » et se traduisent par l'établissement d'une nouvelle distribution de quasi-espèces autour d'une nouvelle séquence directrice. Des événements d'échantillonnage s'observent *in vitro* lors du clonage des virus de même que *in vivo*, lorsqu'au sein d'un organisme de nouveaux organes ou tissus sont envahis par une ou quelques particules virales, ou encore, dans la nature, lorsque la transmission d'un individu à l'autre n'implique qu'une ou quelques particules virales infectieuses, comme c'est vraisemblablement le cas lors de la transmission par voie sexuelle, par voie materno-fœtale ou par aérosol. Les événements de pression de sélection positive peuvent également constituer des goulets génétiques lorsque du fait de modifications de l'environnement, seule une minorité de variants reste capable de se multiplier de façon efficace dans les nouvelles conditions. Les événements d'échantillonnage se traduisent, surtout s'ils sont répétés, par une perte de vitalité du fait d'une sélection stochastique de mutants de vitalité réduite, en accord avec la théorie du « rochet de Muller », traduisant l'irréversibilité d'un engrenage à cliquets. Cet effet est d'autant plus marqué que la vitalité initiale de la population était plus élevée [33]. Dans ce contexte, les événements de recombinaison ou de réassortiment contribuent non seulement à la diversité génétique mais constituent un moyen de contrer les effets délétères de goulets génétiques répétés par l'introduction en bloc d'un ensemble de séquences susceptibles d'accroître la vitalité. Une conséquence potentielle de la sélection qui s'opère à l'occasion d'événements d'échantillonnage est la cosélection fortuite d'une ou plusieurs autres mutations susceptibles de conférer des propriétés nouvelles – telles qu'une virulence accrue – à la population de quasi-espèces qui en dérive. Enfin, l'existence d'une mémoire moléculaire au sein des populations des quasi-espèces a récemment été suggérée [36]. Celle-ci correspond à l'existence, au sein de la population de quasi-espèces, de variants minoritaires porteurs de mutations sélectionnées lors d'un précédent goulet génétique, et qui peuvent rapidement redevenir majoritaires lorsque le même événement d'échantillonnage survient à nouveau. En revanche, ces variants qui constituent la mémoire moléculaire de la population de quasi-espèces sont perdus lors d'événements d'échantillonnage répétés.

2.3. Compétition entre populations virales

Lorsque l'on cherche à comprendre l'évolution des virus à ARN, l'issue de la compétition entre populations virales doit être prise en compte. Dans des expériences de compétition entre clones viraux de vitalité différente, le clone

dont la vitalité est la plus faible est rapidement éliminé. Cependant, même un variant de vitalité élevée peut se trouver éliminé au sein d'une population complexe de quasi-espèces de vitalité relative plus faible, lorsqu'il est présent dans une proportion inférieure à un certain seuil. Dans des expériences de compétition entre clones de vitalité comparable, il a été observé qu'après une période de coexistence l'un des clones peut supplanter l'autre. Toutefois, au cours de la compétition, les perdants comme les gagnants gagnent en vitalité. Ainsi, les populations de virus à ARN apparaissent gouvernées par deux importants principes de génétique des populations : le principe d'« exclusion compétitive » et l'« hypothèse de la reine rouge » édictée par Lewis Carroll dans *Alice au Pays des Merveilles*, selon laquelle « ... il faut courir au maximum de ses capacités pour rester à la même place » (« ... it takes all the running you can do to keep in the same place » [6]).

3. Conséquences biologiques de la variabilité génétique

La variabilité et l'organisation génétique en quasi-espèces des virus à ARN ont des implications importantes en termes de pathogenèse virale et de développement de vaccins et d'agents antiviraux. Au sein d'une population de quasi-espèces, des variants doués de propriétés biologiques particulières peuvent émerger. Ceux-ci peuvent être à l'origine d'échecs des stratégies vaccinales ou de thérapeutique antivirale, et peuvent occasionnellement avoir le potentiel d'induire des pathologies inconnues jusqu'alors ou une expression clinique nouvelle d'une pathologie connue.

3.1. Variation antigénique

Une des expressions les plus évidentes de la variabilité des virus à ARN est leur variation antigénique qui permet au virus d'échapper à la réponse immunitaire de l'hôte. D'importantes variations de séquence des protéines de surface du virus au niveau des sites antigéniques, cibles des anticorps neutralisants, sont observées pour la plupart des virus à ARN, particulièrement pour les virus à ARN enveloppés dont les glycoprotéines de surface sont soumises à de moins fortes contraintes structurales que celles subies par les protéines structurales constituant la capsid des virus non enveloppés. Pour les virus responsables d'infections aiguës, cette variation antigénique serait le résultat d'une immunosélection à l'échelle de la population. Ainsi, par exemple, pour les virus de grippe A humains, l'analyse des séquences de l'hémagglutinine H3 a permis d'estimer que la séquence du polypeptide HA1 de l'hémagglutinine peut varier de ~1 % par an, la plupart des substitutions fixées au cours du temps impliquant des résidus localisés au niveau du domaine distal et exposé de l'hémagglutinine [13, 38]. Des variations de séquence du même ordre ont

été décrites pour le RSV, atteignant 12 % pour l'ectodomaine de la glycoprotéine G des virus du groupe B isolés entre 1977 et 1999 [40, 41]. Ainsi, du fait de leur circulation au sein d'une population humaine partiellement immune, les virus tels que les virus de grippe A humains, seraient des espèces « fugitives » contraintes à une évolution rapide pour pouvoir réinfecter la population humaine en s'affranchissant de l'immunité protectrice de l'hôte. Des variations antigéniques ayant pour conséquence l'échappement à la réponse humorale sont également observées pour des virus responsables d'infections chroniques tels que le virus de l'hépatite C (VHC) [14]. L'émergence séquentielle de variants d'échappement aux anticorps circulants a ainsi été mise en évidence chez des patients atteints d'infection chronique par ce virus. De plus, l'analyse de l'évolution des quasi-espèces pour la région hypervariable 1 de la protéine d'enveloppe E2 du VHC a montré que la diversité des quasi-espèces lors de la phase aiguë de la maladie augmente chez les patients qui développent une hépatite chronique, alors qu'elle diminue chez les sujets capables d'éliminer le virus. L'observation selon laquelle, chez des sujets agammaglobulinémiques chroniquement infectés par le VHC, le taux annuel de mutations est significativement plus faible que chez les sujets immunocompétents renforce également la notion de l'existence d'une pression de sélection liée aux anticorps. De la même façon, la variation génétique au niveau d'épitopes cibles de la réponse lymphocytaire T-cytotoxique a été observée chez l'homme dans le cas des virus grippaux [45] comme dans le cas du VHC [14], et pourrait contribuer à l'échappement du virus à la réponse immunitaire de l'hôte et favoriser l'établissement de la persistance virale.

3.2. Variabilité et vaccination

La variation antigénique consécutive à la pression de sélection exercée par la réponse immunitaire, en particulier humorale, de l'hôte a des implications en matière de stratégie vaccinale. De façon évidente, la dérive antigénique constante, comme dans le cas des virus grippaux, impose la réactualisation annuelle de la composition du vaccin antigrippal. Non seulement la variation antigénique des virus peut être à l'origine des échecs de la vaccination, mais la réponse immunitaire induite par la vaccination peut en elle-même contribuer à la sélection de nouveaux variants antigéniques. Par conséquent, le potentiel de variabilité génétique des virus doit être pris en compte pour le développement et l'évaluation des stratégies vaccinales.

3.3. Variabilité et traitements antiviraux

L'extrême variabilité génétique des virus à ARN a également pour conséquence l'émergence de variants résistants aux traitements antiviraux. Cela est observé non seulement dans le cas d'infections aiguës comme lors du traitement de l'infection grippale par l'amantadine ou la rimantadine, mais surtout dans le cas d'infections chroniques comme pour le traitement de l'infection à VHC par l'interféron. La fréquence d'émergence de variants résistants dépend

de la composition initiale de la population de quasi-espèces mais surtout de l'impact des mutations sur la vitalité du variant résistant et de sa compétitivité vis-à-vis des autres variants composant la population de quasi-espèces. Il est ainsi remarquable que, dans le cas des virus grippaux, des variants résistants à l'amantadine et/ou à la rimantadine qui ciblent la protéine M2, émergent avec une fréquence très élevée aussi bien *in vitro* que *in vivo* (30 % des patients traités [21]), alors que l'émergence de variants résistants aux agents antiviraux tels que le zanamivir ou l'oseltamivir qui ciblent l'activité de la neuraminidase des virus grippaux, s'observe *in vitro* à une fréquence très nettement inférieure. Cette différence peut être corrélée au fait que les variants résistants à l'amantadine ou la rimantadine ne présentent aucun avantage, ni désavantage, sélectif compétitif [2], alors qu'une perte de vitalité par rapport au virus parental est observée pour les variants résistants aux produits anti-neuraminidase [18]. Un moyen de contrer l'émergence de variants résistants liée à la variabilité génétique des virus à ARN consiste donc à appliquer une stratégie de multithérapie ciblant différents gènes viraux dont la mutation simultanée aura pour effet une réduction drastique de la vitalité des variants multirésistants susceptibles d'être sélectionnés. Une autre approche antivirale qui consisterait à augmenter le taux d'erreur de la réplicase virale a également été proposée et analysée dans le cas du VIH [29]. Une telle stratégie qui aurait pour effet de pousser la variabilité génétique au-delà du seuil de l'« erreur catastrophique » avec pour conséquences une perte irréversible d'information et donc du pouvoir infectant viral, reste néanmoins à explorer [7].

3.4. Modifications de la pathogenèse virale

De nombreux exemples illustrent le fait que des variations génétiques parfois minimes peuvent se traduire par des modifications drastiques de la pathogenèse virale. Ainsi, la substitution d'un seul nucléotide dans la région 5' non codante du génome du poliovirus Sabin de type 3, observée lors de la multiplication chez les vaccinés est associée à la réversion du phénotype atténué [32] ; la substitution d'un unique acide aminé de la protéine G du virus rabique est associée à la virulence virale [43] ; et des délétions d'environ 100 nucléotides dans le génome d'un coronavirus entérique non pathogène du chat sont à l'origine des souches pathogènes de virus de la péritonite infectieuse féline (FIPV) [50]. La variation génétique peut également être à l'origine de modifications du tropisme viral. Ainsi, pour les virus grippaux aviaires de sous-type H5 ou H7, l'acquisition par insertions successives dans le gène de l'hémagglutinine, d'un site multibasique rendant le clivage de l'hémagglutinine indépendante des protéases extracellulaires, confère au virus la capacité de se multiplier dans de multiples tissus et une virulence accrue [25]. De façon remarquable, une délétion dans le gène de la glycoprotéine S distingue le virus de la gastroentérite transmissible du porc (TGEV), à tropisme entérique, et le coronavirus respiratoire porcin (PRCV), à tropisme respiratoire [34]. Enfin, comme dans le cas du virus de la rougeole pour lequel des formes hypermutées sont associées à la panencéphalite sclérosante subaiguë – une complication neurologique rare mais fatale qui survient plusieurs années après l'infection rougeoleuse – la variabilité génétique peut être à l'origine de l'établissement d'infections persistantes [4].

3.5. Adaptation à un nouvel hôte

Il est remarquable de constater que la grande majorité des virus dits « émergents » sont précisément les virus qui présentent une variabilité génétique élevée et en particulier les virus à ARN. Alors que l'analyse phylogénétique montre une corrélation étroite entre séquence virale et espèce hôte pour de nombreux virus tels que les virus rabiques, les bunyavirus ou encore les virus grippaux de type A, suggérant l'existence d'une coévolution du virus et de son hôte, la possibilité occasionnelle de franchissement de la barrière d'espèce et d'établissement chez un nouvel hôte est directement attribuable à la structure en quasi-espèces des populations virales et à la variabilité génétique des virus. En effet, en règle générale, l'introduction chez un nouvel hôte fait suite à un accroissement global de la taille de la population virale. Celle-ci peut résulter d'une augmentation de la population de l'hôte naturel qui l'héberge, comme dans le cas de la pullulation des rongeurs à l'origine de l'émergence de certains hantavirus. Elle peut également résulter d'une amplification virale accrue ou d'une augmentation du nombre de cellules cibles chez l'hôte d'origine consécutive à l'acquisition de nouvelles propriétés par le virus. L'accroissement de la taille globale de la population virale permet ainsi une augmentation de la diversité génétique selon les différents mécanismes évoqués plus haut et par conséquent la probabilité d'émergence de variants viraux capables d'infecter un nouvel hôte, puis éventuellement de s'y adapter. Ainsi, dans le cas des virus grippaux, la multiplication concomitante de virus d'origine aviaire et humaine chez le porc a donné lieu à des virus réassortants dont l'amplification et l'adaptation chez cet hôte mammifère est vraisemblablement à l'origine des pandémies de 1957 et de 1968 chez l'homme [47]. En ce qui concerne les virus grippaux aviaires H5N1, à l'origine de plusieurs cas de grippe chez l'homme à Hong-Kong en 1997, il semble que des événements de réassortiment multiples à l'occasion d'une circulation intense de différents virus aviaires, ainsi que le caractère pantrope de ces virus capables de se multiplier dans différents tissus chez les volailles aboutissant ainsi à une forte amplification virale, aient constitué les préludes à l'émergence de variants capables d'infecter l'homme du fait notamment des caractéristiques de leurs gènes internes, même si, dans ce cas, l'adaptation complète à l'homme n'a pas été observée [22].

4. Conclusions

Ainsi, différents mécanismes contribuent à l'extrême diversité génétique des virus à ARN et à leur taux d'évolution rapide par rapport à leurs hôtes dont l'information génétique est à base d'ADN. L'évolution à long terme des virus à ARN résulte de la fréquence des mutations, de la compétition entre génomes variants et d'événements d'échantillonnage aléatoires. Elle est de plus influencée par les pressions de sélection positive, la taille globale de la population

virale produite, la charge virale transmise et la stabilité des particules virales dans l'environnement. Deux tendances opposées opèrent pour l'évolution des virus à ARN : la nécessité de rester constant pour être fonctionnellement compétent, et la nécessité de varier pour pouvoir s'adapter aux modifications de l'environnement. Ainsi, l'évolution virale doit être considérée comme la résultante de déséquilibres composites qu'il faut prendre en compte dans l'élaboration de nouvelles stratégies de lutte antivirale et pour la compréhension des facteurs d'émergence virale.

Références

- [1] Ahlquist P., Strauss E.G. Rice C. M., Strauss J.H., Haseloff J., Zimmermann, D., Sindbis virus proteins nsP1 and nsP2 contain homology to nonstructural proteins from several RNA plant viruses, *J. Virol.* 53 (1985) 536–542.
- [2] Bean W.J., Threlkeld S.C., Webster R.G., Biologic potential of amantadine-resistant influenza A virus in an avian model, *J. Infect. Dis.* 159 (1989) 1050–1056.
- [3] Belsham G. J., Sonenberg N., RNA-protein interactions in regulation of picornavirus RNA translation, *Microbiol. Rev.* 60 (1996) 499–511.
- [4] Cattaneo R., Billeter M. A., Mutations and A/I hypermutations in measles virus persistent infections, *Curr. Topics Microbiol. Immunol.* 176 (1992a) 63–74.
- [5] Chetverin A. B., Chetverina H.V., Demidenko A.A., Ugarov V. I., Non-homologous RNA recombination in a cell-free system: evidence for a trans-esterification mechanism guided by secondary system, *Cell* 88 (1997) 503–513.
- [6] Clarke D. K., Duarte E. A., Elena S. F., Moya A., Domingo E., Holland J., The red queen reigns in the kingdom of RNA viruses, *Proc. Nat. Acad. Sci. USA* 91 (1994) 4821–4824.
- [7] Domingo E., Viruses at the edge of adaptation, *Virology* 270 (2000) 251–253.
- [8] Domingo E., Holland J. J., RNA virus mutations and fitness for survival, *Ann. Rev. Microbiol.* 51 (1997) 151–178.
- [9] Drake J. W., Rates of spontaneous mutation among RNA viruses, *Proc. Nat. Acad. Sci. USA* 90 (1993) 4171–4175.
- [10] Drake J. W., Holland J. J., Mutation rates among RNA viruses, *Proc. Nat. Acad. Sci. USA* 96 (1999) 13910–13913.
- [11] Eigen M., Viral quasispecies, *Sci. Am.* 269 (1993) 42–49.
- [12] Eigen M., Schuster P., *The hypercycle. A principle of natural self-organization*, Springer-Verlag, Berlin (1979).
- [13] Fitch W. M., Bush R. M., Bender C. A., Cox N. J., Long term trends in the evolution of (H3) HA1 human influenza type A, *Proc. Nat. Acad. Sci. USA* 94 (1997) 7712–7718.
- [14] Forns X., Purcell R. H., Bukh J., Quasispecies in viral persistence and pathogenesis of hepatitis C virus, *Trends Microbiol.* 7 (1999) 402–410.
- [15] Georgescu M. M., Delpeyroux F., Tardy-Panit M., Balanant J., Combiescu M., Combiescu, A. A., Guillot S., Crainic R., High diversity of poliovirus strains isolated from the central nervous system from patients with vaccine-associated paralytic poliomyelitis, *J. Virol.* 68 (1994) 8090–8101.
- [16] Gibbs M. J., Armstrong J. S., Gibbs, A. J., Recombination in the hemagglutinin gene of the 1918 «Spanish Flu», *Science* 293 (2001) 1842–1845.
- [17] Gilbert W., The RNA world, *Nature* 319 (1986) 618.
- [18] Gubareva L. V., Matrosovich M. N., Brenner M. K., Bethell R. C., Webster R. G., Evidence for zanamivir resistance in an immunocompromised child infected with influenza B virus, *J. Infect. Dis.* 178 (1998) 1257–1262.
- [19] Guillot S., Caro V., Cuervo N., Korotkova E., Combiescu M., Persu A., Aubert-Combiescu A., Delpeyroux F., Crainic, R., Natural genetic exchanges between vaccine and wild poliovirus strains in humans, *J. Virol.* 74 (2000) 8434–8443.
- [20] Hahn C. S., Lustig S., Strauss E. G., Strauss J. H., Western equine encephalitis virus is a recombinant virus, *Proc. Nat. Acad. Sci. USA* 85 (1988) 5997–6001.

- [21] Hayden F. G., Amantadine and rimantadine-clinical aspects, In: D.G. Richman, Ed, Antiviral drug resistance, pp. 59–77, John Wiley & Sons Ltd (1996).
- [22] Hoffmann E., Stech J., Leneva I., Krauss S., Scholtissek C., Chin P. S., Peiris M., Shortridge K. F., Webster R. G., Characterization of the influenza A virus gene pool in avian species in southern China: Was H6N1 a derivative or a precursor of H5N1 ?, *J. Virol.* 74 (2000) 6309–6315.
- [23] Holland J. J., de la Torre J. C., Steinhauer D. A., RNA virus populations as quasispecies, *Curr Topics Microbiol. Immunol.* 176 (1992) 1–20.
- [24] Holland J. J., Domingo E., de la Torre J. C., Steinhauer D. A., Mutation frequencies at defined single codon sites in vesicular stomatitis virus and poliovirus can be increased only slightly by chemical mutagenesis, *J. Virol.* 64 (1990) 3960–3962.
- [25] Horimoto T., Kawaoka Y. Reverse genetics provides direct evidence for a correlation of hemagglutinin cleavability and virulence of an avian influenza A virus, *J. Virol.* 68 (1994) 3120–3128.
- [26] Jia W., Karaca K., Parrish C. R., Naqi S. A., A novel variant of avian bronchitis virus resulting from recombination among 3 different strains, *Arch. Virol.* 140 (1995) 259–271.
- [27] Katchikian D., Orlich M., Rott R., Increased viral pathogenicity after insertion of a 28S ribosomal-RNA sequence into the hemagglutinin gene of an influenza virus, *Nature* 340 (1989) 156–157.
- [28] Lai M. M., RNA recombination in animal and plant viruses, *Microbiol. Rev.* 56 (1992) 61–79.
- [29] Loeb L. A., Mullins J. I., Lethal mutagenesis of HIV with mutagenic nucleoside analogs, *AIDS Res. Hum. Retroviruses* 13 (2000) 1–3.
- [30] Martinez M. A., Vartanian J.-P., Wain-Hobson S., Hypermutagenesis of RNA using human immunodeficiency virus type 1 reverse transcriptase and biased dNTP concentration, *Proc. Nat. Acad. Sci. USA* 91 (1994) 11787–11791.
- [31] Meyers G., Rumenapf T., Thiel H. J., Ubiquitine in a togavirus, *Nature* 341 (1989) 491.
- [32] Minor P. D., The molecular biology of poliovaccines, *J. Gen. Virol.* 73 (1992) 3065–3077.
- [33] Novella I. S., Elena S. F., Moya A., Domingo E., Holland J. J., Size of genetic bottlenecks leading to virus fitness loss is determined by mean initial population fitness, *J. Virol.* 69 (1995) 2869–2872.
- [34] Rasschaert D., Duarte M., Laude H., Porcine respiratory coronavirus differs from transmissible gastroenteritis virus by a few genomic deletions, *J. Gen. Virol.* 71 (1990) 2599–2607.
- [35] Rueda P., Garcia Barenó B., Membrato J. A., Loss of conserved cysteine residues in the attachment glycoprotein of two human respiratory syncytial virus escape mutants that contain multiple A-G substitutions (hypermutations), *Virology* 198 (1994) 653–662.
- [36] Ruiz-Jarabo C. M., Arias A., Baranowski E., Escarmis C., Domingo E., Memory in viral quasispecies, *J. Virol.* 74 (2000) 3543–3547.
- [37] Sibold C., Meisel H., Kruger D. H., Labuda M., Lysy J., Kosuch O., Pejnoch M., Vaheri A., Plyusnin, A., Recombination on Tula hantavirus evolution: analysis of genetic lineages from Slovakia, *J. Virol.* 73 (1999) 667–675.
- [38] Skehel J. J., Wiley D. C., Receptor binding and membrane fusion in virus entry: The influenza hemagglutinin, *Ann. Rev. Biochem.* 69 (2000) 531–569.
- [39] Snijder E. J., Denboon J. A., Horsinek M. C., Spaan W. J. M., Comparison of the genome organization of toroviruses and coronaviruses: evidence for 2 nonhomologous RNA recombination events during Berne virus evolution, *Virology* 180 (1991) 448–452.
- [40] Sullender W. M., Respiratory syncytial virus genetic and antigenic diversity, *Clin. Microbiol. Rev.* 13 (2000) 1–15.
- [41] Sullender W. M., Anderson L. J., Mufson M. A., Wertz G. W., Genetic diversity of the attachment protein of subgroup B respiratory syncytial viruses, *J. Virol.* 65 (1991) 5425–5434.
- [42] Suzuki Y., Gojohori T., Nakagomi O., Intragenic recombinations in rotaviruses, *FEBS Letters* 427 (1998) 183–187.
- [43] Tuffereau C., Leblois H., Benejean J., Coulon P., Lafay F., Flamand A., Arginine or lysine in position 333 of ERA and CVS glycoprotein is necessary for rabies virulence in adult mice, *Virology* 172 (1989) 206–212.
- [44] Verdaguer N., Mateu M. G., Andreu D., Giralt E., Domingo E., Fita I., Structure of the major antigenic loop of foot-and-mouth disease virus complexed with a neutralizing antibody: direct involvement of the Arg-Gly-Asp motif in the interaction, *EMBO J.* 14 (1995) 1690–1696.
- [45] Voeten J. T., Bestebroer T. M., Nieuwkoop N. J., Fouchier R. A., Osterhaus A. D., Rimmelzwaan G. F., Antigenic drift in the influenza A virus (H3N2) nucleoprotein and escape from recognition by cytotoxic T lymphocytes, *J. Virol.* 74 (2000) 6800–6807.

- [46] Wang L., Junker D., Hock L., Ebiary E., Collisson, E. W. Evolutionary implications of genetic variations in the S1 gene of infectious bronchitis virus, *Virus Res.* 34 (1994) 327–338.
- [47] Webster R. G., Bean W. J., Gorman O. T., Chambers T. M., Kawakoka, Y., Evolution and ecology of influenza A viruses, *Microbiol. Rev.* 56 (1992) 152–179.
- [48] Webster R. G., Wright S. M., Castrucci M. R., Bean W. J., Kawakoka Y., Influenza—a model of an emerging virus disease, *Intervirology* 35 (1993) 16–25.
- [49] Worobey M., Rambaut A., Holmes E.C., Widespread intra-serotype recombination in natural populations of dengue virus, *Proc. Nat. Acad. Sci. USA* 96 (1999) 7352–7357.
- [50] Worobey M., Holmes E. C., Evolutionary aspects of recombination in RNA viruses, *J. Gen. Virol.* 80 (1999) 2535–2543.