

**Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche scientifique**  
**Université de Constantine 3**  
**Faculté de médecine**  
**Département de Médecine**  
**Module de Microbiologie médicale / 2<sup>ème</sup> année chirurgie dentaire 2021-2022**  
**Présenté par Docteur RAMDANI Hakim**  
**MAHU en Microbiologie médicale**

## **LES ADENOVIRUS PAPILLOMAVIRUS PAPOVAVIRUS**

### **LES ADENOVIRUS**

#### **I-Classification :**

La famille des adenoviridae est divisée sur la base d'un antigène spécifique du genre en 2 genres : Aviadenovirus et Mastadenovirus .Ce dernier comprend 9 groupes de virus infectants les mammifères, les 51 sérotypes d'ADV humains, individualisés par seroneutralisation sont classés en 6 sous groupes de A à F

#### **II-Structure :**

Les ADV sont des virus nus de 80-110 nm, à capsid icosaédrique de 252 capsomères : 240 hexons sur les faces et 12 pentons aux sommets.Le génome est un AND bicaténaire, constitué de gènes très conservés comme le gène de l'hexon ou au contraire très variable comme les gènes E, il comporte 8 unités de transcription

#### **III- Multiplication du virus**

##### **1- culture cellulaire :**

Les ADV se répliquent dans le noyau de nombreuses cellules humaines ou animales en donnant un ECP . Les cellules les plus sensibles sont les cellules humaines de primoculture (HEK, amnios,thyroïde) rarement disponibles ,on utilise donc les lignées diploïdes ( MRC-5),des lignées humaines continues ( Hep2,HeLa,KB) . Dans certains types cellulaires, la réplication est abortive et peut sous certaines conditions conduire à la transformation cellulaire

##### **2-Cycle réplcatif :**

Le virus s'adsorbe par son hémagglutinine à des récepteurs membranaires.la plupart des sérotypes partagent un récepteur avec les coxsackievirus,le CAR, membre de la superfamille des Ig, le virus pénètre par endocytose et l'AND viral est injecté dans le noyau, environ 100.000 virus sont produits par cellule vers la 30 heure

#### **IV- Epidémiologie:**

Les ADV sont des virus nus, donc résistants dans le milieu extérieur 50 % des infections sont asymptomatiques.Les ADV les plus rencontrés en pathologie respiratoire sont par ordre de fréquence : les sérotypes 2, 1, 7,3, et 5, et dans les diarrhées les ADV 40 et 41. Les petites épidémies sont favorisées par la vie en communauté. Chez les enfants les infections à ADV constitueraient moins de 5 % des étiologies des infections respiratoires nécessitant l'hospitalisation.Les infections respiratoires se transmettent surtout par contact direct ou indirect (aérosol, mains sales), alors que les souches entériques sont transmises par voie féco-orale, la contamination oculaire se fait par les eaux de piscines ou le matériel d'ophtalmologie

#### **V-Pouvoir pathogène :** \_Les ADV ont une affinité pour de nombreux tissus et organes

**1- atteintes respiratoires :** Il s'agit de rhinopharyngite, d'angines, d'otite, de laryngite et bronchiolite ou de pneumonie. Les pharyngites sont aiguës, congestives, et souvent difficiles à distinguer des atteintes bactériennes, mais leur association à une rhinite et conjonctivite et évocatrice. Les ADV sont responsables de 1-3 % des pneumonies de l'enfant. Dans la forme commune le début est brutal avec rhinite, fièvre élevée, dyspnée, toux rebelles. Les formes graves sont rares et s'observent surtout chez les jeunes enfants avec les sérotypes 7 ,21 et 3, la mortalité peut atteindre 30%

2-atteintes oculaires : Ce sont souvent de banales conjonctivites congestives associées parfois à une atteinte des voies respiratoires supérieures, elles surviennent par petites épidémies souvent d'origine hydrique (conjonctivites des piscines), des atteintes plus sévères de type kerato-conjonctivites épidémiques sont observées avec les ADV 8, 19,37.

3- Atteintes intestinales : Les enfants peuvent excréter de manière asymptomatique les ADV dans leurs selles.

Les infections à ADV constituent 5-15% des étiologies des diarrhées nécessitant l'hospitalisation et dans 2/3 des cas ce sont les ADV 40 et 41. Il est important de distinguer les infections respiratoires à ADV qui s'accompagnent souvent de diarrhées, des infections entériques épidémiques liées à ces ADV non cultivables.

4-autres localisations : ADV 11 et parfois 21 sont responsables de cystite hémorragique chez l'enfant. Des éruptions peuvent s'observer associées ou non aux atteintes respiratoires. Des cas de méningo-encéphalites à ADV ont été décrits. Maladie disséminée avec atteinte multiples des organes chez les immunodéprimés

## **VI-diagnostic au laboratoire :**

1-indications : La recherche des infections à ADV est recommandée dans les atteintes oculaires, chez les patients hospitalisés pour broncho-pneumopathie, chez les sujets immunodéprimés notamment après transplantation médullaire.

2- prélèvements : le choix des prélèvements est orienté par la clinique . Dans les atteintes respiratoires les sécrétions trachéo-bronchiques et nasales sont recommandées, le prélèvement pharyngé est déconseillé du fait de la présence quasi constante d'ADV latents. Le prélèvement conjonctival est indiqué dans les infections oculaires, les selles dans les diarrhées. Les conditions de précocité et de conservation et transport d'échantillons doivent être respectées.

3- détection directe d'antigène ( hexon) Ag de groupe:Il est possible de rechercher l'antigène commun aux ADV grâce à des tests immunologiques : agglutination de particules de latex recouvertes d'anticorps ou le test immunoenzymatique (EIA) pour rechercher les ADV dans les selles, IF dans les sécrétions nasales ou conjonctivales

4- culture cellulaire :La méthode de référence de diagnostic . L'ECP apparaît en 3-21 jours sur lignées continues Hep2 ou Hela, il est fait de cellules arrondies réfringentes avec rétraction en dentelle de la nappe cellulaire.

5- sérologie : En cas d'infection à ADV, l'augmentation des IgG est observée dans 77% des cas, et la présence des IgM dans 48% des cas. l'antigène de groupe est détecté par ELISA ou fixation du complément

6- biologie moléculaire : La PCR peut détecter l'AND directement dans les échantillons (selles, prélèvements respiratoires) avec des amorces appropriés.

## **VII-Traitement:**

L'utilisation d'un traitement anti ADV est tentée dans les formes graves .le Cidofovir est actif sur les ADV et le traitement est curatif, il peut être préventif quand un ADV est mis en évidence lors de la surveillance de certaines personnes à risque (greffées de moelle).

## **VIII- Prévention :**

1- contrôle de l'infection :

Le lavage des mains reste primordial puisque l'ADV est un virus résistant dans le ½ extérieur et que la transmission est essentiellement manuportée.

Le respect des règles d'hygiène par l'utilisation d'eau de javel ou Dakin.

En cas d'infection à ADV, l'isolement est obligatoire dans les services d'immunodéprimés.

2-vaccination :

un vaccin vivant anti adv7 et adv4 a été administré par voie orale, il a été utilisé pour la prévention des épidémies de pneumonies dans les collectivités.

# PAPILLOMAVIRUS PAPOVAVIRUS

## I-Introduction :

*Papillomavirus* et *Polyomavirus* : anciennement deux genres de la famille des **Papovaviridae** (*Papillomavirus* du lapin (pa), *Polyomavirus* de souris (po), et le virus simien (SV40), à l'origine appelé virus vacuolisant

Les papillomavirus sont très répandus dans la nature et infectent une 15aine d'espèces animales et l'Homme, ils sont spécifiques d'espèce et même du tissu.

Appartiennent à la famille des Papillomaviridae comprenant un seul genre, Papillomavirus : papille = pustule, suffixe oma désigne tumeur.

Responsables de tumeurs de la peau et des muqueuses souvent bénignes (verrues, condylomes) mais certains génotypes sont associés à des cancers cutanés ou muqueux (cancer du col de l'utérus 2ème cancer chez la femme)

Les données cliniques, cytologiques et histologiques sont un trépied pour le diagnostic classique ; les techniques de la biologie moléculaire permettent le typage du génome viral et constitue le diagnostic virologique.

## II-Structure de la particule virale :

- Virus nu (non enveloppé), de 45 à 55 nm. - La capside icosaédrique symétrie cubique : 72 capsomères. Le génome : ADN bicaténaire circulaire (8000pb) un seul brin codant. Il comporte 3 régions : Précoce E (early), Tardive L (late). Région de régulation URR (upstream regulatory region) ou LCR (long control region) ou LRR (longue région de régulation) qui est non codante

Le clonage moléculaire a permis des études plus précises :

\*En 1991, le comité de Nomenclature a décidé pour qu'un isolat soit reconnu comme nouveau type il faut que :

- Son génome soit cloné en totalité
- Le classement s'effectue par comparaison de régions génomiques spécifiques (E1, E7 et L1)
- Est considéré comme sous-type ou variant que PVH avec un degré d'homologie de plus de 90%.

\* Une 100aine de génotypes PVH ont été identifiés et classés en fonction de leur homologie de séquence nucléotidique dont une 40aine ayant un tropisme ano-génital.

## III-Pouvoir pathogène :

- Les PVH sont hautement spécifiques d'hôte. Ils présentent un tropisme strict pour les kératinocytes. Ils infectent les épithéliums malpighiens de la peau et des muqueuses génitale, orale, laryngée et des amygdales. Certains PVH sont spécifiques de la peau et d'autres des muqueuses. Des séquences de PVH sont détectées dans une grande proportion (50 à 80%) d'adénocarcinomes du col utérin :
  - ce qui suggère une infection des cellules glandulaires cervicales par les PVH.
  - La phase productive des PVH génitaux s'accompagne d'un effet cytopathique, commun à ces virus, appelé koilocytose (une vacuolisation péri nucléaire, présence de grandes cellules avec un noyau irrégulier hyper chromatique et une bi nucléation fréquente).
- Les PVH infectent les cellules de la couche basale de l'épithélium, à la faveur d'un microtraumatisme. Après une période variable d'incubation, l'infection provoque la formation d'une lésion bénigne. Chaque type de PVH est associé spécifiquement ou préférentiellement à un type de lésion. **Les PVH cutanés** induisent :

- verrues palmo-plantaires profondes (PVH1 et 4)
- verrues vulgaires (PVH2 et 7)
- verrues planes et intermédiaires (PVH3, 10 et 28).
- Les lésions maculeuses caractéristiques Epidermodysplasie

Verruciforme (EV) (PVH5, 8, 9,12, 14, 15, 17, 19-25, 36-38, 49, 50).

Le PVH5 et, à un moindre degré, les PVH8 et 47 sont détectés dans les cancers d'EV, soulignant leur potentiel oncogène plus marqué.

Epithélium	HPV	Lésion	Localisation
<b>Peau</b>			
	-1 -2	Verrues plantaires - myrmécie - verrues en mosaïque	plante des pieds
	2, 4, 29	verrues vulgaires	face dorsale ou palmaire des mains, entre les doigts et orteils, rainure de l'ongle, cuir chevelu, barbe, lèvres, paupières
	3, 10, 28, 49 7	verrues planes verrues des bouchers	mains, avant-bras, visage mains
	- 5, 8, 9, 10, 12, 14, 15, 17, 19 - 5, 8, 14, 17, 20	Epidermodysplasie verruciforme - lésions bénignes : verrues planes, macules brunâtres - lésions malignes : carcinomes in situ et invasif	membres et leurs extrémités, visage, tronc
	16, 34	maladie de Bowen	
<b>Muqueuses génitales</b>			
	6, 11, 42, 40, 43, 44 (bas risque)	condylomes acuminés (en crête de coq), papulaires condylomes géants de Buschke-lowenstein néoplasies intraépithéliales de bas grade (CIN 1)	♀ : grandes et petites lèvres, clitoris, vestibule, vagin, périnée, région périanale ♂ : face interne du prépuce, sillon et frein balano-prépuce, gland, fourreau de la verge, région périanale
	16, 18, 30, 31, 33, 34, 35, 39, 45, 51, 52, 55, 56 (haut-risque)	maladie de Bowen néoplasies intraépithéliales de haut grade (CIN 2-3) et carcinomes in situ	
	16, 18 (haut-risque)	carcinomes invasifs	col de l'utérus, pénis, jonction ano-rectale
<b>Muqueuses digestives et respiratoires</b>			
	6, 11, 13, 32, 57 (bas-risque)	papillomes laryngés, conjonctivaux, buccaux	
	16, 18 (haut-risque)	carcinomes du larynx, leucoplasies orales, carcinomes malpighiens	

- Les PVH muqueux : associés à des lésions anogénitales et des voies respiratoires.
  - Les PVH6 et 11 dans les condylomes acuminés (première MST aux USA)
  - PVH13 et 32 agents des lésions d'hyperplasie épithéliale focale orale.
- Le PVH16 et surtout le PVH33 sont fréquemment détectés dans des cancers des amygdales.
- Les PVH génitaux à haut risque : **16, 18, 31, 33, 35, 39...** associés au développement de cancers anogénitaux.
  - 90% des cancers invasifs du col contiennent des séquences d'ADN de PVH.

#### **IV-Transmission :**

- Les PVH cutanés sont transmis :
  - contact de la peau présentant des lésions (auto ou hétéroinoculation)
  - contact avec des surfaces contaminées avec le virus (vêtement, sol des piscines...).
- Les PVH génitaux sont surtout
  - transmis par voie sexuelle.
- Il est à remarquer que la transmission par contact des PVH génitaux de la mère à l'enfant est souvent observée chez des jeunes enfants présentant :
  - des condylomes acuminés ano-génitaux (contact direct)
  - des papillomes laryngés (contamination au moment de l'accouchement).

#### **V-Épidémiologie :**

- Les PVH jouent un rôle prépondérant dans la carcinogenèse génitale.
- Selon la littérature, 10 à 30 % des femmes présentant une coloscopie normale sont infectées par des PVH, ce qui dénote de l'importance des infections latentes. En revanche, un petit nombre d'entre elles développent un cancer, mettant ainsi l'accent sur le rôle non négligeable de cofacteurs génétiques, immunologiques et de l'environnement.
- Les principaux facteurs identifiés :
  - la précocité des premiers rapports sexuels
  - la multiplicité des partenaires.
- Il faut remarquer que l'absence de séquences d'ADN de PVH dans une proportion significative de cancers génitaux (10% des cancers du col utérin) pourrait indiquer une étiologie différente pour certains d'entre eux.

#### **VI-Mécanismes de la transformation par les PVH : Rôle des gènes viraux**

Expériences de transfection in vitro

- PVH génitaux oncogènes (PVH16, 18, 33) et non les PVH à bas risque (PVH6 et 11), sont capables d'immortaliser des kératinocytes humains. Cette immortalisation nécessite le maintien et l'expression continue des gènes viraux E6 et E7.

- L'intégration des séquences virales au génome cellulaire, insertion de la LRR et les gènes E6 et E7, qui est souvent observée dans les cancers génitaux, pourrait conduire à une hyper expression des oncogènes E6 et E7.

- Il a été montré que :
  - l'oncoprotéine E6 interagissait et dégradait la protéine cellulaire **p53**
  - l'oncoprotéine E7 se liait et bloquait l'action de **pRB105** (retinoblastome).
  - Ces deux protéines cellulaires sont des produits de gènes suppresseurs de tumeurs (anti-oncogènes)
- Dans le cas de la dégénérescence des lésions de l'EV induite par le PVH5 ou 8 :

L'interaction des onco-protéines E6 et E7 avec les protéines anti-oncogènes cellulaires p53 et pRB105 n'a pas été clairement démontrée.

- par contre, la progression tumorale semble être liée à une surexpression de l'oncogène E6.

### **VII-Diagnostic des infections à PVH :**

- La plupart des lésions cutanées dues aux PVH sont facilement reconnues macroscopiquement par les dermatologues.
- Le nombre croissant des IST imputables aux PVH et l'association de certains d'entre eux avec la carcinogenèse génitale, requièrent des méthodes de diagnostic fiables.
  - La cytologie (frottis cervico-vaginaux), la coloscopie et l'histologie permettent respectivement la détection, l'exploration et la confirmation des lésions.
  - L'utilisation des méthodes de biologie moléculaire (hybridation moléculaire) pour l'identification des PVH (absence de support de culture pour l'isolement des PVH) fournissent une aide importante au pathologiste pour porter un diagnostic et permettre une surveillance des patients, lors d'identification d'un type à haut risque

### **VIII-Détection des acides nucléiques de PVH :**

#### **1-Hybridation moléculaire :**

- **Southern blot** : méthode la plus sensible
  - Digestion de l'ADN (lésions génitales) par des endonucléases
  - Générer des fragments, de taille spécifique de chaque type de PVH
  - Transfert des fragments sur membrane en nitrocellulose après électrophorèse
  - L'ADN est dénaturé et hybridé avec une sonde complémentaire marquée (sondes radioactives ou froides).
- **Hybrid capture** : ADN/ARN
- **Hybridation en taches ou dot blot** : moins sensible et moins spécifique.
- **Hybridation in situ**

#### **2-PCR :** amorces consensus ou spécifiques : L1, LCR, E1 etc...

- Très sensible mais source d'erreurs.

### **VIII-Détection sérologique des PVH :**

- Les Ags de structure : (protéines de fusion sont utilisées) : Ag L1 : Ag de groupe très répandu 40-75% ,  
Ag L2 : Ag de type
- Les Ags non structuraux : Acs anti-E7 (+ chez 25% des femmes avec un Kc du col utérin)

- Les techniques utilisées : ELISA et Western blot

En général, les anticorps détectés dans le sérum des malades sont spécifiques de type et sont dirigés contre les antigènes de capside.

### IX-Traitement - Prévention – Vaccination :

- Les verrues cutanées : cryothérapie (azote liquide)
- Les verrues plantaires : laser +++ (+ acide salicylique et glutar aldéhyde).
- Les lésions génitales :
  - cryothérapie + le laser + chirurgie (surtout au niveau des lésions du col utérin)
- Les papillomes laryngés : interféron  $\alpha$  + chirurgie ( utilisation avec succès).
- Application des méthodes de prévention des IST pour éviter les infections à PVH.

La vaccination est rendue difficile : pluralité des PVH, surtout ceux associés au développement des cancers génitaux. Vaccins par génie génétique :

- **Gardasil®** (Sanofi Pasteur Merck Sharp & Dohm) : suspension injectable qui contient des protéines chimères L1 purifiées exprimées au sein de *S. cerevisiae* correspondant à 4 types de papillomavirus humains (types 6, 11, 16 et 18)

\*Ce vaccin quadrivalent pourrait prévenir plus de 90% des verrues génitales et dysplasies cervicales. Les essais cliniques successifs ont révélé une efficacité de 100% contre l'infection persistante aux HPV des types inclus dans le vaccin, chez les femmes non infectées au début de l'étude.

\*Ce vaccin hautement immunogène provoque de plus fortes réponses immunitaires, humorales et cellulaires, que celles induites par les infections naturelles.

\*Gardasil est administré aux sujets âgés de 9 ans et plus, en trois doses : la deuxième dose est administrée 2 mois après la première dose et la troisième dose est administrée 4 mois après la deuxième dose.

- **Cervarix®** (GSK) : correspondant à 2 types de papillomavirus humains (types 16 et 18)

\*Confère une protection totale contre les lésions précancéreuses associées au virus du papillome humain (VPH) des types 16 et 18 sur une période de 4,5 ans, les deux principales souches cancérogènes du VPH. À l'échelle mondiale, plus de 70 % des cas de cancer du col de l'utérus sont attribuables aux VPH 16 et 18

\*L'étude, publiée dans la revue *The Lancet*, montre aussi que des anticorps dirigés contre les VPH 16 et 18 ont été détectés chez plus de 98 % des femmes sur une période allant jusqu'à 4,5 ans

\*une protection croisée contre l'infection par le VPH des types 45 et 31, qui viennent au troisième et au quatrième rang des principales souches cancérogènes de VPH.