

Les virus de l'extrême plus faciles à détecter en laboratoire

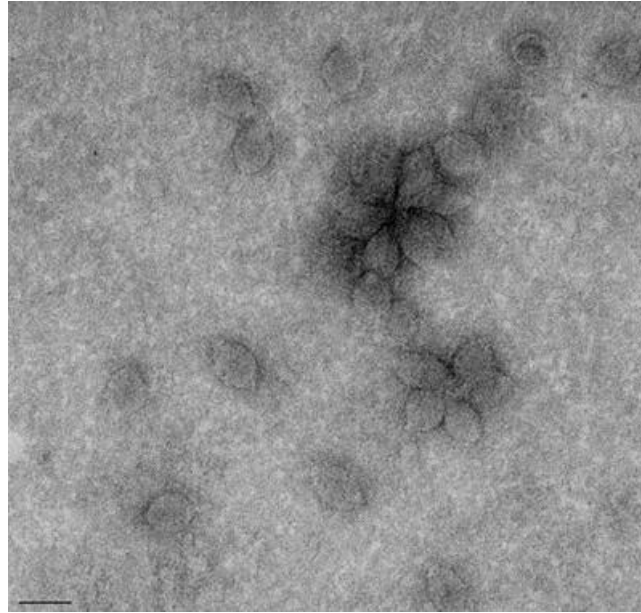
Des techniques de culture permettent de détecter l'infection de micro-organismes par des virus, mais ne s'appliquent pas à certaines espèces vivant dans les sources hydrothermales océaniques : il a donc fallu concevoir une autre technique pour les mettre en évidence.



Tous les êtres vivants sont infectés par des virus plus ou moins spécifiques, y compris les archées (micro-organismes appartenant au troisième domaine du vivant). L'étude des virus infectant ce groupe (ou Archéovirus) est importante car les archées ont la capacité de peupler essentiellement les milieux caractérisés par des conditions de vie extrêmes : température élevée, forte pression, absence d'oxygène, présence de composés toxiques, etc. On trouve de telles conditions au fond des océans, dans les sources hydrothermales situées le long des dorsales océaniques.

Une des méthodes les plus répandues et les plus simples pour la détection et la quantification des virus consiste à ensemencer sur un milieu gélosé une culture de cellules hôtes et à l'inoculer avec une solution virale susceptible de l'infecter. Si les cellules sont sensibles, le virus s'y multiplie et en provoque l'éclatement (lyse) afin de se répandre dans le milieu. La lyse des cellules infectées de proche en proche autour du point d'inoculation du virus se traduit par une zone translucide appelée plaque, dont la présence trahit l'infection virale.

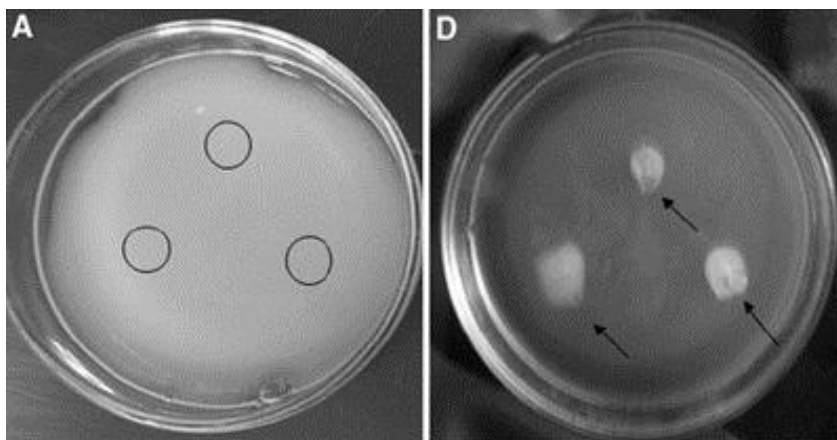
Mais cette technique ne s'applique pas dans tous les cas car si les virus ne peuvent se reproduire qu'au sein d'une cellule-hôte, tous n'en provoquent pas la lyse. En particulier, la plupart des Archéovirus ne sont pas lytiques et ne forment donc pas de plaques observables sur le milieu de culture. C'est le cas de PAV1 et TPV1, les seuls virus identifiés à ce jour comme infectant des archées hyperthermophiles marines (ordre des Thermococcales) ; ces Archées sont un des groupes dominants dans les cheminées hydrothermales océaniques où ils vivent sous très haute pression, entre 85 et 110 °C et dans un milieu dépourvu d'oxygène mais riche en soufre. PAV1 et TPV1 se multiplient dans les cellules-hôtes et sont relâchés sans en causer la lyse : ils échappent donc à la détection. En outre, non seulement les Thermococcales sont très difficiles à cultiver en laboratoire sur un milieu solide, mais en puisant dans le milieu de culture le soufre colloïdal (solution d'un blanc laiteux) dont elles ont besoin, leur métabolisme normal crée autour d'elles un halo clair qui a la même apparence que les plaques trahissant l'infection par des virus lytiques.



Fraction purifiée du virus TPV1 observé au microscope électronique à transmission (trait noir : 150 nanomètres)

L'objectif de cette étude était donc de mettre au point une technique basée sur les mêmes principes mais applicable au cas particulier des Thermococcales et de leurs virus non lytiques. Les souches d'Archées (quinze espèces ont été testées) ont été incorporées à un milieu de culture approprié, qu'on a mélangé à chaud avec un gélifiant pour en obtenir le durcissement rapide dans des boîtes de Pétri. Dans chaque boîte, trois inoculations ont été faites avec des fractions pures de PAV1 et de TPV1. Les boîtes ont été mises en incubation sans oxygène à 85°C ou 90°C selon l'espèce. Après six heures d'incubation, on a fait des observations toutes les deux heures pendant trente heures.

À l'inverse de la méthode traditionnelle, des taches opaques et non translucides sont apparues sur certaines cultures. En l'absence de virus, la croissance des cellules dans le milieu entraîne la dissolution du soufre colloïdal et l'éclaircissement de sa suspension laiteuse ; au contraire, dans les zones où le virus infecte les cellules-hôtes et inhibe leur croissance, le milieu de culture n'est pas modifié et reste trouble, formant un halo opaque autour des points d'inoculation. Si l'interprétation des plaques est identique, ce n'est pas la modification de l'apparence du milieu qui trahit l'infection virale, mais au contraire la persistance de son aspect initial.



Avant l'incubation (à gauche), le milieu est opaque ; les cercles marquent les points d'inoculation du virus. Après seize heures d'incubation (à droite), la persistance de plaques blanches (flèches) dans le milieu devenu translucide par ailleurs témoigne de l'infection virale de l'espèce cultivée.

Certaines espèces de Thermococcales ont été infectées, d'autres non. La présence des virus dans les plaques et leur absence ailleurs ont été confirmées par l'observation d'extraits des cultures au microscope à épifluorescence : dans les zones blanches on voit un grand nombre de virions (forme libre du virus), alors qu'ailleurs ils sont absents. En outre, deux contrôles ont été introduits dans les expériences, pour vérifier que c'est bien le virus qui cause l'inhibition de la croissance cellulaire et donc la persistance des plaques blanches. D'une part le liquide utilisé pour la purification des virus, utilisé seul donc sans virus, ne conduit pas à l'apparition des plaques. D'autre part la simple présence des virus (sans cellule hôte) dans le milieu de culture n'a pas d'action sur l'apparence du soufre colloïdal.

L'observation en épifluorescence confirme que les virus sont très abondants dans les plaques blanches (à droite), absents dans les zones translucides (à gauche)

La méthode ainsi mise au point permet de lever les obstacles spécifiques liés à l'étude des archées du groupe des Thermococcales. Elle a permis d'identifier une gamme d'hôtes, c'est-à-dire quelles espèces peuvent être infectées par les deux virus. Son intérêt est de permettre une détermination rapide et assez peu coûteuse de l'infectivité et de tester plusieurs échantillons viraux sur une seule culture ; mais elle ne permet pas de déterminer le titre viral (quantification). Elle pourra être utile à la découverte de nouveaux virus mais aussi pour évaluer la spécificité de l'effet de différents agents chimiques et biologiques sur les prokaryotes thermophiles mobilisant le soufre.

L'article

Gorlas A. et Geslin C., 2013. A simple procedure to determine the infectivity and host range of viruses infecting anaerobic and hyperthermophilic microorganisms. *Extremophiles* 17:349–355.

Les auteurs

Les deux auteures de cet article travaillent au sein du [Laboratoire de microbiologie des environnements extrêmes](#) (LMEE) de l'IUEM.

La revue

Extremophiles est une revue scientifique récente (créée en 1997) publiée par l'éditeur international Springer. Elle s'intéresse à la biologie, la structure, la fonction et les applications de la vie microbienne aux conditions limites de la survie : température (élevée ou basse), pression, acidité, alcalinité, salinité, teneur en oxygène, présence de solvants organiques, de métaux lourds, de substances normalement toxiques, de radiations ou de mécanismes de défense.

Contacts

Auteurs : consulter [l'annuaire de l'IUEM](#)

Service Communication et médiation scientifique : communication.iuem@univ-brest.fr