



DIPLÔME NATIONAL DE DOCTORAT

(Arrêté du 25 mai 2016)

Date de la soutenance : **25 janvier 2018**

Nom de famille et prénom de l'auteur : **ZAZA Amélie**

Titre de la thèse : « Développement de nouvelles approches thérapeutiques dans la lutte contre les infections à Arénavirus : vaccination et immunothérapie passive »



Résumé

La famille des *Arenaviridae* comporte sept virus responsables de fièvres hémorragiques humaines. Ces virus représentent un risque naturel pour les populations vivant dans les zones endémiques, ou y séjournant comme les militaires français déployés. Ce risque peut également toucher des populations vivant en dehors des zones endémiques en raison du risque d'importation d'un patient infecté ou consécutivement à l'utilisation intentionnelle et malveillante de tels virus dans le cadre d'une attaque bioterroriste. Les fièvres hémorragiques humaines causées par les arénavirus sont relativement rares et les premiers symptômes, non spécifiques, sont souvent confondus avec ceux de maladies plus fréquentes dans ces régions, comme le paludisme ou les arboviroses. Par conséquent, le diagnostic clinique est souvent retardé, ce qui réduit l'efficacité du seul traitement étiologique actuellement préconisé, la ribavirine. Dans ce contexte, le développement de solutions prophylactiques similaires au vaccin Candid #1, protégeant contre l'arénavirus Junín, constituent une alternative intéressante.

Dans le cadre du développement de candidats vaccins, la première stratégie utilisée dans ce travail a consisté à atténuer le virus d'intérêt en ciblant une étape clé de la réplication des arénavirus. Nous avons choisi l'étape du bourgeonnement viral, dont l'acteur principal est la protéine Z. Une preuve de concept a été réalisée avec le virus de la chorioméningite lymphocytaire (LCMV). Pour cela, nous avons conçu un système de génétique inverse qui exprime un segment L viral où le gène de la protéine Z est remplacé par un gène d'intérêt. De manière surprenante, ce virus recombinant était capable de produire en culture cellulaire une progénie à un titre très faible sans l'apport *en trans* de la protéine Z. Nous avons identifié des domaines tardifs dans la séquence peptidique de la nucléoprotéine, motifs peptidiques permettant le détournement de la machinerie cellulaire impliquée dans la production d'exosomes et présents dans les protéines de matrices virales, comme la protéine Z des arénavirus. Nous avons observé que ces domaines pourraient partiellement compenser l'absence de la protéine Z. Des résultats similaires ont été obtenus avec deux autres arénavirus ayant une importance majeure en santé publique, les virus Lassa et Machupo, tous deux responsables de fièvres hémorragiques humaines. Cette suppression pourrait constituer une stratégie d'atténuation et semblerait prometteuse en vue du développement de candidats vaccins répliatifs atténués. En effet, elle pourrait être utilisée sur plusieurs arénavirus responsables de pathologies humaines.

Une approche complémentaire à cette stratégie vaccinale a été envisagée. Dans le but de développer un traitement d'urgence, utilisant des immunoglobulines équine hautement purifiées, les F(ab')₂, selon la méthodologie de la société Fab'entech, deux études préliminaires ont été réalisées. La première a permis de vérifier la capacité des virus à se répliquer dans les cellules immunitaires circulantes de cheval. La seconde a permis l'évaluation du cahier des

charges qualité de particules virales en vue de leur utilisation comme source d'antigène afin de produire les F(ab')₂.

Une seconde stratégie vaccinale a été envisagée, basée sur une modification du nombre de segments génomiques viraux. Des travaux précédents ont montré qu'un arénavirus à 3 segments, au lieu de 2, était viable et atténué, tout en pouvant exprimer 2 gènes d'intérêt supplémentaires. Cette stratégie a été utilisée sur le virus Machupo, responsable de fièvres hémorragiques en Bolivie. Ce virus recombinant devrait exprimer les glycoprotéiques tronquées des virus Chapare et Guanarito. Ce candidat vaccin a été caractérisé en culture cellulaire, et a induit une protection de 50% des animaux lors d'une administration en post-exposition.

L'ensemble de ces travaux ont conduit au développement de deux plateformes vaccinales et à l'identification d'une source d'antigènes afin de produire les immunoglobulines polyclonales, en vue de la mise au point d'un traitement d'urgence par immunothérapie passive.

.