



L'essentiel de l'information
scientifique et médicale

www.jle.com

Le sommaire de ce numéro

http://www.john-libbey-eurotext.fr/fr/revues/bio_rech/vir/sommaire.md?type=text.html



Montrouge, le 27/11/2008

F. Komurian-Pradel

Vous trouverez ci-après le tiré à part de votre article en format électronique (pdf) :

Les orthoréovirus : virus orphelins ou pathogènes chez l'homme ?

paru dans

Virologie, 2008, Volume 12, Numéro 4

John Libbey Eurotext

Ce tiré à part numérique vous est délivré pour votre propre usage et ne peut être transmis à des tiers qu'à des fins de recherches personnelles ou scientifiques. En aucun cas, il ne doit faire l'objet d'une distribution ou d'une utilisation promotionnelle, commerciale ou publicitaire.

Tous droits de reproduction, d'adaptation, de traduction et de diffusion réservés pour tous pays.

© John Libbey Eurotext, 2008

Les orthoréovirus : virus orphelins ou pathogènes chez l'homme ?

L. Ouattara
G. Paranhos-Baccalà
F. Komurian-Pradel

Laboratoire des pathogènes émergents,
Fondation Mérieux, Tour Cervi,
IFR128 BioSciences Lyon-Gerland,
21, avenue Tony-Garnier,
69365 Lyon Cedex 07
<florence.pradel@lpe.fondation-
merieux.org>

Résumé. Les orthoréovirus, virus à ARN double brin segmenté en dix fragments, représentent les virus les plus répandus dans la nature. Trois principaux sérotypes sont connus, nommés 1, 2 et 3. La dénomination « reovirus » est l'acronyme de « respiratory enteric orphan virus », expression soulignant leur origine respiratoire et intestinale et le fait qu'ils n'ont pu être reliés de façon certaine à aucune maladie clinique bien définie. Néanmoins, des souches d'orthoréovirus ont été isolées de divers cas de maladies symptomatiques chez l'homme, à savoir des maladies du système nerveux central telles que les encéphalites et méningites entraînant parfois la mort du patient. Ces différents cas indiquent que les orthoréovirus pourraient être des agents pathogènes à l'origine de maladies graves. L'infection par les orthoréovirus chez les animaux provoque également diverses pathologies. En effet, en fonction de la voie d'inoculation et du sérotype de la souche inoculée, des encéphalites ou des hépatites peuvent être observées. Les segments d'ARN M2 et S1 semblent être impliqués dans le phénomène de neurovirulence et sont à la base de mécanismes cellulaires tels que l'entrée du virus, la réplication virale et l'apoptose. Toutefois, les mécanismes de virulence restent complexes.

Mots clés : orthoréovirus, encéphalites, pathogénicité, virulence

Abstract. The orthoreoviruses are segmented double strand RNA viruses and are the most abundant viruses in nature. Three main serotypes are known, named 1, 2 and 3. The designation "reovirus" is the acronym for "respiratory enteric orphan virus", expression underlining their respiratory and enteric origin and the fact that they are not associated with well defined clinical disease. Nevertheless, strains of orthoreoviruses have been isolated from several cases of symptomatic diseases in human, namely diseases of the central nervous system such as encephalitis and meningitis sometimes leading to patient death. These different cases show that orthoreoviruses could be pathogenic, causing fatal diseases. Orthoreoviruses infection in animals induces also several diseases. Indeed, according to the inoculation route and the serotype of inoculated strain, encephalitis or hepatitis can be observed. The RNA segments M2 and S1 seem to be involved in this neurovirulence property and are on the basis of cellular mechanisms, such as virus entry, virus replication and apoptosis. However, the mechanisms of virulence remain complex.

Key words: orthoreovirus, encephalitis, pathogenic, virulence

Caractères généraux

La famille *Reoviridae* constitue la famille de virus la plus large et la plus diverse en termes d'espèces d'hôtes. En effet, les virus de cette famille peuvent infecter les plantes,

les insectes, les mammifères, les poissons, les oiseaux, les bactéries, les arthropodes. Elle comprend douze genres [1] dont les genres *Orthoreovirus*, *Rotavirus*, *Seadornavirus* et *Coltivirus* qui peuvent être pathogènes pour l'homme (tableau 1).

Tableau 1. Membres de la famille *Reoviridae*.

Genre	segments d'ARN	Espèce type	Hôtes
<i>Orthoreovirus</i>	10	Mammalian orthoreovirus	Mammifères et oiseaux. Infection humaine possible.
<i>Orbivirus</i>	10	Bluetongue virus 1	Mammifères et insectes vecteurs (arboviroses). Infection humaine possible (virus Orungo et kemberovo).
<i>Rotavirus</i>	11	Simian rotavirus SA11	Mammifères et oiseaux. Pathogène pour l'homme.
<i>Coltivirus</i>	12	Colorado tick fever virus	Homme et insectes vecteurs (arboviroses)
<i>Aquareovirus</i>	11	Aquareovirus A	Poissons
<i>Cypovirus</i>	10	Bombyx mori cypovirus 1	Insectes
<i>Fijivirus</i>	10	Fiji disease virus	Insectes et plantes
<i>Phytoreovirus</i>	12	Rice dwarf virus	Insectes et plantes
<i>Oryzavirus</i>	10	Rice ragged stunt virus	Insectes et plantes
<i>Mycoreovirus</i>	11	Mycoréovirus 1/Cp 9B21	Champignons
<i>Idnoreovirus</i>	11	Idnoréovirus-1	Insectes
<i>Seadornavirus</i>	12	Banna virus	Moustiques <i>anopheles</i> et <i>culex</i> . Infection humaine.

Les caractères structuraux communs aux *Reoviridae* sont : l'absence d'enveloppe, la présence d'une capsid icosaédrique constituée d'une, deux ou trois couches protéiques dont le diamètre est compris entre 60 et 80 nanomètres (nm). Le génome est composé de 10 à 12 segments d'ARN double brin selon le genre et peut avoir une taille allant de 18 000 à 30 000 paires de bases (bp). Chaque segment code pour au moins une protéine [2]. L'ARN génomique porte une coiffe en l'extrémité 5' sur le brin positif, mais ne possède pas de site de polyadénylation en l'extrémité 3'. Une caractéristique fondamentale de ces virus, due à la nature segmentée de leur génome, est la possibilité pour deux virus distincts, infectant la même cellule, d'échanger des segments d'ARN porteurs de gènes homologues. Cette recombinaison génère ainsi des virus réassortants [2].

L'acronyme de reovirus (*respiratory enteric orphan virus*) a été proposé en 1959 par Sabin [3] pour désigner des virus isolés des voies respiratoires et digestives de personnes présentant des symptômes respiratoires ou entériques sans

gravité. Cet acronyme peut être utilisé pour désigner les virus à ARN double brin de la famille *Reoviridae*. Ainsi tous les membres de cette famille peuvent être appelés réovirus. Le préfixe ortho a été rajouté au nom des virus appartenant au genre *Orthoreovirus* pour les différencier des autres membres de la famille. Les orthoréovirus de mammifères non fusogéniques, membres du genre *Orthoreovirus* feront l'objet de cette revue (tableau 2). En particulier, les mécanismes de virulence étudiés dans le modèle murin et les cas d'infections chez l'homme ayant conduit à des pathologies graves seront abordés et permettront de mieux comprendre la pathogénicité de ces virus chez l'homme.

Le genre *Orthoreovirus*

Le genre *Orthoreovirus* est subdivisé en cinq groupes : le groupe I comprenant les orthoréovirus de mammifère

Tableau 2. Membres du genre *Orthoreovirus*.

<i>Orthoreovirus</i>				
Virus fusogéniques			Virus non fusogéniques	
Groupe V	Groupe II	Groupe III	Groupe IV	Groupe I
Orthoréovirus de reptile (2 isolats)	Orthoréovirus aviaires (ARV): 5 sérotypes	Nelson Bay Virus (NBV) Pulau Virus (PuV) Melaka virus (MeV)	Orthoréovirus de babouins	Orthoréovirus de mammifères (MRV)
Reptilien	Aviaire		Mammifères	

(MRV) dont quatre sérotypes ont été décrits à ce jour, le groupe II comprenant les orthoréovirus aviaires (ARV), le groupe III incluant le Nelson Bay Virus (NBV), le Melaka virus (MelV) et le Pulau virus (PulV), le groupe IV pour l'orthoréovirus de babouin (BRV) et le groupe V comprenant les orthoréovirus de reptiles (*tableau 2*) [4-6]. Ces différents groupes de virus sont également classés en deux catégories : virus fusogéniques ou non fusogéniques, en fonction de l'hôte qu'ils infectent et de leur capacité à induire ou non des syncytia (fusions cellules-cellules), caractéristique propre aux virus fusogéniques [4].

Les orthoréovirus de mammifères (MRV) non fusogéniques sont des virus ubiquitaires qui infectent une grande variété de mammifères. Trois souches prototypes d'orthoréovirus de mammifères non fusogéniques sont prédominantes : la souche Lang pour le sérotype 1, la souche Jones pour le sérotype 2 et la souche Dearing pour le sérotype 3 [3]. Elles se différencient par la capacité des anticorps anti-orthoréovirus à neutraliser l'infection virale et à inhiber l'hémagglutination [3, 7]. Pour le sérotype 4, seul le virus Ndelle a été séquencé partiellement [8]. Des études épidémiologiques ont montré que 70 % de la population adulte possèdent des anticorps anti-orthoréovirus dirigés contre les 3 sérotypes, à la suite d'une infection pendant l'enfance [9]. Ceci prouve que l'infection par les orthoréovirus est courante et le plus souvent asymptomatique. La détection de ces virus dans les eaux souillées (vidanges, égouts) est très fréquente et laisse à penser que la principale source de contamination est d'origine fécale [10].

Les MRV non fusogéniques comprennent 10 segments d'ARN double brin (*figure 1*), classés en fonction de leur taille [2, 11] et codant chacun pour une protéine excepté le segment S1 qui code pour deux protéines (*tableau 3*). On distingue trois segments L pour « Large » désignés L1, L2 et L3, mesurant entre 3 854 paires de base (pb) et 3 916 pb et codant respectivement pour les protéines λ_3 , λ_2 et λ_1 . Puis trois segments M pour « Medium » nommés M1, M2 et M3, de taille comprise entre 2203 pb et 2241 pb et codant respectivement pour les protéines μ_2 , μ_1 et μ_{NS} . Enfin, quatre segments S pour « Small » repartis en S2 (1 331 pb), S3 (1 198 pb), S4 (1 196 pb) et S1 codant respectivement pour σ_2 , σ_{NS} , σ_3 , σ_1 et σ_{1s} . La taille du segment S1 varie énormément entre les sérotypes et au sein même d'un sérotype. Elle est comprise entre 1 368 et 1 463 pb [12-21]. Les onze protéines virales codées par les 10 segments sont organisées en cinq protéines de la capsid interne, trois protéines de la capsid externe et trois protéines non structurales (*tableau 3*).

Les huit protéines virales présentes dans les virions d'orthoréovirus matures (protéines structurales) sont nécessaires pour l'initiation de l'infection et la synthèse de l'ARNm viral coiffé [11] (*tableau 3*). Elles pourraient également jouer des rôles régulateurs dans les cellules infectées. Il

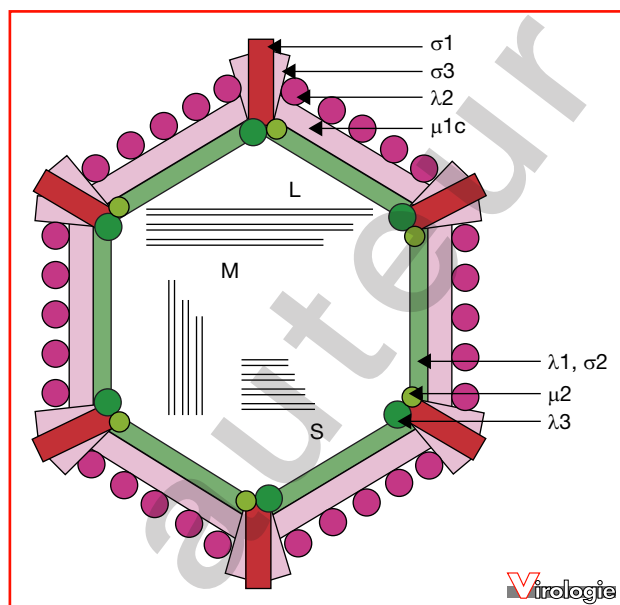


Figure 1. Structure des orthoréovirus de mammifère. Adapté du site <http://www.microbiologybytes.com/virology/Reoviruses.html>.

s'agit des cinq protéines présentes dans la capsid interne (λ_1 , λ_2 , λ_3 , μ_2 et σ_2) et des trois protéines constituant la capsid externe du virion (μ_1 , σ_1 et σ_3) (*figure 1*). La protéine λ_2 forme des tourelles pentamériques qui entourent les quintuples axes de la capsid interne [11]. De ce fait, elle interagit avec les autres protéines internes et externes. L'analyse des protéines dans les cellules infectées par les orthoréovirus, a révélé la présence de deux autres protéines virales qui ne sont pas présentes dans les virions matures. Ces protéines non structurales sont appelées μ_{NS} et σ_{NS} [11]. Une autre protéine non structurale σ_{1s} codée par le second cadre de lecture dans le génome du segment S1 a été également identifiée [11].

Cycle de réplication des orthoréovirus

L'infection virale est initiée par l'attachement de l'orthoréovirus à ses récepteurs cellulaires. Le virion ou la particule infectieuse sous-virion (ISVP) se lie aux récepteurs présents à la surface cellulaire [11] (*figure 2*). Les ISVPs sont pour la plupart, générées par protéolyse extracellulaire. Des protéases de l'hôte dégradent la protéine de capsid externe σ_3 du virion codée par le segment S4 et clivent la protéine externe μ_{1C} dérivée de la protéine μ_1 , générant ainsi une particule nommée particule infectieuse sous-virion (ISVP) [22, 23]. La protéine μ_1 codée par le segment M2 est une protéine autolytique qui se clive elle-même en un fragment N-terminal μ_{1N} (4 kDa) et un fragment C-terminal μ_{1C} (72 kDa) [24]. La protéine μ_{1C} est

Tableau 3. Principales fonctions des protéines codées par les segments d'ARN des othoréovirus de mammifère non fusogéniques.

Segments d'ARN	Protéines codées	Taille (kDa)	Nombre de copies par virion	Localisation dans le virion	Principales fonctions
L1	$\lambda 3$	142	12	Capside interne	ARN polymérase ARN dépendante
L2	$\lambda 2$	145	60	Capside externe	Guanylyltransférase, Méthyltransférase
L3	$\lambda 1$	143	120	Capside interne	Hélicase
M1	$\mu 2$	83	20	Capside interne	Liaison à l'ARN double brin, cofacteur transcriptase, ATP ase
M2	$\mu 1$	76	600	Capside externe	Rôle dans le désassemblage de la capsid du virus et dans l'apoptose
M3	μNS	80	0	Protéine non structurale	Rôle dans la transcription et dans l'assemblage des particules
	$\sigma 1$	49	36	Capside externe	Protéine d'attachement cellulaire, rôle dans le tropisme et dans la neurovirulence. Détermination du sérotype
S1					
	$\sigma 1s$	14	0	Protéine non structurale	Rôle dans l'apoptose
S2	$\sigma 2$	47	150	Capside interne	Rôle dans l'assemblage du virion
S3	σNS	41	0	Protéine non structurale	Rôle dans la réplication et le réassortiment des segments
S4	$\sigma 3$	41	600	Capside externe	Rôle dans le désassemblage de la capsid du virus

clivée par les protéases de l'hôte en deux fragments δ et ϕ qui restent associés aux ISVPs. L'entrée des ISVPs dans la cellule n'est pas acide-dépendant et pourrait s'effectuer sans mécanisme d'endocytose [11].

Cependant, les virions, à la suite de leur attachement cellulaire, sont internalisés par endocytose et sont repartis dans des vacuoles de type endosomes ou lysosomes. Dans ces vacuoles, une digestion spécifique, acide-dépendant, des protéines de la capsid externe a lieu et permet de générer des particules de type-ISVPs. Cela représente une étape essentielle dans le processus d'infection [11].

L'ISVP est métastable et peut se convertir spontanément en une forme transcriptionnellement active ISVP*. Cette conversion est médiée par un changement conformationnel du fragment δ , généré après le clivage de la protéine $\mu 1C$, permettant l'exposition de régions hydrophobes [25]. De même, cette conversion est médiée par le relargage de la protéine $\sigma 1$ et par un changement conformationnel de la protéine $\lambda 2$ qui favorise le relargage de $\sigma 1$. La conversion de ISVP en ISVP* est nécessaire pour la pénétration de la membrane endosomiale [25, 26]. Aussitôt après l'infection, au niveau du cytoplasme, ces ISVP* deviennent des parti-

cules appelées « cores » après la perte du fragment δ . La transcription peut commencer. Dix segments d'ARN simple brin positif coiffés sont synthétisés [11]. Ces transcrits primaires sont utilisés pour la traduction des protéines virales par la machinerie de synthèse protéique. De plus, ils peuvent s'associer avec les protéines virales nouvellement produites pour former des complexes d'assortiment d'ARN. Dans ce complexe, chaque brin positif d'ARN sert de modèle pour la synthèse du brin négatif d'ARN. Une transcription secondaire a lieu à partir de ces ARN double brin nouvellement synthétisés, ce qui permet la synthèse de 95 % des transcrits produits durant l'infection. Ces transcrits secondaires servent de base pour la synthèse protéique virale, plus tard dans le processus d'infection. Les transcrits des segments des gènes L1, M3, S3 et S4 seraient synthétisés préférentiellement durant les premières heures de l'infection [11]. La transcription des six autres gènes nécessiterait la synthèse d'une nouvelle protéine car cette synthèse est inhibée en présence de cycloheximide, inhibiteur de la biosynthèse protéique dans les organismes eucaryotes [11]. L'ajout de la capsid externe, qui constitue l'étape finale dans l'assemblage du virion, n'est pas bien documenté.

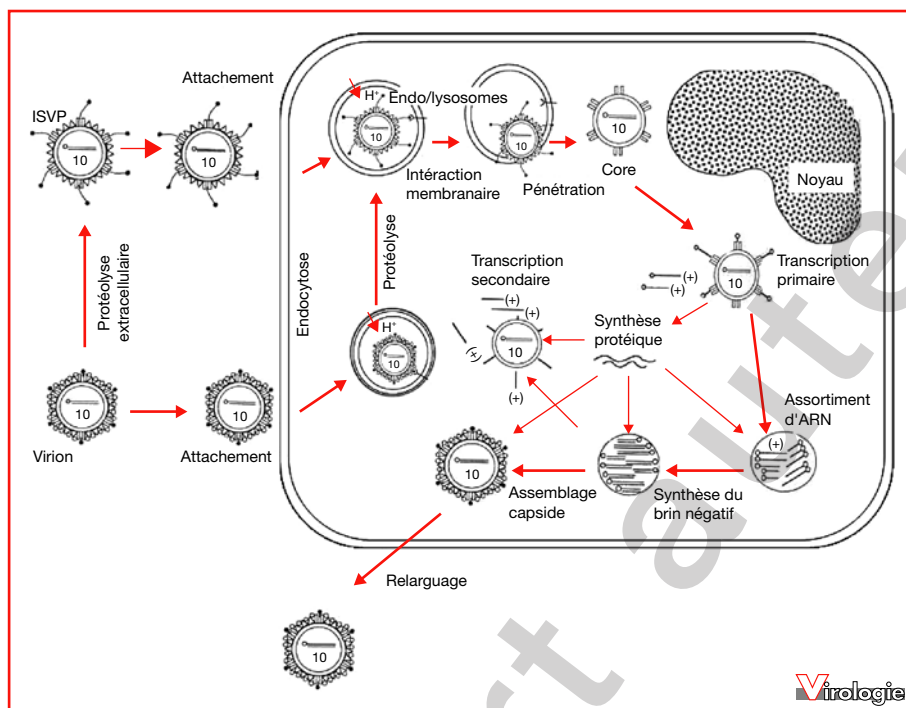


Figure 2. Cycle de réplication des orthoréovirus. Adapté de [11].

Cette étape servira à produire des virions complets et infectieux qui seront relargués des cellules infectées, par lyse cellulaire [11].

Orthoréovirus et apoptose

L'induction de l'apoptose dans une variété de cellules et dans le modèle animal, à la suite d'une l'infection par les orthoréovirus, est un mécanisme largement étudié dans la littérature. Des différences dans la capacité à déclencher l'apoptose ont été observées entre les souches d'orthoréovirus de type 1 et de type 3 et cette différence par l'étude de virus réassortants a pu être associée aux segments S1 et M2 [27, 28].

Rôle du segment S1

La détermination du sérotype de la souche d'orthoréovirus est réalisable par des tests d'inhibition d'hémagglutination avec des antisérums caractérisés. Le sérotype est porté par le segment S1 des orthoréovirus qui constitue le segment le plus divergent entre les différentes souches. Ce segment est polycistronique, codant pour une protéine non structurale $\sigma 1s$ et pour une protéine de capsid externe $\sigma 1$. La protéine $\sigma 1$ est un trimère fibreux, composée d'un domaine en forme de « queue » qui s'insère dans le virion et d'une tête globulaire qui reste hors de la surface du virion [29] (figure 3).

Deux régions distinctes de liaison aux récepteurs sont identifiées dans cette protéine.

Tout d'abord un domaine commun aux protéines $\sigma 1$ des 3 sérotypes, situé dans la tête globulaire, se lie à une molécule d'adhésion jonctionnelle JAM-A [30]. Il s'agit d'une protéine possédant deux domaines de type immunoglobuline, une région cytoplasmique et une région transmembranaire. Elle est exprimée dans une variété de tissus dont les barrières épithéliales et endothéliales [31]. La liaison de l'orthoréovirus au récepteur JAM-A est indépendante du pouvoir pathogène de la souche d'orthoréovirus, puisqu'elle est présente pour les trois sérotypes. Le second domaine de liaison est situé dans la queue fibreuse de $\sigma 1$. Pour la souche prototype de type 3, il s'agit d'un domaine de liaison à

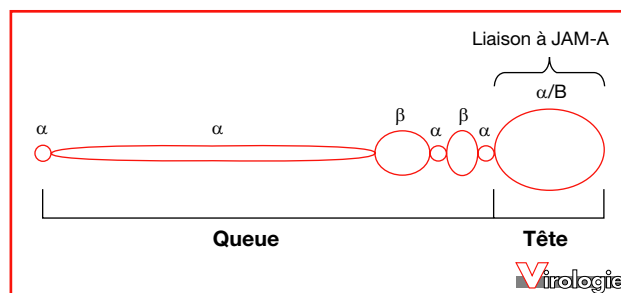


Figure 3. Structure de la protéine d'attachement cellulaire signal. Adapté de [11].

l'acide sialique α [32]. Pour la souche prototype 1, une autre région, toujours localisée dans la partie fibreuse se lie à une molécule carbohydrate pas encore identifiée [32].

Ainsi, les différences de neurotropisme et de virulence observées entre les orthoréovirus de type 1 et 3 pourraient être dues à la queue de la protéine de la capsid externe $\sigma 1$, qui en fonction du sérotype interagit différemment avec les récepteurs cellulaires.

La plupart des travaux se sont focalisés sur la protéine $\sigma 1$ du segment S1. En effet, il a été démontré qu'un variant de la souche T3D, possédant un changement d'un acide aminé dans la protéine $\sigma 1$, après une injection intracérébrale, provoquait des lésions restreintes à une partie du cerveau de la souris, par rapport à la souche prototype T3D. Ces lésions moins sévères sont associées à une faible réplication virale et à une induction d'apoptose limitée [33]. La liaison à l'acide sialique et à la protéine JAM-A semble nécessaire pour l'induction de l'apoptose dans les cellules cultivées [34]. En effet, *in vitro*, à des doses d'infection élevées, les orthoréovirus peuvent induire l'apoptose, sans pour autant commencer un cycle de réplication [35]. Cependant, le rôle de la liaison de l'acide sialique dans l'induction de l'apoptose n'est pas toujours évident, surtout lors d'une infection chez les animaux comme l'ont démontré Hoyt *et al.* En effet, la liaison de l'acide sialique s'est révélée nécessaire à l'induction de l'apoptose dans le système nerveux central des souris mais pas dans le tissu myocardique [36]. De plus, l'induction de l'apoptose dans les cellules CHO (Chinese Hamster ovary) s'est révélée indépendante de la liaison au récepteur JAM-A et à l'acide sialique. Par contre, la protéine non structurale $\sigma 1s$ codée par le segment S1 joue également un rôle dans l'apoptose induite *in vivo* chez les souris. En effet, des virus ne possédant pas une protéine $\sigma 1s$ fonctionnelle, sont moins virulents et induisent un taux faible de cellules apoptotiques dans le cœur et dans le système nerveux central des souris infectées [36]. Cependant, $\sigma 1s$ n'est pas nécessaire dans l'apoptose induite dans des cultures cellulaires. C'est la première fois qu'une protéine non structurale, est décrite pour jouer un rôle dans la pathogenèse virale *in vivo*.

Rôle du segment M2

Le segment M2 codant pour la protéine de capsid externe $\mu 1$ contribue également à l'induction de l'apoptose. Dans les cellules infectées, les anticorps monoclonaux dirigés contre les protéines de la capsid externe $\sigma 1$ et $\sigma 3$ et contre la protéine $\mu 1$ peuvent inhiber l'apoptose [37]. La protéine $\sigma 1$ intervient dans la fixation du virus à la cellule, et les protéines $\sigma 3$ et $\mu 1$ sont impliquées dans le désassemblage du virus. Ainsi, des anticorps qui ne bloquent pas la fixation du virus à la cellule mais qui empêchent le désassemblage viral, inhibent l'apoptose. De plus, des inhibiteurs pharmacologiques du désassemblage viral, mais non de la synthèse virale, ont

été capables d'inhiber l'apoptose [38]. Ces observations soulignent le rôle clé du processus de désassemblage viral dans l'induction d'apoptose. Grâce à l'analyse de réassortants, il a été démontré que le gène M2 est le seul déterminant de l'apoptose, lorsque l'infection est initiée indépendamment de $\sigma 1$, via des récepteurs Fc, dans des cellules CHO [38]. De même, la capacité de la protéine $\mu 1$ à induire l'apoptose dans des cellules CHO transfectées avec le gène codant pour la protéine $\mu 1$ de la souche prototype 1 Lang, indépendamment des protéines $\sigma 1$ et $\sigma 1s$, a été démontré [39]. La région ϕ de $\mu 1$ est nécessaire et suffisante pour induire l'apoptose dans les cellules transfectées.

Par ailleurs, des mutations dans la région δ de $\mu 1C$ diminuent la capacité des souches mutantes à pénétrer dans les membranes. Cette différence de pénétration membranaire corrèle avec des taux d'apoptose plus faibles et une faible activation des voies de signalisation NF- κ B (Nuclear Factor κ B) et IRF3 (Interferon Regulator Factor 3), sans pour autant modifier le niveau de réplication virale. Ces souches mutantes ont une faible virulence et induisent des lésions atténuées dans le cerveau des souris infectées [40].

Toutes ces données démontrent que le phénomène de virulence est complexe. La virulence est liée à l'efficacité de pénétration dans la membrane (processus de désassemblage), impliquant le segment M2, à la présence de la protéine $\sigma 1s$ lors de l'infection par les orthoréovirus dans certains organes de la souris et à la protéine $\sigma 1$ dans certains types de cultures cellulaires. L'apoptose induite par l'infection des orthoréovirus semble être le mécanisme majeur des lésions induites dans le cœur et le SNC des souris, entraînant leur mort [41].

Rôle de NF- κ B

NF- κ B (Nuclear Factor κ B) est un facteur de transcription qui est normalement lié dans le cytoplasme à des membres de la famille I κ B (Inhibitor κ B), empêchant ainsi sa migration dans le noyau et sa liaison à l'ADN. La dégradation d'I κ B permet l'activation de NF- κ B [37]. L'infection par les orthoréovirus d'une grande variété de cellules, telles que les cellules HeLa, L929 et MDCK, active transitoirement le facteur de transcription nucléaire NF- κ B. [37]. L'attachement du virus à la cellule ainsi que son désassemblage constitueraient des signaux d'activation des cascades des protéines kinases (MAPK) et d'une variété de facteurs de transcriptions tels que NF- κ B qui semble nécessaire pour initier l'apoptose induite par les orthoréovirus.

En effet, l'activation du complexe NF- κ B est inhibée ainsi que l'apoptose induite par les orthoréovirus [42] dans les cellules déficientes en sous-unité p50 et p65 de NF- κ B, traduisant ainsi l'importance du rôle de NF- κ B dans l'induction de l'apoptose. Suite à l'infection par les orthoréovirus, le complexe NF- κ B, composé des sous-unités p50 et p65 de NF- κ B est activé et active à son tour les gènes

pro-apoptotiques [43]. La machinerie cellulaire apoptotique est ainsi activée. La sous-unité p50 de NF- κ B, en plus de sa fonction pro-apoptotique, peut également protéger contre l'apparition de pathologies chez la souris, en fonction de l'organe infecté. En effet, dans le cœur des souris infectées, la sous-unité p50 réduit l'apoptose induite par l'infection par les orthoréovirus et favorise l'induction d'interféron β qui protège la souris d'une myocardite [43]. L'activation de NF- κ B provoque une réponse immune innée par la production d'Interféron (IFN) α/β [44]. Différents gènes, suite à l'infection par les orthoréovirus, sont activés dans le temps sous le contrôle de NF- κ B [45]. Il s'agit de cytokines telles que l'interleukine-6 et -8 et des gènes de prolifération cellulaire activés deux heures après l'infection, de membres de la famille NF- κ B activés six heures après infection et des gènes stimulés par les interférons activés 10 heures après l'infection. Ces données suggèrent un rôle important de l'immunité innée dans la signalisation pro-apoptotique, lors de l'infection par les orthoréovirus.

L'apoptose induite lors de l'infection par les orthoréovirus implique d'autres mécanismes tels que les voies de signalisation mitochondriales, les signaux d'activation de kinases et d'autres facteurs transcriptionnels [37].

Orthoréovirus et modèles animaux

L'infection des animaux par les orthoréovirus est un bon modèle d'étude de la pathogenèse, des mécanismes de virulence et du tropisme [46]. Les principaux modèles utilisés sont les rongeurs, principalement le modèle murin. Les premiers modèles animaux utilisés pour l'infection étaient les souriceaux nouveau-nés. Plus récemment, les souris adultes immunodéficientes (SCID) et les souris adultes immunocompétentes sont également étudiées.

Différentes pathologies sont observées, suite à une infection par les orthoréovirus, en fonction de l'immunocompétence de la souris et de son âge, du sérotype de la souche d'orthoréovirus inoculée et de la voie d'inoculation. En effet, l'infection par les orthoréovirus est fortement létale chez le souriceau nouveau-né et la souris SCID, contrairement à la souris adulte immunocompétente.

Chez la souris adulte immunodéficiente (SCID), l'injection d'orthoréovirus de type 3 par voie intracérébrale ou intramusculaire, entraîne des hépatites et des myocardites [46]. Par contre, chez des souriceaux nouveau-nés, l'orthoréovirus de type 3 après une inoculation cérébrale ou intramusculaire, produit une encéphalite aiguë fatale [46, 47]. Après une inoculation intramusculaire, l'orthoréovirus de type 3 se propage à travers les nerfs sciatiques, se réplique dans les neurones moteurs de la corde spinale pour atteindre le système nerveux central (SNC) [48]. Il atteint donc les

neurones du cortex, de l'hippocampe et du thalamus de la souris et détruit ainsi les cellules neuronales sans endommager les cellules épendymaires. Cette propagation est médiée par le système de microtubules du transport axonal [48]. La propagation de l'orthoréovirus de type 3 à travers les neurones et sa répllication dans le SNC sont à la base de l'encéphalite observée. La létalité, suite à l'inoculation de l'orthoréovirus de type 3 par voie intramusculaire et intracérébrale, est limitée à la première semaine post-natale chez la souris [48].

Contrairement à l'orthoréovirus de type 3, l'orthoréovirus de type 1 lorsqu'il est administré par voie intracérébrale, n'entraîne aucun ou peu d'effet sur les neurones [49]. Après une inoculation intramusculaire, l'orthoréovirus de type 1 atteint le SNC par la voie hématogène et non par la voie axonale : il traverse la barrière hémato-encéphalique et atteint les cellules épendymaires, provoquant ainsi une hydrocéphalie sans provoquer la mort de la souris [48].

L'orthoréovirus de type 3 n'est pas neurovirulent lorsqu'il est administré par voie digestive car il est incapable d'atteindre le système nerveux central. Inversement, l'orthoréovirus de type 1 peut diffuser vers le cerveau à partir du tube digestif. Cette différence entre les sérotypes 1 et 3 serait due à une différence de sensibilité aux protéases de la protéine μ 1C codée par le segment M2 [50]. En effet, l'orthoréovirus de type 3 est rapidement évacué des tissus intestinaux et n'est plus détecté après 4 jours ; tandis que l'orthoréovirus de type 1 se réplique dans les intestins et n'est plus détecté après 8 jours. Cependant, Fields et Bodkin, ont démontré plus tard, par des études de réassortiment, que cette différence de répllication dans les tissus intestinaux serait due aux gènes L2 et S1 et non au segment M2 [51].

Quant à l'orthoréovirus de type 2, il provoquerait des encéphalites non létales chez des souris [52]. Cependant, la neuropathologie de cette souche n'est pas bien caractérisée et la voie par laquelle la souche prototype Jones infecte le système nerveux central n'est pas totalement comprise. Après une inoculation de l'orthoréovirus de type 2 par voie intramusculaire [53], il se propage lentement et infecte très peu de neurones moteurs et sensoriels. L'orthoréovirus de type 2 engendre également des diabètes chez des souriceaux nouveau-nés [54], suite à une réaction immunitaire indirecte de l'hôte contre les cellules pancréatiques, entraînant leur destruction. Les infections avec les orthoréovirus de type 2 sont très peu étudiées contrairement à celles initiées avec les orthoréovirus de type 1 et 3.

Les études de pathogenèse dans le modèle souris ont montré que les orthoréovirus se répliquent dans les cellules du cerveau, du cœur, du foie, de l'intestin, et dans les cellules musculaires. Chez le souriceau nouveau-né, la neurovirulence est associée aux segments S1 et M2 et chez la souris adulte SCID, la virulence est associée aux segments S1, M1, L1 et L2 [46]. Lors de l'analyse des pathologies

Tableau 4. Gènes associés à la virulence chez le souriceau nouveau-né et chez la souris adulte immunodéficiente. Adapté de [46].

Organes	Souriceau nouveau-né	Souris adulte SCID
Système nerveux central	S1: Tropisme	S1 } L1 } Virulence L2 }
Cœur	S1 } M1 } Sévérité de la L1 } myocardite L2 }	
Foie		M1 } L1 } Titre viral L2 } Sévérité de l'hépatite
Intestin	S1: Titre viral L2: Titre viral, réplication	S1 } L1 } Titre viral L2 }

engendrées dans les souriceaux nouveau-nés et souris SCID, il a été noté que les différents segments avaient un rôle différent selon les organes. Par exemple dans un modèle souris adulte SCID, les segments L1, L2 et S1 sont importants pour la réplication dans l'intestin. Similairement, les segments S1 et L2 sont nécessaires pour la réplication dans l'intestin d'un souriceau nouveau-né [46]. Lors d'une infection chez le souriceau nouveau-né, les segments S1, L1, L2 et M1 sont importants pour l'induction de la myocardite, tandis que les segments M2 et S1 sont importants dans le système nerveux central [46] (tableau 4).

Orthoréovirus et pathologies humaines

L'acronyme « reovirus » était utilisé pour désigner une catégorie de virus infectant les humains sans provoquer de pathologies graves. En effet, de légères infections respiratoires, accompagnées de diarrhées et de légères fièvres étaient surtout observées chez les jeunes enfants, après une infection aux orthoréovirus. Depuis la fin des années 1950, la présence d'orthoréovirus a été caractérisée dans de très rares cas de maladies graves tels que des méningites, des encéphalites et des infections respiratoires aiguës. Malheureusement, ces cas très anciens étudiés à l'aide de méthodes exploratoires très limitées, sont le plus souvent peu documentés.

Brièvement, Krainer *et al.*, en 1959, décrivent la présence d'une souche d'orthoréovirus de type 3 de tropisme neuronal dans le liquide céphalo-rachidien (LCR) ainsi que dans le cerveau d'une femme de 29 ans présentant une atteinte du système nerveux central [55]. Après sa mort, un examen histopathologique a révélé qu'elle souffrait d'encéphalomyélite disséminée avec une démyélinisation. De sévères lésions étaient présentes dans le cerveau, de même que des neuronophagies occasionnelles soulignant l'origine virale d'une encéphalomyélite. À cette époque, la question de savoir si cet orthoréovirus était le seul agent viral respon-

sable de l'encéphalomyélite démyélinisante s'est posée, car très peu de virus peuvent produire à eux seuls des lésions démyélinisantes. Le pouvoir infectieux de cette souche d'orthoréovirus isolée a été observé chez la souris adulte, après une inoculation intracérébrale.

De même, en 1963, Joske *et al.* décrivent la présence d'orthoréovirus dans trois cas d'encéphalites chez l'homme [56]. Le premier cas décrit est celui d'une enfant de 10 mois morte quelques jours après son admission à l'hôpital. Elle souffrait au début d'une infection du tractus respiratoire qui a évolué vers une pneumonie, hépatite et encéphalite. Deux souches identiques d'orthoréovirus de type 1 ont été isolées dans les selles et le cerveau de cette enfant, après culture. Ces souches testées sur des souriceaux nouveau-nés provoquent des symptômes identiques à ceux obtenus après une injection d'orthoréovirus de type 3. Le second cas concerne une fillette de 28 mois qui a développé une infection des voies respiratoires hautes suite à une fièvre et une éruption cutanée. Une encéphalite a été diagnostiquée et un traitement antibiotique lui a été administré sans amélioration de son état de santé. Son état général s'est amélioré deux semaines après le début des symptômes. Un orthoréovirus de type 2 a été isolé des selles après culture sur cellules. Le dernier cas décrit concerne un petit garçon de six ans qui, deux mois auparavant, avait eu un épisode de rougeole. Il a développé une hépatite aiguë et une encéphalite. Comme précédemment, un orthoréovirus de type 2 a été isolé des selles après culture.

Tous ces cas ne sont pas suffisamment documentés pour pouvoir démontrer un lien étiologique entre la maladie et la présence d'un orthoréovirus. En effet, l'isolement de la souche virale dans un organe atteint et/ou l'étude de sa pathogénicité dans un modèle animal ne sont pas suffisantes pour établir de façon certaine un lien de causalité entre l'infection virale et la pathologie observée. En effet, selon les postulats de Koch modifiés par Rivers [57], plusieurs critères sont requis pour démontrer le rôle étiologique d'un virus dans une maladie humaine. En plus de l'isolement du virus par culture, de la confirmation de son pouvoir infectieux et pathogène par culture et chez une autre espèce hôte, le virus doit être détecté dans les échantillons des patients malades, être cultivable si possible dans des cellules humaines et une réponse anticorps spécifique dirigée contre ce virus doit être observée chez les patients infectés.

Plus récemment, plusieurs cas d'infections d'orthoréovirus chez des patients souffrant de maladies respiratoires et du système nerveux central ont été mieux documentés. L'utilisation de la sérologie et de nouvelles technologies telles que des techniques de biologie moléculaire pour la détection et la caractérisation du génome viral permet de mieux évaluer le rôle des orthoréovirus dans les pathologies humaines.

En effet, en 1996, Johansson *et al.* décrivent un cas de méningite observé chez une enfant de 3 mois [58]. Cette enfant a été hospitalisée suite à l'observation de signes cliniques tels que fièvre, diarrhées et fatigue. Deux personnes de sa famille (son frère de sept ans et sa sœur de deux ans) présentaient des signes de gastro-entérite deux semaines plus tôt. Des antibiotiques lui ont été administrés suite à une suspicion de méningite bactérienne. Cependant, aucune bactérie n'a pu être isolée. L'état de santé de la petite fille s'est amélioré. Un orthoréovirus de sérotype 1 a été isolé du LCR, après culture sur des cellules GMK (Green Monkey Kidney) qui ont montré des effets cytopathiques. De plus, la présence d'anticorps neutralisants dans les sérums de l'enfant a été observée, à des titres plus élevés dans les sérums tardifs en phase de convalescence par rapport aux sérums prélevés en phase aiguë. Néanmoins, le pouvoir pathogène de la souche n'a pas été testé dans une autre espèce hôte.

Par ailleurs, une autre étude a été publiée en 2004 [59], décrivant l'isolement d'une nouvelle souche d'orthoréovirus de type 3, T3/Human/Colorado/1996 (T3C/96) du LCR d'une enfant prématurée âgée d'environ six semaines, souffrant de méningite et de diarrhées, après culture sur des cellules de reins de singe RMK (Rhesus Monkey Kidney). Des effets cytopathiques ont été observés. Après cinq jours d'hospitalisation, la patiente s'est rétablie sans séquelle neurologique. Le segment S1 de la souche T3C/96 a une séquence présentant moins de 70 % d'identité en nucléotides avec la souche de référence nommée Dearing, confirmant ainsi que cette souche est un nouvel isolat du sérotype 3. Des études expérimentales menées chez le souriceau nouveau-né ont montré que cette souche T3C/96 est neurotropic et virulente, après une inoculation par voie cérébrale et également par voie orale, contrairement à ce qui est observé après une infection orale avec des orthoréovirus de type 3. La propriété de virulence observée après une injection par voie orale, est caractéristique de cette souche T3C/96. À de fortes doses de virus inoculées par voie orale, 90 % de souris infectées avec la souche prototype de sérotype 3 survivent tandis qu'aucune souris infectée avec la souche T3C/96 ne survit. La virulence de T3C/96, après une inoculation orale pourrait être attribuée à un polymorphisme de séquence dans la protéine $\sigma 1$ à la position 249. La recherche d'autres agents pathogènes pouvant être à l'origine de la pathologie s'est révélée infructueuse. En effet, aucune bactérie n'a été détectée dans le sang et le LCR. De même, les entérovirus et le virus herpes simplex, virus les plus retrouvés dans les encéphalites chez l'enfant de moins d'un an [60, 61], n'ont pas été retrouvés dans le LCR, après une amplification génique. Toutes ces données sont en faveur du rôle étiologique de la souche T3C/96 dans la méningite, même si la présence d'anticorps anti-T3C/96 n'a pas été recherchée.

En 2004, un nouveau orthoréovirus de sérotype 2 a été impliqué dans un autre cas de méningite [62]. Une petite fille âgée de huit semaines, hospitalisée à Winnipeg au Canada pour immunodéficiência congénitale, présentait une varicelle, de la fièvre, des signes de diarrhées et une septicémie à *Escherichia coli*. Elle souffrait également de méningite et présentait des symptômes respiratoires. Lors d'un premier prélèvement de LCR, deux souches de *Staphylococcus aureus* et un orthoréovirus de sérotype 2 ont été isolés. Lors d'un second prélèvement, 6 semaines plus tard, seul l'orthoréovirus de type 2 a été isolé du LCR et des selles, après culture. La patiente est décédée deux mois après, suite à une septicémie. Étant donné la présence d'infections multiples développées chez cette enfant, il est difficile de relier la méningite uniquement à l'infection à l'orthoréovirus. Les quatre segments S de cette souche nommée T2W ont été caractérisés. La séquence du segment S1 possède 55 % d'identité en nucléotides avec la souche prototype Jones [63] indiquant ainsi qu'il s'agit d'un nouvel isolat du sérotype 2.

Durant la période de surveillance du Syndrome Respiratoire Aigu Sévère (SRAS) en Chine, un nouveau orthoréovirus a été isolé des échantillons du pharynx de cinq patients souffrant de SRAS en 2003, dans trois laboratoires différents [64]. La souche fut nommée BYD1 et sa virulence a été testée chez des souris femelles BALB/c âgée de 25 semaines [65]. Des pneumonies et des nécroses hémorragiques ont été observées dans les ganglions et dans la rate. Cette souche a également été testée chez des macaques et les mêmes symptômes que ceux observés chez les patients souffrant de SRAS ont été obtenus, à savoir une inflammation interstitielle pulmonaire, des lésions alvéolaires et des fièvres [66]. Toutes ces données démontrent une probable implication de la souche BYD1 dans des cas d'infections respiratoires.

Plus récemment, en 2006, un nouveau orthoréovirus appartenant au groupe III du genre *Orthoreovirus*, a été isolé après la mise en culture sur des cellules MDCK (Madin-Darby Canine Kidney) d'un prélèvement de gorge d'un homme de 39 ans souffrant de symptômes respiratoires aigus, en Malaisie [6]. Ce virus nommé « Melaka virus » a provoqué des effets cytopathiques marqués, dès 48 heures. La recherche de virus les plus retrouvés dans les infections respiratoires s'est révélée négative. En effet, la présence des adénovirus, des virus influenza A et B, des virus parainfluenza 1, 2 et 3 et du virus respiratoire syncytial (VRS) n'a pas été retrouvée après amplification génique. De même, la recherche d'anticorps dirigés contre les virus cités ci-dessus s'est révélée infructueuse. Deux autres membres de la famille du patient (ses enfants de six et onze ans) ont développé des symptômes similaires environ une semaine plus tard. La présence d'anticorps dirigés contre le virus Melaka a été détectée chez ces trois personnes mais aussi

chez la conjointe du patient alors qu'elle ne présentait aucun symptôme. Ainsi, le virus Melaka pourrait être transmis d'une personne à une autre. L'hypothèse que l'orthoréovirus ait été transmis par la chauve-souris, qui constitue un réservoir pour de nombreux virus, n'est pas à exclure puisque d'une part, le premier patient a été en contact avec une chauve-souris. D'autre part, le Melaka virus est proche d'un virus isolé en 1999 de chauves-souris en Malaisie, le virus Pulau [5], tous deux appartenant au groupe III du genre *Orthoreovirus* (tableau 2). Le pouvoir pathogène de la souche n'a pas été étudié dans une autre espèce hôte mais toutes les données énumérées sont en faveur de l'implication du virus Melaka dans l'infection respiratoire aiguë.

Dans ces cinq cas récents décrits ci dessus, tous les critères des postulats de Koch modifiés par Rivers n'ont pu être vérifiés. En effet, soit le pouvoir pathogène de la souche d'orthoréovirus n'a pas été testé dans une autre espèce hôte, soit la présence d'anticorps spécifiques dirigés contre ce virus n'a pas été vérifiée. Cependant, il est intéressant de noter que dans 4 des 5 cas décrits, une nouvelle souche d'orthoréovirus a été identifiée et caractérisée. L'hypothèse suivante peut être émise : les souches d'orthoréovirus connues ne sont pas pathogènes pour l'homme mais l'apparition de mutations et/ou de réassortiments génétiques permettraient l'émergence de nouvelles souches ayant un pouvoir pathogène et une plus grande virulence chez l'homme. La gravité des symptômes observés et la mort d'un des patients peuvent aussi être liées à des facteurs de l'hôte. En effet, la naissance prématurée de la fillette d'environ six semaines souffrant de méningite [59] et l'immunodéficience congénitale de la patiente de huit semaines [62] peuvent constituer des facteurs de risque et expliquer l'importance des séquelles et des symptômes observés, indépendamment du caractère virulent des souches d'orthoréovirus isolées, surtout dans le second cas où la virulence de la souche n'a pas été testée dans une espèce animale [62].

Des facteurs génétiques pourraient également jouer un rôle dans la survenue de la maladie. Dans le cas du virus Melaka, cet orthoréovirus s'est transmis du père aux enfants et a provoqué les mêmes symptômes. La mère qui avait des anticorps spécifiques dirigés contre ce virus n'a cependant pas été malade. Il a déjà été suggéré une susceptibilité génétique à l'encéphalite due au virus herpès simplex chez des enfants qui ne possédaient pas une protéine UNC-93B fonctionnelle, protéine du réticulum endoplasmique nécessaire pour la voie de signalisation des Toll-like receptors (TLRs) 3, 7, 8 et 9 [67]. De même, un second facteur génétique impliqué dans l'étiologie de l'encéphalite herpétique a été décrit chez deux enfants de familles différentes. Ils possédaient une mutation hétérozygote dans la séquence de TLR3 et ont développé une encéphalite due au virus herpès simplex [68].

Des études de prévalence réalisées dans une population adulte atteinte de méningites et/ou d'encéphalites, indiquent que les entérovirus sont les virus les plus largement retrouvés dans les cas de méningites et que le virus herpès simplex 1 (HSV-1) est fréquemment retrouvé dans les encéphalites [69, 70]. Chez les enfants et en fonction de l'âge, différents virus peuvent être retrouvés. En effet, des études finlandaises réalisées chez des enfants de moins d'un an montre que les encéphalites sont dues essentiellement aux entérovirus, puis aux virus respiratoires (VRS, influenza) et à HSV-1 [60, 61], alors qu'après l'âge d'un an, le virus de la varicelle et du zona (VZV) est également retrouvé. Il est à noter que des cas d'infection au rotavirus, au virus herpès humain (HHV-6), à des organismes tels que *Chlamydia pneumoniae*, *Mycoplasma pneumoniae* et un cas de réovirus ont été observés dans l'une des deux études finlandaises [61]. De nombreuses études ont mis en place la recherche exhaustive de l'agent pathogène responsable des cas d'encéphalites et ont permis d'établir un diagnostic étiologique dans seulement 40 à 60 % des cas [71, 72]. Face à de tels résultats, la recherche de nouvelles souches d'orthoréovirus dans les maladies du système nerveux central devrait être plus approfondie.

Conclusion

Les orthoréovirus, quel que soit le sérotype, ont été retrouvés dans divers cas de maladies humaines symptomatiques ciblant principalement le système nerveux central tels que les méningites et les encéphalites et plus rarement le tractus respiratoire. En effet, plusieurs cas d'infection aux orthoréovirus chez des patients développant des encéphalomyélites [55], des méningites et/ou encéphalites [56, 58, 59, 62] et des infections respiratoires aiguës [64, 6], ont été décrites dans cette revue. Cependant, le rôle étiologique de ces virus n'a pas été établi dans la majorité des cas car les moyens mis en œuvre pour démontrer l'implication du virus n'étaient pas suffisants. Dans le modèle animal, principalement chez la souris, la pathogenèse induite par l'infection aux orthoréovirus a été mise en évidence par l'étude des propriétés de virulence, de tropisme et des fonctions des différents segments d'ARN.

Environ 40 %-60 % des cas d'encéphalites restent encore de nature étiologique inconnue, malgré les nouvelles techniques moléculaires utilisées pour la détection des infections du système nerveux central. De même, des agents pathogènes ne sont retrouvés que dans 50 % des infections respiratoires. La recherche d'orthoréovirus à l'origine d'encéphalites et de maladies respiratoires, permettrait de statuer sur le pouvoir pathogène de ces virus et pourrait peut-être élucider une partie des cas restants sans agent étiologique associé.

Références

1. Mertens PPC, Attoui H, Duncan R, Dermody TS. Eight report of the international committee on Taxonomy of viruses.
2. Garbarg-Chenon A, Gault E. « Reoviridae-Rotavirus et Réovirus ». In : Hureau J-M, Nicolas J-c, Agut H, Peigue-lafeuille H, eds. *Traité de virologie médicale*. Paris : estem, 2003 ; (chap. 28, p425).
3. Sabin AB. Reoviruses. A new group of respiratory and enteric viruses formerly classified as ECHO type 10 is described. *Science* 1959 ; 130 : 1387-9.
4. Duncan R. Extensive sequence divergence and phylogenetic relationships between the fusogenic and nonfusogenic orthoreoviruses : A species proposal. *Virology* 1999 ; 260 : 316-28.
5. Pritchard LI, Chua KB, Cummins D, et al. Pulau virus ; a new member of the Nelson Bay orthoreovirus species isolated from fruit bats in Malaysia. *Arch Virol* 2006 ; 151 : 229-39.
6. Chua KB, Cramer G, Hyatt A, et al. A previously unknown reovirus of bat origin is associated with an acute respiratory disease in humans. *Proc Natl Acad Sci USA* 2007 ; 104 : 11424-9.
7. Rosen L. Serologic grouping of reoviruses by hemagglutination-inhibition. *Am J Hyg* 1960 ; 71 : 242-9.
8. Attoui H, Biagini P, Stirling J, et al. Sequence Characterization of Ndelle Virus Genome Segments 1, 5, 7, 8 and 10 : Evidence for Reassignment to the Genus *Orthoreovirus*, Family *Reoviridae*. *Biochem Biophys Res Commun* 2001 ; 287 : 583-8.
9. Lerner AM, Cherry JD, Klein JO, Finland M. Infections with reoviruses. *N Engl J Med* 1962 ; 267 : 947-52.
10. Irving LG, Smith FA. One-year of enteroviruses, adenoviruses, and reoviruses isolated from effluent at an activated-sludge purification plant. *App Environ Microbiol* 1981 ; 41 : 51-9.
11. Knipe DM, Howley PM. In : *Fields Virology, fourth edition, volume 2*. Philadelphia : Lippincott Williams & Wilkins, 2001 : 1680-718.
12. Wiener JR, Joklik WK. The sequences of the reovirus serotype 1, 2, and 3 L1 genome segments and analysis of the mode of divergence of the reovirus serotypes. *Virology* 1989 ; 1 : 194-203.
13. Breun LA, Broering TJ, McCutcheon AM, Harison SJ, Luongo CL, Nibert ML. Mammalian reovirus L2 gene and lambda2 core spike protein sequences and whole-genome comparison of reovirus type 1 Lang, type 2 Jones, and type 3 Dearing. *Virology* 2001 ; 287 : 333-48.
14. Harrison SJ, Farsetta DL, Kim J, Noble S, Broering TJ, Nibert ML. Mammalian reovirus L3 gene sequences and evidence for a distinct amino-terminal region of the lambda1 protein. *Virology* 1999 ; 258 : 54-64.
15. Zou S, Brown EG. Nucleotide sequence comparison of the M1 genome segment of reovirus type 1 Lang and type 3 Dearing. *Virus Res* 1992 ; 22 : 159-64.
16. Wiener JR, Joklik WK. Evolution of reovirus genes : a comparison of serotype 1, 2, and 3 M2 genome segments, which encode the major structural capsid protein mu 1C. *Virology* 1988 ; 163 : 603-13.
17. McCutcheon AM, Broering TJ, Nibert ML. Mammalian reovirus M3 gene sequences and conservation of coiled-coil motifs near the carboxyl terminus of the microNS protein. *Virology* 1999 ; 264 : 16-24.
18. Duncan R, Horne D, Cashdollar LW, Joklik WK, Lee PW. Identification of conserved domains in the cell attachment proteins of the three serotypes of reovirus. *Virology* 1990 ; 174 : 399-409.
19. Dermody TS, Schiff LA, Nibert ML, Coombs KM, Fields BN. The S2 gene nucleotide sequences of prototype strains of the three reovirus serotypes : characterization of reovirus core protein sigma 2. *J Virol* 1991 ; 65 : 5721-31.
20. Wiener JR, Joklik WK. Comparison of the reovirus serotype 1, 2, and 3 S3 genome segments encoding the nonstructural protein sigma NS. *Virology* 1987 ; 161 : 332-9.
21. Seliger SL, Giantini M, Shatkin AJ. Translational effects and sequence comparisons of the three serotypes of the reovirus S4 gene. *Virology* 1992 ; 187 : 202-10.
22. Bodkin DK, Nibert ML, Fields BN. Proteolytic digestion of reovirus in the intestinal lumens of neonatal mice. *J Virol* 1989 ; 63 : 4676-81.
23. Sturzenbecker LJ, Nibert M, Furlong D, Fields BN. Intracellular digestion of reovirus particles requires a low pH and is an essential step in the viral infectious cycle. *J Virol* 1987 ; 61 : 2351-61.
24. Nibert ML, Schiff LA, Fields BN. Mammalian reoviruses contain a myristoylated structural protein. *J Virol* 1991 ; 65 : 1960-7.
25. Chandran K, Farsetta DL, Nibert ML. Strategy for nonenveloped virus entry : a hydrophobic conformer of the reovirus membrane penetration protein micro 1 mediates membrane disruption. *J Virol* 2002 ; 76 : 9920-33.
26. Chandran K, Parker JS, Ehlich M, Kirchhausen T, Nibert ML. The delta region of outer-capsid protein micro 1 undergoes conformational change and release from reovirus particles during cell entry. *J Virol* 2003 ; 77 : 13361-675.
27. Tyler KL, Squier MK, Brown AL, et al. Linkage between reovirus-induced apoptosis and inhibition of cellular DNA synthesis : role of the S1 and M2 genes. *J Virol* 1996 ; 70 : 7984-91.
28. Tyler KL, Squier MK, Rodgers SE, et al. Differences in the capacity of reovirus strains to induce apoptosis are determined by the viral attachment protein sigma 1. *J Virol* 1995 ; 69 : 6972-9.
29. Fraser RD, Furlong DB, Trus BL, Nibert ML, Fields BN, Steven AC. Molecular structure of the cell-attachment protein of reovirus : correlation of computer-processed electron micrographs with sequence-based predictions. *J Virol* 1990 ; 64 : 2990-3000.
30. Campbell JA, Schelling P, Wetzel JD, et al. Junctional adhesion molecule a serves as a receptor for prototype and field-isolate strains of mammalian reovirus. *J Virol* 2005 ; 79 : 7967-78.
31. Martin-Padura I, Lostaglio S, Schneemann M, et al. Junctional adhesion molecule, a novel member of the immunoglobulin superfamily that distributes at intercellular junctions and modulates monocyte transmigration. *J Cell Biol* 1998 ; 142 : 117-27.
32. Chappell JD, Duong JL, Wright BW, Dermody TS. Identification of carbohydrate-binding domains in the attachment proteins of type 1 and type 3 reoviruses. *J Virol* 2000 ; 74 : 8472-9.
33. Richardson-Burns SM, Tyler KL. Regional differences in viral growth and central nervous system injury correlate with apoptosis. *J Virol* 2004 ; 78 : 5466-75.
34. Barton ES, Forrest JC, Connolly JL, et al. Junction adhesion molecule is a receptor for reovirus. *Cell* 2001 ; 104 : 441-51.
35. Connolly JL, Dermody TS. Virion disassembly is required for apoptosis induced by reovirus. *J Virol* 2002 ; 76 : 1632-41.
36. Hoyt CC, Richardson-Burns SM, Goody RJ, Robinson BA, DeBiasi RL, Tyler KL. Nonstructural protein sigma 1s is a determinant of reovirus virulence and influences the kinetics and severity of apoptosis induction in the heart and central nervous system. *J Virol* 2005 ; 79 : 2743-53.
37. Clarke P, Richardson-Burns SM, DeBiasi RL, Tyler KL. Mechanisms of apoptosis during reovirus infection. *Curr Top Microbiol Immunol* 2005 ; 289 : 1-24.
38. Danthi P, Hansberger MW, Campbell JA, Forrest JC, Dermody TS. JAM-A-independent, antibody-mediated uptake of reovirus into cells leads to apoptosis. *J Virol* 2006 ; 80 : 1261-70.
39. Coffey CM, Sheh A, Kim IS, Chandran K, Nibert ML, Parker JS. Reovirus outer capsid protein micro1 induces apoptosis and associates with lipid droplets, endoplasmic reticulum, and mitochondria. *J Virol* 2006 ; 80 : 8422-38.
40. Danthi P, Kobayashi T, Holm GH, Hansberger MW, Abel TW, Dermody TS. Reovirus apoptosis and virulence are regulated by host cell membrane penetration efficiency. *J Virol* 2008 ; 82 : 161-72.
41. Oberhaus SM, Smith RL, Clayton GH, Dermody TS, Tyler KL. Reovirus infection and tissue injury in the mouse central nervous system are associated with apoptosis. *J Virol* 1997 ; 71 : 2100-6.
42. Connolly JL, Rodgers SE, Clarke P, et al. Reovirus-induced apoptosis requires activation of transcription factor NF-kappaB. *J Virol* 2000 ; 74 : 2981-9.

43. O'Donnell SM, Hansberger MW, Connolly JL, *et al.* Organ-specific roles for transcription factor NF-kappaB in reovirus-induced apoptosis and disease. *J Clin Invest* 2005 ; 115 : 2341-50.
44. Sen GC. Viruses and interferons. *Annu Rev Microbiol* 2001 ; 55 : 255-81.
45. O'Donnell SM, Holm GH, Pierce JM, *et al.* Identification of an NF-kappaB-dependent gene network in cells infected by mammalian reovirus. *J Virol* 2006 ; 80 : 1077-86.
46. Virgin HW, Dermody TS, Tyler KL. Cellular and humoral immunity to reovirus infection. *Curr Top Microbiol Immunol* 1998 ; 233 : 147-61.
47. Tyler KL, McPhee DA, Fields BN. Distinct pathways of viral spread in the host determined by reovirus S1 gene segment. *Science* 1986 ; 233 : 770-4.
48. Mann MA, Knipe DM, Fischbach GD, Fields BN. Type 3 reovirus neuroinvasion after intramuscular inoculation : direct invasion of nerve terminals and age-dependent pathogenesis. *Virology* 2002 ; 303 : 222-31.
49. Masters C, Alpers M, Kakulas B. Pathogenesis of reovirus type 1 hydrocephalus in mice. Significance of aqueductal changes. *Arch Neurol* 1977 ; 34 : 18-28.
50. Rubin DH, Fields BN. Molecular basis of reovirus virulence. Role of the M2 gene. *J Exp Med* 1980 ; 152 : 853-68.
51. Bodkin DK, Fields BN. Growth and survival of reovirus in intestinal tissue : role of the L2 and S1 genes. *J Virol* 1989 ; 63 : 1188-93.
52. Walters MN, Leak PJ, Joske RA, Stanley NF, Perret DH. Murine infection with reovirus. III. Pathology of infection with types I and II. *J Exp Pathol* 1965 ; 46 : 200-12.
53. Flamand A, Gagner JP, Morrison LA, Fields BN. Penetration of the nervous systems of suckling mice by mammalian reoviruses. *J Virol* 1991 ; 65 : 123-31.
54. Onodera T, Taniguchi T, Yoshihara K, Shimizu S, Sato M, Hayashi T. Reovirus type 2-induced diabetes in mice prevented by immunosuppression and thymic hormone. *Diabetologia* 1990 ; 33 : 192-6.
55. Krainer L, Aronson BE. Disseminated encephalomyelitis in the human with recovery of hepatoencephalitis virus (HEV) ; pathologic and virologic report. *J Neuropathol Exp Neurol* 1959 ; 18 : 339-42.
56. Joske RA, Keall DD, Leak PJ, Stanley NF, Walters MN. Hepatitis-encephalitis in Humans with reovirus infection. *Arch Intern Med* 1964 ; 113 : 811-6.
57. Rivers TM. Viruses and Koch's postulates. *J Bacteriol* 1937 ; 33 : 1-12.
58. Johansson PJ, Sveger T, Ahlfors K, Ekstrand J, Svensson L. Reovirus type 1 associated with meningitis. *Scand J Infect Dis* 1996 ; 28 : 117-20.
59. Tyler KL, Barton ES, Ibach ML, *et al.* Isolation and molecular characterization of a novel type 3 reovirus from a child with meningitis. *J Infect Dis* 2004 ; 189 : 1664-75.
60. Koskiniemi M, Rautonen J, Lehtokoski-Lethiniemi E, Vaheri M. Epidemiology of encephalitis in children : a 20-year survey. *Ann Neurol* 1991 ; 29 : 492-7.
61. Koskiniemi M, Korppi M, Mustonen K, *et al.* Epidemiology of encephalitis in children. A prospective multicentre study. *Eur J Pediatr* 1997 ; 156 : 541-5.
62. Hermann L, Embree J, Hazelton P, Wells B, Coombs RT. Reovirus type 2 isolated from cerebrospinal fluid. *Pediatr Infect Dis J* 2004 ; 23 : 373-5.
63. Jiang J, Hermann L, Coombs KM. Genetic characterization of a new mammalian reovirus, type 2 Winnipeg (T2W). *Virus Genes* 2006 ; 33 : 193-204.
64. Duan Q, Zhu H, Yang Y, *et al.* ReoV isolated from SARS patients. *Chin Sci Bull* 2003 ; 48 : 1293-6.
65. He C, Yang Q, Lei M, *et al.* Diffuse Alveolar Lesion in BALB/c Mice Induced with Human Reovirus BYD1 Strain and its Potential Relation with SARS. *Exp Anim* 2006 ; 55 : 439-47.
66. He C, Pang W, Yong X, Zhu H, Lei M, Duan Q. Experimental infection of macaques with the human reovirus BYD1 strain : an animal model for the study of the severe acute respiratory syndrome. *DNA Cell Biol* 2005 ; 28 : 491-5.
67. Casrouge A, Zhang SY, Eidenschenk C, *et al.* Herpes simplex virus encephalitis in human UNC-93B deficiency. *Science* 2006 ; 314 : 308-12.
68. Zhang SY, Jouanguy E, Ugolini S, *et al.* TLR3 deficiency in patients with herpes simplex encephalitis. *Science* 2007 ; 317 : 1522-7.
69. Frantidou F, Kamaria F, Dumaidi K, Skoura L, Antoniadis A, Papa A. Aseptic meningitis and encephalitis because of herpesviruses and enteroviruses in an immunocompetent adult population. *Eur J Neurol* 2008 ; 15 : 995-7.
70. Lhekwaba UK, Kudesia G, McKendrick MW. Clinical features of viral meningitis in adults : significant differences in cerebrospinal fluid findings among herpes simplex virus, varicella zoster virus and enterovirus infections. *Clin Infect Dis* 2008 ; 47 : 783-9.
71. Mailles A, Vaillant V, Stahl JP. Infectious encephalitis in France from 2000 to 2002 : the hospital database is a valuable but limited source of information for epidemiological studies. *Med Mal Infect* 2007 ; 37 : 95-102.
72. Davison KL, Crowcroft NS, Ramsay ME, Brown DWG, Andrews NJ. Viral Encephalitis in England, 1989-1998 : what did we miss ? *Emerg Infect Dis* 2003 ; 9 : 234-40.