

Faculté de médecine de Constantine

4^e année pharmacie

Cours de Microbiologie

Année universitaire : 2023/2024

Coronavirus

Pr. L. BECHIR

Plan du cours

Introduction

- I. Classification
- II. Propriétés virologiques
- III. Les coronavirus humains endémiques
- IV. Les coronavirus émergents

Conclusion

Introduction

- Les coronavirus (CoV) sont une grande famille de virus qui provoquent des maladies allant du rhume à des maladies plus graves telles que le syndrome respiratoire aigu sévère .
- Large **réservoir animal** et **plasticité génomique** remarquable → virus à fort **potentiel évolutif** → **franchissement de la barrière d'espèce**.
- On connaît à ce jour **7 espèces** de coronavirus capables d'infecter l'humain:
- **4 espèces** de coronavirus humains (**HCoVs**) **endémiques** qui sont responsables d'infections respiratoires **saisonnnières** fréquentes le plus souvent **bénignes** chez l'immunocompétent.
- Au cours des vingt dernières années, **trois** nouveaux coronavirus ont **émergé** dans la population humaine à partir d'un **réservoir animal** provoquant des **infections sévères** avec une **mortalité élevée**:
 - ❖ Le **SARS-CoV-1**: aujourd'hui disparu.
 - ❖ Le **MERS-CoV** dont la circulation zoonotique, liée à son hôte animal le dromadaire, est quasiment restreinte à la péninsule arabe.
 - ❖ Le **SARS-CoV-2**, agent de la Covid-19 est responsable d'une **pandémie majeure** actuellement en cours d'évolution.

I. Classification :

Ordre	Nidovirales
Famille	Coronaviridae
Sous-famille	Coronavirinae
Genres	Alphacoronavirus: HCoV-229E (1966) et HCoV-NL63 (2004) Betacoronavirus: * Clade A: HCoV-OC43 (1967) / HCoV-HKU1 (2005) * Clade B: SARS-CoV-1 (2003) / SARS-CoV-2 (2019) * Clade C: MERS-CoV (2012)

II. Propriétés virologiques :

Structure:

- Les coronavirus doivent leur nom à leur morphologie « **en couronne** » en microscopie électronique.

- Virus **enveloppés** sphériques de 80 à 200 nm de diamètre.
- Nucléocapside à symétrie **hélicoïdale** portant la protéine **N**.
- L'enveloppe comporte :

La protéine S :

- Glycoprotéine transmembranaire.
- Forme des **spicules** à la surface du virion → **aspect en couronne**
- Rôle majeur dans le **pouvoir infectieux** du virus: **attachement** au récepteur cellulaire, **fusion** des membranes virales et plasmatiques.
- Principal inducteur **d'anticorps neutralisants**.

Protéine d'enveloppe E :

- Rôle dans la **production** et la **maturation** des particules virales.

Hémagglutinine Estérase :

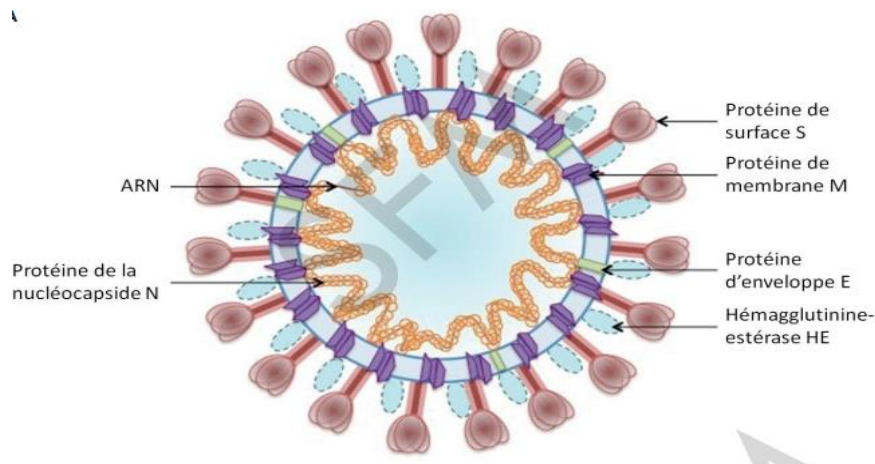
- Présente uniquement chez les **Betacoronavirus du clade A**.

La protéine M :

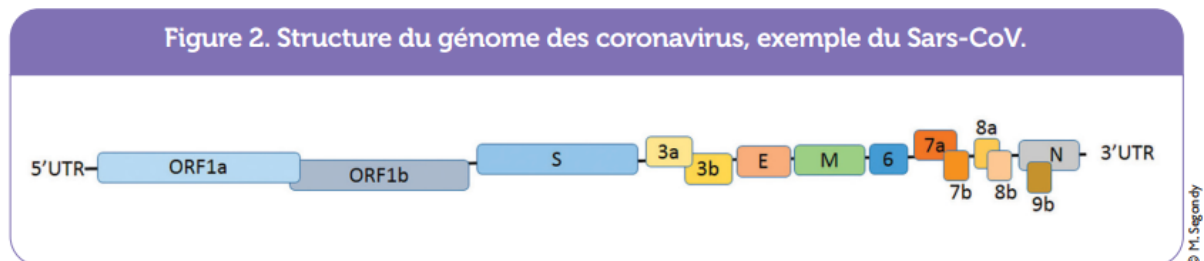
- **Rôle structural** majeur: interagit avec toutes les autres protéines structurales, sa liaison avec la protéine N **stabilise la nucléocapside**.
- Requise pour **l'assemblage** des particules virales.

Protéine de la nucléocapside N :

- Etroitement **liée** à l'**ARN** génomique.
- Présente des **interactions** avec les **protéines de l'enveloppe**.



- Le génome est un **ARN** monocaténaire de polarité **positive** d'une taille de l'ordre de **30 kilobases**, ce qui en fait **le génome le plus grand chez les virus à ARN**.
 - À l'extrémité 5' du génome les cadres de lecture **ORF1a** et **ORF1b** codent 16 protéines non structurales (ns1 à ns16)
 - A l'extrémité 3' se trouvent les cadres de lecture codant les protéines structurales **S (spike)** **E (enveloppe)**, **M (membrane)** et **N (nucléocapside)**



☐ Tropisme :

- Au sein de l'organisme infecté, le **tropisme** des coronavirus est **multiple**.
- Chez l'homme, pour les coronavirus classiques, il est **triple** : **respiratoire**, **digestif** et **neurologique**.
- La **spécificité d'hôte** et le **tropisme** tissulaire sont essentiellement déterminés par la **distribution** et la **nature des récepteurs** cellulaires:
 - SARS-CoV (1 et 2) et HCoV-NL63 = ACE2 (enzyme de conversion de l'angiotensine 2)
 - MERS-CoV = Dipeptidyl peptidase 4 (DPP4)
 - HCoV-229E = Aminopeptidase N (hAPN)
 - HCV-OC43 = glycoprotéines contenant de l'acide sialique

☐ Multiplication virale : exclusivement intracytoplasmique en plusieurs phases (6 à 8 heures):

-**Attachement** : liaison entre la protéine de surface S1(domaine RBD) et un récepteur cellulaire

-**Pénétration** par fusion ou endocytose.

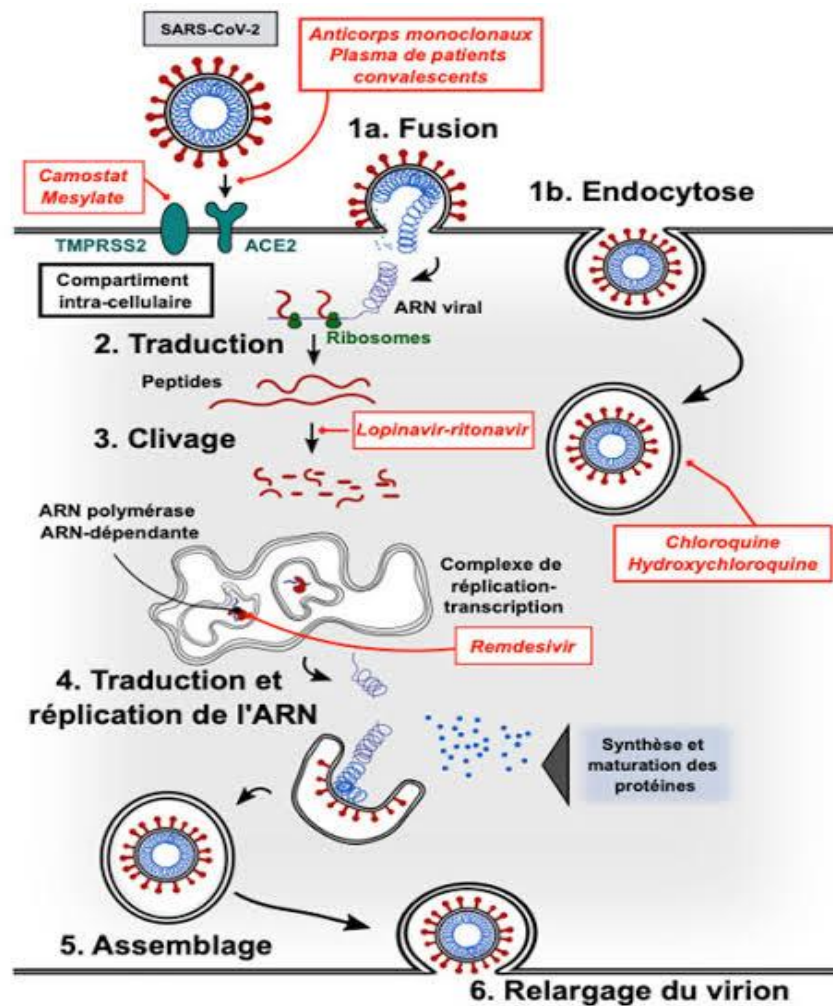
- **Traduction primaire**: synthèse de l'ARN polymérase ARN-dépendante

-**Réplication et Transcription** : L'ARN génomique viral (+) est transcrit en un brin d'ARN (-) → brins (+) d'ARNm et ARN génomique

-**Traduction des ARNm** au niveau des ribosomes en protéines structurales et non structurales.

-**Maturation et assemblage**: au niveau de l'appareil de Golgi et du réticulum endoplasmique.

- **Libération** par exocytose.



□ Evolution

La diversité génétique des coronavirus est liée à plusieurs facteurs:

- Apparition et sélection de **mutations ponctuelles** (gène de la protéine S de surface+++): infidélité de l'ARNp ARN dépendante
- **Indels: insertions et délétions**
- **Recombinaisons**

→Franchissement de la barrière d'espèces (Réservoir animal) → Risque d'émergence important

III- Les coronavirus humains endémiques : **HCoV-229E, HCoV-OC43, HCoV-NL63 et HCoV-HKU1**

❑ **Epidémiologie:**

- Bien qu'étant des **virus humains**, les HCoVs ont émergé à un certain moment à partir d'un réservoir animal, les virus d'origine étant des **chiroptères** (HCoV-229E, HCoV-NL63) ou des **rongeurs** (HCoVOC43, HCoV-HKU1)
- La transmission se fait essentiellement par **gouttelettes respiratoires** (toux, éternuements) ou par voie **manuportée**.
- Les HCoVs sont responsables **d'infections respiratoires** survenant sous forme de cas **sporadiques** ou de **petites épidémies**.
- Ce sont des infections à **incubation courte** (deux à trois jours), **saisonnnières** (de l'automne au printemps) et touchant **toutes les tranches d'âge**.

❑ **Pouvoir pathogène:**

Infections respiratoires hautes

- La rhinite est le principal symptôme associé à l'infection par les coronavirus.
- 2^e agent du rhume après les Rhinovirus (incidence globale ~15%)
- HCoV-NL63 est plus spécifiquement responsable de laryngites obstructives (croup)

Infections respiratoires basses:

- Plus rares, sujets fragilisés ou immunodéprimés (greffe, chimiothérapie, âges extrêmes...)

❑ **Diagnostic des infections à HCoVs**

- Repose actuellement sur l'identification des virus par des techniques d'**amplification génique**.
- Ce sont essentiellement des **tests multiplex** détectant les principaux pathogènes respiratoires.

IV- Les coronavirus émergents : **SARS-CoV-1, MERS-CoV et SARS-CoV-2**

A/ SARS-CoV -1: Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 1

Coronavirus du syndrome respiratoire aigu sévère

Données épidémiologiques

- Apparu en novembre **2002** dans la province du Guangdong en **Chine**.
- Puis augmentation rapide du nombre de cas, en particulier chez les **professionnels de santé**.
- juillet **2003**: l'OMS considérait que l'épidémie était endiguée.
- Au total, cette épidémie qui aura duré un **semestre** a affecté plus de **8 000** personnes dans 32 pays, essentiellement en Chine et à Hong Kong, occasionnant environ **800** décès → Taux de mortalité d'environ **10%**
- Origine du virus : certains animaux sauvages : **chauves-souris** (hôtes naturels), **Civettes** (Hôtes intermédiaires)
- Transmission essentiellement par voie respiratoire, la voie manuportée est peu fréquente.
- Contagiosité modérée, le taux de reproduction (R0) est de l'ordre de 2.

Clinique

- Incubation de 4 à 6 jours.
- Syndrome pseudogrippal avec parfois des symptômes digestifs.
 - 80% évolution spontanément résolutive dans une semaine.
 - 20% syndrome de détresse respiratoire aigue.

B/ MERS-CoV : Middle-East Respiratory Syndrome Coronavirus

Coronavirus du syndrome respiratoire du Moyen-Orient

Données épidémiologiques:

- Détecté pour la première fois en **2012** en **Arabie saoudite**
- Depuis, 27 pays ont signalé des cas de MERS: Arabie saoudite, Péninsule arabique, Tunisie, Algérie (2014), Égypte, Corée du sud..
- mortalité d'environ **35%**

- Réservoir:

Hôtes naturels: chauves souris

Hôtes intermédiaires: **dromadaires**

- Transmission : les humains se contaminent au **contact des dromadaires** (virus endémique chez les dromadaires de la péninsule arabique infectés de manière asymptomatique)
- Le virus est **peu transmissible d'homme à homme** ($R_0 < 1$) les cas de transmission interhumaine ayant été principalement des infections nosocomiales.

☐ Clinique

- Incubation: en moyenne 5-6 jours.
- Pneumopathie: Toux, dyspnée et fièvre.
- Formes graves avec syndrome de détresse respiratoire aigue.
- Le décès fait suite à une insuffisance respiratoire aigue pouvant être associée à une défaillance multi-organe.

C/ SARS-CoV -2: Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 2

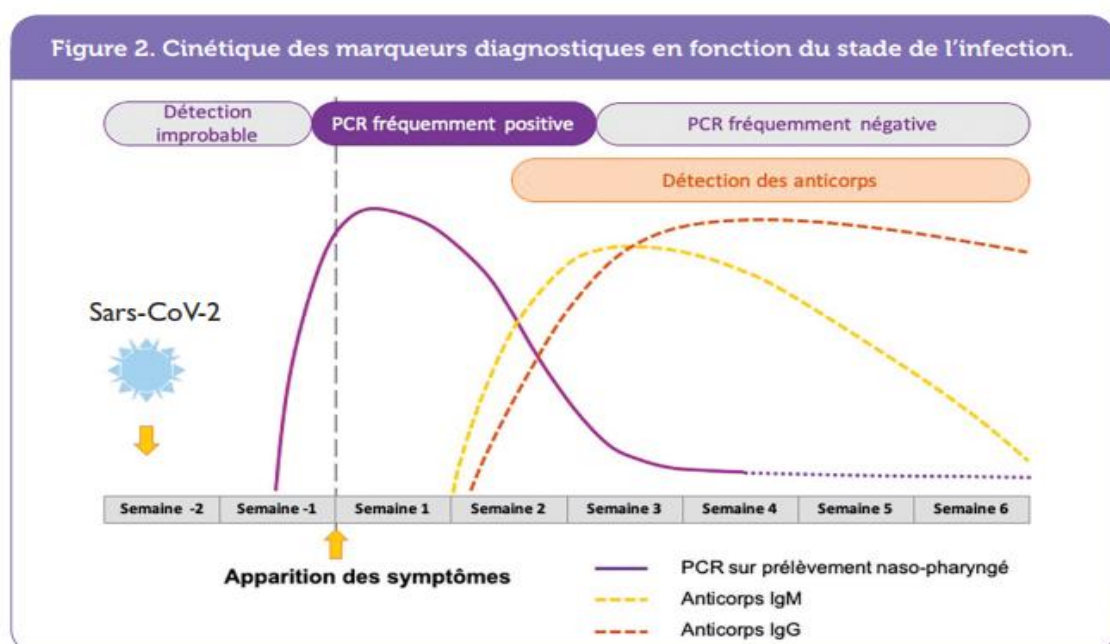
☐ Données épidémiologiques :

- Le 30 **décembre 2019** : déclaration d'un cluster de pneumonies inexplicables à Wuhan, en Chine.
- Le 11 **février 2020** : le nouveau virus, d'abord appelé 2019-nCoV (2019-nCoV) a été officiellement dénommé **SARS-CoV-2** par l'ICTV (International Committee on Taxonomy of Viruses), en se basant sur l'analyse phylogénétique.
- Quant à la maladie causée par ce virus, elle a été dénommée **COVID-19** par l'OMS.
- Le 11 **mars 2020** : l'OMS a déclaré **l'état de pandémie**.
- **Mars 2023**: 760 M de cas confirmés et près de 7M de décès
- Réservoir: les **chauves souris**
- L'hôte intermédiaire entre la chauve-souris et l'Homme (s'il existe) est probablement le **pangolin**.
- Transmission interhumaine **directe** par voie **respiratoire** ou indirecte manuportée
- Excrétion abondante par les sujets asymptomatiques → favorisant sa diffusion

☐ Clinique:

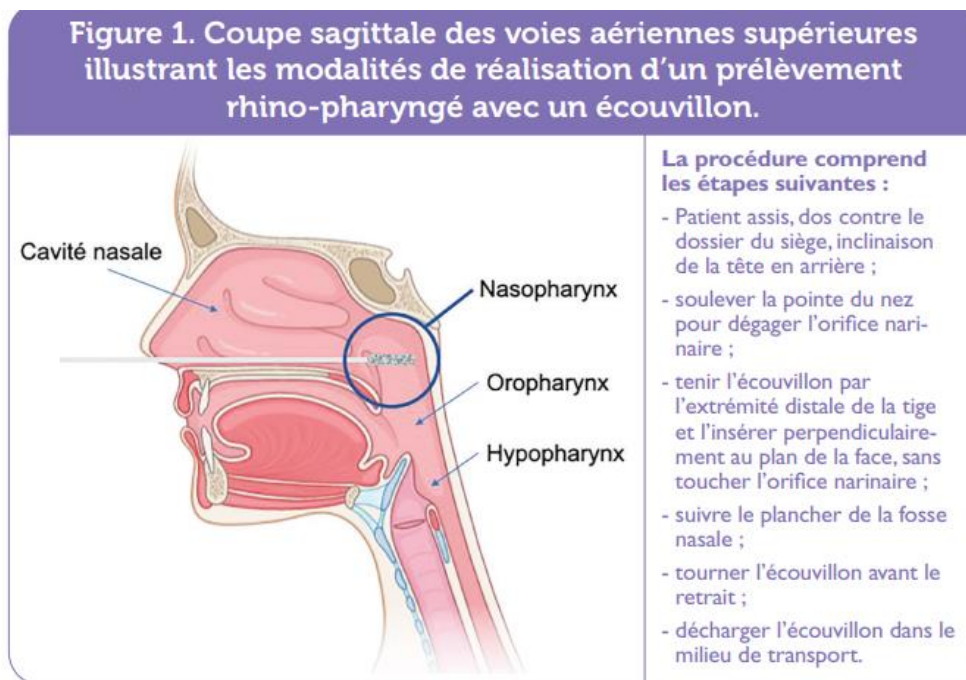
- Clinique très riche, probablement due à la distribution **multiviscérale** du récepteur **ACE2**
- Incubation: 14jrs en moyenne
- Les symptômes de la COVID-19 ne sont **pas spécifiques**: fièvre, toux, asthénie, céphalées, dyspnée, anosmie, agueusie, myalgie, diarrhée
- Evolution en deux phases :
 - **Phase infectieuse virale** d'une semaine.
 - Suivie d'une **phase inflammatoire** et inconstante, qui commence vers le 7^e j du début des symptômes. Elle est marquée par la dyspnée et les images radiologiques en verre dépoli.
- **Trois tableaux** peuvent se distinguer :
 - Forme bénigne avec ou sans manifestation clinique patente.
 - Forme modérée à sévère avec dyspnée, toux douloureuse gênante, une imagerie pathologique.
 - Forme grave avec dyspnée importante, SDRA dans un délai médian de 8 jours (tempête cytokinique due à l'hyper-inflammation)
- **Létalité** : comprise entre **2 et 3 %** mais variable selon les pays, la pyramide des âges, les comorbidités, le taux de dépistage virologique ainsi que de l'exhaustivité de la déclaration des décès associés à la Covid-19.

☐ Diagnostic virologique:



Prélèvements

- La recherche de l'ARN et des Ag viraux se font sur :
 - Des prélèvements des voies respiratoires supérieures : écouvillonnage nasopharyngé, oropharyngé ou nasal
 - Des échantillons des voies respiratoires inférieures comme les expectorations, les aspirations endotrachéales ou les lavages broncho alvéolaires chez les patients présentant une maladie respiratoire plus sévère.
- Vu le risque élevé d'aérosolisation, des mesures appropriées sont à respecter pour assurer la sécurité des préleveurs.
- Les prélèvements sont adressés dans un milieu de transport virologique, protégés par un triple emballage et acheminés dans des glacières comportant des accumulateurs de froid et ce, dans les plus brefs délais.
- Du sang pour la sérologie.
- Une fiche de renseignements bien remplie doit accompagner chaque prélèvement.



1-Tests d'amplification des acides nucléiques (TAAN): RT-PCR en temps réel

- Gold standard.
- Repose sur l'amplification des gènes **conservés** du SARS-CoV-2 (**Orf 1ab** (RdRp), **N** et **E**)
- Positive chez des individus infectés qu'ils soient **symptomatiques ou non**.
- Se positive dès le **premier jour** des symptômes.
- La détection est possible jusqu'à **deux à trois semaines** après.

- Cette technique présente une très bonne **sensibilité et spécificité**.
- Cependant, des résultats **faussement négatifs** peuvent apparaître, et sont en rapport avec
 - Une charge virale faible.
 - Une mauvaise qualité du prélèvement (prélèvement pauvre en cellules)
 - Le moment du prélèvement (trop précoce ou trop tardif)
 - La présence d'inhibiteurs de PCR, ainsi que les conditions d'acheminement du prélèvement.
- Un test positif ne **préjuge pas de la contagiosité** du patient, mais seulement de la présence du génome du virus.

2-Tests rapides de détection d'antigènes

Indications:

- Diagnostic des patients symptomatiques dans les premiers jours après l'apparition des symptômes
- Dépistage des individus contagieux (avec une excrétion virale importante)

Techniques et interprétation :

- Les tests existants sont des tests d'immunochromatographie.
- Permettent la détection de l'une des protéines du SARS-CoV-2 (généralement la protéine N de la nucléocapside)
- Leur principal avantage est le délai de rendu de résultats (10-15 minutes)
- La sensibilité de ces tests antigéniques est moindre que celle de la PCR, néanmoins, elle dépend du moment du prélèvement.

3-Séquençage:

Outil important pour le typage de tous les virus, permet:

- l'identification et la confirmation correctes de l'agent viral causal.
- Établissement des liens avec des isolats et séquences précédents.
- Détermination, en particulier pendant une épidémie, des mutations nucléotidiques donc évaluer la divergence moléculaire → Identification des **variants viraux**.
- Intérêt épidémiologique+++

4-Détection des immunoglobulines anti-Sars-CoV-2 (Sérologie)

La sérologie est généralement positive 1 à 3 semaines après le début de l'infection

Techniques et Interprétation

- Permet de détecter les anticorps de type IgM, de type IgG totaux ou spécifiques (anti S, anti-RBD ou anti-N) chez des patients ayant contracté la COVID-19 ou vaccinés.
- Les techniques sont basées sur l'ELISA, la Chimiluminescence ou l'ICT
- Un résultat positif ne veut pas dire que le patient est immunisé (les Acs ne sont pas tous neutralisants, seuil protecteur inconnu)

❑ **Traitement:**

- **Traitement symptomatique:** Oxygénothérapie, corticothérapie, antalgiques, anticoagulants, antibiotiques (prévenir la surinfection bactérienne)
- **Traitement spécifique:**

Médicaments antiviraux:

- Visent à bloquer la multiplication du SARS-CoV-2 après contamination.
- Doivent être rapidement administrés, dès les premiers symptômes
- **PAXLOVID** (association Nirmatrelvid/Ritonavir)

Les anticorps monoclonaux :

- Visent à bloquer l'action du virus sur les cellules cibles
- Très sensibles aux mutations (Inefficaces contre l'Omicron)

- ❑ **Vaccination:** 3 types de vaccins (vaccins classiques inactivés, vaccins à vecteur et vaccins à ARN messenger)

Conclusion

- ❖ Les coronavirus sont des virus très **diversifiés** dans la **faune sauvage** et **domestique**, doués pour le **passage inter-espèces** et **l'émergence**.
- ❖ Vu l'impact des **activités humaines** sur les écosystèmes, la diversité des coronavirus et leurs capacités d'évolution, on peut s'attendre à moyen terme à **l'émergence** chez l'animal, mais aussi chez l'humain de **coronavirus nouveaux**, potentiellement pathogènes.