

Coronavirus

Dr Marianne Burgard
Praticien Hospitalier
Service de virologie.
CHU Necker – Enfants Malades

Coronavirus : historique

Virus des bronchites infectieuses aviaires (IBV) :1937

Virus de l'hépatite de la souris (MHV): 1949

Virus des gastro-entérite du porc (TGEV) : 1946

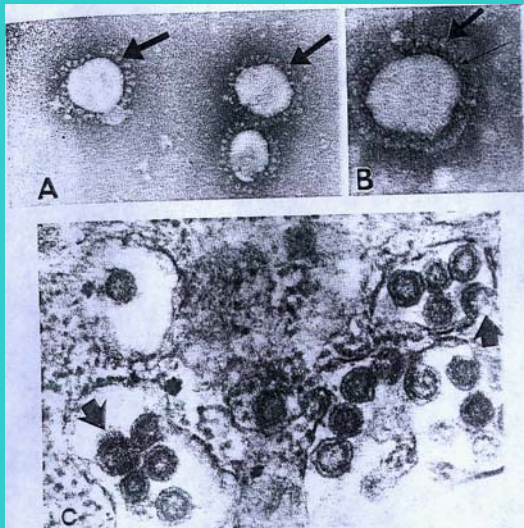
**Coronavirus humain: en 1965
(isolés de prélèvements respiratoires)
B814, 229E....**

**« Coronavirus like particles »
(prélèvements de selles par ME)**

Famille des Coronaviridae

Groupe antigénique	Virus	Hôte	Infection Respiratoire	Infection Digestive	Hépatite	Infection Neurologique
I	HCV-229E	Homme	+			
	TGEV	Porc	+	+		
	CCV	Chien			+	
	FECV	Chat			+	
	FIPV	Chat	+	+	+	+
	RbCV	Lapin				
II	HCV-OC43	Homme	+	?		
	MHV	Souris	+	+	+	+
	SDAV	Rat				+
	HEV	Porc	+	+		+
	BCV	Vache			+	
	RbEVC	Lapin			+	
	TCV	Dinde	+	+		
III	IBV	Poulet	+		+	

Aspect des coronavirus en microscopie électronique



A: Coronavirus humain HCV-OC43

B: Coronavirus entérique De la dinde TCV

C: Coronavirus humain dans des cellules humaines infectées

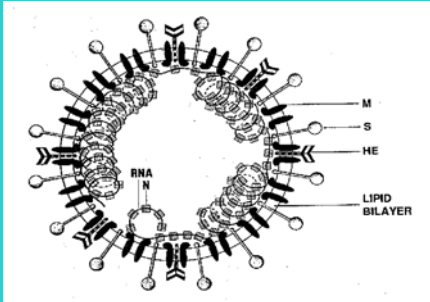
D'après Homes et col dans « Fundamental Virology », chapitre 18.

Structure des Coronavirus

Taille: 100 à 150 nm

Enveloppe:
 protéine de membrane M
 glycoprotéine S
 Petite protéine d'enveloppe E
 hémagglutinine (gpe II) HE

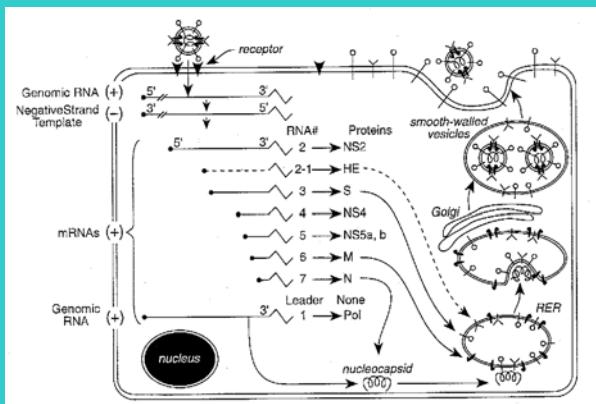
Nucléocapside hélicoïdale
 phosphoprotéine N
 ARN + (27 à 32 kb)



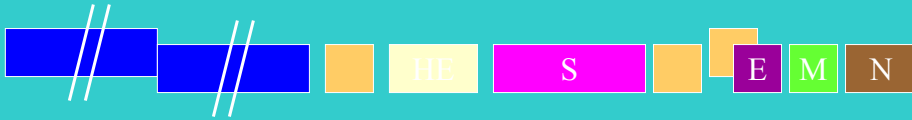
Réplication des coronavirus

Récepteur cellulaire
 HCV-229E:
aminopeptidase N
 (cellules intestin,
 poumon, rein,
 macrophage)

Les néovirions
 naissent entre
 le RER et l'appareil
 de Golgi



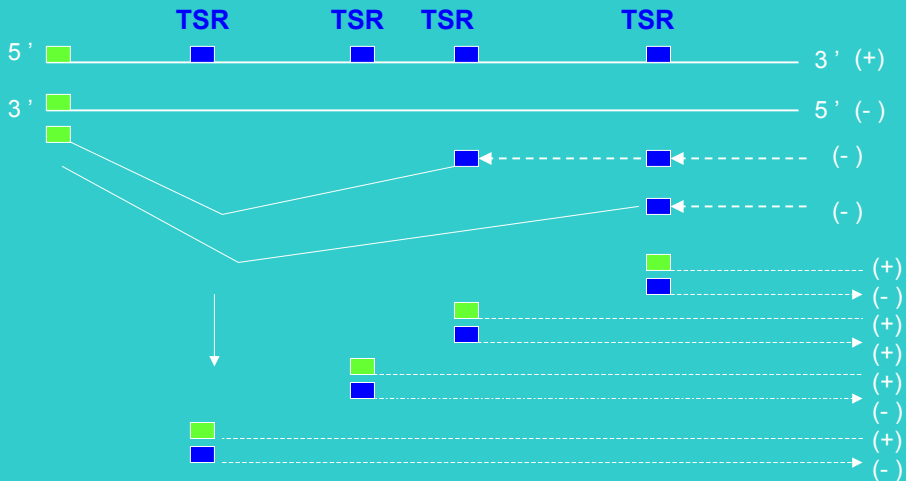
Génome des coronavirus (ARN de 30 kb)



<p>60% génome 20 kb 2 ORF ARN polymérase (rep) ATPase hélicase Protéase</p>	<p>Protéines d'enveloppe (Hémagglutinine) Glycoprotéine S Petite protéine d'enveloppe E Glycoprotéine M</p>	<p>Nucléoprotéine N</p>
--	--	--------------------------------

MHV: coronavirus de la souris

«Transcription discontinue» des coronavirus



■ TSR = Séquences Régulatrices de Transcription ■ Séquence Leader

Evolution génétique des coronavirus

Fréquentes recombinaisons génétiques: (25%)
(liée au phénomène de la transcription discontinue)
en culture et naturellement
homologue: entre souche aviaires
hétérologue: entre souches du groupe II et influenzae C

Délétions de l'ARN génomique:
en culture

Fréquentes mutations:
(erreur de l'ARN polymérase)

Coronavirus humains respiratoires: Épidémiologie

Séroprévalence chez les adultes¹ :

100% et 87% pour OC43 en GB et en Irak
94% et 86% pour 229E en Gb et en Irak

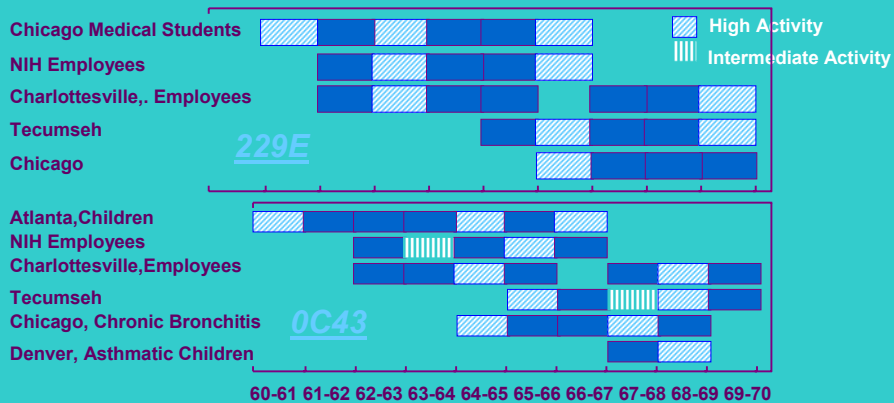
Epidémies hiverno-printanières, environ tous les 2 ans

Incidence des infections à coronavirus
chez les sujets atteints d'infections respiratoires hautes²:

1% en dehors des épidémies
35% en pic épidémique

¹Hasony et col, 1982; ²McIntosh et col, 1973

Cycle épidémiologique des coronavirus humains 229E et OC43



D'après McIntosh dans Virology, chapitre 35.

Coronavirus humains respiratoires: aspects cliniques

Infection expérimentale de 103 volontaires sains¹:

50% développent un rhume

Incubation moyenne de 3,3 jours

durée moyenne de 7 jours

symptômes associés:

malaise (50%), céphalées (85%),

frissons (31%), fièvre (23%)

Épidémie chez les « marines » américains²

**Pneumopathie et réactions pleurales
dans 30% des cas**

¹ Bradburne et col, 1967, ²Wenzel et col, 1974

Diagnostic des infections à coronavirus

**Diagnostic sérologique :
ELISA spécifiques des virus type 229E et OC43**

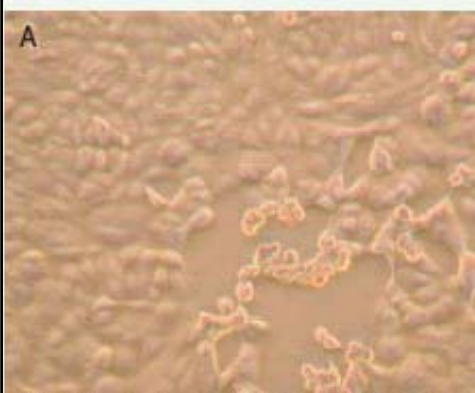
Selles: ME avec aspect en «couronne »

**Culture cellulaire difficile:
lignée intestinale MA -177++**

La biologie moléculaire +++

Découverte du SARS-coronavirus

Culture du SARS virus

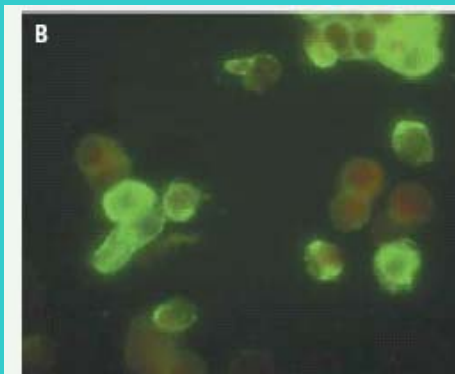


ECP dans les
cellules Vero
(5^{ème} jour)

Foyer de cellules
arrondies et réfringentes
Destruction
de la couche cellulaire

Ksiazek et al, 10 avril 2003, N Engl J of Medicine

Révélation de la culture du SARS-virus par immunofluorescence



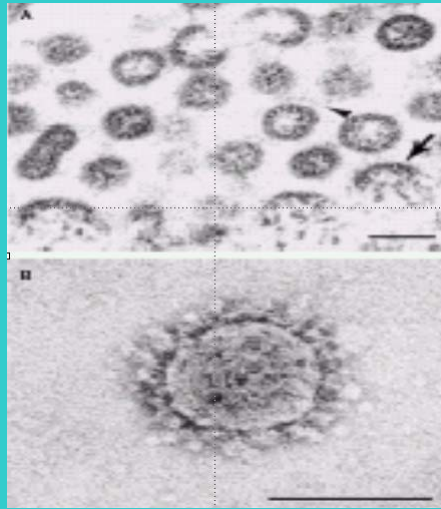
Révélation avec un
sérum de
patient convalescent

IF positive
sérum anti-229E
et FiPV

IF négative avec anticorps
Anti -CorV gpe II et III

Ksiazek et al, 10 avril 2003, N Engl J of Medicine

Mise en évidence d'un coronavirus par ME



Ksiazek et al, 10 avril 2003, N Engl J of Medicine

Mise en évidence directement dans les prélèvements par ME

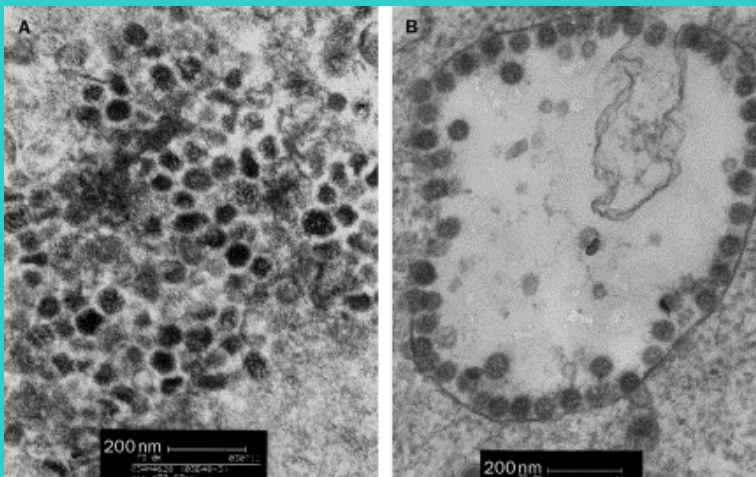


Figure 2. Thin-section electron micrograph of lung biopsy sample from patient with SARS (A) and of human pneumonia-associated coronavirus infected cells (B)

Diagnostic sérologique du SARS:

ELISA ou IF indirecte
cellules Vero infectées par le SARS-virus¹

Tous patients atteints:
séroconversion
augmentation d'au moins 4 fois le titre d'anticorps

80 patients atteints d'une autre infection respiratoire: tous négatifs
>200 donneurs de sang américains: tous négatifs

Sérum de patients convalescents ne réagissent pas
avec des anticorps anti-OC43 et anti-229E.

¹ Peiris et col, 8 avril 03, Lancet

² Ksiazek et al, 16 avril 03, N Engl J of Medicine

Diagnostic virologique du SARS: la biologie moléculaire

RT-PCR avec des « random hexamers »
Clonage et séquençage des produits de PCR
Comparaison dans les banques de données ^{1,2}

Mise au point de PCR spécifiques:
Cible fragment BNI (ARN polymérase)
PCR temps réel avec quantification par une
Gamme d'un standard ARN transcript in vitro²

¹ Peiris et col, 8 avril 03, Lancet

² Drosten et col, 16 avril 03, N Eng J Medicine

Les prélèvements (recommandations OMS, 29/04/03)

Prélèvements respiratoires (culture, PCR, ME) :

aspiration naso-pharyngée +++

> 100 million de copies/ml

écouvillonnage naso/oro pharyngé (milieu de transport)

LBA, aspiration trachéale

liquide pleural

Sang (culture, PCR):

faible concentration

Selles (culture, PCR, ME):

forte concentration, pic à 10 jours

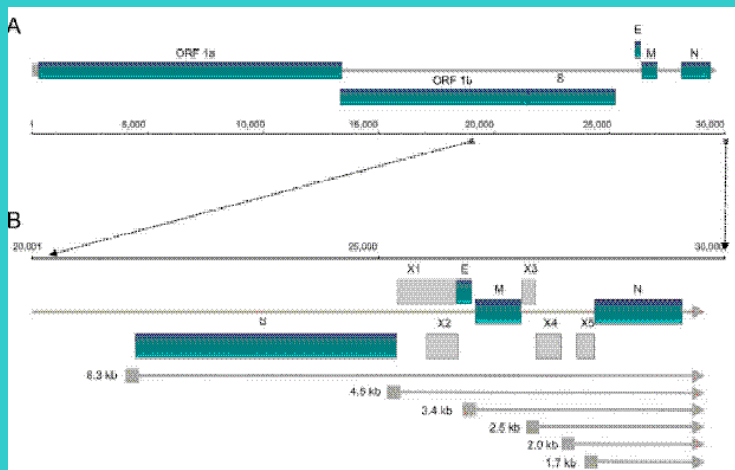
Urines (culture, PCR):

présent dans la phase aiguë, concentration?

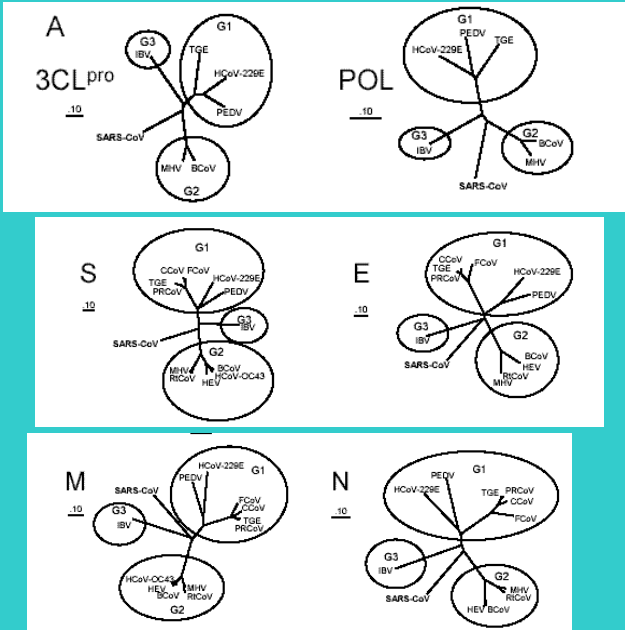
Sérum (détection d'anticorps)

aigu (7 premiers jours) et convalescent (3 à 4 semaines)

Séquencage complet de l'ARN génomique du SARS-virus



Analyse phylogénétique du génome du SARS virus



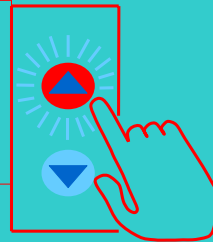
Le SARS-virus appartient à un nouveau Groupe IV

Marra et col, Rota et col, Science, Mai 03

Résistant du SARS: WHO laboratory network



Propagation possible par le contact avec des objets contaminés: 2 jours sur des surfaces plastiques à température ambiante



L'eau de javel, l'acétone, formaldéhyde à 10%, l'éthanol à 70%, phénol à 2% peuvent tuer le virus en 5 minutes

Le virus peut survivre jusqu'à 2 jours dans les matières fécales et les urines humaines à température ambiante



Le virus peut survivre 3 semaines à des températures inférieures à 0

