



الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
RÉPUBLIQUE ALGÉRIENNE DÉMOCRATIQUE ET POPULAIRE

وزارة التعليم العالي و البحث العلمي
MINISTÈRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPÉRIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE



Université des Frères Mentouri Constantine
Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie

جامعة الاخوة منتوري قسنطينة
كلية علوم الطبيعة و الحياة

Département : Microbiologie

قسم : الميكروبيولوجيا

Mémoire présenté en vue de l'obtention du Diplôme de Master

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie

Filière : Sciences Biologiques

Spécialité : Biologie Moléculaire des Microorganismes

Intitulé :

Le coronavirus du syndrome respiratoire aigu sévère (SRAS-CoV)

Présenté et soutenu par : Boukhalfa Asma

Le : 08/10/2020

Boukhalfa Djihene

Jury d'évaluation :

Président du jury : M^r Benhaizia Yacine (Professeur- UFM Constantine).

Rapporteur : M^r Kitouni Mahmoud (Professeur- UFM Constantine).

Examineurs : M^{me} Oulmi Lamia (Maître de conférences B - UFM Constantine).

*Année universitaire
2019- 2020*

Remerciement

On remercie Dieu le tout puissant de nous avoir donné la santé et la volonté d'entamer et de terminer ce mémoire.

Tout d'abord ce travail ne serait pas aussi riche et n'aurait pas pu avoir ce jour sans l'aide de l'encadrement de Monsieur **Kitouni Mahmoud** (Professeur à l'Université des frères Mentouri Constantine I). On le remercie pour la qualité de son encadrement exceptionnel, pour sa patience, sa rigueur et sa disponibilité durant la préparation de notre mémoire.

Nos remerciements s'adressent à Monsieur **Benhaizia Yacine** (Professeur à l'Université des frères Mentouri Constantine I) d'avoir accepté de présider le jury et Madame **Oulmi Lamia** (Maître de conférences classe B à l'Université des frères Mentouri Constantine I) d'avoir accepté d'examiner notre modeste travail.

Nos remerciements s'adressent également à tous nos professeurs pour leur générosité et la grande patience dont ils ont su faire preuve malgré leur charge académique et professionnelle, Dans l'impossibilité de citer tous les noms, nos sincères remerciements vont à tous ceux et celles, qui de près ou de loin, ont permis par leurs conseils et leurs compétences la réalisation de ce mémoire.

Enfin, on n'oserait oublier de remercier tout le corps professoral de notre université, pour le travail énorme qu'il effectue pour nous créer les conditions les plus favorables pour le déroulement de nos études.

Merci à vous

Dédicace

J'aimerais, avant tout propos, exprimer ma reconnaissance à l'Éternel, mon Dieu pour ce que je suis car aucune vraie réussite n'est possible sans lui. Qu'il me soit permis ici de lui rendre témoignage pour les merveilles qu'il ne cesse d'accomplir dans ma vie.

Je dédie ce modeste travail :

A mes très chers parents "ZIDENE" et "WAHIBA", en témoignage et en gratitude de leur dévouement et leur soutien permanent durant toutes mes années d'études, leur sacrifices illimités, leur réconfort moral et tous les efforts qu'ils ont consentis pour mon éducation et mon instruction pour me voir réussir un jour.

Que Dieu les gardes inshallah.

A mes chères sœurs "TASNIME" et "RADJA" mes adorables perles précieuses.

A mon cher frère, mon prince "ABDERRAHMANE".

Que Dieu leur accorde le bonheur, la santé, la réussite et tout ce qu'ils souhaitent.

À toutes ma famille maternelle et paternelle.

A mes très chères amies, pour leur amitié sincère, leur disponibilité, leur gentillesse.

À ma binôme, ma cousine "DJIHENE", on a vécu cette expérience ensemble, merci pour ta volonté et ta patience qui nous ont permis de réaliser ce travail.

À tous mes professeurs du primaire jusqu'au niveau universitaire.

A mes collègues de la promotion de master "Biologie moléculaire des microorganismes".

Et tous ceux qui ont un jour compté dans ma vie.

ASMA...

Dédicace

Merci dieu le tout miséricordieux, ton amour et tes grâces à mon égard m'ont donné la persévérance et le courage pour accomplir ce travail.

*A ma chère mère, Aucune dédicace ne saurait exprimer mon respect, mon amour éternel et ma considération pour les sacrifices que vous avez consenti pour mon instruction et mon bien être. A la femme qui a souffert sans me laisser souffrir qui n'a jamais dit non à mes exigences et qui n'a épargner aucun effort pour me rendre heureuse : mon adorable mère **SAMIA**. Je vous remercie pour tout le soutien et l'amour que vous me portez depuis mon enfance et j'espère que votre bénédiction m'accompagne toujours.*

*A mon chère père, Mon précieux offre du dieu, qui doit ma vie, ma réussite, tout mon respect et mon exemple éternel celui qui s'est toujours sacrifier pour me voir réussir, à toi mon père : **FARID**. Que ce Modeste travail soit l'exaucement de vos vœux tant formulés, le fruit de vos innombrable sacrifices.*

*A ma sœur **MOUNA** et mes chère frères **BAHAEDDINE**, **WASSIM**, et **ABDEL MOUDJIB** qui n'ont pas cessé de me conseiller, encourager et soutenir tout au long de mes études. Merci d'être toujours là pour moi, Que dieu vous protège et vous offre la chance et le bonheur*

*A mon petit adorable neveu **ABDEL MATINE** qui sait toujours comment procurer la joie et le bonheur à mon cœur*

*A mes grands- mères, mes oncles, mes tantes, mes cousines et mes copines. Que dieu leur donne une longue et joyeuse vie. Sans oublier mon binôme **ASMA** pour son soutien moral, sa patience et sa compréhension tout au long de ce projet*

DJIHENE ...

ملخص

تعد الأمراض الحيوانية المنشأ من أكثر الأمراض الصحية المنتشرة في العالم , كفيروس نقص المناعة المكتسبة (VIH), الانفلونزا, أو حتى الايبولا فمن أهم وأبرز مسبباتها: الخفافيش و التي تعد أهم مخزن للفيروسات حيوانية المنشأ, متسببة في العديد من الأمراض الخطيرة للبشر، كفيروس داء الكلب، أو الفيروس التاجي المسؤول عن وباء المتلازمة النفسية الحادة الوحيمية (السارس) ما بين 2002 و 2003 جنوب شرق آسيا، و التي تعد كبؤرة ظهور للوباء. تحتك الخفافيش بانتظام مع البشر بسبب إستغلالهما لنفس البيئة، إضافة إلى أنشطة الصيد و كذا إستهلاك هاته الحيوانات. لا يزال إحتمال خطر إنتقال الفيروسات من الخفافيش إلى البشر ضئيلا جدا. ففي هذا السياق، و لغرض إكتشاف و وصف فيروسات كورونا، أو بشكل أدق، متلازمة الجهاز التنفسي الحادة الوحيمية SRAS-CoV المسؤولة عن تفشي المرض على مستوى العالم ما بين 2002 و 2003 مشكلة بذلك تهديدا خطيرا للصحة العامة، مما أثر على الإستقرار الإجتماعي و الإقتصادي على الرغم من سيطرة العالم على هذا الوباء (السارس)، إلا أن عودة ظهوره تثير مخاوف جدية،و ذلك لعدم توفر العلاج لحد الآن. ننتقل الآن إلى أهم المحاور التي تم التطرق إليها خلال المذكرة : حيث إستهل المحور الأول بمقدمة مختصرة عن الفيروسات ، شكلها و طريقة إنقسامها. لننتقل إلى المحور الثاني للدراسة و الذي ركز على وصف معمق و دقيق لفيروس السارس، تعريفه، دراسة تركيبه الجيني، و كذا نتائج حمضه النووي، إضافة إلى البروتينات المساهمة في دخوله للخلية و طريقة إنتقاله بينها. تلاهما المحور الثالث بتركيزه على أهم النقاط التي سمحت لنا بإجراء دراسة مقارنة بين الفيروسات الثلاثة الأكثر خطورة و المندرجة ضمن عائلة *Coronaviridae* ألا و هي-SRAS-CoV, MERS-CoV, SRAS-CoV، و CoV-2 ليتم الإنتقال للمحور الرابع و الأخير في مذكرتنا و الذي ركز على دراسة مدى إستقرار و مقاومة فيروس سارس للأدوية و المثبطات و كذا حساسيته للعناصر الفيزيائية و الكيميائية، إضافة إلى عرض و تقديم أهم التدابير الإحترازية للتصدي لهذا الفيروس .

الكلمات المفتاحية: الفيروس التاجي, *Coronaviridae* , SRAS-CoV, وباء , التركيب الجيني.

Résumé

Les zoonoses émergentes constituent un problème de santé publique majeur. A l'image des virus de l'immunodéficience humaine (VIH), influenza, ou encore Ebola, la plupart des pathogènes zoonotiques prennent leur origine chez la faune sauvage. Les chiroptères (chauve-souris) sont des réservoirs de virus zoonotiques qui peuvent provoquer des pathologies graves chez l'homme, comme le virus de la rage ou le coronavirus responsable de la pandémie du syndrome respiratoire aigu sévère (SRAS) en 2002-2003. En Asie du Sud-Est, reconnue comme un point chaud d'émergence, les chiroptères sont régulièrement en contact avec l'homme du fait de l'exploitation des mêmes environnements et des activités de chasse et de consommation de ces animaux sauvages. Le risque de transmission de potentiels virus des chiroptères à l'homme reste encore très peu étudié. Dans ce contexte l'objectif de ce mémoire, est d'éclaircir la maladie du syndrome respiratoire aigu sévère SRAS-CoV responsable de la flambée mondiale de 2002 et 2003. Elle a représenté une grave menace pour la santé publique avec un impact sur la stabilité socio-économique. Bien que l'épidémie mondiale de SRAS ait été maîtrisée, sa réémergence suscite de sérieuses inquiétudes. A ce jour, aucun traitement spécifique n'existe pour cette maladie. Ce modeste travail est divisé en plusieurs parties. La première est une petite introduction concernant les virus en général, leur forme et leur stratégie de réplication. Dans la seconde nous avons essayé de donner une caractérisation plus approfondie que possible sur le SRAS-CoV, sa définition et son épidémiologie ; L'étude de sa structure génomique et ses protéines impliquées dans l'infection et son mode de transmission. Dans la troisième partie nous avons essayé de faire une comparaison entre les trois plus dangereux virus de la famille *Coronaviridae* (SRAS-CoV, MERS-CoV, SRAS-CoV-2). La dernière partie a porté sur l'étude de la stabilité et la viabilité du SRAS-CoV aux médicaments et aux inhibiteurs aussi sa sensibilité aux éléments physiques et chimiques de plus la caractérisation de différentes mesures de précaution.

Mots clés : Coronavirus, SRAS-CoV, *Coronaviridae*, épidémie, structure génomique.

Abstract

Emerging zoonoses are a major public health problem. Like human immunodeficiency viruses (HIV), influenza, or even Ebola, most zoonotic pathogens originate in wildlife. Bats are reservoirs of zoonotic viruses that can cause serious pathologies in humans, such as the rabies virus or the coronavirus responsible for the severe acute respiratory syndrome (SARS) pandemic in 2002-2003. In Southeast Asia, recognized as a hotspot of emergence, bats are regularly in contact with humans because of the exploitation of the same environments and the hunting and consumption activities of these wild animals. The risk of transmission of potential viruses from bats to humans remains very little studied and in this context of memory, which aims to detect and characterize coronaviruses, more precisely the severe acute respiratory syndrome SARS-CoV responsible for global outbreak of 2002 and 2003 and which posed a serious threat to public health and impact on socio-economic stability. Although the global SARS epidemic has been brought under control, its re-emergence raises serious concerns, and to date, no specific treatment exists for this disease. We move on to the first line of work which focused on a small introduction concerning viruses in general their form and their replication strategy. The second axis of study aimed at a more in-depth characterization of SARS, its definition and epidemiology; The study of its genomic structure and sequencing results, the proteins involved in cell entry (capsid and spike proteins) and its mode of transmission. Then this work highlighted the essential points which allowed us to start a comparative study between the three most dangerous viruses of the *Coronaviridae* family (SARS-CoV, MERS -CoV, SARS-CoV-2). Finally, the 4th axis of research focused on the study of the stability and viability of SARS-CoV to drugs and inhibitors as well as its sensitivity to physical and chemical elements in addition to the characterization of various precautionary measures.

Keywords : Coronavirus, SARS-CoV, *Coronaviridae*, epidemic, genomic structure.

Table des matières

Résumé	i
Liste des abréviations	ii
Liste des figures	iii
Liste des tableaux	iv
Introduction	1
1 La définition des virus.....	1
2 L’histoire de l’étude des virus.....	1
3 Les constituants des particules virales.....	2
3.1 Le génome viral.....	2
3.2 La capside.....	2
3.3 L’enveloppe.....	2
4 Les critères utiliser pour distinguer les virus.....	2
4.1 La nature de l’acide nucléique.....	3
4.1.1 Les virus à ADN.....	3
4.1.2 Les virus à ARN.....	3
4.1.3 Les virus à ADN ou à ARN à transcription inverse.....	3
4.2 Les structures des particules virales.....	4
4.2.1 Les virions hélicoïdaux.....	4
4.2.2 Les virions icosaédriques.....	4
4.2.3 Les virions à enveloppe.....	4
4.2.4 Les bactériophages.....	5
5 La stratégie de réplication virale.....	5
6 Les mutations chez les virus.....	5
7 Les infections virales.....	6
7.1 Les infections virales chez les végétaux.....	6
7.2 Les infections virales chez les animaux.....	7

Table des matières

7.3	Les infections virales chez l'homme	7
8	L'histoire de la maladie du syndrome respiratoire aigu sévère	8
	Chapitre 1	10
1	L'étymologie	10
2	La définition des coronavirus	10
3	La structure et la morphologie des coronavirus	13
4	La définition du SRAS-CoV	14
5	La classification du SRAS-CoV [12].....	14
6	Le réservoir naturel du SRAS-CoV	14
7	Les symptômes	15
8	L'épidémiologie.....	15
8.1	La définition des périodes épidémiques.....	16
8.2	L'épidémie de Hong Kong	17
8.3	L'épidémie mondiale.....	17
	Chapitre 2	19
1	La structure génomique du SRAS-CoV.....	19
2	Le séquençage du SRAS-CoV.....	20
3	Les analyses phylogénétiques de la séquence du SRAS-CoV	22
4	Le cycle infectieux.....	23
4.1	L'attachement et la pénétration	23
4.2	L'expression de la protéine réplique.....	24
4.3	La réplication et la transcription	24
4.4	L'assemblage et la libération.....	25
5	Le diagnostic et les modes de transmission	26
5.1	Le diagnostic	26
5.1.1	Les tests moléculaires.....	26
5.1.2	L'isolement du virus SRAS-CoV	27

Table des matières

5.1.3	Les tests sérologiques.....	28
5.2	Les modes de transmission.....	29
5.2.1	Les voies de transmission.....	30
5.2.2	Les facteurs influençant la transmission.....	31
5.2.3	Les facteurs du patient dans la transmission.....	31
5.2.4	La transmission pendant la quarantaine.....	32
5.2.5	La transmission après récupération.....	32
Chapitre 3	33
1	L'étiologie du SRAS-CoV.....	33
2	Les récepteurs cellulaires du SRAS-CoV.....	34
2.1	Le récepteur cellulaire fonctionnel ACE2.....	34
2.2	Les lectines récepteurs potentiels.....	35
3	Le tropisme et la pathogenèse du virus SRAS-CoV.....	36
4	La comparaison des cas de SRAS et non-SRAS.....	38
5	L'étude comparative.....	39
5.1	La comparaison entre le SRAS et le COVID-19.....	39
5.1.1	Les symptômes.....	39
5.1.2	La gravité.....	39
5.1.3	La transmission.....	40
5.1.4	Les facteurs moléculaires.....	40
5.1.5	La liaison de récepteur.....	41
5.2	La comparaison du SRAS-CoV-2 avec le SRAS-CoV et le MERS-CoV.....	41
6	La propagation du virus.....	42
6.1	Chine.....	43
6.2	Hong Kong.....	44
6.3	Taiwan.....	45
Chapitre 4	47

Table des matières

1	La stabilité et la viabilité	47
1.1	La sensibilité aux médicaments	47
1.1.1	Les anticorps	47
1.1.2	Les inhibiteurs de protéase	47
1.1.3	Les inhibiteurs de l'hélicase virale	48
1.1.4	Les inhibiteurs de réplication et de transcription	48
1.2	La sensibilité aux désinfectants	50
1.3	L'inactivation physique.....	50
1.3.1	La sensibilité à la chaleur	50
1.3.2	La sensibilité au rayonnement UV et l'irradiation gamma.....	51
1.3.3	L'effet des changements de pH sur l'infectiosité du SRAS.....	51
1.4	La survie du SRAS à l'extérieur de l'hôte	52
1.4.1	La survie du SRAS-CoV dans différents échantillons de selles.....	52
1.4.2	La survie du SRAS-CoV dans différents échantillons respiratoires	52
1.4.3	La survie du SRAS-CoV sur papier, la blouse jetable imperméable et la blouse en coton non jetable	53
2	Les premiers soins et aspects médicaux.....	54
2.1	La surveillance.....	54
2.2	Les premiers soins et traitement	55
2.3	L'immunisation	55
3	Les mesures de précaution en cas de suspicion de SRAS.....	55
3.1	Les mesures de précaution visant à éviter le risque de transmission.....	56
3.1.1	Les malades, personnes ayant été en contact avec un cas suspect, personnel médical et soignant	56
3.1.2	Le matériel, la désinfection et les déchets	56
3.2	Les mesures d'isolement et de quarantaine.....	57
3.2.1	L'isolement en milieu hospitalier	57
3.2.2	L'isolement à domicile	57

Table des matières

3.2.3 La surveillance à domicile de l'état de santé des personnes ayant été en contact étroit avec des malades (quarantaine)	58
4 Les mesures individuelles de prévention de lutte contre une épidémie de SRAS..	59
4.1 Les mesures individuelles	59
4.1.1 Le lavage des mains	59
4.1.2 Le port du masque	59
4.1.3 Le contrôle de la température avant l'accès à des collectivités ou des lieux publics.....	60
4.2 Les mesures de quarantaine à domicile (pour les cas contact de cas probables et convalescents).....	60
4.3 Les conseils aux voyageurs	60
5 Les mesures collectives de prévention et de lutte contre une épidémie de SRAS .	61
Conclusion générale et perspectives	62
Références bibliographiques	63

Liste des abréviations

Liste des abréviations

ACE2 : Angiotensine 2

ADN : Acide désoxyribonucléique

ARN : Acide ribonucléique

ARNm : Acide ribonucléique messenger

ARN POL : ARN polymérase

APN : Aminopeptidase N

ATP : Adénosine triphosphate

CDC : Centers for disease control

CPE : Effet cytopathique

CSHPF : Conseil supérieur d'hygiène publique de France

CTD : Carboxy terminal domain

DC-SIGN : Dendritic cell-specific ICAM3-grabbing non-integrin

ECA : Enzyme de conversion de l'angiotensine

ELISA : Enzyme-linked immuno assay

ERGIC : Endoplasmic reticulum golgi intermediate compartement

ER : Endoplasmic reticulum

Extrémité C : Extrémité carboxyle

Extrémité N : Extrémité amine

FRhK-4 : Cellules de rein de singe rhésus foetal

Glycoprotéine S : Glycoprotéine de pointe

GTP : Guanosine triphosphate

HCoV : Humain Coronavirus

Liste des abréviations

HE : Hémagglutinine estérase

HEL : Hélicase

IBV : Infectious bronchitis virus

ICTV : International committee on taxonomy of viruses

IFA : Immunofluorescence

IFN- γ : Interféron gamma

IgM : Immunoglobulines de type M

IgG : Immunoglobulines de type G

IHC : Immuno-histochimie

IL-B1 : Interleukine 1 bêta

IL-6 : Interleukine 6

IL-8 : Interleukine 8

IL-12 : Interleukine 12

IMP : Inosine monophosphate

IP-10 : Protéine inductible par l'interféron gamma

L-SIGN : liver-specific capture receptor for hepatitis C virus

MCP-1 : Monocyte chemoattractant protein 1

MERS-CoV : Middle east respiratory syndrome coronavirus

MHV : Murine hepatitis virus

NPA : Nasopharyngeal aspirate

nsps : Non-structural proteins

NT : Neutralization test

OMS : Organisation mondiale de la santé

Liste des abréviations

ORF : Open reading frame

PCR : Polymerase chain reaction

pH : Potentiel hydrogène

PLpro : Protéase de type papaine

pp : Polyprotéines

Protéine structurale E : Protéine structurale de l'enveloppe

Protéine structurale M : Protéine structurale de la membrane

Protéine structurale N : Protéine structurale de la nucléocapside

Protéine structurale S : Protéine structurale de la pointe

RBD : Receptor-binding domain

RdRp : ARN polymérase ARN-dépendante

rep : Réplicase

RSV : Virus respiratoire syncytial

RTC : Complexe réplicase-transcriptase

RT-PCR : Reverse transcriptase PCR

RT : Température ambiante

SDR : Syndrome de détresse respiratoire

Souris KO : Souris knock-out

SRAS-CoV-2 : Coronavirus 2 du syndrome respiratoire aigu sévère

SRAS-CoV : Coronavirus du syndrome respiratoire aigu sévère

ssARN : ARN simple brin

TGEV : Virus de la gastroentérite porcine

TH 1 : Lymphocytes T auxiliaires

Liste des abréviations

TNS : Throat and nasal swab

VHC : Virus de l'hépatite C

VIH : Virus de l'immunodéficience humaine

VLP : Virus-like particles

VTM : Viral transport medium

WKV : Whole killed virus

3CL^{pro} : Chymotrypsin-like protease

Liste des figures

Figure 01: Observation microscopique des cytomégalo virus qui provoquent des infections bénignes, sauf chez les sujets immunodéprimés (Institut Pasteur/CNRI)	1
Figure 02: La structure d'un virus	2
Figure 03: Matériel génétique présent dans le virion	3
Figure 04: Structures des particules virales	5
Figure 05: Processus évolutifs des virus de l'influenza	6
Figure 06: La mosaïque du tabac	7
Figure 07: Observation microscopique du virus de l'hépatite B	8
Figure 08: Illustration 3D du SRAS-CoV-2.	10
Figure 09: Illustration 3D du MERS-CoV	11
Figure 10: Observation par microscope électronique du SRAS-CoV.....	11
Figure 11: Schéma de la nouvelle classification de <i>Coronaviridae</i>	12
Figure 12: Arbre phylogénétique de <i>Coronavirinae</i>	12
Figure 13: Modèle en coupe d'un coronavirus	13
Figure 14: Aspect clinique de SRAS-CoV	15
Figure 15: La propagation du virus dans la population	16
Figure 16: Situation épidémiologique dans le monde	18
Figure 17: Organisation du génome SRAS-CoV	20
Figure 18: Séqueçage du SRAS-CoV.....	22
Figure 19: Classification phylogénétique simplifiée des coronavirus (modifié d'après de Groot et al., 2013).....	23
Figure 20: Cycle infectieux du SRAS-CoV.....	26
Figure 21: Inoculation sur cellules vero	29
Figure 22: Identification par le test IFA	29
Figure 23: Modes de transmission	30
Figure 24: Infection par le pseudovirus SRAS-CoV. (A) Infectivité des pseudovirus du SRAS dans les cellules Vero E6	35
Figure 25: La biopsie pulmonaire ouverte du patient.....	37
Figure 26: La formation de membranes hyalines et la desquamation des pneumocytes.....	37
Figure 27: Pourcentage de patients atteints du SRAS avec diarrhée au cours des 21 premiers jours de la maladie.....	37

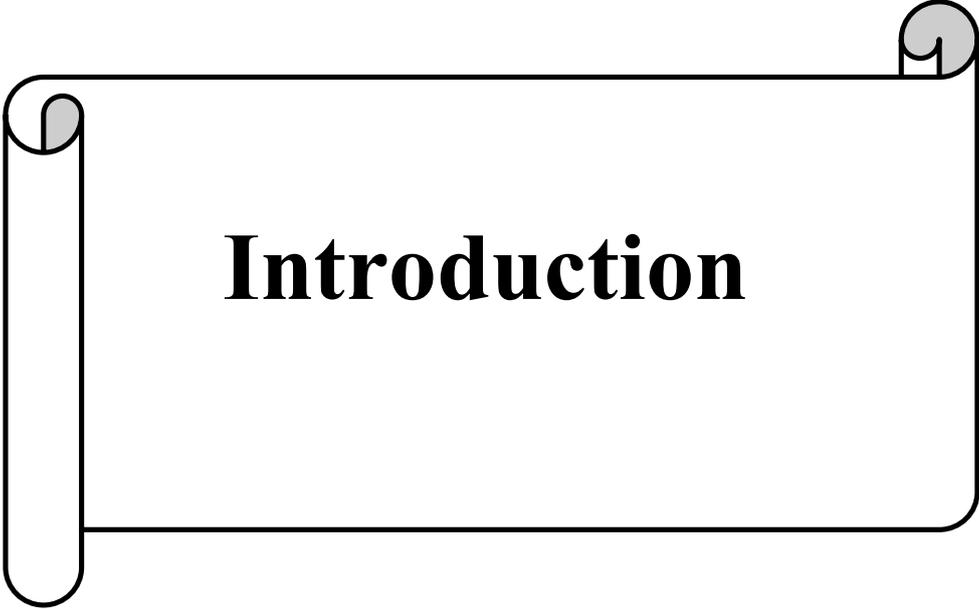
Liste des figures

Figure 28: Résultats d'analyse génomique des trois virus SRAS-CoV, MERS-CoV et SRAS-CoV-2	40
Figure 29: Evolution mondiale de la contamination (en bleu, mensuelle ; en orange, cumulative) et du nombre de décès (en rouge) au SRAS	43
Figure 30: Nombre cumulé de cas et nombre de décès dans la Chine	44
Figure 31: Nombre cumulé de cas et nombre de décès dans Hong Kong	44
Figure 32: Nombre cumulé de cas et nombre de décès dans Taiwan	45
Figure 33: Structures chimiques des inhibiteurs de l'hélicase et de la RdRp du SRAS-CoV.....	50
Figure 34: Effet du traitement thermique sur l'infectivité du SRAS-CoV	51
Figure 35: Effet des rayonnements sur l'infectiosité du SRAS-CoV	51
Figure 36: Effet des conditions de pH sur l'infectivité du SRAS-CoV	52
Figure 37: Survie du SRAS-CoV dans différents échantillons de selles.....	53
Figure 38: Temps de survie du coronavirus du syndrome respiratoire aigu sévère dans les échantillons d'aspiration nasopharyngée (NPA) , les échantillons de gorge et d'écouvillon nasal (TNS) ou le milieu de transport viral (VTM) à température ambiante (RT) et à 4 °C.....	53

Liste des tableaux

Liste des tableaux

Tableau 01: Spécificité des tests sérologiques.....	28
Tableau 02: Les différentes symptômes entre le COVID-19 et le SRAS	39
Tableau 03: Comparaison des infections grave	41
Tableau 04: Comparaison des infections grave (suite)	42
Tableau 05 : Nombre cumulé de cas de SRAS et de décès dans le monde, Novembre 2002- 7 Aout 2003.....	46
Tableau 06: Durée de survie du coronavirus du syndrome respiratoire aigu sévère (SRAS-CoV) sur papier, blouse jetable et blouse en coton	54

A graphic of a scroll with a black outline and a light gray shadow. The scroll is unrolled, showing the word "Introduction" in a bold, black, serif font. The scroll has a small circular detail at the top left and top right corners, suggesting it is a rolled-up document.

Introduction

Introduction

Depuis l'apparition de la vie, il y a près de quatre milliards d'années, des espèces nouvelles ne cessent d'apparaître, par la transformation d'espèces existantes, tandis que d'autres disparaissent. Ces phénomènes de transformation, d'apparition et de disparition d'espèces, en d'autres termes d'évolution, expliquent la grande diversité actuelle des êtres vivants [1].

Les plus anciennes manifestations de la vie remontent à 3,8 milliards d'années. Il s'agit de témoignages indirects de l'activité de micro-organismes formés d'une cellule unique de structure simple, comparable à celle des bactéries tel que les virus [1].

1 La définition des virus

Ce sont les plus petits parasites existants. Leur dépendance à l'égard de leur hôte est extrêmement forte. Cette relation parasitaire les rattache au monde du vivant, car à l'état libre ils se nomment virions. Les virus montrent des caractéristiques plus proches de celles de la matière inerte que de celles d'un être vivant [2].

Les virus sont responsables d'un grand nombre de maladies plus ou moins graves, que l'on rencontre chez tous les êtres vivants [2].

2 L'histoire de l'étude des virus

Les virus ont été découverts tardivement, à la fin du XIX^e siècle ; leur taille, quelques dixièmes de micromètres pour les plus gros, n'y est pas étrangère (Figure 01). Même Edward Jenner, qui a mis au point le vaccin contre la variole, ou Louis Pasteur, qui a découvert le vaccin contre la rage, n'ont pas pressenti leur existence. Comme un indice suggérant que leur multiplication se produit au sein même des cellules des organismes hôtes. Des expériences réalisées sur des cultures cellulaires vont confirmer cette hypothèse [2].

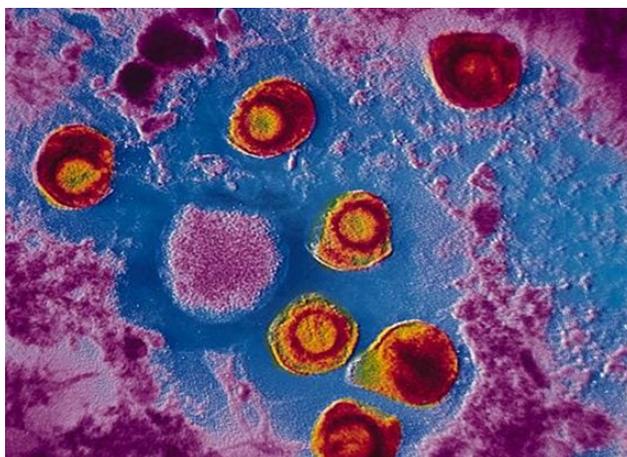


Figure 01: Observation microscopique des cytomégalovirus qui provoquent des infections bénignes, sauf chez les sujets immunodéprimés (Institut Pasteur/CNRI) [2]

3 Les constituants des particules virales

3.1 Le génome viral

Contenant l'ensemble des informations génétiques nécessaires à la réplication virale. Les génomes viraux peuvent être constitués soit de l'acide désoxyribonucléique (ADN) soit de l'Acide ribonucléique (ARN). Les génomes viraux peuvent être monocaténares (simple brin) ou bicaténares (double brin) [3].

3.2 La capside

C'est une structure protéique d'origine virale exclusivement qui protège le génome virale. Elle a une structure rigide. Leur conformation peut être géométrique : on parle de capside tubulaire ou polyédrique ou non géométrique, la capside est dite complexe. Pour les virus nus, c'est la capside qui porte les déterminants antigéniques qui sont reconnus par le système immunitaire. L'ensemble (génome+capside) constitue la nucléocapside [3].

3.3 L'enveloppe

Certains virus sont entourés d'une enveloppe, d'origine cellulaire. Ce sont les virus enveloppés. D'autres virus n'ont pas d'enveloppe, ce sont les virus nus (Figure 02) [3].

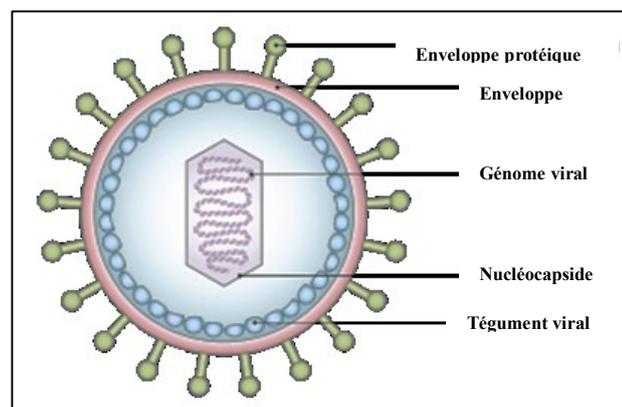


Figure 02: La structure d'un virus [3]

4 Les critères utilisés pour distinguer les virus

Les critères utilisés sont basés sur les caractères structuraux des virus :

- La nature de l'acide nucléique, ARN ou ADN, sa structure (simple ou double brin, sens positif ou négatif)
- La conformation de la capside, tubulaire ou icosaédrique

Introduction

- La présence ou non d'une enveloppe

4.1 La nature de l'acide nucléique

La classification des virus selon le type de l'acide nucléique est celle de Baltimore. Cette classification, utilisée aujourd'hui comme base par le comité international de taxonomie des virus (ICTV), a été proposée initialement par David Baltimore, lauréat du prix Nobel de médecine en 1975 (Figure 03) [4].

4.1.1 Les virus à ADN

Groupe I : virus à ADN à double brin

Groupe II : virus à ADN à simple brin

4.1.2 Les virus à ARN

Groupe III : virus à ARN à double brin

Groupe IV : virus à ARN simple brin à polarité positive (virus (+) ARN simple brin (ssARN) ou de type ARN messenger)

Groupe V : virus à ARN simple brin à polarité négative

4.1.3 Les virus à ADN ou à ARN à transcription inverse

Groupe VI : rétrovirus à ARN simple brin

Groupe VII : pararétrovirus à ADN double brin

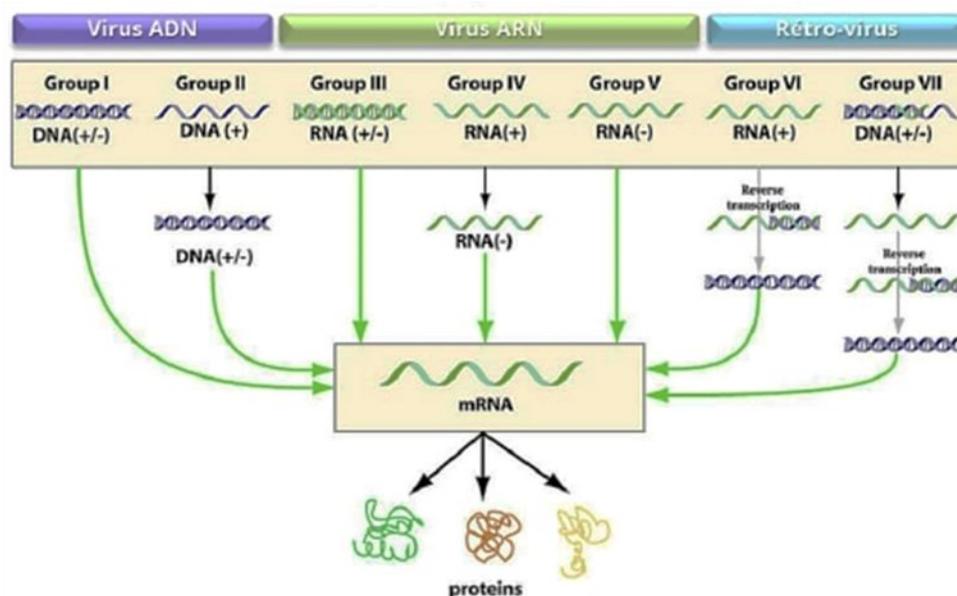


Figure 03: Matériel génétique présent dans le virion [4]

4.2 Les structures des particules virales

La structure et la composition des virus à l'état libre (ou virions), permettant la propagation de l'infection d'une cellule ou d'un organisme à un autre, sont établies à l'aide des techniques usuelles de la biochimie et de la microscopie. L'analyse chimique des virions est assez aisée dans la mesure où ces micro-organismes, relativement simples, sont constitués d'un éventail restreint de familles chimiques. Pourtant, hormis quelques exceptions, les types de structure observés sont peu nombreux (Figure 04) [2].

4.2.1 *Les virions hélicoïdaux*

Le virion de la mosaïque du tabac est l'une des structures virales les plus simples. Il a été l'un des premiers virus étudiés, en raison du faible coût et de la facilité de son extraction. De forme allongée, il est cylindrique, creux, mesure 300 nm de long et a un diamètre de 17 nm. Fréquemment, cette structure longue et fine est brisée au cours de l'extraction [2].

Le virion est constitué d'une chaîne d'acide ribonucléique (ARN), qui comprend environ 6 000 nucléotides (masse moléculaire de $2 \cdot 10^{16}$ uma). Cet acide est associé à des unités protéiques, constituées chacune d'une seule espèce de protéine, de masse moléculaire égale à 17 500 et dont la séquence comprend 158 acides aminés. Un virion contient environ 2 200 de ces unités constituant sa capsid, sorte de coque qui sert à protéger l'acide nucléique. La chaîne nucléique et les unités protéiques sont organisées en une hélice, dont chaque tour contient 16 unités. Relativement protégée, la chaîne nucléique est insérée dans la face interne des spires. L'ensemble constitue une nucléocapside hélicoïdale [2].

4.2.2 *Les virions icosaédriques*

Pour étudier ce type de structure virale, on peut prendre pour exemple les adénovirus. Leur forme extérieure est celle d'un polyèdre à 20 faces en triangle équilatéral, un icosaèdre de 75 nm de diamètre. Leur nucléocapside comporte une capsid externe renfermant une chaîne d'ADN associée à des protéines internes, cette dernière est constituée de 252 unités, ou capsomères, dont 240 sont des exons [2].

4.2.3 *Les virions à enveloppe*

Les virions à enveloppe sont plus complexes. Leur nucléocapside, qui peut être hélicoïdale ou icosaédrique, est entourée d'une enveloppe, qui est un fragment de la membrane plasmique de la précédente cellule qu'ils ont infectée. Le virus de

Introduction

la grippe appartient à cette catégorie. Cette membrane est constituée de phospholipides, composants que l'on ne trouve pas chez les virions dépourvus d'enveloppe [2].

4.2.4 Les bactériophages

Les bactériophages, appelés communément phages, sont des virus parasites des bactéries. Si certains, comme les phages à ARN ou à ADN; ont une structure comparable à celle des virions précédemment décrits, d'autres ont une constitution particulière, c'est le cas pour les phages de la série type (T), Ils sont des parasites de la bactérie *Escherichia coli*. Ils sont composés d'une tête, qui correspond à la capsid, à laquelle est fixée une partie caudale de structure complexe. La tête – sa morphologie dérive d'un icosaèdre – est formée par une association d'unités protéiques [2].

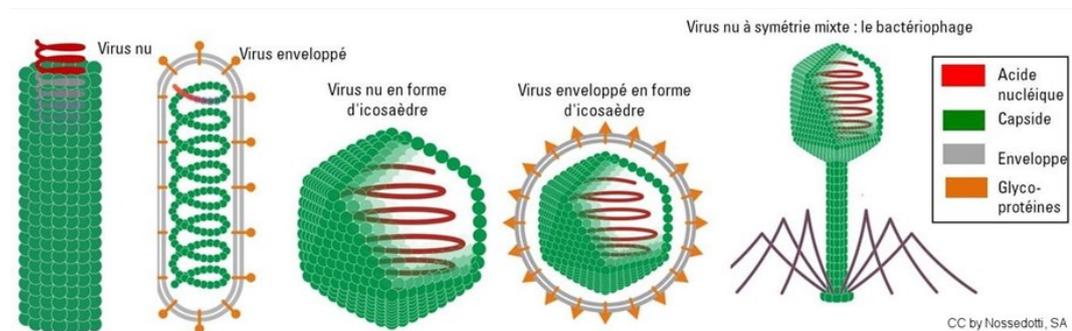


Figure 04: Structures des particules virales [2]

5 La stratégie de réplication virale

La multiplication virale est un phénomène complexe au cours duquel le virus va détourner la machinerie cellulaire à son profit. En effet, du fait de leur simplicité extrême, les virus ne peuvent pas se multiplier, du moins se multiplier par eux-mêmes. Connaître et bien comprendre les différentes étapes du cycle de multiplication virale est un objectif majeur pour le développement de molécules antivirales. Certaines étapes sont spécifiques du virus et constitue une cible idéale pour une molécule antivirale [5].

6 Les mutations chez les virus

La possession d'un génome rend les virus sensibles aux mutations; leur patrimoine génétique est donc susceptible de changer et les nouveaux individus produits sont différents. Or ils sont soumis, tout comme les autres êtres vivants, à la pression sélective du milieu. Les virus sont donc capables d'évoluer au cours du temps, et l'apparition de nouvelles souches, comme celle de nouvelles espèces, est possible (Figure 05). On compte aujourd'hui

Introduction

quelque 3 000 virus connus, parasites des animaux ou des végétaux, pour lesquels a été élaborée une classification [2].

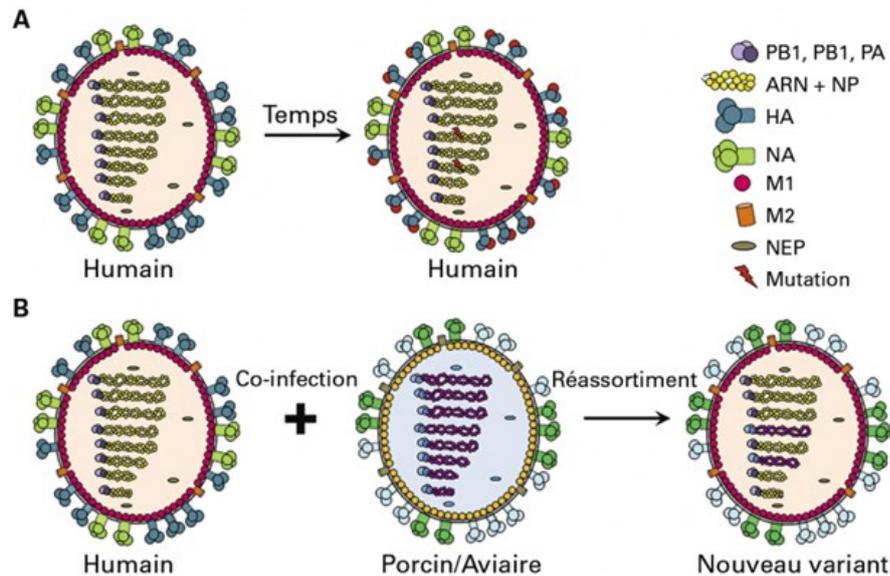


Figure 05: Processus évolutifs des virus de l'influenza [2]

7 Les infections virales

Les virus peuvent infecter tous les organismes, animaux ou végétaux, y compris les bactéries, les champignons et les algues. Chaque espèce virale étant parfaitement adaptée à son hôte et à certains tissus de cet hôte (par exemple, chez l'homme : sang, ganglions lymphatiques, peau, foie, tissu nerveux, etc.). Ils sont souvent la cause d'épidémies (grippe, fièvre jaune, sida) [2].

La façon dont la cellule réagit à la présence du virus est très variable; aussi distingue-t-on différents types d'infection cellulaire : aiguë et cytotytique (entraînant la mort de la cellule), persistante, chronique, latente, lente ou encore transformante (cancérisation à l'échelle cellulaire) [2].

7.1 Les infections virales chez les végétaux

Les virus comptent parmi les agents infectieux les plus virulents chez les végétaux. On en connaît aujourd'hui plusieurs centaines d'espèces, parmi lesquelles le virus de la mosaïque du tabac est l'un des plus connus (Figure 06). Parmi les principaux symptômes des viroses rencontrées chez les végétaux, on peut citer les déformations qui affectent les organes (racines, tiges, feuilles ou fleurs), les nécroses plus ou moins localisées, les anomalies du métabolisme et le nanisme [2].

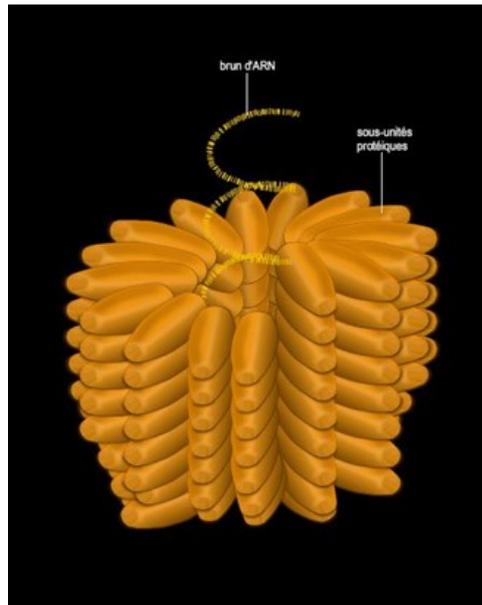


Figure 06: La mosaïque du tabac [2]

7.2 Les infections virales chez les animaux

Des invertébrés aux vertébrés, tous peuvent être infectés par des virus. Comme dans toute relation de parasitisme, il existe une relative spécificité entre le virion et son hôte, et certaines espèces insensibles jouent le rôle de réservoir. Les maladies virales sont particulièrement importantes sur le plan économique lorsqu'elles touchent des animaux domestiques, notamment les bovins, les ovins et les caprins. Ainsi, les épizooties de peste porcine, septicémie virale très contagieuse, ou de fièvre aphteuse, virose qui se développe chez les bovins et dont les rongeurs constituent un réservoir viral non négligeable, ont souvent des conséquences dramatiques pour l'agriculture [2].

7.3 Les infections virales chez l'homme

La plupart des virus sont inoffensifs pour l'homme, chez qui ils ne produisent que des symptômes bénins. En revanche, certains sont responsables de maladies graves, parfois mortelles. Des affections telles que le rhume, les encéphalites, la rubéole, les hépatites (Figure 07), les herpès, la grippe, la rougeole, les oreillons, la poliomyélite, la rage, le zona, la variole, la varicelle, la dengue et la fièvre jaune sont virales [2].

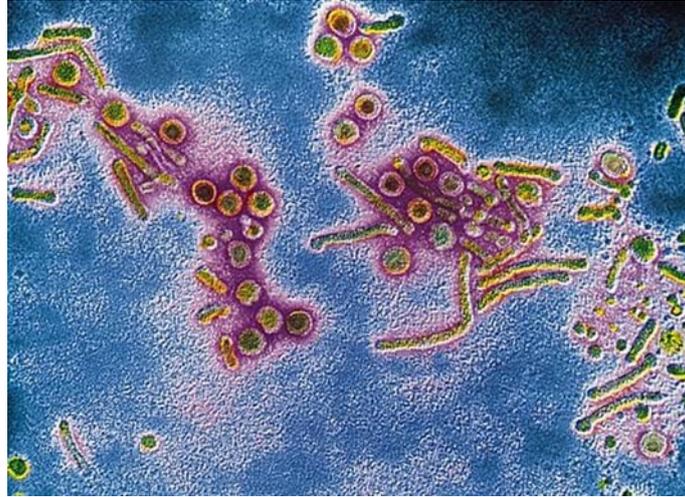


Figure 07: Observation microscopique du virus de l'hépatite B [2]

Les virus humains provoquent diverses maladies, selon le type de virus et les tissus infectés. Tous les humains contractent plusieurs virus au cours de leur vie. La gravité des maladies virales varie de légère à mortelle. Les virus du rhume, de la grippe, de l'estomac et de l'hépatite sont parmi les types de virus humains les plus courants rencontrés dans le monde [2].

Une liste complète des virus humains comprendrait des volumes et ne serait probablement jamais complète à mesure que de nouveaux types continuent d'être découverts. Certains virus sont rares mais très préoccupants en raison de leur potentiel de létalité, comme le virus Ebola et la rage. D'autres sont courants et provoquent une gamme de maladies humaines, telles que : la varicelle, zona, mononucléose infectieuse, etc ...[2].

Ainsi que les virus humains plus récents tels que le Virus de l'immunodéficience humaine (VIH), le Coronavirus du syndrome respiratoire aigu sévère (SRAS) et le Coronavirus du syndrome respiratoire du Moyen-Orient (MERS-CoV) sont toujours une préoccupation car un traitement efficace est généralement en retard de plusieurs années par rapport à leur découverte [2].

8 L'histoire de la maladie du syndrome respiratoire aigu sévère

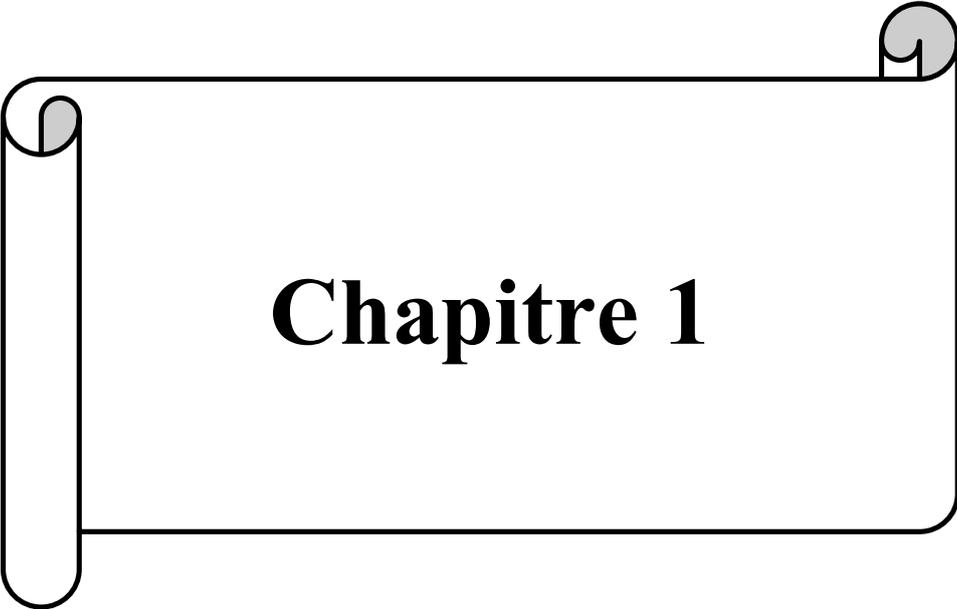
A la fin de 2002, des cas de maladie respiratoire potentiellement mortelle sans cause identifiable ont été signalés dans la province du Guangdong, en Chine. Ils ont été suivis de rapports du Vietnam, du Canada et de Hong Kong de graves maladies respiratoires fébriles qui se sont propagées aux agents d'hygiène et aux travailleurs de la santé. Le syndrome a été désigné « syndrome respiratoire aigu sévère » (SRAS), Le 13 mars 2003, alors que la maladie

Introduction

commençait à se propager de Chine, l'organisation mondiale de la santé (OMS) a émis une alerte mondiale sur l'épidémie et a institué une surveillance mondiale. Des efforts ont été lancés en 2003 pour comprendre la cause de cette maladie et prévenir sa propagation. De nombreux cas peuvent être liés par des chaînes de transmission à un travailleur de la santé de la province du Guangdong, en Chine, qui s'est rendu à Hong Kong, où il a été hospitalisé et meurt. Des échantillons cliniques de patients répondant à la définition de cas du SRAS ont été envoyés aux centres pour le contrôle et la prévention des maladies (CDC) par des collaborateurs au Vietnam, à Singapour, en Thaïlande, à Hong Kong, au Canada, à Taiwan et aux États-Unis dans le cadre de l'enquête étiologique. La détection de l'agent étiologique responsable de l'épidémie par la CDC nous a permis d'identifier et caractériser le nouveau coronavirus qui cause la maladie du SRAS et dans ce contexte on pose les questions suivantes:

Qui sont les coronavirus ?

C'est quoi le SRAS?



Chapitre 1

1 L'étymologie

Le nom "coronavirus" est dérivé du latin *corona*, qui signifie "couronne". lui-même emprunt au grec [2]. Le nom fait référence à l'aspect caractéristique des virions (la forme infectieuse du virus) par microscopie électronique, qui ont une frange de grandes projections de surface bulbeuses créant une image qui rappelle la couronne solaire ou le halo [3]. Cette morphologie est créée par les peplomères de pointe virale, qui sont des protéines à la surface du virus [4].

2 La définition des coronavirus

Les coronavirus forment une grande famille de virus qui provoquent des maladies respiratoires allant du rhume à une pneumonie mortelle. Il existe de nombreux coronavirus différents. La plupart d'entre eux provoquent des maladies chez l'animal. Cependant, sept types de coronavirus sont connus pour provoquer des maladies chez l'homme. Quatre de ces sept infections à coronavirus humain provoquent une maladie bénigne des voies aériennes supérieures qui a les symptômes d'un rhume [5].

Cependant, trois des sept infections à coronavirus humain peuvent être beaucoup plus graves et ont récemment été à l'origine d'épidémies majeures de pneumonie mortelle :

Le **SRAS-CoV-2** (coronavirus 2 du syndrome respiratoire aigu sévère) est un nouveau coronavirus qui a été identifié pour la première fois à Wuhan, en Chine, à la fin de l'année 2019 comme la cause de l'épidémie d'infection à coronavirus 2019 (COVID-19) qui s'est propagée dans le monde entier (Figure 08) [5].

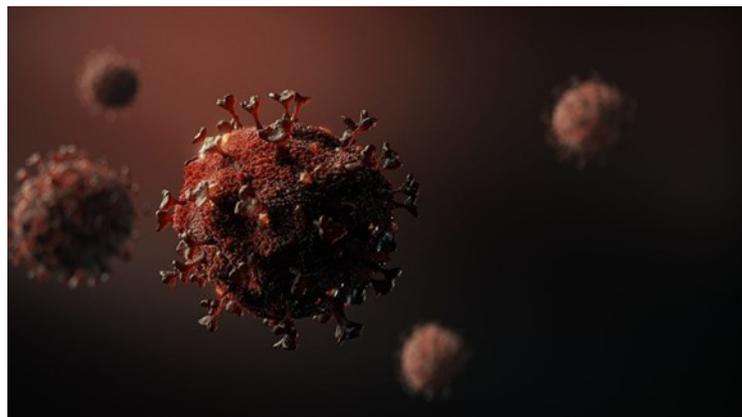


Figure 08: Illustration 3D du SRAS-CoV-2 [5]

Le **MERS-CoV** a été identifié en 2012 comme la cause du syndrome respiratoire du Moyen-Orient (Middle East Respiratory Syndrome, MERS) (Figure 09) [5].

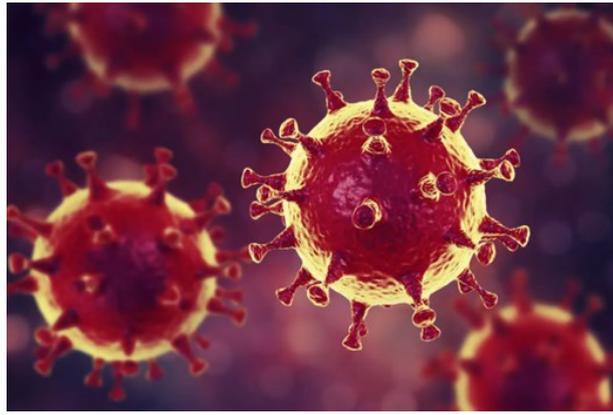


Figure 09: Illustration 3D du MERS-CoV [5]

Le **SRAS-CoV** a été identifié en 2002 comme la cause d'une épidémie de syndrome respiratoire aigu sévère (SRAS) (Figure 10) [5].

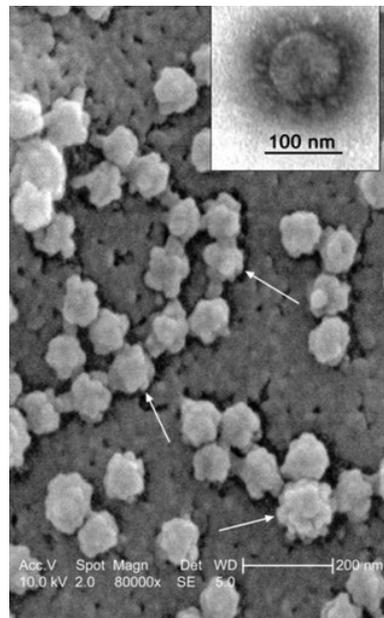


Figure 10: Observation par microscope électronique du SRAS-CoV [5]

Ces coronavirus, qui provoquent des infections respiratoires sévères, se transmettent de l'animal à l'homme (agents pathogènes zoonotiques) [5].

Le genre « *Coronavirus* » a été créé en 1967 et a regroupé à partir de critères essentiellement morphologiques des virus animaux connus depuis les années 1930 (virus de la bronchite infectieuse ou IBV, virus de l'hépatite murine ou MHV, virus de la gastroentérite porcine ou TGEV) et des virus alors récemment identifiés chez l'homme (les souches B814, 229E, OC43, OC48, 692). La taxinomie virale a ensuite été régulièrement revue : l'ordre des *Nidovirales*, créé en 1996, regroupe actuellement trois familles, les *Coronaviridae*, les

Chapitre 1

Arteriviridae, et les *Roniviridae*. Tous ces virus ont en commun l'organisation du génome ARN et la stratégie de réplication, mais ils diffèrent dans leur morphologie, la structure de leur capsid, et la taille de leur génome, qui varie de 13 000 nucléotides pour les *Arterivirus* à 31 000 nucléotides pour les *Coronavirus*. La famille des *Coronaviridae* est constituée de deux genres, les *Coronavirus* et les *Torovirus* (Figure 11). Parmi les *Nidovirales*, seul le genre *Coronavirus* comprend des virus identifiés chez l'homme [6].

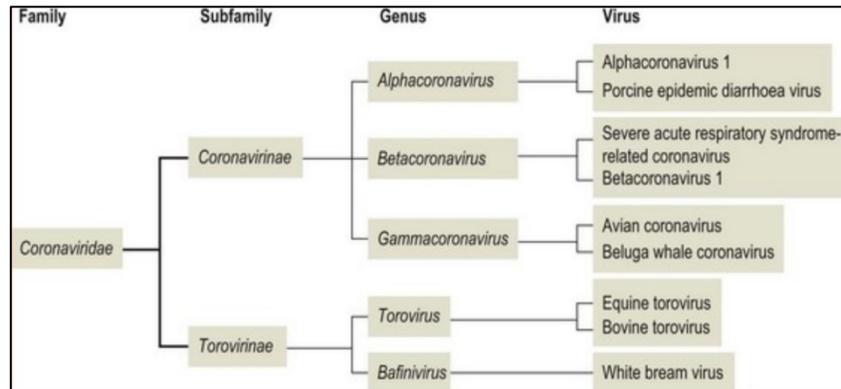


Figure 11: Schéma de la nouvelle classification de *Coronaviridae* [6]

Le nom scientifique du coronavirus est *Orthocoronavirinae* ou *Coronavirinae*. Les coronavirus appartiennent à la famille des *Coronavirus*, pour *Nidovirales*, et royaume *Riboviria*. Ils sont divisés en *Alphacoronavirus* et *Betacoronavirus* qui infectent les mammifères- et en *Gammacoronavirus* et *Deltacoronavirus*, qui infectent principalement les oiseaux (Figure 12) [7].

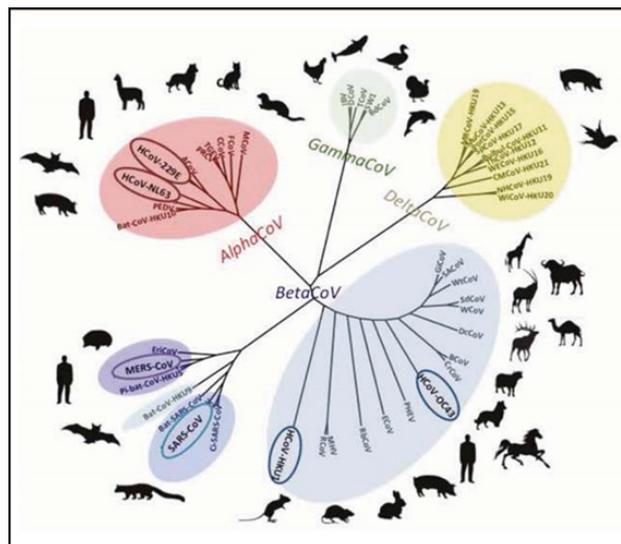


Figure 12: Arbre phylogénétique de *Coronavirinae* [7]

3 La structure et la morphologie des coronavirus

Les coronavirus sont de grosses particules grossièrement sphériques avec des projections de surface bulbeuses. Le diamètre moyen des particules virales est d'environ 125 nm (0,125 μm). Le diamètre de l'enveloppe est de 85 nm et les pointes sont longues de 20 nm. L'enveloppe du virus sur les micrographies électroniques apparaît comme une paire distincte de coquilles denses aux électrons (coquilles qui sont relativement opaques au faisceau d'électrons utilisé pour balayer la particule virale). Leur génome est constitué d'un ARN linéaire simple brin, non segmenté, de polarité positive (qui peut donc être directement traduit en protéine), d'environ 30 kb (le plus grand des virus à ARN) et qui code pour 7 à 10 protéines [8]. Certaines de ces protéines sont bien caractérisées comme la réplicase et les protéines structurales N (nucléocapside), S (pointe), E (enveloppe, aussi appelées M), M' (membrane), ainsi que la protéine de surface HE (Hémagglutinine estérase) qui n'est présente que chez certains coronavirus. La protéine N est une nucléoprotéine qui s'associe à l'ARN pour former une glycoprotéine de grande taille (de 1100 à 1450 acides aminés), elle forme des extensions (spicules) à la surface de la particule virale. Elle est responsable de l'attachement à la cellule hôte et de la fusion membranaire lors de l'infection ainsi que de l'induction d'anticorps neutralisants. La protéine M est la protéine majoritaire de la capsid, mais elle est également insérée dans l'enveloppe où elle interagit avec la protéine S. La protéine M' serait une protéine M modifiée (Figure 13). Le gène de la réplicase code pour une protéine présomptive de 740 à 800 kDa qui présente des homologies de séquences avec diverses protéines (protéases, ARN polymérase ARN dépendante, facteur de croissance et protéine à doigt de zinc) qui sont produites par coupure protéolytique du produit de traduction primaire [9].

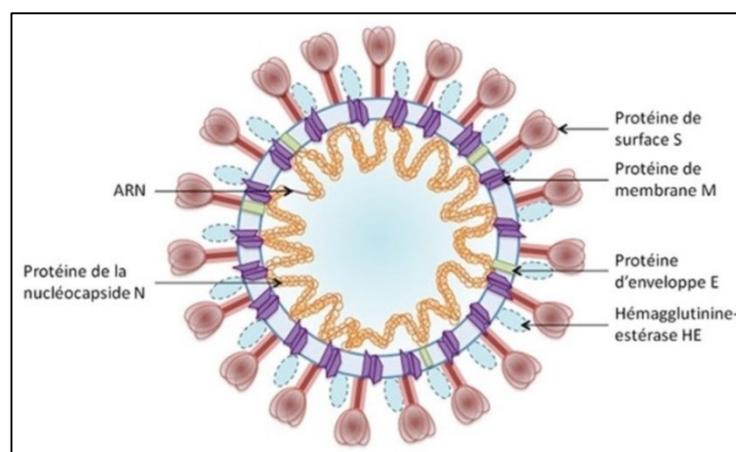


Figure 13: Modèle en coupe d'un coronavirus [9]

4 La définition du SRAS-CoV

Le SRAS signifie Syndrome Respiratoire Aigu Sévère [10]. Cov 1 : Corona virus 2002 ~2003. Celui-ci est un coronavirus qui a émergé en novembre 2002 et qui a circulé de manière pandémique jusqu'à juillet 2003 [11]. C'est une maladie respiratoire contagieuse, potentiellement mortelle et d'apparition récente. Elle a été identifiée au Viêt Nam par un médecin épidémiologiste Carlo Urbani [10].

Chez l'homme, les deux souches de coronavirus prototypes, nommées 229 E et OC43, sont responsables d'environ 30% des rhinites virales. Bien que ces maladies soient bénignes, certains auteurs notaient, dès 1998, que «la capacité d'évolution et d'adaptation des coronavirus est importante et peut engendrer l'apparition de variant dont le pouvoir pathogène serait modifié en faveur du virus» [6].

5 La classification du SRAS-CoV [12]

Type : Virus

Domaine : *Riboviria*

Ordre : *Nidovirales*

Sous-ordre : *Cornidovirineae*

Famille : *Coronaviridae*

Sous-famille : *Orthocoronavirinae*

Genre : *Betacoronavirus*

Sous-genre : *Sarbecovirus*

Espèce : *SARSr-CoV*

6 Le réservoir naturel du SRAS-CoV

Bien que le syndrome soit connu depuis mars 2003, toute la lumière n'a pas encore été faite sur l'épidémiologie et l'écologie du SRAS-CoV. Jusqu'ici, le réservoir naturel du virus n'a pas pu être défini. Différentes espèces animales sauvages telles que la civette palmiste à masque (*Paguma larvata*), le chien viverrin (*Nyctereutes procyonoides*) et le blaireau chinois (*Melogale moschata*) ont été testés positives pour des coronavirus proches de SRAS-CoV. Au Sud de la Chine, ces animaux sauvages sont des mets particulièrement appréciés. Des investigations récentes indiquent que des chauves-souris pourraient constituer un réservoir naturel du SRAS-CoV et que différents animaux sauvages tels que la civette remplissent une

Chapitre 1

fonction amplificatrice dans la propagation du virus. Il n'est pas exclu que d'autres espèces animales servent de vecteur et/ou de réservoir naturel au SRAS-CoV. Des études ont démontré que le virus pouvait facilement être transmis par des animaux sauvages à des animaux domestiques. Cependant, la transmission d'une espèce animale à une autre et de l'animal à l'homme soulève encore de nombreuses questions [13].

7 Les symptômes

Les premiers signes cliniques du SRAS ne sont pas spécifiques et apparaissent après une période d'incubation de deux à dix jours. Le début de la maladie est caractérisé par les syndromes suivants qui apparaissent généralement à la première semaine: fièvre, mauvais état général, douleurs musculaires diffuses et maux de tête (Figure 14). La toux (sèche au début), la gêne respiratoire et les diarrhées apparaissent surtout au cours de la deuxième semaine (bien qu'ils aient parfois été observés lors de la première semaine). Font partie des critères cliniques décrits dans la définition clinique de cas: forte fièvre, infection des voies respiratoires inférieures, clichés thoraciques compatibles avec une pneumonie ou un syndrome de détresse respiratoire (SDR), et absence de tout autre diagnostic permettant d'identifier la maladie [13].

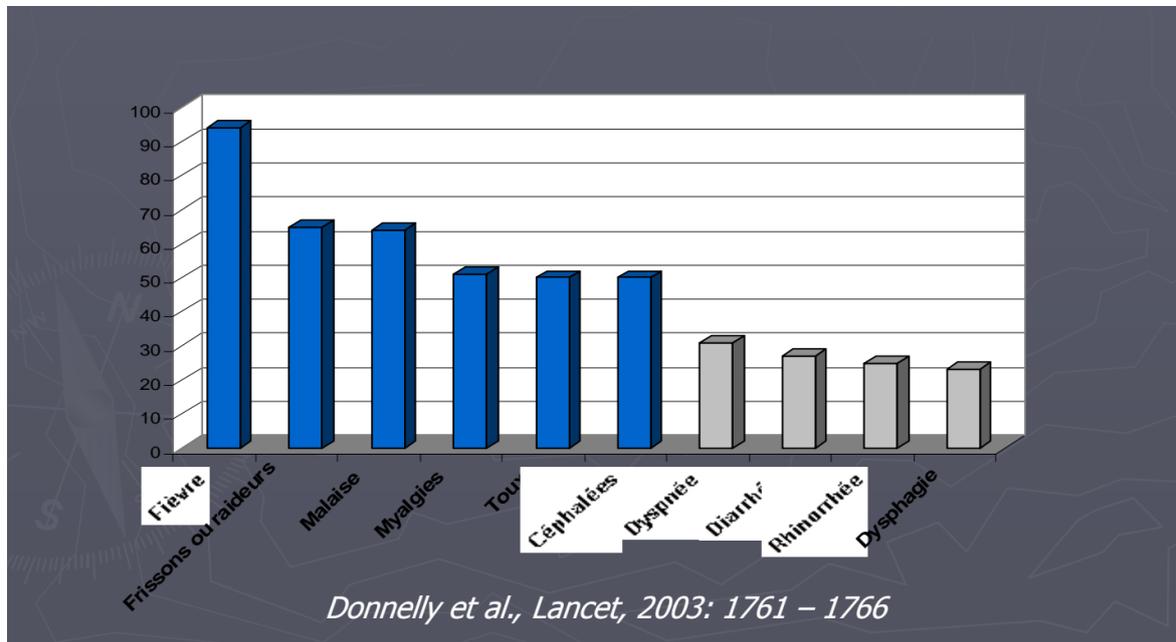


Figure 14: Aspect clinique de SRAS-CoV [13]

8 L'épidémiologie

L'épidémie mondiale a commencé dans la province du Guangdong, dans le sud de la Chine, à la mi-novembre 2002. Le premier cas de SRAS répondant aux critères de l'OMS a

Chapitre 1

été signalé à Foshan, une ville située à environ 20 km de la capitale de la province du Guangdong ; L'incident crucial qui a conduit à la pandémie s'est produit à la mi-février lorsqu'un médecin infecté s'est rendu à Hong Kong et a propagé l'infection aux autres clients et visiteurs de l'hôtel où il n'était resté qu'une nuit. Le 3 juillet 2003, le syndrome respiratoire aigu sévère (SRAS) avait été diagnostiqué chez plus de 8 000 patients (Figure 15). La première épidémie de SRAS peut être résumée comme suit (Oxford) :

La 1^{re} observation épidémiologique de SRAS été à la province du Guangdong en novembre 2002. Elle a pris trois mois pour se propager à Hong Kong, malgré l'échange facile de membres de la famille entre les deux zones. Ce suggère, heureusement, un virus avec une faible infectiosité. Les épidémies à ce jour ont été limitées aux familles qui vivent souvent dans des hébergements à haute densité, ainsi que les hôtels et les hôpitaux [14].



Figure 15: La propagation du virus dans la population [14]

8.1 La définition des périodes épidémiques

L'OMS distingue trois périodes pour définir le risque que représente le SRAS. Chacune de ces trois périodes est subdivisée en cinq phases [13].

La période interépidémique : se définit par l'absence, dans le monde, de transmissions de SRAS-CoV à l'homme. S'il peut y avoir des cas sporadiques, ils n'entraînent pas de cas secondaires. Aucune mesure spécifique n'est requise sur le plan international, à moins que les cas sporadiques ne soient dus à un mode de transmission inconnu. Des mesures ciblées permettent d'empêcher le virus de se propager [13].

La période épidémique : se définit par la mise en évidence d'une transmission interhumaine. Si le SRAS se propage à l'échelle internationale, il en résulte une situation

d'urgence pour la santé publique dans le monde entier. L'exportation d'un seul cas de SRAS suffit déjà pour que le virus se répande à l'échelle internationale [13].

La période postépidémique : se définit par l'interruption, à l'échelle mondiale, de la chaîne de transmission du SRAS-CoV. Celle-ci est considérée comme interrompue lorsque 28 jours se sont écoulés depuis l'annonce du dernier cas de SRAS dans le monde. Toutes les personnes atteintes du SRAS doivent être isolées, la ou les source(s) et les voies de transmission identifiées et sous contrôle [13].

8.2 L'épidémie de Hong Kong

L'épidémie de SRAS à Hong Kong a commencé lorsqu'un médecin infecté de Guangzhou est arrivé à Hong Kong à la mi-février 2003. Au moins 17 visiteurs et invités de l'hôtel où il séjournait sont tombés malades. Ces personnes infectées ont à leur tour propagé la maladie dans d'autres villes, dont Toronto, Singapour et Hanoi. L'un des visiteurs infectés a été admis à l'hôpital Prince of Wales début mars pour une pneumonie. En seulement deux semaines, 138 travailleurs de la santé, étudiants en médecine, autres patients et visiteurs de la salle d'indexation ont contracté la maladie [15].

Une autre épidémie communautaire majeure à Hong Kong s'est produite dans le complexe Amoy Garden Apartment, où plus de 300 résidents ont été infectés [15].

Lors de l'épidémie de SRAS en 2003, 1 555 patients au total sont tombés malades et ont fait 300 morts. Au moments les plus forts de l'épidémie, les écoles et les hôpitaux ont été fermés. Grâce aux mesures efficaces dans les hôpitaux, l'isolement adéquat des cas infectés et la recherche des contacts, l'épidémie est finalement maîtrisée à Hong Kong en juin 2003 [15].

8.3 L'épidémie mondiale

Parmi les clients infectés de l'hôtel index de Hong Kong, il y avait un homme d'affaires sino-américain. Il s'est rendu à Hanoi au Vietnam où il est tombé malade. Le Dr Carlo Urbani a été le premier à reconnaître cette nouvelle maladie infectieuse. Il a mis en place des mesures strictes de contrôle des infections dès le début de l'épidémie à Hanoi. Il n'y avait que 63 cas avec cinq décès au Vietnam. C'était le premier pays à être retiré de la liste des pays à transmission locale par l'OMS. Malheureusement, le Dr Urbani a contracté la maladie et est décédé par la suite en Thaïlande où il prévoyait de présenter une conférence scientifique [15].

Chapitre 1

L'épidémie à Singapour a commencé fin février lorsque deux clients infectés qui avaient séjourné dans l'hôtel index de Hong Kong sont rentrés chez eux. Suivant le modèle typique de propagation dans les hôpitaux, l'infection s'est propagée à la communauté. Contrairement à la situation à Hong Kong, les autorités sanitaires ont institué des mesures très strictes d'isolement, de recherche des contacts, de mise en quarantaine à domicile et de fermeture des écoles assez tôt dans la flambée. Par conséquent, l'ampleur de l'épidémie était relativement faible avec un total de 238 cas seulement. De même, à Taïwan, le SRAS a été transmis dans la région par des voyageurs ayant visité le sud de la Chine ou Hong Kong. Malgré la connaissance de l'infection accumulée à Hong Kong et sur le continent, les mesures de contrôle initiales n'étaient pas optimales, entraînant une épidémie communautaire majeure. Au total, 346 cas ont fait 37 morts et Taiwan a été la dernière région à être supprimée de la liste avec une transmission locale récente [15].

Le schéma de propagation était similaire à celui de Singapour et de Hong Kong. Le nombre total de victimes au Canada était de 251 cas et l'écllosion a finalement été maîtrisée au début de juillet 2003. 23 autres pays ont signalé des cas chez des personnes ayant récemment voyagé dans les régions touchées. En raison de l'augmentation de l'indice de suspicion et de la mise en œuvre de mesures de contrôle des infections appropriées, très peu de cas dans ces pays étaient des professionnels de la santé et la maladie ne s'est pas propagée dans les communautés (Figure 16) [15].

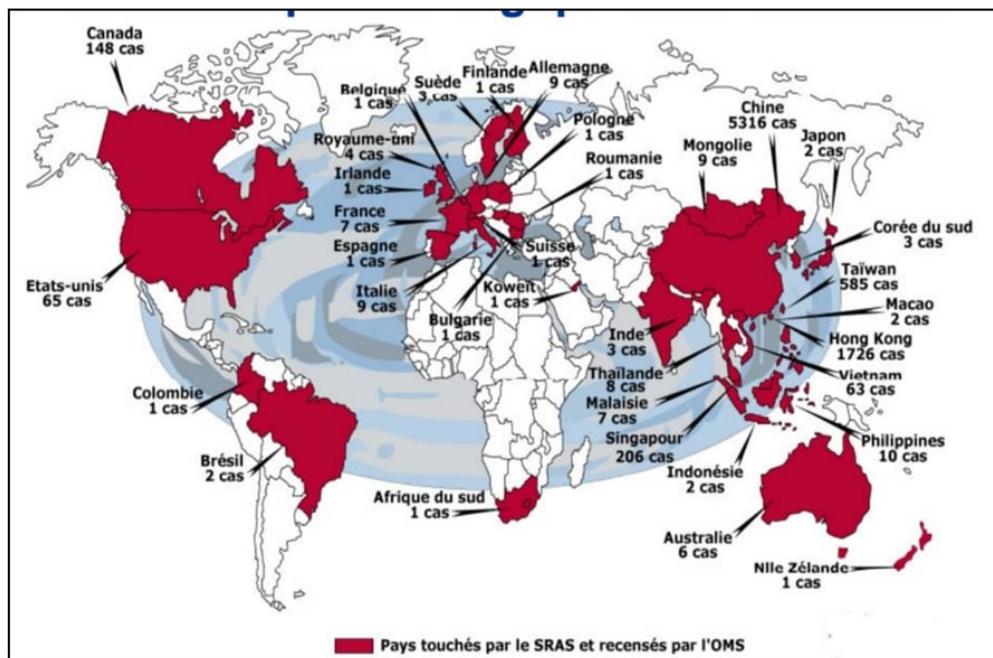
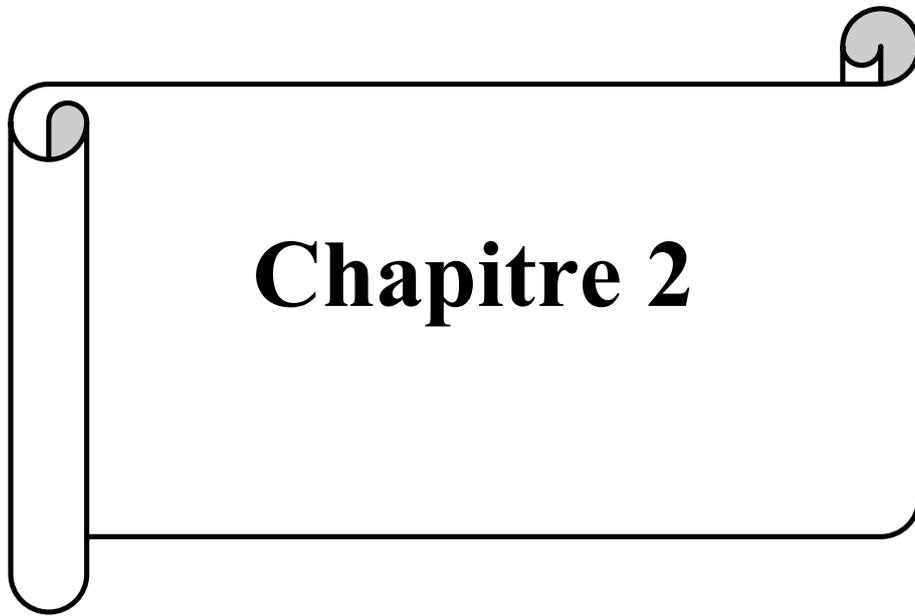


Figure 16: Situation épidémiologique dans le monde [15]



Chapitre 2

1 La structure génomique du SRAS-CoV

Le génome du SRAS-CoV mesure environ 29,7 kb et contient 14 cadres de lecture ouverts (ORF) flanqués de régions 5' et 3' non traduites de 265 et 342 nucléotides, respectivement. Les homologues des protéines conservées dans tous les coronavirus sont codés par les ORF chevauchants 1a et 1b, et par les ORF 2, 4, 5, 6 [16], 41% des résidus sont G ou C (la plage des séquences complètes publiées du génome du coronavirus est de 37 à 42%). L'organisation génomique est typique des coronavirus, ayant l'ordre génique caractéristique [5'-réplicase (rep), pointe (S), enveloppe (E), membrane (M) et nucléocapside (N) -3'] et des régions courtes non traduites aux deux extrémités (Figure 17). Le SRAS-CoV représentant un gène rep, qui comprend environ les deux tiers du génome viral, devrait coder pour deux polyprotéines (codées par ORF1a et ORF1b) qui subissent un traitement protéolytique cotraductionnel. Il existe quatre cadres de lecture ouverts (ORF) en aval de rep qui devraient coder pour les protéines structurales S, E, M et N, qui sont communes à tous les coronavirus connus [17]. Le gène codant pour l'hémagglutinine-estérase, qui est présente entre ORF1b et S dans le groupe 2 et certains coronavirus du groupe 3, n'a pas été trouvé. Les coronavirus codent également pour un certain nombre de protéines non structurales situées entre S et E, entre M et N, ou en aval de N. Ces protéines non structurales, qui varient considérablement entre les différentes espèces de coronavirus, ont une fonction inconnue et sont dispensables pour la réplication virale. Le génome du SRAS-CoV contient des ORF pour cinq protéines non structurelles potentielles qui ont plus de 50 acides aminés de long dans ces régions intergéniques. Deux ORF chevauchants codant pour des protéines prédites de 274 et 154 acides aminés (appelés respectivement X1 et X2) sont situés entre S et E. Trois gènes potentiels non structurels supplémentaires, X3, X4 et X5 (codant pour des protéines de 63, 122 et 84 amino acides aminés, respectivement), sont situés entre M et N [18]. En plus des cinq ORF codant pour les protéines non structurales, il existe également deux ORF plus petits entre M et N, codant pour les protéines prédites de moins de 50 acides aminés. Des recherches dans la base de données GenBank (avec BLAST et FastA) ont indiqué qu'il n'y a pas de similitude de séquence significative entre ces protéines non structurales potentielles du SRAS-CoV et d'autres protéines. Il faut noter qu'il existe des ORF codant pour des protéines prédites de plus de 50 acides aminés de long dans les gènes de structure du SRAS-CoV (tels que N, S et rep). De nombreux ORF courts sont présents dans les gènes structuraux. Il est peu probable qu'ils soient exprimés [16].

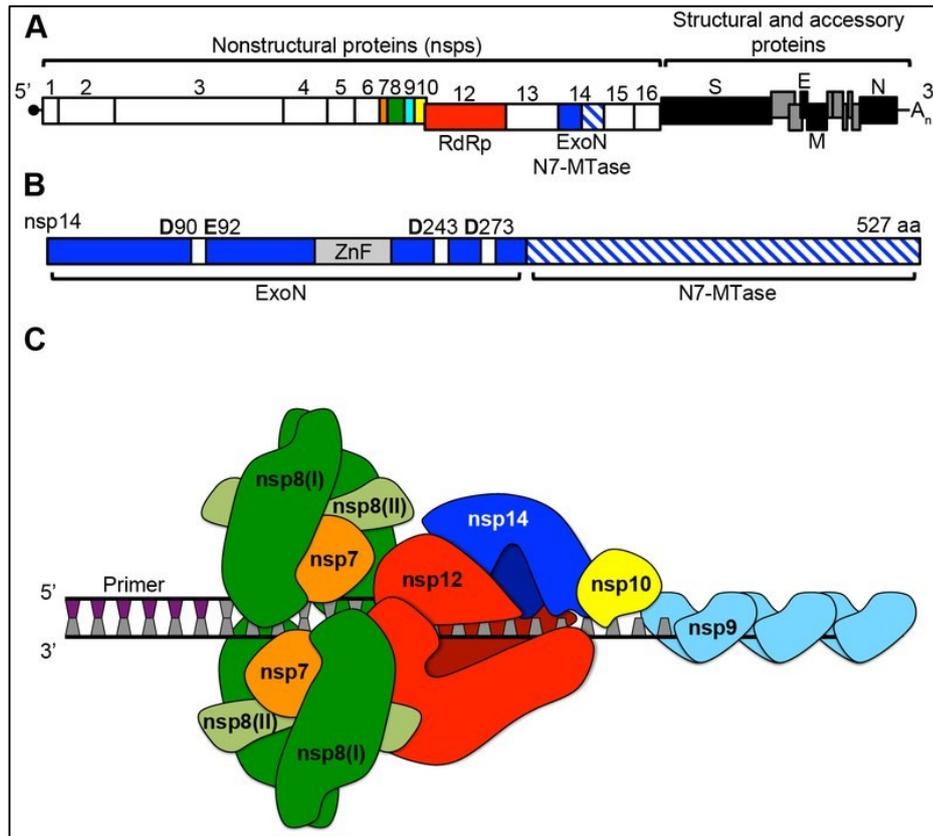


Figure 17: Organisation du génome SRAS-CoV [17]

2 Le séquençage du SRAS-CoV

Les protéines structurales des coronavirus (S, E, M et N) fonctionnent pendant l'entrée dans la cellule hôte, la morphogenèse et la libération du virion [19]. Pendant l'assemblage du virion, N se lie à un signal d'emballage défini sur l'ARN viral, conduisant à la formation de la nucléocapside hélicoïdale. M est localisé au niveau de structures membranaires intracellulaires spécialisées. Les interactions entre les protéines M et E et les nucléocapsides entraînent un bourgeonnement à travers la membrane. Dans certains coronavirus du groupe 2, l'extrémité C de M interagit avec la nucléocapside pour former une structure centrale [20]. La protéine S est incorporée dans l'enveloppe virale, là encore par interaction avec M, et des virions matures sont libérés à partir de vésicules lisses [21]. Les protéines S des coronavirus sont de grandes glycoprotéines membranaires de type I qui sont responsables à la fois de la liaison aux récepteurs sur les cellules hôtes et la fusion membranaire. Les protéines S de certains coronavirus sont clivées en sous-unités S1 et S2. Les protéines S contiennent également d'importants épitopes neutralisant le virus. Les changements d'acides aminés dans les protéines S peuvent considérablement affecter la virulence et le tropisme des cellules hôtes *in vitro* du virus [22][23]. En raison du faible niveau de similitude (20 à 27% d'identité

Chapitre 2

d'acides aminés par paire) entre la séquence d'acides aminés prédite de la protéine S du SRAS-CoV et les protéines S d'autres coronavirus, la comparaison des séquences d'acides aminés primaires ne donne pas un aperçu de la spécificité de liaison au récepteur ou des propriétés antigéniques du SRAS-CoV. La protéine S du SRAS-CoV a 23 sites de glycosylation N-liés potentiels. Des motifs fonctionnels aux extrémités amino (N) et carboxyle (C) de la protéine S qui sont conservés parmi les coronavirus sont également présents dans la protéine S du SRAS-CoV prédite, bien que le domaine S2 soit plus conservé que le domaine S1. L'extrémité N de la protéine S du SRAS-CoV contient une courte séquence signal de type I composée d'acides aminés hydrophobes qui sont vraisemblablement éliminés pendant le transport cotraductionnel à travers le réticulum endoplasmique. L'extrémité C terminale, constituée d'un domaine transmembranaire et d'une queue cytoplasmique riche en résidus cystéine, est hautement conservée dans le SRAS-CoV. À 52 acides aminés de longueur, la protéine S du SRAS-CoV devrait avoir le domaine transmembranaire et la queue cytoplasmique les plus courts de tous les coronavirus analysés (intervalle de 61 à 74 acides aminés) (Figure 18) [24].

Bien que la conservation globale de la séquence soit faible, les protéines E, M et N prédites du SRAS-CoV contiennent des motifs conservés que l'on trouve dans d'autres coronavirus. Conformément aux protéines E d'autres coronavirus, la protéine E prédite du SRAS-CoV contient un domaine hydrophobe (résidus 12 à 37) flanqué de résidus chargés et suivi d'une région riche en cystéine. Les domaines N-terminaux des protéines M du coronavirus sont exposés à la surface virale, tandis que l'extrémité C se trouve à l'intérieur de la membrane virale. La plupart des protéines M du coronavirus, y compris la protéine M prédite du SRAS-CoV, contiennent trois domaines transmembranaires hydrophobes dans la moitié N-terminale de la protéine, bien que certains virus en aient quatre. Une séquence d'acides aminés hautement conservée [SwWSFNPE [25]], immédiatement après le troisième domaine hydrophobe, est SMWSFNPE dans la protéine M du SRAS-CoV. Les protéines M des coronavirus sont invariablement glycosylées près de l'extrémité N. Les coronavirus des groupes 1 et 3 sont N-glycosylés, tandis que ceux des virus du groupe 2 sont O-glycosylés [26][27]. La protéine M prédite du SRAS-CoV a un NGT près de son extrémité N, suggérant que cette protéine est N-glycosylée en position 4 [28].

La protéine N prédite du SRAS-CoV est une protéine basique hautement chargée de 422 acides aminés (plage pour les autres coronavirus, 377 à 454) avec sept résidus hydrophobes successifs près du milieu de la protéine. Bien que l'homologie globale de la

Chapitre 2

séquence d'acides aminés parmi les protéines N du coronavirus soit faible, un motif hautement conservé [FYYL-GTGP [25]] se produit dans la moitié N-terminale de toutes les protéines N du coronavirus, y compris celle du SRAS-CoV [28].

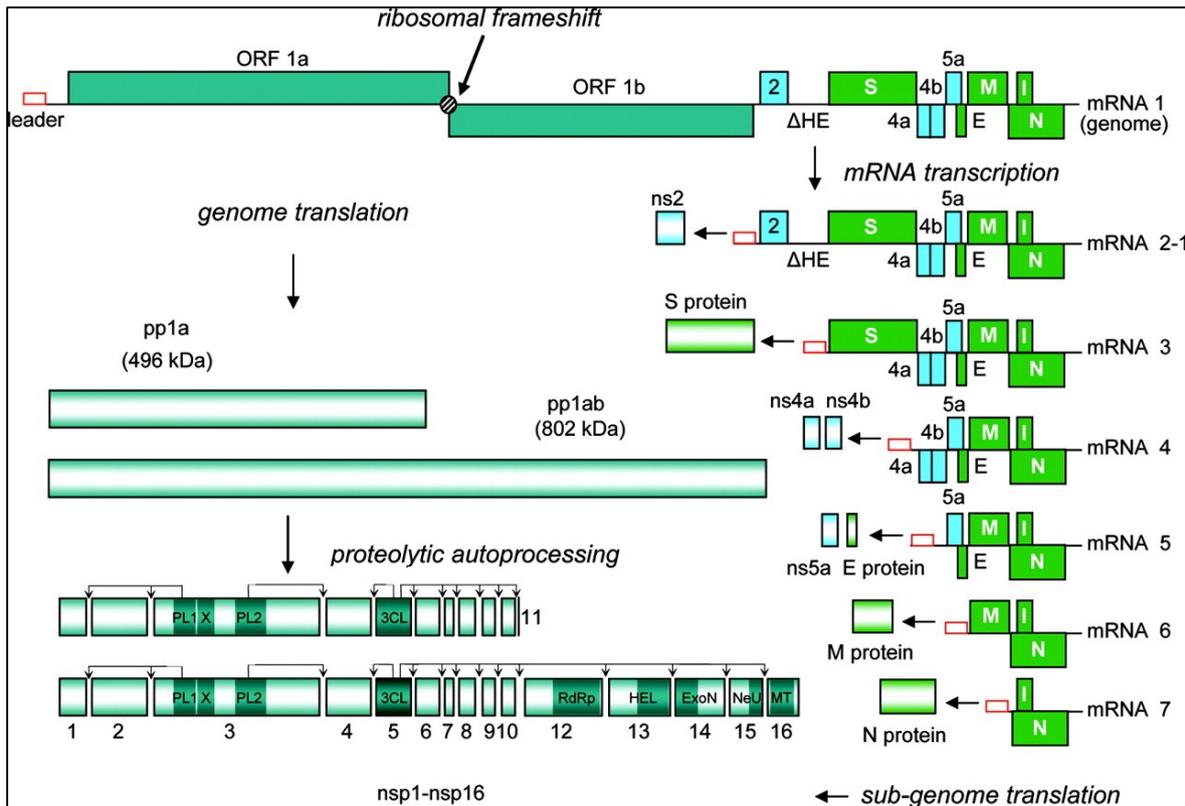


Figure 18: Séqueçage du SRAS-CoV [24]

3 Les analyses phylogénétiques de la séquence du SRAS-CoV

Pour déterminer la relation entre le SRAS-CoV et les coronavirus, une comparaison des séquences d'acides aminés pour trois protéines enzymatiques bien définies codées par le gène rep et les quatre principales protéines structurales de SRAS-CoV avec ceux de virus représentatifs de chacune des espèces de coronavirus est réalisée. Les topologies des phylogrammes résultants sont remarquablement similaires. Pour chaque protéine analysée, les espèces ont formé des grappes monophylétiques cohérentes avec les groupes taxonomiques établis. Les séquences SRAS-CoV séparées en une quatrième branche indépendante. Ces clusters sont confortés par des valeurs de bootstrap supérieures à 90% avec 1000 répliques [29]. La comparaison par paires entre les espèces de coronavirus, a montré qu'il y avait une plus grande conservation des séquences des protéines enzymatiques la chymotrypsin-like protease (3CLpro), l'ARN polymérase (POL) et l'hélicase (HEL) que parmi les protéines structurales (S, E, M et N). Ces résultats indiquent que le SRAS-CoV n'est étroitement lié à aucun des coronavirus et forme un groupe distinct au sein du genre

Chapitre 2

Coronavirus. Le SRAS-CoV est à peu près équidistant de tous les coronavirus. Une comparaison détaillée par paires par analyse dotplot a identifié de nombreuses régions d'acide aminé conservés au sein de chaque protéine, mais le niveau global de similitude entre le SRAS-CoV et les autres coronavirus était faible. Aucune preuve de recombinaison a été détectée lorsque les séquences protéiques ont été analysées avec le programme SimPlot (Figure 19) [29, 30].

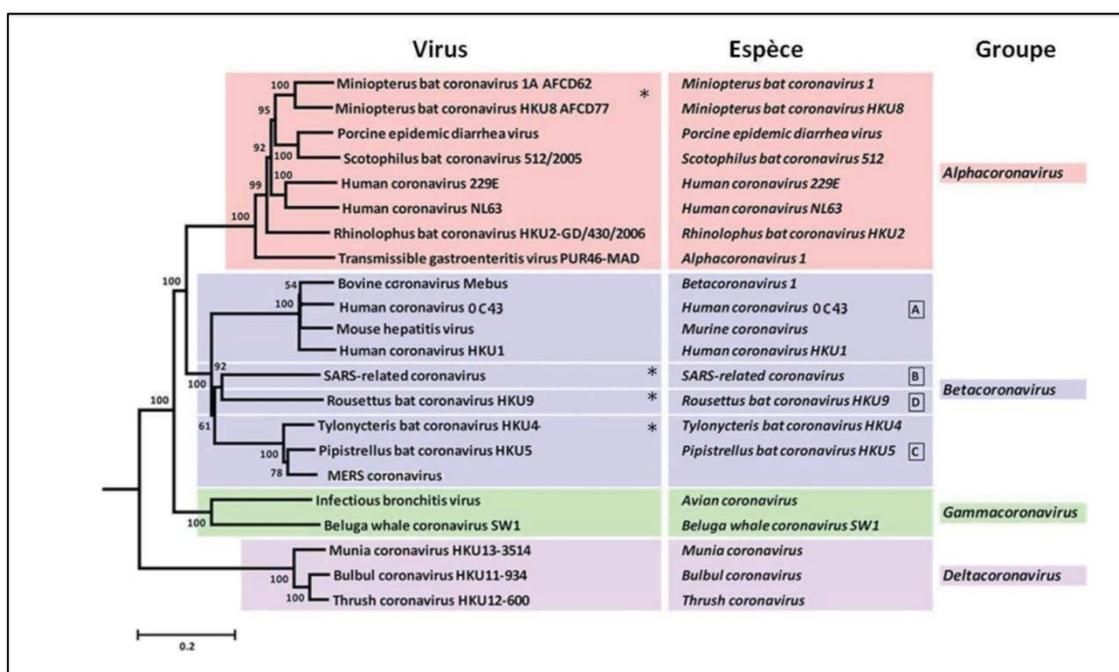


Figure 19: Classification phylogénétique simplifiée des coronavirus (modifié d'après de Groot et al., 2013) [30]

4 Le cycle infectieux

4.1 L'attachement et la pénétration

La fixation initiale du virion à la cellule hôte est initiée par des interactions entre la protéine S et son récepteur. Les sites des domaines de liaison au récepteur (RBD) dans la région S1 d'une protéine de coronavirus S varient en fonction du virus, certains ayant le RBD à l'extrémité N-terminale de S1 (MHV), tandis que d'autres (SRAS-CoV) ont le RBD à l'extrémité C de S1 [31][32]. L'interaction protéine-récepteur-récepteur est le principal déterminant pour qu'un coronavirus infecte une espèce hôte et régit également le tropisme tissulaire du virus. De nombreux coronavirus utilisent des peptidases comme récepteur cellulaire. On ne sait pas pourquoi les peptidases sont utilisées, car l'entrée se produit même en l'absence du domaine enzymatique de ces protéines. De nombreux α -coronavirus utilisent l'aminopeptidase N (APN) comme récepteur, le SRAS-CoV utilise l'enzyme de conversion de

l'angiotensine 2 (ACE2) comme récepteur. Après la liaison au récepteur, le virus doit ensuite accéder au cytosol de la cellule hôte. Ceci est généralement accompli par un clivage protéolytique acido-dépendant de la protéine S par une cathepsine, TMPRSS2 ou une autre protéase, suivi par la fusion des membranes virale et cellulaire. Le clivage de la protéine S se produit en deux sites dans la partie S2 de la protéine, le premier clivage étant important pour séparer les domaines RBD et de fusion de la protéine S [33] et le second pour exposer le peptide de fusion (clivage en S2'). La fusion se produit généralement dans les endosomes acidifiés. Le clivage en S2' expose un peptide de fusion qui s'insère dans la membrane, qui est suivi de la jonction de deux répétitions d'heptade en S2 formant un faisceau antiparallèle à six hélices [34]. La formation de ce faisceau permet le mélange de membranes virales et cellulaires, entraînant la fusion et finalement la libération du génome viral dans le cytoplasme.

4.2 L'expression de la protéine réplicase

La seconde étape du cycle de vie du coronavirus est la traduction du gène de réplicase à partir de l'ARN génomique du virion. Le gène de réplicase code pour deux grandes ORFs, rep1a et rep1b, qui expriment deux polyprotéines co-terminal, pp1a et pp1ab.

Les polyprotéines pp1a et pp1ab contiennent respectivement les nsps 1–11 et 1–16. Dans pp1ab, nsp11 de pp1a devient nsp12 suite à l'extension de pp1a en pp1b. Cependant, les γ -coronavirus ne contiennent pas de nsp1 comparable. Ces polyprotéines sont ensuite clivées dans les nsps individuels [35].

Ensuite, de nombreux nsps s'assemblent dans le complexe réplicase-transcriptase (RTC) pour créer un environnement adapté à la synthèse d'ARN, et sont finalement responsables de la réplication de l'ARN et de la transcription des ARN sous-génomiques [16].

4.3 La réplication et la transcription

La synthèse d'ARN viral produit des ARN génomiques et sous-génomiques. Les ARN sous-génomiques servent d'ARNm pour les gènes structuraux et accessoires qui résident en aval des polyprotéines de réplicase. Tous les ARN sous-génomiques de sens positif sont co-terminaux 3' avec le génome viral de pleine longueur et forment ainsi un ensemble d'ARN imbriqués, une propriété distinctive de l'ordre des *Nidovirales*. Les ARN génomiques et sous-génomiques sont produits par des intermédiaires à brin négatif. Ces intermédiaires à brin négatif ne présentent qu'environ 1%, contiennent à la fois des séquences polyuridylate et anti-leader [36].

4.4 L'assemblage et la libération

Après répllication et synthèse d'ARN sous-génomique, les protéines structurales virales, S, E et M sont traduites et insérées dans le réticulum endoplasmique (ER). Ces protéines se déplacent le long de la voie de sécrétion dans le compartiment intermédiaire réticulum endoplasmique-Golgi (ERGIC) [37][38]. A ce niveau, les génomes viraux encapsidés par la protéine N bourgeonnent dans les membranes de l'ERGIC contenant des protéines structurales virales, formant des virions matures. La protéine M dirige la plupart des interactions protéine-protéine nécessaires à l'assemblage des coronavirus. Cependant, la protéine M n'est pas suffisante pour la formation de virions, car les particules de type virus (VLP) ne peuvent pas être formées par l'expression de la protéine M seule. Lorsque la protéine M est exprimée avec la protéine E, des VLP se forment, suggérant que ces deux protéines fonctionnent ensemble pour produire des enveloppes de coronavirus [39][40]. La protéine N améliore la formation de VLP, suggérant que la fusion des génomes encapsidés dans l'ERGIC améliore l'enveloppement viral [41]. La protéine S est incorporée dans les virions à cette étape, mais elle n'est pas requise pour l'assemblage. La capacité de la protéine S à acheminer vers l'ERGIC et à interagir avec la protéine M est essentielle pour son incorporation dans les virions. La protéine M se lie également à la nucléocapside. Cette interaction favorise l'achèvement de l'assemblage du virion. Ces interactions ont été cartographiées à l'extrémité C-terminale de l'endodomaine de M avec le domaine carboxy-terminal (CTD) de la protéine N [42]. Après l'assemblage, les virions sont transportés à la surface cellulaire dans des vésicules et libérés par exocytose (Figure 20).

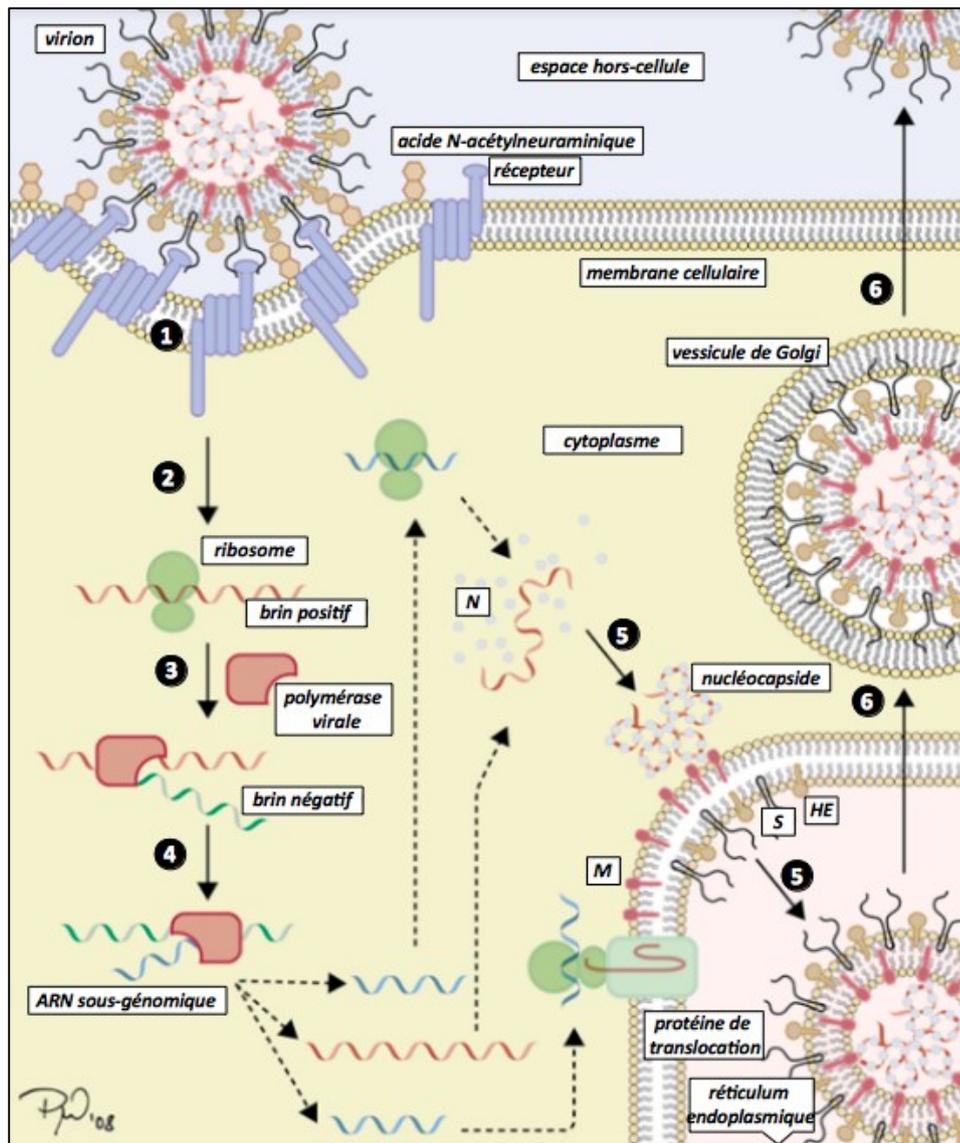


Figure 20: Cycle infectieux du SRAS-CoV [42]

5 Le diagnostic et les modes de transmission

5.1 Le diagnostic

5.1.1 Les tests moléculaires

L'ARN spécifique du SRAS-CoV peut être détecté dans divers échantillons cliniques tels que le sang, les selles, les sécrétions respiratoires ou les tissus corporels par la réaction en chaîne par polymérase (PCR) [43].

Les résultats positifs de la PCR : indique qu'il existe du matériel génétique (ARN) du SRAS-CoV dans l'échantillon. Cela ne veut pas dire, cependant, que le virus présent est infectieux ou qu'il est présent en grande quantité suffisante pour infecter une autre personnes [44].

Chapitre 2

Les résultats négatifs de la PCR : n'excluent pas le SRAS. La PCR SRAS-CoV peut être négatif pour les raisons suivantes : Le patient n'est pas infecté par le coronavirus du SRAS , la maladie est due à un autre agent infectieux (virus, bactérie, champignon) ou à une cause non infectieuse [44].

Des efforts sont en cours pour améliorer la sensibilité des tests de la PCR pour augmenter leur utilité clinique. Une approche consiste à amplifier un autre gène de SRAS-CoV que le gène de polymérase en raison de la stratégie de transcription unique des coronavirus, une PCR ciblant la nucléoprotéine peut avoir une sensibilité plus élevée. Tandis que les évaluations d'une telle PCR sont en cours, le protocole est déjà disponible auprès de l'institut Bernhard Nocht [44].

5.1.2 *L'isolement du virus SRAS-CoV*

La présence du virus infectieux peut être détectée par inoculation des cultures de cellules appropriées (par exemple, cellules Vero) avec des échantillons de patients (tels que sécrétions respiratoires, de sang ou de selles) et la propagation du virus *in vitro* comme suit :

Des surnageants d'échantillons de 1 g de matières fécales suspendus dans 10 ml de milieu de transport, sont utilisés pour infecter des monocouches de cellules de rein de singe rhésus fœtal (FRhK-4). Des échantillons respiratoires déjà dilués dans du milieu de transport de virus sont étalés sur la monocouche cellulaire. Après incubation à 37 °C pendant 1 h, les cellules sont nourries avec 1 ml de milieu minimum essentiel avec 1% de sérum de veau fœtal et incubées à 37 °C. Les cultures sont examinées pour l'effet cytopathique (CPE) chaque jour pendant 14 jours. A la fin de la période d'incubation ou lorsque le CPE est apparu, les cellules sont repérées sur des lames revêtues de Téflon, fixées avec de l'acétone glacée, et colorées pour l'antigène SRAS-CoV en utilisant un sérum humain en phase de convalescence [43].

La culture cellulaire est un test très exigeant et le moyen qui démontre l'existence d'un virus vivant. Il doit être effectué au moins au niveau 3 de sécurité biologique [14].

Les résultats positifs de la culture cellulaire : indiquent la présence de SRAS-CoV vivant dans l'échantillon testé [44].

Les résultats négatifs de la culture cellulaire : n'excluent pas le SRAS (Résultats négatif de la PCR : Le patient n'est pas infecté par le coronavirus du SRAS, la maladie est due à un autre agent infectieux (virus, bactérie, champignon) ou à une cause non infectieuse)[44].

Chapitre 2

5.1.3 Les tests sérologiques

Diverses méthodes fournissent un moyen pour la détection d'anticorps produits en réponse à une infection par le SRAS-CoV. Différents types d'anticorps (Immunoglobulines de type M (IgM) et Immunoglobulines de type G (IgG)) apparaissent et changent de taux au cours de l'évolution de l'infection. Ils peuvent être indétectables aux premiers stades de l'infection. Les IgG restent généralement détectables après la résolution de la maladie (Tableau 01) [14].

Tableau 01: Spécificité des tests sérologiques [14]

Technique	Prélèvement	Détails techniques	Utilité diagnostique
IF	Sérum	IgM et/ou IgG	IF IgM positif à J10
ELISA	Sérum	IgM et IgG	Positif à J21
Test de neutralisation	Sérum	BSL-3	Test de confirmation Titre élevé à J28

Les formats de test suivants sont en cours de développement:

Test immuno-enzymatique (ELISA) : un test qui détecte un mélange d'anticorps IgM et IgG dans le sérum des patients atteints du SRAS et donne de manière fiable des résultats positifs vers 21 jours après le début de la maladie [14].

Test d'immunofluorescence (IFA) : Cela nécessite l'utilisation de cellules infectées par SRAS-CoV fixées sur une lame de microscope ; les anticorps du patient se lient aux antigènes viraux et sont à leur tour détectés par des anticorps secondaires marqués par immunofluorescence contre l'IgG ou l'IgM humaine ou les deux, en utilisant un microscope à immunofluorescence (Figure 21, Figure 22). IFA donne généralement un résultat positif après environ 10 jours après le début de la maladie. Les résultats peuvent être quantifiés en utilisant des titrages en série de sérums de patients. Un SRAS-CoV IFA fabriqué par Euroimmun AG est maintenant disponible dans le commerce pour la détection des anticorps IgG et IgM contre SRAS-CoV [14].

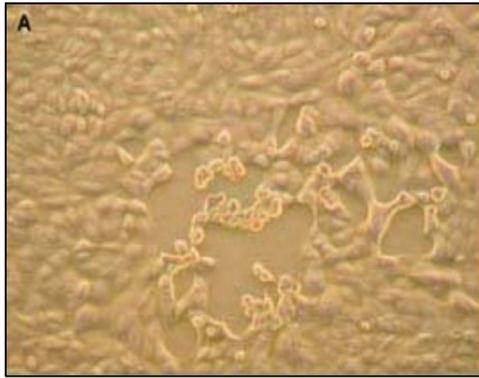


Figure 21: Inoculation sur cellules Vero [14]

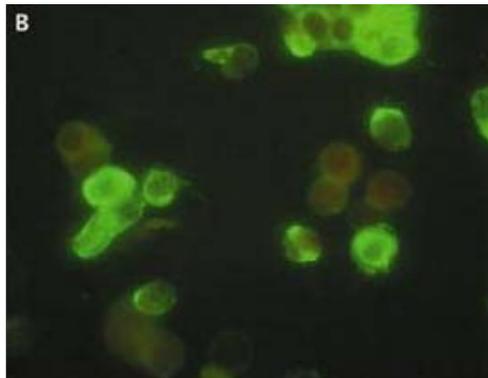


Figure 22: Identification par le test IFA [14]

Test de neutralisation (NT): Ce test évalue et quantifie, au moyen de titrage, la capacité des sérums des patients à neutraliser l'infectivité SRAS-CoV sur culture cellulaire. NT est donc probablement le meilleur corrélat d'immunité. Cependant, en raison de l'utilisation du virus infectieux, il est limité aux établissements dotés d'installations sécurité biologique niveau 3 (BSL-3) [14].

Les résultats positifs des tests sérologiques (d'anticorps) : indiquent une infection antérieure par le SRAS-CoV. La séroconversion du négatif au positif ou une augmentation de quatre fois du titre d'anticorps du sérum aigu au sérum convalescent indique une infection récente [44].

Les résultats des tests sérologiques négatifs : Aucune détection d'anticorps après 21 jours du début de la maladie ne semble indiquer qu'aucune infection par le SRAS-CoV n'a eu lieu [44].

5.2 Les modes de transmission

Le principal mode de transmission du coronavirus est interhumain par contact étroit : Personne qui a soigné ou vécu avec une personne atteinte de la maladie du SRAS-CoV ou qui

Chapitre 2

avait une forte probabilité de contact direct avec les sécrétions respiratoires et / ou les liquides organiques d'une personne atteinte de la maladie du SRAS-CoV. Des exemples de contacts étroits comprennent les baisers ou les câlins, le partage d'ustensiles pour manger ou boire, parler à moins d'un mètre (1 m) et toucher directement. Le contact étroit ne comprend pas les activités telles que marcher à côté d'une personne ou s'asseoir brièvement dans une salle d'attente ou un bureau [14].

Le coronavirus du SRAS (SRAS-CoV) se propage principalement dans des gouttelettes qui sont libérées des sécrétions respiratoires des personnes infectées. La transmission fécale ou aérienne semble être moins fréquente (Figure 23) [14].

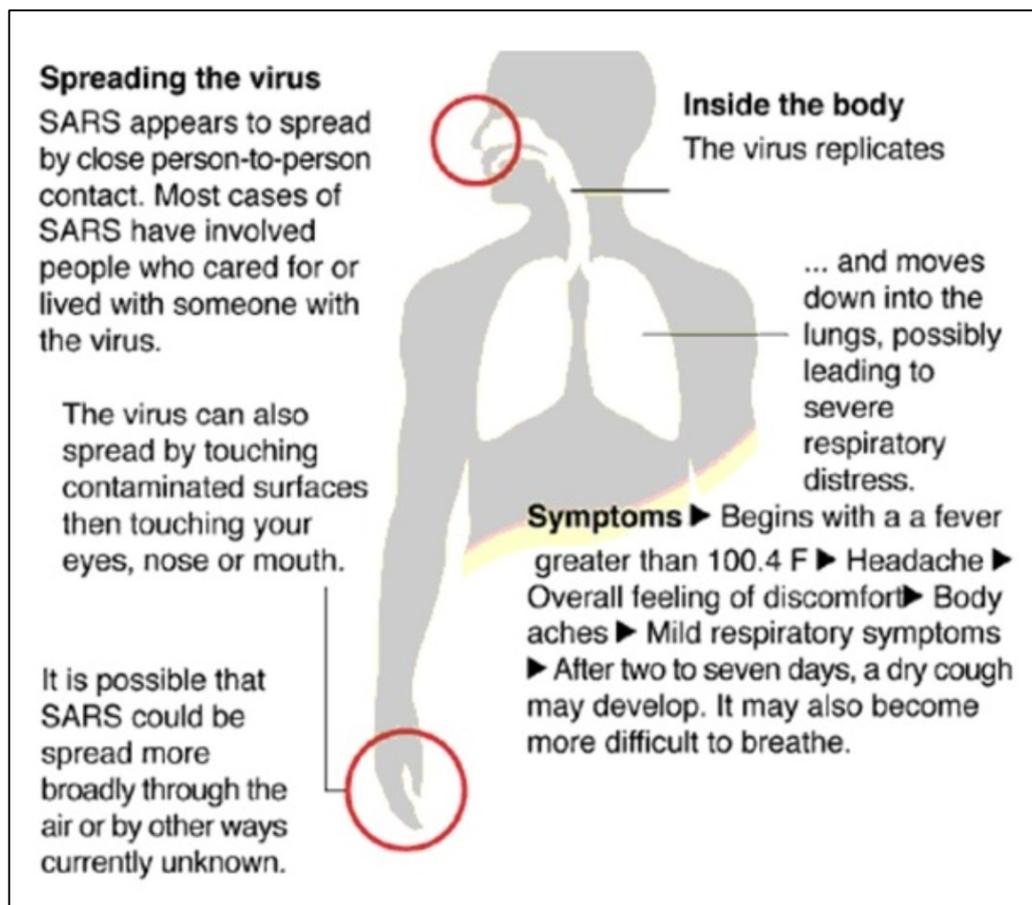


Figure 23: Modes de transmission [14]

5.2.1 Les voies de transmission

La présence de virus dans les selles suggère la possibilité de transmission. Cela rappelle les caractéristiques d'autres coronavirus, et les matières fécales sont donc potentiellement une voie de transmission supplémentaire. un risque pour la santé publique [14].

5.2.2 Les facteurs influençant la transmission

La question de savoir si la transmission d'un pathogène viral conduit à la manifestation de la maladie est déterminée par l'interaction complexe d'une multitude de facteurs viraux et hôtes encore largement indéfinis [14].

Comme dans d'autres maladies infectieuses, la taille de l'inoculum, c'est-à-dire le nombre de particules infectieuses transmises d'une personne à une autre, est probablement d'une importance majeure [14].

5.2.3 Les facteurs du patient dans la transmission

Le facteur le plus important est probablement la charge virale dans les sécrétions du corps infectieux; jusqu'à présent, rien n'indique que des souches avec des différentes virulences sont responsables de divers degrés d'infection [14].

Patients asymptomatiques

Il existe peu de données permettant de savoir si les individus peuvent être infectés avec le virus du SRAS mais restent asymptomatiques, et si oui, si les personnes asymptomatiques peuvent transmettre l'infection [14].

Les résultats préliminaires suggèrent que certaines personnes qui n'ont développé que des symptômes bénins peuvent avoir des anticorps contre le virus du SRAS, bien qu'elles n'aient pas développé le SRAS. Une séroconversion sans aucune maladie a également été documentée. Il n'y a aucune preuve directe de transmission à partir d'une personne asymptomatique. La preuve indirecte que cela peut se produire comprend rarement un rapport qui la recherche des contacts à Hong Kong n'a pas permis d'identifier un symptôme connu [14].

Patients symptomatiques

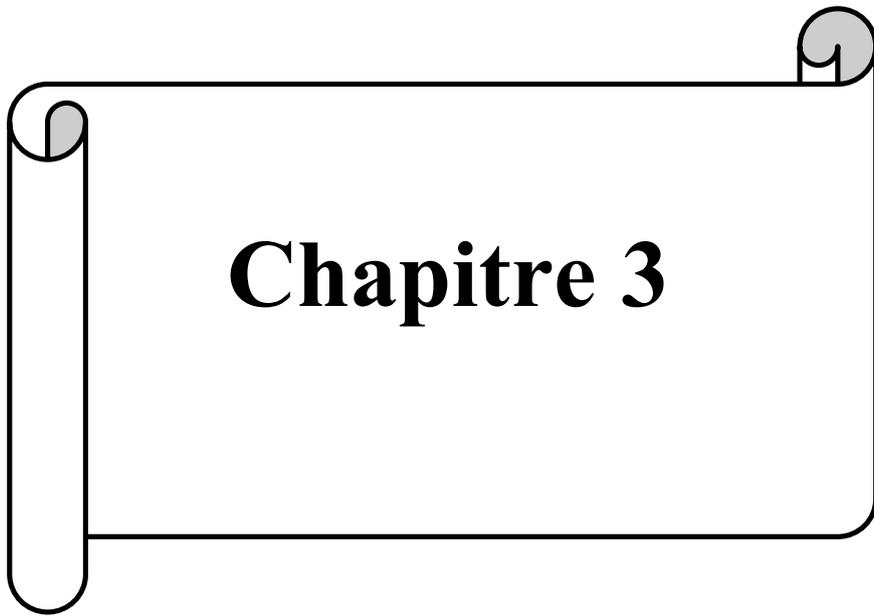
Il est généralement admis que seuls les patients symptomatiques peuvent propager efficacement le virus du SRAS. Cependant, la transmission ne semble pas se provoquer de manière explosive [14].

5.2.4 La transmission pendant la quarantaine

Il y a eu au moins un rapport de transmission du SRAS-CoV pendant la quarantaine. Trois familles en contact avec un patient atteint de SRAS ont été infecté pendant la quarantaine à cause du mauvais confinement. Les patients diagnostiqués avec le SRAS peuvent ou ne peuvent pas être infectés par le virus du SRAS, mais ils risquent de contracter l'infection s'ils sont regroupés avec des patients infectés [45].

5.2.5 La transmission après récupération

La durée de l'isolement des patients dépend de la question de savoir si, et dans quelle mesure les patients continuent à excréter le virus des voies respiratoires tractus ou des matières fécales après la fin la manifestation des symptômes cliniques. Actuellement, au moins 14 jours de quarantaine à domicile sont recommandés après le congé. Il n'y a eu jusqu'à présent aucun rapport de transmission après la décharge [14].



Chapitre 3

1 L'étiologie du SRAS-CoV

Le SRAS-CoV était un agent pandémique du SRAS de 2002 à 2003 dans 33 pays avec 8096 cas et 774 décès. En 2003, Kathryn V. Holmes (professeur à l'université Colorado au niveau du département de la microbiologie) a signalé que l'émergence soudaine du SRAS-CoV n'était pas corrélée à la mutation ou à la recombinaison entre le coronavirus humain (HCoV) précédent. D'autre part, le séquençage du génome et les rapports épidémiologiques ont démontré que le SRAS-CoV était un nouveau virus qui n'était pas similaire au HCoV connu [46]. Cependant, les séquences génomiques du SRAS-CoV humain étaient similaires à celles des isolats animaux et, en outre, plusieurs études sérologiques ont confirmé que les commerçants d'animaux avaient des anticorps spécifiques (IgG) contre l'infection par le SRAS-CoV. Ces résultats ont montré que le SRAS-CoV était un virus zoonotique et provenait d'espèces animales et d'oiseaux avant les épidémies chez l'homme [47]. De plus, en 2006, Li *et al.*, ont rapporté que des changements génétiques importants se sont produits dans la glycoprotéine de pointe (glycoprotéine S) du SRAS-CoV de chauve-souris pour infecter les humains. Enfin, les données de séquence du SRAS-CoV ont montré une identité de 87 à 92% avec la chauve-souris SRAS-CoV et il a été conclu que les chauves-souris étaient le réservoir naturel potentiel de l'épidémie de SRAS en 2003 [48]. En fait, les animaux exotiques ont transmis le SRAS-CoV aux humains via des hôtes intermédiaires (civettes et chiens viverrins) et par la suite, la transmission de personne à personne a entraîné une épidémie de SRAS-CoV dans les hôtels et les hôpitaux [49].

Plusieurs facteurs de risque, notamment l'âge, le diabète et les maladies cardiaques, peuvent augmenter le risque de décès. Le SRAS peut infecter les voies respiratoires d'individus de tous les groupes d'âge, principalement par transmission de gouttelettes. L'infection par le SRAS-CoV est associée à plusieurs signes courants tels que fièvre, diarrhée, myalgie, malaise et frissons [49].

L'entrée du SRAS-CoV est facilitée par l'attachement de la glycoprotéine S à ACE2, par la suite, les changements conformationnels de la glycoprotéine S ont lieu dans le microenvironnement de l'endosome par les sérine protéases cellulaires cathepsines B et L pour faciliter le processus de fusion [49].

En 2005, Li *et al.*, ont rapporté que les résidus 318–510 du domaine S1 codent pour la RBD, mais que deux des acides aminés ne sont pas conservés dans les souches de SRAS-CoV. Probablement, l'adaptation de la glycoprotéine S avec ACE2 permet une infection

efficace des cellules humaines et provoque également la gravité inhabituelle du SRAS-CoV [50].

L'ACE2 est exprimé sur les cellules épithéliales du poumon, de la langue, des reins, du cœur et du foie. L'attachement de la glycoprotéine S à l'ACE2 peut entraîner la perte de cils, une métaplasie squameuse et une augmentation des macrophages dans les alvéoles qui provoquent des lésions alvéolaires diffuses du poumon [51].

De plus, le SRAS-CoV produit des protéines 3a et 7a qui provoquent l'apoptose dans les poumons, les reins et les cellules hépatiques. En outre, l'activation de lymphocytes T auxiliaires (TH1) et l'augmentation des cytokines inflammatoires et des interleukines telles que l'interféron gamma (IFN- γ) - protéine inductible par l'interféron gamma (IP-10), l'IFN- γ , l'interleukine 1 bêta (IL-1B), l'interleukine 6 (IL-6), l'interleukine 8 (IL-8), l'interleukine 12 (IL-12) et la protéine 1 chimioattractante des monocytes (MCP-1) se produisent dans l'infection par le SRAS-CoV [52].

2 Les récepteurs cellulaire du SRAS-CoV

Des études utilisant des lentivirus pseudotypés porteurs du S, M et les glycoprotéines E du SRAS-CoV ont démontré que la protéine de pointe est à la fois nécessaire et suffisante pour l'attachement du virus à des cellules sensibles [53].

2.1 Le récepteur cellulaire fonctionnel ACE2

Dans une étude *in vitro*, Li *et al.* ont démontré que l'enzyme de conversion de l'angiotensine 2 (ACE2) est un récepteur du SRAS-CoV, en utilisant la coimmunoprécipitation de la glycoprotéine virale (S1) avec des lysats de cellules qui sont sensibles à l'infection virale (cellules Vero E6) (Figure 24) suivies d'analyse par spectrométrie de masse. Plus tard, les résultats ont prouvé que le récepteur ACE2 est crucial pour l'infection par le SRAS-CoV *in vivo* en utilisant une souris knock-out (souris KO) ACE2. Plus tard, la structure du domaine de liaison au récepteur de pointe de coronavirus (RBD) complexé avec ACE2 a été déterminée [53].

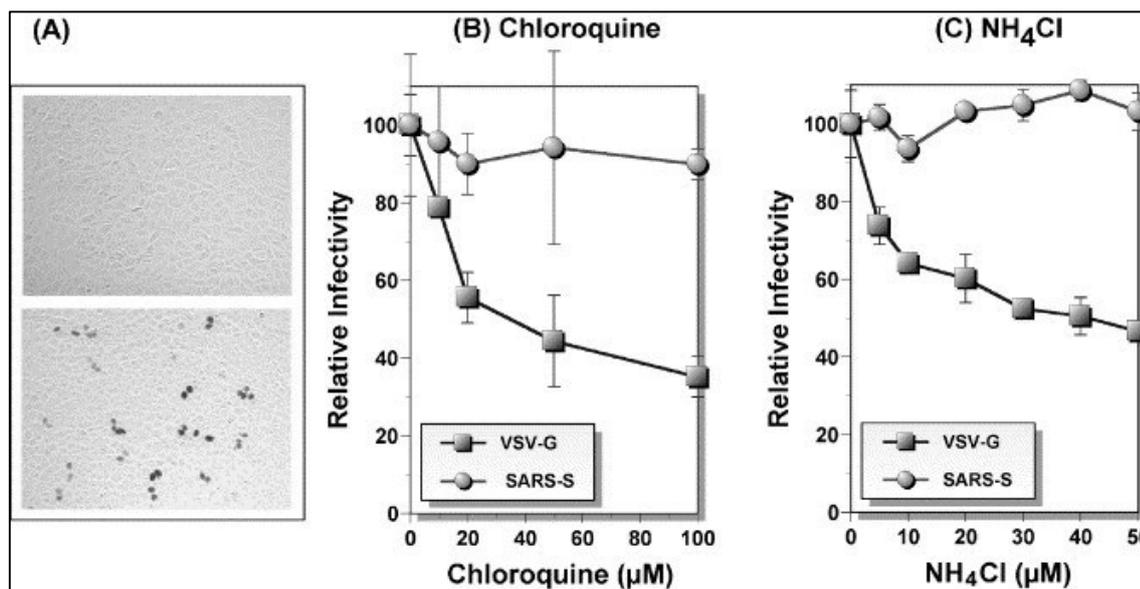


Figure 24: Infection par le pseudovirus SRAS-CoV. (A) Infectivité des pseudovirus du SRAS dans les cellules Vero E6 [53]

2.2 Les lectines récepteurs potentiels

Le Foie / ganglion lymphatique - molécule d'adhésion intracellulaire spécifique-3-agrippant non intégrine (L-SIGN) et la molécule d'adhésion intracellulaire spécifique à une cellule dendritique 3-protéine associée à la non-intégrine (DC-SIGN) spécifiques des cellules dendritiques ont été identifiés comme des récepteurs alternatifs du SRAS-CoV. L'expression de L-SIGN se trouve généralement dans les ganglions lymphatiques et les cellules sinusoidales du foie. Par immuno-histochimie (IHC), il a été démontré que L-SIGN est également exprimé sur les pneumocytes de type II et les cellules endothéliales [54]. En général, DC-SIGN est principalement exprimé dans certains types de cellules dendritiques et de macrophages alvéolaires. Cependant, dans le tissu pulmonaire des autopsies du SRAS, DC-SIGN a également été localisé dans les pneumocytes, ce qui peut indiquer que l'infection par le SRAS est capable d'induire l'expression de DC-SIGN. *In vitro* des expériences ont démontré que les cellules exprimant DC-SIGN ou L-SIGN sans ACE-2 ne sont pas, ou ne sont que partiellement, sensibles à l'infection par le SRAS-CoV. Cela impliquerait que ces molécules sont des récepteurs beaucoup moins efficaces que l'ACE2 en tant que récepteurs spécifiques et peuvent donc simplement augmenter l'infection de cellules permissives. Les cellules dendritiques exprimant DC-SIGN peuvent transférer le SRAS-CoV à des cellules sensibles telles que les pneumocytes à travers une structure de type synapse [55].

Non seulement ACE2 fonctionne comme un récepteur du SRAS-CoV, mais il joue également un rôle essentiel dans la pathogenèse du SRAS. L'ACE2 est une molécule clé du système rénine-angiotensine. Il neutralise les effets de l'enzyme de conversion de l'angiotensine (ECA) sur le système rénine-angiotensine et régule à la baisse la production d'angiotensine II. Les récepteurs ACE2 et AT2 jouent un rôle protecteur dans les lésions pulmonaires aiguës sévères, tandis que les récepteurs de l'enzyme de conversion de l'angiotensine (ACE), de l'angiotensine II et les récepteurs AT1 induisent probablement une insuffisance pulmonaire. Des expérimentations animales ont démontré que la liaison de la protéine SRAS-CoV S à ACE2 régule à la baisse l'expression de l'ACE2, ce qui entraîne une diminution du rôle protecteur de l'ACE2 et, par la suite, une insuffisance respiratoire aiguë. De même, la régulation négative de l'ACE2 médiée par le SRAS-CoV chez l'homme explique la progression vers une lésion pulmonaire grave chez certains patients atteints du SRAS [56].

3 Le tropisme et la pathogenèse du virus SRAS-CoV

Des études quantitatives de la charge virale ont fourni des informations sur la pathogenèse du SRAS. La charge virale est plus élevée dans les voies respiratoires inférieures que dans les voies respiratoires supérieures. La charge virale dans les voies respiratoires supérieures et les fèces [32] est faible pendant les 4 premiers jours et culmine vers le 10^{ème} jour de la maladie. En revanche, la charge virale de la grippe atteint son maximum peu après l'apparition des symptômes cliniques cette caractéristique inhabituelle de l'infection par le SRAS-CoV explique sa faible transmissibilité au début de la maladie. Cela explique également la faible sensibilité diagnostique des tests de diagnostic RT-PCR (reverse transcriptase PCR) de première génération sur les voies respiratoires supérieures et les échantillons fécaux prélevés au début de la maladie [57].

Les voies respiratoires des personnes atteintes qui meurent au cours des dix premiers jours de la maladie présentent des lésions alvéolaires diffuses avec un infiltrat alvéolaire mixte, un œdème pulmonaire et la formation de membranes hyalines (Figure 25, Figure 26). Les macrophages sont un composant important des exsudats cellulaires dans les alvéoles et l'interstitium pulmonaire [58]. Des syncytines multinucléées d'origine macrophagique ou épithéliale sont parfois observées plus tard dans la maladie. L'immuno-histochimie, l'hybridation *in situ* et la microscopie électronique sur autopsie ou biopsie tissulaire ont démontré sans équivoque la réplication du SRAS-CoV dans les pneumocytes du poumon et les entérocytes dans l'intestin [59].

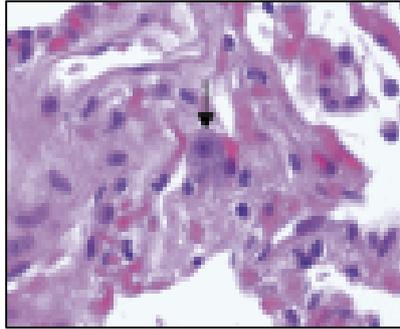


Figure 25: La biopsie pulmonaire ouverte du patient [58]

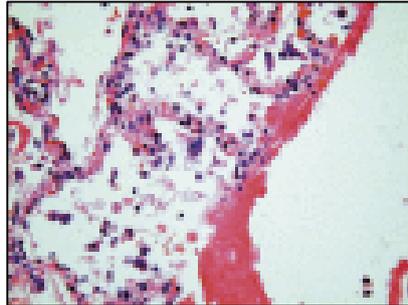


Figure 26: La formation de membranes hyalines et la desquamation des pneumocytes [59]

Dans le gros et le petit intestin, le virus se réplique dans les entérocytes (Figure 27). Les particules virales sont principalement observées sur la surface apicale des entérocytes et rarement dans les cellules épithéliales glandulaires. Mais il n'y a pas d'atrophie villositaire ou d'infiltrat cellulaire dans l'épithélium intestinal. Les mécanismes pathogènes responsables de la diarrhée aqueuse chez les personnes atteintes du SRAS ne sont pas clairs. Certaines lignées de cellules épithéliales intestinales humaines soutiennent la réplication productive du SRAS-CoV [60].

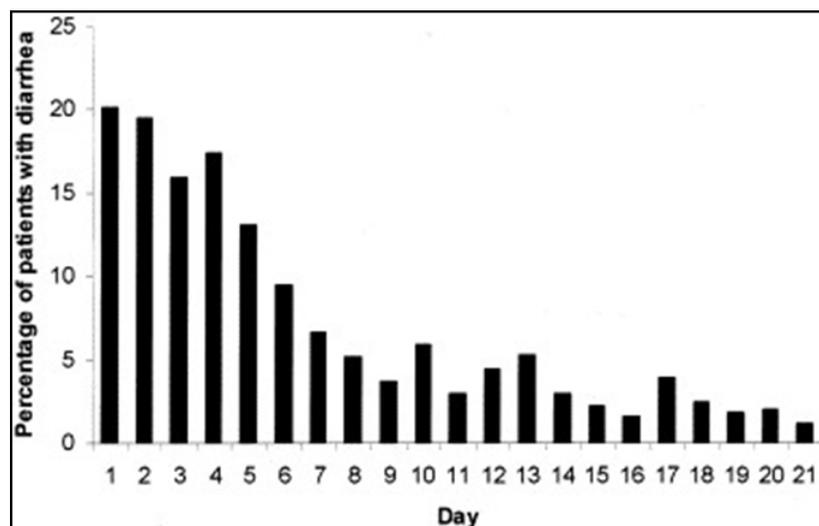


Figure 27: Pourcentage de patients atteints du SRAS avec diarrhée au cours des 21 premiers jours de la maladie [60]

4 La comparaison des cas de SRAS et non-SRAS

Tous les cas confirmés de SRAS présentaient des changements pathologiques similaires dans les poumons et les organes lymphoïdes qui ne différaient que par leur gravité. La gravité des lésions du système immunitaire et l'étendue des lésions pulmonaires et de la fibrose correspondaient à la durée de la maladie, calculée à partir de l'apparition des symptômes. En revanche, les cas suspects, mais non confirmés, ont démontré un large éventail de pathologies qui variait avec l'étiologie de chaque cas. Dans trois cas, les modifications pathologiques des poumons étaient similaires à celles observées dans les cas confirmés de SRAS. Cependant, l'œdème, la consolidation, la formation de la membrane hyaline et la fibrose étaient moins importants et il n'y avait pas de dommages aux cellules épithéliales pulmonaires. L'infection d'organes multiples était une caractéristique des cas confirmés de SRAS, mais pas pour les autres patients. Les dommages au système immunitaire ont été trouvés uniquement chez les patients qui avaient le SRAS, mais pas chez les patients qui présentaient des symptômes similaires mais ne portaient pas le virus. Les changements neuronaux avec infection par le virus du SRAS démontrée étaient propres aux patients atteints du SRAS et n'ont pas été trouvés dans les cas mal diagnostiqués. Tous les contrôles utilisés dans les dosages du SRAS étaient négatifs et ont ainsi établi la spécificité des procédures d'hybridation *in situ* et d'immuno-histochimie. Des contrôles supplémentaires, y compris ceux pour le double marquage, ont exclu la possibilité d'interférence entre l'hybridation *in situ* et les réactions immuno-histochimiques lorsqu'elles sont réalisées en combinaison. Ils n'ont pas été trouvés dans les cas mal diagnostiqués. Tous les contrôles utilisés dans les dosages du SRAS étaient négatifs et ont ainsi établi la spécificité des procédures d'hybridation *in situ* et d'immuno-histochimie [61].

Des contrôles supplémentaires, y compris ceux pour le double marquage, ont exclu la possibilité d'interférence entre l'hybridation *in situ* et les réactions immuno-histochimiques lorsqu'elles sont réalisées en combinaison. et n'ont pas été trouvés dans les cas mal diagnostiqués. Tous les contrôles utilisés dans les dosages du SRAS étaient négatifs et ont ainsi établi la spécificité des procédures d'hybridation *in situ* et d'immuno-histochimie. Des contrôles supplémentaires, y compris ceux pour le double marquage, ont exclu la possibilité d'interférence entre l'hybridation *in situ* et les réactions immuno-histochimiques lorsqu'elles sont réalisées en combinaison [61].

5 L'étude comparative

5.1 La comparaison entre le SRAS et le COVID-19

Le COVID-19 et le SRAS sont similaires à bien des égards. Par exemple, les deux: elles sont des maladies respiratoires causées par des coronavirus. Elles sont peut-être originaires de chauves-souris, transmis aux humains via un hôte animal intermédiaire. Elles se propagent par des gouttelettes respiratoires produites lorsqu'une personne infectée tousse ou éternue, ou par contact avec des objets ou des surfaces contaminées. Elles ont une stabilité similaire dans l'air et sur diverses surfaces. Elles peuvent entraîner une maladie potentiellement grave, nécessitant parfois de l'oxygène ou une ventilation mécanique. Elles ont des groupes à risque similaires, comme les personnes âgées et les personnes souffrant de problèmes de santé sous-jacents. Elles n'ont pas de traitements ou de vaccins spécifiques. Cependant, les deux maladies et les virus qui les provoquent sont également différents de plusieurs manières importantes [25].

5.1.1 Les symptômes

Dans l'ensemble, les symptômes du COVID-19 et du SRAS sont similaires. Mais il existe des différences subtiles (Tableau 02) [62].

Tableau 02: Les différentes symptômes entre le COVID-19 et le SRAS [62]

Symptômes	COVID-19	SRAS
Symptômes courants	Fièvre, toux, fatigue, essoufflement.	Fièvre, toux, malaise, courbatures et douleurs, maux de tête, essoufflement.
Symptômes moins courants	nez qui coule ou bouché, maux de tête, courbatures et douleurs musculaires, mal de gorge, nausées, diarrhée, frissons (avec ou sans secousses répétées), perte de goût, perte d'odorat.	diarrhée, frissons.

5.1.2 La gravité

On estime que 20 pour cent des personnes atteintes de COVID-19 devront être-covhospitalisées pour traitement. Un plus petit pourcentage de ce groupe aura besoin d'une ventilation mécanique par contre les cas de SRAS étaient plus graves, en général. On estime que 20 à 30 pourcent des personnes atteintes du SRAS avaient besoin d'une ventilation mécanique. Les estimations du taux de mortalité du COVID-19 varient considérablement en fonction de facteurs tels que l'emplacement et les caractéristiques d'une population. De manière générale, les taux de mortalité du COVID-19 ont été estimés entre 0,25 et 3%. Le

SRAS est beaucoup plus mortel que le COVID-19. Le taux de mortalité estimé est d'environ 10 pourcent [62].

5.1.3 La transmission

COVID-19 semble se transmettre plus facilement que le SRAS. Une explication possible est que la quantité de virus, ou charge virale, semble être la plus élevée dans le nez et la gorge des personnes atteintes de COVID-19 peu de temps après le développement des symptômes. Cela contraste avec le SRAS, dans lequel les charges virales ont culminé beaucoup plus tard dans la maladie. Cela indique que les personnes atteintes de COVID-19 peuvent transmettre le virus plus tôt au cours de l'infection, juste au moment où leurs symptômes se développent, mais avant qu'ils ne commencent à s'aggraver. Selon le Centres de contrôle et de prévention des maladies (CDC), certaines recherches suggèrent que le COVID-19 peut être propagé par des personnes qui ne présentent pas de symptômes [62].

5.1.4 Les facteurs moléculaires

Une étude récente sur le génome complet de SRAS-CoV-2 ont révélé que le virus était plus étroitement lié aux coronavirus de chauve-souris qu'au virus du SRAS. Le nouveau coronavirus a une similitude génétique de 79% avec le virus du SRAS (Figure 28). Le site de liaison au récepteur du SRAS-CoV-2 a également été comparé à d'autres coronavirus, il a donné un résultat intéressant. Alors que le génome du SRAS-CoV-2 est globalement plus similaire à celui des coronavirus de chauve-souris, la séquence du site de liaison au récepteur était plus similaire à celle de SRAS-CoV [62].

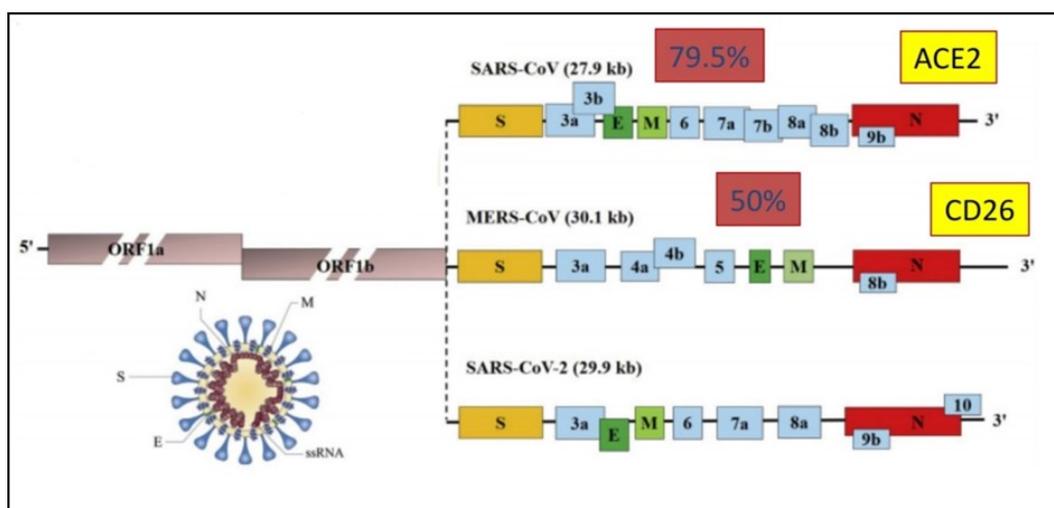


Figure 28: Résultats d'analyse génomique des trois virus SRAS-CoV, MERS-CoV et SRAS-CoV-2 [62]

5.1.5 La liaison de récepteur

Des études sont en cours pour savoir comment le nouveau coronavirus se lie et entre dans les cellules par rapport au virus du SRAS. Les résultats sont jusqu'à présent variés. Une étude récente a confirmé que le SRAS-CoV-2 et le SRAS-CoV utilisent le même récepteur de cellule hôte. Il a été également constaté que pour les deux virus, les protéines virales utilisées pour l'entrée dans la cellule hôte se lient au récepteur avec la même affinité. Une autre étude récente a comparé la zone spécifique de la protéine virale responsable de la liaison au récepteur de la cellule hôte. Le SRAS-CoV-2 se lie au récepteur de la cellule hôte avec une affinité plus élevée que celle du SRAS-CoV. Si le nouveau coronavirus a en effet une affinité de liaison plus élevée pour son récepteur de cellule hôte, cela pourrait également expliquer pourquoi il semble se propager plus facilement que le virus du SRAS [62].

5.2 La comparaison du SRAS-CoV-2 avec le SRAS-CoV et le MERS-CoV

les principales caractéristiques épidémiologiques, de transmission, de gravité ainsi que les taux de létalité du SRAS-CoV-2 en comparaison avec d'autres coronavirus épidémiques sont résumées dans le tableau 03 et tableau 04 [63].

Tableau 03: Comparaison des infections grave [63]

	Syndrome respiratoire aigu sévère (SRAS)	Syndrome respiratoire du moyen - Orient (MERS)	Maladie à coronavirus 2019 (COVID-19)
Agent pathogène	SRAS-CoV	MERS-CoV	SRAS-CoV-2
Année d'apparition	2003	2012	2019
Nombre de cas	8098 dont 5327 en Chine.	1219	En cours
Pourcentage de cas par transmission nosocomiale	58%	70%	-
Nombre de décès	774 (dont 349 en Chine).	449	En cours
Réservoir	Chauve-souris	Dromadaire	Chauve-souris (probablement)
Transmission à l'homme par l'animal	Consommation de viande de civette palmiste masquée, animal sauvage vendu sur les marchés et consommé dans le sud de la Chine.	Contact direct avec un animal infecté. consommation de lait cru du dromadaire.	Un pangolin (pourrait être l'hôte intermédiaire).
Transmission interhumaine	Oui	Oui	Oui
Transmission par objet	Oui	-	Risque très faible.
Transmission materno-fœtale	Aucun cas retrouvé chez les femmes enceintes infectés par ce virus.	-	Aucune preuve.

Tableau 04: Comparaison des infections grave (suite) [63]

Transmission par le lait maternel	Un seul cas documenté	-	RT-PCR négative sur 16 femmes testées.
Incubation	Entre 2 et 7 jours	Entre 5 et 15 jours.	Durée médiane d'incubation à 5.1 jours (5.5 jours en moyenne), 97.5% des personnes seront malades, 11.5 jours après le contact infectieux.
Porteur sain	Probablement pas.	-	Oui (un seul cas publié).
Contagiosité	Taux de reproduction supérieur à 2.	Taux de reproduction inférieur à 1.	Médiane du taux de reproduction de base (R_0) à 2.79.
Durée de la contagiosité	-	-	Semble limitée à la période des signes cliniques. possibilité disputée de contagion en phase asymptomatique.
Début de la période de la contagiosité	3 à 4 jours après le début des signes cliniques.	-	Dès l'apparition des signes cliniques. Porteur asymptomatique prouvé.
Fièvre	À 99%	À 99%	A 87,9% , mais peut apparaitre plusieurs jours après le taux ou les difficultés à respirer
Diarrhée	À 20%	À 26%	À 3,7%
Transmission par les selles	Très probable mais a joué un rôle mineur.	-	Cette possibilité est envisagée.
Létalité	9.5 % , au-delà de 50% chez les plus de 65 ans.	34.4%	3.4%
Traitement	Symptomatique	Symptomatique	Symptomatique
Vaccin	Aucun	Aucun	Aucun
Statut	Considéré comme éradiqué.	Résurgence possible	Epidémie en cours

6 La propagation du virus

Reconnu comme assez contagieux ($R_0 \approx 2-3$, contre 12-18 pour la rougeole³), et fortement létal, le virus SRAS-CoV se répand à partir de novembre 2002. Parti de Chine, il parcourt rapidement le globe en suivant les axes du transport de voyageurs international et atteint 29 pays en quelques mois. L'évolution des contaminations est exponentielle jusqu'en mai 2003, puis se stabilise avant de chuter (Figure 29) [64, 65].

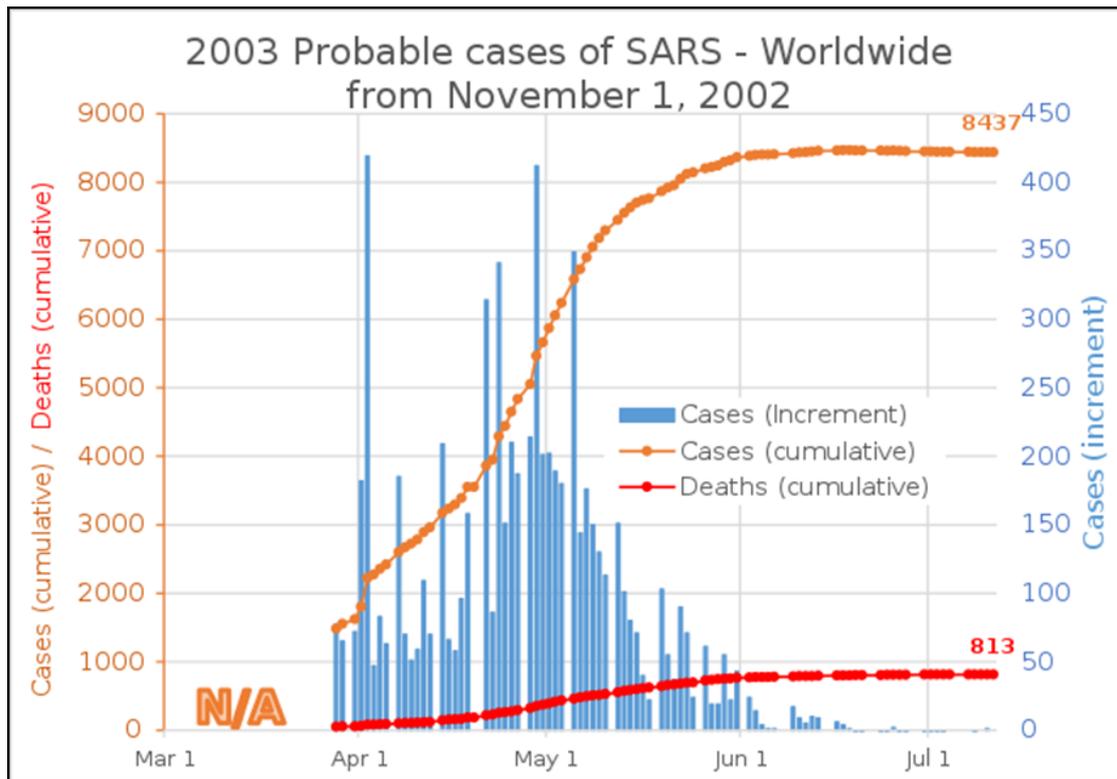


Figure 29: Evolution mondiale de la contamination (en bleu, mensuelle ; en orange, cumulative) et du nombre de décès (en rouge) au SRAS [65]

6.1 Chine

Cette maladie pourrait être attribuée à la province du Guangdong, en Chine, à la mi-novembre 2002. Le 11 février, l’OMS a reçu des rapports du ministère chinois de la Santé faisant état d’une flambée de 305 cas avec cinq décès dus au syndrome respiratoire aigu dans le Guangdong, en Chine. Aucune autre information n’a été fournie avant le 26 mars 2003, date à laquelle la Chine a mis à jour ses chiffres ; il y a eu un total de 792 cas et 31 décès. La Chine a commencé à signaler quotidiennement les cas de SRAS au début du mois d’avril. En avril, l’épidémie s’est propagée et a atteint son sommet à Pékin et dans plusieurs régions de Chine sans que le gouvernement central reconnaisse la gravité de la situation. Le 20 avril, la Chine a destitué le ministre national de la Santé et le maire de la ville de Pékin pour leur mauvaise gestion de la crise du SRAS et s’est engagé à coopérer pleinement avec l’OMS. Les mesures de contrôle, y compris l’isolement, le suivi des contacts et la quarantaine, appuyées par le plus haut niveau de gouvernement, ont entraîné une baisse rapide des cas dans ce pays. L’OMS a retiré ses conseils de voyage et la liste des régions où la transmission locale a récemment été transmise de Pékin le 24 juin [66].

Chapitre 3

La Chine a accumulé un total de 5327 cas probables avec 349 décès à la fin de l'épidémie (Figure 30) avec un taux de létalité de 7% [66].

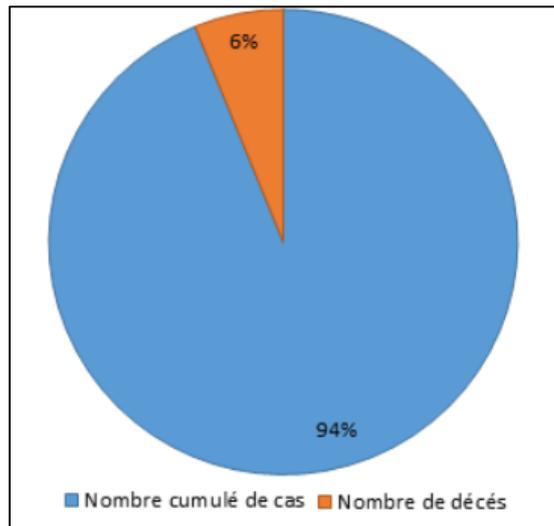


Figure 30: Nombre cumulé de cas et nombre de décès dans la Chine [66]

6.2 Hong Kong

L'épidémie majeure de SRAS dans la communauté s'est produite à Amoy Gardens, un complexe d'appartements de grande hauteur, qui a infecté 329 résidents à la fin mars (Figure 31). Cette éclosion pourrait être retracée à un patient déchargé du même service de l'hôpital prince de Galles. Une forte proportion de patients atteints du SRAS à Hong Kong pourrait être liée au premier cas d'indice, mais la proportion exacte n'est pas connue à l'heure actuelle. La frontière poreuse entre Hong Kong et le sud de la Chine a rendu l'épidémie difficile à contrôler [66].

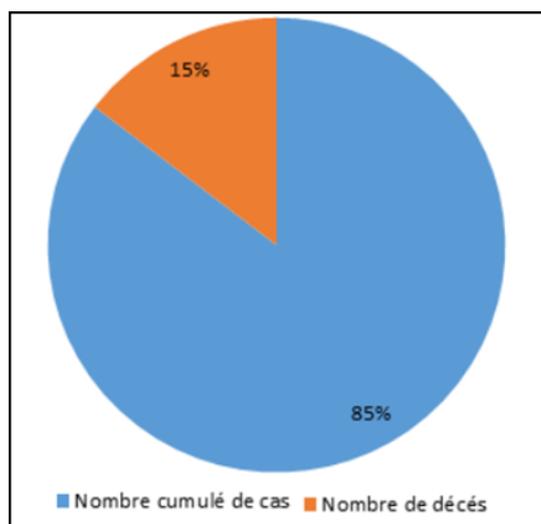


Figure 31: Nombre cumulé de cas et nombre de décès dans Hong Kong [66]

6.3 Taiwan

Le premier cas de SRAS à Taïwan s'est produit le 8 mars chez un homme d'affaires ayant des antécédents de voyage à la fin de février dans la province du Guangdong, en Chine. L'épidémie à Taiwan a d'abord augmenté lentement avec seulement 23 cas probables détectés dans le premier mois. L'épidémie s'est intensifiée à la mi-avril lorsque la maladie s'est propagée rapidement à l'intérieur d'un hôpital et plus tard dans la communauté à la suite d'un manquement aux procédures de lutte contre l'infection (Figure 32). Par la suite, les efforts ont été intensifiés pour renforcer les mesures de lutte contre les infections dans les hôpitaux, l'isolement, la quarantaine et la surveillance, ainsi que des campagnes d'éducation de masse. Cela a entraîné la rupture de la chaîne de transmission de la maladie. Taiwan a connu la troisième plus grande épidémie et a été la dernière à être retirée de la liste des régions où la transmission locale a été récente. Le taux de létalité était de 27 % [66].

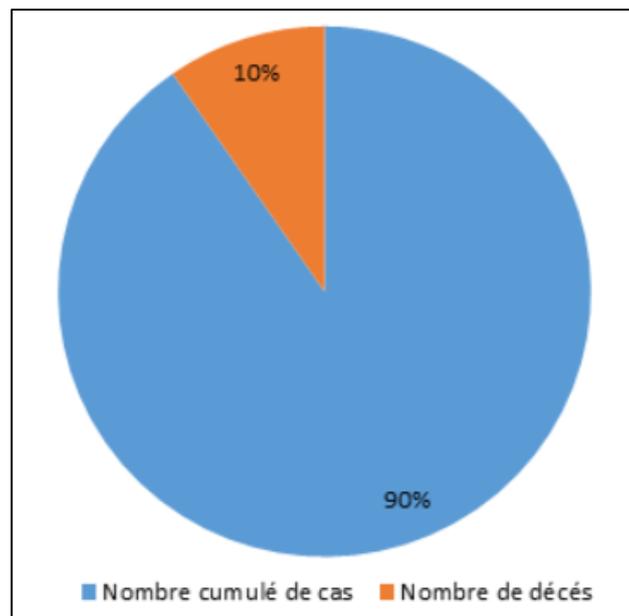


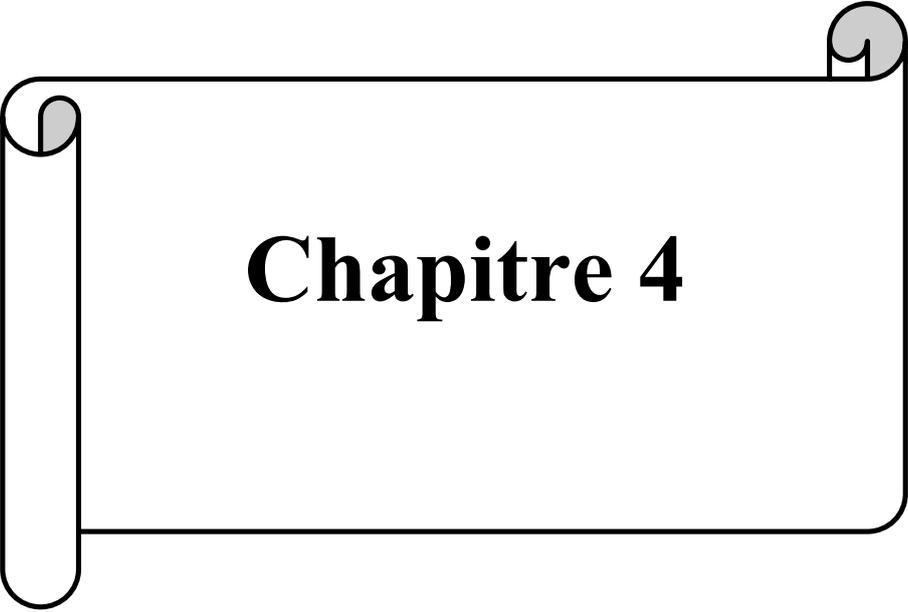
Figure 32: Nombre cumulé de cas et nombre de décès dans Taiwan [66]

Le tableau 05 montre le nombre total cumulatif mondial de cas de SRAS probable et le nombre de décès en sont attribuables à la fin de l'épidémie [67].

Chapitre 3

Tableau 05 : Nombre cumulé de cas de SRAS et de décès dans le monde, Novembre 2002- 7 Aout 2003 [67]

Pays	Nombre cumulé de cas	Nombre de décès	Taux de létalité %
Australie	5	0	-
Canada	251	41	17
Chine	5327	349	7
Hong Kong	1755	300	17
Taiwan	346	37	11
Indonésie	2	0	-
Malaisie	5	2	-
Nouvelle-Zélande	1	0	-
Philippines	14	2	-
Corée	3	0	-
Singapour	238	33	14
Thaïlande	9	2	-
Vietnam	63	5	8
Total	8098	774	9.6



Chapitre 4

1 La stabilité et la viabilité

1.1 La sensibilité aux médicaments

À l'exception des traitements de routine tels que l'inhalation d'oxygène et la corticothérapie, son traitement comprenait principalement « un médicament antiviral la ribavirine + une forte dose d'hormone stéroïde ». Il a été confirmé que la ventilation mécanique était très importante dans le traitement du SRAS. Une forte dose d'une hormone stéroïde était efficace au stade précoce de l'infection par le SRAS-CoV [68]. Ces résultats sont obtenus par rapport au premier cas admis à l'institut Guangzhou des maladies respiratoires. En raison d'une fièvre persistante et de similitudes avec le syndrome de détresse respiratoire aiguë, il a reçu des corticostéroïdes à forte dose (la méthylprednisolone 160 mg/jour). Cependant, les inconvénients d'une forte dose d'une hormone stéroïde sont également apparus lors du suivi, y compris l'ostéonécrose osseuse [69].

Les anti-viraux anti SRAS-CoV

1.1.1 Les anticorps

La réponse humorale au SRAS-CoV a été étudiée chez des patients au cours de l'épidémie de 2003. Les IgM et IgG virales étaient absentes du sérum des patients pendant 1 semaine après l'apparition des symptômes. À la semaine 2, certains patients avaient des IgM dans leur sérum, tandis que d'autres avaient des IgG. À la semaine 3, tous les patients avaient des IgG et des taux élevés persistaient pendant trois mois après l'apparition des symptômes. Les taux d'IgM sont restés élevés jusqu'à la semaine 4, puis ils ont commencé à baisser avec le temps pour disparaître finalement à la 12^{ème} semaine. Aucun des volontaires sains de l'étude n'était positif pour les IgM ou les IgG virales spécifiques. Ces résultats suggèrent que des réponses d'anticorps IgG spécifiques du SRAS-CoV existent et que les anticorps persistent pendant au moins 3 mois. Les résultats précédents suggéraient en outre que les réponses immunitaires humorales pouvaient offrir une protection contre le SRAS-CoV [70].

1.1.2 Les inhibiteurs de protéase

L'action de 3CLpro et PLpro (protéase de type papaïne) sur les polyprotéines pp1a et pp1ab génère 16 protéines non structurales matures (nsps) dont l'ARN polymérase ARN-dépendante (RdRp) (nsp12), la 3CLpro (nsp5), la PLpro (nsp3) et une hélicase (nsp13). Par conséquent, il est évident que le clivage des polyprotéines est crucial pour le cycle de vie du

SRAS-CoV. Le blocage des protéases virales 3CLpro et PLpro pourrait inhiber la réplication du SRAS-CoV [70].

1.1.3 Les inhibiteurs de l'hélicase virale

Lors de la réplication du SRAS-CoV, l'hélicase (nsp13) catalyse le déroulement de l'ARN viral double brin qui se forme lors de la réplication virale. Le processus implique l'adénosine triphosphate (ATP) qui est essentiel pour une réplication virale réussie [71]. Une étude a montré qu'une classe de composés appelés bananines, qui comprend la bananine, l'iodobananine, la vanillinbananine, l'ansabananine, l'eubananine et l'adéninobanine, inhibait la réplication du SRAS-CoV en culture cellulaire en inhibant l'activité ATPase de l'hélicase [72]. Les complexes de bismuth ont inhibé les activités de déroulement et ATPase de l'hélicase [73]. La myricétine (Figure 33A) et scutellaréine (Figure 33B) ont également inhibé le SRAS-CoV en inhibant l'activité ATPase de l'hélicase [74]. Une petite molécule nommée SSYA10-001 (composé de triazole, Figure 33C) a inhibé la réplication *in vitro* du SRAS-CoV en inhibant l'activité de déroulement de l'hélicase mais pas l'activité ATPase. Bien qu'ils soient efficaces pour inhiber la réplication du SRAS-CoV, la plupart des inhibiteurs de l'hélicase sont toxiques en raison de l'inhibition des ATPases ou kinases cellulaires, ce qui limite leur développement ultérieur en tant qu'antiviraux contre le SRAS-CoV [75].

1.1.4 Les inhibiteurs de réplication et de transcription

Le RdRp du SRAS-CoV forme un complexe de réplisome avec d'autres protéines virales ce qui est crucial pour la réplication et la transcription de l'ARN viral. L'analyse du domaine catalytique du SRAS-CoV RdRp a conduit à la prédiction des analogues nucléosidiques 2'-C-méthyladénosine et 2'-O-méthylcytidine comme inhibiteurs potentiels de RdRp. Un groupe de recherche a démontré qu'un autre analogue nucléosidique, la β -D-N4-hydroxycytidine (Figure 33D), a bloqué la réplication du SRAS-CoV en inhibant la RdRp. La Galidesivir (BCX4430 ou immucilline-A, Figure 33E) a été récemment développée et décrite comme un analogue nucléosidique qui inhibait la réplication d'Ebola, de Marburg et d'autres virus dans différents modèles d'infection par l'arrêt prématuré de la synthèse de la chaîne d'ARN [76]. Dans une autre étude, les deux analogues nucléosidiques 6-azauridine (Figure 33F) et pyrazofurine (Figure 33G) ont inhibé la réplication du SRAS-CoV dans les cellules Vero en inhibant l'orotidine monophosphate décarboxylase et en bloquant ainsi la biosynthèse de novo de la pyrimidine [77].

La ribavirine (Figure 33H) est un autre analogue nucléosidique qui a été utilisé comme antiviral pour le traitement de nombreuses infections virales telles que le virus de l'hépatite C (VHC) et le virus respiratoire syncytial (RSV). Il est activé à l'intérieur des cellules par les kinases cellulaires et s'incorpore dans la chaîne d'ARN nouvellement synthétisée, entraînant des mutations virales mortelles [78]. On pense également qu'il inhibe l'inosine monophosphate (IMP) déshydrogénase cellulaire, ce qui entraîne une déplétion du GTP (Guanosine triphosphate) intracellulaire qui conduit à l'inhibition de la synthèse de la coiffe de l'ARNm [79]. Plusieurs groupes ont démontré que la ribavirine n'inhibait pas la réplication du SRAS-CoV dans les cellules Vero à des concentrations comparables à celles *in vivo* [77]. Cependant, d'autres groupes ont montré que la ribavirine inhibait efficacement la réplication du SRAS-CoV dans les cellules rénales fœtales rhesus (FRhK-4). De plus, il a été démontré que la ribavirine inhibe la réplication du SRAS-CoV dans d'autres lignées cellulaires rénales et des cellules cancéreuses [79]. Malgré l'efficacité de la ribavirine contre le SRAS-CoV dans certaines études *in vitro*, plusieurs études cliniques ont rapporté l'inefficacité de la ribavirine chez les patients atteints de SRAS-CoV. Par ailleurs, il a été montré que la charge virale augmentait chez les souris BALB/c traitées par la ribavirine et d'autres inhibiteurs de l'IMP déshydrogénase, indiquant que ces médicaments ne devraient pas être envisagés pour le traitement des infections humaines par le SRAS-CoV [80]. Malheureusement, les multiples effets secondaires de la ribavirine, y compris l'anémie, l'hypocalcémie et l'hypomagnésémie, ont découragé son utilisation pour le SRAS-CoV. Les mauvais résultats cliniques et la résistance du SRAS-CoV à la ribavirine ont été liés à la nature spécifique de RdRp et à l'activité exonucléase 3' 5' de nsp14, qui est censée effectuer une relecture du brin d'ARN nouvellement synthétisé pendant la réplication virale [81].

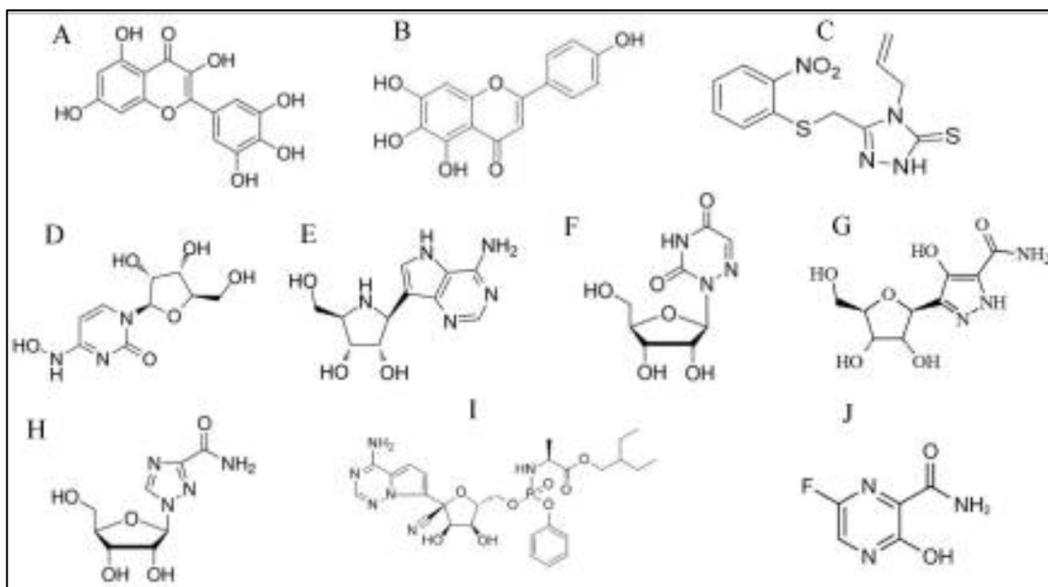


Figure 33: Structures chimiques des inhibiteurs de l'hélicase et de la RdRp du SRAS-CoV : (A) myricétine, (B) scutellaréine, (C) SSYA10-001, (D) β-D-N4-hydroxycitidine, (E) ganidesivir, (F) 6-azauridine, (G) tyrazofurine, (H) ribavirine, (I) remdesivir et (J) favipiravir [81]

1.2 La sensibilité aux désinfectants

Le SRAS-CoV est inactivé par les procédures de désinfection habituelles, comme le contact avec l'eau de Javel domestique (5 minutes), l'acétone glacée (90 secondes), le mélange acétone glacée et méthanol (40:60, 10 minutes), l'éthanol à 70 % (10 minutes), l'éthanol à 100 % (5 minutes), le paraformaldéhyde (2 minutes) et le glutaraldéhyde (2 minutes). Les marques courantes de désinfectants pour les mains inactivent également le SRAS-CoV (30 secondes) [82].

1.3 L'inactivation physique

1.3.1 La sensibilité à la chaleur

L'inactivation virale du SRAS-CoV s'est produite à 90, 60 et 30 minutes après l'incubation à 56, 65 et 75 °C, respectivement (Figure 34). La chaleur est un moyen efficace d'inactivation du SRAS-CoV, cependant, les stocks contenant des agrégats viraux peuvent nécessiter une plus longue durée d'exposition à la chaleur [83].

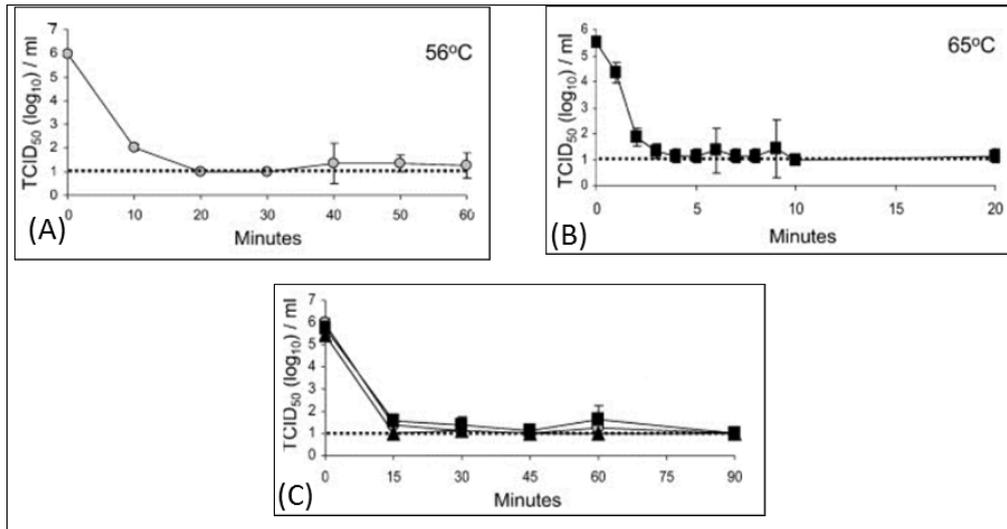


Figure 34: Effet du traitement thermique sur l'infectivité du SRAS-CoV [83]

1.3.2 La sensibilité au rayonnement UV et l'irradiation gamma

La lumière UV est divisée en trois classes : UVA (320–400 nm), UVB (280–320 nm) et UVC (200–280 nm). L'exposition plus de 15 minutes aux UVC inactivaient le virus tandis que la lumière UVA n'avait aucun effet sur la viabilité, quelle que soit la durée de l'exposition. L'irradiation gamma n'a aucun effet sur le SRAS-CoV (Figure 35) [83].

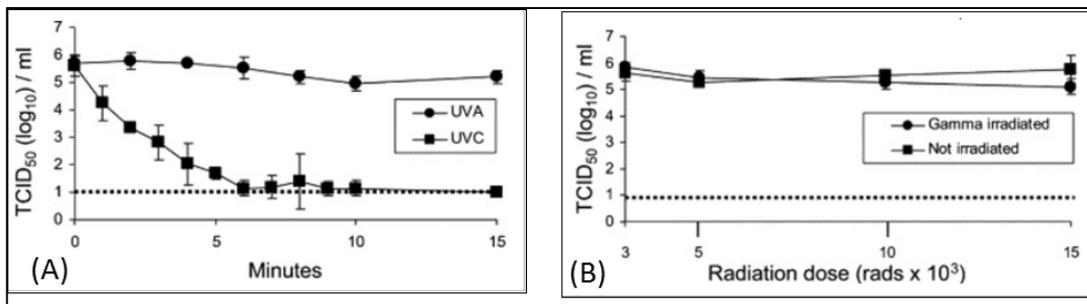


Figure 35: Effet des rayonnements sur l'infectiosité du SRAS-CoV [83]

1.3.3 L'effet des changements de pH sur l'infectiosité du SRAS

Un potentiel hydrogène (pH) de 8,0 induit un changement de conformation dans la protéine de pointe du coronavirus, le virus de l'hépatite de la souris (MHV), qui permet la fusion du virion avec la cellule hôte. Cependant, Xiao *et al.* ont conclu que la fusion de la protéine de pointe du SRAS-CoV avec la cellule hôte a lieu à un pH neutre. Ces données suggèrent que différentes conditions de pH affectent les protéines de pointe des coronavirus et que l'activité de la protéine de pointe du SRAS-CoV peut être sensible aux changements de pH, éventuellement en modifiant la nature infectieuse des particules virales d'où l'intérêt d'étudier l'effet de différentes valeurs de pH sur l'infectivité du SRAS-CoV. Après avoir

exposé le SRAS-CoV à des conditions alcalines extrêmes (pH 12 et 14) pendant 1 h, puis inversé les conditions en une solution tamponnée neutralisée, le virus a été complètement inactivé (Figure 36). Des variations modérées des conditions de pH de 5 à 9 avaient peu d'effet sur le titre viral, et ce quelle que soit la température. Cependant, des conditions de pH très acides de 1 et 3 ont complètement inactivé le virus à 25 et 37 °C. Tandis qu'à 4 °C, et à pH 3 les virus n'est pas complètement inactivé. Ces données indiquent que l'infectivité du SRAS-CoV est sensible aux pH extrêmes [83].

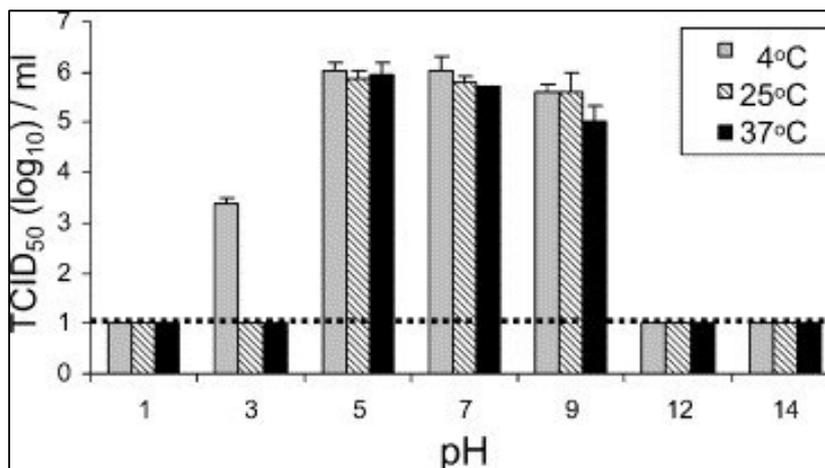


Figure 36: Effet des conditions de pH sur l'infectivité du SRAS-CoV [83]

1.4 La survie du SRAS à l'extérieur de l'hôte

1.4.1 La survie du SRAS-CoV dans différents échantillons de selles

Le SRAS-CoV peut survivre pendant 4 à 5 jours à température ambiante dans des échantillons de selles diarrhéiques. Du point de vue de la lutte contre l'infection du SRAS, il est important de savoir que les excréments des patients atteints du SRAS (en particulier ceux qui ont la diarrhée) peuvent rester hautement infectieux pendant une période considérablement longue (Figure 37), et des précautions appropriées doivent être prises pour éviter la formation d'aérosols. En raison de la transmission aérienne probable du SRAS [84].

1.4.2 La survie du SRAS-CoV dans différents échantillons respiratoires

Le SRAS-CoV peut survivre dans des échantillons respiratoires pendant 5 jours à température ambiante et jusqu'à 3 semaines à 4 °C. Bien que les matières fécales normales semblent avoir un effet délétère sur sa survie. Le virus pourrait avoir une survie prolongée lorsqu'il est présent dans les selles diarrhéiques. Le virus peut survivre pendant 4 jours à température ambiante après avoir été enrichi dans des selles diarrhéiques à pH alcalin (Figure 38) [84].

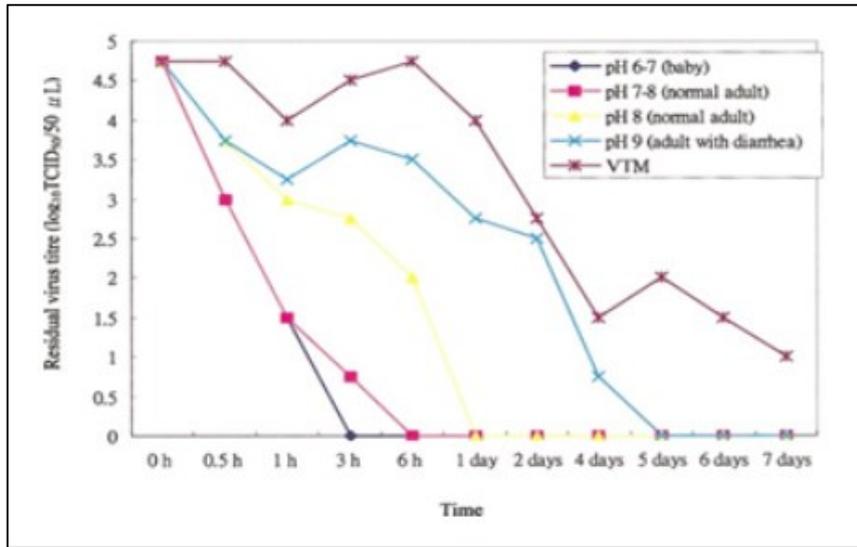


Figure 37: Survie du SRAS-CoV dans différents échantillons de selles [84]

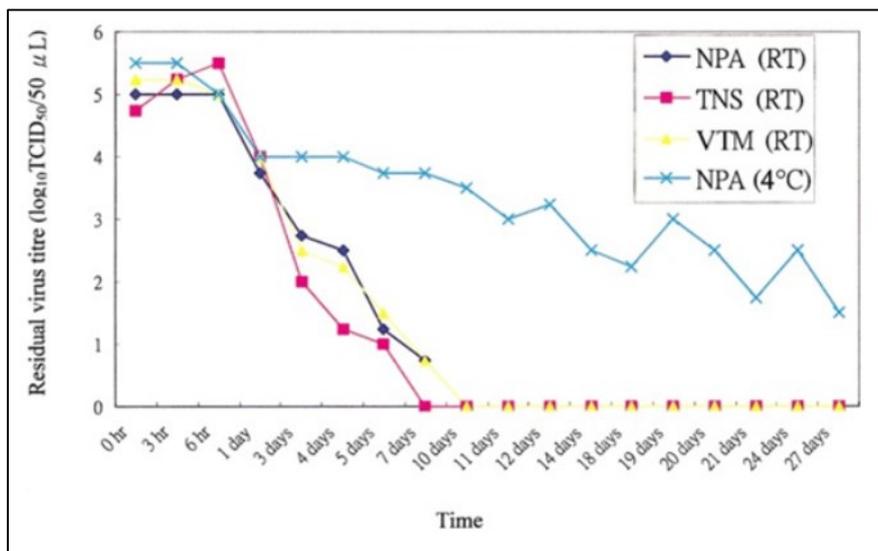


Figure 38: Temps de survie du coronavirus du syndrome respiratoire aigu sévère dans les échantillons d'aspiration nasopharyngée (NPA), les échantillons de gorge et d'écouillon nasal (TNS) ou le milieu de transport viral (VTM) à température ambiante (RT) et à 4 °C [84]

1.4.3 La survie du SRAS-CoV sur papier, la blouse jetable imperméable et la blouse en coton non jetable

Le risque d'infection par contact avec un papier contaminé par des gouttelettes est faible (Tableau 06). Les mesures standard de contrôle des infections, telles que le lavage des mains après avoir touché un matériel infectieux potentiel, sont efficaces contre la transmission nosocomiale du SRAS. Les données actuelles montrent qu'une blouse en coton ordinaire offre

Chapitre 4

une protection raisonnable contre les petites gouttelettes contenant le SRAS-CoV. L'étude soulève également la possibilité que les gouttelettes accrochées à une blouse jetable non absorbante présentent un risque de contamination de l'environnement lorsque les travailleurs de la santé portent la blouse en permanence ou lorsqu'ils essaient de retirer la blouse. Une conclusion similaire peut également être tirée pour les gants, bien que les gants n'aient pas été testés. Un vêtement jetable spécialement conçu avec une stratification hydrofuge qui a une feuille extérieure absorbant les liquides peut offrir une meilleure protection pour le personnel [84].

Tableau 06: Durée de survie du coronavirus du syndrome respiratoire aigu sévère (SRAS-CoV) sur papier, blouse jetable et blouse en coton [84]

Inoculation, TCID ₅₀ /Ml	Temps nécessaire pour inactiver le SRAS-CoV, par surface		
	Papier	Blouse jetable	Blouse en coton
10 ⁶	24 h	2 jours	24 h
10 ⁵	3 h	24 h	1 h
10 ⁴	<5 min	1 h	5 min

2 Les premiers soins et aspects médicaux

2.1 La surveillance

Aucun symptôme du SRAS ne permet de différencier ce syndrome des autres causes de pneumonie ou de maladie respiratoire ; le diagnostic repose donc entièrement sur la confirmation de l'infection en laboratoire. L'obtention d'une culture virale positive à partir d'un prélèvement respiratoire, fécal, urinaire ou tissulaire ou l'observation d'une augmentation par un facteur de quatre du titre de l'anticorps neutralisant entre la mesure effectuée à l'admission et celle effectuée 28 jours plus tard sont les résultats les plus concluants à l'appui d'une infection par le SRAS-CoV. Cependant, la détection rapide des acides nucléiques par RT-PCR ou des antigènes par ELISA constituent des méthodes acceptables. L'immunofluorescence, la microneutralisation, la microscopie électronique et la radiographie thoracique permettent aussi de diagnostiquer l'infection à SRAS-CoV. Les caractéristiques épidémiologiques comme l'exposition à des cas connus de patients atteints du SRAS ou à des régions touchées par le SRAS peuvent aider à reconnaître rapidement l'infection [82].

2.2 Les premiers soins et traitement

La prise en charge clinique du SRAS repose grandement sur les soins de soutien. La ribavirine, les corticostéroïdes, le lopinavir, le ritonavir, l'interféron de type 1, les immunoglobulines intraveineuses et le plasma de convalescent ont tous été employés par les médecins pour traiter le SRAS, mais il est impossible de déterminer s'ils ont réellement été profitables aux patients pendant l'épidémie. Aucun traitement n'a été entrepris pour les animaux infectés [82].

2.3 L'immunisation

Plusieurs vaccins candidats inactivés ont été mis au point, mais ils ne sont actuellement pas disponibles pour usage chez l'humain en raison d'importantes préoccupations en matière de sécurité. Certains vaccins en cours de développement n'ont été mis à l'essai que sur des modèles animaux, sans preuve évidente de protection contre la maladie. D'autres vaccins se sont révélés efficaces pour réduire la réplication virale dans les modèles animaux ; toutefois, ces animaux n'expriment pas tous les signes cliniques et la létalité du SRAS-CoV observés chez les humains infectés [82].

Plusieurs stratégies potentielles peuvent être envisagées pour la vaccination contre le SRAS-CoV, y compris un vaccin à virus entier tué (WKV), un vaccin vivant atténué contre le SRAS-CoV, un vecteur viral tel que l'adénovirus ou le virus Vaccinia exprimant les gènes du SRAS-CoV, le SRAS recombinant-Protéines CoV et vaccins à base d'ADN deux approches vaccinales contre le SRAS ont été développées en parallèle et évaluées pour leur efficacité dans un modèle de SRAS murin [85].

3 Les mesures de précaution en cas de suspicion de SRAS

La principale voie de transmission est le contact de liquides biologiques infectieux avec les muqueuses des voies respiratoires (nez, bouche) ou conjonctivales (transmission par gouttelettes, par particules dans l'air aérosols ou éventuellement par voie féco-orale). La transmission peut résulter d'un contact direct avec une personne malade (par exemple en se donnant la main) ou d'un contact indirect (en touchant des objets contaminés par des sécrétions respiratoires). Des mesures de précaution adéquates s'imposent pour éviter toute transmission [86].

3.1 Les mesures de précaution visant à éviter le risque de transmission

3.1.1 *Les malades, personnes ayant été en contact avec un cas suspect, personnel médical et soignant*

Les malades susceptibles d'être atteints du SRAS doivent porter un masque chirurgical ou de type FFP2 (éviter les masques de type FFP3 puisqu'ils ne filtrent pas l'air expiré. Ils sont très désagréables à porter pour les personnes souffrant de troubles respiratoires et ne sont donc pas indiqués) ; toute personne potentiellement atteinte du SRAS doit immédiatement être isolée ; les données concernant les personnes qui ont été en contact étroit avec le malade depuis l'apparition des premiers symptômes doivent être consignées en détail et par écrit. Les personnes concernées doivent être contactées et informées ; Réduire au strict minimum le transport des patients. Les directives sur l'hygiène des mains doivent être scrupuleusement respectées ; avant de pénétrer dans des chambres d'isolement, le personnel médical et soignant doit revêtir l'équipement de protection suivant: masque filtrant de type FFP2 ou FFP3, gants non stériles, blouse jetable, lunettes de protection, protège-chaussures et couvre-chef avec col ; dans les situations à risque (fortes quintes de toux, manipulations trachéales sur patients intubés, etc.), le masque de haute protection (de type FFP2 ou FFP3) sera remplacé par un système de protection respiratoire recouvrant toute la tête, avec visière et ventilation positive d'air pressurisé ; tout examen comportant un important risque de transmission (lavage bronchique, bronchoscopie, etc.) exige des mesures maximales de protection ; les manipulations d'échantillons prélevés sur des patients doivent être limitées au minimum indispensable en raison du risque de contamination des personnes et de l'environnement ; les visites doivent être limitées au strict minimum (par exemple parents d'enfants en bas âge) ; si une visite ne peut pas être évitée, le visiteur s'équipera d'un masque de type FFP2 ou FFP3, de gants, d'une blouse jetable, de lunettes de protection, de protège-chaussures et d'un couvre-chef avec col avant de pénétrer dans la chambre du malade. Il sera assisté par un membre du personnel soignant au moment d'entrer et de sortir de la chambre. Les visites doivent être consignées par écrit (nom, date de naissance, adresse, lieu, date, circonstances et durée du contact) [86].

3.1.2 *Le matériel, la désinfection et les déchets*

N'utiliser si possible que du matériel jetable. Les instruments et autres objets généralement soumis à désinfection doivent si possible être stérilisés ou du moins désinfectés; n'utiliser que de la vaisselle jetable; désinfecter les surfaces en utilisant des substances

neutralisant les virus; pour l'élimination des déchets cliniques, suivre les mesures de précaution usuelles; le linge sale doit être transporté dans des sacs sur lesquels figure la mention « infectieux », mais peut être lavé normalement. Cela implique toutefois que le personnel chargé du nettoyage porte un équipement de protection approprié avant de laver le linge, qu'il ait été formé à cette fin et qu'il soit informé de la provenance du linge [86].

3.2 Les mesures d'isolement et de quarantaine

3.2.1 L'isolement en milieu hospitalier

Les patients présentant des signes cliniques compatibles avec le SRAS doivent être isolés dans des locaux appropriés ; exigences concernant les locaux destinés à l'isolement en milieu hospitalier (par ordre décroissant d'efficacité): chambre munie d'une ventilation en pression négative et d'un sas, chambre individuelle avec sas, chambre individuelle; les portes d'une chambre d'isolement doivent rester fermées en permanence; si l'isolement concerne plusieurs patients, ils seront regroupés dans une unité équipée d'une aération et d'une ventilation autonomes; une notice sur laquelle figurent les mesures de prévention requises sera affichée sur la porte de la chambre d'isolement; les visites sont limitées au strict minimum (par exemple parents d'enfants en bas âge). Si une visite ne peut pas être évitée, le visiteur est tenu de respecter les mesures de précaution recommandées; toutes les visites doivent être consignées par écrit (nom, date de naissance, adresse, lieu, date, circonstances et durée du contact); les mesures de prévention visant à empêcher une transmission seront strictement observées [86].

3.2.2 L'isolement à domicile

Si l'isolement en milieu hospitalier ou dans un autre établissement approprié n'est pas possible ou pas indiqué, l'isolement à domicile devra respecter les points suivants : les malades ne doivent pas quitter la maison. Ils ne se rendent ni au travail, ni à l'école, ni à la crèche, etc.; les patients éviteront tout contact avec les personnes de l'extérieur (pas de visites) ou tiendront alors une liste des visiteurs à titre de documentation; ils évitent les transports publics et portent un masque chirurgical ou de type FFP2 pour se rendre à leurs rendez-vous médicaux (lorsqu'elles sont possibles, les visites médicales à domicile constituent une alternative pour diminuer le risque de transmission); les patients doivent rester dans des pièces séparées des autres personnes habitant sous le même toit, c'est-à-dire qu'ils doivent dormir dans une chambre séparée et si possible utiliser une autre salle de bains; le nombre de personnes vivant sous le même toit devrait se limiter au nombre requis pour

assurer les soins du ou des malade(s). Les autres colocataires doivent soit loger ailleurs soit limiter les contacts avec la personne malade au strict minimum (cette mesure de précaution est particulièrement importante pour les personnes présentant un risque accru de complications en cas d'infection au SRAS-CoV: par exemple les personnes souffrant de troubles cardiaques ou pulmonaires, de diabète, ou les personnes d'un certain âge); respecter les mesures de prévention suivantes visant à empêcher une transmission:

Les malades doivent porter un masque chirurgical pour protéger les personnes vivant sous le même toit. Les personnes étant en contact étroit avec les malades doivent également porter un masque de type FFP2 ou FFP3, se couvrir le nez et la bouche en cas de toux et jeter les mouchoirs et autres tissus utilisés (dans des sacs spécialement étiquetés à cet effet), les recommandations sur l'hygiène des mains doivent être scrupuleusement observées (par exemple se laver les mains au savon et à l'eau après tout contact avec du sang, des liquides biologiques etc. ou des objets contaminés). Les mains doivent être désinfectées avant tout contact avec d'autres personnes, surfaces ou objets utilisés en commun, le port de gants jetables est obligatoire lors de tout contact direct avec des liquides biologiques d'une personne malade. Le port de gants ne dispense pas des règles d'hygiène des mains, auxquelles il sera procédé après avoir quitté les gants. Ces derniers doivent être jetés, utiliser du linge distinct pour les personnes malades (linge de bain, de lit). Laver le linge à l'eau très chaude (minimum 60 °C). Porter des gants et un masque (de type FFP2 ou FFP3) pour laver le linge sale, la vaisselle et les couverts doivent être lavés à l'eau bouillante et au détergent, les objets lavables sont à désinfecter avec de l'alcool à 70 % ou un autre produit désinfectant de surface, les déchets résultant des soins apportés à un malade (gants, mouchoirs, etc.) doivent être éliminés dans des sacs à ordures spécialement étiquetés à cet effet; si les toilettes sont utilisées par plusieurs personnes, elles doivent être nettoyées avec un produit de ménage après chaque utilisation (le port de gants est alors obligatoire); avertir immédiatement le médecin en cas de détérioration de l'état de santé général ou d'aggravation des troubles respiratoires; les mesures d'isolement seront maintenues jusqu'à 10 jours après la disparition des symptômes (toux, fièvre). L'isolement peut être levé dès qu'il est exclu que le SRAS est à l'origine de la maladie [86].

3.2.3 La surveillance à domicile de l'état de santé des personnes ayant été en contact étroit avec des malades (quarantaine)

Les personnes ayant été en contact étroit avec des malades (susceptibles d'être) atteints du SRAS doivent être informées et mises en quarantaine à domicile durant les 10

jours qui suivent le dernier contact ou jusqu'à ce que le SRAS puisse être exclu; la température doit être prise deux fois par jour et consignée par écrit; la personne mise en quarantaine à domicile doit être contactée tous les jours par téléphone [86].

4 Les mesures individuelles de prévention de lutte contre une épidémie de SRAS

Les mesures individuelles de prévention et de lutte contre la propagation d'une épidémie de SRAS sont basées sur les modalités de transmission de l'agent responsable de cette infection. Il s'agit notamment de mesures d'hygiène de base qui ont montré leur efficacité dans la lutte contre la transmission d'agents infectieux lorsqu'elles sont strictement appliquées comme cela est recommandé en milieu de soins. En cas d'une transmission active du SRAS sur le territoire national, ces mesures seront rappelées à la population [87].

4.1 Les mesures individuelles

4.1.1 *Le lavage des mains*

C'est le premier geste simple qu'il est nécessaire de recommander et de renforcer. L'accent doit être porté sur l'intérêt d'augmenter la fréquence du lavage des mains et sa pratique doit être systématique dans les situations suivantes :

A la suite de contacts « rapprochés » avec d'autres personnes : transports en commun, collectivités.

A la sortie des toilettes (a fortiori quand elles sont publiques).

Avant l'entrée et à la sortie de toute collectivité.

Au retour à domicile.

Avant la manipulation de tout aliment : un renforcement et un contrôle de la mise en œuvre du lavage des mains sont impératifs pour la restauration collective [87].

Le lavage des mains se réalise avec de l'eau et du savon quand un point d'eau est disponible. En l'absence de point d'eau, une solution hydro-alcoolique peut être utilisée [87].

4.1.2 *Le port du masque*

Actuellement, aucune donnée ne permet de connaître l'efficacité du port du masque en population générale (en dehors d'une situation avérée de contact avec un cas de SRAS) dans la lutte contre la propagation « communautaire » d'une épidémie de SRAS, comme cela a été précisé par le conseil supérieur d'hygiène publique de France (CSHPPF). Cependant, une telle

option pourrait être envisagée pour des raisons « psychologiques » pour des personnels en contact rapproché avec le public [87].

4.1.3 Le contrôle de la température avant l'accès à des collectivités ou des lieux publics

L'objectif d'une telle mesure est de prévenir l'introduction de cas de SRAS dans des collectivités. En particulier, il pourrait être demandé aux parents de contrôler la température de leur(s) enfant(s) avant de l'envoyer à l'école. Cette mesure ne serait mise en œuvre qu'en cas de circulation active du SRAS-CoV [87].

4.2 Les mesures de quarantaine à domicile (pour les cas contact de cas probables et convalescents)

La mise en quarantaine des sujets contact de cas probable et les sujets convalescents est une mesure jugée nécessaire afin de réduire l'extension de l'épidémie [87].

4.3 Les conseils aux voyageurs

En plus des recommandations émises par l'OMS spécifiques à certains pays ou zones d'épidémie, il est important que les voyageurs respectent les mesures d'hygiène individuelles de base (lavage des mains, ...) et suivent les mesures prescrites dans le pays où ils se trouvent. Ils doivent également être informés que :

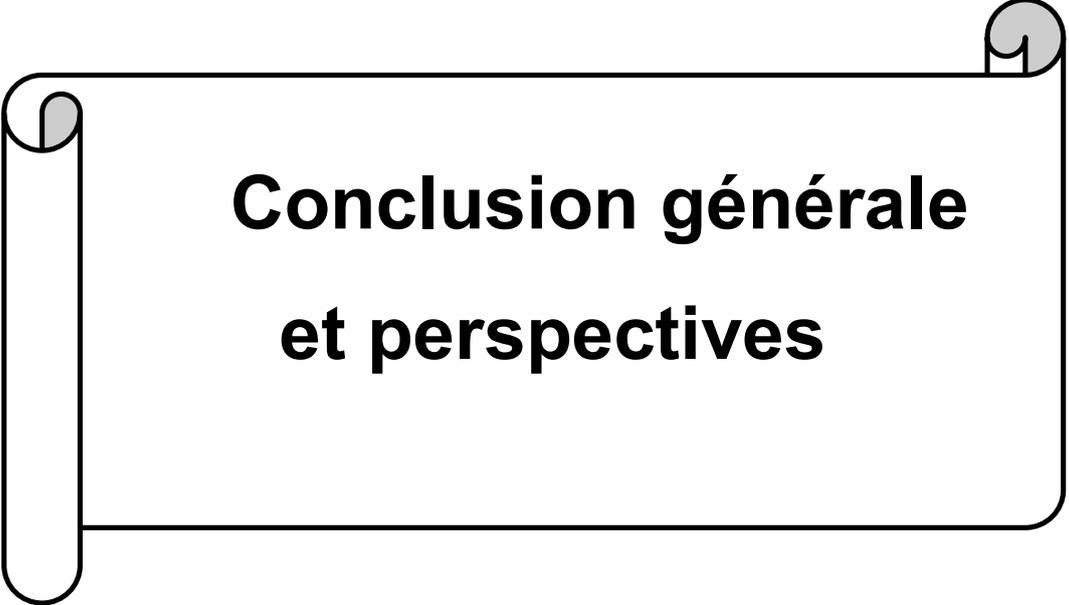
Conformément aux recommandations de l'OMS, aucun rapatriement sanitaire n'est envisageable pour un cas (possible ou probable) de SRAS, chaque personne considérée comme un cas possible de SRAS sera donc prise en charge médicalement dans le pays où elle se trouve au moment du diagnostic. Une période de quarantaine de 10 jours sera également imposée avant un retour au pays d'origine à toute personne ayant eu au cours de son voyage, un contact rapproché avec un cas probable de SRAS (vraisemblablement dans le cadre d'une mesure nationale décidée dans le pays de séjour en lien avec l'OMS s'il s'agit d'une zone de transmission active). Dans les zones de circulation de SRAS (où des épidémies nosocomiales ont systématiquement été rapportées lors de l'épidémie de 2003), la fréquentation, au titre de visiteur, est à proscrire [87].

5 Les mesures collectives de prévention et de lutte contre une épidémie de SRAS

En raison des modalités de transmission du virus, les collectivités, et en particulier celles où des contacts rapprochés sont fréquents (hôpitaux, écoles, ...), sont des endroits très favorables à l'extension d'une épidémie (comme cela a été constaté dans les hôpitaux à Singapour, Hongkong et au Canada). La lutte contre une extension d'épidémie passe donc par des mesures collectives associant, une vigilance renforcée mais, surtout, la stricte mise en œuvre de mesures d'hygiène, associée à une information complète sur le SRAS des membres d'une collectivité doit donc être respectée. Ces mesures peuvent aller, si nécessaire, jusqu'à la mise en œuvre d'une traçabilité des personnes fréquentant une telle communauté lors d'une période « à risque » [87].

Le contrôle des visites et entrées dans les hôpitaux

Dans les hôpitaux, si l'on n'y prenait garde, les conditions pour une extension rapide d'épidémie de SRAS sont réunies : il s'agit d'une collectivité où des soins sont prodigués, nécessitant des contacts très rapprochés entre patient et soignants. Une vigilance particulière doit être mise en place afin de réduire le risque d'introduction non maîtrisée de cas de SRAS dans les hôpitaux et de survenue d'épidémie nosocomiale. Dans tous les cas, le personnel soignant en charge de cas possibles ou probables de SRAS doit être informé de signes évocateurs de SRAS par le biais de la médecine du travail de l'établissement. L'admission d'un cas possible ou probable (normalement dans un premier temps uniquement dans les hôpitaux référents) doit faire l'objet d'une information du personnel et être l'occasion de rappeler les règles de précaution. L'équipe opérationnelle d'hygiène doit être informée de tout incident ayant induit une possible exposition (rupture ou absence d'isolement, ...) lors de la prise en charge d'un cas possible ou probable de SRAS. Si la situation épidémiologique le justifiait, des mesures de contrôle des visites dans les hôpitaux pourraient être envisagées allant, le cas échéant, jusqu'à leur interdiction totale. Le contrôle de la température des personnels de soin pourrait également être envisagé. La survenue d'une épidémie dans un établissement de soins pourra conduire, en fonction de l'évolution, au report des nouvelles admissions [87].



**Conclusion générale
et perspectives**

Conclusion générale et perspectives

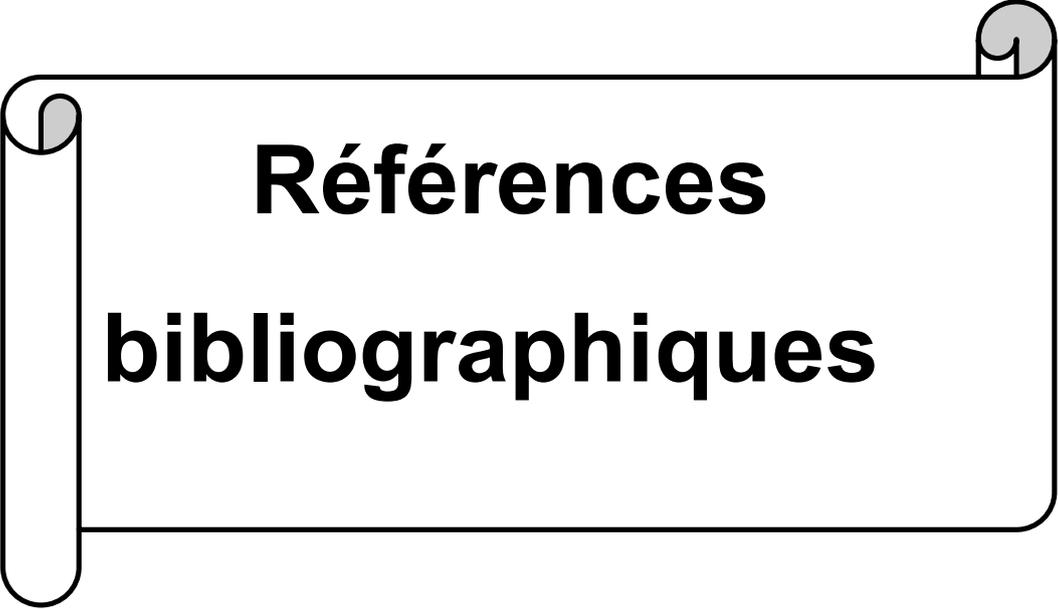
Le SRAS est une pathologie émergente liée au Coronavirus. L'achèvement du séquençage de la séquence génomique du SRAS-CoV fournit un premier regard sur les caractéristiques moléculaires de ce virus et démontre clairement que ce virus présente des caractéristiques typiques d'un coronavirus. Le génome du SRAS-CoV a également plusieurs caractéristiques uniques tel que le nombre et l'emplacement des petits ORF, et la présence d'une seule copie du PLpro. SRAS-CoV a plusieurs petits ORF non structuraux qui se trouvent entre les gènes de la pointe (S) et de l'enveloppe (E) et entre les gènes de la membrane (M) et de la nucléocapside (N). Ces séquences permettront également d'identifier l'origine et le réservoir naturel de ce virus et de contribuer ainsi aux études pour éclaircir la pathogenèse de maladie liée au SRAS-CoV et la lutte contre cette maladie. on sait que l'émergence de SRAS–CoV a prouvé que ce virus est capable de muter ou de se recombiner pour devenir pathogènes et traverser ainsi les barrières des espèces pour provoquer des épidémies chez les humains et les animaux. Puisque les changements génétiques sont inévitables et faisant partie du processus évolutif, ces épidémies virales continueront d'apparaître.

Les résultats des recherches plus poussées de l'épidémie détermineront certainement des stratégies de traitement et peuvent conduire à la prévention de cette maladie. Il est très important de comprendre les mécanismes moléculaires détaillés du cycle de vie du virus afin de développer des thérapies antivirales efficaces et des vaccins contre ce virus. L'étude comparative de la récente épidémie de SRAS-CoV-2 avec les précédentes épidémies de coronavirus peut nous fournir des pistes pour développer des thérapies et des vaccins.

La vitesse de réaction de la communauté internationale a permis dans un temps record d'identifier la pathologie, d'individualiser le pathogène responsable, de générer des publications permettant à la communauté médicale d'optimiser la prise en charge de cette pathologie. Le plus important c'est de rechercher le mode de transmission et bien diagnostiquer la maladie lié au SRAS-CoV. Ensuite la sensibilisation de la population au stade des maladies gravement contagieuse est important pour diminuer ou éliminer la pandémie et la propagation rapide du virus.

Pour que cette étude soit complète cinq points essentiels devront être approfondis :

- L'importance de la veille scientifique.
- Développer les capacités d'alerte, de surveillance et d'investigation.
- Améliorer les capacités de prise en charge et de coordination.
- Améliorer les capacités de laboratoire.
- Développer et renforcer la recherche.



**Références
bibliographiques**

Références bibliographiques

- [1] « Encyclopédie Larousse en ligne - virus latin virus poison ». <https://www.larousse.fr/encyclopedie/divers/virus/101864> (consulté le juill. 03, 2020).
- [2] « Definition of CORONA ». <https://www.merriam-webster.com/dictionary/corona> (consulté le août 12, 2020).
- [3] Our Molecular Biology Correspondent, « Gene Control: Histones—Animal and Vegetable », *Nature*, vol. 220, n° 5168, p. 650-650, nov. 1968, doi: 10.1038/220650a0.
- [4] L. S. Sturman et K. V. Holmes, « The Molecular Biology of Coronaviruses », *Adv. Virus Res.*, vol. 28, p. 35-112, 1983, doi: 10.1016/S0065-3527(08)60721-6.
- [5] B. L. Tesini, « Coronavirus et syndrome respiratoire aigu sévère (COVID-19, MERS et SRAS) - Maladies infectieuses - Édition professionnelle du Manuel MSD ». <https://www.msdmanuals.com/fr/professional/maladies-infectieuses/virus-respiratoires/coronavirus-et-syndrome-respiratoire-aigu-s%C3%A9v%C3%A8re-covid-19,-mers-et-sras> (consulté le juill. 22, 2020).
- [6] I. Tratner, « [SARS-CoV: 1. The virus] », *Med. Sci. MS*, vol. 19, n° 8-9, p. 885-891, sept. 2003, doi: 10.1051/medsci/20031989885.
- [7] A. M. Q. King, M. J. Adams, E. B. Carstens, et E. J. Lefkowitz, Éd., « Family - Coronaviridae », in *Virus Taxonomy*, San Diego: Elsevier, 2012, p. 806-828.
- [8] M. M. C. Lai et D. Cavanagh, « The Molecular Biology of Coronaviruses », *Adv. Virus Res.*, vol. 48, p. 1-100, 1997, doi: 10.1016/S0065-3527(08)60286-9.
- [9] « A structural analysis of M protein in coronavirus assembly and morphology - PubMed ». <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/21130884/> (consulté le août 12, 2020).
- [10] A. Blaize, « SRAS : origine, symptômes, quels traitements ? » <https://sante.journaldesfemmes.fr/fiches-maladies/2606135-sras-definition-symptomes-origine-traitements/> (consulté le juill. 11, 2020).
- [11] N. Kin et A. Vabret, « Les infections à coronavirus humains », *Rev. Francoph. Lab.*, vol. 2016, n° 487, p. 25-33, déc. 2016, doi: 10.1016/S1773-035X(16)30369-0.
- [12] Ketfi, « Coronaviridae », Sétif, 2020 2019, [En ligne]. Disponible sur: <file:///C:/Users/NexTech/Desktop/SARS%20Cov%201/pdf/CORONAVIRIDAE%20KE TFI%20Cours%20de%20Microbiologie%204eme%20ann%C3%A9e%20pharmacie.pdf>.
- [13] OFSP, « Surveillance, prévention et contrôle du syndrome respiratoire aigu sévère (SRAS) », oct. 2005, [En ligne]. Disponible sur: file:///C:/Users/NexTech/Desktop/SARS%20Cov%201/pdf/200510_OFSP_supplement.pdf.
- [14] B. S. Kamps et C. Hoffmann, *SARS Reference*, Third edition. 2003.
- [15] N.-S. Zhong et G. W. K. Wong, « Epidemiology of severe acute respiratory syndrome (SARS): adults and children », *Paediatr. Respir. Rev.*, vol. 5, n° 4, p. 270-274, déc. 2004, doi: 10.1016/j.prrv.2004.07.011.
- [16] E. J. Snijder *et al.*, « Unique and Conserved Features of Genome and Proteome of SARS-coronavirus, an Early Split-off From the Coronavirus Group 2 Lineage », *J. Mol. Biol.*, vol. 331, n° 5, p. 991-1004, août 2003, doi: 10.1016/S0022-2836(03)00865-9.
- [17] P. A. Rota *et al.*, « Characterization of a Novel Coronavirus Associated with Severe Acute Respiratory Syndrome », *Science*, vol. 300, n° 5624, p. 1394-1399, mai 2003, doi: 10.1126/science.1085952.
- [18] L. Subissi *et al.*, « One severe acute respiratory syndrome coronavirus protein complex integrates processive RNA polymerase and exonuclease activities », *Proc. Natl. Acad. Sci.*, vol. 111, n° 37, p. E3900-E3909, sept. 2014, doi: 10.1073/pnas.1323705111.

Références bibliographiques

- [19] D. Cavanagh, « Coronaviridae: a review of coronaviruses and toroviruses », *Coronaviruses Spec. Emphas. First Insights SARS*, p. 1-54, 2005, doi: 10.1007/3-7643-7339-3_1.
- [20] D. Escors, J. Ortego, H. Laude, et L. Enjuanes, « The membrane M protein carboxy terminus binds to transmissible gastroenteritis coronavirus core and contributes to core stability », *J. Virol.*, vol. 75, n° 3, p. 1312-1324, févr. 2001, doi: 10.1128/JVI.75.3.1312-1324.2001.
- [21] H. Garoff, R. Hewson, et D. J. Opstelten, « Virus maturation by budding », *Microbiol. Mol. Biol. Rev. MMBR*, vol. 62, n° 4, p. 1171-1190, déc. 1998.
- [22] C. M. Sánchez *et al.*, « Targeted recombination demonstrates that the spike gene of transmissible gastroenteritis coronavirus is a determinant of its enteric tropism and virulence », *J. Virol.*, vol. 73, n° 9, p. 7607-7618, sept. 1999, doi: 10.1128/JVI.73.9.7607-7618.1999.
- [23] I. Leparç-Goffart, S. T. Hingley, M. M. Chua, J. Phillips, E. Lavi, et S. R. Weiss, « Targeted Recombination within the Spike Gene of Murine Coronavirus Mouse Hepatitis Virus-A59: Q159 Is a Determinant of Hepatotropism », *J. Virol.*, vol. 72, n° 12, p. 9628-9636, déc. 1998.
- [24] R. P. Wenzel et M. B. Edmond, « Managing SARS amidst Uncertainty », *N. Engl. J. Med.*, vol. 348, n° 20, p. 1947-1948, mai 2003, doi: 10.1056/NEJMp030072.
- [25] « Les abréviations d'une lettre pour chaque acide aminé et leur correspondance aux codons ADN ». <https://tecfa.unige.ch/perso/lombardf/calvin/teaching/abbreviations-aa-1-lettre.html> (consulté le août 16, 2020).
- [26] C. A. M. de Haan *et al.*, « O-Glycosylation of the mouse hepatitis coronavirus membrane protein », *Virus Res.*, vol. 82, n° 1, p. 77-81, déc. 2001, doi: 10.1016/S0168-1702(01)00390-2.
- [27] C. A. M. de Haan, L. Kuo, P. S. Masters, H. Vennema, et P. J. M. Rottier, « Coronavirus Particle Assembly: Primary Structure Requirements of the Membrane Protein », *J. Virol.*, vol. 72, n° 8, p. 6838-6850, août 1998, doi: 10.1128/JVI.72.8.6838-6850.1998.
- [28] S. S. C. Chim, Y.-K. Tong, E. C. W. Hung, R. W. K. Chiu, et Y. M. D. Lo, « Genomic Sequencing of a SARS Coronavirus Isolate That Predated the Metropole Hotel Case Cluster in Hong Kong », *Clin. Chem.*, vol. 50, n° 1, p. 231-233, janv. 2004, doi: 10.1373/clinchem.2003.025536.
- [29] M. E. R. Darnell, K. Subbarao, S. M. Feinstone, et D. R. Taylor, « Inactivation of the coronavirus that induces severe acute respiratory syndrome, SARS-CoV », *J. Virol. Methods*, vol. 121, n° 1, p. 85-91, oct. 2004, doi: 10.1016/j.jviromet.2004.06.006.
- [30] K. S. Lole *et al.*, « Full-length human immunodeficiency virus type 1 genomes from subtype C-infected seroconverters in India, with evidence of intersubtype recombination », *J. Virol.*, vol. 73, n° 1, p. 152-160, janv. 1999, doi: 10.1128/JVI.73.1.152-160.1999.
- [31] H. Kubo, Y. K. Yamada, et F. Taguchi, « Localization of neutralizing epitopes and the receptor-binding site within the amino-terminal 330 amino acids of the murine coronavirus spike protein », *J. Virol.*, vol. 68, n° 9, p. 5403-5410, sept. 1994, doi: 10.1128/JVI.68.9.5403-5410.1994.
- [32] P. K. C. Cheng *et al.*, « Viral shedding patterns of coronavirus in patients with probable severe acute respiratory syndrome », *Lancet Lond. Engl.*, vol. 363, n° 9422, p. 1699-1700, mai 2004, doi: 10.1016/S0140-6736(04)16255-7.
- [33] S. Belouzard, V. C. Chu, et G. R. Whittaker, « Activation of the SARS coronavirus spike protein via sequential proteolytic cleavage at two distinct sites », *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.*, vol. 106, n° 14, p. 5871-5876, avr. 2009, doi: 10.1073/pnas.0809524106.

Références bibliographiques

- [34] B. J. Bosch, R. van der Zee, C. A. M. de Haan, et P. J. M. Rottier, « The coronavirus spike protein is a class I virus fusion protein: structural and functional characterization of the fusion core complex », *J. Virol.*, vol. 77, n° 16, p. 8801-8811, août 2003, doi: 10.1128/jvi.77.16.8801-8811.2003.
- [35] J. Ziebuhr, E. J. Snijder, et A. E. Gorbalenya, « Virus-encoded proteinases and proteolytic processing in the Nidovirales », *J. Gen. Virol.*, vol. 81, n° Pt 4, p. 853-879, avr. 2000, doi: 10.1099/0022-1317-81-4-853.
- [36] P. B. Sethna, M. A. Hofmann, et D. A. Brian, « Minus-strand copies of replicating coronavirus mRNAs contain antileaders », *J. Virol.*, vol. 65, n° 1, p. 320-325, janv. 1991, doi: 10.1128/JVI.65.1.320-325.1991.
- [37] J. Krijnse-Locker, M. Ericsson, P. J. Rottier, et G. Griffiths, « Characterization of the budding compartment of mouse hepatitis virus: evidence that transport from the RER to the Golgi complex requires only one vesicular transport step », *J. Cell Biol.*, vol. 124, n° 1-2, p. 55-70, janv. 1994, doi: 10.1083/jcb.124.1.55.
- [38] J. Tooze, S. Tooze, et G. Warren, « Replication of coronavirus MHV-A59 in sac- cells: determination of the first site of budding of progeny virions », *Eur. J. Cell Biol.*, vol. 33, n° 2, p. 281-293, mars 1984.
- [39] C. A. M. de Haan et P. J. M. Rottier, « Molecular interactions in the assembly of coronaviruses », *Adv. Virus Res.*, vol. 64, p. 165-230, 2005, doi: 10.1016/S0065-3527(05)64006-7.
- [40] E. C. Bos, W. Luytjes, H. V. van der Meulen, H. K. Koerten, et W. J. Spaan, « The production of recombinant infectious DI-particles of a murine coronavirus in the absence of helper virus », *Virology*, vol. 218, n° 1, p. 52-60, avr. 1996, doi: 10.1006/viro.1996.0165.
- [41] Y. L. Siu *et al.*, « The M, E, and N structural proteins of the severe acute respiratory syndrome coronavirus are required for efficient assembly, trafficking, and release of virus-like particles », *J. Virol.*, vol. 82, n° 22, p. 11318-11330, nov. 2008, doi: 10.1128/JVI.01052-08.
- [42] K. R. Hurst, L. Kuo, C. A. Koetzner, R. Ye, B. Hsue, et P. S. Masters, « A major determinant for membrane protein interaction localizes to the carboxy-terminal domain of the mouse coronavirus nucleocapsid protein », *J. Virol.*, vol. 79, n° 21, p. 13285-13297, nov. 2005, doi: 10.1128/JVI.79.21.13285-13297.2005.
- [43] K. H. Chan *et al.*, « Detection of SARS Coronavirus in Patients with Suspected SARS », *Emerg. Infect. Dis.*, vol. 10, n° 2, p. 294-299, févr. 2004, doi: 10.3201/eid1002.030610.
- [44] « WHO | Severe Acute Respiratory Syndrome (SARS): Laboratory diagnostic tests », *WHO*. <https://www.who.int/csr/sars/diagnostictests/en/> (consulté le août 16, 2020).
- [45] « WHO | The Weekly Epidemiological Record (WER) », *WHO*. <http://www.who.int/wer/en/> (consulté le août 16, 2020).
- [46] K. V. Holmes, « SARS coronavirus: a new challenge for prevention and therapy », *J. Clin. Invest.*, vol. 111, n° 11, p. 1605-1609, juin 2003, doi: 10.1172/JCI18819.
- [47] D. S. Hui, « Epidemic and Emerging Coronaviruses (Severe Acute Respiratory Syndrome and Middle East Respiratory Syndrome) », *Clin. Chest Med.*, vol. 38, n° 1, p. 71-86, mars 2017, doi: 10.1016/j.ccm.2016.11.007.
- [48] H.-Y. Li, S. Ramalingam, et M.-L. Chye, « Accumulation of recombinant SARS-CoV spike protein in plant cytosol and chloroplasts indicate potential for development of plant-derived oral vaccines », *Exp. Biol. Med. Maywood NJ*, vol. 231, n° 8, p. 1346-1352, sept. 2006, doi: 10.1177/153537020623100808.
- [49] W. Ren *et al.*, « Full-length genome sequences of two SARS-like coronaviruses in horseshoe bats and genetic variation analysis », *J. Gen. Virol.*, vol. 87, n° Pt 11, p. 3355-3359, nov. 2006, doi: 10.1099/vir.0.82220-0.

Références bibliographiques

- [50] W. Li *et al.*, « Receptor and viral determinants of SARS-coronavirus adaptation to human ACE2 », *EMBO J.*, vol. 24, n° 8, p. 1634-1643, avr. 2005, doi: 10.1038/sj.emboj.7600640.
- [51] J. Zheng, « SARS-CoV-2: an Emerging Coronavirus that Causes a Global Threat », *Int. J. Biol. Sci.*, vol. 16, n° 10, p. 1678-1685, 2020, doi: 10.7150/ijbs.45053.
- [52] C. Huang *et al.*, « Clinical features of patients infected with 2019 novel coronavirus in Wuhan, China », *Lancet Lond. Engl.*, vol. 395, n° 10223, p. 497-506, 15 2020, doi: 10.1016/S0140-6736(20)30183-5.
- [53] H. Wang, S. Rao, et C. Jiang, « Molecular pathogenesis of severe acute respiratory syndrome », *Microbes Infect.*, vol. 9, n° 1, p. 119-126, janv. 2007, doi: 10.1016/j.micinf.2006.06.012.
- [54] S. A. Jeffers *et al.*, « CD209L (L-SIGN) is a receptor for severe acute respiratory syndrome coronavirus », *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.*, vol. 101, n° 44, p. 15748-15753, nov. 2004, doi: 10.1073/pnas.0403812101.
- [55] A. Marzi *et al.*, « DC-SIGN and DC-SIGNR interact with the glycoprotein of Marburg virus and the S protein of severe acute respiratory syndrome coronavirus », *J. Virol.*, vol. 78, n° 21, p. 12090-12095, nov. 2004, doi: 10.1128/JVI.78.21.12090-12095.2004.
- [56] « Angiotensin-converting enzyme 2 protects from severe acute lung failure - PubMed ». <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/16001071/> (consulté le août 18, 2020).
- [57] L. L. M. Poon, Y. Guan, J. M. Nicholls, K. Y. Yuen, et J. S. M. Peiris, « The aetiology, origins, and diagnosis of severe acute respiratory syndrome », *Lancet Infect. Dis.*, vol. 4, n° 11, p. 663-671, nov. 2004, doi: 10.1016/S1473-3099(04)01172-7.
- [58] J. M. Nicholls *et al.*, « Lung pathology of fatal severe acute respiratory syndrome », *Lancet Lond. Engl.*, vol. 361, n° 9371, p. 1773-1778, mai 2003, doi: 10.1016/s0140-6736(03)13413-7.
- [59] K. F. To *et al.*, « Tissue and cellular tropism of the coronavirus associated with severe acute respiratory syndrome: an in-situ hybridization study of fatal cases », *J. Pathol.*, vol. 202, n° 2, p. 157-163, févr. 2004, doi: 10.1002/path.1510.
- [60] P. K. S. Chan *et al.*, « Persistent infection of SARS coronavirus in colonic cells in vitro », *J. Med. Virol.*, vol. 74, n° 1, p. 1-7, sept. 2004, doi: 10.1002/jmv.20138.
- [61] J. Gu *et al.*, « Multiple organ infection and the pathogenesis of SARS », *J. Exp. Med.*, vol. 202, n° 3, p. 415-424, août 2005, doi: 10.1084/jem.20050828.
- [62] « Coronavirus vs. SARS: How Do They Differ? », *Healthline*, avr. 03, 2020. <https://www.healthline.com/health/coronavirus-vs-sars> (consulté le août 18, 2020).
- [63] E. Petersen *et al.*, « Comparing SARS-CoV-2 with SARS-CoV and influenza pandemics », *Lancet Infect. Dis.*, vol. 0, n° 0, juill. 2020, doi: 10.1016/S1473-3099(20)30484-9.
- [64] J. Wallinga et P. Teunis, « Different epidemic curves for severe acute respiratory syndrome reveal similar impacts of control measures », *Am. J. Epidemiol.*, vol. 160, n° 6, p. 509-516, sept. 2004, doi: 10.1093/aje/kwh255.
- [65] « INFOGRAPHIES. Moins létal que le Sras, plus contagieux que le H1N1... Trois indicateurs pour comprendre le coronavirus 2019-nCoV », *Franceinfo*, févr. 06, 2020. https://www.francetvinfo.fr/sante/maladie/coronavirus/infographies-moins-letal-que-le-sras-plus-contagieux-que-le-h1n1-trois-indicateurs-pour-comprendre-le-coronavirus-2019-ncov_3813291.html (consulté le août 18, 2020).
- [66] M. Chan-Yeung et R.-H. Xu, « SARS: epidemiology », *Respirol. Carlton Vic*, vol. 8 Suppl, p. S9-14, nov. 2003, doi: 10.1046/j.1440-1843.2003.00518.x.
- [67] « WHO | Summary of probable SARS cases with onset of illness from 1 November 2002 to 31 July 2003 », *WHO*. https://www.who.int/csr/sars/country/table2004_04_21/en/ (consulté le août 19, 2020).

Références bibliographiques

- [68] C.-S. Hu et T. Tkebuchava, « SARS and its treatment strategies », *Asian Pac. J. Trop. Med.*, vol. 12, n° 3, p. 95, janv. 2019, doi: 10.4103/1995-7645.254934.
- [69] N. S. Zhong et G. Q. Zeng, « Our Strategies for Fighting Severe Acute Respiratory Syndrome (SARS) », *Am. J. Respir. Crit. Care Med.*, vol. 168, n° 1, p. 7-9, juill. 2003, doi: 10.1164/rccm.200305-707OE.
- [70] H. A. Elshabrawy, « SARS-CoV-2: An Update on Potential Antivirals in Light of SARS-CoV Antiviral Drug Discoveries », *Vaccines*, vol. 8, n° 2, juin 2020, doi: 10.3390/vaccines8020335.
- [71] P. S. Masters, « The molecular biology of coronaviruses », *Adv. Virus Res.*, vol. 66, p. 193-292, 2006, doi: 10.1016/S0065-3527(06)66005-3.
- [72] J. A. Tanner *et al.*, « The adamantane-derived bananins are potent inhibitors of the helicase activities and replication of SARS coronavirus », *Chem. Biol.*, vol. 12, n° 3, p. 303-311, mars 2005, doi: 10.1016/j.chembiol.2005.01.006.
- [73] N. Yang *et al.*, « Inhibition of SARS coronavirus helicase by bismuth complexes », *Chem. Commun. Camb. Engl.*, n° 42, p. 4413-4415, nov. 2007, doi: 10.1039/b709515e.
- [74] M.-S. Yu *et al.*, « Identification of myricetin and scutellarein as novel chemical inhibitors of the SARS coronavirus helicase, nsP13 », *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, vol. 22, n° 12, p. 4049-4054, juin 2012, doi: 10.1016/j.bmcl.2012.04.081.
- [75] A. Ao *et al.*, « Evaluation of SSYA10-001 as a replication inhibitor of severe acute respiratory syndrome, mouse hepatitis, and Middle East respiratory syndrome coronaviruses », *Antimicrobial agents and chemotherapy*, août 2014. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/24841268/> (consulté le août 20, 2020).
- [76] J. G. Julander *et al.*, « BCX4430, a novel nucleoside analog, effectively treats yellow fever in a Hamster model », *Antimicrob. Agents Chemother.*, vol. 58, n° 11, p. 6607-6614, nov. 2014, doi: 10.1128/AAC.03368-14.
- [77] J. Cinatl, B. Morgenstern, G. Bauer, P. Chandra, H. Rabenau, et H. W. Doerr, « Glycyrrhizin, an active component of liquorice roots, and replication of SARS-associated coronavirus », *Lancet Lond. Engl.*, vol. 361, n° 9374, p. 2045-2046, juin 2003, doi: 10.1016/s0140-6736(03)13615-x.
- [78] E. De Clercq, « Antiviral drugs in current clinical use », *J. Clin. Virol. Off. Publ. Pan Am. Soc. Clin. Virol.*, vol. 30, n° 2, p. 115-133, juin 2004, doi: 10.1016/j.jcv.2004.02.009.
- [79] Z. Hong et C. E. Cameron, « Pleiotropic mechanisms of ribavirin antiviral activities », *Prog. Drug Res. Fortschritte Arzneimittelforschung Progres Rech. Pharm.*, vol. 59, p. 41-69, 2002, doi: 10.1007/978-3-0348-8171-5_2.
- [80] B. Morgenstern, M. Michaelis, P. C. Baer, H. W. Doerr, et J. Cinatl, « Ribavirin and interferon- β synergistically inhibit SARS-associated coronavirus replication in animal and human cell lines », *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, vol. 326, n° 4, p. 905-908, janv. 2005, doi: 10.1016/j.bbrc.2004.11.128.
- [81] D. L. Barnard *et al.*, « Enhancement of the infectivity of SARS-CoV in BALB/c mice by IMP dehydrogenase inhibitors, including ribavirin », *Antiviral Res.*, vol. 71, n° 1, p. 53-63, août 2006, doi: 10.1016/j.antiviral.2006.03.001.
- [82] A. de la santé publique du Canada, « Fiche Technique Santé-Sécurité : Agents Pathogènes – Coronavirus du syndrome respiratoire aigu sévère (SRAS) », *aem*, sept. 08, 2011. <https://www.canada.ca/fr/sante-publique/services/biosecurite-biosurete-laboratoire/fiches-techniques-sante-securite-agents-pathogenes-evaluation-risques/coronavirus-syndrome-respiratoire-aigu-severe.html> (consulté le août 20, 2020).
- [83] M. E. R. Darnell, K. Subbarao, S. M. Feinstone, et D. R. Taylor, « Inactivation of the coronavirus that induces severe acute respiratory syndrome, SARS-CoV », *J. Virol. Methods*, vol. 121, n° 1, p. 85-91, oct. 2004, doi: 10.1016/j.jviromet.2004.06.006.

Références bibliographiques

- [84] M. Y. Y. Lai, P. K. C. Cheng, et W. W. L. Lim, « Survival of Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus », *Clin. Infect. Dis.*, vol. 41, n° 7, p. e67-e71, oct. 2005, doi: 10.1086/433186.
- [85] R. H. See *et al.*, « Comparative evaluation of two severe acute respiratory syndrome (SARS) vaccine candidates in mice challenged with SARS coronavirus », *J. Gen. Virol.*, vol. 87, n° Pt 3, p. 641-650, mars 2006, doi: 10.1099/vir.0.81579-0.
- [86] Office fédéral de la santé publique, « Surveillance, prévention et contrôle du Syndrome Respiratoire Aigu Sévère (SRAS) », 2007, [En ligne]. Disponible sur: <file:///C:/Users/NexTech/Desktop/SARS%20Cov%201/pdf/bag-sars-richtl-empfang-nr-19-f.pdf>.
- [87] C. Jacques, « Plan de réponse contre une menace de SRAS », p. 47.

Le syndrome respiratoire aigu sévère (SRAS-CoV)

Mémoire de fin de cycle pour l'obtention du diplôme de Master en Biologie moléculaire des Microorganismes

Résumé

Les zoonoses émergentes constituent un problème de santé publique majeur. A l'image des virus de l'immunodéficience humaine (VIH), influenza, ou encore Ebola, la plupart des pathogènes zoonotiques prennent leur origine chez la faune sauvage. Les chiroptères (chauve-souris) sont des réservoirs de virus zoonotiques qui peuvent provoquer des pathologies graves chez l'homme, comme le virus de la rage ou le coronavirus responsable de la pandémie du syndrome respiratoire aigu sévère (SRAS) en 2002-2003. En Asie du Sud-Est, reconnue comme un point chaud d'émergence, les chiroptères sont régulièrement en contact avec l'homme du fait de l'exploitation des mêmes environnements et des activités de chasse et de consommation de ces animaux sauvages. Le risque de transmission de potentiels virus des chiroptères à l'homme reste encore très peu étudié. Dans ce contexte l'objectif de ce mémoire, est d'éclaircir la maladie du syndrome respiratoire aigu sévère SRAS-CoV responsable de la flambée mondiale de 2002 et 2003. Elle a représenté une grave menace pour la santé publique avec un impact sur la stabilité socio-économique. Bien que l'épidémie mondiale de SRAS ait été maîtrisée, sa réémergence suscite de sérieuses inquiétudes. A ce jour, aucun traitement spécifique n'existe pour cette maladie. Ce modeste travail est divisé en plusieurs parties. La première est une petite introduction concernant les virus en général, leur forme et leur stratégie de réplication. Dans la seconde nous avons essayé de donner une caractérisation plus approfondie que possible sur le SRAS-CoV, sa définition et son épidémiologie ; L'étude de sa structure génomique et ses protéines impliquées dans l'infection et son mode de transmission. Dans la troisième partie nous avons essayé de faire une comparaison entre les 3 plus dangereux virus de la famille *Coronaviridae* (SRAS-CoV , MERS -CoV , SRAS-CoV-2). La dernière partie a porté sur l'étude de la stabilité et la viabilité du SRAS-CoV aux médicaments et au inhibiteurs aussi sa sensibilité au éléments physiques et chimiques de plus la caractérisation de différentes mesures de précaution .

Mots clés : Coronavirus, SRAS-CoV, *Coronaviridae*, épidémie, structure génomique

Jury d'évaluation :

Président du jury : *M^r Benhaizia Yacine* (Professeur- UFM Constantine).

Rapporteur: *M^r Kitouni Mahmoud* (Professeur- UFM Constantine).

Examineur : *M^{me} Oulmi Lamia* (Maitre de conférences B- UFM Constantine).