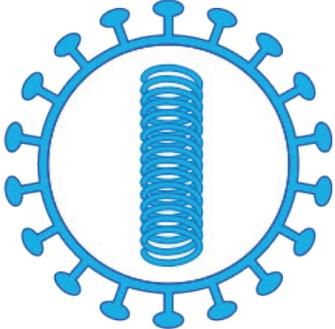


Astrid Vabret - Meriadeg Ar Gouilh

Coronavirus humains (HCoV)

Ordre : <i>Nidovirales</i>	
Famille : <i>Coronaviridae</i>	
Sous-famille : <i>Coronavirinae</i>	
Genres : <ul style="list-style-type: none"> • <i>Alphacoronavirus</i> : HCoV-229E et HCoV-NL63 • <i>Betacoronavirus</i> : <ul style="list-style-type: none"> Clade A : HCoV-OC43 et HCoV-HKU1 Clade B : SARS-CoV Clade C : MERS-CoV 	
Génome : ARN monocaténaire linéaire de polarité positive ; 27 à 32 kb	Taille : 80 à 200 nm

1 - Historique

Les coronavirus (CoV) infectent l'humain et de nombreuses espèces animales (mammifères et oiseaux). Les 1^{ers} CoV ont été décrits chez les animaux et n'ont d'abord pas reçu l'appellation « coronavirus », apparue plus tardivement dans le 1^{er} rapport de l'ICTV en 1971 : description de CoV chez le poulet en 1937 (anciennement IBV, infectious bronchitis virus, maintenant appelé *avian coronavirus*), le porc en 1946 (anciennement TGEV, transmissible gastro-enteritis virus, maintenant appelé *alphacoronavirus 1*), et la souris en 1949 (anciennement MHV, murine hepatitis virus, maintenant appelé *murine coronavirus*).

Chez l'humain, les 1^{ers} CoV ont été isolés en culture cellulaire dans les années 1960, à partir de sécrétions respiratoires d'individus présentant une infection respiratoire aiguë. Parmi les 1^{ers} isolats de coronavirus humains (HCoV), les souches 229E, B814, OC43, OC48, 692, seuls 2 d'entre eux (appartenant aux espèces *Human coronavirus 229E* et *Human coronavirus OC43*), isolés en 1965, ont été adaptés à des cultures cellulaires adhérentes et ont constitué, pendant plus de 40 ans, les 2 seules souches prototypes des

HCoV. De 1967 à 2004, les HCoV ont été négligés en médecine humaine et n'étaient pas recherchés dans les laboratoires de diagnostic virologique. Les 1^{ers} connaissances sur la biologie de ces virus ont été acquises à partir de l'étude des CoV animaux IBV, TGEV et MHV.

L'identification en mars 2003 du coronavirus associé au syndrome respiratoire aigu sévère (*severe acute respiratory syndrome-related coronavirus*, SARS-CoV) comme agent responsable chez l'humain de la 1^{re} pandémie infectieuse du XXI^e siècle a suscité d'abord une grande surprise, puis un important regain d'intérêt pour ces virus. L'identification des HCoV-NL63 et HCoV-HKU1, respectivement aux Pays-Bas en 2004 (NL pour *Netherlands*) et à Hong Kong en 2005 (HKU pour *Hong Kong university*), a montré qu'ils étaient ubiquitaires et cocirculaient avec les HCoV-229E et HCoV-OC43. Enfin, l'émergence du coronavirus associé au syndrome respiratoire du Moyen-Orient (*Middle-East respiratory syndrome-related coronavirus*, MERS-CoV) en Arabie Saoudite en 2012, responsable d'un syndrome respiratoire sévère, confirme encore le haut potentiel d'émergence de ces virus. Ce dernier, après avoir reçu plusieurs dénominations, a été appelé MERS-CoV car il ne circule quasi exclusivement que dans la péninsule arabique.

2 - Classification et taxonomie

Depuis les années 2000, la taxonomie des CoV a été régulièrement revue par l'ICTV. Actuellement, les CoV appartiennent à l'ordre des *Nidovirales* et à la famille des *Coronaviridae*, elle-même subdivisée en 2 sous-familles, les *Coronavirinae* et les *Torovirinae*. En 2009,

les *Coronavirinae* ont été divisés en 4 genres appelés *Alpha*-, *Beta*-, *Gamma*-, et *Deltacoronavirus*. Les *Alpha*-, *Beta*- et *Gammacoronavirus* remplacent les anciens CoV de types 1, 2 et 3. Le genre *Deltacoronavirus* a été défini en 2011 et regroupe essentiellement des virus aviaires. Le genre *Betacoronavirus* est subdivisé en 4 clades, nommés « a, b, c et d » ou « A, B, C, et D » selon les auteurs (Fig. 1 et 2).

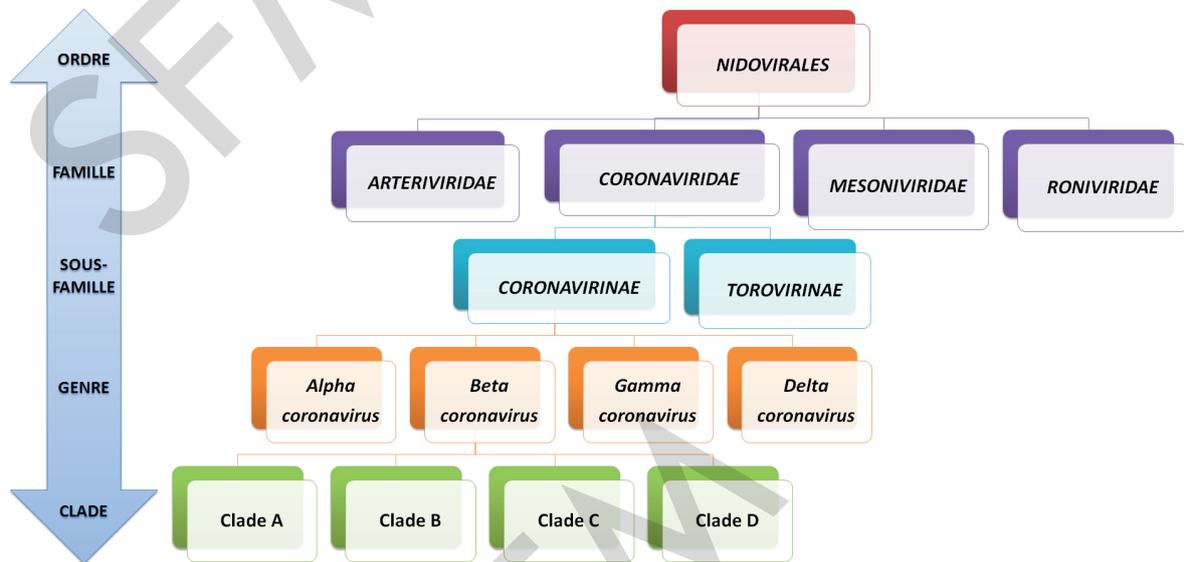


Figure 1 : Classification et taxonomie des coronavirus humains (HCoV)

Classification des HCoV selon l'ICTV en 2017. Les *Coronaviridae* sont actuellement les seuls virus de l'ordre des *Nidovirales* identifiés comme infectant l'humain.

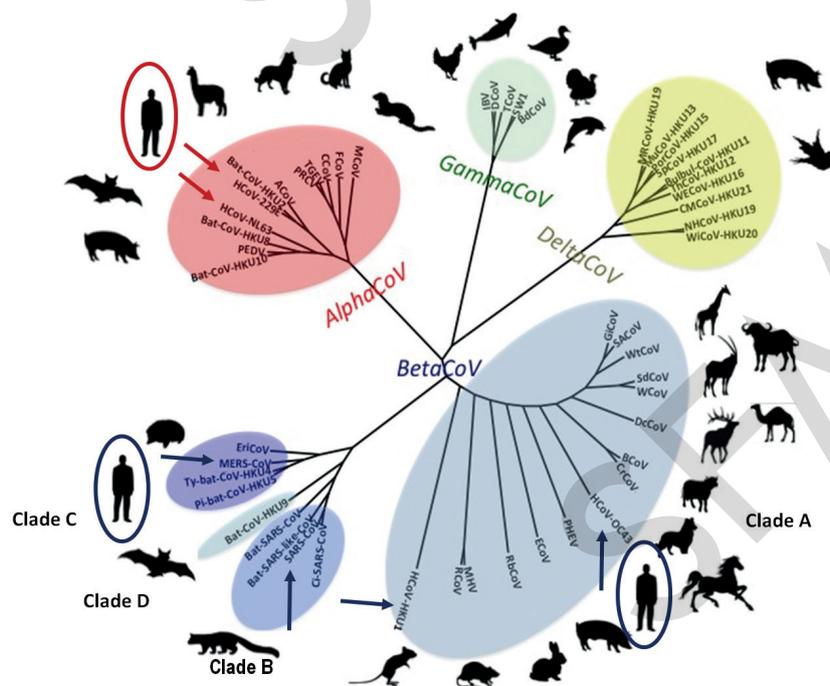


Figure 2 : Arbre phylogénétique construit à partir de 51 génomes complets de coronavirus (CoV) par la méthode du Neighbour-joining (plus proche voisin)

Arbre réalisé avec le logiciel MEGA®6. Les silhouettes en noir représentent le spectre d'hôte. Les coronavirus infectant l'humain sont entourés ou indiqués par une flèche bleue : les HCoV-229E et HCoV-NL63 appartiennent au genre *Alphacoronavirus*, les HCoV-OC43 et HCoV-HKU1 sont des *Betacoronavirus* de clade A, le SARS-CoV (coronavirus associé au syndrome respiratoire aigu sévère) est un *Betacoronavirus* de clade B et le MERS-CoV (coronavirus associé au syndrome respiratoire du Moyen-Orient) est un *Betacoronavirus* de clade C (Nathalie Kin).

Leur tropisme est essentiellement respiratoire et entérique. On connaît actuellement 6 coronavirus capables d'infecter l'humain (Fig. 2). Quatre sont ubiquitaires et responsables d'infections respiratoires hautes et basses, généralement peu sévères chez l'individu immunocompétent, les HCoV dits « classiques » : HCoV-229E, HCoV-NL63, HCoV-OC43 et HCoV-HKU1. Deux sont très pathogènes et ont émergé récemment, en 2003 et 2012 : SARS-CoV et MERS-CoV.

Ces 2 émergences récentes ont eu pour conséquence de susciter auprès des communautés médicales et scientifiques un intérêt marqué pour cette famille virale, avec, depuis 2003, une augmentation drastique des publications et des connaissances sur ces virus jusqu'alors peu étudiés en médecine humaine. Ainsi, par exemple, le nombre de génomes complets de

HCoV disponibles sur GenBank (banque internationale de données génétiques), qui était de 4 en 2003, était de 1028 en 2017 (dont 73% de génomes complets des HCoV émergents, SARS-CoV et MERS-CoV).

3 - Structure du virus et organisation génétique

Les CoV sont des virus enveloppés grossièrement sphériques, avec un diamètre allant de 80 à 200 nm. Leur enveloppe porte à sa surface de hautes projections formées de la protéine de surface S (*spike*) et disposées en couronne, d'où le préfixe « corona » (Fig. 3).

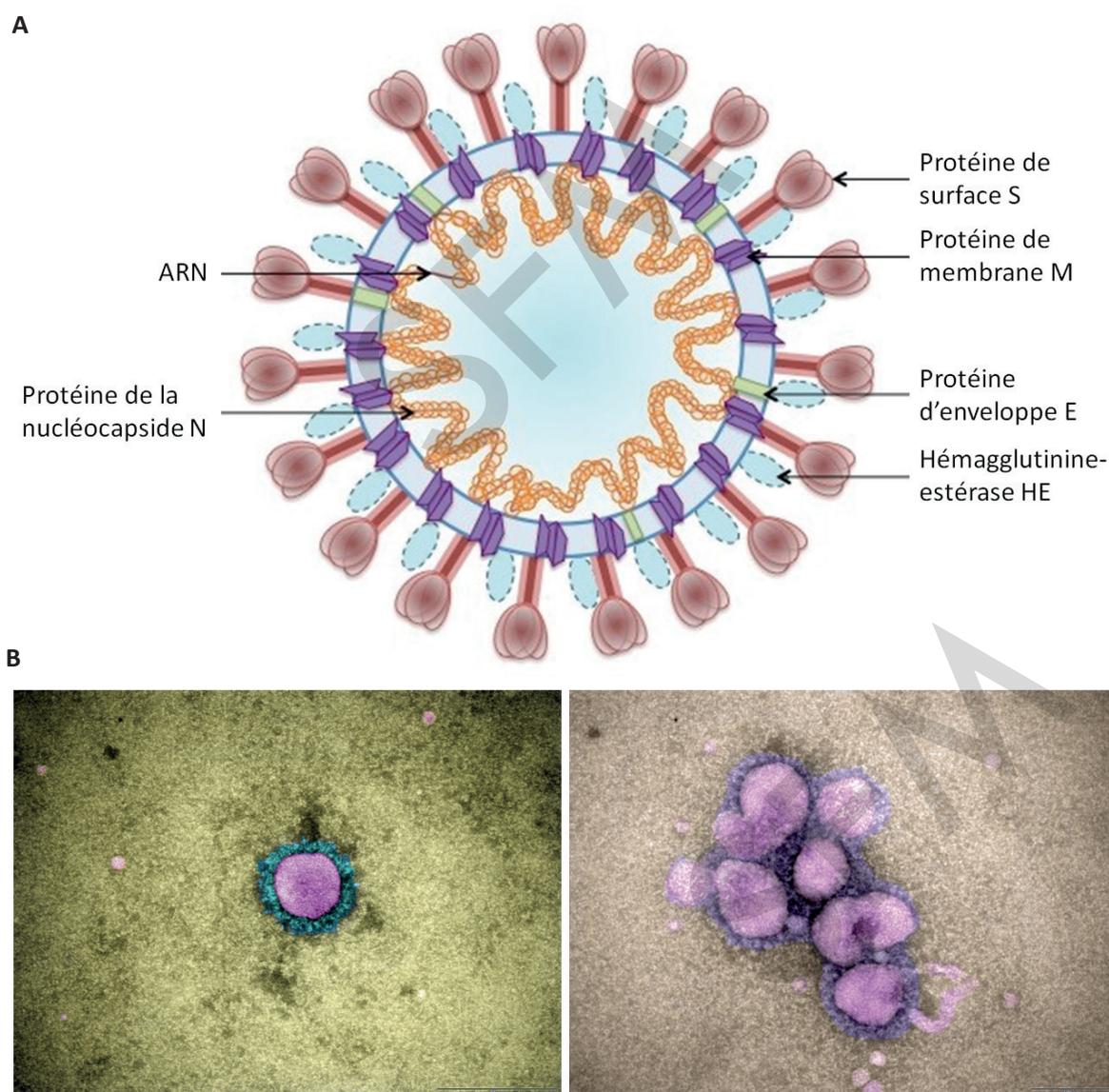


Figure 3 : Aspect des particules infectieuses de coronavirus (CoV)

A. Représentation schématique d'un *Betacoronavirus* de clade A. Les protéines S forment une large couronne à la surface du virus. Les protéines HE, exclusive des *Betacoronavirus* de clade A, forment une 2nde couronne plus petite. Les protéines M et E constituent la matrice et l'enveloppe. Les protéines N constituent la nucléocapside et sont étroitement liées à l'ARN génomique (Nathalie Kin). B. Micrographies de particules virales de MERS-CoV en microscopie électronique à transmission (Meriadeg Ar Gouilh).

La protéine S est une protéine de fusion de type I organisée en trimères. La partie globulaire, ou S1, permet la liaison du virus à son récepteur cellulaire, porte les épitopes neutralisants et présente une grande diversité génétique ; la partie « tige », ou S2, assure la fusion des membranes virales et cellulaires lors de l'entrée du virus dans la cellule. Dans le modèle classique, la nucléocapside (protéine N) a une structure tubulaire à symétrie hélicoïdale, fait exceptionnel chez les virus à ARN de polarité positive. Un 2nd modèle est proposé, comportant une capsid interne tubulaire à symétrie hélicoïdale et une capsid externe icosaédrique à symétrie cubique constituée essentiellement de la protéine M de matrice (ou de membrane). Parmi les protéines structurales, la protéine E (anciennement appelée protéine sM pour *small membrane*) a été découverte plus tardivement ; elle joue un rôle important dans la phase d'assemblage de la particule virale et porterait des facteurs de virulence. Ainsi, il a été montré que l'infection expérimentale de la souris par des SARS-CoV délétés du gène codant la protéine E est atténuée. Enfin, les *Betacoronavirus* de clade A (dont HCoV-OC43 et HCoV-HKU1) portent une 2nde protéine de surface qui est une hémagglutinine-estérase (HE). Cette protéine présente une homologie de 30% avec la protéine HEF (*hemagglutinin-esterase fusion*) du virus influenza C. Elle aurait été acquise par l'ancêtre commun des *Coronavirinae* et des *Torovirinae*. Elle n'est pas nécessaire à l'entrée du virus dans la cellule, et sa persistance chez les *Betacoronavirus* de clade A serait liée à un avantage sélectif de l'infection *in vivo* par ces virus qui utilisent des acides sialiques modifiés comme récepteurs. Ainsi, son activité acétyl estérase améliore le relargage des particules virales à partir des cellules infectées, favorisant ainsi la diffusion de l'infection.

Le génome des CoV est une molécule d'ARN monocaténaire linéaire non segmentée de polarité positive (Fig. 4).

Sa taille d'environ 30 kb en fait le plus grand des génomes des virus à ARN infectant l'humain. Si le nombre de séquences partielles et/ou complètes des HCoV a augmenté de façon drastique depuis la pandémie de SARS-CoV en 2003, la très grande

majorité de la diversité des séquences disponibles dans les banques de données internationales concernent les CoV animaux, notamment les CoV infectant les oiseaux, les mammifères d'élevage et de compagnie et les chiroptères.

L'organisation générale du génome comprend 2 régions non codantes en 5' (séquence *leader*) et en 3' (queue polyA) et une partie codante divisée en 6 à 7 ORF selon les espèces. Les 1^{res} ORF, ORF1a et ORF1b, sont chevauchantes et correspondent aux 2/3 du génome, soit environ 20 kb. Elles codent 2 polyprotéines appelées pp1a et pp1ab qui sont rapidement clivées en 16 protéines non structurales (nsp1 à nsp16, nsp pour *non structural protein*) entrant dans le complexe de réplication/transcription. Dans ce complexe, nsp12 correspond à l'ARN polymérase ARN-dépendante chargée de la réplication du génome. Elle est étroitement liée à nsp7 et à nsp8. La très grande taille du génome et son maintien dans la nature sont rendus possibles notamment par la protéine nsp14 qui a une activité 3' et 5' exonucléase (ExoN) et qui permet de réduire le nombre d'erreurs introduites à chaque copie du génome, évitant ainsi l'accumulation de mutations délétères (notion de « seuil catastrophe »). Les CoV sont les seuls virus à ARN pour lesquels ce système de correction des erreurs (*proofreading*) a été décrit. Ainsi, le taux de mutations introduites lors de la réplication du génome des CoV est estimé à 10^{-5} - 10^{-6} substitution/base/cycle contre 10^{-3} - 10^{-4} pour les virus à génome ARN de plus petite taille. Le tiers restant du génome, situé en 3', comporte les gènes codant les protéines de structure HE/S/E/M/N dans un ordre constant, et des ORF putatives codant des protéines non structurales en nombre et en position variables selon les espèces de CoV. Ces ORF sont localisées le plus souvent dans les régions situées entre les gènes S et E d'une part, et entre les gènes M et N d'autre part ; certaines chevauchent les gènes codant les protéines de structure. La fonction d'un grand nombre de protéines non structurales est encore mal connue. Les différents gènes du génome des CoV sont précédés d'une séquence intergénique appelée TRS (*transcription regulatory sequence*) homologue d'une partie de la séquence *leader* située en 5'. Ces TRS jouent un rôle central dans la transcription.



Figure 4 : Représentation schématique d'un génome de *Betacoronavirus* de clade A (HCoV-OC43)

Le génome du HCoV-OC43 comporte 31 728 nucléotides (nt). Les extrémités 5' (L = séquence *leader*, rectangle rouge) et 3' (queue polyA, cercle rouge) sont non codantes. Les 2 premiers tiers du génome sont constitués de 2 ORF chevauchantes, ORF1a et ORF1b, codant le complexe de réplication / transcription. Les gènes codant les protéines de structure sont toujours dans le même ordre : HE/S/E/M/N. Les ORF codant les protéines non structurales (en marron clair sur le schéma) sont en nombre et en position variables selon les espèces de coronavirus.

4 - Multiplication des coronavirus

4.1. Modèles animaux

De nombreuses données fondamentales sur la biologie des CoV ont été acquises par l'étude des CoV animaux. La souris BALB/c a été utilisée comme modèle animal pour l'étude des HCoV classiques, en particulier l'étude du neurotropisme du HCoV-OC43.

Les 2 CoV émergents (SARS-CoV et MERS-CoV) ont fait l'objet, rapidement après leur identification en 2003 et 2012 respectivement, d'infections expérimentales. Le tableau 1 résume les principaux modèles développés.

4.2. Cultures cellulaires

Les HCoV sont en général très difficiles à isoler en culture cellulaire. Une adaptation par passages successifs semble nécessaire. Les 2 souches prototypes HCoV-229E et HCoV-OC43 ont été adaptées dans

les années 1960 et peuvent être amplifiées *in vitro*, respectivement en cellules diploïdes (fibroblastes humains embryonnaires de types MRC-5 ou WI-38), et en lignée continue (HRT-18 provenant d'une tumeur rectale humaine). Cependant, ces 2 systèmes cellulaires ne permettent pas directement l'obtention d'isolats cliniques.

Le HCoV-NL63, identifié en 2004, peut être difficilement amplifié en culture cellulaire, sur lignée continue LLC-MK2 (cellules de rein de singe rhesus) et sur plusieurs clones de cellules Vero (cellules de rein de singe vert africain). Le HCoV-HKU1, identifié en 2005, n'est pas « cultivable » *in vitro*.

Les CoV émergents, SARS-CoV et MERS-CoV sont « cultivables » sur cellules Vero, avec des rendements variables. L'isolement et l'amplification de ces 2 CoV ne peuvent être réalisés qu'après obtention d'agrément et en milieu sécurisé (laboratoire de niveau de sécurité biologique 3).

Tableau 1 : Principaux modèles animaux d'infections expérimentales par les 2 coronavirus humains émergents (SARS-CoV et MERS-CoV)

Espèces expérimentales	Virus	
	SARS-CoV	MERS-CoV
Primates non humains (PNH)	PHN sensibles : signes cliniques, multiplication virale, atteinte pulmonaire variable <i>Macaca mulatta</i> (macaque rhesus) <i>Macaca fascicularis</i> (macaque crabier) <i>Chlorocebus aethiops</i> (singe vert ou vervet) <i>Callithrix jacchus</i> (marmouset)	PHN sensibles avec infection et multiplication virale modérée <i>Macaca mulatta</i> (macaque rhesus) <i>Macaca fascicularis</i> (macaque crabier) PHN sensibles avec infection sévère/létale et multiplication virale élevée <i>Callithrix jacchus</i> (marmouset)
Hamsters	<i>Mesocricetus auratus</i> (hamster doré) : infection sévère, multiplication virale, létalité	Non sensible
Furets	<i>Mustela putorius furo</i> (furet domestique) : signes cliniques, multiplication virale, atteinte pulmonaire	Non sensible
Lapins	Non étudié	<i>Oryctolagus cuniculus</i> (lapin commun) : virus détecté dans les voies respiratoires, infection paucisymptomatique
Dromadaires	Non étudié	<i>Camelus dromedarius</i> (dromadaire) ; virus détecté dans les voies respiratoires, infection paucisymptomatique
Souris	Jeunes souris BALB/c, C57BL6, 129S : multiplication virale, infection asymptomatique Souris plus âgée, souris exprimant hACE2 : atteinte pulmonaire, multiplication virale	Souris exprimant hDPP4 : multiplication virale, atteinte pulmonaire, létalité

hACE2 : human angiotensin converting enzyme 2 ; hDPP4 : human dipeptidyl peptidase 4 ; MERS-CoV : coronavirus associé au syndrome respiratoire du Moyen-Orient ; SARS-CoV : coronavirus associé au syndrome respiratoire aigu et sévère (adapté de Gretebeck and Subbarao, *Curr Opin Virol*, 2015).

Récemment, différents systèmes de cultures cellulaires ont été développés et permettent l'obtention d'isolats primaires de HCoV. Il s'agit essentiellement de systèmes de culture primaires reproduisant la structure de l'épithélium trachéobronchique et/ou pulmonaire, avec une interface air-liquide (cellules ciliées, cellules à mucus, cellules basales, cellules alvéolaires de type 1 et de type 2 en coculture. Il s'agit de modèles appelés « *HAE model* » (*human airway epithelium*).

4.3. Cycle de multiplication des coronavirus

Le cycle de multiplication des CoV se déroule en 8 à 10 h. Il est divisé en plusieurs phases : entrée, réplication / transcription, assemblage / maturation et bourgeonnement / sortie de la cellule. La réplication du génome viral est strictement cytoplasmique.

L'attachement du virus sur la cellule fait intervenir la partie globulaire de la protéine de surface (S1) et un récepteur présent sur la membrane des cellules cibles. Les récepteurs cellulaires identifiés pour les 6 HCoV connus sont résumés dans le tableau 2.

Pour le HCoV-OC43, le récepteur identifié est un acide sialique modifié ; le récepteur utilisé par le HCoV-HKU1 n'est pas encore déterminé. L'utilisation des récepteurs par les CoV est décrite comme étant adaptable, ceci favorisant le franchissement de barrière d'espèces. Les sites de liaison au récepteur, au sein de la protéine S1, sont variables en fonction des espèces de CoV. Ainsi, si la molécule ACE2 (*angiotensin converting enzyme 2*) est utilisée comme récepteur par le HCoV-NL63 et le SARS-CoV, la liaison à ces 2 virus utilise 2 domaines de liaison (*receptor binding domain*, RBD) très différents, formés de 3 boucles discontinues

pour le RBD du HCoV-NL63, et un domaine continu pour le RBD du SARS-CoV. L'entrée du virus dans la cellule fait suite à la fusion des membranes virales et cellulaires, plasmiques ou endosomales. L'ARN génomique est ensuite décapsidé. La 1^{re} étape est la synthèse de 2 grands polypeptides pp1a et pp1ab à partir des ORF1a et ORF1b. Le clivage de ces 2 polypeptides aboutit à la production des 16 protéines non structurales nsp (nsp1 à nsp16), qui s'organisent pour former le complexe de transcription/réplication récemment identifié. Il est admis que la transcription est discontinue. Plusieurs modèles ont été proposés, dont celui de Sawicki et coll., en 2007, qui comprend des pauses de la polymérase au niveau des différentes séquences intergéniques (TRS) et des sauts ou changements de matrice. Dans le cytoplasme de la cellule infectée, on trouve 5 à 7 ARNm subgénomiques de taille décroissante. Tous ces ARN portent en 5' la séquence *leader*, et ont une extrémité commune en 3' formant ainsi un « *set* » commun ou un « *nidus* », caractéristique des virus de l'ordre des *Nidovirales*. Pour la plupart des ARNm, seule l'ORF se trouvant en aval de la séquence *leader* est traduite (Fig. 5).

La réplication du génome se fait par l'intermédiaire de la synthèse d'un brin d'ARN de polarité négative, complémentaire du génome (intermédiaire de réplication). Les phases tardives de maturation et d'assemblage ont lieu dans l'appareil de Golgi et le réticulum endoplasmique, avec la sortie de la cellule infectée par exocytose des particules néoformées. La régulation de la transcription / réplication est complexe et en grande partie méconnue. Elle fait intervenir la protéine N de nucléocapside et probablement un grand nombre de protéines cellulaires.

Tableau 2: Récepteurs cellulaires identifiés et acides aminés composant le site de liaison au récepteur cellulaire sur la protéine S pour les différents coronavirus humains (HCoV) et coronavirus émergents

Coronavirus humains (HCoV)	Année d'identification du virus	Récepteur cellulaire identifié	Site de liaison au récepteur sur la protéine S (résidus)
HCoV-229E	1966	<i>Aminopeptidase N</i> (hAPN)	407- 547
HCoV-OC43	1967	<i>N-acetyl-9-O-acetyl neuraminic acid</i> (NEU 5,9 AC2)	Non connu
SARS-CoV	2003	<i>Angiotensin converting enzyme 2</i> (ACE2)	303 - 537
HCoV-NL63	2004	<i>Angiotensin converting enzyme 2</i> (ACE2)	476 - 616
HCoV-HKU1	2005	Non connu	Non connu
MERS-CoV	2012	<i>Dipeptidyl peptidase 4</i> (DPP4)	358 - 588

MERS-CoV : coronavirus associé au syndrome respiratoire du Moyen-Orient; SARS-CoV : coronavirus associé au syndrome respiratoire aigu et sévère.

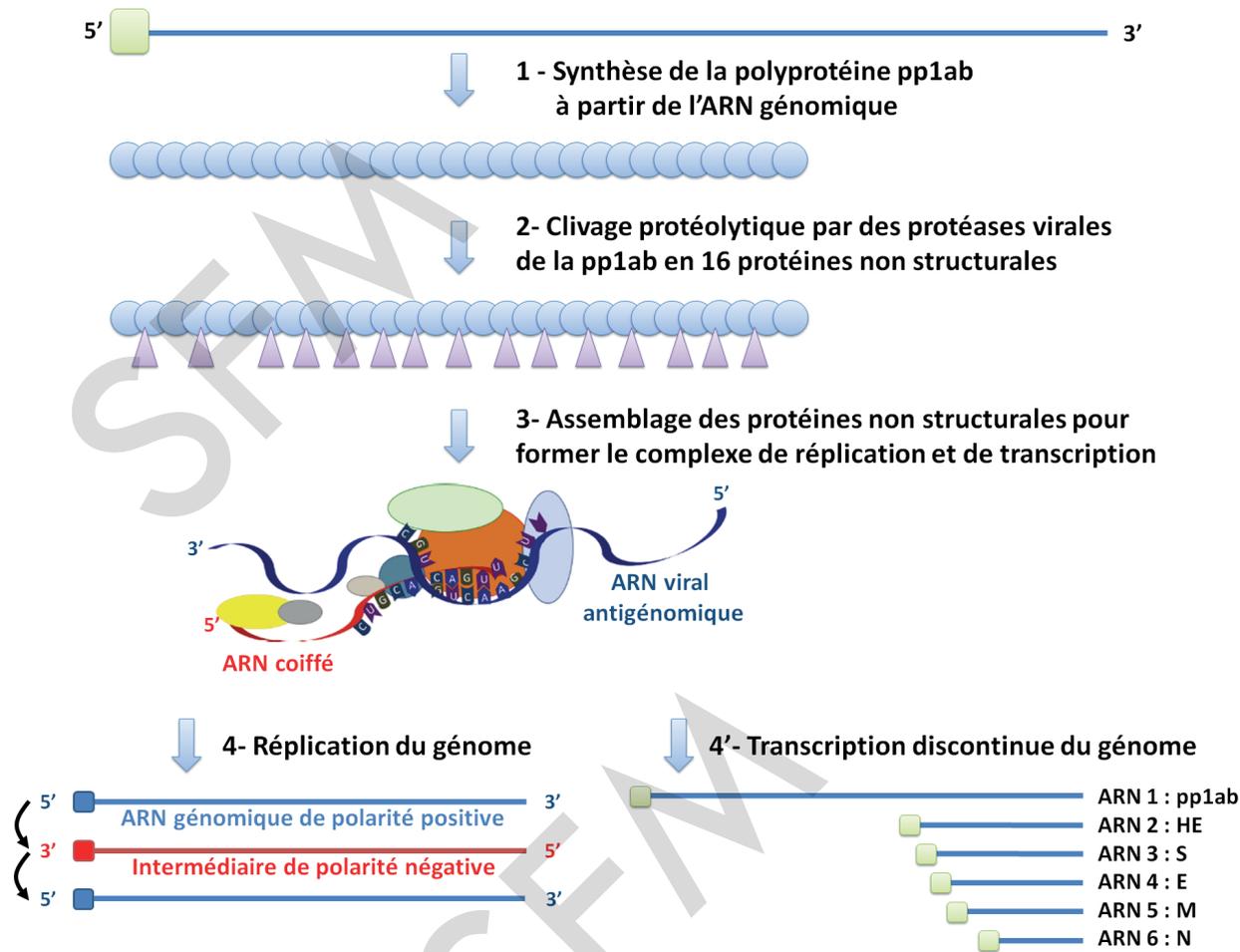


Figure 5 : Principales étapes de la transcription discontinue des coronavirus (CoV) dans le cytoplasme de la cellule infectée

Modèle représentant l'association des enzymes des CoV au sein du complexe de réplication. Lors de l'étape de transcription discontinue (4') la synthèse de 5 à 7 ARNm subgénomiques de taille décroissante, possédant la même extrémité 3' polyAAA (queue polyA) est observée en fonction de l'espèce. pp : polyprotéine (adapté de *Subissi et al., Proc Natl Acad Sci, 2014*).

4.4. Evolution des coronavirus

Les CoV présentent une grande diversité génétique liée notamment à la plasticité de leur génome. Ils ont été capables au cours de leur évolution d'acquies un certain nombre de gènes codant des protéines non structurales entrant dans la composition du complexe de réplication et enrichissant leur potentiel d'adaptation. La très grande taille du génome s'explique par la taille des 1^{res} ORF (ORF1a et ORF1b) codant le complexe de réplication, et qui représentent à elles seules les 2/3 du génome, soit environ 20 000 nucléotides. La diversité génétique est liée à plusieurs facteurs :

- Apparition et sélection de mutations ponctuelles à type de substitutions lors de la réplication du génome viral. La région du génome subissant la plus forte sélection positive est le gène codant la protéine de surface S (attachement au récepteur/épitopes neutralisants).

- « Indels » : insertions ou délétions ayant comme conséquences la troncature ou la disparition de régions codantes. Le génome des CoV supportant des

délétions de grande taille, il a été largement utilisé comme vecteur pour l'expression de gènes étrangers.

- Evénements de recombinaisons intra- et interspécifiques facilités par la nature discontinue de la transcription.

- Organisation de la structure de la population virale en quasi-espèce (ensemble de variants dont la composition est en équilibre dynamique contraint par les forces évolutives de l'environnement).

Les CoV sont également caractérisés par une capacité à franchir les barrières d'espèces (large réservoir animal, notamment chez les mammifères, exploitation des récepteurs cellulaires).

Ainsi, ces virus présentent un potentiel d'émergence important et plusieurs émergences sont décrites dans cette famille virale, tant en médecine vétérinaire qu'en médecine humaine.

La figure 6 résume les émergences réussies d'origine zoonotique des CoV circulant dans la population humaine.

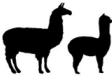
Coronavirus humain (HCoV)	Origine possible (hypothèse)	Hôte intermédiaire identifié	Date d'émergence (détermination du MRCA)	Circulation chez l'humain
HCoV-229E <i>Alphacoronavirus</i>		 Camelidae, Alpaca sp.	Début XIX ^e siècle	Ubiquitaire, saisonnier
HCoV-NL63 <i>Alphacoronavirus</i>		?	XIII ^e siècle	Ubiquitaire, saisonnier
HCoV-OC43 <i>Betacoronavirus</i> Clade A	 ?	 Bovidae	Fin XIX ^e siècle	Ubiquitaire, saisonnier
HCoV-HKU1 <i>Betacoronavirus</i> Clade A	 ?	 ?	?	Ubiquitaire, saisonnier
SARS-CoV <i>Betacoronavirus</i> Clade B		 <i>Paguma larvata</i> (civette)	2002	Pandémie décembre 2002 – juillet 2003 Arrêt de la circulation
MERS-CoV <i>Betacoronavirus</i> Clade C		 <i>Camelus dromedarius</i>	2012	Circulation péninsule arabique. Risque pandémique lié aux voyages

Figure 6 : Émergence des coronavirus humains : réservoirs naturels hypothétiques, réservoirs intermédiaires, datations de l'émergence et modalités de circulation actuelle chez l'humain
MRCA : *most recent common ancestor*.

Pour 4 des 6 HCoV (HCoV-229E, HCoV-NL63, SARS-CoV, MERS-CoV), l'origine animale la plus probable est représentée par les chiroptères. L'introduction des virus dans la population humaine s'est faite *via* un réservoir animal intermédiaire, le plus souvent des espèces d'élevage ou de compagnie introduites dans l'entourage de l'humain. Les dates d'émergence (datation du MRCA, *most recent common ancestor*) sont relativement précises pour les 2 émergences récentes (SARS-CoV et MERS-CoV), et sont plus hypothétiques pour les émergences anciennes pour lesquelles les données génétiques sont insuffisantes et seulement disponibles sur une période récente, donc trop distante des événements d'émergence.

Chez les HCoV, notamment HCoV-OC43 et HCoV-HKU1, plusieurs génotypes ont été décrits, générés essentiellement par la combinaison de l'évolution graduelle des ORF et d'événements de recombinaisons intraspécifiques. Concernant ces génotypes, il n'existe à l'heure actuelle aucune nomenclature consensuelle.

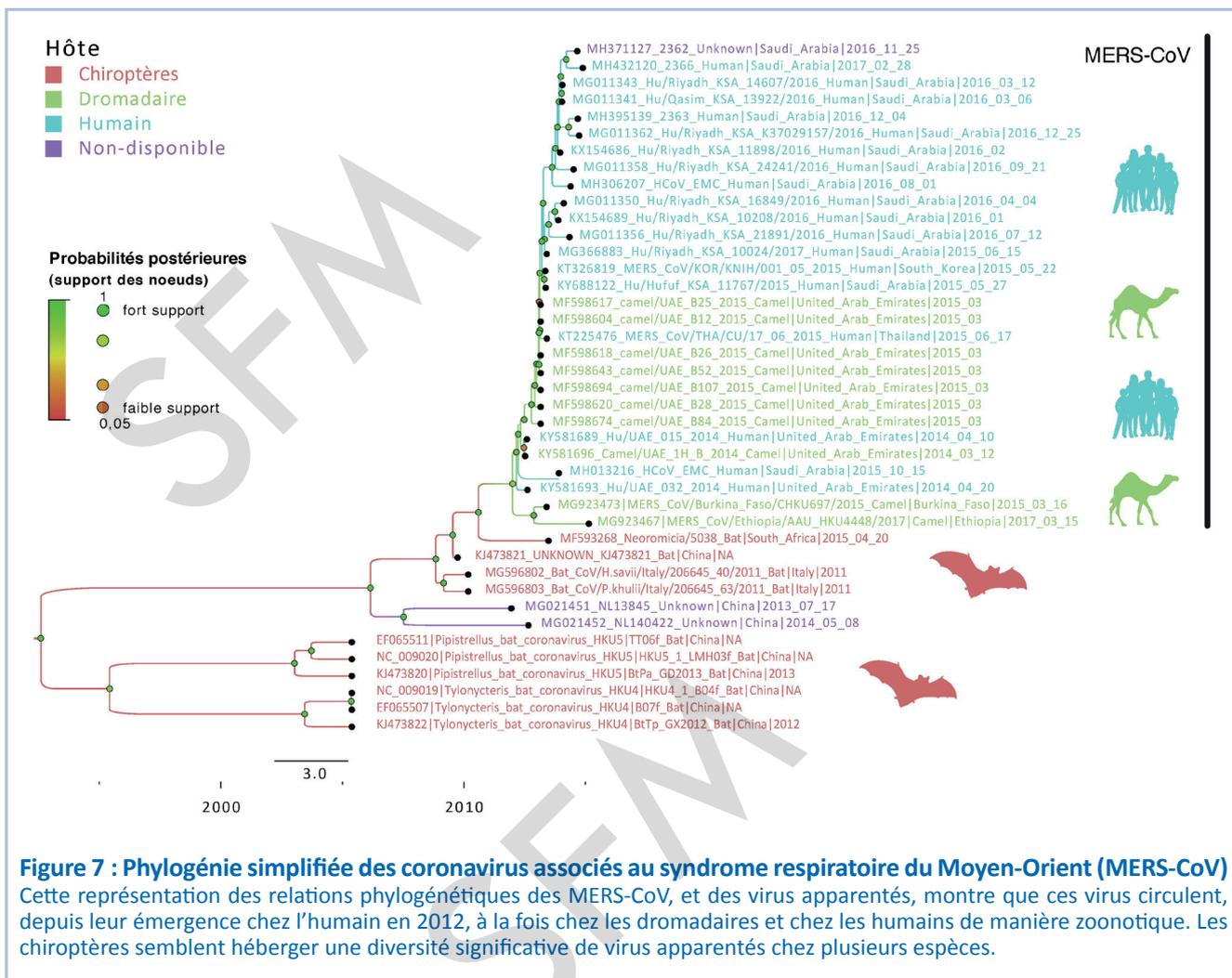
La grande majorité des génomes complets ou quasi complets de HCoV est représentée par les génomes des HCoV émergents (environ 200 à 300 pour chacun de ces virus), ce qui permet l'étude de leur évolution. Les SARS-CoV qui ont circulé de novembre 2002 à juillet 2003 ont une origine monophylétique, liée à un nombre restreint de franchissements de barrières

d'espèces de la civette (*Paguma larvata*) à l'humain fin 2002 en Chine. En revanche, les MERS-CoV circulant actuellement chez les dromadaires et les humains dans la péninsule arabique ont une origine multiple correspondant à des franchissements de barrières indépendants et répétés, et une transmission interhumaine efficace non établie. Différents clades et sous-groupes sont proposés (Fig. 7).

5 - Epidémiologie

5.1. Transmission

Les HCoV sont responsables d'infections respiratoires. Leur transmission interhumaine se fait essentiellement de façon directe, par voie respiratoire, *via* les gouttelettes respiratoires émises lors de la respiration et/ou de la toux, et de façon indirecte *via* les aérosols. La transmission indirecte manuportée ou *via* du matériel contaminé est également possible, notamment en milieu de soins. Le maintien de l'infectiosité des CoV dans le milieu extérieur est largement dépendant des conditions environnementales (température, hygrométrie, pH, environnement protéique ...). Il est classiquement de l'ordre de quelques heures, mais peut atteindre quelques jours (études sur des CoV animaux).



5.2. Les coronavirus classiques (HCoV-229E, NL63, OC43 et HKU1)

Les HCoV ont une circulation bien établie dans la population humaine, ils sont ubiquitaires (même s'il existe très peu de données pour le continent africain et les zones tempérées de l'hémisphère Sud).

Dans les régions tempérées de l'hémisphère Nord, ils cocirculent sous forme d'épidémies automno-hivernales. Les données épidémiologiques les plus anciennes ont montré que les HCoV circulaient largement dans la population générale, où ils seraient, avec les rhinovirus, responsables de la majorité des infections respiratoires aiguës hautes à type de rhinite (rhume commun ou « *common cold* »). Ces données ont été collectées lors des grandes études prospectives *Tecumseh* par Monto et coll. dans les années 1970 qui utilisaient des techniques sérologiques. A l'heure actuelle, les données publiées concernent essentiellement des échantillons prélevés en milieu hospitalier, et analysés par des techniques directes de détection moléculaire. Dans ce contexte, les HCoV classiques représentent globalement 5% à 10% des détections virales respiratoires, avec une prédominance des HCoV-NL63 et HCoV-OC43. Les études de séroprévalence montrent un contact précoce, dans les 3 premières années de vie, avec

ces virus. Comme pour la plupart des infections respiratoires virales, les réinfections sont fréquentes tout au long de la vie.

5.3. Les coronavirus émergents (SARS-CoV et MERS-CoV)

Le SARS-CoV. Son émergence est survenue dans le sud de la Chine, fin 2002. L'épidémie a été divisée rétrospectivement en 3 phases : une phase précoce de novembre 2002 à janvier 2003, où ont été décrits 11 cas indépendants de pneumopathies graves dans la région de Canton ; une phase intermédiaire de janvier à février 2003 où ont été décrites plusieurs épidémies nosocomiales en milieu de soins avec la mise en évidence de « super propageurs » (individus infectés à l'origine de plusieurs chaînes de transmission) ; et enfin une phase tardive de février à juillet 2003, phase qui a débuté le 11 février 2003 par un épisode très documenté de « super propagation » à l'hôtel Metropole de Hong Kong où un patient a été à l'origine de la diffusion du virus à Hong Kong, Singapour, au Vietnam et à Toronto (Fig. 8).

Le R_0 (index de reproduction de base) du SARS-CoV était compris entre 2 et 3, ce qui a permis une adaptation rapide de ce virus jusqu'alors inconnu, et constituant avec les coronavirus de chauves-souris

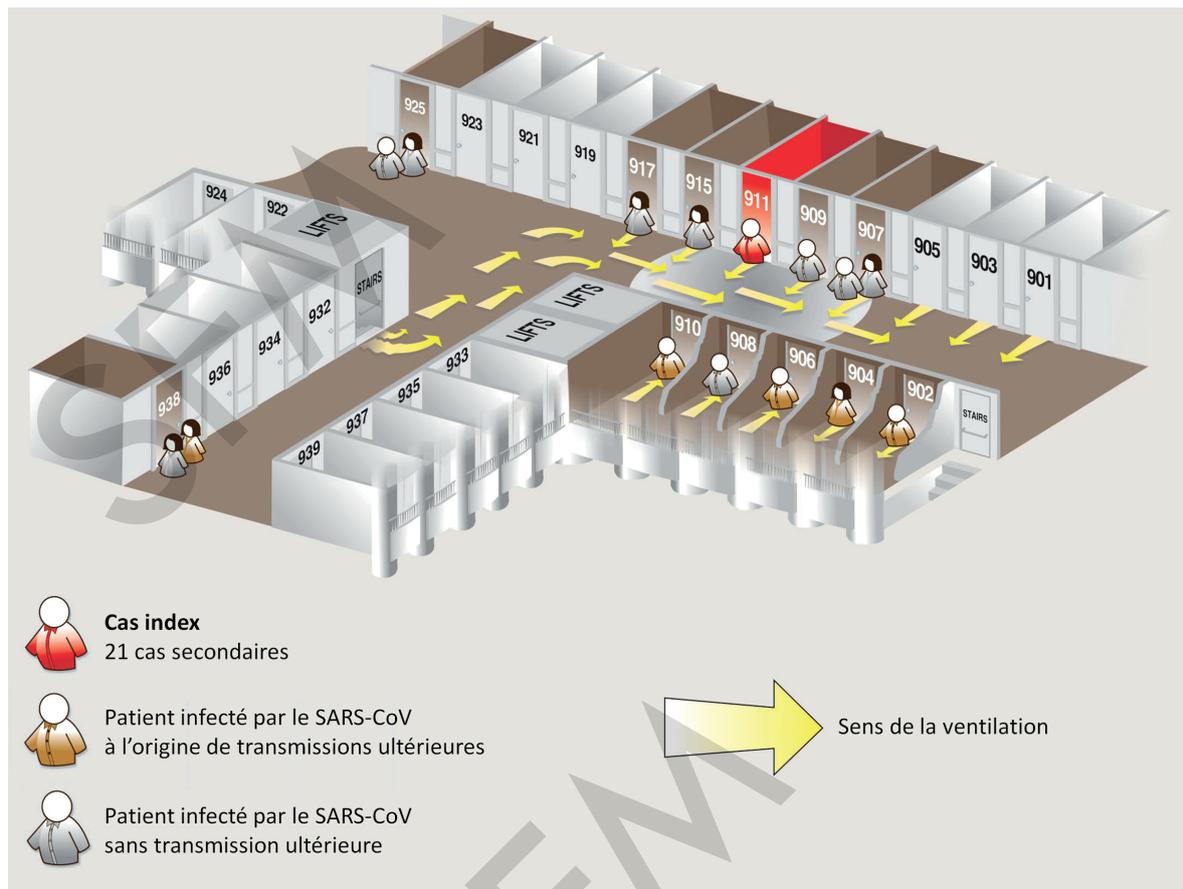


Figure 8 : Exemple d'un épisode de « super propagation » du SARS-CoV

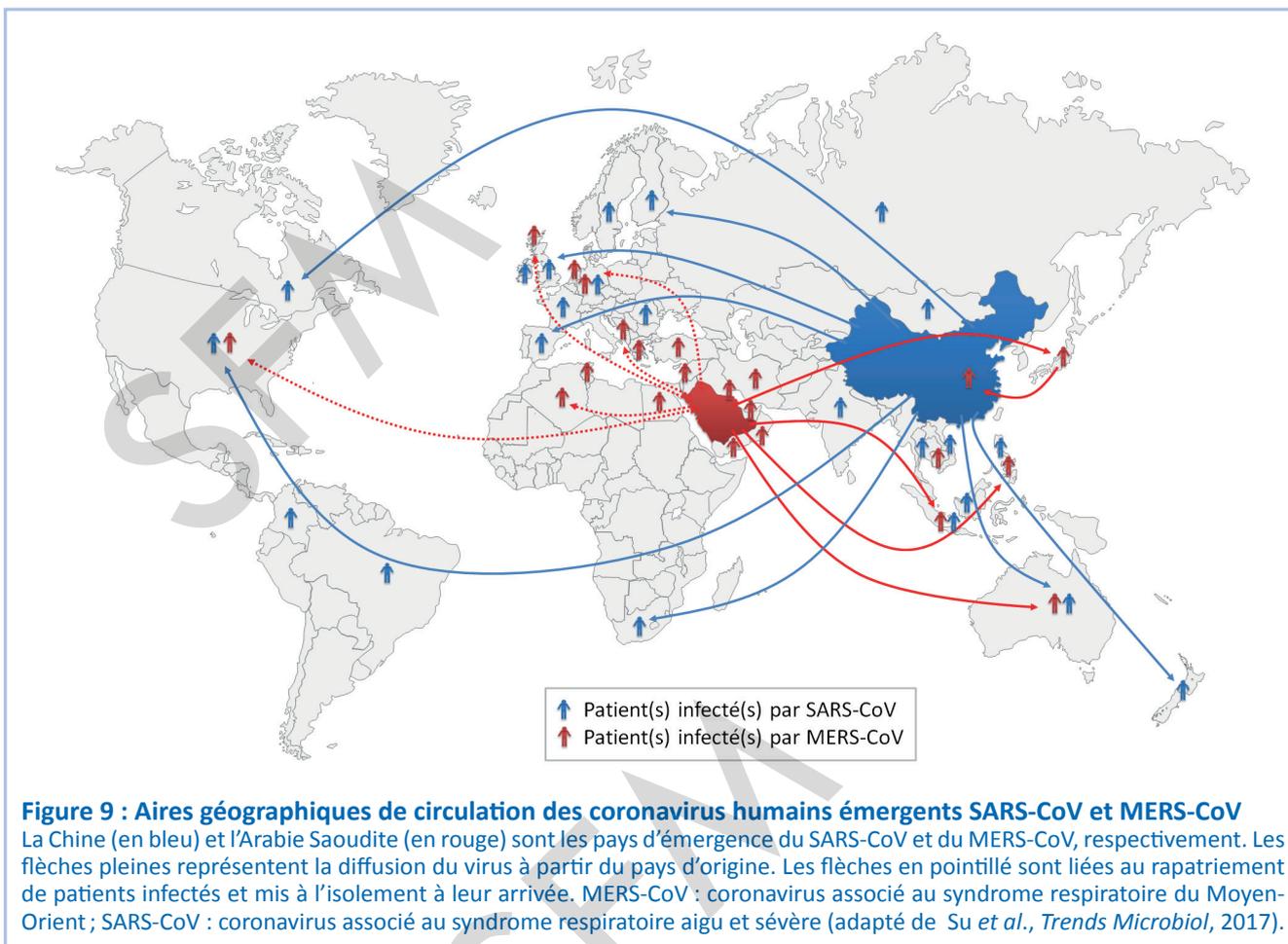
Chaîne de transmission avec événement de « super propagation » identifiée au 9^e étage de l'hôtel Metropole, à Hong Kong, le 21 février 2003. Le patient index a séjourné du 18 au 22 février 2003 dans cet hôtel (les numéros des chambres sont représentés sur le schéma), il a ensuite été hospitalisé, et il est décédé le 4 mars suivant. Cette chaîne de transmission a initié les épidémies à Hong Kong, Singapour, Toronto et au Vietnam (adapté de SARS: *How a global epidemic was stopped*, p 141, OMS, 2006).

HKU4 et HKU5 le clade B des *Betacoronavirus*. Cette pandémie de SARS-CoV a été la 1^{re} à bénéficier de la mise en place d'un réseau numérique international de 13 laboratoires experts ayant permis une meilleure diffusion des données scientifiques en vue de la mise en place de la politique sanitaire. Le SARS-CoV a été rapidement identifié début avril 2003. Au total, fin 2003, l'OMS a chiffré à 8 096 le nombre de cas probables d'infections par le SARS-CoV, et à 774 le nombre de décès liés. Le taux de mortalité global se situe aux environs de 10%, et a essentiellement concerné les individus de plus de 50 ans et les individus fragilisés. Le SARS-CoV a été détecté dans 29 pays, le plus grand nombre de cas ayant concerné la Chine et le Canada (Fig. 9).

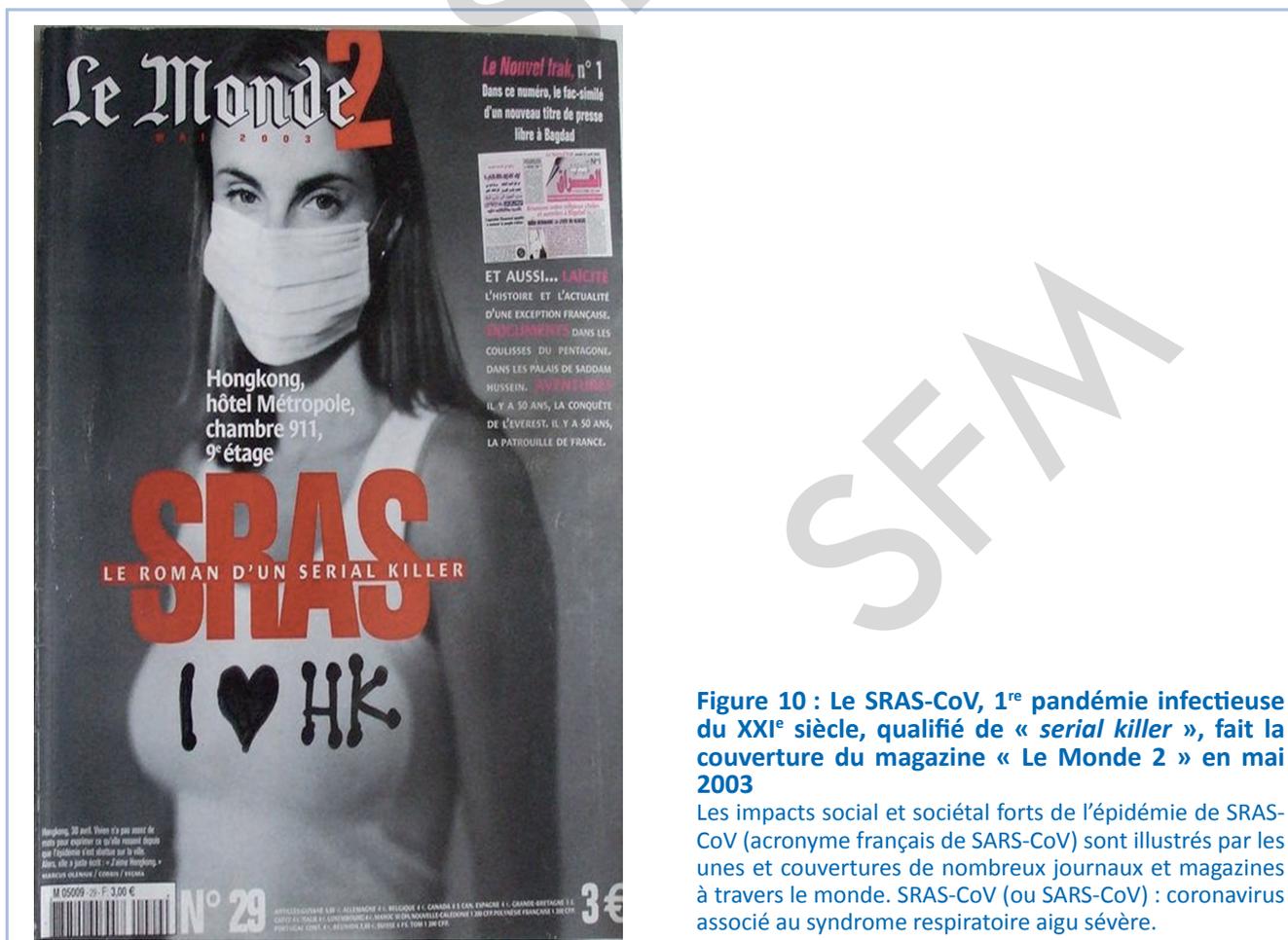
Aujourd'hui, sa circulation a été interrompue en partie grâce aux mesures de santé publique prises au niveau international. L'épidémie a été associée à un coût humain et économique important, et a eu un fort impact social (Fig. 10).

Le MERS-CoV. Entre avril 2012 et août 2018, 2 229 cas d'infections par le MERS-CoV confirmées au laboratoire ont été déclarés, dont 83% survenus en Arabie Saoudite. Parmi ces 2 229 cas, 46% correspondent à des formes

sévères, 21% à des cas a- ou paucisymptomatiques, et 18,6% à des cas touchant le personnel soignant. Le virus a été détecté au total dans 27 pays, notamment en Corée du Sud où le virus a été introduit en août 2015 et a été responsable d'une épidémie nosocomiale touchant 136 personnes et ayant conduit à 39 décès (Fig. 9). Le nombre total de décès rapportés est de 791, portant le taux de mortalité de l'infection par le MERS-CoV à 35,4%. Les individus à risque de présenter une forme sévère, voire fatale, d'infection par le MERS-CoV sont les individus de sexe masculin, âgés de plus de 60 ans, présentant des comorbidités à type d'obésité, de diabète, de maladies bronchopulmonaires et cardiovasculaires. L'infection par le MERS-CoV, comme celle causée par le SARS-CoV, est une infection de l'adulte : la médiane d'âge des cas rapportés est de 54 ans, contre 40 ans pour le SARS-CoV (données OMS). Le nombre de MERS-CoV détectés chez les enfants est très faible, de l'ordre de 2%, contre 5% à 7% pour le SARS-CoV. Depuis son émergence en 2012, le modèle épidémiologique proposé reste inchangé : le MERS-CoV est un virus zoonotique, avec des introductions répétées dans la population humaine *via* des contacts directs ou indirects avec des dromadaires infectés de la péninsule arabique. La transmission interhumaine est très limitée, avec un $R_0 < 1$ en population générale.



Exemplaire diffusé à titre gratuit - Ne peut être reproduit ou vendu



La séroprévalence du MERS-CoV a été estimée entre 0,15% et 0,20% de la population humaine adulte d'Arabie Saoudite, correspondant à environ 45 000 personnes ayant rencontré ce virus. Elle est 10 fois supérieure, de l'ordre de 2%, chez les individus travaillant au contact des dromadaires (éleveurs, personnels en abattoir). La transmission interhumaine semble facilitée en milieu de soins, avec un $R_0 > 1$: en effet, des épidémies nosocomiales répétées ont été décrites (Fig. 11). La surveillance renforcée de l'infection par le MERS-CoV, avec notamment la pratique systématique de tests diagnostiques et la mise en place de mesures d'hygiène appropriées, devrait permettre une réactivité accrue devant un cas suspect et la limitation des cas groupés (clusters) épidémiques hospitaliers. Les modalités de la transmission facilitée du MERS-CoV en milieu de soins ne sont pas clairement expliquées. Le risque pandémique lié à l'externalisation du MERS-CoV en dehors de la péninsule arabe reste élevé.

6 - Formes cliniques des infections par les HCoV

6.1. Les coronavirus classiques (HCoV-229E, NL63, OC43 et HKU1)

Ces HCoV ayant un tropisme essentiellement respiratoire, seule la pathologie associée à ce tropisme sera traitée dans ce chapitre. Le tropisme digestif des CoV, majoritaire chez de nombreux hôtes

animaux, n'est pas formellement démontré chez l'humain. Il en est de même pour le neurotropisme, rarement rapporté, et essentiellement étudié de façon expérimentale pour le HCoV-OC43 (Fig. 12).

En 1967, Bradburne et coll. ont inoculé par voie aérienne 2 HCoV classiques (souches 229E et B814) à une centaine de volontaires sains. La moitié d'entre eux ont présenté une symptomatologie de rhume après une incubation moyenne de 3,2 j. Les études ultérieures ont montré que les HCoV classiques étaient, avec les rhinovirus, les principaux agents responsables du rhume commun, infection respiratoire aiguë spontanément résolutive et peu sévère chez les individus immunocompétents. Les HCoV classiques sont également associés à des infections respiratoires touchant l'arbre respiratoire inférieur (larynx, trachée, bronches, poumon). Il s'agit le plus souvent de situations où la population cible est fragilisée : âges extrêmes de la vie, maladies bronchopulmonaires sous-jacentes et immunodépression d'origine variable (greffes, biothérapies, cancers). Dans ces cas, la multiplication virale peut être temporairement non contrôlable et l'infection par les HCoV, classiquement aiguë, peut devenir persistante pendant plusieurs semaines ou mois.

La symptomatologie respiratoire associée aux infections par les HCoV classiques ne présente aucune spécificité clinique, d'une part, au sein des 4 HCoV classiques circulant chez l'humain (HCoV-229E, HCoV-NL63, HCoV-OC43, HCoV-HKU1), et d'autre part, au sein des autres virus responsables d'infections des voies respiratoires.

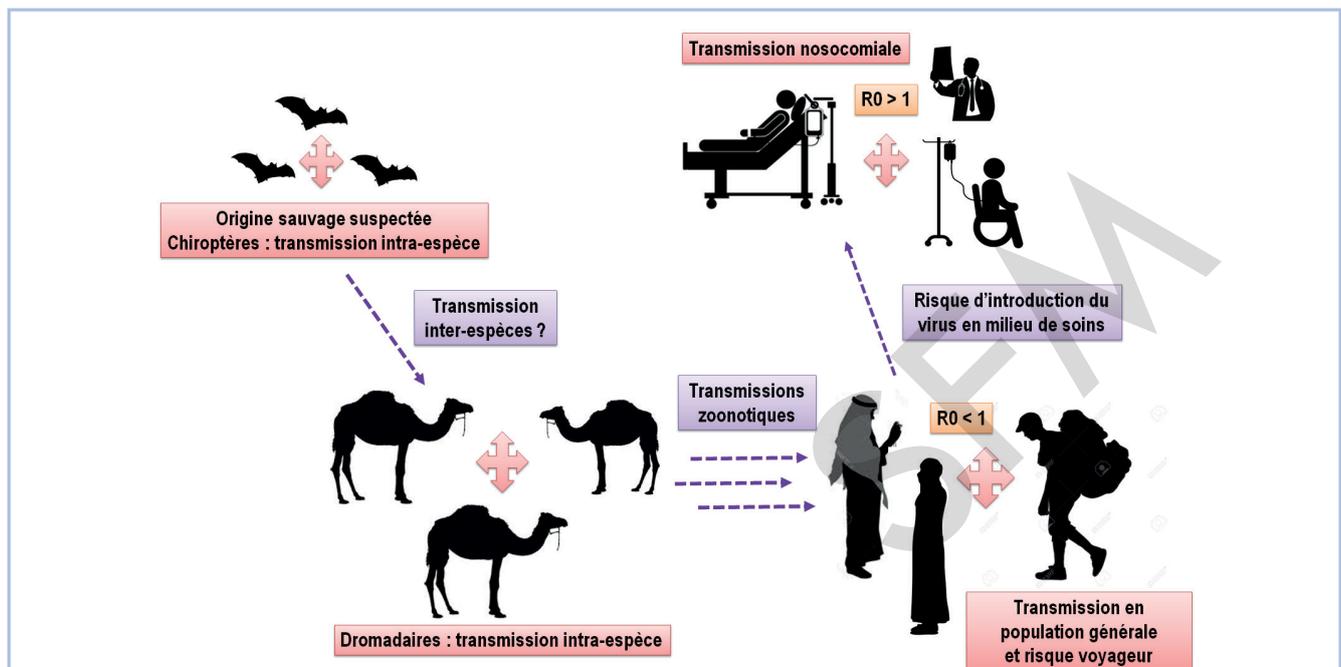
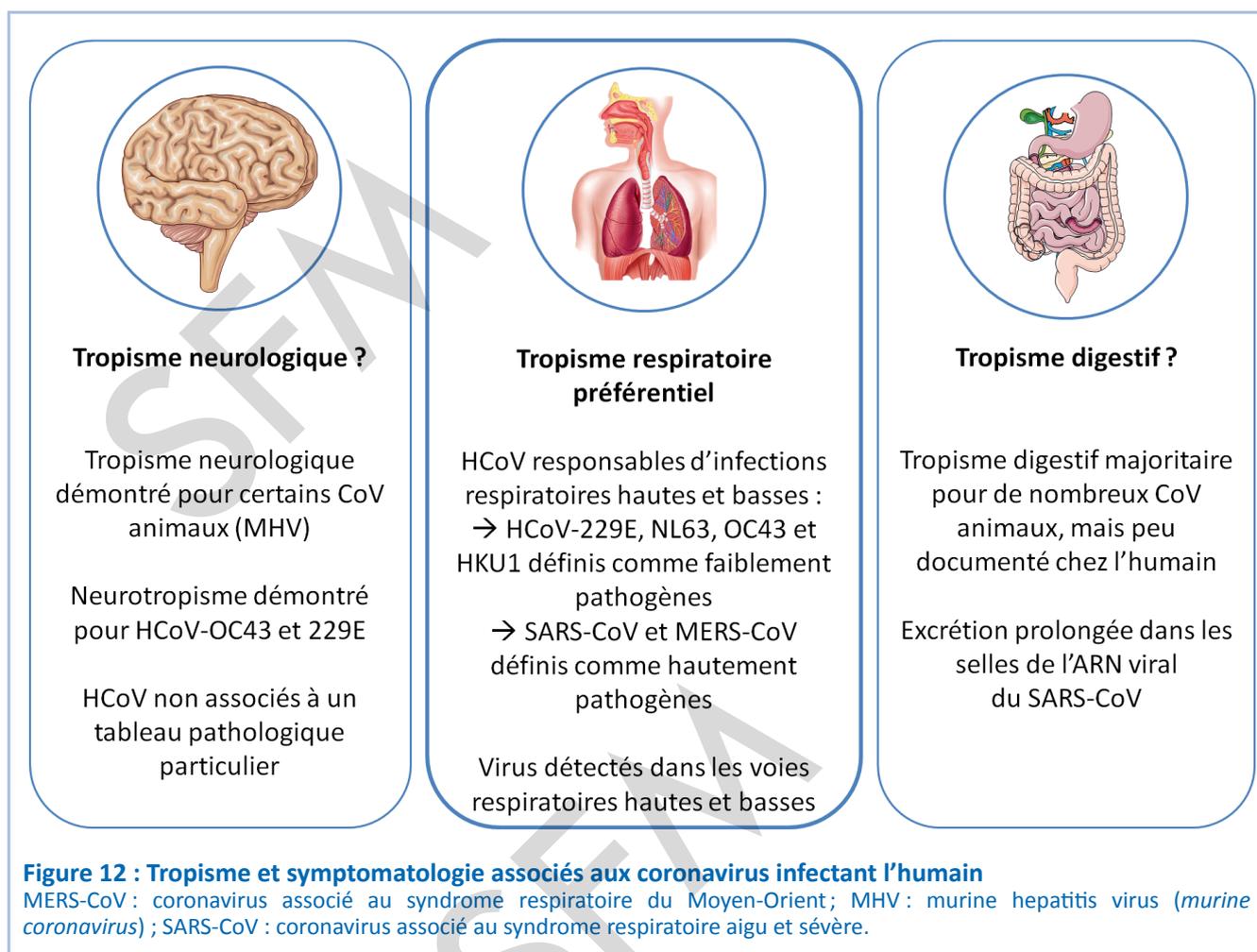


Figure 11 : Modèle épidémiologique du coronavirus associé au syndrome respiratoire du Moyen-Orient (MERS-CoV)

La chaîne épidémiologique proposée est la suivante : virus ancêtre circulant dans la population des chiroptères - virus circulant dans la population de dromadaires de la péninsule arabe - transmissions zoonotiques répétées du MERS-CoV du dromadaire à l'humain - transmission interhumaine limitée ($R_0 < 1$) en population générale - transmission interhumaine efficace en milieu hospitalier ($R_0 > 1$). R_0 : index de reproduction de base (adapté de Vergara-Alert *et al.*, *One Health*, 2017).



6.2. Les coronavirus émergents (SARS-CoV et MERS-CoV)

Les 2 HCoV émergents, SARS-CoV et MERS-CoV, sont des virus hautement pathogènes caractérisés par une atteinte sévère de l'arbre respiratoire inférieur, pouvant évoluer vers un syndrome de détresse respiratoire aigu (SDRA) fatal. L'évolution clinique des infections causées par ces 2 virus ayant émergé à 10 ans d'intervalle diffère au niveau du taux de mortalité globale.

Le SARS-CoV. Après une période d'incubation allant de 1 à 14 j (médiane 4,6 j) et se présentant comme un syndrome pseudogrippal, l'évolution clinique est spontanément résolutive après la 1^{re} semaine pour 80% des patients. Les 20% restants évoluent vers un SDRA nécessitant une hospitalisation en soins intensifs et une ventilation mécanique. Le taux global de mortalité est de 10%, mais oscille entre 6,8% pour les moins de 60 ans et 43% pour les plus de 60 ans. Les données pathologiques recueillies à partir de plus de 60 examens autopsiques montrent au niveau du tissu pulmonaire des dommages alvéolaires diffus avec divers degrés d'exsudat aigu (œdème, membranes hyalines, fibrose), une infiltration cellulaire macrophagique ou mixte, composée de cellules géantes multinucléées, de pneumocytes réactifs atypiques et des lésions vasculaires. Ces dommages alvéolaires diffus ne sont pas spécifiques de l'infection

par le SARS-CoV, et une confirmation virologique est nécessaire pour éliminer les autres causes infectieuses ou traumatiques. Bien que des troubles digestifs à type de diarrhée soient fréquemment relevés pendant la 1^{re} semaine d'infection, aucun changement pathologique majeur n'a été montré à l'examen des intestins. Les tests d'hybridation *in situ*, d'immunohistochimie dirigés contre différentes protéines virales et les tests moléculaires (RT-PCR) réalisés sur les différents tissus au décours des examens autopsiques montrent des résultats fréquemment positifs au niveau des différents tissus, notamment les tissus intestinaux. Cependant, aucun isolat viral n'a pu être obtenu à partir des selles.

Le MERS-CoV. Le cas index est un homme de 60 ans, hospitalisé à Djedda en Arabie Saoudite en juin 2012 pour une pneumonie rapidement évolutive ayant conduit au décès après 11 j d'évolution (Fig. 13). Le virus a été identifié par Zaki et coll. par séquençage à partir de surnageant de cultures (échantillon respiratoire inoculé sur les lignées cellulaires Vero et LLC-MK2, avec plusieurs passages à l'aveugle).

L'investigation des épidémies nosocomiales a ensuite montré que la symptomatologie de l'infection par le MERS-CoV allait de la forme a- ou paucisymptomatique au SDRA. Il n'existe presque aucune donnée autopsique avec, depuis 2012, 1 seul cas publié en 2016 montrant des lésions similaires à celle décrites pour le SARS-CoV (dommages alvéolaires diffus associés avec des

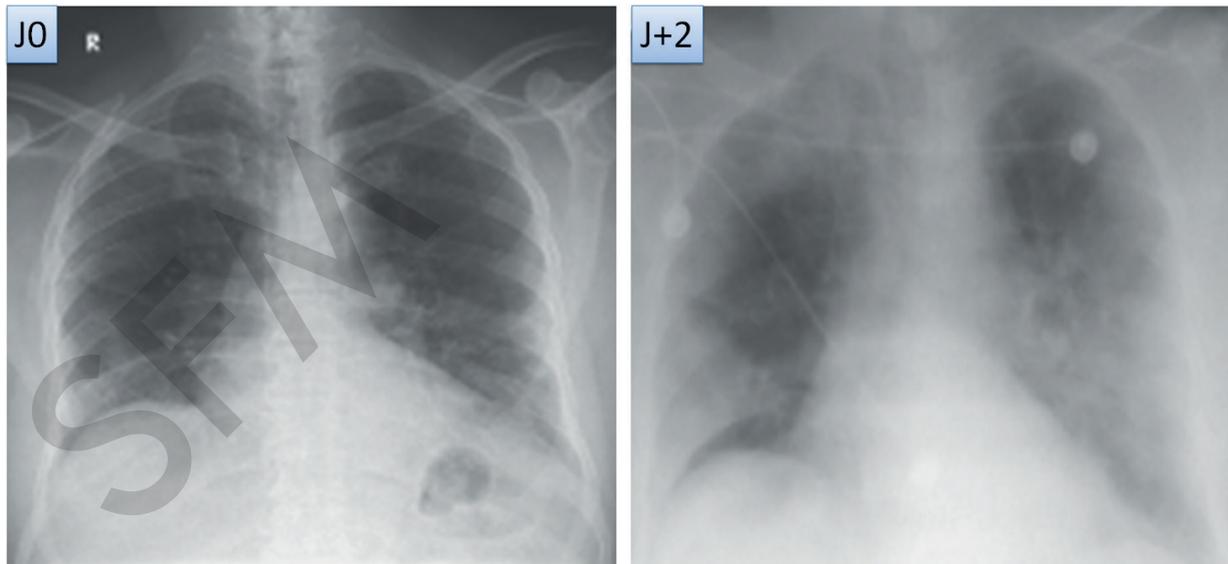


Figure 13 : Evolution de l'atteinte pulmonaire après infection par le MERS-CoV

Radiographies pulmonaires à l'admission à l'hôpital (J0) et à J+2 du patient index chez lequel a été identifié pour la 1^{re} fois le MERS-CoV (coronavirus associé au syndrome respiratoire du Moyen-Orient), en juin 2012 en Arabie Saoudite. Le patient est décédé à J+11 (adapté de Zaki *et al.*, *N Engl J Med*, 2012).

épanchements diffus et infection des pneumocytes de type II). Aucune atteinte extra-pulmonaire n'a été décrite dans ce cas, malgré l'observation de défaillance rénale aiguë rapportée dans un certain nombre de cas d'infection par le MERS-CoV.

le laboratoire exécutant. Il s'agit le plus souvent de laboratoires hospitaliers ayant la capacité de travailler en milieu de sécurité biologique de niveau 3 (virus émergent classé agent à risque de type 3 lors de l'émergence).

7 - Diagnostic virologique des infections par les HCoV

7.1. Détection des HCoV

Le diagnostic des infections respiratoires aiguës par les HCoV classiques (souches 229E, NL63, OC43 et HKU1) est un diagnostic direct réalisé par des méthodes de détection moléculaire utilisant des techniques variées d'amplification génique et de détection des produits amplifiés (RT-PCR en temps réel, PCR nichée ...). Il existe de nombreuses trousse commerciales disponibles. A l'heure actuelle, les techniques moléculaires multiplex permettant la détection rapide et simultanée de plusieurs cibles virales sont très utilisées pour le diagnostic syndromique. Elles permettent la détection de 15 à 20 cibles virales correspondant aux principaux virus responsables d'infections respiratoires, cet ensemble est appelé « panel respiratoire » (voir chapitre 52). Les nouvelles trousse ne nécessitent pas d'intervention technique au cours des différentes étapes de l'analyse ; ces méthodes sont dites « *sample to result* » et donnent les résultats dans un délai de 2 h.

Pour les HCoV émergents, les techniques de biologie moléculaire sont utilisées et concernent essentiellement des RT-PCR en temps réel. La réalisation de ces tests, développés le plus souvent « à façon » par les CNR, nécessitent un agrément pour

Les techniques conventionnelles de détection directe telles que l'isolement du virus en culture cellulaire ou la détection des antigènes viraux par immunofluorescence ne sont pas utilisées en pratique courante, mais seulement dans le cadre d'études épidémiologiques. Les virus émergents, SARS-CoV et MERS-CoV, sont inscrits sur la liste des MOT (micro-organismes et toxines hautement pathogènes) et leur détention, utilisation, cession, transport, importation ou exportation, sous forme complète (forme infectieuse) ou partielles (matériel génétique d'une taille supérieure à 500 nucléotides) nécessitent obligatoirement des autorisations délivrées par l'ANSM.

7.2. Indications

Concernant les HCoV classiques (souches 229E, NL63, OC43, et HKU1), ces indications concernent uniquement les infections respiratoires touchant les patients hospitalisés ou vivant en communauté (dans le cadre d'épidémies nosocomiales). Elles s'inscrivent dans la recherche étiologique d'une infection respiratoire. L'absence de spécificité clinique de ces infections et le chevauchement des périodes de circulation épidémique de nombreux virus respiratoires ne permettent pas une orientation précise des indications diagnostiques et justifient le recours à des techniques multiplex.

Concernant les HCoV émergents hautement pathogènes, SARS-CoV et MERS-CoV, le protocole de surveillance mis en place dans le cadre des

alertes sanitaires comprend la réalisation de tests moléculaires dans un certain nombre de situations qualifiées de « cas suspects » ou de « cas probables » selon une liste de critères préétablis. La circulation du SARS-CoV étant interrompue depuis juillet 2003, sa recherche n'est plus réalisée. Pour le MERS-CoV, les tests sont réalisés avec un caractère d'urgence chez les cas suspects et probables (afin de lever les mesures d'isolement de haut niveau). La recherche des autres virus responsables d'infection respiratoire est également réalisée dans le cadre d'un diagnostic différentiel.

7.3. Echantillons

La recherche des HCoV classiques en pratique courante est réalisée à partir d'échantillons respiratoires divers : écouvillonnage nasal profond ou prélèvement nasopharyngé, prélèvement oropharyngé, aspiration nasale, expectoration profonde, aspiration trachéale, lavage broncho-alvéolaire, biopsies de tissu bronchique ou pulmonaire. Dans le cas des HCoV émergents, du fait de la diffusion systémique des virus, la recherche du virus en cause est également réalisée dans le sang périphérique (virémie), les selles et les urines.

7.4. Interprétation

La détection du génome d'un HCoV dans les voies respiratoires signe une infection en cours par ce virus. L'ARN viral est détecté pendant 15 à 21 j dans les voies respiratoires chez les individus immunocompétents (phase d'excrétion), parfois pendant une période plus longue en cas d'immunodépression. Les techniques moléculaires utilisées permettent la mise en évidence de fréquentes codétentions virales dans les échantillons respiratoires, surtout dans la population pédiatrique. L'interprétation de ces codétentions virales n'est pas encore claire, il n'est pas possible de différencier une véritable coinfection d'infections séquentielles. L'interprétation d'un prélèvement respiratoire haut positif pour un HCoV dans un contexte d'infection respiratoire basse reste difficile, et ne constitue qu'un élément d'orientation diagnostique.

Une excrétion prolongée de l'ARN du SARS-CoV dans les selles a été montrée pour une proportion très élevée des individus infectés (> 90%), faisant de cet échantillon le prélèvement le plus efficace pour confirmer le diagnostic. L'ARN du MERS-CoV peut être détecté dans les urines.

7.5. Diagnostic sérologique

Ce diagnostic n'est pas utilisé pour le diagnostic de l'infection aiguë. Cependant, les données sérologiques sont très informatives en cas d'émergence pour mesurer l'impact du virus émergent dans la population générale, l'importance des cas paucisymptomatiques non vus par les systèmes de soins, et étudier les chaînes de transmission. Les difficultés sont nombreuses : il s'agit d'agents de niveau de biosécurité 3, parfois soumis à la réglementation MOT, l'obtention de sérums de contrôle positifs et négatifs peut être difficile (problèmes logistiques et éthiques), les réactivités croisées entre les différents HCoV sont importantes, l'étude des performances des tests nécessitent souvent plusieurs prélèvements chez le même patient. Pour le MERS-CoV ont été développées des techniques d'immunofluorescence, des techniques ELISA utilisant différents antigènes (surnagent de culture, virus entier, protéines virales recombinantes N ou S). L'OMS recommande un contrôle de spécificité des résultats par des tests de neutralisation utilisant soit le virus entier, soit des pseudoparticules virales.

8 - Traitement et prévention

Malgré des efforts importants et une recherche active, aucune molécule antivirale et aucun vaccin ne sont encore disponibles pour lutter contre les HCoV classiques ou émergents. Le traitement est actuellement uniquement symptomatique et requiert souvent l'hospitalisation en unité de soins intensifs. La ribavirine a été utilisée lors de la pandémie de SARS-CoV sans impact clinique évident.

La prévention et le contrôle des transmissions secondaires (isolement, respect des règles d'hygiène, détection moléculaire répétées du virus) sont primordiaux pour éviter la diffusion de l'infection en milieu de soins.

📖 Messages importants 📖

- Les coronavirus sont des virus très diversifiés dans la faune sauvage et domestique, doués pour le passage inter-espèces et l'émergence.
- On connaît à ce jour 6 espèces de coronavirus capables d'infecter l'humain : 4 espèces (HCoV-229E, HCoV-NL63, HCoV-OC43 et HCoV-HKU1) à circulation ubiquitaire et saisonnière, entraînant des tableaux cliniques le plus souvent bénins chez l'immunocompétent ; et 2 autres espèces, dites émergentes, provoquant des infections sévères : le SARS-CoV, aujourd'hui disparu, et le MERS-CoV dont la circulation zoonotique, liée à son hôte animal le dromadaire, est quasiment restreinte à la péninsule arabique.
- Vu l'impact des activités humaines sur les écosystèmes, la diversité des coronavirus et leurs capacités d'évolution, on peut s'attendre à moyen terme à l'émergence chez l'animal, mais aussi chez l'humain de coronavirus nouveaux, potentiellement pathogènes.

📖 Pour en savoir plus ... 📖

1. Su S, Wong G, Shi W, Liu J, Lai ACK, Zhou J, Liu W, Bi Y, Gao GF. Epidemiology, genetic recombination, and pathogenesis of coronaviruses. *Trends Microbiol* 2016; 24: 490-502.
2. Kin N. Caractérisation moléculaire intraspécifique et phylogénie comparée de 2 Bêta coronavirus de clade A : HCoV-OC43 et BCoV. Thèse d'Université, Doctorat de l'Université Caen Normandie. 6 novembre 2015.
3. Subissi L, Posthuma CC, Collet A, Zevenhoven-Dobbe JC, Gorbalenya AE, Decroly E, Snijder EJ, Canard B, Imbert I. One severe acute respiratory syndrome coronavirus protein complex integrates processive RNA polymerase and exonuclease activities. *Proc Natl Acad Sci* 2014; 111: E3900-E3909.
4. Vergara-Alert J, Vidal E, Bensaid A., Segalés J. Searching for animal models and potential target species for emerging pathogens: Experience gained from Middle East respiratory syndrome (MERS) coronavirus. *One Health* 2017; 3: 34-40.
5. Ng DL, Al Hosani F, Keating K, Gerber SI, Jones TL, Metcalfe MG, Tong S, Tao Y, Alami NN, Haynes LM, Mutei MA, Abdel-Wareth L, Uyeki TM, Swerdlow DL, Barakat M, and Zaki SR. Clinicopathologic, immunohistochemical, and ultrastructural findings of a fatal case of Middle East respiratory syndrome coronavirus infection in the United Arab Emirates, April 2014. *Am J Pathol* 2016; 186: 652-8.