

**UNIVERSITE TOULOUSE III PAUL SABATIER
FACULTE DES SCIENCES PHARMACEUTIQUES**

ANNEE : 2020

THESES 2020 TOU3 2063

THESE

POUR LE DIPLOME D'ETAT DE DOCTEUR EN PHARMACIE

Présentée et soutenue publiquement
par

EL KASSIR ALI

**DONNEES EPIDEMIOLOGIQUES DES INFECTIONS A CORONAVIRUS AU CHU DE
TOULOUSE ENTRE 2012 ET 2018
ETUDE DES PATIENTS HOSPITALISES EN REANIMATION**

Le 30/10/2020

Directeur de thèse : Docteur MANSUY JEAN MICHEL

JURY

Présidente : Pr GANDIA, Peggy
1er assesseur : Pr CLAUDET, Isabelle
2ème assesseur : Pr DELOBEL, Pierre
3ème assesseur : Dr MANSUY, Jean Michel

**UNIVERSITE TOULOUSE III PAUL SABATIER
FACULTE DES SCIENCES PHARMACEUTIQUES**

ANNEE : 2020

THESES 2020 TOU3 2063

THESE

POUR LE DIPLOME D'ETAT DE DOCTEUR EN PHARMACIE

Présentée et soutenue publiquement
par

EL KASSIR ALI

**DONNEES EPIDEMIOLOGIQUES DES INFECTIONS A CORONAVIRUS AU CHU DE
TOULOUSE ENTRE 2012 ET 2018
ETUDE DES PATIENTS HOSPITALISES EN REANIMATION**

Le 30/10/2020

Directeur de thèse : Docteur MANSUY JEAN MICHEL

JURY

Présidente : Pr GANDIA, Peggy
1er assesseur : Pr CLAUDET, Isabelle
2ème assesseur : Pr DELOBEL, Pierre
3ème assesseur : Dr MANSUY, Jean Michel

PERSONNEL ENSEIGNANT
de la Faculté des Sciences Pharmaceutiques de l'Université Paul Sabatier
au 14 septembre 2020

Professeurs Emérites

Mme BARRE A.	Biologie Cellulaire
M. BENOIST H.	Immunologie
M. BERNADOU J.	Chimie Thérapeutique
M. CAMPISTRON G.	Physiologie
M. GAIRIN J.E.	Pharmacologie
Mme NEPVEU F.	Chimie analytique
M. ROUGE P.	Biologie Cellulaire
M. SALLES B.	Toxicologie

Professeurs des Universités

Hospitalo-Universitaires

Mme AYYOUB M.	Immunologie
M. CESTAC P.	Pharmacie Clinique
M. CHATELUT E.	Pharmacologie
Mme DE MAS MANSAT V.	Hématologie
M. FAVRE G.	Biochimie
Mme GANDIA P.	Pharmacologie
M. PARINI A.	Physiologie
M. PASQUIER C. (Doyen)	Bactériologie - Virologie
Mme ROQUES C.	Bactériologie - Virologie
Mme ROUSSIN A.	Pharmacologie
Mme SALLERIN B.	Pharmacie Clinique
M. VALENTIN A.	Parasitologie

Universitaires

Mme BERNARDES-GÉNISSON V.	Chimie thérapeutique
Mme BOUTET E.	Toxicologie - Sémiologie
Mme COUDERC B.	Biochimie
M. CUSSAC D. (Vice-Doyen)	Physiologie
M. FABRE N.	Pharmacognosie
Mme GIROD-FULLANA S.	Pharmacie Galénique
M. GUIARD B.	Pharmacologie
M. LETISSE F.	Chimie pharmaceutique
Mme MULLER-STAUMONT C.	Toxicologie - Sémiologie
Mme REYBIER-VUATTOUX K.	Chimie analytique
M. SEGUI B.	Biologie Cellulaire
Mme SIXOU S.	Biochimie
M. SOUCHARD J-P.	Chimie analytique
Mme TABOULET F.	Droit Pharmaceutique
M. VERHAEGHE P.	Chimie Thérapeutique

Maîtres de Conférences des Universités

Hospitalo-Universitaires		Universitaires	
M. DELCOURT N.	Biochimie	Mme ARELLANO C. (*)	Chimie Thérapeutique
Mme JUILLARD-CONDAT B.	Droit Pharmaceutique	Mme AUTHIER H.	Parasitologie
M. PUISSET F.	Pharmacie Clinique	M. BERGE M. (*)	Bactériologie - Virologie
Mme ROUCH L.	Pharmacie Clinique	Mme BON C.	Biophysique
Mme ROUZAUD-LABORDE C.	Pharmacie Clinique	M. BOUJILA J. (*)	Chimie analytique
Mme SERONIE-VIVIEN S. (*)	Biochimie	M. BROUILLET F.	Pharmacie Galénique
Mme THOMAS F. (*)	Pharmacologie	Mme CABOU C.	Physiologie
		Mme CAZALBOU S. (*)	Pharmacie Galénique
		Mme CHAPUY-REGAUD S.	Bactériologie - Virologie
		Mme COLACIOS C.	Immunologie
		Mme COSTE A. (*)	Parasitologie
		Mme DERAËVE C. (*)	Chimie Thérapeutique
		Mme ECHINARD-DOUIN V.	Physiologie
		Mme EL GARAH F.	Chimie Pharmaceutique
		Mme EL HAGE S.	Chimie Pharmaceutique
		Mme FALLONE F.	Toxicologie
		Mme FERNANDEZ-VIDAL A.	Toxicologie
		Mme GADEA A.	Pharmacognosie
		Mme HALOVA-LAJOIE B.	Chimie Pharmaceutique
		Mme JOUANJUS E.	Pharmacologie
		Mme LAJOIE-MAZENC I.	Biochimie
		Mme LEFEVRE L.	Physiologie
		Mme LE LAMER A-C.	Pharmacognosie
		M. LE NAOUR A.	Toxicologie
		M. LEMARIE A.	Biochimie
		M. MARTI G.	Pharmacognosie
		Mme MONFERRAN S.	Biochimie
		M. SAINTE-MARIE Y.	Physiologie
		M. STIGLIANI J-L.	Chimie Pharmaceutique
		M. SUDOR J. (*)	Chimie Analytique
		Mme TERRISSE A-D.	Hématologie
		Mme TOURRETTE-DIALLO A. (*)	Pharmacie Galénique
		Mme VANSTEELANDT M.	Pharmacognosie
		Mme WHITE-KONING M. (*)	Mathématiques

(*) Titulaire de l'habilitation à diriger des recherches (HDR)

Enseignants non titulaires

Assistants Hospitalo-Universitaires		Attaché Temporaire d'Enseignement et de Recherche (ATER)	
Mme LARGEAUD L.	Immunologie	M. François-Xavier TOUBLET	Chimie Thérapeutique
M. LE LOUEDEC F.	Pharmacologie		
M. MOUMENI A.	Biochimie		
M. PAGES A.	Pharmacie Clinique		
Mme SALABERT A.S	Biophysique		
Mme TRIBAUDEAU L.	Droit Pharmaceutique		

REMERCIEMENTS

A Madame le Professeur Peggy GANDIA

Je vous remercie d'avoir accepté de présider ce jury et de l'intérêt que vous avez porté à mon travail. Merci pour tout ce que vous m'avez appris et pour toutes les opportunités que vous avez pu m'offrir lorsque nous avons travaillé pendant 6 mois.

Veillez trouver ici l'expression de toute ma reconnaissance et de mon profond respect.

A Madame le Professeur Isabelle CLAUDET

Je vous remercie de me faire l'honneur d'être membre de ce jury et de participer à la critique de ce travail.

Je vous prie d'accepter l'expression de toute ma considération et de mon profond respect.

A Monsieur le Professeur Pierre DELOBEL

Merci de m'avoir fait l'honneur d'accepter de siéger au sein de mon jury et de juger mon travail. Merci de nous faire bénéficier de votre expertise clinique sur le sujet. Je vous prie d'accepter l'expression de toute ma considération et de ma plus profonde estime.

A Monsieur le Docteur Jean Michel MANSUY

Merci d'avoir accepté de diriger ma thèse. Un grand merci pour votre encadrement, vos précieux conseils, vos encouragements et votre disponibilité (même si ça n'était pas toujours facile avec le COVID qui ne vous laissait aucun répit). Enfin merci également pour vos enseignements, votre bonne humeur et votre décontraction qui m'ont été d'une grande aide.

A **Catherine Mengelle** qui m'a donné en premier lieu l'envie de réaliser ce travail. Merci pour tous vos enseignements et votre bonne humeur au cours de mon stage.

Un immense merci à **Muriel** qui a le don de tout simplifier et qui trouve une solution à tout. Merci pour ta disponibilité, ta bonne humeur et pour ton aide (même quand il s'agissait de faire des bêtises).

A **Chloé Dimeglio**, c'était un plaisir de travailler avec toi. Merci pour ta patience (devant mes tableaux de données), ta bonne humeur et ta gentillesse.

A mes **Parents**, sans qui je ne serais jamais arrivé là. Je ne vous remercierai jamais assez pour l'éducation que vous m'avez donnée, votre soutien et vos conseils. Merci aussi pour votre humour qui n'a pas d'égal.

A mon frère, **Smaïn**. De loin le plus intelligent de la fratrie et sans qui je ne serais jamais allé aussi loin. Tu m'as poussé à me surpasser et j'ai toujours pu compter sur toi quand j'en avais besoin. Je vous souhaite tout le bonheur du monde avec Marine.

A mes sœurs, **Najet et Asma**. Vous vous êtes occupées de moi dès ma naissance et vous n'avez jamais arrêté depuis. Merci pour votre soutien et vos précieux conseils.

A ma deuxième famille, les **Abdennebi**. Mon **oncle Ali**, je n'ai pas pu te dire au revoir mais je ne t'oublierai jamais toi et tes conseils. Je regrette que tu n'aies pas pu me voir diplômé. A ma **tante Fatma** qui avait toujours une sucrerie dans sa poche pour moi. A mes cousines **Sonia, Souhaira, Nadia, Oumaima et Majida** qui ont toujours pris soin de moi. A mon cousin **Brahim** qui pouvait paraître effrayant parfois mais qui a toujours le mot pour rire. Enfin à mon cousin **Khaled**, qui a toujours veillé sur moi, qui m'a appris certaines valeurs et tout ce qu'il savait sur le foot.

A **Clémence** (ou clément pour les intimes), déjà 10 ans d'amitié. On a vécu tellement de choses ensemble entre la faculté, les vacances, les soirées, les virées nocturnes en voiture à Lyon, sans oublier tous les restos et les yogolicious. Merci pour tous ces fous rires et ta folie. T'es vraiment la meilleure Clémou.

A Solène, Loïc, Anne et Mathias pour tous ces moments de rigolades, pour les week-ends et autres vacances. Mais surtout pour toutes les fois où tu as perdu au ping-pong Soso.

A **Moïse**, ça fait plus de 10 ans qu'on se marre ensemble. A toutes nos galères, soirées complètement folles et à toutes les nuits passées sur battlefield. J'ai toujours pu compter sur toi, merci.

Au **DMC** et toutes nos conneries. **Eddy**, merci pour ta bonne humeur (et de m'avoir initié à battlefield) et pour toutes les soirées passées à rien faire chez toi. **Yves**, j'espère que je n'aurai plus à te trainer jusqu'à chez toi contre ta volonté (oui cette vidéo existe). A **Rayane**, de loin le plus fou du groupe mais on ne s'ennuie jamais avec toi. A **Flavien**, à toutes tes aventures et ton rire si particulier.

A **Elisa**, pour tous les restos qu'on a pu faire ensemble.

A **Hugo**, notre internat aura eu pour thème pizza, foot (autant sur le terrain qu'à la télé) et baby-foot.

Au **Pouloulou**, **Samuel** merci pour ce moment (je sais que tu comprendras). **Charlotte**, merci de m'avoir donné les clés à mon arrivée, ça a été le point de départ de beaucoup de bêtises. A **Imane Be**, le petit ange devenu terrible ! A **Maximin**, la lourdeur incarnée dès le premier jour, merci pour toutes tes blagues nulles et ta « LOURDEUR » (évidemment).

A **Elodie** et **Mathilde**, pour toutes nos petites soirées. Elodie, merci pour tous tes précieux conseils d'avoir toujours répondu présente quand j'en ai eu besoin. Je vous souhaite le meilleur pour la suite.

A **Aude** et **Emeline**, merci pour vos rires si discret !

A mon premier semestre en bactério : A **Isabelle**, mon premier binôme à l'internat merci pour toutes tes blagues douteuses. A **Thibaut** pour m'avoir appris à jouer au baby-foot (et un peu de bactério aussi). A **Claudia** et sa crinière brune, je ne sais pas si je dois te dire merci tu n'étais jamais là quand on était en binôme (oui je n'ai pas oublié !). A **Raphaëlle**, tu faisais un peu peur au début mais on a partagé un super stage. A **Marion**, qui nous motivait à faire des soirées, merci pour les astreintes COVID c'était sympa ;) . A **Karen**, pour ta bonne humeur (mais tu savais t'énerver aussi). A **Momo**, et nos « fabuleux » repas de garde. A **Camille V**, et toutes tes gardes imaginaires pour éviter les cours.

A **Pauline** et **Clémence**, merci de m'avoir formé en bactério en stage et en dehors. Clémence, merci d'avoir relu ma thèse malgré toutes les fois où j'ai pu t'embêter.

A **Alban** (honey pour les intimes), pour ce stage de biochimie, pour ton style et surtout pour ce magnifique ciré jaune que tu portes comme personne.

A **Dorian**, le meilleur buteur du lundi ; merci pour toutes ces après-midis passées au Black Lion à attendre la ligue des champions.

A **Nono**, la seule personne que j'ai rencontré qui est plus stressée qu'Anaïs et qui ne voulait pas que je prenne mes congés.

A **Sarah B.**, pour toutes nos gardes passées devant le foot et à commander nos repas. Petite dédicace à ton jogging et tes crocs roses.

A **Hélène**, pour avoir facilité notre stage de biochimie avec ta bonne humeur et ton humour.

A tous les internes qui ont contribué à rendre mon internat inoubliable :

Caroline G (même si tu as quitté la biologie rapidement), Marie C, Caroline C, Marine A. (tu as géré en hémato), Delphine, Théo (même si t'es italien), Gauthier (et ton style si particulier), Jules et Alice-Anne (pour tous ces matchs de foot), Gabriela (ou Valerica, merci de m'avoir appris le roumain), Germain (même si t'es nul au baby-foot), Orancie, Sabine, Emilie, Marianne (même si tu n'étais qu'externe), Maxime M, Mathilde, Pauline C, Julie, Mouaffack, Xavier, Manu, Tiphaine et Anthony C.

A tous les techniciens qui m'ont formé, avec qui j'ai pu rire et partager des galères : Julien M (mon préféré), Damien (le plus compétent), Karim, Anne-So, Mélanie, Pauline, Mathieu, Pascale, Jocelyne, Erica, Chloé (avec ta voix si douce).

A toute l'équipe du CHIVA : **Isabelle** (chef suprême du labo, je sais que tu aimes que je t'appelle comme ça), Pierre-Yves, Frédéric, Angèle, Romain, Fafa et à tous les techniciens. A **Laurie**, merci pour ta folie au quotidien et pour tous les déguisements. A **Catoche** (ton surnom préféré), merci pour tous ce que tu m'as appris et pour ta bonne humeur.

A **Anaïs** (j'insiste sur le tréma). Un jour un grand sage a dit : « Anaïs et moi, on est comme les 2 faces d'une même pièce, on est complètement opposés, mais on est inséparables ». Merci de m'avoir aidé à rédiger ma thèse, de l'avoir relu et pour toutes les petites astuces sur Word. Merci pour ton aide, pour tes précieux conseils au quotidien et surtout d'avoir toujours répondu présente quand j'en avais besoin.

A **Marine**. La seule personne au monde capable de me supporter tous les jours et rien que pour ça tu mérites une médaille. Merci pour ton soutien, merci d'être là. Je sais que l'aventure ne fait que commencer.

TABLE DES MATIERES

REMERCIEMENTS	4
TABLE DES MATIERES.....	8
TABLE DES FIGURES.....	10
TABLE DES TABLEAUX.....	11
TABLES DES ABREVIATIONS.....	12
Introduction	13
I. Généralités	14
1) Découverte des Coronavirus	14
2) Taxonomie et classification	14
I. Structure et organisation du virus	16
1) Morphologie du virus.....	16
2) Organisation génomique.....	17
3) Le cycle viral et les protéines impliquées.....	18
a) Les protéines structurales.....	19
b) Les protéines accessoires.....	20
c) Le cycle viral	21
II. Les différentes souches de Coronavirus épidémiques.....	24
1) Les coronavirus « saisonniers »	25
2) Les virus épidémiques.....	26
III. Pathogénèse virale.....	32
1) Physiopathologie	32
a) Transmission.....	32
b) Pathogénicité.....	32
2) La réponse immunitaire	33
a) Immunité innée	33
b) Immunité adaptative	34
IV. Manifestations cliniques des Coronavirus saisonniers	35
1) Chez les enfants	35
2) Chez les adultes	35
3) Les populations à risque.....	35
V. Diagnostic Virologique	38
1) Culture cellulaire.....	38
2) La Biologie Moléculaire.....	39
3) La détection des antigènes viraux	39
4) Sérologie.....	40

VI. Traitement et prévention	40
1) Traitement.....	40
2) Prophylaxie.....	41
a) Vaccins	41
b) Mesures de prévention.....	42
Matériel et méthodes.....	44
I. Données et analyse statistique.....	44
1) Patients	44
2) Méthode.....	44
3) Les données collectées.....	45
II. La PCR Multiplex	46
1) Généralités	46
2) Technologie TOCE	46
3) La PCR multiplex au CHU de Toulouse	48
Épidémiologie des infections respiratoires au CHU de Toulouse.....	51
Étude des patients hospitalisés en service de Réanimation	56
I. Épidémiologie des patients de Réanimation.....	56
II. Tableau clinico-biologique des patients entrants.....	57
1) Diagnostics	59
2) Co-infections.....	60
3) Hospitalisation et prise en charge	61
4) Evolution	62
III. Caractéristiques et facteurs de risque	62
1) Caractéristiques des infections graves à Coronavirus	62
2) Facteurs de risque.....	64
Discussion	66
Conclusion.....	71
Bibliographie	73

TABLE DES FIGURES

FIGURE 1 : TAXONOMIE DES CORONAVIRUS (13)	15
FIGURE 2 : CORONAVIRUS DE LA BRONCHITE AVIAIRE (IBV) EN MICROSCOPIE ELECTRONIQUE (15).....	16
FIGURE 3 : STRUCTURE DES CORONAVIRUS (16)	17
FIGURE 4 : PRINCIPE DU PSEUDONOEUD AU SEIN DE L'ARN (20).....	18
FIGURE 5 : ORGANISATION GENOMIQUE DES HCOVS (21).....	18
FIGURE 6 : STRUCTURE DE LA PROTEINE S (23).....	19
FIGURE 7 : REPRESENTATION SCHEMATIQUE DES DIFFERENTS DOMAINES DE LA PROTEINE S (23)	21
FIGURE 8 : REPRESENTATION SCHEMATIQUE DE LA FUSION MEMBRANAIRE (23)	22
FIGURE 9 : ARBRE PHYLOGENETIQUE DES CORONAVIRUS (31).....	24
FIGURE 10 : DISTRIBUTION MONDIALE DES CORONAVIRUS (31)	25
FIGURE 11 : DISTRIBUTION GLOBALE DU SARS ET DU MERS (31).....	28
FIGURE 12 : REPARTITION MONDIALE DU SARS-COV 2 EN DATE DU 29/09/2020	29
FIGURE 13 : AFFICHE DU CHU DE TOULOUSE CONCERNANT LES GESTES BARRIERES AFIN DE PREVENIR LES CONTAMINATIONS DU SARS-COV 2.....	43
FIGURE 14 : ETAPE D'HYBRIDATION, DPOS ET PITCHER (SEEGENE).....	47
FIGURE 15 : ELONGATION DES AMORCES (SEEGENE).....	47
FIGURE 16 : CLIVAGE DE LA SEQUENCE MARQUEE ET HYBRIDATION AVEC LE « CATCHER » (SEEGENE)	47
FIGURE 17 : ÉMISSION DU SIGNAL FLUORESCENT (SEEGENE).....	47
FIGURE 18 : EXEMPLE DE « CATCHER » (SEEGENE).....	48
FIGURE 19 : EVOLUTION DU NOMBRE DE PRESCRIPTIONS DE PCR	51
FIGURE 20 : PROPORTION DES PCR POSITIVES.....	51
FIGURE 21 : PROPORTION DES CORONAVIRUS PARMIS LES PCR POSITIVES	52
FIGURE 22 : PREVALENCE DES DIFFERENTS VIRUS RESPIRATOIRES ENTRE 2012 ET 2018 AU CHU DE TOULOUSE	53
FIGURE 23 : DETECTION DES PRINCIPAUX VIRUS RESPIRATOIRES AU COURS DE L'ANNEE.....	53
FIGURE 24 : DETECTION DES CORONAVIRUS AU COURS DE L'ANNEE	54
FIGURE 25 : PROPORTION DES CORONAVIRUS IMPLIQUES DANS LES INFECTIONS RESPIRATOIRES	54
FIGURE 26 : PROPORTION DE PCR POSITIVES EN FONCTION DE L'AGE	55
FIGURE 27 : PROPORTION DES PCR POSITIVES CHEZ LES ENFANTS DE MOINS DE 5 ANS	55
FIGURE 28 : PATIENTS HOSPITALISES EN REANIMATION EN FONCTION DE L'AGE.....	56
FIGURE 29 : PROPORTION DES COMORBIDITES PARMIS LES PATIENTS DE REANIMATION	57
FIGURE 30 : PRESENTATION CLINIQUE DES PATIENTS.....	58
FIGURE 31 : PROPORTION DES DIFFERENTS DIAGNOSTICS ETABLIS CHEZ LES PATIENTS ATTEINTS D'IRB.....	60
FIGURE 32 : DUREE D'HOSPITALISATION DES PATIENTS EN REANIMATION	61

TABLE DES TABLEAUX

<i>TABLEAU 1 : LES DIFFERENTS GROUPES DE CORONAVIRUS HUMAINS.....</i>	<i>15</i>
<i>TABLEAU 2 : FONCTION DES PROTEINES NON-STRUCTURALES DES CORONAVIRUS</i>	<i>20</i>
<i>TABLEAU 3 : CHRONOLOGIE DE L'EPIDEMIE DE SARS-CoV EN 2002 / 2003</i>	<i>26</i>
<i>TABLEAU 4 : DONNEES RELEVees POUR CHAQUE PATIENT</i>	<i>45</i>
<i>TABLEAU 5 : CYCLE DE RT-PCR.....</i>	<i>48</i>
<i>TABLEAU 6 : LISTE DES VIRUS SELON LES PANELS</i>	<i>49</i>
<i>TABLEAU 7 : PROGRAMME DE D'AMPLIFICATION.....</i>	<i>49</i>
<i>TABLEAU 8 : PREVALENCE DES CORONAVIRUS ENTRE 2012 ET 2018 AU CHU DE TOULOUSE.....</i>	<i>52</i>
<i>TABLEAU 9 : LISTE DES DIFFERENTS PATHOGENES IMPLIQUES DANS LES CO-INFECTIONS OBSERVEES</i>	<i>61</i>
<i>TABLEAU 10 : CARACTERISTIQUES DES INFECTIONS GRAVES A CORONAVIRUS.....</i>	<i>63</i>
<i>TABLEAU 11 : FACTEURS DE RISQUE DES INFECTIONS A CORONAVIRUS.....</i>	<i>64</i>
<i>TABLEAU 12 : ANALYSE MULTIVARIEE DES FACTEURS DE RISQUE D'INFECTION GRAVE A CORONAVIRUS.....</i>	<i>65</i>

TABLES DES ABREVIATIONS

ADN : Acide DésoxyriboNucléique
ARN : acide ribonucléique
BPCO : Bronchopneumopathie Obstructive Chronique
CI : Contrôle interne
CRCoV : Canine Respiratory Coronavirus
CSH : Greffe de cellules souches hématopoïétiques
DAD : Diffuse Alveolar Damage
ECP : Effet Cytopathogène
ELISA : Enzyme-Linked ImmunoSorbent Assay
ER : Réticulum Endoplasmique
HCoVs : Human Coronavirus (Coronavirus humains)
HE : Hémagglutinine Estérase
HM : Hémopathie maligne
IBV : Infectious bronchitis virus
ICTV : International Committee on Taxonomy of Viruses
IFN : Interféron
IL : Interleukine
IMC : Indice de Masse Corporelle
IRB : Infection Respiratoire Basse
IRH : Infection Respiratoire Haute
LBA : Liquide de Lavage Broncho-Alvéolaire
MERS : Middle Est Respiratory Syndrome
MHV : Mouse Hepatitis Virus
MO : Moelle Osseuse
NSPS : protéines non structurales
OMS : Organisation Mondiale de la Santé
ORF : open reading frame
PAMP : Pathogen Associated Molecular Patterns
PRR : Pattern Recognition Receptors
RT-PCR : Reverse Transcriptase-Polymerase Chain Reaction
SARS : Severe Acute Respiratory Syndrome
sgARN : ARN subgénomique
siRNA : small interfering RNA
TLR : Toll Like Receptors
Tm : Température de Fusion
TOCE : Tagging Oligonucleotide Cleavage and Extension
VNI : Ventilation Non Invasive
VRS : Virus Respiratoire Syncytial

Introduction

Les infections respiratoires aiguës « hautes » et « basses » sont les pathologies les plus couramment rencontrées dans la population au sein des différentes tranches d'âge. Ces infections sont une cause importante morbidités et de mortalités dans le monde. D'après les données de l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS), les infections respiratoires font partie des 5 principales causes de mortalité : elles ont été à l'origine de 3 millions de décès en 2016 (1).

De nombreuses étiologies virales sont décrites dans la littérature comme responsables de ces infections. Parmi ces virus, il y a ceux dits « classiques » mis en évidence au cours du 20^{ème} siècle : Influenzae A et B, Virus Parainfluenzae, Virus respiratoire syncytial (VRS), Adénovirus, Rhinovirus, Coronavirus OC43 et 229E. Des virus dits « nouveaux » ont été identifiés plus récemment comme le Méta-pneumovirus humain, le Bocavirus (2005), les Coronavirus responsables du Severe Acute Respiratory Syndrome (SARS) (2003) et du Middle East Respiratory Syndrome (MERS) (2012), les souches NL63, HKU 1.

Les symptômes observés lors de ces infections sont variés et non spécifiques. Le diagnostic étiologique ne peut être réalisé sur la symptomatologie du patient uniquement. Cette problématique a nécessité le développement de nouveaux outils, notamment la biologie moléculaire qui facilite grandement le diagnostic.

L'essor de la biologie moléculaire a permis de développer des techniques d'amplification dites Multiplex permettant de détecter plusieurs micro-organismes lors d'une seule manipulation. Ces approches Multiplex sont syndromiques permettant de cibler principalement les agents viraux responsables d'infections respiratoires aiguës.

Les Coronavirus ont été mis en évidence pour la première fois en 1968 en microscopie électronique (2). Une dizaine d'années plus tard, les génomes ont été décrits (3,4). Les Coronavirus n'ont été par la suite que très peu étudiés. Il y a eu un regain d'intérêt pour les Coronavirus lors de l'épidémie de SARS en 2002 (5). De nouvelles souches de coronavirus ont été mises en évidence depuis NL63 et HKU1 (6,7) ainsi que le MERS-coronavirus responsable d'une nouvelle épidémie apparue en 2012 en Arabie Saoudite (8). Une dernière souche est apparue en décembre 2019 et a finalement été identifiée comme étant le SARS-CoV 2 responsable de la pandémie actuelle.

De nombreuses études ont décrit les infections à Coronavirus dans la population générale mais il existe peu d'études évaluant leur impact chez les patients de réanimation et de soins intensifs.

Au CHU de Toulouse, la réalisation quotidienne de la technique d'amplification Multiplex au sein du laboratoire de Virologie permet de mettre évidence les différentes souches de Coronavirus saisonniers ainsi qu'un grand nombre d'agents pathogènes responsables d'infections respiratoires. Nous avons donc pu évaluer l'impact des Coronavirus par rapport à d'autres virus mais également identifier les infections dont ils sont à l'origine chez les patients admis au CHU de Toulouse.

C'est pourquoi, dans ce travail, nous commencerons par faire un état des lieux des connaissances sur les différents Coronavirus humains. Puis, nous présenterons les résultats de notre étude rétrospective sur les infections causées par les Coronavirus entre le 1^{er} janvier 2012 et le 31 mai 2018.

Les objectifs de notre étude sont :

- D'évaluer la place des Coronavirus parmi les virus à tropisme respiratoire
- De décrire les infections provoquées par ces virus
- D'étudier l'impact des Coronavirus saisonniers chez les patients admis en service de réanimation ou de soins intensifs

I. Généralités

1) Découverte des Coronavirus

L'histoire des Coronavirus débute dans les années 1960. Leur découverte est le résultat du travail simultané de plusieurs équipes de recherche. Dans un premier temps, le Coronavirus a été mis en évidence par des techniques de culture cellulaire sur des cellules trachéales humaines par Tyrell et Bynoe (9).

Pour démontrer le pouvoir pathogène de ce nouveau virus, les milieux de culture ont ensuite été inoculés par voie intranasale chez des volontaires sains, provoquant l'apparition de symptômes respiratoires. Au même moment, une équipe dirigée par Hamre and Procknow (10) a réussi à cultiver le virus en mettant en évidence des propriétés inhabituelles (sensibilité à l'éther) concernant le virus qu'ils nommeront 229E. En parallèle une troisième équipe met en évidence un virus aux propriétés similaires (11) isolé depuis des prélèvements respiratoires. La dénomination « OC » pour « Organ culture » a été attribuée à ce virus du fait qu'il ait été cultivé sur des organes.

En 1967, une équipe de recherche menée par Almeida et Tyrrell réussit à observer le B814 et le 229E en microscopie électronique (2). Les deux virus avaient une structure similaire avec des particules de 80 à 150 nm, pléomorphes et ayant une forme de couronne. Ce nouveau groupe de virus a alors été nommé « Coronavirus ». Depuis, de nombreuses souches de Coronavirus plus ou moins virulentes ont été découvertes : SARS, NL63, HKU1, MERS et plus récemment le SARS-CoV 2 responsable de la pandémie mondiale actuellement en cours (12).

2) Taxonomie et classification

Les Coronavirus appartiennent à l'ordre des *Nidovirales*, virus à ARN simple brin positif non segmenté dans la famille des *Coronaviridae* et dans la sous-famille des *Orthocoronavirinae* (Figure 1) (13,14).

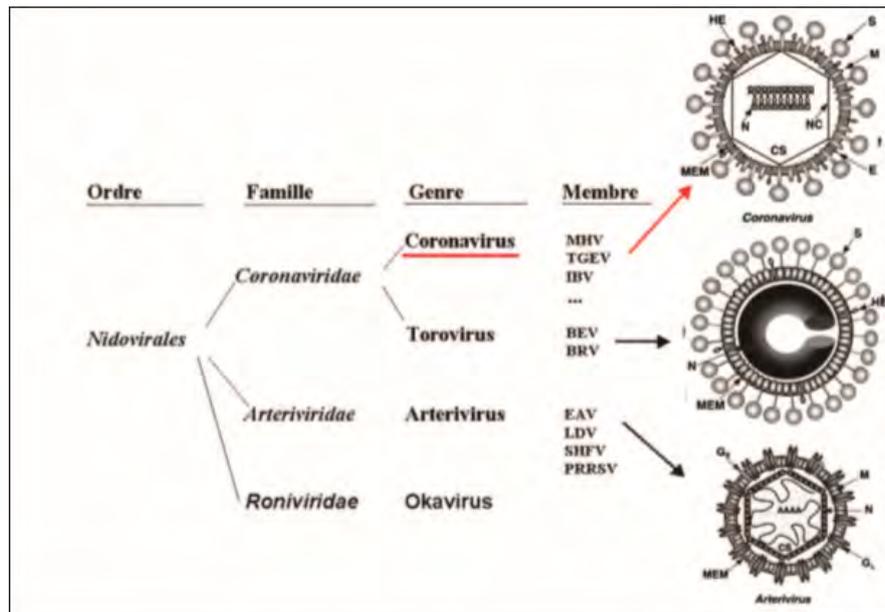


Figure 1 : Taxonomie des coronavirus (13)

Au sein des Coronavirus, il existe également une classification. Les virus sont classés en 4 groupes en fonction de leurs structures, de leurs génomes et de leurs protéines d'attachements : *Alphacoronavirus*, *Betacoronavirus*, *Deltacoronavirus*, *Gammacoronavirus*. Cette classification a été proposée par l'ICTV (International Committee on Taxonomy of Viruses) (14) après que différentes études phylogénétiques aient montré les limites de l'ancienne classification basée sur les antigènes viraux (Tableau 1).

Tableau 1 : Les différents groupes de Coronavirus humains (14–17)

Groupe	Espèce	Récepteur
Alphacoronavirus	Human coronavirus 229E	Aminopeptidase N
	Human coronavirus NL63	ACE 2
Betacoronavirus		
Sous-groupe A	Human coronavirus OC43	Neu 5,9 Ac 2
	Human coronavirus HKU1	Neu 5,9 Ac 2
Sous-groupe B	Human SARS-CoV	ACE 2
	Human SARS-CoV 2	ACE 2
Sous-groupe C	MERS-CoV	DDP4

I. Structure et organisation du virus

1) Morphologie du virus

Les Coronavirus humains (HCoVs), sont des virus pléomorphes. Les virions ont une forme sphérique avec un diamètre compris entre 60 et 220 nm. En microscopie électronique, ils ont une forme de couronne (Figure 2), raison pour laquelle ils ont été nommés Coronavirus (*corona* signifiant couronne en latin). La morphologie des virions avec un aspect de couronne est la même pour tous les HCoVs quel que soit le groupe ou la souche (15,16).

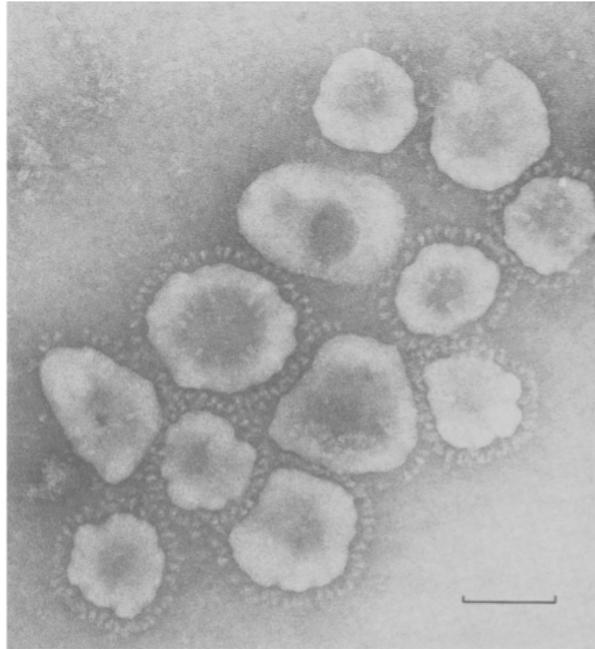


Figure 2 : Coronavirus de la bronchite aviaire (IBV) en microscopie électronique (15)

Les HCoVs sont des virus enveloppés. Toutes les différentes souches sont constituées des mêmes protéines (Figure 3) :

- _ la protéine S (ou *Spike*) ancrée dans la membrane qui forme des projections d'environ 20 nm à la surface du virus ; c'est cette protéine qui donne un aspect de couronne au virus (17).
- _ la protéine membranaire M
- _ la protéine E constituant l'enveloppe

Il existe une autre protéine structurale seulement chez les Betacoronavirus du sous-groupe A. Il s'agit d'une hémagglutinine estérase (HE) dont le rôle n'est pas encore clairement défini.

Les HCoVs possèdent également une capsid de symétrie hélicoïdale constituée de la protéine N à laquelle l'ARN génomique est lié (16–18).

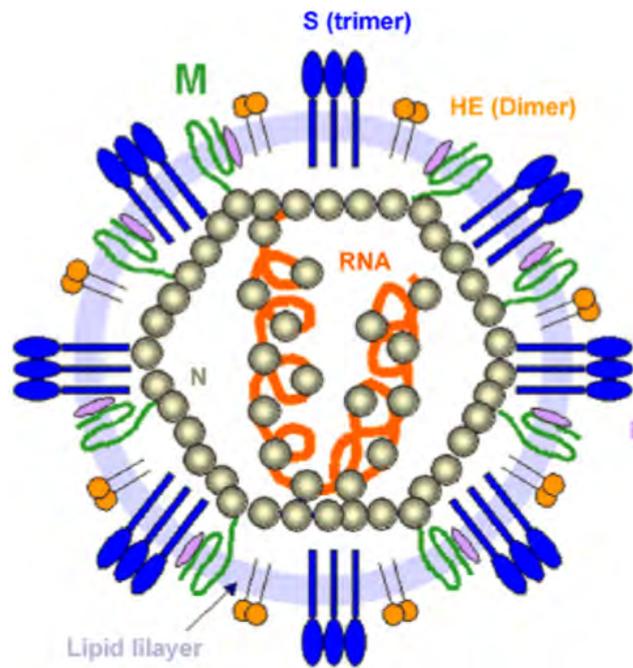


Figure 3 : Structure des Coronavirus (16)

2) Organisation génomique

Les HCoVs sont des virus à ARN simple brin de polarité positive. La taille du génome est d'environ 30 kb. C'est le plus grand génome connu parmi les virus à ARN. Le génome est complexé avec la protéine N formant la capsidie hélicoïdale (18,19).

L'ARN des HCoVs est très complexe avec une organisation polycistronique. Il code 5 protéines structurales pour les bêta-HCoVs du sous-groupe A et 4 pour tous les autres groupes. Le génome et son organisation sont très conservés au sein des différentes souches de HCoVs. Les gènes codant les protéines non structurales (nsps) occupent la plus grande partie du génome, environ 20 kb. Ces protéines sont codées dans deux cadres de lecture chevauchants ORF 1a et ORF 1b qui sont traduits en polypeptides pp1a et pp1ab grâce à un changement de cadre de lecture impliquant un pseudo-nœud (18).

Les pseudo-nœuds sont des structures secondaires de l'ARN. C'est une structure composée *a minima* de 2 segments hélicoïdaux reliés par des régions simple brin ou boucles (20). Il existe plusieurs schémas pour les pseudo-nœuds, mais le mieux caractérisé est le type H (Figure 4). Dans ce type de pseudo-nœud, les acides nucléiques dans la boucle en épingle à cheveux forment des ponts avec les acides nucléiques situés hors de la boucle. Cela aboutit à la formation d'un pseudo-nœud avec deux tiges et deux boucles (20).

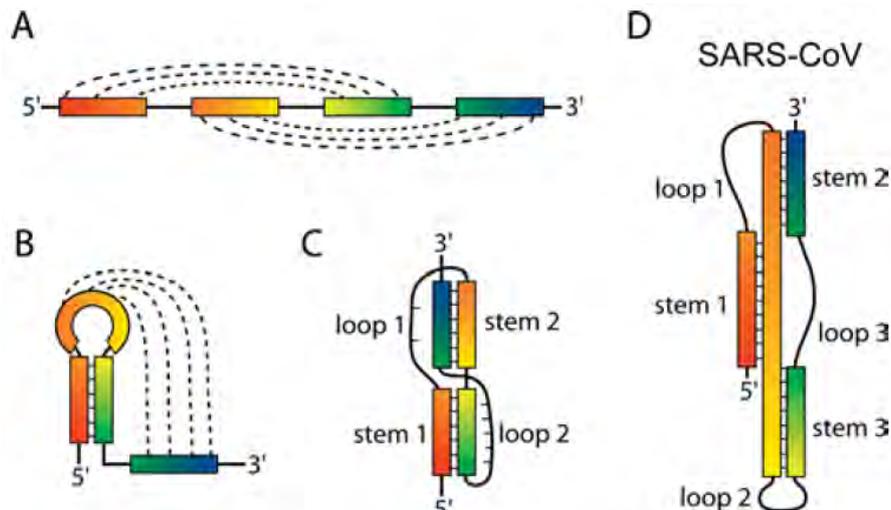


Figure 4 : Principe du pseudonœud au sein de l'ARN (20)

Les pseudo-nœuds, peuvent jouer divers rôles comme la formation d'introns auto-épissables ou modifier le cadre de lecture chez les coronavirus (20,21).

Les 10 kb situés à l'extrémité 3' codent les protéines structurales et accessoires. Les protéines structurales sont toujours positionnées dans le même ordre : (HE) – S – M – N (21) (Figure 5).

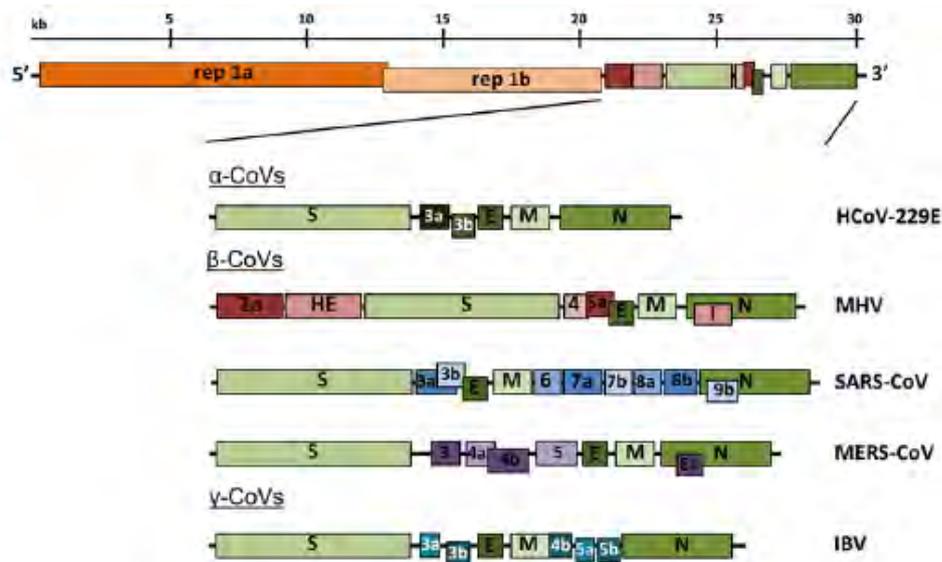


Figure 5 : Organisation génomique des HCoVs (21)

3) Le cycle viral et les protéines impliquées

Toutes les étapes du cycle viral n'ont pas encore été caractérisées. Cependant, les principales ont été décrites dans la littérature, ce qui permet une meilleure compréhension du virus et de son fonctionnement.

a) Les protéines structurales

❖ La protéine S

La protéine S est la protéine de surface des coronavirus. C'est une protéine transmembranaire de type 1 constituée d'en moyenne 1300 acides aminés pour un poids d'environ 150 kDa (22). La protéine peut être décrite en trois parties : un domaine extracellulaire, un passage transmembranaire et une queue intracellulaire (23) (Figure 6). Elle a une structure homotrimérique constituée de deux sous-unités S1 et S2. La sous-unité S1 permet de reconnaître le récepteur cible. La sous-unité S2 joue un rôle dans la fusion membranaire. La protéine S est essentielle dans la pénétration du virus dans la cellule. Elle détermine également le tropisme cellulaire du virus ainsi que les hôtes susceptibles d'être infectés (23).

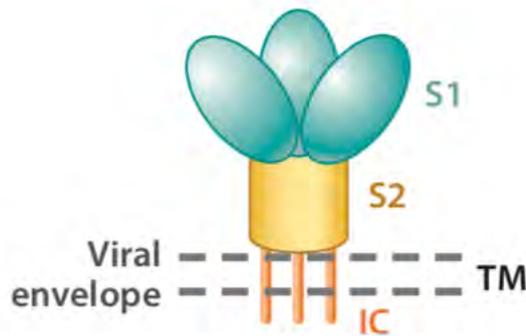


Figure 6 : Structure de la protéine S (23)

❖ La protéine M

Il s'agit de la protéine la plus abondamment retrouvée au sein du virus. Il s'agit d'une petite protéine d'environ 25 à 30 kDa possédant trois domaines transmembranaires. Elle possède un ectodomaine glycosylé constitué de la partie N-terminal et un endodomaine très long où se trouve la partie C-terminale de la protéine.

La partie C-terminale est constituée de 2 parties : un domaine amphipathique associé à la membrane et un domaine hydrophobe à l'extrémité C-terminale. C'est cette la protéine M donne au virion sa forme. La structure générale de la protéine M est très conservée parmi les coronavirus malgré une homologie de séquence inférieure à 30 % (24).

Enfin une étude de 2011 suggère que la protéine M peut adopter différentes conformations afin de donner au virion sa forme et de lier la protéine N.

❖ La protéine E

La protéine E est présente en faible quantité. C'est une petite protéine de 8 à 12 kDa ayant une activité de canal ionique. Elle possède un ectodomaine N-terminal, un passage transmembranaire et une extrémité C-terminale qui constitue la majorité de la protéine. Elle joue un rôle dans l'assemblage et la sécrétion des virions nouvellement formés dans la cellule hôte (21).

❖ La protéine N

La protéine N est la seule protéine qui ne fait pas partie de la membrane virale. Elle constitue la nucléocapside à laquelle est liée l'ARN viral. Elle possède deux domaines distincts : N-terminal (NTD) et C-terminal (CTD) (25). Ces deux domaines sont capables de lier l'ARN viral. Elle est également capable de lier la protéine M. Enfin c'est une protéine très phosphorylée suggérant que cette phosphorylation joue un rôle dans la liaison à l'ARN viral (21).

❖ La protéine HE

La protéine HE n'est retrouvée que dans le groupe des bêta-coronavirus. C'est une hémagglutinine estérase. Elle a la capacité de lier les acides sialiques et possède également une activité acyle-estérase (21). Elle aurait pour rôle de faciliter l'entrée du virus *via* la protéine S. Cependant son rôle et son fonctionnement ne sont pas clairement établis.

b) Les protéines accessoires

Outre les protéines structurales, le génome viral code 16 nsps (Tableau 2). Ces protéines jouent un rôle dans la réplication du virus une fois la cellule hôte infectée. Le rôle de toutes ces nsps n'est pas encore totalement défini.

Tableau 2 : Fonction des protéines non-structurales des Coronavirus (17)

Protéine	Fonction
nsp1	Favorise la dégradation des ARNm cellulaires, bloque la traduction et la réponse immunitaire innée
nsp2	Fonction inconnue
nsp3	Protéine transmembranaire ayant plusieurs fonctions : <ul style="list-style-type: none">- Ubiquitin-like, Interagit avec la protéine N- ADP-ribose-1'-phosphatase, favorise l'expression des cytokines- Papain-like protéase, clive la polyprotéine virale et participe au blocage de la réponse immunitaire innée
nsp4	Protéine transmembranaire, importante pour la structure des vésicules
nsp5	Protéase, clive la polyprotéine virale
nsp6	Protéine transmembranaire
nsp7	Forme un complexe hexadécamérique avec nsp8, peut agir comme une pince de processivité pour l'ARN polymérase
nsp8	Forme un complexe hexadécamérique avec nsp8, peut agir comme une pince de processivité pour l'ARN polymérase, peut agir comme une primase

nsp9	Protéine de liaison à l'ARN
nsp10	Cofacteur pour nsp16 et nsp14, forme un hétérodimère avec les deux et stimule l'activité exonucléasique et 2-O-Méthyl transférase
nsp12	ARN polymérase ARN dépendante
nsp13	Hélicase, 5' triphosphatase
nsp14	Méthyl tranférase et Exoribonucléase 3'-5' La méthyltransférase ajoute la coiffe en 5' sur les ARN viraux L'activité exonucléasique est importante pour la relecture du génome
nsp15	Endoribonucléase virale
nsp16	2'-O-Méthyltransférase; protège l'ARN viral de MDA5 (protéine capable de repérer les ARNs viraux)

MDA5 : melanoma differentiation protein 5

c) Le cycle viral

❖ Attachement

La première étape du cycle consiste en la liaison de la protéine S à son récepteur qui diffère selon le virus (Tableau 1). Comme décrit dans le paragraphe 3, la sous-unité S1 a pour rôle l'attachement du virus à la cellule cible et détermine de ce fait le tropisme cellulaire du virus ainsi que les hôtes susceptibles d'être infectés. Elle est également la cible de la réponse immunitaire entraînant la synthèse d'anticorps neutralisants (16). La sous unité S2 est impliquée dans la fusion membranaire permettant l'entrée du génome viral dans la cellule cible.

La sous-unité S1 est constituée de deux domaines (Figure 7), le domaine N-terminal (S1-NTD) et le domaine C-terminal (S1-CTD). S1-NTD se lie aux glucides. Ce domaine se trouve directement en contact avec la sous-unité S2 et permet son maintien structural. Le domaine S1-CTD se lie aux récepteurs tels que APN, ACE2 ou DPP4 et se situe quant à lui au niveau de l'extrémité supérieure de l'ectodomaine (23).

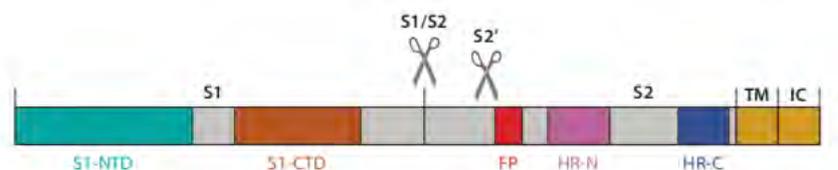


Figure 7 : Représentation schématique des différents domaines de la protéine S (23)

❖ Fusion

La protéine S, avant liaison avec son récepteur possède une structure dite de « pré-fusion ». Une fois la liaison faite, elle va subir un changement conformationnel afin de former une nouvelle structure « post-fusion » permettant ainsi l'entrée du virus dans la cellule.

Dans la conformation pré-fusion, le domaine HR-N forme plusieurs hélices et s'organise le long de l'axe central de la protéine. Le peptide de fusion est un peptide interne au virus situé au niveau N-terminal de la sous unité S2, formant une hélice et une boucle. Enfin il existe deux domaines protéolytiques très importants pour la modification conformationnelle de la protéine S. Le premier se situe au niveau de la liaison entre S1 et S2 et le second, S2', au niveau N-terminal du peptide de fusion.

Tous les mécanismes concernant la fusion membranaire n'ont pas encore été élucidés. Cependant, en étudiant le SARS et le MERS notamment, certaines étapes clés ont pu être décrites. Pour initier la fusion, l'action de la protéase sur les sites protéolytiques doit avoir eu lieu. Cette action peut se réaliser à différents moments : au moment de la synthèse de nouveaux virions par une proprotéine convertase, par des protéases extracellulaires, par des protéases de surface ou par des protéases lysosomales lors de l'endocytose.

La fixation du virus à son récepteur déclenche l'endocytose. Dans un deuxième temps, les protéases lysosomales vont agir au niveau des deux sites protéolytiques. L'action sur le site au niveau de la liaison S1/S2 supprime la contrainte conformationnelle de S1 sur S2 tandis que l'action au niveau du site S2' libère le peptide de fusion interne. Lors du changement conformationnel, S1 et S2 se dissocient, cette dernière prend une forme d'haltère. Cette modification permet l'exposition de trois peptides de fusion qui vont se fixer sur la membrane cible ([Figure 8](#)).

Une fois le peptide de fusion fixé, la fusion membranaire permet l'entrée de l'ARN viral dans la cellule. Toutefois il n'est pas encore établi de manière certaine que la fixation du virus à son récepteur soit un élément déclencheur de la fusion membranaire.

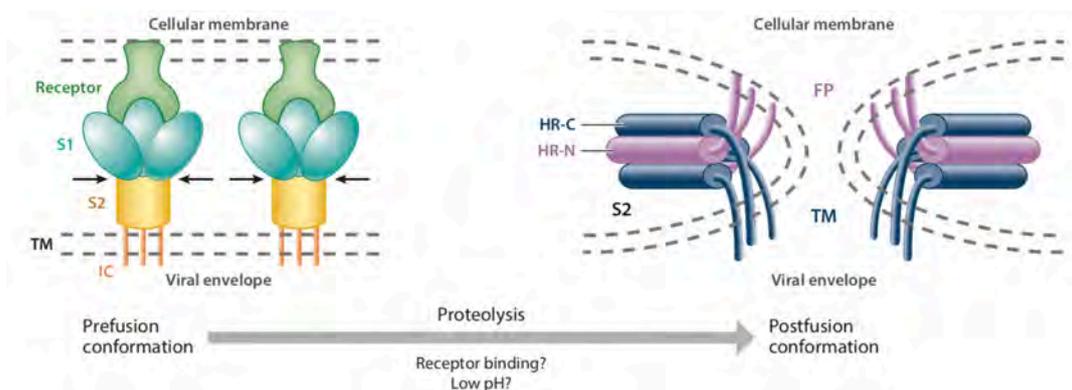


Figure 8 : Représentation schématique de la fusion membranaire (23)

❖ Réplication et transcription

Une fois le génome viral dans la cellule, il est traduit en protéine. La traduction débute à l'extrémité 5' proximale au niveau des cadres de lecture ORF1a et ORF1b. Cette traduction aboutit à la synthèse de deux polyprotéines (ou réplisases) pp1a et pp1ab. La polyprotéine pp1ab est une forme plus longue au niveau C-terminal de la pp1a. Elle est obtenue par un décalage du cadre de lecture à l'extrémité 3' d'ORF1a via un pseudo-noeud comme décrit dans le paragraphe 2.

Ce décalage du cadre de lecture est un mécanisme de régulation permettant de diminuer l'expression des protéines codées par ORF1b par rapport à ORF1a codant les protéines non structurales (26). Il existe plusieurs hypothèses concernant ce système de contrôle de l'expression des protéines : contrôler de manière précise le ratio de rep1a et rep1b, retarder la synthèse de rep1b jusqu'à ce que rep1a fournisse un environnement adéquat pour la réplication de l'ARN. Cependant, aucune des hypothèses n'a été encore démontrée.

La polyprotéine pp1a contient les nsps 1 à 11 et pp1b contient les nsps 11-16. Ces protéines sont obtenues par un clivage protéolytique *via* des protéases (27). Deux protéases sont issues de nsp3, PL1^{pro} et PL2^{pro} (sauf pour le SARS et le MERS qui n'en ont qu'une). Ces dernières agissent au niveau de trois sites de clivage bien précis. Une dernière protéase, 3CL^{pro}, est issue de nsp5. Elle agit au niveau des onze autres sites de clivage aboutissant à la formation de 16 protéines non structurales.

Les nsps 1-16 semblent posséder divers rôles qui sont résumés dans le Tableau 2. On peut prendre pour exemple nsp12 qui code l'ARN polymérase ARN dépendante, nsp 13 pour l'hélicase ou encore nsp15 qui code pour l'endoribonucléase. Les nsps permettent de créer l'environnement idéal afin que la réplication virale puisse avoir lieu. Ces nsps vont s'assembler pour former un complexe de réplication et de transcription associé à la membrane (RTC) (28) permettant la synthèse d'ARN viral et d'ARN subgénomique (sgARN). Ce dernier va permettre de produire les protéines de structures des Coronavirus (HE)-S-M-N-E.

❖ Assemblage et libération

Une fois la synthèse de l'ARN viral et de sgARN réalisée, le virus débute la dernière étape du cycle. Les protéines de structures S, E et M sont traduites à partir de sgARN et sont insérées dans le réticulum endoplasmique (ER). Elles passent ensuite dans le compartiment intermédiaire / appareil de Golgi. A ce niveau, la protéine N ayant lié le génome viral formant la capsid bourgeoise au niveau du compartiment intermédiaire pour former des virions (21).

La protéine M joue un rôle majeur dans la formation de l'enveloppe. Cependant, elle requiert l'intervention de la protéine E dont le rôle n'est pas défini pour permettre la formation de l'enveloppe. Une étude suggère que la protéine E serait impliquée dans la courbure de la membrane (29). Une autre étude tend à démontrer qu'elle empêche l'agrégation de la protéine M (30). La protéine M se lie à la protéine N permettant la formation du virion.

La protéine de surface S est intégrée en dernier et n'est donc pas nécessaire pour l'assemblage (21). Selon les Coronavirus la protéine S peut ne pas être intégrée au virion dans le compartiment intermédiaire, mais se retrouver au niveau de la membrane cellulaire. A ce niveau, elle permet la liaison et la fusion avec les cellules adjacentes non infectées permettant la circulation du virus sans qu'il puisse être neutralisé par d'éventuels anticorps neutralisants. Enfin, une fois l'assemblage terminé, le virus est libéré par exocytose.

II. Les différentes souches de Coronavirus épidémiques

Il existe de nombreuses souches de Coronavirus identifiées. Ces souches sont classées en 4 groupes comme nous l'avons évoqué précédemment : Alpha, Bêta, Gamma et Delta. Le groupe Bêta est divisé en 4 sous-groupes A, B, C et D. Cette classification, réalisée par l'ICTV (14) est basée sur l'étude phylogénétique des virus (Figure 9).

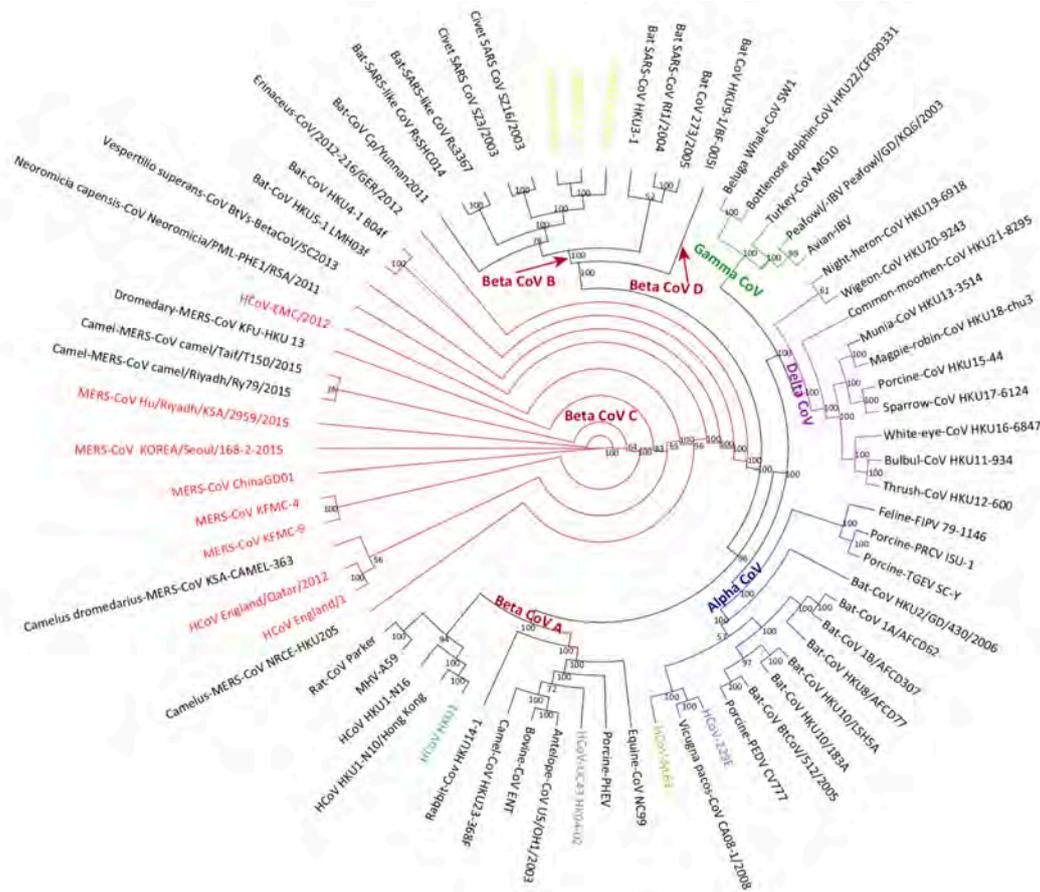


Figure 9 : Arbre phylogénétique des Coronavirus (31)

Sur cet arbre phylogénétique ne figure pas le SARS-CoV 2 qui a été découvert en janvier 2020. Il a été classé par l'ICTV dans les Bêta-Coronavirus du sous-groupe B (14).

Les Coronavirus infectent à la fois les animaux et les Hommes. Chez les animaux on peut citer le virus de la bronchite infectieuse (IBV) responsable d'infections chez les poulets (32). On peut également évoquer le virus respiratoire canin (CRCoV), responsable de pathologie respiratoire chez les chiens

(33), ou encore le virus de l'hépatite des souris (MHV) qui peut causer progressivement une encéphalite démyélinisante (34).

Parmi ces nombreux virus, seuls sept sont capables d'infecter l'Homme : 229E, OC43, NL63, HKU1, SARS, MERS et nouvellement le SARS-CoV 2.

1) Les coronavirus « saisonniers »

❖ Épidémiologie

Les HCoV « saisonniers » sont au nombre de quatre : 229E, OC43, NL63 et HKU1. Ces virus ont une distribution globale dans le monde : ils ont été décrits sur tous les continents indépendamment de la situation économique et sociale (Figure 10). Ils sont responsables d'infections respiratoires hautes et basses le plus souvent hivernales. La période d'incubation varie de 2 à 5 jours (31).

Selon les différentes études, les HcoVs sont responsables de 4 à 10 % des infections respiratoires (35–39). Les infections à HCoVs surviennent tout au long de l'année. Néanmoins, elles suivent une tendance saisonnière avec un pic d'infections survenant en hiver. Dans les pays tempérés de l'hémisphère Nord, la saison des HCoVs semble suivre celle de la grippe avec cependant un pic plus tardif en février (36,39).

D'après les différentes études, les souches co-circulent sans pour autant qu'il existe une prédominance d'une souche par rapport à une autre. Cependant il a été montré qu'il existe des différences inter-saisonnières dans les fréquences de détection des souches (36).

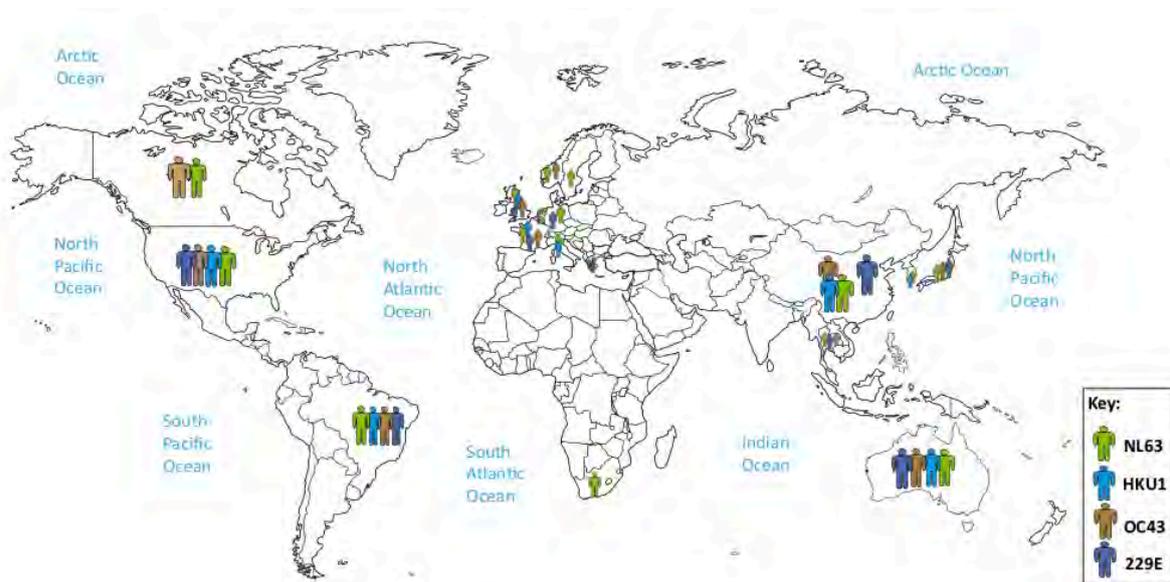


Figure 10 : Distribution mondiale des Coronavirus (31)

2) Les virus épidémiques

❖ Le SARS- CoV (2002 / 2003)

Le SARS-CoV est un Bêta-coronavirus du sous-groupe B. Il a été responsable de la première épidémie à Coronavirus du 21^{ème} siècle. L'épidémie a débuté dans la province Guangdong en Chine (5).

La période d'incubation du virus varie entre 2 et 11 jours. Le temps médian jusqu'au décès est de 23 jours (31).

Les symptômes décrits sont très variables. Les plus fréquents sont : fièvre, myalgie, toux sèche, dyspnée et malaise. D'autres symptômes comme les maux de tête, frissons, tachycardie, tachypnée ou encore diarrhée ont été décrits. Dans les cas les plus graves, on observait un syndrome de détresse respiratoire aiguë avec une défaillance multi-viscérale et un sepsis conduisant au décès (5).

Ces symptômes restent aspécifiques et ne permettent pas d'établir un diagnostic de certitude concernant le SARS. Le diagnostic de certitude est établi par biologie moléculaire avec une technique de Reverse Transcriptase- Polymerase Chain Reaction (RT-PCR) (5).

Il a également été démontré que l'imagerie pouvait être une aide au diagnostic. En effet 67 % des patients avait une imagerie thoracique anormale. On observe le plus souvent une opacification en verre dépoli ou des consolidations des zones périphériques, sous-pleurales et inférieures des poumons (5).

D'après les données de l'OMS, l'épidémie s'est propagée dans 29 pays / régions causant 8096 cas et 774 décès générant un taux de létalité de 9,6 %.

La chauve-souris a été identifiée comme le réservoir du virus deux ans plus tard (40,41) tandis que la civette a probablement servi d'hôte intermédiaire. La transmission du virus entre les deux espèces a probablement eu lieu au sein des marchés d'animaux vivants qui sont très fréquents en Chine.

Tableau 3 : Chronologie de l'épidémie de SARS-CoV en 2002 / 2003 (5)

Date	Évènements importants
Novembre 2002	Apparition d'une pneumopathie atypique dans la province du Guangdong
Janvier 2003	Apparition d'une épidémie de pneumopathie dans la province du Guangdong
11 Février 2003	L'Organisation Mondiale de la Santé (OMS) reçoit un rapport faisant état d'une épidémie avec 305 cas et 5 morts
21 Février 2003	Un médecin de 65 ans provenant de la province du Guangdong s'enregistre dans un hôtel de Hong-Kong. Il était malade depuis le 15 Février et son état s'aggrave entraînant son hospitalisation le 22 Février. Il a contaminé au moins 17 personnes dans l'hôtel en partance pour différentes destinations (Vietnam, Singapour et Toronto)

26 Février	Un patient contact de l'hôtel est admis dans un hôpital de Hanoï (Vietnam) où il sera le point de départ de l'épidémie, 7 membres du personnel soignant sont infectés.
4 Mars 2003	Un patient contact de l'hôtel est hospitalisé à Hong-Kong
12 Mars 2003	L'OMS lance une alerte mondiale
14 Mars 2003	Des foyers épidémiques sont signalés à Singapour et Toronto
21 - 27 Mars 2003	Identification d'un nouveau coronavirus chez les patients atteints
16 Avril 2003	L'OMS annonce que le SARS-CoV est l'agent étiologique de l'épidémie
Juillet 2003	L'OMS annonce la fin de l'épidémie de SARS-CoV

❖ Le MERS-CoV

Le MERS-CoV est un bêta-coronavirus du sous-groupe C, il a été responsable d'une épidémie en 2012. L'épidémie a débuté en Arabie saoudite avant de se propager dans le monde.

Les symptômes du MERS sont très proches de ceux du SARS avec fièvre, toux, maux de tête, myalgies et dyspnée pouvant évoluer vers une pneumopathie à laquelle se surajoute fréquemment une insuffisance rénale aigüe. Dans les cas les plus graves on observe un syndrome de détresse respiratoire aigüe associé à une insuffisance rénale conduisant au décès. Le temps d'incubation du virus est de 2 à 13 jours avec une médiane à 5 jours. Le temps médian jusqu'au décès est en moyenne de 12 à 14 jours selon les études (31,42).

Le virus a été isolé pour la première fois dans les poumons d'un patient de 60 ans. Il a été admis à l'hôpital 7 jours après l'apparition de la symptomatologie (fièvre, toux, essoufflement). A l'imagerie des opacités au niveau pulmonaire ont été observées, ce qui a conduit à l'initiation d'une polychimiothérapie anti-infectieuse associant oseltamivir, levofloxacine, pipéracilline-tazobactam, et de micafungine. L'état du patient a continué de se dégrader nécessitant une intubation et un transfert en réanimation. Le patient est finalement mort 11 jours après son admission d'insuffisances respiratoire et rénale (8).

Afin d'identifier l'agent responsable, des expectorations du patient ont été traitées et inoculées à des cellules Vero et LLC-MK2. Les cellules ont été observées régulièrement afin de mettre en évidence un éventuel effet cytopathique. Divers tests d'immunofluorescence indirecte dirigés contre la grippe, le VRS, l'adénovirus ont été réalisés sur ces cellules après observation d'un effet cytopathique mais sont tous revenus négatifs (8).

Finalement c'est en utilisant la biologie moléculaire que le virus a été identifié. Une PCR spécifique à la famille des Coronavirus ciblant une séquence conservée (ORF1b) a permis son identification. Le génome a ensuite été séquencé.

Au 13 octobre 2020, le bilan concernant le MERS s'élève à 2562 cas confirmés pour 881 décès établissant le taux de létalité à 34,4 % (43). Ces données font du MERS un des virus les plus dangereux pour l'Homme. Les derniers cas rapportés ont tous été décrits en Arabie Saoudite.

L'origine exacte du MERS reste à ce jour inconnue, la chauve-souris a été suspectée comme réservoir, mais le virus n'a jamais été isolé chez cet animal. Aujourd'hui, le principal réservoir connu est le dromadaire. Une étude menée à Oman en 2013 sur des dromadaires a démontré que 100 % d'entre eux avaient des anticorps dirigés contre le MERS (44). De plus, des études sérologiques sur des sérums de dromadaires datant de 2003 ont mis en évidence des anticorps dirigés contre le MERS. De nombreuses études ont également démontré l'existence de ces anticorps chez les dromadaires d'Afrique de l'Ouest, du Nord et de l'Est (d'où ils sont principalement exportés vers la péninsule arabique) suggérant que le MERS circule sein de l'espèce depuis des années et dans plusieurs régions du monde.

Enfin, concernant la transmission de l'animal à l'Homme elle ne semble pas évidente même en cas d'exposition directe et rapprochée avec l'animal infecté (45). Une étude suggère la possibilité d'une transmission indirecte *via* la consommation de lait non pasteurisé provenant de dromadaire infecté (46).

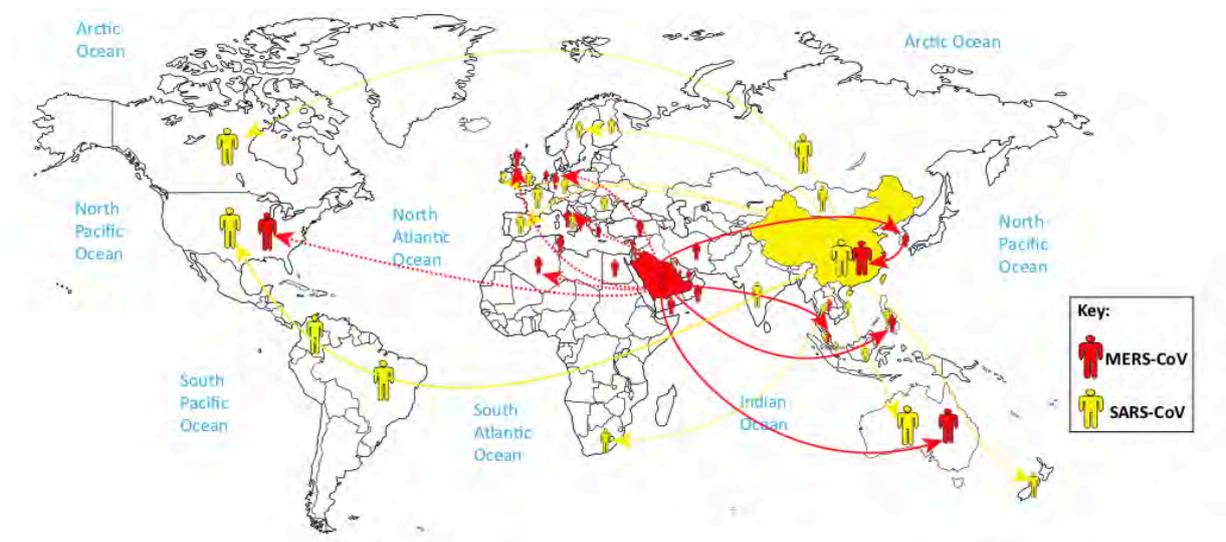


Figure 11 : Distribution globale du SARS et du MERS (31)

Concernant l'origine du virus, elle est pour l'instant inconnue. Les chauve-souris sont un réservoir connu des Coronavirus mais aucune étude n'a démontré avec certitude l'origine du virus. Le pangolin a été évoqué comme hôte intermédiaire mais cela n'a pas encore été démontré. Enfin l'analyse du génome a révélé plusieurs faits :

- 88 % d'homologie de séquence avec des virus SARS-like de la chauve-souris (49) tendant à confirmer qu'il s'agit du réservoir
- 79 % d'homologie avec le SARS responsable de l'épidémie de 2003 (49)
- 50 % d'homologie avec le MERS (49)

Il a également été démontré que le SARS-CoV 2 appartient au groupe des Bêta-coronavirus et plus précisément au sous-groupe B dans lequel est également retrouvé le SARS. Les deux virus utilisent la même protéine d'entrée ACE 2 (50).

Des théories douteuses, concernant l'origine du SARS-CoV 2 sont apparues sur internet même parmi la communauté scientifique. L'une d'elles évoque la possibilité d'une origine « synthétique » après manipulation humaine. Or, il a été démontré que le virus et surtout son génome n'a pas subi de modification intentionnelle ; son apparition n'est donc pas le fait de manipulation humaine (51).

La transmission du virus peut se faire *via* contact direct avec les muqueuses ou *via* les gouttelettes de Pflügge (52). Il peut également se faire par contact indirect avec des surfaces contaminées. En effet il a été démontré que le virus pouvait être viable près plusieurs jours (53). En ce qui concerne la contagiosité, le R_0 (= Reproductive number, nombre moyen de personnes contaminées par un patient infecté) du virus a été évalué à 3,28 avec une médiane à 2,79 au cours d'une étude (54).

Cependant aujourd'hui, selon le dernier point épidémiologique de Santé publique France du 08/10/2020 le taux de reproduction effectif en France est estimé à 1,07.

La période d'incubation est de 5 à 8 jours selon les données de la littérature (12). Après cette période d'incubation, divers symptômes ont été observés chez les patients infectés tels que fièvre, toux, dyspnée, asthénie, expectoration, maux de tête, diarrhée ou lymphopénie (12,55). L'agueusie et l'anosmie ont également été rapporté comme des symptômes de l'infection à Coronavirus. Chez une grande majorité des patients, l'infection est bénigne et spontanément résolutive. Cependant pour les patients les plus fragiles une atteinte plus grave a été décrite avec détresse respiratoire sévère ou encore atteintes cardiaques (12,55,56). En effet, les patients contaminés par le SARS-CoV 2 semblent développer des embolies pulmonaires en plus des symptômes respiratoires (56).

A l'imagerie chez les patients malades, on peut observer des images similaires à celles d'une pneumonie, une infiltration interstitielle ou encore des opacités en verre dépoli (12,55,57). Une étude s'est intéressée à l'imagerie thoracique comme outil diagnostique du SARS-CoV 2 (57). Les résultats suggèrent que la radiographie thoracique est plus sensible que la RT-PCR (98 % vs 71 %). Ce résultat est peut-être entaché d'un biais lié au développement récent des techniques de PCR. Ces techniques n'étaient probablement pas optimisées au moment de cette étude. De plus, la qualité du prélèvement a un impact significatif sur le résultat. Le prélèvement naso-pharyngé doit être effectué de manière adéquate afin d'assurer un résultat fiable. Enfin, en période de forte épidémie, il peut s'avérer compliqué d'obtenir une imagerie pour tous les patients chez qui on suspecte une infection à SARS-CoV 2. Cependant l'imagerie peut s'avérer un outil intéressant dans le cadre du diagnostic notamment chez les patients ayant une clinique fortement évocatrice mais un résultat de biologie moléculaire négatif.

Depuis l'apparition de l'épidémie de nombreux facteurs de risque d'infection grave à SARS-CoV 2 ont été identifiés :

- L'un des premiers facteurs identifiés est l'âge. En effet, les patients âgés de 65 ans ou plus semblent plus sujets aux infections graves (58), les enfants quant à eux ont tendance à faire des formes modérées de la maladie (59).
- L'obésité ainsi que le diabète semblent également être des facteurs de risque de développer une forme grave (60,61).
- La bronchopneumopathie obstructive chronique (BPCO) ainsi que le tabagisme actif ou sevré sont des facteurs de risque (62) .
- La lymphopénie lors de la prise en charge d'un cas confirmé de SARS-CoV 2 peut également être un indicateur prédictif vers une évolution sévère de la maladie (63).

Enfin, concernant la prise en charge et le traitement des patients, il n'existe pour l'instant aucun véritable consensus. De nombreux traitements sont actuellement à l'essai mais aucun n'a démontré une efficacité significative dans le traitement du SARS-CoV 2. En Europe, l'essai Discovery auquel participe le CHU de Toulouse, a pour but d'évaluer 4 traitements : l'association lopinavir/ritonavir avec ou sans interféron bêta, le remdésivir développé contre Ebola et l'hydroxychloroquine.

Un débat important autour de l'hydroxychloroquine a lieu au sein de la communauté scientifique internationale. Les données de la littérature à ce sujet sont contradictoires. Parmi elles, celui issu de l'institut hospitalo-universitaire de Marseille qui affirme l'efficacité de la molécule malgré une méthodologie perfectible (64). D'autres articles restent plus prudents quant à l'efficacité du traitement (65–67). Aujourd'hui rien ne permet d'affirmer avec certitude que l'hydroxychloroquine est une molécule efficace dans la lutte contre le SARS-CoV 2.

Une équipe australienne a démontré l'efficacité *in vitro* de l'ivermectine (68). C'est un antiparasitaire utilisé dans le traitement de la gale. Il semblerait qu'il ait une activité *in vitro* sur le SARS-CoV 2. Des études *in vivo* sont néanmoins nécessaires pour confirmer ces résultats pour éventuellement l'utiliser comme traitement.

D'autres pistes pour le traitement du SARS-CoV 2 sont à l'étude. Chez les patients atteints des formes les plus graves de la maladie, il a été observé des taux de cytokines et notamment des taux d'Interleukine (IL) 6 significativement plus élevés (69). L'utilisation de Tocilizumab, un anticorps monoclonal humanisé dirigé contre les récepteurs de l'IL-6 pourrait constituer une possibilité dans la lutte contre le Coronavirus (70). Des essais cliniques sont indispensables afin de confirmer cette hypothèse.

Dans ce contexte, le protocole de prise en charge adopté au CHU de Toulouse pour les patients hospitalisés consiste en :

- **Isolement contact + gouttelettes** : à garder pendant toute l'hospitalisation quel que soit le résultat de la PCR
- **Si absence de critères d'infection bactérienne** (Fièvre > 38,0° et CRP > 80mg/L et/ou hyperleucocytose, signe de sepsis ou instabilité hémodynamique) : pas d'antibiothérapie
- **Traitement spécifique** : proposition de l'inclusion dans un essai clinique (Discovery, BioToul), hors essai clinique traitement par Remdesivir sur avis collégial

- **Traitement anticoagulant** : anticoagulation par Enoxaparine, Fondaparinux ou héparine calcique en fonction du contexte (IMC, fonction rénale). L'anticoagulation est proposée pour les patients présentant des facteurs de risque (cancer actif, antécédents de thrombose, âge > 70 ans, chirurgie récente, insuffisance cardiaque/respiratoire). Les patients oxygéno-requérants ou présentant un syndrome inflammatoire majeur peuvent être mis sous anticoagulant même en l'absence de facteurs de risque.

III. Pathogénèse virale

1) Physiopathologie

a) Transmission

Les HCoVs classiques ont été très peu étudiés à l'inverse du SARS CoV. Une partie des travaux réalisés sur ce dernier nous permettent de mieux comprendre les autres HCoVs. Ces virus peuvent se transmettre par contact direct avec les muqueuses (yeux, nez, bouche) via les gouttelettes de Pflügge (52). Il peut également y avoir une contamination indirecte *via* des surfaces ou des objets contaminés. Une étude a démontré que le SARS-CoV reste stable dans le milieu extérieur et est capable d'infecter un hôte pendant 6 à 9 jours (71).

Les périodes d'incubation comme évoquées plus haut varient de 2 à 5 jours pour les HCoVs classiques et de 2 à 13 jours le SARS et le MERS (31).

Les HCoV classiques peuvent être retrouvés au niveau naso-pharyngé jusqu'à 14 jours après l'infection (72). Le SARS-CoV peut être au niveau naso-pharyngé pendant plus de 30 jours, mais la période de contagiosité reste inconnue. En effet, aucune culture viable n'a pu être réalisée au-delà de 3 semaines post-infection (73).

b) Pathogénicité

Il n'existe à l'heure actuelle que très peu de données concernant les infections à HCoVs classiques. Une étude a été réalisée en 2001 sur des volontaires sains infectés par une souche de HCoV 229E démontrant que les patients infectés ont une perturbation de l'épithélium respiratoire avec une dyskinésie ciliaire altérant probablement la clairance muco-ciliaire. De plus, elle montre que ces altérations de l'épithélium respiratoire peuvent également survenir sans manifestation clinique (74).

La pathogénicité du SARS a fait l'objet de nombreuses études. Ces études semblent montrer que l'infection évolue en 3 phases en fonction de la durée de la maladie (75) :

- La première phase retrouvée chez la plupart des patients est une atteinte alvéolaire diffuse (DAD pour Diffuse Alveolar Damage) qui apparaît au cours des 10 premiers jours de la maladie (76). Le DAD était parfois associé à des œdèmes ainsi qu'à des hémorragies alvéolaires ayant pour conséquence une fibrino-formation dans les espaces alvéolaires (75). Au cours de cette première phase on peut également observer une nécrose alvéolaire entraînant une formation de membranes hyalines (76–78) et des cellules épithéliales bronchiques. On note durant cette phase une infiltration des cellules immunitaires (monocytes, macrophages, lymphocytes et polynucléaires neutrophiles) associée à une réaction inflammatoire (76,77).

- La deuxième phase de la maladie apparaît au-delà de 10 jours. Cette phase se caractérise par une prolifération du DAD avec une prolifération fibroblastique au niveau interstitiel et alvéolaire associée à des lésions BOOP-like (Bronchiolite oblitérante organisée en pneumonie). De plus, on note une hyperplasie des pneumocytes de type II du fait de leur régénération (76,77). En effet, il a été démontré que les pneumocytes de type I et II sont les principales cibles du SARS-CoV (77,79).
- Enfin, la dernière phase de l'infection apparaît au-delà de 15 à 20 jours après les premiers symptômes. Durant cette dernière phase on observe une fibrose au niveau des alvéoles pulmonaires (75,76,78,79).

Le MERS-CoV semble avoir une pathogénicité semblable au SARS-CoV. Une étude portant sur l'autopsie d'un patient décédé des suites du virus (80) montre des similarités entre le SARS et le MERS telles que le DAD, une fibrino-formation, la formation de la membrane hyaline, hyperplasie des pneumocytes de type 2 ainsi que des œdèmes. Elle démontre également que les cellules cibles sont principalement les pneumocytes et les cellules syncytiales. Cependant, cette étude n'observe pas de fibrose, ce qui indique qu'il existe probablement des mécanismes physiopathologiques différents entre ces deux coronavirus. De plus, l'étude met en évidence une dissémination du virus au niveau des reins mais aucune lésion évidente causée par le virus n'a été observée (80). En conséquence, l'insuffisance rénale aigüe souvent observée durant l'infection par le MERS n'est pas directement imputable au virus.

Cependant, les études concernant le MERS et notamment les études post-mortem sont très rares ce qui limite la compréhension du virus. Il existe une probable explication religieuse, la majorité des cas étant apparu dans des pays majoritairement musulmans (Arabie Saoudite, Emirats Arabes Unis) dans lesquels les autopsies ne sont pas pratiquées.

2) La réponse immunitaire

a) Immunité innée

La réponse immunitaire innée est la première ligne de défense contre les micro-organismes. La réponse immunitaire vis-à-vis des Coronavirus a principalement été étudiée à travers le SARS-CoV. Elle est déclenchée lorsque le virus est reconnu par différents récepteurs cellulaires permettant d'activer une cascade de signalisation aboutissant à la synthèse de cytokines et à la réaction inflammatoire.

La reconnaissance du virus se fait via les PRRs (Pattern Recognition Receptors) tel que RIG-I ou les TLRs (Toll Like Receptors) qui sont capables de reconnaître les PAMPs (Pathogen Associated Molecular Patterns) provenant des protéines virales ou des acides nucléiques déclenchant la cascade de signalisation (81). La première conséquence de cette activation est la synthèse d'interférons (IFN- α et IFN- β) importants pour la réponse immunitaire antivirale. Des cytokines pro-inflammatoires telles que les IL-1, IL-6, IL-12, TNF- α sont également produites. Une élévation de l'IL-8 qui joue un rôle dans le recrutement des neutrophiles, de MCP-1 qui permet le recrutement des monocytes/macrophages et de la protéine IP-10 permettant l'intervention des lymphocytes Th1 responsables de la synthèse d'interférons et d'IL-2 (81,82).

Cette cascade de signalisation a pour conséquences le recrutement de nombreuses cellules effectrices de l'immunité innée au niveau des poumons ainsi que le déclenchement de la réaction inflammatoire.

Cependant, le SARS-CoV aurait grâce à ses nsps la possibilité de bloquer la synthèse d'interférons notamment *via* nsp1 (d'autres nsps semblent être impliquées dans le blocage de l'interféron mais leur rôle n'a pas encore été démontré) à l'aide de différents mécanismes comme la dégradation des ARNm ou blocage de la synthèse des ARNm (81). Les conséquences de cet antagonisme *in vivo* ne sont pas encore clairement établies.

Une étude de 2016 réalisée sur des souris apporte quelques éléments de réponses. Les résultats montrent que l'inhibition de l'IFN entraîne l'accumulation de monocytes/macrophages et altère la réponse immunitaire T avec pour conséquence une maladie grave chez les souris. L'accumulation de ces monocytes/macrophages provoquerait une augmentation des cytokines inflammatoires au sein des poumons et jouerait un rôle dans la pathogénicité du SARS-CoV. La dérégulation de la réponse immunitaire innée *via* le blocage de l'IFN semble avoir un rôle direct dans la gravité de la maladie. Il semblerait également que l'administration d'IFN exogène à un stade précoce de la maladie permette d'améliorer le pronostic de la maladie (83).

b) Immunité adaptative

L'immunité adaptative ou acquise entre en jeu dans un second temps. Elle fait appel aux lymphocytes T qui jouent un rôle essentiel. Les lymphocytes T-CD4⁺ activent les lymphocytes B T-dépendants permettant la synthèse d'anticorps. Les lymphocytes T-CD8⁺ sont cytotoxiques et lysent les cellules infectées (84).

La **réponse immunitaire à médiation cellulaire** semble avoir un rôle central. La lymphopénie est un critère de mauvais pronostic concernant la maladie notamment dans les formes graves du SARS (5) faisant du lymphocyte T un facteur majeur dans la lutte contre les Coronavirus.

Concernant **l'immunité humorale**, des études démontrent l'existence d'anticorps neutralisants. L'une d'elles a étudié l'évolution des anticorps après l'infection de volontaires sains par des souches de Coronavirus 229E. Elle démontre l'existence d'anticorps neutralisants protecteurs vis-à-vis du virus. Cependant, elle met également en évidence une diminution du taux d'anticorps au cours du temps, ce qui rend, malgré cette synthèse d'anticorps, les réinfections possibles (85). Une autre étude de suivi des taux d'anticorps pendant 3 ans de patients guéris du SARS-CoV a mis en évidence une chute significative des taux d'anticorps au cours du temps (86) pouvant évoquer une immunité à long terme déficiente concernant les Coronavirus.

Un vaccin à ADN encodant pour la protéine S du SARS-CoV a été étudié sur un modèle animal permettant de mettre également en évidence une réponse humorale significative (87) et d'entrevoir un vaccin contre les coronavirus notamment contre le SARS-CoV 2 qui circule actuellement.

IV. Manifestations cliniques des Coronavirus saisonniers

Les Coronavirus sont responsables d'infections respiratoires hautes et basses. La sévérité peut varier de la simple atteinte des voies respiratoires supérieures à la pneumonie requérant une hospitalisation voire un support respiratoire (88,89).

1) Chez les enfants

D'après les différentes études épidémiologiques réalisées, les HCoVs sont responsables de 4 à 10 % des infections respiratoires d'origine virale (35–39). En cas d'infection symptomatique, les manifestations cliniques les plus retrouvées sont la fièvre, la toux et la rhinorrhée. Ces symptômes peuvent être associés à des signes d'atteintes des voies respiratoires basses tels que la respiration sifflante, la dyspnée ou l'hypoxie (17,31).

Les tableaux cliniques décrits avec les différents HCoVs sont similaires : ils ne permettent pas de les distinguer les uns des autres ni des autres virus respiratoires tels que le VRS, le Méta-pneumovirus, les virus Parainfluenzae ou les virus grippaux. D'autres signes cliniques peuvent être observés mais sont plus rares : malaise, nausée, signes gastro-intestinaux et maux de tête (31).

Les diagnostics les plus souvent associés aux infections respiratoires hautes sont la rhinopharyngite, la laryngite, la conjonctivite et l'otite (39). Concernant les infections respiratoires basses, elles sont le plus souvent associées aux bronchiolites, pneumonies, syndrome grippal ou exacerbations d'asthme (39,89).

2) Chez les adultes

Il existe très peu d'études réalisées sur les adultes : ils semblent moins susceptibles de déclarer des formes sévères. La proportion d'infections respiratoires causées par les HCoVs chez les adultes hospitalisés d'après la littérature varie entre 5 et 10 % (35,38).

Il s'agit le plus souvent de réinfections. La clinique semble moins bruyante, mais les infections graves restent possibles. Ce sont majoritairement des atteintes des voies respiratoires supérieures (35,90). Les symptômes les plus souvent observés sont bénins et non spécifiques : fièvre, toux, maux de tête et rhinorrhées. On note cependant que la fièvre est moins courante chez l'adulte que chez les enfants. Des infections des voies respiratoires basses ont déjà été décrites avec le plus souvent la pneumonie comme diagnostic clinique. Ces infections se produisent le plus souvent chez des patients souffrant de comorbidités (91).

3) Les populations à risque

Les HCoVs semblent provoquer des infections plus graves chez certaines catégories de patients. Les facteurs de risque sont très proches de ceux retrouvés pour la grippe :

- Prématurité et enfants de moins de 2 ans (92,93)
- Personnes âgées et comorbidités (6)

- Immunodéprimés (traitements, transplantation) (95)
- Maladie respiratoire chronique (asthme, BPCO) (96,97)

❖ Personnes âgées et comorbidités

Les personnes âgées sont globalement plus susceptibles aux infections. Elles présentent très souvent des comorbidités (maladies cardiaques, pulmonaires) les rendant plus fragiles. La littérature rapporte que les infections contractées chez les personnes âgées sont globalement plus sévères que chez l'adulte jeune (94). Les HCoVs saisonniers ont un pouvoir pathogène moindre que le SARS ou le MERS mais des cas graves ont été décrits avec parfois une issue fatale pour le patient (98).

Une étude récente a comparé l'atteinte respiratoire due au HCoVs et à d'autres virus respiratoires chez les personnes âgées (groupe 1) et les jeunes adultes (groupe 2). L'étude démontre que les infections par les HCoVs sont plus sévères avec notamment l'apparition de dyspnées plus fréquentes chez les personnes âgées. De plus un indice de gravité des maladies respiratoires chroniques utilisé dans la publication montre une atteinte plus sévère chez les personnes âgées (94).

Les comorbidités jouent un rôle important chez les personnes âgées concernant leur susceptibilité vis-à-vis des HCoVs comme l'ont démontrées plusieurs études (35,94). Une publication datant de 2003 décrit une épidémie de OC-43 en Normandie. Les 2 cas de pneumonies les plus graves concernent un patient de 86 ans et un patient transplanté cardiaque (99).

Un cas fatal d'une patiente infectée par le HCoVs NL-63 a été décrit en 2011. La patiente âgée de 46 ans était atteinte de diabète. Elle présentait un syndrome grippal qui s'est aggravé entraînant une pneumonie, une rhabdomyolyse, une insuffisance respiratoire et rénale ainsi qu'une péricardite avant de décéder. Le HCoV NL-63 a été le seul agent possiblement causal mis en évidence chez cette patiente démontrant l'importance des comorbidités au cours des infections par les HCoVs (100).

❖ Les patients immunodéprimés

- Hémopathies malignes

Les sujets immunodéprimés sont globalement plus sensibles aux diverses infections (virales, bactériennes ou fongiques). En plus de leur susceptibilité accrue, ils développent plus souvent des formes sévères qui peuvent conduire au décès.

Les données concernant les HCoVs sont limitées. Les différentes études se sont principalement intéressées aux cancers hématopoïétiques et aux greffes de cellules souches hématopoïétiques.

Une méta-analyse de différents travaux portant sur les virus à tropisme respiratoire chez les patients atteints de cancers hématologiques et/ou ayant reçu une greffe de cellules souches hématopoïétiques montre que les HCoVs sont une cause importante d'infections respiratoires avec une incidence comparable avec les autres virus (101).

Plusieurs études concernent des cohortes de patients atteints de cancers hématologiques avec ou sans greffe de cellules souches hématopoïétiques. Elles fournissent plusieurs informations concernant l'impact des HCoVs :

- Une première étude rétrospective a comparé la mortalité des HCoVs par rapport à d'autres virus respiratoires chez des patients pour lesquels les HCoVs étaient détectés dans le liquide de lavage broncho-alvéolaire (LBA). Les résultats montrent que sur un total de 33 patients, 7 ont dû recevoir une assistance respiratoire, 18 sont morts dont 10 de causes respiratoires. Parmi les 10 patients décédés de complications respiratoires, deux avaient une infection à HCoVs seules (102).
- Une étude prospective publiée en 2018 a évalué l'impact des HCoVs vis-à-vis de patients d'onco-hématologie. Dans cette étude, les HCoVs sont responsables de 11 % des infections respiratoires virales. Ils sont responsables de 21 épisodes infectieux chez 18 patients. Parmi ces 21 épisodes on note 14 infections respiratoires hautes et 7 infections respiratoires basses (IRB). Le taux d'hospitalisation dû au HCoVs est de 19 % et la létalité de 5 %. Un seul patient est décédé de détresse respiratoire avec pour seule documentation microbiologique la mise en évidence par une technique PCR d'un HCoV OC43 sur un écouvillon nasal (103).
- Enfin, une dernière étude montre un taux d'infection de 10 % chez les patients d'hématologie. Au cours de l'étude, 28 patients ont été infectés uniquement par un HCoV, 24 ont présenté une infection respiratoire haute et 3 ont eu une suspicion d'IRB dont 2 ont été prouvées. Aucun décès dû aux HCoVs n'a été décrit dans cette étude (104).

Une étude réalisée chez des enfants démontre un risque augmenté de développer une IRB chez les patients immunodéprimés. Le risque est également augmenté en cas de problèmes respiratoires sous-jacents. Cette étude met également en évidence un risque accru de développer une infection sévère en cas de co-infection avec un autre virus et plus particulièrement le VRS (105).

- Transplantation pulmonaire

Les patients transplantés pulmonaires sont plus à risque de développer des infections respiratoires. Certains virus comme le VRS, les virus influenza ou l'Adénovirus ont été identifiés comme des facteurs de risque de bronchiolite oblitérante qui est une cause importante de mortalité et de morbidité chez les transplantés pulmonaires (106,107).

L'incidence des HCoVs dans cette population n'est pas clairement définie. Cependant, les HCoVs ont été identifiés comme un facteur de risque de bronchiolite oblitérante dans une étude de 2005. Cette dernière démontre également que les HCoVs et les virus respiratoires dans leur globalité peuvent également jouer un rôle dans le rejet aigu du greffon (108). Il a été mis en évidence que les patients développant une infection respiratoire virale avait 25 % de risque de développer une bronchiolite oblitérante contre 9 % chez les patients ne faisant pas d'infection, démontrant un impact clair des virus respiratoires (109).

Plus récemment, il a été démontré que les virus respiratoires sont un facteur de risque de dysfonctionnement de l'allogreffe au cours du temps. L'étude s'est focalisée sur le risque de dysfonctionnement dans le cas d'une infection virale suivant la première année post-greffe. Les HCoVs semblent, d'après cette étude, avoir un impact plus important que les autres virus respiratoires sur l'apparition de dysfonctionnement de l'allogreffe pulmonaire (110).

Enfin, dans la littérature plusieurs cas d'infections à HCoVs chez des patients immunodéprimés ont été rapportés, le plus souvent dans le cadre d'un cancer ou d'une hémopathie. Ces cas parfois fatals démontrent clairement l'impact que peuvent avoir les HCoVs dans un contexte d'immunodépression (95,100,111,112).

❖ **Pathologies respiratoires chroniques (Asthme, BPCO)**

Les patients asthmatiques ainsi que ceux atteints de bronchopneumopathie chronique obstructive (BPCO) sont plus sensibles aux infections respiratoires. On peut observer chez ces patients le déclenchement de crises d'asthme ou des exacerbations de BPCO lors de ces infections par HCoVs. Il n'existe pas de travaux récents étudiant l'impact des Coronavirus chez les patients asthmatiques. Cependant, des virus respiratoires et donc des HCoVs sont possiblement impliqués dans le déclenchement de crises d'asthme (113,114). Un « case-report » met en évidence HKU1 comme étiologie responsable d'une crise d'asthme chez un enfant de 2 ans (96).

Les HCoVs pourraient également être responsables d'exacerbations aiguës de BPCO. La prévalence des HCoVs varie entre 3 et 5,5 % environ selon les études. Les symptômes et la gravité des exacerbations aiguës semblent comparables aux infections dues aux autres virus respiratoires (115,116).

V. Diagnostic Virologique

1) Culture cellulaire

La culture cellulaire est une technique historique. Associée à la microscopie électronique elle a permis la découverte des HCoVs (2,9). C'est une méthode longue et fastidieuse ne permettant pas un rendu de résultat rapide. Cependant, elle reste aujourd'hui la méthode de choix pour isoler des souches virales.

La culture cellulaire consiste en l'inoculation de la souche virale au sein d'une lignée cellulaire permissive et l'observation d'un effet cytopathique (ECP) au cours du temps dû à la réplication virale. Les délais d'apparitions d'un ECP peuvent varier de quelques jours à plusieurs semaines. De plus les virus ayant chacun un tropisme cellulaire particulier les protocoles de culture cellulaire varient d'un virus à l'autre.

la culture des HCoVs est difficile et exigeante. Historiquement ils ont été mis en évidence sur des cellules d'épithélium nasal ainsi que des cellules trachéales d'embryons humains (2). Depuis de nouvelles lignées cellulaires ont été étudiées afin d'optimiser la culture cellulaire.

Une étude réalisée en 2006 s'est intéressée à la culture cellulaire des HCoV et notamment du NL63. D'après les travaux réalisés les lignées **LLC-MK2** et **VERO-B4** (toutes deux issues de cellules de rein de singe) semblent particulièrement permissive au virus. Les 4 autres lignées cellulaires étudiées **MRC-5s** (fibroblastes de poumons humains), **MDCK** (cellules rénales canines), **RD** (cellules de rhabdomyosarcome humain) et **MS** (cellules rénales de singe) semblent beaucoup moins adaptées à la culture cellulaire. De plus l'ECP observé sur les cellules étant aspécifique, il ne permet pas l'identification du virus et nécessite l'utilisation de techniques de biologie moléculaire (117).

2) La Biologie Moléculaire

Les techniques de biologie moléculaire sont aujourd'hui répandues dans divers domaines comme la virologie mais également la bactériologie ou encore la cancérologie. Elles permettent un diagnostic rapide et sensible. A l'heure actuelle la détection des HCoV est réalisée en routine par biologie moléculaire sur les prélèvements respiratoires.

L'une des premières techniques d'amplification génomique, la RT-PCR a été décrite en 1994 par une équipe anglaise. Il s'agit d'une technique de Nested-PCR (ou PCR nichée), ciblant le gène N de la nucléocapside des HCoV 229E et OC43 (118). La technique s'avère plus sensible et plus spécifique que les techniques ELISA (Enzyme-Linked ImmunoSorbent Assay) et de cultures cellulaires utilisées en routine. Un autre protocole a été décrit en 2001 par une équipe française qui ciblait le gène M. Cette technique semble être beaucoup plus sensible mais nécessite deux méthodes de détection pour les deux Coronavirus OC43 et 229E (119).

Par la suite, des techniques multiplex ont été développées. Elles permettent la détection simultanée de plusieurs virus dans un seul mélange réactionnel. Il est composé des différentes amorces spécifiques des agents pathogènes recherchés qui sont identifiés après l'étape d'amplification par diverses méthodes, par exemple à l'aide de fluorophores.

Concernant les HCoV, le développement d'une technique a pu être réalisé grâce à la découverte d'une séquence hautement conservée au sein HCoV. Cette découverte a été permise par des études phylogénétiques. Il s'agit d'une séquence de 251 paires de bases située au sein de l'ORF 1b du gène de la polymérase (120). Une seconde région spécifique de la souche doit être ciblée pour permettre son identification.

Les avantages des techniques multiplex sont nombreux : il s'agit de méthodes sensibles et spécifiques, rapides et permettant l'identification de nombreux pathogènes sur plusieurs échantillons au cours d'une seule technique.

3) La détection des antigènes viraux

Cette méthode consiste en la détection d'antigènes viraux à l'aide d'anticorps monoclonaux marqués par un fluorochrome. La détection peut, selon les techniques, être réalisée sur la culture cellulaire ou directement sur le prélèvement respiratoire.

Très peu de techniques ont été développées pour les HCoV. La plus récente a été développée en 2020 pour le SARS-CoV 2 par une équipe chinoise. Il s'agit d'une technique immunochromatographique avec détection par fluorescence. Le principe consiste en la détection de la protéine N (nucléocapside) sur des prélèvements naso-pharyngés par un anticorps monoclonal puis la détection d'un signal de fluorescence par un analyseur. D'après les résultats la méthode possède une sensibilité de 68 % et une spécificité de 100 % (121).

Concernant les HCoV, des études plus anciennes ont permis de développer une méthode de détection des antigènes viraux :

- La première date de 1978 : elle consiste en la détection des antigènes viraux après culture cellulaire d'un prélèvement naso-pharyngé ou oro-pharyngé à l'aide d'un anticorps monoclonal obtenu après inoculation à la souris. Cette méthode s'avère plus sensible mais nécessite une culture cellulaire qui reste compliquée pour les HCoV. De plus, il semble exister une réaction croisée entre les souches 229E et OC43 (122).
- La seconde date de 1983 : une équipe a développé un test ELISA afin de détecter les antigènes des Coronavirus OC43 et 229E sur des prélèvements de gorge ou de nez. La technique semblait plus sensible et s'affranchissait de la culture cellulaire. Cependant elle était lourde et ne permettait pas un délai de rendu des résultats beaucoup plus rapide (123).

4) Sérologie

La sérologie n'est pas une technique adaptée pour le diagnostic d'infection respiratoire aiguë étant donné les délais nécessaires entre deux prélèvements pour mettre en évidence une séroconversion (17). Cependant la sérologie reste intéressante dans le cadre d'études épidémiologiques.

VI. Traitement et prévention

1) Traitement

Le traitement des patients infectés par un HCoV repose actuellement sur une prise en charge symptomatique : désobstruction rhinopharyngée, antipyrétique, hydratation. Dans les cas les plus graves, on peut avoir recours à une corticothérapie et une assistance respiratoire chez les patients hospitalisés.

A ce jour aucun traitement spécifique n'a été validé pour le traitement des HCoV. Les virus « saisonniers » ont fait l'objet de très peu d'études visant à évaluer un traitement. Une étude de 2006 s'est intéressée à plusieurs traitements possibles sur le HCoV NL63 *in vitro* met en évidence une efficacité des immunoglobulines IV ou encore des siRNA (small interfering RNA). Aucune étude *in vivo* n'a confirmé les résultats observés sur culture cellulaire (124).

Les virus « épidémiques » ont fait l'objet de nombreuses études évaluant divers traitements pour la prise en charge des patients :

- **Corticostéroïdes** : l'administration précoce (moins de 7 jours après l'apparition des symptômes) de corticostéroïdes a été évaluée au cours d'une étude randomisée en double

aveugle chez des patients infectés par le SARS. Elle démontre que leur utilisation entraîne une clairance virale plus faible et une virémie prolongée (125). De plus les corticostéroïdes ont un effet immunosuppresseur et aucune étude n'a démontré de manière formelle un intérêt clinique.

- **Interférons (IFN):** il s'agit de glycoprotéines ayant un rôle central dans la réponse immunitaire antivirale. Les IFNs α , β et γ ont été testés seuls ou en association. *In vitro*, les IFNs semblent inhiber la réplication virale (126–128). Les trois molécules montrent des résultats positifs en diminuant la réplication virale et l'IFN- β apparaît comme le plus efficace *in vitro*. L'utilisation d'interféron montre également des résultats encourageants *in vivo*. L'administration d'IFN- α pegylé chez des macaques infectés par le SARS-CoV semble réduire la charge virale ainsi que l'excrétion du virus. De plus l'expression des antigènes viraux ainsi que les dommages pulmonaires sont moindres au sein du groupe traité (129).
- **Ribavirine :** Il s'agit d'un analogue nucléotidique utilisé notamment au cours des infections de l'hépatite C. Son association avec l'IFN- α semble efficace contre le MERS-CoV à la fois *in vitro* et *in vivo*. *In vitro*, l'IFN- α et la Ribavirine semblent plus efficaces lorsque les deux molécules sont associées (130). De plus, *in vivo*, la survie à 14 jours est meilleure lors de l'administration de l'association (131).
- **Lopinavir / Ritonavir :** Il s'agit d'un inhibiteur de protéase utilisé dans le traitement du VIH, l'association a également été testée contre le SARS-CoV et le SARS-CoV 2. Il a été administré en traitement de première intention avec le protocole de traitement standard (Ribavirine et corticostéroïdes) ou en traitement de dernière intention chez les patients les plus graves. Son utilisation en première intention a montré une amélioration de la survie comparée au groupe standard. Cependant son utilisation en dernière intention n'a montré aucun apport bénéfique (132).

D'autres molécules ont été testées contre les HCoV :

- **siRNA :** molécules qui dégradent l'ARNm ayant une séquence identique. Ils ont démontré une certaine efficacité *in vitro* (124,133).
- **Niclosamide :** traitement habituellement utilisé contre les *Tænia*, le Niclosamide a montré un effet antiviral contre le SARS-CoV, mais le mécanisme d'action n'a pas été élucidé (133).
- **Glycyrrhizine :** molécule extraite de la réglisse, elle semble avoir une certaine efficacité contre le SARS-CoV mais là encore le mécanisme d'action n'est pas clairement établi (133).

2) Prophylaxie

a) Vaccins

L'émergence du SARS-CoV en 2002 a entraîné un travail de recherche important notamment dans le but de trouver un vaccin permettant de contenir et prévenir l'épidémie.

Vaccins utilisant des vecteurs viraux :

- Une équipe a immunisé des souris en utilisant une souche atténuée et modifiée du virus de la vaccine appelé « vaccine Ankara » dans lequel on a inséré la séquence complète de la protéine S du SARS-CoV. Aucune des souris immunisées ne semble avoir déclaré la maladie. De plus l'injection de sérum provenant des souris immunisées aux souris naïves a réduit la réplication virale chez ces dernières (134).
- Une expérience similaire sur des singes a été réalisée par une seconde équipe. Le vecteur était une souche recombinante atténuée d'un virus parainfluenzae. Après avoir été immunisés, les singes ont été infectés par le SARS-CoV. Il n'y a pas eu d'excrétion virale dans le groupe vacciné contrairement au groupe contrôle (135).
- Une autre étude consistait à immuniser des macaques à l'aide de trois vecteurs exprimant la protéine S, la protéine M et la protéine N. Tous les macaques ont exprimé des anticorps dirigés contre la protéine S et il y a également eu une réponse T dirigée contre la protéine N. Cependant les macaques n'ont pas été exposés au virus après l'immunisation(136) .

Vaccin à ADN :

La vaccination à ADN est une approche consistant à introduire dans une séquence d'ADN purifié une séquence codant un antigène donné afin d'induire une réponse immunitaire. Cette méthode a été testée dans le cadre de la recherche d'un vaccin contre le SARS-CoV. Plusieurs études démontrent une efficacité de la vaccination à ADN notamment chez des souris. Les protéines ciblées pour le vaccin sont la protéine S (87) et la protéine N (137). Après vaccination une réponse humorale induisant une synthèse d'anticorps peut être observée, mais également une réponse lymphocytaire T (87,137).

Toutes ces données démontrent la possibilité de développer un vaccin contre le SARS-CoV qui est une souche particulièrement virulente mais également contre les autres HCoV comme le SARS-CoV 2 responsable de la pandémie actuelle.

b) Mesures de prévention

La prévention de l'infection par les HCoVs et plus généralement des virus respiratoires repose principalement sur l'information des patients et les mesures d'hygiène ou « gestes barrières ». Ces mesures d'hygiène reposent sur :

- Le lavage efficace des mains réguliers et plusieurs fois par jour
- Couvrir sa bouche et son nez avec sa manche ou un mouchoir en cas d'éternuements ou de toux

Les mesures « barrières » ont pris une toute autre proportion avec l'épidémie de SARS-CoV 2 qui sévit dans le monde actuellement. En plus des mesures déjà citées, il est également recommandé de porter un masque chirurgical / en tissu dans les lieux publics comme les transports en commun ainsi que de respecter une distanciation physique de 1 mètre au moins entre les personnes et un lavage des mains régulier est préconisé ([Figure 13](#)).



Figure 13 : Affiche du CHU de Toulouse concernant les gestes barrières afin de prévenir les contaminations du SARS-CoV 2

Matériel et méthodes

I. Données et analyse statistique

1) Patients

Le travail mené est une étude rétrospective au sein du laboratoire de Virologie de l'Institut Fédératif de Biologie (IFB) du Centre Hospitalier-Universitaire (CHU) de Toulouse. Elle concerne tous les patients admis en service de réanimation, soins intensifs ou soins continus chez qui un HCoV a été détecté à l'aide de la PCR multiplex Anyplex™ II RV16 Detection (Seegene, Corée) dans un prélèvement respiratoire du 1^{er} janvier 2012 au 31 mai 2018.

2) Méthode

Une extraction de données *via* le logiciel de biologie médicale MOLIS a permis de sélectionner les patients pour lesquels une PCR multiplex respiratoire a été prescrite au cours de la période donnée.

Ces données ont permis dans un premier temps de faire le point sur l'épidémiologie des infections respiratoires virales. La place des HCoVs a pu également être comparée à celle des autres virus respiratoires.

Seuls les patients admis dans les services de réanimation, service de soins intensifs ou de soins continus au sein du CHU de Toulouse pour lesquels un HCoV a été détecté ont été retenus.

Les données biologiques (hématologie, biochimie, microbiologie) ont été recueillies *via* le logiciel MOLIS, les données cliniques ont été collectées *via* le logiciel ORBIS.

L'ensemble des données a été compilé sur Excel.

L'ensemble des analyses statistiques ont été réalisées à l'aide du logiciel STATA® version 14.0 (StataCorp, Texas, USA). En ce qui concerne l'analyse univariée, les données des patients ont été analysées à l'aide d'un test du Chi-2 ou du test exact de Fisher (si l'effectif théorique était inférieur à 5) pour toutes les variables discrètes. Les variables continues ont été analysées via le test de Student après vérification des hypothèses de normalité des distributions. Pour l'analyse multivariée nous avons appliqué une régression logistique descendante en intégrant toute les variables avec une p value $< 0,20$, le sexe et l'âge qui peuvent être des facteurs confondant ont été intégrés dans l'analyse multivariée. La significativité a été définie pour une p -value $< 0,05$.

3) Les données collectées

Les informations collectées pour chaque patient sont résumées dans les tableaux ci-dessous (Tableau 4) :

Tableau 4 : Données relevées pour chaque patient

Données Démographiques	Données personnels (terrains , comorbidités)
<ul style="list-style-type: none"> - Age - Sexe 	<ul style="list-style-type: none"> - Tabagisme - Alcoolisme, - Obésité (IMC > 30kg/m2) - Diabète - Splénectomie - Atteinte cardiaque - Insuffisance respiratoire chronique - Asthme - BPCO - Cancer solide - Hémopathie maligne (HM) - Greffe de cellules souches hématopoïétiques (CSH) - Greffe d'organe solide - Traitements immunosuppresseurs

Données cliniques	Données biologiques
<ul style="list-style-type: none"> - Motif d'hospitalisation - Clinique à l'entrée et au cours de l'hospitalisation - L'auscultation pulmonaire si disponible - Les résultats de l'imagerie si disponible - Diagnostic clinique établi - La présence d'un sepsis sévère ou d'un choc septique - Le recours aux traitements anti-infectieux ou immunoglobulines polyvalentes humaines - Support respiratoire ou non (invasif ou non) au cours de l'hospitalisation - L'évolution (favorable, transfert, décès) - La durée de l'hospitalisation 	<ul style="list-style-type: none"> - Le service prescripteur - Date de prescription de la PCR - Le type de prélèvement (écouvillon nasal, liquide de lavage broncho-alvéolaire) - Le taux de lymphocyte et de polynucléaires neutrophiles - CRP - Les données microbiologiques bactériennes, virales, parasitaires ou fongiques

II. La PCR Multiplex

Entre 2012 et 2018 la même de technique de PCR a été utilisée pour la détection des virus respiratoires. Il s'agit d'une PCR multiplex en temps réel commercialisée par Seegene (Corée) : Anyplex™ II RV16 Detection. Elle permet la détection simultanée de 16 virus respiratoires.

1) Généralités

Le principe de la PCR est basé sur la technologie TOCE (Tagging Oligonucleotide Cleavage and Extension = Extension par clivage d'oligonucléotides de marquage). La technologie TOCE permet la détection et la différenciation de plusieurs cibles sur un même canal de fluorescence (jusqu'à cinq maximum par canal). Elle peut être utilisée sur différents prélèvements respiratoires comme les écouillons nasopharyngés, aspirations trachéales ou liquides de lavages broncho-alvéolaires.

Elle permet le diagnostic *in vitro* des virus suivants :

- Coronavirus OC43, 229E, NL63
- Grippe A et B
- VRS A et B
- Virus Parainfluenzae 1, 2, 3, 4
- Rhinovirus
- Adénovirus
- Métapneumovirus
- Entérovirus
- Bocavirus

2) Technologie TOCE

La technique nécessite un délai de cinq heures pour être réalisée. Elle comprend quatre étapes essentielles pour la détection des acides nucléiques : extraction, rétro-transcription, amplification et analyse.

La détection des acides nucléiques par la technique TOCE repose sur trois éléments de la technique :

- « DPOs », ce sont les amorces conçues pour s'hybrider spécifiquement avec la cible
- « Pitcher (= lanceur) », conçu également pour s'hybrider spécifiquement la cible et qui porte la séquence (tagging portion) qui va s'hybrider avec le « Catcher »
- « Catcher (= attrapeur) », oligonucléotide artificiel marqué avec un fluorophore

La première étape permet l'hybridation des amorces (DPOs) et du pitcher avec la cible de manière spécifique (Figure 14).

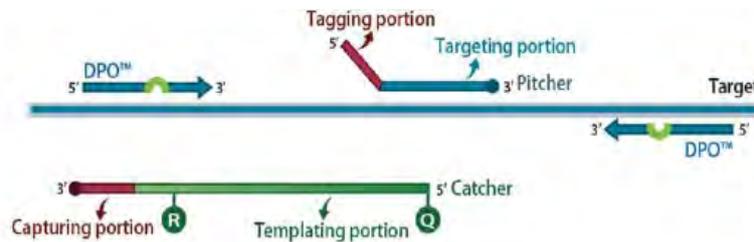


Figure 14 : Etape d'hybridation, DPOs et Pitcher (Seegene)

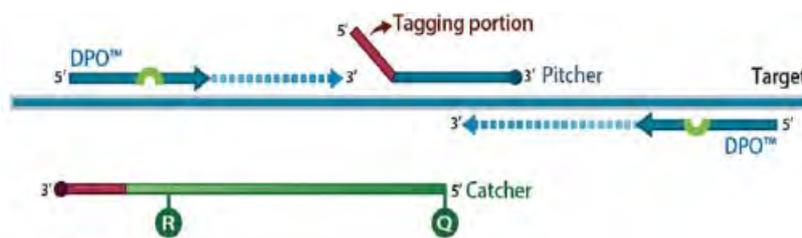


Figure 15 : Elongation des amorces (Seegene)

Durant la seconde étape existe une élongation des amorces *via* la polymérase (Figure 15). Au cours de cette étape la polymérase clive également grâce à son activité exonucléase le fragment « tagging portion » (=séquence marquée) qui ne s'hybride pas avec la cible.

La séquence clivée s'hybride ensuite spécifiquement avec le « Catcher » (Figure 16).

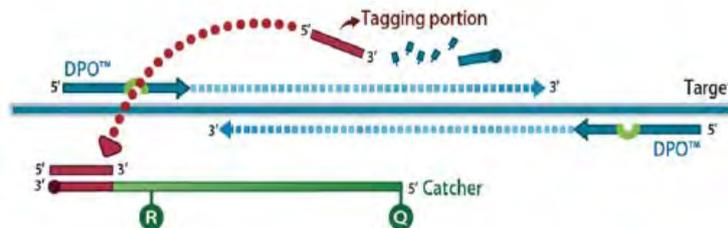


Figure 16 : Clivage de la séquence marquée et hybridation avec le « Catcher » (Seegene)



Figure 17 : Émission du signal fluorescent (Seegene)

Lorsque la séquence marquée s'hybride avec le « Catcher », l'élongation a pour conséquence d'éloigner le Quencher (Q) du Reporter (R) permettant ainsi l'émission d'un signal fluorescent détectable (Figure 17).

La détection de plusieurs cibles sur un même canal est possible grâce à la température de fusion (= T_m). Le « Catcher » étant un oligonucléotide synthétique, il peut être conçu de manière à obtenir un T_m entre le « Catcher » et la séquence marquée prévisible et constant. Cette technique permet ainsi de différencier plusieurs virus à la fois sur un seul canal de fluorescence par une variation de température (Figure 18).

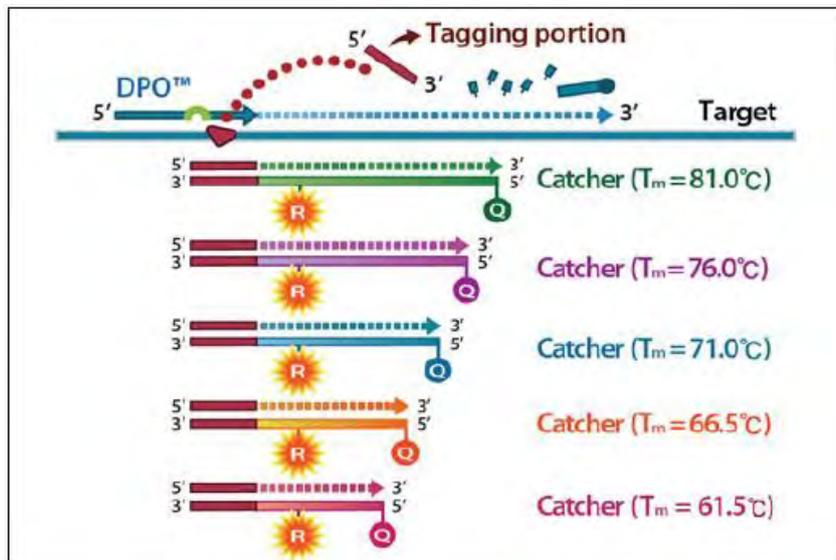


Figure 18 : Exemple de « Catcher » (Seegene)

3) La PCR multiplex au CHU de Toulouse

La technique a une durée totale d'environ 5h et permet de rendre un résultat pour 94 échantillons. Comme nous l'avons évoqué, la PCR comprend 4 étapes essentielles :

- L'extraction : elle permet d'extraire les acides nucléiques. Cette étape est réalisée à l'aide d'un automate, le MagNA Pure 96™ (Roche Diagnostics) et du kit « DNA and viral NA Small volume kit ». La méthode nécessite des billes magnétiques recouvertes de silice, elle nécessite également 200 μL d'échantillons de patients.

- La reverse-transcription (RT-PCR) : Au cours de cette étape, il y a une synthèse des fragments d'ADNc à partir des ARN viraux potentiellement présent dans l'échantillon patient. On utilise des hexamères aléatoires qui font office d'amorces et on a également un contrôle interne pour s'assurer de la bonne réalisation de la RT-PCR. Le programme utilisé au CHU est le suivant :

Tableau 5 : Cycle de RT-PCR

Durée	Température	Nombre de cycles
5 min	25°C	1
60 min	37°C	1
2 min	95°C	1

- L'étape suivante a pour but d'amplifier les brins d'ADNc obtenus lors de la RT-PCR et de les différencier. Pour cela on utilise le kit Anyplex™ II RV16 Detection qui est divisé en 2 panels A et B.

Tableau 6 : Liste des virus selon les panels

Panel A	Panel B
Adenovirus	Bocavirus
Influenza A	Coronavirus 229E
Influenza B	Coronavirus NL63
Parainfluenza virus 1	Coronavirus OC43
Parainfluenza virus 2	Enterovirus
Parainfluenza virus 3	Metapneumovirus
Parainfluenza virus 4	VRS A
Rhinovirus	VRS B
Contrôle Interne (CI)	Contrôle Interne (CI)

Au total on détecte 16 virus, 2 à ADN (Adénovirus et Bocavirus) et 14 à ARN. Au sein de chaque panel est intégré un contrôle interne afin de nous garantir que l'étape d'amplification s'est déroulée correctement. Il existe un niveau de contrôle supplémentaire avec l'ajout dans chaque série d'un contrôle indépendant.

Les mix de PCR sont préparés de la manière suivante :

- RV16 A ou B OM 4X 5 (5 µL)
- 4X Anyplex PCR Master MIX 5 (µL)
- RNase free water (2 µL)

L'amplification et la détection sont réalisées à l'aide d'un automate de PCR, le CFX 96 real-time PCR detection System (BIORAD). Le programme de PCR est le suivant :

Tableau 7 : Programme d'amplification

Etape	Nombre de cycles	Température	Durée
1	1	50°C	4 min
1	1	95°C	15 min
2	50	95°C	30 sec
3		60°C	1 min
4		72°C	30 sec
5	1	55°C	30 sec
Courbe de fusion	1	55 à 85°C Rampe : 5 sec / 0,5°C	

La dernière étape du programme (= courbe de fusion) est celle qui va permettre d'identifier les virus présents dans l'échantillon grâce au T_m des différents « Catcher » avec les variations de température. Durant cette étape la fluorescence est mesurée en continue.

Les trois Coronavirus détectés par la PCR sont dans le mélange réactionnel et marqué par le même fluorophore mais avec des T_m différents :

- Coronavirus OC43 → $T_m = 76,5 - 81,5$ °C
- Coronavirus 229E → $T_m = 62,5 - 67,5$ °C
- Coronavirus NL63 → $T_m = 70 - 74$ °C

- Enfin la dernière étape consiste à analyser les résultats grâce au logiciel Seegene Viewer. Le logiciel permet de visualiser le plan de plaques en indiquant les échantillons positifs et négatifs. Il y a également la possibilité de visualiser les courbes obtenues lors de la PCR.

Épidémiologie des infections respiratoires au CHU de Toulouse

Les données obtenues au cours de l'étude ont permis de faire un point épidémiologique sur les infections respiratoires au CHU de Toulouse. Tout d'abord, l'activité a augmenté significativement entre 2012 et 2017 (Figure 19) (l'année 2018 n'a pas été pris en compte le recueil de donnée s'arrêtant au 31 mai 2018).

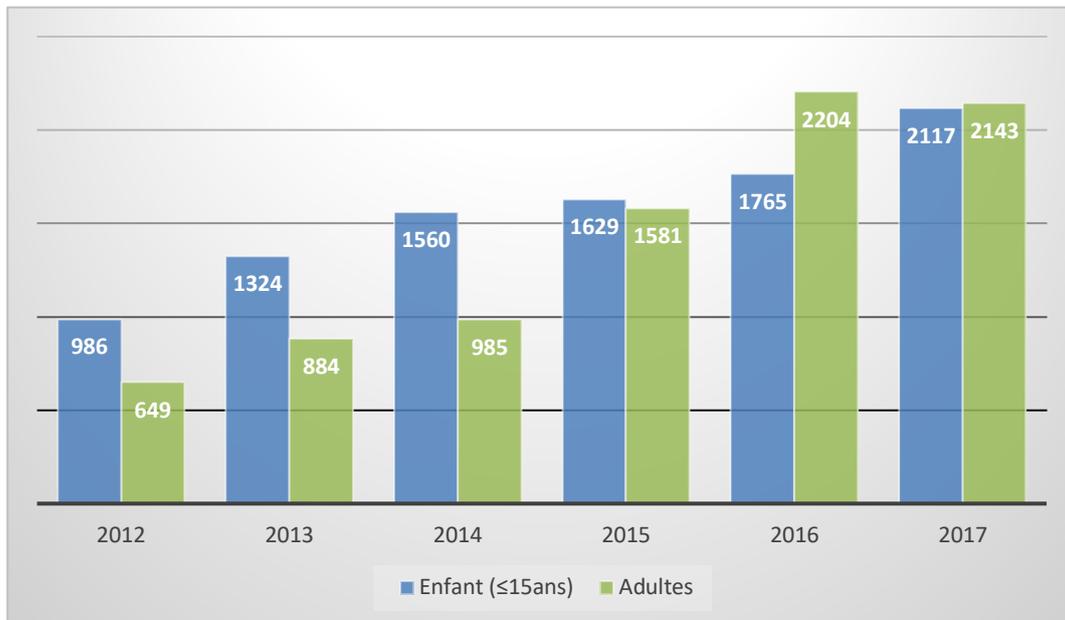


Figure 19 : Evolution du nombre de prescriptions de PCR

Au cours de l'année 2012, 1635 PCR respiratoires ont été réalisées au laboratoire de virologie contre 4260 PCR en 2017 soit une augmentation de 161 % de l'activité. On note une inversion dans les demandes de PCR avec une prescription plus importantes chez les adultes à partir de 2016.

La proportion de PCR positives est en moyenne de 47 %, le taux varie de 42 à 51 % en fonction des années (Figure 20).

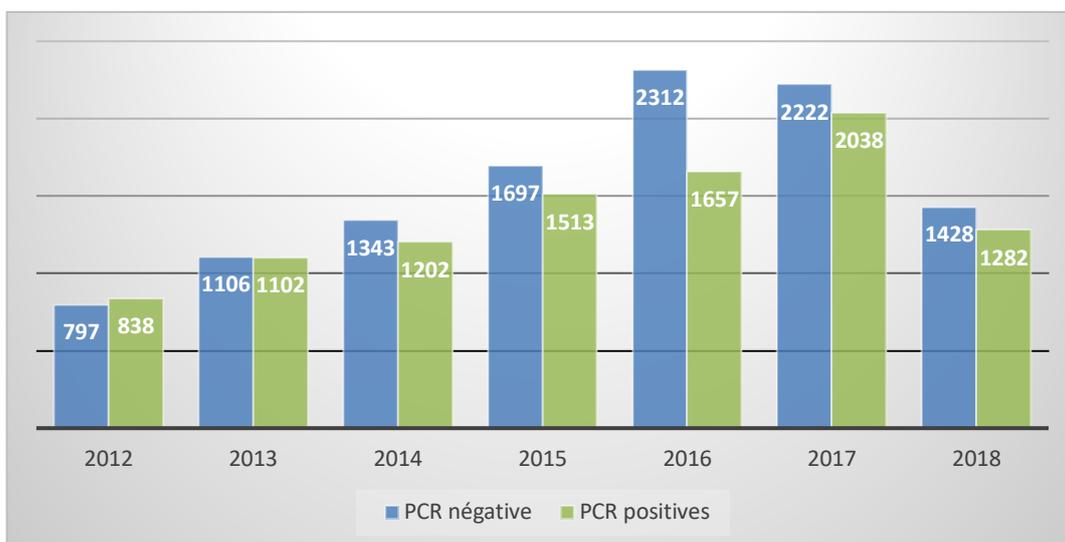


Figure 20 : Proportion des PCR positives

Parmi les PCR positives, la prévalence des Coronavirus est variable (*Tableau 8*) mais elle est en moyenne de 9,9 % :

Tableau 8 : Prévalence des Coronavirus entre 2012 et 2018 au CHU de Toulouse

Année	Proportion des Coronavirus parmi les PCR positives
2012	7,8 %
2013	8,5 %
2014	10,7 %
2015	9,5 %
2016	9,9 %
2017	10,8 %
2018	11,0 %

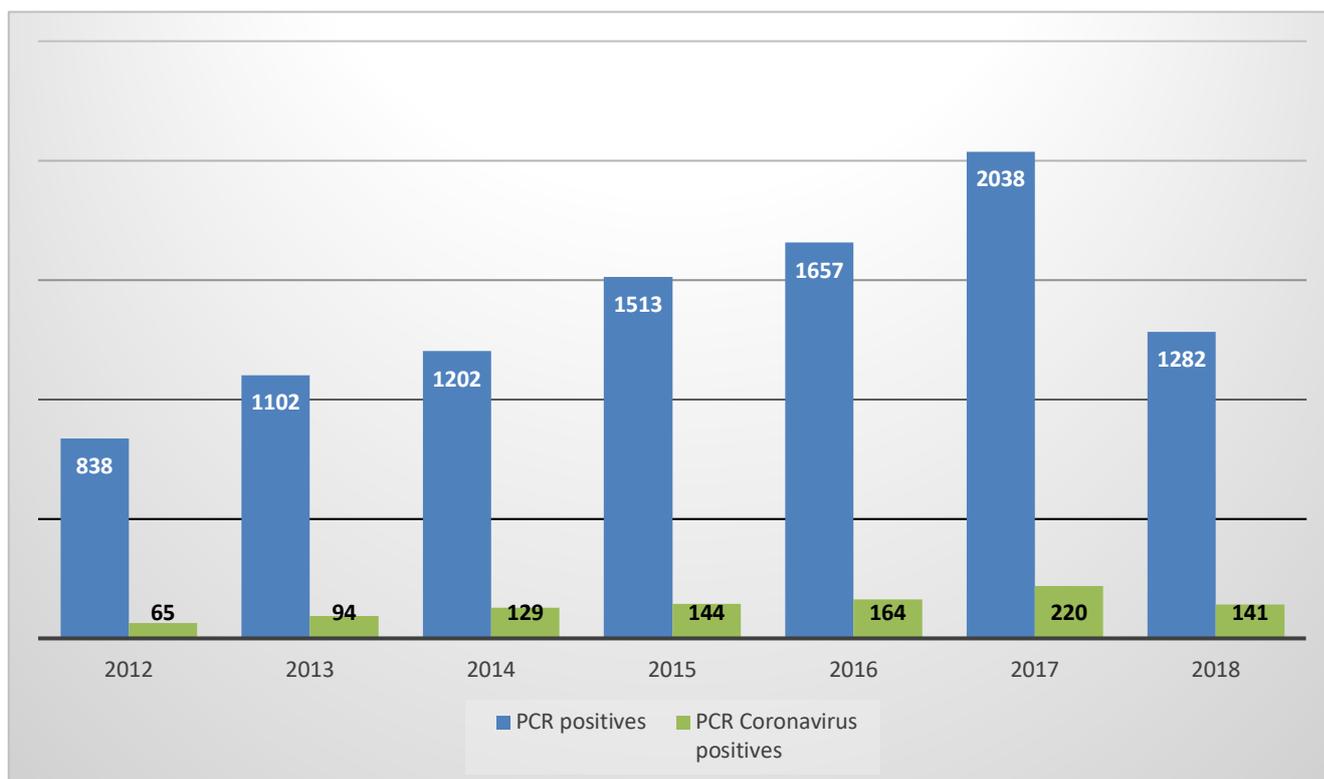


Figure 21 : Proportion des Coronavirus parmi les PCR positives

La prévalence des Coronavirus est relativement stable au cours des années. Ce sont les virus le plus fréquemment retrouvé derrière le Rhinovirus (31,3 %), les VRS A et B (17.1 %), les virus Influenzae A et B (16 %) et l'Adénovirus (10,1 %). De manière moins importante on met en évidence, le Bocavirus (5,3 %), le Métapneumovirus (3,9 %), l'Entérovirus (3,1%) et les virus Parainfluenzae 1, 2, 3, 4 (respectivement 1,1 % ; 0,4 % ; 2,2 % et 1,6 %) (*Figure 22*).

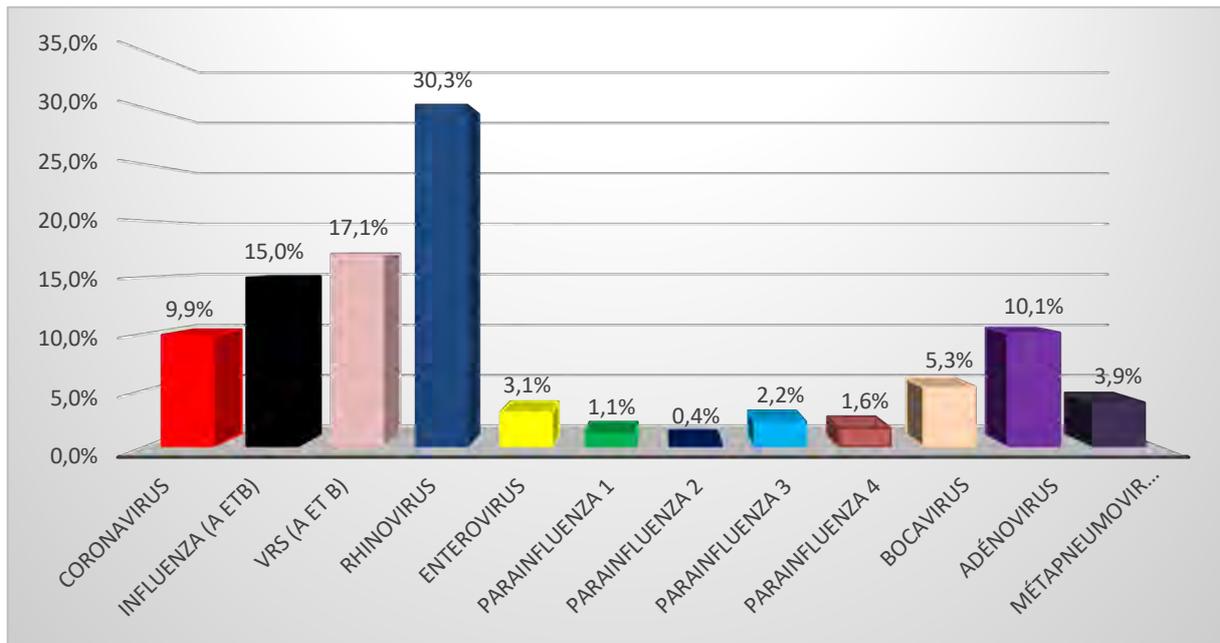


Figure 22 : Prévalence des différents virus respiratoires entre 2012 et 2018 au CHU de Toulouse

Les infections à Coronavirus suivent un schéma de saisonnalité similaire aux autres virus respiratoires tels que les virus Influenza, le VRS et le Rhinovirus (Figure 23). Les infections sont essentiellement recensées en hiver.

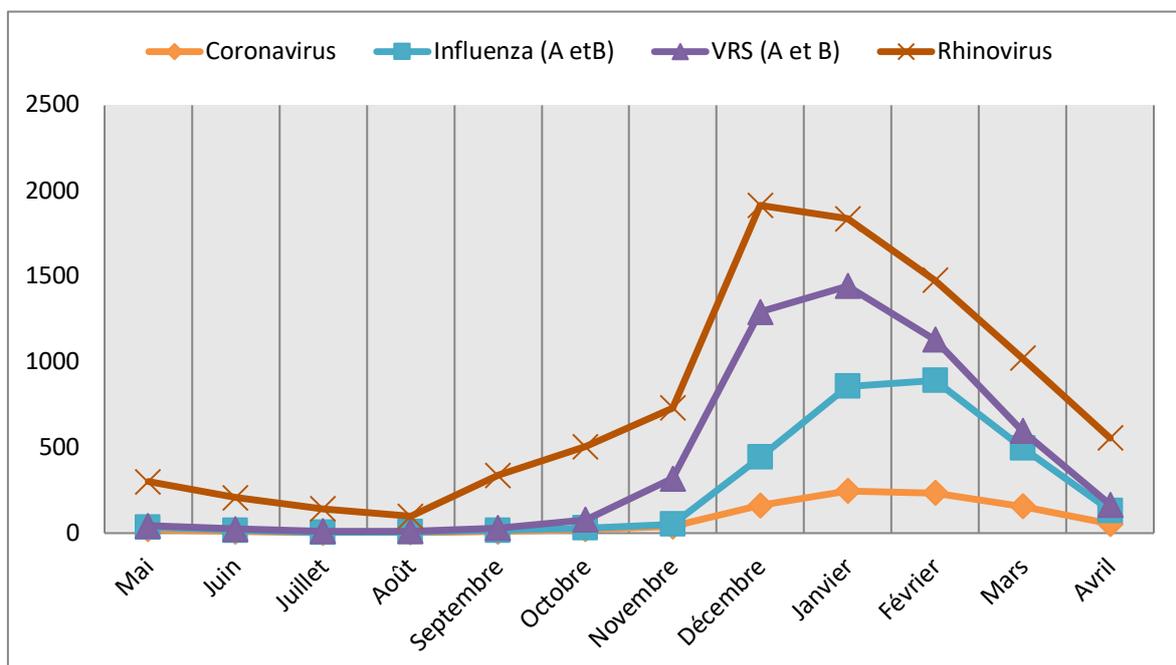


Figure 23 : Détection des principaux virus respiratoires au cours de l'année

Comme nous l'avons évoqué, les Coronavirus sont le plus souvent retrouvés en hiver. Un peu plus de 89 % des infections à Coronavirus sont détectées entre décembre et mars, même si des cas sont recensés tout au long de l'année (Figure 24).

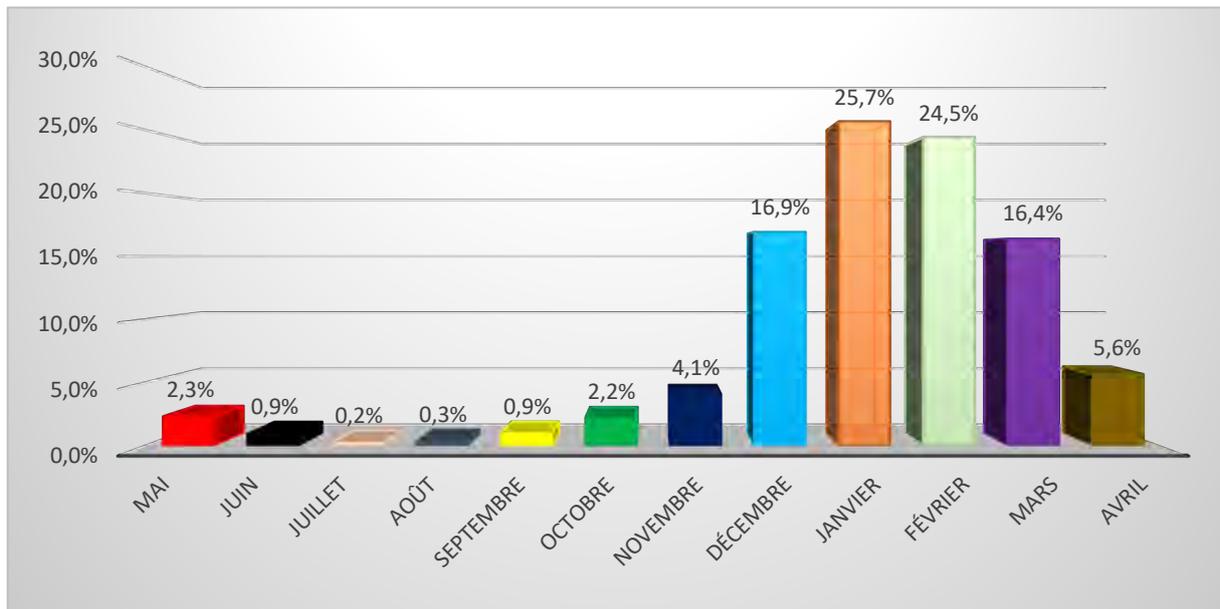


Figure 24 : Détection des Coronavirus au cours de l'année

En ce qui concerne les différentes souches de Coronavirus impliquées, le Coronavirus OC43 est retrouvé dans plus de la moitié des infections à Coronavirus (57 %). Le Coronavirus NL63 (29 %) est la 2^{ème} étiologie la plus retrouvée et enfin le Coronavirus 229E (14 %) est le moins fréquent (Figure 25).

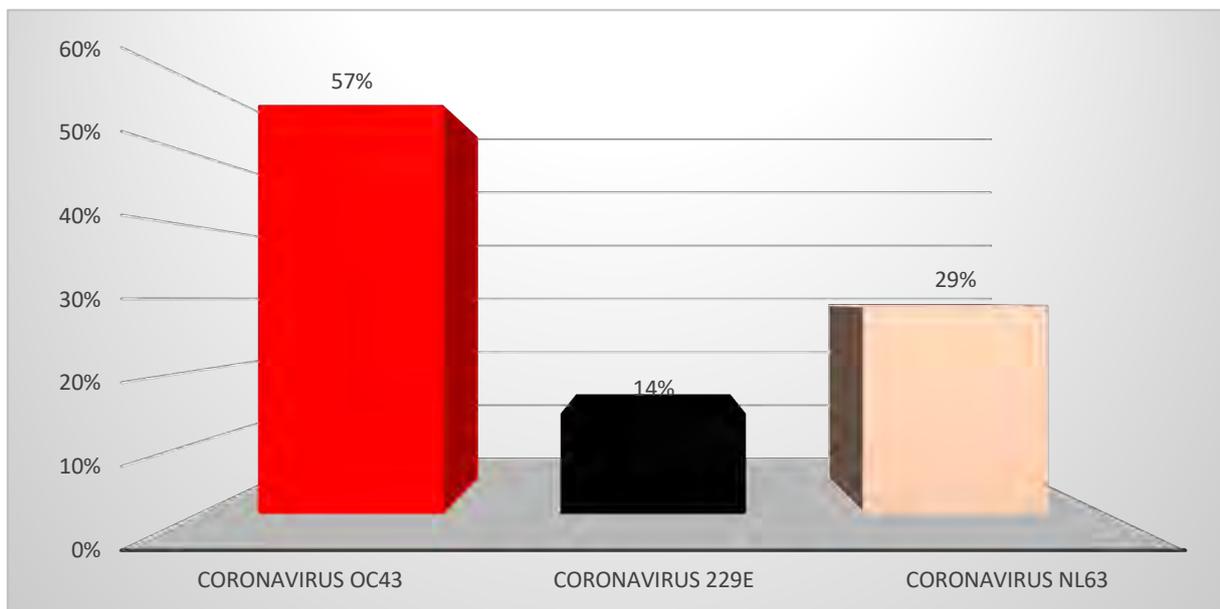


Figure 25 : Proportion des Coronavirus impliqués dans les infections respiratoires

Les virus respiratoires sont le plus souvent retrouvés chez les enfants de moins de 5 ans et chez les personnes âgées de plus de 65 ans (Figure 26).

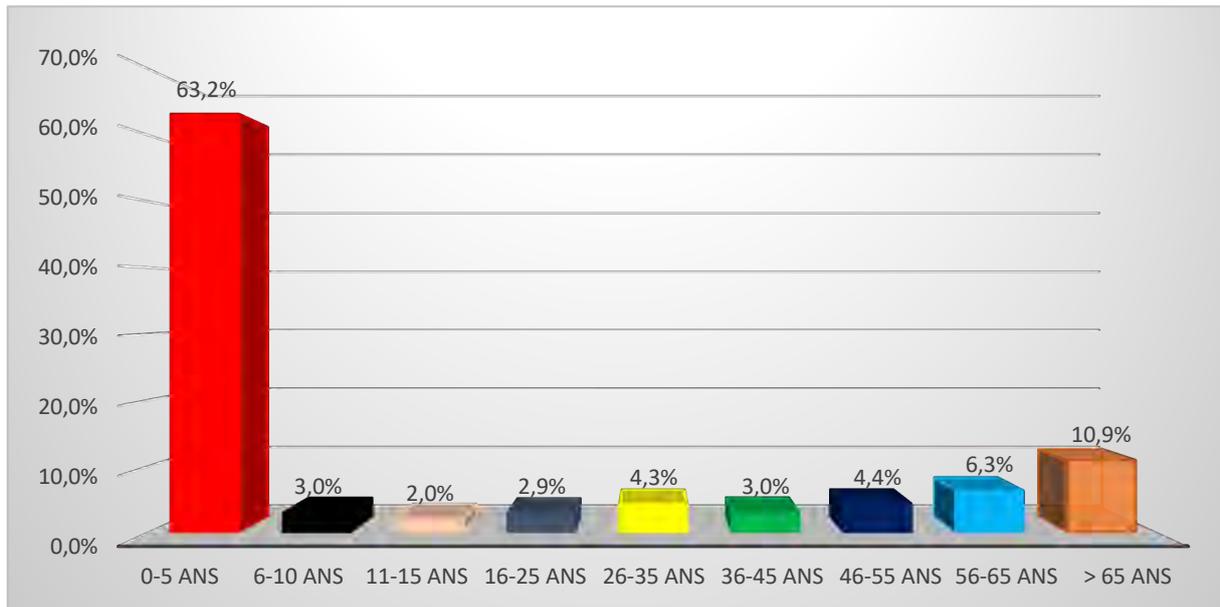


Figure 26 : Proportion de PCR positives en fonction de l'âge

Parmi les enfants de moins de 5 ans, les enfants âgés de 1 an ou moins sont les plus touchés. Les enfants entre 0 et 3 mois représentent 44,2 % des cas et ceux entre 4 mois et 1 an représentent 38,7 % des cas. Les enfants de plus de 1 an sont moins concernés et ne représentent que 17,1 % des PCR positives (Figure 27).

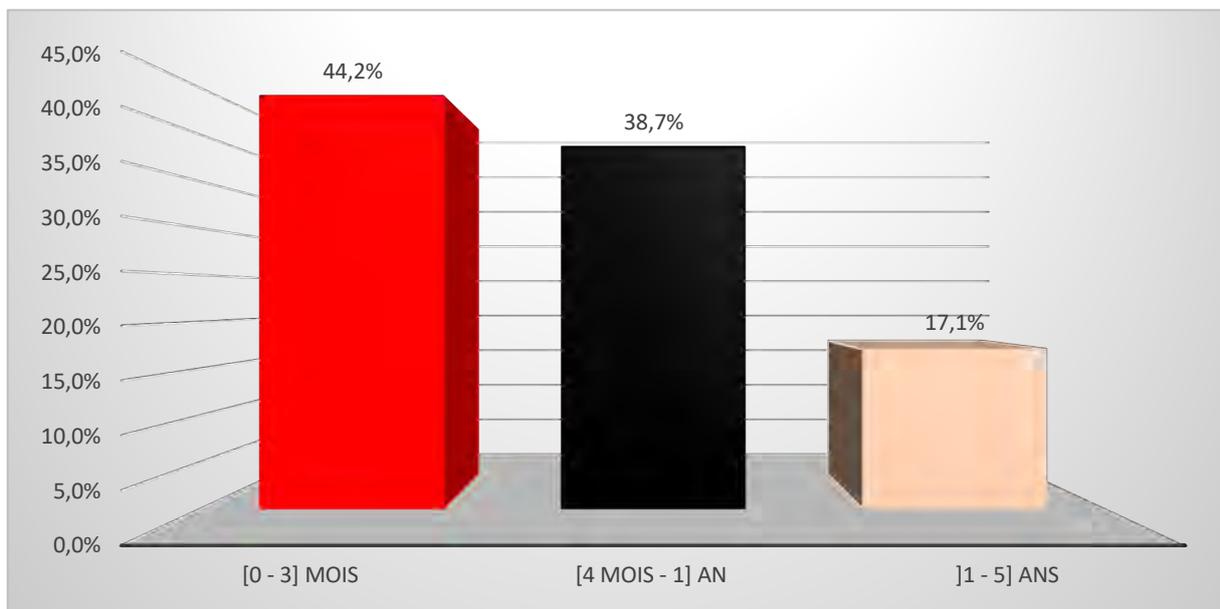


Figure 27 : Proportion des PCR positives chez les enfants de moins de 5 ans

Étude des patients hospitalisés en service de Réanimation

Pour notre étude nous avons retenu au total 131 patients hospitalisés en service de Réanimation, soins intensifs ou soins continus entre le 1^{er} Janvier 2012 et le 31 mai 2018, avec une PCR positive à Coronavirus.

A l'aide des données cliniques et biologiques nous avons tenté d'évaluer l'impact des Coronavirus au sein des services de Réanimation.

I. Épidémiologie des patients de Réanimation

Sur les 131 cas, 61 patients sont âgés de 5 ans ou moins et 28 sont âgés de plus de 65 ans. La moyenne d'âge est de 30,7 ans avec une médiane à 16 ans. Les âges varient de moins de 1 mois à 94 ans ([Figure 28](#)).

On dénombre 71 hommes et 60 femmes pour un sexe ratio H/F à 1,2.

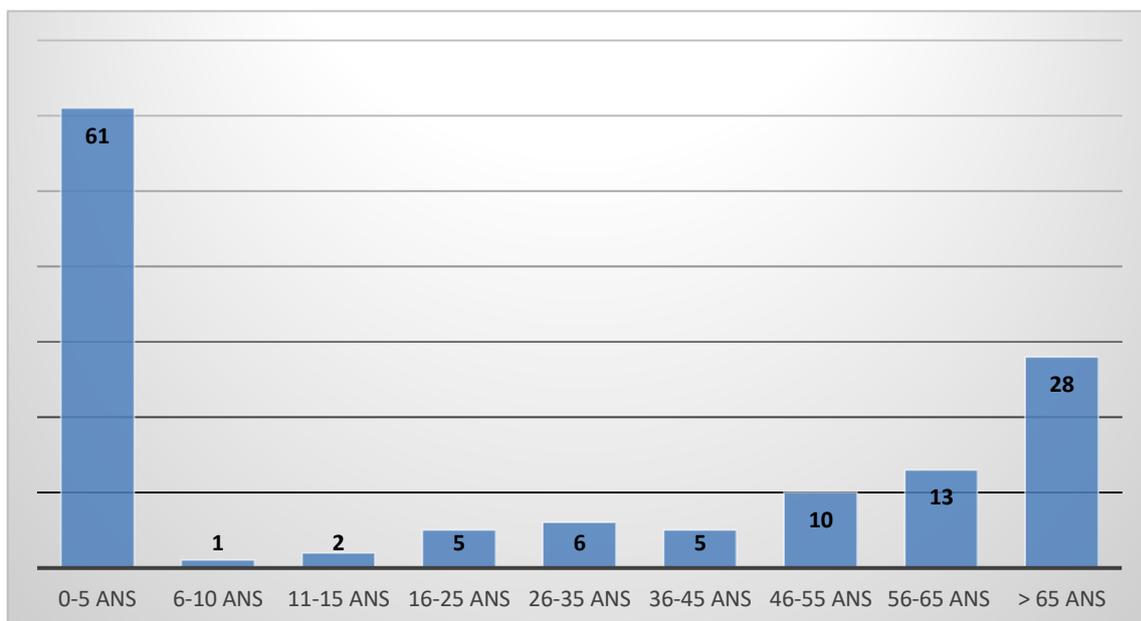


Figure 28 : Patients hospitalisés en réanimation en fonction de l'âge

Les comorbidités des patients ont été récupérées lors de notre études ([Figure 29](#)).

- 57 % des patients présentaient des troubles cardiovasculaires (hypertension artérielle, cardiopathie ischémique ou congénitale) ou des facteurs de risque :
 - ➔ 25 % avaient une hypertension artérielle ou une cardiopathie ischémique, 16 % avaient un tabagisme actif ou sévère et 11 % étaient diabétiques. Enfin 5 % des patients étaient obèses (IMC > 30).
- 34 % souffraient d'une immunodépression :
 - o 11 % avaient un traitement immunosuppresseur et 8 % avaient bénéficié d'une transplantation d'organe solide.
 - o 10 % étaient atteints d'hémopathies
 - o 3 % avaient un cancer solide

- 2 % avaient bénéficié une greffe de moelle osseuse (MO)
- Enfin 22 % avaient des troubles respiratoires :
 - 10 % étaient atteints d'insuffisance respiratoire chronique
 - 7 % avaient une BPCO
 - 5 % étaient asthmatiques

A noter que 4 patients souffraient d'alcoolisme chronique. Enfin pour 43 patients aucune comorbidité n'était mise en évidence.

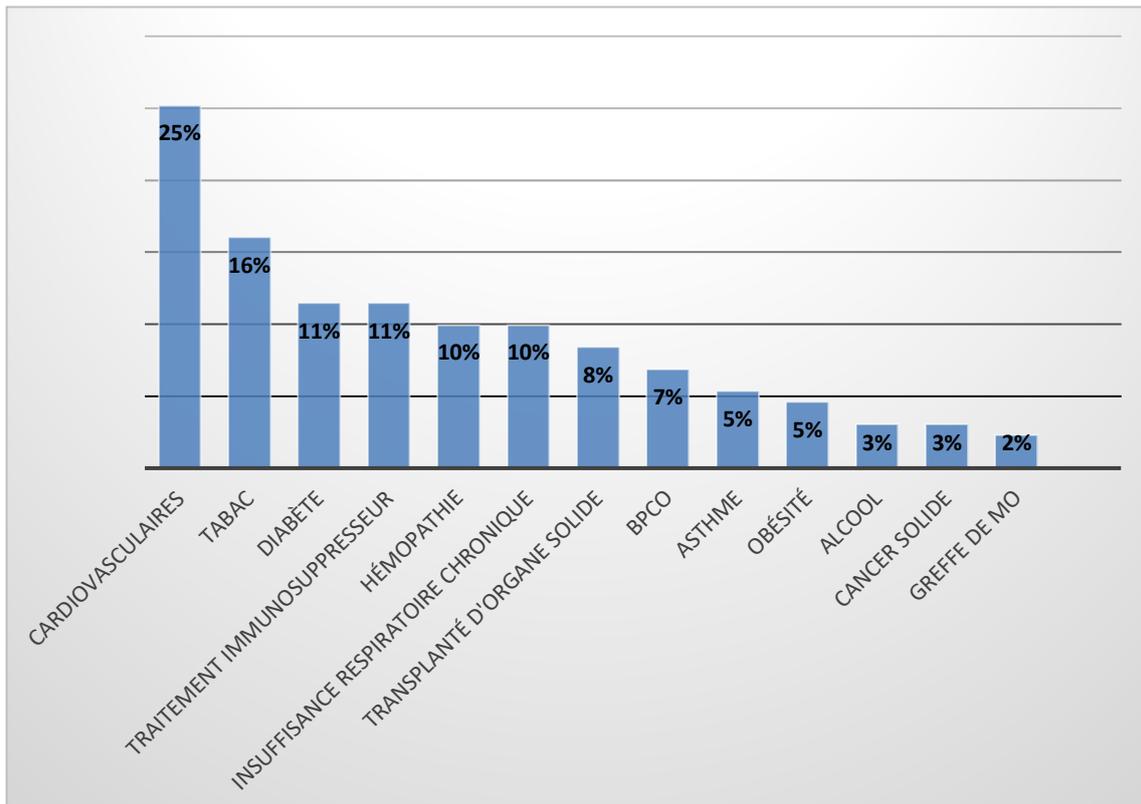


Figure 29 : Proportion des comorbidités parmi les patients de réanimation

II. Tableau clinico-biologique des patients entrants

Tableau clinique

Cliniquement, les symptômes le plus souvent retrouvés sont : la dyspnée (75 %), la fièvre (57 %) et la toux (25 %). A noter que 56 % des patients présentaient un état de détresse respiratoire à l'admission ou en ont développé une. Au total, 77 % des patients présentaient au moins un de ces symptômes (Figure 30).

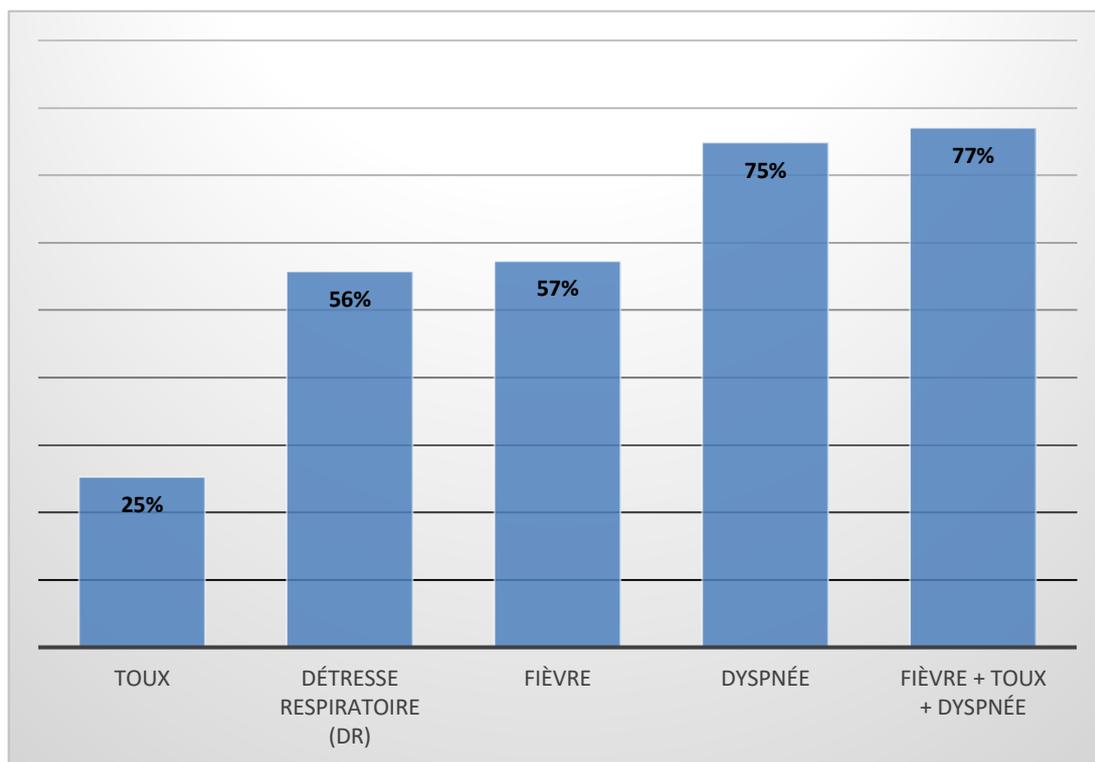


Figure 30 : Présentation clinique des patients

L'auscultation pulmonaire était documentée pour 67 % des patients. Parmi ces patients, les crépitants (38 % des patients) et les sibilants (32 %) sont le plus souvent décrits. Quelques patients présentent des ronchis (15 %). L'auscultation était normale dans 7 % des cas.

Les examens d'imagerie ont été réalisés / renseignés pour 68 % des patients. Pour ces patients on observe :

- Dans 17 % des cas un foyer pulmonaire
- 10 % des patients avaient un syndrome interstitiel
- Dans 9 % des cas on observait un syndrome bronchique
- 7 % présentaient des nodules ou micronodules
- 3 % avaient un aspect en verre dépoli
- L'examen est revenu normal dans 29 % des cas
- Le reste des patients présentait des atteintes plus rares tel que des bande d'atélectasies, des épanchements ou encore des distensions thoraciques

Tableau biologique

Les prélèvements biologiques ayant permis la mise en évidence des Coronavirus sont tous d'origine respiratoire. Il s'agit très majoritairement d'écouvillons naso-pharyngés (90 %). Certaines détections ont été faites sur des LBA (8 %), aspiration trachéale (1 patient) et prélèvement de gorge (1 patient)

Afin d'objectiver un éventuel syndrome inflammatoire, la CRP a pu être recherchée. La CRP était positive (> 5 mg/L) dans 67 % des cas :

- 27 % avaient une CRP élevée (> 100 mg/L)
- 14 % présentaient une CRP très élevée (> 200 mg/L)
- Dans de rares cas (7 %) la CRP atteignait un taux supérieur à 300 mg/L

Nous avons également pris en compte le taux des leucocytes et notamment les taux de lymphocytes et de polynucléaires neutrophiles.

Le taux moyen de lymphocytes était de 2979 éléments/mm³ pour des bornes comprises entre 1500 et 4000 éléments/mm³. 32 patients étaient lymphopéniques avec un taux inférieur à 900 éléments/mm³.

Pour les polynucléaires neutrophiles, le taux moyen retrouvé était de 8246 éléments/mm³ pour des bornes comprises entre 2000 et 7500 éléments/mm³. Une neutropénie modérée était retrouvée chez 12 patients toutes comprises (entre 500 et 1900 éléments/mm³).

1) Diagnostics

Les diagnostics établis ont été classés en 2 catégories : les infections respiratoires hautes (IRH) qui concernent 5 % des patients et les infections respiratoires basses (IRB) qui concernent 71 % des patients étudiés. Les patients restants (24 %) ne présentaient pas de symptomatologies respiratoires et ont été hospitalisés pour d'autres raisons.

Pour les patients hospitalisés pour une IRB, différents diagnostics ont été posés : 18 % présentaient une détresse respiratoire aiguë, 15 % une bronchiolite, 14 % une pneumopathie. On a également 9 % des patients qui ont présenté une décompensation cardiaque ou respiratoire. Enfin le diagnostic de myocardite a été posé chez 6 patients ([Figure 31](#)).

A noter qu'une exacerbation de BPCO est observée chez 3 patients et une exacerbation d'asthme chez 2 patients.

Parmi les patients, 4 ont présenté un sepsis sévère. Un patient présentait une co-infection bactérienne à *Campylobacter fetus*, les 3 autres ne présentaient aucune co-infection.

8 patients ont présenté un choc septique : 3 co-infectés avec *E. coli*, 2 avec *P. aeruginosa*, 2 avec *S. pneumoniae* et 1 avec un *A. fumigatus*.

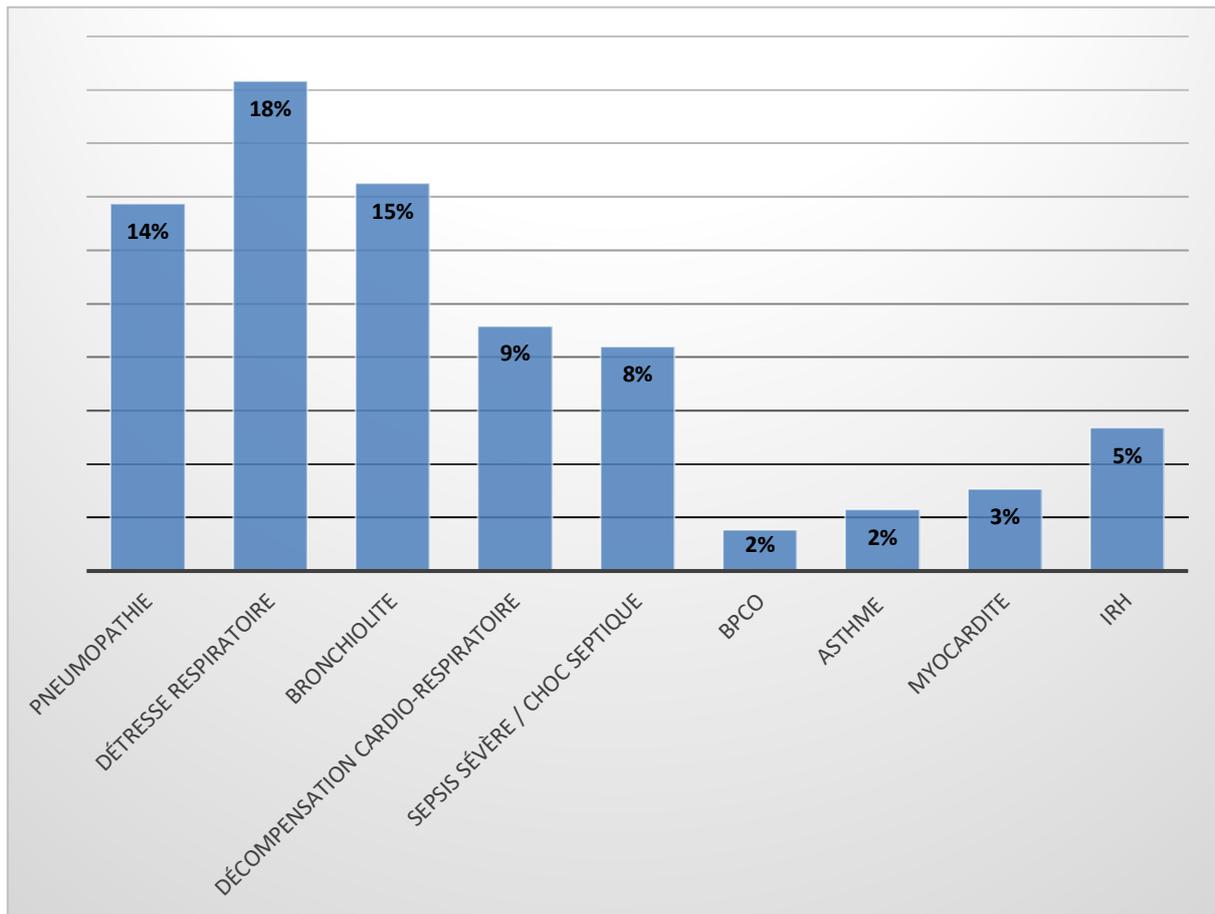


Figure 31 : Proportion des différents diagnostics établis chez les patients atteints d'IRB

2) Co-infections

Les co-infections ont également été prises en compte. Parmi nos patients, 36 % ne souffraient d'aucune co-infection virale, bactérienne ou fongique.

Chez 64 % des patients, un ou plusieurs micro-organismes ont été détectés en association à une infection à Coronavirus.

- Pour 35 % des patients il s'agit d'une co-infection virale
- Pour 15 % il s'agit d'une co-infection bactérienne
- Pour 1 % il s'agit d'une co-infection fongique
- 1 patient présentait une co-infection virale (autre que les Coronavirus), bactérienne et fongique
- 8 % des patients avaient une co-infection (virale autre que les Coronavirus) et bactérienne et 4 % des patients avaient une co-infection bactérienne et fongique associé à un HCoV.

Les différents micro-organismes retrouvés sont résumés dans le tableau (*Tableau 9*) ci-dessous.

Tableau 9 : Liste des différents pathogènes impliqués dans les co-infections observées

Co-infection Bactérienne	Nombre	Co-infection Virale	Nombre	Co-infection fongique	Nombre
<i>S. pneumoniae</i>	4	Rhinovirus	24	<i>P. jirovecii</i>	4
<i>H. influenzae</i>	3	VRS	19	<i>A. fumigatus</i>	2
<i>E. coli</i>	3	Influenza	10		
<i>P. aeruginosa</i>	3	Bocavirus	8		
Coqueluche	2	Adénovirus	7		
<i>E. cloacae</i>	2	Métopneumovirus	4		
<i>S. maltophilia</i>	2	Enterovirus	3		
<i>K. pneumoniae</i>	2	Parainfluenza	3		
<i>B. catarrhalis</i>	1				
<i>A. xylosoxidans</i>	1				

3) Hospitalisation et prise en charge

La durée d'hospitalisation est très variable selon les patients, variant de 24h à 116 jours. La durée moyenne d'hospitalisation est de 13 jours avec une médiane à 8 jours (*Figure 32*).

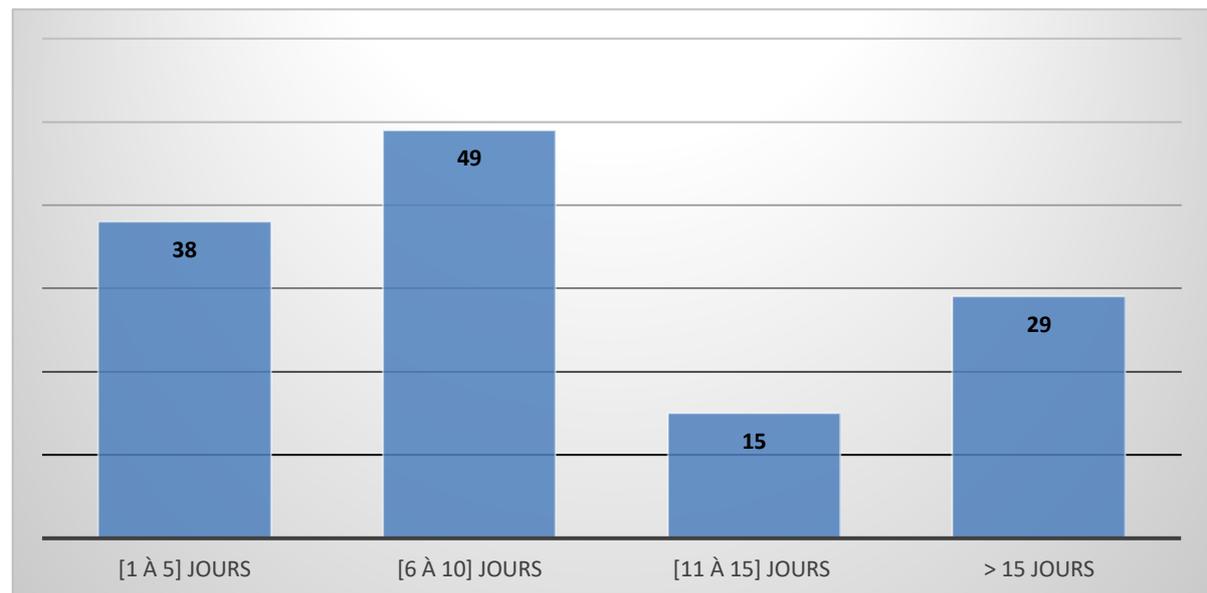


Figure 32 : Durée d'hospitalisation des patients en réanimation

Concernant la prise en charge des patients nous avons pris en compte la prise en charge non médicamenteuse (l'utilisation de ventilation non invasive (VNI) et l'intubation) et la prise en charge médicamenteuse (les traitements anti-infectieux).

Pour la prise en charge non médicamenteuse :

- 50 % des patients ont nécessité l'utilisation de VNI
- 13 % des patients ont été intubés
- 5 % des patients ont été pris en charge avec une VNI puis intubés devant l'aggravation du tableau respiratoire
- 32 % des patients n'ont pas nécessité d'assistance respiratoire

Pour la prise en charge médicamenteuse :

- 72 % ont reçu au moins une dose d'antibiotiques
- 10 % ont été traités par Tamiflu®
- 18 % des patients n'ont pas reçu de traitement anti-infectieux

A noter que 66 % des patients pour lesquels aucun autre pathogène respiratoire hormis les Coronavirus n'a été mis en évidence ont été traités par antibiotiques et/ou Tamiflu®.

4) Evolution

L'issue a été favorable pour 89 % des patients. Quatorze (11 %) décès ont été recensés parmi les 131 patients hospitalisés en réanimation :

- 3 patients avaient une infection à HCoV seul et sont décédés de complications respiratoires
- 2 patients avaient une co-infection virale. Le premier était co-infecté par la grippe A et le second par le Rhinovirus et le VRS. Tous deux sont également décédés de complications respiratoires.
- 4 patients avaient une co-infection bactérienne, 3 sont décédés de complications respiratoires.
- 2 patients avaient une co-infection à la fois bactérienne et virale. Tous deux sont décédés de complications respiratoires.
- 3 patients sont décédés des suites d'une infection fongique (deux pneumocystoses et une aspergillose pulmonaire)

Au total 10 patients sont décédés au cours d'une infection à Coronavirus avec ou sans surinfection d'origine virale, bactérienne ou fongique. Pour ces patients la durée d'hospitalisation variait de 3 à 116 jours ($28,6 \pm 30,1$). L'âge varie également de 11 mois à 87 ans ($50,8 \pm 30,3$).

III. Caractéristiques et facteurs de risque

1) Caractéristiques des infections graves à Coronavirus

Nous nous sommes particulièrement intéressés aux patients uniquement infecté par les Coronavirus (n=47). Nous avons tenté de mettre en évidence une corrélation entre certains paramètres tels que la symptomatologie, la CRP, la durée d'hospitalisation ou encore le type d'infection et la gravité de l'infection.

L'infection grave a été définie à l'aide des données de la littérature (138):

- atteinte des fonctions supérieures (altération de la conscience)
- atteinte des fonctions vitales : PA systolique < 90 mmHg, fréquence cardiaque > 120/min, fréquence respiratoire > 30 / min
- température < 35°C ou ≥ 40°C
- néoplasie associée (cancer actif ou diagnostiqué dans l'année, autre que basocellulaire)

Afin de tenter d'établir un lien nous avons pratiqué un test du Chi-2 (ou de Fisher lorsque $n < 5$) pour les variables quantitatives et qualitatives. Nous avons eu recours au test de Student pour les variables continues. Les données statistiques sont résumées dans le tableau ci-dessous (*Tableau 10*).

Tableau 10 : Caractéristiques des infections graves à Coronavirus

Symptômes	Infections graves n= 27 (57%)		p value
	Présence	Absence	
Dyspnée	20 (74%)	7 (26%)	< 0.01
Toux	10 (37%)	17 (63%)	0,1
Expectoration	1 (4%)	26 (97%)	0,83
Rhinorrhée	0 (0%)	27 (100%)	0,43
Fièvre	20 (74%)	7 (26%)	0,04
Douleur thoracique	2 (7%)	25 (93%)	0,40
Opacités en verre dépoli	2 (7%)	25 (93%)	0,30
CRP (moyenne, IC95%)	91,5 [47,4 ± 135,5]		0,26
DFG (moyenne, IC95%)	69,7 [52,5 ± 86,9]		0,52
Durée d'hospitalisation (moyenne, IC95%)	11,6 [7,1 ± 16,2]		0,35
Infection respiratoire haute	0 (0%)	27 (100%)	0,43
Infection respiratoire basse	25 (93%)	2 (7%)	< 0.01

On met en évidence grâce à cette analyse que la dyspnée ainsi que la fièvre toutes deux retrouvés chez 74 % des patients sont significativement associées aux infections graves avec respectivement $p < 0.01$ et $p = 0,04$.

On remarque également que les infections respiratoires basses sont logiquement corrélées aux infections graves de manière significative ($p < 0.01$).

A *contrario*, la toux ($p = 0,10$), les expectorations ($p = 0,83$), la rhinorrhée ($p = 0,43$) et les douleurs thoraciques ($p = 0,40$) ne sont pas significativement associées aux infections respiratoires graves.

Nous n'avons pas mis en évidence de lien significatif entre l'imagerie et la gravité de l'infection. En effet, la présence de nodules, micronodules ou d'opacité ne semble pas être associée à l'infection par les Coronavirus « saisonniers ».

Enfin, chez ces patients l'augmentation de la CRP ainsi que la durée d'hospitalisation ne semblent pas corrélées à la gravité de l'infection. Le débit de filtration glomérulaire (DFG, non intégré dans le tableau) ne semble pas impacté par les infections à Coronavirus saisonniers à la différence du MERS pour lequel une insuffisance rénale aiguë est très souvent retrouvée (42).

2) Facteurs de risque

Nous avons également tenté de mettre en évidence des facteurs de risque de ces infections graves à Coronavirus. Nous avons dans un premier temps réalisé une analyse univariée. Les données sont résumées dans le tableau (*Tableau 11*) ci-dessous.

Tableau 11 : Facteurs de risque des infections à Coronavirus

	Infection non grave n= 20 (43%)	Infection grave n= 27 (57%)	p value
Genre			
- Homme	7 (35%)	14 (52%)	0,25
- Femme	13 (65%)	13 (48%)	
Age moyen	18,9 [11,7 ; 26,3]	40,0 [32,4 ; 47,7]	< 0.01
Tabac	2 (10%)	5 (19%)	0,43
Hémopathie	2 (10%)	4 (15%)	0,63
Cancer solide	2 (10%)	0 (0%)	0,18
IMC > 30	1 (5%)	2 (7%)	1,0
Diabète	3 (15%)	2 (7%)	0,64
Terrain cardiaque	6 (30%)	8 (30%)	0,98
Asthme	1 (5%)	3 (11%)	0,46
BPCO	0 (0%)	5 (19%)	0,04
Insuffisance respiratoire chronique	0 (0%)	6 (22%)	0,02
Greffe de Moelle Osseuse	1 (5%)	2 (7%)	0,74
Transplanté d'organe solide	4 (20%)	2 (7%)	0,20
Traitement immunosuppresseur	5 (25%)	2 (7%)	0,09
Taux de lymphocytes (nb d'éléments/mm³)	3882 [1946 ; 5818]	2330 [836 ; 3823]	0,18

L'âge est le facteur de risque mis en évidence. Les patients les plus âgés sont les plus à risque d'infection grave ($p < 0.01$). Les patients atteints de BPCO ainsi que d'insuffisance respiratoire chronique ont également un risque accru de développer une infection grave à Coronavirus ($p = 0,04$ et $p = 0,02$ respectivement). Cependant il semblerait que l'asthme ($p = 0,46$) ne soit pas un facteur de risque.

De plus, les hémopathies ($p = 0,63$) et cancers solides ($p = 0,18$), la transplantation d'organe ($p = 0,20$), la greffe de moelle osseuse ($p = 0,74$), les traitements immunosuppresseurs ($p = 0,09$), le tabac ($p = 0,43$), l'obésité ($p = 1,0$), le diabète ($p = 0,64$), les atteintes cardiaque ($p = 0,98$) ne sont pas corrélés de manière significative aux formes graves.

Enfin le taux de lymphocytes ($p = 0,18$) ne semble pas lié de manière significative aux infections graves.

Dans un second temps, nous avons réalisé une analyse multivariée (Tableau 12) afin d'évaluer les facteurs de risque significativement associés aux infections graves après ajustement sur les facteurs de confusion potentiels. Pour réaliser cette analyse nous avons conservé toutes les variables avec une p value $< 0,2$. Le genre a également été pris en compte malgré une p value $> 0,2$ en tant que facteur de confusion reconnu par la littérature.

Tableau 12 : Analyse multivariée des facteurs de risque d'infection grave à Coronavirus

	OR (IC 95%)	p value
Genre	0,338 (0,021 ; 5,318)	0,44
Age	1,112 (0.968 ; 1.292)	0,13
Traitement immunosuppresseur	0,341 (0.006 ; 18.686)	0,59
BPCO	Variable non prise en compte du fait d'une colinéarité avec d'autres variables.	
Insuffisance respiratoire chronique		
Cancer solide		

L'analyse multivariée réalisée n'a pas permis d'associer de manière significative aucun facteur de risque en lien avec le développement d'une forme grave d'infection à Coronavirus.

Discussion

Notre travail met en évidence le recours de plus en plus important au fil des années de la PCR multiplex respiratoire. Cette dernière présente plusieurs avantages : un prélèvement facile, un résultat rapide (parfois obtenu en moins d'une heure) et la détection de plusieurs pathogènes respiratoires de manière simultanée. Elle permet également la détection de virus de découverte récente tel que les Coronavirus NL63 en 2004 (6), HKU1 en 2005 (7). Cette détection facilite les modalités de prise en charge notamment en réduisant l'utilisation des antibiotiques lorsque aucune co-infection d'origine bactérienne n'est mise en évidence.

Les Coronavirus sont responsables de 9,9 % des infections du tractus respiratoires détectées au CHU de Toulouse. Ce taux varie selon les années (entre 7,8 % et 11 %) mais reste similaire à celui retrouvé dans la littérature qui décrit des taux variant de 4 à 10 % (35–39). Notre travail permet également de confirmer l'importance de certains virus tel que le Rhinovirus, les virus Influenza A et B, le VRS ainsi que l'Adénovirus qui sont décrits comme les plus prévalents dans la littérature (36,38). Ainsi les Coronavirus occupent la cinquième place parmi les virus respiratoires les plus retrouvés dans notre étude démontrant leur importance et surtout l'intérêt de les rechercher.

Au cours de notre travail nous mettons en évidence une saisonnalité des infections à Coronavirus. En effet 89,1 % des infections détectés l'ont été en hiver entre les mois de Décembre et Mars, Cette saisonnalité est également décrite dans la littérature (36,37). La saisonnalité des infections respiratoires est expliquée par différents paramètres qui favorisent les infections respiratoires virales : modification des comportements, diminution de la clairance mucociliaire, faible humidité, diminution de la réponse immunitaire de l'hôte (139). Il a été démontré que la clairance mucociliaire est plus faible lorsque la température diminue. La réponse immunitaire et notamment la production d'interféron est diminuée lorsque les températures sont basses limitant la réponse immunitaire innée et favorisant les infections respiratoires virales (139). Le pic d'infections semble se produire au mois de Janvier. Mais les Coronavirus circulent toutes l'année dans une proportion relativement faible (moins de 1 %) notamment au cours des mois de juin à septembre.

Comme nous l'avons évoqué, les virus respiratoires sont nombreux et circulent durant la période hivernale. Cette circulation simultanée favorise les co-infections. Nous retrouvons un taux élevé de co-infections ; dans 49% des cas les Coronavirus sont détectés avec au moins un autre virus respiratoire. Ce taux est plus élevé que ceux observés dans la littérature qui vont de 11 à 41 % (36,37). Le taux de co-infections retrouvé peut en partie s'expliquer par l'utilisation d'une technique multiplex qui permet de détecter plusieurs virus différents.

La dyspnée (75 %), la fièvre (57 %) et la toux (25 %) sont les symptômes le plus souvent retrouvés. Un des faits majeurs de notre travail est de trouver que 56 % des patients ont développé une détresse respiratoire.

La fièvre et la toux sont des symptômes relativement courants dans les infections respiratoires et très souvent décrits dans la littérature (31,35,38) il n'est donc pas surprenant de les mettre en évidence au cours de notre étude.

La dyspnée est retrouvée dans une proportion non négligeable, entre 23,5 % et 35,7 % pour les patients non-hospitalisés et jusqu'à 71,4 % chez les patients hospitalisés (35). On remarque donc que la symptomatologie peut être relativement bruyante au cours d'une infection à Coronavirus.

Enfin, 56 % des patients ont développé une détresse respiratoire. Chez 34 % des patients ayant développé une détresse respiratoire, il n'a été mis en évidence aucun autre pathogène respiratoire que les Coronavirus. A notre connaissance même si des formes graves d'infections à Coronavirus ont été décrites (100,112) aucune cohorte n'a permis de mettre en évidence la détresse respiratoire comme une conséquence des infections à Coronavirus « saisonniers ». On peut donc en déduire que la dyspnée fébrile est une définition possible de l'impact grave de ces Coronavirus. Cette dyspnée fébrile peut ensuite évoluer vers la détresse respiratoire de la même manière qu'avec les virus influenza ou le SARS-CoV 2 (12,55,56). Cette observation montre l'importance de la détection de ces Coronavirus « saisonniers ». D'une part, car le diagnostic ne peut se faire uniquement sur la clinique, d'autre part pour éliminer une infection par SARS-CoV 2 durant la période hivernale qui approche et pour lequel on peut observer une symptomatologie similaire.

Concernant les paramètres biologiques, nous nous sommes intéressés à la CRP. La CRP est une protéine de l'inflammation dont le taux peut s'élever en cas d'infection mais également dans des pathologies tel que la polyarthrite rhumatoïde ou au cours de cancers (140,141). Au cours de notre étude on remarque que la CRP est significativement ($p = 0,012$) plus élevée chez les patients pour lesquels on décrit une infection grave. Cependant il est intéressant de noter que chez les patients uniquement infectés par les Coronavirus aucun lien n'est fait de manière significative entre la CRP et la gravité de l'infection. Cette observation sous-entend que l'infection virale à elle seule ne permet pas d'expliquer l'augmentation de la CRP. On peut supposer que les co-infections virales, bactériennes ou encore fongiques jouent un rôle important dans l'élévation de la CRP. On peut également en déduire que la CRP ne permet pas d'évaluer la gravité de l'infection à Coronavirus seule.

Nous nous sommes également intéressés au débit de filtration glomérulaire. Des insuffisances rénales aiguës ont été observées avec le MERS coronavirus lors des cas les plus graves (8,31,42). Au cours de notre étude, aucune différence significative ($p = 0,52$) n'a été mise en évidence avec les patients ayant développé une infection grave suggérant que les Coronavirus « saisonniers » n'ont pas la même physiopathologie.

Les paramètres radiologiques ont également été pris en compte dans notre étude. Les patients atteints de formes graves ne semblent pas avoir de signes radiologiques significatifs et évocateurs d'une infection à Coronavirus ($p = 0,30$). Plus globalement, lors de notre recueil de données très peu de lésions ou signes radiologiques (nodules, micronodules, opacité en verre dépoli) ont été décrits chez les patients quelle que soit la gravité de l'infection. A *contrario* chez les patients infectés par le SARS-CoV 2, l'imagerie peut s'avérer très utile notamment pour le diagnostic. Des opacités en verre dépoli sont le plus fréquemment retrouvées, parfois des atteintes interstitielles ou d'autres signes en faveur de pneumopathie (12,55,57).

Nous avons également observé six cas de myocardites durant notre période d'étude. Pour deux patients le diagnostic étiologique a été posé : le premier par la mise en évidence du Parvovirus B19 dans une ponction de liquide péricardique et pour le second l'EBV a été retenu comme agent causal du fait d'une sérologie IgM VCA positive. Dans ces deux cas, l'infection à HCoV pouvait n'être qu'accompagnatrice. Pour les quatre autres patients, aucune étiologie virale, bactérienne ou fongique n'a été mis en évidence de façon directe ou indirecte à l'exception d'un Coronavirus (deux NL63, un 229E et un OC43). Dans la littérature, un « case-report » fait état d'une myocardite à Coronavirus mais avec une co-infection à EBV (142). Un second cas de myocardite est décrit mais associé au MERS (143).

Il semblerait donc que les Coronavirus puissent être impliqués dans les myocardites. Malheureusement, aucun Coronavirus n'a été mis en évidence sur une biopsie cardiaque chez nos patients ni dans les deux publications citées.

Il est intéressant de noter dans notre étude que près de 70 % des patients ayant développé une IRB présentent au moins une comorbidité. Cette observation nous laisse à supposer que les comorbidités augmentent le risque de développer une IRB plus ou moins en grave. Des données similaires sont décrites dans la littérature notamment avec le SARS-CoV 2 (35,60,61,97). Les 30 % de patients restant appartiennent à la population pédiatrique (âge < 15 ans). Il semblerait donc que les enfants soient également plus à risque de développer une IRB même en l'absence de comorbidités notamment les enfants de 2 ans qui représentent 76 % des enfants ayant développé une IRB. Cette observation est également rapportée dans la littérature (93).

Au cours de notre étude nous avons pu mettre en évidence certains facteurs de risque d'infection grave à HCoVs. Le premier facteur de risque mis en évidence lors de l'analyse univariée est l'âge ($p < 0.01$). La moyenne d'âge pour les infections graves à HCoVs est de 40,0 ans contre 18,9 ans pour les infections non graves. L'âge est le facteur de risque d'infections respiratoires largement décrit dans plusieurs publications notamment avec le SARS-CoV 2 qui circule actuellement (35,58,94,99). Cependant la moyenne d'âge observée dans notre étude est inférieure à celle décrite retrouvée dans la littérature (58,94). Ceci suppose que les personnes âgées de plus de 65 ans ne sont pas les seules à risque de développer une infection grave à HCoVs.

Nous nous sommes également intéressés aux hémopathies, aux cancers solides et greffes de moelle osseuse (MO) comme facteurs de risque. Nous n'avons pas mis en évidence de lien significatif entre ces différents facteurs de risque et le développement d'une infection grave à HCoVs : hémopathie ($p = 0,63$), cancer solide ($p = 0,18$), greffe de MO ($p = 0,74$). Ces comorbidités sont pourtant des facteurs de risque d'infections très largement décrits dans la littérature (101–105,111,112). Cette différence peut s'expliquer par notre cohorte de patients. Nous avons étudié les patients entrant en réanimation au sein du CHU, les études retrouvées dans la littérature concernent le plus souvent des patients atteints d'hémopathies. De plus la faiblesse de l'effectif de ces patients (13 hémopathies et 4 cancers solides) rend difficilement comparables nos données avec celle de la littérature.

Pour les patients ayant bénéficié d'une transplantation d'organe et/ou sous traitement immunosuppresseur ($n=15$) nous ne mettons pas en évidence de lien significatif ($p= 0,20$ et $p= 0,09$ respectivement) avec la survenue d'une forme grave d'infection à HCoVs. Les données de la littérature montrent que les virus respiratoires dont les HCoVs peuvent être responsables de bronchiolite oblitérante et entraîner le rejet du greffon chez les patients ayant subi une transplantation pulmonaire (108–110). Là encore le nombre de patients concernés étant limité, il est difficile de comparer nos résultats à ceux de la littérature. Cependant il est à noter qu'au cours de notre étude 3 patients sont décédés, mais chaque patient était co-infecté avec au moins un autre pathogène respiratoire d'origine virale, bactérienne ou fongique.

Nous avons également pris en compte le diabète et l'obésité comme facteurs de risque. Lors de l'analyse univariée, aucun des deux paramètres n'est associé à un risque d'infection grave à Coronavirus ($p= 0,64$ et $p= 1,0$ respectivement). Cependant, il a été démontré que ce sont deux

facteurs de risque important pour le SARS-CoV 2 (60,61). Là encore les Coronavirus ont un impact et une physiopathologie différentes. Néanmoins, nos effectifs étant limités ($n = 3$ pour l'obésité et $n = 5$ pour le diabète), il est difficile de comparer nos données avec celles de la littérature. Une étude basée sur une cohorte plus importante serait intéressante pour véritablement évaluer ces deux facteurs de risque.

Nous nous sommes intéressés aux patients ayant des atteintes respiratoires préexistantes tel que la BPCO ou ayant une insuffisance respiratoire chronique. Dans le modèle univarié ces deux paramètres sont, de manière significative ($p = 0,04$ et $p = 0,02$ respectivement), des facteurs de risque de développer une infection grave à Coronavirus. Cette observation est en accord avec les données la littérature (62,97). En effet ces patients sont plus susceptibles aux infections respiratoires et sont plus à risque de développer des complications. Malgré cela, l'analyse multivariée n'a pas confirmé ce résultat. On peut vraisemblablement expliquer cette différence par la prise en charge précoce de ces patients. De plus chez ces patients le recours à la PCR multiplex peut s'avérer intéressant pour déterminer l'étiologie d'une exacerbation afin d'adapter la prise en charge au mieux.

Concernant la prise en charge, la prescription antibiotique reste très importante. Au total 77 % des patients ont reçu au moins une dose d'antibiotique au cours de leur hospitalisation. Parmi eux 70 % n'ont pas eu d'infection bactérienne documentée, seul un ou plusieurs virus ont été détectés. On constate donc que l'usage d'antibiotiques reste important en milieu hospitalier sans preuve associée d'une infection bactérienne. Ceci est probablement lié au biais de notre effectif de patients de réanimation ; ce sont souvent des patients graves, parfois en de détresse respiratoire sans point d'appel orientant vers une infection bactérienne ou non expliquant le recours aux antibiotiques de manière probabiliste. Ce qui est surprenant c'est le maintien de l'antibiothérapie malgré la détection de Coronavirus et des prélèvements de bactériologie stériles. On remarque aussi de manière étonnante que les Coronavirus ne sont pas retenus comme étiologie possible, plusieurs comptes rendus d'hospitalisation concluant le séjour de la manière suivante « infection respiratoire d'étiologie inconnue » ou encore « probable infection bactérienne sans germe mis en évidence ».

L'analyse univariée a permis de mettre en évidence un lien significatif entre les infections graves et les co-infections bactériennes ($p = 0,04$). On peut donc supposer que l'infection à Coronavirus favorise les surinfections bactériennes entraînant des tableaux cliniques plus graves. C'est un phénomène observé également avec d'autres virus comme la grippe (144) mais il existe un vaccin contre la grippe, ce qui n'est malheureusement pas le cas concernant les Coronavirus malgré de nombreuses études en cours. De la même manière, aucun traitement n'est actuellement validé dans le cadre des infections à Coronavirus.

La létalité observée au cours de notre étude est de 7 % (10 patients décédés de causes respiratoires). Il est difficile de comparer cette donnée à celle de la littérature car aucune étude à notre connaissance n'a évalué la létalité sur une telle cohorte. On peut néanmoins la comparer aux trois virus épidémiques que sont le SARS, le MERS et le SARS-CoV 2 :

- Le SARS a provoqué 8096 cas pour 774 morts soit un taux de létalité de 9,6 % (5)
- Le MERS a infecté 2519 personnes dont 866 décès soit une létalité de 34,4 % (43)
- La létalité du SARS-CoV 2 est estimée à 3 % au niveau mondial (48)

Le SARS et surtout le MERS ont des taux de létalité plus élevés que les Coronavirus « saisonniers ». Ce sont des virus beaucoup plus virulents et cette observation n'est pas surprenante. Néanmoins on

remarque que les Coronavirus «saisonniers » auraient une létalité supérieure à celle du SARS-CoV 2. Nous n'avons étudié que les patients de réanimation, la létalité en prenant en compte la population générale est bien plus faible (\cong 1% dans notre étude) et ne peut être comparée à celle du SARS-CoV 2.

Conclusion

Les Coronavirus saisonniers sont des pathogènes respiratoires d'importance. Ils représentent en moyenne 10 % des pathogènes respiratoires viraux détectés au CHU de Toulouse chaque année. Cependant l'incidence est difficile à déterminer avec exactitude étant donné que de nombreuses infections à Coronavirus sont asymptomatiques ou pauci symptomatique et ne sont donc pas un motif de consultation.

Il est important de noter que les Coronavirus « saisonniers » détectés à l'aide des nouveaux outils de biologie moléculaire sont des pathogènes non négligeables capables d'entraîner des infections respiratoires graves pouvant conduire au décès. Une utilisation plus importante de la PCR multiplex permettrait également de limiter l'utilisation d'antibiotiques qui parfois n'est pas nécessaire dans le cadre d'infection virale sans surinfection bactérienne.

La détection de ces virus est d'autant plus importante durant cette période de circulation du SARS-CoV 2 responsable d'une pandémie mondiale. Les tableaux cliniques pouvant être proches entre ce virus et les Coronavirus « saisonniers » (et plus globalement avec les différents virus respiratoires), il est important d'avoir un diagnostic étiologique rapide afin d'optimiser la prise en charge des patients mais également dans le but d'endiguer la propagation du SARS-CoV 2.

A côté des HCoVs « saisonniers », il est également intéressant de noter que le SARS-CoV 2 est le troisième virus appartenant à la famille des *Coronaviridae* responsable d'une pandémie / épidémie majeure (trois en 20 ans : 2002/2003 ; 2012 ; 2019/2020). Il est moins virulent et surtout beaucoup moins létal que ses deux prédécesseurs (le SARS et le MERS) mais a néanmoins provoqué beaucoup plus de dégâts tant au niveau sanitaire, social et économique. Il semblerait que les Coronavirus ont une propension naturelle à développer des souches pouvant provoquer des épidémies.

Cette situation met en évidence le manque de moyens dont nous disposons pour lutter contre les infections virales. En effet malgré trois événements majeurs dont un en cours dus à des Coronavirus aucun traitement et aucun vaccin ne sont disponibles. De nombreux essais et études sont en cours afin de trouver un traitement efficace ou de développer un vaccin. Certaines données de la littérature montrent que les coronavirus semblent peu immunogènes et sont causes de réinfections. Un vaccin est-il alors une solution viable pour contenir cette épidémie ou les épidémies futures ? Un traitement antiviral efficace ne serait pas plus approprié dans un tel cas ?

En conclusion, les Coronavirus « saisonniers » ont une importance majeure. Ils peuvent être responsables d'infections graves pouvant conduire au décès. Ils sont à la cinquième position des virus les plus retrouvés dans les infections respiratoires virales. Ces observations démontrent l'importance du développement de nouveaux outils permettant leurs détections. Le développement de ces outils est d'autant plus nécessaire avec l'émergence de « nouveaux » Coronavirus que sont le SARS, le MERS et le SARS-CoV 2. Ils sont responsables de plusieurs épidémies / pandémies en 20 ans ce qui nous laisse à penser qu'à l'avenir l'apparition de nouveaux Coronavirus est probable mettant en évidence l'importance de la surveillance de ces virus.

Afin de se prémunir de ces infections des mesures simples existent telles que le lavage efficace des mains, le port du masque et la distanciation physique. A l'heure actuelle aucun vaccin ni aucun traitement n'est validé pour la prévention ou le traitement des Coronavirus. Ces gestes simples sont donc importants pour prévenir les infections notamment chez les personnes à risque.

L'émergence du SARS-CoV 2 pose plusieurs questions, va-t-il « remplacer » la grippe particulièrement lors de la période hivernale qui débute ? Est-il un indicateur des nouveaux risques à venir du fait de l'émergence de nouveaux virus. La pandémie du SARS-CoV 2 va-t-elle être maîtrisée ? Où va-t-il devenir un nouveau virus hivernal suivant la même saisonnalité que les Coronavirus « saisonniers », la grippe ou le VRS ?

Bibliographie

1. Les 10 principales causes de mortalité [Internet]. [cité 7 avr 2020]. Disponible sur: <https://www.who.int/fr/news-room/fact-sheets/detail/the-top-10-causes-of-death>
2. Almeida JD, Tyrrell DAJ. The Morphology of Three Previously Uncharacterized Human Respiratory Viruses that Grow in Organ Culture. *Journal of General Virology*. 1 avr 1967;1(2):175-8.
3. Macnaughton MR, Madge MH. The Genome of Human Coronavirus Strain 229E. *Journal of General Virology*. 1 juin 1978;39(3):497-504.
4. Tannock GA, Hierholzer JC. The RNA of human coronavirus OC-43. *Virology*. 1 janv 1977;78(2):500-10.
5. Peiris JSM. The Severe Acute Respiratory Syndrome. *The New England Journal of Medicine*. 2003;11.
6. van der Hoek L, Pyrc K, Jebbink MF, Vermeulen-Oost W, Berkhout RJM, Wolthers KC, et al. Identification of a new human coronavirus. *Nat Med*. avr 2004;10(4):368-73.
7. Woo PCY, Lau SKP, Chu C -m., Chan K -h., Tsoi H -w., Huang Y, et al. Characterization and Complete Genome Sequence of a Novel Coronavirus, Coronavirus HKU1, from Patients with Pneumonia. *Journal of Virology*. 15 janv 2005;79(2):884-95.
8. Zaki AM, van Boheemen S, Bestebroer TM, Osterhaus ADME, Fouchier RAM. Isolation of a Novel Coronavirus from a Man with Pneumonia in Saudi Arabia. *N Engl J Med*. 8 nov 2012;367(19):1814-20.
9. Tyrrell DAJ, Bynoe ML. Cultivation of Viruses from a High Proportion of Patients with Colds. *The Lancet*. janv 1966;287(7428):76-7.
10. Hamre D, Procknow JJ. A New Virus Isolated from the Human Respiratory Tract. *Experimental Biology and Medicine*. 1 janv 1966;121(1):190-3.
11. McIntosh K, Dees JH, Becker WB, Kapikian AZ, Chanock RM. Recovery in tracheal organ cultures of novel viruses from patients with respiratory disease. *Proc Natl Acad Sci U S A*. avr 1967;57(4):933-40.
12. Wu D, Wu T, Liu Q, Yang Z. The SARS-CoV-2 outbreak: What we know. *International Journal of Infectious Diseases*. 1 mai 2020;94:44-8.
13. Laude PH. Les coronavirus, biologie cellulaire et moléculaire. :14.
14. International Committee on Taxonomy of Viruses (ICTV) [Internet]. [cité 7 avr 2020]. Disponible sur: <https://talk.ictvonline.org/taxonomy/>
15. Siddell S, Wege H, Ter Meulen V. The Biology of Coronaviruses. *Journal of General Virology*. 1 avr 1983;64(4):761-76.
16. Vabret A, Dina J, Brison E, Brouard J, Freymuth F. Coronavirus humains (HCoV). *Pathologie Biologie*. mars 2009;57(2):149-60.
17. Kin N, Vabret A. Les infections à coronavirus humains. *Revue Francophone des Laboratoires*. déc 2016;2016(487):25-33.
18. Weiss SR, Navas-Martin S. Coronavirus Pathogenesis and the Emerging Pathogen Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus. *Microbiol Mol Biol Rev*. déc 2005;69(4):635-64.
19. Woo PCY, Huang Y, Lau SKP, Yuen K-Y. Coronavirus Genomics and Bioinformatics Analysis. *Viruses*. 24 août 2010;2(8):1804-20.
20. Staple DW, Butcher SE. Pseudoknots: RNA Structures with Diverse Functions. *PLoS Biol*. 14 juin 2005;3(6):e213.
21. Fehr AR, Perlman S. Coronaviruses: An Overview of Their Replication and Pathogenesis. *Coronaviruses*. 12 févr 2015;1282:1-23.
22. Belouzard S, Millet JK, Licitra BN, Whittaker GR. Mechanisms of Coronavirus Cell Entry Mediated by the Viral Spike Protein. *Viruses*. 20 juin 2012;4(6):1011-33.
23. Li F. Structure, Function, and Evolution of Coronavirus Spike Proteins. *Annual Review of Virology*. 2016;3(1):237-61.

24. Ujike M, Taguchi F. Incorporation of Spike and Membrane Glycoproteins into Coronavirus Virions. *Viruses*. 3 avr 2015;7(4):1700-25.
25. Hurst KR, Koetzner CA, Masters PS. Identification of In Vivo-Interacting Domains of the Murine Coronavirus Nucleocapsid Protein. *J Virol*. juill 2009;83(14):7221-34.
26. Brierley I, Dos Ramos FJ. Programmed ribosomal frameshifting in HIV-1 and the SARS-CoV. *Virus Res*. juill 2006;119(1):29-42.
27. Gorbalenya AE, Snijder EJ, Ziebuhr J. Virus-encoded proteinases and proteolytic processing in the Nidovirales. *Journal of General Virology*. 1 avr 2000;81(4):853-79.
28. van Hemert MJ, van den Worm SHE, Knoop K, Mommaas AM, Gorbalenya AE, Snijder EJ. SARS-Coronavirus Replication/Transcription Complexes Are Membrane-Protected and Need a Host Factor for Activity In Vitro. *PLoS Pathog* [Internet]. 2 mai 2008 [cité 10 avr 2020];4(5). Disponible sur: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2322833/>
29. Fischer F, Stegen CF, Masters PS, Samsonoff WA. Analysis of Constructed E Gene Mutants of Mouse Hepatitis Virus Confirms a Pivotal Role for E Protein in Coronavirus Assembly. *J Virol*. oct 1998;72(10):7885-94.
30. Boscarino JA, Logan HL, Lacny JJ, Gallagher TM. Envelope Protein Palmitoylations Are Crucial for Murine Coronavirus Assembly. *J Virol*. mars 2008;82(6):2989-99.
31. Su S, Wong G, Shi W, Liu J, Lai ACK, Zhou J, et al. Epidemiology, Genetic Recombination, and Pathogenesis of Coronaviruses. *Trends Microbiol*. juin 2016;24(6):490-502.
32. Cavanagh D. Coronavirus avian infectious bronchitis virus. *Vet Res*. mars 2007;38(2):281-97.
33. Erles K, Toomey C, Brooks HW, Brownlie J. Detection of a group 2 coronavirus in dogs with canine infectious respiratory disease. *Virology*. 5 juin 2003;310(2):216-23.
34. Weiner LP. Pathogenesis of Demyelination Induced by a Mouse Hepatitis. *Archives of Neurology*. 1 mai 1973;28(5):298-303.
35. Cabeça TK, Granato C, Bellei N. Epidemiological and clinical features of human coronavirus infections among different subsets of patients. *Influenza and Other Respiratory Viruses*. 2013;7(6):1040-7.
36. Gaunt ER, Hardie A, Claas ECJ, Simmonds P, Templeton KE. Epidemiology and Clinical Presentations of the Four Human Coronaviruses 229E, HKU1, NL63, and OC43 Detected over 3 Years Using a Novel Multiplex Real-Time PCR Method. *J Clin Microbiol*. août 2010;48(8):2940-7.
37. Fillatre A, François C, Segard C, Duverlie G, Hecquet D, Pannier C, et al. Epidemiology and seasonality of acute respiratory infections in hospitalized children over four consecutive years (2012–2016). *J Clin Virol*. mai 2018;102:27-31.
38. Seo YB, Song JY, Choi MJ, Kim IS, Yang TU, Hong K-W, et al. Etiology and Clinical Outcomes of Acute Respiratory Virus Infection in Hospitalized Adults. *Infect Chemother*. 2014;46(2):67.
39. Vabret A, Dina J, Gouarin S, Petitjean J, Tripey V, Brouard J, et al. Human (non-severe acute respiratory syndrome) coronavirus infections in hospitalised children in France. *J Paediatr Child Health*. avr 2008;44(4):176-81.
40. Lau SKP, Woo PCY, Li KSM, Huang Y, Tsoi H-W, Wong BHL, et al. Severe acute respiratory syndrome coronavirus-like virus in Chinese horseshoe bats. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 27 sept 2005;102(39):14040-5.
41. Li W. Bats Are Natural Reservoirs of SARS-Like Coronaviruses. *Science*. 28 oct 2005;310(5748):676-9.
42. Zumla A, Hui DS, Perlman S. Middle East respiratory syndrome. *The Lancet*. sept 2015;386(9997):995-1007.
43. WHO EMRO | MERS situation update, January 2020 | MERS-CoV | Epidemic and pandemic diseases [Internet]. [cité 10 avr 2020]. Disponible sur: <http://www.emro.who.int/pandemic-epidemic-diseases/mers-cov/mers-situation-update-january-2020.html>
44. Reusken CB, Haagsma BL, Müller MA, Gutierrez C, Godeke G-J, Meyer B, et al. Middle East respiratory syndrome coronavirus neutralising serum antibodies in dromedary camels: a comparative serological study. *The Lancet Infectious Diseases*. oct 2013;13(10):859-66.

45. Hemida MG, Al-Naeem A, Perera RAPM, Chin AWH, Poon LLM, Peiris M. Lack of Middle East Respiratory Syndrome Coronavirus Transmission from Infected Camels. *Emerg Infect Dis.* avr 2015;21(4):699-701.
46. Reusken CB, Farag EA, Jonges M, Godeke GJ, El-Sayed AM, Pas SD, et al. Middle East respiratory syndrome coronavirus (MERS-CoV) RNA and neutralising antibodies in milk collected according to local customs from dromedary camels, Qatar, April 2014. *Eurosurveillance* [Internet]. 12 juin 2014 [cité 10 avr 2020];19(23). Disponible sur: <http://www.eurosurveillance.org/content/10.2807/1560-7917.ES2014.19.23.20829>
47. Zhu N, Zhang D, Wang W, Li X, Yang B, Song J, et al. A Novel Coronavirus from Patients with Pneumonia in China, 2019. *New England Journal of Medicine.* 20 févr 2020;382(8):727-33.
48. WHO Coronavirus Disease (COVID-19) Dashboard [Internet]. [cité 29 sept 2020]. Disponible sur: <https://covid19.who.int>
49. Lu R, Zhao X, Li J, Niu P, Yang B, Wu H, et al. Genomic characterisation and epidemiology of 2019 novel coronavirus: implications for virus origins and receptor binding. *The Lancet.* 22 févr 2020;395(10224):565-74.
50. Walls AC, Park Y-J, Tortorici MA, Wall A, McGuire AT, Veesler D. Structure, Function, and Antigenicity of the SARS-CoV-2 Spike Glycoprotein. *Cell.* 16 avr 2020;181(2):281-292.e6.
51. Andersen KG, Rambaut A, Lipkin WI, Holmes EC, Garry RF. The proximal origin of SARS-CoV-2. *Nature Medicine.* avr 2020;26(4):450-2.
52. Consensus document on the epidemiology of severe acute respiratory syndrome (SARS) [Internet]. [cité 11 avr 2020]. Disponible sur: <https://apps.who.int/iris/handle/10665/70863>
53. van Doremalen N, Bushmaker T, Morris DH, Holbrook MG, Gamble A, Williamson BN, et al. Aerosol and Surface Stability of SARS-CoV-2 as Compared with SARS-CoV-1. *New England Journal of Medicine.* 16 avr 2020;382(16):1564-7.
54. Liu Y, Gayle AA, Wilder-Smith A, Rocklöv J. The reproductive number of COVID-19 is higher compared to SARS coronavirus. *J Travel Med* [Internet]. 13 mars 2020 [cité 29 sept 2020];27(2). Disponible sur: <https://academic.oup.com/jtm/article/27/2/taaa021/5735319>
55. Rothan HA, Byrareddy SN. The epidemiology and pathogenesis of coronavirus disease (COVID-19) outbreak. *J Autoimmun.* mai 2020;109:102433.
56. Poissy Julien, Goutay Julien, Caplan Morgan, Parmentier Erika, Duburcq Thibault, Lassalle Fanny, et al. Pulmonary Embolism in Patients With COVID-19. *Circulation.* 14 juill 2020;142(2):184-6.
57. Fang Y, Zhang H, Xie J, Lin M, Ying L, Pang P, et al. Sensitivity of Chest CT for COVID-19: Comparison to RT-PCR. *Radiology.* 19 févr 2020;296(2):E115-7.
58. Li X, Xu S, Yu M, Wang K, Tao Y, Zhou Y, et al. Risk factors for severity and mortality in adult COVID-19 inpatients in Wuhan. *Journal of Allergy and Clinical Immunology.* 1 juill 2020;146(1):110-8.
59. Lu X, Zhang L, Du H, Zhang J, Li YY, Qu J, et al. SARS-CoV-2 Infection in Children. *n engl j med.* 2020;3.
60. Guo W, Li M, Dong Y, Zhou H, Zhang Z, Tian C, et al. Diabetes is a risk factor for the progression and prognosis of COVID-19. *Diabetes/Metabolism Research and Reviews.* n/a(n/a):e3319.
61. Gao F, Zheng KI, Wang X-B, Sun Q-F, Pan K-H, Wang T-Y, et al. Obesity Is a Risk Factor for Greater COVID-19 Severity. *Diabetes Care.* 1 juill 2020;43(7):e72-4.
62. Zhao Q, Meng M, Kumar R, Wu Y, Huang J, Lian N, et al. The impact of COPD and smoking history on the severity of COVID-19: A systemic review and meta-analysis. *Journal of Medical Virology.* 2020;92(10):1915-21.
63. Tan L, Wang Q, Zhang D, Ding J, Huang Q, Tang Y-Q, et al. Lymphopenia predicts disease severity of COVID-19: a descriptive and predictive study. *Signal Transduction and Targeted Therapy.* 27 mars 2020;5(1):1-3.
64. Gautret P, Lagier J-C, Parola P, Hoang VT, Meddeb L, Mailhe M, et al. Hydroxychloroquine and azithromycin as a treatment of COVID-19: results of an open-label non-randomized clinical trial. *International Journal of Antimicrobial Agents.* 1 juill 2020;56(1):105949.

65. Pastick KA, Okafor EC, Wang F, Lofgren SM, Skipper CP, Nicol MR, et al. Review: Hydroxychloroquine and Chloroquine for Treatment of SARS-CoV-2 (COVID-19). *Open Forum Infect Dis* [Internet]. 1 avr 2020 [cité 29 sept 2020];7(4). Disponible sur: <https://academic.oup.com/ofid/article/7/4/ofaa130/5820538>
66. Cortegiani A, Ingoglia G, Ippolito M, Giarratano A, Einav S. A systematic review on the efficacy and safety of chloroquine for the treatment of COVID-19. *J Crit Care*. juin 2020;57:279-83.
67. Touret F, de Lamballerie X. Of chloroquine and COVID-19. *Antiviral Res*. mai 2020;177:104762.
68. Caly L, Druce JD, Catton MG, Jans DA, Wagstaff KM. The FDA-approved drug ivermectin inhibits the replication of SARS-CoV-2 in vitro. *Antiviral Research*. 1 juin 2020;178:104787.
69. Aziz M, Fatima R, Assaly R. Elevated interleukin-6 and severe COVID-19: A meta-analysis. *Journal of Medical Virology*. 2020;92(11):2283-5.
70. Zhang C, Wu Z, Li J-W, Zhao H, Wang G-Q. Cytokine release syndrome in severe COVID-19: interleukin-6 receptor antagonist tocilizumab may be the key to reduce mortality. *Int J Antimicrob Agents*. mai 2020;55(5):105954.
71. Rabenau HF, Cinatl J, Morgenstern B, Bauer G, Preiser W, Doerr HW. Stability and inactivation of SARS coronavirus. *Med Microbiol Immunol*. 1 janv 2005;194(1):1-6.
72. van Elden LJR, Anton M. AM, van Alphen F, Hendriksen KAW, Hoepelman AIM, van Kraaij MGJ, et al. Frequent Detection of Human Coronaviruses in Clinical Specimens from Patients with Respiratory Tract Infection by Use of a Novel Real-Time Reverse-Transcriptase Polymerase Chain Reaction. *J Infect Dis*. 15 févr 2004;189(4):652-7.
73. Chan KH, Poon LLLM, Cheng VCC, Guan Y, Hung IFN, Kong J, et al. Detection of SARS Coronavirus in Patients with Suspected SARS. *Emerg Infect Dis*. févr 2004;10(2):294-9.
74. Chilvers MA, McKean M, Rutman A, Myint BS, Silverman M, O'Callaghan C. The effects of coronavirus on human nasal ciliated respiratory epithelium. *European Respiratory Journal*. 1 déc 2001;18(6):965-70.
75. Cheung OY, Chan JWM, Ng CK, Koo CK. The spectrum of pathological changes in severe acute respiratory syndrome (SARS). *Histopathology*. 1 août 2004;45(2):119-24.
76. Nicholls JM, Poon LL, Lee KC, Ng WF, Lai ST, Leung CY, et al. Lung pathology of fatal severe acute respiratory syndrome. *The Lancet*. mai 2003;361(9371):1773-8.
77. Shieh W-J, Hsiao C-H, Paddock CD, Guarner J, Goldsmith CS, Tatti K, et al. Immunohistochemical, in situ hybridization, and ultrastructural localization of SARS-associated coronavirus in lung of a fatal case of severe acute respiratory syndrome in Taiwan. *Human Pathology*. 1 mars 2005;36(3):303-9.
78. Franks TJ, Chong PY, Chui P, Galvin JR, Lourens RM, Reid AH, et al. Lung pathology of severe acute respiratory syndrome (SARS): a study of 8 autopsy cases from Singapore. *Human Pathology*. 1 août 2003;34(8):743-8.
79. Tse GM-K, To K-F, Chan PK-S, Lo AWI, Ng K-C, Wu A, et al. Pulmonary pathological features in coronavirus associated severe acute respiratory syndrome (SARS). *Journal of Clinical Pathology*. 1 mars 2004;57(3):260-5.
80. Ng DL, Al Hosani F, Keating MK, Gerber SI, Jones TL, Metcalfe MG, et al. Clinicopathologic, Immunohistochemical, and Ultrastructural Findings of a Fatal Case of Middle East Respiratory Syndrome Coronavirus Infection in the United Arab Emirates, April 2014. *The American Journal of Pathology*. 1 mars 2016;186(3):652-8.
81. Totura AL, Baric RS. SARS coronavirus pathogenesis: host innate immune responses and viral antagonism of interferon. *Curr Opin Virol*. juin 2012;2(3):264-75.
82. Wong CK, Lam CWK, Wu AKL, Ip WK, Lee NLS, Chan IHS, et al. Plasma inflammatory cytokines and chemokines in severe acute respiratory syndrome. *Clinical & Experimental Immunology*. 1 avr 2004;136(1):95-103.
83. Channappanavar R, Fehr AR, Vijay R, Mack M, Zhao J, Meyerholz DK, et al. Dysregulated Type I Interferon and Inflammatory Monocyte-Macrophage Responses Cause Lethal Pneumonia in SARS-CoV-Infected Mice. *Cell Host & Microbe*. févr 2016;19(2):181-93.

84. Li G, Fan Y, Lai Y, Han T, Li Z, Zhou P, et al. Coronavirus infections and immune responses. *Journal of Medical Virology*. 2020;92(4):424-32.
85. Callow KA, Parry HF, Sergeant M, Tyrrell DAJ. The time course of the immune response to experimental coronavirus infection of man. *Epidemiol Infect*. oct 1990;105(2):435-46.
86. Cao W-C, Liu W, Zhang P-H, Zhang F, Richardus JH. Disappearance of Antibodies to SARS-Associated Coronavirus after Recovery. *N Engl J Med*. 13 sept 2007;357(11):1162-3.
87. Yang Z, Kong W, Huang Y, Roberts A, Murphy BR, Subbarao K, et al. A DNA vaccine induces SARS coronavirus neutralization and protective immunity in mice. *Nature*. avr 2004;428(6982):561-4.
88. Piralla A, Mariani B, Rovida F, Baldanti F. Frequency of respiratory viruses among patients admitted to 26 Intensive Care Units in seven consecutive winter-spring seasons (2009–2016) in Northern Italy. *J Clin Virol*. juill 2017;92:48-51.
89. Mengelle C, Mansuy JM, Pierre A, Claudet I, Grouteau E, Micheau P, et al. The use of a multiplex real-time PCR assay for diagnosing acute respiratory viral infections in children attending an emergency unit. *J Clin Virol*. nov 2014;61(3):411-7.
90. Yu X, Lu R, Wang Z, Zhu N, Wang W, Julian D, et al. Etiology and Clinical Characterization of Respiratory Virus Infections in Adult Patients Attending an Emergency Department in Beijing. *PLoS One* [Internet]. 28 févr 2012 [cité 5 mai 2020];7(2). Disponible sur: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3289638/>
91. Garbino J, Crespo S, Aubert J-D, Rochat T, Ninet B, Deffernez C, et al. A Prospective Hospital-Based Study of the Clinical Impact of Non–Severe Acute Respiratory Syndrome (Non-SARS)–Related Human Coronavirus Infection. *Clin Infect Dis*. 15 oct 2006;43(8):1009-15.
92. Sizun J, Soupre D, Legrand MC, Giroux JD, Rubio S, Cauvin JM, et al. Neonatal nosocomial respiratory infection with coronavirus: a prospective study in a neonatal intensive care unit. *Acta Paediatrica*. 1995;84(6):617-20.
93. Trombetta H, Faggion HZ, Leotte J, Nogueira MB, Vidal LRR, Raboni SM. Human coronavirus and severe acute respiratory infection in Southern Brazil. *Pathogens and Global Health*. 2 avr 2016;110(3):113-8.
94. Gorse GJ, Donovan MM, Patel GB, Balasubramanian S, Lusk RH. Coronavirus and Other Respiratory Illnesses Comparing Older with Young Adults. *The American Journal of Medicine*. nov 2015;128(11):1251.e11-1251.e20.
95. Pene F, Merlat A, Vabret A, Rozenberg F, Buzyn A, Dreyfus F, et al. Coronavirus 229E-Related Pneumonia in Immunocompromised Patients. *Clin Infect Dis*. 1 oct 2003;37(7):929-32.
96. Amini R, Jahanshiri F, Amini Y, Sekawi Z, Jalilian FA. Detection of human coronavirus strain HKU1 in a 2 years old girl with asthma exacerbation caused by acute pharyngitis. *Virol J*. 3 août 2012;9(1):142.
97. Gorse GJ, O'Connor TZ, Hall SL, Vitale JN, Nichol KL. Human Coronavirus and Acute Respiratory Illness in Older Adults with Chronic Obstructive Pulmonary Disease. *J INFECT DIS*. 15 mars 2009;199(6):847-57.
98. Bastien N, Anderson K, Hart L, Caesele PV, Brandt K, Milley D, et al. Human Coronavirus NL63 Infection in Canada. *J Infect Dis*. 15 févr 2005;191(4):503-6.
99. Vabret A, Mourez T, Gouarin S, Petitjean J, Freymuth F. An Outbreak of Coronavirus OC43 Respiratory Infection in Normandy, France. *Clin Infect Dis*. 15 avr 2003;36(8):985-9.
100. Cabeça TK, Bellei N. Human coronavirus NL-63 infection in a Brazilian patient suspected of H1N1 2009 influenza infection: Description of a fatal case. *J Clin Virol*. janv 2012;53(1):82-4.
101. Renaud C, Campbell AP. Changing Epidemiology of Respiratory Viral Infections in Hematopoietic Cell Transplant Recipients and Solid Organ Transplant Recipients. *Curr Opin Infect Dis*. août 2011;24(4):333-43.
102. Ogimi C, Waghmare AA, Kuypers JM, Xie H, Yeung CC, Leisenring WM, et al. Clinical Significance of Human Coronavirus in Bronchoalveolar Lavage Samples From Hematopoietic Cell Transplant Recipients and Patients With Hematologic Malignancies. *Clin Infect Dis*. 1 juin 2017;64(11):1532-9.

103. Piñana JL, Madrid S, Pérez A, Hernández-Boluda JC, Giménez E, Terol MJ, et al. Epidemiologic and Clinical Characteristics of Coronavirus and Bocavirus Respiratory Infections after Allogeneic Stem Cell Transplantation: A Prospective Single-Center Study. *Biology of Blood and Marrow Transplantation*. 1 mars 2018;24(3):563-70.
104. Hakki M, Rattray RM, Press RD. The clinical impact of coronavirus infection in patients with hematologic malignancies and hematopoietic stem cell transplant recipients. *Journal of Clinical Virology*. 1 juill 2015;68:1-5.
105. Ogimi C, Englund JA, Bradford MC, Qin X, Boeckh M, Waghmare A. Characteristics and Outcomes of Coronavirus Infection in Children: The Role of Viral Factors and an Immunocompromised State. *J Pediatric Infect Dis Soc*. 28 mars 2019;8(1):21-8.
106. Khalifah AP, Hachem RR, Chakinala MM, Schechtman KB, Patterson GA, Schuster DP, et al. Respiratory Viral Infections Are a Distinct Risk for Bronchiolitis Obliterans Syndrome and Death. *Am J Respir Crit Care Med*. 15 juill 2004;170(2):181-7.
107. Billings J. Respiratory viruses and chronic rejection in lung transplant recipients. *The Journal of Heart and Lung Transplantation*. mai 2002;21(5):559-66.
108. Kumar D, Erdman D, Keshavjee S, Peret T, Tellier R, Hadjiliadis D, et al. Clinical Impact of Community-Acquired Respiratory Viruses on Bronchiolitis Obliterans After Lung Transplant. *American Journal of Transplantation*. 1 août 2005;5(8):2031-6.
109. Gottlieb J, Schulz TF, Welte T, Fuehner T, Dierich M, Simon AR, et al. Community-Acquired Respiratory Viral Infections in Lung Transplant Recipients: A Single Season Cohort Study. *Transplantation*. mai 2009;87(10):1530–1537.
110. Magnusson J, Westin J, Andersson L-M, Lindh M, Brittain-Long R, Nordén R, et al. Viral Respiratory Tract Infection During the First Postoperative Year Is a Risk Factor for Chronic Rejection After Lung Transplantation. *Transplant Direct* [Internet]. 11 juill 2018 [cité 28 mai 2020];4(8). Disponible sur: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6092179/>
111. Folz RJ, Elkordy MA. Coronavirus Pneumonia Following Autologous Bone Marrow Transplantation for Breast Cancer. *Chest*. mars 1999;115(3):901-5.
112. Oosterhof L, Christensen CB, Sengeløv H. Fatal lower respiratory tract disease with human corona virus NL63 in an adult haematopoietic cell transplant recipient. *Bone Marrow Transplantation*. juin 2010;45(6):1115-6.
113. Pattemore PK, Johnston SL, Bardin PG. Viruses as precipitants of asthma symptoms. I. *Epidemiology. Clinical & Experimental Allergy*. 1992;22(3):325-36.
114. Nicholson KG, Kent J, Ireland DC. Respiratory viruses and exacerbations of asthma in adults. *BMJ*. 16 oct 1993;307(6910):982-6.
115. Zwaans WAR, Mallia P, van Winden MEC, Rohde GGU. The relevance of respiratory viral infections in the exacerbations of chronic obstructive pulmonary disease—A systematic review. *Journal of Clinical Virology*. oct 2014;61(2):181-8.
116. Seemungal T, Harper-Owen R, Bhowmik A, Moric I, Sanderson G, Message S, et al. Respiratory Viruses, Symptoms, and Inflammatory Markers in Acute Exacerbations and Stable Chronic Obstructive Pulmonary Disease. *Am J Respir Crit Care Med*. 1 nov 2001;164(9):1618-23.
117. Schildgen O, Jebbink MF, de Vries M, Pyrc K, Dijkman R, Simon A, et al. Identification of cell lines permissive for human coronavirus NL63. *Journal of Virological Methods*. 1 déc 2006;138(1):207-10.
118. Myint S, Johnston S, Sanderson G, Simpson H. Evaluation of nested polymerase chain methods for the detection of human coronaviruses 229E and OC43. *Molecular and Cellular Probes*. oct 1994;8(5):357-64.
119. Vabret A, Mouthon F, Mourez T, Gouarin S, Petitjean J, Freymuth F. Direct diagnosis of human respiratory coronaviruses 229E and OC43 by the polymerase chain reaction. *Journal of Virological Methods*. 1 sept 2001;97(1):59-66.
120. Stephensen CB, Casebolt DB, Gangopadhyay NN. Phylogenetic analysis of a highly conserved region of the polymerase gene from 11 coronaviruses and development of a consensus polymerase chain reaction assay. *Virus Research*. 1 avr 1999;60(2):181-9.

121. Diao B, Wen K, Chen J, Liu Y, Yuan Z, Han C, et al. Diagnosis of Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 2 Infection by Detection of Nucleocapsid Protein [Internet]. *Epidemiology*; 2020 mars [cité 8 juin 2020]. Disponible sur: <http://medrxiv.org/lookup/doi/10.1101/2020.03.07.20032524>
122. McIntosh K, McQuillin J, Reed SE, Gardner PS. Diagnosis of human coronavirus infection by immunofluorescence: Method and application to respiratory disease in hospitalized children. *Journal of Medical Virology*. 1978;2(4):341-6.
123. Macnaughton MR, Flowers D, Lsaacs D. Diagnosis of human coronavirus infections in children using enzyme-linked immunosorbent assay. *Journal of Medical Virology*. 1983;11(4):319-25.
124. Pyrc K, Bosch BJ, Berkhout B, Jebbink MF, Dijkman R, Rottier P, et al. Inhibition of Human Coronavirus NL63 Infection at Early Stages of the Replication Cycle. *AAC*. juin 2006;50(6):2000-8.
125. Lee N, Allen Chan KC, Hui DS, Ng EKO, Wu A, Chiu RWK, et al. Effects of early corticosteroid treatment on plasma SARS-associated Coronavirus RNA concentrations in adult patients. *Journal of Clinical Virology*. 1 déc 2004;31(4):304-9.
126. Ströher U, DiCaro A, Li Y, Strong JE, Aoki F, Plummer F, et al. Severe Acute Respiratory Syndrome-Related Coronavirus Is Inhibited by Interferon- α . *J Infect Dis*. 1 avr 2004;189(7):1164-7.
127. Cinatl J, Morgenstern B, Bauer G, Chandra P, Rabenau H, Doerr H. Treatment of SARS with human interferons. *The Lancet*. 26 juill 2003;362(9380):293-4.
128. Sainz B, Mossel EC, Peters CJ, Garry RF. Interferon-beta and interferon-gamma synergistically inhibit the replication of severe acute respiratory syndrome-associated coronavirus (SARS-CoV). *Virology*. 10 nov 2004;329(1):11-7.
129. Haagmans BL, Kuiken T, Martina BE, Fouchier RAM, Rimmelzwaan GF, van Amerongen G, et al. Pegylated interferon- α protects type 1 pneumocytes against SARS coronavirus infection in macaques. *Nature Medicine*. mars 2004;10(3):290-3.
130. Falzarano D, de Wit E, Martellaro C, Callison J, Munster VJ, Feldmann H. Inhibition of novel β coronavirus replication by a combination of interferon- α 2b and ribavirin. *Scientific Reports*. 18 avr 2013;3(1):1686.
131. Omrani AS, Saad MM, Baig K, Bahloul A, Abdul-Matin M, Alaidaroos AY, et al. Ribavirin and interferon alfa-2a for severe Middle East respiratory syndrome coronavirus infection: a retrospective cohort study. *The Lancet Infectious Diseases*. 1 nov 2014;14(11):1090-5.
132. Chan K, Lai S, Chu C, Tsui E, Tam C, Wong M, et al. Treatment of severe acute respiratory syndrome with lopinavir/ritonavir: a multicentre retrospective matched cohort study. :8.
133. Groneberg DA, Poutanen SM, Low DE, Lode H, Welte T, Zabel P. Treatment and vaccines for severe acute respiratory syndrome. *The Lancet Infectious Diseases*. 1 mars 2005;5(3):147-55.
134. Bisht H, Roberts A, Vogel L, Bukreyev A, Collins PL, Murphy BR, et al. Severe acute respiratory syndrome coronavirus spike protein expressed by attenuated vaccinia virus protectively immunizes mice. *PNAS*. 27 avr 2004;101(17):6641-6.
135. Bukreyev A, Lamirande EW, Buchholz UJ, Vogel LN, Elkins WR, Claire MS, et al. Mucosal immunisation of African green monkeys (*Cercopithecus aethiops*) with an attenuated parainfluenza virus expressing the SARS coronavirus spike protein for the prevention of SARS. *The Lancet*. 26 juin 2004;363(9427):2122-7.
136. Gao W, Tamin A, Soloff A, D'Aiuto L, Nwanegbo E, Robbins PD, et al. Effects of a SARS-associated coronavirus vaccine in monkeys. *The Lancet*. 6 déc 2003;362(9399):1895-6.
137. Kim TW, Lee JH, Hung C-F, Peng S, Roden R, Wang M-C, et al. Generation and Characterization of DNA Vaccines Targeting the Nucleocapsid Protein of Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus. *JVI*. 1 mai 2004;78(9):4638-45.
138. Chidiac C. Antibiothérapie par voie générale dans les infections respiratoires basses de l'adulte. *Pneumonie aiguë communautaire. Exacerbations de bronchopneumopathie chronique obstructive. Médecine et Maladies Infectieuses*. mai 2011;41(5):221-8.
139. Moriyama M, Hugentobler WJ, Iwasaki A. Seasonality of Respiratory Viral Infections. *Annual Review of Virology*. 2020;7(1):83-101.
140. Gabay C. 021199 Acute-Phase Proteins and Other Systemic. *The New England Journal of Medicine*. 1999;8.

141. Volanakis J. Human C-reactive protein: expression, structure, and function. *Molecular Immunology*. août 2001;38(2-3):189-97.
142. Rao S, Sasser W, Diaz F, Sharma N, Alten J. Coronavirus Associated Fulminant Myocarditis Successfully Treated With Intravenous Immunoglobulin and Extracorporeal Membrane Oxygenation. *Chest*. oct 2014;146(4):336A.
143. Alhogbani Tariq. Acute myocarditis associated with novel Middle East respiratory syndrome coronavirus. *Annals of Saudi Medicine*. 1 janv 2016;36(1):78-80.
144. Small C-L, Shaler CR, McCormick S, Jeyanathan M, Damjanovic D, Brown EG, et al. Influenza Infection Leads to Increased Susceptibility to Subsequent Bacterial Superinfection by Impairing NK Cell Responses in the Lung. *Jl*. 15 févr 2010;184(4):2048-56.

**EPIDEMIOLOGIC DATA OF CORONAVIRUS INFECTIONS AT TOULOUSE UNIVERSITY HOSPITAL
BETWEEN 2012 AND 2018
STUDY OF HOSPITALIZED PATIENTS IN INTENSIVE CARE UNITS**

Coronaviruses are RNA viruses responsible for respiratory infections. They have been known for a long time, since the first one was described for the first time in 1960. There are seven Coronaviruses capable of infecting humans: Coronavirus OC43, 229E, NL63, HKU1, SARS, MERS and SARS-CoV 2. We focused on the "seasonal" viruses: Coronavirus OC43, 229E and NL63.

The objective of our study was to obtain epidemiological data concerning Coronaviruses and their impact on the intensive care units patients of the Toulouse University Hospital between January 1st, 2012 and May 31th, 2018. We have also sought to identify risk factors that may lead to serious Coronavirus infections. Clinical data, clinical diagnostics, and biological parameters were collected.

A total of 20,537 multiplex PCRs were performed, of which 9,632 (46.9 %) were positive for at least one respiratory virus. Coronaviruses accounted for 9.9 % of the positive PCRs, mostly during the winter period.

Of the Coronavirus-positive PCRs, 131 were in patients of intensive care units. The mean age was 30.7 years with a median at 16 years with a mean hospital stay of 13 days and a median at 8 days.

The risk factors for severe infections highlighted are age, COPD and chronic respiratory failure ($p = < 0,01$, $p = 0.04$, $p = 0.02$ respectively). Our study shows that coronaviruses can be responsible for severe infections, particularly in the most vulnerable populations, and that rapid diagnosis is necessary to optimize the treatment.

**DONNEES EPIDEMIOLOGIQUES DES INFECTIONS A CORONAVIRUS AU CHU DE TOULOUSE ENTRE
2012 ET 2018
ETUDE DES PATIENTS HOSPITALISES EN REANIMATION**

Les Coronavirus sont des virus à ARN responsables d'infections respiratoires. Ce sont des virus connus depuis longtemps, les premiers ayant été décrits pour la première fois en 1960. Il existe sept Coronavirus capable d'infecter l'Homme : le Coronavirus OC43, 229E, NL63, HKU1, le SARS, le MERS et le SARS-CoV 2. Nous nous sommes intéressés au virus « saisonniers » : Coronavirus OC43, 229E et NL63.

L'objectif de notre étude était d'obtenir des données épidémiologiques concernant les Coronavirus et leur impact au sein des services de réanimation du CHU de Toulouse entre le 1^{er} janvier 2012 et le 31 mai 2018. Nous avons également cherché à mettre en évidence des facteurs de risque pouvant entraîner des infections graves à Coronavirus. Les données cliniques, les diagnostics cliniques ainsi que les paramètres biologiques ont été recueillis.

Au total 20 537 PCR multiplex ont été réalisées dont 9 632 (46,9 %) étaient positives à au moins un virus respiratoire. Les Coronavirus représentaient 9,9 % des PCR positives, majoritairement durant la période hivernale.

Parmi les PCR positives à Coronavirus, 131 concernaient des patients de réanimation. L'âge moyen était de 30,7 ans avec une médiane à 16 ans avec une durée d'hospitalisation moyenne à 13 jours et une médiane à 8 jours.

Les facteurs de risque d'infections sévères mis en évidence sont l'âge, la BPCO et l'insuffisance respiratoire chronique ($p < 0,01$, $p = 0,04$, $p = 0,02$ respectivement). Notre étude démontre que les Coronavirus peuvent être responsable d'infections sévères notamment au sein des populations les plus fragiles et qu'un diagnostic rapide est nécessaire pour optimiser la prise en charge.

DISCIPLINE administrative : Pharmacie – Biologie Médicale

MOTS-CLES : Coronavirus / Réanimation / PCR multiplex / Infection respiratoire

Université Toulouse III - Paul Sabatier - Faculté des Sciences Pharmaceutiques
35 chemin des maraîchers 31062
Toulouse Cedex 4

Directeur de thèse : MANSUY Jean Michel