

SRAS: Aspects virologiques et prévention

Dr Olfa BAHRI

Laboratoire de Virologie Clinique

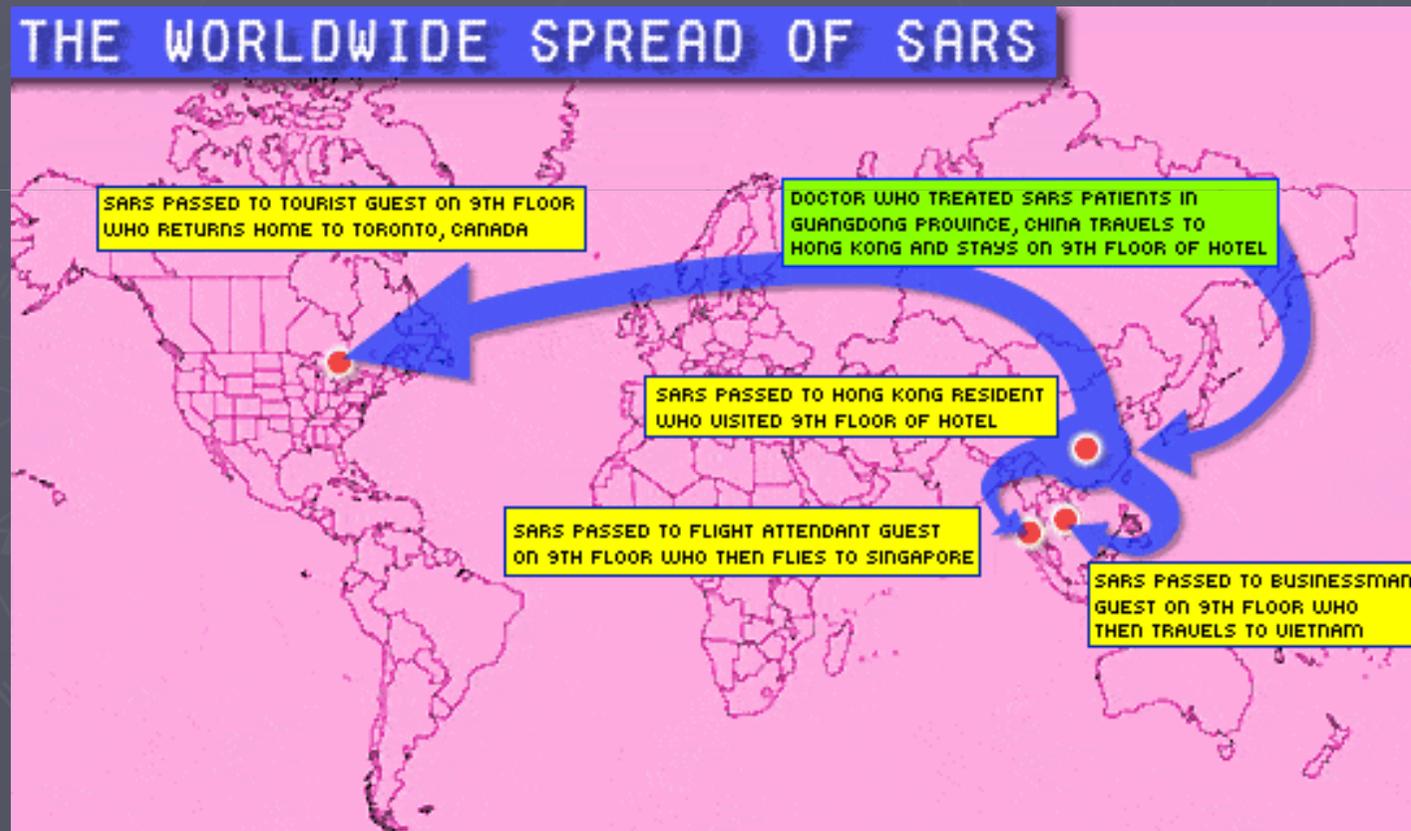
Institut Pasteur de Tunis

Introduction

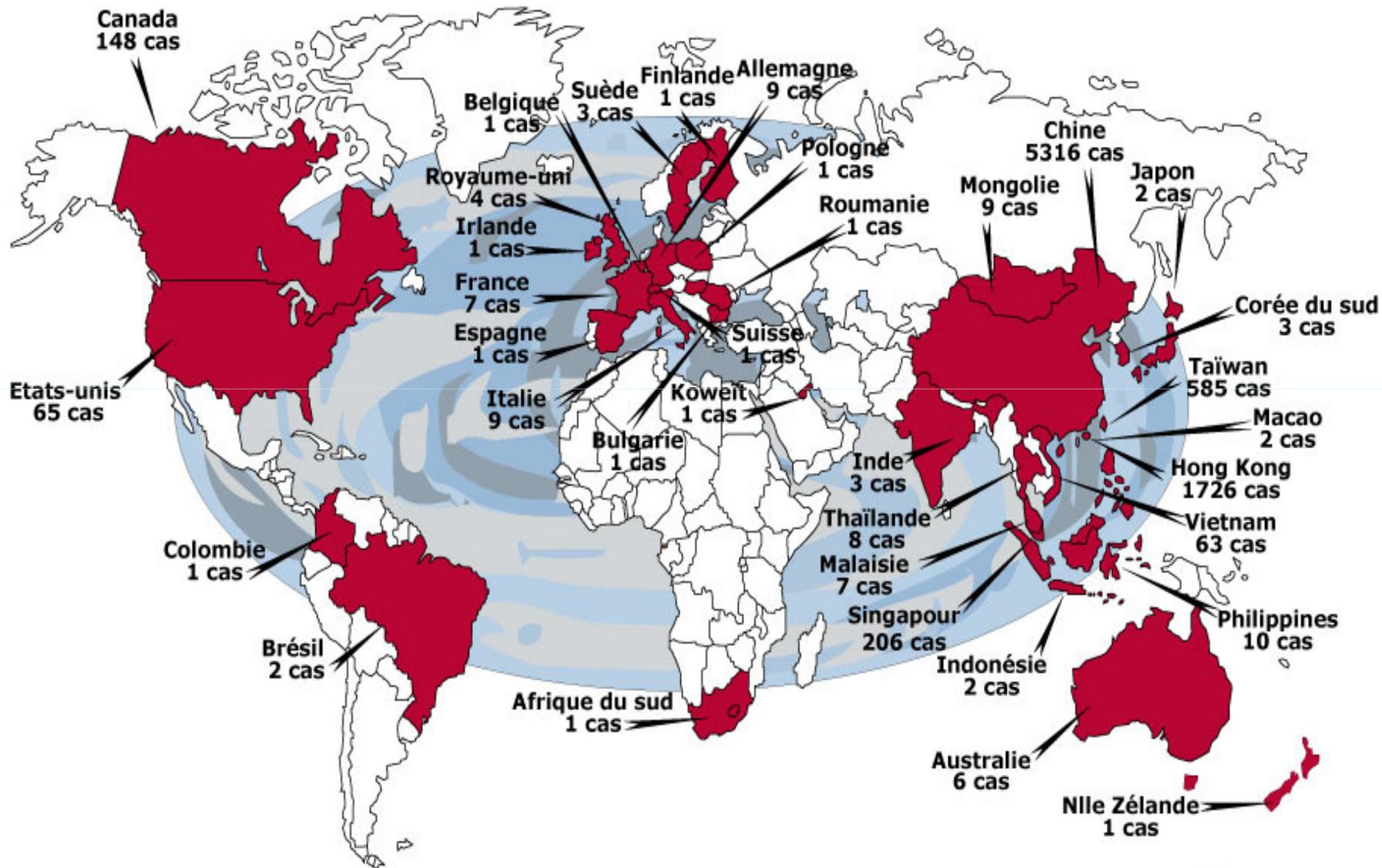
- ✓ **SRAS = Syndrome Respiratoire Aigu Sévère**
(Pneumonie atypique sévère)
- ✓ **1^{ère} maladie infectieuse grave du XXI^{ème} siècle**
 - Maladie émergente
 - Morbidité et mortalité élevées
 - Dissémination rapide favorisée par les voyages internationaux
- ✓ **Riposte contre le SRAS = exemple type pour les maladies émergentes**
 - **Urgence de l'intervention** ⇒ Arrêt de la flambée épidémique
 - **Efficacité de la collaboration internationale**

Dissémination du SRAS

Février 2003: OMS → Alerte au SRAS



Situation épidémiologique dans le Monde



■ Pays touchés par le SRAS et recensés par l'OMS

Situation épidémiologique du SRAS

- ✓ **De Novembre 2002 à Juillet 2003 (OMS)**
 - **8098 cas** observés avec **774 décès** dans le monde
 - 29 pays atteints mais surtout: **Chine – HongKong – Taiwan - Singapour - Canada**
- ✓ **Avril 2004: 9 cas en Chine**
 - Contamination de laboratoire
 - Depuis Avril 2004: aucun cas notifié

Découverte de l'étiologie du SRAS

✓ Mars 2003

OMS → mise en place d'un réseau mondial de laboratoires

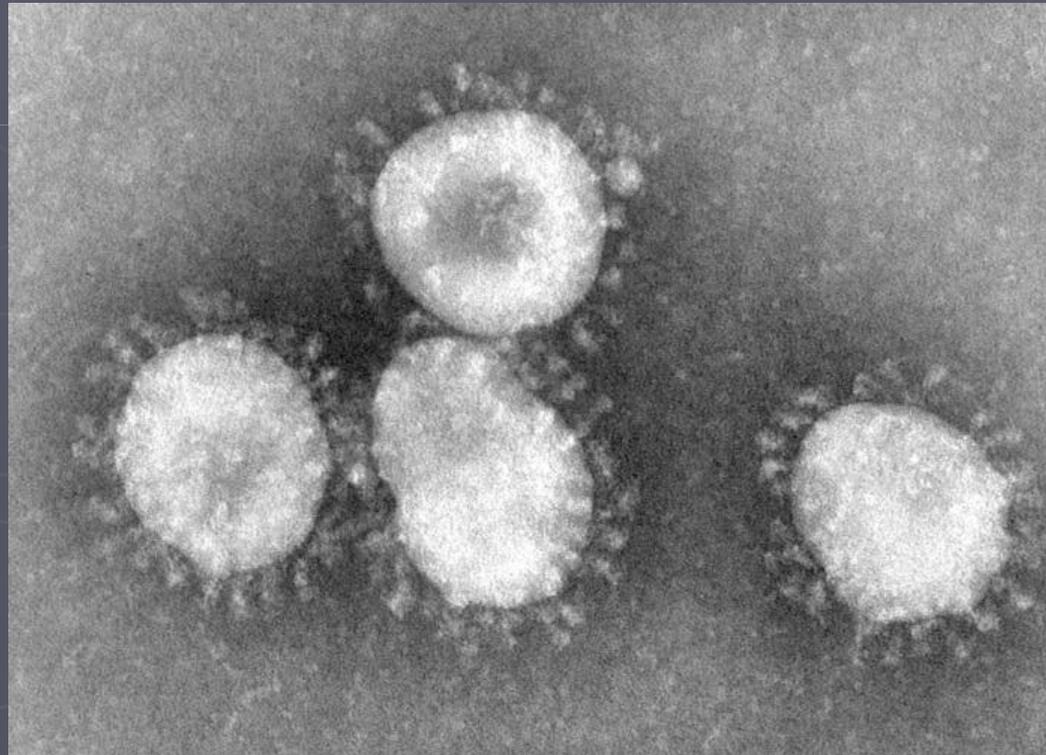
- Identification de l'étiologie du SRAS
- Développement de tests diagnostiques du SRAS

✓ Techniques utilisées ciblant les agents pathogènes respiratoires

- Microscopie électronique
- Isolement viral sur cellules
- Techniques moléculaires
- Techniques sérologiques
- Inoculation aux animaux de laboratoire

Découverte de l'étiologie du SRAS

Inoculation sur cellules (Vero) → ECP à J2 – J4
Visualisation de **Coronavirus** par **Microscopie électronique**



Étiologie du SRAS

Mise au point de techniques **RT – PCR**

➔ **Confirmation de l'étiologie du SRAS**

✓ **Techniques moléculaires utilisées:**

* **RT – PCR utilisant des random primers**

(Peiris et al., Lancet 2003)

* **RT – PCR simple** *(Ksiazek et al., New Engl. J. Med. 2003)*

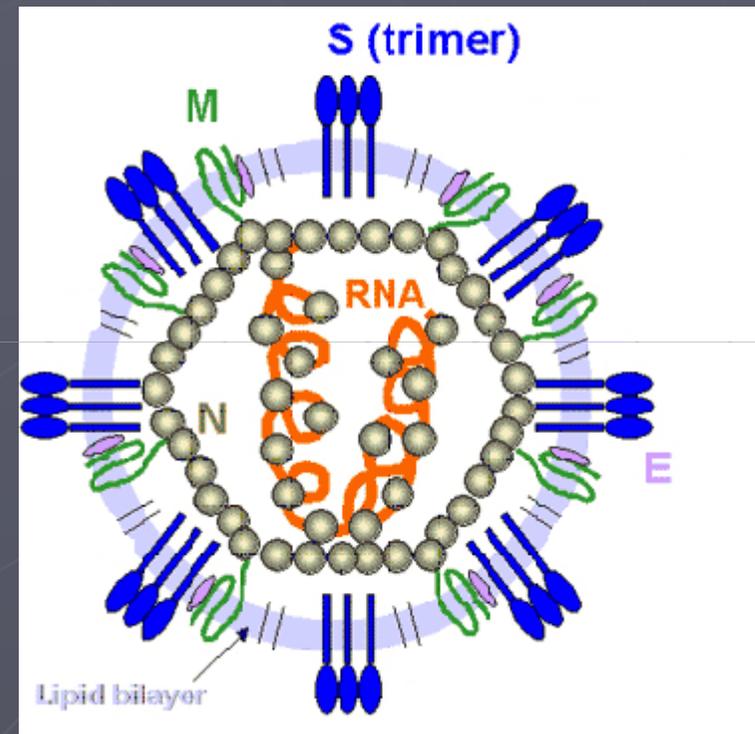
- Amorces spécifiques du genre Coronavirus

- Amorces spécifiques du type SARS-CoV

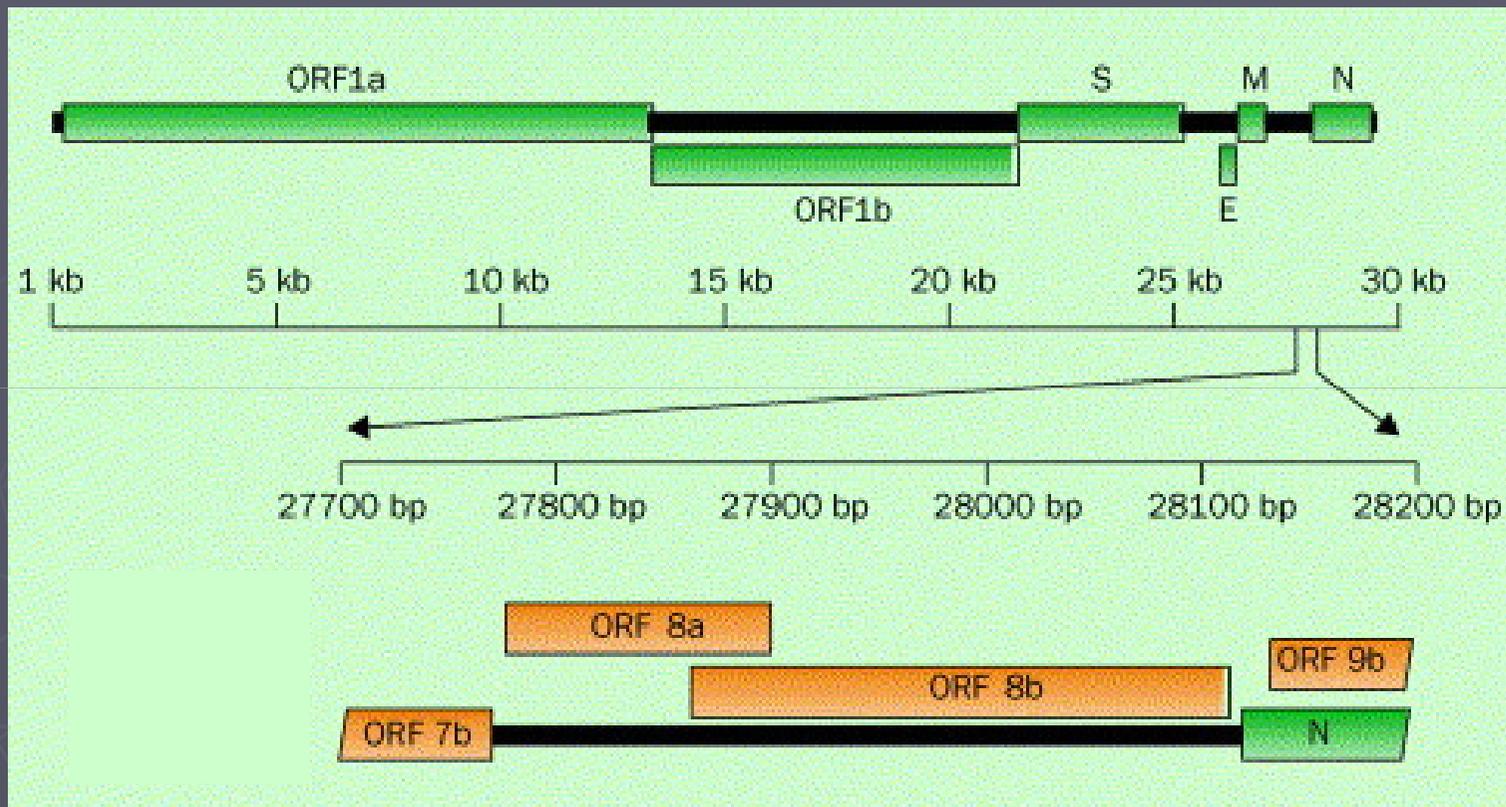
➔ Identification de séquence du gène codant pour la polymérase virale

Étiologie du SRAS

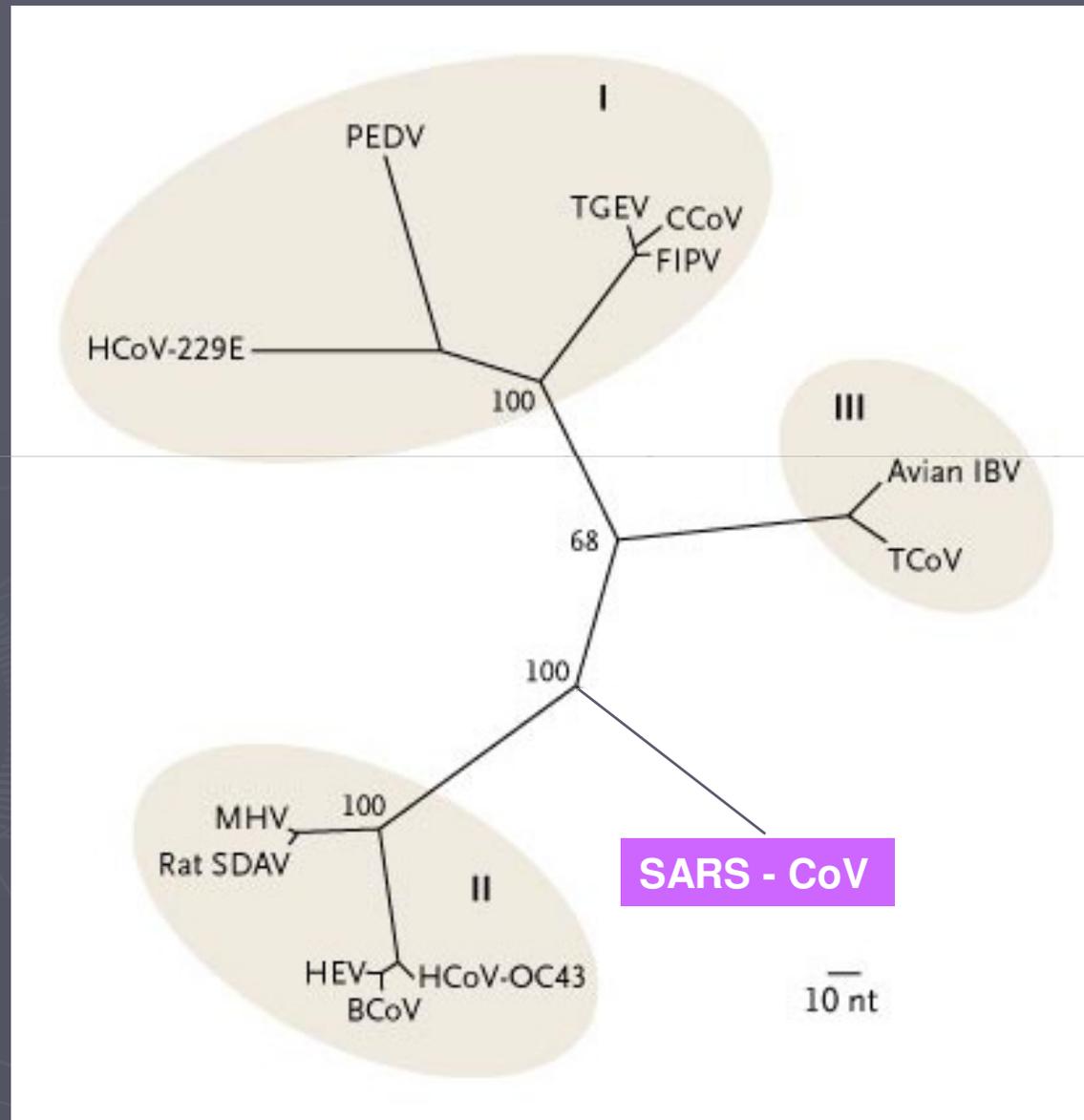
- ✓ Ordre: **Nidovirales**
- ✓ Famille: ***Coronaviridae***
- ✓ genre: **Coronavirus**
- ✓ Virus: **SARS – CoV**



Génome du SARS - CoV



Classification génétique du SARS - CoV



Modes de Transmission

- Modes de transmission

Voie respiratoire

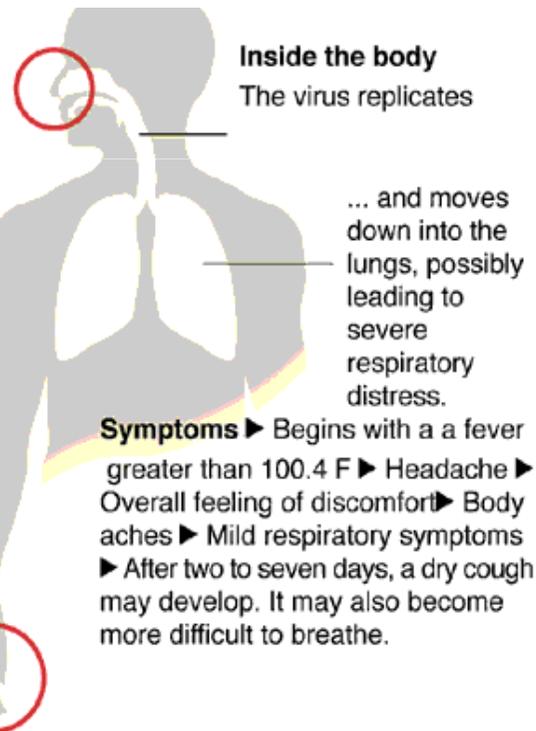
Oro-fécale possible

Spreading the virus

SARS appears to spread by close person-to-person contact. Most cases of SARS have involved people who cared for or lived with someone with the virus.

The virus can also spread by touching contaminated surfaces then touching your eyes, nose or mouth.

It is possible that SARS could be spread more broadly through the air or by other ways currently unknown.



Inside the body

The virus replicates

... and moves down into the lungs, possibly leading to severe respiratory distress.

Symptoms ▶ Begins with a fever greater than 100.4 F ▶ Headache ▶ Overall feeling of discomfort ▶ Body aches ▶ Mild respiratory symptoms ▶ After two to seven days, a dry cough may develop. It may also become more difficult to breathe.

Modes de Transmission

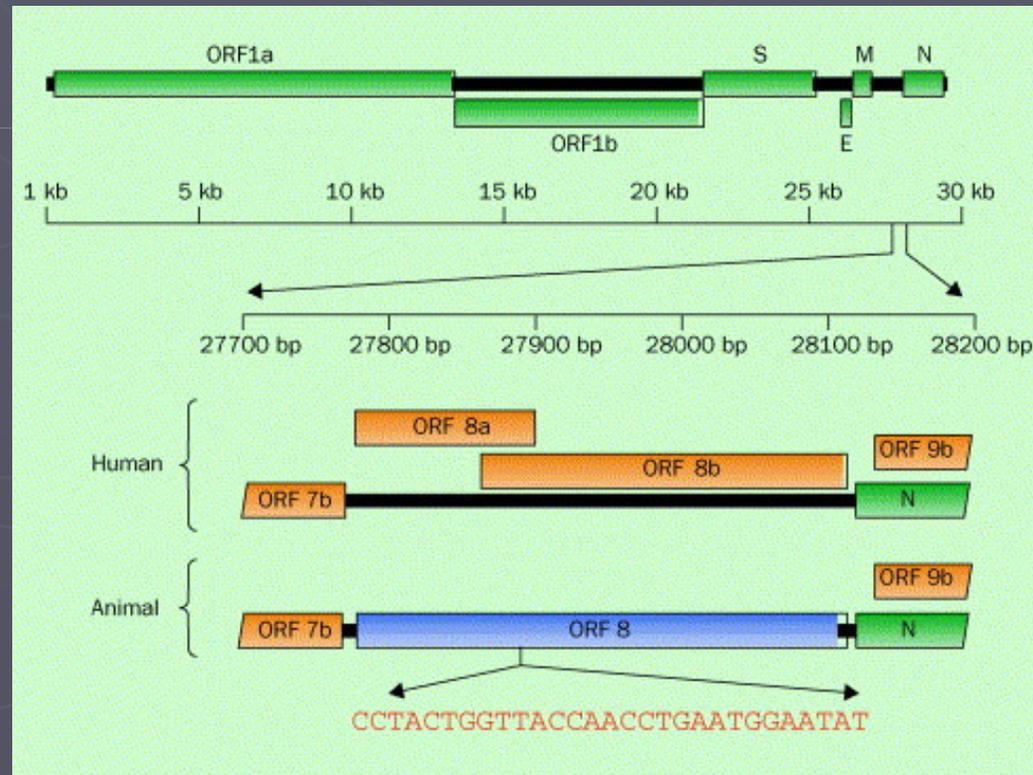
- **Maladie moyennement transmissible**
- **Facteurs influençant la transmission**
 - Présence de **sujets contagieux**
 - ✓ sujets symptomatiques
 - ✓ Charge virale élevée
 - ✓ Contact étroit entre individus
 - ✓ Notion de super contaminateurs
 - Rôle important des **collectivités fermées**

Modes de Transmission

- Possibilité de réservoir animal: Civette, Blaireau???

Arguments en faveur: - Contact des cas humains avec ces animaux

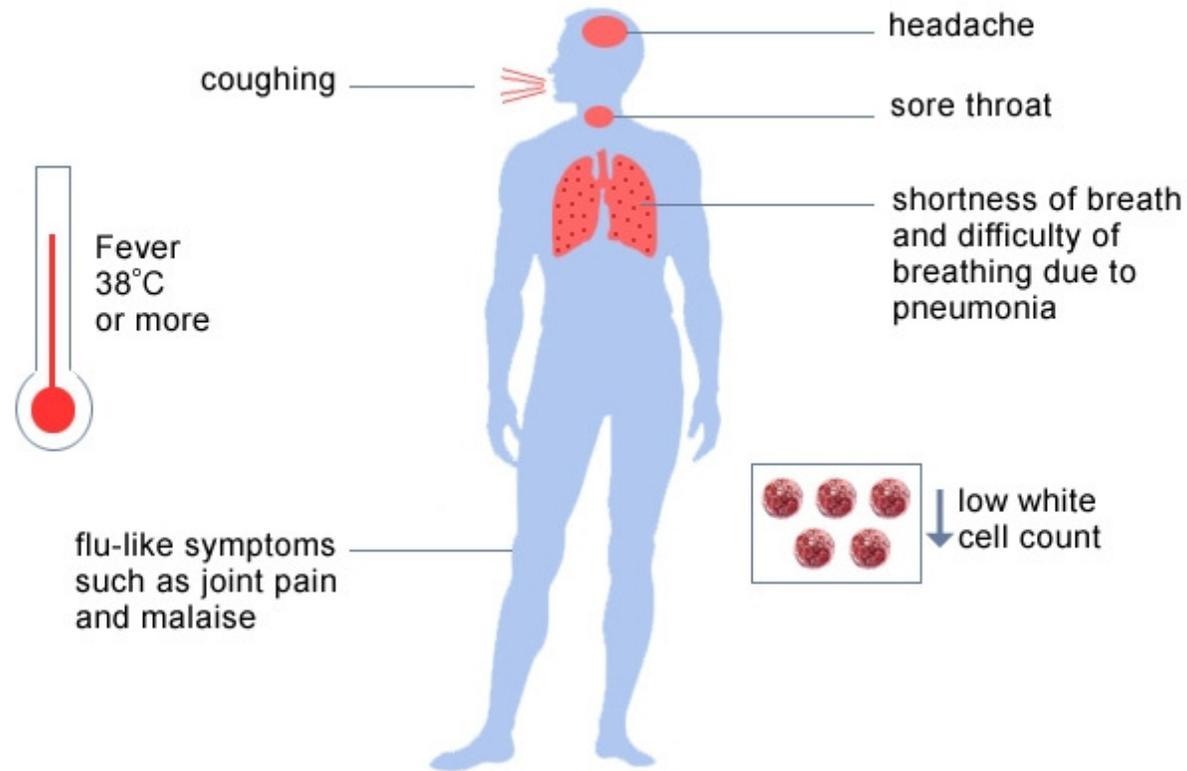
- Détection de virus similaire au SARS – CoV chez les animaux
- Séroprévalence élevé (40%) chez les contacts de ces animaux



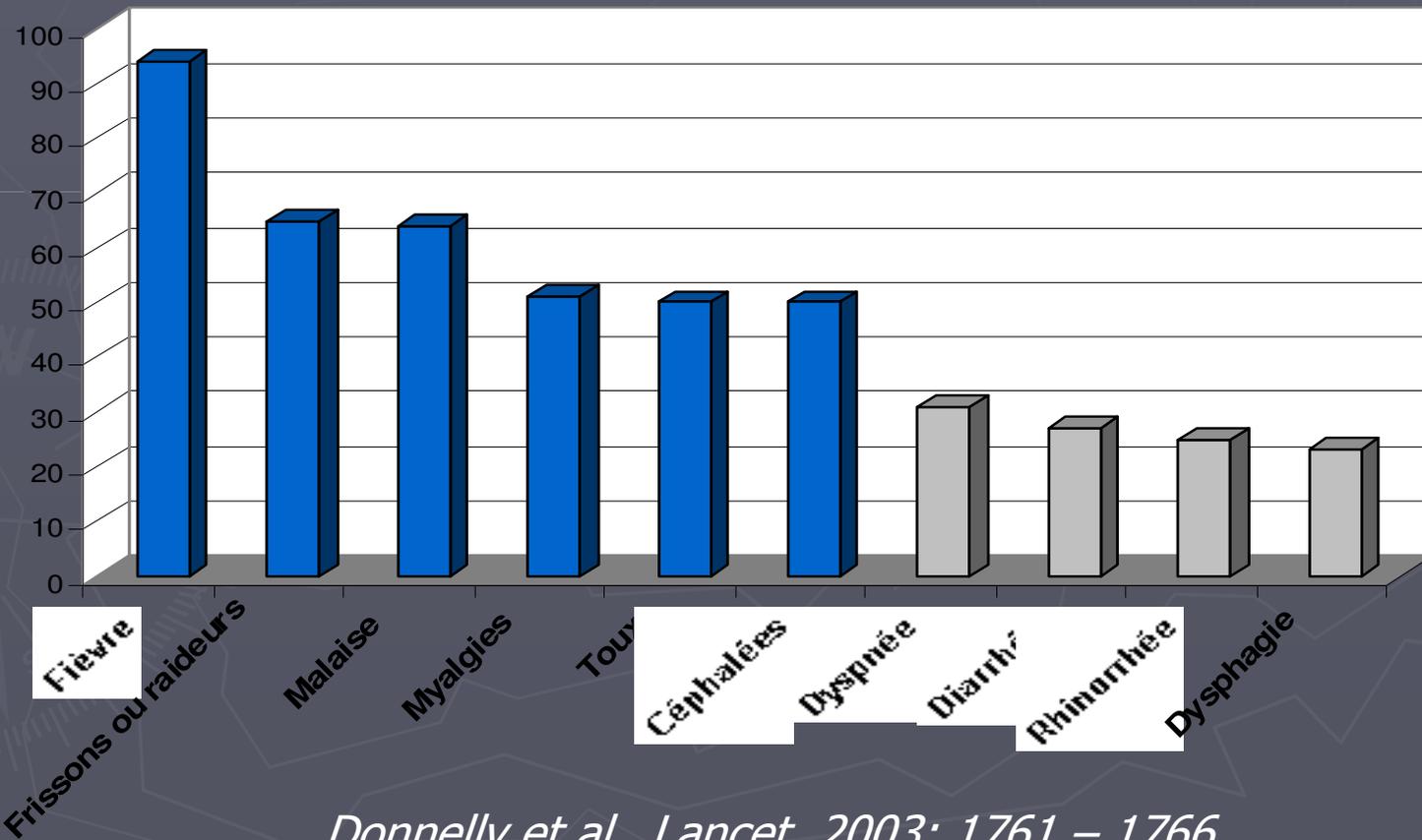
SRAS: Aspects Cliniques

- Incubation de **6 jours** (2 – 16 jours)

Symptoms of Sudden Acute Respiratory Syndrome (SARS)



SRAS: Aspects Cliniques



Donnelly et al., Lancet, 2003: 1761 – 1766

SRAS: Aspects Cliniques

- Évolution clinique en **3 phases**

➔ **Semaine 1:** **Fièvre** + Signes généraux modérés

➔ **Semaine 2:** **Fièvre, signes radiologiques⁺⁺**, Aggravation clinique possible

➔ **Semaine 3:** Tableau de **détresse respiratoire**

- Taux de mortalité (OMS)

➔ **Taux global: 14 – 15%**

➔ **0 – 50% en fonction des tranches d'âge**

SRAS: Signes Biologiques

- Troubles hématologiques

- * Lymphopénie progressive (**Sem2⁺⁺**)
- * Leucopénie transitoire
- * Thrombocytopénie résolutive

- Autres anomalies biologiques

- * LDH ↗
- * CPK ↗
- * Transaminases ↗

SRAS: Diagnostic au Laboratoire

→ Type de prélèvements

- ✓ **Prélèvements respiratoires** (ANP, LBA, Expectorations....)
- ✓ **Prélèvements sanguins** (sérum, sang sur EDTA)
- ✓ **Prélèvements de selles**

→ Méthodes de diagnostic

- ✓ **Détection du génome viral** (RT – PCR, PCR en temps réel)
- ✓ **Diagnostic sérologique** (IF, ELISA, Séroneutralisation, Blot)
- ✓ Isolement viral sur cellules (Vero)

SRAS: Techniques moléculaires

Techniques utilisées

- RT – PCR simple
- Nested RT – PCR
- RT – PCR en temps réel

Amorces utilisées

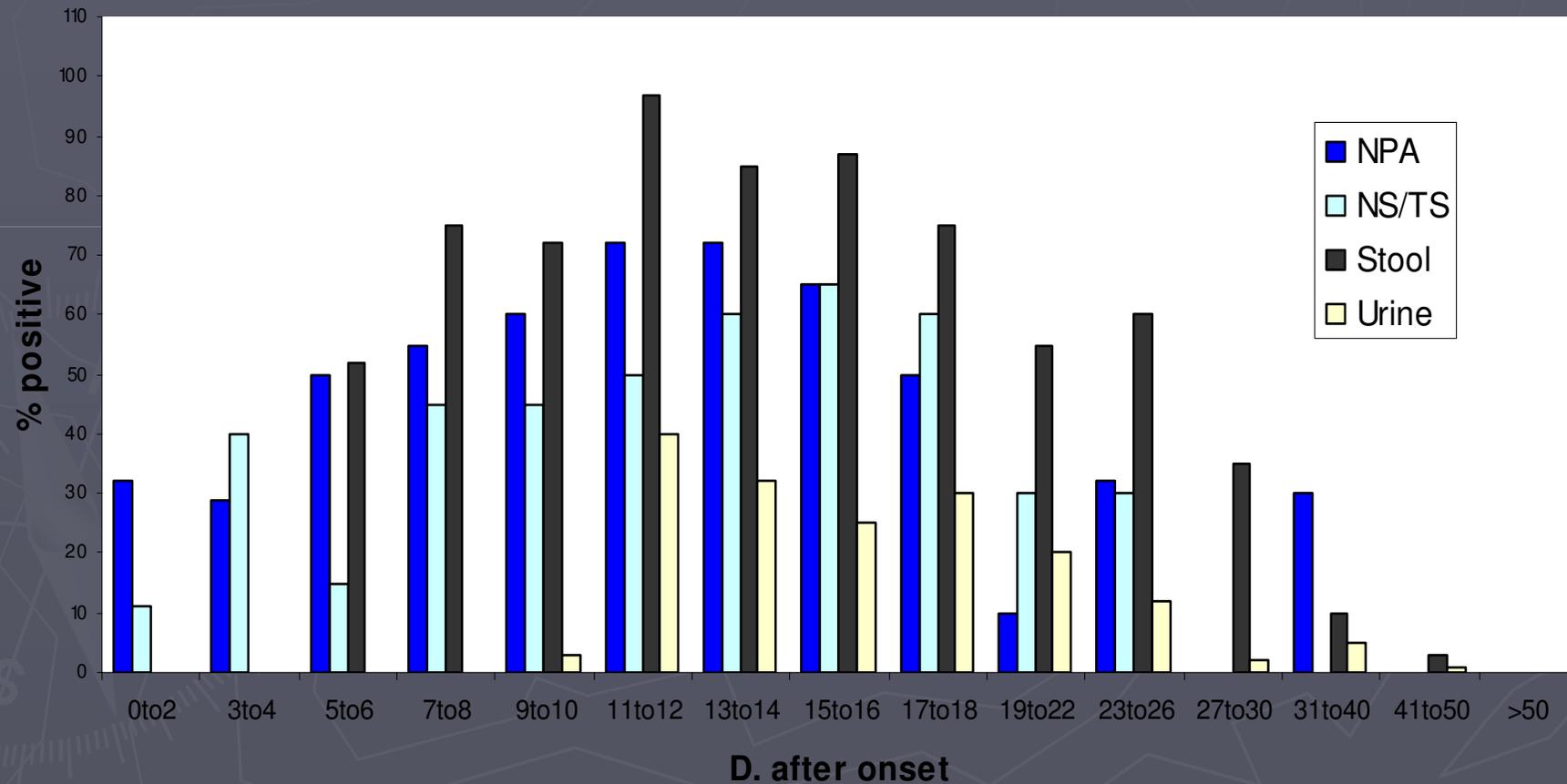
- Gène de la polymérase virale
- Gène de la nucléoprotéine

SRAS: Techniques moléculaires

Apport des techniques moléculaires

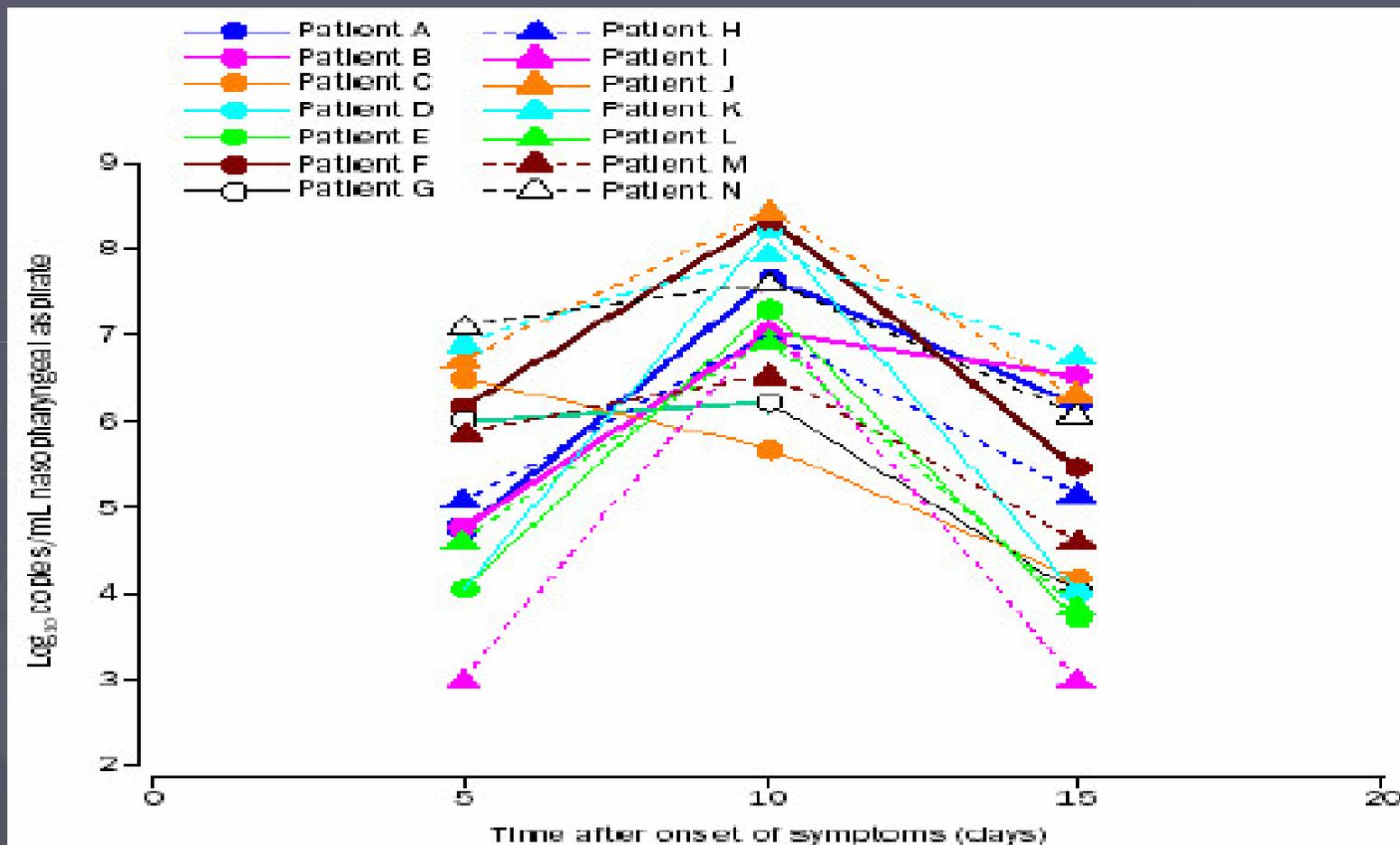
- Identification de l'étiologie du SRAS
- Mécanisme physiopathologique du SRAS
- Techniques sensibles et efficaces pour le diagnostic de l'infection
(amorces spécifiques du gène N, PCR en temps réel)
- Technique quantitative \Leftrightarrow Facteur prédictif de la gravité de la maladie

SRAS: Techniques moléculaires



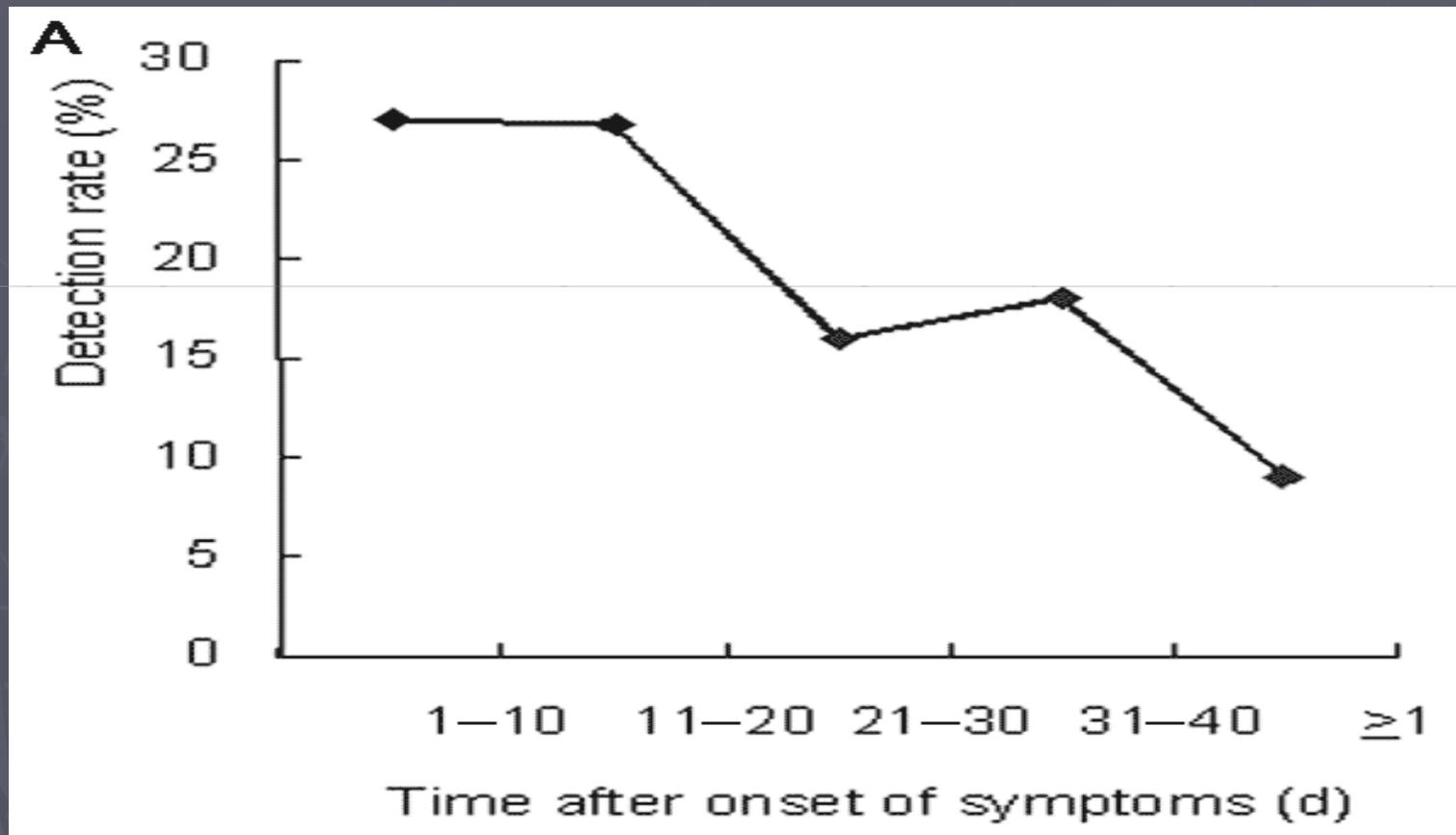
Chan et al., Emerging Infectious disease, 2004: 294 – 299

SRAS: Techniques moléculaires



Peiris et al., Lancet, 2003: 1767 - 1772

SRAS: Techniques moléculaires



Zhai et al., Emerging of Infectious Disease, 2004: 300 - 303

SRAS: Techniques moléculaires

LIMITES

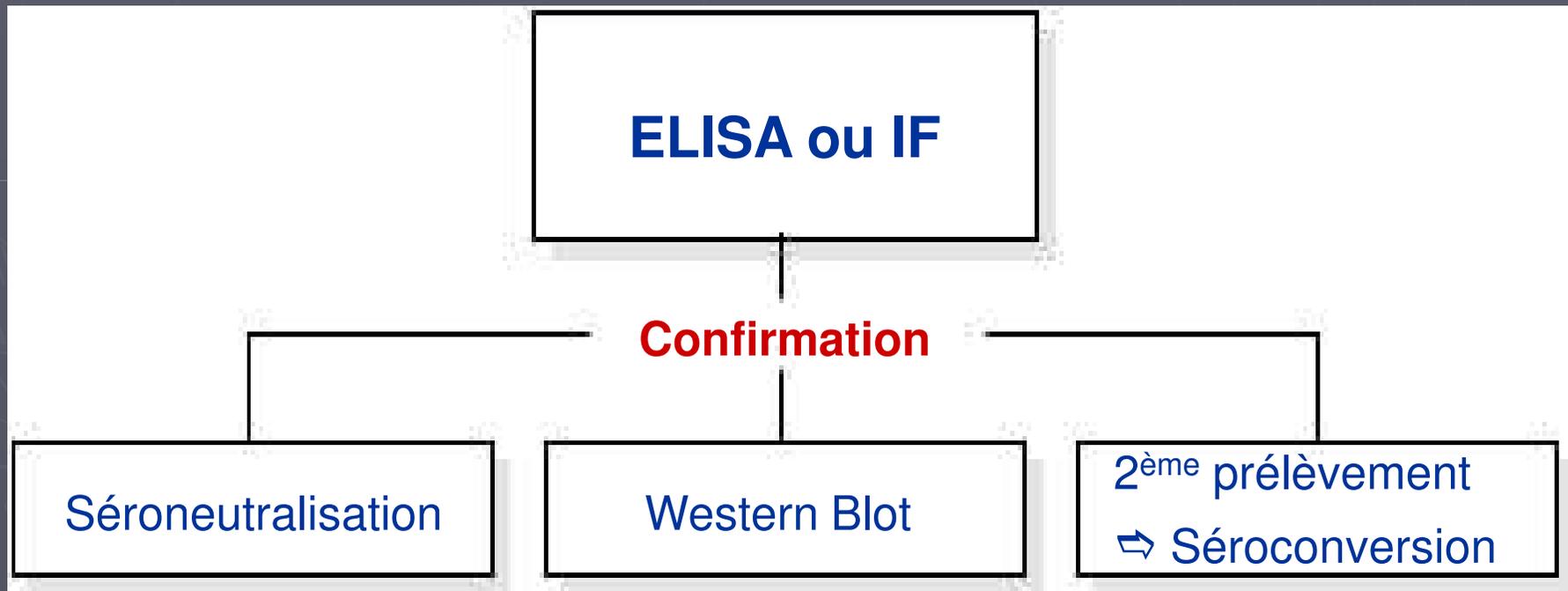
- ❑ Résultat de PCR négatif ➔ n'exclut pas le SRAS
- ❑ Risque de faux positifs suite à une contamination de laboratoire
- ❑ Résultat de PCR positif ➔ présence d'ARN viral: virus infectieux ou pas?

SRAS: Diagnostic Sérologique

- Délai d'apparition des Anticorps: **10^{ème} – 15^{ème} jour**
- Absence de SRAS **si** Sérologie négative à J21
- **Spécificité des tests sérologiques⁺⁺⁺** (ELISA et IF, 90 – 98%)

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

SRAS: Diagnostic Sérologique

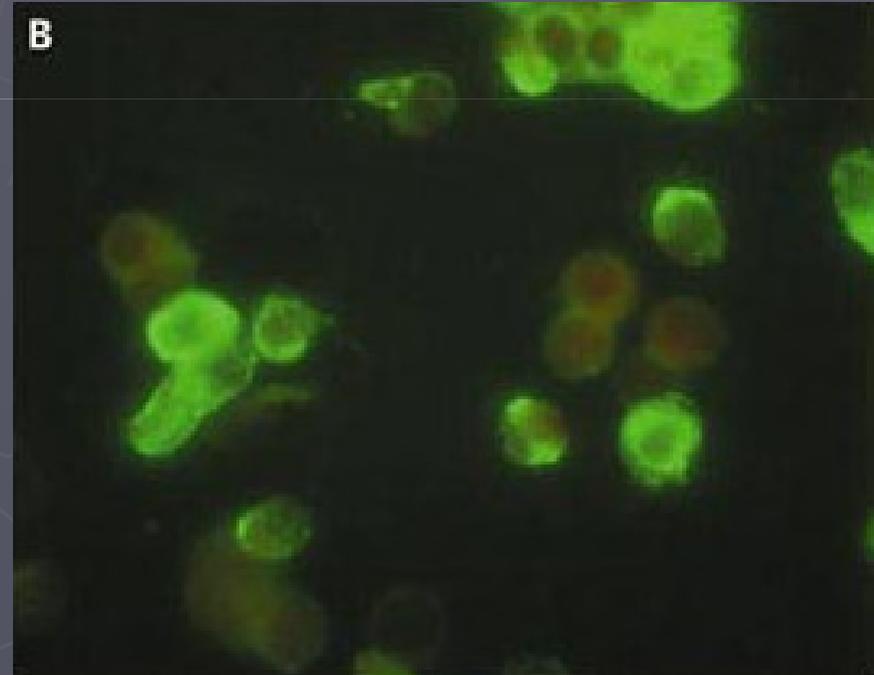


SRAS: Isolement viral sur cellules

- Inoculation sur cellules **Vero**

→ ECP (**J2 – J4**)

→ Identification par **IF**



SRAS: Isolement viral sur cellules

➤ Avantages

- Isolement viral pour caractérisation génétique
- Mise au point de cellules infectées pour IF
- Préparation de tests de séroneutralisation

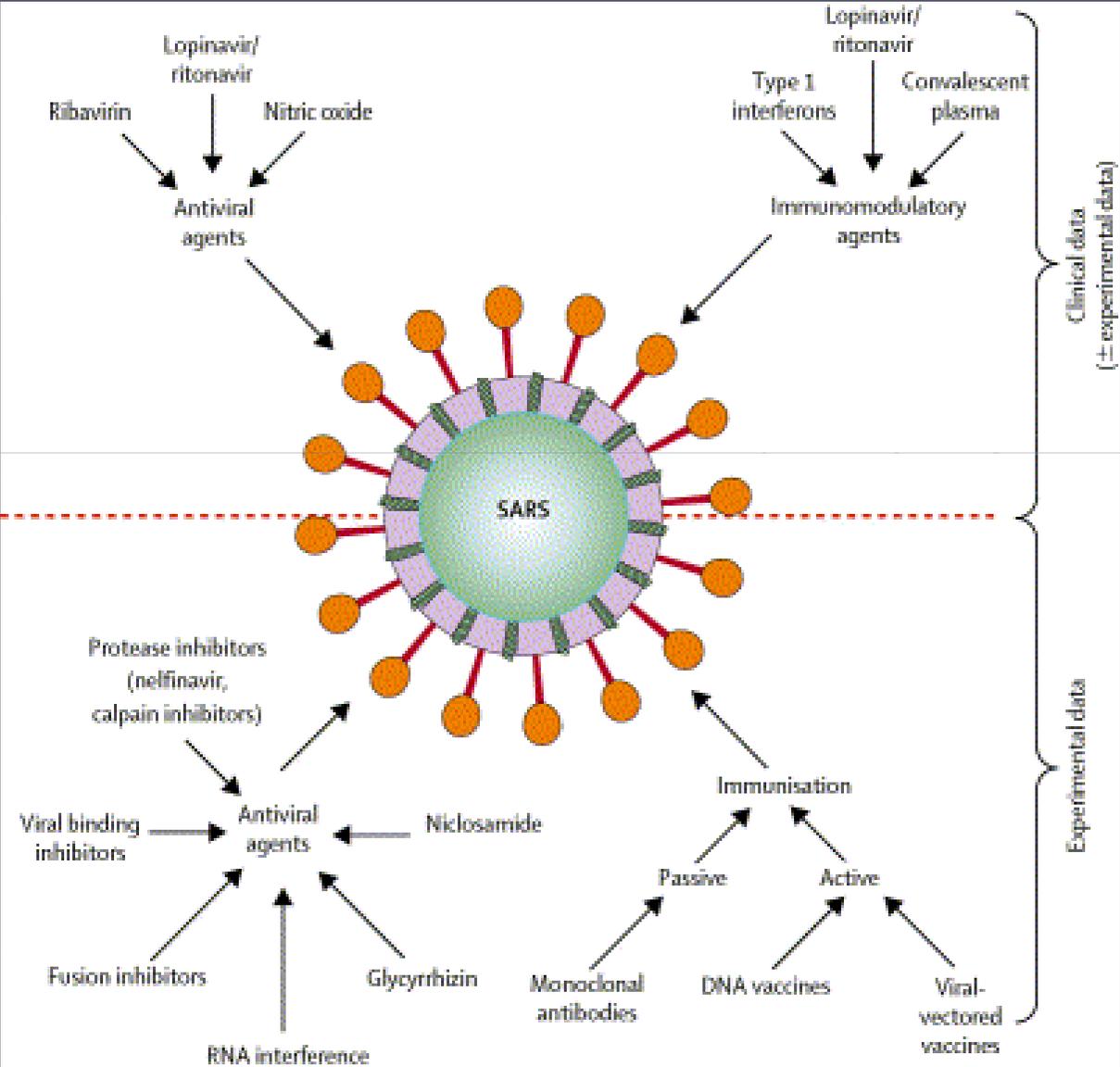
➤ Inconvénients

- Virus hautement infectieux
- Efficacité de la technique durant 1^{ers} jours

SRAS: Types de prélèvements et délai d'apparition des signes cliniques

Prélèvement	<1 Semaine d'évolution	1 - 3 semaines d'évolution	>3 semaines d'évolution
Serum	+	++	++
Sang total	+	+	-
Sécrétions Respiratoires (Expectoration, ANP, Ecouvillonnage)	+	++	+
Selles	+	++	++

Essais Thérapeutiques



Molécules thérapeutiques utilisées

☹ **Ribavirine**

- ✓ Analogue nucléosidique de la purine
 - ✓ Utilisée en association avec les corticoïdes
 - ✓ In vitro: Efficacité observée à de doses toxiques
 - ✓ In Vivo: Efficacité non prouvée
- Effets indésirables⁺⁺: anémie – atteinte hépatique

☹ **Inhibiteurs de la neuraminidase:** Efficacité nulle

☹ **Anti-protéases:**

- ✓ Prometteur en association avec corticoïde et ribavirine
- ✓ Nécessité d'administration précoce

Molécules thérapeutiques utilisées

☹ Interféron

- ✓ Utilisation d'une association interféron α et Immunoglobulines
- ✓ Interféron β : Efficacité plus importante in vitro

☹ Immunoglobulines

😊 Glycyrrhizine

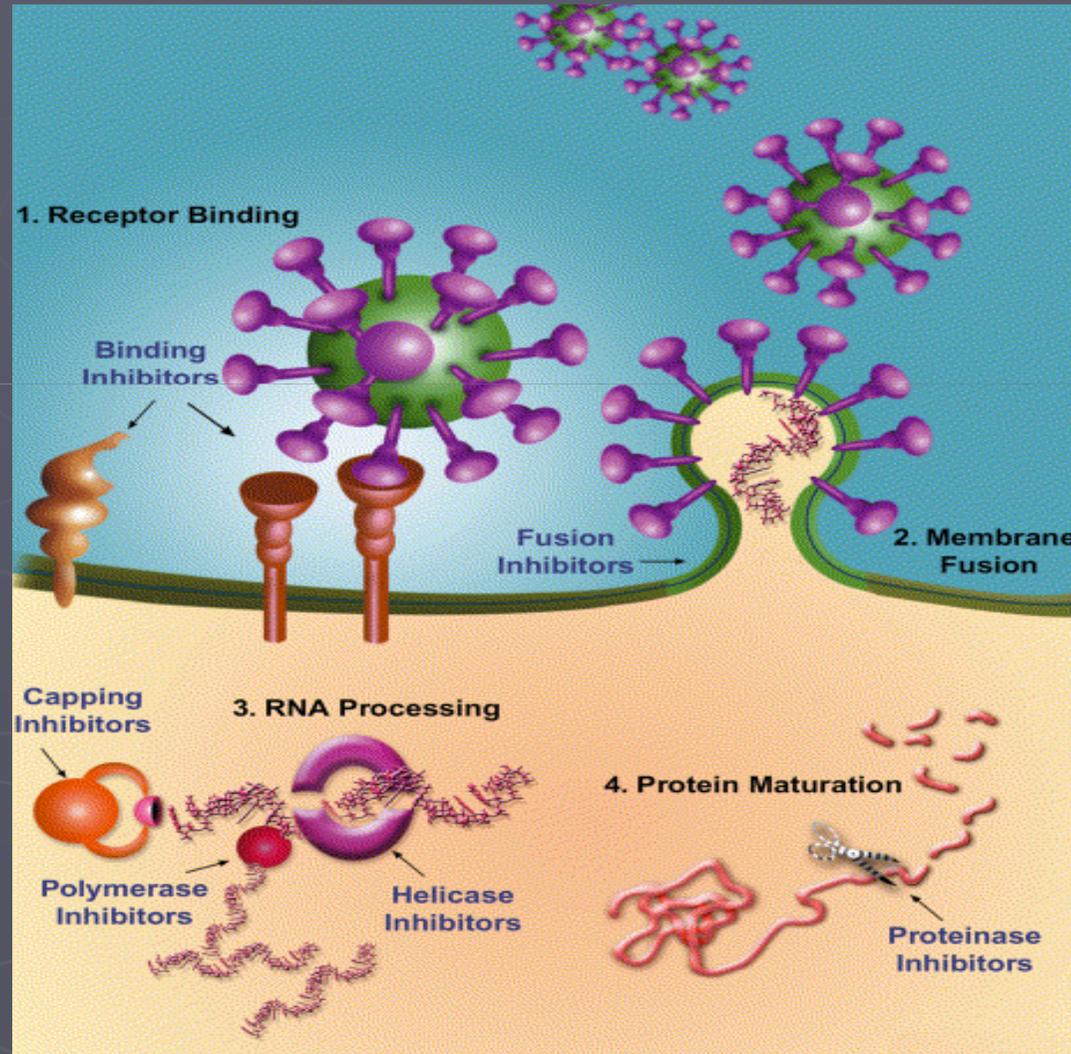
- ✓ Efficacité démontrée: inhibition des 1^{ères} étapes du cycle viral
- ✓ Inconvénients: Nécessité de fortes concentrations

☹ Corticoïdes

- ✓ Seuls ou en association avec des antiviraux
- ✓ Efficacité dépendante du temps et de la durée du traitement

Essais Thérapeutiques

- **Inhibition de l'adsorption et de la fusion virale:** forme soluble des ACE, inhibiteurs de fusion
- **Inhibition des enzymes virales:** hélicase, polymérase et protéase



PERSPECTIVES VACCINALES

- Utilisation de vecteurs viraux

- ✓ Expression de gènes codant pour S, M et N
- ✓ Inoculation par voie intramusculaire et intranasale
- ✓ Stimulation de la réponse humorale et cellulaire

- Vaccins à ADN

- ✓ Gènes codant pour les protéines S ou N
- ✓ Stimulation de la réponse cellulaire
- ✓ Études en cours chez la souris

Définition clinique du cas suspect de SRAS (OMS)

- ▶ Personne présentant une poussée fébrile ($\geq 38^{\circ}\text{C}$)

ET

- ▶ Signes respiratoires (Toux ou gêne respiratoire)

ET

Un ou plusieurs éléments suivants au cours des 10 jours précédant l'apparition des symptômes:

- ◆ Notion de contact rapproché avec un cas présumé ou probable de SRAS;
- ◆ Anamnèse de voyage dans une zone où l'on a récemment signalé une transmission locale de SRAS
- ◆ Anamnèse de résidence dans une zone où l'on a récemment signalé une transmission locale au SRAS

Définition clinique du cas probable de SRAS (OMS)

Personne présentant des symptômes et des signes cliniquement évocateurs de SRAS

ET

Signes radiologiques d'infiltrats pulmonaires compatibles avec une pneumonie ou un syndrome de détresse respiratoire

OU

observations compatibles avec une pneumonie ou un syndrome de détresse respiratoire sans cause identifiable à l'autopsie.

ET

Absence de tout autre diagnostic pouvant expliquer entièrement la maladie

Définition Biologique du cas probable de SRAS (1) (OMS)

Personne présentant des symptômes et des signes cliniquement évocateurs de SRAS

ET

PCR positive pour le SARS-CoV:

✓ sur au moins deux échantillons cliniques différents (aspiration nasopharyngée et selles)

OU

✓ sur le même échantillon clinique prélevé à deux moments différents ou plus pendant la maladie (aspirations nasopharyngées)

OU

✓ deux PCR différentes ou une PCR répétée utilisant chaque fois un nouvel extrait d'ARN provenant de l'échantillon clinique initial.

Définition Biologique du cas probable de SRAS (2) (OMS)

Personne présentant des symptômes et des signes cliniquement évocateurs de SRAS

ET

Détection des anticorps spécifiques

- ✓ Séroconversion par IF ou ELISA

OU

- ✓ Augmentation de 4fois le titre des anticorps

ET

Isolement du SARS-Cov sur culture de cellules confirmé par PCR

Stratégies de prévention contre le SRAS en Tunisie

Définition du cas suspect de SRAS

- Toute personne de retour, depuis moins de 10 jours, d'un pays endémique (notion de transmission locale) et présentant **une fièvre > 38°C** avec ou sans signes respiratoires

- Toute personne présentant **une fièvre > 38°C** avec **notion de contact rapproché** depuis moins de 10 jours, avec un cas suspect

Définition du cas probable de SRAS

- Toute cas suspect qui présente des opacités alvéolaires ou alvéolo-interstitielles à la radio du thorax

Stratégies de prévention contre le SRAS en Tunisie

Conduite à tenir immédiate

- Réduction du contact du sujet avec d'autres personnes
- Port de bavette ou de masque chirurgical au malade
- Port de bavette pour le personnel chargé de la prise en charge du sujet
- Contact des équipes spéciales de prise en charge de première ligne

Stratégies de prévention contre le SRAS en Tunisie

Rôle des équipes spéciales de première ligne

- Interrogatoire du malade
- Prise de la température
- Remplissage de la fiche d'intervention
- Classification initiale du cas comme suspect ou non
- Remplissage de la fiche de déclaration
- Transport sécurisé du malade vers le centre médical de référence

Stratégies de prévention contre le SRAS en Tunisie

Prise en charge dans le service hospitalier d'urgence

- Réduction de contact au strict minimum
- - Transfert du malade vers le lieu d'isolement
- - Prélèvement pour examens complémentaires (Sérologie virale et bactérienne, NFS, VS, CPK, Transaminases, Urée)
- - Prélèvements pour hémocultures
- Réalisation quotidienne de radiothorax
- Autres prélèvements en fonction de la clinique (coproculture, PL)
- Traitement des cas suspects (ATB) et probables (ribavirine)
- En cas de gravité, transfert du malade en réanimation

Stratégies de prévention contre le SRAS en Tunisie

Traitement des cas

- Réduction de contact au strict minimum
- Transfert du malade vers le lieu d'isolement
- Prélèvement pour examens complémentaires (Sérologie virale et bactérienne, NFS, VS, CPK, Transaminases, Urée)
- Prélèvements pour hémocultures
- Réalisation quotidienne de radiothorax
- Autres prélèvements en fonction de la clinique (coproculture, PL)

Stratégies de prévention contre le SRAS en Tunisie

Prise en charge des sujets contacts

Un sujet contact est toute personne qui, durant les 10 jours précédents:

- a été impliqué directement dans les soins d'un patient porteur du SRAS sans protection

- ou a habité avec un tel patient sous le même toit

- Durant 10 jours

- ✓ En cas de contact avec cas probable: Éviction scolaire ou professionnelle, prise quotidienne de température et suivi régulier par les autorités sanitaires
- ✓ En cas de contact avec cas suspect: Minimisation des contacts et prise biquotidienne de la température

Conclusion

- **SRAS = Exemple type à suivre pour les maladies émergentes**
 - ⇒ Importance de la collaboration internationale
 - ⇒ Efficacité de la riposte contre la flambée épidémique
- **Risque de ré-émergence du SARS**
 - ⇒ Importance du maintien de la surveillance
- **Importance des recherches dans les domaines**
 - ⇒ Diagnostique
 - ⇒ Thérapeutique et vaccinal