FACULTE DE MEDECINE D'ALGER

Virus des Hépatites à ARN
VHA et VHE
VHC et VHD

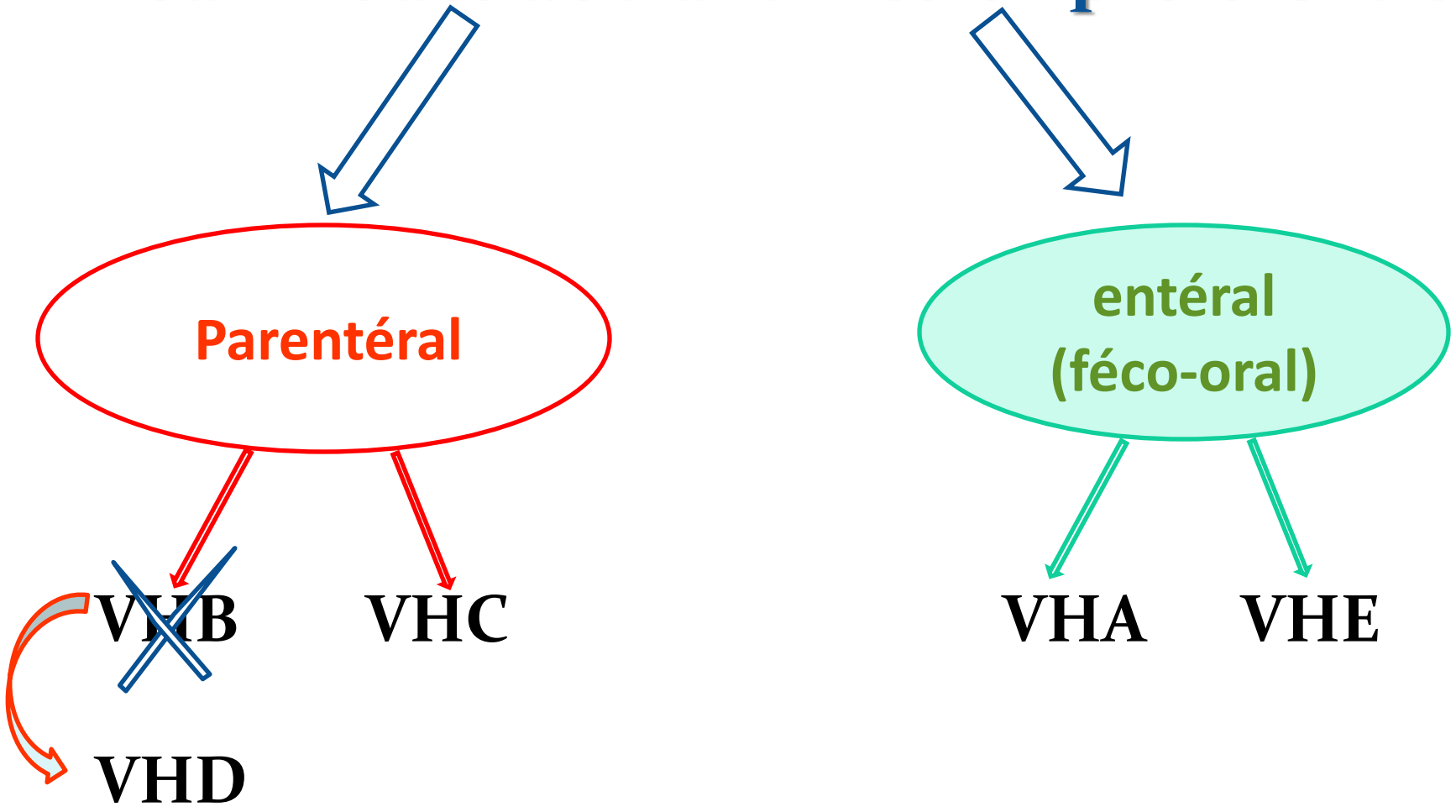
Dr A. BENSALEM

Année universitaire 2015- 2016

Généralités

VIRUS DES HEPATITES

Deux modes de transmission préférentiels



Généralités

Qu'est-ce qu'une hépatite?

- Maladie inflammatoire du foie qui peut être aiguë ou chronique; associant des signes cliniques et des signes biologiques semblables, dominée par les *formes asymptomatiques*.
  - cliniquement: Ictère, syndrome grippal…
  - Cytolyse hépatique: ↑ ALAT/ASAT
  - +/- cholestase: ↑ PAL et Bilirubine

VIRUS DES HEPATITES à ARN

VHA

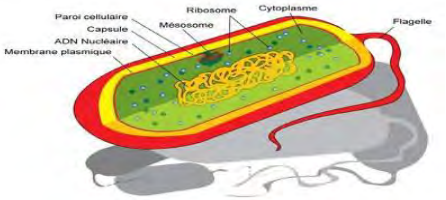
VHC

VHD

VHE

Généralités

Étiologies des Hépatites



Bactérie

Auto immune

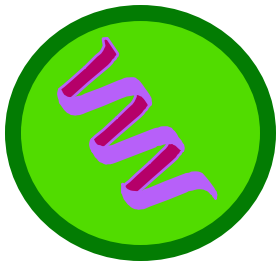
Alcool

médicaments

Virus

Virus à transmission entérale

VIRUS DE L'HEPATITE A (VHA)
VIRUS DE L'HEPATITE E (VHE)



Généralités

Hépatites virales

virus ayant un tropisme hépatique dominant

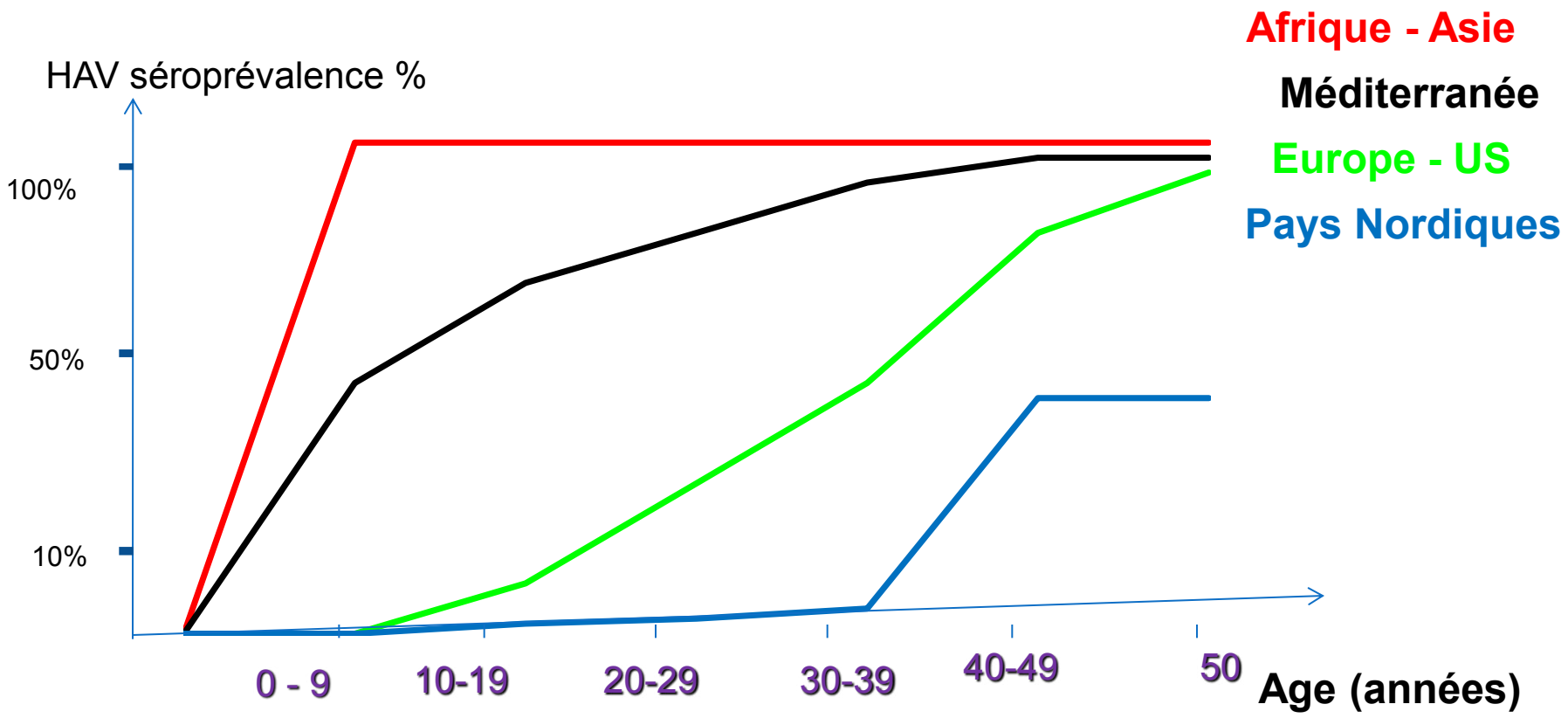
Cinq (5) virus des hépatites existent , désignés par les lettres alphabétiques de **A à E.**

Sont exclus les virus qui atteignent **secondairement** ou **occasionnellement** le foie :

- ✓ Herpesviridae (**HSV1 et HSV2**)
- ✓ virus varicelle-zona (**VZV**)
- ✓ Cytomegalovirus (**CMV**)
- ✓ Epstein Barr Virus (**EBV**)
- ✓ Virus de la fièvre jaune

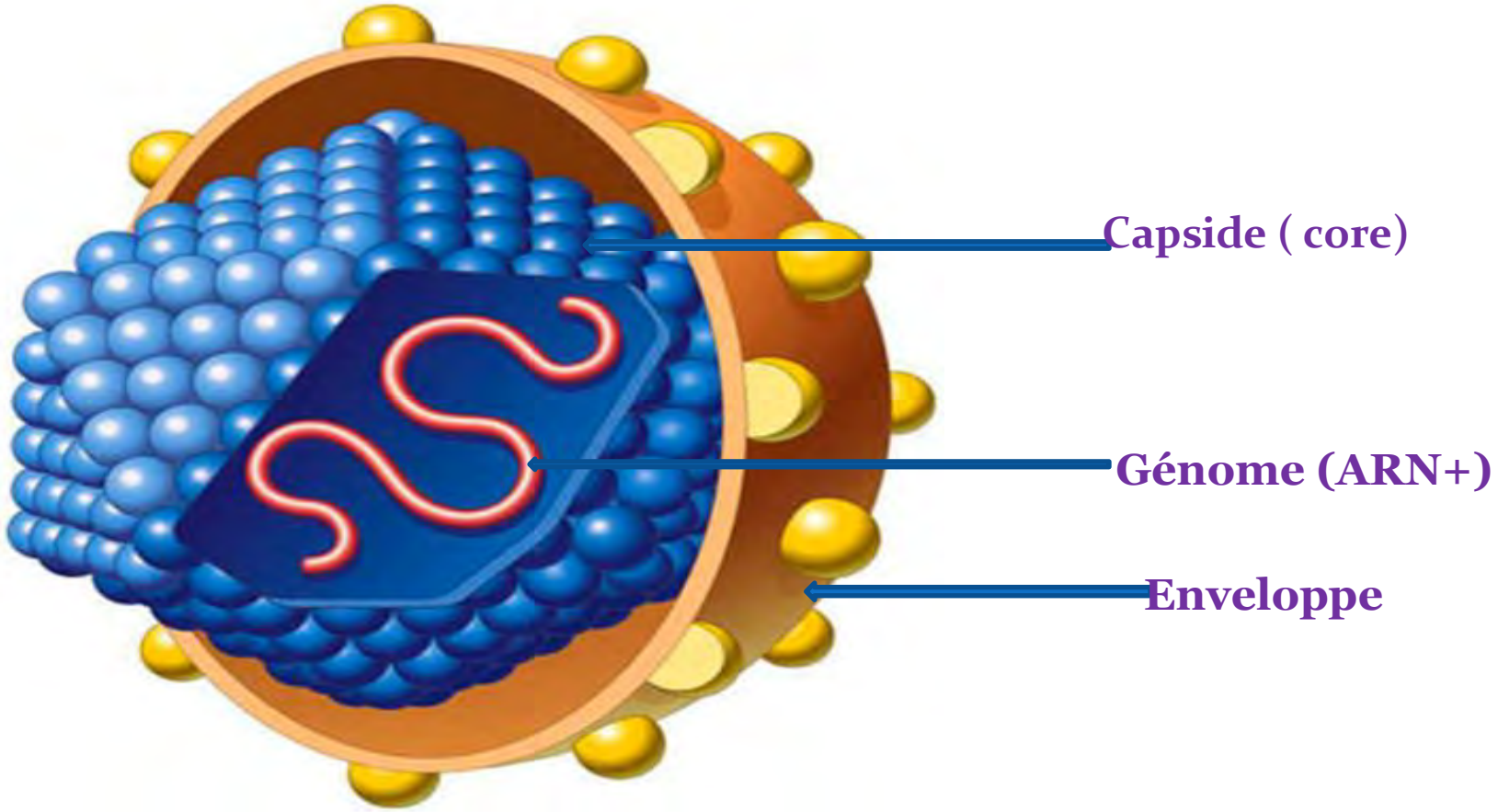
Hépatite A : épidémiologie

1.4 millions de nouveaux cas par an



Evolution de la prévalence en hépatite A selon les zones géographiques

Famille : Flaviviridae
Genre : Hepacivirus
Hôte naturel : Homme



Diagnostic virologique

Indirect: sérologique(ELISA) la présence des AC anti VHC, signe un contact avec le VHC, ne permet pas de poser le dg positif d'infection.

Examen direct : la biologie moléculaire permet la détection du génome (ARN) viral et pose le diagnostic de l'infectiosité:

- **RT-PCR qualitative permet de poser le dg (+/-)**
- **RT- PCR temps réel utilisée actuellement. Elle permet de mesurer la charge virale . Elle est indiquée dans le bilan pré-thérapeutique et le suivi thérapeutique**

Variabilité du VHC

- **Les génotypes du VHC**

6 principaux types (le plus fréquent en Algérie c'est le génotype 1b) numérotés de 1 à 6 (génotype 7 de découverte récente en Afrique du Sud)

- **Une centaine de sous-types:**

  Identifiés par une lettre minuscule après le chiffre

  (ex : 1a, 1b…)

- **Variabilité génétique à l'origine de l'hétérogénéité des populations infectés: « appelée quasi-espèce »**

Détermination du génotype

- **garde son intérêt en cas du bilan pré-thérapeutique pour la bi ou trithérapie:**

➢ Facteur prédictif de la réponse au traitement

➢ Conditionne la dose de ribavirine et la durée du traitement (24 / *48 semaines)*

Mode de contamination du virus C

- **Transfusion et greffe d'organes (avant 1994)**
- **Toxicomanie**
- **Hémodialyse**
- **Endoscopie (défaut de stérilisation du matériel)**
- **Tatouage, *piercing, scarification (hidjama)***
- **Soins dentaires**
- **Exposition aux liquides biologiques (Professionnels de santé)**
- **Transmission mère-enfant : 3 à 5% sauf co-infection VIH (20%)**
- **Circonstance inconnue 20% des cas**

Généralement tout contact avec le sang

Méthodes du génotypage

- Détermination **sérologique** du génotype du VHC « sérotypage » (**ELISA**)

- Détermination **moléculaire** du génotype du VHC « génotypage »

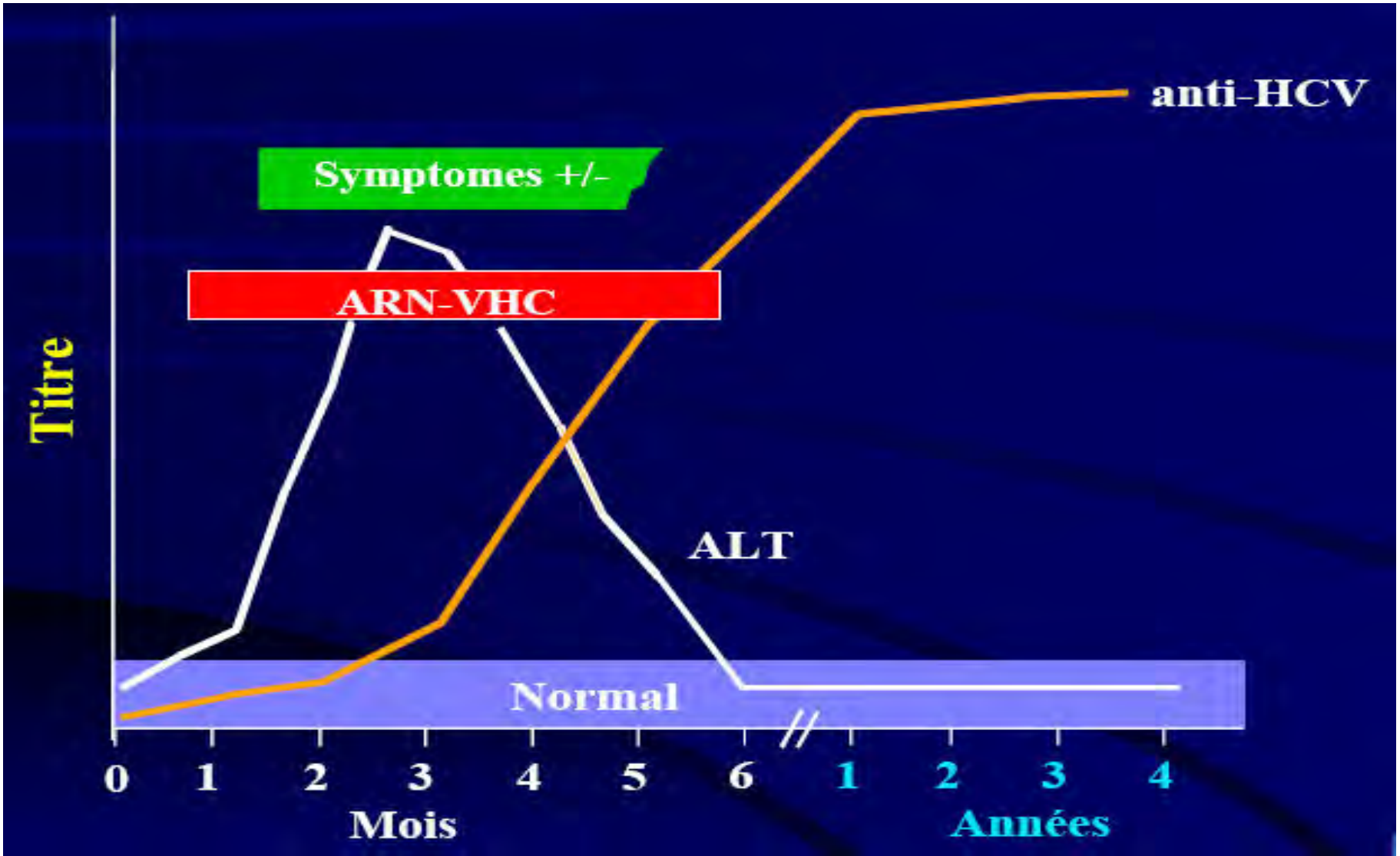
DIAGNOSTIC DE L'HEPATITE VIRALE C

- **20% guérison spontanée**
- **50% des enfants contaminés à la naissance évoluent vers l'Hépatite C chronique.**

- **Chez le nouveau-né, l'ARN VHC par PCR peut être recherché à partir du 15^{em} jours**

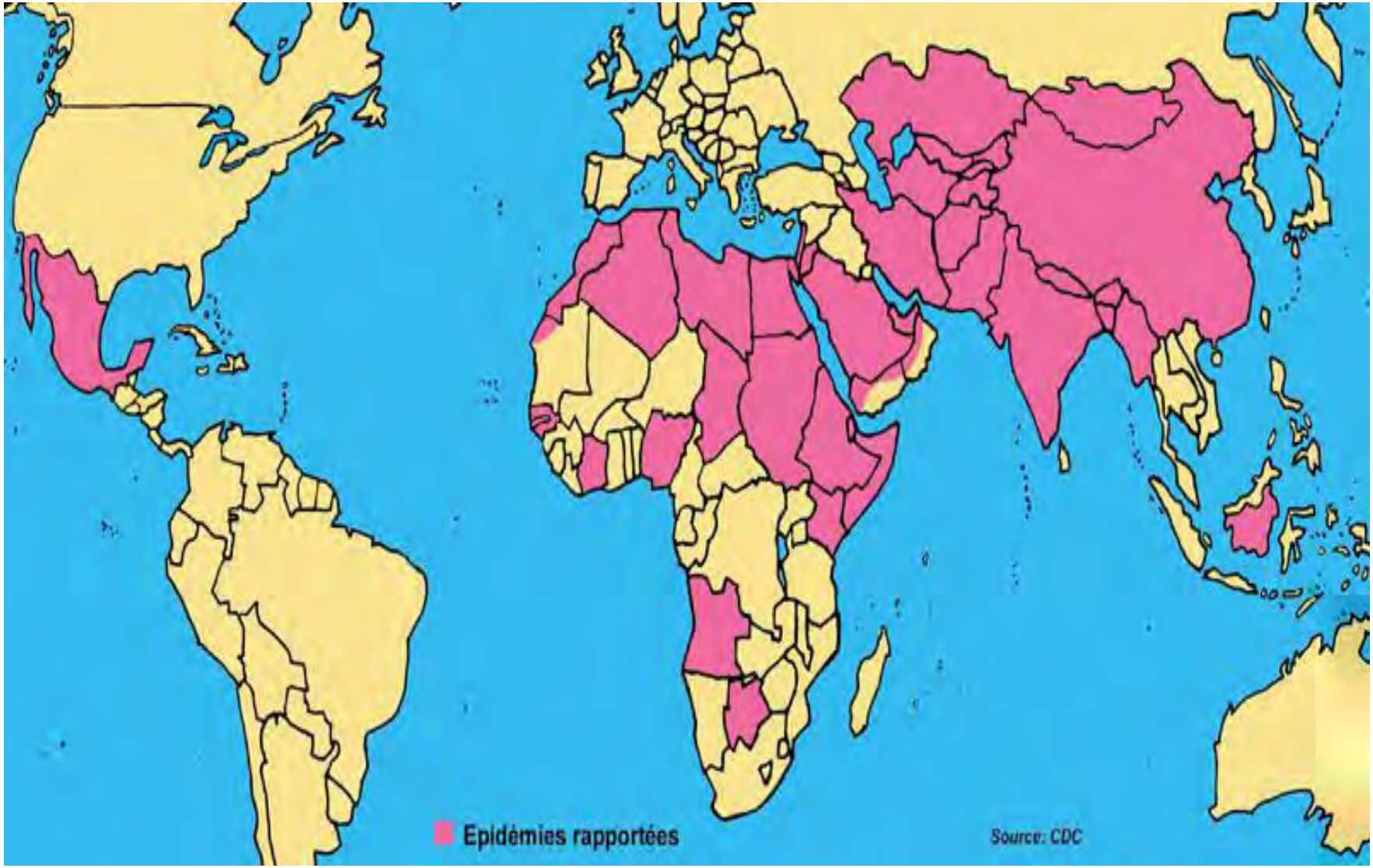
- **La recherche des AC anti-VHC se fait après la première année**

Cinétique des marqueurs de l'infection par le VHC: infection résolue



Distribution géographique du VHE dans le monde.

Les zones ayant connues des épidémies.

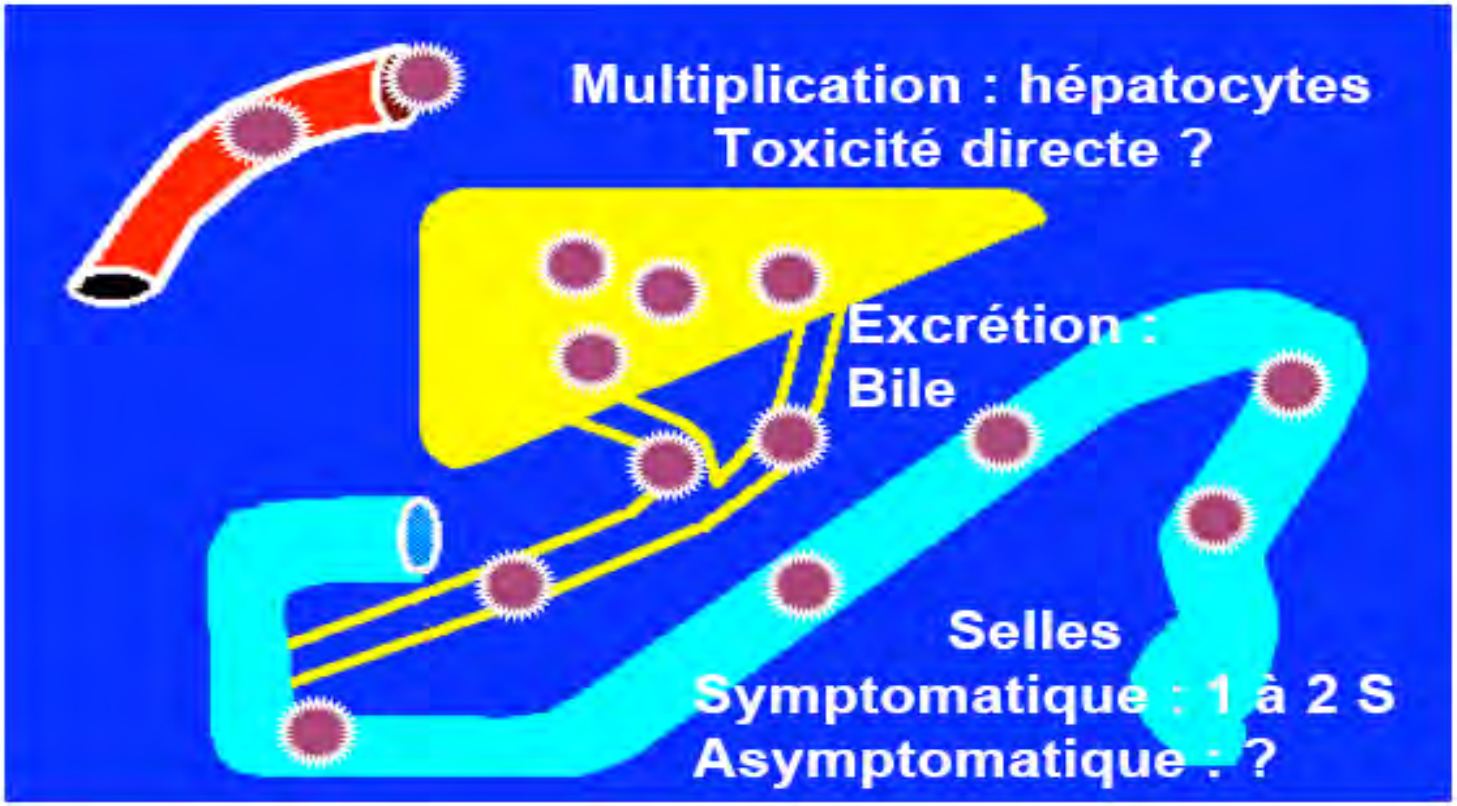


PHYSIOPATHOLOGIE

VHA: réservoir strictement humain

VHE: réservoirs: Humain et animal ⟹ l'hépatite E est une zoonose

Transmission du VHA , du VHE: féco-orale



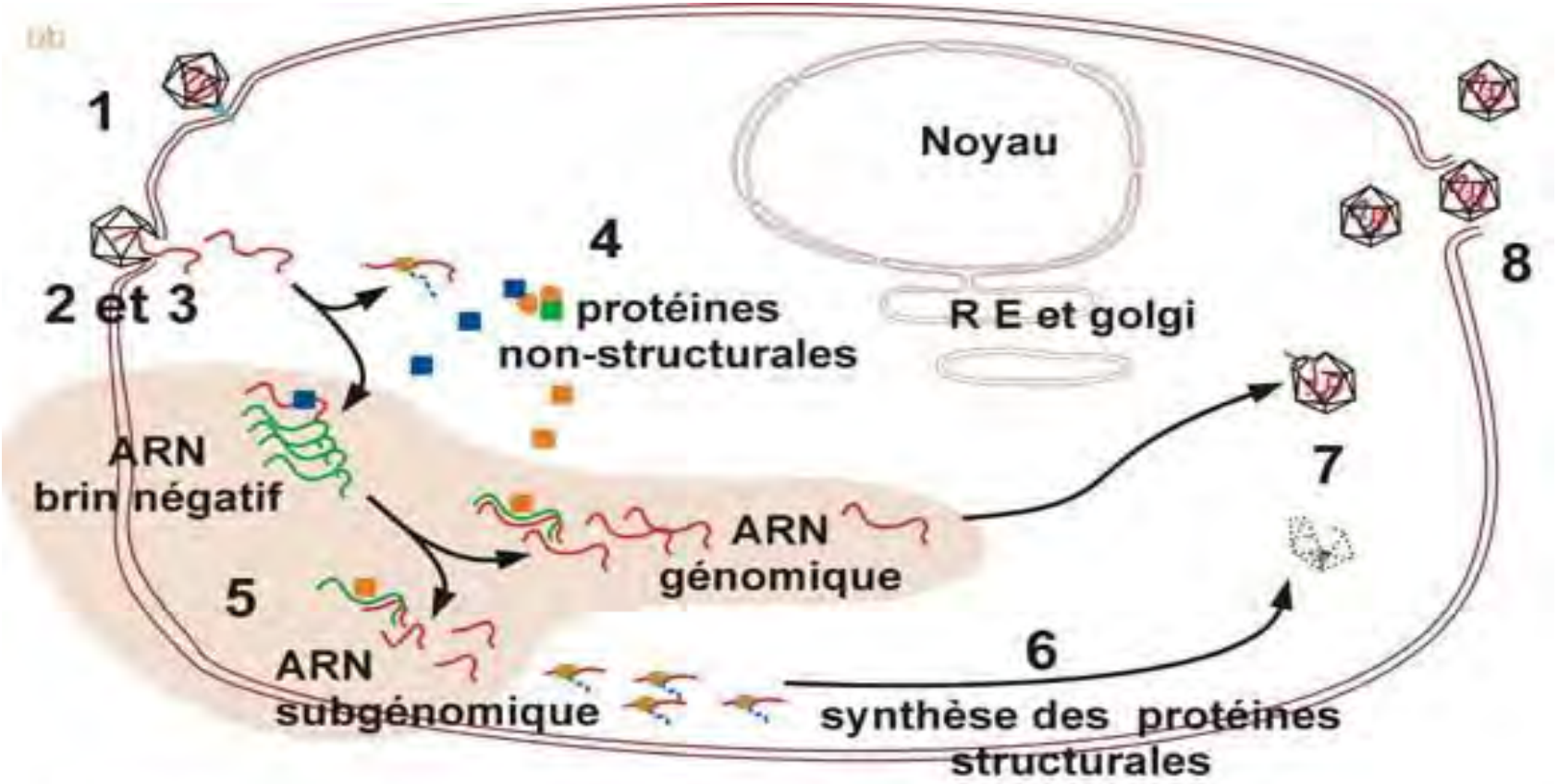
Caractéristiques des virus

Caractéristiques	VHA	VHE
Famille	Picornaviridae	Hepeviridae
Genre	hepatovirus	hepevirus
Génome	ARN+ 1 brin linéaire	ARN+1 brin linéaire
Nb nucléotides	7474	7200-7500
Site de réplication	cytoplasme	cytoplasme
Nb sérotype	1 seul	1 seul
Enveloppe	absente (nu)	absente (nu)

Histoire naturelle HVA- HVE

	VHA	VHE
Incubation	30 J (15-45 j)	45J(15-70J)
Formes inapparentes	surtout enfants	Enfants et adultes jeunes
Phase pré-ictérique	1 à 2 semaines	1 à 2 semaines
Phase ictérique	2 à 4 semaines	2 à 4 semaines
Transaminases	ALATx20 à 100 Normal	ALATx20 à 100 Normal
Evolution favorable	99%	96%
Formes fulminantes	1%	4% (20% fin de grossesse)
chronicité	non	Oui chez les immunodéprimés

Cycle de réplication du VHE



1: attachement
2 et 3: pénétration/décapsidation
4: synthèse des protéines non-structurales
5: réplication/transcription
6: synthèse des protéines structurales
7 et 8: encapsidation et libération

Diagnostic indirect

sérologie ELISA +++

VHA

- Recherche des AC anti VHA IgM : infection aigüe
- Recherche des AC anti VHA IgG=> immunisation: guérison/vaccination

VHE

- Recherche des AC anti VHA IgM : infection aigüe
- Recherche des AC anti VHA IgG=> immunisation: guérison/vaccination

Résistance aux agents physico-chimiques

VHA

Stabilité:

- Milieu ext : qq sem à pls mois à T°:
  - + 4°C - 20°C : 1 an
  - 25°C : 3 mois
  - 56°C : 30 mn
- pH acide :
  - pH 3 à 25°C / 3h
- éthanol à 70°
- dérivés iodés 1mn

VHA

Inactivation:

- Chauffage:20mn/121° C (autoclavage)
- UV: 1mn à 1,1W
- Chlore 2 - 2,5 mg/L 30 mn
- Hypochlorite de Na en 1 mn (désinfection des surfaces)
- Glutaraldéhyde 2%/1 mn à 20°C (désinfection des surfaces)
- l'ozone 0,25 - 0,39mg/L 20°C(stérilisation de l'eau potable)

VHE

Stabilité :

T°: 45° 50°C :

50% de la population virale inactivée

Inactivation :

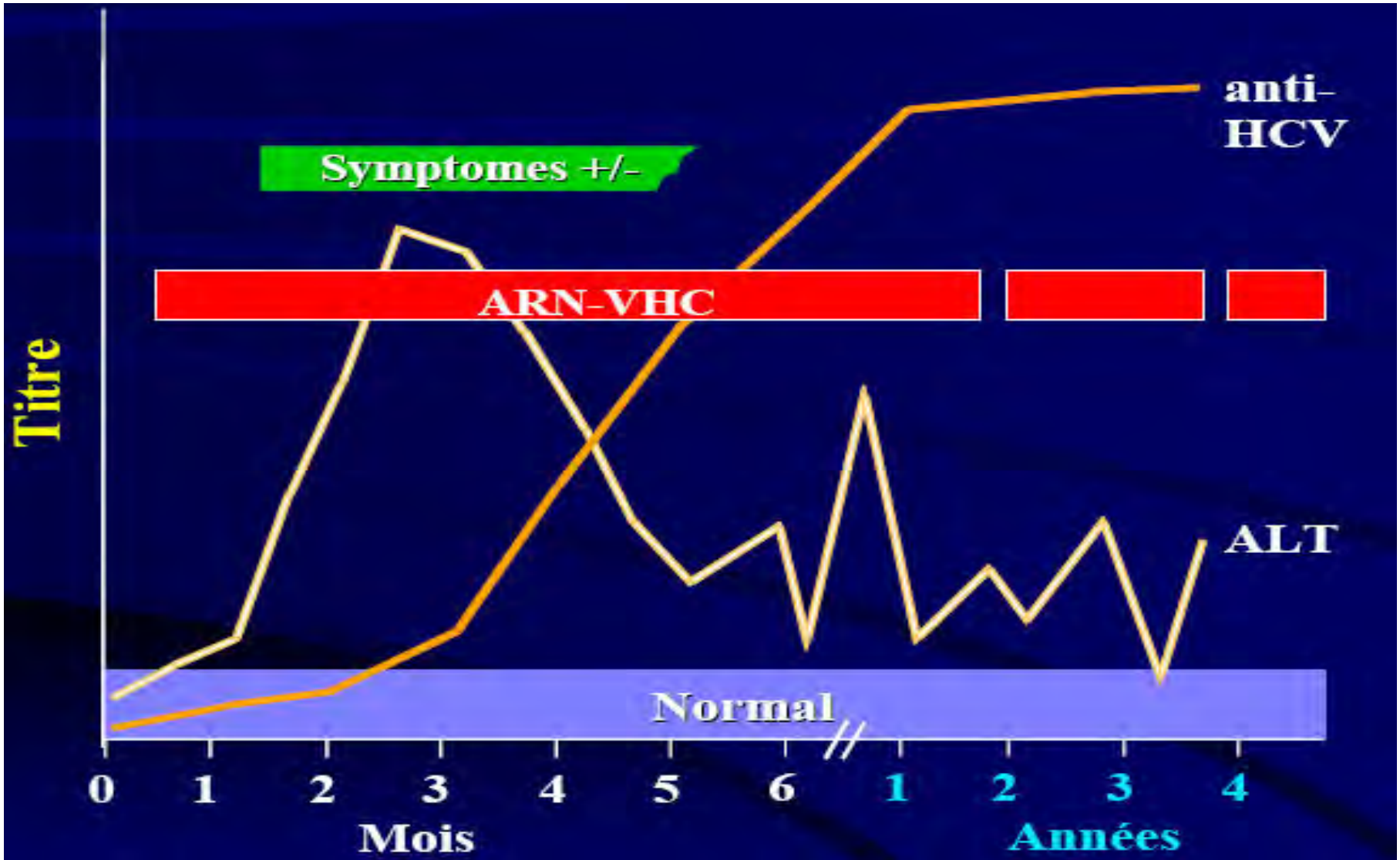
60°C / 1 heure

Diagnostic direct

- Techniques moléculaires par détection du génome (**ARN**)viral:
  - PCR en temps réel, PCR nichée…
  - Séquençage
- Culture cellulaire (laboratoires spécialisés)
- Détection antigénique par ELISA

Ces techniques ne sont pas de pratique courante

Cinétique des marqueurs de l'infection par le VHC: infection chronique



Bilan pré-thérapeutique
en cas de bi ou trithérapie

- **Détermination du génotype de 1 à 6**

- **Quantification de la charge virale**

Intérêts :

- Décision thérapeutique
- Optimisation du schéma thérapeutique
- Etude de la réponse virologique

Buts du traitement

- **Primaire**: éradication du virus = guérison

- **Secondaire** :

➢ Prévenir l'évolution vers la cirrhose

➢ Réduire l'incidence vers le CHC

➢ Réduire la nécessité de transplantation

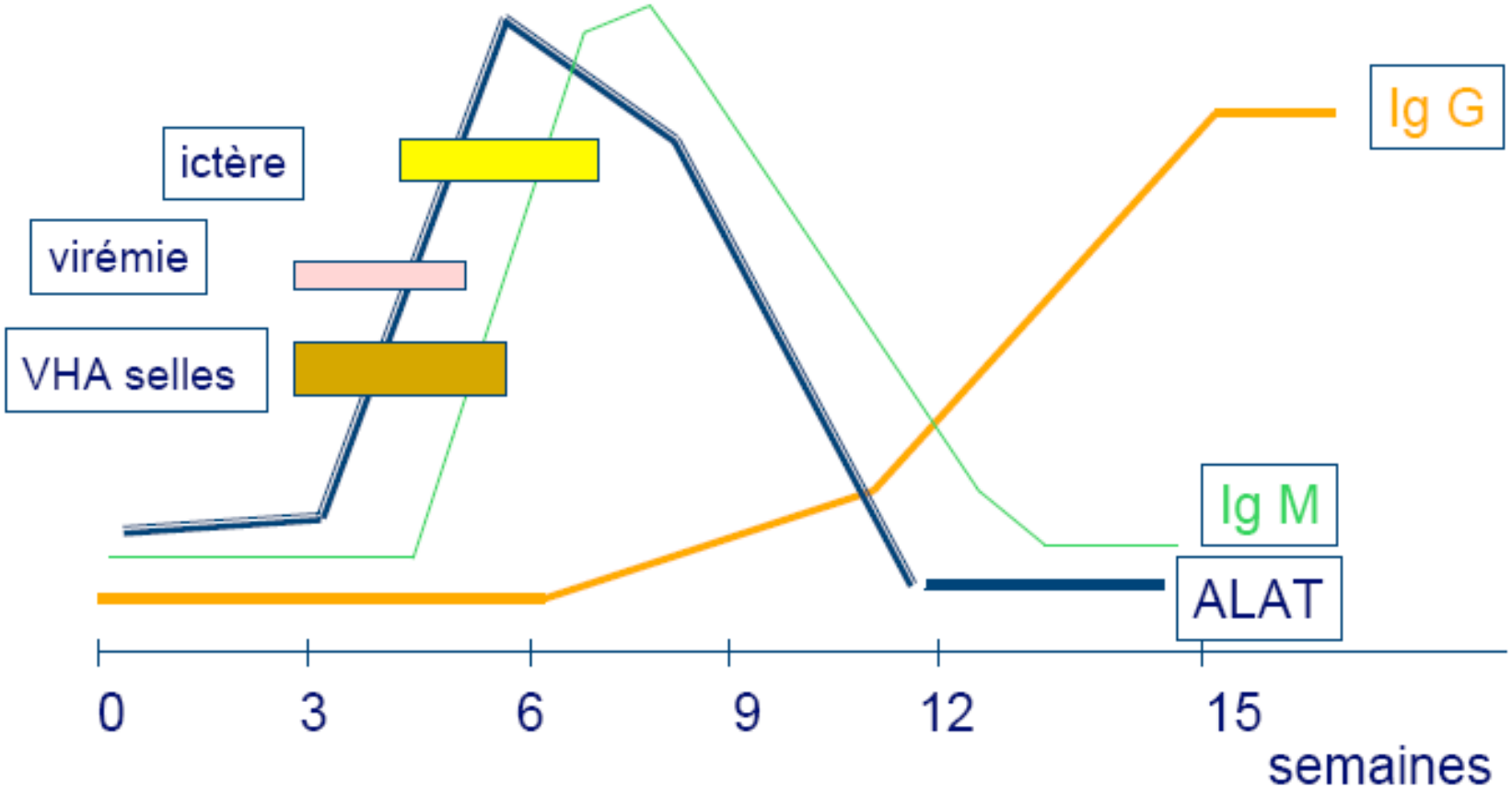
➢ Augmenter les chances de survie

Prévention:

les règles générales d'hygiène
il n'existe pas de vaccin à ce jour

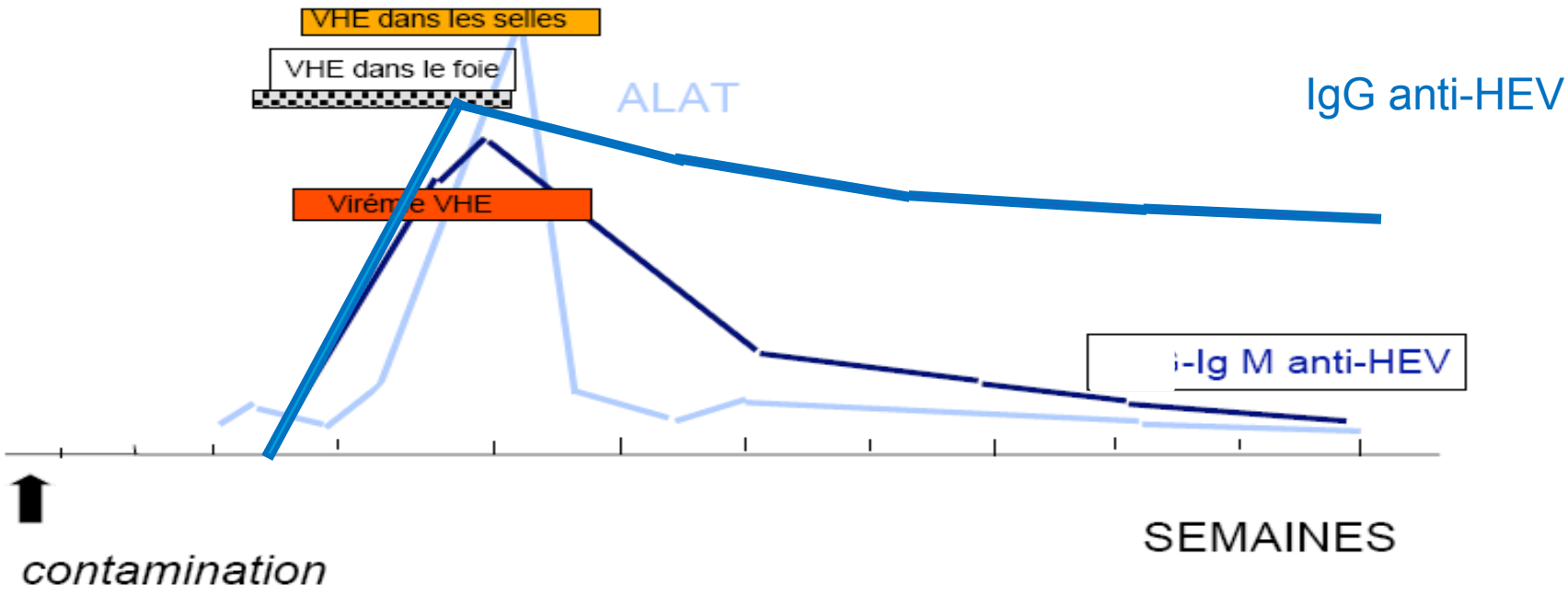
on assiste actuellement à une **révolution thérapeutique** avec les nouvelles molécules : **A**ntiviraux à **A**ction **D**irecte (AAD) qui probablement vont permettre l'éradication vu VHC

Évolution des paramètres biologiques au cours de l'hépatite A



VIRUS DE L'HEPATITE D
ou delta

Évolution des paramètres biologiques au cours de l'hépatite E



Virus de l'hépatite delta

- **VHD se transmet exclusivement dans le contexte d'une <u>infection par le virus de l'hépatite B</u>**

- Les personnes infectées par le virus de l'hépatite D peuvent être co-infectées (infectées par le virus de l'hépatite B et celui de l'hépatite D en même temps) ou surinfectées (personne déjà infectée par le virus B ensuite contaminée par le virus D, lors d'une nouvelle prise de risque (sexuelle ou sanguine).

- **L'atteinte hépatique est souvent sévère : plus de formes fulminantes en cas de coïnfection ou de surinfection.**

Prévention des hépatites à transmission entérale

Non spécifique : Hygiène +++

- Des mains nécessaire ainsi qu'un soin rigoureux pour les aliments et les boissons dans les régions d'endémie.
- Il existe également une transmission parentérale faible pour les toxicomanes intraveineux mais aussi pour les personnels de santé après piqûre accidentelle.

- **Spécifique : Vaccination (pays à faible prévalence).**
- **Pas de vaccination en Algérie**

- **VHA :** 1 injection IM deltoïde rappel 6 mois / 10 ans. Séroconversion 100 % 21^{em} jour.
- Nourrissons, enfants: 2 injections / un mois d'intervalle, rappel 6 à 12 mois après la primo vaccination, puis /10 ans.

- **VHE :** nouveau vaccin

Modes de transmission

Même mode que le virus de l'hépatite B :

- **voie sanguine** (parentérale) : la plus fréquente, concerne les groupes à risque d'infection par le VHB: produits sanguins (hémophiles, hémodialysés et transfusés), les partages de seringues chez les toxicomanes (risque élevé chez les toxicomanes).
- **voie sexuelle**, surtout homosexuelle
- **contamination mère-enfant**
- **contamination intrafamiliale**

En plus une transmission alimentaire a été rapportée (huitres, coquillages) et hydrique???

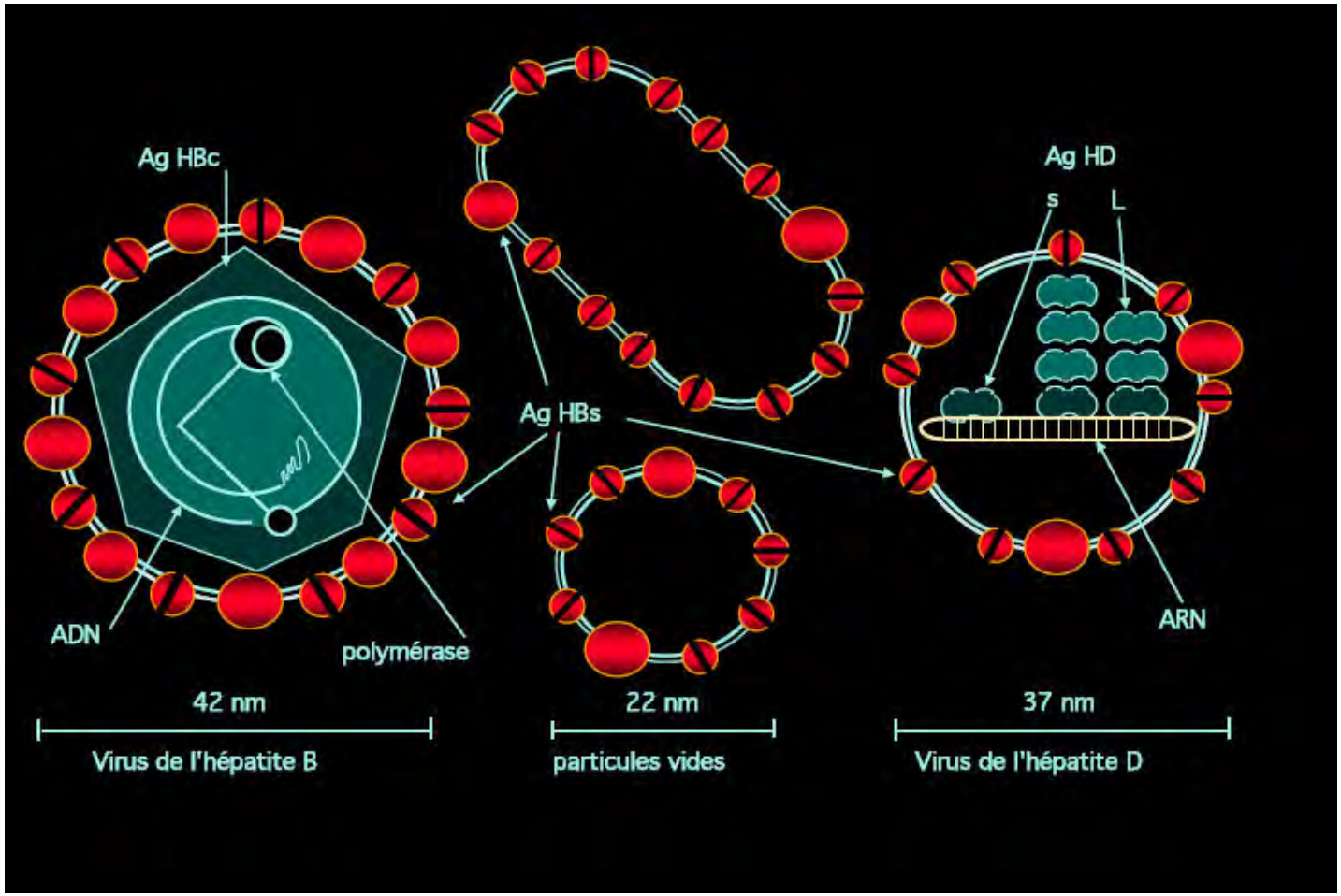
Virus à transmission parentérale

VIRUS DE L'HEPATITE D (VHD)
VIRUS DE L'HEPATITE C (VHC)

VHD

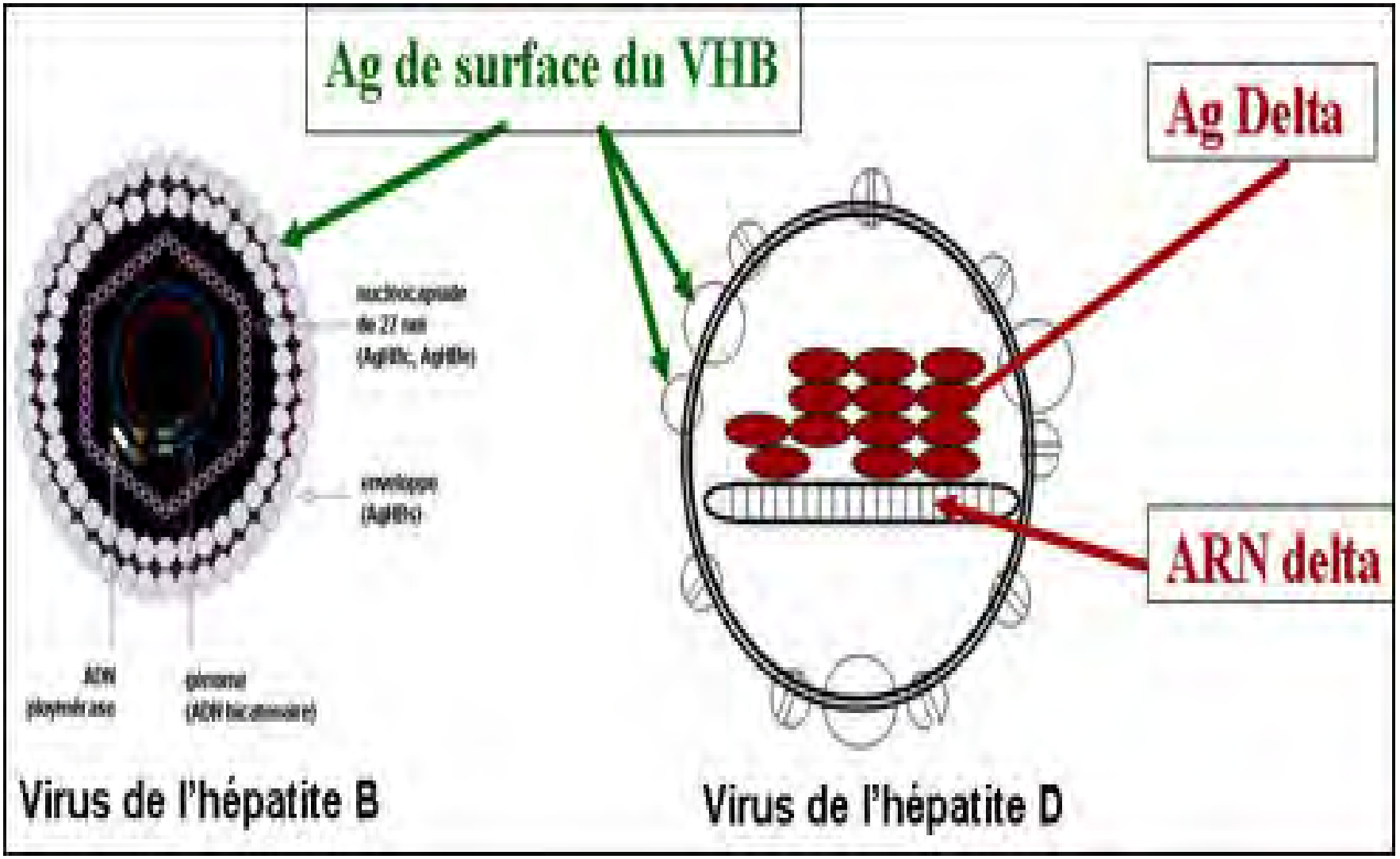
- **Virus défectif, satellite du Virus de l'Hépatite B**
- **ARN simple brin circulaire de polarité négative**
- **Genre** Deltavirus
- **Amérique du Sud, Afrique, Mongolie,**
- **Maladies graves du foie, aiguës ou chroniques**

VHD satellite du VHB

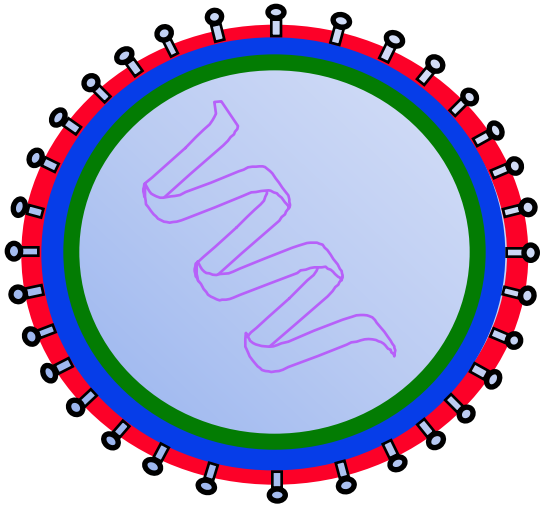


- **Le traitement : Lourd et décevant**

- **La prévention repose sur la vaccination contre l'hépatite B**


Ag de surface du VHB
Ag Delta
ARN delta
Virus de l'hépatite B
Virus de l'hépatite D

VIRUS DE L'HEPATITE C



Le diagnostic

- L'hépatite D doit être recherchée dans le contexte d'un portage de l'antigène HBs, une hépatite sévère ou chronique.
- **Direct :détection, chez un sujet Ag HBs+, les marqueurs directs du VHD :**
  - * **Recherche du génome (ARN) du VHD**
  - * **L' antigène VHD:** l'antigénémie est très fugace, de une à quatre semaines
- **Indirect : ELISA**
  - * **IgG anti-VHD**
  - * **IgM anti-VHD : ne disparaissent pas en cas d'hépatite D chronique.**

Epidémiologie de l'hépatite C

- **~ 170 millions infectés**

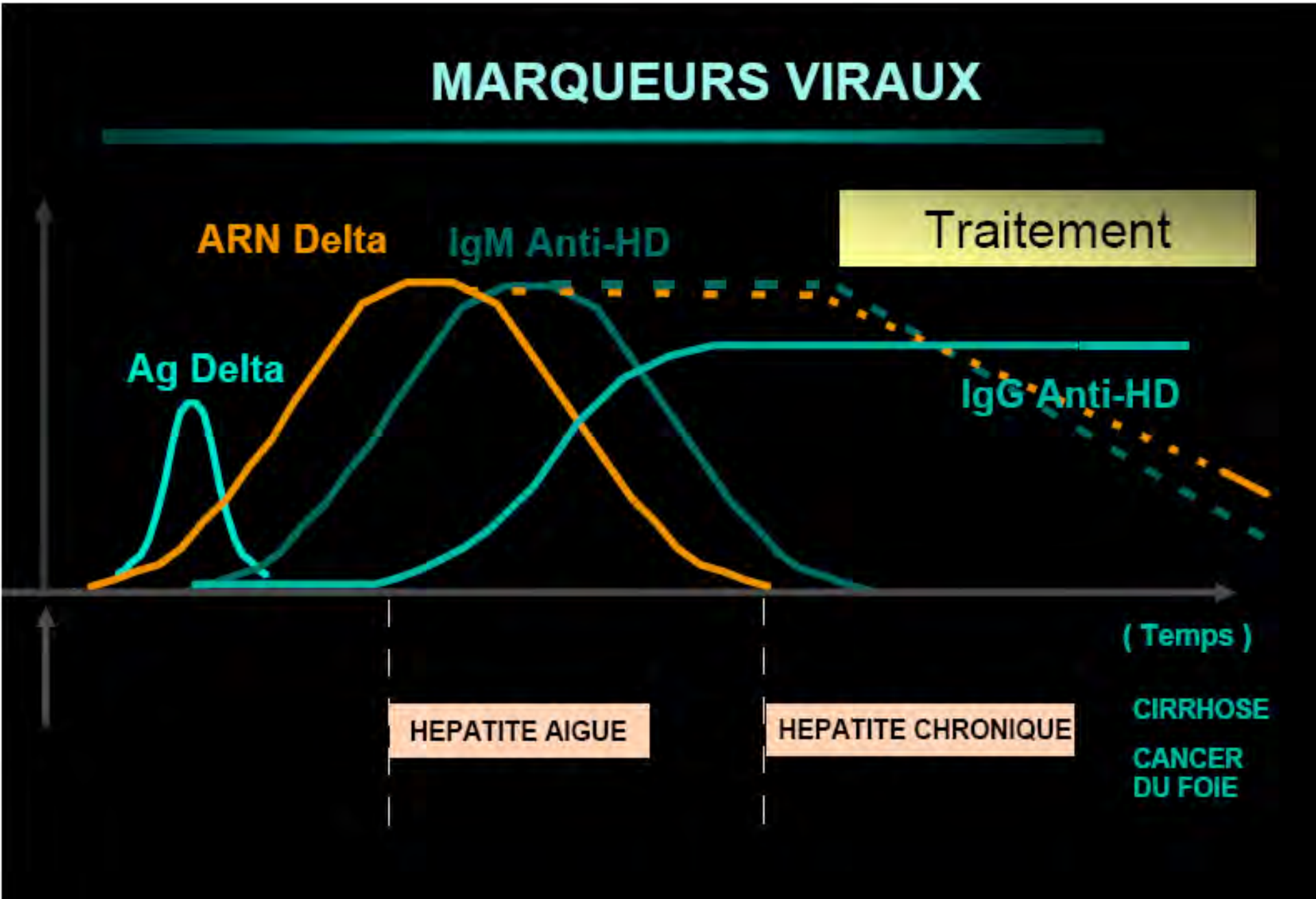
L'infection est souvent asymptomatique,

Evolution : 80% hépatite chronique

20%

Cirrhose, Carcinome hépatocellulaire (CHC)

MARQUEURS VIRAUX



Carte d'identité du VHC

- **Famille: Flaviviridae, genre: Hepacivirus**
- **Taille :55 à 65 nm**
- **Génome :ARN + simple brin, linéaire 9800 pb**
- **Capside : icosaédrique**
- **Enveloppe : dérivée des membranes péri nucléaires**
- **Réplication : cytoplasmique**

LES VIRUS A ARN

« PICORNAVIRIDAE »

Dr Henniche. F
Dr Bouzeghoub. S
Dr Yeddou.R

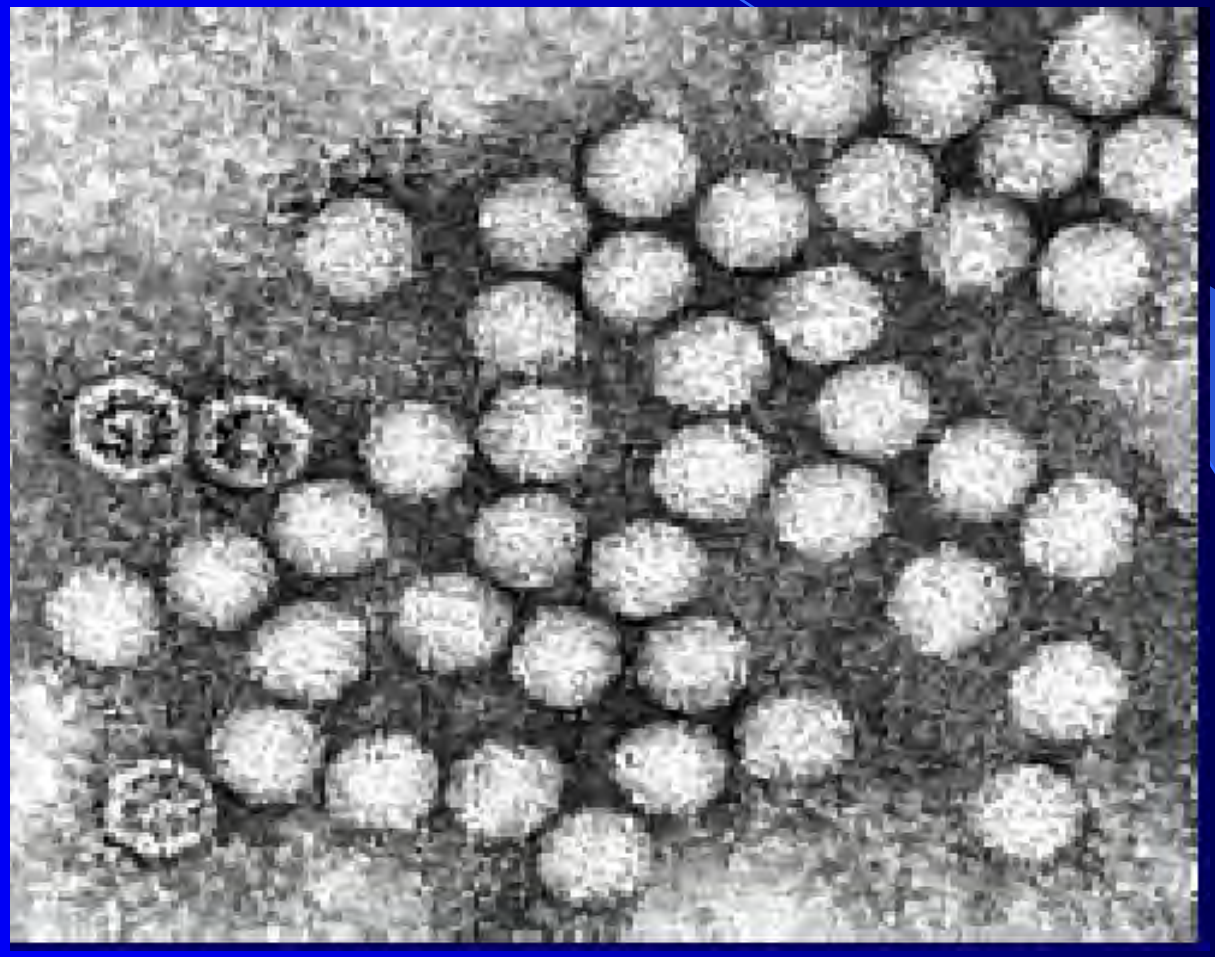
INTRODUCTION

- Ce sont de petits virus à ARN, nus
- Résistants dans le milieu extérieur
- Plusieurs virus sont pathogènes pour l'homme : les poliovirus, les entérovirus non polio, le virus de l'hépatite A et les rhinovirus

STRUCTURE

- Ils sont considérés comme les plus petits virus pathogènes pour l'homme, leur taille est de 28 à 30 nm de diamètre
- Le génome est un ARN linéaire monocaténaire de 7,5 kb environ
- La capside est de symétrie icosaédrique, formé de 60 protomères. Chaque protomère comprend 4 protéines VP1, VP2, VP3 et VP4 constituant différents sites antigéniques et reflètent la grande variabilité de ces virus

27 nm de diamètre



Famille des *Picornaviridae*

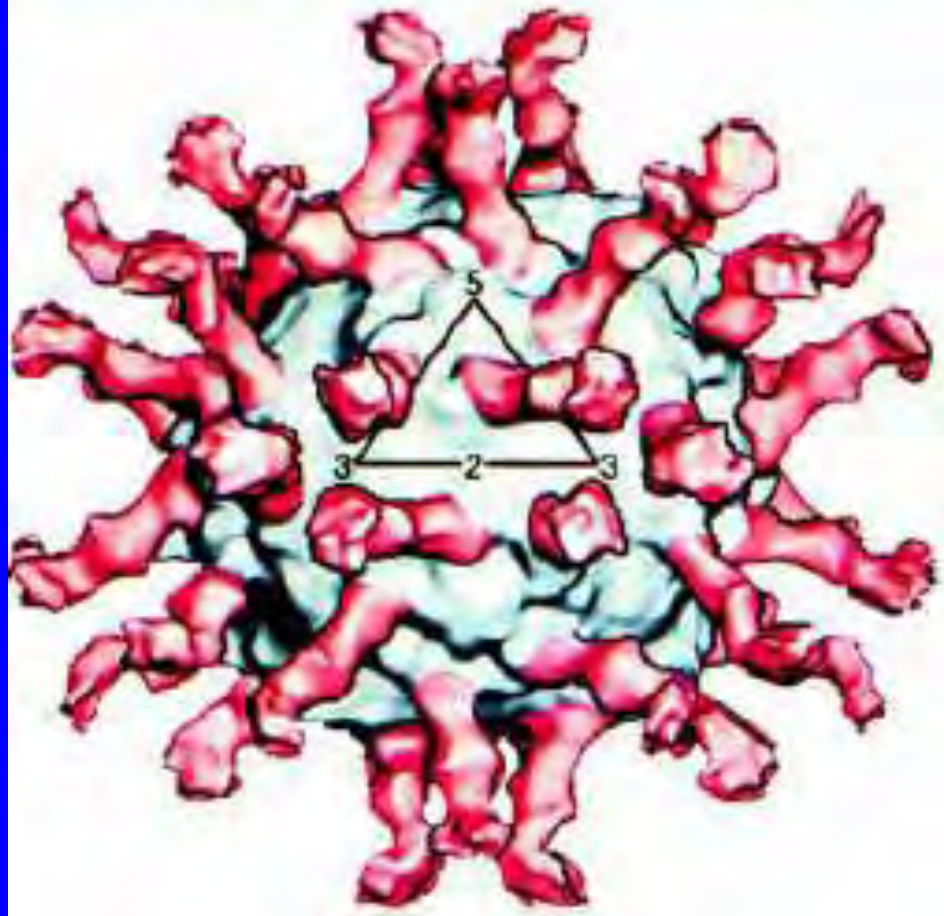
Genre	Espèces	Sérotypes
Rhinovirus	rhinovirus humains A	58 sérotypes
	rhinovirus humains B	17 sérotypes
	rhinovirus humains non classés	25 sérotypes
Hepatovirus	Virus de l'hépatite A	1 sérotype
Enterovirus	entérovirus humains A	12 sérotypes : coxsackievirus A 2-8, 10, 12, 14, 16, entérovirus 71
	entérovirus humains B	36 sérotypes : coxsackievirus B 1-6, A9 Echovirus 1-7, 9, 11-21, 24-27, 29-33, entérovirus 69
	entérovirus humains C	14 sérotypes : poliovirus 1-3, coxsackievirus A1, 11, 13, 15, 17-22, 24
	entérovirus humains D	2 sérotypes : entérovirus 68 et 70
Parechovirus	paréchovirus humains	2 sérotypes : paréchovirus type 1 et type 2

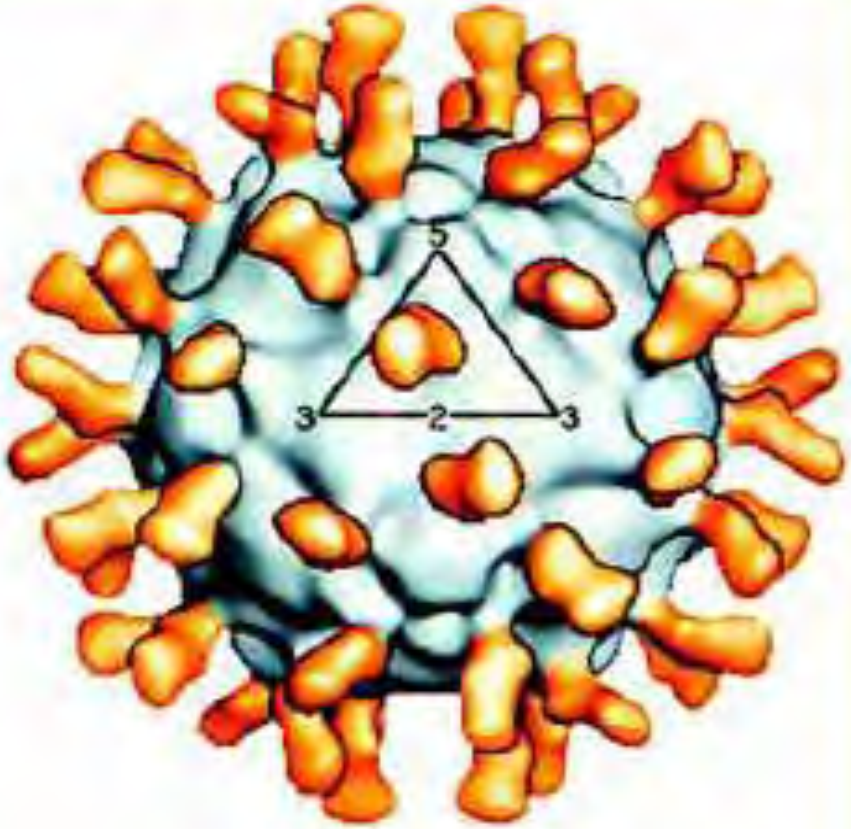
Entérovirus (poliovirus-coxsackievirus-echovirus)

Enterovirus - famille *Picornaviridae.*

* Capside à symétrie cubique, dépourvu d'enveloppe.

* Génome: ARN monocaténaire, non coiffé, 7,4 Kb, polarité positive (infectieux).





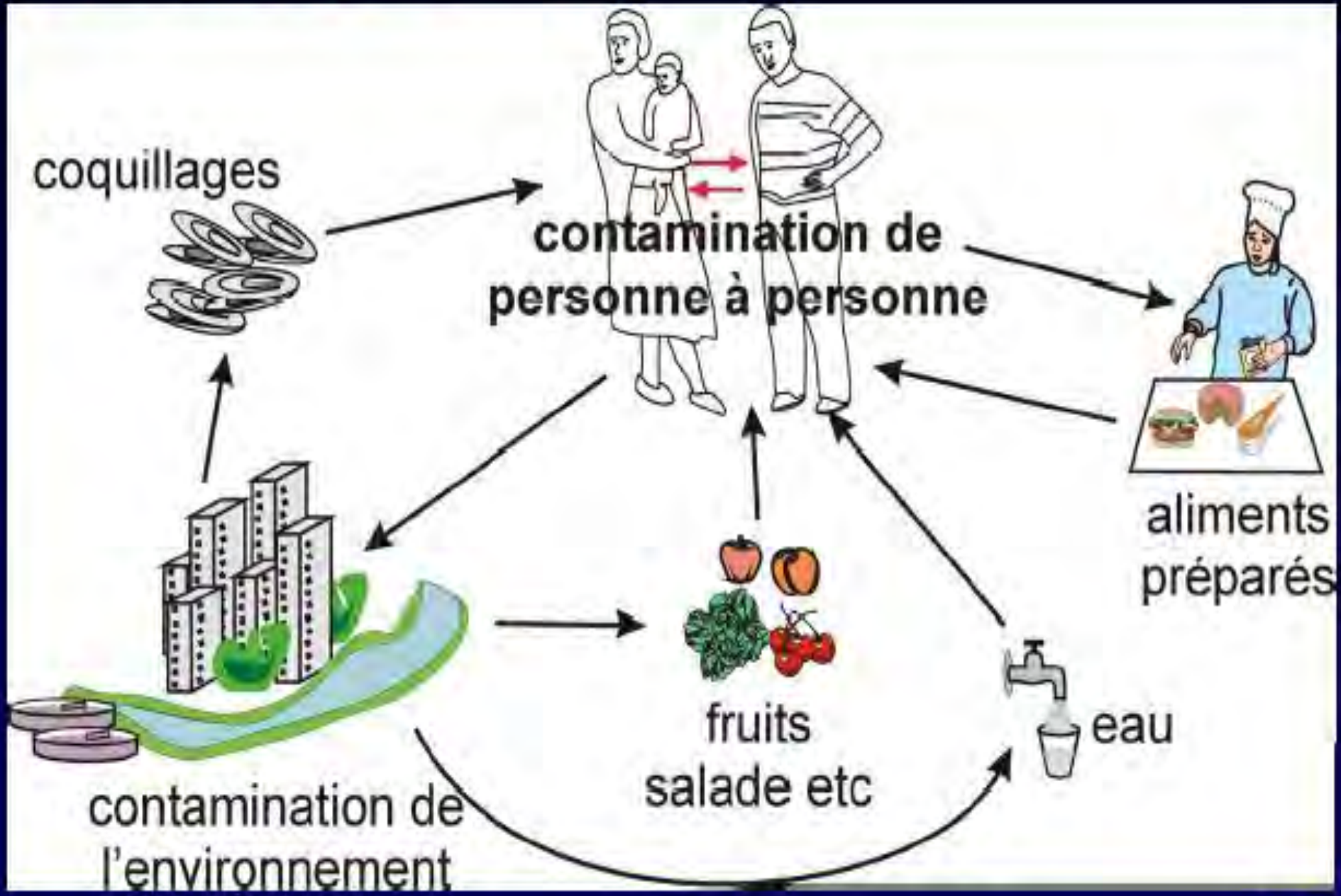
PICORNAVIRUS • genre *Enterovirus*

ESPÈCES	Membres
Enterovirus A : (12 sérotypes)	Coxsackievirus A2-A8, A10, A12, A14, A16 entérovirus 71
Enterovirus B : (36 sérotype)	Coxsackievirus B1-B6, ECHOvirus 1-7, 9, 11-21, 24-27, 29-33, entérovirus 69
Enterovirus C : (14 sérotypes)	Poliovirus humains 1-3, Coxsackievirus A1-A11, A13, A15, A17-A22, A24
Enterovirus D : (2 sérotypes)	entérovirus 68 et 70

Virus résistants

- Quelques jours à 5 mois dans l'eau et le sol
- 2-3 mois dans les huitres
- R ESISTANT à la chloration de l'eau

Transmission oro-fécale



SYNDROMES CLINIQUES ASSOCIÉS AUX ENTÉROVIRUS NON POLIO

Types	Syndromes spécifiques	Syndromes non spécifiques
Coxsackie A	Herpangine Éruptions cutanées Synd. main-pied-bouche (A16) Conjonctivite hémorragique	Méningites Diarrhées Éruptions cutanéo-muqueuses Fièvre isolée Infections respiratoires Syndrome de Guillain Barré
Coxsackie B	Myocardites (B1-B5) Péricardites (B1-B5) Hépatites Diabète juvénile (?)	Paralysies sans séquelles Encéphalites Infections néonatales
Echovirus	Exanthème de Boston (E16)	
Entérovirus 68 à 71	Conjonctivites hémorragiques (70) Bronchiolites (68) Paralysies (71) Syndrome main-pied-bouche (71)	

Herpangine

Herpangine

Maladie main-pied-bouche

Maladie main-pied-bouche

Les Poliovirus

- Virus neurotrope
- Poliomyélite antérieur aigue
- Pas d'antigène de groupe

Diagnostic Direct :

prélèvement de gorge, de selles, de LCR

isolement du virus en cultures cellulaires

séroneutralisation par des Ac spécifiques de type

(long et fastidieux)

Développement de techniques de PCR spécifiques

Diagnostic Indirect :

séroneutralisation de la souche isolée avec le sérum du malade et titrage de la séroconversion

Isolement du virus

- Inoculation au singe
- En culture cellulaire:

→Sur cellules humaines ou simiennes

(KB ou rein de singe)

ECP: 24-48 heures

« Cellules arrondies, réfringentes, se détachant de la paroi »

Diagnostic direct : culture de virus

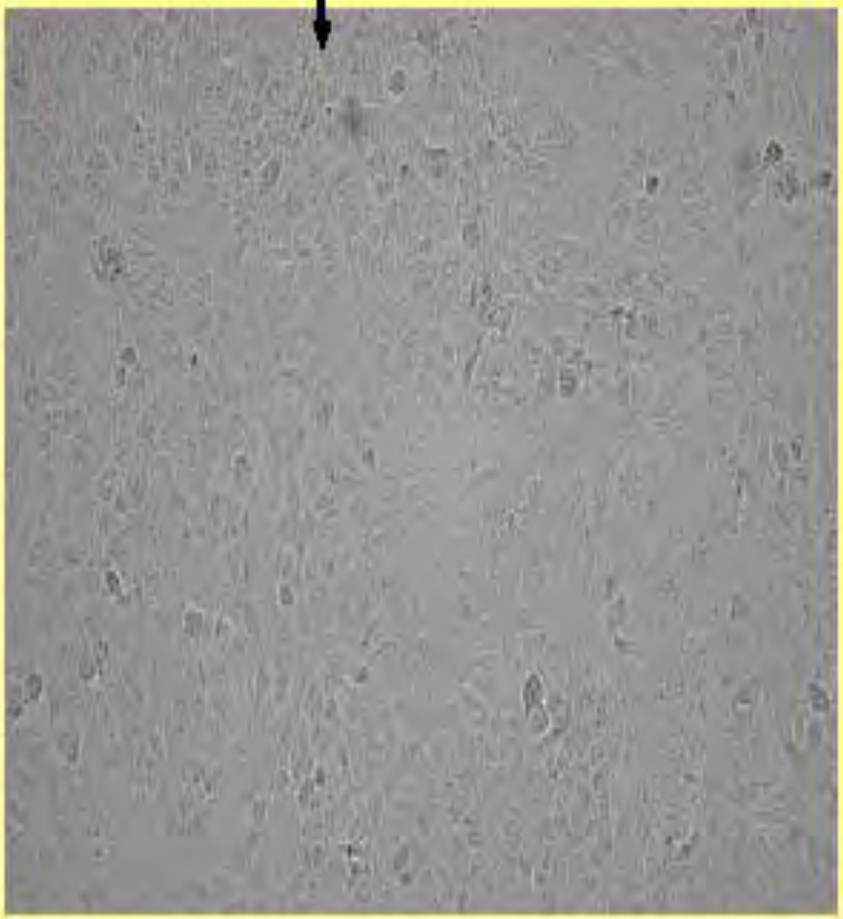
Equipement +++

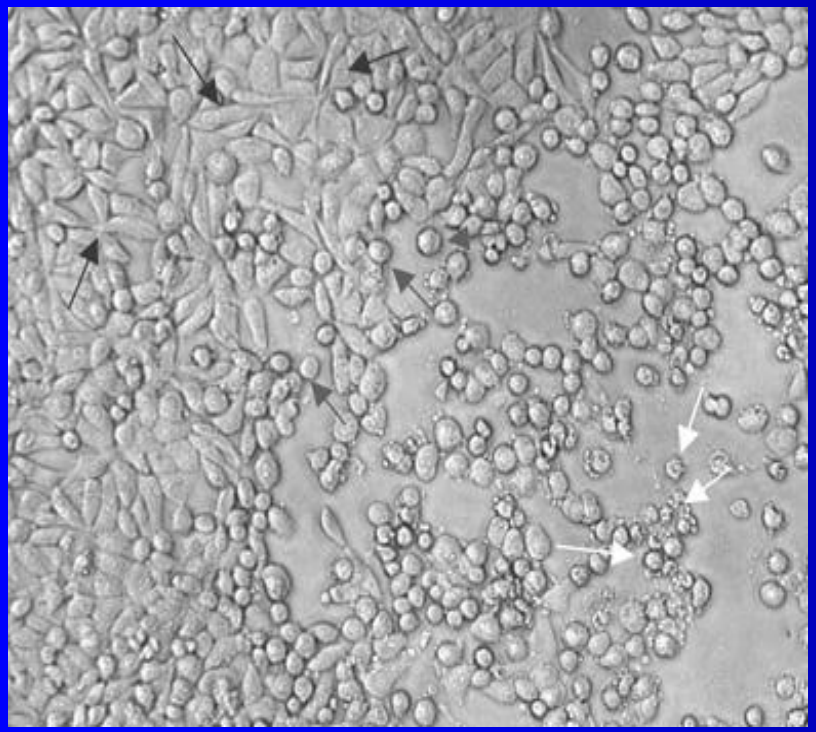
- **hotte à flux laminaire**

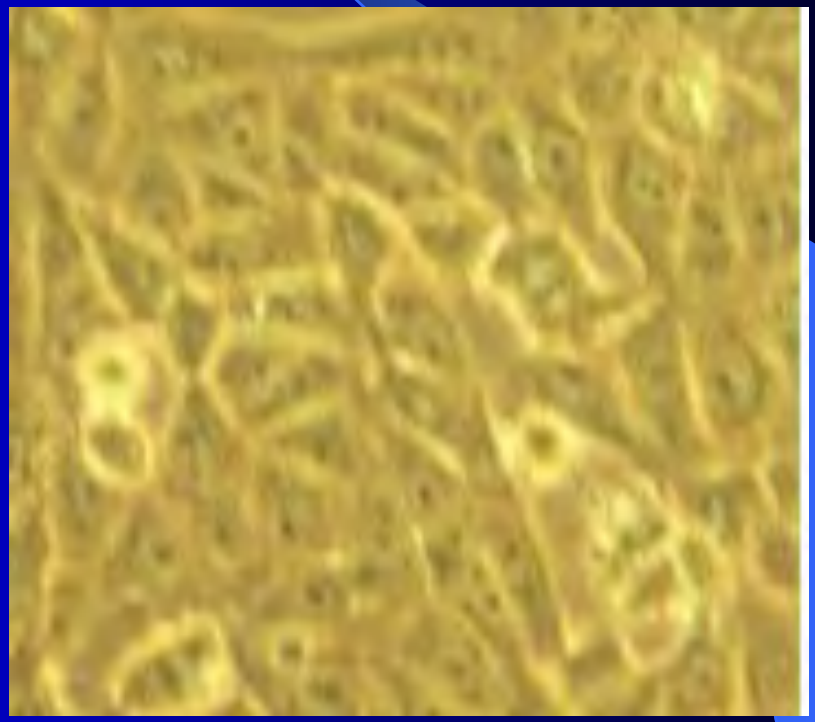
car manipulations
en environnement stérile

- Microscope

Cellules **épithéliales** ou **fibroblastiques**







Images d'ECP

Pouvoir pathogène

- La poliomyélite : Le poliovirus migre le long des trajets nerveux et atteint les motoneurones de la corne **antérieure** de la moelle entrainant une paralysie
- l'atteinte des muscles respiratoires est grave
- Plusieurs formes:

-Formes spinales communes
-Formes respiratoires
-Formes bulbaires, encéphalitiques, méningées
-Formes pseudo-grippales
-Formes inapparentes +++

- maladie en voie d'éradication grâce à la vaccination

Traitement préventif « vaccination »

	Poliovaccin oral (1)	Poliovaccin injectable (1)
Nature	Virus mutants atténués par séries de passages en cultures cellulaires	Virus sauvages inactivés par agents physicochimiques
Dénomination courante	Vaccin vivant	Vaccin tué
Multiplication dans l'organisme	Oui	Non
Diffusion à l'entourage	Oui	Non
Induction d'une immunité au niveau de la porte d'entrée	Oui	Non
Blocage de la progression de l'infection vers le système nerveux central (prévention des paralysies)	Oui	Oui
Risque de perte de l'atténuation par mutation réverse ou par recombinaison avec un coxsackievirus(2)	Oui	Non
Risque de neurovirulence chez les personnes immunodéprimées(2)	Oui	Non
Utilisation chez la femme enceinte	Contre-indiquée	Recommandée
Coûts de production et administration	Modéré	Elevé

(1) Chacun des deux est un mélange trivalent, associant en fait vaccins anti-polio 1 +2 +3. Ce mélange est administré en 3 prises à un mois d'intervalle, suivies d'un rappel un an plus tard.
(2) Les paralysies poliomyélitiques résiduelles dans les zones où l'éradication est effective sont dues au poliovaccin oral. Seul le poliovaccin injectable est recommandé en France.
Importance du respect de la chaine du froid, surtout pour le vaccin oral.

Cours IX illustration 2bis

Enterovirus non polio

- La plupart des infections sont asymptomatiques.
- Coxasckievirus B peut être responsable de myocardite, péricardite ou de méningite aigue

Diagnostic virologique

- **Isolement du virus par culture cellulaire : après observation de l'ECP, détermination de l'espèce ou du sérotype par séroneutralisation de l'ECP par utilisation de sérums spécifiques**
- **RT-PCR : détection du génome viral, indiqué surtout dans les affections neuroméningées**
- **Indications :**
- **Diagnostic d'une affection neuroméningée aigue, infection néonatale ou maternofoetale, myocardite ou péricardite**
- **Diagnostic différentiel d'une fièvre éruptive (chez la femme enceinte) ou lésions cutanéomuqueuses atypiques**
- **Surveillance des poliovirus et la distinction entre souches sauvages et souches vaccinales**

Genre Rhinovirus

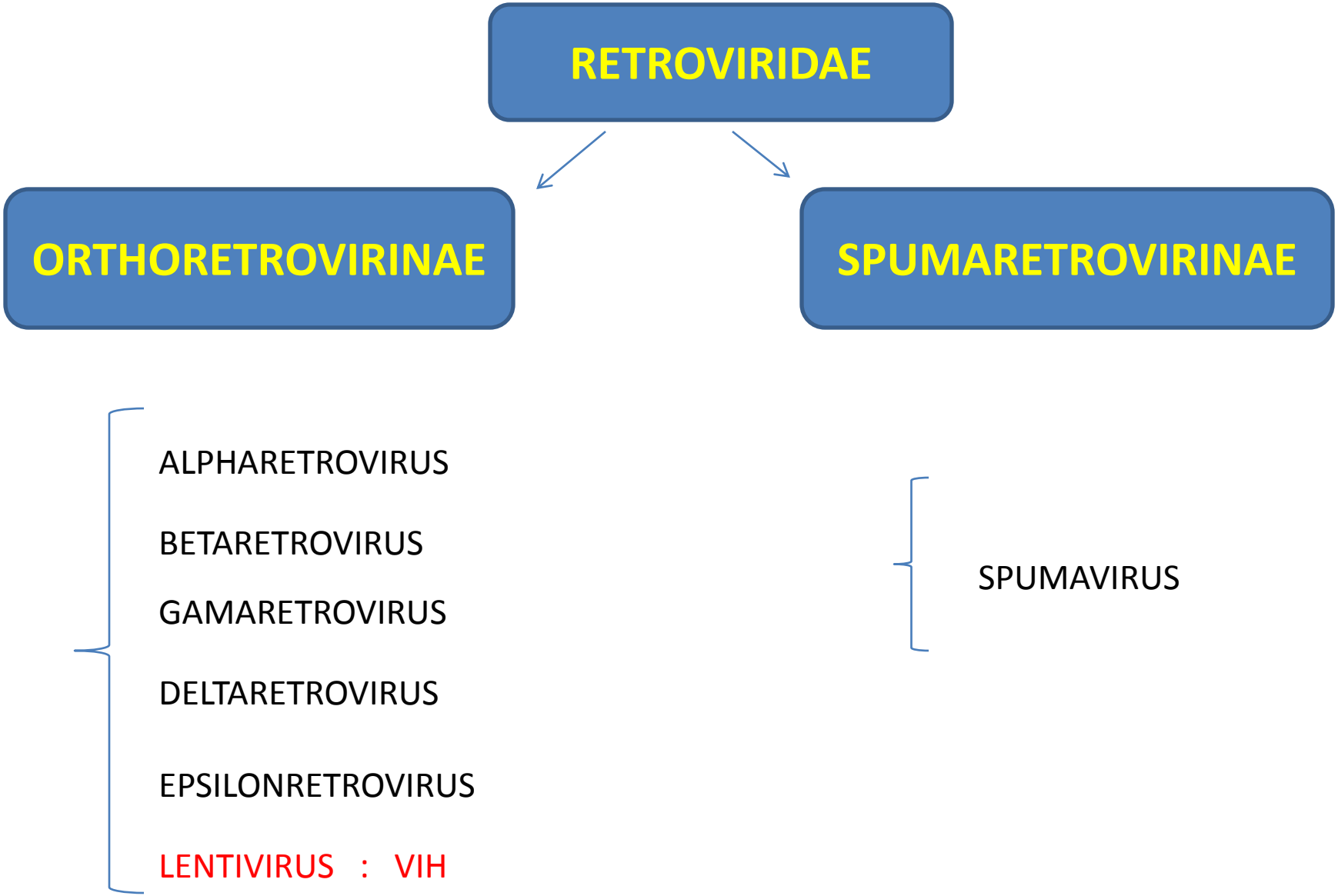
- Pouvoir pathogène: rhume, sinusite, otite moyenne aigue, bronchite et bronchiolite, exacerbation de crise d'asthme
- Diagnostic virologique se fait au cours du diagnostic d'une infection respiratoire.
- La technique de référence est la culture cellulaire sur cellules fibroblastiques humaines ou lignées continues Hela: technique lente.

COURS 3ÉME ANNÉE MEDECINE

RETROVIRIDAE

VIRUS DE L'IMMUNODEFICIENCE HUMAINE « VIH »

Dr. BOUZEGHOUB.SALIMA


RETROVIRIDAE
ORTHORETROVIRINAE
SPUMARETROVIRINAE
ALPHARETROVIRUS
BETARETROVIRUS
GAMARETROVIRUS
DELTARETROVIRUS
EPSILONRETROVIRUS
LENTIVIRUS : VIH
SPUMAVIRUS

HISTORIQUE

Quelle est l'origine du VIH ?

- les premiers cas ont été décrits dans les années 1980.

- Les VIH type 1 et 2, agents étiologiques du SIDA (Syndrome d'Immunodéficience Acquis) chez l'homme, sont apparentés aux lentivirus de primates appelés SIV pour Simian Immunodeficiency Virus. Ils sont le résultat de plusieurs transmissions inter espèces de virus simiens à l'homme
- L'origine des VIH est clairement l'Ouest de l'Afrique centrale

- le SIVcpzPtt (chimpanzés Pan troglodytes troglodytes) présent chez le chimpanzé, Gorille est à l'origine des VIH-1 .
- Le SIVsmm (Singes verts) est, lui, à l'origine du VIH-2

Origine du VIH: Parenté entre SIV et VIH

VIH-1

Chimpanzé
Gorille

VIH-2

Mangabé

Singe vert

Quand et comment serait-il passé à l'homme

- le mode exact de transmission des virus simiens à l'homme n'est pas connu. Les différentes hypothèses:

- l'exposition à du sang ou à des sécrétions d'animaux infectés à l'occasion de la **chasse**
- la préparation **de la viande de brousse**
- Les morsures de singes captifs

- Après une étape de passage de la barrière d'espèce et **d'adaptation à son nouvel hôte**, le virus a diffusé à travers la population.

Comment il a été découvert?

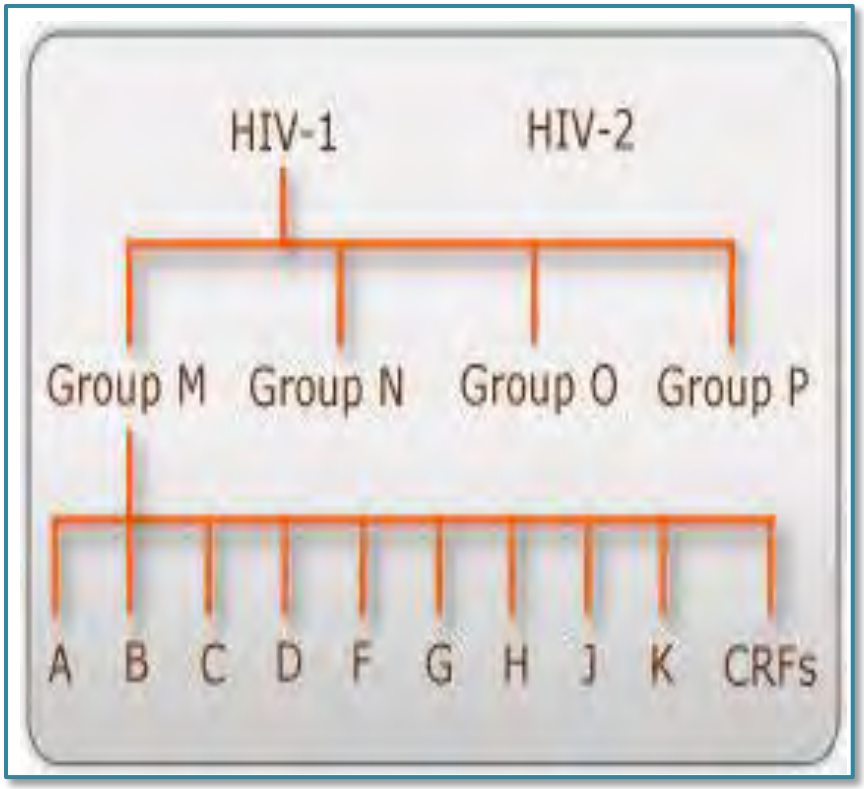
- La première description du SIDA a été rapportée en Juin 1981 à Los Angeles (Etats-Unis d'Amérique): groupes exposés (hommes ayant des relations sexuelles avec des hommes, hémophiles, sujets transfusés)

- Ce n'est qu'en 1983, que la mise en évidence de cet agent infectieux a été réalisée par une équipe française de l'Institut Pasteur de Paris (Luc Montagnier et Barré-Sinoussi : Prix Nobel en 2008)

- Un second virus, le VIH-2 responsable également de SIDA, a été isolé en 1986 à partir de sujets originaires d'Afrique de l'Ouest

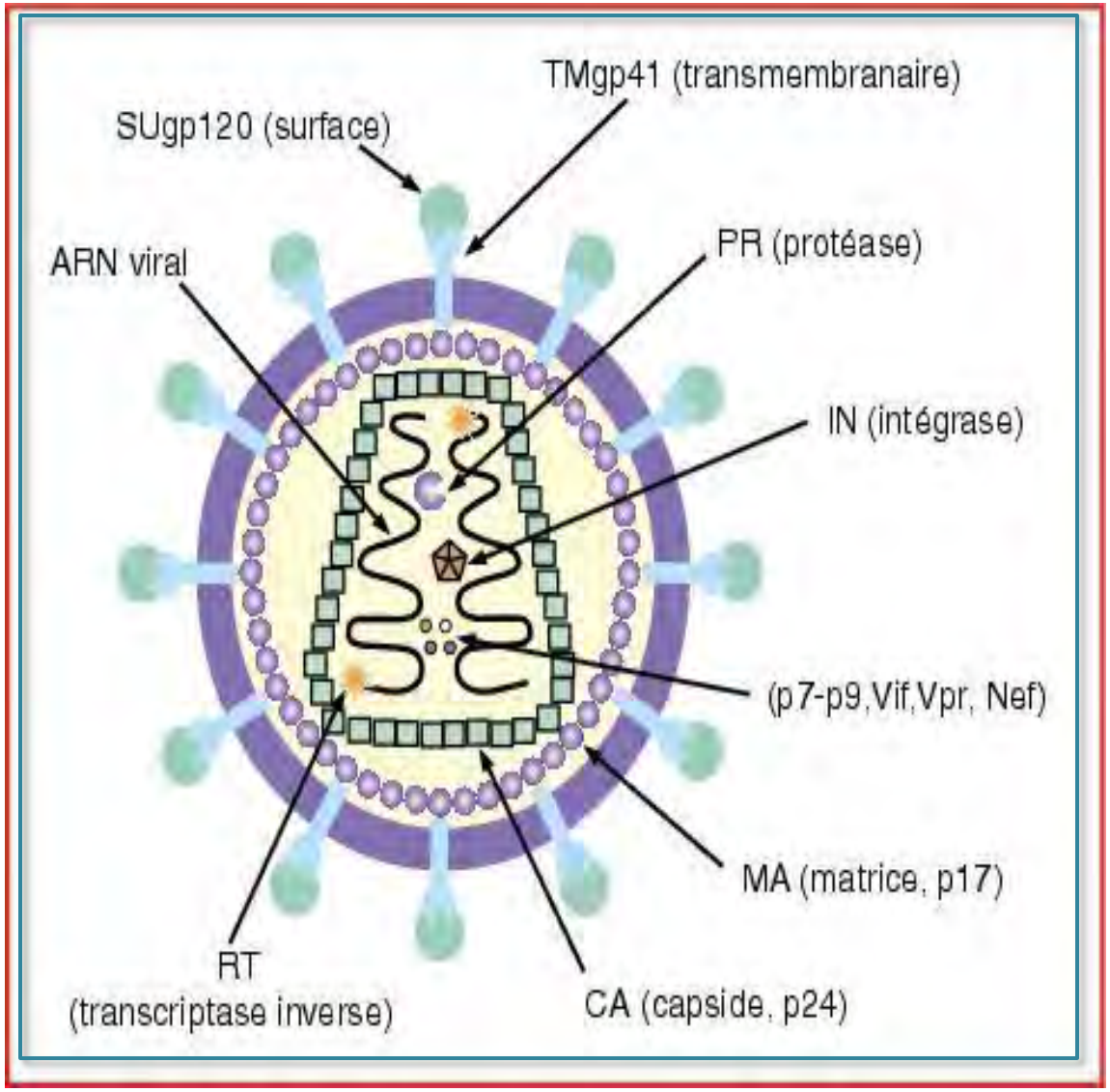
STRUCTURE DU VIRUS

VIH : CLASSIFICATION

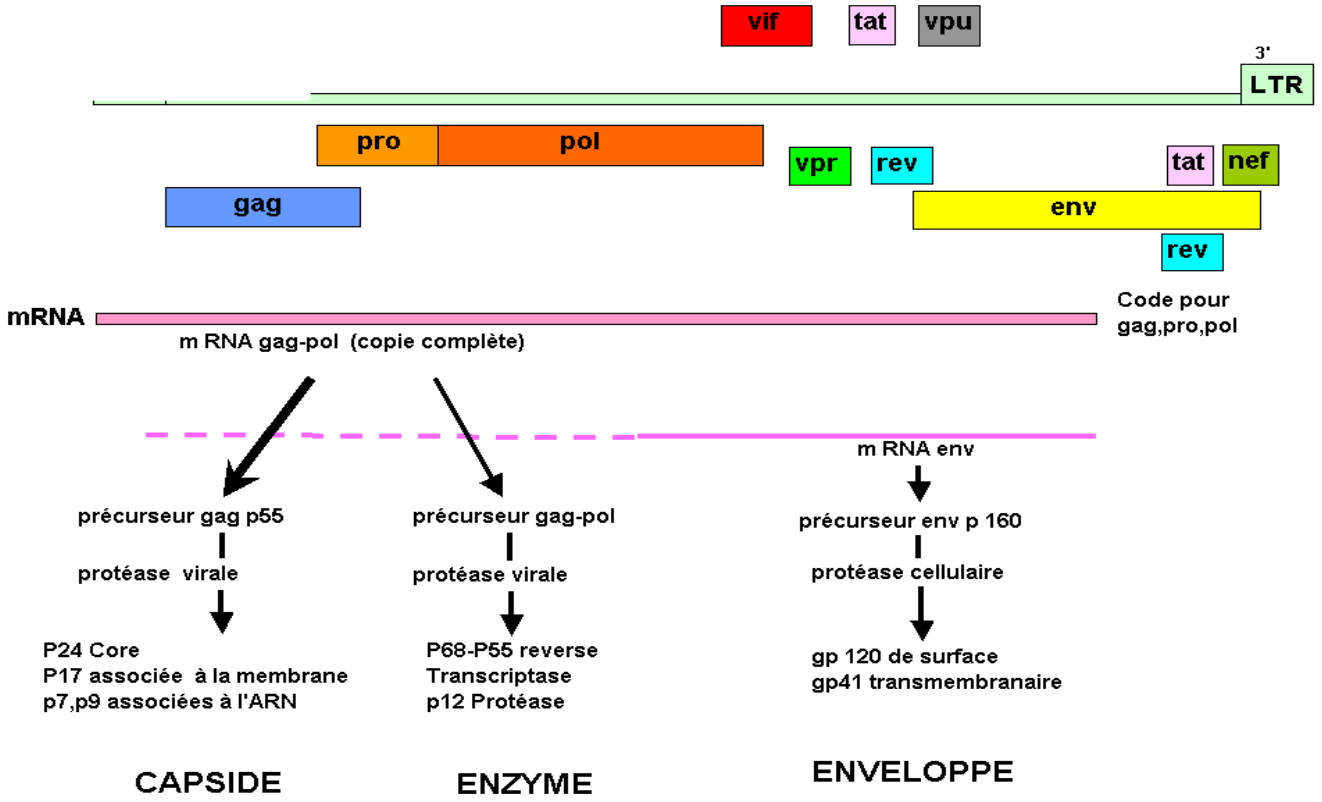


- Famille : *Retroviridae*
- Sous-famille: Orthoretrovirinae
- Genre: Lentivirus

VIH : STRUCTURE



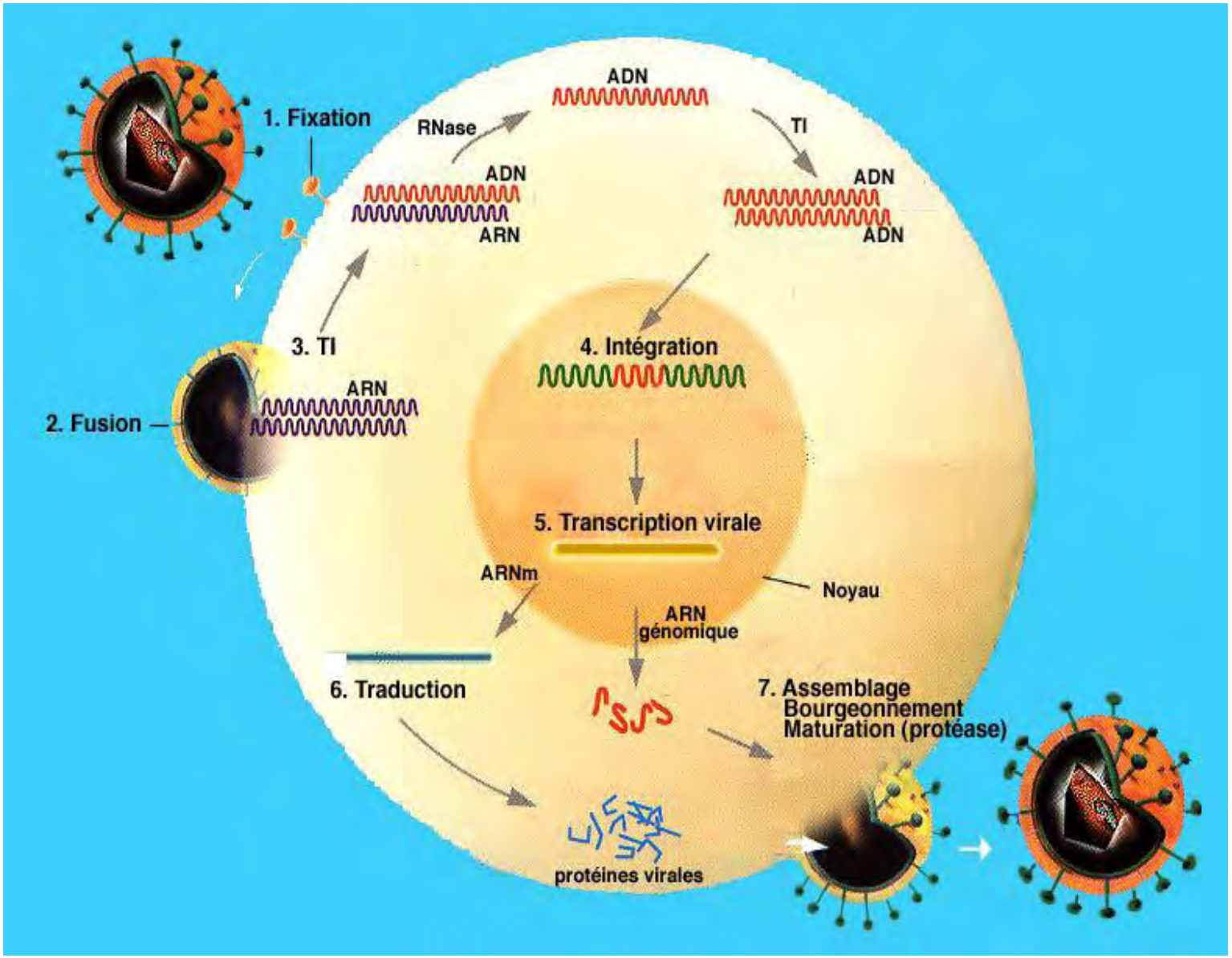
génome VIH-1


vif
tat
vpu
3'
LTR
pro
pol
vpr
rev
tat
nef
gag
env
rev
mRNA
Code pour
gag,pro,pol
m RNA gag-pol (copie complète)
m RNA env
précurseur gag p55
protéase virale
P24 Core
P17 associée à la membrane
p7,p9 associées à l'ARN
précurseur gag-pol
protéase virale
P68-P55 reverse
Transcriptase
p12 Protéase
précurseur env p 160
protéase cellulaire
gp 120 de surface
gp41 transmembranaire
CAPSIDE
ENZYME
ENVELOPPE

Gène	Précurseur	Protéine	Fonction
1- Protéines de structure et enzymes			
gag	Pr55	P17	Protéine matricielle (MA)
		P24	Protéine de la capside (CA)
		P7	Protéine de la nucléocapside (NC)
		P6	Protéine de la jonction entre capside et enveloppe
pol	Pr160	P10	Protéase
		P66/p51	Rétrotranscriptase /ribonucléase H (RT)
		P32	Intégrase
env	gp160	gp120	Partie externe (fixation au CD4 et au corécepteur)
		gp41	Partie transmembranaire (fusion)
2- Protéines régulatrices			
tat		p14	provoque la transactivation de la transcription
rev		p19/20	permet le transport d'ARNm non épissé en dehors du noyau cellulaire
nef		P28/27	multiples fonctions, facteur de pathogenicité, réduit l'expression des CD4 et des molécules CMH-1
vif		P24	facteur d'infectiosité viral, augmente l'infectiosité du virus par dégradation de l'APOBEC3G (désaminase cellulaire)
vpu		P16	induit la libération des nouveaux virus, réduit l'expression CD4 à la surface de la cellule
vpr		P15	bloque le cycle cellulaire dans la phase G2, induit l'importation du pré-complexe d'intégration dans le noyau cellulaire.

MULTIPLICATION DU VIRUS

ETAPES DE LA MULTIPLICATION



VIH : VARIABILITE GENETIQUE

- Virus très variable, causes:

→Faible fidélité de la transcriptase inverse

→ Dynamique de la réplication virale : 10 milliards de virus/j

→ → Recombinaison génétique

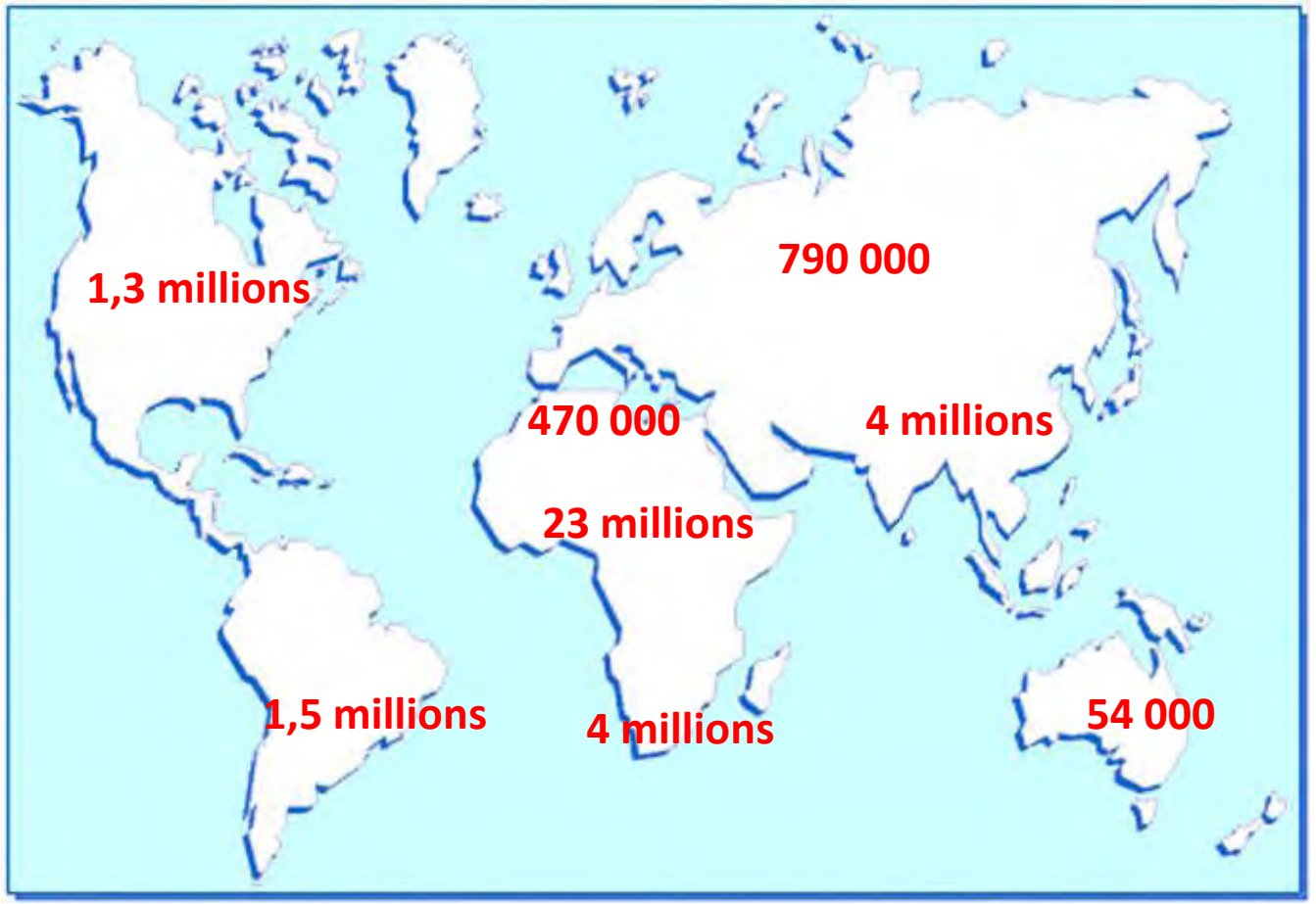
→ Pression de selection du TRT

→ Origine multiple

EPIDEMIOLOGIE

SITUATION DANS LE MONDE

37 millions PVIH en 2015

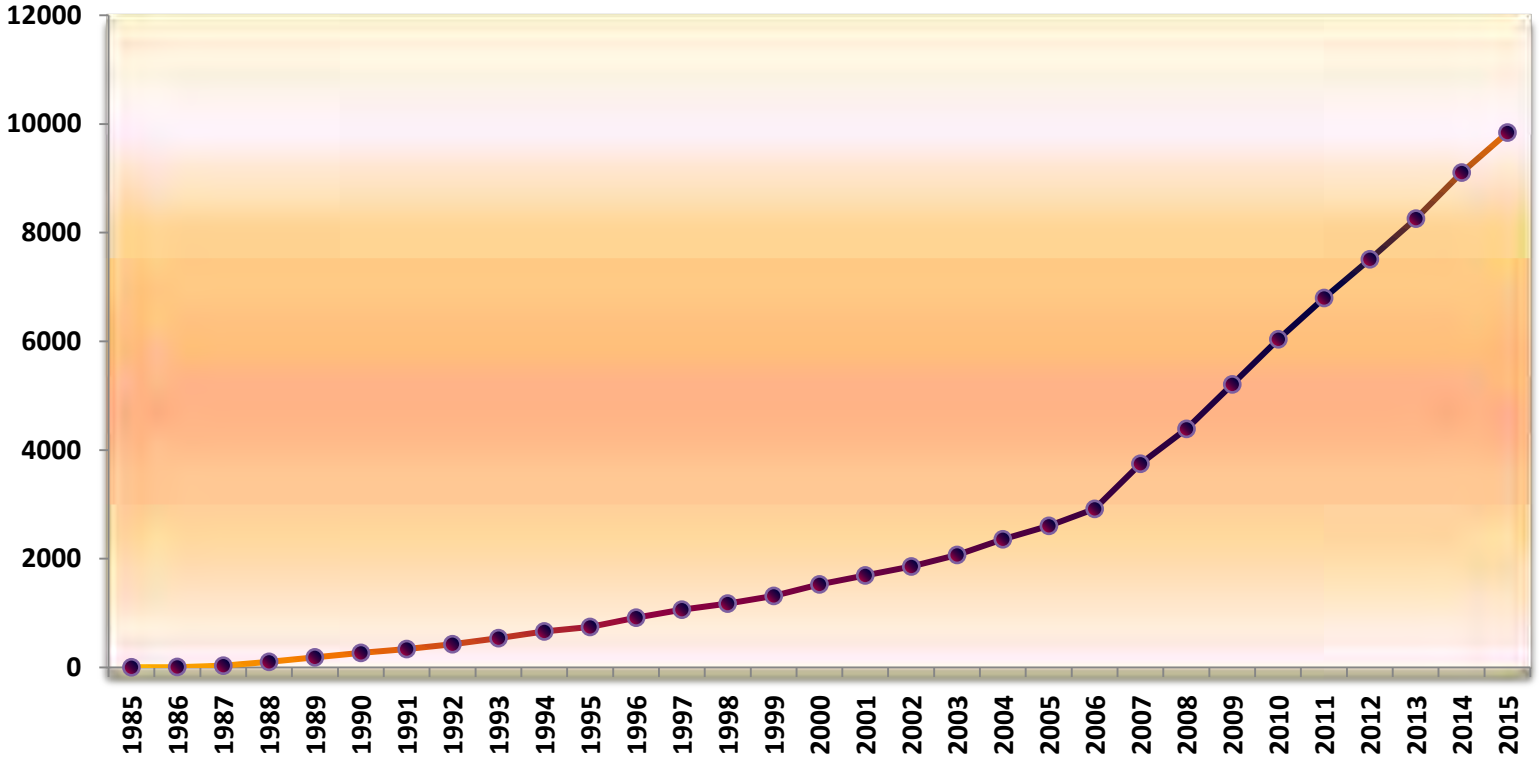


EN ALGERIE: RELEVÉ DES CAS DECLARES DE SIDA ET DE SÉROPOSITIFS

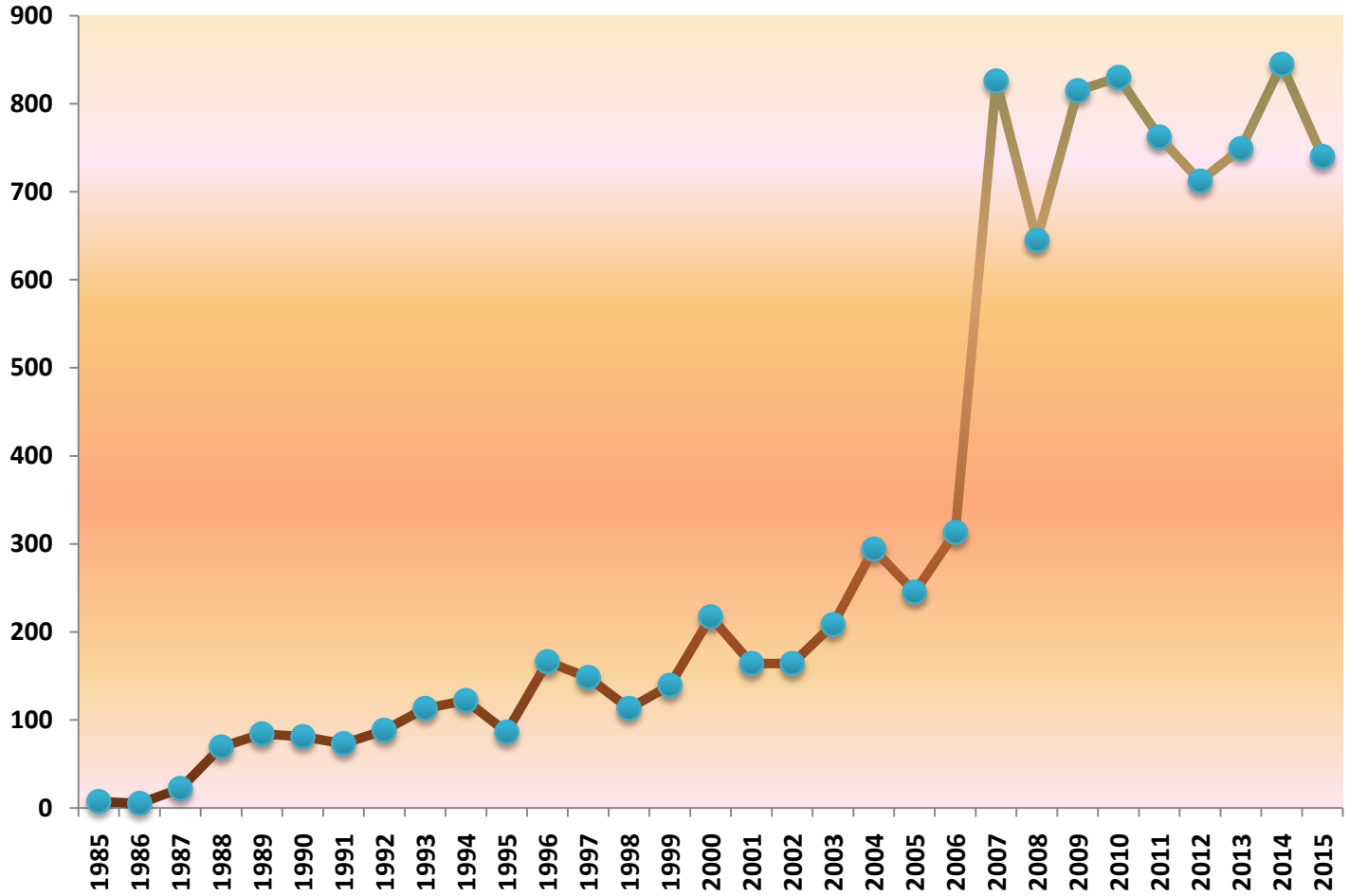
- Depuis 1990, l'infection VIH est à déclaration obligatoire en Algérie
- pays à faible prévalence (<0,1%)
- Le cumule de 1986 au 31 décembre 2015:

  9843 PVIH
- Déclaration trimestrielle: MSPRH,INSP,OMS
- Estimation globale avec sous-notification du nombre de cas lié à la défaillance du système de surveillance de l'infection VIH en Algérie.

Tendances du VIH en Algérie :de 1985 à 2015



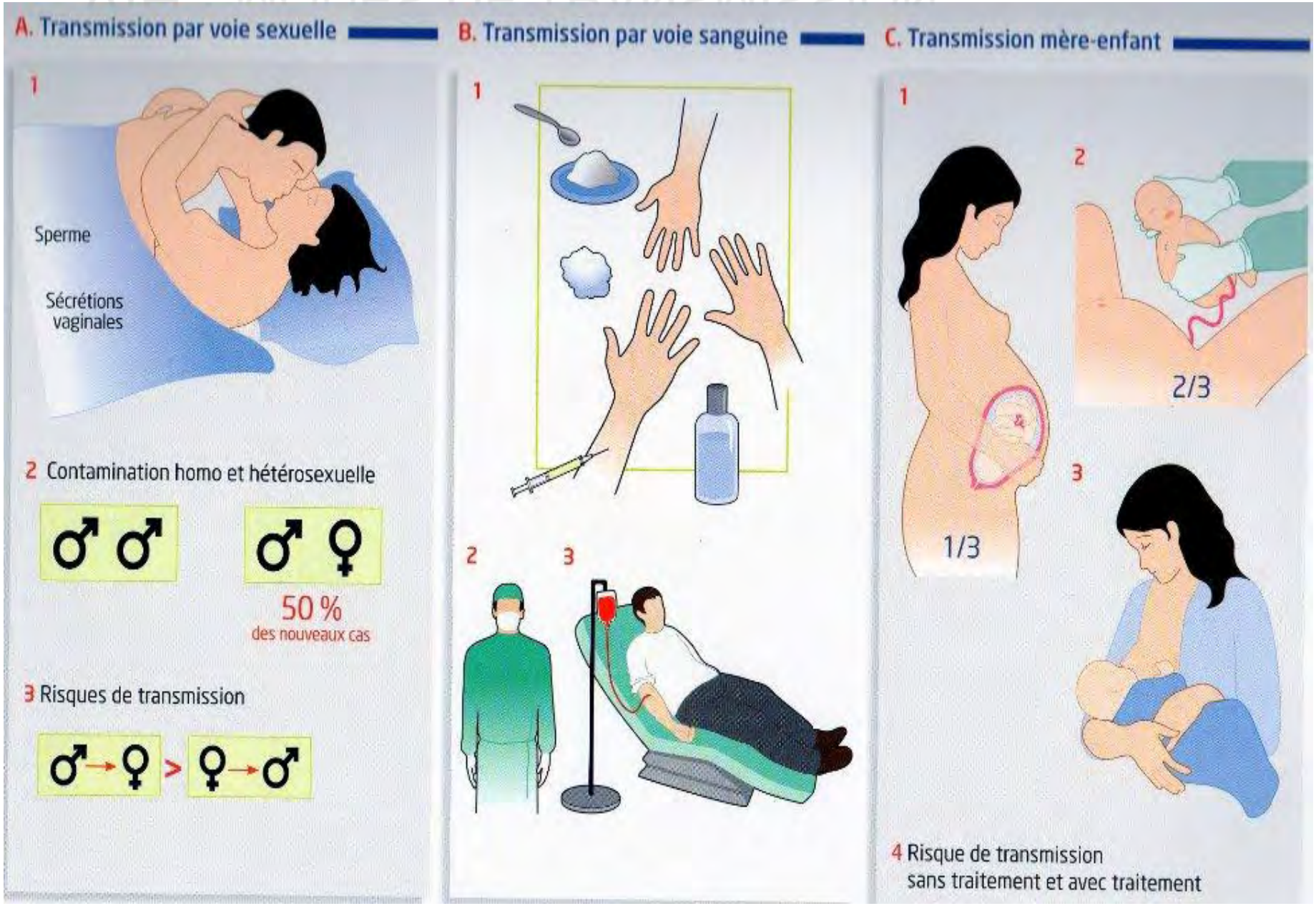
Evolution du nombre de nouvelles infections à VIH par an, Algérie 1985-2015



VIH : SITUATION EN ALGERIE

- Une prédominance de la voie hétérosexuelle comme mode de transmission du virus (22,6%).
- La fréquence élevée d'atteinte de l'adulte jeune entre 25- 39 ans. sexe ratio : 1,36
- Une transmission devenue essentiellement locale depuis 2000
- Une généralisation de l'infection : aucune wilaya n'étant épargnée:

VIH : MODES DE TRANSMISSION



PHYSIOPATHOLOGIE

PHYSIOPATHOLOGIE

- Dés le début de l'infection à VIH-1, le processus pathologique est initié dans les organes lymphoïdes de l'homme, qui constituent un réservoir important de virus.

- Le mécanisme de destruction des lymphocytes n'est pas parfaitement connu et son origine est multifactorielle :

- la lyse directe par effet cytopathique du virus,
- la lyse par les lymphocytes T CD8+cytotoxiques,
- par phénomène d'apoptose ou
- par anergie des cellules

- l'effet cytopathogène (ECP) : l'apparition de syncytia consécutifs à la fusion de cellules en agrégats géants avec de multiples noyaux et un ballonnement de la membrane cellulaire
- L'évolution naturelle de l'infection est tri phasique :

→ **phase asymptomatique (primo-infection)**: les signes cliniques sont souvent patents, pic de réplication virale ,chute CD4

→ **phase symptomatique**: latence clinique souvent asymptomatique, qui peut durer 10-12 ans en l'absence de TRT . la réplication virale et le nombre de LT se stabilisent: pas de latence virologique

→ **phase SIDA**: CV très élevée, chute CD4,complications infectieuses et tumorales liées à l'immunodépression

DIAGNOSTIC BIOLOGIQUE

OUTILS DU DIAGNOSTIC BIOLOGIQUE

- Diagnostic sérologique : Mise en évidence des Ac anti-VIH
  Ac anti -VIH + Ag p 24 (combinés)
  - Tests de dépistage:
    tests mixtes VIH 1 et VIH 2
    immuno-enzymatique (Elisa), test rapide,……..etc
  - Test de confirmation : Western-Blot ou autres

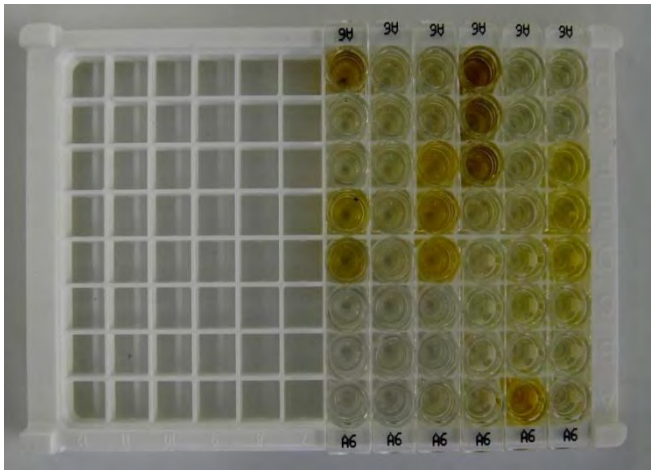
- Diagnostic direct : Mise en évidence du génome
  - RT PCR : ARN VIH plasmatique « charge virale »
    ou ADN proviral
  - Ag p24

DIAGNOSTIC BIOLOGIQUE

- Chez l'adulte et l'enfant >18 mois
  - Diagnostic sérologique^{+++}
    - Diagnostic moléculaire
      sauf en cas de suspicion de primo-infection

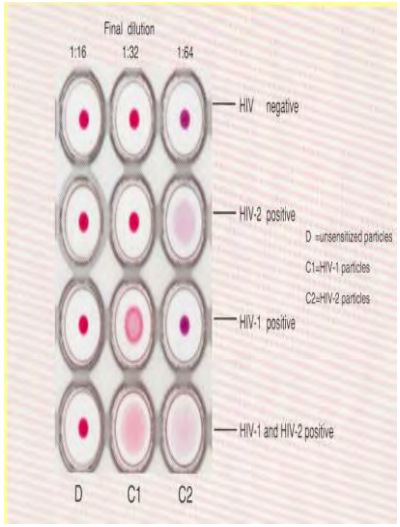
- Chez le nouveau-né et nourrisson < 18 mois
  - Diagnostic direct moléculaire : charge virale

LES DIFFERENTS TESTS

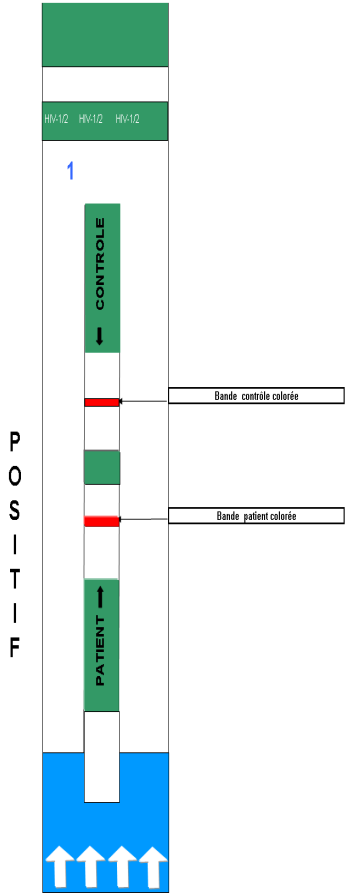


ELISA

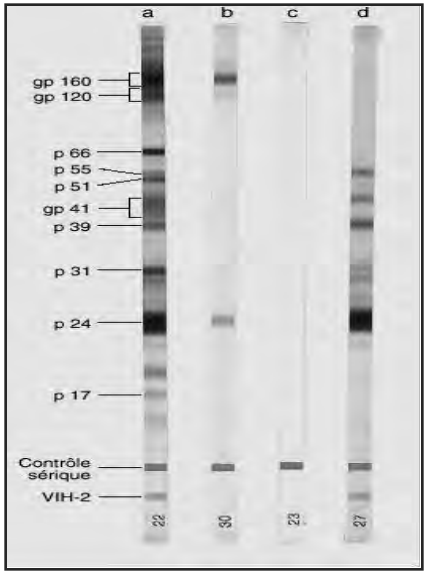
AUTOMATE



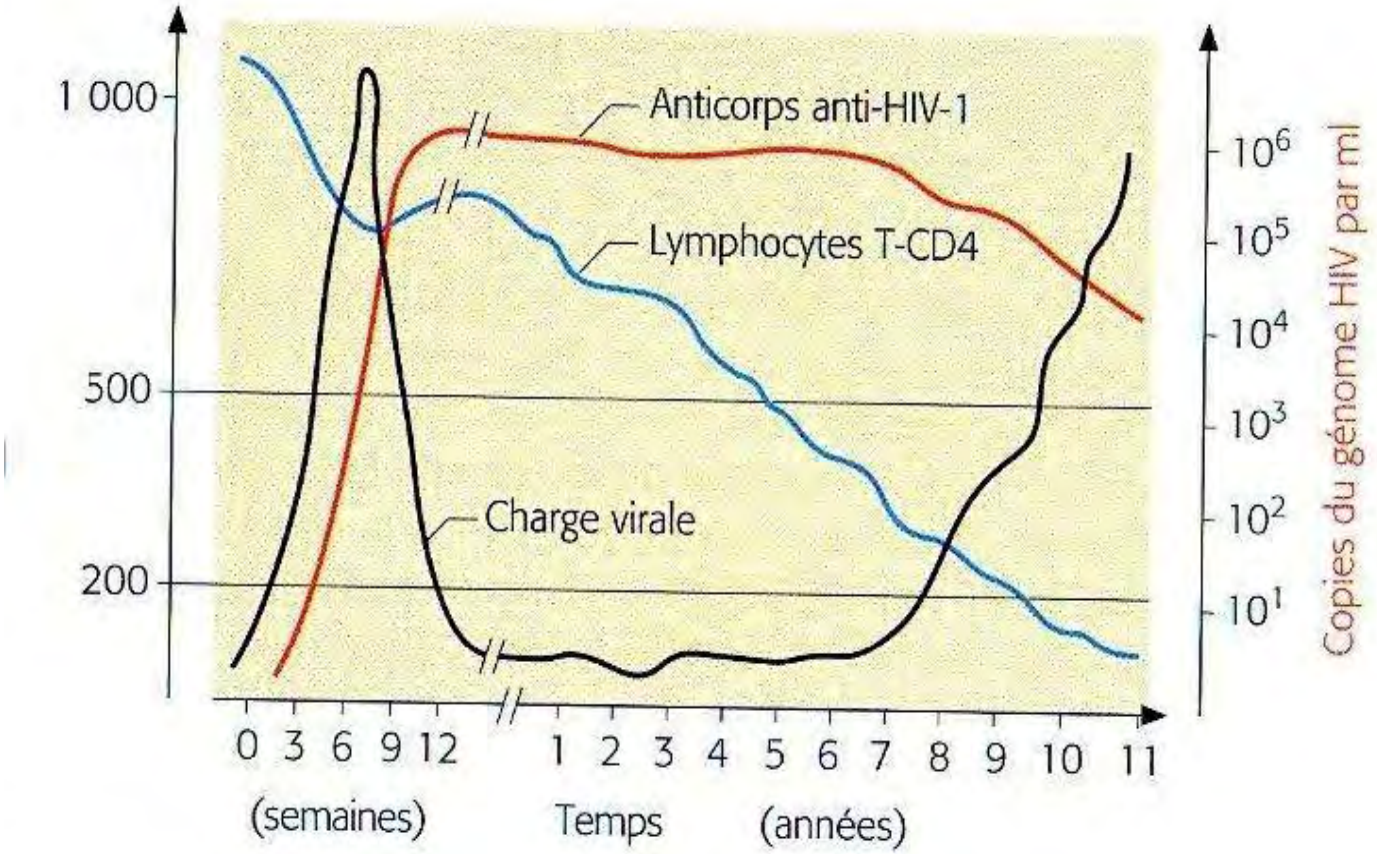
TEST AGGLUTINATION



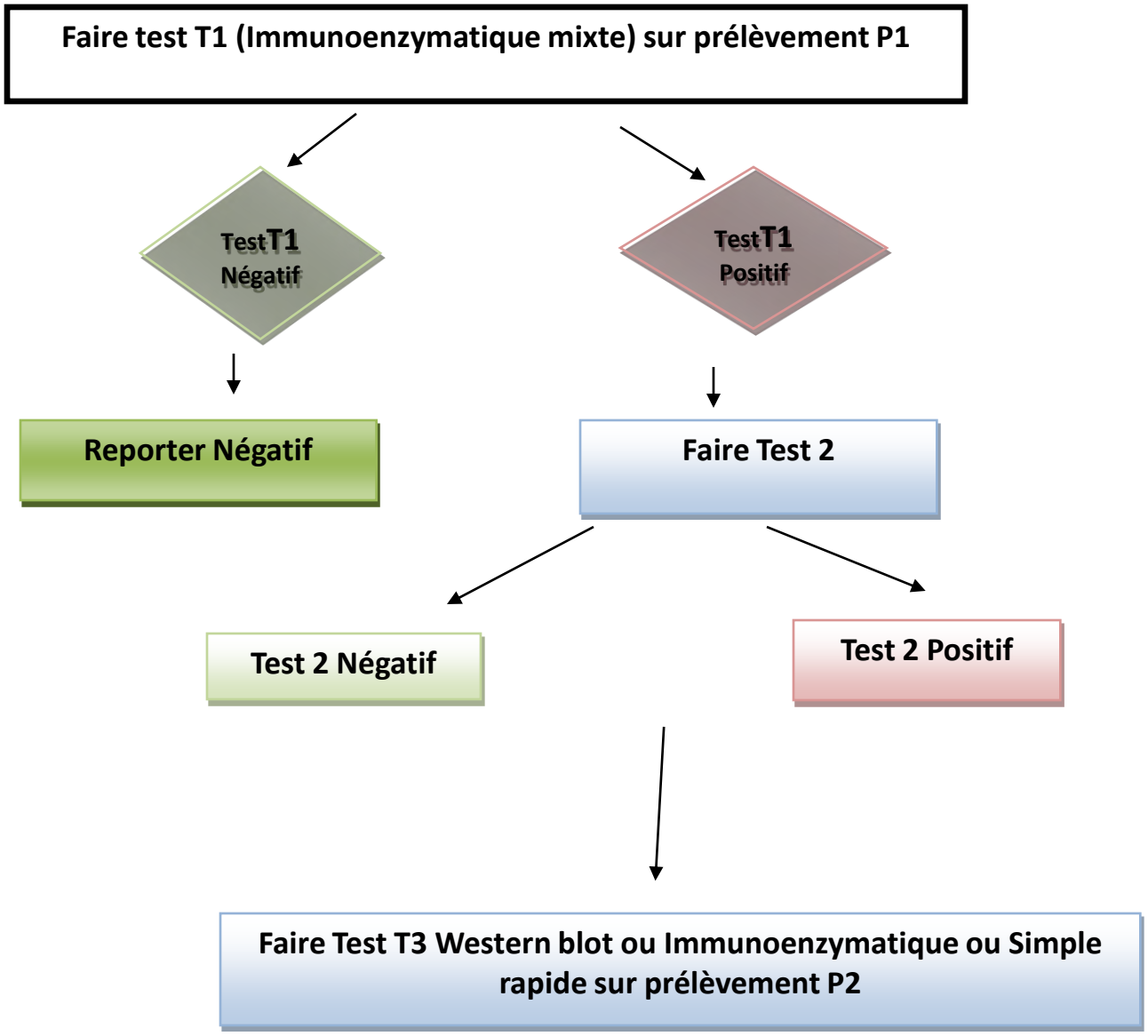
TEST RAPIDE



WESTERN-BLOT



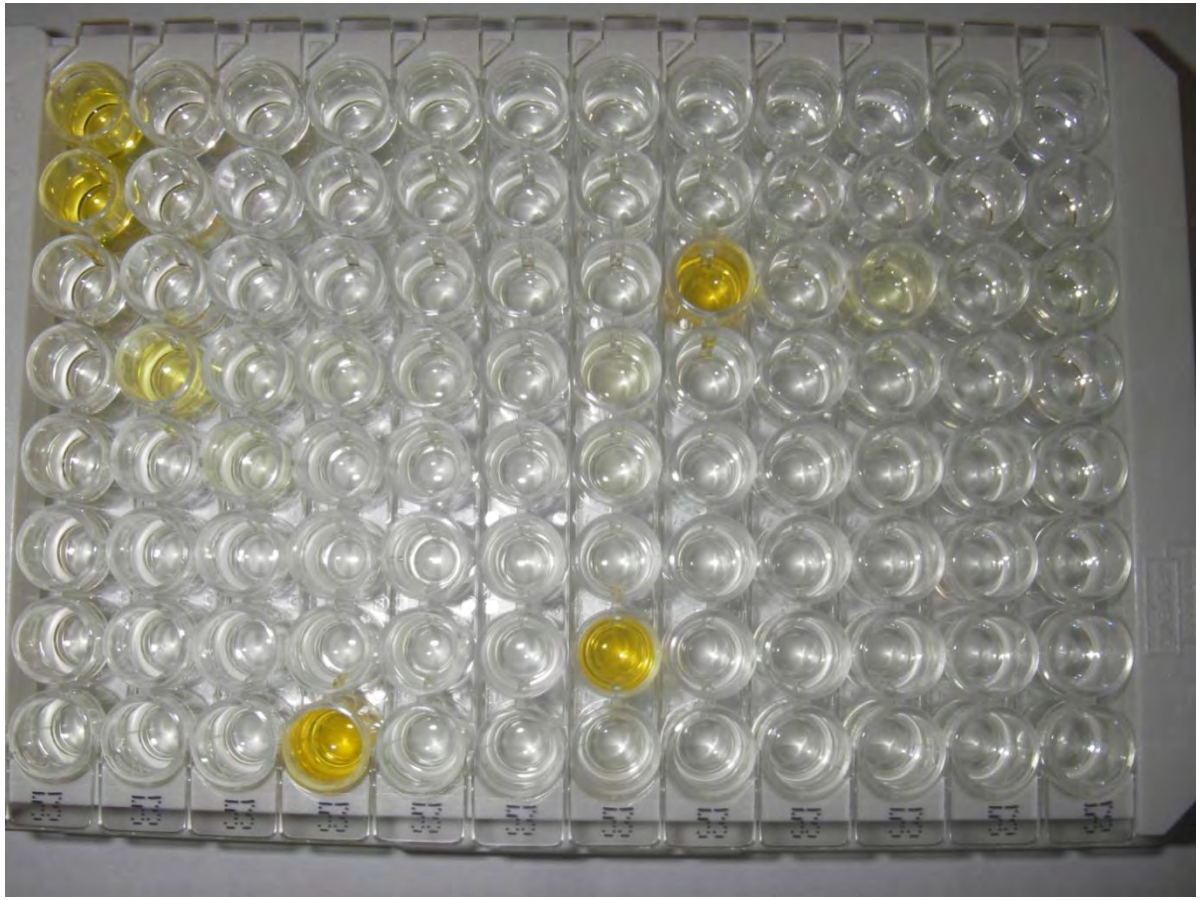
Evolution naturelle des marqueurs VIH-1


Faire test T1 (Immunoenzymatique mixte) sur prélèvement P1
Test T1 Négatif
Test T1 Positif
Reporter Négatif
Faire Test 2
Test 2 Négatif
Test 2 Positif
Faire Test T3 Western blot ou Immunoenzymatique ou Simple rapide sur prélèvement P2

Tests ELISA

- Tests utilisent Ag: Pr recombinantes ou peptides synthétiques ,adsorbées sur parois des cupules ,détecte Ac du VIH1/2 .

- très sensibles :détection des Ac en moyenne 20 jours après la date présumée du contage



Plaque d'ELISA

Western Blot

Principe: protéines dénaturées de VIH 1 et 2 sont séparées par électrophorèse en fonction de leur poids moléculaire ,puis transférées sur une bandelette de nitrocellulose.

La présence d'Ac dirigés contre l'une ou plusieurs de ces Pr est révélée par une réaction immuno- enzymatique , sous forme dd bandes colorées.

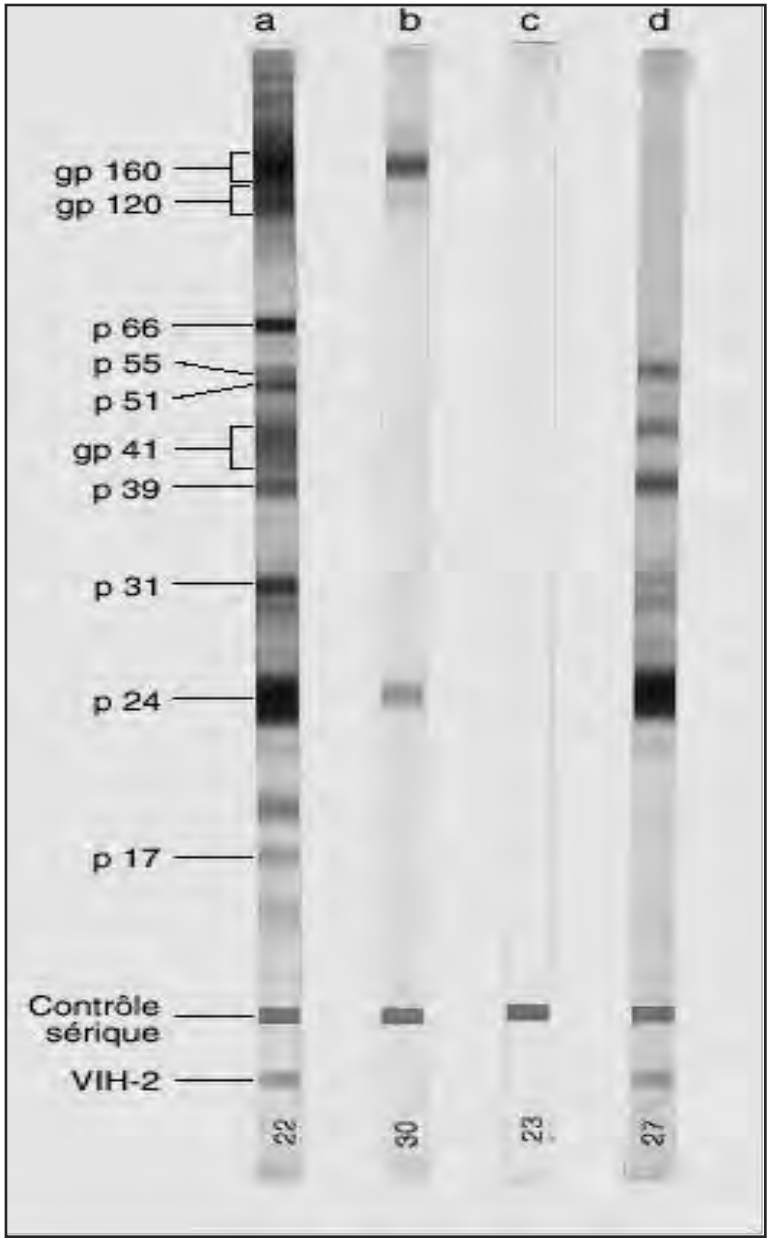
Interprétation

- Aucune bande: négatif
- Présence de bandes: critères positivité:

2 gp ± gag ± pol

-Résultat indéterminé: envoi au LNR

W B du VIH-2 suit les mêmes règles



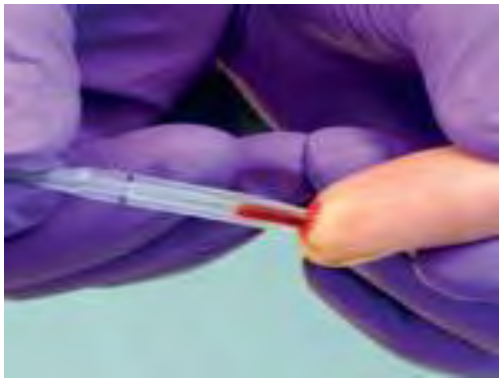
TESTS RAPIDES: LES AVANTAGES

Caractéristiques

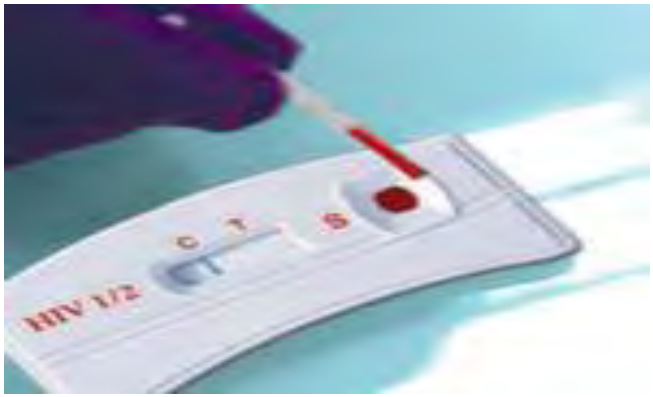
- **Simplicité, rapidité 15-30’ , lecture visuelle, utilisation sur le terrain**
- **Qui fait le test ?**
- **Laborantins ,Infirmiers sage femme**
- **pas d’équipement**
- **fiabilité, bonne performance (sensible)**

Applications

- **Centre de dépistage**
- **Zones urbaines sans structure adéquate**
- **Bilan pré opératoire d’urgence**
- **Enquêtes épidémiologiques**
- **Diagnostic biologique**



1 - Echantillon sang total



2 - Déposer 3 gouttes de sérum ou de plasma

3- Lire le résultat à 30 minutes

Rapide et simple d'utilisation

Résultat en 15- 30 minutes.

Utilisable dans tous les laboratoires.

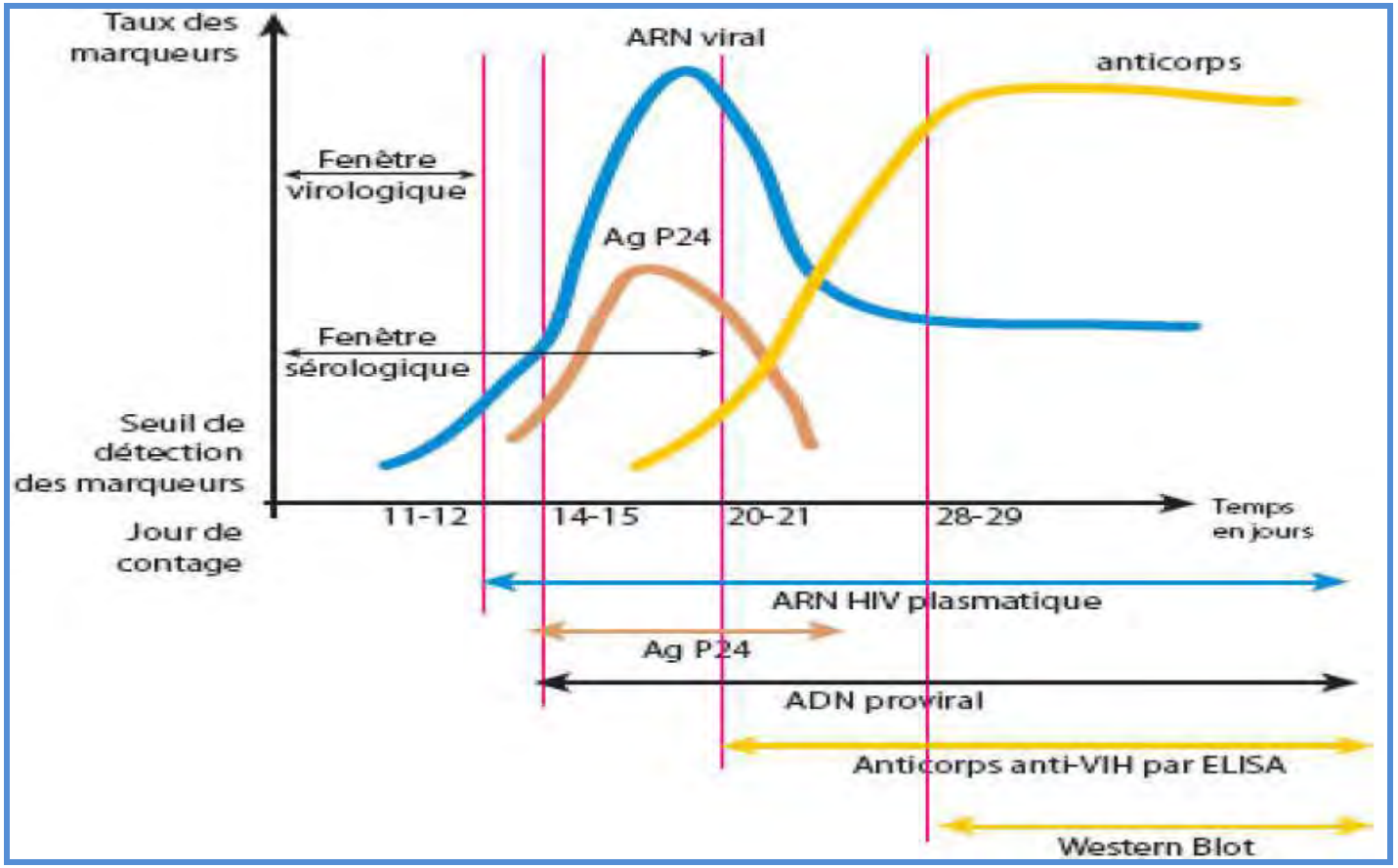
Contrôle interne inclus dans chaque test.

Stable entre 4 et 30°C

Sachet unitaire avec :

1 cassette, 1 pissette,

1 flacon de tampon pour sang total



Evolution des marqueurs de l'infection à VIH

SUIVI BIOLOGIQUE

- rôle essentiel dans la prise en charge de l'infection VIH
- une optimisation des traitements existants
- Amélioration de la survie des patients.

- Actuellement: Bilan immuno-vorologique
- le contrôle du statut immunitaire : numération CD4
- la mesure de la charge virale
- la détection de résistance : génotypage

→ sont à la base de toute surveillance biologique et thérapeutique des personnes infectées par le VIH

TRAITEMENT

PREVENTION

Les classes ARV

- **Inhibiteurs de la transcriptase inverse**

  agissent en inhibant l'action de la RT, une enzyme nécessaire à la synthèse d'ADNc à partir de l'ARN viral.

→**Inhibiteurs nucléosidiques de la transcriptase inverse (INTI)**

→ **Inhibiteurs non nucléosidiques de la transcriptase inverse (INNTI)**

- **Inhibiteurs de protéase (IP) :**

  agissent au niveau du processus d'assemblage des protéines virales nouvellement synthétisées en inhibant l'action de la protéase

- **Inhibiteurs de fusion**
- **les inhibiteurs d'entrée**
- **les inhibiteurs d'integrase**

- Protocole: Trithérapie

- 2 INTI + 1 INNTI
- 2 INTI + 1 IP
- 3 INTI

La prévention

- Incitation au dépistage VIH et autres IST
- Compagnes de prévention
- Protection lors des rapports sexuelles: préservatifs
- Prophylaxie post exposition professionnelle (36 H)
- La circoncision: réduction transmission à 60%
- Nourrisson: TRT préventif de la femme enceinte séropositive (2%)
- Utilisation de matériels à usage unique

PARAMYXOVIRIDAE

2015 – 2016

03èmes année clinique

Dr Derrar

Plan

Introduction

Généralités sur la Famille des Paramyxoviridae

Virus respiratoire Syncytial :
- Agent viral
- Epidémiologie/Clinique
- Diagnostic virologique

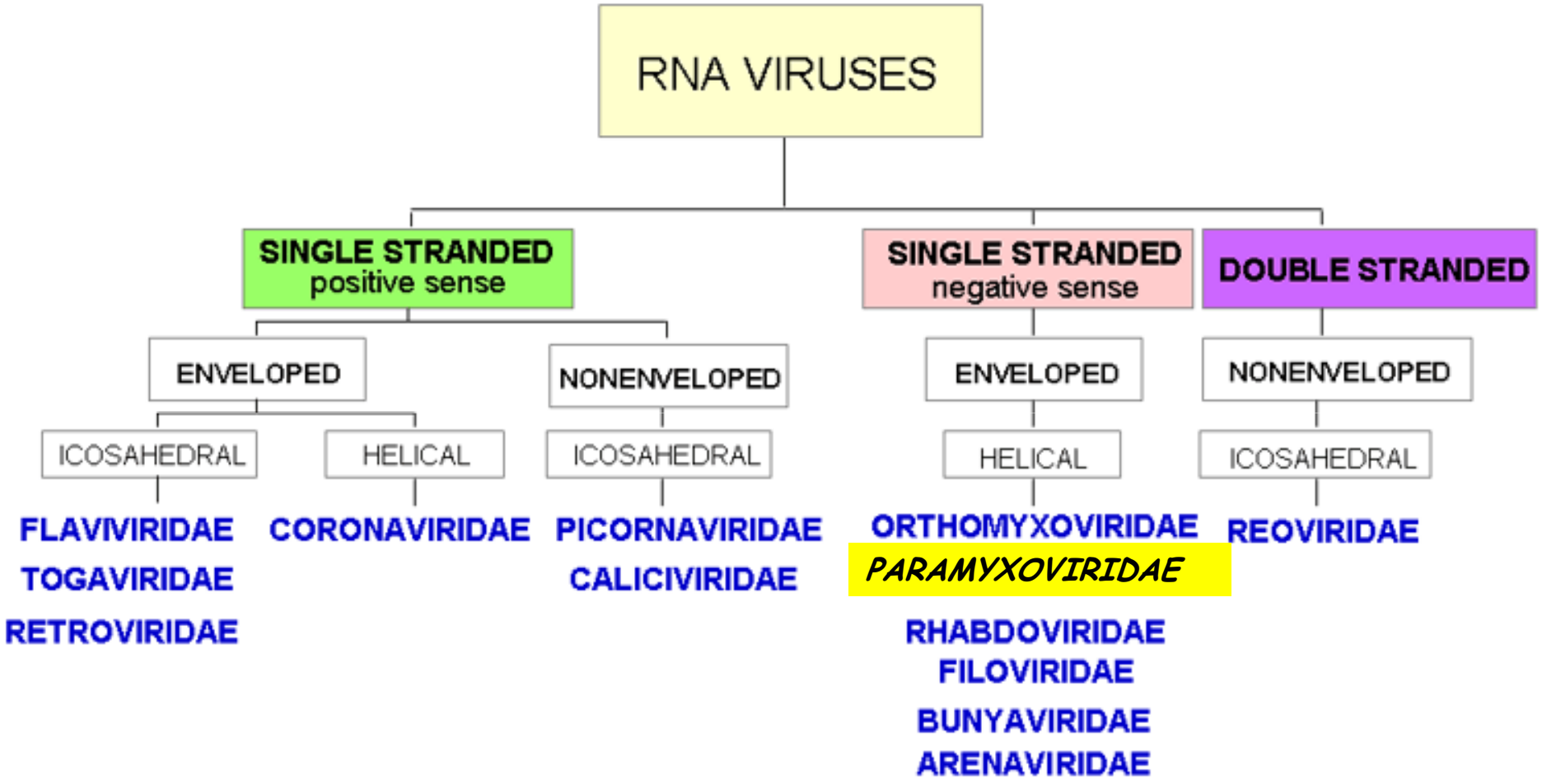
Métapneumovirus
- Agent viral
- Epidémiologie/Clinique
- Diagnostic virologique

Virus de la Rougeole
- Agent viral
- Epidémiologie/Clinique
- Diagnostic virologique

Virus des Oreillons
- Agent viral
- Epidémiologie/Clinique
- Diagnostic virologique

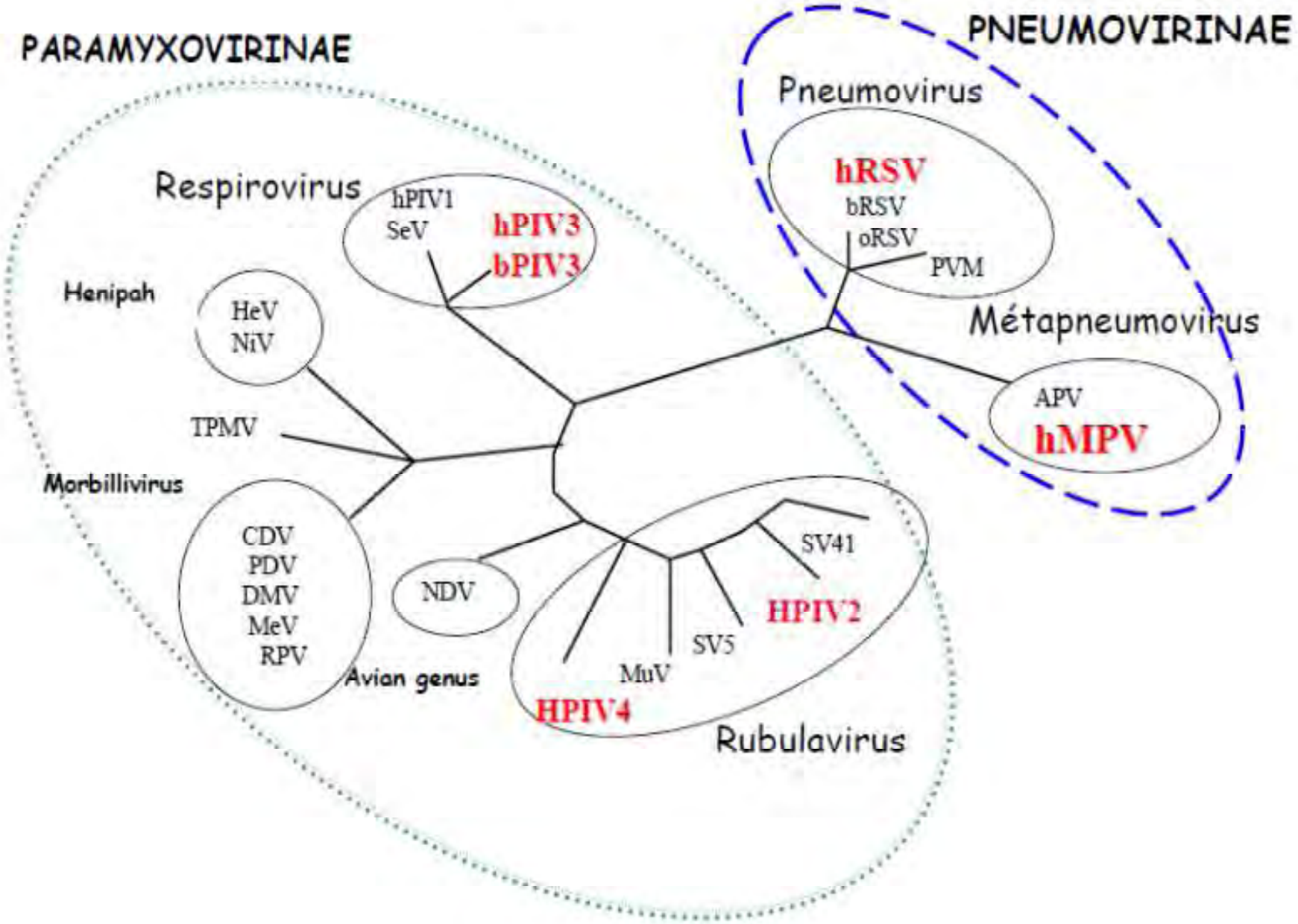
Introduction

- Virus ubiquitaire et les plus importants causant des maladies
- Virus les plus infectieux : Rougeole
- Virus les plus prévalents : Rougeole, VRS, PIV, Ourlien
- Virus objet d'un programme d'éradication par l'OMS : rougeole
- virus émergents : virus Hendra, virus Nipah
- Protéine F : fusion à PH neutre
- Classification (re) 2000 par l'ICTV en 02 sous-familles

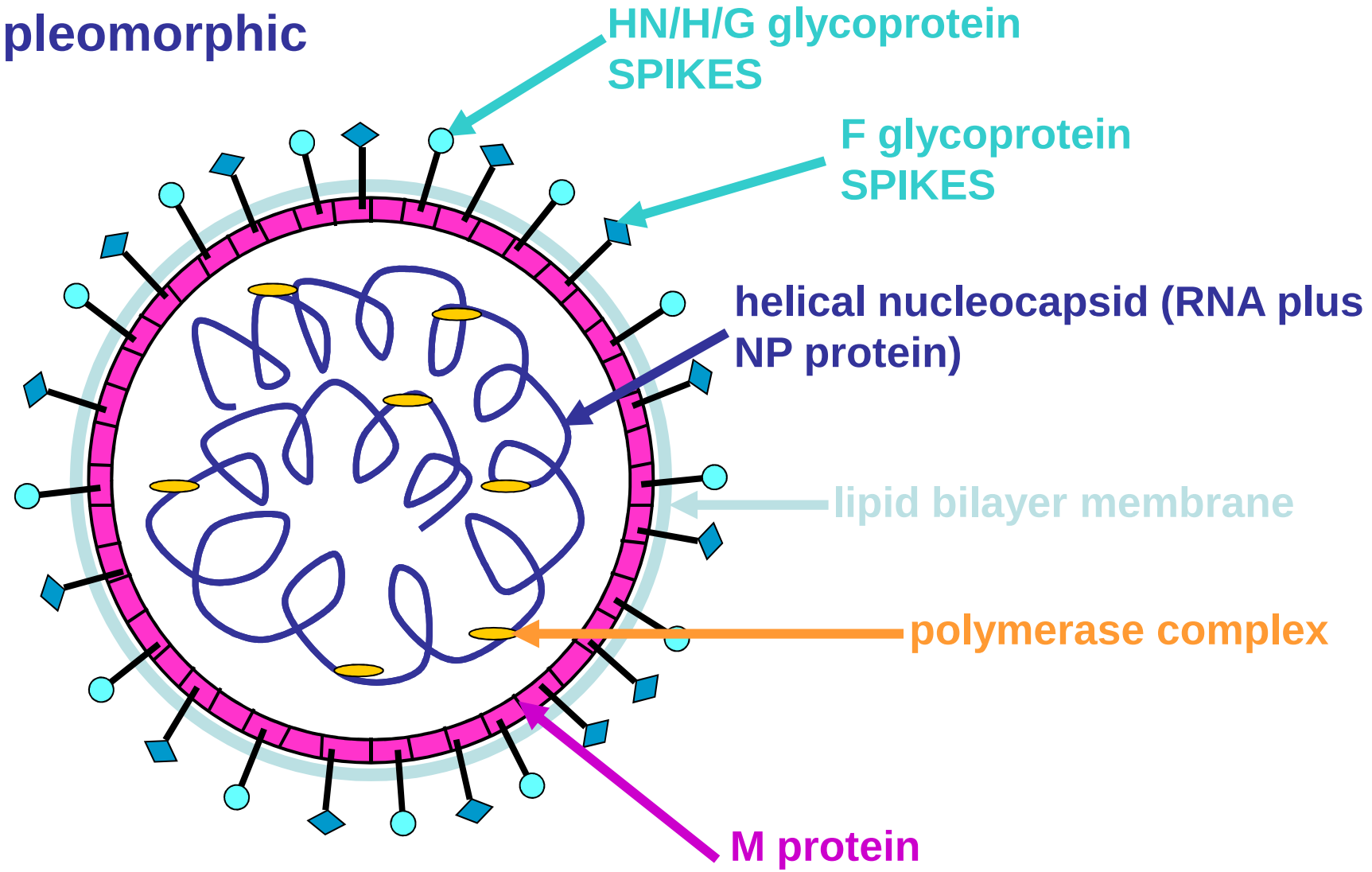


Modified from Volk et al., Essentials of Medical Microbiology, 4th Ed. 1991

Paramyxoviridae.



PARAMYXOVIRUS



PARAMYXOVIRIDAE

DEUX Sous-familles

- **Paramyxovirinae**
- **Pneumovirinae**

Sous-famille Paramyxovirinae
4 genres, 3 sont importants :

1. **Genre respirovirus:**

   virus parainfluenza 1 & 3 viruses

2. **Genre Rubulavirus**

   virus parainfluenza 2 &4 et ourlien

3. **Genus morbillivirus**

   virus Rougeole

Sous famille Pneumo*virinae*
02 genres :

1. **Genre pneumovirus**

   virus respiratoire syncytial VRS

2. **Genre metapneumovirus**

   human metapneumovirus hMPv

Glycoprotéines de surface de la Famille des PARAMYXOVIRUS

GENUS	GLYCOPROTEINES	MEMBRES TYPES
Sous-famille PARAMYXOVIRUS		
Respirovirus	HN, F	HPIV1, HPIV3
Rubulavirus	HN, F	HPIV2, HPIV4, virus ourlien
Morbillivirus	H, F	Virus rougeoleux
Sous-famille PNEUMOVIRUS		
Pneumovirus	G, F	Virus respiratoire syncytial
Metapneumovirus	G, F	metapneumovirus

FAMILLE PARAMYXOVIRUS

Proprietés des Protéines d'attachement

Genre	Glycoprotéines	Membres Types
PARAMYXOVIRUS		
Paramyxovirus	HN	HPIV1, HPIV3
Rubulavirus	HN	HPIV2, HPIV4, virus ourlien
Morbillivirus	H	virus rougeoleux
PNEUMOVIRUS		
Pneumovirus	G	Virus respiratoire syncytial
Metapneumovirus	G	metapneumovirus

Characteristiques des genres dans les sousfamilles des Paramyxoviridae

Propriétés	Paramyxovirinae			Pneumovirinae	
	Respiro	Rubula	Morbilli	Pneumo	metapneumo
Virus Humain	Parainfluenza 1,3	Oreillons, parainfluenza 2,4a,4b	Rougeole	VRS	hMPv
Serotypes	1 chacun	1 chacun	1	2	??
Prot F	+	+	+	+	+
_____ Haemolysin	+	+	+	Pas d'hemolysine Pas de HA Pas de NA	
HA	+2	+2	+3		
NA	+2	+2	Pas de NA		

MORPHOLOGIE

“HN” et “F” spicules : sont antigeniques, responsables :

- attachment cellule hôte,
- mediation de fusion de la membrane,
- activité hémolysine

- Facteurs clés dans l’infection et la pathogénie.

Activités des glycoprotéines de surface

- **Glycoproteine F …. Aussi Hemolysin**
- **Glycoproteine HN….activités Hémagglutination et neuraminidase**
- **Hemagglutination des erythrocytes est plus efficace par la glycoprotéine H qui n'a pas d'activité neuraminidase**

Hémagglutination

Rapide, simple

Détecter le virus ou anticorps (Inhibition de l'hémagglutination)

Mesure particules virales presentes, pas les particules virales infectieuses

Neuraminidase.

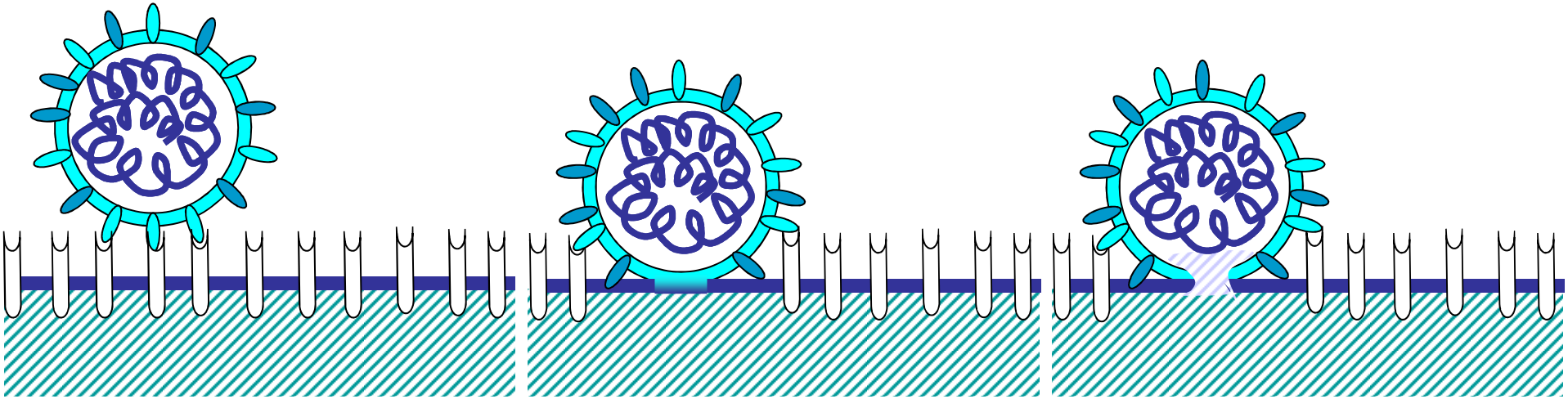
Destruction de la liaison acide scialique/acide neuraminique

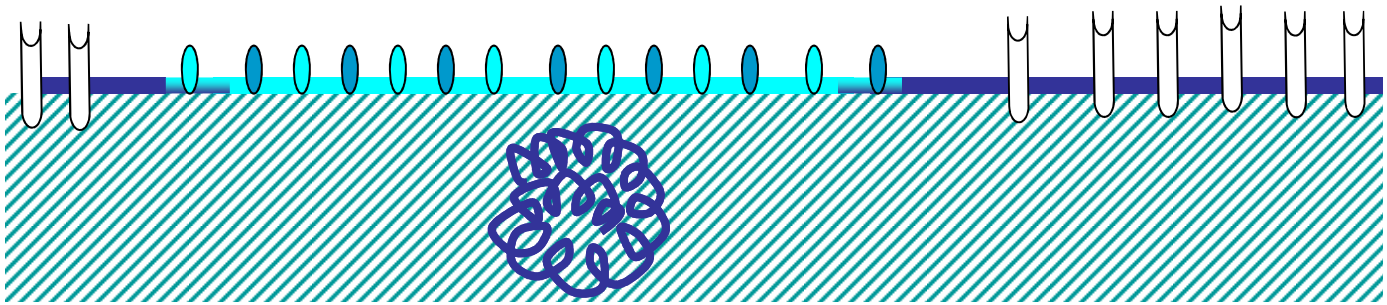
Protéine F

Fusion

Fonctionne à PH neutre

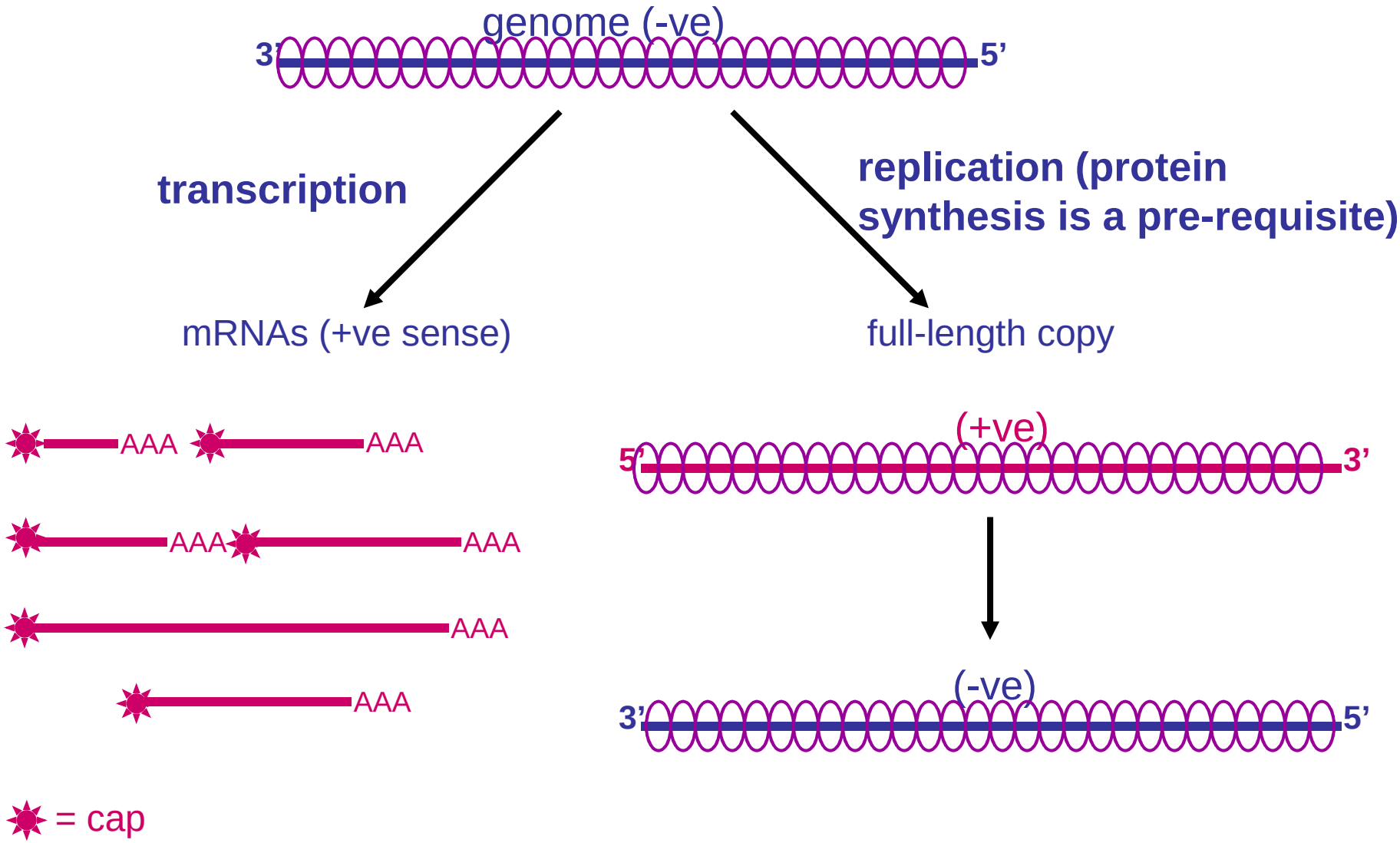
PENETRATION - FUSION



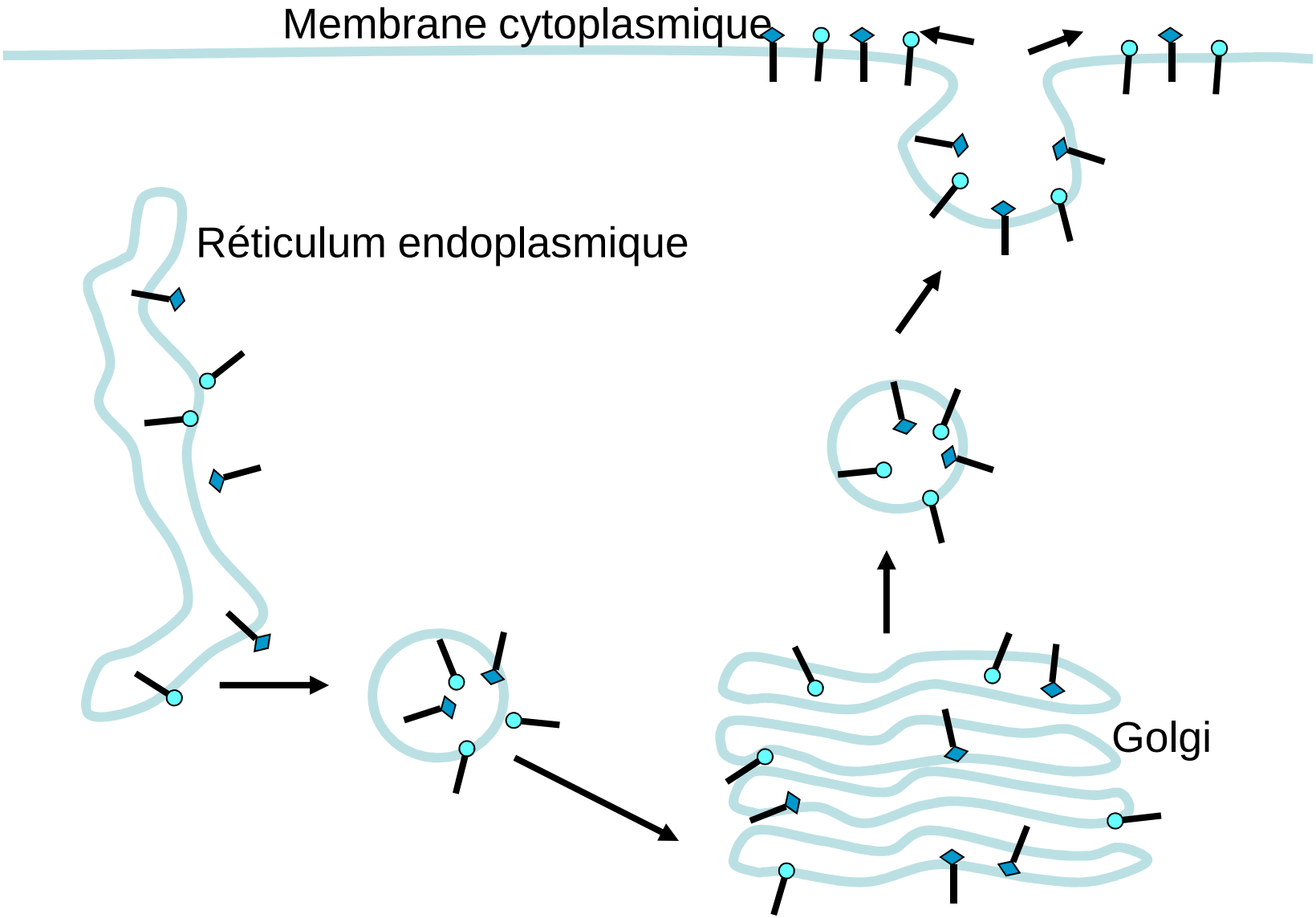


replicates in cytoplasm

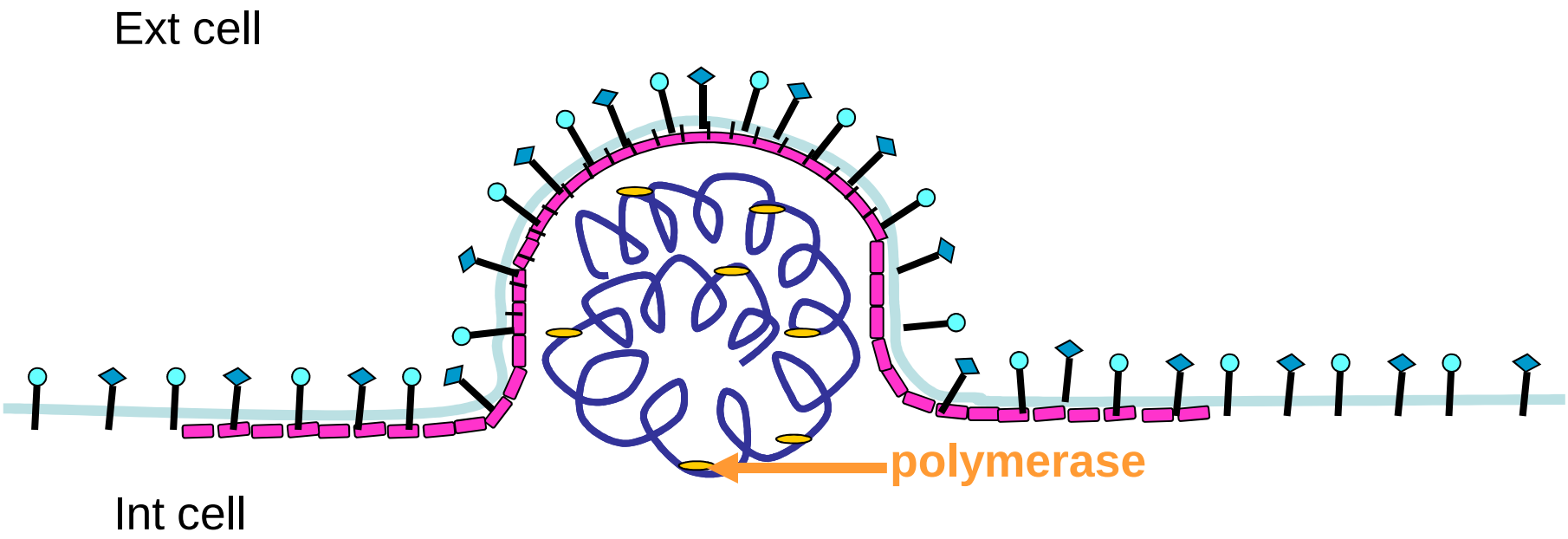
Transcription, Traduction, Replication



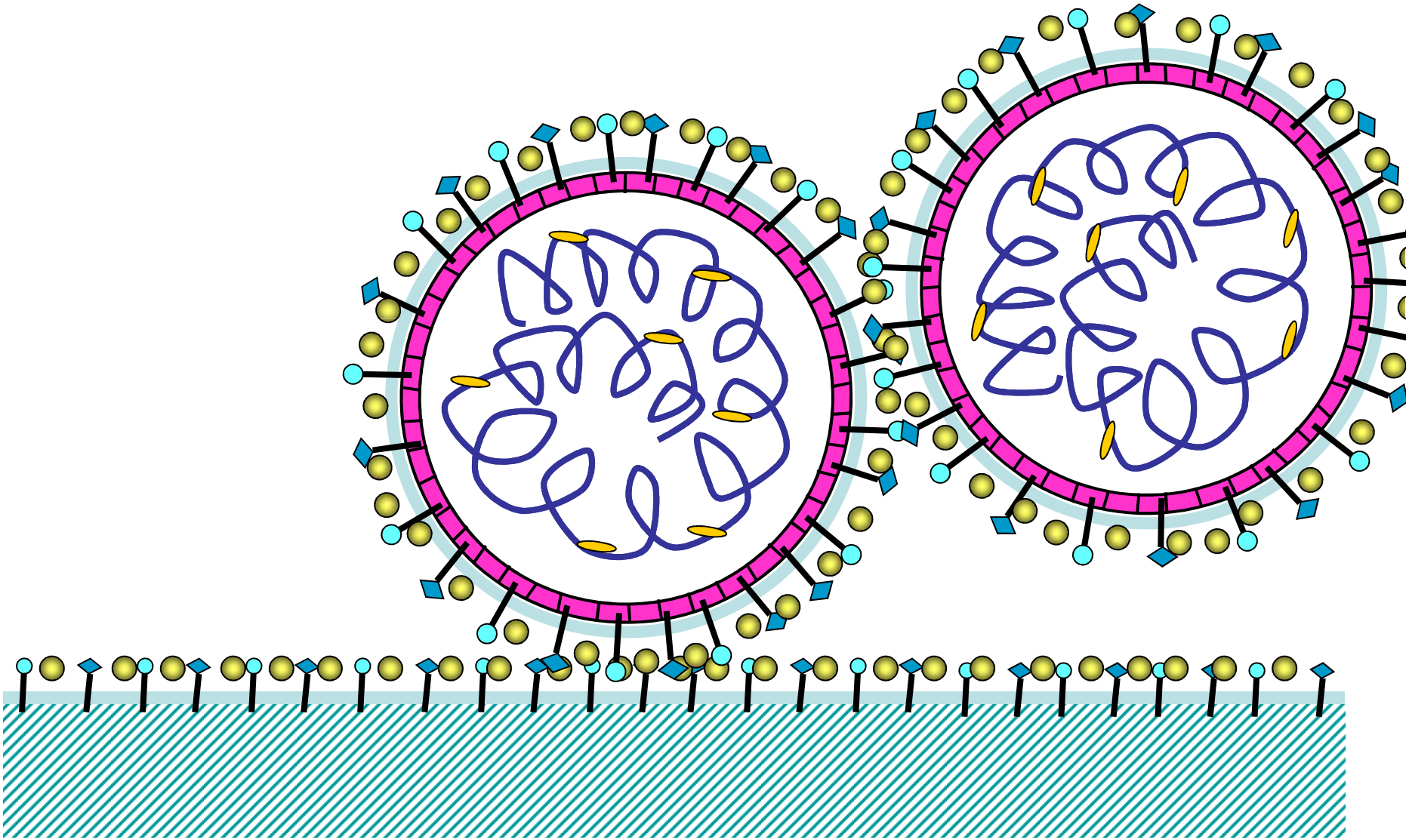
ASSEMBLAGE



Assemblage

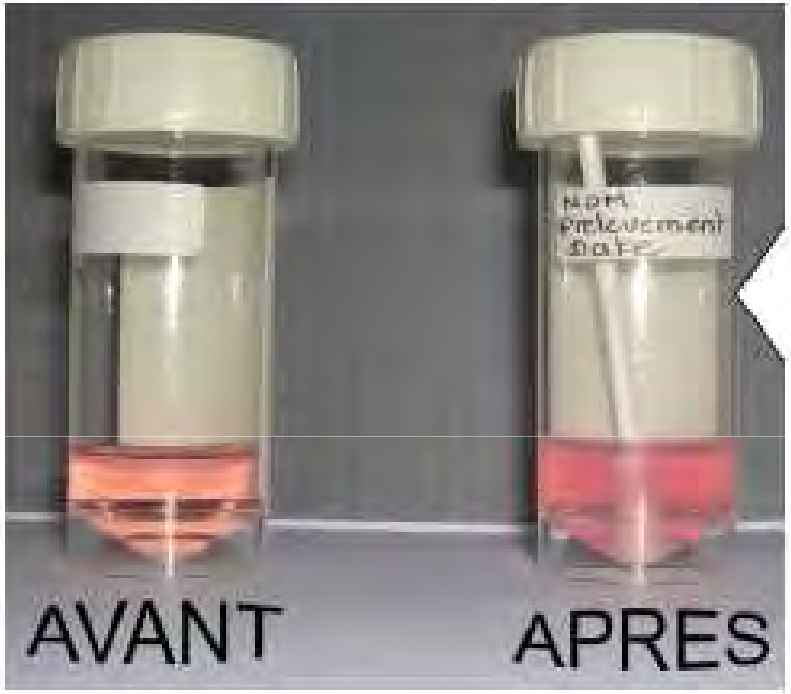


Role de la Neuraminidase



Diagnostic au Laboratoire

Diagnostic Virologique



La qualité du prélèvement conditionne l'efficacité du diagnostic

Diagnostic Indirect

= Confirmation du diagnostic dans les cas où le prélèvement respiratoire est trop tardif (cas chroniques hospitalisés)

- Séroconversion
- Augmentation significative du taux d'Ac
- Présence d'IgM (éventuellement)

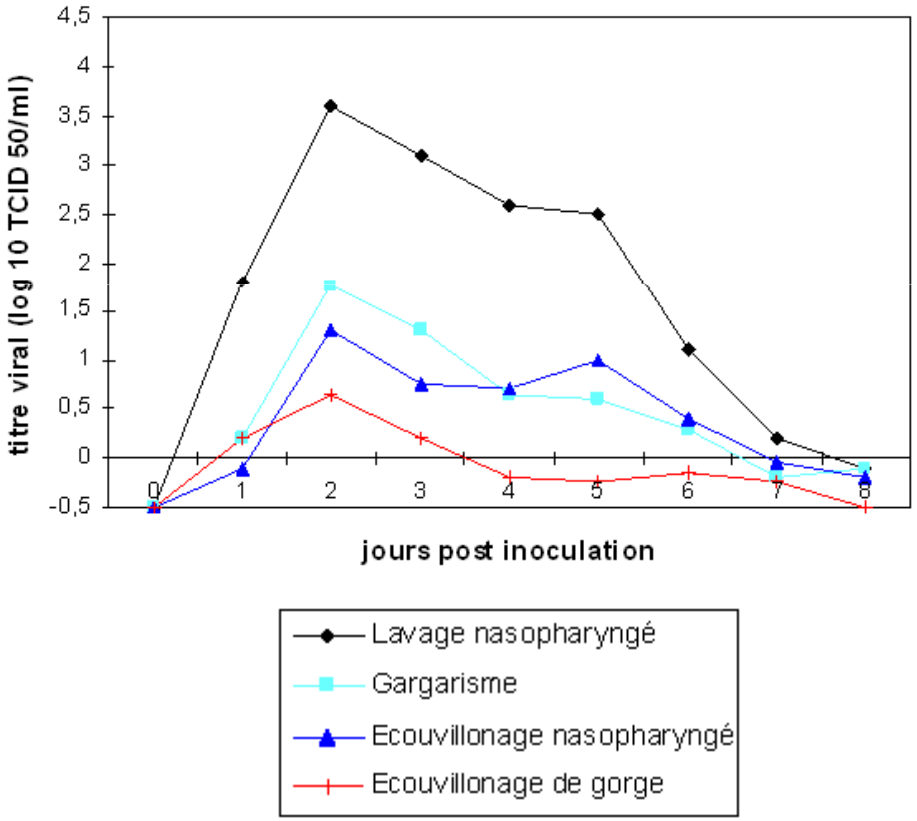
Techniques :

- Fixation du complément (Ac anti-NP, sauf enfants < 5 ans)
- ELISA (IgG, IgM)

Diagnostic direct : le prélèvement

- réalisé le plus tôt possible
- site : nez, nasopharynx, pharynx, LBA
  (cellules de l'épithélium cilié)
- méthode :
  - Lavage +++
  - Écouvillon
  - Aspiration
- transport rapide pour la survie des virus (milieux de transport)

Infection expérimentale par le virus A/Texas/36/91 (H1N1) chez des volontaires adultes



Kaiser *et al*., Journal of Clinical Virology 1999 ; 14 : 191-7

Diagnostic direct : les techniques

Ag : ELISA (grandes séries), IF (petites séries)

Ac monoclonaux commercialisés pour de nombreux virus

Tests rapides : laboratoire ou doctor-tests commercialisés pour grippes A et B, VRS

Culture virale (réservée aux laboratoires spécialisés) :

Cellules sensibles selon virus (MRC5, Hep2,,)

Techniques d'inoculation

Détection et identification

Biologie moléculaire :

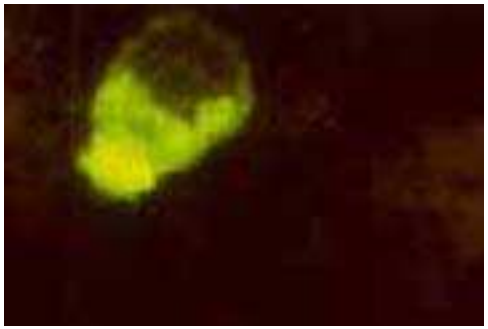
ADN : pour AdV

ARN : RT-PCR qualitatives ou quantitatives

PCR multiplex en développement

Détection d'antigènes

	Ag dans cellules	Ag extrait	
	IF	**ELISA**	**immunochromatographie**
VRS	30 à 60 min	sur mb – 10 min	10 min
hMPv	30 à 60 min	/	×
PIV	30 à 60 min	ICE – 2 h	X



Cellule nasale infectée par VRS

Culture virale

Cellules sensibles selon les virus

Virus	Cellules favorables à l'isolement	Cellules utilisables à défaut des précédentes
Influenzavirus	**MDCK**	**LLC-MK2, Vero**
Para-influenzavirus	**LLC-MK2, HEp-2***	**Vero, MDCK**
Virus respiratoire syncytial	**HEp-2, HeLa**	**MRC-5, Vero**
Adénovirus	HEp-2, HeLa, KB	A549, MRC-5
Rhinovirus	**MRC-5**	**A549**
Coxsackievirus A	MRC-5*, BGM*	Vero*, LLC-MK2*
Coxsackievirus B	BGM, Vero, HEp-2	LLC-MK2
Echovirus	MRC-5, BGM*	HEp-2*, Vero*

* certains sérotypes seulement

= entretien de 4 lignées cellulaires (MDCK, LLC-MK2, HEp-2, BGM)

+ MRC-5

Détection et identification des virus

Détection antigénique entre 4 et 5 jours de culture

* des virus para-influenza 1 à 3 dans les surnageants des cellules LLC-MK2
* des virus grippaux A et B dans les surnageants des cellules MDCK

Examen des cellules pendant 10 à 12 jours pour la détection d'un effet cytopathique

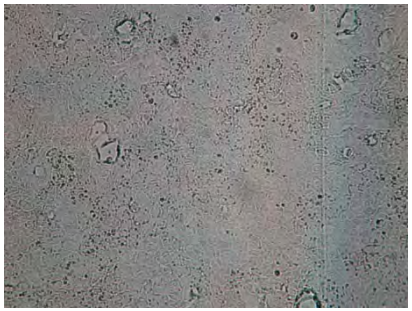
Identification des virus isolés :

* IF : para (1, 2, 3 ou 4), VRS (A ou B)
* ICE : GA ou GB

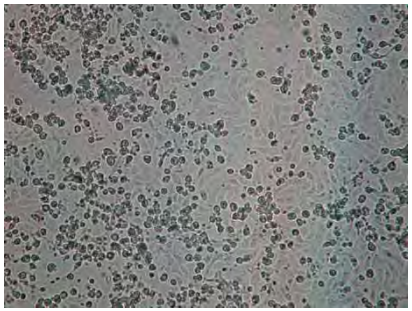
Effets cytopathiques de virus respiratoires

MDCK

Témoin cellules

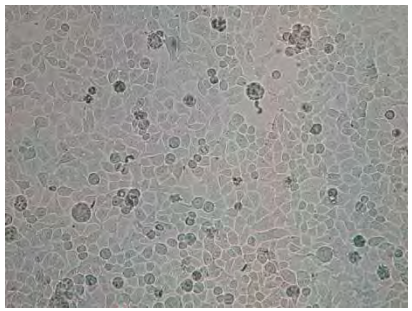


Grippe A

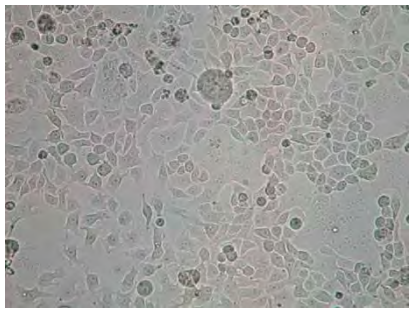


HEp-2

Témoin cellules

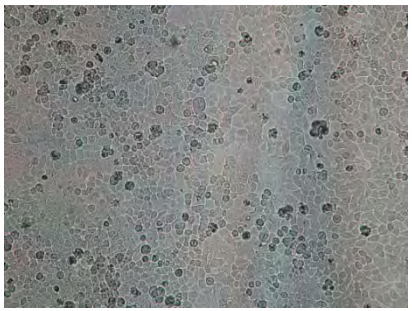


Virus Parainfluenza type 3

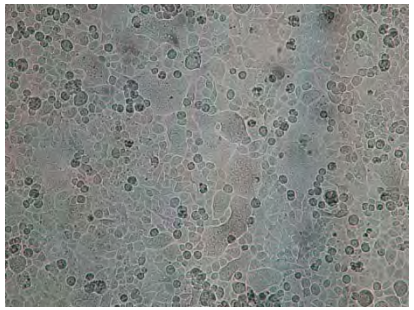


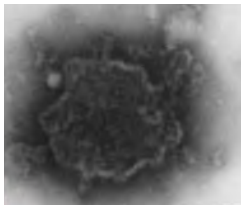
HEp-2

Témoin cellules



Virus Respiratoire Syncytial





Biologie Moléculaire

Développement important pour virus respiratoires :

- Meilleure sensibilité de la détection des virus respiratoires connus (hRV)
- PCR multiplex : détection simultanée de plusieurs pathogènes
- Identification de souches : parainfluenza, influenza
- Détection des nouveaux pathogènes, non ou difficilement cultivables :

  Métapneumovirus, Coronavirus, Bocavirus

Meilleure sensibilité pour la détection des virus respiratoires

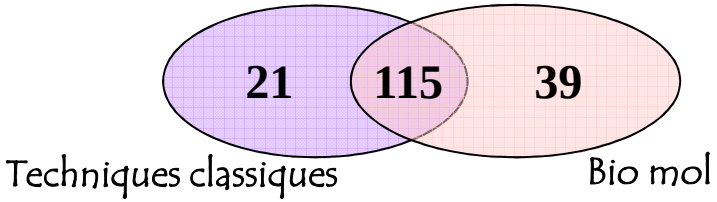
Laboratoire de Virologie Est / HCL – Equipe des pathogènes émergents / bioMérieux

Virus dans prélèvements respiratoires / enfants < 1 an présentant une bronchiolite

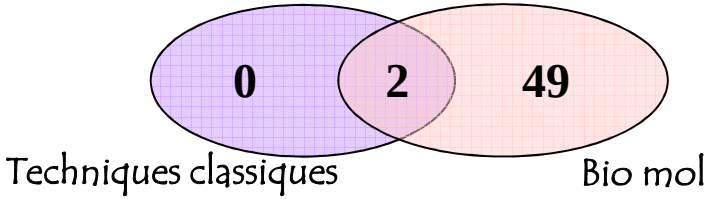
ED + culture virale : 37.5% de pvts négatifs
Avec bio mol : 13 % de pvts négatifs

Rattrapage de **25 %** des négatifs par BM

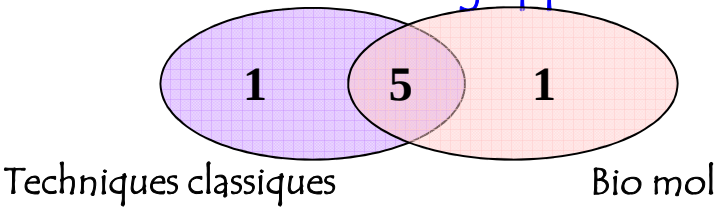
Détection VRS



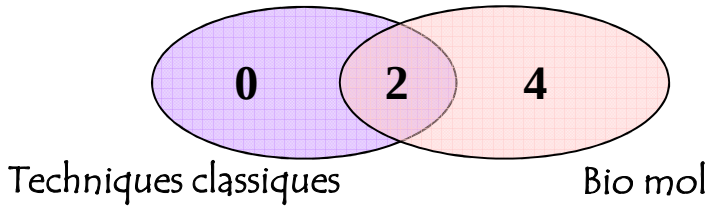
Détection hRV



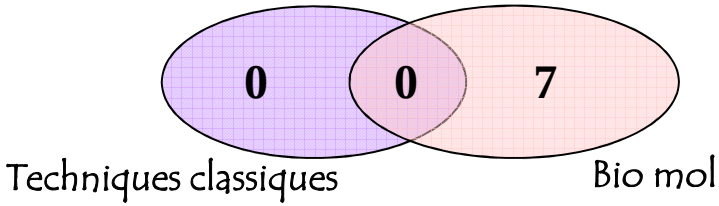
Détection grippe



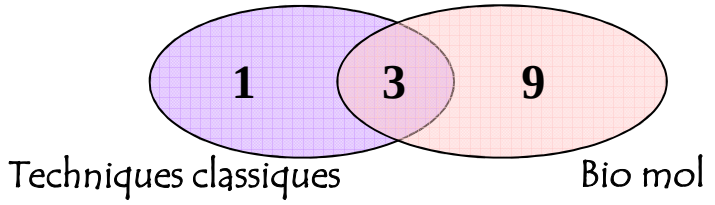
Détection EV



Détection AdV

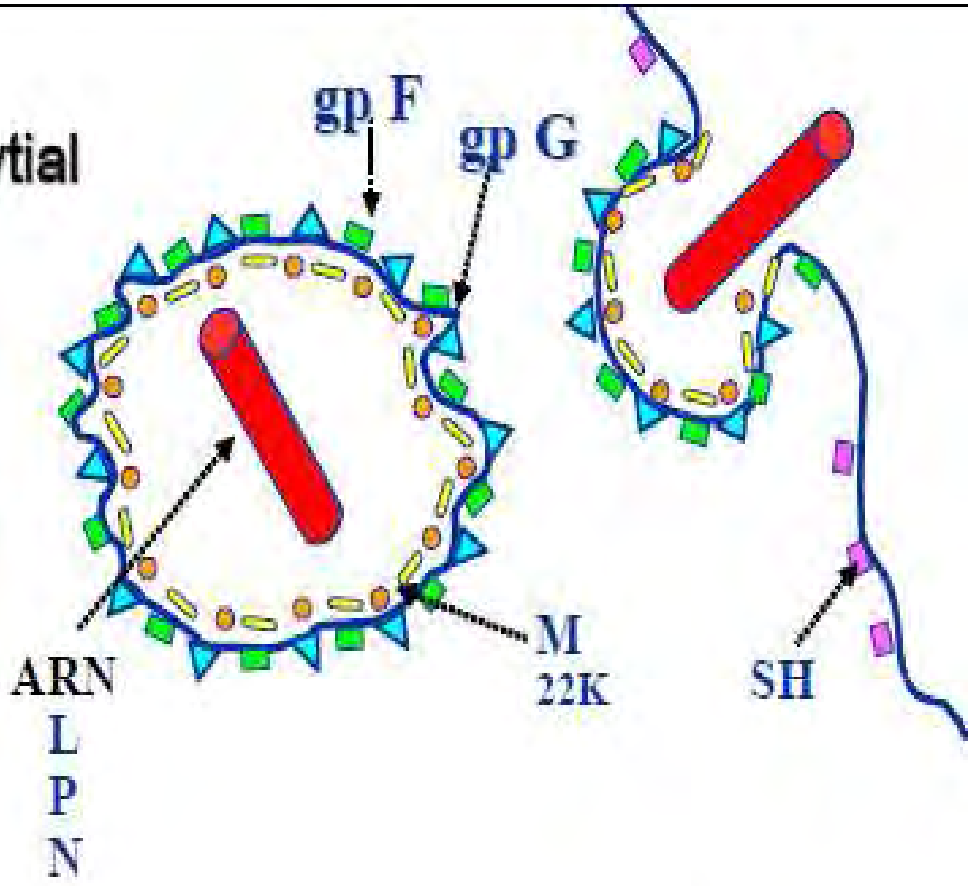


Détection PIV



Virus Respiratoire Syncytial

Virus respiratoire syncytial



Agent viral

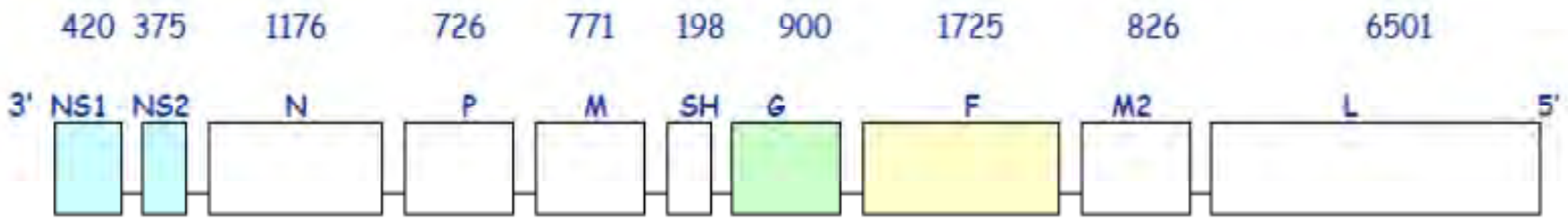
- RSV est un paramyxovirus ;

  - Découvert en 1956 ,, isolé en 1957 chez un enfant atteint de pneumonie
  - Images syncytiales observées dans les cellules infectées.
  - Molécule d'ARN simple brin polarité négative

  - 02 groupes viraux A et B (individualisés par des Ac Monoclonaux anti-VRS)
  - La forte glycosylation de la proteine G favorise l'accès à l'épithélium respiratoire
  - Une partie de la proteine G est soluble (leurre pour le système immunitaire)
  - Absence d'activité hémagglutinante
  - Absence d'acitivité de la neurminidase
  - Proteine F : pas d'activité hémolysine
  - La gpG et F induisent la formation d'Ancticorps Neutralisants (protecteurs)

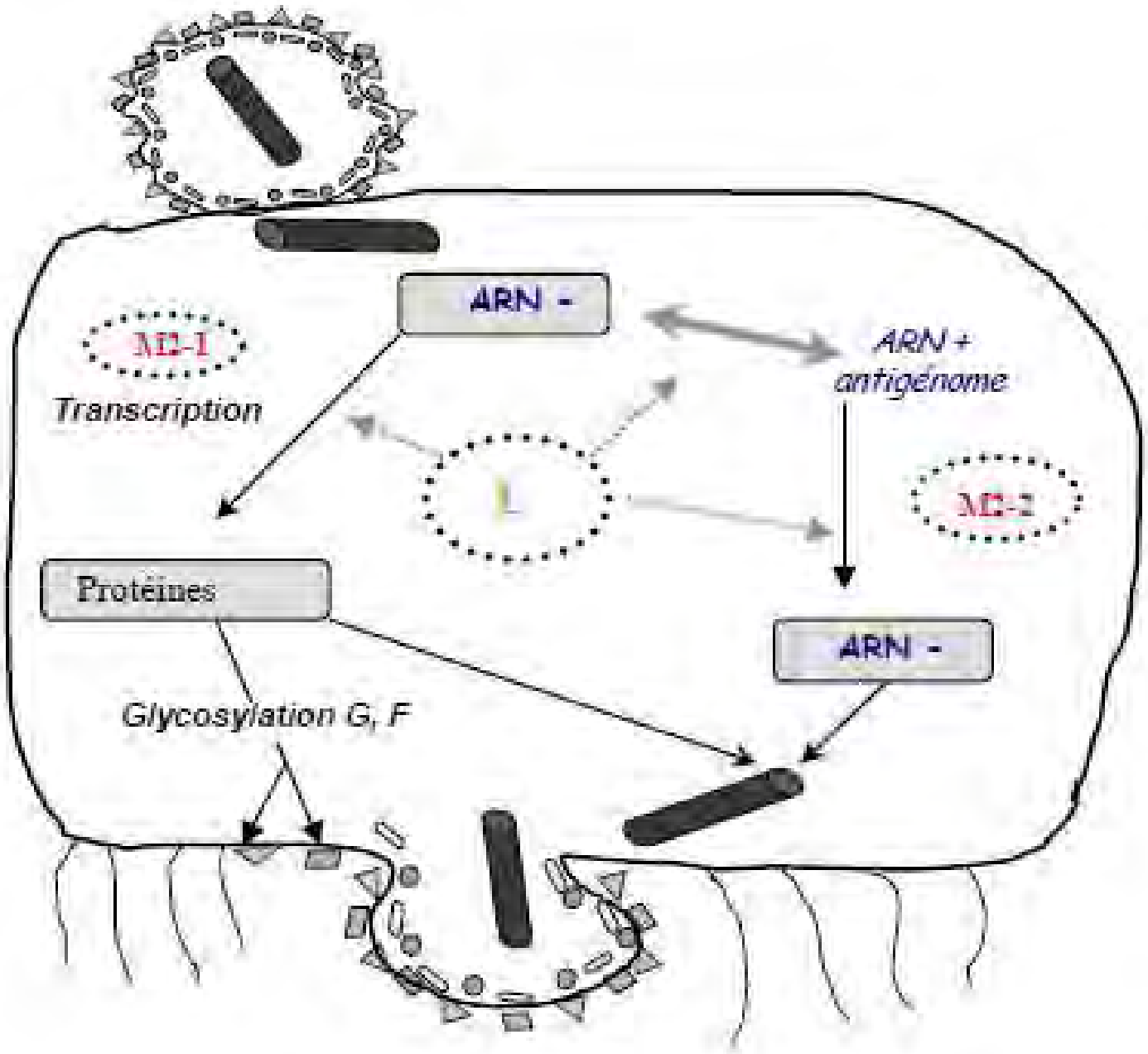
.

Structure du génome des hRSV

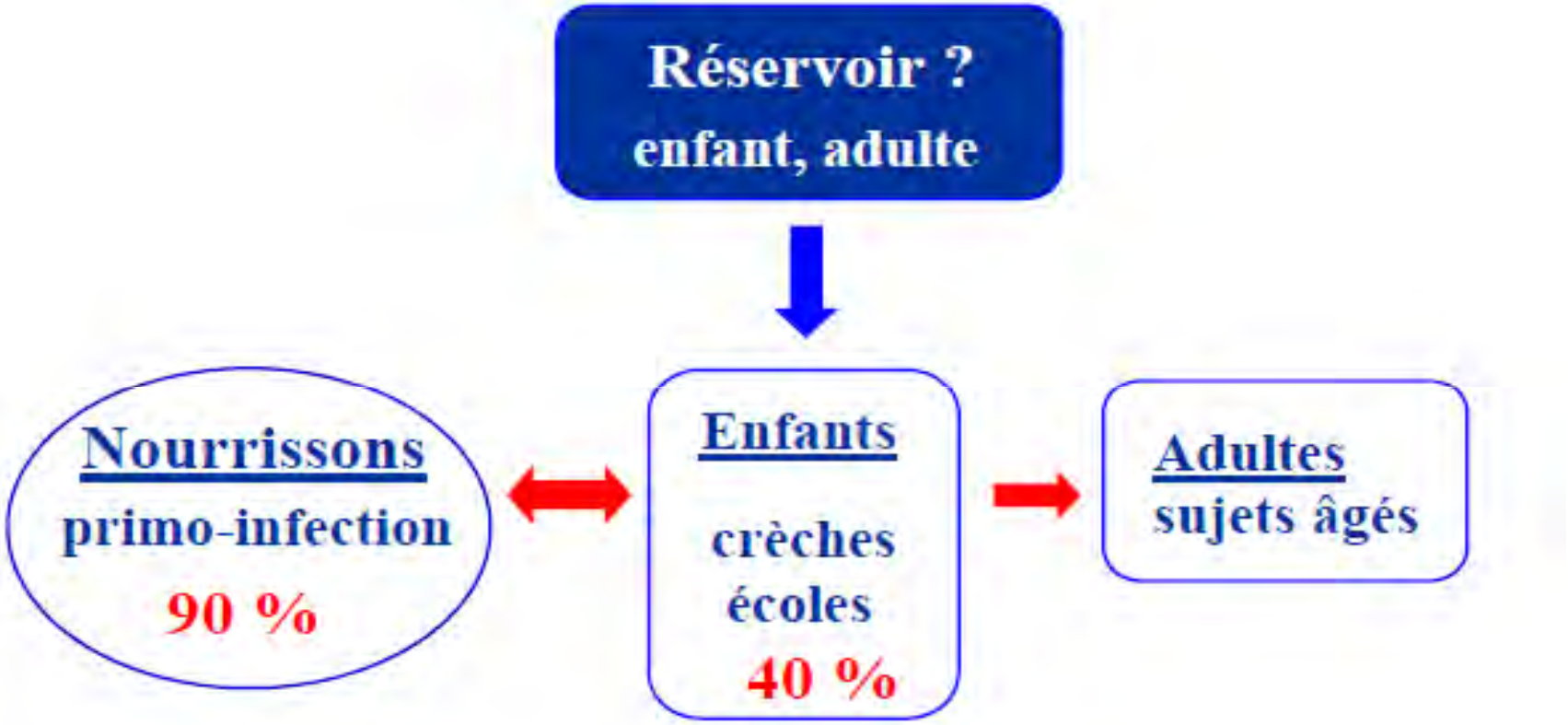


15.2Kb

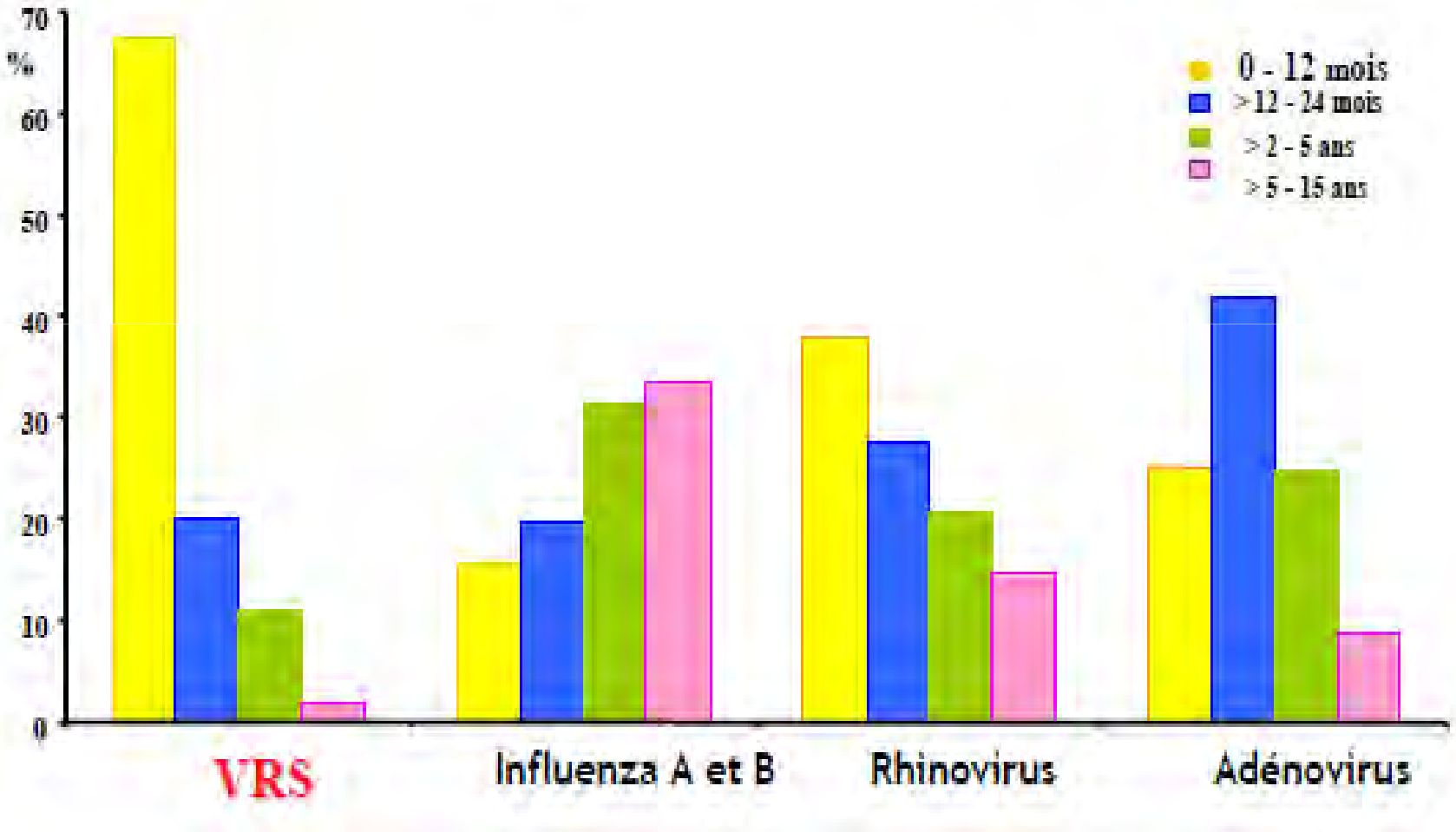
Les longueurs des génomes et des gènes des deux virus sont données, mais le chevauchement des gènes M2 et L du hRSV n'est pas indiqué


ARN -
M2-1
Transcription
ARN +
antigénome
L
M2-2
Protéines
ARN -
Glycosylation G, F

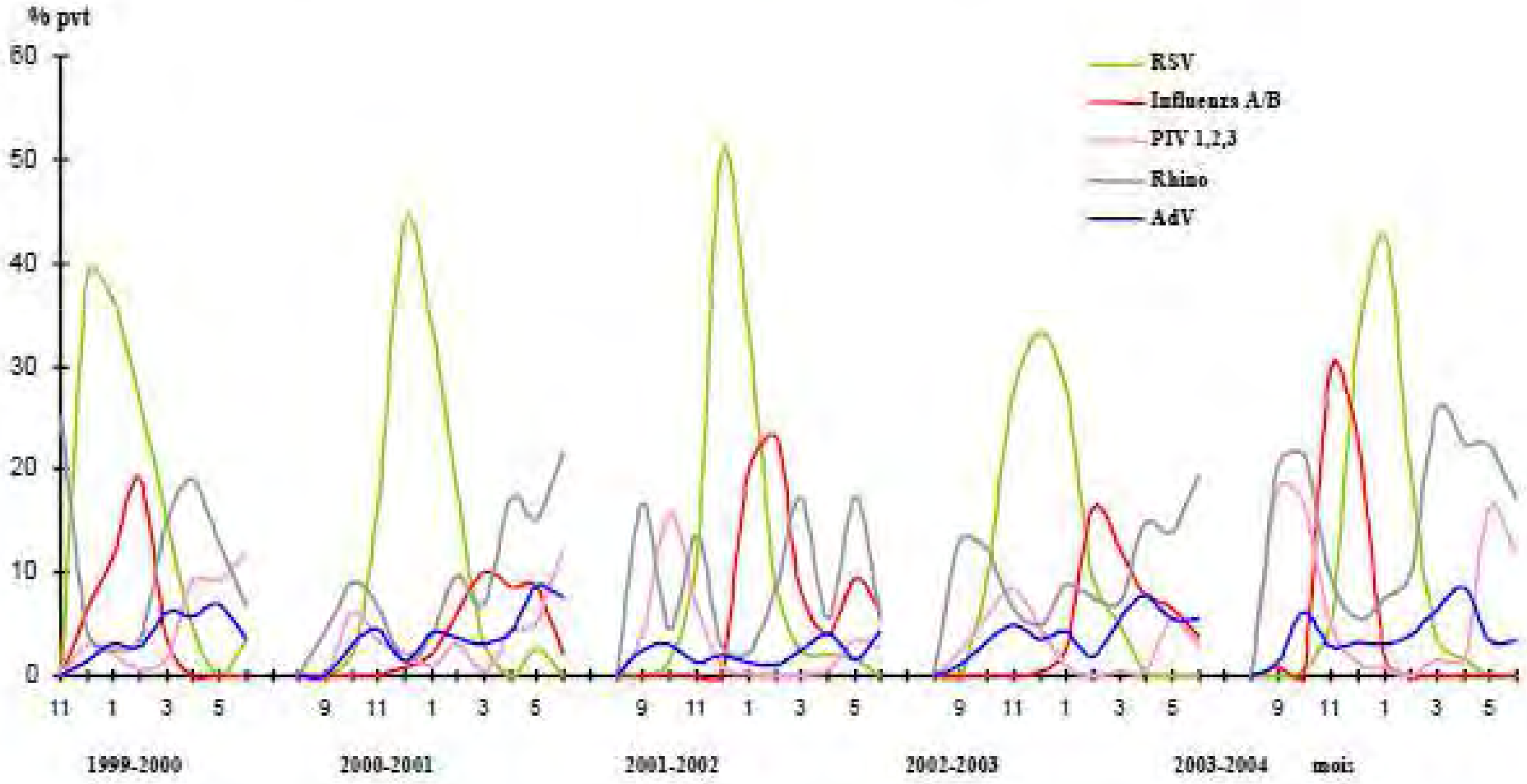
La bronchiolite est l'infection respiratoire virale majeure chez l'enfant



95% des enfants sont infectés à 2 ans.



Dans les pays tempérés, l'infection à VRS est épidémique et hivernale.



Transmission interhumaine du VRS

- Aérosols à grosses particules ou contact avec des particules infectées.
- Stabilité du virus fonction T°/Humidité:
  - Humidité (aérosol) : à 80-90% stable, moins 1 log10 en 1 min, 20 à 30%
  - Température : 90% d'inactivation (solution hydrique) en 03 jours à 37°C et en 07 jrs à 04°C
- Lien Climatique :

- Pays tempérés : épidémie l'hiver

- Froid favorise survie du virus , ralentit flux muco-ciliaire,,
- Réchauffement climatique raccourcirait la durée de l'épidémie

- Régions tropicales et sub-tropicales : épidémie l'été

- Période ou la chaleur et humidité sont maximale
- Un été sec peut limiter l'épidémie

- L’importance des bronchiolites à VRS tient à :
    - l’augmentation de leur fréquence
    - l’existence de formes graves

Les Facteurs déterminants :

- modification du terrain génétique des enfants
- évolution des souches virales
- modification de l’environnement

Diagnostic virologique

- Méthodes conventionnelles

✓ Détection d'antigènes viraux

- Immunofluorescence
- Techniques immuno-enzymatiques

✓ Isolement viral sur culture cellulaire

détection par :

- visualisation d'un effet cytopathique
- détection d'antigène viral

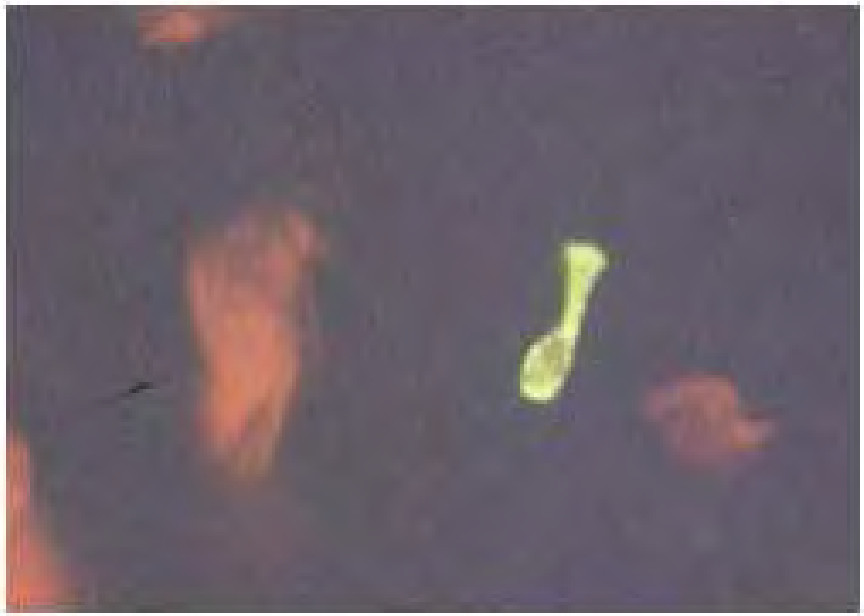
Techniques de diagnostic

1. Isolement en culture de cellules : ~ 7 jours

2. Sérologie : 2 sérums à ~ 10 jours

3. **Détection antigénique directe**:
   - immunofluorescence
   - test immunoenzymatique

4. Détection moléculaire



Immunofluorescence hRSV vs culture [2]

1747 enfants

Sensibilité : **80,6%**

Spécificité : **92%**

[1] *Uyeki T. Ped Inf Dis J 2003;* [2] *Freymuth F. Med Mal Infect 2003*

Techniques de diagnostic moléculaire

- Grande sensibilité
- Capacité de détection de plusieurs virus respiratoires en même temps (RT- PCR Multiplexes)
- PCR temps réel est la technique de choix
- Mais,,,,Nécessite un personnel formé .

hMPv

Métapneumovirus humain

Isolé pour la 01ère fois aux PaysBas en 2001

Van den Hoogen et al. Nat Med. 2001; 7 : 719

Epidémiologie :

- Mondialement répondue
- Saisonnier : Hiver
- > 90 % des enfants de + de 05 ans sont séro-positifs

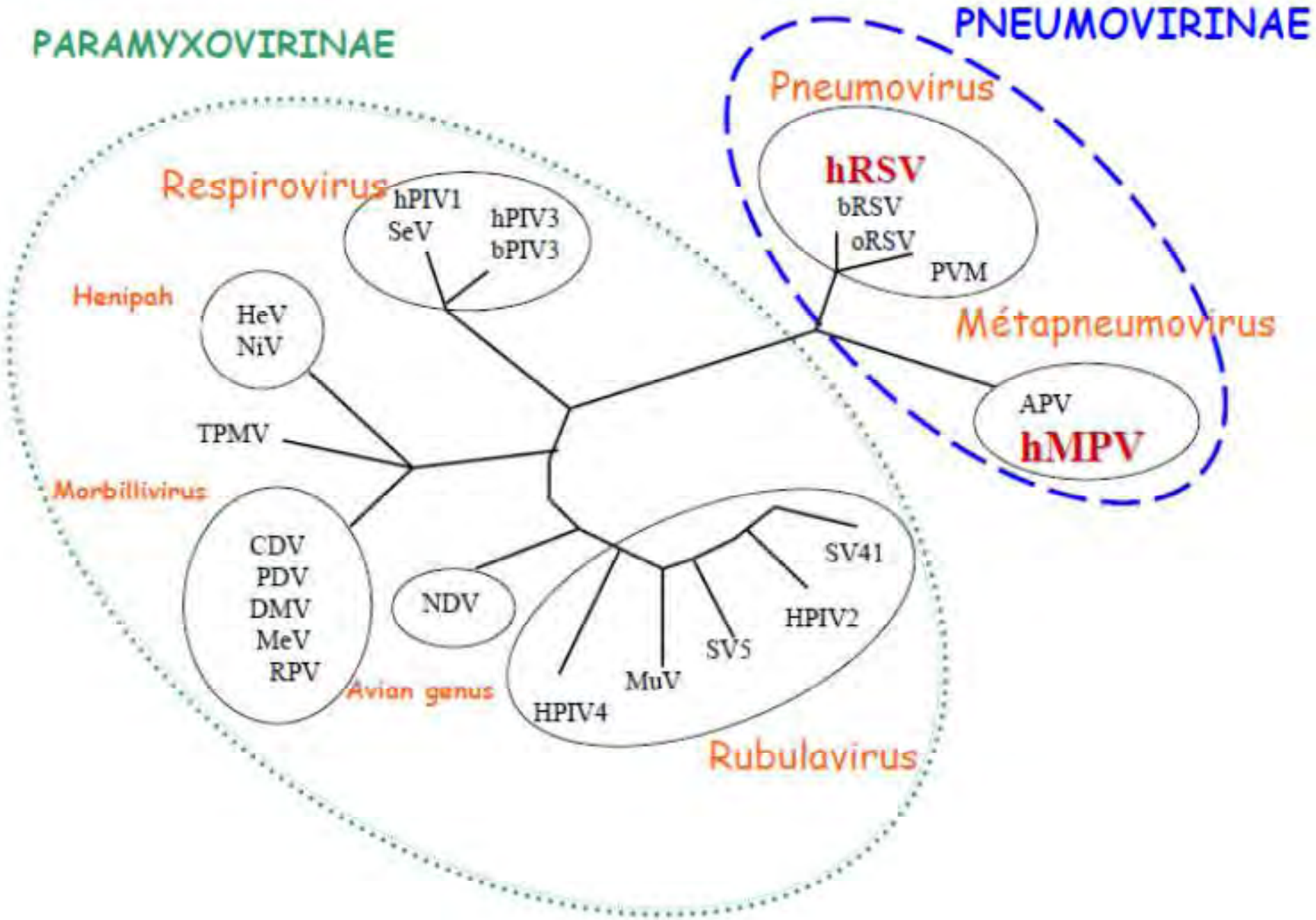
Pathologie

- Cause importante de IAH et IAB chez les nourrissons , jeunes enfants, âgés et immunodéprimés.
- 5 à 15 % des bronchiolites du jeune enfant
- Syndrome grippal chez l'adulte

Virologie

- 02 génotypes A et B (basé sur les gènes G et H)
- 02 linéages dans chaque génotype

Paramyxoviridae:



Diagnostic virologique de l'infection à hMPV

Détection directe d'antigène :

- Simple, rapide économique
- Réactifs disponibles pour IF (Argene, Dako, Chemicon) ou EIA

Isolement en culture cellulaire

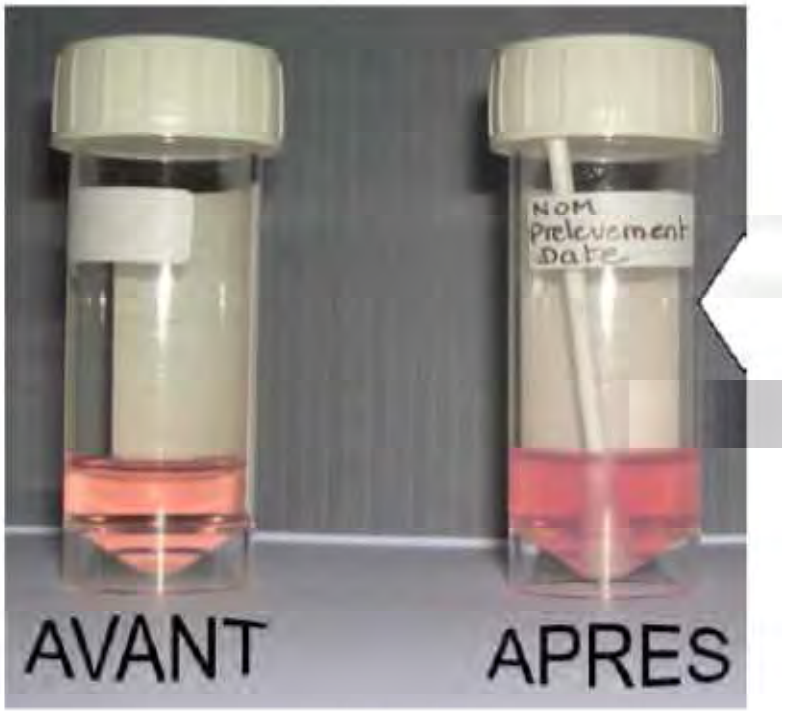
- très difficile
- seulement sur rein de singe tertiaire ou LLC-MK2
- croissance très lente # 12 à 18 j et ECP inconstant ou peu caractéristiqu

RT-PCR

- Permet de détecter et d'identifier le virus
- plusieurs cibles possibles : gènes L, N, F, M,
- Trousses disponibles unitaires ou multiplex

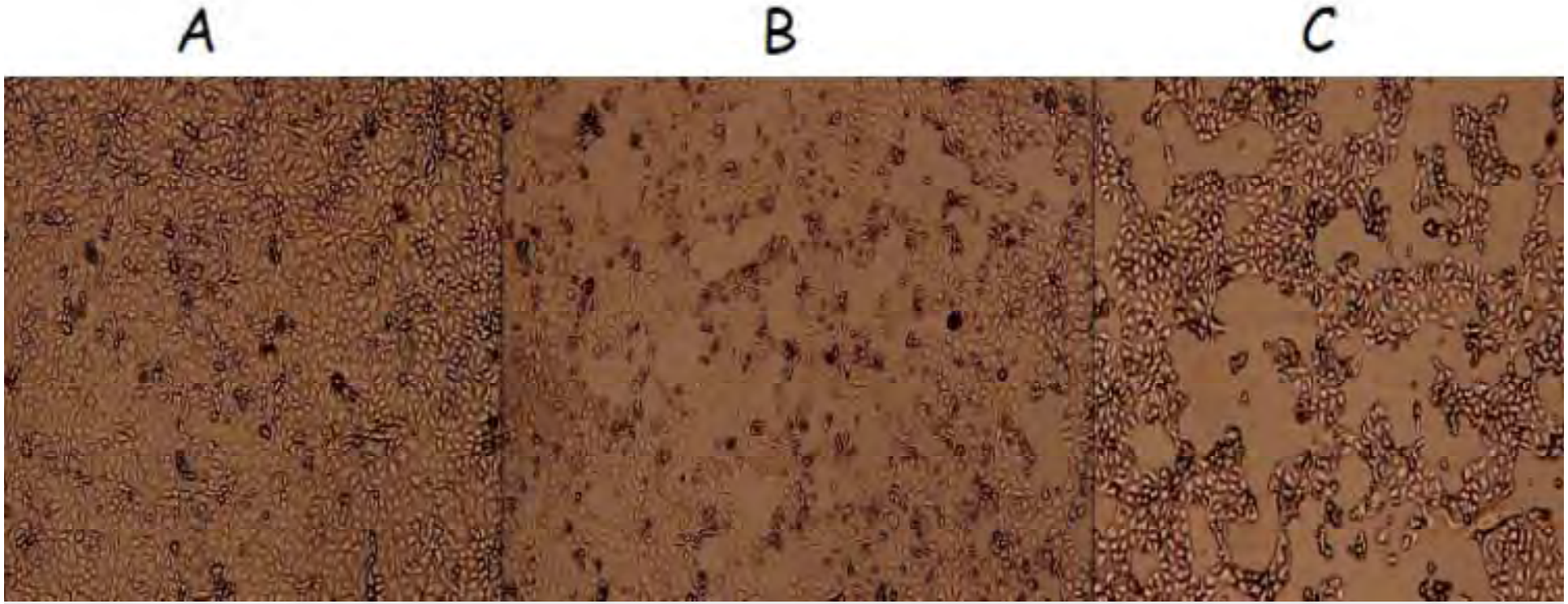
Sérologie

par IF sur des cellules MK2 infectées

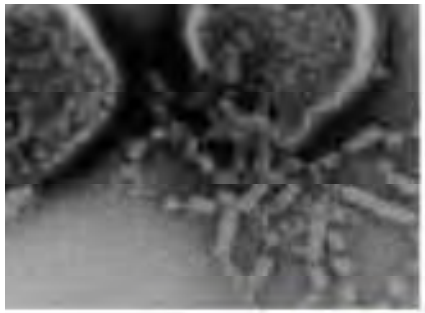


La qualité du prélèvement conditionne l'efficacité du diagnostic

Effect cytopathogène d'une souche de hMPV groupe 2 sur cellules LLC- MK2



cellules non infectées
t C : cellules infectées à J10 et J12, petites cellules et plages de lyse.



Virus parainfluenza humains

PARAMYXOVIRINAE

Pneumovirus

PNEUMOVIRINAE

Respirovirus

hPIV1

SeV

hPIV3

bPIV3

hRSV

bRSV

oRSV

PVM

Henipah

HeV

NiV

Métapneumovirus

APV

hMPV

TPMV

Morbillivirus

CDV

PDV

DMV

MeV

RPV

NDV

Avian genus

SV41

HPIV2

SV5

MuV

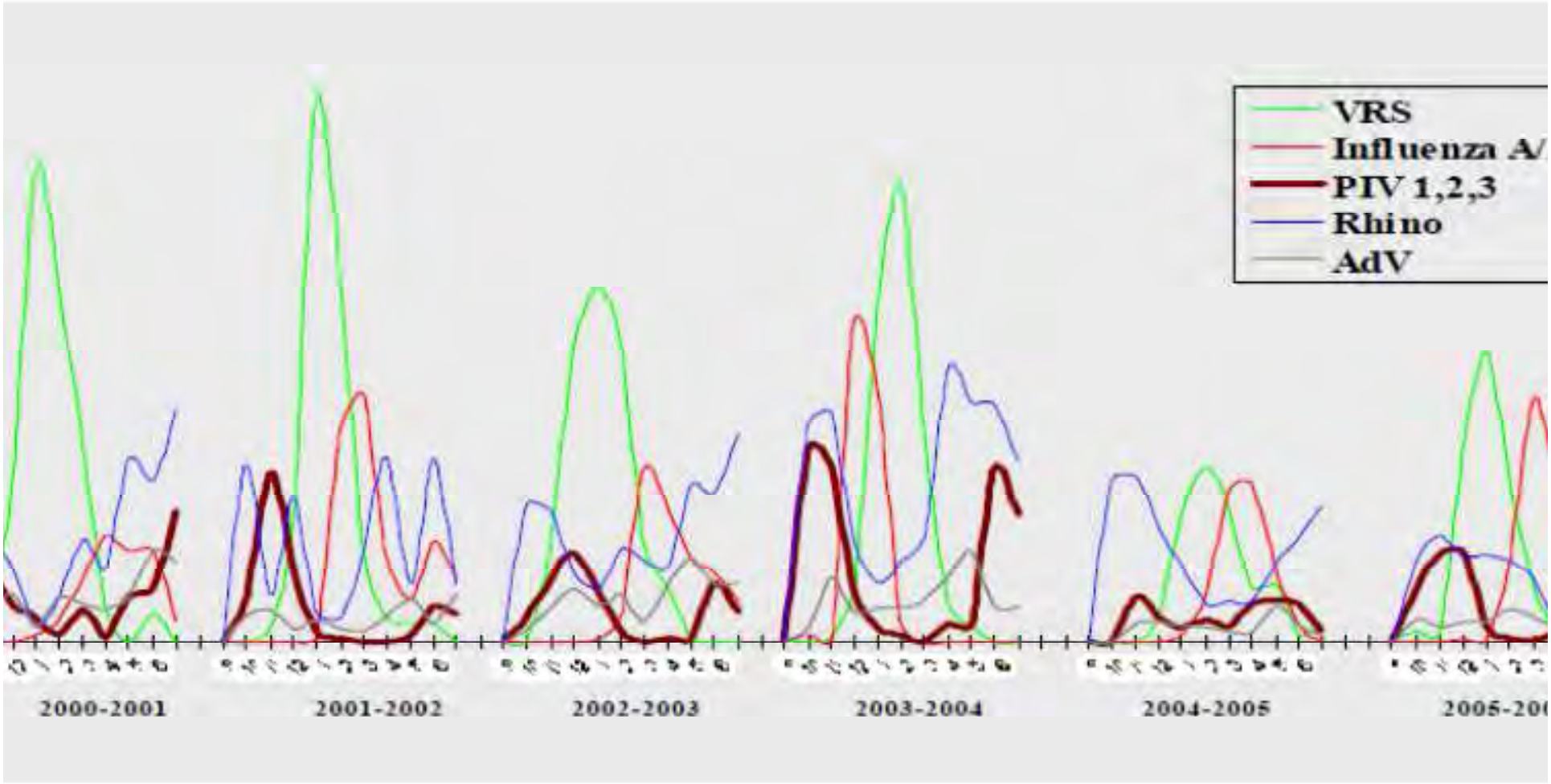
HPIV4

Rubulavirus

Agent viral

- Quatre types de virus : PIV-1, PIV-2, PIV-3, PIV-4
- ARN , négatif, non ségmenté
- 6 à 7 gènes
- Nucléocapside tubulaire à symétrie hélicoidale
- Enveloppe lipidique
  gp HN (attachement) et F (fusion)
- Réplication dans le cytoplasme

Epidémies à virus parainfluenza humains



Epidémiologie des infections à virus parainfluenza humains

- 40630 cas d'infections à virus parainfluenza aux USA. 1990-2004

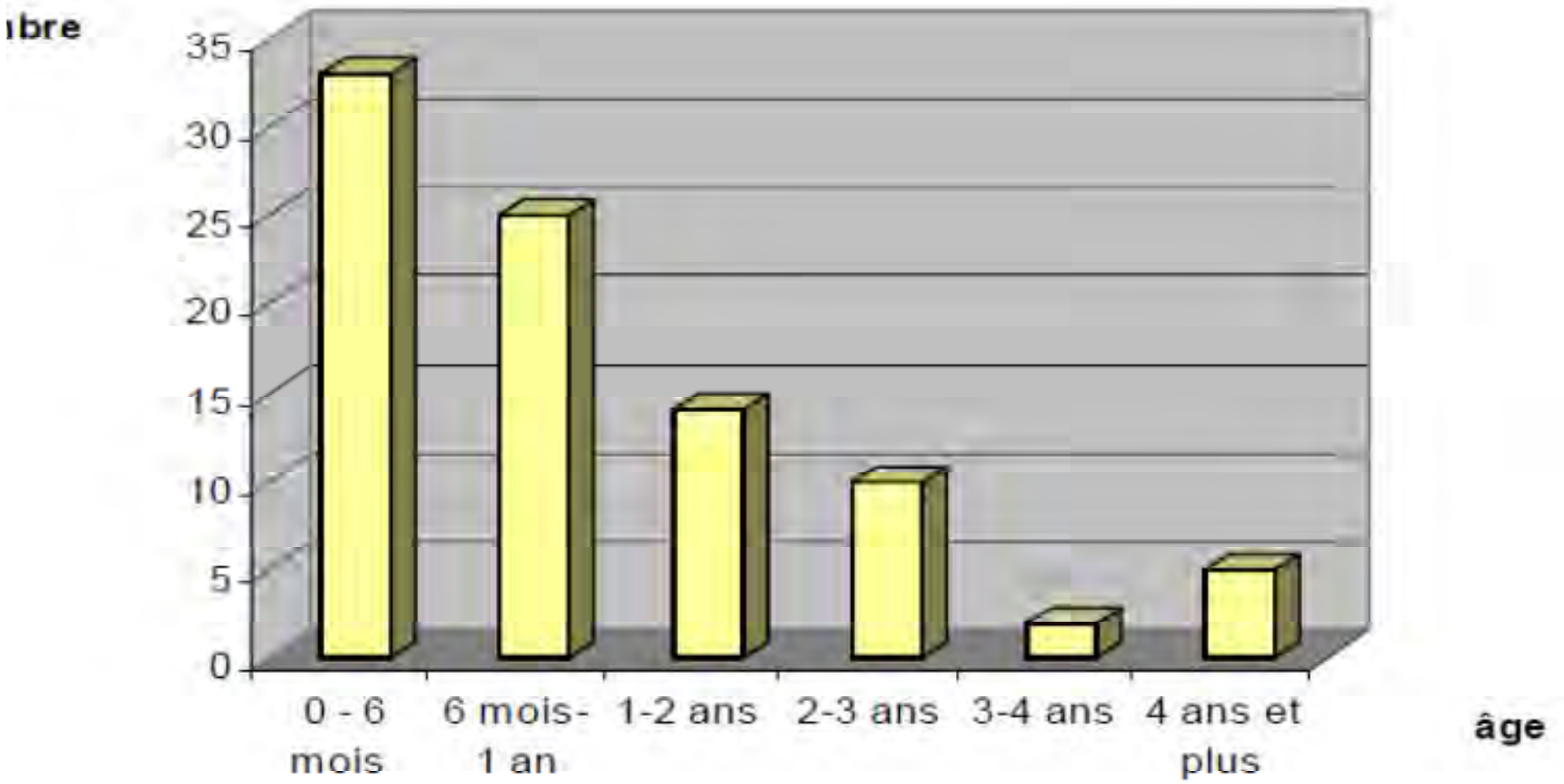
- Prévalence
  - HPIV3 : 52%
  - HPIV1 : 26%,
  - HPIV2 : 12%,
  - HPIV4 : 2%, non identifiés : 8%

- Répartition saisonnière
  - HPIV3 au printemps chaque année, avec un second pic en automne les années sans HPIV1
  - HPIV1, en automne tous les 2 ans, et les années impaires
  - HPIV2, en automne chaque année

Fry AM et al. Clin Infect Dis 2006

Age des infections à virus parainfluenza

*(2000/07 à 2003/08 **101 hPIV : 73 hPIV3, 13 hPIV1, 4 hPIV2**)*



Diagnostic des infections à VPI

1. Détection directe d'antigène

   méthode de choix pour le diagnostic

   - IF : images cytoplasmiques, granulaires, ou fibrillaires
   - réactifs IF disponibles :

     pour VPI1, VPI2, VPI3, : Argene, Biorad, Dako..

     pour VPI4 : Chemicon -
   - sensibilité et spécificité # 90%
   - Pas de test IE commercialisé

2. Sérologie : **inutile**

3. Isolement en culture

- surtout sur cellules simiennes : RS primaire, LLC-MK2,Vero...
- croissance plus difficile sur lignées humaines continues
  (HEp2, HeLa), mais la lignée NCI-H292 : Carcinome épidermoide pulmonaire, serait sensible +++

Castells E., Arch Virol 1990;115

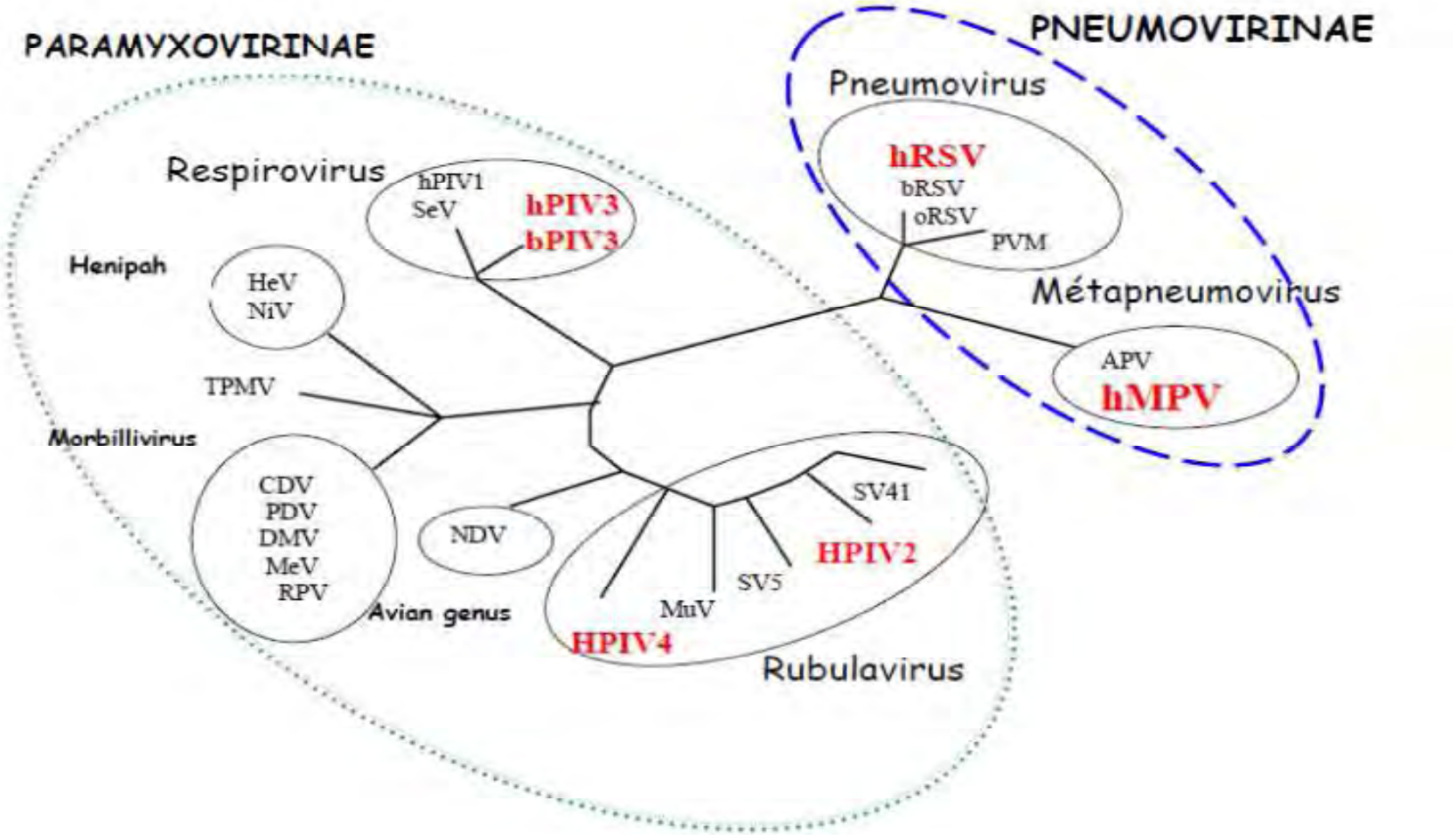
-ne cultive pas sur cellules MRC5

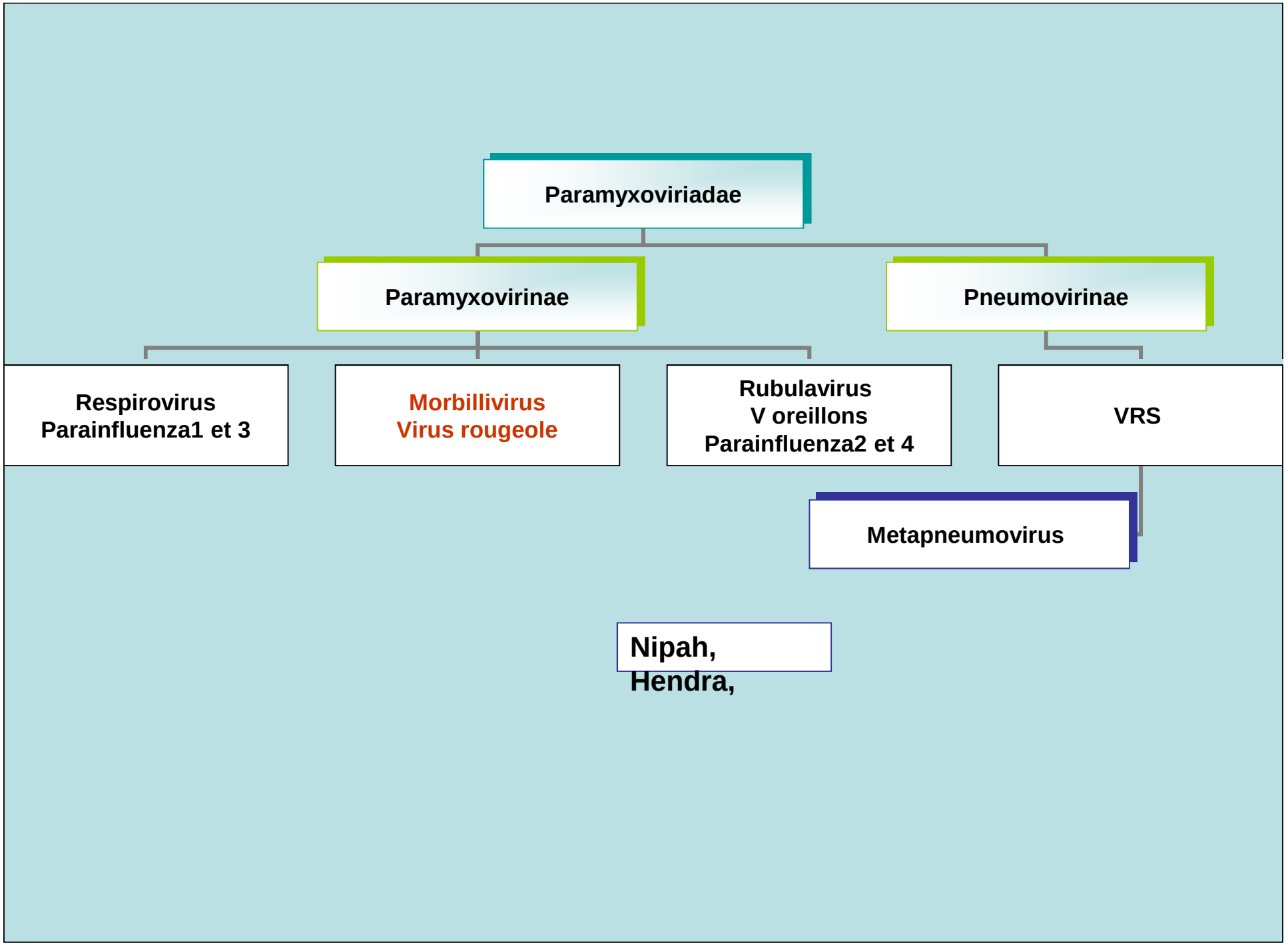
- ECP en 4 -10 j., peu typique : syncytium avec VPI2,
  petites cell. rondes et lyse modérée avec VPI1 et VPI3

-**hémadsorption** (poule, cobaye) à J5 et J10
  décelable avant l'apparition de l'ECP

Rougeole

Paramyxoviridae.




Paramyxoviriadae
Paramyxovirinae
Pneumovirinae
Respirovirus
Parainfluenza1 et 3
Morbillivirus
Virus rougeole
Rubulavirus
V oreillons
Parainfluenza2 et 4
VRS
Metapneumovirus
Nipah,
Hendra,

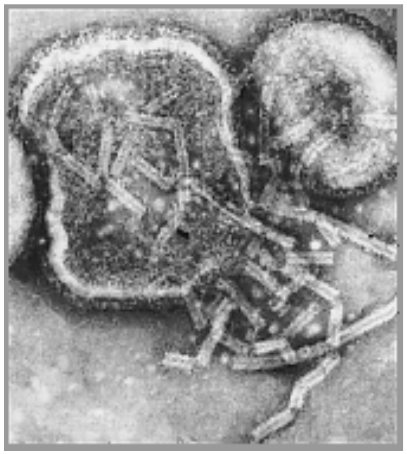
Virus de la rougeole

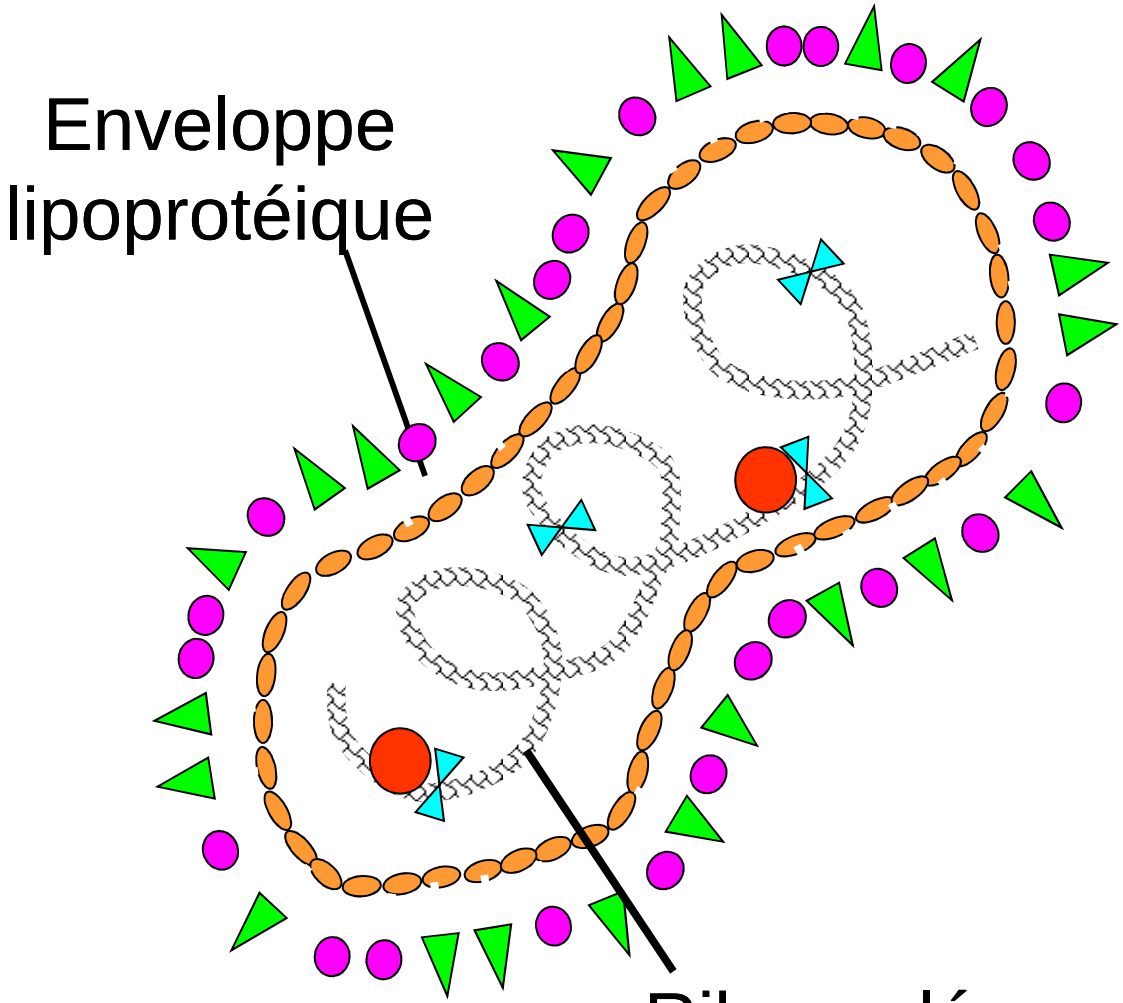
- Virus morbilleux, éruption morbilliforme
- Measles virus ,
- Famille des paramyxoviridae
- Morbillivirinae genre morbillivirus

Copyright © The McGraw-Hill Companies, Inc. Permission required for reproduction or display.

- Rinderpest: peste bovine; (ruminants,porcs)
- Distemper: maladie de Carré(canidés)

Virus de la rougeole

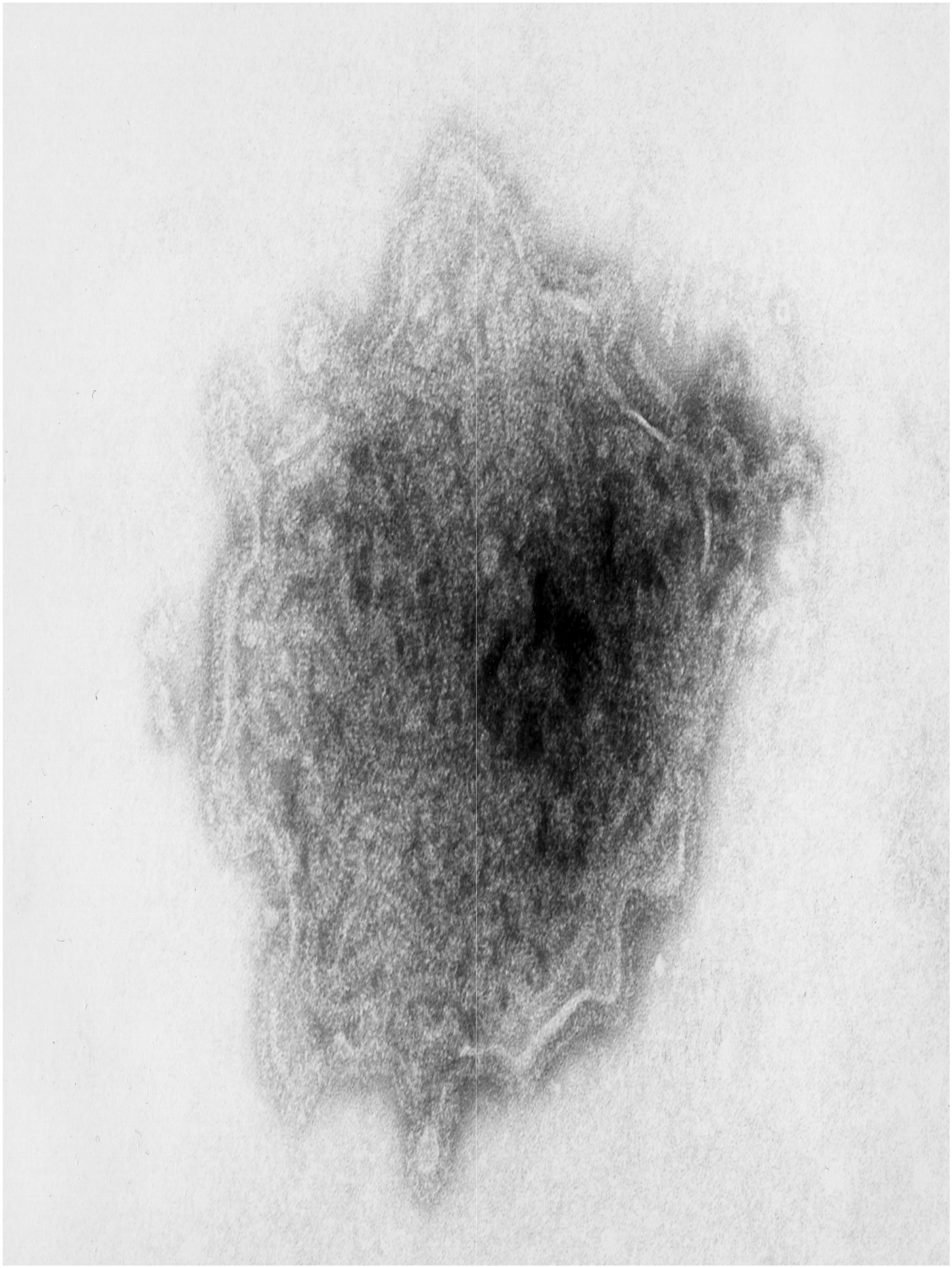




- Nucléocapside (N)
- Phosphoprotéine (P)
- Polymérase (L)
- Matrice (M)
- Fusion (F)
- Hémagglutinine (H)

100-300 nm

k



Classification génétique du virus de la rougeole

- Virus à ARN =15894 nucléotides
- Basée sur les 456 nucléotides de la partie C terminale du gène N
- 8 Clades A à H 21génotypes
- Un clade A un seul genotype Edmonston
- D1,D2,D3…..

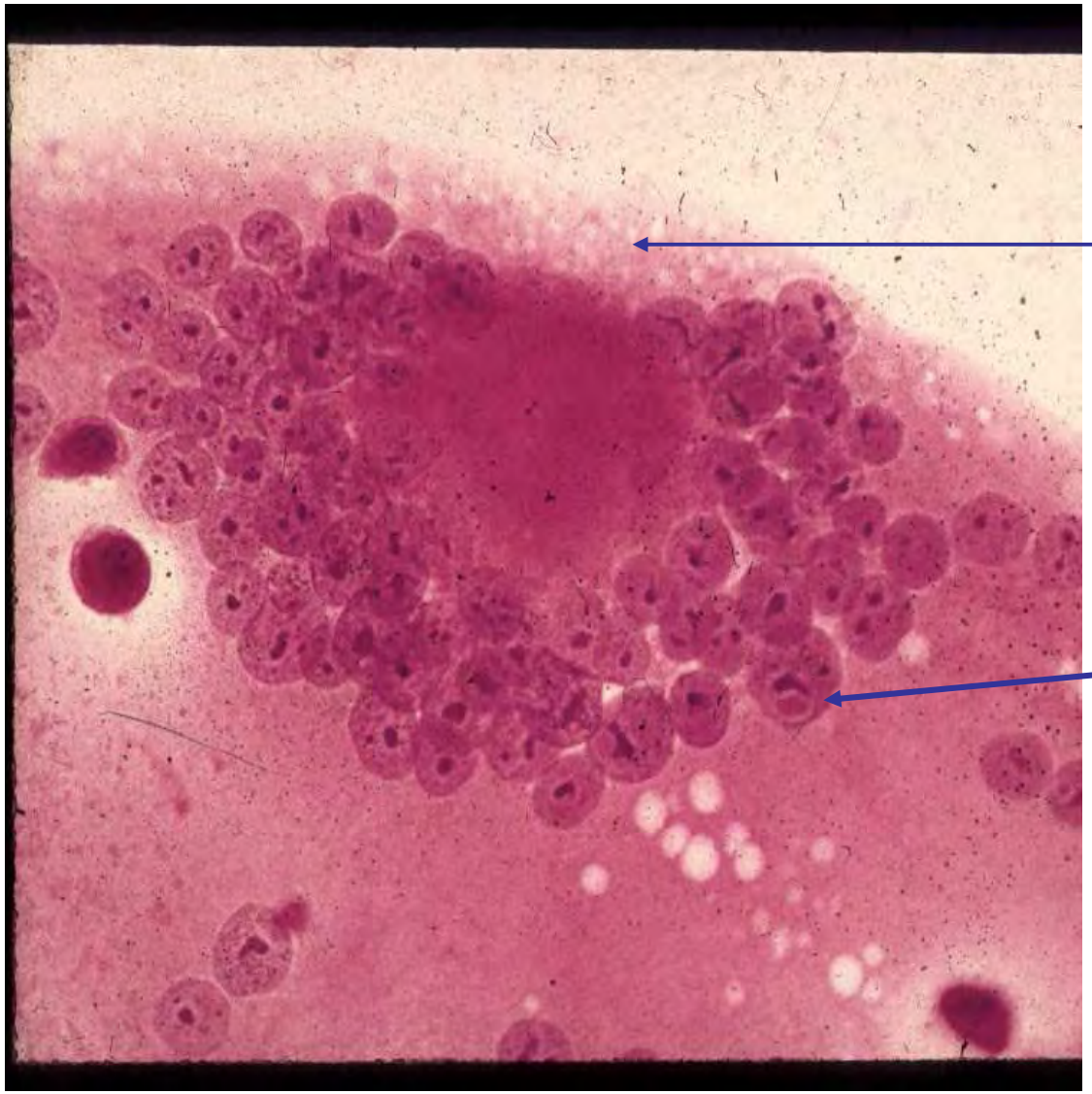
Génotypes suite

- Clade A USA Angleterre Vaccinale Edmonston
- Clade B 1,2 Afrique de centrale et occidentale
- Clade C 1,2 Europe Japon
- Clade D 2,4 Afrique Australe et orientale, D4 Inde
- Clade G 2,3 Indonésie
- Clade H Chine
- En 2005-6 D4D6B3, B2D5D8D9G2H1 Europe

  C2 D7 disparues d'Europe (Kremer JR2008)

Syncytium V. Rougeole

- .

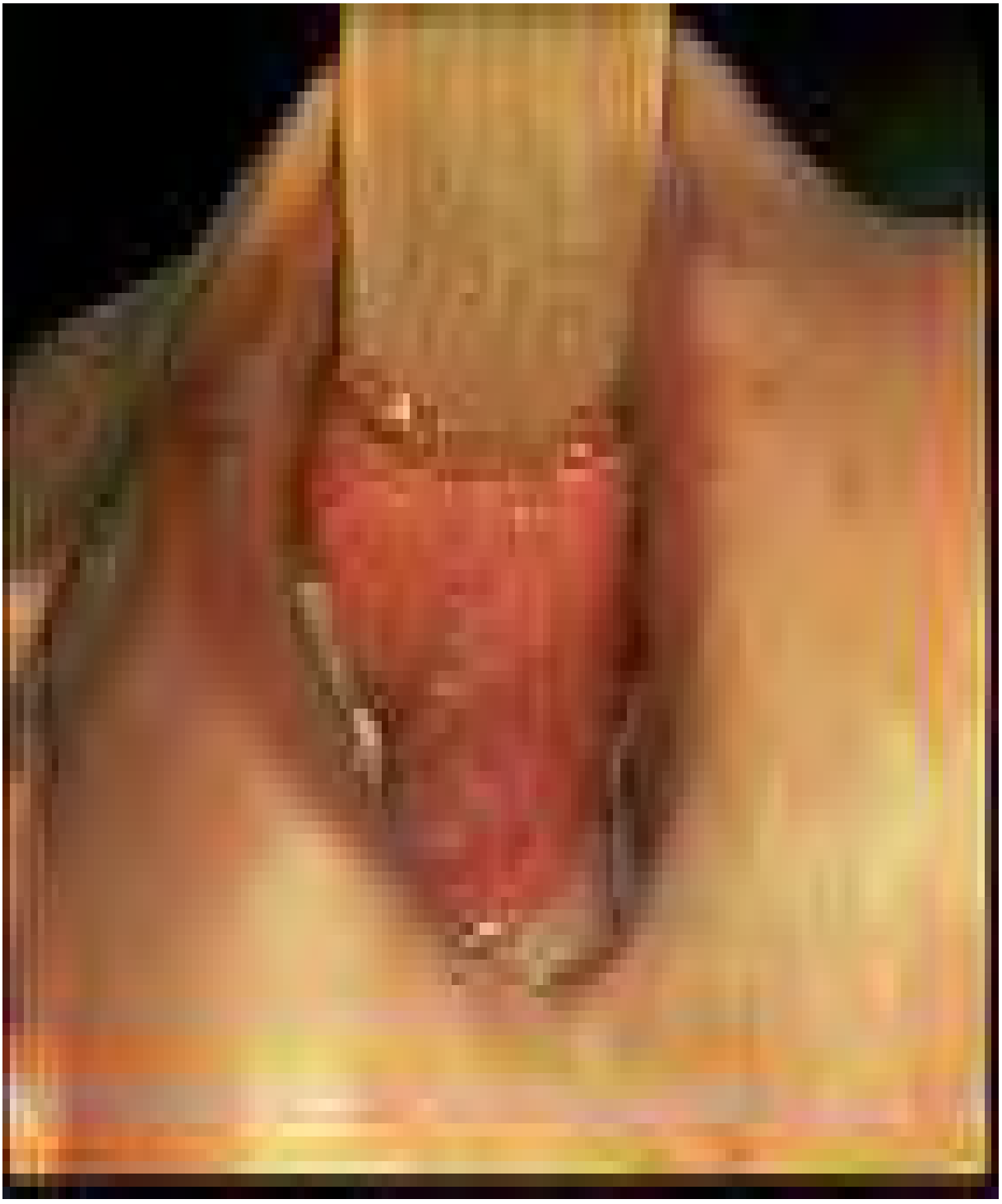


Clinique

- Incubation:10 jours

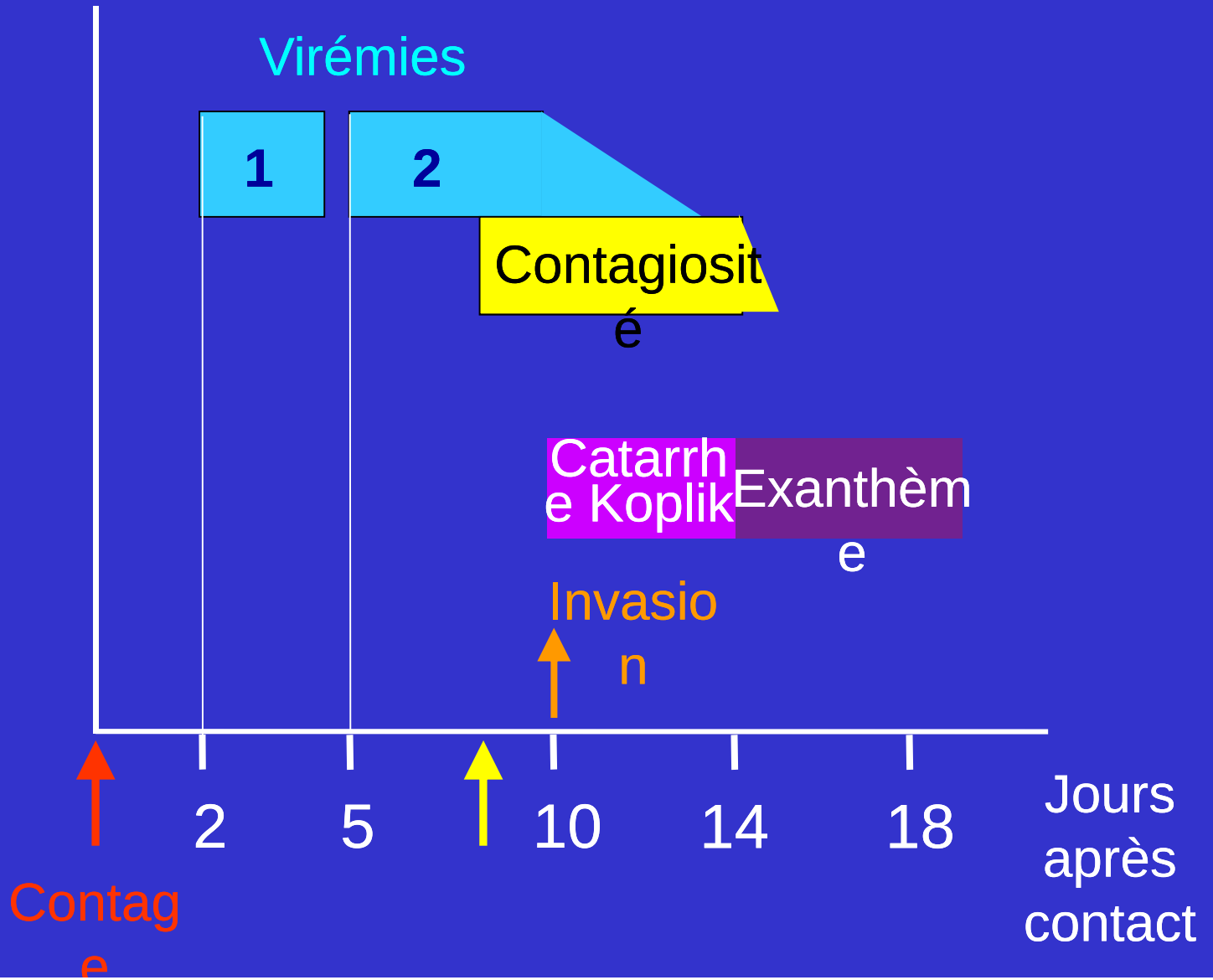
- Fièvre , catarrhe oculo-nasal, toux
- Enanthème =signe de Köplick
- Eruption maculeuse le 13ème jour= exanthème

- Guérison en 6 à 7 jours

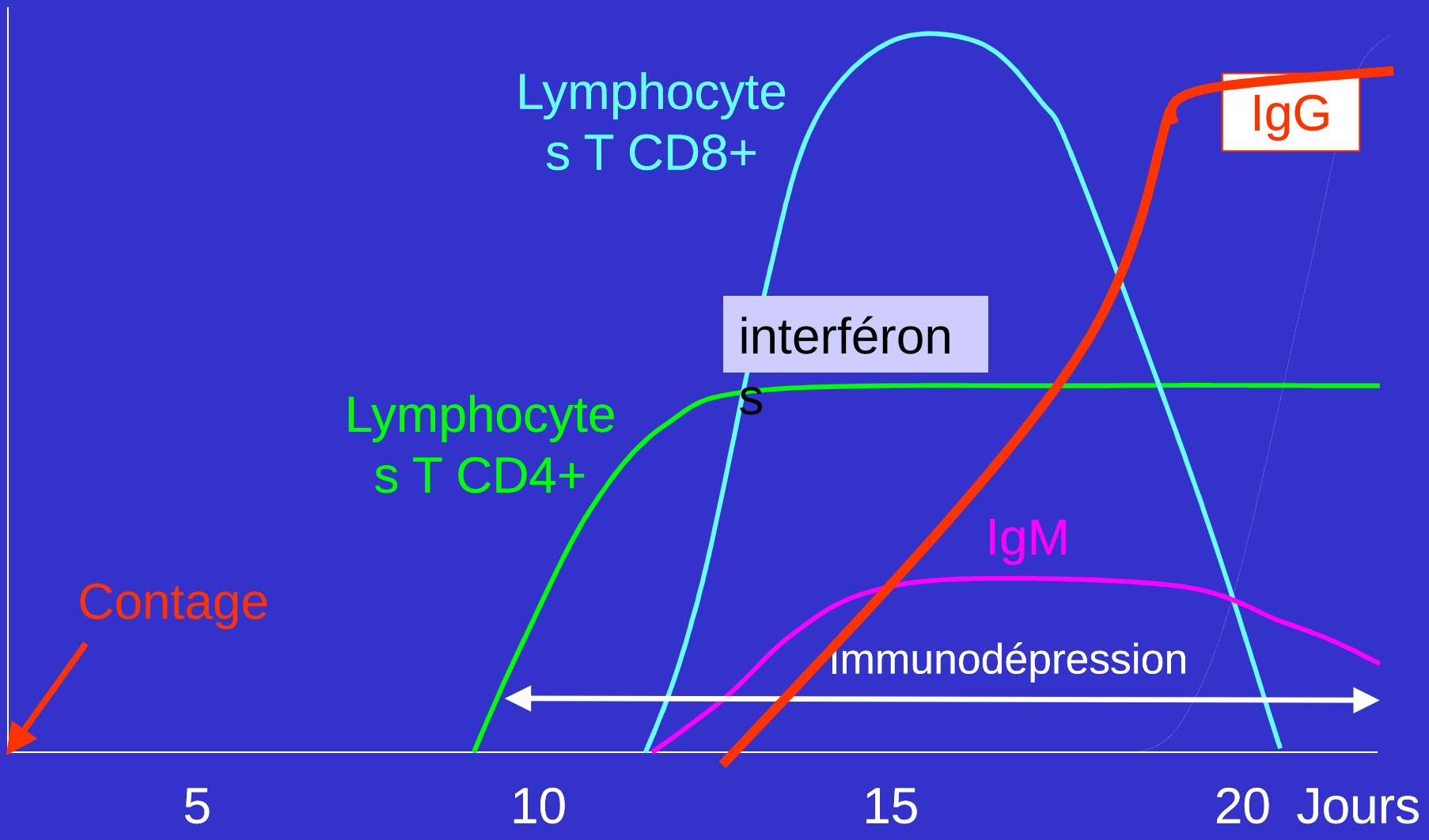


Rougeole

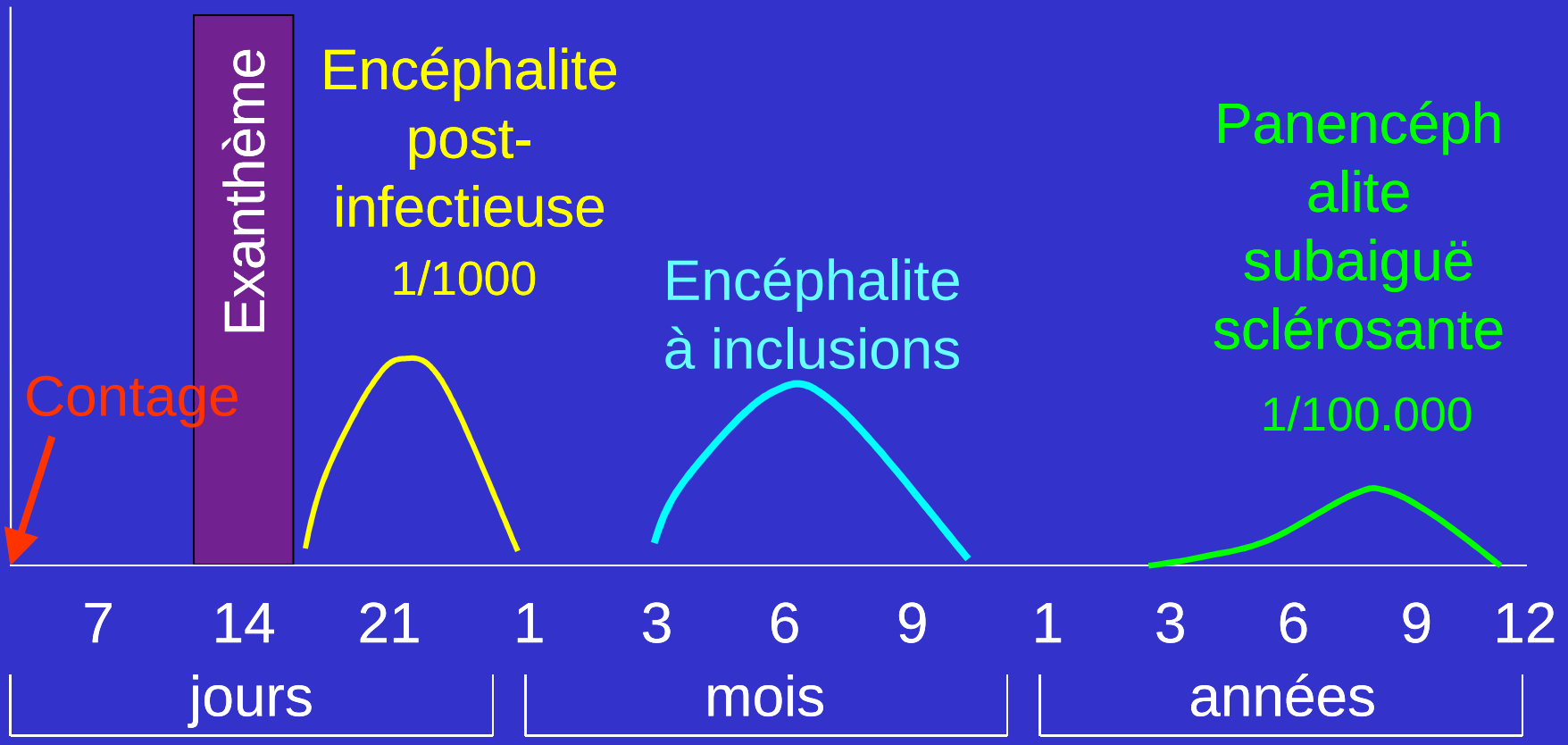
Rougeole : cinétique de l'infection



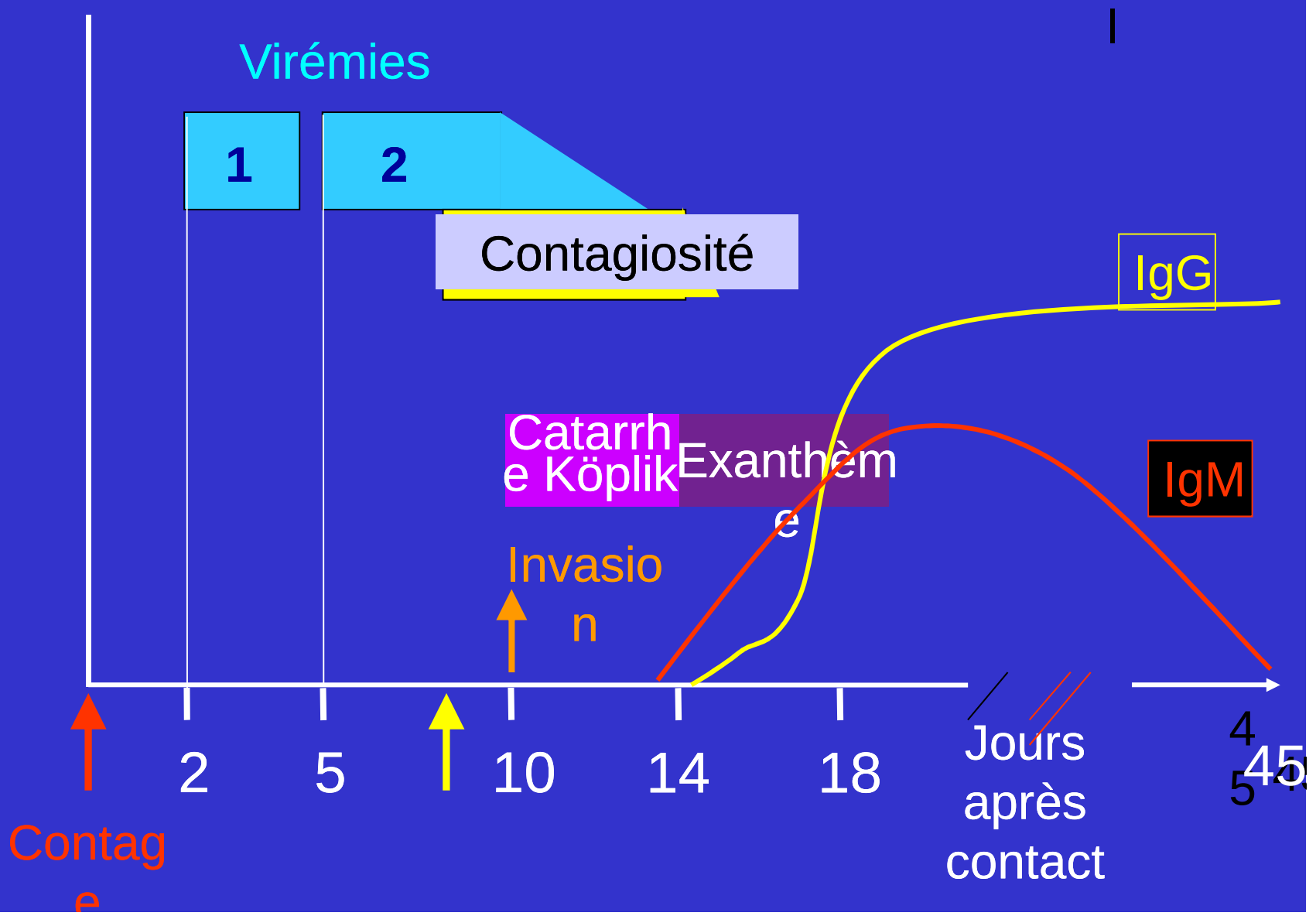
Rougeole : réponse immunitaire



Complications neurologiques de la rougeole



Rougeole : Diagnostic



Rougeole :Diagnostic(2)

- <u>Forme non compliquée</u>:
- Dès l'éruption sérologie IgM+ IgG+ (ELISA) (immunoadsorption)
- Ou ascension des IgG sur deux sérums

- <u>Forme de l'immunodéprimé</u>
- (éruption atypique ou absente:réponse immunitaire insuffisante) diagnostic direct : IF, rhino pharynx, LBA (ou culture ,PCR)
- culture isolt B95a, vero, vero-slam+

Rougeole diagnostic (3)

- Complications neurologiques :
- E. aigue post infectieuse (postéruptive): confirmation sérologique IgM sériques (IgM dans 50% des LCR)
- E. aigue à inclusions: (immunodéprimés) culture, PCR sur LCR
- PESS: sérologie: AC Ser/LCR ↘

Prévention

- Vaccination contage<3 jours après âge 9 mois
- Prévention en dehors du contage
- Vaccination à 12 mois et 6 six ans
- Contre indications

Efficacité du vaccin

- séroconversion 95-98% (à 15mois)
  85% à 8 mois
- Efficacité 93-98%

- Après deuxième dose = 97% immunité
- Taux moins élevé chez les HIV, porteurs chroniques, 10% des enfants
- Persistance ac 26-33ans

Eradication du virus

- Réservoir humain , récepteurs majeurs uniquement sur cellules de primates
- Peu de variations géniques des glycoprotéines
- Un seul sérotype, 22 génotypes de N
- Virus fragile

Oreillons

- Sous famille des paramyxovirinae
- Genre Rubulavirus (V des Oreillons , Parainfluenza II et IV, NDV, SV5)
- Transmission du virus au singe 1935 Johnson et Goodpasture
- Isolement sur œuf embryonné 1945 (Habel) sur cellules 1955 Henle G, Deinhardt F
- Virus original par son tropisme Glandes exocrines , méninges

Virus ourlien
(V des oreillons)

- Morphologie: pléiomorphique,
- aspect sphérique, forme filamenteuse
- Enveloppe: Spicules 12-15 nm
- Capside: symétrie hélicoïdale diamètre 17-18 nm

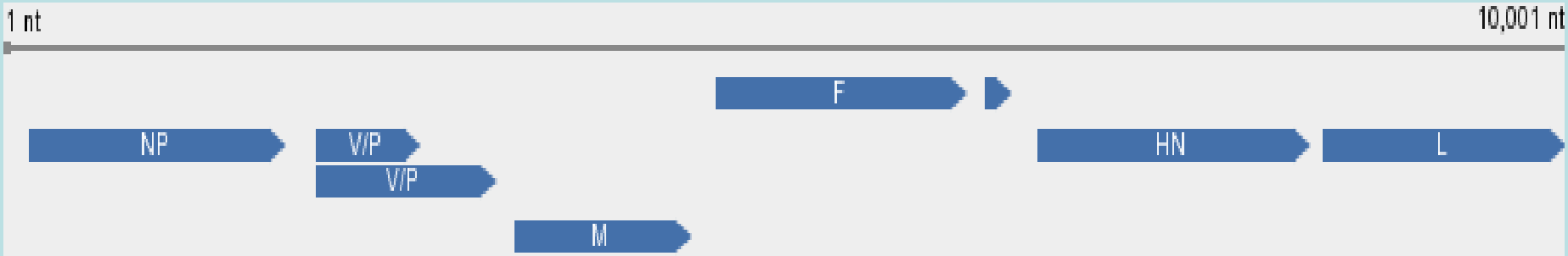
Acide nucléique, virus ourlien

- 3’ 5’

NP$_{61}$ P$_{41}$ M$_{42}$ F$_{58}$ SH$_{6,7}$ HN $_{74}$ L$_{250}$

V

Nucléoprotéine,phosphoprotéine,Matrice, fusion,Hemagglutinine,Polymerase



ARN non segmenté, simple brin 15000 nts; 7génes

Virus ourlien, propriétés

- Stabilité conservation :stable à 4 °C plusieurs semaines
- Inactivé à 60°C
- Inactivé par le formol, les solvants des lipides,UV, alcool >70 °C, hypochlorite 10°
- Culture : embryon de poulet,cavité allantoique, Cellules de première explantation Fibro de poulet,rein de singe humain
- Lignées cellulaires Hela, KB, HepII, Vero, BSC, rein humain
- ECP de type syncytial ou non

Oreillons:Transmission, physiopathologie

- Incubation 18-21 jours (15 – 24 jours)

- Par Salive , voie digestive et aérienne ,restreint aux humains, contact direct, salive contagieuse 7 j avant et 9j après le début (Ennis FA 1968)

Infection nasale et infection v resp sup ; virémie,

- Infection des glandes salivaires,
- Autres glandes exocrines pancréas,etc ,
- Atteintes des méninges
- Virus présents ,salive, urines, sang, LCR

clinique

- 1/3 de formes inapparentes,
- Inflammation des glandes salivaires, parotides 90% des formes symptomatiques , 10% sous maxillaires, sub linguales, rougeur du canal de stenon, Fièvre,malaises vomissements Nausés
- Pancréas :pancréatite 4% (amylasémie), thyroide
- Testicules, ovaire,seins: :Orchite de4 à 8 japrès ,ovarite,mastite
- Céphalées, nuque raide =méningite
- Myocardite,polyarthrite rares
- Pas d’ atteintes fœtales; transmission mère-enfant ?:

Mumps

Évolution

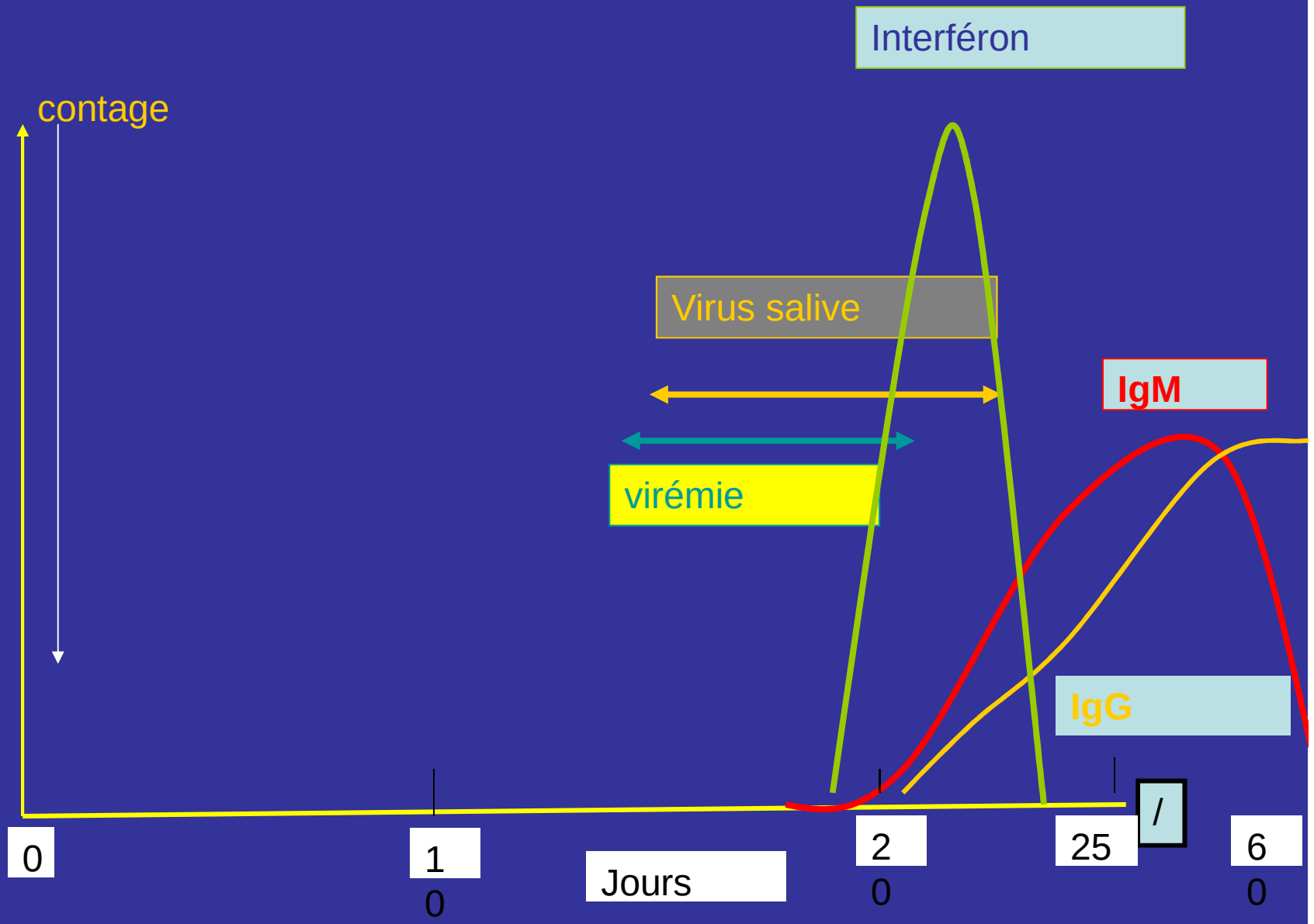
- Parotidite une semaine, atteinte bilatérale
  9 fois/10

- Orchite: douleur + parfois tardive; séquelles: atrophie testiculaire ,anomalies du spermogramme 25 %
  stérilité rare;

- Ovarite 5% douleur abdominale, mastite rare

- Méningite signes cliniques 2 à 3 jours mortalité <1% surdité +/- transitoire 4% adulte

Oreillons


Interféron
contage
Virus salive
IgM
virémie
IgG
0
10
Jours
20
25
/
60

Diagnostic, Méthodes

- **Methodes directes**:
- isolement Viral dans salive, LCR urines ,sang
- A -par culture cellulaire ECP en 5 à 10 jours type syncytial, méthode rapide par centrifugation 700g, 1heure à 20°C 2jours identification par immunofluorescence,
- B -Immunofluorescence, protéines virales et IP
-
- C -ARN viral par RT PCR

diagnostic

- **<u>Méthodes indirectes</u>**:

- IgM sériques, ELISA ,immunocapture et hémadsorption 7 éme-10éme jour ,
- Risque de négatifs si vaccination

- augmentation des IgG: ELISA , (IHA cobayes), IHe, FC

- Statut immunitaire : IgG Elisa,

- neutralisation ECP nécessite C 3

Vaccination

Vaccin atténué: souche Jeryl Lynn: (génotype A) 17passages sur œuf embryonné et sur cellules d'embryon de poulet

-efficacité 95% persistance des ac >12 ans (Weibl RE1988)

-Souche Urabe am9 plus méningotrope: 1 méningite /11000 vaccinations

-JL 22 nts différents dans 200 de HN de Urabe

Vaccination 2

- une injection Sc ou IM
  Fièvre, réaction locale,parotidite 0.5%

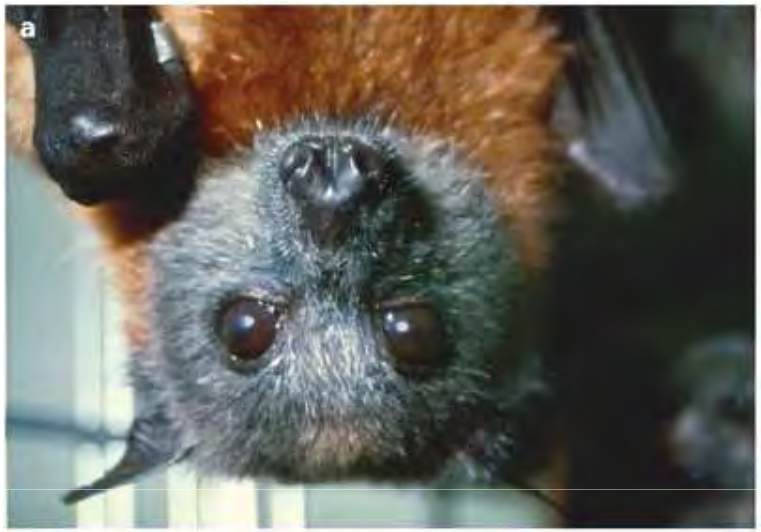
- Réponse plus de 90% des vaccinés association Rougeole, Rubéole

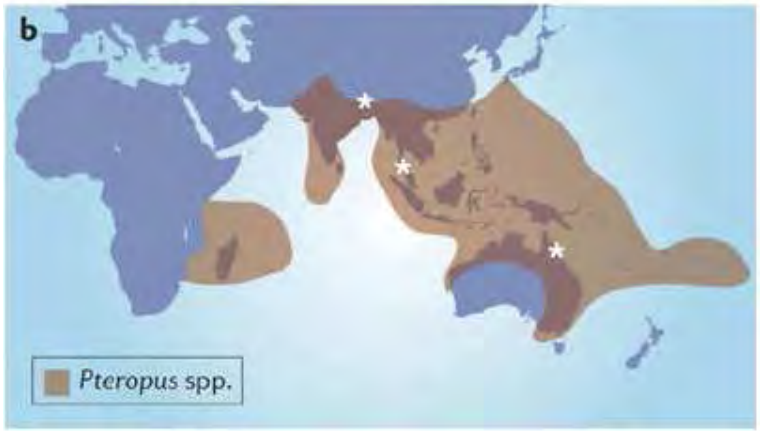
- Ac IgG et IgM: 15éme j -20éme

- contre indiquée chez la femme enceinte

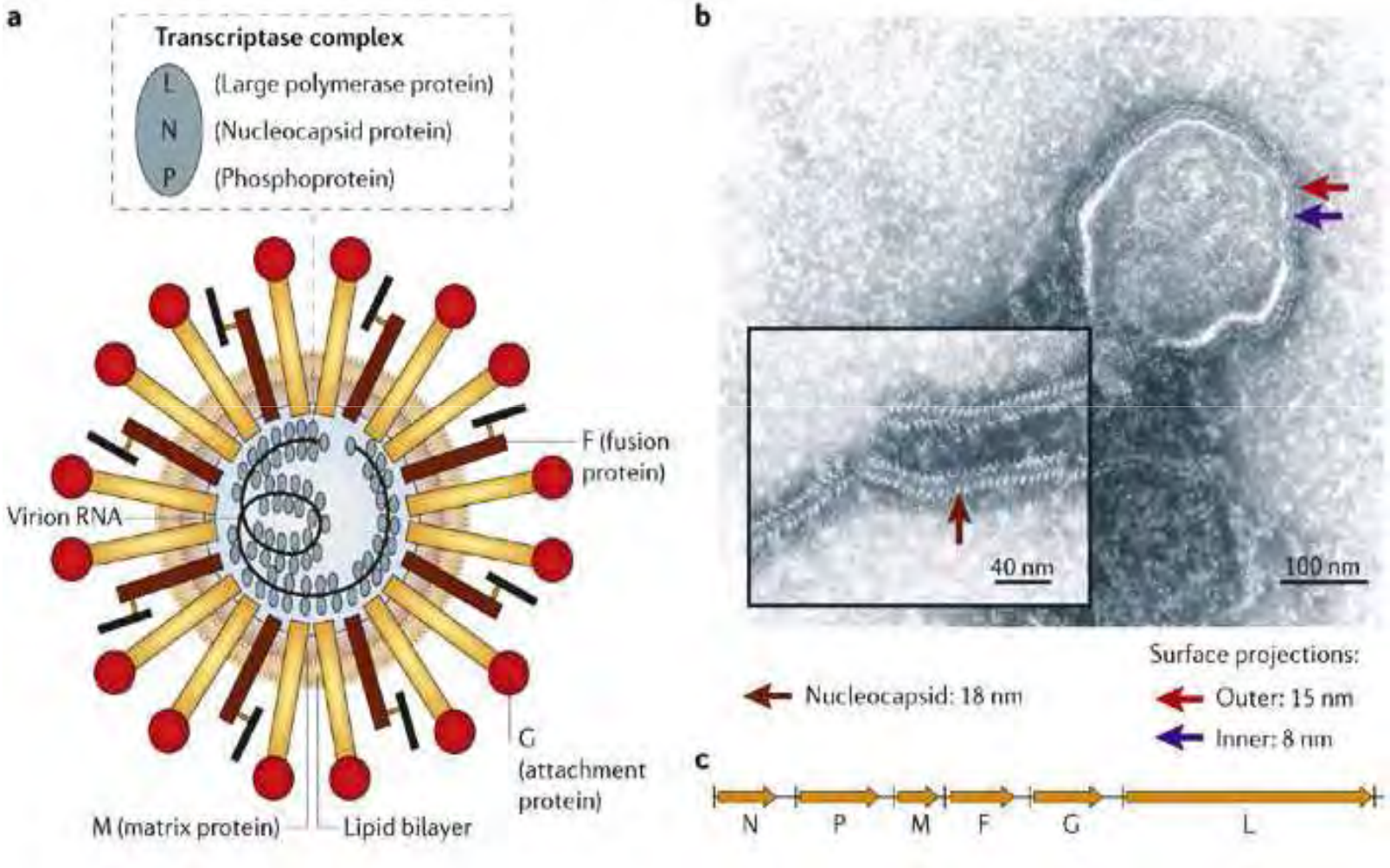
Henipaviruses

- Membres
  - Hendra virus (HeV; Australie)
  - Nipah virus (NiV; Asie)
- Paramyxovirus
  - Sous famile *Paramyxovirinae*
- virus des chauves souris
  - Genus *Pteropus* (flying foxes)
- Genome
  - ARN simple brin négatif
    - HeV - 18.2 nt
    - NiP - 27 nt
  - Six gènes
    - N - nucleocapsid
    - P - phosphoproteins
    - M - matrix protein
    - F - fusion protein
    - G - glycoprotein (mediates attachment)
    - L - Large polymerase





Henipaviruses



Henipaviruses

- Features
  - Paramyxovirus zoonotiques seulement
  - Infections
    - Chauves souris
    - Humains
    - Chevaux
    - Porcs
    - Chiens
    - Furets
    - Lions
    - Hamsters
  - 2004 Bangladesh outbreak: 75% létalité
  - Agents manipulés en P4 (BSL-4)

Henipaviruses

- Infections
  - Chauves souris - signes non apparents
  - Chevaux (HeV) et porcs (NiV)
    - Transmission respiratoires (contamination)
    - Manifestations neurologiques
  - Humans
    - Respiratory transmission (communicable)
    - Encéphalite aigue sévère
      - Manifestations dues au NiV peut apparaitre après 4 ans post infection
      - Relapse encephalitis

Orthomyxoviridae

Cours 03ème Année Clinique

2016-2017

Dr Derrar

PLAN

1. NOMENCLATURE

2. Structure et biologie des virus grippaux
- **2.1. Structure**
- **2.2. Cycle viral**

3. Variabilité des virus grippaux

4. Epidémiologie

5. Clinique

6. Diagnostic
- 6.1. Sérologie
- 6.2. Diagnostic direct

7. Traitement chez l'homme:
- **7.1. Etiologique**
- **7.2. Symptomatique:**

*8. Prophylaxie (***La vaccination)**

1. NOMENCLATURE

La famille des ***Orthomyxoviridae*** comprend les virus de la grippe humaine et des grippes animales. Il y a des virus apparentés comme le virus Dhori qui est un arbovirus.

La désignation officielle des souches a été définie PUIS ADOPT2E D2FINITIVEMENT EN 1980: **les sérotypes de H et de N** sont inclus **dans un système unitaire** , Il y a maintenant 16 sérotypes ou « types moléculaires » d'hémagglutinine et 9 de neuraminidase.

La famille des *Orthomyxoviridae* contient cinq genre *: Influenzavirus A* (qui correspond au virus grippaux de type A*), Influenzavirus B* (qui correspond au virus grippaux de type B), *Influenzavirus C* (qui correspond au virus grippaux de type C), *Isavirus* et *Thogotovirus*.

2. STRUCTURE ET BIOLOGIE DES VIRUS GRIPPAUX

2.1. Structure

Les virus de la grippe sont des virus à **ARN simple brin de polarité négative** c'est à dire que leur ARN n'est pas infectieux: sa séquence est complémentaire de la séquence qui code les protéines. Le génome de ces virus est **segmenté**. Il existe **trois types** de virus grippaux qui sont répartis en trois genres : les genres *Influenzavirus A, Influenzavirus B* et *Influenzavirus C* que l'on continue de baptiser types A, B et C dans le langage de tous les jours. Les virus A et B sont constitués de **huit segments d'ARN** alors que le virus C lui n'en comporte que sept. **Les virus grippaux sont enveloppés** ce qui les rend sensibles aux détergents et aux solvants des lipides.

La morphologie des virus est variable selon la façon dont ils sont produits. **Les virus A et B comportent deux types de glycoprotéines de surface**. La plus représentée est **l'hémagglutinine** (notée H). Il faut **trois molécules identiques**.
La neuraminidase (notée N) qui est l'autre protéine de surface est organisée en **homotétramère** dont la forme renflée à l'extrémité distale donne aux spicules une allure de champignon ou de parapluie. Ces protéines correspondent aux antigènes externes des virus grippaux.

L'enveloppe virale est constituée des spicules H et N, d'une **bicouche lipidique** et de la **protéine de matrice M1** qui sous-tend l'ensemble. Enchâssée dans la bicouche lipidique empruntée à la cellule lors de la sortie des virions néosynthétisés, **la protéine M2** joue le rôle d'un **canal à ions** dans le cas des virus de type A. Cette protéine est importante pour le bon déroulement du phénomène de fusion et surtout de "démantèlement" de la couche protéique M1 qui est nécessaire à l'entrée complète des nucléocapsides des virus dans les cellules cibles. Une protéine appelée **NB** s'insère dans la bicouche lipidique des virus de type B et sa fonction serait équivalente à celle de la protéine M2 des virus A. Une protéine **CM2** serait également l'homologue, pour les virus de grippe C, de la protéine M2 des virus de type A.

A l'intérieur de la particule virale, **huit ou sept nucléocapsides** de **symétrie hélicoïdale** résultent, chacune, de l'association d'une molécule d'ARN et de nombreuses molécules de **nucléoprotéine ou**

NP. Cette protéine fait partie des antigènes internes et c'est elle qui détermine le type viral A, B ou C dans les réactions sérologiques comme la fixation du complément.

Trois polymérases appelées PA (protéine acide), PB1 (protéine basique 1) et PB2 (protéine basique 2) forment le **complexe réplicase/transcriptase** et sont associées aux nucléocapsides.

Le segment n°8 (pour les virus des grippes A et B) codent deux protéines nommées **ns1 et ns2.**

Tableau + schéma du virus

2.2. Cycle viral:

Le cycle viral débute par **l'attachement du virus** à la surface de la membrane plasmique. Les structures qui jouent le rôle de récepteurs pour les virus grippaux sont des sialoglycolipides ou gangliosides ou des sialoglycoprotéines. **Ce qui est reconnu, c'est l'acide sialique terminal. C'est l'hémagglutinine qui est responsable de l'attachement viral**.

Après l'attachement, la **particule virale est endocytée**. A mesure de la fusion de lysosomes avec la vésicule d'endocytose le pH du contenu s'abaisse.
Lorsque le pH est suffisamment acide (généralement autour de 5.0 ou 5.1), l'hémagglutinine subit un changement de conformation qui peut ainsi rendre possible la fusion entre la membrane endosomale cellulaire et la bicouche lipidique virale. L'entrée du virus est achevée lorsque les nucléocapsides sont relâchées dans le cytoplasme cellulaire. L'inhibition de l'entrée du virus est possible à différents niveaux grâce aux anticorps ou à des substances chimiques.

Une des particularités des virus grippaux parmi les virus à ARN est que **les trois types d'ARN spécifiques du virus** (ARN messager, ARN antigénomique et ARN viral ou génomique) **sont tous synthétisés dans le noyau**.

La transcription primaire du génome en ARNm est catalysée par les **complexes transcriptase/réplicase** emportés par les virions. La réplication du génome ne commence que lorsque les premières synthèses de protéines virales ont eu lieu. **La synthèse des ARNm viraux est amorcée par des fragments d'environ 10 à 13 nucléotides, coiffés empruntés aux ARN pré-messagers cellulaires** et se termine en amont de l'extrémité de l'ARN sur la séquence de 5 à 7 uridines qui servent à la synthèse de la **queue de poly-A synthétisée par bégaiement de la synthèse au niveau de ces résidus**. **Les ARNm sont** donc **des copies incomplètes**.

La traduction se déroule dans le cytoplasme où sont synthétisées les protéines virales. Celles qui subissent des glycosylations comme l'hémagglutinine et la neuraminidase passent dans le réticulum endoplasmique puis par l'appareil de Golgi et le trans-Golgi. C'est ainsi que les glycoprotéines

grippales, enchâssées dans la bicouche lipidique arrivent à la surface cellulaire. Les autres protéines virales arrivent sous la membrane plasmique cellulaire par simple diffusion. les virions se forment par bourgeonnement à la surface de la membrane plasmique.

3 . LA VARIABILITÉ DES VIRUS GRIPPAUX

• **Les cassures (shifts)** sont des changements radicaux de la structure des antigènes de surface (principalement l'hémagglutinine). En fait, le nouveau virus peut être totalement différent du précédent en ce qui concerne les antigènes d'enveloppe. Les cassures antigéniques résultent de **réassortiments du matériel génétique** de virus de sous-types différents qui aboutissent, notamment, au remplacement d'un type d'hémagglutinine par un autre. Cependant, l'antigène nucléoprotéique est conservé et il s'agit toujours d'un virus de **type A**
L'immunité préexistante à ce changement est bien entendu sans effet sur le nouveau virus et c'est à cette occasion que surviennent les pandémies.

• **Les glissements (drifts)** sont des variations **plus discrètes**, **continues** qui n'amènent pas de bouleversement de l'antigène et qui permettent donc de conserver une immunité partielle, au moins à court terme. Les souches nouvelles sont **dominantes** par rapport aux précédentes, c'est-à-dire qu'elles protègent mieux contre celles-ci que les anciennes contre les nouvelles.
Ces phénomènes sont **suivis grâce à la surveillance mondiale** et les informations recueillies sont **utilisées pour la mise au point des vaccins**.
Les glissements antigéniques sont dus aux mutations qui se produisent à **un taux élevé** au moment de la synthèse des ARN viraux.

4. Epidémiologie

Les trois types de grippe ont une importance très inégale : le virus A provoque des maladies graves (**surtout le sous-type A(H3N2)**), trop souvent mortelles chez les **personnes à risques** (personnes âgées de plus de 65 ans notamment), le virus B est en général plus bénin et a une tendance moins marquée à provoquer des épidémies, le virus C est responsable seulement de cas sporadiques.

Le virus A se manifeste sous forme de **pandémies**, d'**épidémies** ou de **cas sporadiques**, avec une "localisation" **saisonnière** très marquée.
Les principaux caractères épidémiologiques de ce virus sont son **haut pouvoir de diffusion**, qui entraîne des **taux de morbidité élevés**, une **mortalité non négligeable**, notamment dans les groupes d'âge les plus avancés, et l'apparition, après la maladie, d'une **immunité solide (contre le même virus)**.
Mais le comportement du virus est surtout marqué par la propriété qu'il présente de pouvoir varier au niveau de ses caractères antigéniques.

5. Clinique chez l'homme :

Le diagnostic clinique de la grippe repose en grande partie sur **la connaissance de la situation épidémiologique**.

5.1. Le tableau clinique classique

Il existe tous les intermédiaires entre le simple rhume et la grippe maligne qui entraîne le décès en quelques jours.
La grippe débute **brutalement** et une de ses caractéristiques est que, contrairement aux autres infections respiratoires virales aiguës, **les symptômes généraux précèdent les symptômes locaux**. Ainsi le début de la maladie après une courte incubation de 1 à 2 jours seulement se caractérise par une fièvre souvent intense qui atteint quelquefois 40°C accompagnée de myalgies, arthralgies, céphalées avec des malaises. Rapidement, l'atteinte respiratoire se manifeste (le plus souvent) comme une pharyngite accompagnée dans de nombreux cas d'une conjonctivite.
Depuis le pharynx, l'infection grippale gagne de proche en proche l'appareil respiratoire plus profond. Pendant ce temps la fièvre après s'être maintenue élevée baisse transitoirement vers le quatrième jour pour remonter entre le cinquième et le sixième jour pour ensuite diminuer définitivement.
La courbe de température dessine ainsi ce que l'on appelle **le V grippal**. A mesure que l'infection avance les symptômes respiratoires prennent le pas sur les symptômes généraux.

5.2. Les cas de grippe maligne

Rare, cette forme clinique dépend très certainement en grande partie de la virulence de la souche virale. Elle sévit **surtout lors des pandémies**. Elle aboutit à une **insuffisance respiratoire aiguë et mortelle** en quelques jours. L'infection grippale provoque un œdème aigu, massif, diffus et irréversible.

5.3. Les complications de la grippe

Il y a, dans le cas de certaines personnes qui souffrent d'affections préexistantes touchant le coeur, les poumons ou les reins, des complications non infectieuses qui résultent de l'infection grippale. Lors de l'infection grippale, des troubles mineurs sont causés à ces organes et l'équilibre fragile qui existait est rompu**. La grippe n'est qu'un facteur déclenchant de la rupture de cet équilibre**.

Les **surinfections bactériennes** sont **très fréquentes** après une grippe. Elles n'entraînent pas toutes des pathologies sévères. Les germes les plus souvent responsables sont les staphylocoques, les streptocoques, les pneumocoques et *Haemophilus influenzae.*

6. Diagnostic :

Le diagnostic de certitude de l'infection grippale repose sur les **examens de laboratoire**. Ces derniers se font surtout dans les laboratoires de virologie des hôpitaux et dans le cadre de la surveillance épidémiologique.

6.1. Sérologie

Les examens sérologiques ne sont **pas d'un grand intérêt pour le diagnostic individuel** car ils sont surtout **rétrospectifs**. Les réactions employées sont la Réaction de Fixation du Complément (RFC) qui permet de diagnostiquer une grippe et de déterminer le type viral en cause A, B ou C,

la Réaction d'Inhibition d'Hémagglutination (IHA) qui permet de déterminer le type, le sous-type et le variant
du virus grippal.
Les réactions immuno-enzymatiques sont les plus utilisées (ELISA) au sein des examens sérologiques.

6.2. Diagnostic direct :

Parmi les méthodes les plus sensibles est l'isolement du virus sur culture cellulaire puis sa détection par agglutination et son identification complète par IHA.
Certaines techniques de détection du génome telle que la RT-PCR sont aussi, sinon plus sensibles.
Il est toujours préférable de faire une détection directe des **antigènes grippaux**. Celle-ci permet de fournir une réponse rapide au médecin-préleveur et revêt un véritable intérêt pour le patient et son entourage.
Il y a deux méthodes de mise en évidence directe des antigènes grippaux: la méthode immunoenzymatique dite ELISA et la méthode par immunofluorescence.

Les techniques de biologie moléculaire permettent le typage et sous-typage des virus grippaux. Le séquençage peut également être effectué (surveillance et recherche)

7. Traitement :

7.1. Etiologique

Il repose d'une part sur l'utilisation d'antiviraux efficaces, l'**amantadine** et la **rimantadine**, mais dont l'usage est difficile en thérapeutique. Ces antiviraux agissent, aux concentrations pharmacologiques, **sur la protéine M2** ce qui explique **qu'ils ne sont actifs que sur les virus grippaux appartenant au type A**.

Le traitement étiologique repose d'autre part sur une nouvelle classe d'inhibiteurs, les **inhibiteurs de la neuraminidase**, qui n'ont pas encore trouvé leur place dans l'arsenal thérapeutique contre la grippe saisonnière, l'**oseltamivir** (Tamiflu®) et le **zanamivir** (Relenza®*).*
Ces deux molécules inhibitrices de la neuraminidase virale sont actives sur les virus des grippes A et B.

7.2. Symptomatique:

Le traitement de la grippe saisonnière est, donc toujours, essentiellement symptomatique et repose sur les antipyrétiques tels que l'aspirine et le paracétamol.
Parmi les autres classes de médicaments utilisés lors de grippe, il y a les antitussifs. Il faut prescrire des antibiotiques mais seulement quand la surinfection est établie et pas avant en prévention.
Dans le cas de grippe sévère ou maligne, il convient de lutter contre l'œdème pulmonaire, l'hypoxie et l'insuffisance circulatoire.

8. Prophylaxie (Vaccination)

Il y a deux types de vaccin en Algérie ; les **vaccins fragmentés** et les **vaccins sous-unitaires**. Dans les deux cas, ils sont constitués de **virus inactivé**. Aujourd'hui, le degré de pureté des vaccins est si grand que les réactions allergiques à des constituants indésirables sont devenues extrêmement rares.
Les contre-indications, si elles existent, sont limitées alors que la protection par la vaccination est **très fortement recommandée aux personnes à risques**.
Il existe des vaccins adjuvés.
La protection induite par le vaccin actuel qui s'administre en une seule injection, intramusculaire de préférence, apparaît entre 12 et 15 jours après l'injection. Ce sont les anticorps dirigés principalement contre l'hémagglutinine qui nous protègent de l'infection. Leur taux diminuerait fortement après 8 à 9 mois chez les personnes très âgées et pourrait alors descendre au-dessous du taux protecteur.

Comme la période recommandée de vaccination en Algérie se situe en octobre, la décroissance des anticorps sériques vaccinaux ne se produirait qu'en juin ou juillet chez ces personnes.
Le vaccin permet chaque année de réduire très fortement les complications de la grippe avec ses cortèges d'hospitalisations et par voie de conséquence le nombre de décès dus à cette pathologie.

Le **vaccin anti-grippal humain** contient, actuellement, **trois souches** de virus grippaux: une souche de **virus A(H1N1)**, une souche de **virus A(H3N2)** et une souche de **virus B** (les trois types ou sous-types aujourd'hui en circulation chez l'homme).