FACULTE DE MEDECINE D'ALGER

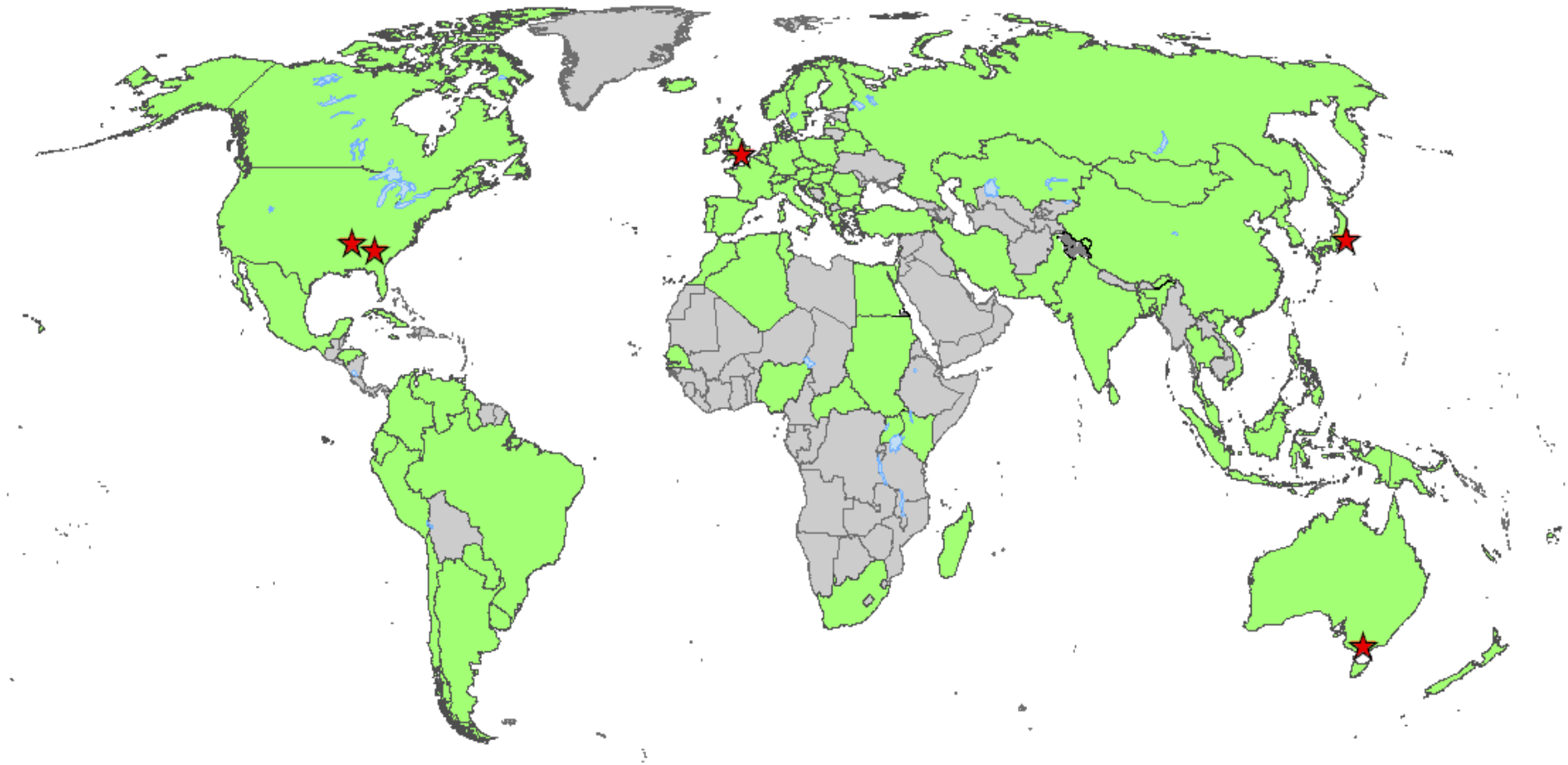
Orthomyxoviridae

Microbiologie
Département de Virologie
Institut Pasteur d'Algérie

Cours de graduation 3ème année
Année universitaire 2022-2023

Dr DERRAR Fawzi
Dr BENSALEM Aicha

WHO Global Influenza Surveillance Network



★ WHO Collaborating Centers on Influenza

Country that has designated National Influenza Center(s)

Data Source: GIP
Map Production:
Public Health Mapping and GIS
Communicable Diseases (CDS)
World Health Organization

© WHO 2006. All rights reserved

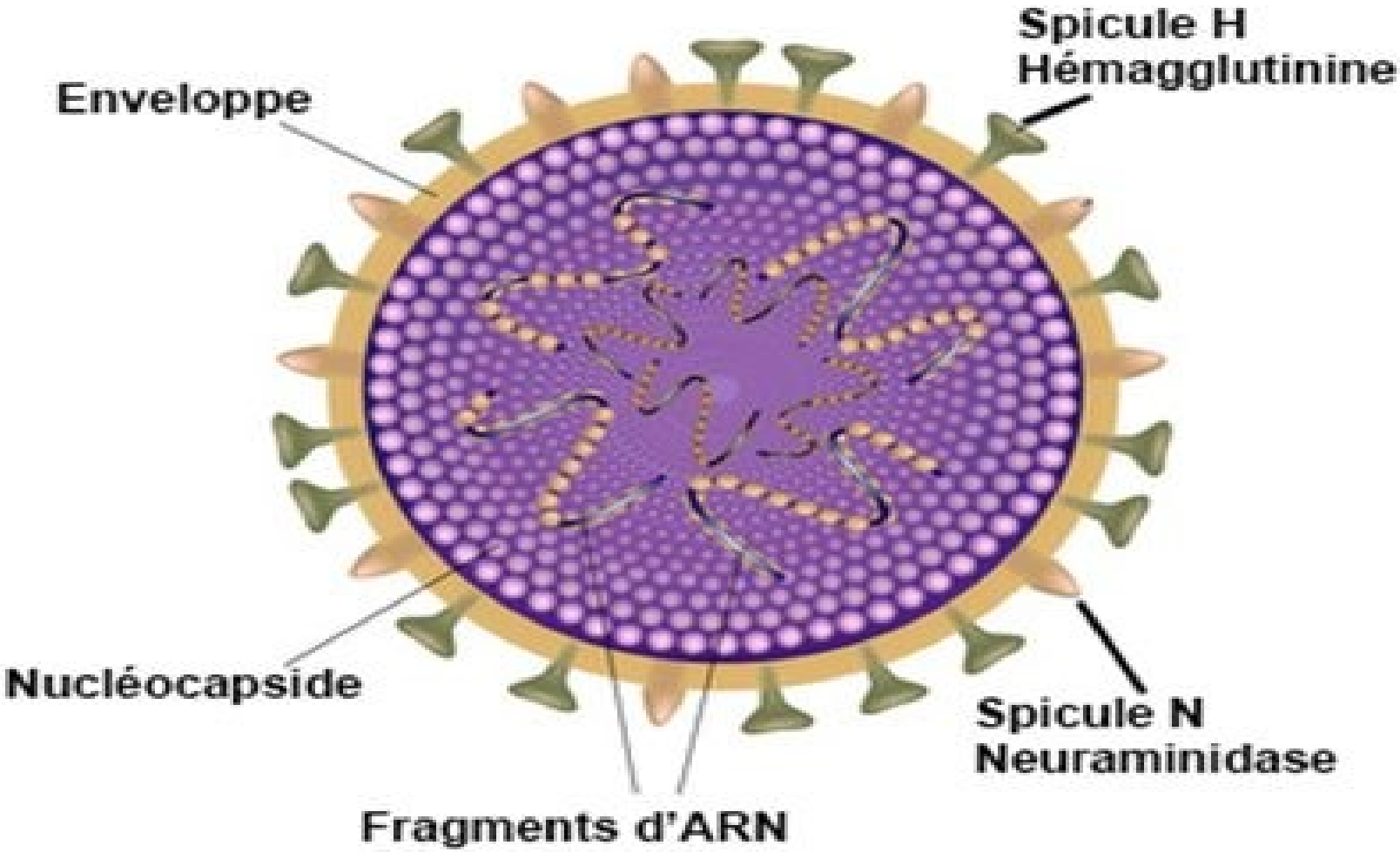
World Health Organization

The boundaries and names shown and the designations used on this map do not imply the expression of any opinion whatsoever on the part of the World Health Organization concerning the legal status of any country, territory, city or area or of its authorities, or concerning the delimitation of its frontiers or boundaries. Dotted lines on maps represent approximate border lines for which there may not yet be full agreement.

Généralités

- Il existe la grippe humaine et des grippes animales, les virus sont en progression avec des variations constantes.
- Famille des Orthomyxoviridae : Myxa = mucus
  - Genre Influenzavirus
- Types : A, B et C
- Structure du virus :
  - Forme sphérique ou ovalaire de 80 à 120 nm diamètre
  - Enveloppe, hérissée de spicules : neuraminidase et hémaglutinine
  - Une nucléocapside à symétrie hélicoïdale
  - Génome : ARN segmenté (8 segments d'ARN , 7 pour le type C)

Virus de la grippe



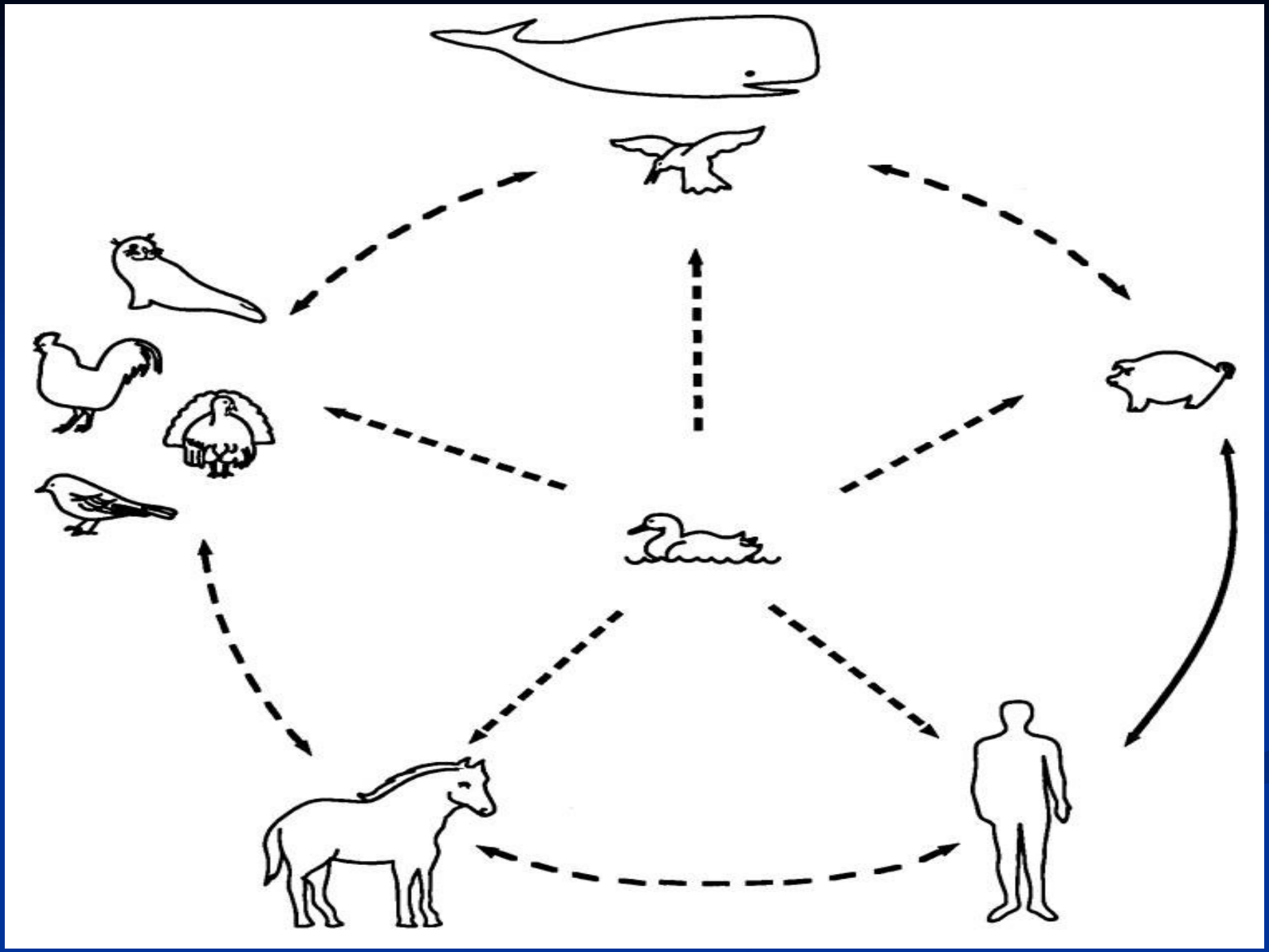
Les réservoirs des virus de la grippe

Les virus grippaux de type A : infectent de nombreuses espèces : les oiseaux (réservoir le plus important), les mammifères (Homme, porc, cheval, mais aussi baleine, phoque…)il existe 16 sous types d'hémagglutinines (H1, H2, H3, H5, H7, H9 chez l'homme) et 9 sous types de neuraminidases (2 humaines N1 et N2)

Le virus de type B touche l'homme la grippe généralement moins sévère

Le virus de type C touche l'homme seulement

- Cochon en Asie : sans signes cliniques apparents



EVOLUTION DES VIRUS GRIPAUX

- **Mutation adaptative (Drift)**

  - changement antigénique par suite de mutations successives

- **Réassortiment génétique (Shift)**

  - observé chez les virus à génomes segmentés

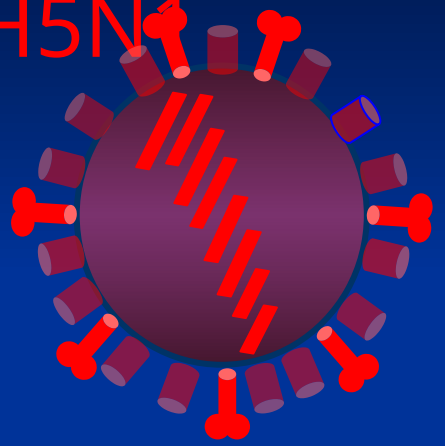
  - échange de segments génomiques ou réassortiments génomiques entre deux virus de la même espèce mais différents antigéniquement, co-infectant simultanément une même cellule

- Enfin la recombinaison génétique

- échange entre deux génomes ou segments génomiques viraux

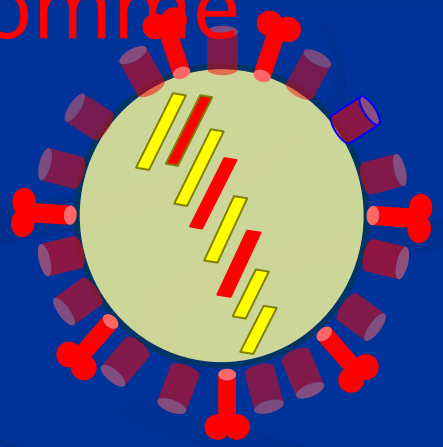
virus grippal réassortant

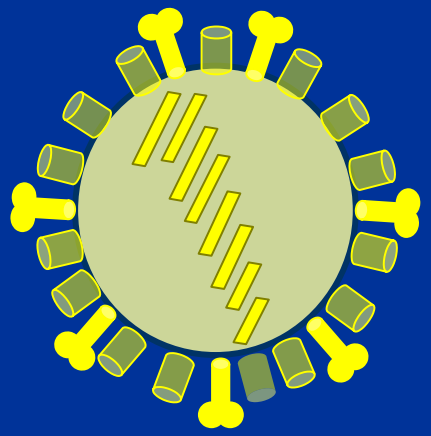
virus 1
H5N1



Novelle souche virale adaptée à l'homme

infection mixte





Virus 2 H3N2

Transmission de l'infection

Incubation

1-3 jours

Transmission se fait par les secretions respiratoires: toux, eternuements ou mains contaminées

Excrétion virale

1 - 3 jours avant le début des symptomes
plus de 09 jours après le début des symptomes

CLINIQUE

La grippe est une maladie infectieuse respiratoire aigue, saisonnière (hivers et printemps), hautement

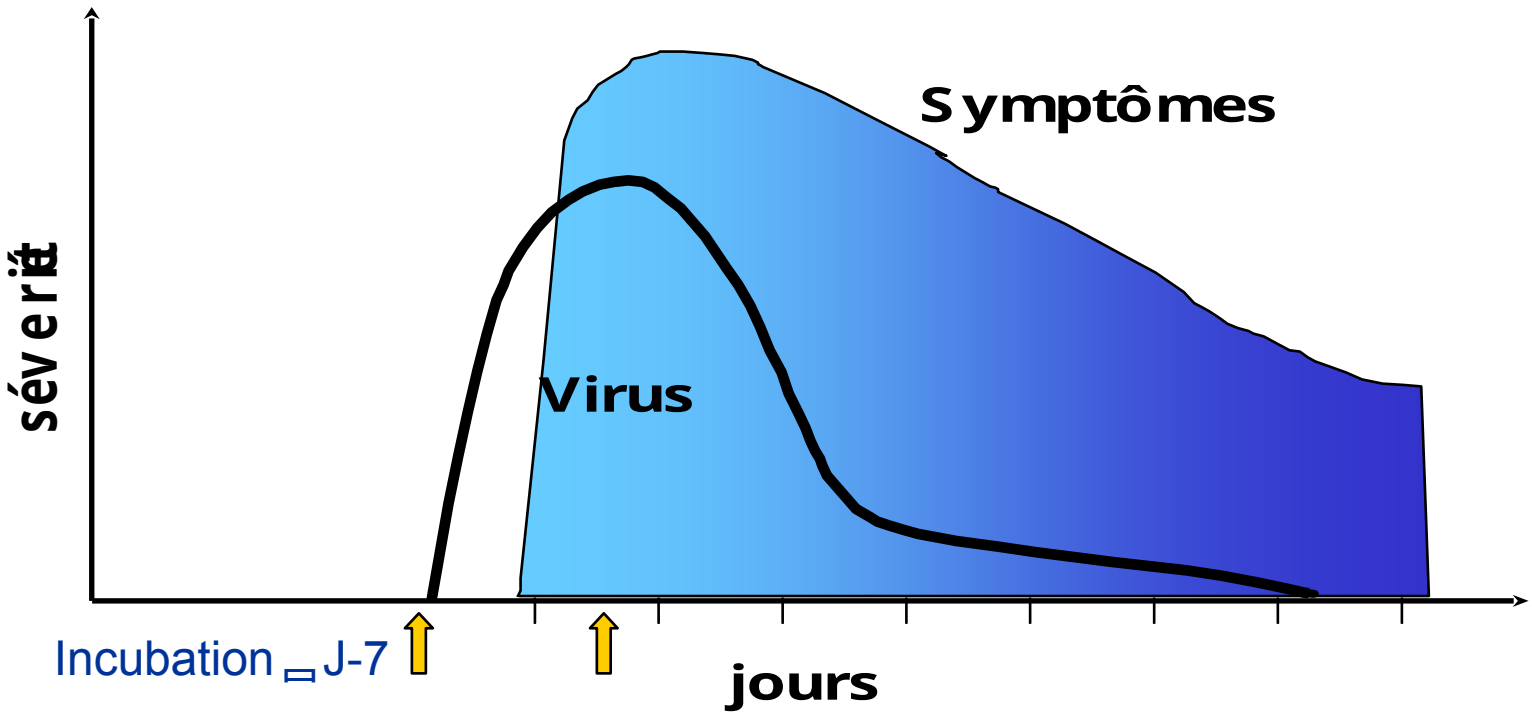
contagieuse, responsable d'épidémies chez l'homme.

Elle touche de nombreuses espèces animales (mammifères et oiseaux)

Le début est généralement brutal par un syndrome grippal :

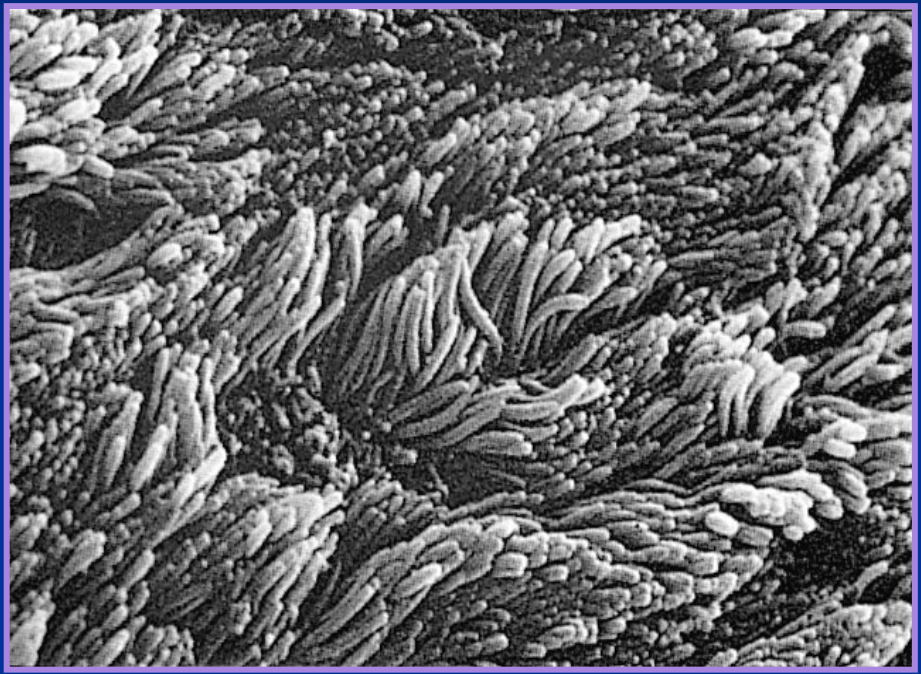
- Maux de gorge, rhume, fièvre avec frissons, douleurs musculaires. Les symptômes sont communs à d'autres infections respiratoires.

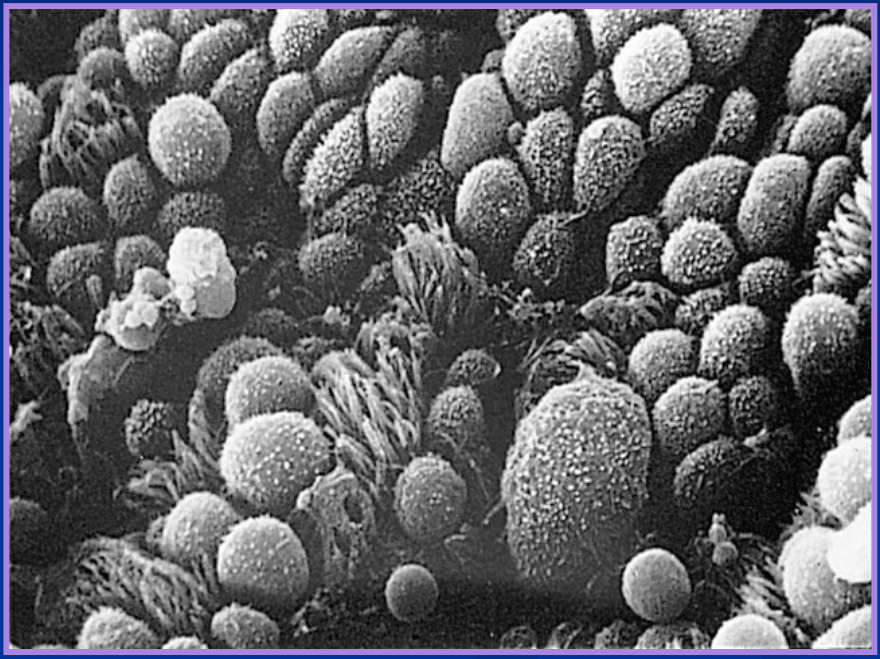
Contagiosité du virus de la grippe saisonnière 1-3 jours avant ≅ 7 jours après le début des symptômes



Evolution modélisée dans le temps

Cellules épithéliales avant et après infection par le virus type A





Nicholson, 1999

Diagnostic au laboratoire

Examen microbiologique

Confirmation au laboratoire par detection des antigènes ou des anticorps, isolement viral ou détection du génome

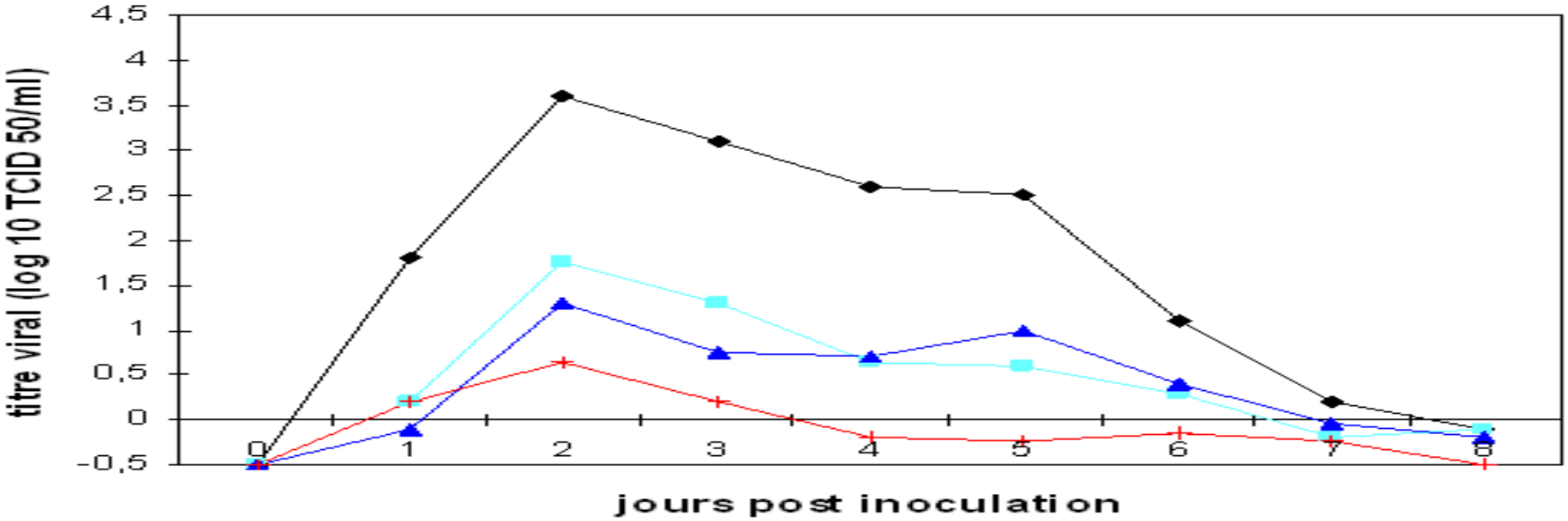
- Prélèvements :
  - Aspiration naso-pharyngée +++
  - Ecouvillonnage NP
  - Prélèvements de gorge (à éviter)
  - Lavage broncho-alvéolaire ++
  - Biopsies pulmonaires

Diagnostic au laboratoire

- Milieux de transport :

  - 4°c ou congelés à -70°c
  - commercialisés
  - SVF est un inhibiteur
  - + 7 jours

Infection expérimentale par le virus A/Texas/36/91 (H1N1)



Lavage nasopharyngé

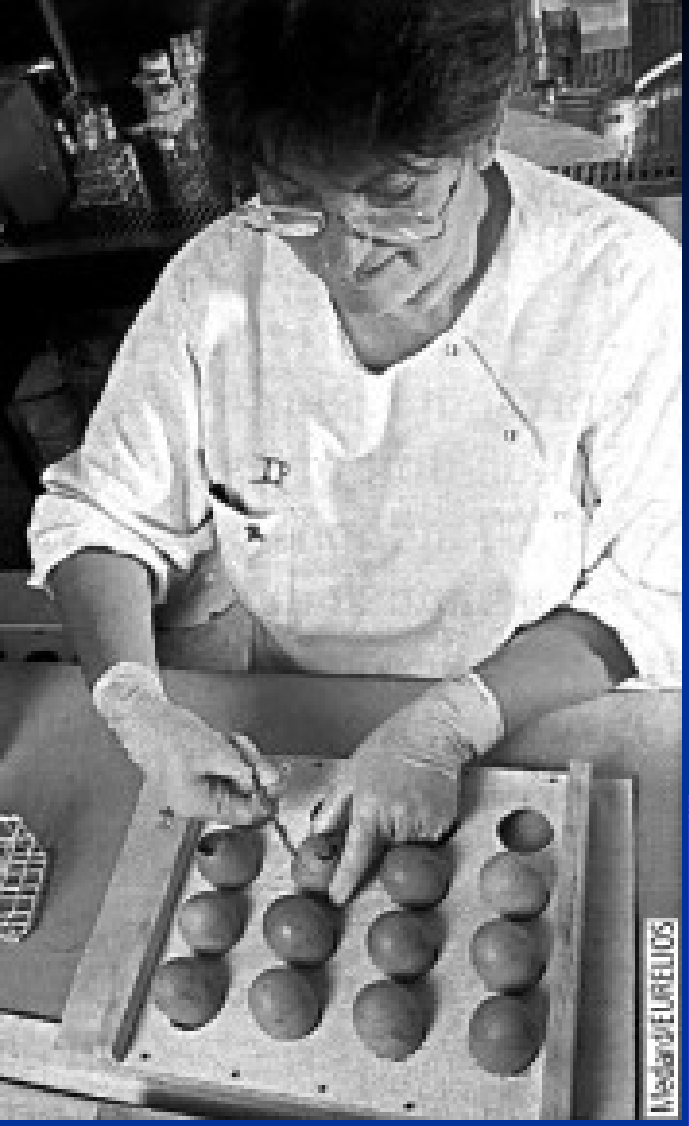
Gargarisme

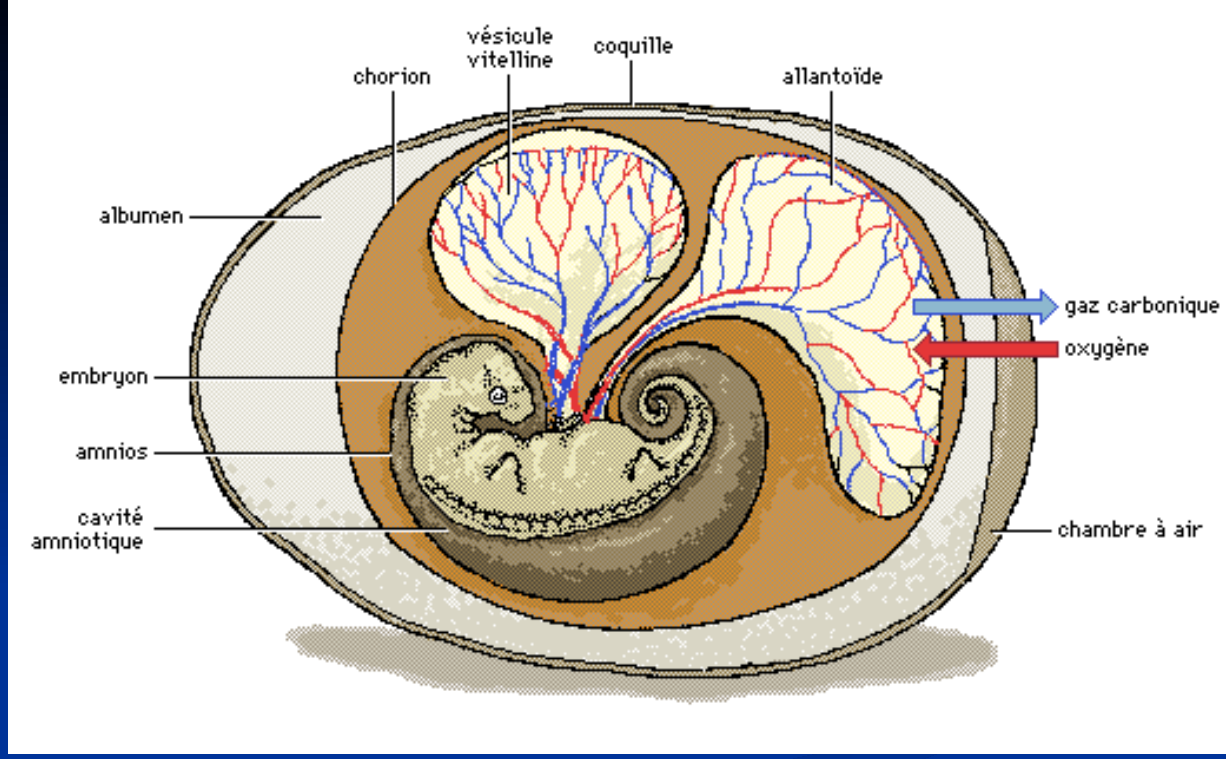
Ecouvillonage nasopharyngé

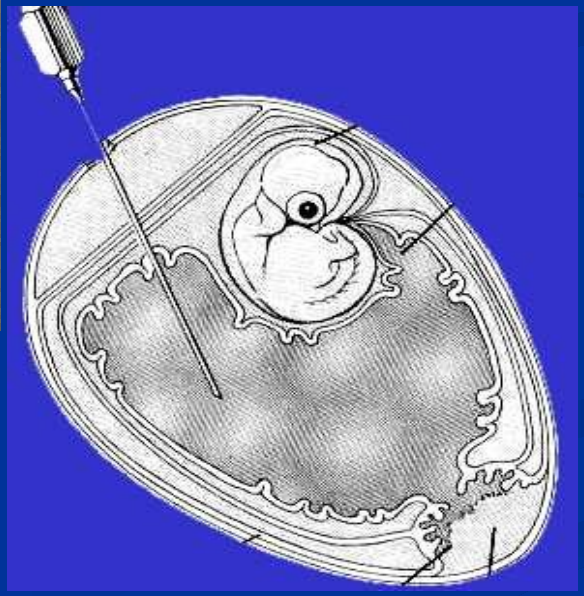
Ecouvillonage de gorge

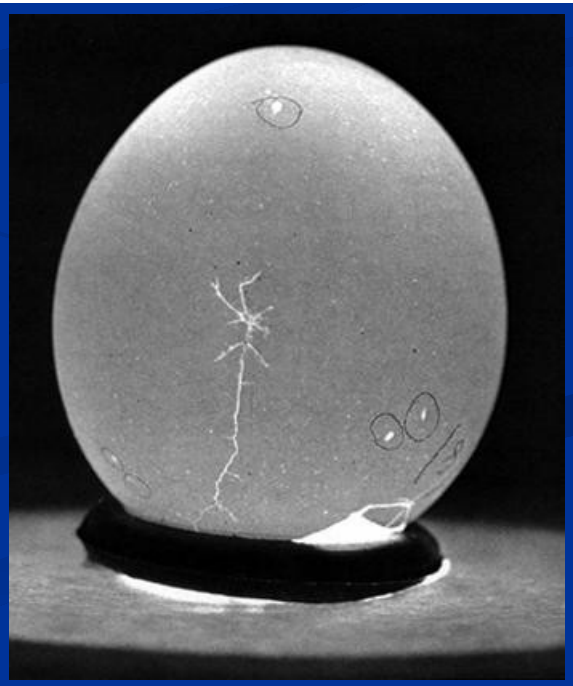
Culture cellulaire

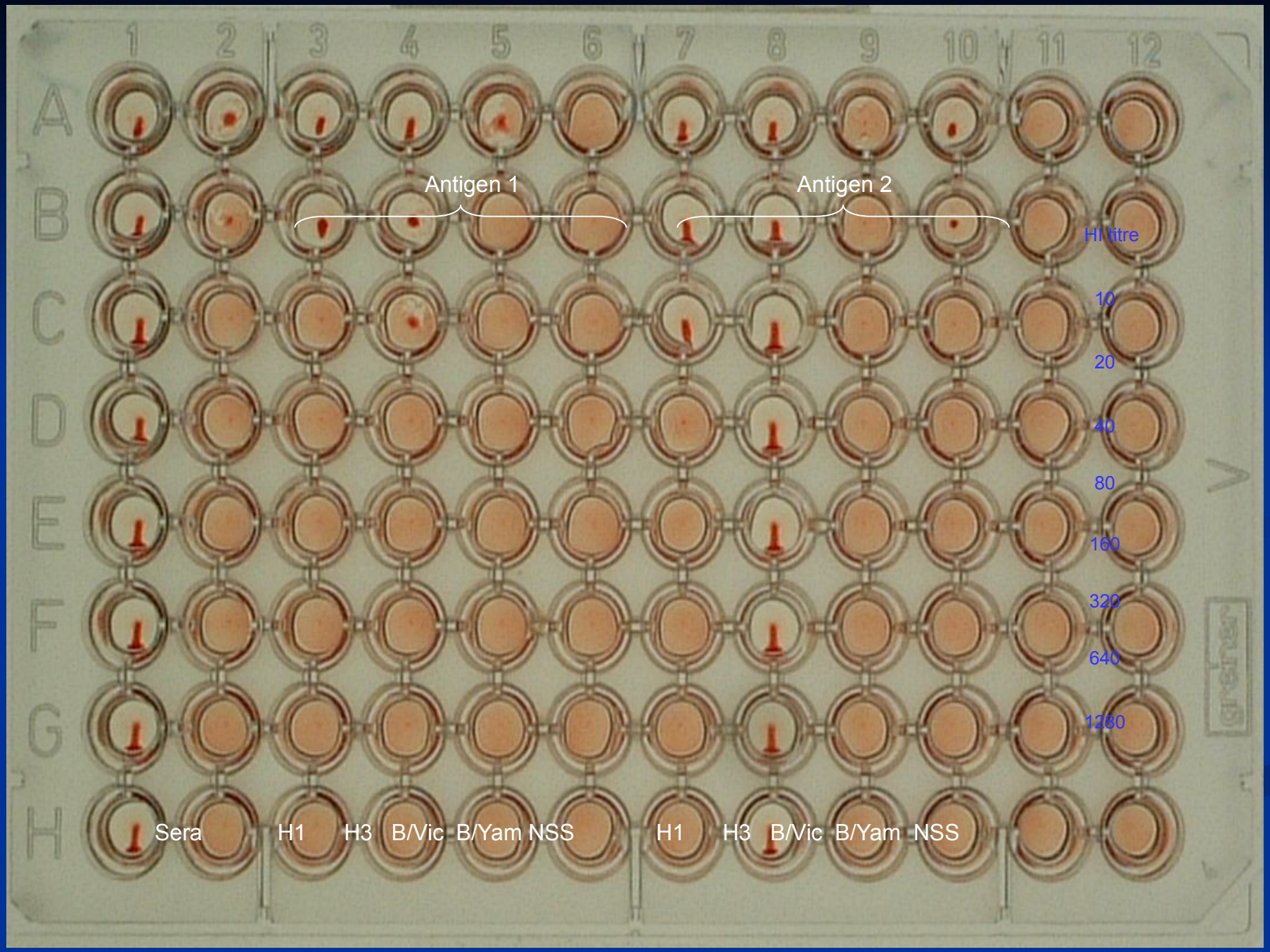
- Culture sur Oeufs de poule embryonnées
  - Méthode de référence (vétérinaires ++)
  - titres élevés en virus
  - Production de vaccins
  - astreignante
  - intra-amniotique et intra-allantoique
- Identification :
  - Effet CytoPathique .
  - Haemagglutination et Haemadsorption



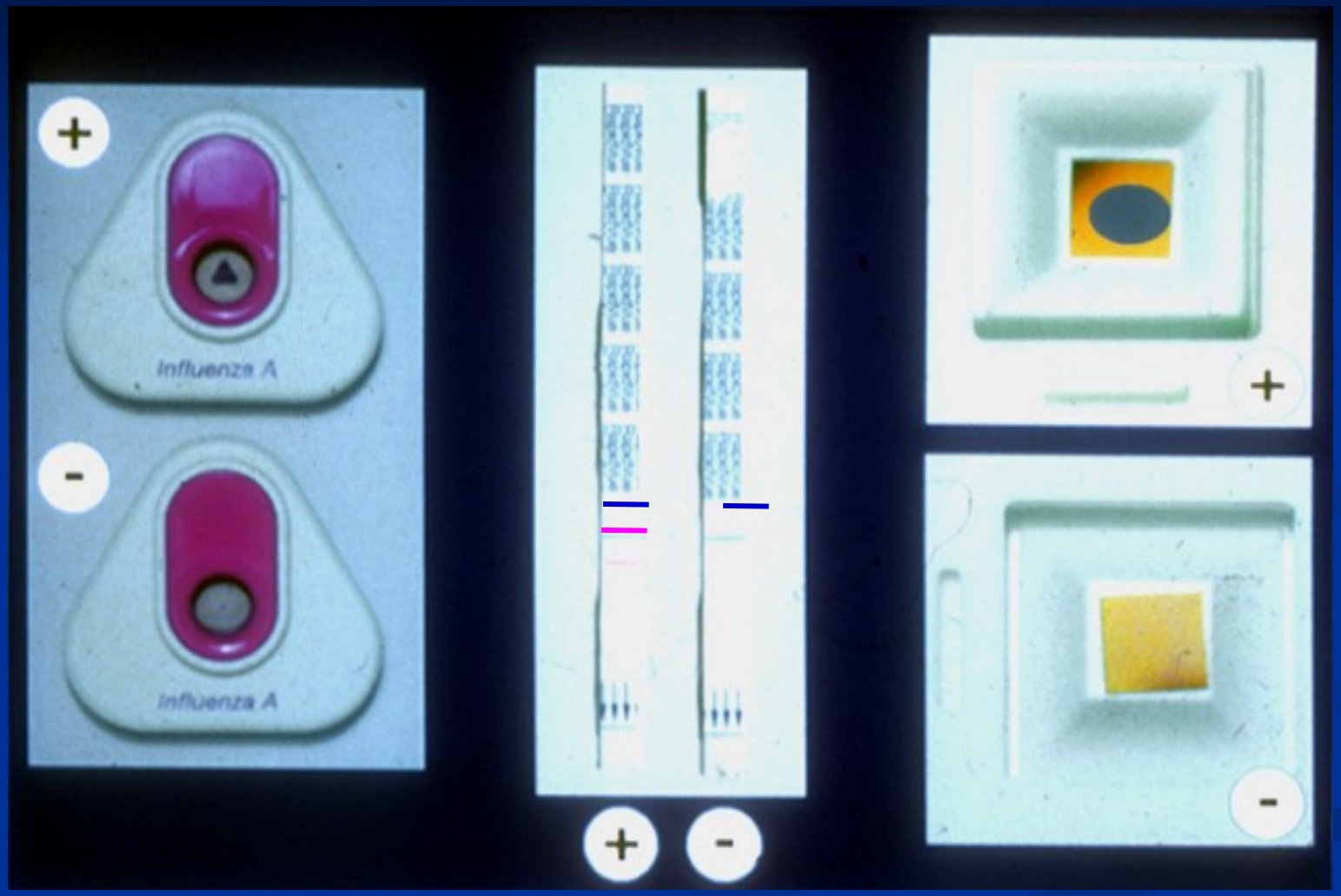

vésicule vitelline
coquille
chorion
allantoïde
albumen
gaz carbonique
oxygène
embryon
amnios
cavité amniotique
chambre à air






1
2
3
4
5
6
7
8
9
10
11
12
A
B
C
D
E
F
G
H
Antigen 1
Antigen 2
HI titre
10
20
40
80
160
320
640
1280
Sera
H1
H3
B/Vic
B/Yam
NSS
H1
H3
B/Vic
B/Yam
NSS

TESTS RAPIDES



Tests rapides

- Avantages
- Rapidité
- Pas d'expérience
- Aide à la prise en charge des cas

- **Inconvénients**
- **Coût**
- **Pas de virus**
- **Sensitivité/specificité**

Détection du génome viral

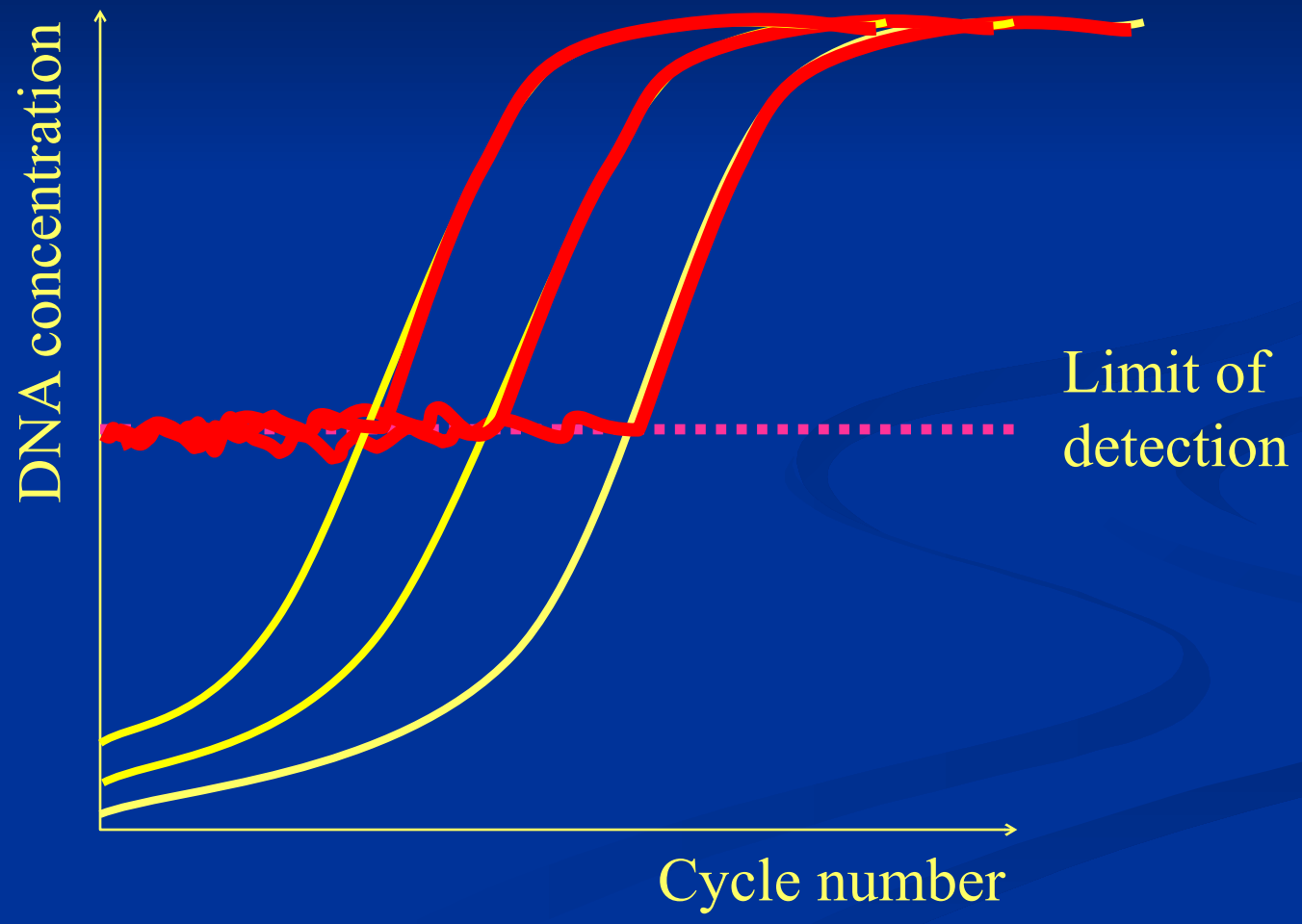
Real Time PCR

- **Definition**

Détection en temps réel de la réaction d'amplification.
Peut être quantitative (qPCR) ou qualitative.

Avantages	Inconvénients
sensibilité,	Coût de l'équipement
Reproductibilité	Coût des tests
Rapidité	
Quantification	
Souches Hautement pathogènes	
H5N1 +++	

Real-Time PCR courbe d'interpretation



SEROLOGIE

- Intérêt dans les études rétrospectives
  - IHA : en utilisant des sérums de référence OMS
  - ELISA : réaction immuno-enzymatique
  - Micro-neutralisation

VACCINATION

Rôle central

Prévention Primaire

Vaccin annuel à partir de la souche en circulation pendant cette saison,

La vaccination

Vaccins inactivés

- Vaccin fragmenté et inactivé
- Vaccin sous unitaire
- Administrés par voie sous-cutanée ou Intramusculaire
- Protection clinique moins bonne que si le primo contact avec un virus vivant

La vaccination

Indications

- Les sujets débilités

  - cardiopathies

  - broncho-pneumopathies chroniques

  - néphropathies

  - diabète

- Les femmes enceintes
- Les personnes âgées de plus de 60 ans
- Le personnel considéré comme stratégique

  - personnel médical

  - services de transport

- Les d'VIP

Traitement antiviral

- Le ZANAMIVIR(Relenza©)

  - administration par voie nasale

  - administration peut être difficile chez des personnes présentant des troubles

  de la compréhension ou troubles psychomoteurs

  - effets indésirables de type

    - bronchospasme aigu

    - diminution grave de la fonction respiratoire chez des patients ayant des antécédents de maladie respiratoire

- L'OSELTAMIVIR (Tamiflu©)

  - administré par voie orale

  - utilisé en prévention post-exposition (dès 13 ans)

FACULTE DE MEDECINE
D'ALGER

PNEUMOVIRIDAE

PARAMYXOVIRIDAE

Dr BENSALEM Aicha
Pr DERRAR Fawzi

Microbiologie
Département de Virologie
Institut Pasteur d'Algérie

Cours de graduation 3ème année
Année universitaire 2022-2023

Pouvoir pathogène

- Virus épidémiques

- Transmission par aérosols : Atteinte des voies aériennes supérieures

- Excrétion les premiers jours de la maladie

- Diffusion : aux V.A.I par contigüité (VRS et Parainfluenza)
par voie sanguine (virus des Oreillons et virus de la Rougeole)

- VRS : principal agent des maladies à Paramyxoviridae

- **Paramyxoviridae**

- **Pneumoviridae**

Famille Paramyxoviridae
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

Famille Pneumo*viridae*
2 genres :

1. Genre orthopneumovirus

   virus respiratoire syncytial RSV

2. Genre metapneumovirus

   human metapneumovirus hMPv

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

Morphologie

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

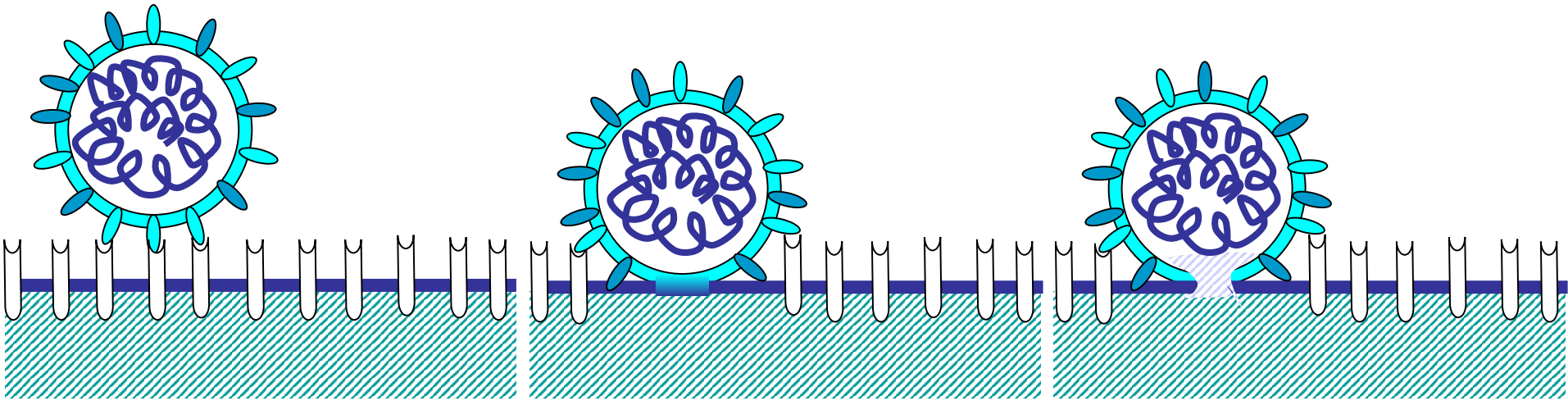
- attachment cellule hôte,
- mediation de fusion de la membrane,
- activité hémolysine

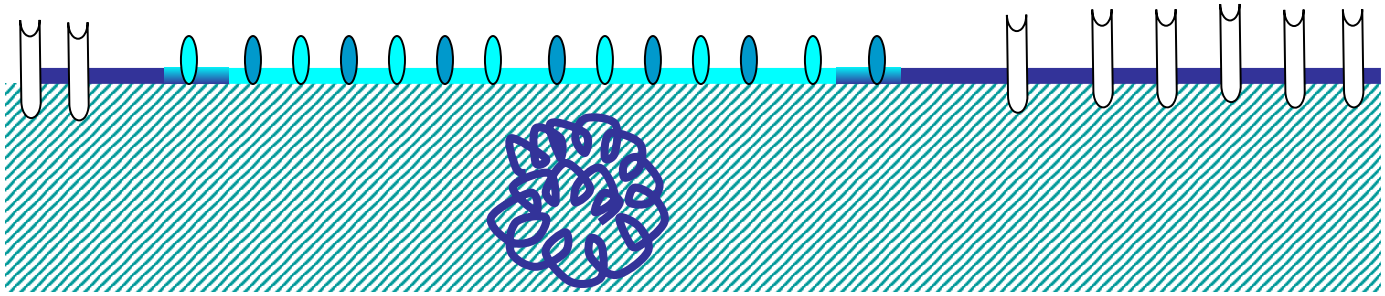
- Facteurs clés dans l’infection et la pathogénie.

Hemagglutination

- Rapide, simple
- Detecter le virus ou anticorps (Inhibition de l'hémagglutination)
- Mesure particules virales presentes, pas les particules virales infectieuses.

Penetration - Fusion





replicates in cytoplasm

PNEUMOVIRIDAE

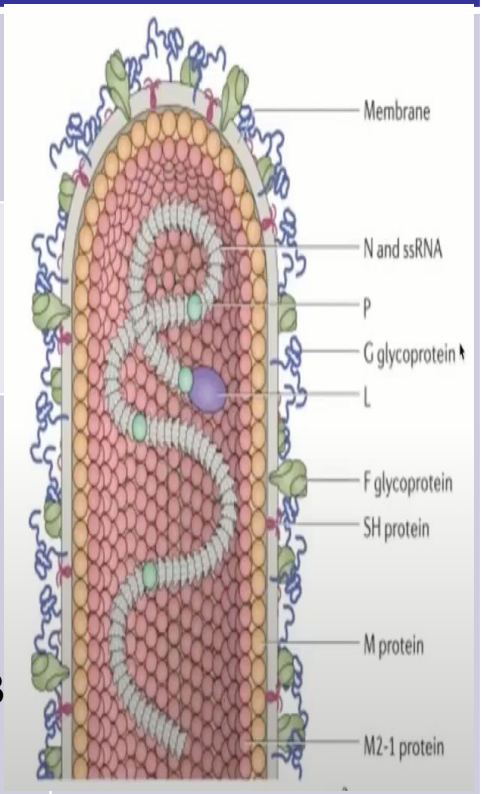
Virus respiratoire syncytial (RSV) et métapneumovirus (HMPV)

Ordre : Mononégavirales

Famille : Pneumoviridae

Genres :

- Orthopneumovirus (Virus resp syncytial A et B) [RSV-A et RSV-B]
- Metapneumovirus (metapneumo humain A et B [HMPV-A et HMPV-B



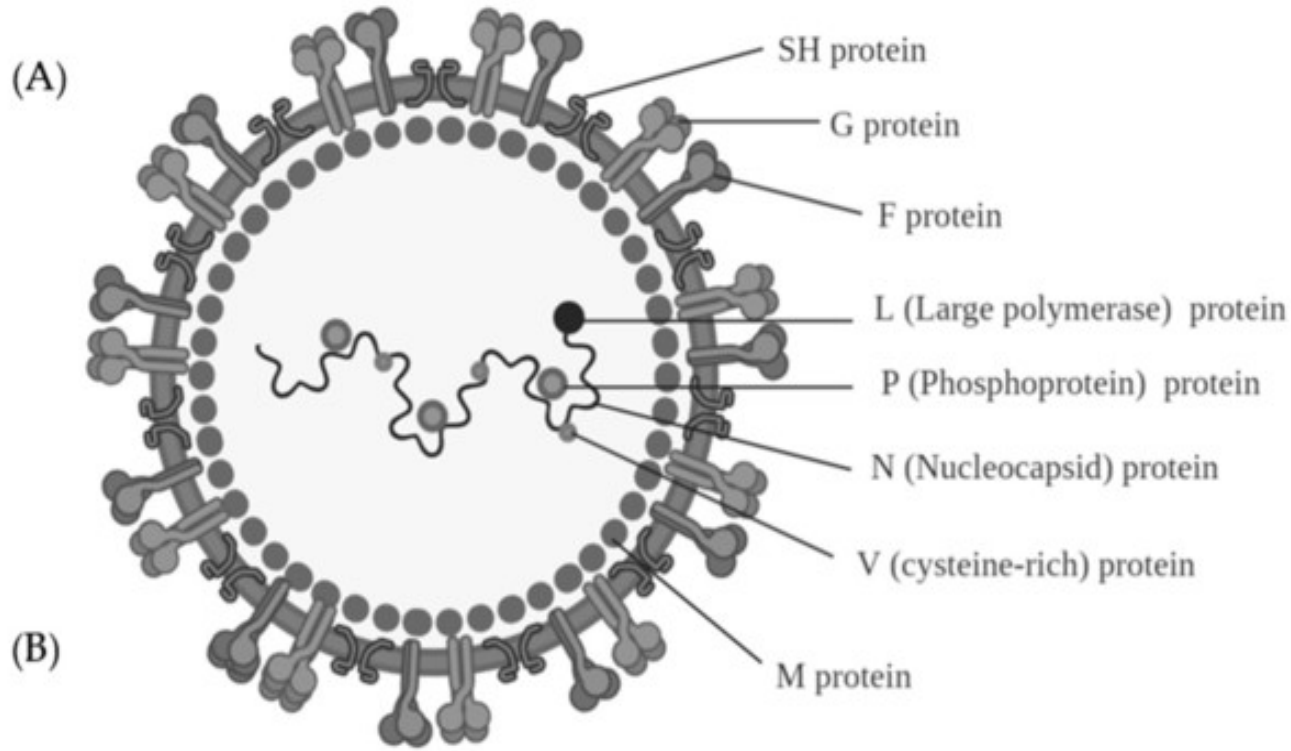
Génome : ARN monocaténaire linéaire de polarité négative
RSV : 15,2 Kb
HMPV : 13 Kb

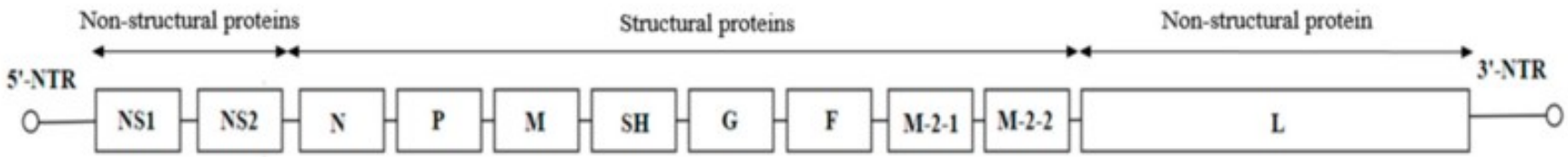
Taille : virus pléiomorphes
RSV : 100 – 1000 nm
HMPV : 150 -600 nm

Virus Respiratoire Syncytial
RSV

Famille des Pneumoviridae
Deux groupes : VRS A et VRS B

Pneumovirus





Agent viral

- **Historique**

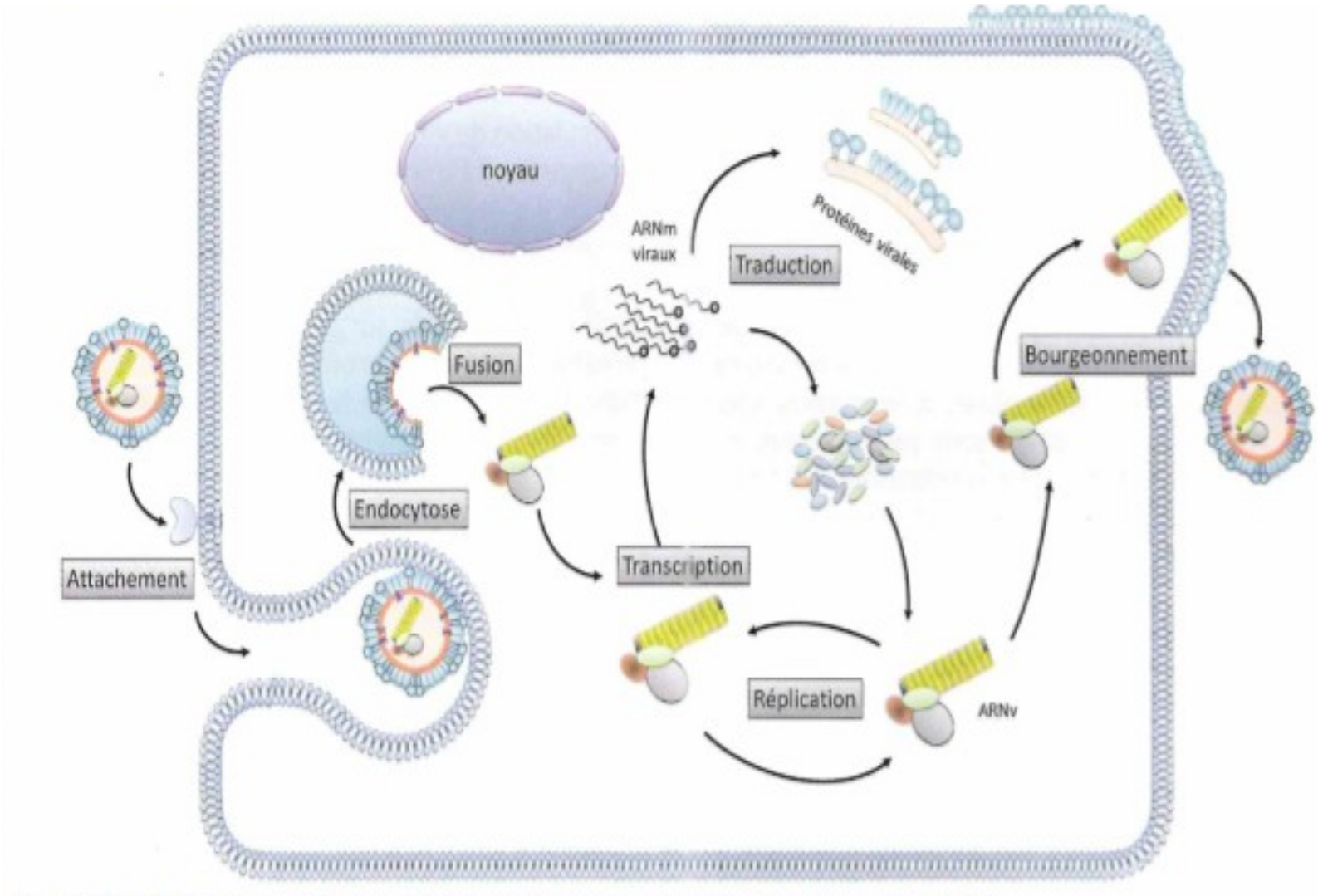
  - Découvert en 1956, isolé en 1957 chez un enfant atteint de pneumonie
  - Syncytia : larges cellules plurinucléées formées par la fusion de cellules
  - Génome: ARN simple brin polarité negative
  - Différence antigénique essentiellement sur le gpG

Agent Viral

- **2 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'Anticorps Neutralisants (protecteurs)

La réponse épithéliale la plus importante des cellules infectées est la secrétion d'IL8 réponse inflammatoire.

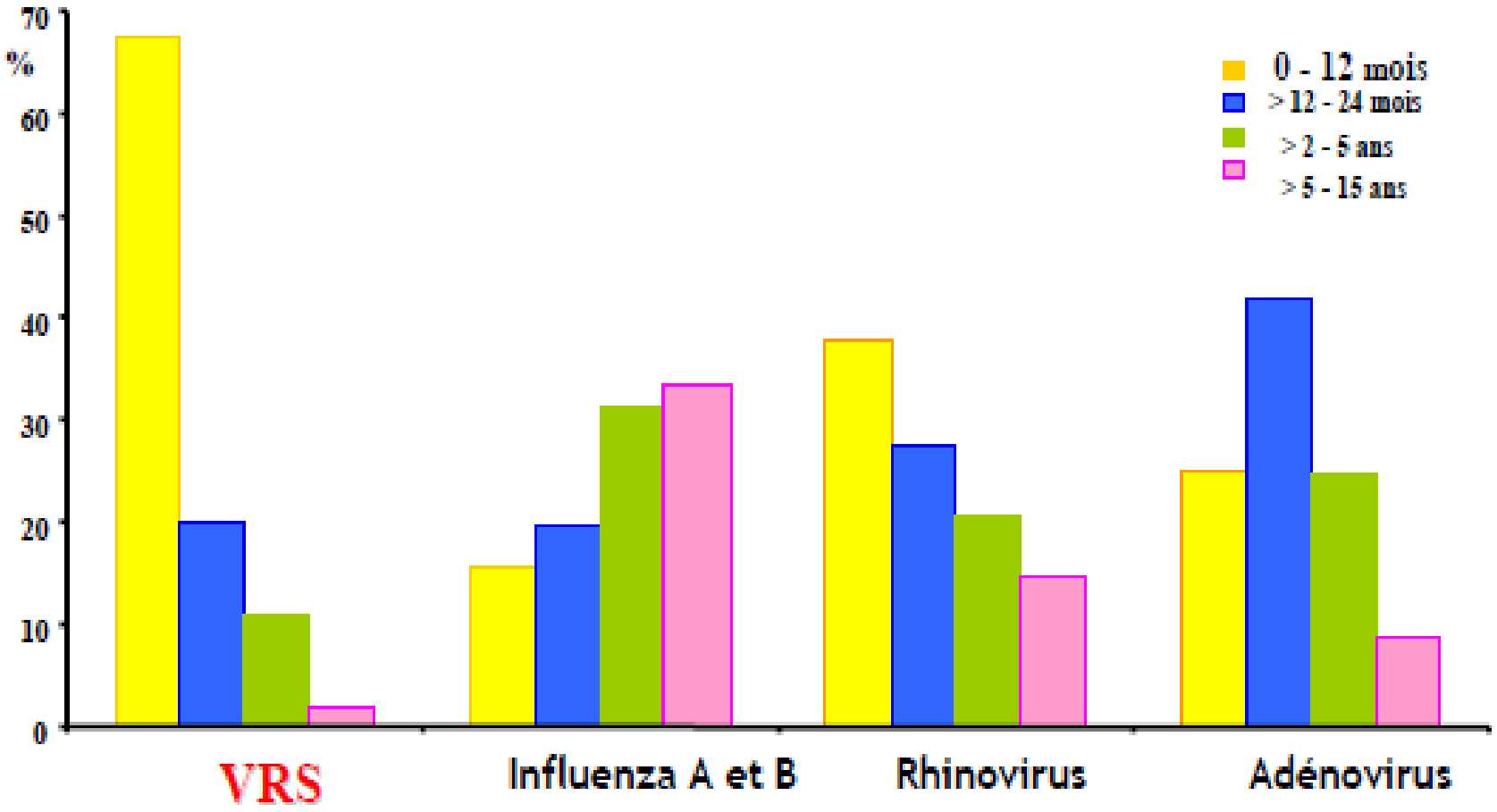
Cycle de multiplication du virus respiratoire syncytial (RSV)



Epidémiologie

Prévalence des infections à RSV

95% des enfants sont infectés à 2 ans.



Transmission interhumaine du virus

- Aérosols à grosses particules ou contact avec des particules infectées.

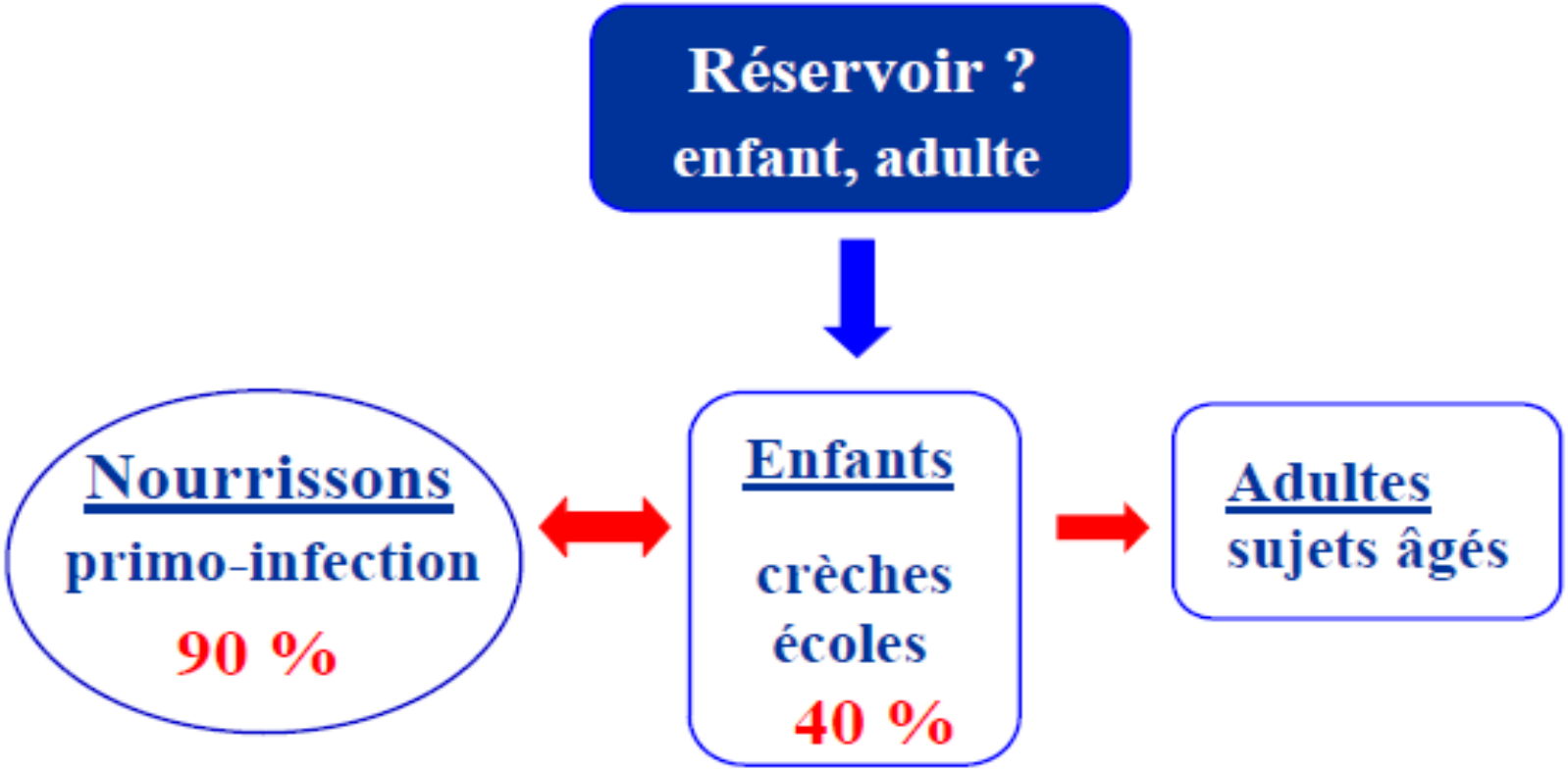
- Stabilité du virus fonction T°/Humidité:

  - Humidité (aérosol) : 80 - 90% stables,

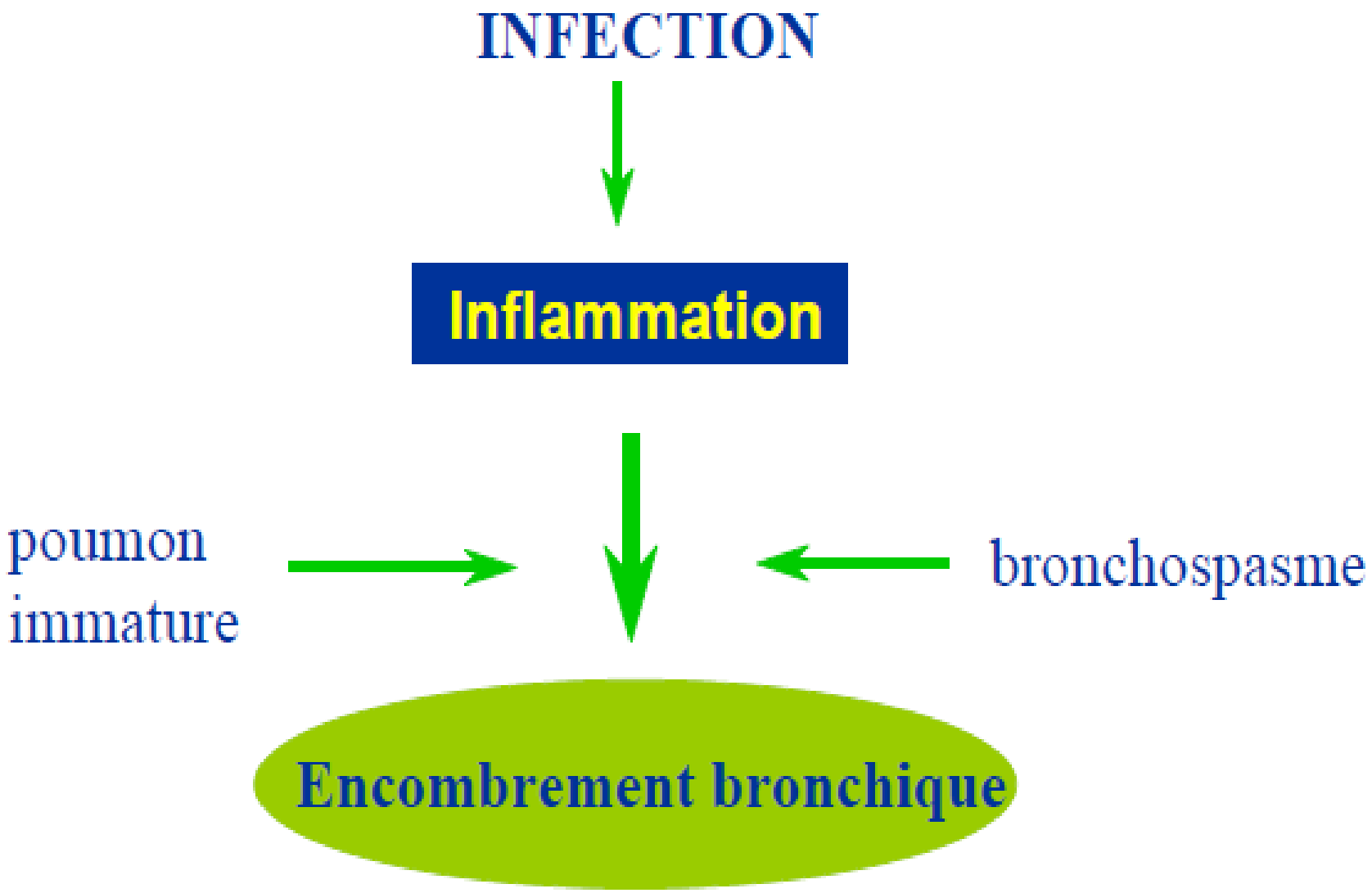
  - Température : 90% d'inactivation (solution hydrique) en 3 jours à 37°C

Pouvoir Pathogène

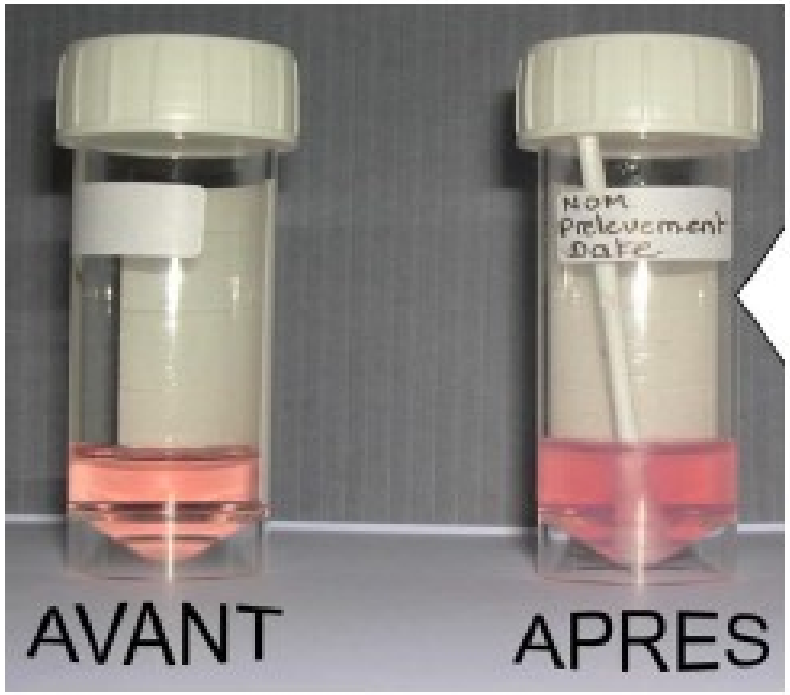
La bronchiolite est l'infection respiratoire virale majeure chez l'enfant



BRONCHIOLITE



Diagnostic Virologique



La qualité du prélèvement conditionne l'efficacité du diagnostic

Techniques de diagnostic

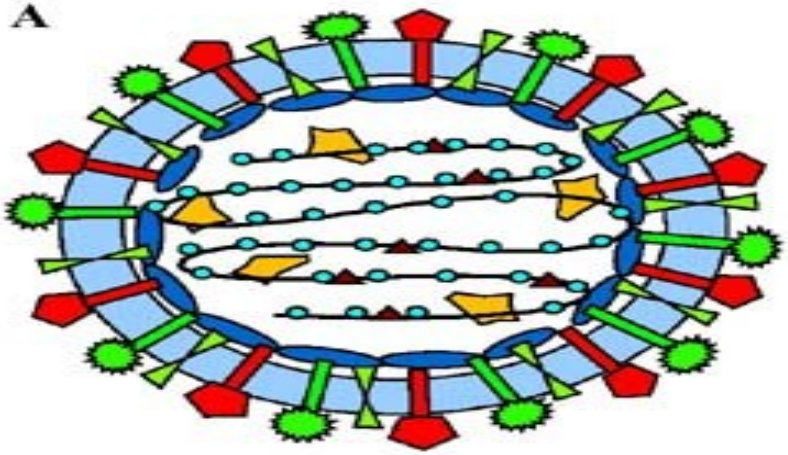
1. Isolement en culture de cellules : ~ 7 jours

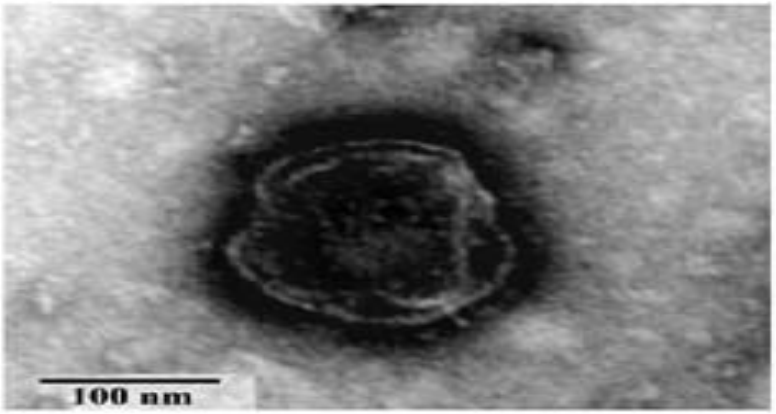
2. Sérologie : 2 sérums à ~ 10 jours

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

4. Détection moléculaire

A





Protéine d'attachement G

Protéine de fusion F

Petite protéine de surface SH

Enveloppe

Polymérase

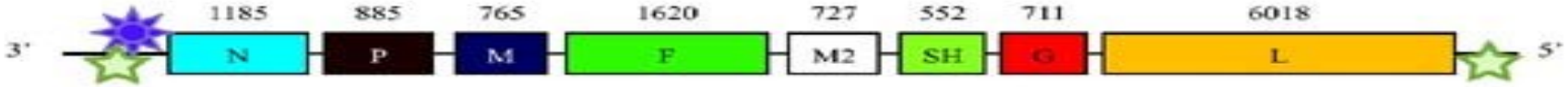
Génome ARN

Nucléoprotéine

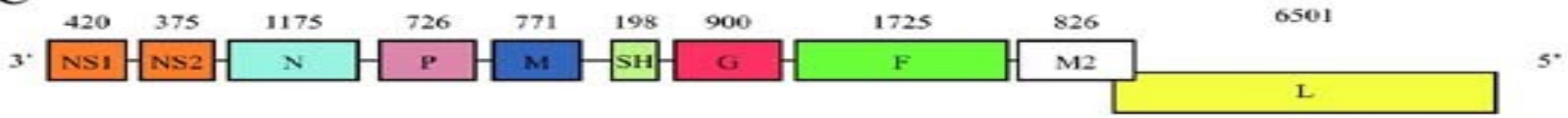
Phosphoprotéine

Protéine de la matrice

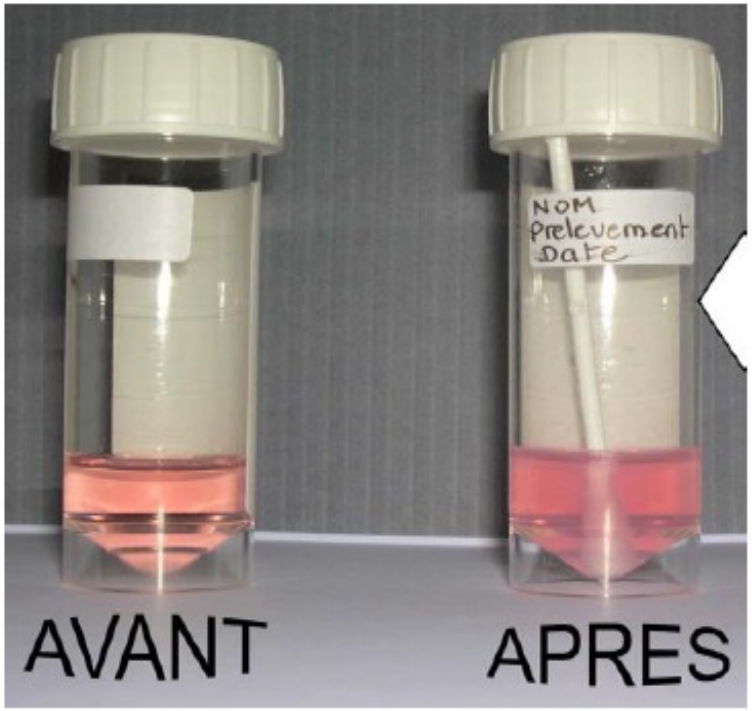
B



C



Virologie



La qualité du prélèvement conditionne l'efficacité du diagnostic

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

PARAMYXOVIRIDAE

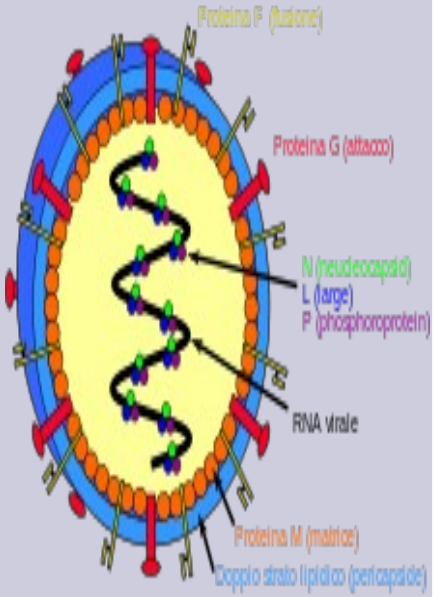
Paramyxovirus pathogènes pour l'être humain

Ordre : Mononégavirales

Famille : Paramyxoviridae

Genres :

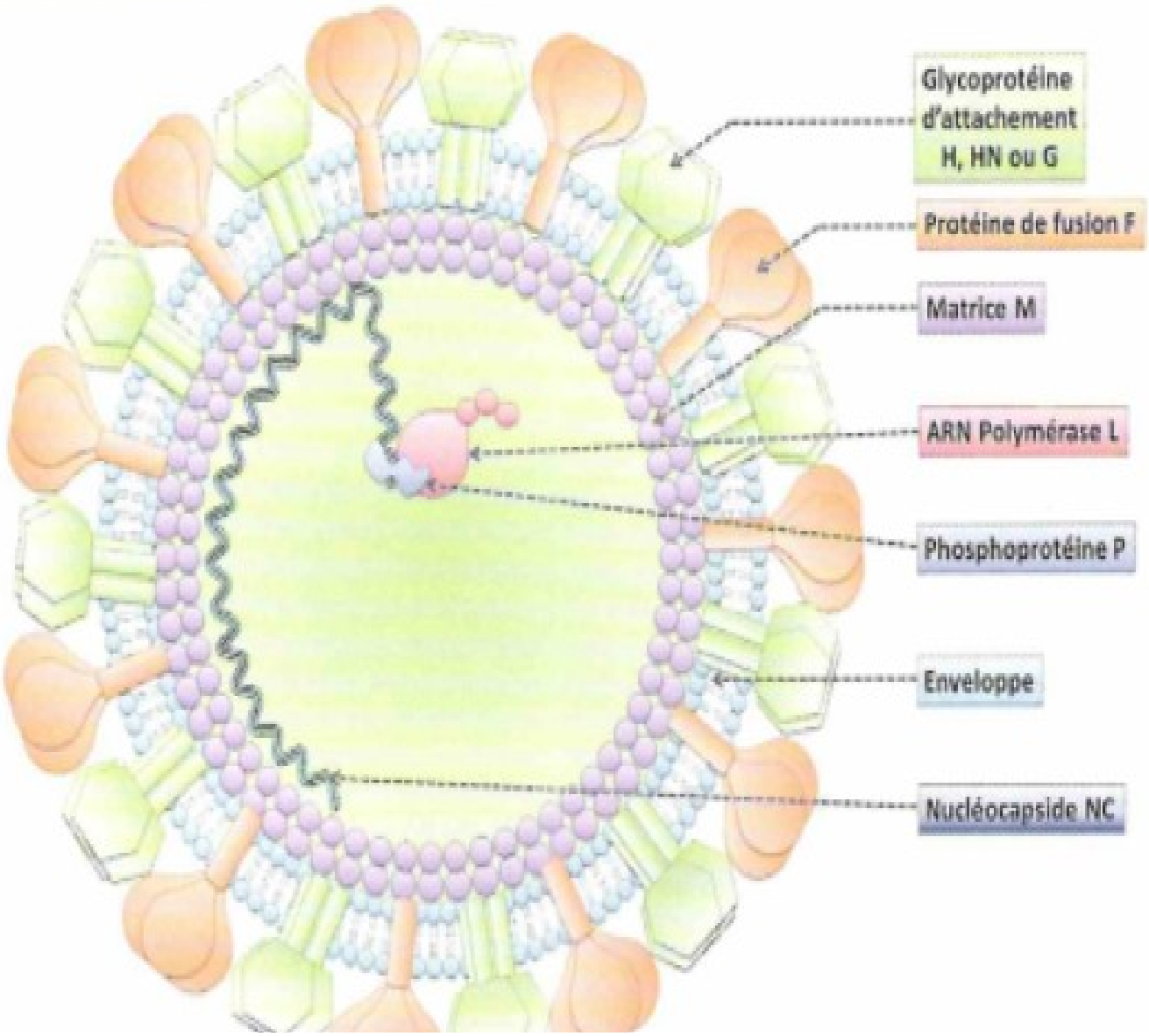
- Respirovirus (V.Parainfluenza humain HPIV-1 et HPIV-3)
- Rubulavirus (V.Parainfluenza humain HPIV-2 et HPIV-4)
- et virus des Oreillons (MuV)
- Henipavirus (virus Hendra HeV et virus Nipah (NiV)
- Morbillivirus (Virus de la rougeole (MeV)

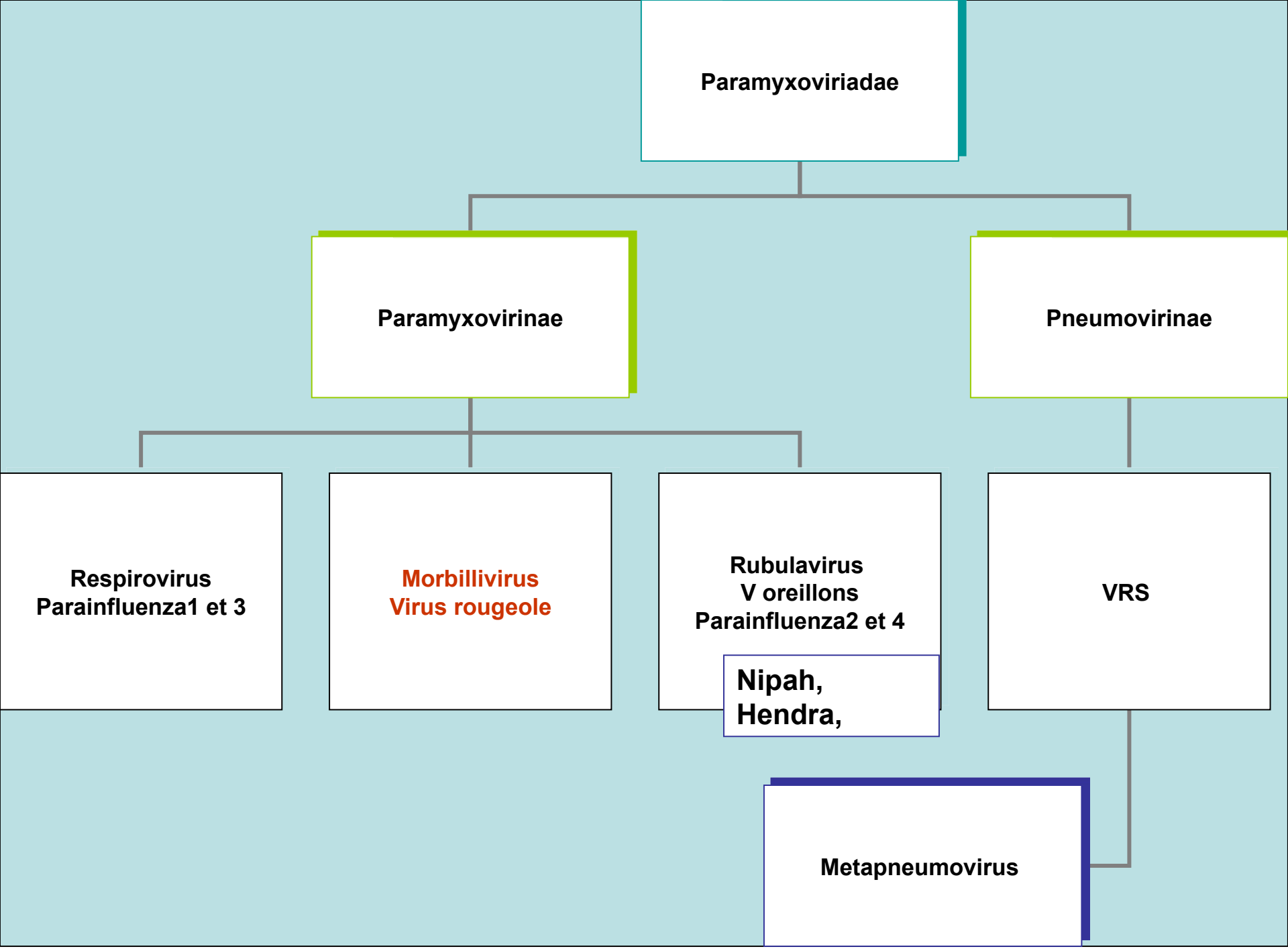


Génome : ARN monocaténaire linéaire de polarité négative
15,4 à 18,2 Kb

Taille : 150 à 350 nm

Particule virale de Paramyxoviridae



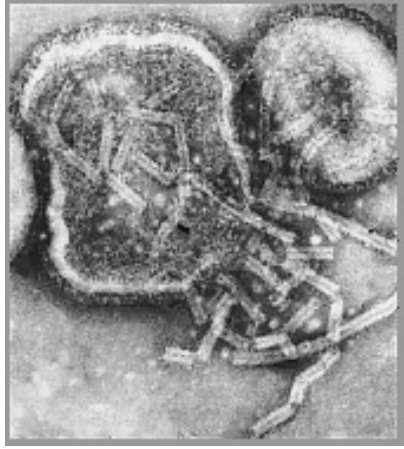

Paramyxoviriadae
Paramyxovirinae
Pneumovirinae
Respirovirus
Parainfluenza1 et 3
Morbillivirus
Virus rougeole
Rubulavirus
V oreillons
Parainfluenza2 et 4
Nipah,
Hendra,
VRS
Metapneumovirus

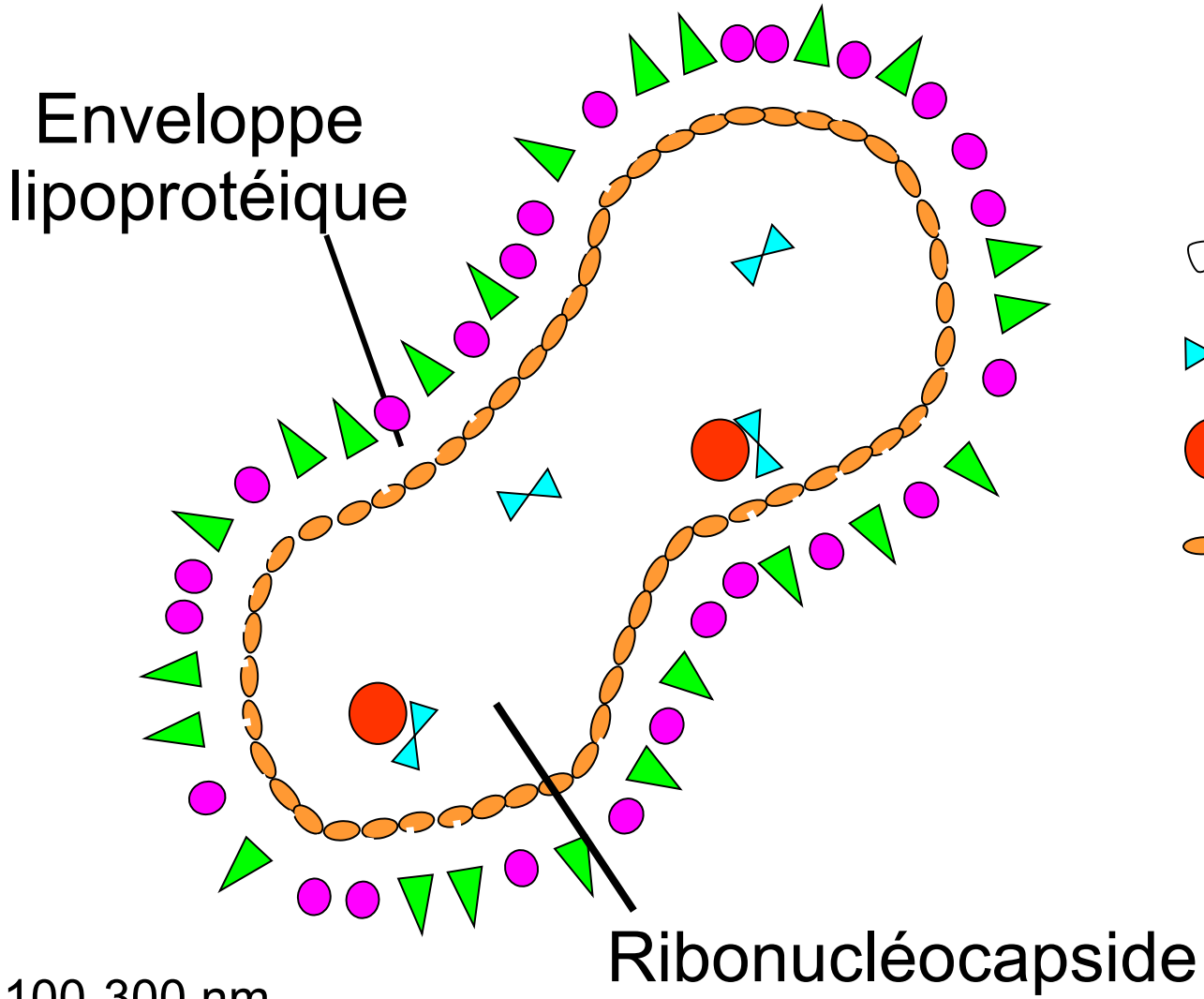
Virus de la Rougeole

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

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

Virus de la rougeole



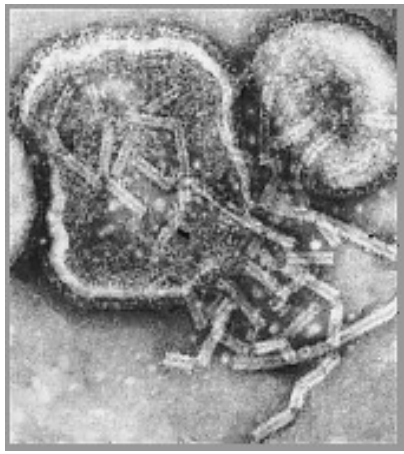


100-300 nm

k

Glycoprotéines d'enveloppe

- Hémagglutinine(H) 78kd
- Hématies de singe (CD46+)
- 37°(absence de neuraminidase)



- Induisant ac neutralisant et IHA

- Protéine F fusion 60kd>F1 41et F2 18
- Hémolysine, entrée du virus, fusion cellulaire
- Induisant ac neutralisant et IHE

Clinique

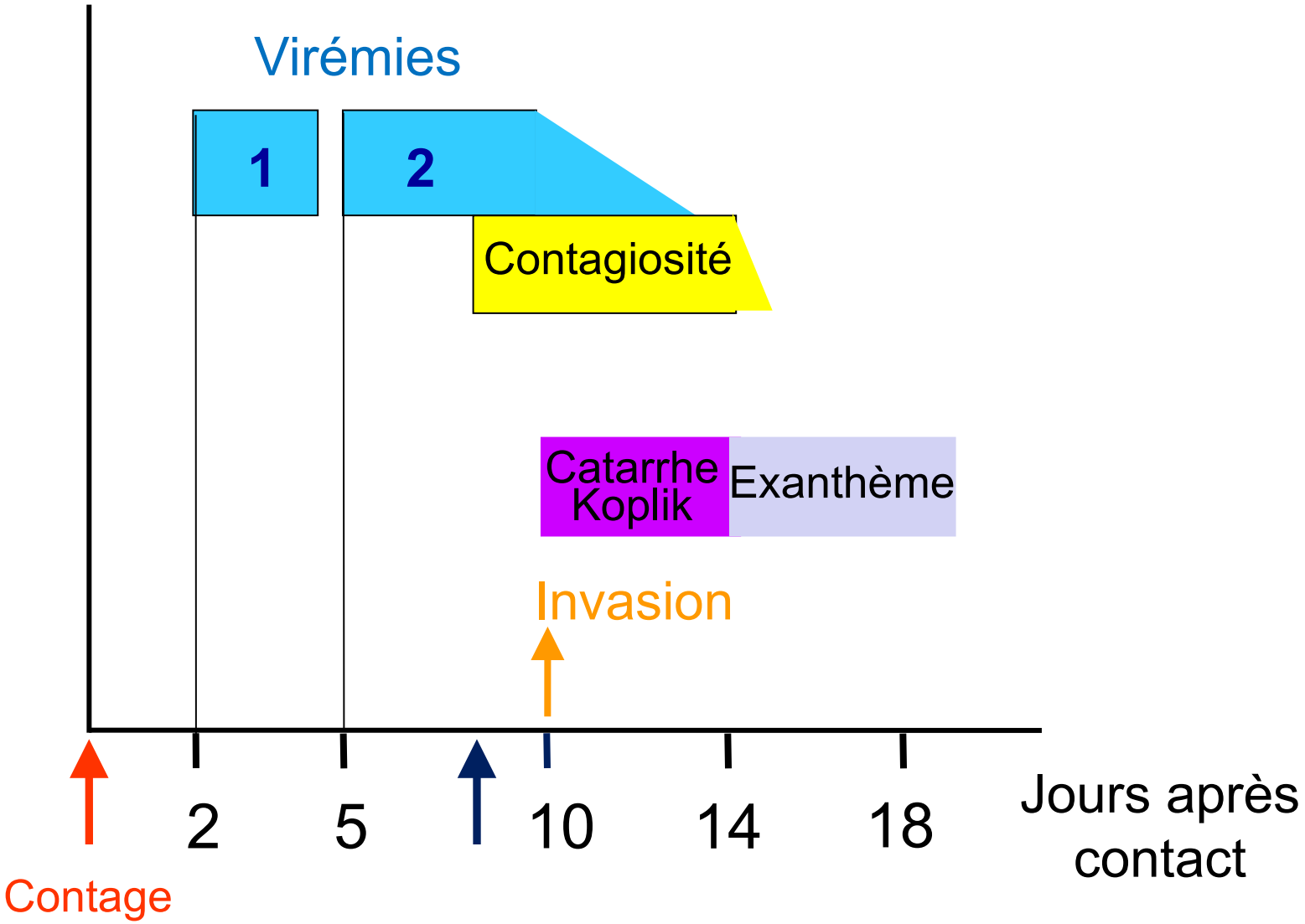
- Incubation:10 jours

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

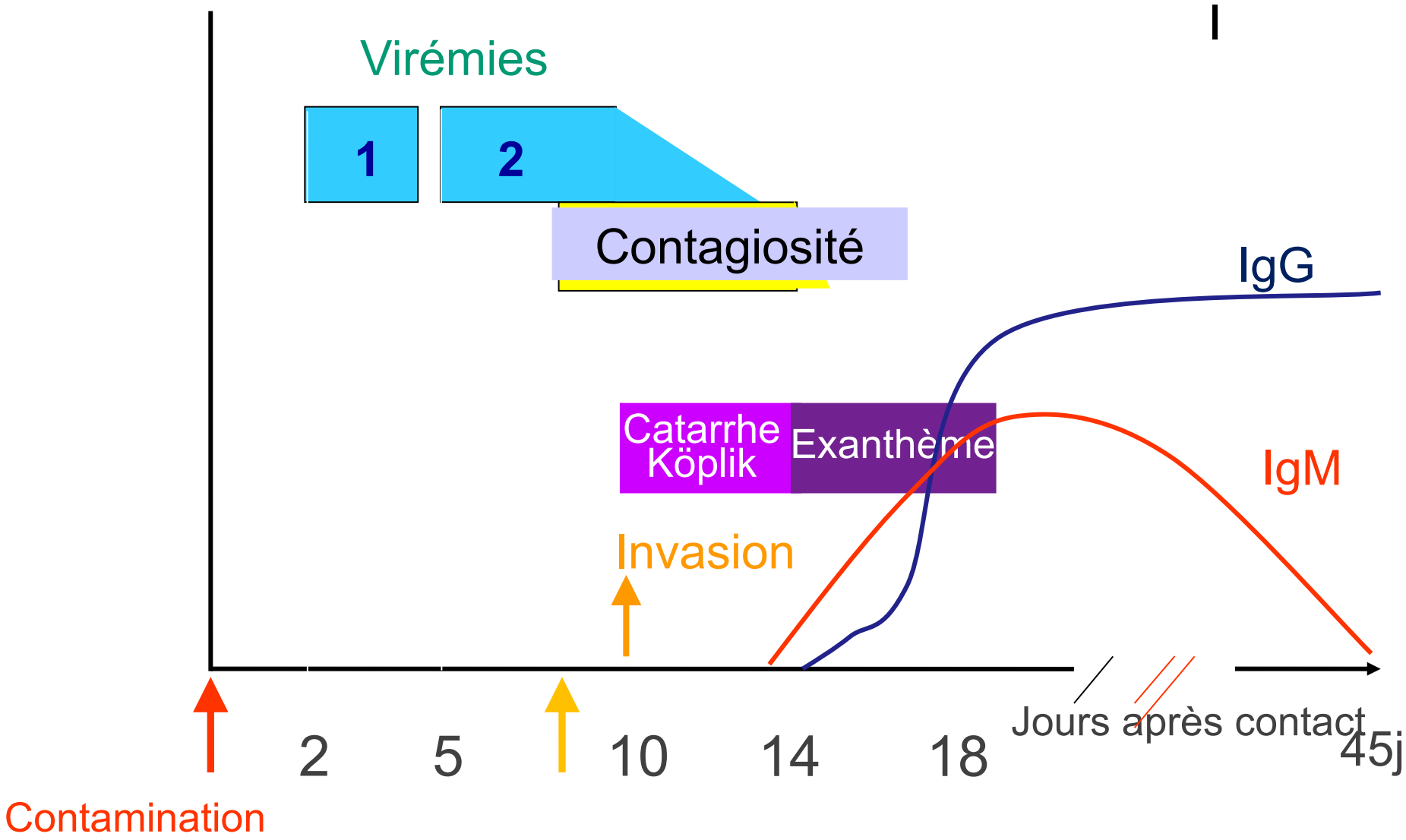
- Guérison en 6 à 7 jours

Rougeole

Rougeole : cinétique de l'infection



Rougeole : Diagnostic



Rougeole : Diagnostic(2)

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

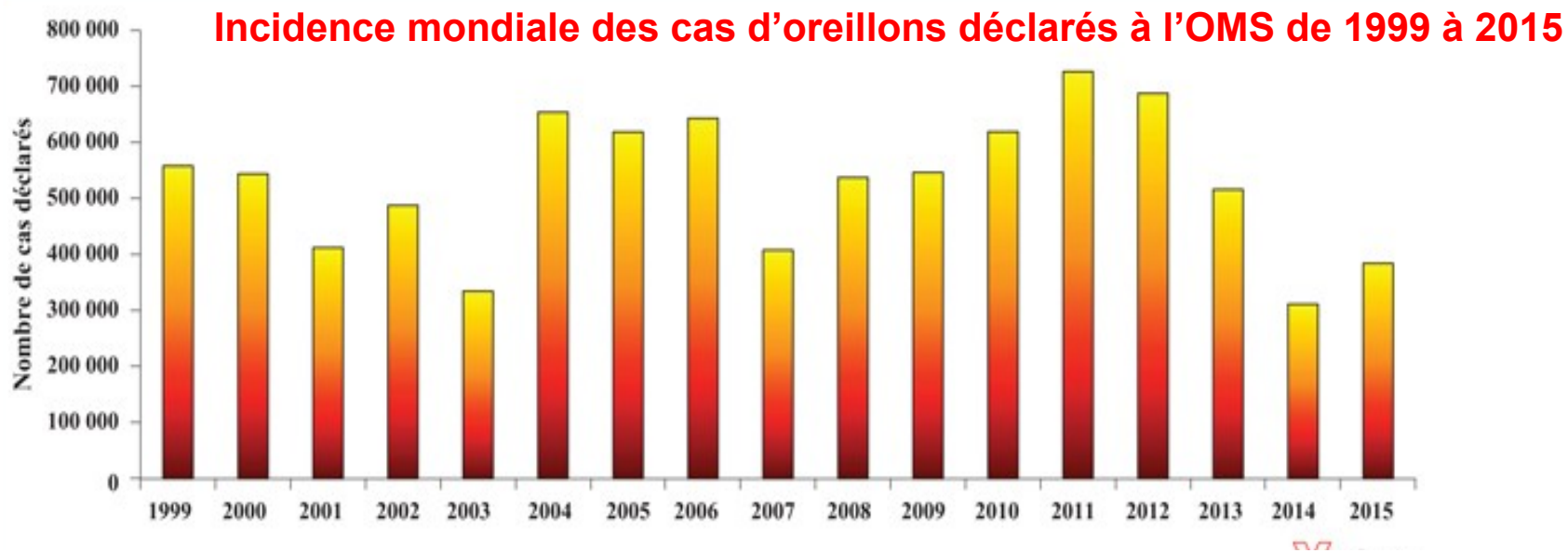
- <u>Forme de l'immunodéprimé</u>
- (éruption atypique ou absente:réponse immunitaire insuffisante) diagnostic direct : IF, rhino pharynx, LBA (ou culture ,PCR)
- culture isolt B95a, vero, vero-slam+

Prévention

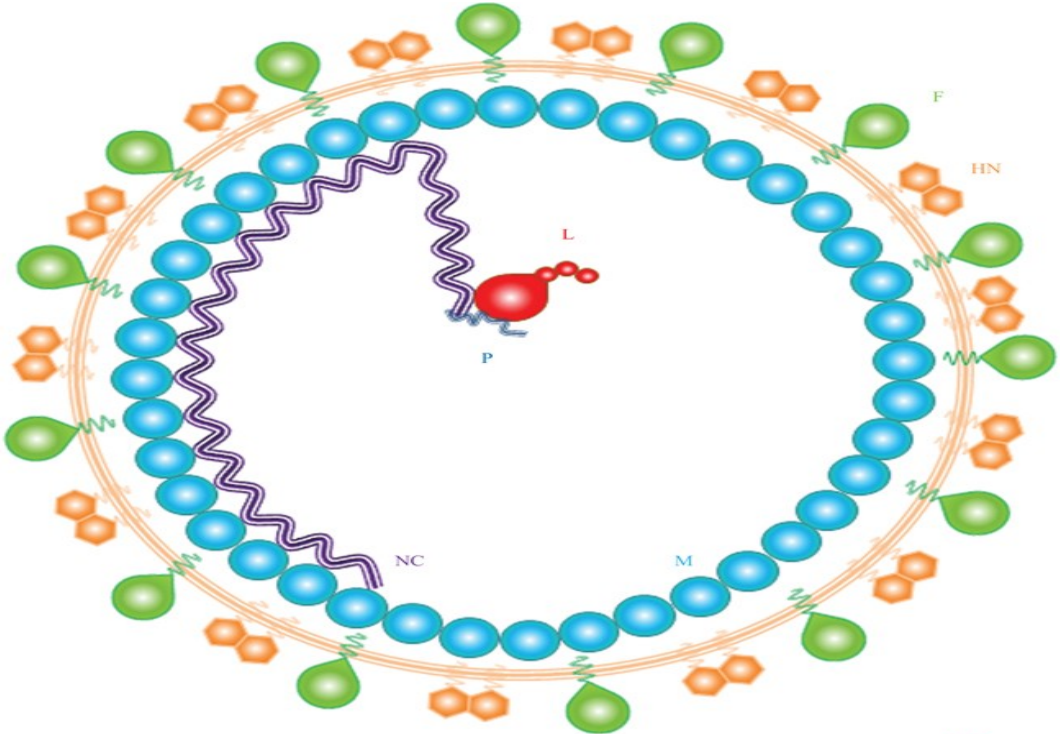
- Vaccination à 12 mois et 6 six ans
- Vaccin atténué mutant thermosensible

Oreillons

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



Représentation schématique d'une particule infectieuse de virus ourlien



Enveloppe: Spicules 12-15 nm

Capside: symétrie hélicoïdale diamètre 17-18 nm

ARN non segmenté, simple brin 15000 nts; 7génes

Virus ourlien, propriétés

- 12 génotypes
- 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

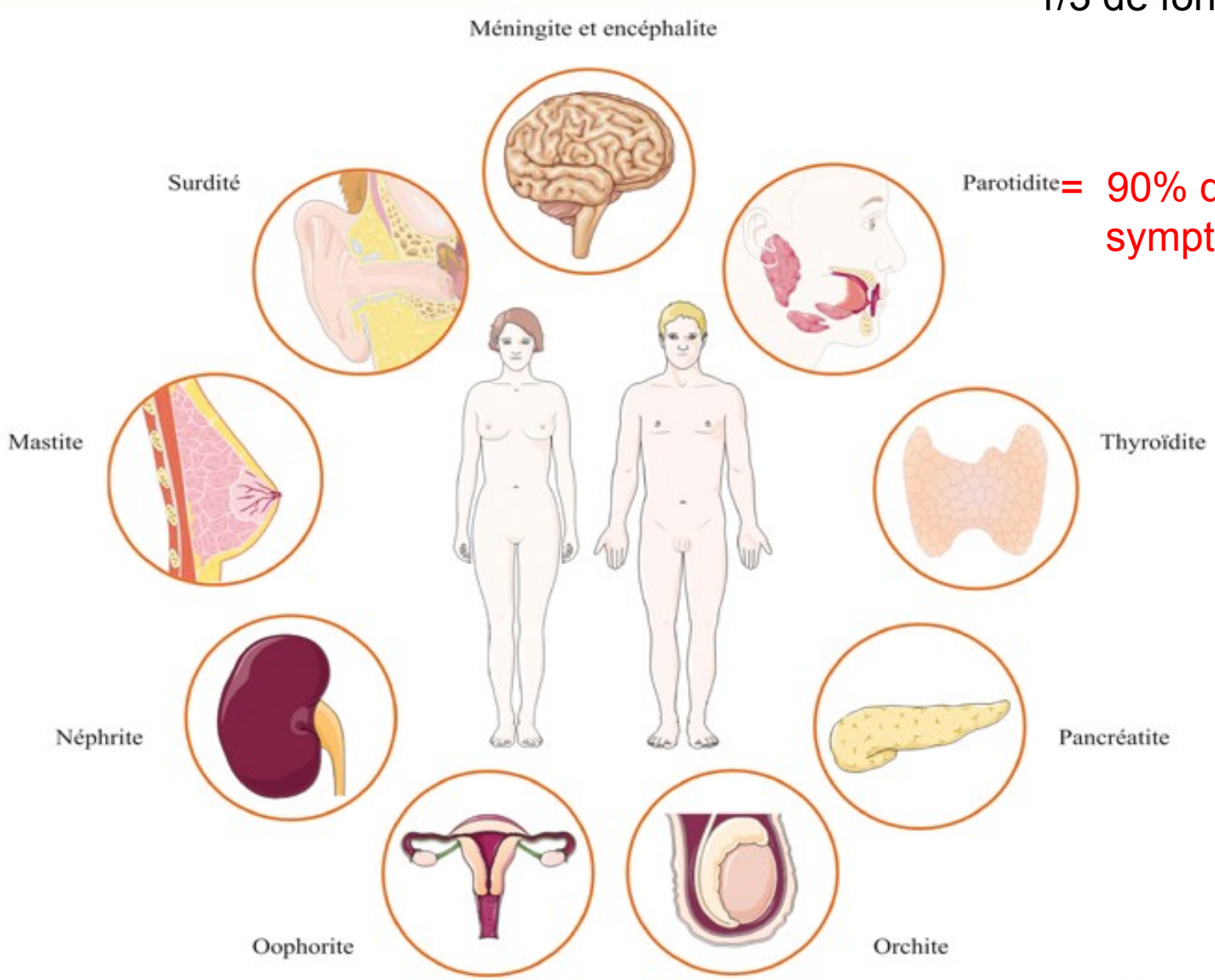
- Incubation 18-21 jours (15 – 24 jours)
- Virus original par son tropisme Glandes exocrines , méninges
- Par Salive , voie digestive et aérienne ,restreint aux humains, contact direct, salive contagieuse 7 j avant et 9j après le début (Ennis FA 1968)

Infection nasale et infection voie resp sup ; → virémie,

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

Principales manifestations cliniques liées à l'infection par le virus ourlien

1/3 de formes inapparentes



= 90% des formes symptomatiques

Oreillon (parotidite)

Évolution

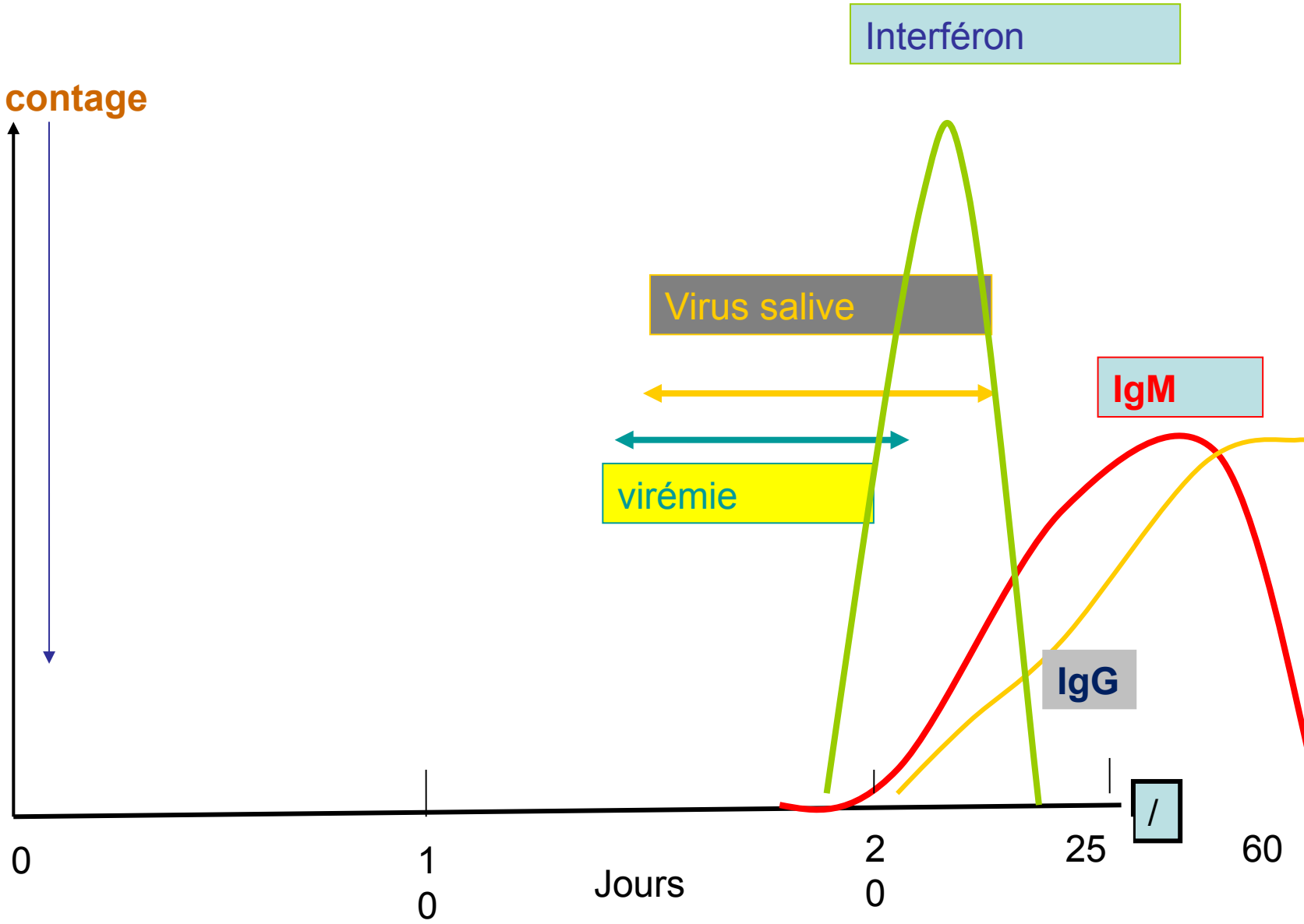
- Parotidite une semaine, atteinte bilatérale
  9 fois/10

- 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
1
0
Jours
2
0
25
60

Diagnostic, Méthodes

- **Méthodes directes**:
- Isolement Viral dans salive, LCR urines ,sang
- Culture cellulaire ECP en 5 à 10 jours type syncytial, méthode rapide par centrifugation 700g, 1heure à 20°C 2jours identification par immunofluorescence,
- Immunofluorescence, protéines virales et IP
- ARN viral par RT-PCR (RT PCR temps réel, PCR souche sauvage ou vaccinale, Génotypage

Diagnostic

- **<u>Méthodes indirectes</u>**:
- IgM sériques, ELISA ,immunocapture et hémadsorption 7 éme-10éme jour ,
- Risque de négatifs si vaccination
- augmentation des IgG: ELISA
- Statut immunitaire : IgG Elisa,

Vaccination

Vaccin atténué

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

- 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