A l'aube d'une pandémie…
Identification et caractérisation d'un nouveau coronavirus

D'après l'article Zhou et al. « A pneumonia outbreak associated with a new coronavirus of probable bat origin », Nature 579 : 270-275 (2020).

M. Ogliastro[1], J. Muller[2], I. Martin[3], F. Soulier[3], J-L. Tolédano[3]

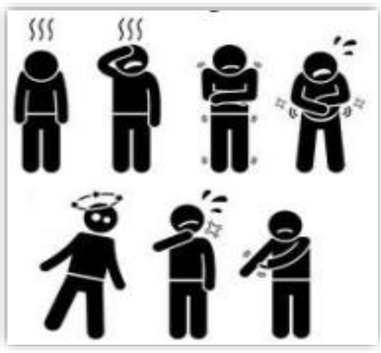
1. DGIMI, Université de Montpellier, INRAe, 2. Collège du Bosquet, Bagnols sur Cèze, 3. Lycée A. Einstein, Bagnols sur Cèze

Une pneumonie atypique à Wuhan en Chine…

La survenue de cas de pneumonie atypique à l'hôpital de Wuhan en Chine en décembre 2019 impose des recherches rapides de son agent causal.
Les symptômes de cette pneumonie étant ceux d'un syndrome respiratoire sévère, les scientifiques se sont rapidement orientés vers un coronavirus. S'appuyant sur les connaissances acquises lors des précédentes pandémies virales SARS* et MERS*, ils disposaient d'outils qui ont accéléré l'identification de ce nouveau virus.

** SARS, Severe Acute Respiratory Syndrome (SRAS en français : syndrome respiratoire aigu sévère).*
** MERS, Middle East Respiratory Syndrome (SRMO en Français : syndrome respiratoire du Moyen-Orient).*

L'identification d'un nouveau coronavirus



7 patients admis à l'hôpital Jin Yin-Tan de Wuhan présentent les symptômes d'une pneumonie sévère. Des prélèvements oraux et nasopharyngés sont réalisés pour analyse.

Recherche de l'agent infectieux par **PCR avec des amorces universelles à tous les coronavirus connus**

5 d'entre eux sont dépistés comme infectés par un coronavirus. Une seconde série de prélèvements oraux, anaux et sanguins sont réalisés.

Recherche du virus impliqué dans l'infection par séquençage de tous les virus à ARN présent dans le prélèvement bronchoalvéolaire d'un des patients (**approche métagénomique)**

Pour en savoir plus sur la métagénomique

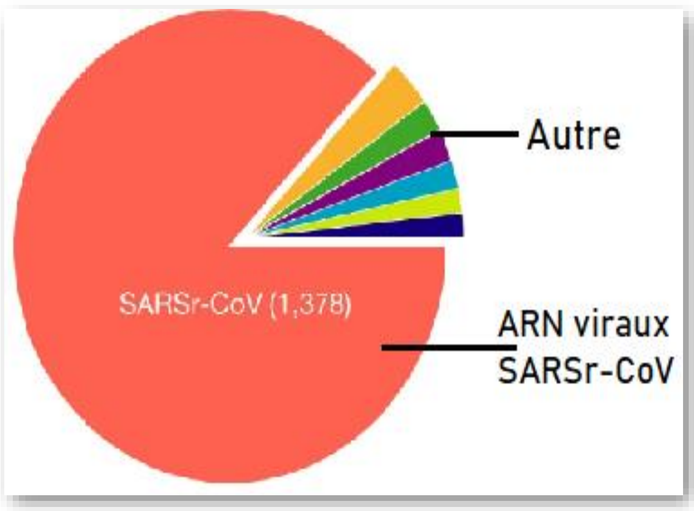
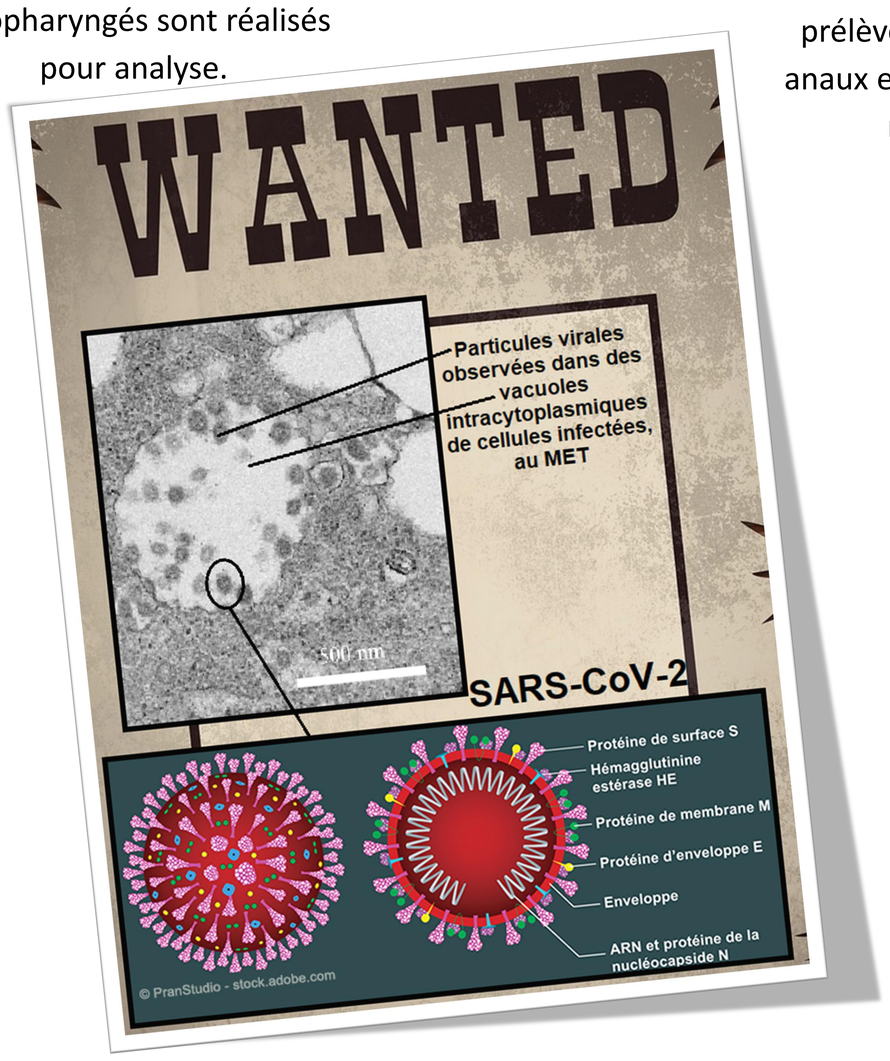


Figure 1. Resultats de l'identification par métagénomique des virus à ARN du patient

87% des ARN viraux identifiés chez le patient sont des ARN de virus connus : les SARSr-CoV.

Séquençage du matériel génétique du **SARSr-CoV** impliqué dans l'infection du patient



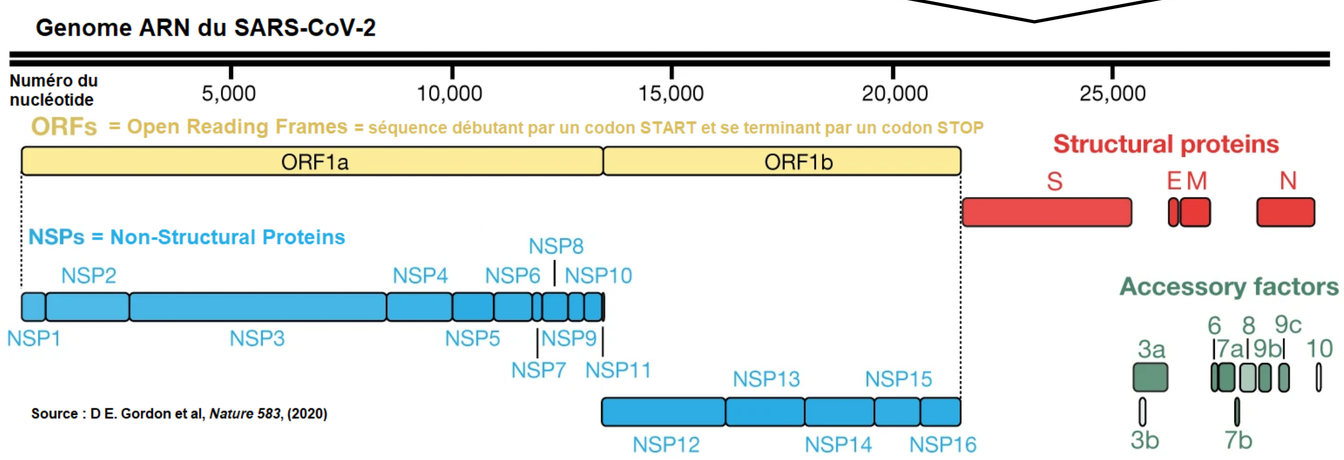


Figure 2. Le génome de SARS-CoV-2. Long de 30000 bases, l'ARN viral code 4 protéines de structure (rouge), 9 facteurs accessoires (vert) et 2 polyprotéines (2 ORFs jaunes) qui sont découpées en 16 protéines (bleu) non structurales (NSP).

L'identification rapide par une approche métagénomique de ce nouveau SARS-CoV, suivie de son séquençage ont initié l'élaboration de tests de dépistage par RT-qPCR.

La connaissance précise de son génome a permis la production d'amorces spécifiques du SARS-CoV-2 indispensables à la mise en œuvre de ces tests.

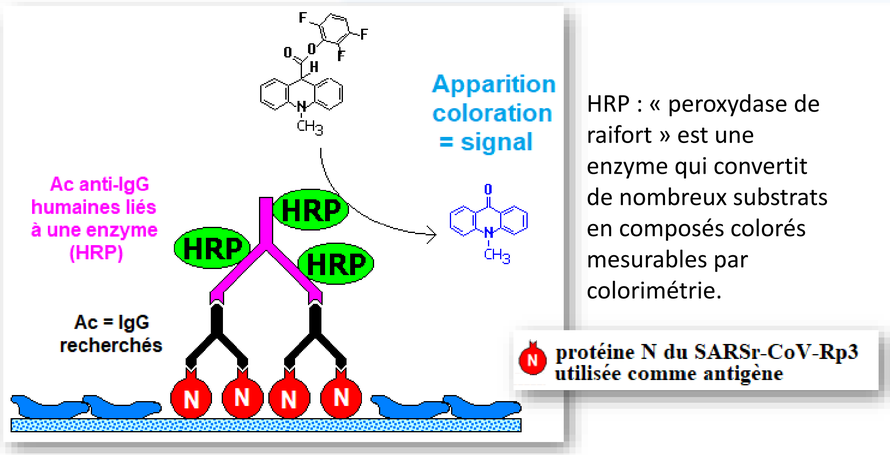
Pour en savoir plus sur la technique de RT-qPCR

La caractérisation antigénique du SARS-CoV-2

Sérum de 5 patients atteints par Sars-CoV-2

Utilisation de la protéine N du SARSr-Rp3* comme antigène dans la recherche d'anticorps (IgG) dans le sang des patients, par ELISA

* présentant 92% d'identité avec la protéine N du Sars-Cov-2



HRP : « peroxydase de raifort » est une enzyme qui convertit de nombreux substrats en composés colorés mesurables par colorimétrie.

Figure 3. Principe de la recherche d'anticorps anti-N par ELISA

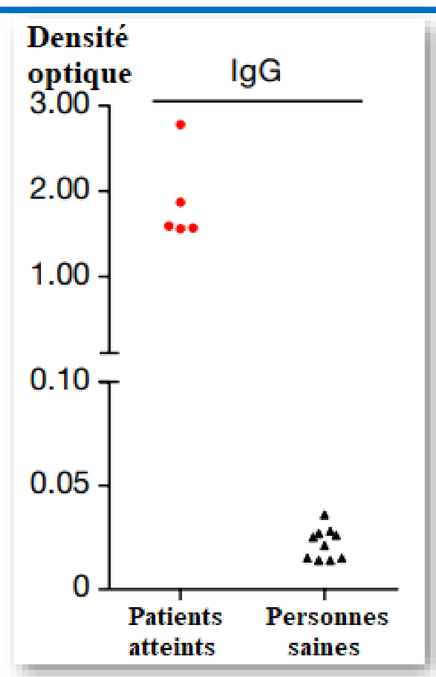


Figure 4. Comparaison du niveau d'anticorps viraux des 5 patients atteints 20 jours après l'apparition de la maladie avec celui de personnes saines

Les 5 patients produisent des anticorps (IgG) anti-N de SARSr-CoV, contrairement aux personnes saines.

Le nouveau virus est immunogène :

il induit la production d'anticorps anti-N détectables par ELISA.

La neutralisation du SARS-CoV-2 par ces anticorps (IgG) détectés a été vérifiée par immunofluorescence.

Cela conduit à la mise au point de sérodiagnostics avec des antigènes spécifiques du SARS-CoV-2.

Conclusion

Le coronavirus responsable de la pandémie de la COVID 19 a été identifié un mois seulement après l'apparition des premiers cas de pneumonie. Son génome rapidement séquencé a permis l'élaboration d'un test PCR spécifique. La découverte d'anticorps quantifiables par ELISA a conduit à la conception de sérodiagnostics utilisés en routine. **Ainsi, la rapidité des techniques de séquençage ainsi que les outils de dépistage développés lors de précédentes épidémies de SARS et MERS (antigènes et anticorps) ont facilité l'identification de ce nouveau virus et ont joué un rôle clé dans la surveillance épidémiologique du SARS-CoV-2. L'ensemble de ces techniques sont transposables à l'identification de nombreux microorganismes pathogènes, particulièrement les virus.**