

Alerte avancée

Sándor Belák

La grippe aviaire a gagné 51 pays – 36 rien que cette année – dont beaucoup sont densément peuplés et pauvres.

Les techniques nucléaires peuvent-elles aider à détecter ces maladies contagieuses ?

Des maladies animales très contagieuses, transmissibles à l'homme, inquiètent de plus en plus.

Parmi ces maladies, on compte la fièvre aphteuse, la peste porcine, la peste bovine et la très pathogène grippe aviaire, qui fait la une de tant de journaux. Ces maladies, que les experts appellent « zoonoses » (maladies animales transmissibles à l'homme) apparaissent et réapparaissent régulièrement dans le monde. Elles causent des pertes qui se chiffrent à plusieurs milliards de dollars et menacent la santé, la vie et la subsistance de millions de familles paysannes pauvres et de leurs voisins.

Au cours des seuls 18 mois, l'Office international des épizooties (OIE, Organisation mondiale de la santé animale) a signalé un nombre élevé d'épidémies de zoonoses sur plusieurs continents – fièvre aphteuse en Afrique, en Asie et en Amérique latine ; peste porcine classique en Afrique, en Asie et en Europe ; et peste bovine en Afrique et en Asie. Plus récemment, en outre, la presse s'est beaucoup fait écho de la très pathogène grippe aviaire (H5N1), qui a provoqué de graves épidémies en Asie, en Afrique et en Europe. De nombreux oiseaux, animaux et individus sont tombés malades et des millions sont morts.

Le coût de ces épidémies doit être envisagé à la lumière des efforts qu'il faut mener pour enrayer la maladie et de la perte de moyens d'existence qui en résulte. Pour l'épidémie de fièvre aphteuse qui a touché le Royaume-Uni en 2001, par exemple, on a estimé le coût à plus de 4,5 milliards d'euros pour le secteur public et à plus de 7,5 milliards d'euros pour le secteur privé. Les problèmes éthiques que soulève la stratégie d'éradication et les conséquences sociales de l'abattage d'un nombre important d'animaux sont quelques-uns des coûts cachés qu'il faut prendre en compte lorsqu'on évalue les effets de ces maladies menaçantes.

Aujourd'hui, des organisations et des experts se regroupent pour prévenir et combattre les zoonoses. Il s'agit notamment de services vétérinaires, d'instituts de recherche et d'organisations internationales, dont l'AIEA et la FAO, qui gèrent une division commune à Vienne (Autriche). Le programme mixte FAO/AIEA œuvre à la détection rapide de nouvelles maladies, y compris la grippe aviaire, et utilise pour ce faire des techniques nucléaires et radiologiques.

Les problèmes sont graves et difficiles à surmonter, mais ces techniques peuvent offrir une solution.

Dans les pays en développement, il faut impérativement détecter les zoonoses. Le problème tient à l'incapacité de ces pays à détecter rapidement le virus et à déterminer s'il s'agit du H5N1 ou d'un autre sous-type, de façon que les autorités puissent prendre des mesures appropriées. D'importants efforts se concentrent sur la détection rapide des agents. En détectant rapidement ces infections virales, on peut empêcher que les maladies se propagent à d'importantes populations animales, cela dans des régions entières. C'est pourquoi la recherche vétérinaire se concentre, aujourd'hui, sur la mise au point de méthodes de diagnostic nouvelles et puissantes utilisant les techniques nucléaires.

La virologie moléculaire propose plusieurs méthodes nouvelles capables d'accélérer et d'améliorer le diagnostic de maladies infectieuses chez l'animal et chez l'homme. Des méthodes moléculaires telles que l'amplification génique permettent un diagnostic très rapide. La détection de virus peut s'effectuer en quelques heures, parfois quelques minutes, avec une sensibilité inférieure à un organisme pathogène.

Les méthodes moléculaires ont grandement facilité la détection rapide d'agents infectieux bien établis ou nouveaux tels que les virus Nipah et Hendra ou les virus corona dans le cas du SRAS, ainsi que la détection et la caractérisation moléculaire du très pathogène H5N1, virus de la grippe aviaire qui menace le monde aujourd'hui. Les méthodes d'amplification génique, autrefois lourdes et onéreuses, sont devenues relativement abordables et faciles à utiliser dans les laboratoires de diagnostic.

En Suède, l'amplification génique a commencé à être utilisée dès 1987, juste deux ans après la première description du principe. Au cours des deux dernières décennies, plus de 50 méthodes de ce type ont été mises au point et validées ici ; elles sont régulièrement utilisées dans le laboratoire de diagnostic.

Lorsqu'on étudie la parenté génétique de divers virus, le but n'est pas d'obtenir une détection large, mais une haute résolution phylogénétique ou empreinte du virus ou isolat parti-

culier. Pour cela, on vise les régions génomiques variables des virus, qui indiquent leur évolution et souvent, par là-même, l'origine de l'infection initiale. Ces méthodes phylogénétiques sont utilisées pour grouper les pestivirus, y compris ceux de la peste porcine et de l'entérite virale bovine, et pour classifier les isolats pathogènes (le H5N1, en l'espèce).

L'amplification génique à haute résolution phylogénétique est utile pour identifier rapidement diverses variantes de virus. L'identification génétique est exacte et rapide (quelques jours ou heures). La propagation de variantes de virus peut être détectée et interrompue rapidement afin d'empêcher que le virus ne se diffuse dans des régions entières.

L'identification phylogénétique rapide et la détermination de l'origine des virus forment ce qu'on appelle « l'épizootologie moléculaire ». Des études de ce type ont été menées, par exemple, lorsque des variantes génétiques de virus classique de la peste porcine ont été identifiées dans plusieurs pays d'Europe centrale et lorsqu'il a été émis l'hypothèse que les génotypes européen et américain du virus du syndrome respiratoire et reproductif porcin provenaient d'un ancêtre commun situé en Europe de l'Est.

L'amplification génique en temps réel est un moyen nouveau et rapide de détecter les virus. Le diagnostic peut en outre être automatisé en utilisant des robots pour extraire et pipeter l'acide nucléique. Par rapport aux méthodes précédentes, l'amplification en temps réel présente un autre avantage : elle permet de réaliser des titrages, ce qui permet d'estimer la charge virale (quantité de virus dans le sang). L'aspect quantitatif est essentiel lorsqu'un virus fréquemment observé chez l'animal semble provoquer des symptômes liés à la charge virale, comme les coronavirus félins ou le circovirus 2 porcin. Il importe également de mesurer la charge virale lorsqu'on veut estimer les effets de traitements antiviraux, en particulier en virologie humaine.

Pour garantir la fiabilité de l'amplification diagnostique, il faut introduire des contrôles internes. En incluant un contrôle intrinsèque doté d'un fluorophore spécifique, nous obtenons des informations sur la qualité de l'échantillon et les erreurs de pipetage. Simultanément, le système montre l'amplification des séquences de nucléotide cible et accroît la sûreté du diagnostic.

Aujourd'hui, les autorités nationales et internationales exigent toutes la preuve que les méthodes de diagnostic sont aussi fiables que possible. Des organisations internationales telles que l'OIE, la FAO et l'AIEA, les instituts de recherche nationaux et les entreprises commerciales font d'importants efforts pour s'entendre sur une norme internationale.

Compte tenu de ces prescriptions, les laboratoires ont commencé à valider et à normaliser les méthodes standard de diagnostic par amplification génique. La norme EN ISO/IEC 17025:2000, par exemple, donne des directives à un laboratoire accrédité et précise nombre de paramètres importants. L'OIE a également publié, en 2000, une norme de validation de méthodes de diagnostic vétérinaire.

Avec les méthodes moléculaires, un ou deux jours, soit bien moins qu'avec les méthodes traditionnelles. En Suède, une

méthode d'amplification génique en temps réel et en une étape a été mise au point pour détecter rapidement et simultanément un large spectre de virus de la grippe y compris ceux, hautement pathogènes, liés à la grippe aviaire.

L'identification et la détection rapides de virus permettent de déclencher une alerte avancée, en particulier dans les pays en développement. La détection simultanée de différents sous-types de grippe aviaire permet aux autorités de suivre l'occurrence des souches chez les oiseaux sauvages, la volaille d'élevage et certains mammifères. Cette méthode très rapide et fiable permet de diagnostiquer l'une des pires zoonoses qu'ait connues la planète.

Sándor Belák (sander.belak@sva.se) travaille à la Division mixte de recherche-développement du Département de virologie de l'Université suédoise des sciences agricoles (SLU) et de l'Institut vétérinaire national (SVA), à Uppsala (Suède).

Grippe aviaire : généralités

Techniquement, l'influenza ou « grippe » aviaire se définit par des chiffres et des lettres : HPAI du sous-type H5N1.

L'épidémie actuelle de grippe aviaire a débuté en Asie en 2004 et est imputable à un virus du sous-type H5. En outre, le virus a été caractérisé comme étant du sous-type N1, constatation importante qui a révélé que la grippe pouvait être fatale chez l'homme.

La grippe HPAI survient lorsque l'animal est infecté par certaines souches de virus influenza-A. Les souches sont réparties en sous-types en fonction de leurs deux protéines externes, appelées hémagglutinine (H) et neuraminidase (N).

Comment le virus est-il identifié et détecté ? Généralement, dans l'échantillon pathologique, le virus est tout d'abord isolé dans les embryons des œufs de poule. Cela prend entre quatre et sept jours. Le sous-type du virus isolé doit alors être identifié par une batterie d'anticorps spécifiques opposés aux différentes protéines H et N.

L'identification ne peut s'effectuer que dans des laboratoires spécialisés. Pour confirmer la pathogénicité d'un sous-type, le virus isolé (isolat) doit être ensuite inoculé à des poulets âgés de quatre à huit semaines et sensibles au virus. Les souches sont considérées hautement pathogènes si elles entraînent, en dix jours, une mortalité supérieure à 75% chez les poulets inoculés.

Le principal problème est la longueur des procédures de détection actuelles. Avec l'appui de l'AIEA, de la FAO et d'autres instituts et organisations, heureusement, des méthodes plus rapides voient le jour.