

GRIPPE

DEFINITION

La grippe est une maladie virale épidémique causée par un ensemble de virus appartenant à la famille des *Orthomyxoviridae*. Ces virus grippaux constituent le genre *Influenzavirus* (virus ARN monocaténaire, segmenté en 8 brins). Ils sont répartis en 3 types : A, B et C.

Les Influenzavirus A comprennent des virus humains et des virus animaux voisins (responsables des gripes équine, porcine, aviaire) ; eux seuls peuvent provoquer des pandémies. Ils sont classés en sous-types en fonction des caractères antigéniques des glycoprotéines de surface : Hémagglutinine (H) et Neuraminidase (N). A ce jour, 15 H (H1 à H15) et 9 N (N1 à N9) ont été identifiées chez les oiseaux migrateurs. Chez l'homme, seuls les 3 H (H1 à H3) et 2 N (N1 à N2) sont connus et responsables d'épidémies de grippe. Chaque souche porte un nom précis : le type/le lieu d'origine/un numéro/l'année d'isolement.

Exemples : A/New Caledonia/20/99 (H1N1), A/Moscow/10/99 (H3N2), B/HongKong/330/2000.

BIOPATHOLOGIE

■ EPIDEMIOLOGIE

La grippe se déclare en hiver sous forme d'épidémies annuelles (virus A et B surtout) ou parfois même de pandémies dont l'apparition est liée à un réappariement génétique entre souches animales et souches humaines.

Le virus se transmet facilement d'une personne à l'autre par voie aérienne, au moyen des microgoutelettes et des particules excrétées par les sujets infectés lorsqu'ils toussent ou éternuent. Le virus grippal pénètre dans l'organisme par le rhino-pharynx. Les symptômes apparaissent de 1 à 4 jours après la contamination. Les sujets atteints deviennent contagieux un jour avant l'apparition des symptômes et le restent pendant 7 jours.

La maladie se propage rapidement, en particulier quand il y a de fortes concentrations de populations. Le virus survit plus longtemps à l'extérieur de l'organisme lorsque le temps est sec et froid, raison pour laquelle les épidémies saisonnières surviennent en hiver dans les climats tempérés.

■ MECANISMES D'APPARITION DES VIRUS DE LA GRIPPE

Tandis que B et C sont relativement stables, le virus A évolue sans cesse selon deux mécanismes principaux.

Le premier est appelé **glissement** antigénique : des mutations de gènes codant pour des protéines de surface provoquent des modifications mineures du virus. Le nouveau variant reste très proche du précédent, si bien que l'immunité conférée par une grippe contractée précédemment protégera contre le nouveau variant. Depuis vingt-cinq ans, les virus en circulation sont des descendants du virus Hong-Kong (1968). Actuellement les 2 sous-types d'Influenzavirus A, H3 N2 et H1 N1, cohabitent dans le monde.

Le deuxième phénomène de variation, appelé **cassure**, peut être plus grave. Des changements radicaux des protéines antigéniques du virus (provenant souvent de la recombinaison entre les gènes H et/ou N de virus humains et de virus animaux) donnent naissance à un nouveau virus, totalement différent de celui qui circulait jusque-là. Ce nouveau virus apparaît et gagne tous les continents. C'est la **pandémie**.

1918-1919 : Pandémie de grippe « espagnole » : virus A (H1N1) ; 20 millions de morts dans le monde.

1958-1959 : Pandémie de grippe « asiatique » : virus A (H2N2), causée par le changement simultané de H et de N (H2 N2 remplaçant le précédent virus H1 N1) : 70 000 morts aux Etats-Unis.

1968-1970 : Grippe de Hong Kong, virus A (H3N2) : plus d'un millions de morts dans le monde dont 18 000 en France par un seul changement de H seulement (H2 en H3).

1977-1978 : Grippe « russe » virus A (H1N1) avec réapparition du virus ayant sévi entre 1947 et 1957 responsable de la grippe espagnole.

■ CLINIQUE

Le virus se réplique dans les cellules cylindriques ciliées de l'arbre respiratoire.

Après 1 à 2 jours d'incubation, les signes cliniques non spécifiques apparaissent comprenant une fièvre élevée, des courbatures, des céphalées, des myalgies et des arthralgies. Un peu plus tardivement se déclare la toux d'origine laryngotrachéale ou bronchitique, plus ou moins accompagnée de signes d'irritation conjonctivale. La fièvre diminue vers le 3^e ou 4^e jour avec impression de guérison. Elle remonte souvent juste après pour tomber complètement vers le 6^e jour. Le malade guérit en conservant toutefois une asthénie persistante.

Des formes graves avec complications surviennent principalement chez des sujets fragilisés dits « sujets à risque » : insuffisants respiratoires, asthmatiques, bronchitiques, immunodéprimés, diabétiques, personnes âgées.

Il peut s'agir de complications respiratoires liées au virus lui-même (OAP, insuffisance respiratoire aiguë) ou à des surinfections bactériennes (bronchites, otites, pneumonies), mais aussi de complications neurologiques et cardiovasculaires.

INDICATIONS DE LA RECHERCHE DU VIRUS

- Chez un sujet qui présente une infection respiratoire aiguë sévère.
- Dans le cadre d'enquêtes épidémiologiques à l'échelon national ou international.
- Dans l'étude du suivi des modifications antigéniques et de l'apparition de nouveaux variants du virus pour prévoir une vaccination adaptée et efficace.

RECOMMANDATIONS PREANALYTIQUES

■ PRELEVEMENT – CONSERVATION, TRANSPORT

Prélèvements d'origine respiratoire : sécrétions nasopharyngées recueillies, soit par aspiration, soit par écouvillonnage nasal profond ; sécrétions bronchiques ou lavage broncho-alvéolaire. L'écouvillonnage de gorge n'est pas recommandé.

En vue d'un diagnostic rapide d'orientation ou d'une RT-PCR, ils sont à effectuer dans les 2 jours qui suivent l'apparition des signes cliniques et avant tout traitement. Au delà, la sensibilité du diagnostic diminue fortement.

Prélèvements sanguins : pour diagnostic sérologique (rétrospectif ou à visée épidémiologique).

Se reporter au référentiel des examens de biologie médicale Biomnis en ligne pour les conditions de prélèvement et conservation-transport.

■ QUESTIONS A POSER AU PATIENT

- Age ?
- Vaccination ?
- Pathologie associée ?

METHODES DE DIAGNOSTIC

■ DIAGNOSTIC DIRECT

Le virus est présent dans le système respiratoire dès le début de la maladie. On peut rechercher les antigènes viraux par immunofluorescence (IF) ou ELISA, ou le virus par culture cellulaire ou RT-PCR.

Compte tenu du risque élevé de contagion, il est important de connaître l'étiologie réelle d'un syndrome grippal (épisode fébrile aigu, d'apparition brutale, avec signes respiratoires) le plus rapidement possible, en particulier dans les collectivités à risque élevé (personnes âgés, enfants fragilisés, immunodéprimés). Ce diagnostic permet de limiter la prescription d'antibiotiques et d'examen complémentaires, parfois même de commencer un traitement par des antineuraminidases.

Il devient donc important que les laboratoires en relation avec ces collectivités, s'équipent avec des

dispositifs de diagnostic rapide, de type « savonnette » ou bandelette, qui permettent de poser le diagnostic d'infection grippale à partir d'un écouvillonnage ou d'une aspiration des sécrétions nasales de manière simple, rapide et suffisamment fiable (valeur prédictive positive : 90 %, valeur prédictive négative : 60 %).

■ Détection d'antigènes viraux

Par IF : elle est réalisée sur l'échantillon respiratoire après frottis sur lame, par contact avec un anticorps monoclonal, soit directement marqué à l'aide d'un fluorochrome, soit non marqué (la révélation se faisant alors par un anticorps anti-souris marqué).

Il existe des trousse commerciales permettant l'identification groupée des virus grippaux et d'autres virus respiratoires, comme les Adénovirus, le virus respiratoire syncytial, les virus parainfluenzae.

L'IF permet un diagnostic rapide mais sa sensibilité est théoriquement moindre que celle de la culture (60 à 70 %).

Par ELISA : on peut détecter les antigènes grippaux par capture à l'aide d'un anticorps monoclonal puis révélation par méthode immuno-enzymatique. Il existe un test ELISA sur membrane (« savonnettes »). La sensibilité de ces tests est supérieure, mais il faut se méfier des réactivités non spécifiques, surtout pour des valeurs de signal faible.

■ Culture cellulaire

C'est la technique de référence réservée aux laboratoires de virologie spécialisés : elle permet l'identification antigénique complète (type, sous-type et variant) du virus grippal et reste la technique de choix utilisée dans la perspective vaccinale. Elle est limitée par son délai de réponse (> 4 jours).

L'inoculation se fait sur œuf de poule embryonné ou sur cellules MDCK (lignée continue de cellules de rein de chien). La révélation du virus est faite par hémadsorption à l'aide de suspensions d'hématies ou par IF à l'aide de réactifs identiques à ceux utilisés pour la recherche virale directe.

Si elle s'avère positive, elle sera suivie par l'identification du virus par technique d'inhibition de l'hémagglutination ou neutralisation de la fluorescence.

■ PCR

Détection de l'ARN du virus grippal (grippe A + B) par amplification génique après transcription reverse (RT-PCR). La sensibilité et la spécificité de la technique sont > 95 % et le délai de réponse de 36 h.

■ DIAGNOSTIC INDIRECT

■ Réaction de fixation du complément

Permet la mise en évidence d'anticorps totaux antiviral influenza A ou B, car ces anticorps sont surtout dirigés contre l'antigène interne du virus (la NP) spécifique de

type A ou B. Leur apparition est lente et ils ne sont plus détectables 3 mois après l'infection.

Un titre > ou égal à 64 peut signifier une infection récente. C'est l'augmentation du taux d'anticorps sur le 2^e prélèvement d'au moins 2 dilutions, qui permettra de conclure à une infection récente.

■ Inhibition de l'hémagglutination (IHA)

Permet la révélation d'anticorps dirigés contre des antigènes d'enveloppe et donc spécifiques de types, sous-types et variants.

Il existe d'autres techniques sérologiques : **ELISA, réactions de neutralisation** qui, avec l'IHA, sont réservées à des laboratoires spécialisés dans le cadre d'études épidémiologiques.

INTERPRETATION

Le diagnostic direct rapide est intéressant dans un contexte d'urgence : grippe avec infection respiratoire aiguë pouvant avoir conduit à une hospitalisation. La PCR permet un diagnostic de certitude et l'identification de la souche. La culture reste indispensable à la caractérisation des souches dans une perspective vaccinale. Le diagnostic sérologique ne permet qu'un diagnostic rétrospectif. La RFC garde son intérêt en cas de retard de diagnostic par rapport à l'apparition des premiers signes cliniques. Elle est utilisée également pour suivre la progression d'une épidémie au sein d'une collectivité ou dans une population à risque.

TRAITEMENT

La progression de l'infection par les virus A et B dans le système respiratoire peut être ralentie par les antineuraminidases (Zanamivir[®], Tamiflu[®]), à condition de les administrer dans les 24 à 48 premières heures de la maladie.

Seule la vaccination limite la diffusion de la grippe. Elle est d'ailleurs vivement recommandée chez les groupes de patients à risque ainsi que chez le personnel de santé. Elle doit être pratiquée tous les ans, compte tenu de la variabilité des souches en circulation.

En 2009, suite à la pandémie de grippe due au virus A/H1N1v, ont été développés plusieurs vaccins grippaux monovalents inactivés contre le virus H1N1v, à virus fragmenté ou non, Celvapan[®], Focetria[®], Pandemrix[®], Panenza[®], avec adjuvant lipidique (Focetria[®]) ou ASO3 (Pandemrix[®]) visant à amplifier la réponse immunitaire.

Par ailleurs, de nouvelles méthodes de production en culture cellulaire ont été développées : différentes lignées cellulaires sont désormais disponibles pour produire des vaccins anti-grippaux, mais il existe aussi d'autres méthodes de production, notamment la culture sur cellules d'insectes via une recombinaison dans un baculovirus. Des travaux de recherche sont

actuellement menés pour obtenir un vaccin multivalent universel contre la grippe, dirigé contre la protéine M2 (constante).

Un autre progrès est le développement de nouvelles voies d'administration : patchs transdermiques, voie intradermique, voie muqueuse (instillation nasale). Ceci est important car, la vaccination devant être répétée chaque année, le frein dû à la piqûre pourrait ainsi être levé. De plus, la voie intradermique est performante pour la vaccination, l'épaisseur du derme étant constante, quels que soient l'âge, le sexe, l'indice de masse corporelle.

Une étude de phase 3, multicentrique, randomisée, ouverte et contrôlée, évaluant l'immunogénicité de Intanza[®] 15 µg, a comparé les voies ID et IM et a conclu à une supériorité de l'immunogénicité de la voie ID *versus* la voie IM. Ce vaccin n'est pas encore commercialisé en France, mais attendu, ce d'autant qu'une très bonne tolérance a été rapportée après injection ID de Intanza[®] à l'aide d'une micro-aiguille.

POUR EN SAVOIR PLUS

- Freymuth F. *Virus influenza*. Encycl Med Biol (Elsevier PARIS) 2003.
- Rédaction de la revue prescrire. Vaccins grippaux H1N1v. Revue Prescrire 2009 ;tome29 (n°313) :806-810.
- Société française de microbiologie, *Virus de la grippe*, In : REMIC : Société Française de Microbiologie Ed ;2015 :663-8.