



ECOLE INTER-ETATS DES SCIENCES ET MEDECINE VETERINAIRES
DE DAKAR

BP 5077 - Tél +221 33 865 10 08 - Télécopie +221 33 825 42 83
<http://www.eismv.refer.sn>

Département Communication
Centre d'Information et de Documentation

25 avril 2009
26

1^{er} Bulletin alerte grippe porcine

Il vient d'être fait état de cas de grippe porcine dans les Amériques. Pour vous permettre de suivre l'actualité, car c'est une pathologie qu'il faudra surveiller de très près comme du lait sur le feu, parallèlement à la grippe aviaire (vu les connivences possibles entre ces deux pathologies, ce que l'on ne souhaite pas), je vous envoie ce 1^{er} bulletin d'alerte. Vous trouverez, en plus des dernières informations sur cette épidémie qui vient d'éclorre, les premiers éléments d'informations sur cette pathologie. Il s'agit du manuel de l'OIE (2005) le chapitre sur la grippe porcine ainsi que et qu'un document de Caribvet

1) Manuel de l'OIE chapitre 2 10 11 disponible à l'URL suivante :
http://www.oie.int/fr/normes/mmanual/pdf_fr/chapitre%20final05%202.10.11_grippe%20porcine.pdf

Manuel terrestre de l'OIE 2005 1219

CHAPITRE 2.10.11.

GRIPPE PORCINE

RÉSUMÉ

La grippe porcine est une infection virale hautement contagieuse des porcs. Les infections à virus influenza porcin (SIV, Swine influenza virus) sont la cause d'une maladie respiratoire caractérisée par de la toux, des étouffements, du jetage, des températures rectales élevées, de la léthargie, une respiration difficile et une baisse de l'appétit. Dans certains cas, les infections à SIV sont associées à des troubles de la reproduction tel l'avortement. Les signes cliniques et l'excrétion nasale du virus peuvent survenir dans les 24 h suivant l'infection. Les taux de morbidité peuvent atteindre 100 % dans les cas d'infections par le SIV, tandis que les taux de mortalité sont généralement faibles. Les infections bactériennes secondaires peuvent aggraver les signes cliniques résultant de l'infection à SIV. La transmission se fait par contact avec des sécrétions contenant des particules virales, telles que les aérosols, générés par les toux et les étouffements, et les jetages nasaux.

Identification de l'agent pathogène : le meilleur moyen pour identifier le virus est de collecter des prélèvements dans les 24 à 48 h qui suivent l'apparition des signes cliniques. Le porc de choix est un animal non traité, encore malade, avec une température rectale élevée. Le virus peut être facilement détecté dans le tissu pulmonaire et les écouillons nasaux. L'isolement viral peut être effectué sur œufs de poule embryonnés et sur lignées cellulaires continues. Les virus isolés peuvent être sous-typés par les tests d'inhibition de l'hémagglutination (IHA) et d'inhibition de la neuraminidase. Une analyse par immunohistochimie peut être menée sur prélèvements de tissu fixés au formol et une épreuve d'immunofluorescence peut-être réalisée sur tissu frais. Des épreuves de réaction d'amplification en chaîne par la polymérase (PCR) sont également disponibles. Des épreuves immuno-enzymatiques (ELISA) sont disponibles dans le commerce pour la détection des virus influenza de type A.

Épreuves sérologiques : la principale épreuve sérologique pour la détection des anticorps anti-SIV est l'IHA menée sur des paires de sérums. L'IHA est spécifique du sous-type. Les sérums sont généralement collectés à 10-21 jours d'intervalle. Une augmentation du titre de 4 fois ou plus entre le premier et le deuxième prélèvement évoque une infection SIV récente. Les autres épreuves sérologiques qui ont été décrites sont l'épreuve d'immunodiffusion en gélose, l'épreuve d'immunofluorescence indirecte, la neutralisation virale et l'ELISA.

Spécifications applicables aux vaccins et aux produits biologiques à usage diagnostique : des vaccins inactivés et adjuvés sont disponibles dans le commerce. Les vaccins peuvent relever d'un seul sous-type de SIV ou contenir plusieurs sous-types. Les vaccins doivent refléter le profil antigénique des souches contemporaines en circulation sur le terrain, en contenant sous-types et souches qui sont changés en tant que de besoin, afin d'assurer la protection. Le vaccin adapté doit avoir été démontré être pur, sans danger, actif et efficace.

A. INTRODUCTION

La grippe porcine est une infection hautement contagieuse des porcs pouvant avoir un impact économique significatif sur un troupeau atteint (5, 16). Le virus influenza porcine (SIV) est un orthomyxovirus de type A, à génome à ARN segmenté. Les virus influenza porcins de type A sont eux-mêmes subdivisés sur la base de leurs protéines : hémagglutinine et neuraminidase. Les sous-types de SIV qui sont les plus fréquemment identifiés chez les porcs sont H1N1, H1N2 et H3N2. Les autres sous-types qui ont été identifiés chez les porcs incluent H1N7, H3N1, H4N6 et H9N2. Les virus H1N1, H1N2 et H3N2 trouvés en Europe sont antigéniquement et génétiquement différents de ceux trouvés aux États-Unis d'Amérique (1, 2, 4, 8, 12, 15, 20). Les porcs ont, dans leur tractus respiratoire, des récepteurs qui vont lier les virus influenza porcins, humains et aviaires. En conséquence, les porcs ont été appelés « récipients de mélange » pour l'apparition de nouveaux virus influenza lorsque des virus influenza porcins, humains et aviaires subissent des recombinaisons chez les porcs (13). Les infections à SIV sont décrites comme responsables d'une maladie respiratoire caractérisée par de la toux, des éternuements, du jetage, des températures rectales élevées, de la léthargie, une respiration difficile et une diminution de l'appétit.

Les agents pouvant provoquer une maladie respiratoire chez les porcs incluent le virus du Syndrome Dysgénésique et Respiratoire Porcin (SDRP), le virus de la Maladie d'Aujeszky (virus de la pseudo-rage), le coronavirus respiratoire porcine, *Actinobacillus pleuropneumoniae* et *Mycoplasma hyopneumoniae*, mais la plupart d'entre eux sont responsables d'autres signes cliniques ne ressemblant pas à ceux de la grippe porcine (11). Seul *Actinobacillus pleuropneumoniae*, dans la forme aiguë de l'infection, entraîne des signes cliniques similaires à la grippe porcine, tels que dyspnée, tachypnée, respiration abdominale, toux, fièvre, dépression et anorexie. Les signes cliniques et l'excrétion nasale du virus peuvent avoir lieu au cours des 24 h suivant l'infection. Deux formes de la maladie surviennent chez le porc, épidémique ou endémique. Dans la forme épidémique, le virus passe rapidement à travers toutes les phases d'une unité d'élevage avec un rétablissement rapide évitant ainsi les facteurs de complication, tel que les infections bactériennes secondaires. Dans la forme endémique, les signes cliniques peuvent être moins évidents et tous les porcs peuvent ne pas afficher les signes cliniques traditionnels de l'infection. Les taux de morbidité peuvent atteindre 100 % lors des infections à SIV, tandis que les taux de mortalité sont généralement faibles. Le principal impact économique est relatif à la perte de poids, laquelle résulte en une augmentation du nombre de jours requis pour atteindre le poids de vente. La transmission se fait par contact avec des sécrétions contenant du virus, telles que les aérosols générés par la toux et la sternutation, et le jetage nasal. Des infections humaines à SIV peuvent avoir lieu et des décès en nombre limité ont été rapportés.

Des précautions doivent être prises pour prévenir l'infection humaine, comme décrit au Chapitre I.1.6, « Biosécurité dans les laboratoires de microbiologie vétérinaire ».

B. TECHNIQUES DE DIAGNOSTIC

1. Identification de l'agent pathogène

Parce que le SIV est un agent potentiellement pathogène pour l'homme, tous les travaux impliquant la manipulation de tissus infectés, d'écouvillons, d'œufs embryonnés et de cultures cellulaires doivent être menés en laboratoire de biosécurité de classe II.

a) Culture

Traitement de l'échantillon

Le tissu pulmonaire peut être traité de différentes manières en vue de l'isolement viral, avec par exemple mortier et piston, broyeur, homogénéisateur, ou émincé à l'aide d'une lame de scalpel ou de ciseaux. Le traitement du tissu se fait dans du milieu de culture cellulaire supplémenté en antibiotiques (i.e. 10⁻⁶ concentration de travail), à une concentration finale de 10 % poids/volume. La suspension peut être incubée pendant 30 min à l'obscurité à 20-22°C. Les écouvillons nasaux doivent être collectés dans du milieu de culture cellulaire ou dans une solution physiologique tamponnée au phosphate (PBS). À réception au laboratoire, les écouvillons nasaux sont agités vigoureusement à la main ou sur un agitateur vortex. Les suspensions issues des écouvillons et des poumons sont centrifugées à 1 500-1 900 *g* pendant 15 à 30 min à 4°C. Le surnageant est collecté et conservé à 4°C jusqu'à l'inoculation. Si le surnageant ne peut être inoculé dans les 24 h suivant la collecte, il doit être stocké à -70°C. Le surnageant d'un broyat de poumon est inoculé sans dilution supplémentaire. Le surnageant issu d'un écouvillon nasal peut également être inoculé sans dilution, ou dilué au 1/3 dans du milieu de culture cellulaire. Les antibiotiques sont ajoutés au milieu de culture cellulaire utilisé pour le traitement, et/ou le surnageant peut être filtré, afin de réduire les risques de contamination bactérienne, mais ceci peut diminuer le titre viral.

Isolement viral en culture cellulaire

- i) L'isolement viral peut être conduit sur des lignées cellulaires permissives à l'infection SIV. La lignée de rein de chien de Madin-Darby (MDCK pour *Madin-Darby Canine Kidney*) est la lignée cellulaire de choix, mais des cellules primaires de rein de porc, de testicules de porc, ou des lignées de cellules épithéliales de poumon de porc peuvent être utilisées ;
- ii) Laver 3 fois les monocouches de cellules confluentes (48 à 72 h après l'ensemencement) avec du milieu de culture cellulaire contenant une concentration finale de 2 µg/ml de trypsine ; la concentration dépendra du type de trypsine et pourra atteindre 10 µg/ml. Le milieu de culture cellulaire peut être supplémenté en antibiotiques, mais n'est pas supplémenté en sérum foetal de bovin ;
- iii) Inoculer les cultures cellulaires avec une quantité appropriée de suspension de tissu ou de surnageant d'écouvillon. Remarque : le volume de l'inoculum variera en fonction de la taille du récipient de culture cellulaire. En général, 100 à 200 µl sont inoculés dans chacun des puits d'une plaque de culture de 24 puits, 1 ml dans un tube Leighton, et 1 à 2 ml dans un flacon de 25 cm² ;
- iv) Incuber les cultures cellulaires inoculées pendant 1 à 2 h à 37°C. Quand les récipients de culture cellulaire sont ouverts à l'environnement, comme les plaques de culture, l'incubation doit être faite dans un incubateur humidifié, en présence de 5 % de CO₂ ;
- v) Eliminer l'inoculum et laver la monocouche de cellules 3 fois avec le milieu de culture cellulaire contenant la trypsine ; vi) Ajouter un volume approprié de milieu de culture cellulaire de survie dans tous les récipients et incuber à 37°C pendant 7 jours, tout en observant régulièrement afin de noter l'apparition d'un effet cytopathogène (ECP). Si aucun ECP n'est observé à la fin de la période d'incubation, le récipient de culture cellulaire peut être congelé à -70°C, décongelé, et un deuxième passage en aveugle peut être réalisé comme décrit ci-dessus [étape iii)]. Si un ECP est observé, un aliquot du milieu de culture cellulaire peut être testé quant à la présence d'un virus hémagglutinant, et peut être collecté et utilisé comme inoculum pour confirmation par la technique d'immunofluorescence (voir Section B.1.e. ci-dessous). Des monocouches de cellules MDCK (ou autre lignée cellulaire appropriée), sur lamelles (tube Leighton, plaques de culture 24 puits) ou dans des chambres de culture sur lame, peuvent être inoculées à ce propos. La méthode d'isolement est la même que décrite plus haut [étape iii)]. Dans certains cas, il peut être nécessaire de faire des dilutions de 10 en 10 du virus multiplié en culture cellulaire afin d'avoir un ECP approprié sur la lame. Les sous-types de SIV peuvent être déterminés par les tests d'inhibition de l'hémagglutination (IH) et de la neuraminidase (IN).

Inoculation d'œufs (14)

- i) Utiliser des œufs de poule embryonnés de 10 à 11 jours d'âge ;
- ii) Inoculer 0,1 à 0,3 ml d'inoculum dans la cavité allantoïdienne et le sac amniotique. Beaucoup de laboratoires inoculent uniquement par voie allantoïdienne avec une sensibilité similaire. Généralement, 4 œufs sont inoculés par échantillon ;
- iii) Incuber les œufs à 35-37°C pendant 3 à 4 jours et mirer quotidiennement. Les œufs dont les embryons meurent dans les 24 h suivant l'inoculation sont éliminés ;
- iv) Réfrigérer les œufs dont les embryons sont morts plus de 24 h après l'inoculation. A la fin de la période d'incubation, prélever les liquides allantoïdiens et amniotique des œufs portant des embryons morts et des œufs avec des embryons encore viables. Tous les produits des œufs doivent être considérés comme potentiellement infectieux et doivent être traités de manière à prévenir l'exposition du manipulateur au SIV ;
- v) Centrifuger les liquides à 1 500-1 900 g pendant 10 à 20 min à 4°C. Transférer le surnageant dans un autre tube pour analyse ;
- vi) Les fluides sont analysés vis-à-vis de la présence de SIV à l'aide d'un test d'hémagglutination (HA) (voir ci-dessous) ;
- vii) Réinoculer les fluides ne présentant pas d'activité hémagglutinante (négatifs pour le SIV) sur œufs ou sur cultures cellulaires, comme décrit ci-dessus. L'isolement peut être amélioré en diluant les liquides de 10 en 10 dans du milieu de culture cellulaire. Des antibiotiques peuvent être ajoutés au milieu de culture cellulaire.

Test d'hémagglutination

- i) Préparer une suspension d'érythrocytes à 0,5 % à partir de sang de dindon ou de poulet. Le sang de dindon est utilisé dans quelques laboratoires des États-Unis d'Amérique, mais il n'est pas recommandé pour l'identification des isolats européens. Les érythrocytes lavés et les suspensions d'érythrocytes à 0,5 % peuvent être conservés à 4°C pendant 1 semaine. Eliminer en cas d'hémolyse ;
- ii) Déposer 50 µl de PBS dans une rangée de 12 puits d'une plaque de microtitrage à 96 puits à fonds en V- ou en U-, ceci pour chaque virus à identifier. Une rangée supplémentaire de puits doit être incluse pour un témoin positif ;
- iii) Ajouter 50 µl d'isolat non dilué dans le premier puits de chaque rangée correspondante ;
- iv) Diluer l'isolat en série à l'aide d'une micropipette réglée pour délivrer 50 µl. Les dilutions résultantes vont ainsi aller de 1/2 (puits n°1) à 1/2048 (puits n°11). Le puits n°12 contient seulement du PBS et sert de témoin cellulaire ;
- v) Ajouter 50 µl de suspension d'érythrocytes à 0,5 % dans chaque puits et agiter la plaque pour bien mélanger. Remarque : bien maintenir les érythrocytes en suspension pendant l'étape de distribution ;
- vi) Couvrir la plaque avec du film adhésif et incuber à température ambiante jusqu'à ce qu'un culot distinct se soit formé dans le puits témoin (30 à 60 min) ;
- vii) Dans les puits où l'hémagglutination est complète (HA positive, SIV présent), les érythrocytes se dispersent dans tout le puits en formant un tapis continu d'apparence mate au fond de la cupule. Les puits où les érythrocytes sédimentent au fond de la cupule en formant un culot central sont négatifs au regard de l'activité hémagglutinante (négatif pour le SIV). Une activité HA incomplète est mise en évidence par la formation de culots

partiels, caractérisés par des bords flous ou ressemblant à des beignets. Quand l'interprétation entre inhibition complète et incomplète est difficile, incliner la plaque de microtitration d'environ 45 degrés pendant 20 à 30 secondes et observer le coulage, lequel produit, dans les puits où l'inhibition est complète, une traînée de cellules, fine, légèrement renflée à son extrémité et translucide. Les puits où l'inhibition est partielle ne produiront pas de « larme ».

b) Typage des isolats de SIV

Test d'inhibition de l'hémagglutination

- i) Diluer les antigènes HA de référence (H1, H3, etc.) à une concentration de 8 unités HA (HAU) pour 50 µl (4 HAU/25 µl) dans du PBS 0,01 M, pH 7 ;
- ii) Standardiser les virus influenza A inconnus afin qu'ils contiennent 8 HAU dans 50 µl ;
- iii) Effectuer un nouveau titrage (test d'HA) pour tous les isolats inconnus et les antigènes de sous-type H afin de vérifier que le nombre d'unités HAU est correct. Le titrage de contrôle est réalisé comme décrit dans le protocole du test d'HA, à l'exception près que 6 puits de dilutions sont utilisés au lieu de 11 ;
- iv) Traiter le sérum au RDE : ajouter 50 µl de sérum à 200 µl de RDE (*Receptor-Destroying Enzyme* ; dilué au 1/10 dans une solution saline de calcium, ce qui équivaut à 100 unités par ml). Incuber une nuit (12 à 18 h) dans un bain-marie à 37°C. Ajouter 150 µl d'une solution de citrate de sodium à 2,5 % et inactiver le sérum à la chaleur à 56°C pendant 30 min. Mélanger 200 µl d'échantillon traité et 25 µl de PBS afin de réaliser une dilution au 1/10 du sérum. Remarque : le traitement RDE est recommandé car il éliminera l'hémagglutination non spécifique et améliorera l'identification des isolats H1N2 et H3N2 ;
- v) Éliminer les agglutinines sériques naturelles en traitant 1 ml de sérum dilué par 0,1 ml d'érythrocytes concentrés et lavés. Incuber pendant 30 min à température ambiante en mélangeant de temps en temps afin de maintenir les érythrocytes en suspension. Centrifuger les sérums traités à 800 g pendant 10 min, puis les réserver ;
- vi) Distribuer 25 µl d'antigène standardisé (isolat inconnu ou antigène témoin positif) dans 3 puits d'une plaque de microtitrage à 96 puits à fond en V ou en U. Ajouter 50 µl de PBS dans plusieurs puits qui serviront de témoin cellulaire érythrocyte. Remarque : 25 µl de PBS peuvent être utilisés à la place des 25 µl d'antigène standardisé ;
- vii) Ajouter 25 µl d'antisérum standardisé approprié dans le premier puits du sous-type H devant être testé. Diluer l'antisérum en série dans les puits antigène, dans un volume de 25 µl, à l'aide d'une pipette réglée pour délivrer 25 µl. Répéter cette procédure pour chacun des sous-types H devant être testé. Remarque : si 25 µl de PBS sont utilisés à la place des 25 µl d'antigène standardisé à l'étape vi), ajouter 25 µl d'antigène standardisé dans chaque puits contenant l'antisérum standardisé ;
- viii) Couvrir la (les) plaque(s) et incuber à température ambiante pendant 20 à 60 min ;
- ix) Ajouter 50 µl d'une suspension d'érythrocytes à 0,5 % dans chaque puits et agiter la (les) plaque(s) pour bien mélanger. Bien maintenir les érythrocytes en suspension pendant la phase de répartition ;
- x) Couvrir les plaques avec un film adhésif et incuber à température ambiante jusqu'à ce qu'un culot distinct se soit formé dans les puits témoins positif (généralement 30 à 60 min). Pour évaluer l'hémagglutination, observer les plaques après environ 20 min d'incubation étant donné que certains isolats pourraient commencer à éluer (se détacher des érythrocytes) au bout de 30 min ;
- xi) Lire les résultats du test comme décrit plus haut pour le test d'HA. Un échantillon est considéré positif pour un sous-type H donné si l'hémagglutination est inhibée. Le test est considéré valide si l'antigène de référence positif et son antisérum homologue fournissent le titre IHA attendu et que le titrage de contrôle de chaque antigène (inconnu et témoin positif) est de 8 HAU. Si ces conditions ne sont pas respectées, le test doit être répété ;
- xii) Si les érythrocytes des puits témoin cellulaire ne se déposent pas en un culot bien formé, tester les points suivants comme causes possibles : formulation incorrecte du PBS, évaporation excessive à partir des plaques, érythrocytes trop vieux, ou concentration incorrecte d'érythrocytes.

Test d'inhibition de la neuraminidase

L'identification du sous-type basée sur le test d'inhibition de la neuraminidase (IN) n'est pas du ressort de nombreux laboratoires. Les laboratoires de référence doivent être consultés pour le typage N des isolats.

c) Épreuve d'immunofluorescence

- i) Cette technique peut être utilisée sur des coupes de tissu ou sur des monocouches de cellules infectées étalées sur lames ou lamelles. Des témoins positifs et négatifs doivent être inclus dans tous les protocoles de marquage ;
- ii) Les cellules inoculées sont incubées pendant une durée de temps appropriée pour que 10 à 25 % d'entre-elles soient infectées par le virus. Rincer la lamelle ou la lame une fois dans du PBS, la placer dans 100 % d'acétone pendant 5 à 10 min et sécher à l'air. L'acétone doit être utilisée sous hotte ventilée ;
- iii) Préparer les coupes de tissu congelé sur des lames de verre. Fixer les lames de verre à l'acétone pendant 5 à 10 min et sécher à l'air ;
- iv) Déposer le conjugué (anticorps anti-virus influenza porcine couplé à la fluorescéine) et incuber en chambre humide à 37°C pendant 30 min ;
- v) Laver dans du PBS, pH 7,2, faire tremper pendant 5 à 10 min dans du PBS frais, rincer à l'eau distillée

et sécher à l'air ;

vi) Déposer des lamelles sur les lames de verre, face cellule en bas, avec du milieu de montage. Enlever le joint d'étanchéité en caoutchouc des chambres de culture sur lame et ajouter du milieu de montage puis une lamelle de verre. Les coupes de tissu sur lame sont également recouvertes de milieu de montage et de lamelle ;

vii) Observer les lames marquées dans une chambre noire au microscope à épifluorescence. Les cellules infectées par du SIV sont identifiées par la présence d'une fluorescence brillante vert pomme. Il est recommandé que la personne qui examine les lames soit entraînée à la lecture de lames marquées en fluorescence, car celles-ci peuvent être difficiles à interpréter.

d) Immunohistochimie (19)

i) Découper en sections de 4 µm d'épaisseur des échantillons de poumon préalablement fixés au formol et inclus dans de la paraffine, et les placer sur des lames recouvertes de poly-L-lysine. Des tissus témoins positif et négatif doivent être inclus dans tous les tests ;

ii) Chauffer les lames à 60°C pendant 15 min, déparaffiner et réhydrater par immersion dans des concentrations décroissantes d'éthanol puis dans de l'eau distillée ;

iii) Traiter les échantillons au peroxyde d'hydrogène à 3 % pendant 10 min et rincer 2 fois à l'eau distillée ;

iv) Digérer les échantillons avec 0,05 % de protéase pendant 2 min et rincer 2 fois 2 min à température ambiante dans du tampon PBS contenant 0,1 M de Tris, pH 7,2 ;

v) Déposer l'anticorps monoclonal de souris anti-SIV (dirigé contre la nucléoprotéine virale) sur chaque lame et incuber à température ambiante pendant 1 h ou à 4°C pendant la nuit. Rincer les lames avec du tampon PBS/Tris ;

vi) Déposer l'anticorps secondaire (anticorps de chèvre anti-souris biotinylé) pendant 10 min à température ambiante. Rincer avec du tampon PBS/Tris ;

vii) Déposer l'anticorps tertiaire (streptavidine conjuguée à la peroxydase) pendant 10 min à température ambiante. Rincer avec du tampon PBS/Tris ;

viii) Ajouter une solution de tétrahydrochlorure de diaminobenzidine pendant 5 min à température ambiante. Rincer 2 fois à l'eau distillée ;

ix) Contre-colorer les lames dans de l'hématoxyline de Gill pendant 10 à 30 s, laver à l'eau pendant 2 min, déshydrater, clarifier et ajouter les lamelles ;

x) Les tissus infectés par le SIV sont identifiés par la présence de marquage brun dans l'épithélium bronchique et dans les pneumocytes.

e) ELISA de capture d'antigène

Des épreuves immuno-enzymatiques (ELISA) de capture d'antigènes de type A sont disponibles dans le commerce pour la détection des virus influenza humains. Ce genre d'essais a été utilisé pour la détection du SIV dans le tissu pulmonaire et les écouvillons nasaux (10, 17). Les tests sont généralement disponibles auprès de compagnies pharmaceutiques.

f) Réaction de polymérisation en chaîne par polymérase (PCR)

Des épreuves de réaction de polymérisation en chaîne par polymérase (PCR) ont été développées pour le diagnostic de la grippe porcine (6). Des informations approfondies sur la validation de ces épreuves ne sont pas disponibles à l'heure actuelle.

2. Épreuves sérologiques

La principale épreuve sérologique pour la détection des anticorps anti-SIV est l'IHA et elle est spécifique du sous-type. Elle doit être conduite sur des paires de sérums collectés à 10-21 jours d'intervalle. Une augmentation du titre de 4 fois ou plus, entre le premier et le second prélèvement, suggère une infection SIV récente. Les autres

épreuves sérologiques qui ont été décrites, mais qui ne sont pas couramment utilisées, sont la neutralisation virale, le test d'immunodiffusion en gélose et l'épreuve d'immunofluorescence indirecte. La technologie ELISA pour la détection des anticorps anti-SIV a été décrite dans la littérature et au moins une trousse de diagnostic commerciale a été mise sur le marché. La validation de ce(s) trousse(s) ELISA est (sont) en cours.

Test d'inhibition de l'hémagglutination

i) Diluer les antigènes HA de référence (H1, H3, etc.) à une concentration de 4 à 8 HAU/25 µl dans du PBS 0,01 M, pH 7,2 ;

ii) Test *H1N1* : Inactiver les sérums à la chaleur pendant 30 min à 56°C. Diluer au 1/10 dans du PBS. A 1 ml de sérum inactivé à la chaleur et dilué, ajouter 0,1 ml d'érythrocytes de poulet concentrés et lavés. Mélanger. Incuber à température ambiante pendant 30 min en agitant régulièrement toutes les 10 à 15 min. Centrifuger à 800 *g* pendant 10 min à 4°C. Remarque : les sérums peuvent être traités au RDE et aux érythrocytes de poulet comme décrit à l'étape iii) ci-dessous au lieu d'être inactivés à la chaleur et traités aux érythrocytes de poulet ;

iii) Test *H1N2* et *H3N2* : Ajouter 50 µl de sérum à 200 µl de RDE dilué au 1/10 dans une solution saline de calcium, ce qui équivaut à 100 unités par ml. Incuber toute la nuit (12 à 18 h) dans un bain-marie à 37°C. Ajouter 150 µl de solution de citrate de sodium à 2,5 % et inactiver à la chaleur à 56°C pendant

30 min. Mélanger 200 µl d'échantillon traité et 25 µl de PBS. Ajouter 50 µl d'une solution d'érythrocytes de poulet ou de dindon à 50 %, jusqu'à diluer le sérum au 1/10. Agiter et incuber pendant 30 min à température ambiante ou une nuit à 4°C. Centrifuger à 800 g pendant 10 min à 4°C. Remarque : les érythrocytes de poulet sont recommandés pour tous les isolats européens ;

iv) Distribuer 50 µl de sérum traité dans 2 puits d'une plaque de 96 puits à fond en V ou en U. Distribuer 25 µl de sérum traité dans 2 puits qui serviront de sérum témoin. Les sérums témoin positif et négatif sont traités de la même manière que les sérums inconnus ;

v) Distribuer 25 µl de PBS dans les puits témoin pour le sérum et dans tous les puits vides, à l'exception de 2 puits identifiés comme puits témoin cellulaire. Ajouter 50 µl de PBS dans ces puits témoins cellulaires ;

vi) Diluer le sérum en série dans la plaque, de 2 en 2, sous 25 µl de volume, puis ajouter 25 µl d'antigène approprié dans tous les puits du test, à l'exception des puits témoins pour le sérum et les cellules ;

vii) Recouvrir les plaques et incuber à température ambiante pendant 30 à 60 min ;

viii) Ajouter 50 µl de suspension d'érythrocytes à 0,5 % (poulet pour H1N1 et dindon pour H3N2) dans chaque puits, agiter et incuber à température ambiante pendant 20 à 30 min jusqu'à ce qu'un culot distinct se forme au fond des puits témoin cellulaire. Bien maintenir les érythrocytes en suspension pendant la phase de distribution ;

ix) Préalablement et simultanément à l'IHA, réaliser un test HA sur les antigènes utilisés en IHA afin de vérifier que leurs concentrations sont appropriées ;

x) Pour que le test soit valide, il ne doit pas y avoir d'hémagglutination dans les puits témoins pour le sérum, pas d'inhibition de l'hémagglutination avec le sérum négatif, le sérum positif doit fournir le titre IHA attendu et le titrage HA de contrôle doit indiquer 4 à 8 HAU pour 25 µl.

b) Épreuve immuno-enzymatique (ELISA) (9)

La technologie ELISA pour la détection des anticorps SIV a été décrite dans la littérature. Au moins un test ELISA est disponible sous forme de trousse de diagnostic commercialisée.

C. SPÉCIFICATIONS APPLICABLES AUX VACCINS ET AUX PRODUITS BIOLOGIQUES À USAGE DIAGNOSTIQUE

Des recommandations pour la production des vaccins vétérinaires sont données au Chapitre I.1.7., « Principes de production de vaccins vétérinaires ». Les recommandations données ici et au Chapitre I.1.7. se veulent être générales par nature et peuvent être complétées par des exigences nationales et régionales.

1. Gestion des semences virales

a) Caractéristiques de la semence virale

L'identité de la souche doit être bien documentée, incluant la source et l'historique de passage de l'organisme. Toutes les caractéristiques d'identification, telles que le sous-type de l'hémagglutinine et de la neuraminidase doivent être établies. L'inhibition de l'hémagglutination et l'inhibition de la neuraminidase par des antisérums spécifiques du sous-type peuvent être utilisées pour établir les sous-types H et N. De même, des aliquots de la souche virale mère (MSV) peuvent être neutralisés par un antisérum spécifique, i.e. un antisérum produit contre un SIV de sous-type H1N1 ou H3N2, puis inoculés dans le sac allantoïdien d'oeufs de poule embryonnés de 10 jours d'âge, ou sur lignées cellulaires permissives telles que la lignée cellulaire MDCK. Le liquide allantoïdien ou le surnageant de culture cellulaire est prélevé 72 à 96 h post-inoculation et testé vis-à-vis de l'activité HA. L'identité est démontrée par la perte d'activité HA pour la souche neutralisée et la présence d'activité HA pour la souche non neutralisée. Des différences antigéniques significatives révélées pour une souche donnée, qui la mettent à part des autres membres de son sous-type, et qui pourraient prétendre avoir un impact bénéfique sur son utilisation comme vaccin, doivent être confirmées par séquençage et analyse génétique.

b) Méthode de culture

La souche mère de SIV peut être multipliée sur oeufs ou en culture cellulaire. La sélection d'une méthode de culture dépend du degré d'adaptation du virus, de la croissance dans le milieu, du taux de mutation et du rendement viral dans le système de culture spécifique. Les produits vaccinaux de SIV ne doivent pas résulter de plus de 5 passages à partir de la MSV, afin d'éviter les variations antigéniques.

c) Validation de la culture

La pureté de la souche et des cellules à utiliser pour la production de vaccin doit être démontrée. Le MSV doit être montré exempt d'agents adventices, bactéries ou mycoplasmes, par des tests reconnus sensibles pour la détection de ces microorganismes. L'aliquot testé doit être représentatif d'un titre viral adéquat pour la production de vaccin, mais pas trop fort pour que le virus souche puisse être neutralisé par les antisérums hyperimmuns pendant la phase de test de sa pureté. Le virus souche est neutralisé par un antisérum monospécifique ou un anticorps monoclonal anti-SIV et le mélange virus/anticorps est cultivé sur plusieurs types de monocouches de lignées cellulaires. Les cultures sont repiquées à 7 jours d'intervalle pendant au moins 14 jours, puis testées vis-à-vis d'agents cytopathogènes et hémadsorbants. Les cellules sont également examinées vis-à-vis de virus adventices qui pourraient avoir infecté les cellules ou la souche au

cours de passages précédents. Les contaminants potentiels incluent le virus de la diarrhée virale bovine, le reovirus, le virus de la rage, le virus de la maladie d'Aujeszky (pseudorage), le virus de la gastro-entérite transmissible, le coronavirus respiratoire porcin, le parvovirus porcin, l'adénovirus porcin, l'entérovirus de la maladie de Teschen-Talfan, le rotavirus porcin, le circovirus porcin et le virus du syndrome dysgénésique et respiratoire porcin. Les lignées cellulaires sur lesquelles la souche est testée incluent : une lignée (Vero) de cellules de rein du singe vert d'Afrique (virus rabique et reovirus), une lignée de cellules de porc, une lignée cellulaire des mêmes espèces que celles dont des cellules ont été utilisées pour l'amplification de la souche, sinon d'origine porcine, et des lignées cellulaires de toute autre espèce sur laquelle la souche a été passée. De plus, une lignée cellulaire hautement permissive pour le virus de la diarrhée virale bovine, de type 1 et 2, est recommandée. Le virus de la diarrhée virale bovine est un contaminant potentiel introduit via l'utilisation de sérum de foetus de bovin dans les systèmes de culture cellulaire. Les facteurs pouvant contribuer à une instabilité pendant la production, tel que la réplication sur une lignée cellulaire inhabituelle, doivent être recherchés. Si la production est approuvée après 5 passages à partir de la souche mère, alors le séquençage des gènes codant H et N pourrait être justifié afin de confirmer la stabilité de la souche virale au passage maximum.

d) Validation de la semence candidate comme semence vaccinale

Les vaccins candidats doivent être démontrés purs, sans danger, actifs et efficaces. Les souches utilisées pour la production de vaccins doivent être antigéniquement en rapport avec les souches SIV circulant sur le terrain (3, 7, 18). Les tests d'inhibition de l'hémagglutination et les tests de neutralisation peuvent être utilisés pour la sélection, s'ils démontrent une réactivité croisée des antisérums d'animaux vaccinés avec la souche vaccinale candidate et les isolats de terrain actuels. Une étude de vaccination/infection chez le porc, en utilisant des souches infectieuses homologues et hétérologues, indiqueront le degré de protection conféré par le vaccin. Les porcs utilisés dans les études de vaccination/infection devront être exempts d'anticorps dirigés contre le SIV. Les études de vaccination/infection devront être menées en utilisant du virus produit par la méthode d'amplification adéquate, au nombre de passages maximal permis et en utilisant des porcs de l'âge minimum recommandé indiqué sur la notice. Au départ, les lots sont formulés pour contenir différentes quantités d'antigène viral. Le lot test contenant la plus faible quantité d'antigène qui induit une protection devient le standard contre lequel les lots des futures productions seront mesurés. Le critère le plus valable pour l'essai d'évaluation en aveugle de groupes traités est la réduction significative du virus (titres et durée d'excrétion) dans le tractus respiratoire des porcs vaccinés. Des différences au niveau des observations cliniques et des lésions pulmonaires font aussi partie des critères utilisés pour la validation d'un essai. Si des tests *in vivo* ou *in vitro* doivent être utilisés pour déterminer l'efficacité de chaque lot de production de vaccin, ces essais doivent être conduits en accord avec les études d'antigène minimum afin d'établir le critère de libération. Des vaccins combinés contenant plus d'une souche de SIV sont disponibles dans quelques pays. L'efficacité des différents composants de ces vaccins doit être établie pour chacun d'eux indépendamment, puis en tant que combinaison au cas où une interférence entre les différents antigènes existerait.

2. Méthode de fabrication

Une fois que le vaccin est démontré être efficace, et que les conditions proposées pour la production sont acceptables pour les autorités réglementaires, un agrément doit être délivré pour la fabrication du vaccin. Généralement, des systèmes cellulaires en grand volume, en suspension ou en monocouche, sont exploités sous contrôle stricte de la température, en conditions aseptiques et selon des méthodes de production définies, afin d'assurer une constance inter-lot. Quand le virus a atteint son titre maximal, déterminé par HA, ECP, épreuve d'immunofluorescence ou une autre technique reconnue, le virus est clarifié, filtré et inactivé. Plusieurs agents, dont le formol et l'éthylèneimine binaire, ont été utilisés avec succès pour l'inactivation. Une étude des cinétiques d'inactivation par l'agent d'inactivation retenu doit être conduite sur un lot de virus ayant un titre plus élevé que le titre maximum de production, et ayant été multiplié selon la méthode de production approuvée. Cette étude doit démontrer que la méthode d'inactivation assure l'inactivation complète du virus. Des échantillons prélevés à des intervalles de temps réguliers pendant l'inactivation, puis inoculés sur une lignée cellulaire susceptible ou dans le sac allantoïdien d'oeufs embryonnés, doit indiquer une perte linéaire et complète du titre à la fin du processus d'inactivation. Ceci équivaut à moins d'une particule infectieuse pour 10⁴ litres de fluide après inactivation. Habituellement, de l'adjuvant est additionné pour augmenter la réponse immunitaire. Cet adjuvant est souvent une formulation d'huile minérale, mais d'autres adjuvants pourraient aussi être efficaces.

3. Contrôles en cours de fabrication

Les cultures cellulaires doivent être contrôlées au niveau macroscopique, vis-à-vis d'anormalités ou de signes de contamination et éliminées si non satisfaisantes. Un lot est prêt à être récupéré quand l'ECP viral a atteint 80 à 100 %. La concentration de virus peut être évaluée par les tests antigéniques ou tests d'infection.

4. Contrôles des lots

a) Stérilité

Pendant la production, des tests vis-à-vis des contaminations bactériennes, mycoplasmiennes et fongiques doivent être conduits sur les 2 lots de vaccins récupérés, inactivé et vivant, et confirmés sur les produits

finaux (voir Chapitre I.1.5., « Contrôle de la stérilité ou de l'absence de contamination des matériels biologiques »).

b) Innocuité

Des souris ou des cobayes peuvent être utilisés pour évaluer l'innocuité d'un produit inactivé. Dans un modèle, 8 souris sont inoculées avec 0,5 ml, par voie intrapéritonéale ou sous-cutanée, et observées pendant 7 jours. Le test d'innocuité chez la souris ne peut être mis en oeuvre quand certains types d'adjuvants sont utilisés, notamment les produits à base de saponine. Dans l'autre modèle, 2 hamsters reçoivent chacun l'injection d'une dose de 2 ml, par voie intramusculaire ou par voie sous-cutanée, et sont observés pendant 7 jours. Des signes cliniques ou une mortalité pouvant être attribués au vaccin indiquent que le lot en question ne peut être utilisé. L'inactivation virale complète dans un produit tué peut être vérifiée par passages multiples, en culture cellulaire ou sur oeufs, des fluides produits après inactivation, mais avant adjonction d'adjuvant, passages suivis d'un test d'HA pour évaluer la présence de virus.

Le produit final peut être évalué chez l'animal hôte, dans un essai comportant 2 animaux d'âge minimum recommandé pour la vaccination, selon les instructions données sur la notice. Les animaux sont observés pendant 21 jours. Des études d'innocuité sur animaux vaccinés du terrain sont également recommandées, dans au moins 3 zones géographiques différentes, avec au moins 300 animaux par zone. Si le vaccin est utilisé chez des porcs destinés au marché et réservés à la consommation humaine, une durée de quarantaine adéquate en fonction de l'adjuvant utilisé (généralement 21 jours), doit être établie au moyen des résultats d'analyses histopathologiques soumis aux autorités réglementaires adéquates en matière de sécurité alimentaire.

c) Activité

Pendant la production, la quantité d'antigène est mesurée afin de vérifier que les titres minimum approximatifs ont été atteints. Le taux d'antigène est généralement mesuré avant l'inactivation et avant d'être davantage préparé. Les tests de mesure de quantités relatives, ELISA, HA et IHA, font partie des essais qui peuvent être utilisés pour déterminer la teneur en antigène dans le produit final. Il est nécessaire de confirmer la sensibilité, la spécificité, la reproductibilité et la robustesse de tels tests.

d) Durée de l'immunité

La durée de l'immunité et la fréquence de vaccination recommandée pour un vaccin doivent être déterminées avant qu'un produit ne soit approuvé. Initialement, cette information est obtenue par des études de vaccination/infection chez l'animal hôte. La période de protection démontrée, mesurée par la capacité des animaux vaccinés à surmonter l'infection dans un test validé, peut être indiqué dans les recommandations trouvées sur la notice du vaccin. Quand un essai d'activité convenable a été réalisé, mais que le glissement antigénique nécessite le remplacement de certaines souches dans la préparation vaccinale, des souches du même sous-type peuvent être évaluées, soit chez l'animal hôte, soit chez un modèle animal de laboratoire comparable. Cependant, même si les souches en circulation montrent des différences antigéniques significatives par rapport à la souche vaccinale, le vaccin peut tout de même conférer une protection. De manière similaire, le vaccin peut ne pas protéger contre une nouvelle souche pourtant antigéniquement similaire au vaccin. En conséquence, il apparaît que l'efficacité des souches vaccinales doit toujours être évaluée chez le porc.

e) Stabilité

Les vaccins doivent être stockés à $4^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$, avec exposition minimale à la lumière. La durée de conservation doit être déterminée par un test d'activité approuvé (Section C.5.b.), au delà de la période de stabilité proposée.

f) Agents de conservation

L'agent de conservation le plus commun est le thimerosol, à une concentration finale n'excédant pas 0,01 % (1/10 000). L'ajout de thimerosol ou tout autre composé contenant du mercure doit être évité si possible. De plus, les résidus d'antibiotiques provenant du milieu de culture cellulaire peuvent être présents dans le produit final en quantité restreintes. La gentamicine résiduelle, par exemple, ne doit pas excéder 30 µg par ml de vaccin.

g) Précautions d'emploi et mise en garde

Les vaccins SIV inactivés ne présentent pas de danger particulier pour l'utilisateur, bien qu'une inoculation accidentelle puisse entraîner une réaction néfaste du fait de l'adjuvant et des composés secondaires du vaccin. Généralement, les porcs en bonne santé, en âge d'engraissement ou plus vieux, et les truies gestantes à tous les stades de gestation, peuvent être vaccinés en toute sécurité par les vaccins SIV inactivés.

5. Contrôles du produit fini

a) Innocuité

Les doses conditionnées de produit fini de vaccins inactivés doivent être testées chez de jeunes souris comme décrits au paragraphe C.4.b.

b) Activité

L'essai d'activité établi au moment de l'étude de protection par la dose minimale d'antigène doit être utilisé pour évaluer les nouveaux lots avant libération. L'essai doit être spécifique et reproductible. Il doit, de façon fiable, détecter les vaccins qui ne sont pas suffisamment puissants. Si la sérologie des animaux de laboratoire est utilisée à la place de la sérologie porcine, il doit d'abord être démontré que la vaccination de l'animal de laboratoire induit une réponse spécifique, sensible et dose-dépendante, comme celle mesurée dans l'essai d'activité et qu'elle est corrélée à la protection chez le porc (Section C.1.d.).

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

1. BROWN I.H., HARRIS P.A., MCCAULERY J.M. & ALEXANDER D.J. (1998). Multiple genetic reassortment of avian and human influenza A viruses in European pigs, resulting in the emergence of the H1N2 virus of novel genotype. *J. Gen. Virol.*, **79**, 2947–2955.
Chapitre 2.10.11. — Grippe porcine
1228 Manuel terrestre de l'OFF 2005
 2. CASTRUCCI M.R., DONATELLI I., SIDOLI L., BARIGAZZI G., KAWAOKA Y. & WEBSTER R.G. (1993). Genetic reassortment between avian and human influenza A viruses in Italian pigs. *Virology*, **193**, 503–506.
 3. DE JONG J.C., VAN NIEUWSTADT A.P., KIMMAN T.G., LOEFFEN W.L., BESTEBROER T.M., BIJLSMA K., VERWEIJ C., OSTERHAUS A.D. & CLASS E.C. (1999). Antigenic drift in swine influenza H3 haemagglutinins with implications for vaccination policy. *Vaccine*, **17**, 1321–1328.
 4. DONE S.H. & BROWN I.H. (1997). Swine influenza in the United Kingdom, past and present. *Large Anim. Pract.*, **2**, 20–28.
 5. EASTERDAY B.C. & VAN REETH K. (1999). Swine influenza. *In: Diseases of Swine*, Straw B.E., D'Allaire S., Mengeling W.L. & Taylor D.J., eds. Iowa State University Press, Iowa, USA, 277–290.
 6. FOUCHIER R.A., BESTEBROER T.M., HERFST S., VAN DER KEMP L., RIMMELZWAAN G.F. & OSTERHAUS A.D. (2000). Detection of influenza A viruses from different species by PCR amplification of conserved sequences in the matrix gene. *J. Clin. Microbiol.*, **38**, 4096–4101.
 7. HEINEN P.P., VAN NIEUWSTADT A.P., DE BOER-LUIJTZE E.A. & BIANCHI A.T.J. (2001). Analysis of the quality of protection induced by a porcine influenza A vaccine to challenge with an H3N2 virus. *Vet. Immunol. Immunopathol.*, **82**, 39–56.
 8. KARASIN A.I., LANDGRAF J., SWENSON S., ERICKSON G., GOYAL S., WOODRUFF M., SCHERBA G., ANDERSON G. & OLSEN C.W. (2002). Genetic characterization of H1N2 influenza A viruses isolated from pigs throughout the United States. *J. Clin. Microbiol.*, **40**, 1073–1079.
 9. LEE B.W., BEY R.F., BAARSCH M.J. & EMERY D.A. (1993). Subtype specific ELISA for the detection of antibodies against influenza A H1N1 and H3N2 in swine. *J. Virol. Methods*, **45**, 121–136.
 10. LEE B.W., BEY R.F., BAARSCH M.J. & SIMONSON R.R. (1993). ELISA method for detection of influenza A infection in swine. *J. Vet. Diagn. Invest.*, **5**, 510–515.
 11. LOEFFEN W.L., KAMP E.M., STOCKHOFE-ZURWIEDEN N., VAN NIEUWSTADT A.P., BONGERS J.H., HUNNEMAN W.A., ELBERS A.R., BAARS J., NELL T. & VAN ZIJDERVELD F.G. (1999). Survey of infectious agents involved in acute respiratory disease in finishing pigs. *Vet. Rec.*, **145**, 123–129.
 12. NOBLE S., MCGREGGOR M.S., WENTWORTH D.E. & HINSHAW V.S. (1993). Antigenic and genetic conservation of the haemagglutinin in H1N1 swine influenza viruses. *J. Gen. Virol.*, **74**, 8243–8251.
 13. SCHOLTISSEK C., BURGER H., BACHMANN P.A. & HANNOUN C. (1983). Genetic relatedness of hemagglutinins of the H1 subtype of influenza A viruses isolated from swine and birds. *Virology*, **129**, 521–523.
 14. SENNE D.A. (1998). Virus propagation in embryonating eggs. *In: A Laboratory Manual for the Isolation and Identification of Avian Pathogens*, Fourth Edition, Swayne D.E., Glisson J.R., Jackwood M.W., Pearson J.E. & Reed W.M., eds. American Association of Avian Pathologists, Kennett Square, Pennsylvania, USA, 235–240.
 15. SHEERAR M.G., EASTERDAY B.C. & HINSHAW V.S. (1989). Antigenic conservation of H1N1 swine influenza viruses. *J. Gen. Virol.*, **70**, 3297–3303.
 16. SHOPE R.E. (1931). Swine influenza. III. Filtration experiments and etiology. *J. Exp. Med.*, **54**, 373–380.
 17. SWENSON S.L., VINCENT L.L., LUTE B.M., JANKE B.H., LECHTENBERG K.E., LANDGRAF J.G., SCHMITT B.J., KINKER D.R. & McMILLEN J.K. (2001). A comparison of diagnostic assays for the detection of type A swine influenza virus from nasal swabs and lungs. *J. Vet. Diagn. Invest.*, **13**, 36–42.
 18. VAN REETH K., LABARQUE G., DE CLERCQ S. & PENSART M. (2001). Efficacy of vaccination of pigs with different H1N1 swine influenza viruses using a recent challenge strain and different parameters of protection. *Vaccine*, **19**, 4479–4486.
 19. VINCENT L.L., JANKE B.H., PAUL P.S. & HALBUR P.G. (1997). A monoclonal-antibody-based immunohistochemical method for the detection of swine influenza virus in formalin-fixed, paraffin-embedded tissues. *J. Vet. Diagn. Invest.*, **9**, 191–195.
 20. WEBBY R.J., SWENSON S.L., KRAUSS S.L., GERRISH P.J., GOYAL S.M. & WEBSTER R.G. (2000). Evolution of swine H3N2 influenza viruses in the United States. *J. Virol.*, **74**, 8243–8251.
-

2) Caribet : disponible à l'URL suivante :

<http://www.caribvet.net/upload/Grippe%20porcine.pdf>

GRIPPE PORCINE

La grippe porcine est une maladie infectieuse très contagieuse d'origine virale qui affecte les porcs de tout âge. Elle est étroitement liée à la grippe humaine.

Etiologie

La grippe porcine est due à des virus grippaux de type A, virus enveloppés à ARN appartenant à la sous-famille Orthomyxiviridae, au genre Influenzavirus et au sous-type H1N1 ou H3N2 le plus souvent.

Les virus isolés du porc et de l'homme ont une origine commune et des échanges de virus se produisent couramment entre ces deux espèces.

Répartition géographique

La maladie, quel que soit le sous-type en cause, est présente sur tous les continents.

Epidémiologie

- Espèces affectées : le porc
- Sources et transmission de l'infection : le virus est excrété dans le milieu extérieur par les malades ou porteurs du virus sous forme d'aérosols, ou dans les sécrétions nasales ou trachéobronchiques. Le virus peut aussi être transmis de façon indirecte par les véhicules, le lisier, ...

Tableau clinique

- Durée d'incubation : 24 à 48 heures
 - Symptômes : hyperthermie importante (41°C), anorexie brutale et prostration
- Apparition de difficultés respiratoires laissant place à une toux sèche, profonde et quinteuse et un jetage abondant
- Guérison en 6 à 7 jours

Diagnostic expérimental

- Mise en évidence de l'agent pathogène par la réaction d'hémagglutination ou des techniques d'immunofluorescence
- Mise en évidence des anticorps par inhibition de l'hémagglutination ou par hémolyse radiale

Prophylaxie

- Sanitaire : isolement des animaux malades
 - maintien des bonnes conditions d'élevage et d'hygiène
 - Médicale : vaccin à virus inactivé
-

DENIERES NOUVELLES SUR L'EPIDEMIE DE GRIPPE PORCINE AU Mexique et aux USA

25/04/2009

Epidémie inquiétante de grippe porcine au Mexique



Une "épidémie" de grippe porcine, qui a suscité un déclenchement d'alerte par les autorités sanitaires mondiales, a fait 20 cas mortels identifiés au Mexique, où 40 autres décès font l'objet d'analyses, et huit cas, non mortels, aux Etats-Unis.

Le ministre mexicain de la Santé, José Angel Cordova, a évoqué pour la première fois une "épidémie" en annonçant un bilan de 20 cas mortels dus à la grippe porcine et de 40 autres possibles.

L'Organisation mondiale de la santé (OMS), qui s'est déclarée "très inquiète", avait cité peu avant un chiffre de 18 cas mortels identifiés. Un peu plus de mille patients sont en observation, selon les autorités. Aux Etats-Unis, les autorités sanitaires ont diagnostiqué un nouveau cas sur un enfant en Californie (ouest), ce qui porte à huit le total de cas enregistrés dans ce pays, selon la direction des Centres américains de contrôle et de prévention des maladies (CDC). L'enfant est guéri, a précisé le Dr Richard Bresser, des CDC.

Ces cas diagnostiqués aux Etats-Unis sont relativement peu virulents, un seul patient ayant dû être hospitalisé, a-t-il souligné. L'OMS a identifié 18 des cas mortels mexicains "comme étant la grippe porcine de type A/H1N1", et "12 sont génétiquement identiques au virus de grippe porcine A/H1N1 de Californie", a-t-elle expliqué. Le nombre de cas graves et de décès au Mexique a diminué au cours des 20 dernières heures, ont affirmé les autorités, qui ont voulu rassurer sur les risques d'extension de la maladie.

Un "antivirus spécifique" est disponible, a indiqué le responsable de la santé de la municipalité de Mexico, Armando Ahued, et le pays dispose d'un million de doses du médicament, a affirmé M. Cordova. Le recours au médicament est préférable à la vaccination de masse annoncée dans la matinée par les autorités de Mexico, a poursuivi M. Ahued, faisant référence aux conseils de l'OMS: le vaccin, qui correspond encore à une souche précédente du virus, est moins efficace, a-t-il expliqué.

Le site des CDC confirme qu'il n'existe de vaccin spécifique contre cette grippe que pour les porcs, et non pour les humains. Les autorités de la capitale avaient conseillé vendredi matin à la population d'éviter le métro, de ne pas s'embrasser ou se serrer la main pour se saluer.

Vendredi soir, l'armée a distribué gratuitement des masques hygiéniques: les stocks des pharmacies de Mexico avaient fondu dès le matin. Toutes les écoles, tous les lycées et universités publiques et privées ont été fermés dans la capitale et dans l'Etat de Mexico (centre), tout comme les théâtres et les musées. L'aéroport de la capitale reste ouvert, mais des équipes médicales y sont en place pour prendre les passagers en charge.

Les deux rencontres de football de Première division professionnelle prévues dimanche dans la capitale seront disputées à huis clos. Le président mexicain Felipe Calderon et le maire de Mexico, Marcelo Ebrard, ont suspendu leurs activités prévues pour se consacrer à la situation d'urgence. Aux Etats-Unis, où "des centres opérationnels d'urgence" ont été mis en place, la Maison Blanche a déclaré prendre l'alerte au sérieux.

Le président Barack Obama a été informé de la situation, selon un porte-parole. Aucun cas n'a été recensé au Canada, mais la ministre de la Santé, Leona Aglukkaq, a appelé la population à la plus grande vigilance. Six autres pays latino-américains, Costa Rica, Nicaragua, Brésil, Pérou, Chili et Colombie, ont décrété l'alerte sanitaire ou annoncé des mesures préventives.

La France a annoncé l'installation d'un centre de crise, qui publiera des recommandations aux Français séjournant au Mexique ou projetant de s'y rendre. Les inquiétudes sont d'autant plus vives que ce virus inédit se transmet d'homme à homme et est constitué de plusieurs souches: "c'est la première fois que nous voyons une souche aviaire, deux souches porcines et une souche humaine", a expliqué M. Daigle, le porte-parole des CDC, Dave Daigle.

"Il y a un risque, même réduit, d'apparitions de virus au potentiel pandémique", a observé le Centre européen de prévention et de contrôle des maladies sur son site internet. (afp)

<http://www.infomonde.be/im/fr/3034/monde/article/detail/831733/2009/04/25/Epidemie-inquietante-de-grippe-porcine-au-Mexique-et-aux-USA.dhtml>

25/04/2009

Grippe porcine: réunion d'urgence de l'OMS



L'armée distribue des masques de protection dans les rues de Mexico. [Keystone]

Une réunion d'urgence de l'OMS est prévue samedi sur l'épidémie de grippe porcine suite à l'alerte mondiale lancée vendredi. Le virus a fait 20 morts au Mexique, où 40 autres décès font l'objet d'analyses, et 8 contaminations aux Etats-Unis, selon un nouveau bilan samedi.

Le ministre mexicain de la Santé, José Angel Cordova, a évoqué pour la première fois une "épidémie" en annonçant un bilan de 20 cas mortels dus à la grippe porcine et de 40 autres possibles. L'Organisation mondiale de la santé (OMS), qui s'est déclarée "très inquiète", avait cité peu avant un chiffre de 18 cas mortels identifiés. Un peu plus de mille patients sont en observation.

Aux Etats-Unis, les autorités sanitaires ont diagnostiqué un nouveau cas sur un enfant en Californie (ouest), ce qui porte à huit le total de cas enregistrés dans ce pays. Autorités rassurantes

Le nombre de cas graves et de décès au Mexique a diminué au cours des 20 dernières heures, ont affirmé les autorités, qui ont voulu rassurer sur les risques d'extension de la maladie. Un "antivirus spécifique" est disponible, a indiqué le responsable de la santé de la municipalité de Mexico et le pays dispose d'un million de doses du médicament.

Le recours au médicament est préférable à la vaccination de masse annoncée dans la matinée par les autorités de Mexico. Selon l'OMS, le vaccin, qui correspond encore à une souche précédente du virus, est moins efficace. Il n'existe de vaccin spécifique contre cette grippe que pour les porcs et non pour les humains.

Multiples précautions

Les autorités de Mexico avaient conseillé vendredi matin à la population d'éviter le métro, de ne pas s'embrasser ou se serrer la main pour se saluer. Vendredi soir, l'armée a distribué gratuitement des masques hygiéniques: les stocks des pharmacies de Mexico avaient fondu dès le matin. Toutes les écoles, tous les lycées et universités publiques et privées ont été fermés dans la capitale et dans l'Etat de Mexico (centre), tout comme les théâtres et les musées.

L'aéroport de la capitale reste ouvert, mais des équipes médicales y sont en place pour prendre les passagers en charge. Les deux rencontres de football de Première division professionnelle prévues dimanche dans la capitale seront disputées à huis clos.

Aucun cas n'a été recensé au Canada, mais la ministre de la Santé, Leona Aglukkaq, a appelé la population à la plus grande vigilance. Six autres pays latino-américains, Costa Rica, Nicaragua, Brésil, Pérou, Chili et Colombie, ont décrété l'alerte sanitaire ou annoncé des mesures préventives.

<http://www.tsr.ch/tsr/index.html?siteSect=200001&sid=10616896>

25/04/2009

Belgique : Grippe porcine: le commissariat Influenza se réunit samedi soir



Le commissariat interministériel Influenza, mis en place lors de la crise de la grippe aviaire, se réunit ce samedi soir à partir de 19 heures pour examiner les mesures à prendre au niveau belge dans le cadre de la crise de la grippe porcine en Amérique.

"Je ne vous cache pas mon inquiétude, nous prenons l'affaire très au sérieux", a indiqué le virologue Marc Van Ranst, commissaire Influenza, interrogé par l'Agence Belga. L'épidémie de grippe porcine qui sévit au Mexique et aux Etats-Unis est liée à une forme jamais vue auparavant du virus de la grippe A de type H1N1. Elle a suscité un déclenchement d'alerte par les autorités sanitaires mondiales.

La grippe porcine a fait 20 cas mortels identifiés au Mexique, où 40 autres décès font l'objet d'analyses, et huit cas, non mortels, aux Etats-Unis.

<http://www.rtf.be/info/grippe-porcine-le-commissariat-influenza-se-reunit-samedi-soir-102415>

25/04/2009

Québec) Les hôpitaux de la capitale sont sur un pied d'alerte alors que l'Organisation mondiale de la santé craint une épidémie de grippe porcine au Mexique et aux États-Unis qui pourrait avoir contaminé des voyageurs canadiens.

L'Agence de santé et de services sociaux de la Capitale-Nationale a reçu de la Direction de santé publique de Québec la consigne de surveiller attentivement les patients qui pourraient avoir été infectés par ce virus.

Aucun cas n'a encore été signalé, ni dans la capitale, ni au Québec, ni au Canada. Mais l'Agence a tout de même pris «des mesures pour mettre en alerte notre réseau pour être vigilant concernant des cas qui pourraient présenter ce tableau de symptômes-là et qui se présenteraient dans les urgences, les cliniques médicales, partout où les gens sont susceptibles de se présenter pour aller chercher des soins s'ils sont malades», explique le porte-parole Pierre Lafleur.

Des soupçons de l'éclosion

Vendredi dernier, l'Agence de la santé publique du Canada a avisé tous les services de santé que les autorités sanitaires mexicaines soupçonnaient de possibles infections et lui avaient conseillé de surveiller de près les voyageurs revenant du Mexique ayant les symptômes de la maladie (fièvre, toux, gorge sèche, difficulté à respirer). Cette semaine, les médecins ont reçu une lettre sur l'éclosion et les mesures de précaution à prendre.

Si un cas de grippe porcine est repéré, le malade doit notamment être isolé et porter un masque chirurgical. Le personnel soignant est tenu de porter des gants, une blouse et un masque qui possède une bonne capacité de filtration. Les cas doivent aussi être rapidement signalés à la Direction de la santé publique pour que l'Agence puisse ensuite vérifier qui le malade pourrait avoir contaminé à son tour, indique M. Lafleur.

Hier, le premier administrateur en chef de la santé publique du Canada, David Butler-Jones, a indiqué que les responsables des agences de santé publiques avaient examiné plusieurs personnes qui sont revenues affaiblies du Mexique, mais qu'aucun cas d'infection à la grippe porcine n'avait été répertorié jusqu'à maintenant.

En conférence de presse hier soir à Ottawa, le Dr Butler-Jones a estimé que les Canadiens pouvaient continuer à voyager au Mexique malgré les cas de grippe porcine. Il a fait remarquer que le Canada, comme les États-Unis, n'avait toujours pas publié d'avis pour avertir ses citoyens de ne pas se rendre au Mexique.

David Butler-Jones a tout de même affirmé que les cas signalés au Mexique sont «très préoccupants». «Ce qu'ils vont entraîner est impossible à prédire, a-t-il dit. D'où l'importance de les comprendre très rapidement, de s'occuper de chaque cas le plus vite possible et de travailler en collaboration avec les autres pays et l'Organisation mondiale de la santé.»

Prévenir les infections

De simples mesures peuvent être adoptées pour prévenir des infections, dont se laver les mains fréquemment et couvrir les éternuements et les écoulements nasaux, a-t-il ajouté.

En 2007 et 2006, le Mexique a été la destination la plus populaire des touristes canadiens, selon une étude de Statistique Canada d'il y a deux ans.

<http://www.cyberpresse.ca/le-soleil/actualites/sante/200904/24/01-850203-grippe-mortelle-au-mexique-les-hopitaux-de-quebec-sur-le-qui-vive.php>
