

46^e
JOURNÉE
DE
L'HÔPITAL
CLAUDE-BERNARD
PARIS 2003

INFECTIONS VIRALES ÉMERGENTES

Enjeux collectifs

publié sous la direction de

C. LEPORT
B. REGNIER
J.-L. VILDÉ
P. YENI



**Les infections virales
émergentes :
enjeux collectifs**

Vj k' r ci g' k p v g p v k q p c m (' i g h ' d r e p m

46^e JOURNÉE DE L'HÔPITAL CLAUDE-BERNARD

Paris – 14 novembre 2003

Les infections virales émergentes : enjeux collectifs

sous la direction de :

**C. LEPORT
B. REGNIER
J.L. VILDÉ
P. YENI**

Comité d'organisation

C. Leport (coordination) avec F. Brun-Vézinet, J.C. Lucet, S. Matheron

Sous l'égide des services :

de Maladies Infectieuses et Tropicales, Réanimation Médicale
et Infectieuse, Bactériologie-Virologie, Mycologie-Parasitologie,
Hygiène Hospitalière du Groupe Hospitalier Bichat-Claude Bernard



Éditions E.D.K.
10, villa d'Orléans
75014 PARIS
Tél. : 01 53 91 06 06

© Éditions E.D.K., Paris, 2003
ISBN : 2-84254-092-1

Il est interdit de reproduire intégralement ou partiellement le présent ouvrage –
loi du 11 mars 1957 – sans autorisation de l'éditeur ou du Centre Français du
Copyright, 20, rue des Grands-Augustins, 75006 Paris.

Sommaire

I. Généralités

Les infections SIV chez les primates et le risque de zoonoses

M.C. MÜLLER-TRUTWIN, J.-C. PLANTIER, O.M. DIOP, M. MAKUWA, S. SOUQUIÈRE, C. KORNFELD, A. GUÈYE, M. PLOQUIN, P. ROQUES, E. NERRIENET, F. BARRÉ-SINOUSI, F. SIMON	3
--	---

II. Syndrome respiratoire aigu d'Asie, autres viroses respiratoires et grippe

Apports des satellites au suivi des épidémies

A. GÜELL	21
-----------------------	----

Syndrome respiratoire aigu d'Asie, autres viroses respiratoires : actualités cliniques

Y. YAZDANPANA, Y. MOUTON	31
---------------------------------------	----

Virus respiratoires : actualités

S. VAN DER WERF	41
------------------------------	----

III. Biotox : variole

Virologie des *Poxvirus*, actualités

D. GARIN, J.-M. CRANCE, D. SPEHNER, R. DRILLIEN	51
---	----

Vaccins anti-variologiques : acquis et perspectives

T. DEBORD, B. MEIGNIER	61
-------------------------------------	----

Variole : stratégies vaccinales en France

D. LÉVY-BRUHL, N. GUÉRIN	69
---------------------------------------	----

Prise en charge des « sujets variole »
F. BRICAIRE..... 83

IV. Arboviroses

Infections à virus West Nile
H. ZELLER, S. MURRI, S. MICHEL, I. SCHUFFENECKER,
V. NOËL..... 93

V. Prévention et traitement

Actualités des risques viraux chez les soignants
E. BOUVET..... 105

Antiviraux des infections virales émergentes
X. DUVAL, C. CAULIN..... 113

VI. Fièvres hémorragiques virales, Ebola

Ebola : un virus endémique en Afrique Centrale ?
M.-C. GEORGES-COURBOT, E. LEROY, H. ZELLER 121

Le point sur le laboratoire de haute sécurité P4
Jean-Mérieux à Lyon
M.-C. GEORGES-COURBOT, C. LECULIER, T. VALLET,
V. DEUBEL..... 133

I Généralités

Vj ku' r ci g' k' p v g p v k' p c m' ' i g h v' d i e p m

Les infections SIV chez les primates et le risque de zoonoses

**Michaela C. MÜLLER-TRUTWIN¹, Jean-Christophe PLANTIER²,
Ousmane M. DIOP³, Maria MAKUWA⁴, Sandrine SOUQUIÈRE⁴,
Christopher KORNFELD¹, Aissatou GUÈYE¹,
Mickaël PLOQUIN¹, Pierre ROQUES^{4, 5}, Éric NERRIENET⁶,
Françoise BARRÉ-SINOUSSE¹, François SIMON²**

¹ Unité de Biologie des Rétrovirus, Institut Pasteur, 25, rue du Docteur Roux,
75015 Paris, France

² Service de Virologie, Hôpital Charles Nicolle, CHU de Rouen, France

³ Laboratoire des Rétrovirus Simiens, Institut Pasteur, Dakar, Sénégal

⁴ Centre International de Recherches Médicales de Franceville, Franceville, Gabon

⁵ Service de Neurovirologie, CEA, Fontenay aux Roses, France

⁶ Laboratoire de Virologie, Centre Pasteur, Yaoundé, Cameroun

Les primates peuvent être infectés par des lentivirus apparentés aux virus de l'immunodéficience humaine de type 1 et de type 2 (VIH-1 et VIH-2), agents étiologiques du SIDA chez l'homme. Les VIH-1 et VIH-2 ont été découverts respectivement en 1983 [3] et 1986 [8]. Le premier lentivirus simien (SIV pour *simian immunodeficiency virus*) fut identifié en 1985 chez des singes macaques (*Macacca mulatta*, *M. cynomolgus*, *M. nemestrina*, *M. arctoïdes*) en captivité [13]. Ces singes présentaient des symptômes cliniques identiques au SIDA chez l'homme. Les lentivirus isolés chez ces macaques furent nommés SIVmac.

L'infection SIVmac chez le macaque est fréquemment accompagnée d'une lymphadénopathie. Les singes progressent vers la maladie en présentant une altération de l'état général avec survenue d'infections opportunistes se traduisant le plus souvent par des diarrhées [32]. Le temps s'écoulant entre l'infection et le développement d'un SIDA varie toutefois selon l'animal et le virus [24]. Selon les résultats d'infections expérimentales avec SIVmac chez le macaque, les symptômes apparaissent entre 6 à 12 mois post-infection (p.i.) dans un tiers des cas. Un autre tiers des animaux infectés développe des signes cliniques rapidement en quelques semaines ou mois post-infection, pouvant parfois ne pas développer des réponses humorales dirigés contre le virus. Enfin, des macaques

infectés par SIVmac peuvent ainsi rester asymptomatiques pendant plusieurs années.

Les études épidémiologiques n'ont pu mettre en évidence d'infection naturelle par du SIV chez les singes macaques dans leur habitat naturel [14]. Ceci suggère donc une transmission accidentelle du SIVmac d'un hôte naturel potentiel vers des macaques en captivité. Cette hypothèse s'est vérifiée avec l'isolement en 1986 d'un SIV, nommé SIVsm, chez le mangabey enfumé (*Cercocebus atys*). En effet : (1) ces animaux étaient maintenus captifs dans des centres de primatologie américains où vivaient également des macaques dépistés séropositifs [17, 36, 44] ; (2) les études épidémiologiques ont montré que les mangabeys enfumés sauvages peuvent être infectés par le SIVsm dans leur habitat naturel (l'Afrique de l'Ouest) ; et (3) les analyses génétiques ont révélé une parenté génétique très élevée entre le SIVsm et le SIVmac confirmant bien que SIVmac provient d'une transmission du SIVsm du mangabey enfumé au macaque en captivité. Le macaque, bien que non-infecté dans son habitat naturel, est donc sensible à l'infection par SIV, pouvant être porteur asymptomatique ou symptomatique de SIV en captivité.

Les réservoirs naturels de SIV

Seuls les primates d'Afrique sont des porteurs naturels de SIV, aucun SIV n'ayant été à ce jour détecté chez les singes originaires d'Asie ou du nouveau monde (Tableau I). Contrairement aux macaques, les singes d'Afrique ne semblent pas développer de SIDA suite à l'infection SIV et sont donc des porteurs sains [40-42].

Des SIV ont été identifiés chez de nombreuses espèces de primates d'Afrique appartenant aux sous-familles des *Cercopithecinae* et *Colobinae*, ainsi qu'à la famille des *Pongidae*. Parmi les *Pongidae*, ce sont deux sous-espèces de chimpanzés (*Pan troglodytes troglodytes* et *P. t. schweinfurthii*) qui ont été décrits pouvant être infectés naturellement par des lentivirus, nommés SIVcpz [10, 19, 43, 47, 48]. Parmi les *Cercopithecinae*, en dehors du mangabey enfumé, d'autres singes peuvent être porteurs de SIV. Le mangabey à crête rouge (*Cercocebus torquatus torquatus*) est porteur de SIVrcm [21]. Les mandrills (*Mandrillus sphinx*) peuvent être infectés par SIVmnd-1 ou SIVmnd-2 [55, 57]. Le drill (*Papio leucophaeus*) peut être porteur d'un virus nommé SIVdr1 [9]. De nombreux cercopithèques ou espèces proches des cercopithèques sont infectés par SIV. Il s'agit notamment du cercopithèque à diadème (*Cercopithecus mitis*), du cercopithèque de l'Hoest (*C. lhoesti lhoesti*) et du singe à queue de soleil (*C. l. solatus*) ; respectivement porteurs de SIVsyk, SIVlhoest et SIVsun [4, 16, 25]. Les quatre espèces de singes verts d'Afrique (AGM) : *Chlorocebus pygerythrus* (vervet), *C. aethiops* (grivet), *C. sabaues* (sabaues) et *C. tantalus* (tantale) sont les hôtes naturels d'un virus désigné SIVagm [39, 57]. Le talapoin (*Miopithecus talapoin*) quant à lui est porteur d'un virus nommé SIVtal [46]. Enfin, parmi les *Colobinae*, le colobe noir et blanc (*Colobus guereza*) a été décrit plus récemment comme pouvant héberger un SIV, appelé SIVcol [11, 12]. De plus, une suspicion d'infection par SIV chez des espèces proches, à savoir le colobe vert (*Ptilocolobus*

Tableau I

Les infections SIV décrites chez les espèces simiennes

	Hôte		SIV
Hôte naturel	CHIMPANZÉ	<i>P. t. troglodytes</i> <i>P. t. schweinfurthii</i>	SIVcpz-gab/cam/US SIVcpz-ant
	MANGABEY	<i>C. atys</i> <i>C. t. torquatus</i>	SIVsm SIVrcm
	MANDRILL	<i>M. sphinx</i> <i>M. sphinx</i>	SIVmnd-1 SIVmnd-2
	DRILL	<i>M. leucophaeus</i>	SIVdrl
	L'HOEST	<i>C. l. lhoesti</i> <i>C. l. solatus</i>	SIVlhoest SIVsun
	SINGE VERT D'AFRIQUE	<i>C. tantalus</i> <i>C. aethiops</i> <i>C. sabaesus</i> <i>C. pygerythrus</i>	SIVagm.tan SIVagm.gri SIVagm.sab SIVagm.ver
	C. DIADÈME	<i>C. mitis</i>	SIVsyk
	De BRAZZA	<i>C. neglectus</i>	SIVdeb
	C. MONA	<i>C. mone</i>	SIVmon
	TALAPOIN	<i>M. talapoin</i>	SIVtal
	COLOBE	<i>C. guereza</i>	SIVcol
Infection par le SIV d'une autre espèce ou sous-espèce	CHIMPANZÉ	<i>P.t.vellerosus</i>	SIVcpz-cam
	BABOUIN	<i>P. h. cynocephalus</i> <i>P. ursinus</i>	SIVagm.ver SIVagm.ver
	MANGABEY	<i>C. t. lunulatus</i>	SIVagm.ver
	PATAS	<i>E. patas</i>	SIVagm.sab
	MACAQUE	<i>M. arctoides</i> <i>M. fascicularis</i> <i>M. mulatta</i> <i>M. nemestrina</i>	SIVmac SIVmac SIVmac SIVmac

badius) et le colobe rouge (*Procolobus verus*) a été rapportée récemment [11, 12]. Il paraît très probable que la liste n'est pas close et que d'autres hôtes naturels de SIV seront identifiés dans le futur, notamment chez le cercopithèque de Brazza (*Cercopithecus neglectus*), mone (*Cercopithecus mona wolfii*) et hocheur (*Cercopithecus ascanius*) [1, 52].

Des cas sporadiques d'infections lentivirales ont également été décrites chez le babouin jaune (*Papio hamadryas cynocephalus*), le babouin chacma (*Papio ursinus*) et le patas (*Erythrocebus patas*) [6, 27, 58]. Tous les virus isolés chez ces animaux présentaient une très grande proximité génétique avec les SIVagm

des AGM. Ces infections sont probablement la conséquence de transmissions des SIVagm du singe vert à des espèces partageant la même niche écologique. Des cas de transmissions de SIV ont été décrits également entre animaux d'espèces ou de sous-espèces distinctes en captivité. Un *P. t. troglodytes* infecté par SIVcpz *in natura* a pu transmettre le virus à son compagnon de cage, un chimpanzé de la sous-espèce *P. t. vellerosus* [10]. Un SIVagm a été décrit chez un mangabey à collier blanc vivant en captivité (*Cercocebus torquatus lunulatus*) [56]. Des primates d'Afrique, sans en être réservoirs naturels proprement dits, peuvent donc être infectés occasionnellement par un SIV normalement présent chez un autre hôte.

La séroprévalence de l'infection SIV dans les populations naturelles a été étudiée de manière extensive essentiellement chez les AGM. Quarante à 50 % des AGM en moyenne sont porteurs d'anticorps anti-SIV [39]. La séroprévalence augmente avec l'âge [28]. Si les adultes AGM sont fréquemment porteurs d'anticorps anti-SIVagm *in natura*, la majorité des AGM très jeunes ne sont pas infectés. La séroprévalence SIV chez les animaux sauvages au sein d'autres espèces n'est que peu connue du fait du faible nombre d'animaux étudiés. Cependant, les résultats obtenus auprès de 18 mangabeys enfumés et de 24 mandrills sauvages suggèrent que cette prévalence pourrait être élevée également avec là encore une fréquence plus élevée chez l'adulte que chez les juvéniles [7, 55].

Modes de transmission du SIV entre primates

Les taux d'infection qui sont supérieurs chez les adultes comparativement aux juvéniles, tout du moins chez les AGM qui ont été les plus étudiés, suggèrent que les transmissions se feraient préférentiellement par voie horizontale. Chez les AGM, deux modes de transmission horizontale du SIVagm ont été proposés : la voie sexuelle et les morsures [15, 37, 49]. Les modes de transmission pourraient être similaires au sein des mangabeys enfumés sauvages et captifs [7, 50]. Une situation différente a été décrite au sein d'une colonie de mandrills vivant en semi-liberté au Gabon où aucun cas de transmission sexuelle n'a pu être mis en évidence [20]. En effet, les études d'épidémiologie moléculaire indiquent plutôt un passage du virus par morsure lors de contacts agressifs entre les mâles dans cette colonie [45]. Chez des adultes sauvages, des infections ont cependant pu être identifiées chez au moins 5 femelles [55]. La voie de transmission du SIVmd *in natura* est encore inconnue, mais une transmission sexuelle n'est donc pas exclue.

La transmission du virus de la mère à l'enfant paraît moins fréquente que la voie horizontale. Cependant, des cas d'infections d'enfants nés de femelles séropositives ont été rapportés au sein de la colonie de mandrills vivant en semi-liberté au CIRMF (Gabon), sans que l'on sache pour l'instant s'il pourrait s'agir d'une transmission *in utero*, périnatale (lors de la délivrance) ou post-natale (lors de l'allaitement) [45, 55]. Des études supplémentaires sont nécessaires pour comprendre les modes d'infection des singes très jeunes.

Les voies de transmission inter-espèces du SIV *in natura* sont les moins explorées. Une transmission par morsure ou par contact avec du sang contaminé

entre animaux n'est pas exclue. Des contacts occasionnels entre espèces partageant le même habitat naturel, par exemple entre singes patas et AGM en Afrique de l'Ouest, ont été décrits et pourraient être à l'origine de telles transmissions [18].

Les SIV apparentés aux VIH

Les SIV, tout comme les VIH, sont des virus d'une variabilité génétique extrême. Des virus SIV isolés chez deux espèces distinctes peuvent montrer plus de 50 % de différence nucléotidique entre leur génomes, soit la même distance existant entre VIH-1 et VIH-2. À titre comparatif, la différence entre les génomes de l'homme et du chimpanzé est de l'ordre de 2 à 3 %.

Les SIV connus à ce jour peuvent être classés en six lignées phylogénétiques (*Figure 1*). Les virus VIH-1 sont génétiquement apparentés aux SIVcpz. En revanche, les VIH-2 forment une lignée commune avec les SIVsm et SIVmac. Il existe ainsi des SIVsm isolés chez des mangabeys enfumés sauvages montrant seulement 10 % de divergence nucléotidique environ avec le sous-type E de VIH-2 au niveau du gène *gag* [7]. Ce niveau de divergence est 2 à 3 fois plus faible que les distances entre les différents sous-types de VIH-2 (13-24 %). Enfin, SIVsm/SIVmac présentent la même organisation génétique que VIH-2 [23]. Leurs génomes ne possèdent pas le gène *vpu*, présent chez les VIH-1, mais possèdent à l'inverse un gène (*vpx*) absent des génomes de VIH-1 et des autres SIV [60]. La parenté génétique entre le VIH-2 et ces virus simiens sont en faveur d'une zoonose [8, 23]. Un autre argument en faveur d'une origine simienne du VIH-2 est la distribution géographique, l'Afrique de l'Ouest étant à la fois l'habitat naturel du mangabey enfumé et l'épicentre des infections à VIH-2. Les SIVsm et VIH-2 les plus proches génétiquement parlant ont été retrouvés dans les mêmes zones géographiques [7]. L'isolat SIVsm-Lib1, identifié chez un animal domestique à Harbel, une ville du Libéria, est ainsi génétiquement très proche de la souche VIH-2 FO784 isolée chez une personne travaillant dans cette même ville (90,7 % d'identité au niveau du gène *gag*). De même, le degré d'identité nucléotidique entre les isolats SIVsm-SL92b et SIVsm-SL92c de mangabeys domestiques dans un village de Sierra Leone et la souche VIH-2 PA d'un patient né dans un village voisin est particulièrement élevé (89,3 % dans *gag*). C'est sur la base de ces arguments que repose l'hypothèse de l'origine simienne de VIH-2 comme conséquence d'une transmission de SIVsm à l'homme.

Si l'origine du VIH-2 apparaît claire, celle du VIH-1 a fait régulièrement l'objet de débats [40-42]. L'hypothèse d'une origine simienne du VIH-1 repose sur plusieurs arguments. Six lentivirus apparentés au VIH-1 ont été identifiés chez des chimpanzés originaires d'Afrique Centrale ou du Cameroun. L'organisation génomique de ces SIVcpz est identique à celle des VIH-1, mais différente des autres SIV [10, 19, 26, 43, 59]. De plus, SIVcpz et VIH-1 forment une seule et même lignée phylogénétique (*Figure 1*). Les SIVcpz de la sous-espèce *P. t. troglodytes* sont particulièrement proches des VIH-1 [10, 19]. Cette parenté est retrouvée notamment avec les VIH-1 du groupe N isolés au Cameroun [2, 53]. Selon Gao *et al.* [19], le *P. t. troglodytes* serait le réservoir initial de l'infection

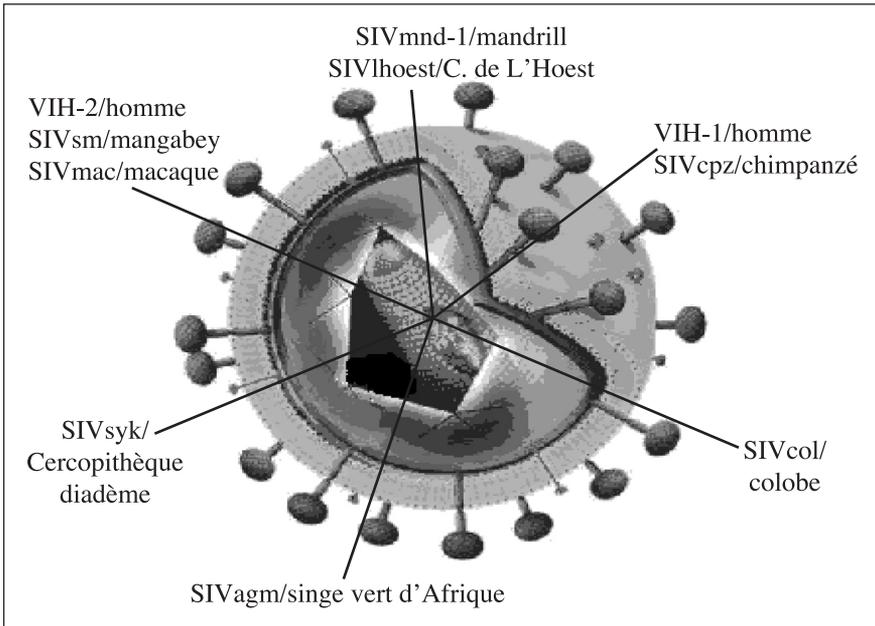


Figure 1. Les six lignées phylogénétiques des lentivirus de primates.

humaine VIH-1 [19]. On ne peut cependant exclure à l'heure actuelle que d'autres sous-espèces de chimpanzés soient porteuses de virus génétiquement plus proches des VIH-1 [10].

Mais la parenté phylogénétique significative entre le virus de *P. t. troglodytes* et le VIH-1 reste limitée au gène *env* de VIH-1 du groupe N. L'origine des gènes *gag* et *pol* des VIH-1 reste encore incertaine. Des incertitudes plus grandes persistent sur l'origine des deux autres groupes de VIH-1, les groupes M et O. Bien qu'ils proviennent probablement de deux transmissions indépendantes de SIVcpz du chimpanzé à l'homme, aucun SIVcpz très proche des VIH-1 des groupes M et O n'a encore été identifié. Il est possible que les chimpanzés porteurs des ancêtres des virus VIH-1 M et O soient aujourd'hui disparus. Il est possible également que des virus proches des VIH-1 M et O soient découverts dans le futur chez d'autres espèces animales en Afrique. Le virus SIVrcm, identifié chez un mangabey à crête rouge (*Cercocebus t. torquatus*) possède un gène *pol* phylogéniquement proche des VIH-1 [21]. En outre, un VIH présentant une parenté antigénique avec le gène *env* de SIVmnd a été récemment rapporté [55]. Par conséquent, le potentiel de transmission à l'homme d'autres SIV que SIVcpz ou SIVsm/SIVmac ne doit donc pas être sous-estimé. L'ensemble de ces données indique une évolution propre de ces lentivirus au sein de leur espèce d'hôte, associée à des événements de transmissions inter-espèces conduisant des fois à des recombinaisons entre deux virus chez des hôtes doublement infectés.

Les cas décrits de transmission de SIV à l'homme

Trois cas de transmission de SIV à l'homme sont documentés dans la littérature [29, 30]. Il s'agissait toujours d'une transmission accidentelle d'un virus de la lignée SIV_{sm}/SIV_{mac} à partir d'un singe macaque en captivité. Le macaque infecté par SIV_{sm}/SIV_{mac} étant le modèle animal du SIDA le plus fréquemment utilisé, il existe un risque de d'exposition au SIV plus élevée. Dans un de ces cas, une piqûre avec une aiguille contaminée était à l'origine de l'infection [29]. Dans un autre cas, une transmission suite à la manipulation sans gants des produits d'animaux est évoquée [30]. Au moins un de ces patients exposés au SIV a présenté une séroconversion et une infection persistante avec une charge virale faible. Le potentiel d'évolution vers le SIDA de ces patients est pour l'heure inconnue.

On peut établir un parallèle avec les accidents d'exposition au sang (AES) des personnels de santé, chez qui le risque moyen d'infection par le VIH est de 0,3 % par piqûre. Ce taux ne reflète qu'une moyenne globale et non la diversité des situations des AES, le risque étant d'autant plus important que le patient source est dans un stade avancé et que la blessure est profonde.

Dépistage du SIV

Tous ces SIV appartiennent donc à une des 6 lignées phylogénétiques (*Figure 1*) en étant soit spécifiques d'espèce, soit le produit d'une transmission inter-espèce suivi d'une recombinaison entre des virus de ces différentes lignées. L'existence dans le monde simien d'autres SIV, apparentés ou de lignées encore non reconnues, est hautement probable et nécessite des outils performants pour la surveillance sanitaire. Pour dépister tous ces SIV connus et détecter des virus encore non identifiés, il faut des outils à la fois spécifiques (ne donnant pas de faux positifs au dépistage) mais aussi sensibles (pour détecter l'ensemble de ces SIV). Les méthodes de détection du génome viral sont difficiles à mettre en œuvre, onéreuses et parfois peu sensibles, en fonction de la qualité des prélèvements et de la charge virale chez les animaux. Le dépistage de nouveaux variants par amplification génique (PCR, *polymerase chain reaction*) nécessite soit l'utilisation d'amorces nucléotidiques spécifiques du virus recherché, ce qui par définition est difficile dans le cas de SIV non encore identifiés, ou l'utilisation d'amorces dégénérées qui peuvent cependant induire des réactions non spécifiques [40-42]. Aussi la reconnaissance d'anticorps dirigés directement ou réagissant de façon croisée sur des épitopes plus ou moins spécifiques est une alternative intéressante. Les tests sérologiques jusque-là disponibles (essentiellement des tests EIA [*Enzyme Immuno-Assay*] conçus pour détecter l'infection par VIH-1 ou VIH-2) ont été utilisés pour détecter avec plus ou moins d'efficacité les SIV retrouvés chez les chimpanzés, chez les mangabeyes enfumés ou les macaques, respectivement apparentés aux VIH-1 et VIH-2 grâce au partage de caractéristiques antigéniques liées à la parenté phylogénétique entre VIH-1 et SIV_{cpz} ainsi qu'entre VIH-2, SIV_{sm} et SIV_{mac}. Mais les tests, selon leur format et le type

d'antigènes, peuvent présenter un manque de sensibilité ou de spécificité pour les autres SIV. Les méthodes de *Western blot* VIH-1 ou VIH-2, basées sur du lysat viral, seraient plus sensibles que les EIA pour détecter les SIV de par leur nature antigénique plus large, mais sont difficilement réalisables sur des grandes séries d'échantillons. Nous avons donc développé une stratégie d'ELISA indirecte, nommée PLIA (pour *Primate Lentiviruses Immuno-Assay*), combinant un test de détection et un test de discrimination des principaux lentivirus d'homme et de primate [54]. Ces tests utilisent des oligopeptides de synthèse mimant la région immunodominante de la glycoprotéine transmembranaire (gpTM) pour la détection, et la boucle V3 de la glycoprotéine de surface pour la discrimination [38]. Vingt peptides synthétiques (10 gpTM + 10 V3) ont déjà été synthétisés couvrant les épitopes des 6 lignées de lentivirus connus et d'un SIV recombinant (SIVrcm) :

- lignée HIV-1/SIVcpz avec des peptides des groupes M, N et O, et SIVcpz gab-1 ;
- lignée SIVsm/HIV-2/SIVmac avec un peptide SIVsm ;
- lignée SIVmnd/SIVlhoest/SIVsun avec un peptide SIVmnd ;
- lignée SIVagm avec un peptide SIVagm (vervet) ;
- lignée SIVsyk avec un peptide SIVsyk ;
- lignée SIVcol avec un peptide SIVcol ;
- SIVrcm avec un peptide spécifique.

La *Figure 2* représente les réactivités de différents sérums simiens et humains sur un format du test sans peptides SIVcol. Le principe du test est simple : les peptides représentant les antigènes des différentes lignées SIV/VIH sont fixés dans les puits d'une microplaque (1 antigène par ligne) ; les anticorps présents dans le sérum ou le plasma vont ensuite se lier à l'antigène correspondant. Le complexe est révélé par une réaction immuno-enzymatique colorée utilisant un anticorps anti-anticorps humain marqué à une enzyme, et un agent chromogène. Les réactivités croisées observées contre le peptide de la gpTM permettent la détection d'un spectre large de virus ; les réactivités plus spécifiques contre le peptide V3 permettent la discrimination (identification) du type de virus (*Figure 2*) et en conséquence une orientation des analyses moléculaires complémentaires à réaliser. Ce principe à l'avantage d'être ouvert à l'addition de nouveaux peptides suite aux caractérisations d'éventuels nouveaux virus. Ainsi, la version PLIA actuelle inclut désormais les peptides gpTM et V3 de SIVcol.

Une pré-étude de cette stratégie de détection « gpTM » suivie d'une discrimination « V3 » sur un panel de référence de sérums humains (n = 249) et simiens (n = 66) a montré une sensibilité (hors phase aiguë de primo-infection) de 100 % et une spécificité de 100 % [54]. Toutes les réactivités anti-V3 ont été confirmées par séquençage avec correspondance totale entre résultats sérologiques et moléculaires. Nous avons ensuite utilisé le PLIA en condition de terrain sur 537 prélèvements simiens essentiellement recueillis en Afrique centrale [54]. Vingt-cinq espèces différentes de primates étaient représentées. Des anticorps anti-SIV ont été détectés chez six *C. aethiops*, 1 *C. solatus*, 14 *P. papio*, 3 *C. torquatus*, 19 *M. sphinx*, 3 *M. leucophaeus*, et 1 *Pan troglodytes*. La discrimination V3 a permis d'emblée la classification de 75 % des échantillons. Dans tous les cas, sauf pour *P. papio*, la détection des anticorps correspondait à une infection SIV confirmée par des analyses génétiques (amplifications génomiques et détermination de séquences nucléotidiques). Différents examens complémentaires

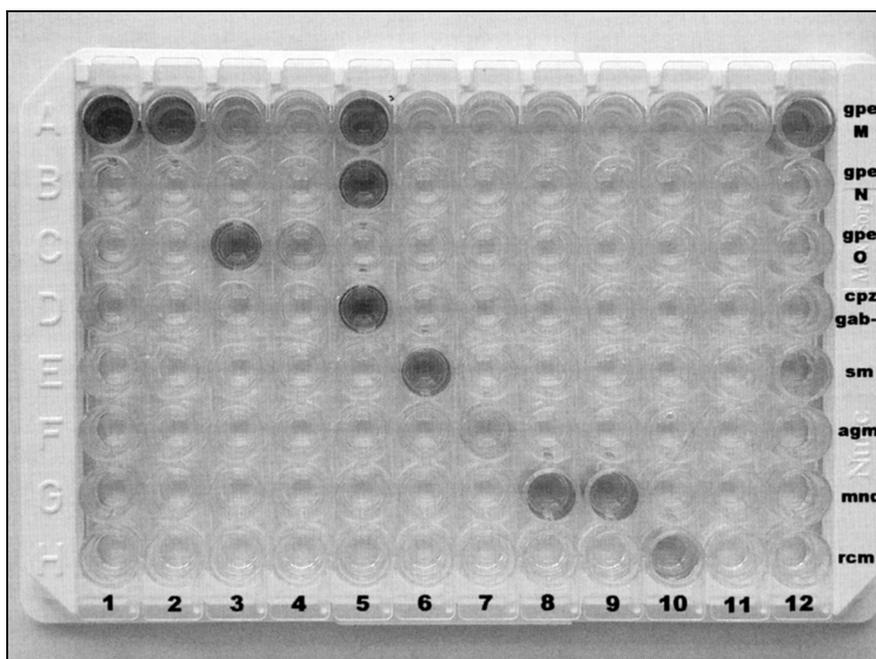


Figure 2. Test de discrimination (V3) des sérums simiens et humains réactifs après dépistage positif avec le test gpTM : le format V3 permet l'identification du type de virus SIV/VIH. Les colonnes sont disposées de la manière suivante : sérums de sujets infectés par VIH-1 groupe M (colonnes 1 et 2) ou VIH-1 groupe O (colonnes 3 et 4) ; sérums de singes infectés par SIVcpz (colonne 5), SIVsm (colonne 6), SIVagm (colonne 7), SIVmnd (colonne 8), SIVsun (colonne 9) ou SIVrcm (colonne 10). La colonne 11 correspond à un témoin VIH/SIV séronégatif. Un échantillon doublement infecté VIH-1/VIH-2 (colonne 12) montre des réactivités croisées. À noter le profil particulier observé avec le sérum d'un chimpanzé infecté par SIVcpz (colonne 5), qui réagit de manière identique avec les peptides VIH-1 N et SIVcpz gab (résultat dû à la parenté phylogénique de ces 2 virus dans la région Env). La très forte réactivité de ce sérum sur le peptide M est en revanche particulière à cet échantillon, une réactivité croisée plus faible étant généralement observée (résultat dû probablement au jeune âge de ce chimpanzé étudié). À noter également la double réactivité VIH-1 groupe M et SIVsm de l'échantillon de la colonne 12 qui permet de conclure, avec le profil gpTM, à une double infection VIH-1/VIH-2.

sérologiques et moléculaires réalisés chez ces babouins n'ont pas encore permis de déterminer s'il s'agit de fausses réactivités du format gpTM ou d'une réelle infection par un SIV divergent, tout comme chez d'autres babouins séropositifs décrits dans la littérature et chez lesquels aucun SIV spécifique d'espèce n'a pu être isolé à ce jour [31].

Des analyses sur 150 primates captifs vivant en France (zoos, centres de recherche) ont également été réalisées à ce jour sur plus de 15 espèces différentes. Tous les résultats sérologiques ont été négatifs pour ces animaux. Le taux d'infection par SIV chez des singes maintenus en captivité dans des structures zoologiques peut être faible dans beaucoup de cas, mais de telles infections existent et ont déjà été décrites [5, 10, 50].

Le dépistage du SIV apparaît indispensable à une meilleure connaissance des lentivirus de primates existant chez les primates et de leur prévalence à la fois chez les animaux en captivité et en milieu sauvage. Le dépistage et le suivi sérologique des primates vivant en captivité ainsi que des personnes directement en contact avec des animaux ou manipulant des produits d'animaux, demeure une des meilleures garanties pour limiter les risques de transmission virale entre singes ou entre singes et hommes [51]. Il est alors important de tester les primates maintenus en captivité, et tout nouvel animal dès son arrivée dans une colonie [33]. Il est préférable que les animaux soient testés en début et en fin de quarantaine, la fenêtre de séroconversion, période durant laquelle l'hôte est infecté mais les anticorps non encore détectables, pouvant parfois s'allonger jusqu'à 6 mois. Si un animal se révèle séropositif dans la colonie, le dépistage des autres animaux permet de vérifier une éventuelle transmission à des singes maintenus dans le même enclos. Ici aussi, il faut tenir compte de la fenêtre de séroconversion. Les travaux expérimentaux indiquent que cette période de séro-négativité peut être, lors de l'infection expérimentale SIV chez les macaques, les singes verts ou les mandrills, de l'ordre de 3 à 6 semaines comme dans 95 % des infections VIH que l'on a pu dater chez l'homme. Mais rien n'est connu de la durée d'une séroconversion lors d'une transmission naturelle des SIV et c'est pourquoi il faut tenir compte d'une fenêtre de séroconversion de 6 mois ou plus.

Propositions de conduite en cas d'exposition accidentelle

Plusieurs dizaines d'accidents d'exposition aux singes sont annuellement rapportées en France, généralement par les centres de surveillance de la rage. Il n'existe, pour l'heure, aucune recommandation officielle pour la gestion de ces accidents impliquant des virus SIV. En cas d'exposition accidentelle humaine à du matériel infectieux simien après morsure, griffure ou encore contact avec par exemple des produits sanguins, le suivi sérologique et clinique des individus pourrait être réalisé suivant les recommandations en vigueur dans les cas des AES, mais avec une surveillance sérologique prolongée de un an post-exposition. Cette surveillance rallongée de 6 mois à un an par rapport aux cas d'exposition à du matériel potentiellement contaminé par VIH tient compte de la variabilité antigénique de virus SIV et de la méconnaissance des sensibilités des tests sur la période de séroconversion par SIV. Il faut penser également au dépistage d'autres pathogènes éventuels (rage, hépatites, HTLV, etc.).

En France, les services d'urgence de l'ensemble des hôpitaux, en cas d'absence d'un infectiologue référent, sont capables de prendre en charge, 24 heures sur 24, les accidents d'exposition au VIH. On peut donc se référer, en l'absence de recommandations actuelles, à ces services. Selon les connaissances sur le statut d'infection de l'animal, le type de blessure et d'autres paramètres, le médecin pourra ou non proposer une prophylaxie. Si une prophylaxie est décidée, il est important de communiquer au médecin les données suivantes extrapolées d'études *in vitro* :

– s'il s'agit d'une souche potentiellement rattachée à SIVcpz, les recommandations décrites pour VIH-1 (association d'inhibiteurs de la transcriptase inverse et d'inhibiteurs de la protéase) peuvent être appliquées ;

– s'il s'agit d'un autre SIV, il faut considérer que ces virus ne sont généralement pas sensibles aux inhibiteurs non-nucléosidiques de la transcriptase inverse et que la sensibilité aux anti-protéases n'est pas toujours démontrée. Toutefois, le saquinavir (Invirase[®] ou Fortovase[®]) et l'indinavir (Crixivan[®]) semblent doués, *in vitro*, d'une bonne activité sur les rares souches VIH-2 et SIV explorées jusqu'à présent. On pourrait conseiller une association d'inhibiteurs de la transcriptase inverse telle que ddi (Videx[®]) et d4T (Zerit[®]) pendant 28 jours. Ces drogues sont largement disponibles dans les hôpitaux publics. Si le risque semble majeur (animal SIV positif connu, morsure profonde...), on peut adjoindre à cette association une anti-protéase. Cette prophylaxie doit être suivie médicalement, de par les risques d'effets secondaires. Il faut noter cependant que des cas d'infection ont été rapportés en dépit d'un traitement prophylactique rapide, à la fois chez l'homme et le singe [22, 34, 35]. Enfin, la prise en charge psychologique ne doit pas être négligée d'autant que les limites de nos connaissances vont entraîner un suivi de au moins un an.

En conclusion

La surveillance virale des animaux vivant en captivité est nécessaire en terme de protection du personnel et de protection des colonies [33, 51]. L'outil ELISA sur peptides de synthèse (PLIA) permet, avec une très bonne sensibilité et spécificité, une surveillance de tous les SIV connus. Cette stratégie ELISA combinée est une méthode simple et peu coûteuse. Les réactivités à large spectre du format gpTM et la spécificité du format V3 font du PLIA un outil d'intérêt pour détecter une infection SIV et surveiller l'émergence de nouveaux variants. Ce dépistage doit être accompagné de réflexions sur la mesure des risques, l'information du personnel, les pratiques de laboratoire, les conditions de maintien des animaux séropositifs et la prise en charge du personnel en cas d'accidents.

Cet article a été publié en 2001 dans la revue *Primatologie*, vol. 4, p. 299-321.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

1. Abela B, Auzel P, Cournaud V, Liegeois F, Pourrut X, Bibollet-Ruche F, Mpoudi Ngole E, Kou-lagna D, Hahn BH, Delaporte E, Peeters M. *Ongoing exposure of humans to an extraordinary variety of simian immunodeficiency viruses in west central Africa*. Paris (France) : 8th Annual discussion meeting on HIV dynamics and evolution, 2001.
2. Ayoub A, Souquière S, Njinku B, Martin P, Müller-Trutwin MC, Roques P, Barré-Sinoussi F, Nerrienet E. HIV-1 group N among HIV-1-seropositive individuals in Cameroon. *AIDS* 2000 ; 14 (16) : 166-72.
3. Barré-Sinoussi F, Chermann JC, Rey F, Nugeyre MT, Chamaret S, Gruest F, Dauguet C, Axler-Blin C, Brun-Vezinet F, Rouzioux C, Rozenbaum W, Montagnier L. Isolation of a

En particulier, les appareils de lecture des tests biologiques effectués dans le P4 (microscopie, cytométrie, ELISA, tests sanguins...) sont raccordés au réseau informatique des chercheurs. Constituant la « pierre angulaire » de cette structure, les échantillons conservés dans la biothèque du laboratoire P4 sont répertoriés et parfaitement identifiables pendant des années après leur stockage. Ainsi, un logiciel spécialement prévu pour la gestion de ces échantillons a été installé. Il permet de gérer automatiquement le stockage et le déstockage des échantillons de manière sécurisée. La sécurisation est établie sur plusieurs niveaux : sécurisation des données par définition de profils utilisateurs, codes utilisateurs, mots de passe et référence de l'étude. Les opérations de réception, de stockage et de déstockage d'échantillons sont enregistrées par un des responsables scientifiques du laboratoire P4. La base de données est régulièrement sauvegardée sur support DAT au niveau du serveur du laboratoire.

Rôle du laboratoire P4 Jean-Mérieux

Le laboratoire P4 Jean-Mérieux a une double vocation d'aide au diagnostic et de recherche.

Une des priorités du laboratoire est la mise au point d'outils de diagnostic pour les virus de niveau de sécurité P4. Ceux-ci ont pour but d'apporter une réponse diagnostique en cas d'épidémies naturelle ou provoquée, de cas suspects dans les pays d'endémie de ces infections ou de cas isolés importés en France et en Europe. Les différents laboratoires P4, dont celui de Lyon, se sont organisés en réseaux au niveau mondial ou européen pour mettre en commun leurs ressources et leurs compétences. Plusieurs programmes communs, en relation avec la Direction Scientifique de la Communauté Européenne à Bruxelles, la Direction Générale de la Santé à Luxembourg, et avec les bureaux de l'OMS à Lyon et à Genève, et enfin avec le groupe des laboratoires de haute sécurité du G7 + Mexique contribuent à la mise au point, la standardisation et l'échange de kits de diagnostic comportant détection des anticorps, détection des antigènes et RT-PCR. Les techniques de diagnostic ont été largement améliorées dont une application sur le terrain pour les virus Lassa, Ebola et Fièvre Jaune : ce kit permet de limiter le risque de contamination du personnel par performance des différentes étapes dans le même tube.

L'autre vocation du P4 Jean-Mérieux est la recherche : il dispose pour ceci d'un outil exceptionnel, l'animalerie P4 qui permet d'héberger en même temps 16 primates de moins de 8 kilos aussi bien que des petits rongeurs ou des lapins : il représente donc un outil unique en Europe pour les études physiopathologiques, thérapeutiques et vaccinales des fièvres hémorragiques.

Trois équipes de recherche rattachées à l'IFR 128 travaillent en permanence dans ce laboratoire, deux équipes de l'INSERM et une équipe pasteurienne qui en a la responsabilité scientifique et qui assure, avec l'équipe de la biosécurité de la Fondation Mérieux, les astreintes et la formation. Ce grand équipement qui fonctionne depuis trois ans a permis des avancées indéniables dans la connaissance de l'immunopathologie du virus Lassa, dans la virulence du virus Ebola et

dans la prévention du virus Nipah. Plusieurs publications de haut niveau et des résultats innovants ont fait l'objet de dépôt de brevets.

Le laboratoire P4 a également une vocation d'accueil pour des équipes extérieures ayant besoin de manipuler des virus de type P4 après acceptation de leur programme de recherche et formation spécifique au travail en conditions P4. Des conventions ont déjà été signées dans ce sens avec l'Institut Pasteur à Paris, avec les Services de Santé des Armées ainsi qu'avec l'Université Claude Bernard à Lyon.

RÉFÉRENCE BIBLIOGRAPHIQUE

1. CDC/NIH. *Biosafety in microbiological and biomedical laboratories*, 41th ed. In : Richmond JY, ed. Washington DC : US Government Printing Office, 1999.