

Etude de la prévalence du virus influenza équin en France de novembre 2005 à octobre 2010 et analyse phylogénique des souches isolées lors des différentes épizooties

Par :

- Legrand L¹, Marcillaud-Pitel C², Pitel PH¹, Fortier G¹, Pronost S¹
- ¹ Laboratoire Frank Duncombe, IFR 146 ICORE, 14053 Caen Cedex
- ² Réseau d'Epidémio-Surveillance en Pathologie Equine, 23 rue Pasteur 14120 Mondeville)

Résumé

Le virus influenza équin, ou virus de la grippe équine, est le pathogène respiratoire le plus important des équidés. L'objectif du travail présenté est de réaliser une étude épidémiologique et phylogénique sur les souches de virus influenza équin circulant en France depuis 2005. De novembre 2005 à octobre 2010, 1527 écouvillons ont été reçus au laboratoire Frank Duncombe pour la recherche du virus influenza équin. Sur l'ensemble des écouvillons reçus, 147 (9,6%) cas de grippe ont pu être détectés. Le nombre de virus influenza détectés est de 17 en 2005, 8 en 2006, 14 en 2007, 11 en 2008, 90 en 2009 et 7 pour les dix premiers mois de l'année 2010. 2009 est une année exceptionnelle puisque l'épizootie a touché un des plus gros centres d'entraînement d'Europe, le domaine de Grosbois. Le virus s'est ensuite propagé à l'ensemble du territoire. L'étude phylogénique a pu mettre en évidence la circulation en France des lignages américains, cluster Florida, clade 1 et 2. Seule l'épizootie de Grosbois a été causée par le clade 1, l'ensemble des autres virus détectés appartenant au clade 2.

Mots clés : Virus influenza équin, étude phylogénétique, étude épidémiologique, RT-PCR en temps réel

Summary

Equine influenza virus (EIV) is the most economically important respiratory horse's pathogen worldwide. The aim of this study is to perform an epidemiological and phylogenetic study on equine influenza strains circulating in France since 2005. Of the 1527 nasal swabs received at the Frank Duncombe Laboratory from November 2005 to October 2010, 147 (9.6 %) were found positive. The number of equine influenza cases was 17 in 2005, 8 in 2006, 14 in 2007, 11 in 2008, 90 in 2009 and 7 for the ten first months of 2010. In 2009, one large outbreak was observed concerning a training yard, Grosbois, from which there was widespread dissemination in a large part of France. Phylogenetic study carried out revealed the circulation of viruses belonging to the American lineage, Floridian sublineage, Clade 2 or Clade 1. The virus responsible for the Grosbois outbreak belonged to Clade 1. The other strains sequenced during this study are closely related to Clade 2.

Key-words : Equine influenza virus, phylogenetic study, epidemiological study, Real time RT-PCR

1. Généralités sur le virus influenza équin

Les virus grippaux de type A, ou virus influenza A, infectent de nombreuses espèces, comme les oiseaux, le cochon, l'homme, le cheval... Leur réservoir naturel est d'origine aviaire et les virus sont capables de franchissements de barrières d'espèces, expliquant que les mammifères soient également atteints. Les virus influenza de type A sont classés par sous-types en fonction de l'hémagglutinine H et de la neuraminidase N. Ainsi, l'ensemble des équidés est naturellement sensible aux sous-types H7N7 et H3N8. Le virus de la grippe équine, ou virus influenza équin, appartient au type A et est l'un des pathogènes respiratoires majeurs du cheval avec des conséquences économiques importantes pour la filière équine.

Le sous-type H7N7, appelé aussi Equi-1, a été isolé pour la première fois à Prague en 1956 (Sovinova *et al.*, 1958). Celui-ci ne semble plus circuler à ce jour, la dernière épidémie décrite étant survenue en 1979 (Webster, 1993). Quelques cas sporadiques ont été retrouvés en Inde et en Egypte vers la fin des années 80. Au début des années 90, une équipe croate a retrouvé des anticorps dirigés contre ce sous-type dans des sérums de chevaux d'Europe Centrale et d'Asie, ce qui pourrait être la preuve d'une circulation à bas bruit encore persistante.

Le deuxième sous-type, H3N8, Equi-2, est donc, à ce jour, le seul responsable d'infections chez le cheval. Isolé pour la première fois en 1963 à Miami (USA) (Waddell *et al.*, 1963), il est depuis impliqué dans de nombreuses épizooties comme en Italie en 2005 (Martella *et al.*, 2007), au Japon en 2007, et surtout, la dernière importante en date survenue en Australie en 2007 (Reeve-Johnson, 2007). Cette maladie n'avait jamais atteint ce pays et le virus s'y est propagé très rapidement, touchant plusieurs milliers de chevaux en quelques semaines. Depuis janvier 2008, il a rejoint l'Islande et la Nouvelle-Zélande dans la liste des pays indemne de ce virus.

Lors d'une épizootie, le virus influenza équin est très contagieux et se transmet essentiellement par voie respiratoire. La toux et les éternuements favorisent la dissémination du virus via les gouttelettes émises à cette occasion. Un foyer grippal se caractérise par l'apparition quasi-simultanée de signes cliniques chez plusieurs chevaux d'un même élevage. Si ce dernier est composé d'individus naïfs, non vaccinés ou n'ayant jamais rencontré le virus auparavant, le taux d'infection approchera les 100%. Les formes subcliniques apparaissent généralement chez des individus possédant déjà des anticorps soit suite à une infection ancienne, soit suite à un protocole de vaccination non respecté, voire une vaccination défectueuse. Ces rares cas sont particulièrement problématiques puisque ces chevaux excrètent une faible charge virale, sans symptôme apparent, mais cependant suffisante pour entraîner la contamination des individus à leur contact. Lorsque ces animaux subcliniques sont introduits dans une population naïve, ils représentent le point de départ d'une épizootie souvent vaste et aux conséquences importantes, comme en Australie en 2007.

2. Evolution des virus influenza

Le virus de la grippe évolue perpétuellement avec l'apparition de nouveaux variants ce qui entraîne la nécessité d'un suivi régulier des souches circulantes. La modification des deux protéines de surfaces se fait de deux manières soit par mutation ponctuelle appelée glissement antigénique (« drift »), soit par un changement majeur d'une partie entière du génome du virus (« shift »).

Toutes ces modifications permettent l'adaptation des souches aux récepteurs cellulaires de nouvelles espèces et conduire au franchissement de la barrière d'espèce. Jusqu'en 2004, le cheval restait le seul mammifère infecté par le sous-type H3N8 jusqu'à la mise en évidence aux Etats-Unis du passage de ce virus du cheval au chien (Crawford *et al.*, 2005). Très peu de différences ont été observées lors de la comparaison des génomes des virus infectant les deux espèces. Le cheval avait déjà été la cible du franchissement de barrières d'espèce par ces virus puisqu'en 1989, en Chine, un virus influenza de sous-type H3N8 d'origine aviaire a causé de nombreuses pertes dans la population équine (Guo *et al.*, 1992). D'autre part, un âne a été récemment touché en Egypte par un virus de sous-type H5N1 hautement pathogène (bdel-Moneim *et al.*, 2010).

L'ensemble de ces données démontre l'importance d'un suivi des virus influenza équins dans le monde afin de faire évoluer les souches entrant dans la composition des vaccins et de surveiller l'éventuelle apparition d'un nouveau sous-type adapté aux équidés.

3. Epidémiosurveillance du virus influenza équin en France depuis 2005

De novembre 2005 à octobre 2010, 1527 écouvillons ont été reçus au laboratoire pour la recherche du virus influenza équin. Après extraction de l'ARN génomique de celui-ci, la détection a été réalisée à l'aide d'une RT-PCR en temps réel originale développée dans le gène codant la protéine matricielle (M). L'analyse phylogénique s'est concentrée sur la totalité du gène H3.

Sur l'ensemble des écouvillons reçus, 147 cas de grippe ont pu être détectés, ce qui représente 9,6% des recherches effectuées. Le nombre de virus influenza détectés est pour chaque année de 17 cas pour la période de novembre et décembre 2005, 8 en 2006, 14 en 2007, 11 en 2008 et 7 pour les dix premiers mois de l'année 2010, contre 90 pour l'année 2009. Les foyers recensés en 2005, 2006, 2007, 2008 et 2010 ont été le plus souvent sporadiques, n'atteignant que des haras isolés ou des centres équestres de taille modeste. L'année 2009 est exceptionnelle de par l'importance du nombre de chevaux détectés positifs. Ceci est dû à la localisation du foyer initial qui s'avéra être un des centres d'entraînement concentrant le plus de chevaux en Europe, le domaine de Grosbois. Treize chevaux seulement ont été trouvés positifs sur ce site mais une rapide dissémination s'est produite dans l'ensemble de la France avec 25 foyers associés. Aucune manifestation sportive n'a été annulée, mais de nombreux non-partants lors de courses ont été à déplorer. Soixante treize chevaux ont été détectés positifs lors de cette épizootie, mais 271 chevaux ont présenté des symptômes évocateurs de la grippe avec des effectifs totaux dans les foyers de 1655 animaux. Cette épizootie s'est déroulée de février à juin 2009.

D'un point de vue phylogénique, l'épizootie de 2009 est intéressante car il s'agit, en l'état actuel des connaissances, de la seule description d'un variant mondialement réparti apparenté au lignage américain, cluster floridien, clade 1, alors que les autres souches isolées appartiennent toutes au clade 2. En 2010, seul ce dernier clade circule (Figure I).

4. Conclusion

L'analyse de ces résultats fait apparaître une augmentation du potentiel de propagation du virus dès lors que le foyer initial concerne un lieu de transition regroupant un grand nombre de chevaux. La description des souches impliquées dans les épisodes grippaux apporte de précieux renseignements sur la stratégie vaccinale à adopter et ces informations sont utilisées pour compléter les bases de données européennes et mondiales en collaboration avec le laboratoire référent de l'Office Internationale des Epizooties (OIE), l'Irish Equine Centre, situé à Johnston, Irlande.

La RT-PCR en temps réel utilisée lors de la recherche du virus a été mise au point pour permettre la détection de l'ensemble des gripes de sous-type A pour permettre de ne pas passer à côté d'un éventuel franchissement de barrière d'espèce. Ainsi, une étude est actuellement mise en place au laboratoire afin de surveiller les chiens présents dans les haras où le virus a pu être détecté. Des épreuves sérologiques sont réalisées sur ces chiens afin de déterminer s'ils sont systématiquement infectés lors d'un passage viral mais aussi d'évaluer un potentiel rôle dans le processus de dissémination du virus. Ainsi, l'ensemble des moyens et outils cités participe à la surveillance, la compréhension de la transmission du virus et à la mise en place d'une prophylaxie adaptée sur le territoire français.

Références

- bdel-Moneim, A. S., bdel-Ghany, A. E., Shany, S. A., 2010. Isolation and characterization of highly pathogenic avian influenza virus subtype H5N1 from donkeys. *J Biomed.Sci.* 17, 25.
- Crawford, P. C., Dubovi, E. J., Castleman, W. L., Stephenson, I., Gibbs, E. P., Chen, L., Smith, C., Hill, R. C., Ferro, P., Pompey, J., Bright, R. A., Medina, M. J., Johnson, C. M., Olsen, C. W., Cox, N. J., Klimov, A. I., Katz, J. M., Donis, R. O., 2005. Transmission of equine influenza virus to dogs. *Science* 310, 482-485.
- Guo, Y., Wang, M., Kawaoka, Y., Gorman, O., Ito, T., Saito, T., Webster, R. G., 1992. Characterization of a new avian-like influenza A virus from horses in China. *Virology* 188, 245-255.
- Martella, V., Elia, G., Decaro, N., Di, T. L., Lorusso, E., Campolo, M., Desario, C., Parisi, A., Cavaliere, N., Buonavoglia, C., 2007. An outbreak of equine influenza virus in vaccinated horses in Italy is due to an H3N8 strain closely related to recent North American representatives of the Florida sub-lineage. *Vet Microbiol.* 121, 56-63.
- Reeve-Johnson, L., 2007. Equine influenza in Australia. *Vet Rec.* 161, 635.
- SOVINOVA, O., Tumova, B., POUŠKA, F., NEMEC, J., 1958. Isolation of a virus causing respiratory disease in horses. *Acta Virol.* 2, 52-61.
- WADDELL, G. H., TEIGLAND, M. B., SIGEL, M. M., 1963. A NEW INFLUENZA VIRUS ASSOCIATED WITH EQUINE RESPIRATORY DISEASE. *J Am Vet Med Assoc.* 143, 587-590.
- Webster, R. G., 1993. Are equine 1 influenza viruses still present in horses? *Equine Vet J* 25, 537-538.

Figure I : Analyse phylogénétique réalisée dans l'ensemble du gène de l'hémagglutinine H3 sur les souches de grippe équine isolée et comparaison de celle-ci avec les séquences référencées dans Genbank
 Figure I: Phylogenetic analysis carried out in the H3 gene for equine influenza viruses isolates compared to the sequences referenced in Genbank.

