

Septième Réunion des experts de l'envenimation par animaux venimeux

J.P. CHIPPAUX

* Travail de l'US 009 (J.P.C., Médecin, directeur de recherche), IRD Dakar, Sénégal *
* Courriel : chippaux@ird.sn *

La septième réunion internationale des experts de l'envenimation par animaux venimeux (*7ta Reunión de Expertos en Envenenamiento por Animales Ponzosos*) s'est tenue du 17 au 19 mars 2005 à Cuernavaca, Morelos, Mexique. Elle était organisée par l'Instituto Bioclon et les Laboratorios Silanes et rassemblait environ 200 participants venant de tous les continents (Amériques, Europe, Asie, Australie et Afrique).

Une trentaine de communications orales et une cinquantaine de communications affichées concernaient les animaux venimeux, de l'insecte au serpent, les venins et envenimations, notamment d'araignées (*Loxosceles*, *Latrodectus*, *Brachypelma*) et de scorpions (*Tityus*, *Centruroides*, *Androctonus*). En outre, un réseau d'information sur les envenimations en Amérique latine (www.redtox.org) a fait l'objet de plusieurs interventions. Déjà fonctionnel au Mexique depuis 2002, ce réseau a pour but de documenter l'épidémiologie, la clinique et la prise en charge des envenimations par téléphone ou courrier électronique ainsi que d'assurer la formation du personnel de santé au diagnostic, à la surveillance et au traitement des morsures et piqûres par animaux venimeux.

Les complications locales dues aux venins de *Viperidae* (vipères de l'ancien monde et crotales asiatiques ou américains) font l'objet de nombreux travaux (J.-M. Gutiérrez, Instituto Clodomiro Picado, San José, Costa Rica ; J. W. Fox, Université de Virginie, USA ; S. Serrano, Instituto Butantan, Sao Paulo, Brésil) qui décrivent le rôle du venin : destruction des cellules musculaires par les phospholipases A₂ et des endothéliums par les hémorragines (métalloprotéases exogènes) qui entraînent, respectivement, nécrose et extravasation (œdème avec hémorragies). L'altération des vaisseaux et l'activation de la coagulation favorisent les thromboses, provoquant ischémie, nécrose tissulaire et activation des cellules inflammatoires avec libération de médiateurs chimiques (cytokines, oxyde nitrique, radicaux libres, métalloprotéinases endothéliales et complément). La

surinfection par des microorganismes et les manœuvres iatrogènes (incisions, garrot) peuvent conduire à la gangrène. Cela justifie une attitude thérapeutique fondée sur l'utilisation a) des fragments d'anticorps neutralisants (sérum antivenimeux), b) des inhibiteurs de phospholipases A₂ et d'hémorragines (encore largement à l'étude), c) de médicaments contrôlant les médiateurs chimiques et l'inflammation ainsi que la prévention des infections.

Les études pharmacocinétiques des venins de scorpions (C. Bon, CEA/CE Saclay, France ; C. Sevcik, Instituto de Biotecnologia-UNAM, Cuernavaca, Mexique) montrent que le venin se distribue rapidement et complètement dans tous les compartiments de l'organisme, puis s'élimine dans un court délai (demi-vie de l'ordre de 2 heures). Une quantité suffisante de sérum antivenimeux garantit une neutralisation immédiate et une élimination durable. La neutralisation survient dans le compartiment vasculaire où se redistribue le venin au fur et à mesure de l'élimination. Cette dernière est assurée par les systèmes réticulo-endothélial et lymphoïde. Une quantité minimale de sérum antivenimeux injectée par voie veineuse est nécessaire pour obtenir un résultat effectif, ce qui semble indiquer qu'une saturation initiale par le sérum antivenimeux est préférable à des administrations répétées de petites quantités. Les résultats cliniques confirment les données expérimentales.

Dans les pays industrialisés (L. Boyer, J. McNally, Centre antipoison de l'Arizona USA ; K. Winkel, Université de Melbourne, Australie), la population à risque d'accidents par animaux venimeux connaît une évolution remarquable. En dehors des morsures illégitimes, c'est-à-dire survenant lors de la manipulation de serpent, de nombreuses morsures accidentelles surviennent chez des personnes âgées ou handicapées, parfois en relation avec une pathologie particulière (amblyopie, Alzheimer, etc) – ou aggravée par celle-ci (traitement anticoagulant).

En Amérique latine, (Y. Aguledo, Hôpital universitaire d'Antioquia, Medellín, Colombie ; R. Márquez, Hôpital de Monterrey, Nuevo León, Mexique) comme en Afrique (J.-P. Chippaux, IRD,

Dakar), ce sont les personnes actives, en majorité de sexe masculin, qui sont le plus concernées.

Les sérums antivenimeux existent depuis plus d'un siècle. La première génération était composée de sérum total et entraînait de nombreuses réactions indésirables sévères ; elle n'est plus utilisée aujourd'hui. La seconde génération, encore commercialisée dans de nombreux pays, y compris les USA, consiste en une solution d'immunoglobulines entières purifiées ; elle provoque jusqu'à 75 % de réactions indésirables de gravité variable. Depuis une vingtaine d'années, ce sont des fragments d'immunoglobulines, généralement des F(ab')₂, qui sont administrés avec moins de 15 % de réactions secondaires, en principe sans gravité. Le laboratoire Bioclon (Mexique) a présenté un antivenin de quatrième génération en cours de développement contre les araignées du genre *Loxosceles* ; il est fabriqué sans venin, c'est-à-dire à partir d'antigène recombinant, ce qui augmente l'efficacité et réduit les coûts.

Les essais cliniques des antivenins de troisième génération (R. Otero, Faculté de médecine de Medellín, Colombie ; L. Boyer, Centre antipoison de l'Arizona) confirment leur efficacité et leur tolérance. Au plan expérimental (J. Estévez, Instituto Bioclon, Mexico, Mexique), l'Antivipnyn tri[®], le nouvel antivenin fabriqué par Bioclon, neutralise la toxicité et l'activité hémorragique des venins de la plupart des espèces de crotales américains quelles que soient leurs origines spécifiques et géographiques, y compris ceux de *Bothrops brazili*, *B. atrox* et *Lachesis muta* provenant de Guyane française (1).

Le programme « Développement d'un sérum antivenimeux pour l'Afrique subsaharienne » a fait l'objet de plusieurs communications qui ont permis de présenter le nouvel antivenin Africamyn[®] fabriqué par Bioclon annoncé lors de la conférence de Cotonou (2). Après une description détaillée de la situation épidémiologique concernant les envenimations en Afrique et les besoins que l'on pouvait en déduire (J.-P. Chippaux, IRD, Dakar), la formulation de l'Africamyn[®] a été détaillée. Il s'agit (A. Alagón, Instituto de Biotecnologia-

UNAM, Cuernavaca, Mexique) de F(ab')₂, purifiés avec un haut pouvoir neutralisant et présentés sous forme lyophilisée. Des recherches sont conduites

(R. Stock, IRD Dakar et Instituto de Biotecnologia-UNAM, Cuernavaca, Mexique) sur la paraspecificité immuno- logique du venin d'une trentaine

d'espèces de serpents venimeux africains, afin d'optimiser l'efficacité de l'Africamyn® à l'égard de toutes les espèces africaines. ■

RÉFÉRENCES

- 1 - CHIPPAUX JP - Envenimations ophidiennes en Guyane Française. *Med Trop* 2002; **62** : 177-184.
- 2 - CHIPPAUX JP - II^e Conférence Internationale sur les Envenimations en Afrique. *Med Trop* 2005; **65** : 104.

Les Rencontres Entérovirus (St Etienne, 12-13 octobre 2004)

J. MASLIN

* Travail Laboratoire de biologie médicale, Hôpital d'Instruction des Armées du Val de Grâce
* Courriel : maslin_j@yahoo.com *

Les Rencontres Entérovirus (St Etienne, 12-13 octobre 2004) ont été l'occasion de faire le point sur les dernières avancées concernant ce genre bien connu de la famille des Picornaviridae. Les thèmes suivants ont été développés: réplication et persistance des entérovirus humains (HEV) dans l'organisme; épidémiologie et taxonomie avec l'apport des données moléculaires; considérations cliniques et aspects diagnostics actuels.

Les HEV appartiennent au groupe des virus à ARN positif (ARN génomique infectieux), leur multiplication ayant lieu dans le cytoplasme des cellules infectées. Ce sont de petits virus dont la taille est comprise entre 27 et 30 nm. Le génome des HEV est composé de 7441 nucléotides constituant une longue phase de lecture ouverte (ORF) codant une polyprotéine (2400 acides aminés) précurseur des 4 protéines structurales (VP1 à VP4) et de protéines enzymatiques nécessaires à la réplication. Cette ORF est encadrée de 2 régions non codantes en 5' et 3'. L'extrémité 5' possède une structure en trèfle, site d'initiation de la traduction par les ribosomes. Au niveau d'une des boucles de cette structure se trouve un déterminant de l'atténuation pour les poliovirus (utilisé dans le vaccin oral type Sabin). Ces déterminants peuvent réverter, et être à l'origine de souches devenant virulentes. La réplication du génome est initiée par une ARN polymérase ARN-dépendante et passe par une matrice ARN (-) et des intermédiaires de réplication. Il y a donc en permanence un rapport ARN (+) / ARN (-) témoin de la synthèse virale. Les nouveaux génomes ARN (+) seront traduits en polyprotéine ou seront encapsidés, formant les nouveaux virions. L'absence d'enveloppe explique le

caractère résistant des HEV notamment aux pH acides, alcool à 70%, éther, et détergents. Ils sont capables de persister quelques semaines dans l'environnement voire des années à -20°C. Les HEV sont détruits par les oxydants (hypochlorite de soude), formol, bêta-propionolactone et UV.

Le genre Enterovirus comprend plusieurs espèces qui ont été regroupées suivant les données récentes de la biologie moléculaire. A l'intérieur de chaque espèce on distingue plusieurs sérotypes. Les HEV-A (12 sérotypes parmi lesquels coxsackie A, HEV 71), HEV-B (36 sérotypes dont coxsackie B, echovirus), HEV-C (12 sérotypes - 3 sérotypes polio), HEV-D (2 sérotypes dont HEV 70). On distingue également des entérovirus bovins, porcins et simiens. L'association de ces entérovirus avec les Rhinovirus (HRV A, B) a donné naissance à 1 nouveau et unique genre: Enterhinovirus.

Les récepteurs cellulaires aux HEV ont été caractérisés récemment. Ils appartiennent à 3 familles: immunoglobulines, intégrines et complément. Ces récepteurs spécifiques, associés aux co-récepteurs, ont 2 rôles: adsorption du virus à la surface cellulaire et changement de conformation nécessaire à la décapsidation.

Les poliovirus sont associés au récepteur CD155 (PVR poliovirus receptor) qui appartient à la superfamille des immunoglobulines. La liaison poliovirus-CD155 entraîne la perte de VP4, l'externalisation de VP1, l'ancrage de la membrane plasmique suivie de la pénétration de l'ARN dans la cellule. Les récepteurs cellulaires ont un rôle fondamental dans la persistance des poliovirus infectant les cellules nerveuses à l'origine d'une adaptation des souches per-

mettant un franchissement de la barrière d'hôte.

A partir de modèles animaux et sur culture cellulaire (astrocytes, neurones, oligodendrocytes) il a été démontré qu'une seule mutation de la région N-terminale de VP1 entraînait une adaptation du virus à son hôte et la persistance (le virus polio 1 devient avirulent). Le rapport ARN+ / ARN- passe de 15 à 2 témoignant d'une diminution de la réplication. Cette capacité de persistance est également associée à des mutations du récepteur CD155 des cellules infectées qui module l'apoptose. Cette diminution de l'apoptose se traduit par une baisse de l'activation des caspases et du re-largage du cytochrome C par les mitochondries. Par ailleurs, ces récepteurs mutés exprimés par d'autres cellules les rendent résistantes à la lyse par les poliovirus. Inversement, les mutations (VP1) du virus persistant peuvent être induites en le cultivant sur des cellules aux récepteurs mutés. La persistance virale s'exprime notamment par le syndrome post polio, le patient présentant des douleurs et atrophies musculaires. La preuve de la persistance du poliovirus est apportée par la mise en évidence de séquence d'ARN dans le LCR, par l'infection de culture de cellules nerveuses humaines, et par les modèles animaux (persistance dans le cerveau de souris infectées).

HEV et Diabète insulino-dépendant (DID) : la recherche d'une pathogénèse virale pour le DID est d'actualité. Une synthèse d'interféron alpha par les cellules B des îlots de Langerhans est retrouvée chez 75% des patients. Le virus coxsackie B 4 est un bon candidat puisque lors d'une étude cas-contrôle, son génome a été isolé chez 33% des patients diabétiques versus 4% dans le groupe témoin. Une infection à

coxsackie B 4 est corrélée à une augmentation d'auto anticorps anti-flots, et, en cas d'infection chez la femme enceinte, à l'apparition d'un DID chez l'enfant.

HEV et atteinte cardiaque : l'infection par HEV est une des principales causes de myocardite aiguë. Elle peut aussi être à l'origine de vascularite coronarienne. Une étude américaine a montré que les sujets atteints étaient en majorité des hommes, jeunes (25 à 35 ans), et de race noire. Dans 10 à 20 % des cas, l'infection est persistante. La détection d'ARN(-) montre une activité de réplication, et la détection de VP 1, une synthèse de protéines virales. Le diagnostic positif est réalisé par RT-PCR sur le liquide de ponction myocardique suivie d'une hybridation et typage moléculaire de VP1, ou par détection immuno-histochimique de VP1 sur coupe de tissu cardiaque obtenue par biopsie.

Les méningites à HEV sont classiquement des études réalisées sur des malades hospitalisés au CHU de Clermont Ferrand ainsi que d'autres travaux, ont montré que les méningites à HEV avaient tendance à sortir des limites de leur définition. Elles sont classiquement décrites comme des méningites lymphocytaires, aiguës, non compliquées, estivales, et touchant principalement l'enfant. Des études rétrospectives ont montré que jusqu'à 33% des méningites à HEV survenaient en hiver et que, dans près de 15% des cas il y avait moins de 10 éléments/mm³ dans le LCR avec la possibilité de formule panachée (taux de polynucléaires égal au taux de lymphocytes). En 2002, au cours d'une épidémie à Baltimore (USA) dans un contexte d'infection par le virus West Nile, il a été montré que 80 % des méningites étaient dues à des HEV (echovirus 13, 18) et concernaient surtout l'adulte. A Taïwan, en 2003, des encéphalites ont été décrites chez des patients présentant des méningites à HEV (entérovirus 71). Il est donc difficile de poser un diagnostic de méningite à HEV ou, au contraire, d'éliminer une méningo-encéphalite hépétique, sur les seuls critères épidémiologiques, cliniques, ou cytologiques. L'apport de la biologie moléculaire avec la RT-PCR est considérable, l'idéal étant de disposer de jeux d'amorces capables de détecter au minimum les HEV, HSV1 et VZV.

Eradication de la poliomyélite : actuellement la poliomyélite reste endémique dans 10 pays, le principal foyer depuis le 1er janvier 2004 étant le Nigéria avec 526 cas recensés (poliovirus sauvage). Des enfants malgaches ont présenté des infections par des virus recombinants Sabin/non Sabin du groupe C. D'autres épi-

démies dues à des virus recombinants ont été déclarées en Egypte et aux Philippines.

L'OMS table désormais sur une éradication mondiale de la poliomyélite en 2008 (rappelons qu'en 1988, un programme avait été lancé pour une éradication en 2000). Les stratégies reposent sur 2 objectifs complémentaires. Le premier consiste à réaliser des campagnes de vaccination massive avec le vaccin polio oral Sabin (VPO) et de mettre en place un réseau de surveillance pour recenser tous les cas de paralysie flasque. Ces campagnes, sous forme de porte à porte en cas de foyer persistant, sont renforcées par des journées nationales de vaccination dont la cible est représentée par les enfants de moins de 15 ans. Le deuxième objectif sera réalisé en arrêtant la vaccination par le VPO une fois les souches sauvages éradiquées, et en contrôlant la disparition du poliovirus. Le problème de l'utilisation transitoire et du devenir des stocks de VPO reste posé. La surveillance mondiale repose actuellement sur un réseau (Global Laboratory Network for Polio Eradication) constitué de 15 laboratoires de référence internationaux et 130 laboratoires de référence nationaux. Si les souches vaccinales prennent la place des souches sauvages, on assistera alors au premier problème d'écologie politique en santé publique.

Transmission mère-enfant : son épidémiologie reste peu connue. Elle peut se faire par virémie, par voie ascendante à partir des selles lors d'un portage chez la mère, lors du passage du col utérin (sérotypes coxsackie B5, EVH 11), ou de manière indirecte par l'intermédiaire de la salive, des mains, ou du lait. Les infections congénitales sont rares, les infections périnatales sont plus fréquentes et se déclarent surtout dans les 3 premiers mois. Les sérotypes les plus agressifs sont echovirus 5/6/11, coxsackie B2, B5. Les facteurs de gravité sont liés aux atteintes (myocarde, encéphale, thrombopathie) et à l'âge de l'enfant infecté (inférieur à 7 jours). Ces infections posent un problème de diagnostic différentiel, avec, en cas d'atteinte du nouveau-né, une infection hépétique ou bactérienne pour les formes sévères, une infection à adénovirus ou CMV pour les formes fébriles simples; et pour les formes anténatales, une infection à CMV ou parovirus B 19. La prévalence des infections à entérovirus est de 30% dans les morts subites avec une atteinte myocardique préférentielle et la présence du sérotype coxsackie B4.

Faire le diagnostic d'une infection à entérovirus est nécessaire pour une meilleure prise en charge du malade. Il s'agit d'une infection fréquente en patho-

logie humaine, dont les complications peuvent être graves chez l'immunodéprimé, le nourrisson, et en cas d'atteintes cardiaques ou neurologiques. Face à une méningite aseptique dont le tableau est toujours bruyant, le diagnostic permettra de rassurer le patient et son entourage, de suspendre un traitement antibiotique, et aura un intérêt épidémiologique grâce au typage de la souche isolée. Une infection à entérovirus est à rechercher tout au long de l'année. Le virus peut être retrouvé jusqu'à une semaine dans le LCR, quinze jours dans la gorge, et deux mois dans les selles. Le prélèvement doit être effectué au site de l'infection et être le plus précoce possible. La plupart des entérovirus se multiplient en culture cellulaire avec des tropismes variés (echovirus: MRC5, poliovirus: L20B), les cellules RD sont recommandées par l'OMS. Un effet cytopathogène apparaissant dès 24 heures est un bon élément d'orientation, mais il faut se méfier de la toxicité du prélèvement lui-même, en particulier lorsqu'il s'agit de selles. L'immunofluorescence à l'aide d'anticorps monoclonaux sur les cellules infectées permet une réponse rapide mais non spécifique de type. La RTPCR permet la détection des ARN génomiques dans les prélèvements avec une sensibilité de 10 à 15 copies. Elle fait le plus souvent appel à des amorces génériques en région 5' non codante, partie hautement conservée chez les entérovirus polio et non polio. L'identification des souches se fera par séroneutralisation sur cultures cellulaires (technique de référence OMS) ou par une RTPCR amplifiant le gène codant VP1 suivie d'un séquençage. Cependant certains sérotypes (69 à 78) ainsi que des variants génétiques sont non reconnus par les sérums neutralisants, et le séquençage nécessite un produit de PCR d'au moins 300 nucléotides pour être contributif. Le diagnostic indirect impose l'obtention de 2 sérums à 15 jours d'intervalle pour être interprétable. Les techniques ELISA non spécifiques du sérotype, permettent la détection des IgM. L'intérêt de la sérologie est limité au titrage des anticorps protecteurs post vaccinaux, ou à la surveillance de la circulation des poliovirus. Elle n'apporte rien au diagnostic d'infection de cavités fermées (LCR, atteinte cardiaque). D'une manière générale, un diagnostic d'infection doit privilégier la rapidité au dépend du sérotypage (RTPCR); et à l'inverse, dans une démarche épidémiologique il sera utile de typer les souches.

A part les inhibiteurs de décapitation (Pléconaril), aucun traitement ne s'est révélé efficace dans les infections à Picornaviridae ■