

SURVEILLANCE VIROLOGIQUE DE LA GRIPPE : SAISON 2014-2015

// INFLUENZA VIROLOGICAL SURVEILLANCE: 2014-2015 SEASON

Auteur pour la correspondance : Sylvie van der Werf (sylvie.van-der-werf@pasteur.fr)

Centre national de référence des virus influenzae, Centre coordonnateur, Unité de génétique moléculaire des virus à ARN, Institut Pasteur, CNRS UMR3569, Université Paris Diderot, Sorbonne Paris Cité, Paris, France : Sylvie Behillil, Vincent Enouf, Sylvie van der Werf ; Centre national de référence des virus influenzae, Laboratoire associé, CBPE, HCL & Virpath, UCBL, Université de Lyon, Lyon, France : Martine Valette, Maude Bouscambert-Duchamp, Vanessa Escuret, Bruno Lina

Soumis le 31.07.2015 // Date of submission: 07.31.2015

Résumé // Abstract

La surveillance de la grippe par le Centre national de référence des virus *influenzae* au cours de la saison 2014-2015 a débuté fin septembre 2014 pour se terminer début avril 2015. L'épidémie, de forte intensité, a été marquée par la circulation majoritaire de virus grippaux de sous-type A(H3N2), avec la co-circulation de virus grippaux de sous-type A(H1N1)pdm09 et de type B. Parmi les virus grippaux de sous-type A(H3N2), une part non négligeable de virus variants, antigéniquement distincts de la souche vaccinale, a circulé. L'épidémie a été particulièrement sévère chez les personnes âgées.

Influenza surveillance by the National Influenza Centre during the 2014-2015 season began at the end of September and finished at the beginning of April. The epidemic was characterized by a high activity and was marked by the circulation of all types and subtypes of viruses, subtype A(H3N2) viruses being dominant. Among the A(H3N2) viruses, a significant proportion of variant viruses, antigenically distinct from the viral strain included in the vaccine, circulated. The impact of the influenza epidemic was especially severe among the elderly.

Mots-clés : Grippe, Virus grippaux, A(H3N2), Variant antigénique

// **Keywords:** Influenza, Influenza viruses, A(H3N2) virus, Antigenic variant

Introduction

La surveillance virologique de la grippe, coordonnée par le Centre national de référence (CNR) des virus *influenzae*, est assurée en métropole par le CNR coordonnateur hébergé par l'unité de génétique moléculaire des virus à ARN à l'Institut Pasteur à Paris (CNR-IP) et le laboratoire associé localisé aux Hospices civils de Lyon (CNR-HCL).

En métropole, la surveillance de la grippe au cours des infections respiratoires aiguës repose sur différents réseaux : la surveillance en médecine ambulatoire *via* le réseau Sentinelles (surveillance par le réseau des GROG avant la saison 2014-2015) et, chez les sujets hospitalisés, *via* le Réseau national des laboratoires hospitaliers (Renal).

Les deux laboratoires du CNR réalisent la majorité des analyses des prélèvements de médecine ambulatoire, aidés par le laboratoire de virologie de l'université de Corse (EA7310) et celui de Reims, qui analysent les prélèvements effectués dans leur région et les envoient également au CNR pour analyses complémentaires. Le CNR reçoit par ailleurs des prélèvements hospitaliers, en particulier pour la détermination du sous-type, la recherche de résistance aux antiviraux ou la recherche de déterminants de virulence pour les cas

graves. Les laboratoires hospitaliers appartenant au réseau Renal analysent les prélèvements respiratoires effectués dans leur région et reportent ces données dans la base du réseau ; elles sont ensuite analysées par le CNR.

La surveillance virologique, mise en place chaque année en médecine ambulatoire comme à l'hôpital, a pour objectifs la détermination de la nature des virus grippaux qui circulent, le suivi de leur évolution génétique, leur caractérisation antigénique afin d'évaluer leur adéquation avec la composition vaccinale, l'évaluation de la sensibilité aux antiviraux et la recherche d'éventuels déterminants de virulence.

Méthodes

La détection des virus grippaux est réalisée au CNR par une technique de RT-PCR en temps réel (qRT-PCR) sur des prélèvements respiratoires permettant la détection rapide de tous les virus influenza A (qRT-PCR M) et l'identification spécifique des sous-types A(H1N1)pdm09 et A(H3N2) (qRT-PCR N1 et H3, respectivement) qui circulent chez l'homme¹, ainsi que l'identification des virus influenza de type B avec la détermination du lignage, Yamagata ou Victoria (qRT-PCR B multiplex)².

Le CNR réalise également, par qRT-PCR, la détection d'autres virus respiratoires : rhino/entérovirus, virus respiratoire syncytial (VRS) et métagneumovirus.

Dans la population générale, les médecins généralistes du réseau Sentinelles incluent chaque semaine les deux premiers patients présentant un syndrome grippal correspondant à la définition suivante : fièvre supérieure à 39°C d'apparition brutale accompagnée de myalgies et de signes respiratoires. Avant la saison 2014-2015, la surveillance virologique en médecine ambulatoire reposait sur le réseau des Groupes régionaux d'observation de la grippe (Grog) et la définition de cas était la suivante : patient présentant une insuffisance respiratoire aiguë (apparition brutale d'au moins un signe respiratoire et d'au moins un signe systémique) dont les symptômes ont débuté depuis moins de 48 heures.

La caractérisation antigénique des virus grippaux, en vue de la comparaison avec les souches vaccinales, est réalisée sur les virus isolés en culture cellulaire (MDCK) par inhibition de l'hémagglutination (IHA) à l'aide de sérums de furet spécifiques (don de J. Mc Cauley, Crick Worldwide Influenza Centre, The Francis Crick Institute, Londres, Royaume-Uni) ou des sérums de lapin hyperimmuns préparés par le CNR pour les virus de type B³.

L'analyse moléculaire pour la détermination de la séquence nucléotidique des gènes de l'hémagglutinine (HA) et de la neuraminidase (NA) est réalisée au CNR par séquençage direct pour une sélection de prélèvements ou sur des souches isolées. Pour identifier rapidement des mutations responsables d'une diminution de sensibilité aux antiviraux ou associées à la virulence, le CNR utilise la méthode de pyro-séquençage, qui permet le séquençage ciblé des petites régions d'intérêt correspondantes^{4,5}. La mutation H275Y dans la neuraminidase, qui se traduit par une résistance à l'oseltamivir des virus A(H1N1)dm09, est également recherchée par qRT-PCR différentielle spécifique, ce qui permet de mettre en évidence la présence ou l'absence de cette mutation ou l'existence de populations virales mixtes. Des analyses fonctionnelles de sensibilité aux antineuraminidases (oseltamivir, zanamivir), réalisées sur des virus isolés pour la détermination des IC50 par test fluorimétrique⁶, viennent en complément des analyses génétiques.

Résultats

Contexte épidémique

La surveillance virologique de la grippe a débuté, tout comme la surveillance épidémiologique, en semaine 40/2014 (29 septembre-5 octobre 2014) et s'est achevée en semaine 15/2015 (6-12 avril 2015).

Comme décrit dans le bilan épidémiologique de la saison dans ce même numéro (I. Bonmarin et coll.)⁷, la période épidémique, définie par le franchissement du seuil épidémique du réseau Sentinelles, a duré 9 semaines : elle s'est étendue entre les semaines 03/2015 (12-18 janvier 2015) et 11/2015

(9-15 mars), avec un pic d'activité en semaine 06/2015 (2-8 février). Cette épidémie de forte intensité a eu un impact particulièrement sévère chez les sujets âgés de 65 ans et plus⁷.

Bilan virologique

Durant la période de surveillance, 14 968 virus grippaux ont été détectés à partir des 2 675 prélèvements de médecine ambulatoire (Réseau Sentinelles et Laboratoire de Reims) et des 77 097 prélèvements hospitaliers (réseau Renal).

Au début de la période de surveillance, ce sont principalement d'autres virus respiratoires (rhinovirus/entérovirus et VRS) qui ont été détectés, leur circulation ayant diminué lors du démarrage de celle des virus grippaux.

La saison a été caractérisée par une circulation majoritaire de virus grippaux de sous-type A(H3N2), des virus grippaux de sous-type A(H1N1)pdm09 et de type B ayant co-circulé. En fin d'épidémie, les virus grippaux de sous-type A(H3N2) ont moins circulé, alors que la circulation des virus grippaux de type B s'intensifiait. Ces derniers appartenaient pour plus de 95% au lignage B-Yamagata.

En médecine ambulatoire, le taux de positivité des prélèvements a été de 55,5%. Il ne peut être comparé à ceux des saisons précédentes en raison du changement de la définition de cas pour la réalisation des prélèvements. La proportion de prélèvements positifs pour les virus grippaux a augmenté à partir de la semaine 49/2014, franchissant 22% de positivité en semaine 50/2014. Le taux de détection a atteint son maximum (supérieur à 72%) entre les semaines 06/2015 et 08/2015 (figure 1). Les virus grippaux de type B ont circulé de façon épidémique en fin de période à partir de la semaine 08/2015.

Parmi les 1 486 virus grippaux détectés, 75% (n=1 116) étaient des virus grippaux de type A, dont 19% (n=282) de virus A(H1N1)pdm09, 53% (n=784) de virus A(H3N2), 3% (n=50) de virus de type A non sous-typés ; 25% (n=370) étaient des virus grippaux de type B. Parmi les virus de type B pour lesquels la détermination de lignage a été réalisée (n=353), 329 virus de lignage B-Yamagata et 24 de lignage B-Victoria ont été mis en évidence.

Lors de la saison 2014-2015, parmi les prélèvements de patients pour lesquels le statut vaccinal était connu (98% des patients du réseau Sentinelles), 8,7% provenaient de patients vaccinés. Le pourcentage de détection de grippe était de 64% parmi les vaccinés et de 56% chez les non vaccinés.

À l'hôpital, la proportion de prélèvements positifs pour les virus grippaux a augmenté à partir de la semaine 52/2014, dépassant les 10% en semaine 02/2015, le pic ayant été atteint en semaine 07/2015 avec 37% de prélèvements positifs pour la grippe. La circulation des virus grippaux a ensuite rapidement diminué et, en semaine 13/2015, le taux de détection était redescendu à moins de 10% (figure 2).

Figure 1

Détection des virus grippaux en médecine ambulatoire (réseau Sentinelles) et taux de positivité des prélèvements (en %) au cours de la saison 2014-2015 en France métropolitaine

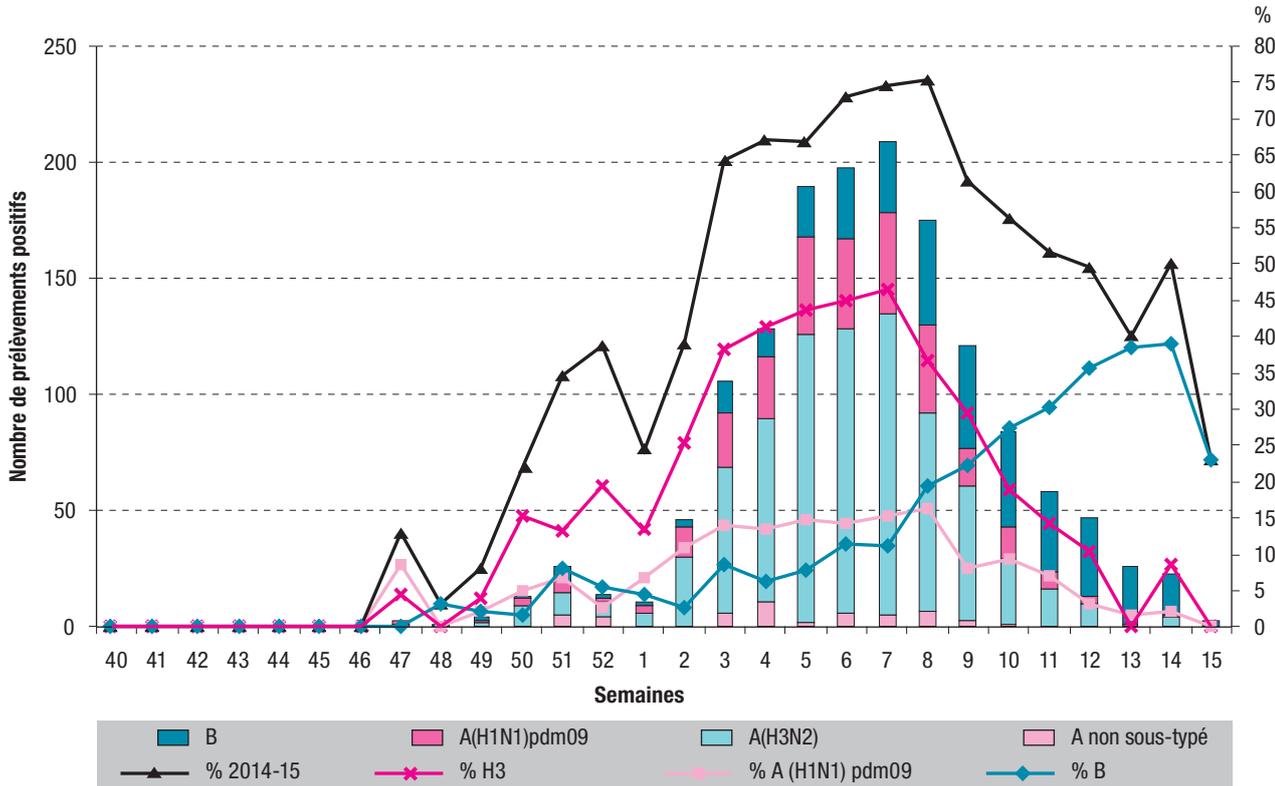
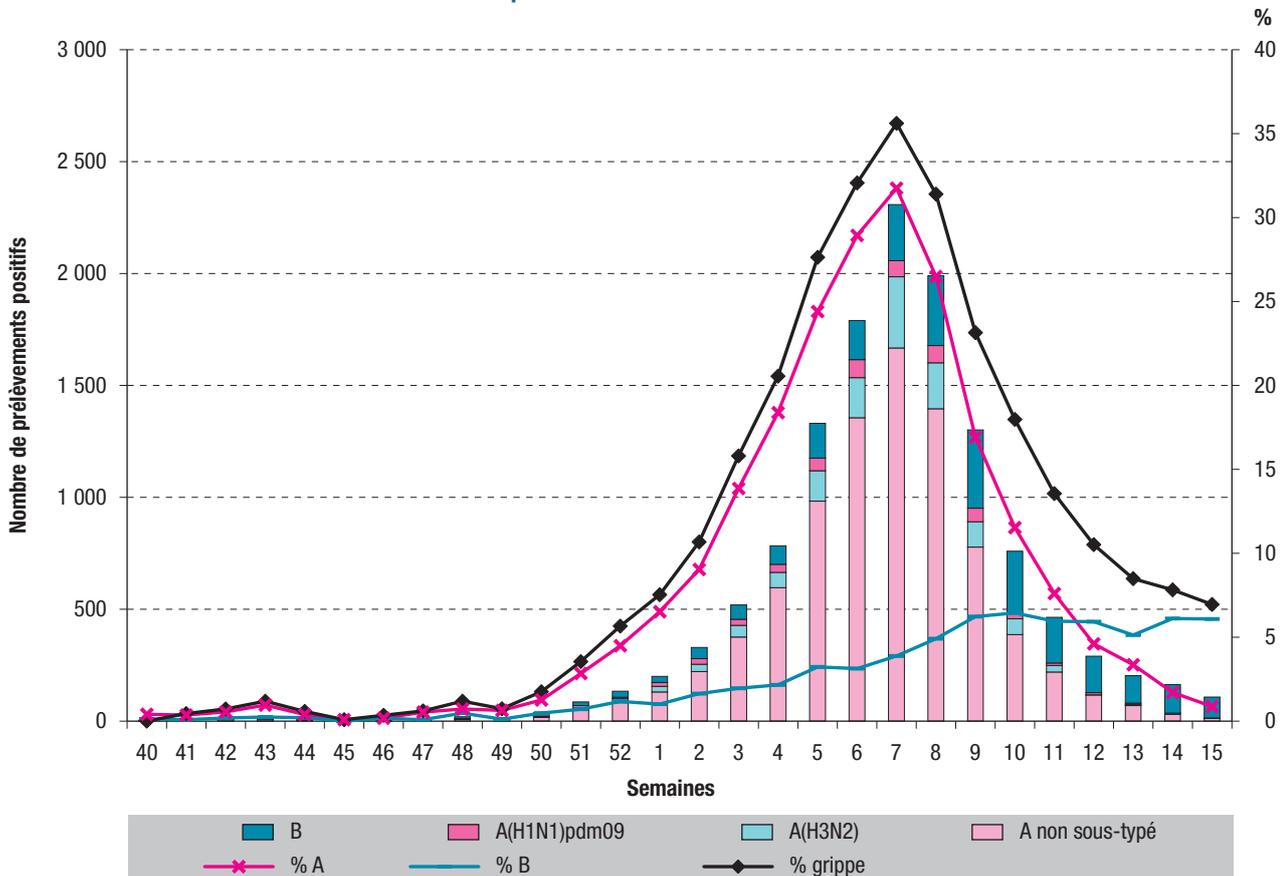


Figure 2

Détection des virus grippaux à l'hôpital (réseau Renal) et taux de positivité des prélèvements (en %) au cours de la saison 2014-2015 en France métropolitaine



Parmi les 13 482 virus grippaux identifiés, 80,4% étaient de type A, sans que l'on puisse déterminer la proportion des sous-types A(H3N2) et A(H1N1)pdm09, le sous-type A(H3N2) étant moins souvent recherché à l'hôpital. Les virus de type B ont été détectés plus tardivement que les virus de type A à l'hôpital, mais dans de moindres proportions que dans la population générale.

Caractérisation antigénique des virus

La caractérisation antigénique des virus grippaux est réalisée par test d'inhibition de l'hémagglutination sur les virus isolés en culture cellulaire afin d'apprécier leur adéquation avec les souches incluses dans la composition du vaccin. La composition du vaccin antigrippal pour la saison 2014-2015 était la suivante :

- une souche analogue à A/California/7/2009 (H1N1)pdm09 ;
- une souche analogue à A/Texas/50/2012 (H3N2) ;
- une souche analogue à B/Massachusetts/2/2012 (Yamagata).

Virus A(H3N2)

Au cours de la saison 2014-2015, les virus A(H3N2) ont présenté différents profils antigéniques avec, d'une part, des virus antigéniquement proches de la souche vaccinale A/Texas/50/2012 utilisée cet hiver dans l'hémisphère nord et antigéniquement apparentés à des degrés divers à la souche A/Switzerland/9715293/2013, incluse dans la composition vaccinale de l'hémisphère sud pour la saison 2015 et, d'autre part, des virus variants, antigéniquement différents de la souche vaccinale A/Texas/50/2012 et antigéniquement proches de la souche A/Switzerland/9715293/2013.

Parmi les 265 virus A(H3N2) caractérisés par test d'inhibition d'hémagglutination par le CNR, 115 (43,4%) étaient variants et antigéniquement proches de la souche A/Switzerland/9715293/2013, non incluse dans la composition du vaccin 2014-2015.

Virus A(H1N1)pdm09

Les virus grippaux A(H1N1)pdm09 caractérisés antigéniquement étaient tous analogues à la souche vaccinale A/California/09/2009.

Virus B

Les virus grippaux de type B du lignage B-Yamagata étaient majoritairement analogues à la souche B/Massachusetts/2/2012 incluse dans la composition du vaccin 2014-2015. Les quelques virus grippaux de type B du lignage B-Victoria étaient apparentés à la souche B/Brisbane/60/2008 (souche non incluse dans la composition vaccinale).

Caractérisation génétique des virus

Le séquençage conventionnel ou haut débit des virus a été réalisé pour une sélection de virus représentative de ceux ayant circulé en France au cours de la saison 2014-2015 et pour une sélection de virus isolés de cas graves (n=70). L'analyse phylogénétique des séquences du gène

de l'hémagglutinine des virus A(H3N2) a mis en évidence une évolution génétique au cours de la saison. En début de saison, les virus se répartissaient de manière homogène dans les deux clades principaux, 3C.2a et 3C.3a (clade dont fait partie le virus A/Switzerland/9715293/2013). À partir du mois de janvier, lors de l'intensification de la circulation virale, les virus A(H3N2) détectés étaient très majoritairement issus du clade 3C.2a tout en étant antigéniquement proches du virus A/Switzerland/9715293/2013 (souche non incluse dans la composition vaccinale). En fin d'épidémie, on observe de nouveau une répartition à parts égales dans les deux clades 3C.2a et 3C.3a. Les virus A(H1N1)pdm09 détectés étaient tous issus du clade 6B et les virus B-Yamagata du clade 3, mettant en évidence une diversification génétique par rapport aux souches vaccinales correspondantes (A/California/7/2009 (H1N1)pdm09 et B/Massachusetts/2/2012), bien que ces virus restent antigéniquement proches de ces souches vaccinales comme indiqué plus haut.

Chez un patient hospitalisé en réanimation, un virus grippal de sous-type A(H1N1)pdm09 porteur de la mutation D222N sur l'hémagglutinine (touchant un résidu dont le polymorphisme a été associé aux formes graves⁸), a été mis en évidence.

Aucune mutation significative en termes de virulence n'a été détectée pour les virus grippaux de sous-type A(H3N2) et de type B.

Sensibilité aux antiviraux

La surveillance de la résistance aux inhibiteurs de la neuraminidase est réalisée au moyen de tests génotypiques et phénotypiques (cf Méthodes). Au total, 429 virus ont été analysés, et seuls quatre virus A(H1N1)pdm09 ont présenté une résistance à l'oseltamivir associée à la mutation H275Y sur la neuraminidase. Ces virus provenaient de patients hospitalisés en réanimation ou en soins intensifs pour grippe grave. L'un d'eux, atteint d'une hémopathie et traité par oseltamivir, est décédé ; un autre était un enfant également traité par oseltamivir, qui a présenté une excrétion prolongée de virus. Un virus grippal de sous-type A(H3N2) porteur de la mutation E119V sur la neuraminidase (associée à une forte réduction de la sensibilité à l'oseltamivir) a été détecté chez un patient immunodéprimé (immunodépression pour greffe d'organe), qui avait présenté une excrétion virale prolongée malgré le traitement antiviral répété par oseltamivir.

Discussion - Conclusion

La surveillance virologique a mis en évidence que cette saison 2014-2015 a été caractérisée par une circulation importante de virus grippaux A(H3N2), avec une part non négligeable de variants antigéniques partiellement couverts par le vaccin, associée à la circulation concomitante de virus grippaux de sous-type A(H1N1)pdm09 et de virus grippaux de type B. La part exacte des virus variants ne peut être

établie de façon précise du fait des biais dans le choix des virus pour lesquels la caractérisation antigénique a pu être réalisée, qui dépend à la fois des prélèvements reçus et de la possibilité d'isoler le virus. Dans le reste de l'Europe et aux États-Unis, on a noté également la circulation de virus grippaux A(H3N2) variants. Lors des saisons précédentes de 2012-2013 et 2013-2014, les virus A(H3N2) ont co-circulé avec les virus A(H1N1)pdm09 de façon concomitante ou précédant la circulation des virus de type B. Toutefois, contrairement à cette saison, il n'avait pas été noté de variation antigénique notable des virus A(H3N2) par rapport aux souches vaccinales.

Les analyses génétiques des virus de la saison 2014-2015 n'ont pas mis en évidence d'éléments de virulence particuliers, sauf pour un virus A(H1N1)pdm09 présentant la mutation D222N sur l'hémagglutinine.

En termes de sensibilité aux antiviraux, les virus analysés se sont globalement avérés sensibles aux inhibiteurs de neuraminidase même si, comme les saisons précédentes, la détection chez des sujets immunodéprimés de virus A(H1N1)pdm09 présentant la mutation H275Y de résistance à l'oseltamivir souligne la nécessité d'un suivi virologique de la résistance chez ces patients.

Les éléments virologiques rapportés ici permettent de mieux comprendre l'impact particulier de l'épidémie de grippe chez les sujets âgés cette saison. Outre l'intensité de la circulation virale, les virus A(H3N2) ont été plus particulièrement associés à des infections plus sévères chez les sujets plus âgés. De surcroît, pour ces virus A(H3N2), l'inadéquation partielle entre virus circulants et souche vaccinale a probablement également contribué à l'impact de l'épidémie dans ce segment de la population. ■

Remerciements

Aux laboratoires du réseau Renal : Aix-en-Provence : Dr E. Lagier ; Annecy : Dr B. Chanzy ; Bordeaux : Pr H. Fleury ; Chambéry : Dr M. Levast ; Clermont Ferrand : Pr H. Peigue-Lafeuille ; Grenoble : Dr C. Morel-Baccard ; Limoges : Dr S. Roger ; Lyon : Pr B. Lina ; Marseille : Dr C. Zandotti ; Montpellier : Dr M. Segondy ; Nice : A. Caramella ; Poitiers : Dr G. Girardeau ; Saint-Étienne : Dr O. Shabir ; Toulouse : Dr JM. Mansuy ; Toulon : Dr C. Poggi ; Île-de-France : Ambroise Paré : Dr E. Gault ; Avicenne : Dr P. Deny ; Bécélère-Paul Brousse : Dr C. Deback ; Bichat : Dr N. Houhou ; Foch : Dr Farfour ; HEGP : Dr A. Si-Mohamed ; HIA Bégin : Dr A. Merens ; HIA Val de Grâce : Dr E. Nicand ; Kremlin-Bicêtre : Dr C. Pallier ; Versailles : Dr M. Harzic ; Necker : Dr M. Lerouez-Ville ; Pitié-Salpêtrière : Dr D. Boutolleau ; Robert Ballanger : Dr L. Maisonneuve ; Robert Debré : Dr E. Bingen ; Saint-Joseph : Dr JC. Nguyen ; Saint-Louis :

Pr F. Simon ; Cochin - Saint Vincent de Paul : Dr A. Krivine ; Trousseau : Pr A. Garbarg-Chenon ; Strasbourg : JP. Gut ; Dijon : Dr JB. Bour ; Reims : Pr L. Andreoletti ; Franche-Comté : Dr A. Coaquette ; HIA Legouest : Dr Y. Robert ; Nancy : Pr V. Venard ; Lille : Dr A. Dewilde ; Amiens : Dr F. Eb, Dr H. Dobremel ; Caen : Pr A. Vabret ; Brest : Dr MC Legrand-Quillien ; Rennes : Dr R. Colimon ; Orléans : Dr J. Guinard ; Tours : Dr A. Goudeau ; Rouen : Dr M. Guedin ; Angers : Dr A. Ducancelle, Nantes : Dr M. Coste-Burel ; HIA Clermont-Tonnerre : Dr P. Le Guen.

Aux médecins généralistes du réseau Sentinelles et aux médecins du réseau en Champagne-Ardenne.

Et aux équipes du réseau Sentinelles, Inserm, UPMC, UMR S 1136, Paris : Noémie Barrou, Thierry Blanchon, Lissandru Capai, Alessandra Falchi, Thomas Hanslik, Victoire Roussel, Clément Turbelin, et du réseau en Champagne-Ardenne : Laurent Andreoletti.

Références

- [1] WHO information for molecular diagnosis of influenza virus – update. (Internet). Geneva: World Health Organization. http://www.who.int/influenza/gisrs_laboratory/molecular_diagnosis/en/
- [2] Biere B, Bauer B, Schweiger B. Differentiation of influenza B virus lineages Yamagata and Victoria by real-time PCR. *J Clin Microbiol.* 2010;48(4):1425-7.
- [3] WHO Global influenza surveillance network, Manual for the laboratory diagnosis and virological surveillance of influenza Part 2. E: Identification of the haemagglutinin. Geneva: World Health Organization; 2011. p.43-57. http://whqlibdoc.who.int/publications/2011/9789241548090_eng.pdf
- [4] Le Goff J, Rousset D, Abou-Jaoudé G, Scemla A, Ribaud P, Mercier-Delarue S, *et al.* I223R mutation in influenza A(H1N1) pdm09 neuraminidase confers reduced susceptibility to oseltamivir and zanamivir and enhanced resistance with H275Y. *PLoS One.* 2012;7(8):e37095.
- [5] van der Werf S. Virus de la grippe. *In: REMIC: Société française de microbiologie Ed; 2015. Chapitre 87; p. 663-8.*
- [6] Escuret V, Frobert E, Bouscambert-Duchamp M, Sabatier M, Grog I, Valette M, *et al.* Detection of human influenza A(H1N1) and B strains with reduced sensitivity to neuraminidase inhibitors. *J Clin Virol.* 2008;41(1):25-8.
- [7] Équipes de surveillance de la grippe. Surveillance de la grippe en France métropolitaine. Saison 2014-2015. *Bull Epidémiol Hebd.* 2015;(32-33):593-8. http://www.invs.sante.fr/beh/2015/32-33/2015_32-33_1.html
- [8] Goka EA, Vallely PJ, Mutton KJ, Klapper PE. Mutations associated with severity of the pandemic influenza A(H1N1)pdm09 in humans: a systematic review and meta-analysis of epidemiological evidence. *Arch Virol.* 2014;159(12):3167-83.

Citer cet article

Centre national de référence des virus *influenzae*. Surveillance virologique de la grippe : saison 2014-2015. *Bull Epidémiol Hebd.* 2015;(32-33):599-603. http://www.invs.sante.fr/beh/2015/32-33/2015_32-33_2.html