



Since January 2020 Elsevier has created a COVID-19 resource centre with free information in English and Mandarin on the novel coronavirus COVID-19. The COVID-19 resource centre is hosted on Elsevier Connect, the company's public news and information website.

Elsevier hereby grants permission to make all its COVID-19-related research that is available on the COVID-19 resource centre - including this research content - immediately available in PubMed Central and other publicly funded repositories, such as the WHO COVID database with rights for unrestricted research re-use and analyses in any form or by any means with acknowledgement of the original source. These permissions are granted for free by Elsevier for as long as the COVID-19 resource centre remains active.

Épidémiologie de l'infection virale et asthme

F. FREYMUTH¹, A. VABRET¹, J. BROUARD², J.F. DUHAMEL², B. GUILLOIS²,
J. PETITJEAN¹, E. GENNETAY¹, S. GOUARIN¹, C. PROUST¹

RÉSUMÉ

Les premières données épidémiologiques sur virus et asthme ont été obtenues dans les années 1970-1980 par l'isolement viral et la sérologie. Chez l'enfant, une infection virale est identifiable dans 24 à 31,9 % des cas, et dans 13,3 % des cas chez l'adulte. Les trois virus les plus fréquents sont les rhinovirus (RV), le virus respiratoire syncytial (VRS), et les virus parainfluenza (PIV), détectés dans 8,8, 6,4 et 6 % des cas. Par son pouvoir amplificateur, l'utilisation de l'outil PCR accroît la fréquence de détection virale, et semble particulièrement approprié dans l'asthme où la charge virale peut être réduite. Dans une étude sur les bronchiolites, nous avons montré que les VRS, PIV3, AdV et RV sont identifiés dans respectivement 39,3, 4,3, 1,4 et 3,9 % des cas par IF ou culture, et dans 62,4, 8,3, 10,8 et 12,6 % des cas par PCR. Deux enquêtes épidémiologiques récentes utilisent le diagnostic moléculaire dans les crises d'asthme. Chez 61 adultes, 27 (44 %) infections sont identifiées: 16 RV, 4 CV OC43, 3 VPI, 1 VRS, 1 VI, 1 *Chlamydia psittaci*. Chez l'enfant, une infection virale est détectée dans 226 cas (77 %): 84 RV, 38 CV, 21 VI, 21 VPI, 12 VRS. Nous avons réalisé une courte enquête rétrospective sur l'année 1997, en biologie moléculaire, sur 39 aspirations nasales d'enfants consultant pour asthme ou bronchite sifflante. La recherche des virus respiratoires par les techniques conventionnelles identifie 8 (20,5 %) infections virales: 3 à RV, 3 à VRS, 1 à VIB et 1 à VPI2. Après extraction des acides nucléiques, des techniques de PCR-hybridations ont été appliquées à ces échantillons pour détecter des séquences de VRS, AdV, RV, CV 229E, CV OC43, CP et MP. Vingt-six aspirations (54 %) sont positives par les seules techniques de biologie

(suite du résumé page suivante)

SUMMARY

Epidemiology of viral infection and asthma. – The first epidemiological data concerning viruses and asthma were obtained in the 1970s and 1980s by viral isolation and serology. Viral infection can be identified in 24 % to 31.9 % of children, and in 13.3 % of adults. The three most frequent viruses are rhinovirus (RV), respiratory syncytial virus (RSV), and parainfluenza viruses (PIV), detected in 8.8 %, 6.4 % and 6 % of cases, respectively. Due to its amplifying properties, the use of PCR increases the frequency of viral detection, and appears particularly appropriate in asthma where the viral load can be reduced. In a study of bronchiolitis, RSV, PIV3, AdV and RV were identified in 39.3 %, 4.3 %, 1.4 % and 3.9 % of cases, respectively, by IF or culture, and in 62.4 %, 8.3 %, 10.8 % and 12.6 % of cases, respectively, by PCR. Two recent epidemiological surveys used molecular diagnosis in asthma attacks. In a series of 61 adults, 27 (44 %) infections were identified: 16 RV, 4 CV OC43, 3 PIV, 1 RSV, 1 VI, 1 *Chlamydia psittaci*. In children, viral infection was detected in 226 cases (77 %): 84 RV, 38 CV, 21 IV, 21 PIV, 12 RSV. We have performed a short retrospective survey for 1997, using molecular biology, on 39 nasal aspirates from children consulting for asthma or wheezing bronchitis. Testing for respiratory viruses by conventional techniques identified 8 (20.5 %) viral infections: 3 RV, 3 RSV, 1 IBV and 1 VPI2. After nucleic acid extraction, PCR-hybridization techniques were applied to these samples to detect RSV, AdV, RV, CV 229E, CV OC43, CP and MP sequences. Twenty six aspirates (54 %) were positive only on molecular biology techniques: 11 RSV, 12 RV, 2 enterovirus, 1 CV OC43. Overall 34 (82 %) viral infections were detected in

(summary continued on next page)

1. Laboratoire de Virologie Humaine et Moléculaire,
2. Services de Pédiatrie,
Hôpital Universitaire, Av. G. Clemenceau, 14033 CAEN.

Tirés à part: Dr F. Freymuth, adresse ci-dessus.

FREYMUTH F., VABRET A., BROUARD J., DUHAMEL J.F.,
GUILLOIS B., PETITJEAN J., GENNETAY E., GOUARIN S.,
PROUST C. – Épidémiologie de l'infection virale et asthme. *Rev. fr. Allergol.*, 1998, **38** (4), 319-325.

(suite du résumé)

(summary continued)

moléculaire: 11 VRS, 12RV, 2 enterovirus, 1 CV OC43. Au total, 34 (82%) infections virales sont détectées chez ces enfants, et dans 6 cas une infection mixte VRS-RV est notée. Par rapport aux études de la littérature, on retrouve la prédominance des infections à RV, plus d'infections à VRS, probablement liée à l'utilisation ici de l'outil PCR, et une plus faible incidence des infections à CV.

MOTS-CLÉS: Asthme – Rhinovirus – Coronavirus – Virus respiratoire syncytial – Adenovirus – PCR.

these children, and a mixed RSV-RV infection was identified in 6 cases. Compared to the studies reported in the literature, we observed the same predominance of RV infections, more RSV infections, probably related to the use of PCR, and a lower incidence of CV infections.

KEY-WORDS: Asthma – Rhinovirus – Coronavirus – Respiratory syncytial virus – Adenovirus – PCR.

Une infection respiratoire banale, souvent un simple rhume, précède souvent la survenue de crises d'asthme ou de bronchite sifflante. Comme les infections bactériennes ne déclenchent pas de crises d'asthme [16], à l'exception de celles à *Chlamydia pneumoniae* (CP) et *Mycoplasma pneumoniae* (MP) [4, 10, 17], les virus devraient donc être souvent en cause, et la démonstration d'un lien entre infection virale et asthme est essentielle pour la compréhension du phénomène et éventuellement la prévention [3, 23]. Les infections virales respiratoires sont extrêmement fréquentes. Certes le nombre de familles ou de virus respiratoires est réduit: *virus influenza* A, B et C (VI), *virus parainfluenza* 1, 2, 3 et 4 (VPI), virus respiratoire syncytial A et B (VRS), Adenovirus (AdV), rhinovirus (RV), coronavirus 229E et OC43 (CV), mais le nombre de sérotypes pouvant être responsables d'infections est quasiment illimité. Certaines familles comprennent de très nombreux sérotypes sans immunité croisée: 110 RV, 49 AdV; pour d'autres la variabilité antigénique est telle qu'il apparaît régulièrement des sérotypes nouveaux: VI, RV... Il est donc exclu pour un individu d'être protégé contre tous ces virus, d'autant plus que pour beaucoup de ces virus, l'immunité post-infectieuse est relative, et que les réinfections apparaissent régulièrement au cours de la vie, même si elles sont souvent méconnues.

Les données épidémiologiques sur l'infection virale dans l'asthme dépendent évidemment des performances des méthodes de recherche virale. Ce travail en présente les résultats selon qu'ils sont obtenus par les méthodes traditionnelles d'isolement et de sérologie, ou par les outils plus modernes du diagnostic, tels que la recherche immunologique directe d'antigènes, et la détection de séquences virales par les méthodes de biologie moléculaire.

Tableau I. – Isolement en culture des virus respiratoires.

	Fibroblastes	Lignées continues	
	humains embry. MRC5	humaine NCI-H292	animales MDCK
V. influenza A/B	0	0	++
V. respir. syncytial	++	+	0
V. parainfluenza	0	+	0
Adenovirus	+ / -	+ / -	0
Rhinovirus	- / +	- / +	0
Coronavirus	0	0	0

+ / -: certaines souches difficiles à isoler; - / +: majorité des souches non isolables.

METHODES TRADITIONNELLES DE RECHERCHE DES VIRUS RESPIRATOIRES

L'isolement viral en culture et la sérologie

Beaucoup des informations sur les infections virales et l'asthme ont été obtenues dans les années 1970-1980 grâce à l'isolement viral en culture et au titrage des anticorps sériques. Ces méthodes ont leurs propres limites, et celles spécifiquement liées aux infections virales respiratoires. La recherche d'anticorps sériques (ou diagnostic sérologique) a peu d'intérêt, car la technique couramment utilisée, la réaction de fixation du complément, est peu sensible. De plus, elle ne détecte pas facilement les réinfections, situations habituelles dans les crises d'asthme, et la recherche d'anticorps anti RV ou CV n'est pas disponible en routine. L'isolement viral en culture de cellules, longtemps considérée comme la technique de référence, représente un système d'amplification virale, une seule particule infectieuse pouvant, en théorie, aboutir à une culture positive. Mais la technique est délicate; elle nécessite une qualification de l'opérateur, des locaux adaptés, et en général l'emploi de plusieurs lignées cellulaires en parallèle (tableau I). Ainsi

Tableau II. – Épidémiologie des viroses respiratoires.

	Épidémie	Incidence annuelle	Nombre de cas	Saison
V. influenza A/B	+	+	++++/+	hiver
V. respir. syncytial	+	+	++	hiver
V. parainfluenza 1,2	+	-	+	automne
Coronavirus	+?	?	?	?
V. parainfluenza 3	-	+	+	automne
Adenovirus	-(+)	+	+	automne printemps
Rhinovirus	-/+	+	+++	automne hiver printemps

1 (+): Épidémiques AdV3, 4, 7; Endémiques AdV1, 2, 5, 6;
+/- : Aspect faussement endémique par succession d'épidémies intriquées.

l'isolement des virus respiratoires doit combiner au moins trois types cellulaires: une lignée diploïde humaine embryonnaire: MRC5 (isolement des VRS, AdV, de certains RV), deux lignées continues, une humaine: NCI-H292 (isolement des VPI, VRS et AdV), et l'autre animale MDCK (VI). Les techniques de culture ont des limites incontournables qui réduisent leur efficacité: inactivation rapide des virus dans un prélèvement, présence d'inhibiteurs de la croissance virale: anticorps, interférons, contamination bactérienne des cultures... Par ailleurs, l'isolement viral ne peut pas, en théorie, être très sensible pour rechercher des virus respiratoires dans l'asthme. Beaucoup des virus impliqués sont en effet difficiles à isoler en pratique courante, ou ne sont pas cultivables: certains RV, AdV, tous les CV. De plus, comme il s'agit surtout de réinfections, l'isolement peut être gêné par la faible charge virale du prélèvement, et la présence quasi-constante d'anticorps spécifiques.

Épidémiologie globale des infections virales et asthme

L'étude déjà ancienne de Monto *et al.* [19] montre bien que les infections respiratoires sont très fréquentes, surtout chez le jeune enfant, où l'on en dénombre en moyenne 5,9 cas par an. Chez l'enfant plus âgé, l'adolescent et l'adulte, les infections respiratoires seront progressivement moins fréquentes, respectivement: 4,1 infections par an de 3 à 9 ans, 2,6 de 10 à 39 ans, 1,5 après 40 ans. La relation entre infection virale respiratoire et asthme est donc plus fréquente chez le jeune enfant que l'adulte.

La prévalence de l'asthme et des hospitalisations pour crise d'asthme est en augmentation constante [23]. Dans le même ordre d'idée, nous avons pu observer que les infections virales respi-

ratoires nécessitant l'hospitalisation sont en augmentation chez l'enfant depuis au moins 10 ans. Entre deux périodes de trois années consécutives: 1984, 1985, 1986 et 1994, 1995, 1996, le nombre de recherches de virus respiratoires chez les enfants hospitalisés est passé de 2311 à 7016 aspirations nasales. Comme le recrutement dans la population, le nombre de lits d'hospitalisation, et les techniques de diagnostic n'ont pas varié entre ces deux périodes, on peut considérer que l'augmentation observée (trois fois plus) n'est pas liée à un biais de l'enquête. Par contre la fréquence relative des différents virus n'a pas varié entre les deux périodes: le VRS représente 18,5 et 15,4 % des étiologies, les VI 3,5 et 3,2 %, les VPI 2,9 et 2,3 %, Les AdV 2,9 et 2,2 %, et les RV 3,2 et 2,8 %.

La corrélation saisonnière entre la survenue des infections virales et les pics de crises d'asthme est tout à fait perceptible en clinique [1]. De plus, il a été montré que le nombre d'hospitalisations pour crises d'asthme est moins relié à des pics de pollution atmosphérique ou de concentration en pneumallergènes, qu'aux épidémies d'infections respiratoires [2]. Les infections virales respiratoires s'observent surtout en automne et en hiver, un peu moins au printemps, et rarement l'été [5]. Les virus respiratoires sont classés en virus épidémiques et virus endémiques selon qu'ils donnent des infections localisées dans le temps, ou présentes toute l'année. La période hivernale est l'époque de diffusion majeure des virus respiratoires, liée aux deux principales épidémies, à VRS et VI (tableau II). L'épidémie à VRS est annuelle, d'importance à peu près égale chaque année, est maxima en décembre ou janvier, et dure 4-5 mois. L'épidémie grippale, à VI A et B est d'importance très variable d'une année sur l'autre, selon le ou les variants antigéniques circulants. Elle dure 2 à 3 mois, et est souvent maxima en janvier ou février. Certaines années: hivers 1993-94, 1995-96, l'apparition de l'épidémie de grippe est précoce (décembre), et précède celle due au VRS. Les VPI 1 et 2, les AdV 3, 4, 7 sont considérés aussi comme des virus épidémiques. Ils donnent de petites épidémies tous les deux ou trois ans, limitées dans le temps et en intensité, parfois identifiables cliniquement: laryngites à VPI 1 ou 2, pneumopathies graves à AdV3 ou AdV7. A l'inverse les infections dues aux autres sérotypes d'AdV, aux VPI 3 et aux RV s'observent pratiquement toute l'année (sauf l'été). Plusieurs petites épidémies successives dues à des sérotypes différents de RV donnent cet aspect faussement endémique à l'infection à RV. L'existence d'un pic d'infections à RV en autom-

Tableau III. – Recherche des rhinovirus (RV), coronavirus (CV), virus respiratoire syncytial (VRS) v. parainfluenza (VPI), v. influenza (VI), adenovirus (AdV), par culture et sérologie dans les crises d'asthme [21].

	Pourcentage moyen							
	Tous virus	RV	VRS	CV	VPI	VI	AdV	Autres
Études d'incidence (n = 10) : enfants	24	5,3	6	1,6 (1)	5	1,1	2	1,5
Études prospectives (n = 8) : enfants	31,9	12,3	6,8	10,2	7	8	2,4	7,7
Études prospectives (n = 8) : adultes	13,3	2,4	3,8	–	2,8	4	0,7	0,7

(1) : Sur une étude seulement.

ne, en hiver ou au printemps, correspond à l'émergence d'un sérotype épidémique, non identifiable en routine. Les infections à VPI3 s'observent en automne et hiver. Les infections à CV 229E ou OC43 n'étant pas recherchées en routine, il est très difficile de préciser actuellement leurs caractères épidémiques. Des études sérologiques anciennes montrent qu'ils ont une répartition ubiquitaire et qu'ils circulent largement. La prévalence des sujets porteurs d'anticorps est en effet élevée, atteignant, 100 % des sujets à 5 ans [19]. Une étude faite en Italie, montre une prévalence à l'âge de 10 ans, de 50 % pour le 229E, et de 95 % pour l'OC43 [9]. Une étude récente sur l'étiologie des épisodes grippeux dans la population de la région Rhône-Alpes au cours de l'hiver 1994-1995 révèle 6,6 % de détections de CV 229E, 11,5 % de VI, 11,2 % de VRS, 3,6 % de RV et 2,2 % d'AdV [15]. Pendant la même période, de mai 1994 à mars 1995, aucune des 862 aspirations nasales d'enfants hospitalisés à Caen pour bronchiolite n'a été trouvée porteuse d'antigènes CV 229E, alors que, sur cette période, 18 sur 110 prélèvements de LBA réalisés chez des adultes immuno-déprimés présentant une pneumopathie sévère ont été trouvés positifs [6]. Cette différence entre les deux enquêtes souligne peut-être la spécificité de la pathologie respiratoire à CV.

Enquêtes d'incidence et prospectives dans l'asthme

Depuis une trentaine d'années, de nombreuses enquêtes épidémiologiques ont été menées pour préciser l'étiologie des infections respiratoires banales qui précèdent généralement la survenue de crises d'asthme chez l'enfant ou l'adulte. Les dix enquêtes d'incidence et les huit études prospectives rapportées par Pattemore *et al.* [21] montrent qu'une infection virale respiratoire est identifiable chez 24 % des enfants examinés pour une crise ou un équivalent d'asthme, et dans 31,9 % des cas chez ceux qui étaient suivis prospectivement (tableau III). La fréquence relativement basse de la détection d'une infection virale dans

l'asthme montre les performances limitées des méthodes traditionnelles de diagnostic dans ce contexte. Sur l'ensemble des enquêtes, trois étiologies virales sont légèrement plus fréquentes : les infections à RV, VRS, PIV, sont détectées dans respectivement 8,8, 6,4 et 6 % des cas, contre 4,5 et 2,2 % pour la recherche des VI et AdV. Les CV ont été peu recherchés, et trouvés dans 1,6 et 10,2 % (!) des cas....

Ces détections virales pourraient aussi être sans rapport avec la crise d'asthme, et simplement le reflet d'un portage de virus dans la population d'enfants. Mais il n'existe habituellement pas de portage de virus respiratoires au niveau du nez des enfants ne présentant pas de signes respiratoires [11, 12]. De plus, deux études prospectives montrent une différence très significative entre la fréquence de l'isolement viral au moment des crises d'asthme : 20,3 % et entre celles-ci : 2 % [13, 18].

Chez l'adulte les études sur l'incidence des infections virales dans le déclenchement de crises d'asthme sont plus difficiles à réaliser que chez l'enfant. L'atteinte des voies aériennes supérieures est moins nette, et les sécrétions nasales sont peu abondantes, épaisses, difficiles à recueillir. Trois enquêtes prospectives retrouvent une étiologie virale moins fréquente que chez l'enfant, en moyenne dans 13,3 % des cas, et les virus identifiés sont les VI : 4 %, VRS : 3,8 %, VPI : 2,8 % et RV : 2,4 % (tableau III).

MÉTHODES RÉCENTES DE RECHERCHE DES VIRUS RESPIRATOIRES

La détection immunologique d'antigènes et les méthodes moléculaires

Un tournant dans le diagnostic virologique a été marqué par la détection immunologique rapide des antigènes viraux dans les sécrétions respiratoires [8]. C'est la méthode la plus intéressante à utiliser pour identifier les virus des bronchiolites du nourrisson : VRS, PIV, VI, AdV, CV [5]. Ces techniques, simples à mettre en œuvre et écono-

Tableau IV. – Recherche des rhinovirus par culture et RT-PCR-hybridation dans 586 aspirations nasales sur deux périodes : mars à juin 1994 et novembre 1994 à janvier 1995.

Nombre d'aspirations nasales	Mars 39	Avril 51	Mai 51	Juin-Juillet 53	Novembre 94	Décembre 148	Janvier 150
Rhinovirus cult./PCR	3/10	11/17	6/22	9/25	1/20	4/21	3/12
VRS	47	1	1	0	4	52	74
V. influenza	0	0	0	0	0	0	1
V. parainfluenza	0	1	2	2	6	3	0
AdV	1	4	5	1	0	3	4

miques, fournissent un résultat semi-quantitatif en quelques heures, et s'avèrent souvent plus performantes que l'isolement en culture. Mais elles n'ont pas une grande sensibilité dans la recherche virale au cours des crises d'asthme. Celles-ci sont en effet souvent déclenchées par des réinfections, toujours brèves et limitées dans leur atteinte tissulaire. Les prélèvements ont peu de chances d'être positifs. De plus, il n'est pas possible de détecter les RV, théoriquement souvent impliqués dans les crises d'asthme, par une méthode immunologique, en raison du nombre élevé de sérotypes et de l'absence d'antigène de groupe. Enfin il n'existe pas de réactif disponible pour déceler le CV OC43.

La mise en évidence du génome viral par hybridation du produit d'amplification d'une séquence virale (réaction de polymérisation en chaîne : PCR) nécessite la mise en œuvre d'une technologie complexe, dans des locaux adaptés à la biologie moléculaire, et par un personnel qualifié. Ces contraintes, et l'efficacité des méthodes traditionnelles ont fait que, jusque-là, les techniques de biologie moléculaire ont été très peu employées pour le diagnostic des viroses respiratoires.

Utilisation des outils moléculaires dans l'épidémiologie des viroses respiratoires

L'utilisation d'un outil moléculaire de type PCR, par ses capacités d'amplification, accroît forcément la fréquence de détection virale dans un prélèvement respiratoire. Nous l'avons montré pour la recherche des VRS, VPI3, AdV et RV chez les nourrissons hospitalisés pour bronchiolite [7]. Au cours de l'hiver 1995-1996, la détection de séquences de VRS, PIV, RV et AdV par PCR-hybridation a été comparée aux systèmes habituels d'IF et de culture, sur 277 aspirations nasales. Les VRS, PIV3, AdV et RV sont identifiés dans respectivement 39,3, 4,3, 1,4 et 3,9% des cas par IF ou culture, et dans 62,4, 8,3, 10,8 et 12,6% des cas par PCR-hybridation. L'augmentation de sensibilité entre les deux systèmes est importante, notamment pour la détection des RV et AdV.

Elle pose aussi la question de la signification des résultats dans un diagnostic d'infection virale respiratoire. Dans le cas des infections à VRS ou à VI, les techniques traditionnelles, mettant en évidence des protéines virales ou des virions, témoins d'une réplication virale, ont toujours été considérées comme sensibles, parce qu'elles valident presque toujours le diagnostic clinique de grippe ou de bronchiolite à VRS. Quelle est alors la signification de la détection de séquences virales de VRS, ou de VI par PCR, lorsque la recherche d'antigène ou la culture sont négatives?

Par contre, il est évident que beaucoup d'infections à RV, CV, et à un moindre degré à AdV, sont largement méconnues par les outils traditionnels. Les méthodes moléculaires sont alors indispensables au diagnostic. Quelques souches de RV sont détectables en routine par isolement sur les lignées diploïdes humaines embryonnaires (MRC5). Mais de nombreux RV ne se multiplient pas sur ces cellules. Au cours du printemps 1994, nous avons observé un pic d'infections respiratoires chez les enfants hospitalisés, où nous avons pu isoler plusieurs RV. A cette occasion, une méthode de RT-PCR a été comparée à l'isolement en culture, et la comparaison a été étendue à l'hiver suivant [6]. On observe trois fois plus de détections de RV en RT-PCR : 21,6% qu'en culture : 6,3% (tableau IV). Grâce à l'outil moléculaire un autre groupe a confirmé le fait que les RV représentent plus de la moitié des étiologies du rhume, loin devant les CV 8,5%, VIA 5%, VPI 3%, VRS 3%, VIB 2%, AdV 1% [22]. L'outil moléculaire permet aussi d'améliorer de façon importante le rendement de la détection des CV. L'infection à CV 229E ne peut être détectée en routine que par IF directe sur le prélèvement respiratoire. Il n'existe pas de titrage d'anticorps sériques, et tous les systèmes de culture *in vitro* sont inopérants. Très peu de souches ont été isolées chez l'homme, hormis les deux souches prototypes, désignées 229E et OC43, isolées il y a plus de vingt ans sur culture organotypique de trachée, technique non utilisable en routine. Un

anticorps monoclonal anti-CV 229E est disponible depuis quelque temps pour un diagnostic direct rapide en IF, mais il n'existe pas d'anticorps anti CV OC43. Son utilisation en routine de mai 1994 à mars 1995 sur 110 prélèvements de LBA réalisés chez des adultes hospitalisés dans les services de Pneumologie, de Réanimation et de Maladies Infectieuses du CHU de Caen a permis d'isoler 18 échantillons positifs. La majorité des malades sont des adultes immuno-déprimés présentant une pneumopathie sévère, où dans la majorité des cas aucun autre agent infectieux n'a été isolé. Pour vérifier les résultats de l'IF, nous avons utilisé une technique PCR, amplifiant une séquence du gène de la protéine N des souches 229E [24]. Les résultats de l'étude de 107 LBA confirment la présence du génome du Coronavirus 229E dans 6 des 15 échantillons positifs en IF, et 25 LBA sont trouvés positifs en PCR et négatifs en IF. Ces deux techniques sont donc très intéressantes pour le diagnostic des infections respiratoires à Coronavirus, l'une utilisable en routine, l'IF, et l'autre en recherche, la PCR.

Enquêtes d'incidence et prospectives dans l'asthme

Deux enquêtes épidémiologiques récentes ont intégré les techniques moléculaires pour étudier l'incidence des infections virales dans les crises d'asthme. La première concerne les adultes, et les recherches sont effectuées sur des prélèvements de nez, de gorge et sanguins [20]. Elles comprennent des sérologies pour les VI A et B, VPI 1, 2, 3, VRS, AdV, CP, MP, CV 229E, et CV OC43, des isolations en culture pour la recherche des VI, VRS, VPI, AdV et RV, et une technique de RT-PCR pour détecter les RV. L'enquête est effectuée chez 61 patients atteints d'une crise d'asthme. Vingt-sept (44%) infections ont été identifiées: 16 RV, 4 CV OC43, 3 VPI, 1 VRS, 1 VI, 1 *Chlamydia psittaci*. Dans ce travail certains éléments rendent les résultats discutables: l'utilisation de prélèvements de gorge, assez peu adaptés à la recherche de virus respiratoires, l'approche sérologique en général peu sensible dans ce contexte, et l'emploi d'une méthode moléculaire limitée à la détection des RV.

La seconde étude concerne les crises d'asthme chez l'enfant [14]. Elle est plus intéressante car les recherches virologiques sont plus complètes. Elles comprennent les recherches sérologiques et en culture mentionnées dans l'enquête précédente, et la détection des VIA, VPI, AdV, VRS en immunofluorescence, ainsi que la recherche de séquences de Picornavirus (Enterovirus et RV), et

de CV 229E et OC43 par amplification génique. Une infection virale est identifiée dans 226 cas (77%), dont 84 RV, 38 CV, 21 VI, 21 VPI, 12 VRS. Ces deux études soulignent la fréquence des infections virales dans le déclenchement des crises d'asthme de l'adulte, et l'importance des infections à RV et CV, indétectables sans la biologie moléculaire.

Nous avons réalisé une courte enquête retrospective sur l'année 1997, en biologie moléculaire, sur 39 aspirations nasales d'enfants consultant pour asthme ou bronchite sifflante. La recherche des virus respiratoires par les techniques conventionnelles identifie 8 (20,5%) infections virales: 3 à RV, 3 à VRS, 1 à VIB et 1 à VPI2. Après extraction des acides nucléiques, des techniques de PCR-hybridations ont été appliquées à ces échantillons pour détecter des séquences de VRS, AdV, RV, CV 229E, CV OC43, CP et MP. Vingt-six aspirations (54%) sont positives par les seules techniques de biologie moléculaire: 11 VRS, 12 RV, 2 enterovirus, 1 CV OC43. Au total, 34 (82%) infections virales sont détectées chez ces enfants, et dans 6 cas une infection mixte VRS-RV est notée. Par rapport à l'étude de Johnston *et al.* [14], on retrouve la fréquence des infections à RV, mais pas celle des infections à CV. De plus, l'utilisation de l'outil PCR pour rechercher le VRS fait apparaître une plus grande fréquence de cette infection que ne l'on noté ces auteurs.

CONCLUSION

Les infections virales jouent un rôle déclenchant important dans les crises d'asthme de l'enfant et de l'adulte. Les méthodes moléculaires de recherche des virus respiratoires, qui augmentent notablement la capacité de détection virale le montrent aisément. Le contact intermittent mais constant avec les multiples virus respiratoires, en particulier les RV, explique qu'ils puissent jouer un rôle déclenchant aussi important dans les crises d'asthme. Survenant chez des individus partiellement immunisés, le processus infectieux et la charge virale sont souvent réduits, ce qui gêne aussi beaucoup leur détection par les méthodes traditionnelles, mais la rend possible par les méthodes moléculaires. Il ne faut oublier cependant que la détection d'une séquence virale peut correspondre aussi bien à une infection active que latente... Le problème se pose aussi de savoir si, à l'image des AdV par exemple, d'autres virus respiratoires, VRS, RV, CV, ne sont pas susceptibles d'induire une latence dans les voies aériennes...

RÉFÉRENCES

1. Clough J.B., Holgate S.T. – Episodes of respiratory morbidity in children with cough and wheeze. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.*, 1994, 150, 48-53.
2. Dales R.E., Schweitzer I., Toogood J.H. – Respiratory infections and the autumn increase in asthma morbidity. *Eur. J. Respir. Dis.*, 1996, 9, 72-77.
3. Dutau G., Brémont F., Juchet A., Rancé F., Nouilhan P. – De la bronchiolite à l'asthme. *Rev. Fr. Allergol.*, 1994, 34, 28-32.
4. Emre U., Roblin P.M., Gelling M. – The association of *Chlamydia pneumoniae* infection and reactive airway disease in children. *Arch. Pediatr. Adolesc. Med.*, 1994, 148, 727-732.
5. Freymuth F., Quibriac M., Petitjean J., Daon F., Amiel M.L. – Les virus responsables d'infections respiratoires en pédiatrie. Bilan de 3480 aspirations nasales réalisées chez l'enfant en une période de six ans. *Ann. Pédiatr. (Paris)*, 1987, 34, 493-501.
6. Freymuth F., Vabret A., Eugene G., Petitjean J., Mammes O., Gennetay E. – Diagnostic moléculaire des infections virales respiratoires communes, pp. 103-108. Biologie prospective. *Comptes rendus du 9^e Colloque de Pont-à-Mousson*. Paris, John Libbey Eurotext, 1997.
7. Freymuth F., Vabret A., Galareau-Salle F., Ferey J., Eugene G., Petitjean J., Gennetay E., Brouard J., Jokik M., Dubamel J.F., Guillois B. – Detection of respiratory syncytial virus, parainfluenzavirus 3, adenovirus and rhinovirus in respiratory tract of infants by polymerase chain reaction and hybridization. *Clin. Diagn. Virol.*, 1997, 8, 31-40.
8. Gardner P.S., McQuillin J. Application of immunofluorescent antibody technique in the rapid diagnosis of respiratory syncytial virus infection. *Br. Med. J.*, 1968, 2, 340-341.
9. Germa G., Achill G., Cereda P.M. Determination of coronavirus 229E antibody by an immune-adherence hemagglutination method. *J. Med. Virol.* 1978, 2, 215-223.
10. Gil J.C., Cedillo R.L., Mayagoitia B.G., Paz M.D. – Isolation of *Mycoplasma pneumoniae* from asthmatic patients. *Ann. Allergy*, 1993, 70, 23-25.
11. Hable K.A., Washington J.A., Hermann E.C. – Bacterial and viral flora. Comparison of findings in children with acute respiratory tract disease and in healthy controls during winter. *Clin. Pediatr.*, 1971, 10, 199-203.
12. Horn M.C.E., Yealland S.J. – Significance of respiratory virus isolations. *Arch. Dis. Child.*, 1974, 49, 516-519.
13. Horn M.E.C., Brain E.A., Gregg I., Inglis J.M., Yealland S.J., Taylor P. – Respiratory viral infection and wheezy bronchitis in childhood. *Thorax*, 1979, 34, 23-28.
14. Johnston S.L., Pattemore P.K., Sanderson G., Smith S., Lampe F., Josephs L., Symington P., O'Toole S., Myint S.H., Tyrrell D.A.J., Holgate S.T. – Community study of role of viral infections in exacerbations of asthma in 9-11 years old children. *Br. Med. J.*, 1995, 310, 1225-1229.
15. Lina B., Valette M., Foray S., Luciani J., Stagnara J., See D.M., Aymard M. – Surveillance of community-acquired viral infections due to respiratory viruses in Rhones-Alpes (France). *J. Clin. Microbiol.*, 1996, 34, 3007-3011.
16. McIntosh K., Ellis E.F., Hoffman L.S., Lybass T.G., Eller J.J., Filginiti V.A. – The association of viral and bacterial respiratory infections with exacerbations of wheezing in young asthmatic children. *J. Pediatr.*, 1973, 82, 578-590.
17. Mayaud C. – Asthme et *Chlamydia pneumoniae*. Une perspective d'avenir pour les macrolides en général et pour la roxithromycine en particulier. *Presse Med.*, 1997, 26 (SII), 27-29.
18. Mitchell I., Inglis J.M., Simpson H. – Viral infection as a precipitant of wheeze in children: combined home and hospital study. *Arch. Dis. Child.*, 1978, 53, 106-111.
19. Monto A.S., Ullman B.M. – Acute respiratory illness in an American community. *JAMA.*, 1974, 227, 164-169.
20. Nicholson K.G., Kent J., Ireland D.C. – Respiratory viruses and exacerbations of asthma in adults. *Br. Med. J.*, 1993, 307, 982-986.
21. Pattemore P.K., Johnston S.L., Bardin P.G. – Viruses as precipitants of asthma symptoms. *I. Epidemiol. Clin. Exp. Allergy*, 1992, 22, 325-336.
22. Puhakka T., Makela M.J., Kaukonen J., Uhari M., Savolainen J., Terho E.O., Ruuskanen R. – *The common cold: Effects of intranasal fluticasone propionate treatment*. 37th ICAAC, Toronto, 138H, H84, 1997.
23. Réfabert L., Mahut B., de Blic J., Scheinmann P. – Infections respiratoires aiguës virales et asthme. *Rev. Prat. (Paris)*, 1996, 46, 2077-2082.
24. Stewart J.N., Mounir S., Talbot P.J.J. – Detection of coronaviruses by the polymerase chain reaction. *In: Y. Becker, G. Darai. Diagnosis of human viruses by polymerase chain reaction technology*, pp. 316-327. Springer Verlag, 1992.

