

Les gripes aviaires, une menace permanente

Avian influenza, a permanent threat

Par Michel BUBLLOT⁽¹⁾
(communication présentée le 1^{er} juillet 2004)

RÉSUMÉ

L'agent responsable des gripes aviaires est le virus influenza de type A. Chaque souche virale peut être sous-typée pour les deux protéines de surface : l'hémagglutinine (HA) et la neuraminidase (NA). Les oiseaux aquatiques constituent le réservoir de ces virus et peuvent occasionnellement les transmettre aux volailles domestiques. Les gripes aviaires se manifestent sous plusieurs formes cliniques selon le pathotype des souches virales circulantes. Les souches faiblement pathogènes (FP) n'induisent le plus souvent qu'une infection asymptomatique tandis que les souches hautement pathogènes (HP) sont responsables de peste aviaire. Les souches HP émergent des souches FP de sous-type H5 ou H7 par mutation et insertion dans le gène de l'HA. Les virus influenza aviaire peuvent être occasionnellement transmis à des mammifères, y compris l'homme. L'évolution des souches HP H5N1 asiatiques récentes vers un pouvoir pathogène accru et un spectre d'hôte élargi est inquiétant, et les experts redoutent que ces souches soient à l'origine d'une nouvelle pandémie humaine. La vaccination au moyen de vaccins inactivés ou recombinés peut être utilisée en complément des mesures de biosécurité pour lutter contre une épizootie.

Mots-clés : grippe aviaire, influenza, hémagglutinine, neuraminidase, peste aviaire, vaccin inactivé, vaccin recombiné.

SUMMARY

The avian influenza virus belongs to the influenza type A genus. Each strain can be sub-typed for its surface proteins: hemagglutinin (HA) and neuraminidase (NA). Aquatic birds represent the natural reservoir of the virus and occasionally transmit it to domestic poultry. The clinical form of the disease depends on the pathotype of the circulating strain. Most infections with low pathogenic (LP) strains are asymptomatic whereas those with highly pathogenic (HP) strains induce fowl plague. HP strains emerge from LP ones by mutations and insertions in the HA gene. Avian influenza can be occasionally transmitted to mammals including human. Evolution of recent HP H5N1 strains toward an increased pathogenicity and a wider host spectrum is worrying, and experts fear that these new strains could give rise to the next human influenza pandemic. Vaccination with inactivated or recombinant vaccines can be used in addition to biosafety measures to contend an outbreak.

Key words: avian influenza, hemagglutinin, neuraminidase, fowl plague, inactivated vaccine, recombinant vaccine.

(1) DMV, PhD, Responsable du Laboratoire de Virologie-Nouveaux Agents, Recherche Exploratoire, Merial, 254, rue Marcel Mérieux, 69007 Lyon.

• INTRODUCTION

Les gripes aviaires ont récemment fait la une de l'actualité mondiale. En effet, l'ampleur de l'épizootie de peste aviaire asiatique, qui a commencé en décembre 2003, est sans précédent. Les cas de mortalité humaine confirmés au Vietnam et en Thaïlande sont très préoccupants et la menace d'une future pandémie de grippe humaine est réelle. De plus, les conséquences économiques et les risques pour la santé publique d'une épizootie de peste aviaire font du virus de la grippe aviaire un agent de choix pour le bioterrorisme. De toutes les gripes animales, la peste aviaire est la plus sévère. Les coûts directs et indirects des épizooties récentes ont été évalués à 420 millions d'euros (M€) en Italie (souche H7N1, 13M d'animaux morts ou abattus) (CAPUA *et al.*, 2003a ; SWAYNE et HALVORSON, 2003) et 1000 M€ aux Pays-Bas (26 M d'animaux morts ou abattus). Cette revue donne un aperçu général sur les gripes aviaires en insistant sur l'évolution récente observée en Asie de l'est. Des informations complémentaires peuvent être recherchées dans d'autres revues récemment publiées sur le sujet (ALEXANDER, 2000; TOLLIS et DI TRANI, 2002 ; SWAYNE et HALVORSON, 2003) ou dans un numéro spécial d'Avian Diseases (SWAYNE et SUAREZ, 2003) reprenant les résumés des communications du 5^e Symposium International sur la grippe aviaire (Athens, GA, USA ; 14-17 avril 2002).

• LE VIRUS DE LA GRIPPE

Le virus de la grippe, également appelé virus influenza, appartient à la famille des *orthomyxoviridae* qui comprend quatre genres : A, B, C et thogotovirus. Ces quatre genres se distinguent par des antigènes internes différents (protéines de la nucléocapside et de la matrice). Tous les virus des gripes animales appartiennent au genre influenza A. Les virus humains sont du genre influenza A ou B. Le virus de la grippe est enveloppé et a une taille de 80 à 120 nm. Le génome des influenza A et B est constitué de 8 segments d'ARN monocaténaire de polarité négative. Chaque segment d'ARN code pour une protéine virale à l'exception des segments 7 et 8 qui contiennent chacun deux gènes viraux. Lorsqu'une cellule est infectée par deux virus différents, les nouveaux virus générés contiendront soit les 8 segments génomiques d'un des deux virus parental, soit un mélange de segments de ces deux virus ; 256 combinaisons sont théoriquement possibles, mais en réalité seules quelques combinaisons émergeront, car l'association de segments différents ne donnent pas toujours des virus capables de se multiplier. Ces virus issus de réassortiments de segments d'ARN, appelés réassortants, auront parfois des caractéristiques biologiques nouvelles et notamment, un spectre d'hôte différent de celui des souches parentales.

L'enveloppe virale contient deux protéines de surface : l'hémagglutinine (HA) et la neuraminidase (NA). Quinze sous-types d'HA (H1 à H15) et neuf sous-types de NA (N1 à N9) ont été décrits pour les influenza A. Chaque souche peut donc être sous-typée pour ces 2 protéines (exemple :

H5N2). Les souches circulant actuellement chez l'homme sont de sous-types H1N1 et H3N2, celles circulant chez le porc sont de sous-types H1N1, H3N2 et H1N2, et celles circulant chez le cheval sont du sous-type H3N8. Le virus est peu résistant dans le milieu extérieur. Il peut cependant rester infectieux pendant 30 jours à 0°C dans l'eau contaminée et plus de 40 jours dans les fientes.

• LE RÉSERVOIR DES VIRUS INFLUENZA A

Les oiseaux aquatiques constituent le réservoir du virus de la grippe de type A et en particulier, les espèces de l'ordre des Ansériformes (dont la famille des Anatidés comprenant les canards et les oies) et de l'ordre des Charadriiformes [dont la famille des Laridés (comprenant mouettes et goélands) et les espèces limicoles]. Le virus influenza A est présent dans tous les continents. Chaque année, les espèces migratrices se rassemblent en importantes colonies dans lesquelles l'isolement du virus de grippe aviaire est très fréquent : il peut dépasser 60 % chez les canards juvéniles (SWAYNE et HALVORSON, 2003). Le virus a un tropisme intestinal dans ces espèces et la transmission se fait par voie orale-fécale, principalement par l'intermédiaire de l'eau contaminée. L'infection est asymptomatique. Tous les sous-types d'HA et de NA sont isolés chez ces oiseaux, et ces virus constituent donc un gisement de gènes viraux. L'existence d'un tel réservoir sauvage rend la grippe impossible à éradiquer. Contrairement aux souches de grippe humaine, les souches aviaires sont très stables au niveau antigénique, ce qui suggère que l'adaptation à leur hôte est optimale (ITO *et al.*, 1991).

Les études sur l'écologie des virus de la grippe suggèrent que tous les virus grippaux des mammifères dérivent du réservoir des virus influenza aviaires. L'examen phylogénétique des gènes montrent que les virus influenza aviaires ont évolué en cinq lignages propres à une ou plusieurs espèces : le lignage équin classique (H7N7, qui n'a plus été isolée depuis 20 ans), le lignage équin récent (H3N8), le lignage des mouettes et espèces apparentées (souches H13 principalement), le lignage humain/porcin classique, et celui de tous les autres virus aviaires (GORMAN *et al.*, 1990 ; ITO *et al.*, 1991). Chaque lignage contient des gènes adaptés à l'espèce hôte. De plus, les souches d'influenza aviaire se séparent clairement en deux lignages : le lignage eurasiatique et le lignage américaine, ce qui montre l'importance de la migration longitudinale des oiseaux migrateurs dans la transmission de l'influenza.

• LES GRIPPES DES ESPÈCES D'OISEAUX DOMESTIQUES

Les virus influenza des oiseaux aquatiques sont parfois transmis aux volailles domestiques. Les espèces domestiques les plus sensibles sont la dinde, la poule, la caille, l'oie, le faisan, la pintade et l'autruche. Le canard domestique est régulièrement infecté mais il n'exprime en général pas de signe clinique. Les infections sont plus importantes dans les zones géographiques de migration des espèces sauvages et plus particulièrement, quand les

volailles sont élevées en plein air ; par exemple, les troupeaux de dindes dans le Minnesota aux États-Unis sont infectés chaque année au moment du rassemblement d'oiseaux pour la migration. L'adaptation des souches aux volailles domestiques s'accompagne souvent d'un changement de tropisme : d'un tropisme digestif, les souches passent à un tropisme respiratoire. Ce changement de tropisme s'accompagne de changement au niveau génomique et notamment, une délétion dans la tige de la neuraminidase. Une fois adaptée à l'espèce domestique, la souche se transmet par aérosol ou par ingestion. Contrairement à celui des gripes humaine, porcine et équine, le virus de la grippe aviaire ne circule pas de façon pérenne dans les populations aviaires domestiques, et l'infection est le plus souvent épizootique. Cependant, dans certaines régions comme au Moyen Orient (souches H9N2), en Asie «de l'Est» (souches H5N1) et au Mexique (souches H5N2) ou dans certains segments du marché avicole tels les marchés d'animaux vivants (aux USA, souches H7N2), l'infection est endémique (SWAYNE et HALVORSON, 2003).

Les souches d'influenza aviaire sont pour la plupart faiblement pathogènes. L'infection passe le plus souvent inaperçue et n'est détectée que lors de programmes de surveillance sérologique ou virologique active. Tous les sous-types d'hémagglutinine et de neuraminidase peuvent être isolés de ces gripes. Dans certains cas et notamment, lors d'infections concomitantes, les souches faiblement pathogènes peuvent provoquer une perte de poids, une chute de ponte, des troubles respiratoires et parfois même de la mortalité (surtout chez la dinde) (CAPUA *et al.*, 2003a).

Occasionnellement, des souches hautement pathogènes (HP) apparaissent et provoquent des épizooties de peste aviaire, maladie inscrite sur la liste A de l'Office International des Epizooties (OIE). La peste aviaire est caractérisée par des symptômes généraux marqués (abattement, prostration), des signes nerveux (perte d'équilibre, torticolis, pédalage) et une mortalité rapide et élevée. Ces signes cliniques sont très proches de ceux de la maladie de Newcastle (pseudopeste) et un diagnostic sérologique ou virologique doit être effectué pour les distinguer. La période d'incubation est d'environ 3 jours chez les animaux infectés naturellement et de 14 jours dans un troupeau (SWAYNE et HALVORSON, 2003). Les souches hautement pathogènes sont caractérisées par un index de pathogénicité intra-veineuse (IVPI) supérieur à 1,2.

Ces souches hautement pathogènes (HP) ont, jusqu'à présent, toujours possédé une hémagglutinine de sous-type H5 ou H7, le sous-type de neuraminidase étant variable. La séquence des HA de souches HP est caractérisée par une succession d'acides aminés basiques au niveau du site de clivage. Le clivage de l'hémagglutinine (d'un précurseur HA0 en deux sous-unités HA1 et HA2) est en effet une étape essentielle pour rendre le virus infectieux pour les cellules de l'hôte. Pour les souches faiblement pathogènes, ce clivage est réalisé par des protéases extracellulaires (type trypsine) localisées dans le système digestif ou respiratoire. Par contre, les changements et insertions

d'acides aminés basiques au niveau du site de clivage des HA des souches HP rendent ce site clivable par des protéases intracellulaires ubiquistes (furine). Ces souches se propagent donc très rapidement dans tout l'organisme et provoquent des signes cliniques sévères (TOLLIS et DI TRANI, 2002). Elles sont responsables d'épizooties de peste aviaire, telles celle en 2003 des Pays-Bas, Belgique et Allemagne due à un sous-type H7N7 et celle en 2003-2004 de 8 pays d'Asie due à un sous-type H5N1. Il est à noter que ces mutations et insertions au site de clivage de l'HA sont nécessaires pour donner le pathotype HP, mais elles ne sont parfois pas suffisantes et d'autres modifications dans les gènes HA et NA doivent apparaître afin de révéler ce pathotype HP (HULSE *et al.*, 2004).

Les épisodes de peste aviaire sont souvent précédés d'une infection par une souche faiblement pathogène de sous-type H5 ou H7 qui acquiert progressivement des mutations au niveau du site de clivage de l'HA. C'est pourquoi, l'OIE souhaiterait étendre la déclaration obligatoire des pestes aux infections par les souches faiblement pathogènes H5 ou H7, ce qui nécessiterait une surveillance active des troupeaux car, comme indiqué ci-dessus, ces infections passent le plus souvent inaperçues.

Les épizooties de peste aviaire ont été documentées depuis 1959 (SWAYNE et HALVORSON, 2003). De 1959 à 1990, le nombre d'épizooties est resté stable (3 à 4 par décennie) mais depuis 1991, leur fréquence (9 entre 1991 et 2000) ainsi que leur importance ont nettement augmenté. L'épizootie concomitante de peste dans 8 pays d'Asie de l'Est en 2003-2004 est d'une étendue jamais observée jusqu'à présent. Les causes de cette augmentation de la fréquence des épizooties ne sont pas connues et sont probablement multifactorielles. L'intensification de l'élevage avicole dans certaines régions et l'augmentation des contacts entre oiseaux sauvages et domestiques sont certainement des facteurs importants. Aucune épizootie de peste aviaire n'a été détectée jusqu'à présent en France mais, vu la structure de son élevage avicole, la France n'est certainement pas à l'abri d'une épizootie.

• TRANSMISSION ENTRE ESPÈCES DES VIRUS DE LA GRIPPE AVIAIRE

Comme indiqué ci-dessus, les oiseaux aquatiques constituent le réservoir du virus de la grippe aviaire. Cependant, le virus a été occasionnellement isolé de plus de 90 espèces d'oiseaux appartenant à 13 ordres différents ; les oiseaux d'ornement et les rapaces notamment font partie des espèces sensibles. Ces infections sont le plus souvent asymptomatiques.

Les virus influenza aviaire reconnaissent préférentiellement le récepteur sialoligosaccharide en liaison α 2,3 avec du galactose, tandis que les virus influenza porcine et humaine préfèrent les récepteurs en liaison α 2,6. L'épithélium respiratoire des espèces aviaires et humaines possèdent principalement le récepteur α 2,3 et α 2,6, respectivement. Celui du porc par contre contient les 2 types de récepteur, ce qui rend

le porc sensible à la fois aux souches humaines et aviaires. Le porc est donc considéré comme un « creuset » dans lequel peuvent émerger de nouvelles souches de virus par réassortiment de segments génomiques provenant de souches d'origine différente (ITO 2000). Ces nouvelles souches réassortantes peuvent potentiellement être responsables de pandémies humaines. L'infection expérimentale et naturelle du porc par des souches de grippe aviaire est décrite, mais reste très peu fréquente sur le terrain. Il n'y a pas eu jusqu'à présent d'évidence de transmission des souches H5N1 aviaires vers le porc lors de la dernière épidémiologie de peste aviaire en Asie (2003-2004), alors que dans les pays touchés par la peste, les contacts entre porcs et volailles étaient importants. Des infections du porc par des souches aviaires H9N2 et H5N1 ont cependant été décrites avant l'épidémiologie (CHEN *et al.*, 2004). Des séroconversions vis-à-vis du sous-type H7N7 ont été observées chez le porc aux Pays-Bas lors de l'épidémiologie de peste de 2003. Les porcs des élevages montrant les taux d'anticorps les plus élevés étaient nourris avec des œufs provenant de poules pondeuses infectées (G. Koch, communication personnelle). Ces données montrent que la présence du récepteur n'est pas suffisante pour obtenir une bonne répllication du virus aviaire chez le porc. Une combinaison optimale de gènes internes est sans doute aussi un requis.

La transmission directe de grippe aviaire à l'homme est extrêmement rare. Les premiers cas préoccupants ont été observés durant l'épidémiologie de peste aviaire (sous-type H5N1) de 1997 à Hong Kong : 6 personnes infectées sur les 18 hospitalisées sont décédées. Les autorités décidèrent l'abattage de la population entière de poulets. Deux ans plus tard, toujours à Hong Kong, une souche H9N2 était isolée de deux enfants souffrant de grippe. Cette souche d'origine aviaire comportait des gènes internes très similaires à la souche H5N1 de 1997. En 2003, un père et son fils ont été infectés avec une souche H5N1 en Chine, le père est décédé. La transmission d'influenza aviaire à l'homme a également été observée lors de la récente épidémiologie de peste aviaire aux Pays-Bas. Quatre-vingt-neuf isolements d'influenza ont été obtenus sur les 260 personnes testées présentant une conjonctivite ou un syndrome grippal. Un vétérinaire de 57 ans présentant des symptômes grippaux et porteur de la souche H7N7 est décédé à la suite d'une pneumopathie (FOUCHIER *et al.*, 2004). Vingt-huit décès humains sur trente-neuf cas ont été rapportés entre janvier et début septembre 2004 lors de la récente épidémiologie de grippe H5N1 en Asie. Ces cas n'ont été détectés que dans 2 des 8 pays touchés par l'épidémiologie (Vietnam et Thaïlande). Au Canada, des infections humaines ont également été détectées durant l'épidémiologie de grippe de 2004. Les signes cliniques chez l'homme vont d'une simple conjonctivite à des signes grippaux sévères. Jusqu'à présent, seules les souches hautement pathogènes ont provoqué des décès humains. Le risque de transmission à l'homme des virus influenza aviaires a fait l'objet d'un excellent rapport de l'Agence Française de Sécurité Sanitaire des aliments (AFSSA, rapport adopté le 10 juillet 2002).

La grande majorité des infections humaines par des souches aviaires est le résultat d'un contact étroit entre l'homme et des volailles infectées. La transmission d'homme à homme reste rare, ce qui a très fortement restreint jusqu'ici l'expansion de ces infections. Le réassortiment entre souches aviaires et souches humaines pouvant donner une souche H5N1 plus adaptée à l'homme n'a heureusement pas été constaté lors de ces épisodes mais le risque existe et c'est pourquoi, les souches de grippe aviaire (principalement les sous-types H5N1, H7N7 et H9N2) sont surveillées de près par l'OMS. Elles représentent des candidates sérieuses pour une future pandémie humaine.

Le virus influenza aviaire peut être transmis naturellement à des mammifères sauvages (phoque, dauphin, baleine, vison, furet, et récemment tigre et panthère) ou domestiques tels le porc (voir ci-dessus), le cheval (GUO *et al.*, 1992) et plus récemment, le chat (voir ci-dessous). Ces transmissions restent cependant très rares.

Les volailles domestiques peuvent également être infectées par des virus influenza de mammifères. L'exemple bien connu est l'infection de troupeaux de dindes par des souches d'influenza porcine (sous-types H1N1 et H1N2).

• ÉVOLUTION DES SOUCHES D'INFLUENZA AVIAIRE

Les souches d'influenza humain évoluent de deux manières : par glissement antigénique (« drift ») ou par cassure antigénique (« shift »). L'apparition chaque année, sous la pression du système immunitaire, de nouvelles souches de même sous-type mais légèrement différentes au niveau antigénique, constitue le glissement antigénique. Les mutations, localisées sur les gènes codant pour les 2 protéines de surface (HA et NA) du virus, permettent aux nouveaux virus d'échapper à la réponse immunitaire développée par l'hôte contre les virus précédents. Ces nouveaux variants sont responsables d'épidémies de grippe quasi-annuelles et obligent à changer régulièrement les souches utilisées pour la production de vaccin humain. Lorsque par contre, la population humaine est infectée avec un virus présentant au moins une des protéines de surface absente de la population virale circulante, on parle de cassure antigénique. Ces virus, responsables de pandémies, telles la grippe espagnole de 1918 (H1N1), la grippe asiatique de 1957 (H2N2) et la grippe de Hong Kong de 1968 (H3N2), émergent après transmission directe à partir d'une autre espèce ou après réassortiment dans un hôte simultanément infecté avec 2 sous-types différents d'influenza. L'immunité pré-existante ne protège pas et les vaccins humains préparés avec les souches précédentes sont inefficaces. Les pandémies se distinguent des épidémies annuelles par une mortalité et une morbidité très élevée et une atteinte mondiale rapide.

Les souches d'influenza aviaires isolées des oiseaux aquatiques sauvages sont extrêmement stables au niveau antigénique et génomique ; il n'y a donc pas de glissement ou de cassure antigénique chez ces espèces (ITO *et al.*, 1991; WEBSTER *et al.*, 1992). L'évolution des souches

chez la volaille domestique ne peut être étudiée que dans les régions où la grippe est endémique. Au Mexique par exemple, la vaccination est pratiquée depuis 1995 et les souches d'influenza aviaire ont évolué au niveau génomique et antigénique, ce qui suggère que le glissement antigénique existe chez les volailles domestiques vaccinées (LEE, SENNE et SUAREZ, 2004).

L'évolution des souches H5N1 en Chine a été étudiée depuis l'épizootie de grippe aviaire H5N1 en 1997. Alors que les souches isolées chez l'homme n'ont plus été retrouvées après l'abattage des poulets, les précurseurs putatifs de ces souches ont continué de circuler, se sont réassortis avec d'autres souches et ont infecté différentes espèces aviaires (GUAN *et al.*, 2003; LI *et al.* 2004). Bien que les souches HP ne soient généralement pas pathogènes pour les oiseaux sauvages, sont apparues en 2002 à Hong Kong plusieurs souches H5N1 de génotype différent mais létales pour les oiseaux aquatiques sauvages et notamment, le canard considéré jusqu'alors comme très résistant. Ces souches présentent également un profil antigénique et un tropisme (notamment pour la souris) différent des souches isolées d'épizooties précédentes (CHEN *et al.*, 2004; STURM-RAMIREZ *et al.*, 2004). Les souches isolées en 2003 induisent la production *in vitro* de cytokines pro-inflammatoires par des macrophages primaires humains contrairement aux souches isolées en 2001 ou 1997 (GUAN *et al.*, 2004).

Ces nouvelles souches asiatiques ont également été isolées en 2004 en Thaïlande d'un tigre et d'un léopard d'un zoo près de Bangkok ainsi que de chats domestiques ; le léopard ainsi que 14 des 15 chats présents dans le même foyer sont décédés. Une infection de félidés de zoo (tigre, léopard,...) a également été observée au Cambodge (DOMENECH, 2004). Tous ces animaux infectés avaient été nourris ou en contact avec des poulets infectés. L'infection expérimentale (administration intra-trachéale ou infection par l'intermédiaire de poulet infecté) de chats par ces souches asiatiques a provoqué des symptômes de grippe (fièvre, troubles respiratoires, et même mortalité) chez les animaux inoculés mais également chez des animaux contacts. Les chats pourraient donc être un vecteur de transmission entre poulaillers (KUIKEN *et al.*, 2004).

Alors que la transmission inter-espèces de virus grippal était considérée aller dans le sens « espèces sauvages vers espèces domestiques », il est maintenant bien établi qu'en Chine du Sud, les deux sens de transmission sont observés, notamment pour les sous-types H5N1 et H9N2 (LI *et al.*, 2003). Il est probable que les espèces sauvages migratrices aient joué un rôle important dans l'extension de la grippe aviaire en Asie. Chaque passage dans une autre espèce que celle d'origine s'accompagne d'une adaptation de la souche virale à la nouvelle espèce ; ces multiples passages entre espèces sont certainement une des causes des variations croissantes de génotype, de profil antigénique et de tropisme des souches asiatiques H5N1. La multiplicité des génotypes circulants augmentent les risques d'émergence d'une souche pathogène pour l'homme et capable en final

de transmission inter-humaine.

• DIAGNOSTIC

Comme décrit plus haut, les infections par des souches faiblement pathogènes passent le plus souvent inaperçues et ne sont détectées que par des surveillances actives utilisant des tests de détection d'antigène ou d'anticorps. Les tests de détection d'antigène sont pratiqués sur des écouvillons cloacaux ou trachéaux ou sur des broyats d'organes. Le test classique est sur œufs embryonnés de poules ou sur cellules MDCK. L'isolement viral permet ensuite de sous-typer l'hémagglutinine et la neuraminidase de ces isolats par réaction avec des anti-sérums spécifiques ou par comparaison de la séquence de leurs gènes avec celle des souches publiées dans les banques de séquences. La présence du virus est détectée par hémagglutination. L'isolement viral permet ensuite de sous-typer l'hémagglutinine et la neuraminidase de ces isolats par réaction avec des antisérums spécifiques ou par séquençage de leur génome. La pathogénicité des souches peut être ensuite évaluée par l'index de pathogénicité après inoculation intraveineuse (test IVPI décrit dans le manuel de l'OIE).

Un test rapide développé pour le diagnostic de grippe humaine fonctionne également pour les gripes aviaires ; il s'agit du test Directigen Flu (Becton Dickinson) qui détecte toutes les souches influenza de type A. L'utilisation de ce test sur le terrain permet de poser un diagnostic rapidement et d'intervenir tout de suite pour limiter l'extension du foyer. Des tests d'amplification génique (RT-PCR) quantitative ou non, détectant la présence du génome viral sont également utilisés (DYBKAER *et al.*, 2003; SPACKMAN *et al.*, 2003).

Les anticorps de groupe (influenza A) sont détectés classiquement par précipitation en gel d'agarose (AGP ou AGID) ou par ELISA. L'inhibition de l'hémagglutination et l'inhibition de la neuraminidase sont utilisées pour identifier le sous-type avec lequel les volailles positives ont été infectées.

L'utilisation de la vaccination comme moyen de contrôle des gripes aviaires nécessite de pouvoir différencier les animaux vaccinés des animaux infectés (concept DIVA). Si la souche du vaccin inactivé possède une neuraminidase de sous-type différent de celui de la souche circulante, le diagnostic différentiel peut être effectué en détectant les anticorps dirigés contre la NA de la souche circulante (CAPUA *et al.*, 2003b). Un vaccin H7N3 a en effet été utilisé en Italie pour lutter contre une épizootie causée par une souche H7N1. Les anticorps anti-N1 étaient détectés par un test d'immunofluorescence sur cellules d'insectes infectées par un baculovirus recombiné exprimant la NA de sous-type N1. Cette stratégie a le désavantage de ne détecter l'infection que par le sous-type de NA circulant ; l'apparition d'une nouvelle souche possédant une NA différente passerait inaperçue. De plus, la mise au point des tests est difficile vu les réactions croisées existant entre les différentes NA et la nécessité de développer un test pour chacun des 9 sous-types de NA. L'utilisation d'oiseaux « sentinelles » non vaccinés dans les troupeaux vaccinés reste le moyen le plus fiable

pour détecter l'infection.

• CONTRÔLE

La première ligne de défense contre les épizooties de peste aviaire est la biosécurité. Les foyers sont identifiés rapidement, les volailles sont abattues, le poulailler est nettoyé et désinfecté et un vide sanitaire est appliqué. Une zone de surveillance et de restriction de mouvement est définie autour des foyers.

La vaccination constitue une seconde ligne de défense. Celle-ci est réglementée dans la plupart des pays, y compris la France. Deux types de vaccins grippe aviaire sont sur le marché : les vaccins inactivés et les vaccins recombinés à base du vecteur fowlpox. Le principe actif des premiers est constitué de virus inactivé produit sur œufs embryonnés de poule. Cet antigène viral inactivé non purifié est associé à un adjuvant huileux. Seul un vaccin à base de fowlpox recombiné (Trovac-AIV H5, commercialisé par Merial) a obtenu jusqu'à présent une licence conditionnelle aux États-Unis. Plus d'un milliard de doses de ce vaccin ont été utilisées au Mexique, au Guatemala et au Salvador. L'avantage de ce vaccin est que les tests classiques de détection d'anticorps (AGP, ELISA) peuvent être utilisés pour détecter une infection par n'importe quel sous-type dans des troupeaux vaccinés, car seule l'HA est exprimée par le vecteur vaccinal. Ce vaccin s'administre facilement au couvoir à un jour d'âge, est compatible avec les vaccins Marek et a montré une excellente efficacité contre un éventail de différentes souches de sous-type H5, y compris les souches de la récente épizootie H5N1 asiatique (SWAYNE, BECK et MICKLE, 1997; SWAYNE *et al.*, 2000b; SWAYNE *et al.*, 2000c; SWAYNE, communication personnelle). Ce vaccin ne doit cependant pas être utilisé chez les animaux préalablement vaccinés contre ou infectés par la variole aviaire, car son efficacité en serait diminuée (SWAYNE, BECK et KINNEY, 2000a).

Les vaccins sont spécifiques d'un sous-type d'HA. Ils protègent complètement contre les signes cliniques et diminuent la quantité de virus excrété après épreuve, réduisant ainsi sa transmission dans le troupeau et sa libération dans l'environnement. Les troupeaux vaccinés ne peuvent donc pas être considérés comme non infectés par la grippe et une surveillance doit être effectuée dans les élevages de poulets vaccinés en utilisant une stratégie DIVA ou en suivant des animaux sentinelles non vaccinés.

REMERCIEMENTS

Je tiens à remercier J.-C. Audonnet et F.-X. Legros pour leur lecture critique du manuscrit.

La vaccination est utilisée au Mexique et en Italie notamment pour contrer l'infection par des souches faiblement pathogènes de sous-type H5 et H7, respectivement. La vaccination comme moyen d'aide à la lutte contre les épizooties de peste n'est en général pas utilisée et reste très débattue. Les experts de l'OMS et de l'OIE ont cependant récemment recommandé la vaccination comme moyen d'aide à l'éradication de la peste lorsqu'elle complète les mesures de biosécurité et si elle est accompagnée d'un programme de surveillance adéquat. La vaccination des volailles diminuerait l'incidence de la maladie dans les troupeaux et donc les risques d'infection pour l'homme. Elle est actuellement pratiquée en Chine et en Indonésie.

D'autres vaccins expérimentaux contre la grippe aviaire tels les vaccins ADN ont été testés avec succès mais aucun d'eux n'est encore officiellement autorisé.

• CONCLUSION

L'éradication des grippes aviaires n'est pas envisageable vu que le réservoir des virus influenza A se situe dans l'avifaune sauvage aquatique. L'évolution des grippes aviaires est très préoccupante car la fréquence, l'étendue et l'importance des épizooties de peste aviaire sont en augmentation depuis 15 ans. L'épizootie de peste aviaire H5N1 en Asie en 2003-2004 est sans précédent. Elle se caractérise notamment par (i) la diversité génétique et antigénique des souches circulantes, (ii) leur virulence inhabituelle notamment pour des espèces d'oiseaux réputées résistantes comme le canard, (iii) leur spectre d'hôte élargi et leur pouvoir pathogène exacerbé pour certains mammifères dont l'Homme et les Félidés. L'évolution rapide de ces souches laisse présager l'émergence prochaine d'une souche responsable de la prochaine pandémie humaine. L'implication de la grippe aviaire en santé humaine renforce l'importance de disposer de moyens efficaces de lutte contre ces infections, parmi lesquels la vaccination doit avoir sa place pour diminuer les risques pour l'homme. De plus, des programmes de surveillance active des infections par des souches faiblement pathogènes de sous-type H5 et H7 sont nécessaires afin de pouvoir rapidement les éliminer et éviter une nouvelle épizootie de peste aviaire.

BIBLIOGRAPHIE

- ALEXANDER DJ (2000) A review of avian influenza in different bird species. *Veterinary Microbiology*, **74**, 3-13.
- CAPUA I, MARANGON S, CANCELLOTTI FM (2003a) The 1999-2000 avian influenza (H7N1) epidemic in Italy. *Vet. Res. Commun.*, **27** (Suppl 1), 123-127.
- CAPUA I, TERREGINO C, CATTOLI G, MUTINELLI F, RODRIGUEZ JF (2003b) Development of a DIVA (Differentiating Infected from Vaccinated Animals) strategy using a vaccine containing a heterologous neuraminidase for the control of avian influenza. *Avian Pathol.*, **32**, 47-55.
- CHEN H, DENG G, LI Z, TIAN G, LI Y, JIAO P, ZHANG L, LIU Z, WEBSTER RG, YU K (2004) The evolution of H5N1 influenza viruses in ducks in southern China. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **101**, 10452-10457.
- DOMENECH J (2004) Update on the Avian Influenza situation. FAO Avian Influenza Disease Emergency (AIDE) news, As of 15/06/2004) Issue no. 16)
- DYBKAER K, MUNCH M, HANDBERG KJ, JORGENSEN PH (2003) RT-PCR-ELISA as a tool for diagnosis of low-pathogenicity avian influenza. *Avian Dis.*, **47**, 1075-1078.
- FOUCHIER RA, SCHNEEBERGER PM, ROZENDAAL FW, BROEKMAN JM, KEMINK SA, MUNSTER V, KUIKEN T, RIMMELZWAAN GF, SCHUTTEN M, VAN DOORNUM GJ, KOCH G, BOSMAN A, KOOPMANS M, OSTERHAUS AD (2004) Avian influenza A virus (H7N7) associated with human conjunctivitis and a fatal case of acute respiratory distress syndrome. *Proc. Natl. Acad. Sci. U S A*, **101**, 1356-1361.
- GORMAN OT, BEAN WJ, KAWAOKA Y, WEBSTER RG (1990) Evolution of the nucleoprotein gene of influenza A virus. *J. Virol.*, **64**, 1487-1497.
- GUAN Y, PEIRIS JS, POON LL, DYRTING KC, ELLIS TM, SIMS L, WEBSTER RG, SHORTRIDGE KF (2003) Reassortants of H5N1 influenza viruses recently isolated from aquatic poultry in Hong Kong SAR. *Avian Dis.*, **47**, 911-913.
- GUAN Y, POON LL, CHEUNG CY, ELLIS TM, LIM W, LIPATOV AS, CHAN KH, STURM-RAMIREZ KM, CHEUNG CL, LEUNG YH, YUEN KY, WEBSTER RG, PEIRIS JS (2004) H5N1 influenza: a protean pandemic threat. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **101**, 8156-8161.
- GUO Y, WANG M, KAWAOKA Y, GORMAN O, ITO T, SAITO T, WEBSTER RG (1992) Characterization of a new avian-like influenza A virus from horses in China. *Virology*, **188**, 245-255.
- HULSE DJ, WEBSTER RG, RUSSELL RJ, PEREZ DR (2004) Molecular determinants within the surface proteins involved in the pathogenicity of H5N1 influenza viruses in chickens. *J. Virol.*, **78**, 9954-9964.
- ITO T (2000) Interspecies transmission and receptor recognition of influenza A viruses. *Microbiol. Immunol.*, **44**, 423-430.
- ITO T, GORMAN OT, KAWAOKA Y, BEAN WJ, WEBSTER RG (1991) Evolutionary analysis of the influenza A virus M gene with comparison of the M1 and M2 proteins. *J. Virol.*, **65**, 5491-5498.
- KUIKEN T, RIMMELZWAAN G, VAN RIEL D, VAN AMERONGEN G, BAARS M, FOUCHIER R, OSTERHAUS A (2004) Avian H5N1 Influenza in Cats. *Science. In press*.
- LEE CW, SENNE DA, SUAREZ DL (2004) Effect of vaccine use in the evolution of Mexican lineage H5N2 avian influenza virus. *J. Virol.*, **78**, 8372-8381.
- LI KS, GUAN Y, WANG J, SMITH GJ, XU KM, DUAN L, RAHARDJO AP, PUTHAVATHANA P, BURANATHAI C, NGUYEN TD, ESTOEPANGESTIE AT, CHAISINGH A, AUEWARAKUL P, LONG HT, HANH NT, WEBBY RJ, POON LL, CHEN H, SHORTRIDGE KF, YUEN KY, WEBSTER RG, PEIRIS JS (2004) Genesis of a highly pathogenic and potentially pandemic H5N1 influenza virus in eastern Asia. *Nature*, **430**, 209-213.
- LI KS, XU KM, PEIRIS JS, POON LL, YU KZ, YUEN KY, SHORTRIDGE KF, WEBSTER RG, GUAN Y (2003) Characterization of H9 subtype influenza viruses from the ducks of southern China: a candidate for the next influenza pandemic in humans? *J. Virol.*, **77**, 6988-6994.
- SPACKMAN E, SENNE DA, BULAGA LL, TROCK S, SUAREZ DL (2003) Development of multiplex real-time RT-PCR as a diagnostic tool for avian influenza. *Avian Dis.*, **47**, 1087-1090
- STURM-RAMIREZ KM, ELLIS T, BOUSFIELD B, BISSETT L, DYRTING K, REHG JE, POON L, GUAN Y, PEIRIS M, WEBSTER RG (2004) Reemerging H5N1 influenza viruses in Hong Kong in 2002 are highly pathogenic to ducks. *J. Virol.*, **78**, 4892-4901.
- SWAYNE DE, BECK JR, MICKLE TR (1997) Efficacy of recombinant fowl poxvirus vaccine in protecting chickens against a highly pathogenic Mexican-origin H5N2 avian influenza virus. *Avian Dis.*, **41**, 910-922.
- SWAYNE DE, BECK JR, KINNEY N (2000a) Failure of a recombinant fowl poxvirus vaccine containing an avian influenza hemagglutinin gene to provide consistent protection against influenza in chickens preimmunized with a fowl pox vaccine. *Avian Dis.*, **44**, 132-137.
- SWAYNE DE, GARCIA M, BECK JR, KINNEY N, SUAREZ DL (2000b) Protection against diverse highly pathogenic H5 avian influenza viruses in chickens immunized with a recombinant fowl pox vaccine containing an H5 avian influenza hemagglutinin gene insert. *Vaccine*, **18**, 1088-1095.
- SWAYNE DE, HALVORSON DA (2003) Influenza. In: SAIF Y.M, editor. *Diseases of poultry*. 11th ed. Ames, Iowa, USA : Iowa State Press, 135-160.
- SWAYNE DE, PERDUE ML, BECK JR, GARCIA M, SUAREZ DL (2000c) Vaccines protect chickens against H5 highly pathogenic avian influenza in the face of genetic changes in field viruses over multiple years. *Vet. Microbiol.*, **74**, 165-172.
- SWAYNE DE, SUAREZ, D.L. (2003) Proceedings of the Fifth International Symposium on Avian Influenza. *Avian Dis.*, **47**, 783-1268.
- TOLLIS M, DI TRANI L (2002) Recent developments in avian influenza research: epidemiology and immunoprophylaxis. *Vet. J.*, **164**, 202-215.
- WEBSTER RG, BEAN WJ, GORMAN OT, CHAMBERS TM, KAWAOKA Y (1992) Evolution and ecology of influenza A viruses. *Microbiol. Rev.*, **56**, 152-179.

