

**Rapport du groupe de travail sur
*Le risque de transmission à l'homme
des virus influenza aviaires***

Adopté par le Comité d'experts spécialisé « Santé animale »
le 10 juillet 2002

Présentation du rapport du groupe de travail sur *Le risque de transmission à l'homme des virus influenza aviaries*

L'objectif du présent rapport est de rassembler autant que possible les informations nécessaires à la formulation de réponses argumentées aux questions de l'autosaisine :

- 1 – Quels sont les risques de transmission de virus de l'influenza aviaire à l'homme lors des manipulations d'oiseaux malades ou porteurs de virus ?
- 2 – Quelles sont les populations humaines à risque ?
- 3 – Quelle est l'influence d'une vaccination aviaire sur l'incidence du portage et de l'excrétion de virus influenza sauvages par les oiseaux vaccinés ?
- 4 – Quelle est l'influence d'une vaccination aviaire sur le risque de transmission du virus influenza sauvage à l'homme par les oiseaux vaccinés ?

Le rapport débutera par de brefs rappels sur les propriétés des influenza virus de type A en rapport avec la problématique considérée, suivis par une présentation des infections humaines puis aviaires. Une quatrième partie tentera de recenser les circonstances épidémiologiques amenant l'homme à être exposé aux virus d'origine aviaire. Une cinquième partie discutera l'intérêt d'une éventuelle vaccination des volailles en terme de maîtrise de la diffusion des virus aviaires. **Une sixième partie réalisera à partir des principaux éléments exposés une tentative d'évaluation du risque pour l'homme, et résumera les recommandations du groupe de travail.**

Résumé : Saisine, synthèse du rapport et recommandations	9
Liste des abréviations	15
Figures et tableaux	17
Introduction	19
1. Rappels sur les caractéristiques des virus influenza A	22
1.1 Position taxonomique et importance	22
1.2 Structure	22
1.3 Nomenclature	24
1.4 Hôtes principaux	24
1.5 Déterminants moléculaires viraux de la spécificité d'hôte	26
1.5.1 <i>Liés à la reconnaissance et à l'hydrolyse du récepteur cellulaire</i>	26
1.5.2 <i>Liés aux protéines du complexe de réplication</i>	26
1.5.3 <i>Mécanismes supposés de franchissement de la barrière d'espèce</i>	26
1.6 Déterminants moléculaires viraux de la virulence	26
1.6.1 <i>Chez l'homme</i>	26
1.6.2 <i>Chez les oiseaux</i>	27
1.7 Mécanismes de variation génétique	28
1.7.1 <i>Mutations ponctuelles</i>	28
1.7.1.1 <i>Importance chez les virus influenza A humains</i>	28
1.7.1.2 <i>Importance chez les virus influenza A aviaires</i>	29
1.7.2 <i>Réassortiment génétique</i>	29
2. Epidémiologie, aspects cliniques et contrôle de la grippe humaine à virus influenza A	31
2.1 Epidémiologie de la grippe humaine	31
2.1.1 <i>Formes épidémiques et saisonnalité</i>	31
2.1.1.1 <i>Saisonnalité</i>	31
2.1.1.2 <i>Pandémies</i>	33
2.1.1.3 <i>Epidémies</i>	33
2.1.1.4 <i>Cas isolés sporadiques et foyers épidémiques</i>	34
2.1.2 <i>Ecologie globale des virus grippaux et modes de transmission</i>	34
2.1.2.1 <i>Transmission inter humaine</i>	34
2.1.2.2 <i>Transmission du virus des mammifères à l'homme</i>	34
2.1.2.3 <i>Transmission du virus des oiseaux à l'homme</i>	35
2.2 Tableaux cliniques et évolution de la maladie	38

2.2.1 Grippe commune	38
2.2.2 Complications	38
2.2.2.1 Complications pulmonaires	38
2.2.2.2 Aggravation des maladies chroniques sous-jacentes	39
2.3 Traitement	39
2.3.1 Traitement étiologique	39
2.3.2 Traitement symptomatique	40
2.4 Prévention	40
2.4.1 La vaccination	40
2.4.2 La chimioprophylaxie	40
3. Aspects cliniques, éléments d'épidémiologie et épidémiosurveillance des infections aviaires à virus influenza A	41
3.1 Aspects cliniques	41
3.2 Eléments d'épidémiologie descriptive	41
3.2.1 Espèces aviaires sauvages	42
3.2.1.1 Prévalence des infections par les virus influenza chez les oiseaux sauvages	42
3.2.1.2 Etat actuel de la surveillance en France des infections à virus influenza chez l'avifaune sauvage	45
3.2.2 Oiseaux de compagnie et /ou d'ornement	46
3.2.2.1 Prévalence des infections par les virus influenza aviaires chez les oiseaux de compagnie et/ou d'ornement	46
3.2.2.2 Surveillance en France des infections à virus influenza aviaires chez les oiseaux de compagnie et/ou d'ornement	46
3.2.3 Volailles d'élevage	47
3.2.3.1 Prévalence des infections par les virus influenza aviaires chez les volailles d'élevage	47
3.2.3.2 Surveillance en France des infections à virus influenza aviaires chez les volailles d'élevage	48
3.3 Eléments d'épidémiologie analytique	38
3.3.1 Matières virulentes et transmission	48
3.3.2 Durée d'excrétion	48
3.3.3 Prévalence des influenza virus au sein des lots infectés	49
4. Exposition de l'homme aux virus influenza A aviaires	50
4.1 Matières potentiellement virulentes et dose infectieuse pour l'homme	50
4.1.1 Sécrétions respiratoires et contenu digestif des oiseaux infectés	50
4.1.2 Tissus et phanères dérivés d'animaux infectés	50
4.2 Populations humaines potentiellement exposées	51
4.2.1 Populations humaines au contact d'oiseaux sauvages	51
4.2.2 Populations humaines au contact d'oiseaux d'ornement	52
4.2.3 Populations humaines au contact d'oiseaux d'élevage	52
4.2.4. Conclusion : éléments d'évaluation du risque pour l'homme	55

5. Vaccination des oiseaux contre l'influenza : avantages, inconvénients et limites en terme de maîtrise de la diffusion du virus	56
5.1 Exemples de recours à la vaccination et position des autorités sanitaires françaises	56
5.2 Efficacité des vaccins contre les infections par des virus modérément pathogènes (sous types autres que H5 et H7)	57
5.3 Efficacité des vaccins contre les infections par des virus des sous types H5 ou H7	58
5.3.1 <i>Vaccins à virus inactivé</i>	58
5.3.1.1 <i>Vaccins visant les infections par des virus des sous types H5</i>	58
5.3.1.2 <i>Vaccins visant les infections par des virus des sous types H7</i>	60
5.3.1.3 <i>Conclusion concernant les vaccins à virus inactivé des sous types H5 ou H7</i>	60
5.3.2 <i>Vaccins recombinants pox aviaires</i>	61
5.3.2.1 <i>Vaccins visant les infections par des virus des sous types H5</i>	61
5.3.2.2 <i>Vaccins visant les infections par des virus des sous types H7</i>	62
5.3.2.3 <i>Conclusion concernant les vaccins recombinants pox aviaires</i>	63
5.3.3 <i>Vaccins ADN</i>	63
5.3.3.1 <i>Codant l'hémagglutinine virale</i>	63
5.3.3.2 <i>Vaccins codant d'autres protéines virales (avec ou sans hémagglutinine virale)</i>	64
5.3.3.3 <i>Conclusion concernant les vaccins ADN</i>	64
5.3.4 <i>Vaccins sous-unitaires</i>	65
5.3.4.1 <i>Vaccins utilisant des hémagglutinines recombinantes</i>	65
5.3.4.2 <i>Vaccins utilisant d'autres protéines virales</i>	65
5.3.4.3 <i>Conclusion concernant les vaccins sous unitaires</i>	66
5.4 Discussion – Conclusion	66
5.4.1 <i>Influence de la vaccination sur le portage et l'excrétion de virus par les volailles vaccinées</i>	66
5.4.1.1 <i>Vaccination contre les sous types H5 ou H7</i>	66
5.4.1.2 <i>Vaccination contre les sous types autres que H5 et H7</i>	69
5.4.1.3 <i>Recommandations concernant la vaccination des volailles</i>	69
5.4.2 <i>Risque pour l'homme lié à la manipulation de volailles vaccinées</i>	70
6. Synthèse, évaluation du risque de transmission à l'homme et bilan des recommandations	72
6.1 Rappel du contexte de la saisine	72
6.2 Identification du danger : mécanismes de transmission à l'homme des virus aviaires et conséquences dans le cadre de la présente saisine	73
6.3 Probabilité d'émission : fréquence des infections à influenza virus chez les oiseaux	74
6.4 Exposition humaine aux virus influenza A aviaires	74
6.5 Résultats de l'évaluation qualitative	76
6.6 Evaluation des possibilités de gestion du risque par la vaccination des volailles contre l'influenza aviaire	80
6.6.1 <i>Influence de la vaccination sur le portage et l'excrétion de virus par les volailles vaccinées</i>	80
6.6.1.1 <i>Infection par les sous types H5 ou H7</i>	80
6.6.1.2 <i>Infection par les sous types autres que H5 ou H7</i>	81

6.6.1.3 <i>Recommandations concernant la vaccination des volailles</i>	82
6.6.2 <i>Risque pour l'homme lié à la manipulation de volailles vaccinées :</i> <i>Influence de la vaccination sur le portage et l'excrétion de virus par les volailles vaccinées</i>	82
6.7 Bilan des recommandations du groupe de travail	83
7. Références bibliographiques	85
Annexe	
Bases législatives et réglementaires pour les pestes aviaires	95

Saisine, synthèse du rapport et recommandations

Saisine

Créé par la décision 2000-485 du Directeur Général de l'Afssa datée du 1^{er} février 2001, le groupe de travail « Evaluation du risque de transmission du virus de l'influenza » à l'origine du présent rapport a eu à examiner l'autosaisine suivante :

1 – Quels sont les risques de transmission de virus de l'influenza aviaire à l'homme lors des manipulations d'oiseaux malades ou porteurs de virus ?

2 – Quelles sont les populations humaines à risque ?

3 – Quelle est l'influence d'une vaccination aviaire sur l'incidence du portage et de l'excrétion de virus influenza sauvages par les oiseaux vaccinés ?

4 – Quelle est l'influence d'une vaccination aviaire sur le risque de transmission du virus influenza sauvage à l'homme par les oiseaux vaccinés ?

Synthèse du rapport

- Nature du risque lié à la transmission de virus influenza aviaires à l'homme

Les virus influenza de type A sont des virus enveloppés appartenant à la famille des *Orthomyxoviridae* et sont dotés d'un génome constitué de 8 segments d'ARN. Les virus influenza de type A circulent à l'état naturel, de façon inapparente, au sein des populations d'oiseaux sauvages (notamment oiseaux aquatiques de l'ordre des ansériformes et des charadriiformes) et sont occasionnellement susceptibles de causer des infections inapparentes ou cliniquement exprimées chez les oiseaux domestiques ou les volailles domestiques. Chez les volailles domestiques, l'infection par certaines souches virales dites « hautement pathogènes » peut s'accompagner d'une mortalité très élevée (jusqu'à 100 %) et évoluer de façon épizootique. De tels épisodes sont rares puisque seulement 18 ont été recensés dans le monde depuis 1959, aucun n'étant survenu en France.

Les virus influenza A circulent également chez différentes espèces de mammifères. Certaines lignées de virus influenza A se sont ainsi adaptées de longue date à une circulation chez l'Homme, le Porc ou le Cheval. Chez l'Homme, la circulation des virus influenza A se traduit par les infections dites grippales qui évoluent sur un mode épidémique annuel, plus rarement sur un mode pandémique caractérisé par la diffusion mondiale rapide d'une souche virale donnée.

L'introduction dans l'espèce humaine d'un virus influenza A normalement inféodé à une autre espèce, en particulier aviaire, pose deux problèmes. Le premier est lié au pouvoir pathogène propre du virus qui est éventuellement susceptible de causer chez l'homme un syndrome de type grippal grave pour l'individu malade (cf. infra l'exemple de l'épisode de Hong Kong). Le second problème est lié à la possible introduction dans les populations humaines d'une souche virale contre laquelle il n'existe pas d'immunité pré existante. Si le virus nouvellement introduit s'avérait à la fois suffisamment « nouveau » sur le plan antigénique et suffisamment adapté à une réplication chez sa nouvelle espèce hôte, un tel virus pourrait diffuser ensuite sur un mode pandémique. Ce problème est indépendant du pouvoir pathogène propre du virus nouvellement introduit : un virus aviaire spontanément peu adapté à se répliquer chez l'homme (et donc peu pathogène) mais antigéniquement « neuf » pour les populations humaines pourrait, à l'occasion d'une surinfection survenant chez un être humain déjà infecté par un virus grippal d'origine humaine, donner naissance par un phénomène dit de « réassortiment génétique » à des particules virales hybrides à la fois antigéniquement « neuves » et bien adaptées à la réplication chez l'homme. Une telle possibilité de réassortiment existe non seulement chez l'homme, mais chez toute espèce animale susceptible de s'infecter naturellement à la fois avec des virus d'origine aviaire et des virus d'origine humaine. Sur le plan épidémiologique, l'espèce porcine est actuellement considérée comme la principale de ces

espèces et il conviendrait sans doute d'étudier aussi les virus influenza A circulant chez le porc et le risque qu'ils pourraient représenter pour l'homme.

Seuls quatre épisodes de transmission de virus aviaires à l'homme ont été décrits dans la littérature scientifique. Ils se sont traduits soit par une infection locale, de type conjonctivite, soit par des infections de type grippal. A l'exception d'un épisode survenu à Hong Kong en 1997 (18 personnes infectées par un virus H5N1 aviaire, 6 décès chez les malades), ces infections ont évolué favorablement. Dans aucun des quatre épisodes, la transmission secondaire inter humaine d'un virus d'origine aviaire n'a été décrite comme induisant une maladie (toutefois, une transmission inter humaine asymptomatique a été rarement observée à Hong Kong). Ce manque de diffusion des virus aviaires au sein des populations humaines suggère que les virus influenza circulant chez les oiseaux sont généralement peu contagieux pour l'homme qui semble avoir été un « cul-de-sac » épidémiologique. En dehors d'un contexte d'épidémie tel que celui de Hong Kong en 1997 ou d'une étude réalisée chez les travailleurs avicoles italiens durant une épizootie d'influenza aviaire, peu ou pas d'enquêtes ont été effectuées pour mettre en évidence la circulation chez l'homme des virus circulant normalement chez les espèces aviaires.

- Nature des populations humaines exposées

Les populations humaines potentiellement exposées aux virus influenza aviaires peuvent être définies sur la base d'une activité conduisant à des contacts fréquents, importants et/ou en atmosphère confinée avec des sécrétions respiratoires ou digestives d'oiseaux infectés. L'exposition potentielle de ces populations augmente avec la quantité d'oiseaux manipulés, la variété de leurs provenances et le degré de confinement des conditions dans lesquelles s'effectue l'exposition.

La prévalence des infections par les virus influenza chez les espèces d'ornement est inconnue, mais les mesures de quarantaine récemment mises en place à l'entrée de l'union européenne permettent de limiter les importations de sujets porteurs. La prévalence de l'infection chez les espèces sauvages est également mal connue, bien qu'en cours d'étude par le Centre National de Référence sur la grippe et le Laboratoire National de Référence sur l'influenza aviaire. La prévalence chez les oiseaux sauvages semble maximale chez les jeunes oiseaux de l'ordre des ansériformes dans les rassemblements pré migratoires. Enfin chez les volailles domestiques, les résultats des travaux d'épidémiologie réalisés par le Laboratoire National de Référence suggèrent que chez le poulet et la dinde, la prévalence des infections à virus influenza serait très inférieure à 5 % des lots.

Le risque de transmission à l'homme de virus influenza aviaires ne peut pas être quantifié précisément à l'heure actuelle, principalement du fait de la rareté des données disponibles au plan international (en dehors de circonstances épidémiologiques très particulières) pour décrire la fréquence et la nature des infections grippales chez les populations humaines potentiellement exposées aux virus aviaires. Une évaluation qualitative du risque encouru par les populations humaines potentiellement exposées via les oiseaux sauvages, d'ornement ou les volailles domestiques a été tentée par le groupe de travail. Cette évaluation suggère pour chacune des sources potentielles sauvage, d'ornement ou domestique, un risque de transmission variant de « nul à négligeable » à « faible à modéré » (à moduler, dans les trois cas, suivant les caractéristiques de l'exposition de la catégorie professionnelle considérée, cf. tableaux IX à XI, et selon la prévalence de l'infection dans la population aviaire considérée).

- Influence d'une vaccination aviaire sur le portage et l'excrétion de virus influenza par les oiseaux vaccinés

Parmi les protéines virales, les deux glycoprotéines d'enveloppe H et N sont les principaux inducteurs d'anticorps protecteurs chez l'hôte infecté. Selon les propriétés antigéniques de ces molécules, on distingue chez les virus influenza A quinze espèces moléculaires d'hémagglutinines (notées H1 à H15) et neuf espèces moléculaires de neuraminidases (notées N1 à N9). La nature segmentée du génome viral permet aux segments génomiques de s'associer sous différentes combinaisons chez différentes souches virales. Toutes ces combinaisons étant susceptibles d'être rencontrées chez les virus influenza aviaires, il en résulte une diversité antigénique qui empêche de protéger par la vaccination les oiseaux contre tous les sous types viraux (qui sont définis par une combinaison HxNy donnée).

En France, la vaccination contre l'influenza aviaire est interdite sauf autorisation du Ministère de l'Agriculture et de la Pêche (Arrêté ministériel du 8 juin 1994). Cette position se justifie par le fait que la France étant indemne d'influenza aviaire hautement pathogène, l'autorité vétérinaire préconise une politique de prophylaxie strictement sanitaire en cas d'apparition de foyers correspondants à une forme grave.

Les vaccins chez les volailles ont surtout été développés pour prévenir les infections par les virus des différents sous types H5 et H7, dans la mesure où tous les virus hautement pathogènes spontanément apparus chez les volailles domestiques se sont avérés appartenir à ces sous types viraux. En pratique, deux types de vaccins sont actuellement disponibles pour contrôler les infections par les virus appartenant à ces sous types :

- Les vaccins à virus inactivé de sous types H5 ont été les plus étudiés et à condition de contenir une concentration suffisante en hémagglutinine virale et en protéines virales, ils se montrent efficaces pour réduire voire supprimer l'excrétion de virus influenza aviaire de sous types homologues par des volailles vaccinées infectées. Les vaccins de sous types H7, bien que moins étudiés et standardisés se sont montrés efficaces sur le terrain en Italie pour limiter la diffusion épizootique de virus H7, conjointement à la mise en œuvre de mesures hygiéniques et sanitaires rigoureuses et d'un plan de surveillance. Néanmoins, tous ces vaccins présentent des inconvénients concernant leurs modalités de production (danger d'utilisation de virus pathogènes avant inactivation, nécessaire standardisation du contenu antigénique), leur mise en œuvre dans le cadre des programmes d'épidémiosurveillance (en général absence de différence sérologique entre sujets vaccinés et sujets infectés) et la durée de protection qu'ils confèrent (rappels nécessaires chez la dinde).
- Un vaccin recombinant pox aviaire exprimant une hémagglutinine de sous type H5 est disponible. Il a été bien étudié. Il présente une innocuité satisfaisante, ne diffuse pas, se montre efficace chez le poulet EOPS pour prévenir de manière durable l'apparition de signes cliniques après infection et empêcher l'excrétion de virus influenza aviaire par voie fécale. Cependant, en terme de réduction de l'excrétion par voie respiratoire, son efficacité est liée au degré d'homologie de l'hémagglutinine de la souche sauvage avec celle du vaccin. De plus, ce vaccin perd toute efficacité en présence d'une immunité antivariolique.

Les vaccins pox aviaires exprimant une hémagglutinine de sous type H7 restent encore expérimentaux. Ils n'apportent pas de réponse, à ce jour, quant à leur efficacité en matière de réduction de l'excrétion virale après infection des volailles ainsi vaccinées.

La vaccination contre les virus de sous types H5 ou H7 à défaut de supprimer systématiquement l'excrétion de virus, la réduit et concourt à limiter la diffusion du virus. La vaccination d'urgence contre ces sous types est à recommander dans les formes graves non maîtrisées par les seules mesures hygiéniques et sanitaires.

Les vaccins utilisables pour la vaccination contre les sous types de virus influenza autres que H5 et H7 sont tous à virus inactivé. Ils sont très peu standardisés et leur efficacité en matière de réduction de l'excrétion de virus influenza aviaires par des volailles vaccinées qui s'infecteraient par un virus de sous types homologues à celui contenu dans le vaccin, n'est pas établie. D'autre part, des volailles ainsi vaccinées qui seraient infectées par un virus influenza aviaire de sous types H5 ou H7 non pathogènes pourraient bénéficier d'une immunité croisée (hétéro subtypique) suffisante pour masquer ou atténuer la clinique et permettre la diffusion insidieuse de tels virus, comme le suggèrent les résultats de Seo et Webster (Seo, Webster, 2001). Cette situation est très lourde de conséquences en terme de santé animale, puisqu'elle pourrait être à l'origine d'une épizootie catastrophique. **Il n'y a donc pas lieu d'encourager la pratique de la vaccination vis-à-vis des autres sous types.**

- Influence d'une vaccination aviaire sur le risque de transmission de virus influenza aviaires à l'homme par les oiseaux vaccinés

Les vaccins utilisables à l'heure actuelle étant soit des vaccins à virus inactivés soit des vaccins recombinants pox aviaires qui ne diffusent pas et ne sont pas excrétés lorsqu'ils sont administrés par voie sous-cutanée, les risques à prendre en considération sont donc indirects. Ils consistent en la possibilité de réassortiment entre les virus influenza aviaires (éventuellement excrétés par des volailles vaccinées infectées, puis éventuellement transmis à l'homme) et des virus influenza d'origine autre hébergés par l'homme au moment du contact avec les volailles précitées. Ce risque ne paraît pas devoir être supérieur à celui encouru par suite de la manipulation de volailles infectées de façon inapparente.

Donc à la réserve près qu'on ne sait pas si la vaccination modifie la répartition en quasi-espèces du virus considéré et favorise l'émergence de sous-populations dont le phénotype (tropisme, pathogénicité, ...) serait modifié :

- la vaccination des volailles contre les virus de l'influenza aviaire de sous types H5 ou H7, concourt à limiter la diffusion de ces virus et par conséquent le risque de transmission à l'homme de ces sous types,
- la vaccination des volailles contre les autres sous types d'influenza aviaire ne modifie pas le risque par rapport à celui constitué par des volailles non vaccinées infectées de manière inapparente.

Recommandations

Considérant :

- que certaines souches de virus influenza A sont responsables chez l'homme d'infections dites grippales ;
- que différents virus influenza A circulent chez de nombreuses espèces aviaires sauvages ou d'ornement et que certains de ces virus peuvent occasionnellement infecter des troupeaux de volailles domestiques ;
- que l'homme, à l'occasion de différentes manipulations d'oiseaux sauvages, d'ornement ou domestiques, est susceptible de rentrer en contact avec des oiseaux infectés ou avec des matières virulentes issues de ceux-ci ;
- que, bien que les virus influenza A circulant habituellement chez les espèces aviaires soient normalement peu infectieux pour l'homme et peu adaptés à circuler chez celui-ci, certaines souches virales aviaires ont exceptionnellement été à l'origine d'infections humaines dont les conséquences médicales sont parfois graves ;
- que la co infection par deux virus influenza A, l'un d'origine aviaire et l'autre d'origine humaine, peut survenir, rarement chez l'homme, mais plus fréquemment chez le porc, et que cette co infection rend possible un phénomène de réassortiment génétique qui conduit à la génération de nouvelles souches virales pathogènes adaptées à l'homme et susceptibles de circuler chez celui-ci, phénomène qui a été à l'origine des pandémies de grippe observée au XX^{ème} siècle ;
- que la prévalence et la nature des infections à virus influenza A ne sont que partiellement connues (en cours d'étude) chez les oiseaux sauvages, d'ornement ou domestiques, et pas du tout dans les populations humaines exposées à ces oiseaux ;
- que la diversité antigénique des virus circulant chez les oiseaux ne permet pas d'envisager à l'heure actuelle une prophylaxie médicale susceptible de protéger les volailles domestiques contre toutes les souches de virus influenza A, ni de protéger l'homme contre tous les virus aviaires ;

le Comité d'experts spécialisé Santé animale de l'Afssa valide les conclusions du groupe de travail sur l'Influenza aviaire de l'Afssa et recommande que :

- 1) une évaluation du même type que celle effectuée ici sur les virus aviaires soit effectuée concernant le risque de transmission à l'homme des virus influenza d'origine porcine ;
 - 2) des programmes de surveillance concertés visant à mieux évaluer la prévalence des infections à influenza A soient mis en place non seulement chez les oiseaux sauvages, d'ornement ou domestiques, mais aussi dans les populations humaines potentiellement exposées au contact de ceux-ci ;
 - 3) la nature des infections à virus influenza A survenant dans les populations humaines potentiellement exposées aux virus aviaires susceptibles d'être transmis par les oiseaux ou le porc soit plus systématiquement étudiée, par exemple en recommandant la réalisation systématique d'un diagnostic virologique lors de syndrome grippal survenant chez de tels sujets ;
 - 4) au vu des résultats des études recommandées aux points 2 et 3, l'opportunité de mettre en place des programmes de prophylaxie de la grippe chez les populations humaines potentiellement exposées aux virus aviaires susceptibles d'être transmis par les oiseaux ou le porc soit évaluée par les autorités compétentes, de même que les possibilités de traitement antiviral ou de chimio prophylaxie en cas d'infection humaine avérée par un virus aviaire ;
 - 5) en matière de vaccination des volailles,
 - i) la vaccination des volailles contre l'influenza aviaire à l'aide de vaccins à virus inactivé soit explicitement réservée au contrôle des infections par les virus de sous types H5 et H7 dans leurs formes graves et non maîtrisées par les seules mesures hygiéniques et sanitaires,
 - ii) compte-tenu de la standardisation insuffisante et du manque de contrôle de l'activité des vaccins actuellement disponibles pour lutter contre les virus de sous types autres que H5 ou H7, la vaccination des volailles contre les sous types autres que H5 ou H7 ne soit pas autorisée, sauf dérogation en cas d'épizootie,
 - iii) une déclaration obligatoire et un suivi sérologique adapté des volailles vaccinées avec les sous types autres que H5 ou H7 soient imposés,
 - iv) la mention de l'utilisation d'un vaccin contre l'influenza aviaire et du type de vaccin utilisé soit rendue obligatoire dans les certificats sanitaires pour l'importation de volailles vivantes,
 - v) des études visant à améliorer la qualité des vaccins dirigés contre les sous types autres que H5 ou H7 soient favorisées, en particulier en vue d'améliorer les critères suivants : **1** - capacité à supprimer l'excrétion virale, **2** - capacité à induire une protection homotypique et hétérotypique, **3** - rapidité d'induction et durée de la protection vaccinale, **4** - efficacité chez les différentes espèces de volailles domestiques (dinde notamment), **5** - capacité à induire une réponse sérologique différenciable de celle des infections naturelles et **6** - facilité d'administration.
-

Liste des abréviations

ADN :	Acide désoxyribonucléique.
Afssa :	Agence française de sécurité sanitaire des aliments
AMM :	Autorisation de Mise sur le Marché
ARN :	Acide ribonucléique.
ARNm :	Acide ribonucléique messenger.
CDC :	Center for Disease Control
CES SA :	Comité d'experts spécialisé Santé animale
DERNS :	Direction des Etudes sur les Risques Nutritionnels et Sanitaires
DGAI :	Direction Générale de l'Alimentation
DICC₅₀ :	Dose moyenne infectieuse pour 50 % des cultures cellulaires, unité de mesure du titre viral
DIE₅₀ :	Dose moyenne infectieuse pour 50 % des embryons, unité de mesure du titre viral
DLE₅₀ :	Dose létale moyenne pour 50 % des embryons, unité de mesure du titre viral
ELISA :	Epreuve sérologique d'immunoabsorption à enzyme conjuguée, par extension les anticorps révélés par ce test
EOPS :	Exempts d'organismes pathogènes spécifiés
GROG :	Groupe Régional d'Observation de la Grippe
HA ou H :	Protéine des influenzavirus de type A (Hémagglutinine), par extension, le gène codant cette protéine.
HP :	Hautement pathogène
HxNy :	Avec x et y désignant des chiffres respectivement compris entre 1 et 15 et entre 1 et 9 : sous type viral (notion définie au paragraphe 1.2)
HPAI :	Voir IAHP
IAFP :	influenza aviaire faiblement pathogène
IAHP :	influenza aviaire hautement pathogène
IHA :	Test sérologique d'inhibition de l'Hémagglutination Active, par extension, les anticorps révélés par ce test
IPIV :	Indice de pathogénicité mesuré par voie intra veineuse
IRA :	Infections Respiratoires Aiguës
ISCOM :	Immuno Stimulating Complexes = complexes immunostimulants
LNR :	Laboratoire National de Référence
LPAI :	Voir IAFP
M1 :	Protéine des influenzavirus de type A (Protéine de matrice), par extension, le gène codant cette protéine.
M2 :	Protéine des influenzavirus de type A (Canal à ions), par extension, le gène codant cette protéine.

- N ou NA :** Protéine des influenzavirus de type A (Neuraminidase), par extension, le gène codant cette protéine.
- NP :** Protéine des influenzavirus de type A (Nucléoprotéine), par extension, le gène codant cette protéine.
- NS1 :** Protéine des influenzavirus de type A (protéine non structurale 1), par extension, le gène codant cette protéine.
- NS2 :** Protéine des influenzavirus de type A (protéine non structurale 2), par extension, le gène codant cette protéine.
- nt :** Nucléotide
- OMS :** Organisation Mondiale de la Santé
- ONCFS :** Office National de la Chasse et de la Faune Sauvage
- PA :** Protéine des influenzavirus de type A (sous unité active de la polymérase), par extension, le gène codant cette protéine.
- PB1 :** Protéine des influenzavirus de type A (sous unité de la polymérase), par extension, le gène codant cette protéine.
- PB2 :** Protéine des influenzavirus de type A (autre sous unité de la polymérase), par extension, le gène codant cette protéine.
- PFU :** Plaque Forming Unit = Unité formant plaque, unité de mesure du titre viral
- VRS :** Virus Respiratoire Syncytial
-

Figures et tableaux

- Figure 1 :** Structure et organisation de la particule virale
- Figure 2 :** Saisonnalité de la grippe humaine
- Figure 3 :** Répartition en France des principales zones d'élevage de poules pondeuses d'œuf de consommation ayant accès à un parcours extérieur (3a), des principales zones d'élevage de volailles de chair ayant accès à un parcours extérieur (3b) et des zones de surveillance sérologique ou virologique des infections à influenza virus chez les volailles domestiques et les oiseaux sauvages (3c).

-
- Tableau I :** Segments génomiques des influenza virus de type A et rôle biologique des protéines virales.
- Tableau II :** Espèces moléculaires d'hémagglutinines et de neuraminidases chez les influenza virus de type A isolés chez les Mammifères à la suite d'infections naturelles.
- Tableau III :** Episodes d'influenza aviaire hautement pathogènes recensés dans le monde depuis 1959.
- Tableau IV :** Espèces aviaires ayant permis l'isolement d'influenza virus de type A
- Tableau V :** Distribution des antigènes de différentes souches d'influenza virus aviaires dans différents organes du poulet
- Tableau VI :** Importance de l'émission de matières virulentes et intensité de l'exposition des professionnels avicoles (volailles de rente) à ces matières, suivant les différentes situations épidémiologiques et l'activité professionnelle
- Tableau VII :** Liste limitative des travaux susceptibles de provoquer des troubles cliniques liés à l'ornithose reconnue en tant que maladie professionnelle (dans le texte)
- Tableau VIII :** Aptitude des vaccins actuels contre l'influenza aviaire à limiter l'infection virale et à contrôler une épizootie (en fin de rapport).
- Tableau IX :** Evaluation qualitative du risque de transmission à l'homme des virus influenza aviaires par les oiseaux sauvages.
- Tableau X :** Evaluation qualitative du risque de transmission à l'homme des virus influenza aviaires par les oiseaux d'ornement.
- Tableau XI :** Evaluation qualitative du risque de transmission à l'homme des virus influenza aviaires par les oiseaux domestiques (volailles de rente).
-

Importance médicale des influenza virus humains et aviaires

Isolés pour la première fois en 1933, les influenza virus de type A constituent le principal genre viral responsable des infections grippales chez l'homme. La circulation de ces virus dans les populations humaines se manifeste généralement sous la forme d'épidémies annuelles hivernales d'un syndrome respiratoire d'évolution généralement favorable qui associe fièvre, myalgies, céphalées suivies d'une pharyngite et d'une bronchite. Avec une périodicité maximale de 40 à 50 ans, l'apparition chez l'homme d'une souche virale dotée de propriétés nouvelles se traduit toutefois par le développement rapide d'une épidémie d'ampleur mondiale et de gravité exceptionnelle, que l'on qualifie de « pandémie ». De telles pandémies sont décrites depuis le XVI^{ème} siècle (Potter, 2001). Elles sont survenues à trois reprises au XX^{ème} siècle, en 1918-1920 (grippe dite « espagnole »), en 1957 (grippe dite « asiatique ») et en 1968 (grippe dite « de Hong Kong »), cet épisode constituant le dernier en date.

Outre l'espèce humaine, il est maintenant avéré que les influenza virus de type A infectent également plusieurs espèces de mammifères et de très nombreuses espèces d'oiseaux. Chez ces derniers et en particulier chez les volailles domestiques, des mutations virales susceptibles d'affecter certains influenza virus peuvent conduire à l'émergence de virus dits « hautement pathogènes » qui peuvent induire jusqu'à 100 % de mortalité chez les volailles infectées. Pour éviter la diffusion géographique de tels virus (dont l'émergence est heureusement rare puisque seuls 18 épisodes en ont été rapportés dans le monde depuis 1959 et aucun en France) des mesures draconiennes sont en général mises en œuvre par les services vétérinaires des pays concernés, incluant par exemple l'abattage de nombreux lots de volailles infectés ou susceptibles de l'être.

Depuis le début des années 1990, l'écologie globale des influenza virus de type A et les échanges entre influenza virus humains et animaux sont mieux compris. La théorie actuellement couramment admise pour expliquer l'émergence des virus pandémiques chez l'homme repose sur la transmission à l'homme de souches d'influenza virus circulant normalement chez les oiseaux. Différents mécanismes de transmission, directe ou faisant appel à une autre espèce animale hôte pouvant jouer le rôle « d'intermédiaire » entre les oiseaux et l'homme, ont été décrits (leurs mécanismes et leur probabilité d'apparition seront discutés dans ce rapport).

Actualité de la question posée

La question de l'évaluation du risque de transmission à l'homme des influenza virus aviaires est donc posée. Plusieurs événements survenus depuis 1997 en ont illustré l'actualité :

A Hong Kong, une première fois à la fin de l'année 1997, puis à nouveau en mars 1999, ont été mis en évidence des cas de transmission directe des oiseaux à l'homme de deux souches d'influenza virus normalement inféodées aux oiseaux. La gravité de l'épisode de 1997 (6 décès sur 18 cas avérés de transmission à l'homme) a conduit les autorités sanitaires de Hong Kong à décider à l'époque l'abattage de la totalité du cheptel d'oiseaux d'espèce *Gallus gallus* dans l'île, dans le but de supprimer le réservoir d'un virus potentiellement pandémique ;

En 1999-2000, en Italie, une épizootie d'influenza hautement pathogène a été causée par un influenza virus non pathogène pour l'homme. Les impératifs du contrôle de la maladie animale ont là aussi conduit à décider d'abattages massifs des volailles d'élevage (pour d'autres motifs que ceux qui avaient prévalu à Hong Kong, puisqu'il s'agissait en Italie de limiter la diffusion de la maladie au sein des élevages de volailles, et non d'empêcher sa transmission à l'homme).

De tels événements ont connu une couverture médiatique importante (citons, entre autres, dans la presse écrite *Le Figaro* du 18 décembre 1997, du *Télégramme* du 31 décembre 1997, le *Nouvel Observateur* et *Le Monde* du 17 janvier 1998, *Sciences & Vie* en décembre 1998, et plus récemment *Le Monde* du 8 septembre 2001) qui souligne la nécessité d'une évaluation rigoureuse du sujet.

Autosaisine et création du groupe de travail

Le Comité d'experts spécialisé Santé animale (CES SA) de l'Afssa a eu à évaluer dès sa première réunion du 22 novembre 2000 le risque de transmission du virus de l'influenza à l'homme par la consommation de viandes de volailles infectées (2000-SA-0087). Au cours de la même réunion a été proposée la constitution d'un groupe de travail pour compléter l'évaluation du risque de transmission des virus influenza aviaires à l'homme.

Créé par la décision 2000-485 du Directeur Général de l'AFSSA datée du 1^{er} février 2001, le groupe de travail « Evaluation du risque de transmission du virus de l'influenza » à l'origine du présent rapport a eu à examiner l'autosaisine suivante :

1 – Quels sont les risques de transmission de virus de l'influenza aviaire à l'homme lors des manipulations d'oiseaux malades ou porteurs de virus ?

2 – Quelles sont les populations humaines à risque ?

3 – Quelle est l'influence d'une vaccination aviaire sur l'incidence du portage et de l'excrétion de virus influenza sauvages par les oiseaux vaccinés ?

4 – Quelle est l'influence d'une vaccination aviaire sur le risque de transmission du virus influenza sauvage à l'homme par les oiseaux vaccinés ?

La composition du groupe de travail est la suivante (Décision 2000-485) :

Membres du Comité d'experts spécialisé Santé animale :

M. Nicolas Eterradossi (Président), Chargé de recherches, Afssa site de Ploufragan, Unité de Virologie Immunologie et Parasitologie Aviaire et Cunicole,

Mme Arlette Laval, Professeur à l'Ecole Nationale Vétérinaire de Nantes, Département Santé des Animaux d'élevage et Santé Publique, Unité de médecine des animaux d'élevage.

Autres experts :

Mme Isabelle Bonmarin, Médecin, Institut de veille sanitaire, Département des maladies infectieuses,

Mme Paule Deutsch, Médecin, Direction générale de la Santé, Bureau des maladies transmissibles et de la politique vaccinale

Mme Michèle Guittet, Directrice de recherches, Afssa site de Ploufragan, sous-directrice responsable des filières avicoles et cunicoles,

Mme Véronique Jestin, Chargée de recherches, Afssa site de Ploufragan, Chef de l'Unité de Virologie Immunologie et Parasitologie Aviaire et Cunicole, Responsable du Laboratoire National de Référence pour les pestes aviaires (maladie de Newcastle et Influenza aviaire)

M. Jean-Claude Manuguerra, Chargé de recherches, Institut Pasteur Paris, Unité de génétique moléculaire des virus respiratoires, Co-directeur du Centre National de Référence sur la Grippe.

Au sein de l'Afssa, le groupe a bénéficié du support de :

Mme Barbara Dufour, Ingénieur de recherches, Afssa DERNS, Unité d'appui épidémiologique à l'analyse de risque,

Mme Anne-Marie Hattenberger, Directrice de recherches, secrétariat scientifique du CES SA,

M. Marc Savey, Directeur de recherches, Directeur de la santé animale à l'Afssa.

Les membres du groupe ont reçu, ponctuellement et sous leur responsabilité, l'aide d'experts extérieurs sur des points précis :

Mme Geneviève Abadia, médecin, Mutualité Sociale Agricole, pour la description d'une enquête chlamydiae organisée par le réseau de zoonosurveillance en agriculture de la MSA,

Mme Brigitte Arbelot, vétérinaire, Ministère de l'agriculture et de la pêche, Direction générale de l'alimentation, Bureau de la santé animale pour le recensement des textes réglementaires relatifs à l'influenza aviaire

M. Pierre Drouin, vétérinaire, chercheur retraité à l'Afssa site de Ploufragan, Unité d'épidémiologie et qualité en Aviculture, pour différents éléments concernant la chlamydiae aviaire

Mme Gisèle Rossat-Mignod, vétérinaire, Ministère de l'agriculture et de la pêche, Direction générale de l'alimentation, secteur importation pays tiers pour les aspects relatifs à la réglementation sur les importations d'oiseaux d'ornement.

Mme Claire Schvoerer, Médecin Inspecteur de Santé Publique, Direction Régionale des Affaires Sanitaires et Sociales de Bretagne, Cellule Inter-Régionale d'Epidémiologie Ouest, pour les résultats d'un rapport d'investigation chez les ouvriers d'un abattoir de volailles

Présentation du rapport

L'objectif du présent rapport est de rassembler autant que possible les informations nécessaires à la formulation de réponses argumentées aux questions de l'autosaisine.

Le rapport débutera par de brefs rappels sur les propriétés des influenzae de type A en rapport avec la problématique considérée, suivis par une présentation des infections humaines puis aviaires. Une quatrième partie tentera de recenser les circonstances épidémiologiques amenant l'homme à être exposé aux virus d'origine aviaire. Une cinquième partie discutera l'intérêt d'une éventuelle vaccination des volailles en terme de maîtrise de la diffusion des virus aviaires. Une sixième partie réalisera à partir des principaux éléments exposés une tentative d'évaluation du risque pour l'homme, et résumera les recommandations du groupe de travail.

1. Rappels sur les caractéristiques des virus influenza A

1.1 Position taxonomique et importance

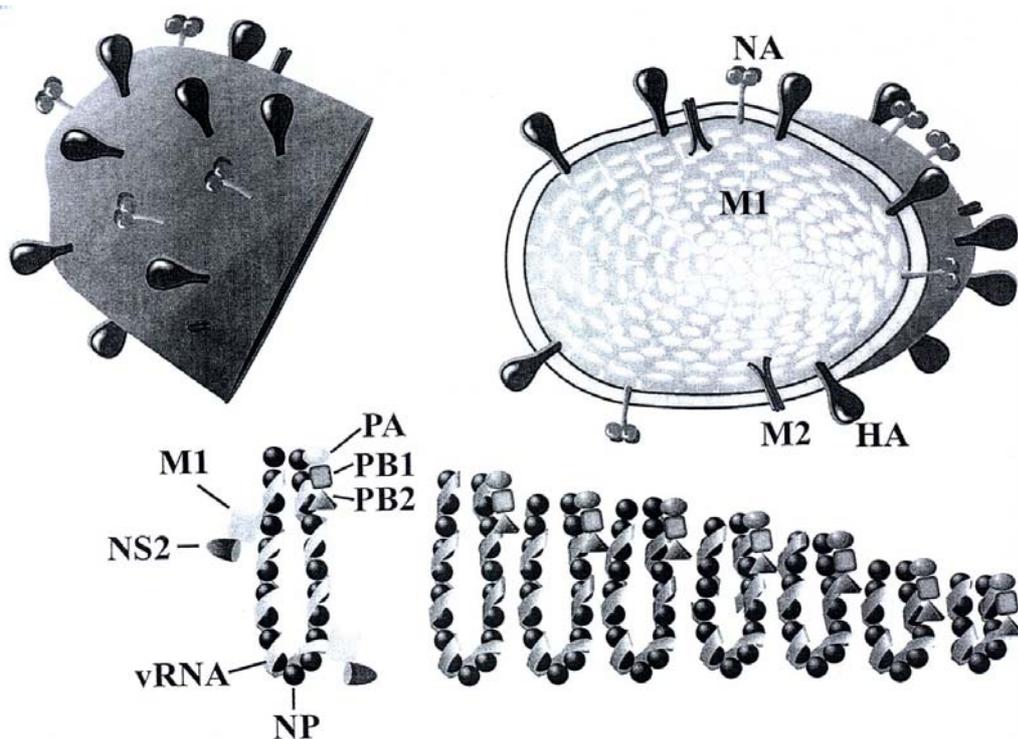
Les virus influenza appartiennent à la famille des *Orthomyxoviridae* qui inclut, selon le septième rapport du comité international de taxonomie virale, cinq genres dont trois de virus grippaux : *Influenzavirus A*, *Influenzavirus B* et *Influenzavirus C*. Par tradition, on se réfère aux trois genres de virus grippaux sous le terme de « types ».

Parmi ces virus, les influenzae de type A revêtent une importance particulière. En effet, seuls les virus de type A sont véritablement inféodés à diverses espèces animales chez lesquelles ils circulent de façon globalement permanente (pour revue Manuguerra, 2001). Ce sont également les seuls à causer des pandémies chez l'homme. **Enfin, ce sont les seuls influenzae à avoir été isolés chez les oiseaux. Le présent rapport ne traitera donc que des virus influenza de type A.**

1.2 Structure

Les virus influenza A apparaissent comme des virus enveloppés de forme sphérique ou filamenteuse, d'un diamètre variant de 80 à 120 nm. Les particules virales sont constituées d'une matrice protéique qui entoure huit nucléocapsides de symétrie hélicoïdale, constituées de l'association dans la particule virale des huit segments génomiques chacun entouré par la nucléoprotéine virale notée NP (**Figure 1**). L'extérieur de la matrice protéique est enveloppé par une membrane lipidique, dont la surface externe est couverte de deux types de spicules constituées l'un d'une glycoprotéine virale dotée d'une activité hémagglutinante et d'une activité de fusion (ou hémagglutinine, notée HA ou H), l'autre d'une glycoprotéine virale dotée d'une activité neuraminidase (ou neuraminidase, notée NA ou N).

Figure 1 : Structure et organisation d'une particule d'influenzavirus de type A. vRNA=Arn viral. PA, PB1, PB2, NP, M1, M2, NS2 HA et NA (d'après Horimoto et Kawaoka, 2001)



Le génome viral est constitué de 8 segments d'ARN monocaténaire, de polarité négative (c'est-à-dire que leur séquence nucléotidique est complémentaire de celle de l'ARNm codant les protéines virales). Le **tableau I** présente la structure génomique des virus influenza A, ainsi que le rôle biologique des 10 protéines virales¹ codées par les 8 segments génomiques.

Parmi les protéines virales, les deux glycoprotéines d'enveloppe H et N sont les principaux inducteurs d'anticorps protecteurs chez l'hôte infecté. Selon les propriétés antigéniques de ces molécules, on distingue chez les virus influenza A quinze espèces moléculaires d'hémagglutinines (notées H1 à H15) et neuf espèces moléculaires de neuraminidases (notées N1 à N9). La nature segmentée du génome viral permet aux segments génomiques de s'associer sous différentes combinaisons chez différentes souches virales. La combinaison de gènes codant une hémagglutinine Hx et une neuraminidase Ny chez une souche virale donnée définit la notion de sous type viral noté HxNy. **Dans le présent rapport on désignera par l'expression « les sous types Hx » l'ensemble des sous types viraux possédant une hémagglutinine Hx et l'expression « les sous types Ny » désignera de même l'ensemble des sous types viraux possédant une neuraminidase Ny.**

Différents sous types viraux peuvent circuler chez différentes espèces hôtes (cf infra 1.4).

Tableau I : Segments génomiques des influenza virus de type A et rôle biologique des protéines virales (d'après Harimoto et Kawaoka, 2001)

Segment génomique	Protéine codée	Taille (Nb d'acides aminés)	Rôle(s) biologique(s)
1	PB2	759	Sous unité de la polymérase Activités d'addition de la coiffe et d'endonucléase
2	PB1 ²	757	Sous unité cataclytique de la polymérase
3	PA	716	Sous unité de la polymérase active pour la synthèse de l'ARN viral
4	HA	566	Hémagglutinine : attachement au récepteur cellulaire et fusion membranaire
5	NP	498	Nucléocapside : liaison à l'ARN viral pour constituer un complexe ribonucléoprotéique (RNP)
6	NA	454	Neuraminidase : hydrolyse du récepteur lors du bourgeonnement de la particule virale
7	M1 M2	252 97	Protéine de matrice Canal à ions
8	NS1 NS2 NEP	230 ou 121	Protéine non structurale 1 , inhibitrice de la réponse en interféron Protéine non structurale 2 , impliquée dans l'exportation extranucléaire des complexes RNP

¹ Un onzième polypeptide a récemment été décrit. Il est long de 87 résidus et est codé par le gène PB1 dans le cadre de lecture +1. Ce peptide, appelé PB1-F2, a des caractéristiques inhabituelles par rapport à celles des autres produits des gènes des virus grippaux A, en plus de son mode de traduction. Par exemple, il est absent de plusieurs isolats animaux (en particulier porcins). Les auteurs proposent que la fonction de PB1-F2 soit de tuer des cellules de l'immunité qui s'engagent dans la réponse antigrippale (Chen *et al.*, 2001).

² En plus, un peptide PB1-F2 est codé dans la phase de lecture +1, voir note infrapaginale 1.

1.3 Nomenclature

Le système officiel de nomenclature des souches de virus influenza mentionne, sous la forme d'informations séparées par des traits de fraction **i)** le type (soit, dans le cadre de l'objet de ce rapport, A pour « influenza virus de type A »), **ii)** une abréviation indiquant l'espèce hôte d'origine, **iii)** l'origine géographique de la souche, **iv)** le numéro de référence la souche, **v)** l'année d'isolement. Ces informations sont suivies entre parenthèses par la mention du sous type viral, comme dans l'exemple suivant : A / Duck / Singapore / F119 / 97 (H5N3). Par convention, aucune espèce n'est indiquée lorsqu'il s'agit d'une souche isolée chez l'homme, comme dans l'exemple suivant : A/Paris/908/97(H3N2).

Dans le cadre de ce rapport et afin d'en faciliter la lecture, les souches de virus influenza A seront identifiées par leur sous type ou par leur référence usuelle (dans le cas où il conviendrait de distinguer des souches virales de même sous type), la référence officielle des souches citées étant mentionnée en pied de page.

L'adaptation progressive et la circulation prolongée de souches d'un sous type donné au sein d'une espèce animale peut conduire à l'acquisition de caractères génétiques particuliers, qui permettent de différencier une lignée génétique au sein du sous type. Ainsi, on distingue par exemple dans le sous type H1N1 une lignée porcine et une lignée aviaire.

Dans le présent rapport, on qualifiera de « virus aviaire » un virus influenza A isolé d'oiseaux et /ou dont tous les gènes sont aviaires (comme démontré par comparaison de leur séquence avec celles disponibles dans les banques), c'est-à-dire homologues de gènes rencontrés chez des souches virales circulant normalement chez les oiseaux.

La notion de « virus influenza sauvage » utilisée au point 4 de la saisine est pléonastique concernant les oiseaux dans la mesure où aucun virus influenza vivant n'étant utilisé ou diffusé comme vaccin chez les oiseaux, tous les influenzavirus isolés chez les espèces aviaires sont forcément « sauvages ». Dans le présent rapport, la seule expression utilisée en dehors du texte même de la saisine sera donc « virus influenza aviaires ».

1.4 Hôtes principaux

Des virus influenza de type A ont été isolés chez certaines espèces de mammifères telles que l'homme, le porc, le cheval, certains cétacés (baleine et dauphins) et le phoque, ainsi que chez de nombreuses espèces d'oiseaux (cf paragraphe 3.3.1.1).

Les oiseaux sauvages aquatiques correspondent aux hôtes naturels principaux des virus influenza de type A. Des virus porteurs de toutes les hémagglutinines (H1 à H15) et de toutes les neuraminidases (N1 à N9) connues ont ainsi été isolés chez différentes espèces aviaires (pour une présentation détaillée, cf. paragraphe 3.1.1.). Bien qu'hémagglutinine et neuraminidase puissent s'associer selon différentes combinaisons chez les virus aviaires, certaines paraissent néanmoins privilégiées sans qu'à ce jour on connaisse précisément le mécanisme sous-jacent.

A l'inverse de ce qui est observé chez les oiseaux, un nombre très limité de sous types viraux apparaissent inféodés aux espèces de mammifères (**tableau II**). Il est actuellement admis que l'espèce porcine tient une place toute particulière au sein des espèces de mammifères dans l'écologie des virus influenza de type A, puisqu'outre les virus porcins qui lui sont inféodés, elle peut également héberger des virus humains ainsi que la plupart (sinon tous) des sous types viraux normalement rencontrés chez les oiseaux (Kida *et al.*, 1994) (cf. paragraphe 1.5). Il a en effet été démontré que le porc peut être infecté directement par des virus aviaires que ce soit de façon expérimentale (Gourreau *et al.*, 1980) ou naturelle (Scholtissek *et al.*, 1983). L'isolement récent de virus aviaires H4N6 à partir de porcs souffrant de pneumonie au Canada (octobre 1999) atteste que le porc peut dans des conditions naturelles être infecté par des virus aviaires suite à une transmission directe sans réassortiment (transmissions *in toto*) (Karasin *et al.*, 2000).

Tableau II : Espèces moléculaires d'hémagglutinines et de neuraminidases chez les influenza virus de type A isolés chez les Mammifères à la suite d'infections naturelles. Les espèces moléculaires non citées n'ont pas été identifiées chez les virus isolés chez les hôtes considérés. Les souches virales citées sont soit les souches de référence, soit la première souche isolée chez l'hôte considéré. D'après Alexander *et al.*, 2000, Fields *et al.*, 1991, Horimoto et Kawaoka, 2001.

Nature de l'hémagglutinine	Homme	Porc	Cheval	Vison	Phoque (veau marin)	Baleine (globicephale)
H1	PR/8/34 (H1N1)	Swine/Iowa/15/30 (H1N1)	-	-	-	A/whale/Pacific Ocean./19/76 (H1N3)
H2	Singapore/1/56 (H2N2)	-	-	-	-	-
H3	Hong Kong /1/68 (H3N2)	Swine/Taiwan/70 (H3N2)	Equine/Miami/1/63 (H3N8)	-	A/Seal/Massachusetts/3911/92 (H3N3)	-
H4	-	-	-	-	A/Seal/Massachusetts/133/82 (H4N5)	-
H5	Hong Kong /156/97 (H5N1)	-	-	-	-	-
H7	England/268/96 (H7N7)	-	Equine/Prague/1/56 (H7N7)	-	Seal/Mass/1/80 (H7N7)	-
H9	Hong Kong /1073/99 (H9N2)	Swine/HK/9/98 (H9N2)	-	-	-	-
H10	-	-	-	A/mink/Sweden /84 (H10N4)	-	-
H13	-	-	-	-	-	A/whale/Maine/1/84 (H13N9)

Nature de la neuraminidase	Homme	Porc	Cheval	Vison	Phoque (veau marin)	Baleine (globicephale)
N1	PR/8/34 (H1N1)	Swine/Iowa/15/30 (H1N1)	-	-	-	-
N2	Singapore/1/56 (H2N2)	Swine/Taiwan/70 (H3N2)	-	-	-	A/pilot whale /Maine/328/84 (H13N2)
N3	-	-	-	-	A/Seal/Massachusetts/3911/92 (H3N3)	A/whale/Pacific Ocean./19/76 (H1N3)
N4	-	-	-	A/mink/Sweden /84 (H10N4)	-	-
N5	-	-	-	-	A/Seal/Massachusetts/133/82 (H4N5)	-
N6	-	-	-	-	Reference non précisée 1991 (H4N6)	-
N7	England/268/96 (H7N7)	Swine/England /92 (H1N7)	Equine/Prague/1/56 (H7N7)	-	Seal/Mass/1/80 (H7N7)	-
N8	-	-	Equine/Miami/1/63 (H3N8)	-	-	-
N9	-	-	-	-	-	A/whale/Maine/1/84 (H13N9)

1.5 Déterminants moléculaires viraux de la spécificité d'hôte

1.5.1 Liés à la reconnaissance et à l'hydrolyse du récepteur cellulaire

La protéine des virus influenza A reconnaissant le récepteur membranaire du virus est l'hémagglutinine virale, alors que la neuraminidase virale, en hydrolysant les récepteurs membranaires, favorise le relargage des particules virales à l'issue de la phase de bourgeonnement.

Quels que soient leurs types d'hémagglutinine, les virus aviaires montrent une plus grande affinité pour les oligosaccharides sialylés à leur extrémité terminale avec des acides sialiques de type Neu5Ac α 2.3 Gal (acides N-acétylneuraminiques terminaux liés par des liaisons glycosidiques en α 2,3 à du galactose) qui sont d'ailleurs présents à la surface des cellules de l'épithélium trachéal et digestif des oiseaux et sont largement majoritaires à la surface des cellules aviaires (Rogers and Paulson, 1983). Les virus influenza aviaires montrent une très grande conservation des résidus 138, 190, 194, 225, 226, 228 de l'hémagglutinine impliqués dans l'attachement avec le récepteur cellulaire. La présence d'un résidu Glutamine en position 226 conditionne très fortement la spécificité de la reconnaissance de ce récepteur. La neuraminidase des virus aviaires n'hydrolyse aussi que des sialoglyconjugés du type Neu5Ac α 2.3 Gal.

A la différence des virus aviaires, les virus humains se lient préférentiellement à des oligosaccharides sialylés porteurs d'acides sialiques de type aux NeuAc α 2,6Gal, prépondérants à la surface des cellules humaines.

Enfin, le mécanisme moléculaire récemment proposé pour expliquer la sensibilité du porc aux virus d'origine aviaire et humaine repose sur la présence à la surface des cellules trachéales porcines de récepteurs sialoglycoconjugés qui possèdent à la fois des acides N-acétylneuraminiques terminaux NeuAc α 2,3Gal et des NeuAc α 2,6Gal (Ito *et al.*, 1998). Ainsi, pourvues des deux types de « récepteurs », les cellules trachéales porcines sont susceptibles d'être infectées par des virus d'origine humaine tout comme par des virus d'origine aviaire.

1.5.2 Liés aux protéines du complexe de réplication

Les gènes codant les protéines impliquées dans le complexe de réplication déterminent aussi l'aptitude des virus aviaires à se répliquer dans des cellules aviaires et pas dans des cellules de mammifères. Par exemple, la présence d'un résidu acide glutamique en position 627 de la protéine PB2 restreint la réplication de ces virus aux seules cellules aviaires.

1.5.3 Mécanismes supposés de franchissement de la barrière d'espèce

Les mécanismes moléculaires impliqués dans le franchissement de la barrière d'espèce ne sont pas encore établis.

1.6 Déterminants moléculaires viraux de la virulence

1.6.1 Chez l'homme

La virulence est un aspect lié à la capacité de multiplication d'un agent infectieux chez son hôte dont un des corollaires est l'étendue des dommages causés à l'hôte. Dans le cas des virus grippaux, humains en particulier, la base génétique de la virulence est largement inconnue malgré le besoin qui existe de la connaître. Diverses études, tant *in vitro* qu'issues d'isolats de terrain chez l'homme, ont été menées. Des analyses génétiques ayant recours aux réassortiments de gènes issus de virus virulents et de virus avirulents ont identifié des marqueurs sur un certain nombre de gènes. L'agrégation des résultats indique que tous les gènes peuvent être impliqués.

1.6.2 Chez les oiseaux

Bien que l'hémagglutinine virale ne soit pas le seul support moléculaire de la virulence, elle constitue un déterminant majeur de la virulence. Ce rôle dans la virulence a été prouvé par des approches de génétique inverse. En effet, outre sa propriété d'attachement au récepteur cellulaire évoquée ci-dessus, l'hémagglutinine commande aussi la pénétration du virus dans la cellule. Pour que cette fonction soit effective, l'hémagglutinine doit être clivée par des protéases cellulaires, sinon les virions produits ne sont pas infectieux et le cycle viral s'arrête.

L'hémagglutinine des souches avirulentes ou modérément pathogènes, ne contient qu'une seule arginine au niveau du site de clivage de la molécule. Elle ne peut être clivée que par des enzymes cellulaires de type trypsine présentes dans un nombre restreint de cellules limitées aux tracts respiratoire et digestif. C'est pourquoi, *in vivo*, l'infection par des virus avirulents ou modérément pathogènes reste limitée aux sphères précitées.

En revanche, l'hémagglutinine des souches virulentes présente des acides aminés basiques répétés au niveau de son site de clivage. Ces motifs sont reconnus par des protéases de type furine présentes dans un grand nombre de cellules, ce qui explique le caractère pantrope³ de cette catégorie de virus permettant, *in vivo*, leur dissémination dans tout l'organisme de l'hôte infecté. En raison de la richesse de l'ARN viral en bases de type purine au niveau de la région codant le site de clivage de l'hémagglutinine, la polymérase virale aurait tendance à faire davantage d'erreurs (« bégaiement »⁴) et la probabilité de mutations à cet endroit de la séquence est particulièrement élevée. Jusqu'à présent seuls des virus influenza de sous types H5 et H7 ont généré par ce mécanisme des virus influenza hautement pathogènes à partir de souches faiblement ou modérément pathogènes. Ces sous types ont été à l'origine des 18 épisodes cliniques graves recensés dans le monde (**Tableau III**), certains aboutissant à des épizooties catastrophiques [en Pennsylvanie (U.S.A) de 1983 à 1985 (H5N2) ; au Pakistan en 1994-95 (H7N3) ; au Mexique en 1994-95 (H5N2) ; à Hong Kong et en Chine du Sud en 1997 (H5N1), le dernier en Italie causé en 1999-2001 par un virus H7N1]. Les caractéristiques du site de clivage de l'hémagglutinine constituent un critère officiel d'évaluation de la virulence des souches de sous types H5 et H7 (directive européenne 92/40/CEE, et J.O. arrêté du 8 juin 1994) et se substituent aux tests *in vivo*. Les résultats de ces analyses permettent de décider des mesures réglementaires à prendre.

D'autres mécanismes d'acquisition de la virulence ont été décrits : perte d'un site de glycosylation en position 11 de l'hémagglutinine de sous type H5 observée sur des souches de l'épizootie de Pennsylvanie ; addition d'un site de glycosylation en position 188-190 de l'hémagglutinine de sous type H7 (Perdue *et al.*, 1995) ; phénomènes de recombinaison conduisant chez des virus de sous types H7 soit à l'insertion d'un fragment de 54 nt d'ARN ribosomal 28 S en amont du site de clivage de l'hémagglutinine de sous type H7 (non observé naturellement à partir d'isolats du terrain) (Katchikian *et al.*, 1989 ; Orlich *et al.*, 1990), soit à l'insertion de 60 nt dérivés du gène codant la nucléoprotéine du même virus (Orlich *et al.*, 1994), la recombinaison résultant dans les deux cas en la production d'une hémagglutinine plus facilement clivée.

En outre, il a été isolé un virus hautement pathogène de sous type H10 dont le site de clivage de l'hémagglutinine ne possédait pas d'acides aminés basiques multiples. Sa pathogénicité pourrait être attribuée à son tropisme rénal mais le support moléculaire de ce phénotype n'est à notre connaissance pas établi.

³ L'adjectif « pantrope » qualifie un virus doté de la capacité de se répliquer dans tous les organes et tissus de l'organisme, à la différence des souches virales habituelles qui ont un tropisme limité aux seuls appareils respiratoire et/ou digestif.

⁴ Le « bégaiement » de la polymérase virale (« polymerase stuttering ») survient lorsque cette enzyme rencontre un obstacle à sa progression le long de la matrice génomique qu'elle recopie (par exemple lorsqu'il existe un repliement de la molécule matrice dans une zone vers laquelle progresse la polymérase). Les difficultés de progression rencontrées conduisent la polymérase à répéter la copie de la séquence nucléotidique située en amont l'obstacle, donc à insérer dans la molécule d'ARN nouvellement synthétisée plusieurs nucléotides qui ne sont pas présents dans la matrice recopiée. Ces insertions peuvent se traduire par l'insertion d'acides aminés dans la protéine codée.

Tableau III : Episodes d'influenza aviaire hautement pathogène recensés dans le monde depuis 1959 (D'après Alexander , 2000).

Année	Souche responsable
1959	A/Chicken/Scotland/59 (H5N1)
1963	A/Turkey/England/63 (H7N3)
1966	A/Turkey/Ontario/7732/66 (H5N9)
1976	A/Chicken/Victoria/76 (H7N7)
1979	A/Chicken/Germany/79 (H7N7)
1979	A/Turkey/England/199/79 (H7N7)
1983	A/Chicken/Pennsylvania/1370/83 (H5N2)
1983	A/Turkey/Ireland/1378/83 (H5N8)
1985	A/Chicken/Victoria/85 (H7N7)
1991	A/Turkey/England/50-92/91 (H5N1)
1992	A/Chicken/Victoria/1/92 (H7N3)
1994	A/Chicken/Queensland/667-6/94 (H7N3)
1994	A/Chicken/Mexico/8623-607/94 (H5N2)
1994	A/Chicken/Pakistan/447/94 (H7N3)
1997	A/Chicken/NSW/97 (H7N4)
1997	A/Chicken/Hong Kong/97 (H5N1)
1997	A/Chicken/Italy/330/97 (H5N2)
1999	A/Turkey/Italy/4580/99/ (H7N1)

1.7 Mécanismes de variation génétique des virus influenza A

1.7.1 Mutations ponctuelles

Le premier mécanisme qui concourt à la variabilité génétique des virus influenza réside dans l'apparition de mutations ponctuelles, liées à la fréquence élevée des erreurs d'incorporation de nucléotides commises par l'ARN polymérase ARN dépendante du virus.

1.7.1.1. Importance chez les virus influenza A humains

Chez les virus grippaux humains, les mutations ponctuelles sont par exemple importantes pour l'évolution antigénique du virus. En effet, elles peuvent être bénéfiques pour le virus si elles affectent un site antigénique car elles peuvent alors contribuer à l'échappement à l'immunité humorale antigrippale. Lorsqu'une mutation aboutit à la modification d'un site antigénique, on parle de glissement antigénique. Le taux d'évolution au niveau des gènes codant l'HA atteint 10^{-3} ($5,7 \cdot 10^{-3}$ par site et par an pour le domaine HA₁ de l'HA des virus A(H3N2) humains isolés entre 1984 et 1996 (Fitch *et al.*, 1997)), ce qui est considérable, au lieu de 10^{-6} qui est un taux rencontré pour les synthèses normales des cellules Eucaryotes. Ce mécanisme explique que, d'une année sur l'autre, la séquence des gènes codant l'hémagglutinine H3 des virus de grippe A humaine varie d'environ 0,6% : ainsi après 5 ans les séquences diffèrent de près de 3%. En effet, les mutations s'accumulent dans le temps (moins pour les virus de type B et encore moins pour les virus de type C (Buonagurio *et al.*, 1985)) et aboutissent à l'émergence progressive et continue de nouvelles lignées de virus de grippe A chez l'homme par pression de sélection positive de type darwinien (Fitch *et al.*, 1997). Pour suivre

cette évolution, fondamentalement différente de celle des virus des ansériformes sauvages, la composition du vaccin humain contre la grippe est revue chaque année en février pour l'hémisphère nord et en septembre pour l'hémisphère sud.

1.7.1.2 Importance chez les virus influenza A aviaires

Chez les virus aviaires, l'importance évolutive des mutations ponctuelles est variable selon le gène et l'espèce hôte considérés :

Chez les oiseaux aquatiques (surtout les différentes espèces de canards, d'oiseaux de rivage et les mouettes) qui constituent un réservoir de virus influenza aviaires, ceux-ci évoluent peu car ils ont atteint un niveau d'adaptation optimal et les mutations ne procurent pas d'avantage sélectif. Au niveau du gène codant la nucléoprotéine, la lignée des virus isolés de mouettes se distingue de celle constituée par les isolats d'autres espèces d'oiseaux sauvages. De plus, pour chacun des gènes, 2 sous-lignées se distinguent en fonction de l'origine géographique des virus isolés : la sous-lignée nord-américaine et la sous-lignée eurasiennne, ce qui est en rapport avec les trajets migratoires des espèces sauvages contribuant au cycle des virus influenza aviaires.

Chez les volailles (le poulet par exemple) qui constituent un hôte accidentel, l'évolution des virus est beaucoup plus rapide et concerne notamment les gènes codant l'hémagglutinine et la neuraminidase (pour l'hémagglutinine taux d'évolution de $7 \text{ à } 10 \cdot 10^{-3}$ substitutions / site / an). Les virus sélectionnés possèdent des gènes permettant de coder une hémagglutinine moins spécifique du récepteur d'origine (par addition de sites de glycosylation au niveau de la partie globulaire de la molécule) et une neuraminidase moins efficace à détacher les virions néoformés (par délétion du fragment codant la tige de la molécule) aboutissant ainsi à compenser le manque d'affinité au récepteur par un attachement prolongé. Les gènes codant la protéine de matrice ou la nucléoprotéine sont par contre davantage conservés.

Des erreurs répétées lors de la copie de l'ARN par la polymérase virale (mécanisme dit de « bégaiement », voir paragraphe 1.6.2) sont par ailleurs responsables de l'insertion de résidus basiques au site de clivage de l'hémagglutinine, principal mécanisme d'acquisition de la virulence déjà décrit au paragraphe 1.6.2.

1.7.2 Réassortiment génétique

Un second mécanisme de variation génétique, dit de réassortiment, aboutit au remplacement complet d'une ou plusieurs protéines virales d'une souche virale donnée par les protéines équivalentes d'une autre souche virale. Ce phénomène est rendu possible par la nature segmentée du génome viral ; il existe aussi chez les virus influenza de type B ou C, eux aussi dotés d'un génome segmenté, toutefois il est à noter qu'aucun cas de réassortiment n'a été décrit entre virus influenza appartenant à des types différents (A, B ou C). A l'occasion de la co-infection d'une cellule par deux particules virales provenant de souches virales différentes, il peut se trouver excrété des particules virales hybrides dont une partie des segments génomiques provient de l'un des virus parentaux et le reste des segments génomiques de l'autre.

Le phénomène de réassortiment est particulièrement important pour l'évolution antigénique des virus influenza A humains, dans la mesure où il peut conduire au changement complet d'une molécule de surface telle que l'HA. Cet événement, appelé **cassure antigénique sensu stricto**, est caractérisé par le remplacement de l'HA ou/ et de la NA par une HA ou/et une NA d'un type moléculaire différent. Il n'existe que chez les virus influenza humains de type A, au sein desquels il peut aboutir à l'apparition de nouveaux sous types.

Une hypothèse actuellement couramment admise fait jouer à l'espèce porcine, qui peut naturellement héberger à la fois des souches virales normalement inféodées à l'homme et des souches virales normalement inféodées aux oiseaux, un rôle essentiel dans ce phénomène de réassortiment. Il est cependant important de souligner qu'un être humain co-infecté par un virus humain et un virus aviaire pourrait tenir, le cas échéant, un rôle comparable. En effet, les virus d'oiseaux, s'ils sont exceptionnellement capables d'infecter directement les humains (Kurtz, Manvell, and Banks, 1996) (Subbarao *et al.*, 1998) se répliquent souvent peu efficacement chez l'homme et se transmettent très

difficilement d'un individu à l'autre (cf paragraphe 2.1.2.2 pour une présentation des cas documentés). En effet, le déterminisme d'adaptation à l'hôte est multigénique et concerne notamment les gènes dits internes (par exemple, ceux qui codent la nucléoprotéine et au moins une des protéines du complexe réplicase/transcriptase). Il ne suffit donc pas à un virus aviaire d'être enveloppé d'antigènes inconnus par les populations humaines, faut-il encore qu'il soit doué d'une bonne capacité à se répliquer chez son nouvel hôte potentiel. C'est exactement ces deux propriétés que possèdent les virus hybrides issus d'un réassortiment entre deux virus parentaux : l'un humain et l'autre aviaire selon le principe suivant. A l'occasion d'une co-infection d'un porc ou d'un être humain par un virus humain et un virus aviaire, comme les brins d'ARN génomiques viraux sont physiquement indépendants les uns des autres, il peut se former une particule virale hybride. Il semble cependant que les combinaisons des huit segments ne soient pas toutes possibles et que les assortiments réussis se réalisent en respectant des ensembles de gènes, formant ce qui est appelé des "*constellations*". Ce virus hybride, ou virus réassortant, peut emprunter les gènes "internes d'adaptation" à l'homme et les gènes HA et/ou NA de virus d'oiseau. Dans ce phénomène, il y a changement complet d'une molécule de surface telle que l'HA. Ce virus réassortant, "humain" dedans et "oiseau" dehors, cumule l'avantage de pouvoir se répliquer efficacement chez l'homme et celui de ne pas rencontrer de défense humorale spécifique contre lui car les HA et NA aviaires ne correspondent pas aux anticorps qui préexistent dans les populations humaines. C'est alors un virus nouveau chez l'homme qui est potentiellement capable de provoquer une pandémie. C'est le mécanisme initial actuellement admis comme ayant été à l'origine des deux dernières pandémies de grippe en date.

Des impasses existent cependant dans la génération par réassortiment de souches virales adaptées à une nouvelle espèce hôte : Il suffit qu'un des facteurs ne soit pas réuni pour que l'introduction d'un virus nouveau pour l'espèce considérée ne conduise pas à une implantation durable, marquée par une forte épizootie ou épidémie initiale. L'exemple aux Pays-Bas du passage d'un virus mixte humain et aviaire A(H3N2) du porc à l'homme, limité à deux cas documentés rapportés chez 2 enfants, illustre de tels échecs (cf. paragraphe 2.1.2.1.1.a.).

Malgré cette dernière restriction, le réassortiment génétique représente – sans doute bien plus que la transmission directe – le mécanisme privilégié de génération de nouveaux virus potentiellement pathogènes pour l'homme.

2. Epidémiologie, aspects cliniques et contrôle de la grippe humaine à virus Influenza A

Chez l'homme, la grippe est une maladie consécutive à une infection par un virus membre de la famille des *Orthomyxoviridae* de l'un des trois genres *Influenzavirus* A, B ou C. Les infections à virus de grippe A sont généralement plus sévères cliniquement que celles à virus B, elles-mêmes plus sévères que celles dues aux virus C. Deux sous types de virus de type A sont inféodés à l'homme et circulent actuellement chez cette espèce : A(H1N1) et A(H3N2).

2.1 Epidémiologie de la grippe humaine

L'épidémiologie de la grippe est expliquée par la nature de l'agent étiologique et son mode de transmission. Les virus grippaux humains sont très variables. Leurs mécanismes de variation sont intimement liés à leur structure et à la nature de leur ARN polymérase. Il y a deux mécanismes principaux distincts: le premier est constant et s'appelle glissement antigénique, le deuxième est plus rare et se produit tous les 10 à 30 ans: c'est la cassure antigénique qui ne concerne que les virus de type A (cf. paragraphe 1.7). Les deux mécanismes de variation aboutissent à l'introduction dans un cycle épidémiologique monospécifique simple d'un virus antigéniquement nouveau permettant au cycle de se perpétuer. Dans le cas du glissement antigénique, l'échappement du virus est très partiel et l'impact de sa circulation est limité tandis que dans le cas d'une cassure, la nouveauté antigénique est telle que l'échappement à l'immunité de population est de nature à favoriser un impact redoutable de la circulation virale. Les épidémies de grippe sont imprévisibles contrairement aux épidémies de virus respiratoire syncytial (VRS). Parmi les viroses respiratoires, seule la grippe provoque des centaines, voire des milliers de décès selon les années.

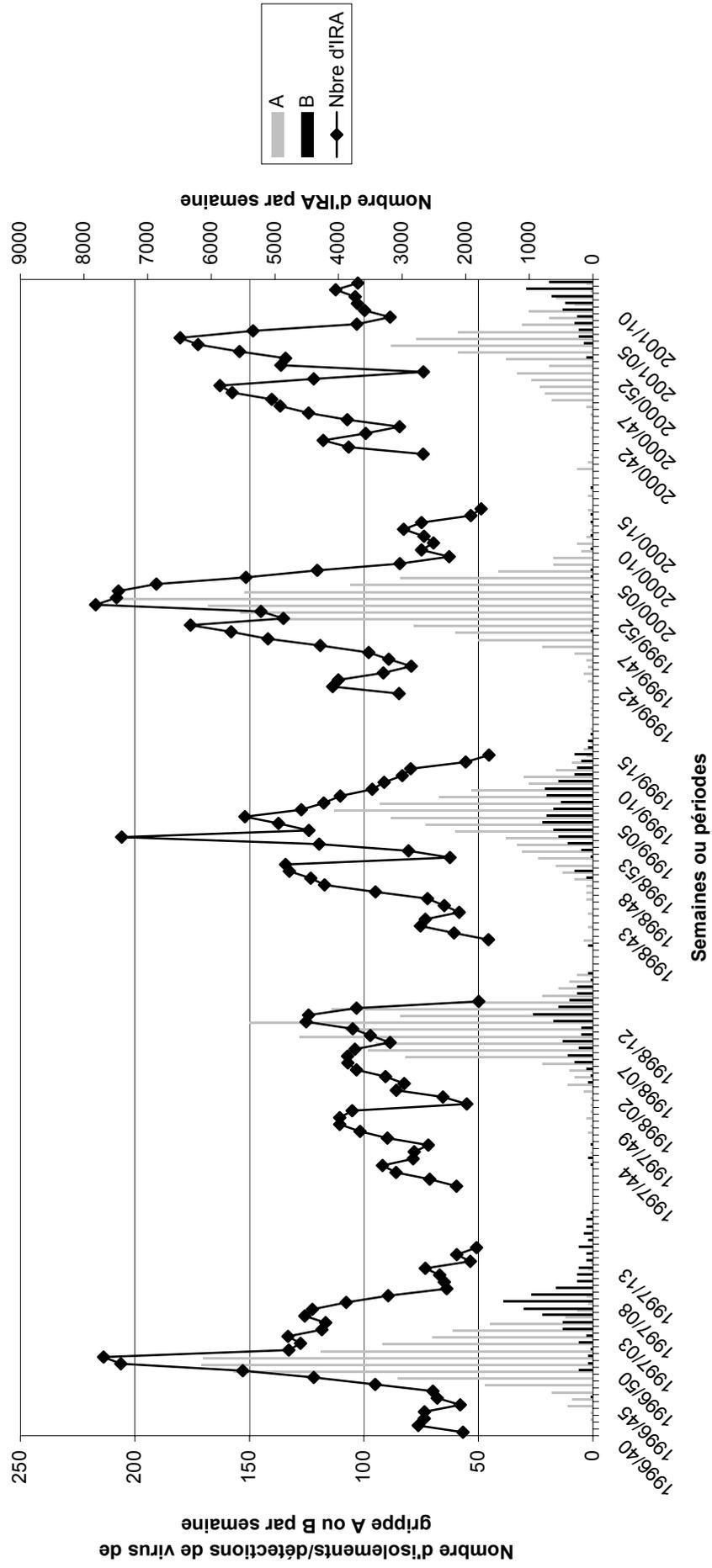
2.1.1 Formes épidémiques et saisonnalité

2.1.1.1 Saisonnalité

Quand elle sévit sous forme d'épidémies annuelles, la grippe humaine est saisonnière. Elle est plus marquée entre octobre et mars pour l'hémisphère nord, comme en Europe et aux Etats-Unis par exemple, et entre avril et septembre pour l'hémisphère sud, comme en Australie et en Nouvelle-Zélande. Le passage de l'activité grippale d'un hémisphère à l'autre est souvent baptisé : basculement hémisphérique. Il existe une zone tampon, au niveau de la ceinture tropicale, terrain intermédiaire de circulation virale continue et source de « contamination » par contiguïté géographique entre les deux hémisphères. La grippe y sévit de façon continue à bas bruit avec cependant des petits pics saisonniers à la saison des pluies souvent. Ceci a été décrit au Sénégal par exemple (Dosseh et Rogier, 1996).

Dans les pays tempérés comme la France, la circulation des virus grippaux A et/ou B survient chaque année, quelquefois intensément comme lors de l'hiver 1999-2000 ou plus faiblement comme au cours de la saison 2000-2001. La circulation de ces virus s'accompagne de pics concomitants d'infections respiratoires aiguës (IRA). Les pics d'IRA enregistrés en l'absence de circulation épidémique de virus grippaux sont sans doute imputables aux VRS (**Figure 2**).

Figure 2 : Isollements/détections de virus grippaux A et B et nombre d'infections respiratoires aiguës (IRA) observées en France-Nord entre octobre 1996 et mars 2001
 (Source: GROG/ RENAL/CNR France-Nord)



Au sein d'une région continentale comme l'Europe, les pics de morbidité et de circulation virale peuvent être décalés de plusieurs semaines entre deux pays, et ce d'autant plus que l'activité grippale est moins intense (Manuguerra, Mosnier, and EISS, 2000; Zambon, 1998). De même dans un pays comme la France, il existe quelquefois également des décalages d'une région à l'autre. Ces décalages sont plus au moins sensibles selon que l'observation de la circulation virale s'opère en première ligne de soins ou en milieu hospitalier. Le plus souvent, pour une région donnée, le pic de circulation virale est enregistré d'abord en médecine de ville, tout comme y sont le plus souvent détectés les premiers virus grippaux.

2.1.1.2 Pandémies

On parle de pandémie lorsque l'épidémie de grippe atteint tous les continents en un temps court. Les formes pandémiques de la grippe sont liées à une forte mortalité. En 1918-19, en 1957 et en 1968-69/70, la dernière en date, les pandémies ont été dues à l'apparition d'un virus nouveau chez l'homme. Au cours des pandémies, le taux de morbidité très élevé, varie entre 25 et 50 % voire 100% dans certaines communautés (villages etc.). Même si le rapport du nombre de décès et de sujets malades, qui définit la létalité, apparaît faible, jusqu'à 2,5-3 %, le nombre absolu de décès est considérable. En 1918-19, ce sont les jeunes adultes qui ont connu le plus fort taux de morbidité mais également de mortalité lors de la pandémie de *grippe espagnole* qui a fait environ 20 millions de morts dans le monde. Aux Etats-Unis, le nombre cumulé de morts dues aux pandémies de 1957 (la *grippe asiatique*) et de 1968-69 (*grippe de Hong Kong*) s'élève à 94000 morts directes (<http://www.cdc.gov/ncidod/diseases/flu/fluinfo.htm>).

2.1.1.3 Epidémies

Pendant les périodes interpandémiques, la grippe sévit sous forme d'épidémies d'ampleur variable. Les épidémies et la mortalité qui y est associée sont plus redoutables lorsqu'elles sont causées par le sous type A(H3N2) que lorsqu'elles sont dues au virus A(H1N1). Généralement, les virus de type A sont plus pathogènes et épidémiogènes que les virus de type B. En Grande-Bretagne, la dernière épidémie sévère due à un virus de sous type A(H3N2) a sévi lors de l'hiver 1989-1990. Elle a atteint son pic entre fin décembre et début janvier. Cette année-là, la surmortalité attribuée à la grippe dans ce pays, d'abord estimée à 27000 décès (Ashley *et al.*, 1991), a été ré-évaluée à 17000 morts au total.

Le taux de morbidité de la grippe peut être très élevé (environ 8,1 millions de personnes ont été grippées en France au cours de la saison 1996-1997, source GROG- OPEN ROME, Impact médico-économique de la grippe, Résultats préliminaires, JM Cohen, A Livartowsky, A Mosnier & GROG I.). Au cours des périodes interpandémiques, le taux de morbidité varie globalement, selon les épidémies, entre 5 et 15 % (entre 10 et 20% selon les CDC aux Etats-Unis - <http://www.cdc.gov/ncidod/diseases/flu/flusurv.htm>). En revanche, la létalité de la grippe apparaît faible (de l'ordre de 0,1% en période interpandémique). La létalité moyenne ne reflète pas les disparités qui existent entre les personnes selon leur groupe à risque (en période interpandémique). Alors que les personnes âgées de 65 ans et plus sont proportionnellement moins touchées par les épidémies, elles ont un risque de complications sévères et de décès plus élevé que la population générale. Le taux d'hospitalisation par pneumonie et grippe varie considérablement en fonction des classes d'âges et de co-morbidité existante. Alors que ce taux est relativement élevé pour les enfants jusqu'à six mois (globalement 1040 pour 100000), il diminue très nettement après cet âge pour atteindre un minimum entre 5 et 44 ans (pour 100000 : en moyenne 20 à 40 pour ceux qui ne sont pas à risque et 40 à 200 pour ceux qui le sont). Ensuite, à partir de la classe 45-64 ans, le taux d'hospitalisation par pneumonie et grippe augmente lorsqu'il existe des facteurs de comorbidités. C'est à 65 ans et plus que l'augmentation s'accélère pour atteindre un maximum global de 200 à plus de 1000 pour 100 000.

2.1.1.4 Cas isolés sporadiques et foyers épidémiques

Chaque année en été ou en automne, des cas de grippe isolés sont virologiquement confirmés dans différents pays d'Europe. Il s'agit de cas isolés importés, le plus souvent sans conséquence. Il peut également y avoir plusieurs cas isolés de virus grippaux dans des lieux géographiquement non contigus et sans contact particulier. Il peut s'agir parfois du même variant de virus grippal. Enfin, des foyers de grippe avec un nombre important de cas mais très limité géographiquement peuvent éclater ; le point de départ peut être une école par exemple.

2.1.2 Ecologie globale des virus grippaux et modes de transmission

2.1.2.1 Transmission interhumaine

La transmission de la grippe est très facile car elle se fait par voie respiratoire. Les éternuements, la toux ou même de simples mouvements respiratoires expulsent des particules virales qui se trouvent en suspension dans l'air et constituent de véritables aérosols infectieux. La durée d'incubation de la maladie est courte et varie de un à trois jours (deux le plus souvent) et l'individu excrète du virus pendant plusieurs jours après le début de la maladie (de 4 à 7 en fonction de l'âge et de l'individu). Les études d'infections expérimentales chez l'homme confirment que l'excrétion virale existe pendant la phase asymptomatique (Hayden *et al.*, 1996). La transmission du virus est rendue encore plus efficace dans les lieux clos ou confinés. Ainsi les transports en commun ou les collectivités, comme les bureaux, certains ateliers, les écoles ou encore les casernes, favorisent l'extension d'une épidémie de grippe. La grippe humaine est la maladie dont le caractère explosif est le plus grand puisqu'une épidémie peut balayer la surface de la terre en quelques mois voire quelques semaines. Le voyage du virus grippal d'un continent à l'autre est facilité par les moyens de transport modernes. Pour autant, le virus ne s'implante pas partout où il arrive. Bien qu'aucune étude d'observation n'ait identifié les facteurs responsables de l'implantation, on peut présumer que la virulence de la souche et la densité de population doivent être suffisantes pour permettre l'implantation des virus grippaux.

2.1.2.2 Transmission du virus des mammifères à l'homme

Même si les virus de grippe A sont avant tout des virus aviaires, ils infectent aussi plusieurs espèces de Mammifères dont certaines sont terrestres, comme le cheval et le porc, et d'autres sont marines comme les baleines et les dauphins parmi les Cétacés, et les phoques parmi les Pinnipèdes.

Malgré l'épisode de la "*grippe du poulet*" qui s'est déroulé à Hong Kong en 1997, l'hypothèse la plus couramment admise place toujours l'espèce porcine au cœur des événements qui conduisent à l'émergence de nouveaux virus humains (Scholtissek, 1994) (Webster *et al.*, 1995) (cf mécanisme décrit paragraphe 1.7.2). **La nature des virus grippaux qui circulent dans l'espèce porcine indique que des réassortiments se produisent chez cet animal à une fréquence non négligeable.**

Il circule actuellement trois sous types principaux de virus chez le porc dans le monde : H1N1, H3N2, et H1N2. Ces virus circulent dans l'espèce porcine de manière « indépendante » d'autres espèces animales et sont entretenus dans cette espèce :

En Asie, en Amérique et en Europe surtout, le sous type H1N1 est le plus couramment isolé. En Asie et en Amérique du Nord, les virus H1N1 qui circulent sont des virus porcins classiques, c'est-à-dire qu'ils sont génétiquement apparentés aux virus H1N1 humains issus du virus responsable de la pandémie de grippe espagnole du début du 20^{ème} siècle (Reid *et al.*, 1999; Schultz *et al.*, 1991; Taubenberger *et al.*, 1997). En revanche, en Europe les huit segments génomiques des virus H1N1 qui circulent chez les porcs sont phylogénétiquement apparentés aux lignages aviaires (Schultz *et al.*, 1991).

Les virus de sous type H3N2 circulent principalement en Europe et en Asie et apparemment beaucoup moins en Amérique du Nord (Chambers *et al.*, 1991; Hinshaw *et al.*, 1978; Scholtissek *et al.*, 1998). Les virus A(H3N2) porcins appartiennent pour l'ensemble de leurs gènes aux lignages de virus humains. Le sous type H1N2, identifié pour la première fois au Japon et en France, d'une part, et

en Grande Bretagne, d'autre part (Brown *et al.*, 1995; Brown *et al.*, 1998), résulte soit du réassortiment de virus porcins de type aviaire et de virus A(H3N2) porcins, soit de réassortiments multiples (virus de type aviaire, virus de type humain portant H1 et virus porcins dérivant de virus humains portant N2). La circulation chez des porcs en Italie, entre 1985 et 1989, de virus hybrides dont les antigènes de surface H3 et N2 étaient codés par des gènes issus de virus humains A(H3N2) et dont les autres protéines étaient codées par des gènes provenant de virus aviaires A(H1N1) a permis de démontrer que les virus H3N2 participent à des événements de réassortiments (Castrucci *et al.*, 1993). Récemment, des virus A(H3N2) isolés chez le porc aux Etats-Unis ont également été caractérisés comme des réassortants. En effet, une souche H3N2 isolée en Caroline du Nord était constituée à la fois de gènes de virus humains (HA, NA, et PB1) et de gènes de virus porcins classiques (NS, NP, M, PB2, et PA). D'autres souches H3N2 isolées dans le Minnesota, l'Iowa et au Texas résultent de multiples réassortiments puisqu'elles sont constituées : de gènes issus de virus humains (HA, NA et PB1), de gènes de virus porcins classiques (NS, NP, et M), et enfin de gènes appartenant aux lignages aviaires (PB2 et PA) (Zhou *et al.*, 1999).

Le porc est donc probablement le creuset, à savoir l'hôte intermédiaire, où s'opèrent les réassortiments entre virus d'origines humaine et animale. C'est ainsi grâce au porc que serait apparu, quelques temps avant 1957, le sous type H2N2 par remplacement de trois segments génomiques du virus A(H1N1) en circulation chez l'homme par trois segments (PB1, HA et NA) de virus d'oiseaux aquatiques sauvages de sous type A(H2N2). Le sous type A(H3N2) serait apparu quelque temps avant la pandémie de 1968 en Asie par remplacement des molécules PB1 et H2 du virus humain A(H2N2) apparu en 1957 par les molécules PB1 et H3 qui proviennent, selon une étude phylogénétique, d'un virus de canards sauvages (Yasuda *et al.*, 1991).

Au-delà de l'autosaisine considérée ici, qui s'intéresse de façon limitée au risque de transmission à l'homme des virus aviaires, il conviendrait donc d'avoir le même type de réflexion pour les virus influenza susceptibles d'être transmis à l'homme par contact avec l'espèce porcine. En effet ces virus, du fait des possibilités de réassortiment génétique survenant chez le porc entre virus aviaires, porcins et humains, pourraient présenter une probabilité d'adaptation à l'homme bien supérieure à celle des virus d'origine strictement aviaire.

Les influenza virus de type A se sont inféodés à une troisième espèce mammalienne depuis plusieurs années : il s'agit du cheval auquel il faut ajouter l'âne et le zèbre. La transmission de virus d'oiseaux vers d'autres espèces que le porc et l'homme est ainsi possible. En effet, l'épizootie de grippe chez le cheval de 1989, en Chine, a été provoquée par le passage d'un virus du même sous type que les virus en circulation chez les équidés à cette époque, mais phylogénétiquement et antigéniquement distinct. Ces virus dont la souche prototype est A/Equi/Jilin/89(H3N8) n'ont pas subi de réassortiment et sont passés directement (avec les huit gènes) de l'oiseau au cheval (Guo *et al.*, 1992). **En dépit de cette circulation de virus grippaux dans l'espèce équine, aucun cas de transmission d'influenza virus de type A du cheval à l'homme n'a été documenté à ce jour.**

2.1.2.3 Transmission du virus des oiseaux à l'homme

Contrairement au porc qui peut être infecté directement par des virus aviaires de façon naturelle (Scholtissek *et al.*, 1983) ou expérimentale (Gourreau *et al.*, 1980), la contamination de l'homme par des virus aviaires avec apparition d'un syndrome grippal n'a que très rarement été démontrée, l'exemple le plus éclatant étant l'épisode dit de la "*Grippe du poulet*" qui s'est déroulé à Hong Kong en 1997 et qui n'a heureusement pas été le prélude à une pandémie. **En dehors de la genèse des pandémies du 20^{ème} siècle, seuls quelques rares exemples documentés de transmission des oiseaux à l'homme ont été publiés.**

2.1.2.3.1. Transmission ponctuelle indirecte et directe de virus aviaires

La transmission indirecte de virus aviaire après réassortiment chez le porc avec des virus humains a été documentée virologiquement. Une étude, publiée en 1994, relate en effet l'infection de deux enfants aux Pays-Bas par des virus porcins (Claas *et al.*, 1994). Ces virus résultaient du réassortiment entre des virus humains dont ils portaient les antigènes de surface H3 et N2 et des virus aviaires dont

ils contenaient toutes les autres protéines. La transmission à deux enfants de ces virus hybrides n'a pas été suivie d'épidémie, sans doute pour deux raisons: 1/ les antigènes de surface du virus appartenaient à des types moléculaires qui avaient déjà circulé chez l'homme, 2/ les gènes constituant le virus et qui portent d'importants déterminants d'adaptation à l'espèce hôte étaient d'origine aviaire, ce qui pourrait expliquer une moins bonne "compatibilité" de ces virus réassortants chez l'homme.

Un cas de transmission directe de virus aviaire A(H7N7) a été décrit en 1996 (Kurtz *et al.*, 1996), (Banks *et al.*, 1998). Une femme âgée de 43 ans a contracté une conjonctivite virale consécutive à une infection par un virus A(H7N7) porté par au moins l'un des 26 canards qu'elle possédait. Ces derniers partageaient une mare avec des oiseaux sauvages. Le virus A/England/268/96 (H7N7) a pour origine les oiseaux aquatiques sauvages et son analyse génétique indique qu'il est également proche de virus de même sous type isolés chez la dinde en Irlande en 1995. Il s'agit de la première description d'une infection humaine à virus A(H7N7) transmise directement par un oiseau, même si une infection, associée également à une conjonctivite, par le sous type H7N7 avait déjà été rapportée chez un manipulateur de phoques touchés par une épizootie en 1979-1980 (Webster et Berton, 1981).

2.1.2.3.2 Transmission directe de virus aviaires à l'homme dans le contexte de la crainte d'un début de pandémie

2.1.2.3.2.a Episode dit de la grippe du poulet à virus A(H5N1) au deuxième semestre 1997

En août 1997, le virus isolé chez un enfant de trois ans, décédé à Hong Kong le 21 mai 1997 d'une pneumonie grippale associée à un syndrome de Reye est identifié comme un virus de grippe A(H5N1) (Claas *et al.*, 1998). Jamais jusque là, un virus de ce sous type n'avait été isolé d'un humain souffrant d'une infection respiratoire aiguë. Ce sous type viral est bien connu chez les oiseaux, notamment les volailles, chez qui il est responsable d'infections qui, selon les souches, peuvent être associées à une forte létalité; c'est un des virus de la peste aviaire. Après ce premier cas survenu en mai 1997 et identifié comme grippe A (H5N1) seulement le 13 Août 1997, la crainte d'un début de pandémie était retombée car l'analyse du virus en cause avait révélé qu'il s'agissait d'un virus intégralement d'origine aviaire, peu susceptible de se transmettre facilement au sein de la population humaine. D'ailleurs, il n'y avait pas eu de cas secondaire autour de ce premier cas et pendant plus de cinq mois, aucun autre cas n'était apparu. L'annonce d'un deuxième cas de grippe à virus A(H5N1) chez l'homme à Hong Kong au cours de la première semaine de novembre 1997, suivi de deux autres cas, dont un mortel quinze jours plus tard a fait de nouveau croître les craintes. A partir de là, au moins un nouveau cas était déclaré chaque semaine. La létalité associée aux gripes humaines à virus A(H5N1) était particulièrement préoccupante puisque fin décembre 1997, sur les dix-huit cas confirmés, six avait succombé.

Le facteur de risque principal d'infection au virus H5N1 était le contact direct avec les volailles vivantes. En effet une étude cas-témoins (âge, sexe et quartier) a porté sur 15 des 18 patients infectés. **L'exposition à la volaille vivante soit lors d'une visite chez un grossiste soit dans un marché, au cours de la semaine précédant le début de la maladie, était statistiquement associée à la grippe à virus H5N1** (64% des cas contre 29% des témoins, odds ratio de 4,5, $p=0,045$). **En revanche, les voyages, le fait de manger ou de préparer des produits issus de volailles, l'exposition à une personne atteinte d'une maladie respiratoire, y compris celles infectées par le virus H5N1, n'y étaient pas associées** (Mounts *et al.*, 1999).

Sur place, les autorités sanitaires ont pris des mesures immédiates comme l'information de la population et des acteurs de santé, la mise en place de protocoles pour la prise en charge des nouveaux cas et particulièrement de l'usage de l'amantadine, médicament antiviral (voir ci-dessous). Elles ont également publié sur leur site Internet, toutes les informations nécessaires au suivi de la situation avec une mise à jour quotidienne. L'OMS a également réagi dès le début de cet épisode et orchestré les actions menées par les Centres Mondiaux de la Grippe et surtout le CDC d'Atlanta. L'OMS a également tenu informé les Centres Nationaux de Référence de l'évolution de la situation.

En France, dès l'annonce du premier cas, la cellule de lutte contre la grippe a accéléré le rythme de ses réunions. Le plan de lutte qui avait été rédigé deux ans auparavant (cf. Réseau National de Santé Publique, groupe de travail pour l'élaboration de stratégies de prévention et de contrôle des épidémies

de grippe en France, Rapport à la Direction Générale de la Santé, septembre 1995, 17 pages + annexes) a pu être réévalué au regard d'une situation concrète et complété sur un certain nombre de points. Les autorités françaises chargées de la Santé Publique ont mis en œuvre des mesures concrètes très rapidement : information aux voyageurs de retour ou à destination de Hong Kong et plus généralement de la Chine et du sud-est asiatique, mise en place d'un système de prélèvement chez les personnes de retour de Hong Kong, limitation de l'introduction d'oiseaux et de volailles en provenance d'Asie du Sud-Est (Centres Nationaux de Référence de la Grippe, 1998)

Pendant deux mois, la vigilance internationale a été à son maximum. Les résultats des analyses des virus en cause étaient attendus avec impatience car l'émergence d'un virus réassortant ou d'un mutant adapté à l'homme conditionnait la survenue d'une nouvelle pandémie grippale à partir du foyer de Hong Kong. La connaissance de la nature intime des virus, de leur capacité de transmission inter-humaine était prioritaire et urgente pour que les autorités sanitaires de Hong Kong puissent élaborer un plan de lutte efficace. Le 27 décembre, les résultats de l'enquête sérologique menée par les Centers for Diseases Control autour du premier cas d'infection humaine par le virus aviaire A (H5N1) ont été rendus publics. Ils suggéraient très fortement que la source majeure sinon exclusive de l'infection de l'homme était constituée par des volailles vivantes infectées. Il semble cependant qu'il y ait eu transmission des patients aux personnels de santé, restés cependant asymptomatiques (Buxton Bridges *et al.*, 2000). Par ailleurs, l'analyse génétique des virus isolés des six premiers cas a montré que tous leurs gènes étaient exclusivement d'origine aviaire (Subbarao *et al.*, 1998) et donc qu'aucun réassortiment avec un virus de grippe de Mammifères n'avait eu lieu. Sur la base de ces données, les autorités sanitaires de Hong Kong ont procédé à l'abattage total des volailles d'espèce *Gallus gallus* du territoire de la zone administrative spéciale. Cette opération a commencé le 29 décembre 1997. Depuis, aucun nouveau cas de grippe humaine à virus A (H5N1) n'a été observé. Le bilan de cet épisode de grippe dite « du poulet » est donc de dix-huit cas confirmés parmi lesquels six décès sont à déplorer.

La promptitude des actions des autorités sanitaires de Hong Kong a évité la co-circulation dans la population humaine de virus A (H5N1) et de virus de grippe A (H1N1) ou A (H3N2) qui faisait courir le risque d'un réassortiment viral lors de la saison de grippe humaine dans cette partie du monde.

2.1.2.3.2.b Infection avec expression symptomatique grippale à virus H9N2

En mars 1999, deux cas humains de grippe à virus A (H9N2) confirmés virologiquement ont été rapportés à Hong Kong chez deux enfants. Ce sous type viral aviaire n'avait jamais été isolé chez l'homme. Il est intéressant de noter que ces virus isolés chez l'homme étaient proches d'un virus A(H9N2) isolé à partir de cailles à Hong Kong à la fin de l'année 1997. Il est d'autant plus remarquable que la composition génétique des segments dits « internes » de ces virus H9N2 indique qu'ils sont similaires à ceux des virus H5N1 ayant circulé chez les poulets et ayant infecté des hommes à Hong Kong en 1997 (Lin *et al.*, 2000). Cette communauté génomique a pu contribuer à exposer l'homme à des volailles infectés de virus H5N1. En effet, généralement, les poulets infectés par des souches virulentes H5N1 meurent rapidement n'atteignant pas les marchés ou étant manifestement peu propices à la consommation. Les poulets en 1997 auraient été partiellement immunisés par une protection croisée impliquant les protéines codées par les gènes dits internes des virus H9N2 qui les auraient infectés auparavant.

2.1.2.3.3 Traces sérologiques de contact entre humains et virus aviaires

Quelques études sérologiques indiquent l'infection, au moins abortive, de l'homme par des virus animaux et en particulier aviaires. Ainsi, une étude menée dans la province de Nanchang en Chine continentale montre que les fermiers élevant des porcs étaient séropositifs pour les virus H7Nx. Selon les auteurs, ces virus auraient pu être transmis directement des canards à l'homme (Zhou *et al.*, 1996). Une étude publiée la même année visant à examiner la possibilité de transmission interspèces et de réassortiment de virus grippaux en Chine continentale du Sud et portant sur 20 familles de fermiers et leurs animaux de septembre 1992 à septembre 1993 montre que huit des 156 sérums humains récoltés contenaient des inhibiteurs (anticorps ?) spécifiques de la neuraminidase de deux des cinq souches isolées des canards de ces fermes (Shu *et al.*, 1996). Depuis l'épisode dit de « la grippe du poulet », il est connu que la détection sérologique d'anticorps humains dirigés contre les

virus aviaires H5N1 est délicate et ne peut pas reposer dans ce cadre sur la seule inhibition de l'hémagglutination, technique classique de choix pour la recherche chez l'homme d'anticorps contre des virus humains. C'est pourquoi des solutions alternatives et notamment la combinaison de divers tests et le recours à des techniques comme la séroneutralisation ont été proposées (Rowe *et al.*, 1999).

Dans le cadre d'enquêtes sérologiques autour de cas suspects de grippe aviaire chez l'homme, la sensibilité des tests doit être prise en compte en toute connaissance des limitations évoquées précédemment.

2.1.2.3.4 Conclusion sur la transmission du virus des oiseaux à l'homme

En conclusion, si certaines souches d'influenzavirus aviaires peuvent effectivement passer directement des oiseaux à l'homme, il semble que ce passage constitue un phénomène exceptionnel et qu'il est favorisé par un contact étroit et/ou en atmosphère confinée avec les oiseaux infectés.

2.2 Tableaux cliniques et évolution de la maladie

Le diagnostic clinique de la grippe doit toujours tenir compte de la situation épidémiologique. Ainsi, parmi les prélèvements des médecins généralistes et des pédiatres du Groupe Régional d'Observation de la Grippe (GROG) Lorraine, en tout début de circulation des virus grippaux et avant l'épidémie, il n'est possible d'isoler ou de détecter un virus grippal que dans un syndrome grippal sur 10. En revanche, lorsque l'épidémie de grippe sévit dans la région, environ 7 gripes sur 10 diagnostiquées cliniquement reçoivent une confirmation virologique. Ceci illustre l'importance du contexte viro-épidémiologique lors de l'établissement du diagnostic.

Cliniquement, il existe tous les intermédiaires entre les formes asymptomatiques et la grippe compliquée qui entraîne le décès en quelques jours. La prévalence des formes asymptomatiques est inconnue.

2.2.1 Grippe commune

Après une courte incubation de 1 à 2 jours, la grippe classique débute brutalement. Contrairement aux autres infections respiratoires virales aiguës, les symptômes généraux précèdent les symptômes locaux. Ainsi, le début de la maladie se caractérise par une fièvre, supérieure à 38°C, accompagnée de myalgies, arthralgies, céphalées. Très rapidement, l'atteinte respiratoire se manifeste, le plus souvent sous la forme d'une pharyngite. L'infection grippale gagne ensuite de proche en proche l'appareil respiratoire plus profond. La toux apparaît et reflète la bronchite aiguë provoquée par le virus grippal. Pendant ce temps, la fièvre, après s'être maintenue élevée, baisse transitoirement vers le quatrième jour, remonte entre le cinquième et le sixième jour pour ensuite diminuer définitivement. La courbe de température dessine ainsi ce que l'on appelle le V grippal. L'évolution est en général très favorable et seules demeurent une asthénie et une toux qui peuvent durer plusieurs semaines.

2.2.2 Complications

2.2.2.1 Complications pulmonaires

Les complications de la grippe sont principalement pulmonaires (pour revue : Nicolson, 1998, Mandell, 1985, Harisson, 2000) :

- **La pneumopathie bactérienne secondaire** liée à la surinfection bactérienne des lésions dues au virus est la plus fréquente ; les germes les plus souvent isolés sont les *Streptococcus pneumoniae*, *Staphylococcus aureus*, *Haemophilus influenzae*. La pneumopathie bactérienne survient plus fréquemment chez les personnes âgées et chez les personnes atteintes de maladies chroniques cardiaques et pulmonaires.

- **La pneumopathie grippale virale primitive** est une complication peu fréquente qui peut évoluer vers un pronostic sévère qui dépend, en partie, de la virulence de la souche virale. Elle sévit surtout lors des pandémies. Elle aboutit, dans les cas graves, à une insuffisance respiratoire aiguë et mortelle en quelques jours. La pneumopathie virale primitive atteint, en particulier, des sujets présentant une maladie cardiaque, principalement une sténose mitrale, des adultes jeunes, sans antécédent pathologique (beaucoup de décès de jeunes adultes lors de la *grippe espagnole* de 1918-1919). La grossesse peut augmenter le risque de développement d'une pneumopathie virale primaire comme cela a été décrit lors des pandémies de 1918 et 1957 (Gordon Douglas *et al.*, 1985 ; Dolin, 2000 ; (<http://www.cdc.gov/mmwr/preview/mmwrhtml/00057028.htm>)).
- **Les pneumopathies mixtes virales et bactériennes** surviennent surtout chez les patients ayant une maladie cardiaque ou pulmonaire.

2.2.2.2 Aggravation des maladies chroniques sous jacentes

En dehors des complications déjà citées, la grippe peut s'accompagner, chez les sujets âgés et les sujets dits « à risque » que sont les personnes atteintes de maladie chronique respiratoire, cardiaque rénale, métabolique, immunologique ou drépanocytaire, quel que soit l'âge, d'une aggravation de la maladie chronique sous jacente (cardiaque, pulmonaire, métabolique, rénale).

2.3 Traitement

2.3.1 Traitement étiologique

Seuls l'amantadine et la rimantadine (absente actuellement du marché français), récemment le zanamivir ont à ce jour obtenu une autorisation de mise sur le marché en France. Ce sera prochainement certainement aussi le cas de l'oseltamivir. Administrés dans les 48 heures, ces antiviraux permettent de raccourcir la durée et l'intensité des symptômes.

L'amantadine (en France : Mantadix[®]) est un antiviral efficace dans le traitement des infections humaines à virus de grippe A (pour revue (Manuguerra and van der Werf, 1999)) et a été utilisé avec succès pour le traitement précoce des cas humains à virus A (H5N1) à Hong Kong entre novembre et décembre 1997 même si une large résistance des virus aviaires à hémagglutinine H5 avait été rapportée dans le passé (Wainright *et al.*, 1991).

Le zanamivir (Relenza[®]) (AMM dans l'Union Européenne) et l'oseltamivir (Tamiflu[®]) (pas encore d'AMM européenne)(pour revue (Manuguerra and van der Werf, 1999)) sont efficaces dans le traitement des gripes A et B humaines expérimentales ou naturelles (Aoki and Hayden, 1999; Hayden *et al.*, 2000; Hayden *et al.*, 1997; Hayden *et al.*, 1996; Whitley *et al.*, 2001). Les deux antiviraux se sont montrés actifs *in vitro* et *ni vivo* chez la souris sur les virus H5N1 (Leneva *et al.*, 2000).(Gubareva *et al.*, 1998b) et H9N2 (Leneva *et al.*, 2000) d'origine aviaire.

La grande plasticité du génome des virus grippaux, liée au taux d'erreur élevé de l'ARN polymérase virale au cours de la réplication, pose un problème majeur dans l'utilisation de ces antiviraux dans la mesure où des variants résistants à l'inhibiteur peuvent être rapidement sélectionnés à partir des virus d'origine humaine. Peu d'études concernent la sélection de variants résistants à partir des virus d'origine aviaire. Les virus résistants sont génétiquement stables *in vitro* comme *in vivo* chez l'animal lors de passages en absence d'inhibiteur. De plus, des expériences de co-infection *in vitro*, ou chez la souris, ont montré que la résistance peut être transférée par réassortiment d'un virus résistant à un virus sensible (Appleyard, 1977). La virulence des variants résistants est équivalente à celle des virus sensibles chez le poulet, la souris ou le furet. Chez le poulet ou la souris, les virus résistants sont transmis avec la même efficacité d'un animal traité aux animaux contacts (Hayden, 1996). Chez le poulet, il a également été démontré qu'en absence de pression de sélection et en présence de virus influenza aviaire sensible, les virus résistants sont transmis de façon efficace, indiquant qu'ils ne présentent aucun avantage, ni désavantage, sélectif compétitif (Bean *et al.*, 1989).

En cas d'infection grippale d'un sujet exposé souffrant d'une grippe A confirmée virologiquement en contact avec des volailles infectées par un virus grippal aviaire et avant même identification du sous type du virus grippal isolé chez le patient, le recours à ces molécules apparaît justifié, ce qui supposerait donc de mettre en œuvre plus largement le diagnostic virologique de la grippe humaine chez de tels sujets.

2.3.2 Traitement symptomatique

Le traitement de la grippe est encore le plus souvent uniquement symptomatique, malgré l'arrivée de la nouvelle classe d'antiviraux.

2.4 Prévention

2.4.1 La vaccination

La prévention repose presque exclusivement sur la vaccination. En France la couverture vaccinale des personnes de 75 ans et plus était de 73% au cours de la saison 2000-2001. Par contre, elle était au-dessous de 10% dans la population active de moins de 50 ans. (*source étude SOFRES Médicale - GEIG, saison 2000-2001*).

L'efficacité du vaccin dépend directement – quoique pas seulement – de l'adéquation entre souches circulantes et souches vaccinales. Pour garantir autant que possible l'adéquation avec les souches pathogènes ayant circulé chez l'homme au cours des derniers mois, la composition du vaccin humain contre la grippe est revue chaque année en février pour l'hémisphère nord et en septembre pour l'hémisphère sud.

En revanche, les sous types viraux circulant chez les espèces aviaires étant dans leur grande majorité non superposables aux sous types humains, il est illusoire de vacciner les sujets exposés pour les protéger contre des virus aviaires de grippe. Par contre, leurs vaccinations réduiraient le risque de réassortiment de virus humains au contact de virus aviaires, sous réserve que la vaccination humaine limite effectivement le portage viral.

2.4.2 La chimioprophylaxie

La chimioprophylaxie est en fait une métaphylaxie *sensu stricto* dans la mesure où contrairement au vaccin, auquel elle ne se substitue pas, son effet protecteur ne dure que pendant son administration en au moment de l'exposition au risque. Cette "prévention immédiate" est cependant particulièrement indiquée en cas d'exposition au risque en l'absence de vaccination préalable et tout spécialement en l'absence d'un vaccin disponible.

L'amantadine et la rimantadine sont indiquées dans la métaphylaxie de la grippe A mais elles ne le sont pas pour la grippe B. Ces molécules ont une efficacité de l'ordre de 70 à 90% dans la prévention de l'infection à grippe A (Demicheli *et al.*, 2000) (Tominack et Hayden, 1987) (Wintermeyer et Nahata, 1995) (pour revue Manuguerra et van der Werf, 1999). Elles n'interfèrent pas avec le développement des anticorps consécutifs à une vaccination par un vaccin injectable à virus inactivé. Ces molécules ont été largement utilisées, particulièrement aux Etats-Unis pour lutter contre la grippe dans des foyers qui ont éclaté dans des maisons de retraite (Tominack et Hayden, 1987) (Nicholson, 1996; Patriarca *et al.*, 1984).

En France ni le zanamivir ni l'oseltamivir n'ont obtenu d'AMM pour la prophylaxie. Cependant, les essais cliniques réalisés avec ces deux molécules indiquent qu'elles sont efficaces de manière équivalente pour prévenir la grippe confirmée virologiquement (84% pour le zanamivir et 82 % pour l'oseltamivir) (Monto *et al.*, 1999) (Hayden *et al.*, 1999).

La chimioprophylaxie peut être envisagée si un ou des cas de grippe grave ou de grippe avec décès dus à des virus aviaires surviennent chez des sujets exposés. Il faut donc sensibiliser les populations exposées et leur entourage médical pour faire des prélèvements en cas de syndrome grippal. Ces prélèvements doivent être systématiques chez le sujet exposé grippé en période de non-circulation du virus dans la région et/ou après qu'une forme grave de grippe soit survenue dans l'entourage exposé du sujet. Si l'origine aviaire du virus est confirmée, une prophylaxie pourra être proposée à l'ensemble de la population exposée.

3. Aspects cliniques et éléments d'épidémiologie des infections aviaires à virus influenza A.

3.1 Aspects cliniques

Toutes les espèces de volailles (poulet, dinde, canard, oie, pintade, faisan, perdrix, caille, autruches et autres ratites) sont susceptibles d'être infectées par les influenzavirus de type A. L'infection de ces volailles par ces virus peut être inapparente mais elle peut aussi provoquer un tableau clinique (indifférenciable de celui de la maladie de Newcastle) dont la gravité dépend : des caractéristiques de la souche virale, de l'espèce infectée (les palmipèdes étant très peu sensibles cliniquement, alors que les dindes sont les plus sensibles), de l'âge, des infections intercurrentes et des facteurs d'environnement.

Selon les paramètres précités, les formes cliniques suivantes peuvent être observées :

- Formes graves d'évolution aiguë ou suraiguë (peste aviaire), avec atteinte importante de l'état général, oedème de la tête, cyanose de la crête, des barbillons et de l'extrémité des pattes, troubles respiratoires marqués, troubles digestifs et parfois nerveux. La mort survient en un ou deux jours et le pourcentage de mortalité est supérieur à 75 p. cent de l'effectif.
- Formes subaiguës : une atteinte de l'état général est associée à des symptômes respiratoires et une chute de ponte. Dans certaines circonstances, le taux de mortalité peut atteindre 50 à 70 p. cent.
- Formes frustes : de légers symptômes respiratoires sont associés à des problèmes de ponte tels que chute de ponte, œufs décolorés et déformés.
- Formes asymptomatiques : très fréquentes.

L'influenza aviaire (hautement pathogène : HP) est défini légalement comme « une infection des volailles causée par tout virus influenza de type A ayant un indice de pathogénicité par voie intraveineuse (IPIV) supérieur à 1,2 (chez le poulet EOPS âgé de six semaines) ou toute infection causée par des virus influenza de type A et de sous types H5 ou H7 pour lesquels le séquençage des nucléotides a prouvé la présence d'acides aminés basiques multiples au niveau du site de coupure de l'hémagglutinine » (directive européenne 92/40/CEE, et J.O. arrêté du 8 juin 1994).

3.2 Eléments d'épidémiologie descriptive : espèces aviaires potentiellement à l'origine d'influenzavirus

Les études visant à déterminer quelles espèces aviaires sont potentiellement à l'origine des virus influenza ne permettent que rarement de préciser la prévalence des infections dues à ces virus dans la population aviaire générale, du fait de fréquents biais d'échantillonnage. Ainsi, lors des études concernant les oiseaux sauvages, le protocole de capture ne s'accompagne d'aucun échantillonnage (il n'y a pas sélection aléatoire des sujets capturés). De même en France, chez les volailles domestiques et jusqu'à un passé récent, seules quelques enquêtes sérologiques ponctuelles avaient été réalisées par sondage aléatoire (cf. infra paragraphe 3.1.2.2) et ce sont surtout les lots faisant l'objet d'une suspicion clinique, ou situés à proximité directe d'un foyer qui faisaient l'objet d'une surveillance sérologique, ce qui ne permettait pas non plus de préciser la prévalence réelle de l'infection dans l'ensemble des élevages. Par ailleurs, l'origine géographique des données est également biaisée, puisqu'elle est liée à la distribution des espèces aviaires domestiques ou sauvages et à la disponibilité locale de systèmes de surveillance adaptés (Easterday *et al.*, 1996).

3.2.1 Espèces aviaires sauvages

3.2.1.1 Prévalence des infections par les influenzavirus aviaires chez les oiseaux sauvages

Près de quatre-vingt dix espèces appartenant à 12 des 50 ordres d'oiseaux ont jusqu'à présent été à l'origine d'isollements de virus influenza (**tableau IV**). Le plus grand nombre et la plus grande variété de ces isolats ont été obtenus à partir d'espèces appartenant à l'ordre des ansériformes (canards, oies et cygnes). Sur un total de 2317 isolats viraux recensés dans un bilan datant de 1998 (Stallknecht, 1998), 93,8 % provenaient d'ansériformes et ces oiseaux avaient le taux moyen d'isolement le plus élevé (15,2 %), suivis des passeriformes (passereaux, 2,9 %) et des charadriiformes (sternes, goélands et limicoles, 2,2 %). Les piciformes (pics) constituent avec les passeriformes les seuls ordres d'oiseaux sauvages non aquatiques s'étant avérés porteurs de virus influenza. Un doute subsiste concernant les columbiformes (pigeons), pour lesquels des rapports contradictoires font état soit de l'isolement de virus influenza (Stallknecht, 1998), soit au contraire d'une résistance complète à l'infection (Slemons et Easterday, 1972, cités par Stallknecht et Shane, 1988). Le taux moyen d'isolement à partir d'espèces autres que les canards et les oies approchait 2 % (Stallknecht, 1998), alors que chez les ansériformes il semble pouvoir varier d'environ 6 % chez les adultes en migration d'automne (Slemons *et al.*, 1991) jusqu'à 60 % chez les juvéniles dans les rassemblements pré-migratoires (Hinshaw *et al.*, 1980), quoique chez ces derniers des pourcentages voisins de 20 % soient plus fréquemment rapportés (Webster *et al.*, 1977, Hinshaw *et al.*, 1978). En France, une étude réalisée en Baie de Somme (Parc Ornithologique du Marquenterre) de 1976 à 1978 par l'Institut Pasteur (Pr. Claude Hannoun) a mis en évidence une prévalence variant de 1 à 16 % des sujets prélevés chez les cinq espèces de canard qui s'avéraient porteuses de virus influenza aviaires (Hannoun et Devaux, 1981). **Plus récemment, en Europe, les Pays-Bas qui ont réalisé les études les plus récentes et les plus fournies ont rapporté l'examen de 3800 échantillons et une prévalence d'environ 1 % chez les canards et les oies (espèces aviaires non précisées, source = Réunion communautaire annuelle des Laboratoires Nationaux de Référence pour les pestes aviaires, Uppsala, Suède, 26-28 avril 2001).**

Tableau IV : Espèces aviaires ayant permis l'isolement de virus influenza A (d'après Stallknecht et Shane, 1988 ; et Stallknecht *et al.*, 1997)

Ordre	Types d'espèces	Espèces concernées
<i>Gaviiformes</i>	Plongeurs	<i>Gavia stellata</i> <i>G. arctica</i>
<i>Podicipediformes</i>	Grèbes	<i>Podilymbus podiceps</i>
<i>Procellariiformes</i>	Puffins	<i>Puffinus pacificus</i>
<i>Pelecaniformes</i>	Pélicans, Cormorans	<i>Phalacrocorax carbo</i>
<i>Ciconiiformes</i>	Cigognes, Ibis, hérons	<i>Plegadis falcinellus</i> <i>Ardea cinerea</i> <i>Ardeola ralloides</i>
<i>Ansériformes</i>	Canards, cygnes, oies	<i>Cygnus olor</i> <i>C. colombianus</i> <i>Anser anser</i> <i>A. albifrons</i> <i>Branta canadensis</i> <i>Tadorna tadorna</i> <i>T. tadornoides</i> <i>Aix sponsa</i> <i>Anas penelope</i> <i>A. americana</i> <i>A. falcata</i> <i>A. strepera</i> <i>A. crecca</i> <i>A. gibberifrons</i> <i>A. platyrhynchos</i> <i>A. rubripes</i> <i>A. poecilorhyncha</i> <i>A. acuta</i> <i>A. querquedula</i> <i>A. discors</i> <i>A. cyanoptera</i> <i>A. clypeata</i> <i>Aythya valisineria</i> <i>A. americana</i> <i>A. fuligula</i> <i>A. collaris</i> <i>Melanitta fusca</i> <i>Clangula hyemalis</i> <i>Bucephala albeola</i> <i>Oxyura jamaicensis</i>
<i>Galliformes</i>	Perdrix, Faisan	<i>Alectoris graeca</i> <i>Phasianus colchicus</i>
<i>Gruiformes</i>	Foulques, poules d'eau, râles	<i>Gallinula chloropus</i> <i>Fulica atra</i> <i>F. americana</i>
<i>Colombiformes</i>	Pigeons, tourterelles	<i>Streptopelia decaocto</i>

(Suite Tableau IV)

Ordre	Types d'espèces	Espèces concernées
Charadriiformes	Limicoles, goélands, sternes	<i>Arenaria interpres</i> <i>Vanellus spinosus</i> <i>Scolopax rusticola</i> <i>Calidris alpina</i> <i>C. temminckii</i> <i>C. alba</i> <i>Larus delawarensis</i> <i>L. argentatus</i> <i>L. marinus</i> <i>L. pipixcan</i> <i>L. ridibundus</i> <i>L. genei</i> <i>L. crassirostris</i> <i>L. paradisea</i> <i>Sterna hirundo</i> <i>S. fuscata</i> <i>S. sandvicensis</i> <i>Chlidonias leucoptera</i> <i>Anous stolidus</i> <i>Uria aalge</i>
Piciformes	Pics	<i>Dendrocopos major</i>
Passeriformes	Passereaux	<i>Musicapa striata</i> <i>Empidonax alnorum</i> <i>Hirundo rustica</i> <i>Corvus monedula</i> <i>C. corone</i> <i>Phoenicurus phoenicurus</i> <i>Catharus guttatus</i> <i>C. ustulatus</i> <i>Sylvia borin</i> <i>S. communis</i> <i>Phylloscopus trochiloides</i> <i>Hippolais icterina</i> <i>Motacilla flava</i> <i>Lanius Collurioides</i> <i>Sturnus vulgaris</i> <i>Vermivora peregrina</i> <i>Dendroica petechia</i> <i>D. coronata</i> <i>D. dominica</i> <i>Passer domesticus</i> <i>Emberiza aureola</i> <i>E. spodocephala</i> <i>Carpodacus purpureus</i> <i>Zonotrichia melodia</i>

A priori tous les sous types de virus influenza peuvent être isolés chez les oiseaux sauvages. Il a cependant été observé des différences significatives entre les sous types hébergés par les charadriiformes ou les canards (Kawaoka *et al.*, 1988) ainsi qu'entre les sous types circulant chez les oiseaux migrateurs de l'ancien ou du nouveau monde (Süss *et al.*, 1994 ; Ito *et al.*, 1995). La transmission d'un virus influenza aviaire des oiseaux migrateurs du compartiment eurasien à ceux du compartiment américain reste cependant possible, comme cela a été démontré avec le sous type H2. Cette transmission s'accompagne d'une rapide évolution de la souche virale qui s'adapte à un nouvel environnement (Makarova *et al.* 1999). En France, l'étude déjà mentionnée réalisée dans le Marquenterre et prolongée jusqu'en 1982 a permis la mise en évidence de virus porteurs de huit des treize, aujourd'hui quinze, espèces moléculaires connues d'hémagglutinines et de six des neuf espèces moléculaires connues de neuraminidases (C. Hannoun, communication personnelle à J.-C.

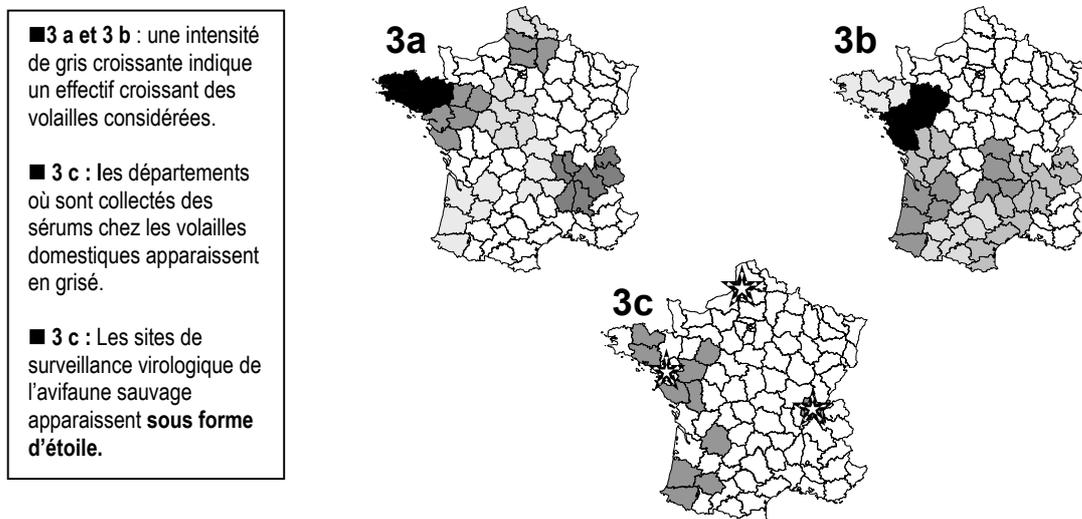
Manuguerra). Les virus influenza isolés chez les oiseaux sauvages ne sont pas, en général, hautement pathogènes pour l'avifaune domestique. Lorsqu'exceptionnellement c'est le cas, il a été suggéré sur la base d'une concordance temporelle et spatiale que les oiseaux sauvages s'étaient infectés au contact de volailles domestiques à l'occasion d'épizooties d'HPAI (Alexander, 2000 ; Capua *et al.*, 2000).

3.2.1.2 Etat actuel de la surveillance en France des infections à virus influenza chez l'avifaune sauvage

Surveillance par le Centre National de Référence sur la grippe (Institut Pasteur, Paris) : Le programme de recherches sur l'écologie des virus grippaux a été repris depuis 2000 à l'Institut Pasteur qui continue à bénéficier d'un accès au parc ornithologique du Marquenterre (**Figure 3c**) et de l'aide précieuse de ses collaborateurs. L'étude consiste à assurer sur la période la plus longue et continue possible des prélèvements chez les oiseaux d'eau capturés pour d'autres raisons, comme par exemple leur baguage. Il s'agit d'espèces non protégées. Les connaissances sont fragmentaires et souffrent d'un défaut d'échantillonnage raisonné. La première étape a été la reprise du programme, rapidement il sera nécessaire d'améliorer les protocoles en fonction des résultats. Environ 300 prélèvements ont été ou sont en cours d'analyse. Des virus aviaires ont déjà été isolés et leur caractérisation génotypique complète est en cours. Au-delà de la stricte surveillance sur le territoire français, un certain nombre d'Instituts du Réseau International des Instituts Pasteur et Instituts Associés ont adopté ce sujet et se sont fédérés autour d'un projet dit « Oiseaux ». Il s'agit notamment d'établissements situés sur les voies de migration qui mènent les oiseaux de l'Europe du Nord aux côtes de l'Afrique de l'Ouest, comme l'Institut Pasteur de Dakar. La connaissance de la circulation des virus grippaux n'est pas destinée à effectuer une surveillance en tant que telle, mais plutôt à se situer en amont, au niveau de la veille virologique. Par une meilleure connaissance de l'écosystème des virus grippaux chez leurs hôtes ancestraux, il s'agit d'en comprendre la diversité et de se placer à un bout de la longue chaîne d'événements qui pourraient aboutir à l'émergence chez l'homme (ou chez un autre mammifère) d'un nouveau sous type de virus de grippe A, susceptible de s'inféoder à notre espèce et de causer d'abord une pandémie puis des épidémies régulières.

Surveillance par le LNR pour les pestes aviaires (Afssa, Ploufragan) : Dans le cadre d'une convention de recherche avec l'Office National de la Chasse et de la Faune Sauvage (ONCFS) d'une durée de 3 ans courant jusqu'à fin 2003, le LNR conduit deux enquêtes dans les départements de la Loire Atlantique et de l'Ain, dans les réserves du Massereau (44) et au Parc des Oiseaux de Villars les Dombes (01). Les zones étudiées représentent des régions d'intérêt migratoire majeur pour les Ansériformes sauvages et sont complémentaires de la zone étudiée par le CNR sur la grippe (**Figure 3c**). Par ailleurs, les sites d'étude du LNR sont situés dans des régions où l'élevage avicole, fortement implanté, se distingue par une présence plus forte de volailles sur parcours (volailles ayant un accès à l'extérieur du bâtiment d'élevage, donc susceptibles d'entrer en contact avec des oiseaux sauvages). Plusieurs centaines d'échantillons virologiques ont déjà été collectés à partir d'espèces aquatiques capturées (canards colverts, sarcelles d'hiver, foulques macroules et grands cormorans) ou de canards Pékins sentinelles (sujets sérologiquement négatifs vis-à-vis des virus influenza, placés au contact des oiseaux sauvages). L'analyse des échantillons collectés la première année a déjà permis l'isolement de virus influenza de sous type H6. L'objectif de l'étude est de recueillir des informations permettant de comparer les populations virales circulant chez les oiseaux sauvages et celles circulant chez les volailles domestiques (cf infra, surveillance chez les volailles domestiques).

Figure 3. Répartition en France des principales zones d'élevage de poules pondeuses d'œufs de consommation ayant accès à un parcours extérieur (3a), des principales zones d'élevage des volailles de chair ayant accès à un parcours extérieur (3b) et des zones de surveillance sérologique ou virologique des infections à influenza virus chez les volailles domestiques et les oiseaux sauvages (3c).



3.2.2 Oiseaux de compagnie

3.2.2.1 Prévalence des infections par les influenza virus aviaires chez les oiseaux de compagnie et/ou d'ornement

Les ansériformes sont rarement mentionnés dans cette catégorie, mais pourraient logiquement constituer une source si des contacts sont possibles avec des ansériformes sauvages. Les espèces d'ornement mentionnées comme porteuses de virus influenza sont essentiellement des passereaux, moins fréquemment des psittacidés, et les sous types isolés essentiellement H3 et H4, rarement H10 ou H7 (Senne *et al.*, 1983 ; Alexander, 2000). La fréquence de portage est inconnue. Les analyses effectuées aux Etats-Unis de 1974 à 1981 dans des structures de quarantaine privées font apparaître suivant les années 16 à 34 % de lots importés porteurs de virus hémagglutinants autres que le paramyxovirus de la maladie de Newcastle ; suivant les années, les virus influenza représentaient 0,2 % à 64 % des virus isolés (Senne *et al.*, 1983).

3.2.2.2 Surveillance en France des infections à virus influenza chez les oiseaux de compagnie et/ou d'ornement

Il n'y a pas à l'heure actuelle de donnée disponible concernant la prévalence des influenza virus en France chez les oiseaux d'ornement. La Décision Communautaire 2000/666 (modifiée par la décision 2001/383) est entrée en application le 1^{er} novembre 2001 et concerne le renforcement des mesures de quarantaine lors de l'importation dans l'Union Européenne d'oiseaux de compagnie en provenance des pays tiers. Elle prolonge la durée de la quarantaine à 30 jours pour toutes les espèces d'oiseaux d'ornement (contre 7 jours précédemment pour les espèces autres que les psittacidés), fixe les conditions de cette quarantaine et impose des examens virologiques réalisés par un laboratoire agréé sur des écouvillons cloacaux prélevés dans tous les lots importés (en l'absence de signes cliniques évocateurs apparus au cours de la quarantaine, l'examen virologique peut être remplacé par un examen sérologique réalisé sur des poussins sentinelles placés au moins 21 jours au contact des oiseaux importés). Il est à noter que cette directive, si elle fixe les bases nécessaires à une surveillance comparable à celle évoquée au paragraphe 3.2.2.1 n'en est qu'à sa phase de mise en place. Ainsi en France, les quelques centres importateurs d'oiseaux d'ornement ne disposent pas des structures de quarantaine adéquates et n'ont donc pas encore été agréés aux termes prévus par la nouvelle directive. En conséquence, aucune importation d'oiseaux d'ornement n'est plus actuellement autorisée en provenance de pays tiers.

3.2.3 Volailles d'élevage

3.2.3.1 Prévalence des infections par les influenzavirus aviaires chez les volailles d'élevage

L'espèce dinde (*Meleagris gallopavo*) est régulièrement décrite comme la plus sensible aux infections par les virus influenza, quoique l'espèce poule (*Gallus gallus*) ait été à l'origine de l'isolement viral dans 12 des 18 épisodes cliniques d'HPAI qui sont survenus depuis 1959 (Alexander, 2000). Ainsi, au cours de la récente épizootie causée en Italie par un virus H7N1, les élevages de dinde (chair et reproducteurs) ont représenté 85 % des 199 cas diagnostiqués sous la forme LPAI de mars 1999 à Avril 2000 et 43 % des 413 cas diagnostiqués sous la forme HPAI pendant la même période (Capua *et al.*, 2000), contre seulement 12 et 36 % des cas pour l'espèce poule (élevages de chair, reproducteurs et pondeuses).

Les espèces de volailles domestiques moins fréquemment élevées, telles que le canard, l'oie, la pintade, la caille, le faisan, la perdrix (Easterday *et al.*, 1996) et les ratites (autruches, emeus et casoars) (Alexander *et al.*, 2000) sont également sensibles à l'infection.

3.2.3.1.1. Episodes à influenzavirus aviaires hautement pathogènes

Les épisodes cliniques liés à l'infection d'espèces sensibles par les virus influenza responsables d'HPAI sont rares (18 recensés dans le monde entier depuis 1959, aucun en France, cf. Tableau III), mais leur ampleur peut être considérable (plus de 400 élevages touchés en Italie du Nord de mars 1999 à Avril 2000, Capua *et al.*, 2000).

3.2.3.1.2 Infections par les influenzavirus aviaires non hautement pathogènes

La fréquence des infections par les virus influenza responsables de LPAI est encore mal connue. Aux Etats-Unis, il a été montré qu'elle peut être très élevée : Dans l'Etat du Minnesota, 2^{ème} état producteur de dindes aux Etats Unis, où les techniques d'élevage de dinde en semi plein air conduisent à des contaminations fréquentes liées à la présence d'ansériformes migrateurs, ce sont ainsi plus de 100 épisodes de LPAI qui ont été identifiés de 1978 à 1999 (entre autres grâce à l'examen sérologique systématique de 20 sérums prélevés dans chaque lot de dindes produit ou abattu dans l'Etat), sans qu'aucune epizootie d'HPAI ait jamais été observée (Halvorson, 2000). En Europe, les données les plus récentes (2000) proviennent d'Allemagne et des Pays-Bas, pays qui font figure de leaders dans le domaine de l'étude de la prévalence des infections à virus influenza. Pour l'Allemagne, l'analyse d'environ 20 000 sérums de dindes (correspondant à 2000 lots) et de 15 500 sérums provenant essentiellement de pondeuses (soit 1600 lots) a fait apparaître une prévalence des sérums positifs de respectivement 0,8 % (sous type H6 surtout et H1) et 0,06 % (sous type H1). Aux Pays-Bas, 18 400 sérums ont été analysés. Ils correspondent à 390 lots de poulets, dindes de chair, reproducteurs, poulettes ou pondeuses ayant présenté une mortalité supérieure ou égale à 0,5 % en 24 heures et/ou une chute de ponte supérieure à 5 % pendant plus de 7 jours et/ou une médication en rapport avec une maladie infectieuse. Une prévalence de sérums positifs égale à 0,1 % en l'absence de détection de virus des sous types H5 ou H7 a été mise en évidence (source = réunion communautaire annuelle des Laboratoires Nationaux de Référence pour les pestes aviaires, Uppsala, Suède, 26-28 avril 2001).

En France au cours des 20 dernières années, trois enquêtes sérologiques limitées dans le temps ont été réalisées dans les abattoirs de l'Ouest de la France par le LNR des pestes aviaires. Aucune de ces enquêtes n'a permis de détecter de cas d'infection aviaire par les influenzavirus. Les enquêtes ont porté sur 116 lots de poulets de chair industriel et 7 lots de poulets labels à la fin de l'hiver et au printemps 1981, sur 84 lots de canards de Barbarie (dont 27 élevés en semi-claustration ou sur parcours) au premier trimestre 1982 (Marius *et al.*, 1983), enfin sur 32 lots de poulets et 18 lots de dindes industriels en septembre 1991 (Communications personnelles J.P. Picault, M.Guittet, H. Le Coq et P. Drouin, Afssa site de Ploufragan).

Afin de produire des données actualisées pour la France, le LNR a récemment procédé, avec la collaboration de 24 laboratoires de diagnostic vétérinaire (représentant 16 départements dont 15 de France métropolitaine), à un recensement des analyses sérologiques effectuées en matière d'Influenza aviaire entre le début janvier 2000 et la fin Avril 2001. Durant cette période et toutes espèces de volailles confondues, 7987 sérums issus de 480 lots avaient été examinés, et 329 sérums issus de 24 lots trouvés positifs, avec une prévalence des lots positifs de 5,3 % pour les élevages de

dindes et de 2,5 % pour les élevages de poulets ou poules. Ces résultats constituent certes une estimation précieuse basée sur des données récentes, mais ils doivent néanmoins être considérés avec prudence, ne serait ce que parce le recrutement des sérums recensés conduit à prendre en compte une proportion de lots cliniquement suspects bien supérieure à ce que cette proportion doit être dans la population générale des élevages (l'approche française se focalise encore plus que l'étude néerlandaise déjà citée sur les suspicions cliniques). **En conséquence, la prévalence qui est estimée en France à environ 5 % à partir d'un tel recensement pourrait s'avérer assez fortement surestimée, raison pour laquelle une autre enquête est en cours** (cf. paragraphe 3.2.3.2.).

3.2.3.2 Surveillance en France des infections à virus influenza chez les volailles d'élevage

La réglementation actuelle (cf annexe textes réglementaires) impose toujours la réalisation d'analyses virologiques et sérologiques lors de toute suspicion clinique, et continue à fournir des éléments permettant l'estimation de prévalence évoquée ci avant.

Par ailleurs, pour obtenir une estimation nationale plus exacte de la prévalence en France des infections à virus influenza, un programme de surveillance vient d'être mis en place par la DGAI, en collaboration avec le LNR. Ce programme concerne les dindes de chair, dindes reproductrices, canard gras, poulets « label » ou issus de l'agriculture biologique. Onze départements participeront à l'étude au travers d'au moins une des productions précitées (**Figures 3a et 3b**). Les analyses porteront sur environ 22 000 sérums de poulets et de dindes, auxquels s'ajouteront environ 9000 sérums de canard prélevés systématiquement, essentiellement en abattoir, en dehors de tout contexte de suspicion clinique. Les sérums seront surtout collectés durant les saisons d'automne et d'hiver 2001/2002, les résultats devant être disponibles au deuxième semestre 2002.

3.3 Eléments d'épidémiologie analytique

3.3.1 Matières virulentes et transmission

Les virus influenza aviaires sont excrétés par les oiseaux infectés au niveau du tractus respiratoire, de la conjonctive et des fèces, ces derniers contenant jusqu'à 10^7 particules infectieuses par gramme (Utterback, 1984, cité par Alexander et Gough, 2000).

Les voies naturelles de transmission entre oiseaux sont le contact direct ou indirect avec des sujets infectés, le contact indirect incluant l'exposition aux aérosols ou le contact avec un environnement contaminé (les virus influenza aviaires survivent expérimentalement plus de 60 jours dans l'eau, Stallknecht *et al.*, 1990, et peuvent être isolés de l'eau de lacs naturellement contaminés, Ito *et al.*, 1995).

Il n'y a pas de cas documenté de transmission verticale de l'influenza aviaire. Cependant, les œufs pondus 3 et 4 jours après infection expérimentale peuvent être contaminés superficiellement et à l'intérieur de l'œuf, et des œufs naturellement contaminés ont été mis en évidence lors d'une épizootie d'influenza aviaire en Pennsylvanie (Easterday *et al.*, 1996).

Les oiseaux sauvages s'infectent par voie orale à partir d'eaux contaminées par les virus influenza précités et les multiplient, abondamment, en général de façon asymptomatique dans leur tractus intestinal. Les virus ainsi excrétés par voie fécale à des titres élevés contribuent à contaminer l'environnement et à favoriser le cycle d'infection, d'autant que ces virus peuvent résister plus de trois mois dans une eau douce légèrement basique et à une température modérée.

3.3.2 Durée d'excrétion

Les durées d'excrétion sont variables suivant les souches virales et les espèces aviaires considérées.

Différents virus influenza aviaires de sous types H5, hautement ou faiblement pathogènes, ont été inoculés expérimentalement par les voies intramusculaire ou intranasale à des poulets âgés de 2 semaines, des dindes âgées de 2 semaines, des cailles âgées de 4 à 8 semaines et des canards Khaki Campbell âgés de 2 semaines (Alexander *et al.*, 1986). Des écouvillonnages trachéaux ou cloacaux ont été réalisés jusqu'à 21 jours sur les sujets inoculés ainsi que sur des sujets non inoculés placés à leur contact. **Le réisolement viral s'est avéré possible à partir de pools d'écouvillonnages trachéaux ou cloacaux provenant des sujets inoculés, au plus tard jusqu'à 14 jours chez les poulets (18 jours chez les poulets contact), 21 jours chez les dindes, 18 jours chez les cailles et 11 jours chez les canards (Alexander *et al.*, 1986).**

Une autre étude montre qu'un influenza virus de sous type H5N1 isolé chez la dinde et inoculé expérimentalement **chez l'autruchon de 15 jours peut être réisolé à partir d'écouvillons trachéaux jusqu'à 12 jours après inoculation**, mais pas à 16 ou 20 jours. La durée d'excrétion de cette souche virale ne peut être étudiée chez le poulet, tous les sujets inoculés étant morts dès 5 jours après inoculation. Une autre souche virale de sous type H5N2, isolée chez l'autruche et étudiée dans les mêmes conditions, **est réisolée jusqu'à 12 jours après inoculation, tant chez l'autruche que chez le poulet (Manvell *et al.*, 1995).**

3.3.3 Prévalence des influenza virus au sein des lots infectés

Au sein d'un élevage contaminé, les influenza virus responsables d'influenza aviaire hautement pathogène infectent rapidement la totalité de l'effectif sensible présent, ainsi que le montre le chiffre de 100 % de mortalité qui peut être atteint en 48 à 72 heures.

Les influenza virus aviaires non hautement pathogènes finissent également par infecter la totalité de l'effectif du lot, ainsi que le suggère le fait que des séroconversions généralisées à tout l'effectif examiné sont observées à l'occasion de prises de sang tardives dans les cas de LPAI.

4. Exposition de l'homme aux virus influenza A aviaires

4.1 Matières potentiellement virulentes et dose infectieuse pour l'homme

Les seules matières virulentes évoquées ici sont celles entrant dans le champ du point 1 de la saisine, à savoir « quels sont les risques de transmission de virus influenza aviaires à l'homme lors des manipulations d'oiseaux malades ou porteurs de virus ». L'existence d'autres matières ou supports susceptibles d'être à l'origine de contaminations indirectes (tels que par exemple l'eau souillée par des déjections infectieuses) doit être soulignée, mais dépasse le cadre strict des manipulations d'oiseaux envisagées ici.

Les doses infectieuses de virus grippaux pour l'homme ne sont généralement pas connues pour des raisons liées aux difficultés d'obtention de données dans le cadre des infections naturelles et à la difficulté de réaliser des infections expérimentales chez l'homme. Pour les virus appartenant aux sous types viraux normalement inféodés aux oiseaux, il apparaît déontologiquement impossible d'envisager de tels essais. Il est probable que la dose infectante des virus grippaux pour l'homme, au-delà de la sensibilité individuelle (âge, passé immunitaire, et pourquoi pas fond génétique), varie avec les souches virales au sein d'un même type, d'un même sous type et d'un même variant antigénique. A titre indicatif, dans les infections expérimentales humaines réalisés dans le cadre d'essais cliniques de phases 1-2, une suspension virale, titrant 100 000 Doses Infectieuses en Culture Cellulaire 50% (DICC₅₀), de la souche A/Texas/91(H1N1) a permis d'infecter des volontaires sains (Hayden *et al.*, 1996).

4.1.1 Sécrétions respiratoires et contenu digestif des oiseaux infectés

Cf. paragraphe 3.3.1

4.1.2 Tissus et phanères dérivés d'animaux infectés

Compte tenu de ce qui précède, les produits dérivés facilement souillés par les fientes, tels que les plumes, constituent une source potentiellement importante de virus influenza.

En ce qui concerne les viandes, les virus influenza responsables de LPAI ne sont présents qu'au niveau digestif et/ou respiratoire chez les oiseaux infectés. Les tissus et carcasses obtenus par abattage de tels sujets ne sont donc pas contaminés en profondeur (Mo *et al.*, 1997) mais une contamination des viandes par souillure superficielle reste possible. En revanche, les virus influenza responsables de l'HPAI sont pantropes (cf. paragraphe 1.6.2) et peuvent à ce titre être retrouvés sous une forme infectieuse dans différents tissus de l'organisme (**tableau V**). Il importe cependant de noter que les volailles domestiques sensibles à l'HPAI développent rapidement des symptômes (jusqu'à 100 % de mortalité en 48 à 72 heures). Du fait des réglementations en vigueur en France concernant l'inspection *ante mortem* des volailles et des mesures de lutte contre l'influenza aviaire (cf annexe textes réglementaires), de tels sujets ne peuvent être acheminés à l'abattoir et doivent être détruits dans l'élevage après confirmation du diagnostic d'HPAI. **Il est donc très improbable que des volailles sensibles contaminées par un virus influenza responsable d'HPAI donnent lieu à la production de viandes contaminées.** Il a par contre été montré que des virus influenza hautement pathogènes chez la dinde ou le poulet pouvaient infecter de façon inapparente une espèce naturellement résistante telle que le canard et diffuser de façon systémique chez ce dernier (Kawaoka *et al.*, 1987). **L'éventualité d'un tel portage asymptomatique d'un virus influenza hautement pathogène chez des espèces domestiques résistantes élevées en zone d'épizootie a été évoquée comme une possible source de virus influenza à l'origine d'une épizootie d'HPAI survenue chez la dinde en Irlande en 1983.**

Il est à noter que la réfrigération ou congélation nécessaire à la conservation des viandes crues est favorable à la survie des virus influenza. Bien que le pH légèrement acide des viandes crues contribue à réduire le titre viral, il ne suffit pas à inactiver les virus influenza dans les viandes.

Tableau V : Distribution des antigènes de différentes souches de virus influenza dans différents organes de poulet. Détection par immuno histochimie 2 à 10 jours après inoculation expérimentale par voie intratrachéale d'environ 10^4 doses letales pour l'embryon 50 % (DLE₅₀) de virus responsable d'HPAI, et d'environ 10^5 DLE₅₀ de virus responsables de LPAI à des poulets EOPS âgés de 4 semaines (d'après Mo *et al.*, 1997).

Organe ^a	Souche de virus influenza inoculée				
	A/Chicken/Pennsyl -vania/1370/83	A/Chicken/Victoria/ 85	A/turkey/Ontario/77 32/66	A/Chicken/Pennsyl -vania/21525/83	A/Chicken/Alaba- ma/75
	H ₅ N ₂ (HPAI)	H ₇ N ₇ (HPAI)	H ₅ N ₉ (HPAI)	H ₅ N ₂ (LPAI)	H ₄ N ₈ (LPAI)
Cerveau	12/15 ^b	9/15	2/15	0/14	0/15
Cœur	12/15	13/15	3/15	0/14	0/15
Rate	4/15	5/15	2/15	0/14	0/15
Pancréas	8/15	5/14	2/14	0/13	0/15
Muscle squelettique	7/15	4/15	1/15	0/14	0/15
Rein	13/15	7/14	2/14	0/14	0/15
Poumon	8/15	10/14	5/15	1/14	0/15
Trachée	4/15	1/15	0/15	2/13	0/15
Total	65/120	54/117	17/119	3/110	0/120

^a : Absence de virus dans la bourse de Fabricius, le thymus, l'intestin, la moëlle osseuse, le foie et les amygdales caecales. Le proventricule et le gésier n'ont pas été testés.

^b : Nombre de sujets positifs en immunohistochimie / nombre de sujets testés

4.2. Populations humaines potentiellement exposées

La prévalence des infections à virus influenza dans les différentes populations aviaires mentionnées précédemment n'étant pas connue en France, on ne parlera ici que de populations humaines « potentiellement exposées » et non de « populations exposées ». La prévalence des infections à virus influenza chez les différentes populations humaines citées n'a qu'exceptionnellement été évaluée.

Les voies de contamination envisageables pour la transmission de virus influenza aviaires à l'homme (voie respiratoire si contact étroit et dose virale élevée, voie intraoculaire pour des contaminations ponctuelles et accidentelles) ont déjà été développées (cf paragraphe 2.1.2.3). L'intensité de l'exposition potentielle chez les populations humaines sera appréciée en fonction de la fréquence des contacts, par ces voies de contamination, avec les matières virulentes citées au paragraphe 4.1.

4.2.1 Populations humaines au contact d'oiseaux sauvages

Les populations humaines potentiellement exposées à un contact avec les virus influenza aviaires semblent essentiellement consister en *i*) le personnel des instituts et organisations impliqués dans l'étude de la faune sauvage, particulièrement le personnel amené à manipuler du gibier d'eau (ansériformes, charadriiformes) ou à fréquenter les zones de rassemblement hivernal de ces espèces, *ii*) les chasseurs et *iii*) le public fréquentant les réserves naturelles. Les deux premières catégories de population pourraient être placées au contact direct de certaines espèces aviaires susceptibles d'excréter de fortes concentrations virales et semblent donc potentiellement plus exposées que la troisième catégorie, tant aux contaminations respiratoires qu'accidentelles.

Cependant, à ce jour, aucun cas humain d'infection par un influenza virus aviaire avec manifestations cliniques n'a été décrit consécutivement à la manipulation d'oiseaux sauvages.

4.2.2 Populations humaines au contact d'oiseaux d'ornement

Les populations humaines potentiellement exposées à un contact avec les virus influenza aviaries semblent essentiellement consister en *i)* les éleveurs et leur familles, *ii)* les personnes impliquées dans le commerce des espèces d'ornement et *iii)* le personnel et les visiteurs des expositions avicoles ou des parcs maintenant en captivité des espèces aviaries.

Le seul cas rapporté de transmission d'un virus influenza aviaire à partir d'oiseaux d'ornement concerne une anglaise de 43 ans, qui se serait accidentellement inoculée par voie intra oculaire avec un fragment de paille, au cours d'opérations de nettoyage d'une volière occupée par des canards ayant des contacts avec des oiseaux sauvages (Kurtz *et al.*, 1996).

L'exposition potentielle des catégories de population mentionnées ci-dessus devrait logiquement être augmentée d'une part lorsque les contacts ont lieu avec de larges rassemblement d'oiseaux d'âges ou d'origines divers (ayant le cas échéant des contacts avec des oiseaux sauvages comme ce peut être le cas dans certains parcs) et d'autre part lorsque les contacts sont prolongés et en atmosphère confinée. On peut donc estimer que les visiteurs occasionnels constituent la catégorie la moins exposée, par opposition avec les éleveurs, commerçants ou professionnels des expositions avicoles et parcs ornithologiques.

4.2.3 Populations humaines au contact d'oiseaux d'élevage

Compte tenu de l'épidémiologie des infections à virus influenza chez les oiseaux d'élevage (cf. paragraphe 3.2) et des mesures réglementaires visant à limiter la diffusion des virus influenza aviaries responsables d'HPAI (cf. annexe), il convient de distinguer les situations épidémiologiques suivantes :

Absence d'épizootie d'influenza aviaire : l'épidémiologie est marquée par la possible circulation dans les populations avicoles domestiques de sous types viraux variés, sans qu'une souche soit très largement répandue. L'exposition potentielle des populations humaines est liée à la fréquence de leur contacts avec les oiseaux domestiques, et à l'intensité de leur exposition aux matières potentiellement virulentes mentionnées au paragraphe 4.1. On peut considérer qu'il s'agit d'une **exposition modérée à des virus variés des catégories professionnelles habituellement exposées** (cf infra).

Epizootie d'influenza aviaire : la situation est caractérisée par une large diffusion au sein des élevages d'une souche virale particulière de virus influenza aviaire, qu'elle soit responsable d'influenza aviaire hautement pathogène (HPAI) ou non (LPAI). *En cas d'HPAI*, le transport des animaux hors de l'exploitation est interdit, les mouvements d'animaux autour de l'élevage sont stoppés, les intervenants extérieurs à l'exploitation sont interdits d'entrée dans l'élevage, sauf si leur intervention est liée avec la gestion du cas (prélèvements en cas de suspicion, destruction sur place des animaux et désinfection des locaux après confirmation). L'exposition potentielle de certaines catégories de population paraît logiquement réduite par rapport à la période « normale », puisque ces catégories de population n'ont plus accès aux animaux qui sont consignés (ex : personnel de ramassage, d'insémination artificielle, techniciens d'élevage, personnel d'abattage). De nouvelles catégories de population apparaissent en revanche concernées (personnel réalisant l'abattage d'urgence). *Lors d'une épizootie de LPAI*, la situation peut être différente puisqu'à ce jour aucune mesure de contrôle n'est réglementairement exigée : les catégories de populations potentiellement exposées en situation normale voient leur exposition potentielle augmentée, du fait du possible traitement selon les procédures normales de grandes quantités d'animaux massivement excréteurs. Que l'épizootie soit HPAI ou LPAI, il faut noter que l'exposition, pour massive qu'elle soit, ne concerne qu'une souche particulière de virus influenza aviaire. Les informations obtenues à l'occasion des épizooties d'influenza aviaire précédentes sont donc à extrapoler avec précaution, puisque les propriétés des souches virales en cause – et en particulier leur potentiel zoonotique – sont susceptibles de changer selon la composition génétique de l'influenza virus en cause.

Le **tableau VI** propose une liste des populations humaines potentiellement exposées aux virus influenza aviaries par suite de contacts avec des oiseaux d'élevage ainsi qu'une évaluation de leur niveau d'exposition potentiel selon les situations épidémiologiques évoquées ci dessus.

Tableau VI : Importance de l'émission de matières virulentes et intensité de l'exposition des professionnels avicoles (volailles de rente) à ces matières, suivant les différentes situations épidémiologiques et l'activité professionnelle. La note 0 à 3 indique une émission croissante de matières potentiellement virulentes ou une exposition croissante à celles-ci, d'où l'on peut inférer un risque croissant d'infection par les virus influenza aviaires parmi les populations de travailleurs avicoles. **0** = Absence d'exposition, **1** = Exposition potentielle faible, **2** = Exposition potentielle moyenne, **3** = Exposition potentielle forte. La prévalence des infections à virus influenza aviaires étant inconnue chez les professionnels avicoles, il n'est pas possible de préciser quelle fréquence d'infection humaine est entraînée par une exposition notée 3.

	HPAI		Epizooties		Cas ponctuels ^a		Portage ^b
	LPAI		H5 ou H7	Autres	H5 ou H7 ^c	Autres	
	3	0-1					
Emission de matières virulentes	3	0-1	3	3	3	3	1 à 3 selon la prévalence
Éleveurs et leur famille	3		3		3	3	1 à 3
Techniciens et Vétérinaires Avicoles	2		2		2	2	1
Équipes d'intervention et de ramassage	0		0 ^c		1 à 3	2	1 à 2
Équarisseurs	0-1	si réglementation appliquée	0-1		1	0	0
Personnel abattoir (début de chaîne)	0		0 ^c		0 à 2 suivant mesures de contrôle	0	? selon la prévalence
Personnel réalisant l'abattage d'urgence	2		2		0	2	0
Personnel de livraison et de transport des volailles	0		0 ^c		0 à 2 Suivant mesures de contrôle	0	1 à 2 selon la prévalence
Personnel technique des laboratoires de diagnostic et de recherche vétérinaires (autopsie, prélèvements, expérimentation)	3		2	Car non présent dans tous les organes	2	2	1 à 2 selon les précautions
Commerçants en volailles vivantes et de rente	0		0 ^c		2	0-3 ^d	1 selon la prévalence

a : Unité considérée = l'élevage, **b** : circulation virale en l'absence de clinique, **c** : en supposant la mise en place de mesures de contrôle destinées à prévenir la diffusion du virus, en l'absence de telles mesures, se reporter à la colonne « Autres », **d** : 0 car en cas de signes cliniques le commerçant ne doit pas pouvoir s'approvisionner dans l'élevage infecté, à 3 au cas où il s'approvisionnerait au cours de l'incubation ou en infraction avec la réglementation.

Il est à noter que la liste des catégories professionnelles présentées ici est cohérente avec celle des populations humaines potentiellement exposées à un autre agent zoonotique, également transmis par les oiseaux sauvages ou domestiques et excrété par les voies respiratoires et digestives des oiseaux, à savoir *Chlamydophila psittaci* (Esposito, 1992 et **Tableau VII** ci après). Toutefois, peu de données sont disponibles pour quantifier la réalité de l'exposition aux virus influenza aviaires parmi les catégories envisagées. Bridges, cité en l'absence de publication par Subbarao et Katz (2000), fait état de l'absence d'anticorps « anti H5N1 » dans la population générale à Hong Kong, mais « d'anticorps détectés chez un pourcentage significatif de travailleurs avicoles hongkongais » (pourcentage non précisé). Cette information semble cohérente avec le fait que l'exposition à des volailles vivantes avait été identifiée comme étant le principal facteur de risque des infections humaines à virus H5N1 lors de la même épidémie (Mounts *et al.*, 1999). A l'inverse, à l'occasion d'une autre épizootie d'HPAI due à un virus influenza aviaire H5N2 survenue dans le Nord-Est de l'Italie en 1997, Donatelli *et al.* (2000) ne détectent aucun anticorps anti H5N2 chez 155 personnes exposées au virus aviaire à l'occasion de 76 foyers de peste aviaire (échantillon enquêté incluant 107 éleveurs, 7 personnes impliquées dans la désinfection, 22 vétérinaires, 14 ouvriers). Comme souligné précédemment, de tels différences peuvent refléter un potentiel zoonotique variable des virus étudiés ; par ailleurs les hémagglutinines de sous types H5 sont connues pour induire peu d'anticorps chez l'homme (cf paragraphe 2.1.2.3.3). Par analogie avec certains travaux consacrés aux zoonoses dues à *C. psittaci*, il est néanmoins probable que les éleveurs placés au contact répété et prolongé d'un lot de volailles infectées (Esposito *et al.*, 1992) ainsi que le personnel d'abattoir intervenant aux postes d'accrochage, plumaison et d'éviscération (première partie de la chaîne d'abattage, fortement génératrice de poussières et d'aérosols) (Esposito, 1992, Schvoerer *et al.*, 1997) constituent les catégories professionnelles à l'exposition potentielle la plus forte.

Tableau VII : Liste limitative des travaux susceptibles de provoquer des troubles cliniques liés à l'ornithose reconnue en tant que maladie professionnelle (Tableau n°87 du régime général de la Sécurité sociale et tableau 52 du régime agricole, D'après Pellé-Duporté *et al.*, 1996)

- Travaux exposant au contact avec des oiseaux, des volailles ou leurs déjections
- Travaux d'élevage et de vente des oiseaux
- Travaux de soins aux oiseaux dans les parcs zoologiques ou ornithologiques
- Travaux d'élevage, vente, abattage, conservation des volailles
- Travaux de laboratoire comportant la manipulation des volailles et oiseaux, de leurs produits ou de leurs déjections

En France, aucune donnée n'a été publiée concernant la fréquence des infections à virus influenza chez les travailleurs avicoles. Une enquête est en cours de réalisation par la Mutualité Sociale Agricole dans le cadre du Réseau de Zoonosurveillance en Agriculture mis en place depuis 2000. Dans un contexte autre que les infections à virus influenza aviaire puisqu'il s'agit d'établir la prévalence des infections à *C. psittaci*, cette enquête a recensé au cours de l'année 2000 et chez les salariés du secteur avicole des régions Bretagne et Pays de Loire (élevage, abattoirs, transports soit un total d'environ 16000 salariés selon les sources de l'Observatoire Economique et Social) les arrêts de travail compatibles avec un syndrome de type grippal (arrêt de travail d'une durée supérieure à 5 jours, accompagné d'au moins un épisode de fièvre élevée, associé à une prise d'antipyrétiques, d'antibiotiques, de fluidifiants bronchiques, d'antitussifs, d'antiasthmatiques ou de corticoïdes). Les cas recensés, qui outre les infections à *C. psittaci* comprennent sans doute aussi les infections graves à virus grippaux, sont au nombre de 453, soit 3,9 % de la population de salariés enquêtée. Les personnes concernées doivent maintenant être convoquées pour faire l'objet d'exams complémentaires (Abadia G., Communication personnelle). En l'absence d'informations plus précises quant à l'étiologie de ces cas et la fréquence des arrêts de travail comparables dans la population générale, cette information est malheureusement difficilement utilisable pour en déduire la fréquence des arrêts de travail liés à la grippe dans le même secteur, mais l'organisation de cette enquête fournit

un exemple du type de surveillance éventuellement envisageable pour répondre à la question de la prévalence des infections à virus influenza aviaires chez les populations humaines exposées.

4.2.4 Conclusion : éléments d'évaluation du risque pour l'homme

Si une liste des populations humaines potentiellement exposées à une infection par les virus influenza aviaires peut être définie sur la base d'une activité conduisant à des contacts fréquents ou importants avec des matières potentiellement virulentes, il est en revanche beaucoup plus difficile d'estimer le niveau du risque auxquelles ces populations sont exposées.

Un premier obstacle à la quantification du risque est la difficulté à préciser la prévalence des infections à virus influenza dans les populations aviaires : les données exposées au paragraphe 3.2.1.2 montrent que les activités de surveillance chez la faune sauvage sont effectuées dans le cadre d'études ponctuelles. Cet état de fait, tout à fait compréhensible compte tenu des difficultés pratiques de réalisation de telles enquêtes, nuit cependant à une identification précoce des sous types de virus influenza émergents susceptibles d'être introduits chez les volailles domestiques, plus fréquemment au contact de l'homme. Chez l'avifaune domestique, les données publiées concernent le plus souvent des lots « à risque » puisque cliniquement suspects. Seules des enquêtes plus systématiques telles que celle récemment mise en place par la DGAI et le LNR permettront d'approcher plus justement la prévalence de l'infection par les virus influenza aviaires, en particulier en prenant en compte les espèces de palmipèdes domestiques qui pourraient jouer un rôle épidémiologique important en tant que porteurs sains. **Néanmoins, les données disponibles au niveau européen suggèrent qu'en dehors d'un contexte d'épizootie, la prévalence des infections à virus influenza aviaires dans les élevages de dinde et de poulet est probablement très inférieure à 5%.** Une exposition humaine intense aux virus influenza infectant ces espèces requiert donc soit l'exposition prolongée à un lot contaminé (événement plutôt peu fréquent concernant plutôt les éleveurs et leur familles), soit le contact fréquent avec les matières potentiellement virulentes issues de multiples lots (cas des personnels d'abattoir).

Un second obstacle dans la quantification du risque chez l'Homme, sans doute le principal, réside en l'absence d'études visant à déterminer la prévalence et la nature des infections grippales chez les populations humaines potentiellement exposées aux virus influenza aviaires. En effet, les seules études ponctuelles disponibles ont été réalisées dans un contexte d'épizootie d'HPAI et, il faut le répéter, ne renseignent donc que sur le potentiel zoonotique de la seule souche virale étudiée dans le cadre de l'épizootie. Or des études en dehors d'un contexte d'HPAI seraient pourtant indispensables. Elles permettraient soit de mettre en évidence d'éventuels cas asymptomatiques de transmission des virus influenza aviaires à l'Homme, soit d'identifier la fréquence avec laquelle des personnes porteuses de virus grippaux humains sont amenées à être exposées à des virus influenza aviaires (situation favorable à l'occurrence de phénomènes de réassortiment génétique entre souches humaines et aviaires de virus Influenza, donc susceptible de favoriser l'émergence de nouveaux sous types viraux pathogènes pour l'Homme).

Afin de pouvoir évaluer si des mesures de prophylaxie spécifiques telles que la vaccination anti grippale pourraient avoir un intérêt chez les populations humaines potentiellement exposées aux virus influenza aviaires (ne serait-ce que pour limiter le portage d'Influenzavirus humains et limiter ainsi la probabilité des phénomènes de réassortiment), il conviendrait donc d'encourager la mise en place de programmes concertés de surveillance des infections à influenza, d'une part dans les populations aviaires, et d'autre part chez les populations humaines qui sont professionnellement exposées à ces populations.

5. Vaccination des oiseaux contre l'influenza : avantages, inconvénients et limites en terme de maîtrise de la dissémination du virus

Notre propos se limitera aux volailles, les oiseaux sauvages n'ayant à notre connaissance encore jamais fait l'objet de vaccination.

Bien que l'application de mesures strictes de prophylaxie sanitaire reste incontournable pour prévenir les infections à virus influenza chez les volailles, le recours à la vaccination, en complément, peut s'avérer nécessaire dans certaines circonstances. La présente synthèse a donc pour objectif de faire le point des connaissances sur la vaccination et les vaccins contre l'influenza aviaire afin d'évaluer l'« influence d'une vaccination aviaire sur l'incidence du portage et de l'excrétion de virus influenza sauvages par les oiseaux vaccinés » pour pouvoir ensuite statuer sur le risque pour l'homme de manipulation de volailles vaccinées ou placées en contact de volailles vaccinées. Au préalable, nous citerons quelques exemples de recours à la vaccination et d'état des recherches sur le sujet à l'échelle mondiale, puis nous rappellerons la position française actuelle.

5.1 Exemples de recours à la vaccination et position des autorités sanitaires françaises

Aux Etats-Unis comme dans certains pays d'Europe, des vaccins - exclusivement à virus inactivé incorporant les sous types d'hémagglutinine adaptés à la situation épidémiologique - ont été développés et commercialisés pour éviter les pertes économiques liées à des infections des volailles par des virus influenza modérément pathogènes. Des vaccins à virus inactivé y ont été/sont par exemple administrés pour prévenir les chutes de ponte chez des dindes reproductrices élevées sur des parcours extérieurs placés sur des trajets migratoires d'oiseaux sauvages aquatiques ou à proximité de leurs zones de séjour.

D'autre part, pour contrôler les formes graves de l'influenza aviaire résultant de l'infection par des virus (de sous types H5 ou H7) hautement pathogènes ou susceptibles de le devenir, des vaccins à virus inactivé et un vaccin recombinant exprimant l'hémagglutinine virale H5 ont été / sont utilisés au Mexique depuis 1994-1995, ce même vaccin recombinant est d'ailleurs utilisé depuis un an au Salvador, alors que seuls des vaccins à virus inactivé sont encore employés au Pakistan et en Italie.

Enfin, la situation épidémiologique (épizootie mexicaine à virus H5, répétition en Australie au cours des années 90 des alertes causées par des virus de sous types H7, circulation de virus de sous types H7 dans les marchés de volailles vivantes aux Etats-Unis : états du Nord-Est notamment, circulation de manière apparemment incontrôlée semble-t-il de virus de sous types H5 et H9 en Chine) a stimulé d'autres approches. Celles-ci, menées essentiellement aux Etats-Unis, ont ciblé le développement de vaccins ADN, recombinants et sous-unitaires permettant de différencier les volailles vaccinées des volailles infectées tout en satisfaisant aux critères de biosécurité et en visant une meilleure protection vis-à-vis de l'infection virale.

En France, la position officielle est de ne pas vacciner les volailles domestiques contre l'influenza aviaire. Cette position s'appuie sur l'arrêté ministériel du 8 juin 1994 interdisant la vaccination contre l'influenza aviaire (IA) sauf autorisation du Ministère de l'Agriculture et de la Pêche (art. 20). Au sens de l'arrêté, le terme "IA" désigne uniquement l'IAHP (hautement pathogène au sens réglementaire du terme) (art. 2 point 9). Cette position se justifie par le fait que la France étant indemne d'IAHP, l'autorité vétérinaire préconise une politique de prophylaxie strictement sanitaire en cas d'apparition de foyers correspondant à une forme grave. De plus, un postulat, profondément ancré dans les esprits des décideurs, sur le risque de masquer par la vaccination l'expression clinique de la maladie et de favoriser, sans aucun contrôle de la circulation insidieuse du virus, le passage à une forme enzootique, a conforté l'autorité vétérinaire dans ses choix. En fait, réglementairement, l'IAHP étant

une « infection des volailles causée par tout virus de type A d'IPIV⁵ $\geq 1.2 \dots$ » (donc *a priori* quels que soient les sous types en cause), il y a là matière à ambiguïté et latitude sur l'interprétation du texte. Or, comme la vaccination conduisait jusqu'ici à l'impossibilité de différencier les volailles vaccinées des volailles infectées au moyen des tests sérologiques officiels, le flou entretenu par ce texte a abouti de fait à l'absence « officielle » de recours à la vaccination quels que soient les sous types et les caractéristiques du virus en cause.

Aussi, l'expertise pourrait s'arrêter là, la question soulevée « influence d'une vaccination aviaire sur l'incidence du portage et de l'excrétion de virus influenza sauvages par les oiseaux vaccinés et sur le risque de transmission de ces virus à l'homme par ces animaux » étant hors de propos. Néanmoins, des vaccins à virus inactivé de sous type H1N1 indiqués chez le porc sont vraisemblablement utilisés chez la dinde ; ils visent à éviter les pertes économiques liées à des chutes de ponte chez les reproducteurs. De plus, la position « officielle » pourrait évoluer s'il est démontré soit que les inconvénients précités sont obsolètes, soit que, dans certaines circonstances, les avantages l'emportent sur les inconvénients. Enfin, l'importation de volailles vaccinées contre l'influenza aviaire (au sens large du terme) est possible, la base réglementaire pour interdire l'importation de volailles vaccinées contre l'influenza aviaire (au sens général) paraissant restreinte. En effet, sans considération de la maladie de Newcastle dans notre propos, au niveau des échanges intra-communautaires les interdictions semblent être prises par le Comité Vétérinaire Permanent en fonction de l'évolution de la situation sanitaire communautaire eu égard à l'IAHP ou au risque IAHP ; elles concernent par exemple les dindes vaccinées H7N1 en Italie (cf paragraphe 5.3.1.2) mais ne s'appliquent pas à des dindes qui pourraient être vaccinées avec d'autres sous types (exemple H6) . Pour ce qui est des importations en provenance des pays tiers, les exigences se limiteraient à la provenance hors d'une zone soumise à des mesures de restriction pour cause d'IA (HP) (ou de maladie de Newcastle). Ainsi, rien n'empêcherait que des volailles vaccinées (contre les virus de sous types H9 par exemple) soient importées, surtout si des vaccins de nouvelle génération induisant peu ou pas d'anticorps détectables par les méthodes officielles sont utilisés.

5.2 Efficacité des vaccins contre les infections par des virus modérément pathogènes (de sous types autres que H₅ et H₇)

Seuls des vaccins à virus inactivé ont été développés. Mais dans la littérature, il existe très peu de données faisant état de leur impact sur l'infection virale car l'objectif visé, atteint d'ailleurs sans difficultés (Brugh *et al.*, 1979 ; Halvorson *et al.*, 1986 ; Karunakaran *et al.*, 1987), se limite à procurer une protection clinique.

Un vaccin monovalent préparé à partir d'une souche H4N8* par une société américaine, administré 2 fois à 4 semaines d'intervalle par voie sous-cutanée, à des dindes conventionnelles de 2, 4, ou 6 semaines d'âge, leur confère une protection forte contre une infection expérimentale hétérologue** réalisée par voie intranasale, 4 semaines après le rappel de vaccination. En effet, 3 jours après cette infection, le nombre de dindes excrétaient le virus par voie fécale est significativement réduit et le titre viral est diminué de 2,9 à 5,8 log₁₀ par rapport à des dindes infectées non vaccinées. Mais la réduction de l'excrétion par voie respiratoire n'est pas significative. Après une seule vaccination, une infection pratiquée dans les mêmes conditions aboutit à des résultats inversés en ce sens que la réduction d'excrétion n'est significative que lorsque la voie respiratoire est prise en considération (Halvorson *et al.*, 1986 ; Karunakaran *et al.*, 1987).

Ces données bien qu'insuffisantes suggèrent que la vaccination serait plutôt bénéfique en terme de réduction de l'excrétion dans une espèce (la dinde) qui est la plus sensible à l'infection et la plus difficile à immuniser.

Récemment, des vaccins contre les sous types H9 ont été commercialisés au Moyen Orient, mais nous ne disposons pas de données sur leur activité et notamment sur leurs effets en terme de blocage de l'infection virale. Nous ne savons pas non plus si les vaccins H1N1 porcins diminuent l'excrétion de virus par des volailles infectées.

⁵ index de pathogénicité par voie intra veineuse (il est déterminé à la suite d'un essai effectué sur poulets en conditions standardisées et permet d'apprécier la virulence de la souche virale)

* A/Turkey/Minnesota/78

** 10^{5.2} DEI50 de la souche A/Turkey/Minnesota/1248/80 (H4N2)

Bien que la faisabilité des vaccins à virus inactivé soit accessible, leur efficacité en terme de réduction de l'infection par des virus influenza aviaires de sous types homologues à celui de la souche vaccinale utilisée, reste à démontrer au cas par cas, ce qui n'est pas la règle actuellement.

5.3 Efficacité des vaccins contre les infections par des virus des sous types H₅ ou H₇

5.3.1 Vaccins à virus inactivé

5.3.1.1 Vaccins visant les infections par des virus des sous types H5

5.3.1.1.1 Essentiellement des vaccins utilisant des souches de sous types H5 et conférant une bonne protection clinique

Les vaccins visant les infections par des virus des sous types H5 ont fait l'objet d'études plus nombreuses en raison de l'épizootie en Pennsylvanie en 1983-1984 et de l'épizootie mexicaine. Ces vaccins recourent essentiellement à l'utilisation de souches vaccinales du même sous type d'hémagglutinine, à l'exception d'essais anciens relatant l'évaluation expérimentale de la protection clinique conférée par un vaccin de sous type H7N1 vis-à-vis d'une souche d'épreuve hautement pathogène H5N1 A/Chicken/Scotland/59 exploitant ainsi l'immunité croisée induite par la neuraminidase (McNulty *et al.*, 1986) (cependant dans cette étude les critères d'excrétion après épreuve de poulets ainsi vaccinés n'étaient pas envisagés). Notre propos se focalisera donc sur les vaccins utilisant des souches vaccinales de sous types H5.

Ceux-ci confèrent une très bonne protection clinique : 80 à 100% selon la concentration en vaccin, l'âge d'administration, le moment de l'épreuve et la souche utilisée (Brugh *et al.*, 1979 ; Garcia *et al.*, 1998 ; Stone, 1987 ; Swayne *et al.*, 1999).

5.3.1.1.2 Qu'en est-il de leur efficacité par rapport à l'infection ?

5.3.1.1.2 a Infection réalisée à l'apogée des réponses immunitaires

Une étude ancienne mais de référence (Wood *et al.*, 1985) a permis de montrer une corrélation positive entre la quantité d'hémagglutinine virale contenue dans le vaccin et l'absence d'isolement de virus dans la trachée et les fèces après infection virale. Ainsi, une quantité d'hémagglutinine⁶ mesurée par immunodiffusion radiale simple, supérieure ou égale à 0,9 µg, émulsionnée en adjuvant complet de Freund et administrée par voie intraplantaire et intramusculaire à des poules conventionnelles sans anticorps H5, empêche l'excrétion de virus dans les 5 jours suivant une infection hétérologue par contact avec des volailles contaminées⁷. Si le type d'adjuvant utilisé et la voie d'administration du vaccin ne correspondent pas aux pratiques en vigueur actuellement, le besoin de standardisation de la quantité du principe actif contenu dans le vaccin est un résultat essentiel. De plus, après immunisation du poulet avec ce vaccin à virus inactivé, a été établi un niveau d'anticorps protecteur prévenant après infection expérimentale l'apparition de signes cliniques et empêchant l'excrétion de virus par voies fécale et respiratoire. Dans les conditions expérimentales de Wood *et al.* (Wood *et al.*, 1985), la moyenne géométrique des titres d'anticorps protecteurs 3 semaines après vaccination, doit être supérieure ou égale à environ 100, par le test d'inhibition de l'hémagglutination (IHA).

Une étude ultérieure (Brugh et Stone, 1986 ; Stone, 1987) a consisté à administrer par voie sous-cutanée à des poulets EOPS d'1 jour à 5 semaines d'âge et à des poulettes conventionnelles de 12, 20 et 52 semaines d'âge, un vaccin⁸ en adjuvant huileux (à base de Drakéol, Arlacel et Tween 80).

⁶ A/Duck/NewYork/189/82 (H5N2)

⁷ A/Chicken/Pennsylvania/1370/83 (H5N2)

⁸ A/Turkey/Wisconsin/68 (H5N9)

Les résultats ont mis en évidence une réduction mais non significative du nombre d'oiseaux excréteur par voie fécale après des infections pratiquées, le plus souvent 4 semaines après la vaccination, avec l'une des deux souches H5N2 (modérément pathogène ou hautement pathogène) isolées en Pennsylvanie⁹. Dans ces essais, la concentration en hémagglutinine ou en protéine virale n'est pas précisée ; cependant, il apparaît (Stone, 1987) qu'une dose vaccinale équivalente ou supérieure à 10^{7,9} ELD50 soit 1/60 en titre hémagglutinant empêche l'excrétion par voie respiratoire et fécale. Lorsque le vaccin est administré à des poussins, il faut attendre 8 semaines pour avoir la même protection vis-à-vis de l'infection.

Garcia *et al.* (Garcia *et al.*, 1998) ont montré qu'une concentration en hémagglutinine $\geq 4,078$ $\mu\text{g}/\text{dose}$ [mesurée selon le principe de Wood *et al.* (Wood *et al.*, 1985)] d'un vaccin inactivé en adjuvant huileux préparé à partir d'une souche mexicaine¹⁰ faiblement pathogène et administré par voie sous-cutanée à des poulets EOPS de 3 semaines, les protégeait 3 semaines après contre l'infection expérimentale avec une autre souche¹¹ mexicaine « CQ95 », létale cette fois, en empêchant 3 jours après l'infection, l'excrétion de virus par voies respiratoire et fécale. La quantité d'hémagglutinine requise pour empêcher l'excrétion était 10 fois supérieure à celle requise pour obtenir une protection clinique dans les conditions de cet essai (0,4 $\mu\text{g}/\text{dose}$). Ces auteurs ont aussi observé que sur six vaccins commerciaux utilisés au Mexique et préparés à partir de la même souche vaccinale que ci-dessus, un seul empêchait l'excrétion virale 3 jours après infection expérimentale, deux autres la réduisaient significativement alors que trois autres ne l'empêchaient pas. Les travaux de Swayne *et al.* (Swayne *et al.*, 1999) basés sur la comparaison des propriétés de dix vaccins expérimentaux inactivés en adjuvant huileux, recourant à des souches différentes¹² montrent que suite à une infection expérimentale avec la même souche CQ95¹¹, la maîtrise de l'excrétion virale par voie fécale est obtenue avec des concentrations en protéines virales totales inférieures à 30-40 μg alors que dans les mêmes conditions l'excrétion virale par voie respiratoire est plus difficile à juguler. En effet, si par cette dernière voie, la réduction des titres de virus excrétés (1,8 à 3 \log_{10}) est significative, la réduction du nombre de sujets excréteurs ne l'est pas et la souche vaccinale à incorporer dans le vaccin doit être optimisée. Dans cet essai, ce n'est d'ailleurs pas la souche homologue à la souche d'épreuve qui permet d'obtenir les meilleurs résultats.

Des études complémentaires réalisées par les mêmes auteurs (Swayne *et al.*, 2001) mais avec une¹³ des souches précédentes et 2 autres souches¹⁴ comme souches vaccinales et une souche d'épreuve isolée chez l'homme¹⁵ montrent que des concentrations en protéines virales de 3 à 8 μg [cohérentes avec celles citées dans l'étude de Garcia *et al.* (Garcia *et al.*, 1998)], permettent d'obtenir une réduction significative du titre viral excrété au niveau respiratoire (de 2,2 à 2,8 \log_{10}) mais pas du nombre de sujets excréteurs. Il existe cependant une perte d'efficacité en terme de maîtrise de l'excrétion par voie digestive par rapport à l'expérience précédente.

5.3.1.1.2 b Infection réalisée lorsque la protection n'est pas optimale

Les données précitées apportent des éléments d'appréciation pour des volailles (poulets essentiellement) infectées lorsque leur protection est optimale. Qu'en est-il lorsque l'infection est précoce ou tardive ou qu'elle survient chez des volailles vaccinées précocement ?

L'étude précédemment mentionnée (Stone, 1987) montre que des poussins primovaccinés à 1 ou 2 jours d'âge puis infectés 4 semaines après avec l'une ou l'autre des deux souches¹⁶ de pathotype différent, ne sont pas protégés. Ils peuvent excréter la souche modérément pathogène jusqu'à 19 jours (2 individus/10 concernés) alors que l'excrétion ne dure que 7 jours chez les poulets non vaccinés infectés. Il s'agit là du seul cas où un effet négatif a été constaté. Il conviendrait de confirmer ce résultat car c'est l'un des rares essais où la durée de l'excrétion a été prise en compte et

⁹ A/Chicken/Pennsylvania/83

¹⁰ A/Chicken/Hidalgo/232/94 (H5N2)

¹¹ A/chicken/Queretaro/19/95 (H5N2) = « CQ95 », à raison de 100 DL50

¹² 3 souches de la lignée nord américaine isolées entre 1968 et 1995 et 7 souches isolées dans le cadre de l'épizootie mexicaine dont la souche A/chicken/Queretaro/19/95 (H5N2) précitée

¹³ A/Turkey/Wisconsin/68 (H5N9) = « TW68 »

¹⁴ A/Turkey/Minnesota/3689-1551/81 (H5N2) et A/Duck/Singapore/F119/97 (H5N3)

¹⁵ A/Hong Kong/156/97 (H5N1)

¹⁶ A/Chicken/Pennsylvania/83 (H5N2) = « CP83 »

où une souche modérément pathogène a été utilisée comme souche d'épreuve. La vaccination *in ovo* (Stone *et al.*, 1997) a été aussi étudiée, mais les résultats obtenus n'apportent pas d'éléments nouveaux en terme de précocité d'installation de la protection contre l'infection virale.

Donahoe (Donahoe, 1997) a par ailleurs montré que la réduction de l'excrétion par voie fécale n'est pas significative quand l'infection est réalisée 16 semaines après la vaccination de poulets avec un vaccin expérimental à virus inactivé H5N2 en adjuvant huileux ; mais la souche vaccinale et la concentration en protéines virales ou en hémagglutinine virale n'est pas précisée.

5.3.1.2 Vaccins visant les infections par des virus des sous types H7

En ce qui concerne l'efficacité des vaccins à virus inactivé visant les infections à sous types H7, il n'existe pas à notre connaissance de données publiées. Cependant, avant la mise en place du plan de vaccination d'urgence en Italie, des essais ont été effectués par le laboratoire de référence italien en matière d'influenza aviaire (Istituto Zooprofilattico Sperimentale, Padova). Ils ont été relatés oralement (Capua, 2001). Ils concernaient des poulets EOPS recevant par voie intra-musculaire une dose/injection soit une seule fois à 3 semaines d'âge, soit 2 fois à 2 et 4 semaines d'âge, d'une préparation commerciale française à virus inactivé¹⁷ en adjuvant huileux. La concentration en protéines virales de ce « vaccin » n'était pas établie mais il devait contenir avant inactivation au moins 10⁷ doses infectieuses pour l'embryon 50 % (DIE50) de la souche précitée. Après épreuve expérimentale avec une souche hautement pathogène italienne représentative de celles isolées au cours de la période Décembre 1999 à Avril 2000, il n'était pas retrouvé de virus dans les muscles de la cuisse et du bréchet des poulets ainsi vaccinés, alors que les isolements étaient positifs lorsqu'ils étaient réalisés à partir de poulets non vaccinés infectés. Cependant, des poulets EOPS mis en contact avec les poulets éprouvés après deux vaccinations (notés VI), s'infectaient et présentaient une forte mortalité, ce qui laissait supposer que les poulets VI excrétaient par voies respiratoire et/ou fécale le virus d'épreuve.

A ces données de laboratoire, s'ajoutent des données de terrain. En effet, un suivi épidémiologique très important a été effectué dans le cadre du plan de vaccination mis en œuvre en Italie à partir de Décembre 2000, puisque sur une période de 6 mois, plus de 1000 élevages (vaccinés ou non) situés dans la zone vaccinée et environ autant situés en dehors de la zone de vaccination, ont été concernés. Il a été ainsi démontré, malgré des résultats préliminaires plutôt médiocres en laboratoire (cf précédent paragraphe), qu'une vaccination bien contrôlée, accompagnée de mesures sanitaires rigoureuses, permettait globalement de diminuer la diffusion du virus H7N1 et de maîtriser l'épizootie, le dernier cas remontant à Mars 2001. Le fait que les modalités de fabrication du « vaccin » aient été améliorées (augmentation et/ou standardisation de la concentration en principe actif ?) entre le premier lot utilisé et les lots suivants (Capua et Pittman, 2001), de manière à induire une meilleure réponse sérologique, peut expliquer cette apparente divergence entre les résultats de laboratoire et les résultats de terrain. En effet, les résultats de Wood *et al.* (Wood *et al.*, 1985) cités au paragraphe 5.3.1.1.2.a., suggèrent qu'il existe une relation entre le niveau d'anticorps induit par les vaccins adjuvés à virus inactivé et la protection contre l'infection.

5.3.1.3 Conclusion concernant les vaccins à virus inactivé des sous types H5 ou H7

Les vaccins de sous types H5 ont été les plus étudiés et à condition de contenir une concentration suffisante en hémagglutinine virale et en protéines virales, ils se montrent efficaces pour réduire voire supprimer l'excrétion de virus influenza aviaries de sous types homologues par des volailles vaccinées infectées. Les vaccins de sous types H7, bien que moins étudiés et standardisés se sont montrés efficaces sur le terrain en Italie pour limiter la diffusion épizootique de virus H7, conjointement à la mise en œuvre de mesures hygiéniques et sanitaires rigoureuses et d'un plan de surveillance. Néanmoins, tous ces vaccins présentent des inconvénients listés dans le paragraphe 5.4.1.1.1.a.

¹⁷ souche A/Chicken/Pakistan/95 (H7N3)

5.3.2 Vaccins recombinants pox aviaires

5.3.2.1 Vaccins visant les infections par des virus des sous types H5

Parmi les vaccins recombinants pox aviaires, le plus étudié est celui développé par Merial Select (Swayne *et al.*, 1997 ; Swayne *et al.*, 2000 ; Swayne *et al.*, 2000 ; Webster *et al.*, 1996). Ce vaccin recombinant a été obtenu en insérant le gène de l'hémagglutinine virale de sous types H5¹⁸ (« T183 ») dans un site non essentiel du génome d'une souche atténuée (Swayne *et al.*, 2000) du virus de la variole aviaire, sous contrôle du promoteur précoce/tardif H6 du virus de la vaccine (Taylor *et al.*, 1988)

5.3.2.1.1 Innocuité et efficacité en terme de protection clinique conférée

5.3.2.1.1 a. Chez le poulet EOPS

Ce vaccin répond de manière assez satisfaisante aux critères d'innocuité classiques et ne diffuse pas lorsqu'il est administré par voie sous-cutanée (Mickle *et al.*, 1997 ; Swayne *et al.*, 1997). L'essentiel des études démontrant l'efficacité de ce vaccin, porte sur le poulet EOPS qu'il soit vacciné à 1 ou 2 jours, ou à 2, 3 ou 5 semaines d'âge par voie sous-cutanée ou par transfixion alaire avec des doses vaccinales allant de $10^{1.5}$ à $10^{3.5}$ DIC₅₀ ou de 10^4 à $10^{5.9}$ PFU (Le Gros *et al.* 2001; Swayne *et al.*, 1997 ; Swayne *et al.*, 2000 ; Webster *et al.*, 1996), voire $10^{7.1}$ PFU (Beard *et al.*, 1991). Ainsi pratiquée, cette vaccination induit une protection clinique de 95-100 % vis-à-vis d'épreuves effectuées 2 à 6 semaines après, malgré de très faibles réponses sérologiques : pas ou peu (10 %) d'anticorps précipitants ni d'anticorps détectables par un test ELISA et moins de 20 % de sujets positifs par le test IHA avec des titres inférieurs à 2 log₂ en moyenne géométrique (Garcia-Garcia *et al.*, 1997 ; Le Gros *et al.* 2001; Mickle *et al.*, 1997 ; Swayne *et al.*, 1997). Ce niveau de protection est atteint non seulement avec une souche d'épreuve homologue mais aussi avec d'autres souches virales, incluant la souche mexicaine hautement pathogène "CQ95", dont les hémagglutinines H5 présentent jusqu'à 13 % de différences en acides aminés (souches administrées par voie intranasale à raison de 10^3 doses létales poulet ou 10^7 doses létales embryon) (Le Gros *et al.* ; Swayne *et al.*, 1997 ; Swayne *et al.*, 2000 ; Webster *et al.*, 1996). Cette protection clinique diminue un peu à partir de 12 semaines après vaccination, mais reste supérieure ou égale à 80 % jusqu'à 20 semaines après vaccination (Le Gros *et al.* ; Swayne *et al.*, 1997), même avec une faible dose vaccinale $10^{1.6}$ DIE₅₀.

5.3.2.1.1 b. Chez le poulet possédant une immunité vis-à-vis de l'influenza ou de la variole aviaire

Chez des poulets issus de mères vaccinées avec un vaccin à virus inactivé contre l'influenza aviaire, la protection clinique est diminuée : seulement 86 à 93 % des poussins avec anticorps maternels sont protégés contre 100 % des poulets sans anticorps maternels (Garcia-Garcia *et al.*, 1997). De plus, chez des poulets présentant déjà une immunité anti-variolique même ancienne de 15 semaines –ce qui est fréquemment le cas chez des reproducteurs vaccinés contre la variole- le vaccin recombinant pox aviaire précité confère une protection clinique très médiocre (Swayne *et al.*, 2000).

5.3.2.1.2 Efficacité dans l'espèce poule en terme de protection vis-à-vis de l'infection

5.3.2.1.2 a. A l'apogée des réponses immunitaires

En ce qui concerne la protection conférée par ce vaccin recombinant pox aviaire vis-à-vis d'une infection, les résultats dépendent de la souche d'épreuve utilisée.

Après épreuve avec une souche "homologue" (100 % d'homologie au niveau de l'hémagglutinine), 3 jours après l'épreuve il n'est pas retrouvé de poulets excréteurs ni par voie respiratoire (trachée) ni par voie fécale quand ceux-ci ont été vaccinés 2 à 6 semaines avant : à l'âge de 2 jours ou 5 semaines (Beard *et al.*, 1991 ; Taylor *et al.*, 1988 ; Webster *et al.*, 1991).

Lorsque la souche d'épreuve est hétérologue (jusqu'à 13 % d'hétérogénéité de la séquence en acides aminés de l'hémagglutinine), les meilleurs résultats sont obtenus suite à une vaccination par voie sous-cutanée (Swayne *et al.*, 1997) ; l'excrétion par voie fécale, 3 jours après l'épreuve, est supprimée

¹⁸ provenant de la souche A/Turkey/Ireland/1378/83 (H₅N₈) = « T183 »

ou très significativement réduite, chez des poussins vaccinés à 1 jour d'âge et éprouvés 3 semaines plus tard (Swayne *et al.*, 2000). Par contre, chez ces mêmes poulets la réduction du titre de virus excrété par voie respiratoire (oropharynx) est corrélée au pourcentage d'homologie entre l'hémagglutinine du vaccin recombinant et l'hémagglutinine de la souche d'épreuve (Swayne *et al.*, 2000). Le nombre de sujets excréteurs par cette voie est très significativement réduit pour 6/8 souches d'épreuve utilisées, mais pour 2 (CQ95¹⁹ et CP83²⁰) des 4 souches les plus éloignées phylogénétiquement (souches de la lignée nord-américaine présentant 11 à 13 % d'hétérogénéité), il n'y a aucune réduction du nombre de sujets excréteurs et la réduction de titre du virus excrété n'est que de 2 log₁₀ (Swayne *et al.*, 2000). En revanche, dans une étude similaire, il y a peu de réexcrétion virale (2/10 : 20 % des poulets vaccinés à 1 jour d'âge) après une épreuve réalisée 25 jours après avec une souche virale H5N1 isolée dans le cadre de l'épizootie de Hong Kong en 1997 (Le Gros *et al.*, 2001).

5.3.2.1.2 b *Durée*

La solidité de la protection vis-à-vis de l'infection reste mal connue, elle a jusqu'ici toujours été étudiée dans les conditions les plus défavorables (souche d'épreuve éloignée phylogénétiquement ou dose vaccinale faible) (Le Gros *et al.* ; Swayne *et al.*, 1997).

5.3.2.1.3 *Efficacité dans les autres espèces aviaires*

Dans les autres espèces aviaires, les données sur l'activité de ce vaccin sont très limitées. Le vaccin recombinant pox aviaire exprimant l'hémagglutinine H₅ TI83 induit une protection clinique partielle (4 sujets sur 5 ou 6) chez des dindes conventionnelles vaccinées à 2 ou 4 semaines d'âge, vis-à-vis d'une épreuve homologue réalisée respectivement 6 et 5 semaines après la vaccination et n'induit pas d'anticorps décelables par le test IHA (Taylor *et al.*, 1988). Cette vaccination n'empêche pas l'infection des dindes, surtout des dindonneaux, lesquels présentent une forte proportion d'individus excréteurs du virus d'épreuve par voie respiratoire (5 sujets sur 5) et fécale (3 sujets sur 5) (Taylor *et al.*, 1988).

5.3.2.2 Vaccins visant les infections par des virus des sous types H7

Des vaccins recombinants pox aviaires codant différentes hémagglutinines de sous types H₇ ont été aussi décrits (FP₈, FP₉) : l'un correspond à la souche australienne « CV85 »²¹ (Boyle *et al.*, 2000); pour l'autre, la souche de virus influenza d'origine n'est pas indiquée (Mickle *et al.*, 1997). Les essais effectués avec ces vaccins sont beaucoup plus limités. Comme pour les vaccins recombinants H₅, les vaccins permettant d'exprimer H₇, semblent procurer, 3 semaines après vaccination, une bonne protection clinique. Elle est effective chez 95 à 100% des poulets EOPS, malgré une faible réponse humorale (mesurée par IHA), limitée à un faible pourcentage d'oiseaux. Aucune donnée n'est disponible sur la protection vis-à-vis de l'infection conférée par ces vaccins.

¹⁹ A/Chicken/Querataro/14588-19/95 (H₅N₂) souche hautement pathogène isolée de l'épizootie mexicaine

²⁰ A/Chicken/Pennsylvania/1370/83 (H₅N₂) souche hautement pathogène isolée de l'épizootie en Pennsylvanie

²¹ A/Chicken/Victoria/85 (H7N7) = « CV85 »

5.3.2.3 Conclusion concernant les vaccins recombinants pox aviaires

Un vaccin recombinant pox aviaire exprimant une hémagglutinine de sous types H5 est disponible. Il a été bien étudié. Il présente une innocuité satisfaisante, ne diffuse pas, se montre efficace chez le poulet EOPS pour prévenir de manière durable l'apparition de signes cliniques après infection et empêcher l'excrétion de virus influenza aviaire par voie fécale. Cependant, en terme de réduction de l'excrétion par voie respiratoire, son efficacité est liée au degré d'homologie de l'hémagglutinine de la souche sauvage avec celle du vaccin. De plus, ce vaccin perd toute efficacité en présence d'une immunité antivariolique.

Les vaccins pox aviaires exprimant une hémagglutinine de sous types H7 restent encore expérimentaux. Ils n'apportent pas de réponse, à ce jour, quant à leur efficacité en matière de réduction de l'excrétion virale après infection des volailles ainsi vaccinées.

5.3.3 Vaccins ADN

5.3.3.1 Codant l'hémagglutinine virale

Les vaccins ADN expérimentés en matière d'influenza aviaire ont surtout exploité les propriétés immunogènes de l'hémagglutinine virale qu'elle soit de sous types H₅ ou H₇. C'est pourquoi dans les constructions utilisées les gènes dérivés de 2 souches aviaires de sous types H₅²² et de 2 souches de sous types H₇²³ (une aviaire et l'autre isolée de phoque) ont été insérés dans des plasmides d'expression essentiellement sous contrôle du promoteur du gène très précoce du cytomégalovirus humain ou du promoteur du gène de la bêta-actine du poulet (Fynan *et al.*, 1993 ; Fynan *et al.*, 1993 ; Kodihalli *et al.*, 2000 ; Kodihalli, Webster, 1997 ; Suarez, Schultz-Cherry, 2000). Différentes voies d'inoculation ont été testées (intraveineuse, intrabursale, intrapéritonéale, intratrachéale, introrbitale, sous-cutanée, intramusculaire) (Fynan *et al.*, 1993), mais la méthode « genegun » consistant à injecter par voie intradermique l'ADN vaccinal fixé à des particules d'or sous pression d'hélium, a permis jusqu'ici d'obtenir les meilleurs résultats de protection avec une quantité minimale d'ADN : seulement 10 µg/injection (Kodihalli *et al.*, 1997 ; Kodihalli *et al.*, 2000) contre une (voire plusieurs) centaine(s) de µg par les autres voies (Fynan *et al.*, 1993 ; Fynan *et al.*, 1993 ; Robinson *et al.*, 1993 ; Suarez, Schultz-Cherry, 2000).

5.3.3.1.1 Vaccins visant les infections virales de sous types H5

5.3.3.1.1 a Protection conférée dans les conditions optimales

Dix µg d'un vaccin ADN codant l'hémagglutinine H₅ « T183 » administré à des poulets EOPS de 3-4 semaines induit, 3 semaines après, une protection clinique complète vis-à-vis d'une épreuve (100 DL₅₀ poulet) avec une souche hautement pathogène homologue et une protection clinique de 90 à 100 % vis-à-vis de souches d'épreuve hautement pathogènes variant de 11 à 13 % en hétérologie de leurs séquences en acides aminés par rapport à la souche utilisée pour la construction vaccinale. De plus, en l'absence d'anticorps détectables par le test IHA, cette même vaccination protège contre l'infection virale puisque aucun des poulets vaccinés n'excrète de virus par voies trachéale et fécale 3 jours après épreuve quelle que soit la souche utilisée, alors que dans le même temps 80 à 100 % des poulets non vaccinés excrètent par voie trachéale à des titres de 10^{3,1} à 10^{3,6} DIE₅₀ et 20 à 90 % de ces mêmes poulets excrètent par voie fécale à des titres de 10^{2,5} à 10^{3,1} DIE₅₀ (Kodihalli *et al.*, 1997 ; Kodihalli, Webster, 1997).

5.3.3.1.1 b Durée de la protection

En ce qui concerne la durée de la protection ainsi établie, les données montrent que la vaccination à 3 semaines d'âge du poulet par la méthode « genegun » avec le vaccin ADN/H₅ « T183 » à une dose de 10 µg (avec ou sans rappel) lui confère une protection forte d'au moins 12 semaines vis-à-vis de la souche d'épreuve homologue (se manifestant par une réduction significative du nombre de poulets

²² « TW68 » et « T183 »

²³ A/Seal/Massachusetts/1/80 (H7N7) (= « SM80 ») et « CV85 »

excréteurs par voie fécale et respiratoire) (Kodihalli, Webster, 1997). Une seule vaccination de poussins à l'âge d'1 jour selon les mêmes modalités confère une protection correcte (6/8 : 75 % de poulets protégés, 1/8 réexcrétant le virus 3 jours après épreuve), vis-à-vis d'une épreuve homologue effectuée à l'âge de 28 semaines (Kodihalli, Webster, 1997), mais en raison des faibles effectifs la réduction du nombre de poulets vaccinés excréteurs n'est pas statistiquement significative. Un tel résultat s'il se confirmait et s'il était transposé sur le terrain devrait permettre d'espérer couvrir au moins la période de vie des poulets de chair et peut-être avec un rappel celle des futurs reproducteurs ou futures pondeuses.

5.3.3.1.2 Vaccins visant les infections virales de sous types H7

L'immunisation par la même méthode de poulets EOPS de 3-4 semaines avec 2 injections à 3 semaines d'intervalle de 10 µg d'ADN codant l'hémagglutinine H₇ « CV85 » permet de leur conférer, 10 jours après le rappel, une protection complète à la fois clinique et contre l'infection vis-à-vis d'une souche d'épreuve hautement pathogène homologue (Kodihalli *et al.*, 2000).

5.3.3.1.3 Vaccins visant les infections virales de sous types H5 et H7

La co-administration, selon les mêmes modalités, de 2 plasmides exprimant l'une et l'autre hémagglutinine : H₅ « T183 » et H₇ « CV85 », permet de conférer 10 jours après le rappel une protection complète vis-à-vis de chacune des souches d'épreuve homologues correspondantes, cela à nouveau en l'absence d'anticorps IHA détectables (Kodihalli *et al.*, 2000).

5.3.3.1.4 Limites de ces vaccins

Malgré ces données très encourageantes, beaucoup d'inconnues subsistent, à savoir le délai d'apparition de la protection, l'efficacité de la protection vis-à-vis de souches d'épreuve non hautement pathogènes récentes de sous types H₇ notamment, non seulement dans l'espèce poulet, mais aussi dans les autres espèces aviaires dont la dinde. De plus, le spectre de protection conférée par ces vaccins est étroit car il n'y a aucune protection croisée conférée par une hémagglutinine de sous type H₅ vis-à-vis d'une souche d'épreuve de sous types H₇ et vice et versa (Kodihalli *et al.*, 2000). Enfin, la méthode « genegun » n'est pas économiquement envisageable en production avicole.

5.3.3.2 Vaccins codant d'autres protéines virales (avec ou sans l'hémagglutinine virale)

A côté des vaccins précités exprimant l'hémagglutinine virale, des essais limités ont porté sur des vaccins ADN permettant d'exprimer la nucléoprotéine virale. Un vaccin ADN codant la nucléoprotéine de la souche T183 a apporté, chez le poulet, une protection clinique hétérosubtypique de 42 % (Kodihalli *et al.*, 2000) non statistiquement significative dans cet essai mais à analyser et exploiter peut être davantage à l'avenir. En effet, de nombreuses publications démontrent que, chez la souris, les vaccins ADN codant la nucléoprotéine virale peuvent induire la production de lymphocytes cytotoxiques et une protection hétérologue se traduisant notamment par des titres viraux diminués au niveau pulmonaire (pour une compilation : voir Shiver *et al.*, 1996).

La co-administration de vaccins codant l'hémagglutinine virale et une ou des protéines virales internes : NP ou NP et M₁ a procuré chez la souris et le furet respectivement, une protection renforcée vis-à-vis de souches variantes s'accompagnant d'une réduction de l'excrétion virale (Bot *et al.*, 1998 ; Donnelly *et al.*, 1997). Les premiers résultats de co-administration au poulet EOPS de vaccins ADN codant l'hémagglutinine H7 et la protéine M1 suggèrent un effet plutôt bénéfique de cette association sur le contrôle de l'infection (Cherbonnel *et al.*, sous presse, et Rousset *et al.*, 2002).

5.3.3.3 Conclusion concernant les vaccins ADN

Malgré les potentialités de la vaccination ADN contre l'influenza aviaire, cette vaccination requiert encore beaucoup d'améliorations avant de pouvoir être utilisée sur le terrain (Suarez et Schultz-Cherry, 2000).

5.3.4 Vaccins sous-unitaires

5.3.4.1 Vaccins utilisant des hémagglutinines recombinantes

Des hémagglutinines recombinantes appartenant aux sous types H₅ et H₇ et provenant de souches de virus influenza aviaire assez récentes de la lignée nord américaine : respectivement A/Chicken/Jalisco/94 et A/Chicken/New York/95, ont été exprimées en baculovirus (Crawford *et al.*, 1999 ; Wilkinson, 1997). Des préparations vaccinales constituées des hémagglutinines recombinantes précitées mélangées à un adjuvant eau dans huile, ont été évaluées. Administrées à des poulets EOPS de 4 semaines par voie sous-cutanée à une dose de 1 µg chacune par poulet, ces préparations vaccinales confèrent, 3 semaines après, une protection clinique complète vis-à-vis de souches d'épreuve hétérologues proches phylogénétiquement en ce qui concerne le sous type H₅, plus éloignées en ce qui concerne le sous type H₇. Dans ces conditions, la protection vis-à-vis de l'infection et la ré-excrétion de virus n'est pas précisée. Des résultats obtenus avec chacune des hémagglutinines testées séparément, suggèrent soit qu'une réduction significative du nombre de poulets excréteurs par voie respiratoire après infection n'est pas atteinte même avec une dose 10 fois plus forte d'hémagglutinine H₇, soit que cette réduction requiert une dose plus forte d'hémagglutinine H₅ (par exemple 5 fois la dose).

Cependant, il faut attendre presque 5 semaines pour observer une protection presque complète chez le poussin d'1 jour vacciné avec une dose de 2 µg de protéine recombinante H₅. La protection se traduit par une absence de mortalité et une ré-excrétion de virus insignifiante 2 jours après l'épreuve vis-à-vis de souches aviaires hétérologues (de sous types H₅) isolées lors de l'épizootie de 1997 à Hong Kong (Swayne *et al.*, 2001).

Bien qu'un développement commercial de ces hémagglutinines ait été temporairement réalisé par la société Protein Sciences Corporation (Meriden, CT, USA), il n'existe pas de données publiées quant aux résultats obtenus sur le terrain, au Mexique par exemple et la viabilité économique de ces formulations n'est pas prouvée.

5.3.4.2 Vaccins utilisant d'autres protéines virales

Là encore, l'association de protéines internes virales pourrait accroître l'efficacité de la vaccination. Par exemple chez la dinde, il a été expérimentalement démontré que des préparations de nucléoprotéine virale semi-purifiée (avec de l'hémagglutinine résiduelle de sous types H₅), incorporées sous la forme de liposomes immunostimulants (ISCOM), procuraient une protection vis-à-vis de souches d'épreuve non létales : une de sous type H₅ homologue et une hétérologue de sous type H₆ (Kodihalli *et al.*, 1984). Cette protection a été obtenue en administrant 50 µg de la préparation d'ISCOM précitée, par voie sous-cutanée, à des dindonneaux de 3 semaines, dépourvus d'anticorps et de virus influenza aviaires. La protection se manifestait par une réduction de l'excrétion du virus d'épreuve d'au moins 2 log₁₀ au niveau de la trachée et une élimination plus rapide du même virus au niveau pulmonaire, à partir de quatre jours après une épreuve homologue. La protection observée s'accompagnait de résultats positifs par un test ELISA ainsi qu'aux tests de prolifération lymphocytaire et d'hypersensibilité de type retardé utilisant les antigènes homologue ou hétérologue. Un effet similaire mais moins marqué était observé avec la souche d'épreuve hétérologue de sous type H₆ (Kodihalli *et al.*, 1984).

Les bons résultats de protection obtenus chez la souris avec un fragment de la protéine M₂ exprimée sous la forme de pseudoparticules chimères du virus de l'hépatite B (Neiryck *et al.*, 1999) suggèrent à nouveau de ne pas négliger l'apport de protéines internes conservées dans l'induction de l'immunité chez les volailles.

5.3.4.3 Conclusion concernant les vaccins sous-unitaires

Concrètement, l'utilisation des vaccins sous-unitaires n'est pas envisageable pour le moment.

5.4 Discussion-Conclusion

5.4.1 *Influence de la vaccination sur le portage et l'excrétion de virus influenza aviaires par les volailles vaccinées*

5.4.1.1 Vaccination contre des sous types H5 ou H7

Le **tableau VIII** récapitule l'aptitude des vaccins actuels contre l'influenza aviaire à limiter l'infection virale et à contrôler une épizootie. Ce tableau ne prend en compte que l'infection par un virus de sous type d'hémagglutinine homologue à celui inclus dans le vaccin.

Tableau VIII : Aptitude des vaccins actuels contre l'Influenza aviaire à limiter l'infection virale de poulets* et à contrôler une épizootie

Type de vaccin	Aptitude selon le critère précité	Disponibilité	Observation
Virus inactivé	+ à +++ selon standardisation de la concentration de protéines virales (hémagglutinine)	H ₅ H ₇ Continent américain Europe	- Interférence avec le diagnostic sauf artifice (neuraminidase différente) - Autres inconvénients tels que risque élevé dans la phase de production et durée de protection inconnue
Vaccin recombinant Pox aviaire (exprimant HA)	HA H ₅ + à ++++ selon degré hétérologie avec souche sauvage HA H ₇ à prouver	USA Non	Aucune efficacité si immunité antivirale préexistante
Vaccin sous-unitaire HA recombinante exprimée en baculovirus	HA H ₅ ou H ₇ ++	(USA) (USA)	Production arrêtée semble-t'il ?
Vaccin ADN HA	HA H ₅ ou H ₇ +++	Non Non	Pas économiquement viable pour le moment

* données exceptionnelles pour les autres espèces

5.4.1.1.1 Moyens disponibles

5.4.1.1.1 a Vaccins à virus inactivé

Pour les vaccins à virus inactivé la concentration en protéines virales et en hémagglutinine apparaît comme un point critique majeur. Si leur mise au point et leur production est aisée, ces vaccins présentent néanmoins beaucoup d'inconvénients :

- concernant leur production
 - le manque de standardisation de manière officiellement reconnue (par la pharmacopée européenne par exemple) d'une concentration minimale en protéines virales,
 - le risque représenté par la manipulation d'une souche hautement pathogène : au laboratoire, lors de la production et sur le terrain, lors de l'utilisation pour le cas où des particules virales résiduelles non inactivées persisteraient,
- concernant l'épidémiosurveillance
 - l'impossibilité de différencier les volailles vaccinées avec un tel vaccin des volailles infectées par une souche sauvage, au moyen des tests officiels actuels, sauf cas ponctuel italien (Capua, Pittman, 2001),
 - l'obligation, compte tenu de l'interférence avec les tests de dépistage et d'une efficacité partielle contre l'infection conférée par ces vaccins, de mettre des volailles sentinelles en contact des volailles vaccinées et de les surveiller aux plans sérologique et virologique,
- concernant la protection qu'ils confèrent
 - la nécessité de multiples rappels dans l'espèce dinde notamment,
 - l'absence de recul sur la durée de la protection.

5.4.1.1.1 b Vaccins recombinants pox aviaires

Seul le vaccin recombinant pox aviaire exprimant l'hémagglutinine aviaire H₅ (T183), développé par la Société Merial Select (Gainesville, GA, USA), fait l'objet de données répétées et solides. En matière d'efficacité de la protection conférée par ce vaccin, il faut retenir que la ré-excrétion de virus influenza par voie respiratoire chez les sujets vaccinés est corrélée à l'éloignement phylogénétique entre l'hémagglutinine de la souche infectante et de la souche vaccinale. Il ne faut pas oublier non plus que ce vaccin a une efficacité réduite en présence d'anticorps maternels vis-à-vis de l'influenza, que son efficacité dans les autres espèces de volailles est pratiquement inconnue et que son efficacité est anéantie par la présence d'une immunité anti-variolique préexistante.

5.4.1.1.1 c Autres vaccins

En ce qui concerne les vaccins ADN, ils sont restés jusqu'à présent au stade expérimental. En effet, malgré leur efficacité, certes perfectible, leurs modalités d'administration (doses ou voie etc...) ne sont pas économiquement viables pour le moment.

Les vaccins sous-unitaires basés sur l'utilisation du système d'expression baculovirus ont connu un développement commercial relayé un moment par la firme Protein Sciences Corporation (Meriden, CT, USA). Néanmoins leur coût risque de ne pas être compatible avec les contingences économiques et leur production semble arrêtée.

5.4.1.1.2 Limites des études actuelles - Perspectives

L'essentiel des données précitées repose sur des expérimentations en animaleries protégées de niveau P3, dans l'espèce poule essentiellement, avec des effectifs limités. Il faut souligner que le critère d'évaluation le plus souvent pris en compte pour évaluer l'efficacité du vaccin en matière de blocage de l'infection est le niveau d'excrétion par voie respiratoire et fécale d'un pic supposé d'excrétion (3-4 jours post infection selon le modèle expérimental). En effet en raison de la lourdeur des investigations, la durée de l'excrétion est rarement envisagée. De plus, les critères de diffusion du virus d'épreuve dans l'organisme de volailles vaccinées n'ont jamais été pris en compte et les souches d'épreuve utilisées sont essentiellement des souches hautement pathogènes qui pourraient être excrétées moins longtemps que des souches modérément pathogènes. Enfin, seuls les aspects quantitatifs ont été envisagés. On ne sait pas si la vaccination modifie la répartition en quasi-espèces du virus considéré et favorise l'émergence de sous-populations dont le phénotype (tropisme, pathogénicité, ...) serait modifié.

Les données de terrain rapportant les observations consécutives à l'utilisation à grande échelle de certains de ces vaccins ne sont pas toujours disponibles ou accessibles. En ce qui concerne l'épizootie mexicaine à virus H5 N2, il semble que le bénéfice de son contrôle par la vaccination n'ait pas été à la hauteur des attentes, en raison d'une utilisation mal maîtrisée négligeant le respect de mesures sanitaires parallèles (Webster, communication personnelle). En ce qui concerne la maîtrise de l'épizootie italienne à virus H7 N1, les données officielles établissant le bilan après une année de vaccination, démontrent de façon convaincante – maîtrise en 4 mois d'une épizootie traînant depuis 18 mois (Capua, Pittman, 2001) – l'impact positif d'une vaccination pratiquée de façon contrôlée et raisonnée, conjointement à une application rigoureuse de mesures sanitaires et hygiéniques.

5.4.1.2. Vaccination contre des sous types autres que H5 ou H7

Les vaccins utilisés sont tous à virus inactivé. Ils sont très peu standardisés et, en cas d'infection des volailles vaccinées par un virus influenza aviaire de sous type homologue à celui contenu dans le vaccin, leur efficacité en matière de réduction de l'excrétion virale n'est pas établie.

D'autre part, des volailles ainsi vaccinées qui seraient infectées par un virus influenza aviaire de sous types H5 ou H7 non pathogènes pourraient bénéficier d'une immunité croisée (hétérosubtypique) suffisante pour masquer ou atténuer la clinique et permettre la diffusion insidieuse de tels virus, comme le suggèrent les résultats de Seo et Webster (Seo, Webster, 2001). Cette situation est très lourde de conséquences en terme de santé animale, puisqu'elle pourrait être à l'origine d'une épizootie catastrophique.

5.4.1.3. Recommandations concernant la vaccination des volailles

La vaccination contre les virus de sous types H5 ou H7 à défaut de supprimer systématiquement l'excrétion de virus, la réduit et concourt à limiter la diffusion du virus. La vaccination d'urgence contre ces sous types est à recommander dans les formes graves non maîtrisées par les seules mesures hygiéniques et sanitaires.

En revanche, en raison d'absence de données nouvelles et du risque de masquer la circulation de virus de sous types H5 ou H7, il n'y a pas lieu d'encourager la pratique de la vaccination vis-à-vis des autres sous types. Pour améliorer cette situation, il pourrait être recommandé :

- d'avoir un texte législatif moins ambigu concernant la vaccination vis-à-vis des sous types autres que H5 ou H7, en effet compte-tenu de la standardisation insuffisante et du manque de contrôle de l'activité des vaccins actuellement disponibles pour lutter contre les virus de sous types autres que H5 ou H7, la vaccination des volailles contre les sous types autres que H5 ou H7 ne devrait pas être autorisée, sauf dérogation en cas d'épizootie,
- d'imposer une déclaration obligatoire et un suivi sérologique adapté des volailles vaccinées avec les sous types autres que H5 ou H7,
- d'améliorer la qualité des vaccins visant les sous types autres que H5 ou H7, en particulier en vue d'améliorer les critères suivants : **1** - capacité à supprimer l'excrétion virale, **2** - capacité à induire une protection homotypique et hétérotypique, **3** - rapidité d'induction et durée de la protection

- vaccinale, **4** - efficacité chez les différentes espèces de volailles domestiques (dinde notamment), **5** - capacité à induire une réponse sérologique différenciable de celle des infections naturelles et **6** - facilité d'administration.
- d'imposer dans les certificats sanitaires pour l'importation de volailles vivantes la mention de l'utilisation d'un vaccin contre l'influenza aviaire et le type de vaccin utilisé.

5.4.2 Risque pour l'homme lié à la manipulation de volailles vaccinées

Dans les conditions actuelles, si des vaccins sont utilisés, ce ne peut être que des vaccins à virus inactivé ou des vaccins recombinants poxvirus ou très accessoirement des vaccins sous-unitaires utilisés dans le cadre d'une vaccination d'urgence (les caractéristiques des vaccins disponibles conduisent en effet à proscrire la vaccination en dehors d'un tel contexte, cf paragraphe précédent). **Il n'y a donc aucun risque d'excrétion de la souche vaccinale par des volailles vaccinées avec les premiers et derniers vaccins cités.** En ce qui concerne, les vaccins recombinants poxvirus, les essais d'innocuité montrent que le virus recombinant n'est retrouvé qu'au point d'injection même en multipliant la dose vaccinale par 10 qu'il s'agisse de poussins, ou d'autres espèces de volailles sensibles d'1 jour d'âge et que ce virus vaccinal n'est pas retrouvé chez des volailles en contact. De plus, ce virus recombinant vaccinal, à condition d'être administré par voie sous-cutanée, n'est pas excrété par les volailles vaccinées puisque des volailles en contact avec les précédentes sont pleinement sensibles à une épreuve avec un virus influenza hautement pathogène.

Les risques à prendre en considération sont donc indirects. Ils consistent en la possibilité de réassortiment entre les virus influenza aviaires (éventuellement excrétés par des volailles vaccinées infectées puis éventuellement transmis à l'homme) et des virus influenza d'origine autre hébergés par l'homme au moment du contact avec les volailles précitées.

Le risque d'excrétion de virus influenza aviaires de sous types H5 à partir de poulets ou poules vaccinés avec des vaccins de sous types H5 bien calibrés (qu'ils soient à virus inactivé ou qu'il s'agisse de vaccins recombinants pox virus/H5) qui seraient infectées par un virus de mêmes sous types, est réduit voire supprimé en comparaison de volailles non vaccinées infectées. De plus, compte tenu de la législation vétérinaire, des volailles ainsi vaccinées ne pourraient l'être en France que dans un contexte particulier d'épizootie et feraient nécessairement l'objet d'un suivi systématique. Si bien que si elles venaient à s'infecter par des virus de sous types H5, elles ne prendraient pas le circuit classique mais seraient prises en charge par des équipes des Services Vétérinaires connaissant les précautions à prendre.

Le risque pour l'homme serait du même ordre, s'agissant de poulets ou poules ou de dindes vaccinés avec des vaccins de sous types H7 à virus inactivé, qui viendraient à s'infecter dans le même contexte que précédemment avec des virus influenza aviaires de sous types H7, bien que ces vaccins soient moins bien calibrés ou standardisés que les vaccins précités. En effet, là encore, ces volailles feraient l'objet d'une surveillance, vraisemblablement renforcée compte tenu d'un moindre recul sur les performances du vaccin, et seules des personnes averties auraient des contacts avec ces volailles.

Le risque d'excrétion par les volailles précitées de virus influenza aviaires de sous types différents de ceux incorporés dans les vaccins est possible. En effet, une infection (ou une co-infection) de ces volailles par des virus de sous types respectivement autres que H5 ou H7 est théoriquement possible. Dans les faits, elle paraît moins réaliste étant donné que les volailles qui bénéficieraient d'une des vaccinations précitées, feraient, en France, l'objet de mesures hygiéniques et sanitaires drastiques concourant à prévenir une infection quelle qu'elle soit. De plus, si malgré les mesures précitées l'infection avait lieu, elle pourrait se manifester cliniquement ce qui n'échapperait pas aux observations pratiquées régulièrement dans le cadre d'un tel protocole de vaccination. Enfin, dans l'éventualité où l'infection serait occulte cliniquement, elle serait néanmoins dépistée par les contrôles sérologiques systématiques accompagnant le plan de vaccination. Le statut sanitaire de ces volailles eu égard à l'influenza aviaire étant alors connu, elles pourraient être manipulées en connaissance de cause et ne seraient pas plus à risque que des volailles non vaccinées infectées de façon notoire par des virus de mêmes sous types.

- S'agissant de volailles vaccinées avec des souches vaccinales d'autres sous types que H5 ou H7, le risque est différent. En effet, aucune exigence (autre que leur innocuité et leur efficacité à

l'égard de la protection clinique) n'étant imposée jusqu'à présent à ces vaccins, ceux-ci pour des raisons de rentabilité, peuvent être sous-dosés ou de qualité inégale d'un lot à l'autre. Etant administrés à des volailles qui ne feront l'objet d'aucun contrôle sérologique obligatoire (s'agissant de sous types qui n'ont pas jusqu'ici été à l'origine de cas réglementés), ces volailles, si elles sont infectées par un virus influenza aviaire de sous type homologue ou hétérologue, pourront l'excréter de manière inapparente et inconnue. Or elles suivront un processus classique et seront manipulées, sans précautions, par des personnes non averties. Le risque encouru par l'homme rejoint celui concernant la manipulation de volailles non vaccinées infectées de façon inapparente, évoqué dans le paragraphe précédent. Ce risque pourrait encore être diminué si le statut sanitaire (eu égard à l'infection par des virus influenza) des volailles concernées par cette vaccination était établi ou si l'une des autres recommandations listées au paragraphe 5.4.1.3 était appliquée.

Donc à la réserve près qu'on ne sait pas si la vaccination modifie la répartition en quasi-espèces du virus considéré et favorise l'émergence de sous-populations dont le phénotype (tropisme, pathogénicité, ...) serait modifié :

- la vaccination des volailles contre l'influenza aviaire de sous types H5 ou H7 concourt à limiter la diffusion de ces virus et par conséquent le risque de transmission à l'homme de ces sous types,

- la vaccination des volailles contre les autres sous types d'influenza aviaire ne modifie pas le risque par rapport à celui constitué par des volailles non vaccinées infectées de manière inapparente.

6. Evaluation du risque de transmission à l'homme, synthèse et bilan des recommandations

6.1 Rappel du contexte de la saison

Les virus influenza de type A sont des virus enveloppés appartenant à la famille des *Orthomyxoviridae* et sont dotés d'un génome constitué de 8 segments d'ARN. Sur la base de l'antigénicité des deux principales protéines à l'origine de l'établissement d'une immunité humorale protectrice (à savoir l'hémagglutinine qui existe sous 15 espèces moléculaires antigéniquement différentes notées H1 à H15, et la neuraminidase qui existe sous forme de 9 espèces moléculaires antigéniquement différentes notées N1 à N9), les virus influenza de type A sont regroupés en sous types notés HxNy, au sein desquels les souches virales induisent une immunité humorale protectrice croisée. Au sein de chaque sous type, la circulation prolongée des souches virales chez une espèce (ou un groupe d'espèces animales) donnée peut conduire à une adaptation des souches virales considérées à leur hôte, et à l'apparition de lignages viraux. De même, la circulation de souches virales au sein d'une zone géographique donnée peut conduire à l'apparition de lignage viraux géographiques (cf. chapitre 1).

Plusieurs sous types de virus influenza A présentent des lignages viraux qui circulent préférentiellement chez les mammifères, essentiellement dans l'espèce humaine (H1N1, H2N2 et H3N2), dans l'espèce porcine (H1N1, H1N2 et H3N2) ou chez les espèces équine (H3N8), espèces chez lesquelles ces virus sont responsables d'infections respiratoires dites grippales. La gravité de celles ci peut être extrême : Ainsi la grippe humaine sévit elle avec une périodicité de 40 à 50 ans sous une forme pandémique, liée à l'émergence dans les populations humaines d'un virus dont l'antigénicité nouvelle associée à une bonne capacité de réplication chez l'homme permet la diffusion mondiale. La pandémie dite de « grippe espagnole » de 1918 est ainsi estimée avoir causé 20 millions de décès dans le monde (cf. Paragraphe 2.1).

Toutefois, le principal réservoir animal de virus influenza de type A est constitué par les espèces aviaires sauvages, notamment celles appartenant à l'ordre des Anseriformes (canards, cygnes et oies), qui peuvent héberger au niveau respiratoire et/ou digestif des virus porteurs de toutes les hémagglutinines et de toutes les neuraminidases identifiées à ce jour (cf paragraphe 3.2). Les oiseaux d'ornement ou les volailles domestiques sont sensibles à l'infection par tous les sous types de virus influenza A. La gravité de l'infection varie d'asymptomatique (cas le plus fréquent, surtout chez les Anseriformes) à létale chez 100 % des individus (cas de l'influenza aviaire hautement pathogène, notée IAHP, également dite « peste aviaire », causée par les virus de sous types H5 ou H7 chez les volailles domestiques et dont 18 épisodes ont été recensés dans le monde depuis 1959). La dernière épizootie en date d'IAHP a sévi en Italie de 1999 à 2000. Due à un virus H7N1, son éradication a nécessité l'abattage d'environ 14 millions de volailles, soit une perte globale (directe et indirecte) de 507 millions d'Euros (source Dr S. Marangon, Istituto Zooprofilattico Sperimentale delle Venezie, communication lors de la réunion des experts européens sur l'influenza, Padoue, Italie, 16.11.2001).

L'introduction chez une nouvelle espèce animale d'une souche d'influenza virus appartenant à un sous type normalement pas inféodé à cette espèce a des conséquences médicales potentiellement graves, puisque la population nouvellement infectée ne possède d'immunité humorale protectrice que vis à vis des sous types qui lui sont normalement inféodés, et non vis à vis du sous type émergent. Il a ainsi été démontré que chez les virus responsables des dernières pandémies humaines, les gènes codant les principales protéines immunogènes provenaient bien de souches virales appartenant à des lignages génétiques aviaires. La gravité des conséquences médicales potentielles de telles introductions de gènes aviaires dans des virus humains, et l'exposition parfois importante de l'homme à des volailles infectées, par exemple à l'occasion des épizooties d'IAHP, explique l'autosaisine à l'origine du présent rapport, formulée sous la forme des quatre questions suivantes :

- 1 – Quels sont les risques de transmission de virus de l'influenza aviaire à l'homme lors des manipulations d'oiseaux malades ou porteurs de virus ?
- 2 – Quelles sont les populations humaines à risque ?

- 3 – Quelle est l'influence d'une vaccination aviaire sur l'incidence du portage et de l'excrétion de virus influenza sauvages par les oiseaux vaccinés ?
- 4 – Quelle est l'influence d'une vaccination aviaire sur le risque de transmission du virus influenza sauvage à l'homme par les oiseaux vaccinés ?

6.2 Identification du danger : mécanismes de transmission à l'homme des virus aviaires et conséquences dans le cadre de la présente saisine

Deux mécanismes sont susceptibles d'être à l'origine de la transmission à l'homme d'un sous type viral normalement inféodé aux oiseaux.

Le premier mécanisme est la transmission directe à l'homme d'un virus aviaire (cf paragraphe 2.1.2.3). Trois exemples en ont été documentés récemment : un cas isolé de conjonctivite à influenza H7N7 chez une anglaise ayant manipulé de la paille souillée par des oiseaux contaminés (1996), l'épisode dit de la grippe du poulet survenu à Hong Kong en 1997 (18 cas humains dont 6 mortels) et deux cas de grippe humaine à virus H9N2 aviaire également survenus à Hong Kong en 1999 et ayant évolué favorablement. Ces cas démontrent certes la possibilité de la transmission directe, notamment - pour ce qui concerne l'épisode de Hong Kong en 1997 - chez des sujets ayant été exposés de façon prolongée et en atmosphère confinée à des volailles excrétrices. Toutefois **après la contamination initiale, la diffusion limitée ou absente du virus aviaire au sein des populations humaines reflète le caractère sans doute peu adapté des virus aviaires considérés à se répliquer dans des cellules humaines** : ainsi dans l'épisode de Hong Kong, il semble fortement probable que tous les malades avaient été contaminés directement au contact des volailles, et non par suite d'une contamination inter humaine secondaire (cette transmission inter humaine secondaire a semble-t-il pu avoir lieu avec le personnel hospitalier, mais est restée asymptomatique).

Le second mécanisme, dit de réassortiment génétique, est plus complexe et sans doute **plus dangereux puisqu'il peut, lui, donner naissance à des virus à la fois nouveaux sur le plan antigénique, mais aussi dotés d'une bonne capacité à se répliquer chez l'homme** (cf paragraphe 1.7.2). Le réassortiment génétique est rendu possible par la nature segmentée du génome viral : à l'occasion de la co-infection d'une cellule par deux particules virales provenant de souches virales différentes, il peut se trouver excrété des particules virales hybrides dont une partie des segments génomiques provient de l'un des virus parentaux et le reste des segments génomiques de l'autre. Chez un homme déjà infecté par un virus grippal humain, la surinfection avec un virus d'origine aviaire pourrait ainsi conduire à générer des particules porteuses des déterminants antigéniques du virus aviaire nouvellement introduit mais également porteuses des protéines de réplication du virus humain, ce virus réassortant alliant les avantages sélectifs de la nouveauté antigénique à ceux d'une bonne capacité répliquative dans les cellules humaines (C'est pour limiter la probabilité d'un tel événement de réassortiment que l'abattage total de toutes les volailles d'espèce *Gallus gallus* présentes sur l'île de Hong Kong a été décidé fin 1997).

Dans l'optique de la présente saisine, la possibilité de réassortiment revêt une importance double :

- **D'une part, la possibilité qu'un être humain grippé placé au contact de volailles excrétrices de virus aviaires soit à l'origine du réassortiment suggère qu'il conviendrait de s'interroger sur la fréquence des infections par les virus grippaux humains chez les populations humaines potentiellement exposées aux virus aviaires, et le cas échéant de prévoir une prophylaxie anti grippale, voire un traitement ou une chimioprophylaxie anti virale chez les sujets grippés.** En effet, la vaccination anti grippale des populations humaines potentiellement exposées, si elle ne peut les protéger contre les virus aviaires qui appartiennent en général à des sous types différents de ceux contenus dans les vaccins humains, n'en apparaît pas moins intéressante pour limiter les risques de portage de virus grippaux humains, et donc limiter le risque de réassortiment en cas d'infection par un virus aviaire. De même, la pratique plus systématique d'un diagnostic virologique de la grippe A chez les personnes souffrant d'un syndrome grippal et en contact avec des volailles infectées ou des virus aviaires pourrait s'avérer intéressante : elle permettrait en effet, en cas de résultat positif et avant même identification du sous-type viral isolé chez le patient, un recours justifié à des molécules antivirales (seuls

actuellement autorisés en France sont l'amantadine, la rimantadine et le zanamivir). Enfin, La chimioprophylaxie pourrait être envisagée si un ou des cas de grippe grave dus à des virus aviaires survenaient chez des sujets exposés. La chimioprophylaxie pourrait alors s'étendre à tout l'entourage professionnel exposé à ces mêmes sources. **L'opportunité de recommander ces diverses mesures devrait toutefois être mieux appréciée après mise en place de programmes de surveillance concertés visant à mieux évaluer la prévalence des infections à influenza A chez les oiseaux et dans les populations humaines au contact de ceux-ci** (cf infra).

- **D'autre part, les connaissances épidémiologiques actuelles démontrent que l'espèce humaine n'est pas la seule à pouvoir être infectée à la fois par les virus humains et aviaires.** Le porc présente en effet des cellules respiratoires trachéales porteuses à la fois des récepteurs adaptés aux virus humains et de ceux nécessaires à l'attachement des virus aviaires (cf paragraphe 1.5) : outre les sous types qui lui sont inféodés et dont certains sont communs à l'homme, il est actuellement admis que l'espèce porcine peut occasionnellement héberger la plupart sinon tous les sous types considérés comme aviaires, et qu'elle joue à ce titre le rôle épidémiologique de principal agent de réassortiment entre les virus humains et aviaires (cf paragraphe 2.1.2). **Au delà du cadre limité aux volailles de la présente saisine, il conviendrait donc de s'interroger sur le risque représenté pour l'homme par les virus potentiellement transmis par le porc, risque sans doute supérieur à celui représenté par les virus aviaires.**

6.3 Probabilité d'émission : fréquence des infections à influenza A chez les oiseaux

L'avifaune domestique est sans doute la population aviaire chez laquelle la prévalence de l'infection est la mieux documentée (cf paragraphe 3.2.3.). Les données publiées jusqu'à un passé très récent concernent le plus souvent des lots « à risque » puisque cliniquement suspects. Seules des enquêtes plus systématiques telles que celle récemment mise en place par la DGAI et le LNR permettront d'approcher plus justement la prévalence de l'infection par les virus influenza aviaires, en particulier en prenant en compte les espèces de palmipèdes domestiques qui pourraient jouer un rôle épidémiologique important en tant que porteurs sains. **Les données disponibles au niveau européen suggèrent qu'en dehors d'un contexte d'épizootie, la prévalence des infections à virus influenza dans les élevages de dinde et de poulet est probablement très inférieure à 5%.** Une exposition humaine intense aux virus influenza infectant ces espèces requiert donc soit l'exposition prolongée à un lot contaminé (événement plutôt peu fréquent concernant plutôt les éleveurs et leurs familles), soit le contact fréquent avec les matières potentiellement virulentes issues de multiples lots (cas des personnels d'abattoir).

En ce qui concerne l'avifaune sauvage, les espèces les plus fréquemment infectées sont les ansériformes sauvages (canards, oies) et les charadriiformes (goélands, mouettes et limicoles). Chez les ansériformes, la prévalence de l'infection peut varier de quelques pourcents à 60 % des sujets. La prévalence maximale est observée chez les oiseaux juvéniles dans les phases de rassemblement prémigratoire.

Concernant les oiseaux de compagnie ou d'ornement, peu de données sont à ce jour disponibles.

6.4 Exposition humaine aux virus influenza A aviaires

Les sources plausibles d'influenzavirus aviaires pour l'homme sont les sécrétions respiratoires et/ou digestives d'oiseaux infectés (espèces aviaires sauvages, d'ornement ou domestiques), ainsi que les éléments souillés par celles-ci (plumes ou litières par exemple). Seuls les influenza A aviaires hautement pathogènes ont un tropisme qui leur permet de contaminer les organes extérieurs à l'appareil respiratoire ou digestif, mais les symptômes qu'ils causent sont aisément reconnaissables et aucune denrée alimentaire ne serait produite à partir de ces animaux malades. Par ailleurs, les enquêtes épidémiologiques et sérologiques effectuées en anneau autour des foyers d'influenza A aviaire hautement pathogènes conduiraient à détruire et donc à

écarter de la chaîne alimentaire tout lot susceptible d'avoir été en contact avec les volailles infectées (cf paragraphe 4.1).

Les voies de contamination envisageables pour la transmission de virus influenza aviaire à l'homme sont les voies respiratoire (si contact étroit et dose virale élevée, comme ce fut le cas à Hong Kong) ou intra oculaire pour des contaminations accidentelles (comme ce fut le cas pour la personne manipulant de la paille contaminée, cf. supra).

Une liste des populations humaines potentiellement exposées à une infection par les virus influenza aviaires peut être définie sur la base d'une activité conduisant à des contacts fréquents ou importants avec les matières potentiellement virulentes. Par contre, il est actuellement impossible de quantifier le risque, à la fois parce que la prévalence des infections à influenza virus dans ces différentes populations animales est mal quantifiée, aussi parce qu'il n'existe pas de recensement des infections grippales dans les populations humaines potentiellement exposées à ces sources. C'est pourquoi il n'est ici question que de personnes « potentiellement exposées » et non de personnes « exposées » (cf paragraphe 4.2) :

Concernant les populations humaines potentiellement exposées via les oiseaux sauvages, on peut citer *i*) le personnel des instituts et organisations impliqués dans l'étude de la faune sauvage, particulièrement le personnel amené à manipuler du gibier d'eau (anatidés, charadriiformes) ou à fréquenter les zones de rassemblement hivernal de ces espèces, *ii*) les chasseurs et *iii*) le public fréquentant les réserves naturelles. Les deux premières catégories qui sont amenées à manipuler directement les oiseaux semblent les plus exposées, et leur exposition sera d'autant plus forte que les manipulations seront fréquentes.

Concernant les populations humaines potentiellement exposées via les oiseaux d'ornement (paragraphe 4.2), on peut citer *i*) les éleveurs et leur familles, *ii*) les personnes impliquées dans le commerce des espèces d'ornement et *iii*) le personnel et les visiteurs des expositions avicoles ou des parcs maintenant en captivité des espèces aviaires (ces derniers moins exposés car seulement de façon transitoire). Les éléments discutés au paragraphe 3.2.2. illustrent le fait qu'il est actuellement difficile de rassembler les données concernant le statut sanitaire des oiseaux d'ornement, mais que la mise en application récente d'une nouvelle directive européenne devrait améliorer les connaissances sur ce point, sous réserve qu'une centralisation des résultats obtenus par les futurs centres importateurs soit possible au niveau national.

Concernant les populations humaines exposées aux virus influenza aviaires via les oiseaux domestiques (cf paragraphe 4.2.3.), le tableau n°VI présente un essai d'estimation de leur exposition relative selon l'activité professionnelle. Le tableau est à interpréter de façon comparative (c'est-à-dire que l'intensité de l'exposition potentielle des populations est évaluée en les comparant les unes par rapport aux autres), les données actuelles ne permettant pas de quantifier les infections humaines dues aux influenza virus aviaires. Dans l'étude des populations humaines potentiellement exposées, il convient de distinguer les situations épidémiologiques suivantes :

Absence d'épizootie d'influenza aviaire : l'épidémiologie est marquée par la possible circulation dans les populations avicoles domestiques de sous types viraux variés, sans qu'une souche soit très largement répandue. L'exposition potentielle des populations humaines est liée à la fréquence de leur contacts avec les oiseaux domestiques, et à l'intensité de leur exposition aux matières potentiellement virulentes mentionnées au paragraphe 4.1. **On peut considérer qu'il s'agit d'une exposition modérée à des virus variés des catégories professionnelles habituellement exposées (cf. infra).**

Epizootie d'influenza aviaire : la situation est caractérisée par large diffusion au sein des élevages d'une souche virale particulière de virus influenza, qu'elle soit responsable d'influenza aviaire hautement pathogène (HPAI) ou non (LPAI). *En cas d'HPAI*, le transport des animaux hors de l'exploitation est interdit, les mouvements d'animaux autour de l'élevage sont stoppés, les intervenants extérieurs à l'exploitation sont interdits d'entrée dans l'élevage, sauf si leur intervention est liée avec la gestion du cas (prélèvements en cas de suspicion, destruction sur place des animaux et désinfection des locaux après confirmation). L'exposition potentielle de certaines catégories de population paraît logiquement réduite par rapport à la période « normale », puisque ces catégories de population n'ont plus accès aux animaux qui sont consignés (ex : personnel de ramassage, d'insémination artificielle, techniciens d'élevage, personnel d'abattage). De nouvelles catégories de population apparaissent en revanche concernées, telles que par exemple le personnel réalisant l'abattage d'urgence. *Lors d'une épizootie de LPAI*, la situation est clairement différente puisqu'aucune mesure de contrôle n'est réglementairement exigée (ceci bien que la tendance actuelle consiste à appliquer les mêmes

mesures de contrôle à tous les virus de sous types H5 et H7, qu'ils soient ou non hautement pathogènes) : les catégories de populations potentiellement exposées en situation normale voient leur exposition potentielle augmentée, du fait du possible traitement selon les procédures normales de grandes quantités d'animaux massivement excréteurs.

Que l'épizootie soit HPAI ou LPAI, il faut noter que l'exposition, pour massive qu'elle soit, ne concerne qu'une souche particulière de virus influenza. Les informations concernant le risque de transmission à l'homme des virus aviaires qui ont pu être obtenues à l'occasion d'épizooties d'influenza aviaire antérieures ne sont donc que de peu d'utilité, puisque les propriétés des souches virales en cause – et en particulier leur potentiel zoonotique – sont susceptibles de changer selon la composition génétique de l'influenzavirus en cause. Une exposition à de multiples souches virales augmente donc le risque que le sujet exposé rencontre une souche capable d'infecter l'homme.

6.5 Résultats de l'évaluation qualitative

Une tentative d'évaluation qualitative de la probabilité de transmission à l'homme a été réalisée, en considérant pour chacune des situations épidémiologiques et populations humaines exposées d'une part l'intensité et la qualité de l'émission virale (importance de l'excrétion, variété des souches virales émises) et d'autre part l'importance et les caractéristiques de l'exposition.

Cette évaluation a été basée, conformément à la méthode d'analyse du risque, sur une classification comprenant les cinq niveaux qualitatifs suivants :

- nul
- négligeable (probabilité de survenue très faible, liée à une série de circonstances défavorables)
- faible (probabilité de survenue faible, à interpréter au cas par cas)
- modéré (probabilité de survenue assez élevée à moyen et long termes, justifiant la mise en œuvre de certaines mesures de contrôle et de prévention)
- élevé (probabilité de survenue élevée à court terme, nécessitant l'application immédiate de mesures appropriées).

Les cinq niveaux utilisés dans cette évaluation qualitative de la probabilité de transmission ne se superposent pas aux niveaux habituellement utilisés en analyse de risque dans la mesure où ils n'intègrent pas l'importance des conséquences de l'infection pour l'homme : il a déjà été développé au paragraphe 2.1.2 comment, suivant les caractéristiques de la souche virale aviaire en cause, les conséquences de l'infection chez l'homme sont susceptibles d'être soit bénignes (infection inapparente, peu grave ou d'issue favorable), soit au contraire graves à dramatiques pour l'individu ou la collectivité (cas de la grippe du poulet à Hong Kong, avec une létalité de 33 % mais un nombre de cas humains recensés heureusement limité, et exceptionnellement possibilité de genèse d'une pandémie de grippe humaine).

Les résultats de l'évaluation qualitative sont présentés dans les tableaux IX à XI.

Tableau IX : Evaluation qualitative de la probabilité de transmission à l'homme des influenza virus aviaires par les oiseaux sauvages (essentiellement ansériformes, charadriiformes).

Population potentiellement exposée	Caractéristiques de l'émission virale	Caractéristiques de l'exposition	Evaluation de la probabilité de transmission
Visiteurs de parcs et réserves ornithologiques	Excrétion importante	Absence de contact étroit Milieu non confiné	Nul à négligeable
Chasseurs	Souches virales variées Nombreux sujets excréteurs	Contact étroit Manipulations Nombre de sujets manipulés plutôt faible Milieu non confiné	Négligeable à faible
Personnel des organisations de gestion de l'avifaune sauvage (ansériformes, charadriiformes) : capture, baguage		Contact étroit Manipulations Nombre de sujets manipulés élevé Milieu non confiné	Faible (mais variable selon la prévalence)

Tableau X : Evaluation qualitative de la probabilité de transmission à l'homme des influenza virus aviaires par les oiseaux d'ornement.

Population potentiellement exposée	Caractéristiques de l'émission virale	Caractéristiques de l'exposition	Evaluation de la probabilité de transmission
Visiteurs des expositions avicoles	Peu de données en France	Exposition occasionnelle, de courte durée, sans contact étroit	Nul à négligeable
Personnel des expositions avicoles		Exposition de courte durée, contacts moins étroits que les éleveurs, peu de manipulations directes	Négligeable
Éleveurs d'oiseaux d'ornement et leurs proches		Contacts étroits, fréquents, éventuellement milieu confiné Manipulations Exposition à des souches virales <i>a priori</i> peu variées, sauf si mouvements d'animaux ou contacts avec les oiseaux extérieurs	Négligeable à faible (selon la prévalence, l'espèce des oiseaux considérés, leurs conditions d'élevage)
Personnel impliqué dans le commerce des oiseaux d'ornement		Contacts étroits, fréquents, milieu <i>a priori</i> plutôt confiné Manipulations Exposition possible à des souches virales potentiellement variées (espèces hôtes variées, sources diverses relevant de modalités de contrôle différentes)	Faible (selon la prévalence, l'espèce, les conditions de captivité, le respect de la réglementation)

Tableau XI : Tentative d'évaluation qualitative de la probabilité de transmission aux professionnels avicoles des influenza virus aviaires par les volailles de rente, suivant les différentes situations épidémiologiques et l'activité professionnelle. La note 1 à 3 indique une émission croissante de matières potentiellement virulentes. Probabilités 0 = nulle, N = négligeable, F = faible, M = modérée, E = élevée (cf la définition de ces niveaux dans le texte). La prévalence des infections à virus influenza aviaires étant inconnue chez les professionnels avicoles, il n'est pas possible de préciser quelle fréquence d'infection humaine est entraînée par ces différents niveaux de probabilité, d'où la nécessité d'études sur la fréquence et la nature des infections grippales chez les populations humaines potentiellement exposées.

Contexte épidémiologique aviaire					
	Epizooties		Cas ponctuels ^a		Portage ^b
	HPAI	LPAI	H5 ou H7 ^c	Autres	
Fréquence d'apparition de la situation	Très exceptionnelle		Exceptionnelle		1 à 3
Emission de matières virulentes			3		selon la prévalence
Variété des souches virales émises	Faible (car diffusion épizootique d'une souche)		Modérée à élevée (selon la prévalence)		
Éleveurs et leur famille		F			F à M
Techniciens et vétérinaires avicoles		N à F			N
Équipes d'intervention et de ramassage	0	N à M	0	F	F à M
Car séquestration des lots et destruction sur place		Selon qu'il y a ou non mesures de contrôle	Car ces lots seraient traités comme HPAI		
Équarisseurs	0 à N	N	0	N	0
Car réglementation suppose destruction sur place		Car les volailles mortes génèrent moins de matières infectieuses	Car ces lots seraient traités comme HPAI	Car les volailles mortes génèrent moins de matières infectieuses	Car il y a peu de lots envoyés à l'équarissage, donc encore moins de positifs en influenza virus
Personnels d'abattoir (début de chaîne)	0 à N	0 à F	0	0 à N	F à M
Car réglementation suppose destruction sur place		Selon mesures de contrôle	Car pas d'abattage du lot à l'abattoir		selon la prévalence
Personnels réalisant l'abattage d'urgence	F	0	F	0	0
Car réglementation suppose destruction sur place		car pas d'abattage d'urgence		Car pas d'abattage d'urgence dans ce cas	
Personnel de livraison et de transport des volailles	0	0 à F	0	0 à N	N à F
Car réglementation suppose destruction sur place		Selon qu'il y a ou non mesures de contrôle, Risque a priori < aux équipes de ramassage	Car la réglementation suppose destruction sur place		selon la prévalence
Personnels techniques des Laboratoires de diagnostic et de recherche vétérinaires (autopsie, prélèvements, expérimentation)	F	N à F	N à F		N à F
Car le virus n'est pas présent dans tous les organes		Car le virus n'est pas présent dans tous les organes	Car le nombre de lots d'animaux soumis pour analyse est limité		Selon les précautions prises pour la protection du manipulateur
Commerçants en volailles vivantes et de rente	0	F	0 - F ^d	0 à N	N
					Selon la prévalence

R i s q u e P o u r I e s

a : Unité considérée = l'élevage, **b** : circulation virale en l'absence de clinique, **c** : en supposant la mise en place de mesures de contrôle destinées à prévenir la diffusion du virus, en l'absence de telles mesures, se reporter à la colonne « Autres », **d** : 0 car en cas de signes cliniques le commerçant ne doit pas pouvoir s'approvisionner dans l'élevage infecté, à F au cas où il s'approvisionnerait au cours de l'incubation ou en infraction avec la réglementation.

Une évaluation plus précise du risque de transmission à l'homme des influenza virus aviaires rend absolument nécessaire une étude de la prévalence et de la nature des infections grippales chez les populations humaines potentiellement exposées aux influenza virus aviaires. Si des études sérologiques ponctuelles ont bien été réalisées chez des populations humaines exposées dans un contexte d'épizootie d'HPAI (cf paragraphe 4.2.3.), il faut souligner ici que ces études ne renseignent que sur le potentiel zoonotique de la seule souche d'influenzavirus étudiée dans le cadre de l'épizootie. Or des études en dehors d'un contexte d'IAHP seraient pourtant indispensables, soit pour mettre en évidence d'éventuels cas asymptomatiques de transmission des virus influenza aviaires à l'Homme, soit pour identifier la fréquence avec laquelle des personnes porteuses de virus grippaux humains sont amenées à être exposées à des virus influenza aviaires (situation favorable à la survenue de phénomènes de réassortiment génétique entre souches humaines et aviaires de virus Influenza, donc susceptible de favoriser l'émergence de nouveaux sous types viraux pathogènes pour l'Homme, cf supra).

Afin de pouvoir évaluer si des mesures de prophylaxie spécifiques telles que la vaccination anti grippale pourraient avoir un intérêt chez les populations humaines potentiellement exposées aux virus influenza aviaires (ne serait ce que pour limiter le portage d'influenzavirus humains et limiter ainsi la probabilité des phénomènes de réassortiment), il conviendrait donc d'encourager la mise en place de programmes concertés de surveillance des infections à influenza virus, d'une part, dans les populations aviaires et, d'autre part, chez les populations humaines qui sont professionnellement exposées à ces populations aviaires.

6.6 Evaluation des possibilités de gestion du risque par la vaccination des volailles contre l'influenza aviaire

6.6.1 Influence de la vaccination sur le portage et l'excrétion de virus sauvages par les volailles vaccinées

6.6.1.1 Infections par les sous types H5 ou H7

La plupart des informations disponibles concernent la prophylaxie vaccinale des infections par les virus influenza aviaires des sous types H5 ou H7. Les vaccins envisageables pour lutter contre les infections aviaires à virus influenza de sous types H5 ou H7 incluent des vaccins à virus inactivé, des vaccins recombinants utilisant un vecteur pox aviaire, des vaccins ADN et des vaccins sous-unitaires. Le tableau VIII récapitule l'aptitude des vaccins actuels contre l'influenza aviaire à limiter l'infection virale et à contrôler une épizootie causée par ces sous types viraux. Les indications de ce tableau en terme d'efficacité vaccinale ne concernent que l'infection par un virus de sous type d'hémagglutinine homologue à celui inclus dans le vaccin.

Les vaccins à virus inactivé de sous types H5 (cf paragraphe 5.3.1.) ont été les plus étudiés et à condition de contenir une concentration suffisante en hémagglutinine virale et en protéines virales, ils se montrent efficaces pour réduire voire supprimer l'excrétion de virus influenza aviaires de sous types homologues par des volailles vaccinées infectées. Les vaccins de sous types H7, bien que moins étudiés et standardisés, se sont montrés efficaces sur le terrain en Italie pour limiter la diffusion épizootique de virus H7, conjointement à la mise en œuvre de mesures hygiéniques et sanitaires rigoureuses et d'un plan de surveillance.

Néanmoins, tous ces vaccins présentent beaucoup d'inconvénients, à savoir :

- **Concernant leur production, i)** le manque de standardisation de manière officiellement reconnue (par la pharmacopée européenne par exemple) d'une concentration minimale en protéines virales et **ii)** le risque représenté par la manipulation d'une souche hautement pathogène : au laboratoire, lors de la production et sur le terrain, lors de l'utilisation pour le cas où des particules virales résiduelles non inactivées persisteraient,
- **Concernant l'épidémiosurveillance, i)** l'impossibilité de différencier les volailles vaccinées avec un tel vaccin des volailles infectées par une souche sauvage, au moyen des tests officiels actuels, sauf cas ponctuel italien (Capua, Pittman, 2001) et **ii)** l'obligation, compte tenu de l'interférence avec les tests de dépistage et d'une efficacité partielle contre

l'infection conférée par ces vaccins, de mettre des volailles sentinelles en contact des volailles vaccinées et les surveiller aux plans sérologique et virologique,

- **Concernant la protection qu'ils confèrent, i)** la nécessité de multiples rappels dans l'espèce dinde notamment et **ii)** l'absence de recul sur la durée de la protection.

Les vaccins recombinants pox aviaires (cf paragraphe 5.3.2) : Seul le vaccin recombinant pox aviaire exprimant l'hémagglutinine aviaire H₅ (TI83), développé par la Société Merial Select (Gainesville, GA, USA), fait l'objet de données répétées et solides. Il présente une innocuité satisfaisante, ne diffuse pas, se montre efficace chez le poulet EOPS pour prévenir de manière durable l'apparition de signes cliniques après infection et empêcher l'excrétion de virus influenza aviaire par voie fécale. En matière d'efficacité de la protection conférée par ce vaccin, il faut retenir que la ré-excrétion de virus influenza aviaire par voie respiratoire est corrélée à l'éloignement phylogénétique entre l'hémagglutinine de la souche sauvage et de la souche vaccinale. Il ne faut pas oublier non plus que ce vaccin a une efficacité réduite en présence d'anticorps maternels vis-à-vis de l'influenza, que son efficacité dans les autres espèces de volailles est pratiquement inconnue et que son efficacité est anéantie par la présence d'une immunité anti-variologique préexistante.

Les autres vaccins : Leur utilisation n'est pas envisageable en pratique à l'heure actuelle. En ce qui concerne les vaccins ADN, ils sont restés jusqu'à présent au stade expérimental (cf paragraphe 5.3.3). En effet, malgré leur efficacité, certes perfectible, leurs modalités d'administration (doses ou voie etc...) ne sont pas économiquement viables pour le moment. En ce qui concerne les vaccins sous-unitaires (cf paragraphe 5.3.4) basés sur l'utilisation du système d'expression baculovirus, ils ont connu un développement commercial relayé un moment par la firme Protein Sciences Corporation (Meriden, CT, USA). Néanmoins leur coût risque de ne pas être compatible avec les contingences économiques et leur production semble arrêtée.

Par ailleurs, il faut souligner les limites des études précitées en matière de prévention vaccinale des infections à virus H5 ou H7. L'essentiel des données précitées repose sur des expérimentations en animaleries protégées de niveau P3, dans l'espèce poule essentiellement, avec des effectifs limités. Il faut souligner que le critère d'évaluation le plus souvent pris en compte pour évaluer l'efficacité du vaccin en matière de blocage de l'infection est le niveau d'excrétion par voie respiratoire et fécale d'un pic supposé d'excrétion (3-4 jours post infection selon le modèle expérimental). En effet en raison de la lourdeur des investigations, la durée de l'excrétion est rarement envisagée. De plus les critères de diffusion du virus d'épreuve dans l'organisme de volailles vaccinées n'ont jamais été pris en compte et les souches d'épreuve utilisées sont essentiellement des souches hautement pathogènes qui pourraient être excrétées moins longtemps que des souches modérément pathogènes. Enfin seuls les aspects quantitatifs ont été envisagés. On ne sait pas si la vaccination modifie la répartition en quasi-espèces du virus considéré et favorise l'émergence de sous-populations dont le phénotype (tropisme, pathogénicité, ...) serait modifié.

Les données de terrain rapportant les observations consécutives à l'utilisation à grande échelle de certains de ces vaccins ne sont pas toujours disponibles ou accessibles. En ce qui concerne l'épizootie mexicaine à virus H5 N2, il semble que le bénéfice de son contrôle par la vaccination n'ait pas été à la hauteur des attentes, en raison d'une utilisation mal maîtrisée négligeant le respect de mesures sanitaires parallèles (Webster, communication personnelle). En ce qui concerne la maîtrise de l'épizootie italienne à virus H7N1, les données officielles établissant le bilan après une année de vaccination, démontrent de façon convaincante **i)** une maîtrise en 4 mois d'une épizootie se prolongeant depuis 18 mois (Capua, Pittmann, 2001) et **ii)** l'impact positif d'une vaccination pratiquée de façon contrôlée et raisonnée, conjointement à une application rigoureuse de mesures sanitaires et hygiéniques.

6.6.1.2 Infections par les sous types autres que H5 ou H7

Les vaccins utilisés sont tous à virus inactivé (cf paragraphe 5.2). Bien que la faisabilité de tels vaccins soit accessible, ils sont très peu standardisés et, dans le cas où un virus influenza aviaire de sous type homologue à celui contenu dans le vaccin infecterait des volailles vaccinées, l'efficacité de tels vaccins en matière de réduction de l'excrétion n'est pas établie.

D'autre part, des volailles ainsi vaccinées qui seraient infectées par un virus influenza aviaire de sous types H5 ou H7 non pathogènes pourraient bénéficier d'une immunité croisée (hétérosubtypique) suffisante pour masquer ou atténuer la clinique et permettre la diffusion insidieuse de tels virus, comme le suggèrent les résultats de Seo et Webster (Seo, Webster, 2001). Cette situation est très lourde de

conséquences en terme de santé animale, puisqu'elle pourrait être à l'origine d'une épizootie catastrophique.

6.6.1.3 Recommandations concernant la vaccination des volailles

La vaccination contre les virus de sous types H5 ou H7 à défaut de supprimer systématiquement l'excrétion de virus, la réduit et concourt à limiter la diffusion du virus. La vaccination d'urgence contre ces sous types est à recommander dans les formes graves non maîtrisées par les seules mesures hygiéniques et sanitaires.

En revanche, en raison d'absence de données nouvelles et du risque de masquer la circulation de virus de sous types H5 ou H7, il n'y a pas lieu d'encourager la pratique de la vaccination vis-à-vis des autres sous types. Pour améliorer cette situation, il pourrait être recommandé :

- **d'avoir un texte législatif moins ambigu concernant la vaccination vis-à-vis des sous types autres que H5 ou H7**, en effet compte-tenu de la standardisation insuffisante et du manque de contrôle de l'activité des vaccins actuellement disponibles pour lutter contre les virus de sous types autres que H5 ou H7, la vaccination des volailles contre les sous types autres que H5 ou H7 ne devrait pas être autorisée, sauf dérogation en cas d'épizootie,
- **d'imposer une déclaration obligatoire et un suivi sérologique adapté des volailles vaccinées avec les sous types autres que H5 ou H7,**
- **d'améliorer la qualité des vaccins visant les sous types autres que H5 ou H7**, en particulier en vue d'améliorer les critères suivants : **1** - capacité à supprimer l'excrétion virale, **2** - capacité à induire une protection homotypique et hétérotypique, **3** - rapidité d'induction et durée de la protection vaccinale, **4** - efficacité chez les différentes espèces de volailles domestiques (dinde notamment), **5** - capacité à induire une réponse sérologique différenciable de celle des infections naturelles et **6** - facilité d'administration.
- **d'imposer dans les certificats sanitaires pour l'importation de volailles vivantes la mention de l'utilisation d'un vaccin contre l'influenza aviaire et le type de vaccin utilisé.**

6.6.2 Risque pour l'homme lié à la manipulation de volailles vaccinées : influence de la vaccination sur le portage et l'excrétion de virus par les volailles vaccinées

Dans les conditions actuelles, **si des vaccins sont utilisés, ce ne peut être que des vaccins à virus inactivé ou des vaccins recombinants poxvirus ou très accessoirement des vaccins sous-unitaires** utilisés dans le cadre d'une vaccination d'urgence (les caractéristiques des vaccins disponibles conduisent en effet à proscrire la vaccination en dehors d'un tel contexte, cf. paragraphe précédent). **Il n'y a donc aucun risque d'excrétion de la souche vaccinale par des volailles vaccinées avec les premiers et derniers vaccins cités.** En ce qui concerne, les vaccins recombinants poxvirus, les essais d'innocuité montrent que le virus recombinant n'est retrouvé qu'au point d'injection même en multipliant la dose vaccinale par 10 qu'il s'agisse de poussins, ou d'autres espèces de volailles sensibles d'1 jour d'âge et que ce virus vaccinal n'est pas retrouvé chez des volailles en contact. De plus ce virus recombinant vaccinal, à condition d'être administré par voie sous-cutanée, n'est pas excrété par les volailles vaccinées puisque des volailles en contact avec les précédentes sont pleinement sensibles à une épreuve avec un virus influenza hautement pathogène.

Les risques à prendre en considération sont donc indirects. Ils consistent en la possibilité de réassortiment entre les virus influenza aviaires (éventuellement excrétés par des volailles vaccinées infectées puis éventuellement transmis à l'homme) et des virus hébergés par l'homme au moment du contact avec les volailles précitées.

Le risque d'excrétion de virus influenza aviaires de sous types H5 à partir de poulets ou poules vaccinés avec des vaccins de sous types H5 bien calibrés (qu'ils soient à virus inactivé ou qu'il s'agisse de vaccins recombinants pox virus/H5) qui seraient infectées par un virus de mêmes sous types, est réduit voire supprimé en comparaison de volailles non vaccinées infectées (cf paragraphe 5.3.). De plus compte tenu de la législation vétérinaire (cf annexe), des volailles ainsi vaccinées ne pourraient l'être en France que dans un contexte particulier d'épizootie et feraient nécessairement l'objet d'un suivi systématique. Si bien que si elles venaient à s'infecter par des virus de sous types H5, elles ne prendraient pas le circuit

classique mais seraient prises en charge par des équipes des Services Vétérinaires connaissant les précautions à prendre.

Le risque pour l'homme serait du même ordre, s'agissant de poulets ou poules ou de dindes vaccinés avec des vaccins de sous types H7 à virus inactivé, qui viendraient à s'infecter dans le même contexte que précédemment par des virus influenza aviaires de sous types H7, bien que ces vaccins soient moins bien calibrés ou standardisés que les vaccins précités. En effet, là encore, ces volailles feraient l'objet d'une surveillance, vraisemblablement renforcée compte tenu d'un moindre recul sur les performances des vaccins utilisés, et seules des personnes averties auraient des contacts avec ces volailles.

Le risque d'excrétion par les volailles précitées de virus influenza aviaires de sous types différents de ceux incorporés dans les vaccins est possible. En effet, une infection (ou une co-infection) de ces volailles par des virus de sous types respectivement autres que H5 ou H7 est théoriquement possible. Dans les faits, elle paraît moins réaliste étant donné que les volailles qui bénéficieraient d'une des vaccinations précitées, feraient, en France, l'objet de mesures hygiéniques et sanitaires drastiques concourant à prévenir une infection quelle qu'elle soit. De plus, si malgré les mesures précitées l'infection avait lieu, elle pourrait se manifester cliniquement ce qui n'échapperait pas aux observations pratiquées régulièrement dans le cadre d'un tel protocole de vaccination. Enfin, dans l'éventualité où l'infection serait occulte cliniquement, elle serait néanmoins dépistée par les contrôles sérologiques systématiques accompagnant le plan de vaccination. Le statut sanitaire de ces volailles eu égard à l'influenza aviaire étant alors connu, elles pourraient être manipulées en connaissance de cause et ne seraient pas plus à risque que des volailles non vaccinées infectées de façon notoire par des virus de mêmes sous types .

- S'agissant de volailles vaccinées avec des souches vaccinales d'autres sous types que H5 ou H7, le risque est différent. En effet, aucune exigence (autre que leur innocuité et leur efficacité à l'égard de la protection clinique) n'étant imposée jusqu'à présent à ces vaccins, ceux-ci pour des raisons de rentabilité, peuvent être sous-dosés ou de qualité inégale d'un lot à l'autre. Etant administrés à des volailles qui ne feront l'objet d'aucun contrôle sérologique obligatoire (s'agissant de sous types qui n'ont pas jusqu'ici été à l'origine de cas réglementés), ces volailles, si elles sont infectées par un virus influenza aviaire de sous type homologue ou hétérologue, pourront l'excréter de manière inapparente et inconnue. Or elles suivront un processus classique et seront manipulées, sans précautions, par des personnes non averties. Le risque encouru par l'homme rejoint celui concernant la manipulation de volailles non vaccinées infectées de façon inapparente, évoqué plus haut. Ce risque pourrait encore être diminué si le statut sanitaire (eu égard à l'infection par des virus influenza) des volailles concernées par cette vaccination était établi ou si l'une des autres recommandations listées en 6.6.1.3 était appliquée.

En conclusion, à la réserve près qu'on ne sait pas si la vaccination modifie la répartition en quasi-espèces du virus considéré et favorise l'émergence de sous-populations dont le phénotype (tropisme, pathogénicité, ...) serait modifié :

- **la vaccination des volailles contre l'influenza aviaire de sous types H5 ou H7, concourt à limiter la diffusion de ces virus et par conséquent le risque de transmission à l'homme de ces sous types.**
- **la vaccination des volailles contre les autres sous types d'influenza aviaire ne modifie pas le risque par rapport à celui constitué par des volailles non vaccinées infectées de manière inapparente.**

6.7 Bilan des recommandations du groupe de travail

Considérant :

- que certaines souches de virus influenza A sont responsables chez l'homme d'infections dites grippales ;
- que différents virus influenza A circulent chez de nombreuses espèces aviaires sauvages ou d'ornement et que certains de ces virus peuvent occasionnellement infecter des troupeaux de volailles domestiques ;
- que l'homme, à l'occasion de différentes manipulations d'oiseaux sauvages, d'ornement ou domestiques, est susceptible de rentrer en contact avec des oiseaux infectés ou avec des matières virulentes issues de ceux-ci ;
- que, bien que les virus influenza A circulant habituellement chez les espèces aviaires soient normalement peu infectieux pour l'homme et peu adaptés à circuler chez celui-ci, certaines souches

virales aviaires ont exceptionnellement été à l'origine d'infections humaines dont les conséquences médicales sont parfois graves ;

- que la co infection par deux virus influenza A, l'un d'origine aviaire et l'autre d'origine humaine, peut survenir, rarement chez l'homme, mais plus fréquemment chez le porc, et que cette co infection rend possible un phénomène de réassortiment génétique qui conduit à la génération de nouvelles souches virales pathogènes adaptées à l'homme et susceptibles de circuler chez celui-ci, phénomène qui a été à l'origine des pandémies de grippe observée au XX^{ème} siècle ;
- que la prévalence et la nature des infections à virus influenza A ne sont que partiellement connues (en cours d'étude) chez les oiseaux sauvages, d'ornement ou domestiques, et pas du tout dans les populations humaines exposées à ces oiseaux ;
- que la diversité antigénique des virus circulant chez les oiseaux ne permet pas d'envisager à l'heure actuelle une prophylaxie médicale susceptible de protéger les volailles domestiques contre toutes les souches de virus influenza A, ni de protéger l'homme contre tous les virus aviaires ;

le groupe de travail sur l'Influenza aviaire de l'Afssa recommande que :

- 1) une évaluation du même type que celle effectuée ici sur les virus aviaires soit effectuée concernant le risque de transmission à l'homme des virus influenza d'origine porcine ;
- 2) des programmes de surveillance concertés visant à mieux évaluer la prévalence des infections à influenza virus A soient mis en place non seulement chez les oiseaux sauvages, d'ornement ou domestiques, mais aussi dans les populations humaines potentiellement exposées au contact de ceux-ci ;
- 3) la nature des infections à virus influenza A survenant dans les populations humaines potentiellement exposées aux virus aviaires soit plus systématiquement étudiée, par exemple en recommandant la réalisation systématique d'un diagnostic virologique lors de syndrome grippal survenant chez de tels sujets ;
- 4) au vu des résultats des études recommandées aux points 2 et 3, l'opportunité de mettre en place des programmes de prophylaxie de la grippe chez les populations humaines potentiellement exposées aux virus aviaires soit évaluée par les autorités compétentes, de même que les possibilités de traitement antiviral ou de chimio prophylaxie en cas d'infection humaine avérée par un virus aviaire ;
- 5) en matière de vaccination des volailles,
 - i) la vaccination des volailles contre l'influenza aviaire à l'aide de vaccins à virus inactivé soit explicitement réservée au contrôle des infections par les virus de sous types H5 et H7 dans leurs formes graves et non maîtrisées par les seules mesures hygiéniques et sanitaires,
 - ii) compte-tenu de la standardisation insuffisante et du manque de contrôle de l'activité des vaccins actuellement disponibles pour lutter contre les virus de sous types autres que H5 ou H7, la vaccination des volailles contre les sous types autres que H5 ou H7 ne soit pas autorisée, sauf dérogation en cas d'épizootie,
 - iii) une déclaration obligatoire et un suivi sérologique adapté des volailles vaccinées avec les sous types autres que H5 ou H7 soient imposés,
 - iv) la mention de l'utilisation d'un vaccin contre l'influenza aviaire et du type de vaccin utilisé soit rendue obligatoire dans les certificats sanitaires pour l'importation de volailles vivantes,
 - v) des études visant à améliorer la qualité des vaccins visant les sous types autres que H5 ou H7 soient favorisées, en particulier en vue d'améliorer les critères suivants : **1** - capacité à supprimer l'excrétion virale, **2** - capacité à induire une protection homotypique et hétérotypique, **3** - rapidité d'induction et durée de la protection vaccinale, **4** - efficacité chez les différentes espèces de volailles domestiques (dinde notamment), **5** - capacité à induire une réponse sérologique différenciable de celle des infections naturelles et **6** - facilité d'administration.

7. Références bibliographiques

- Alexander, D.J. (2000). A review of avian influenza in different bird species. *Veterinary Microbiology*, **74**, 3-13.
- Alexander, D.J., and Gough, R.E. (2000). Avian influenza in turkeys : a review. In Proceedings of the 3rd international symposium on turkey diseases, Edited by Hafez H.M., Deutschen Veterinärmedizinischen Gesellschaft, Berlin, pp 119-130.
- Alexander, D.J., Parsons G., and Manvell, R.J. (1986). Experimental assesment of the pathogenicity of eight avian influenza A viruses of H5 subtype for chickens, turkeys, ducks and quail. *Avian Pathology* **15**, 647-662.
- Aoki, F. Y., and Hayden, F. G. (1999). Zanamivir - A potent and selective inhibitor of influenza A and B viruses. *Clinical Pharmacokinetics* **36** (Suppl 1), pp. v-ix.
- Appleyard, G. (1977). Amantadine-resistance as a genetic marker for influenza viruses. *Journal of General Virology* **36**(2), 249-55.
- Ashley, J., Smith, T., and K., D. (1991). Deaths in Great Britain associated with the influenza epidemic of 1989/90. *Population trends Office of Population Censuses and Surveys. London* **65**, 16-20.
- Banks, J., Speidel, E., and Alexander, D. J. (1998). Characterisation of an avian influenza A virus isolated from a human--is an intermediate host necessary for the emergence of pandemic influenza viruses? *Archives of Virology* **143**(4), 781-7.
- Barnett, J. M., Cadman, A., Gor, D., Dempsey, M., Walters, M., Candlin, A., Tisdale, M., Morley, P. J., Owens, I. J., Fenton, R. J., Lewis, A. P., Claas, E. C., Rimmelzwaan, G. F., De Groot, R., and Osterhaus, A. D. (2000). Zanamivir susceptibility monitoring and characterization of influenza virus clinical isolates obtained during phase II clinical efficacy studies. *Antimicrobial Agents & Chemotherapy* **44**(1), 78-87.
- Bean, W. J., Threlkeld, S. C., and Webster, R. G. (1989). Biologic potential of amantadine-resistant influenza A virus in an avian model. *Journal of Infectious Diseases* **159**(6), 1050-6.
- Beard, C.W., Schnitzlein, W.M., and Tripathy, D.N. (1991). Protection of Chickens against highly pathogenic avian influenza virus (H5N2) by recombinant Fowlpox Viruses. *Avian diseases* **35**, 356-359.
- Beare, A.S., and Webster, R.G. (1991). Replication of avian influenza viruses in Human. *Archives of Virology* **119**, 37-42.
- Bennejean, G. (1981). Current situation of avian influenza in France. Proceedings of the 1st International symposium on avian influenza. Beltsville, Maryland, USA, 22-24 April 1981, p. 28.
- Blick, T. J., Tiong, T., Sahasrabudhe, A., Varghese, J. N., Colman, P. M., Hart, G. J., Bethell, R. C., and McKimm-Breschkin, J. L. (1995). Generation and characterization of an influenza virus neuraminidase variant with decreased sensitivity to the neuraminidase-specific inhibitor 4-guanidino-Neu5Ac2en. *Virology* **214**(2), 475-84.
- Bot, A., Bot, S., and Bona, C. (1998). Enhanced protection against influenza virus of mice immunized as newborns with a mixture of plasmids expressing hemagglutinin and nucleoprotein. *Vaccine* **16**, p 1675-1682.
- Boyle, D.B., Selleck, P. and Heine, H.G. (2000). Vaccinating chickens against avian influenza with fowlpox recombinants expressing the H7 haemagglutinin. *Aust. Vet. J.* **78**, 44-48.
- Brown, I. H., Chakraverty, P., Harris, P. A., and Alexander, D. J. (1995). Disease outbreaks in pigs in Great Britain due to an influenza A virus of H1N2 subtype. *Veterinary Record* **136**(13), 328-9.
- Brown, I. H., Harris, P. A., McCauley, J. W., and Alexander, D. J. (1998). Multiple genetic reassortment of avian and human influenza A viruses in European pigs, resulting in the emergence of an H1N2 virus of novel genotype. *Journal of General Virology* **79**(Pt 12), 2947-55.
- Brugh, M., Beard, C.W., and Stone, H.D. (1979). Immunization of Chickens and Turkeys Against Avian Influenza with Monovalent and Polyvalent Oil Emulsion Vaccines. *American Journal of Veterinary Research*, **40**, 165-169.

- Brugh, M., and Stone, D.H. (1986). Immunization of chickens against influenza with hemagglutinin-specific (H5) Oil emulsion vaccine. Proceedings of the Second International Symposium on Avian Influenza, Athens, Georgia, USA, September 3-5, p. 283-290.
- Buonagurio, D. A., Nakada, S., Desselberger, U., Krystal, M., and Palese, P. (1985). Noncumulative sequence changes in the hemagglutinin genes of influenza C virus isolates. *Virology* **146**(2), 221-32.
- Buxton Bridges, C., Katz, J. M., Seto, W. H., Chan, P. K., Tsang, D., Ho, W., Mak, K. H., Lim, W., Tam, J. S., Clarke, M., Williams, S. G., Mounts, A. W., Bresee, J. S., Conn, L. A., Rowe, T., Hu-Primmer, J., Abernathy, R. A., Lu, X., Cox, N. J., and Fukuda, K. (2000). Risk of influenza A (H5N1) infection among health care workers exposed to patients with influenza A (H5N1), Hong Kong. *Journal of Infectious Diseases* **181**(1), 344-8.
- Capua, I., Grossele, B., Bertoli, E., and Cordioli, P. (2000a). Monitoring for highly pathogenic avian influenza in wild birds in Italy. *Veterinary Record*, **147**, 640.
- Capua, I., Mutinelli, F., Moreno-Martin, A., Marangon, S., and Frison, S. (2000b). The 1999-2000 avian influenza (H7N1) epidemic in Italy. In Proceedings of the 3rd international symposium on turkey diseases, Edited by Hafez H.M., Deutschen Veterinärmedizinischen Gesellschaft, Berlin, pp 139-146.
- Capua, I. (2001). Protection expérimentale conférée par le vaccin Fluvac vis-à-vis d'une souche d'épreuve italienne. Communication orale. Réunion organisée par la commission européenne pour l'étude du programme de vaccination contre l'influenza aviaire proposé par les autorités sanitaires italiennes, Bruxelles, 30 Octobre 2001.
- Capua, I. and Pittman, M. (2001). Recueil meeting of Member States' National experts for avian influenza on the development and application of a N1-N3 discriminatory test in the framework of the control of avian influenza through vaccination with a heterologous vaccine. Coorganisé par la Commission Européenne et le laboratoire de référence italien sur l'influenza aviaire (Istituto Zooprofilattico Sperimentale delle Venezie), Legnaro (PD), Italy 15-16 November 2001.
- Castrucci, M. R., Donatelli, I., Sidoli, L., Barigazzi, G., Kawaoka, Y., and Webster, R. G. (1993). Genetic reassortment between avian and human influenza A viruses in Italian pigs. *Virology* **193**(1), 503-6.
- Centres Nationaux de Référence de la Grippe, R. N. d. S. P., Groupes Régionaux d'Observation de la Grippe, Réseau " Sentinelles " de l'Unité 144 de l'INSERM, Direction Générale de la Santé. (1998). Données sur la grippe à virus A(H5N1) à Hong Kong et sur le début de l'épidémie de Grippe à virus A(H3N2) en France. *Bulletin Epidémiologique Hebdomadaire* **8**, 31.
- Chambers, T. M., Hinshaw, V. S., Kawaoka, Y., Easterday, B. C., and Webster, R. G. (1991). Influenza viral infection of swine in the United States 1988-1989. *Archives of Virology* **116**(1-4), 261-5.
- Chen W., Calvo P. A., Malide D., Gibbs J., Schubert U., Bacik I., Basta S., O'Neill R., Schickli J., Palese P., Henklein P., Bennink J. R., and Yewdell J. W. (2001) A novel influenza A virus mitochondrial protein that induces cell death. *Nature Medicine*. **7**(12):1306-12.
- Cherbonnel, M., Rousset, J. et Jestin, V. (sous presse). Strategies to improve protection against low pathogenic H7 avian influenza virus infection using DNA vaccines. *Avian Diseases*.
- Claas, E. C., Kawaoka, Y., de Jong, J. C., Masurel, N., and Webster, R. G. (1994). Infection of children with avian-human reassortant influenza virus from pigs in Europe. *Virology* **204**(1), 453-7.
- Claas, E. C., Osterhaus, A. D., van Beek, R., De Jong, J. C., Rimmelzwaan, G. F., Senne, D. A., Krauss, S., Shortridge, K. F., and Webster, R. G. (1998). Human influenza A H5N1 virus related to a highly pathogenic avian influenza virus [published erratum appears in Lancet 1998 Apr 25;351(9111):1292]. *Lancet* **351**(9101), 472-7.
- Colacino, J. M., Laver, W. G., and Air, G. M. (1997). Selection of influenza A and B viruses for resistance to 4-guanidino-Neu5Ac2en in cell culture. *Journal of Infectious Diseases* **176**(Suppl 1), S66-8.
- Couch, R. B. (1997). Respiratory virus infections. 4th ed. In "Antiviral agents and human viral diseases" (G. J. Galasso, R. J. Whitley, and T. C. Merigan, Eds.), Lippincott-Raven Publishers, Philadelphia, pp. 369-413.
- Crawford, J.M, Wilkinson, B., Vosnesensky, A., Smith, G., Garcia, M., Stone, H., and Perdue, M.L. (1999). Baculovirus-derived hemagglutinin vaccines protect against lethal influenza by avian H5 and H7 subtypes. *Vaccine* **17**, 2265-2274.

- Demicheli, V., Jefferson, T., Rivetti, D., and Deeks, J. (2000). Prevention and early treatment of influenza in healthy adults. *Vaccine* **18**(11-12), 957-1030.
- Dolin R. (2000). Grippe. in "Médecine interne, 14^{ème} édition", édité par Faucy, A., Braunwald E., Isselbacher K.J., Martin, J.B., Kasper, D.L., Hase, L., Longo, D.L. et Harrison, Mac Graw-Hill International, UK, pp 1288-1294.
- Donahoe, J.P. (1997). Inactivated avian influenza whole virus vaccines. Proceedings of the Fourth International Symposium on Avian Influenza, Athens, Georgia, USA, May 29-31, pp. 228-236.
- Donatelli, I., Campitelli, L., Di Trani, L., Puzelli, S., Selli, L., Fioretti, A., Alexander, D.J., Tollis, M., Krauss, S., and Webster, R.G. (2000). Evaluation of the risk of transmission to humans of highly pathogenic avian influenza A viruses circulating in Italy in the period 1997-1999. 5th International ESVV Congress, Brescia, Italy, 27-30 august 2000.
- Donnelly, J.J., Friedman, A., Ulmer, J.B. and Liu, M.A. (1997). Further protection against antigenic drift of influenza virus in a ferret model by DNA vaccination. *Vaccine* **15**, p 865-868.
- Dosseh, A., and Rogier, C. (1996). Influenza survey in Senegal. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine & Hygiene* **90**(4), 377.
- Easterday, B.C., Hinshaw, V.S., and Halvorson, D.A. (1996). Influenza. In Diseases of Poultry, 10th edition, edited by B.W. Calnek, Iowa state University press, Ames, Iowa, USA, pp. 583-605.
- Esposito, A.L. (1992). Pulmonary infections acquired in the workplace : a review of occupation associated pneumonia. *Clinics in Chest Medicine*, **13**, 355-365.
- Fitch, W. M., Bush, R. M., Bender, C. A., and Cox, N. J. (1997). Long term trends in the evolution of H(3) HA1 human influenza type A. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* **94**(15), 7712-8.
- Fynan, E.F., Robinson, H.L., and Webster, R.G. (1993a). Use of DNA Encoding Influenza Hemagglutinin as an Avian Influenza Vaccine. *DNA and cell biology* **12**, 785-789.
- Fynan, E.F., Webster, R.G., Fuller, D.H., Haynes, J.R., Santoro, J.C., and Robinson, H.L. (1993b). DNA vaccines: Protective immunizations by parenteral, mucosal, and gene-gun inoculations. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **90**, 11478-11482.
- Garcia, A., Johnson, H., Srivastava, D.K., Jayawardene, D.A., Wehr, D.R., and Webster, R.G. (1998). Efficacy of Inactivated H5N2 Influenza Vaccines Against Lethal A/Chicken/Queretaro/19/95 Infection. *Avian diseases* **42**, 248-256.
- Garcia-Garcia, J, Rodriguez, V H., and Hernandez, M A. (1997). Experimental Studies And Field Trials With Recombinant Fowlpox Vaccine in Broilers in Mexico. Proceedings of the fourth international symposium on avian influenza, Athens, Georgia, May 29-31, pp.245-252.
- Gordon Douglas, R. Jr. and Betts, R.F. (1985). Influenza virus. in "Principles and practice of infectious diseases, 2nd edition" Edited by Mandell, G., Gordon Douglas, R. Jr and Bennet, J.E., John Wiley and Sons, pp 846-866.
- Gourreau, J. M., Hannoun, C., Kaiser, C., and Jestin, A. (1980). [Excretion of human influenza virus by experimentally infected pigs (author's transl)]. *Comparative Immunology, Microbiology & Infectious Diseases* **3**(1-2), 137-46.
- Gubareva, L. V., Bethell, R., Hart, G. J., Murti, K. G., Penn, C. R., and Webster, R. G. (1996). Characterization of mutants of influenza A virus selected with the neuraminidase inhibitor 4-guanidino-Neu5Ac2en. *Journal of Virology* **70**(3), 1818-27.
- Gubareva, L. V., Kaiser, L., Matrosovich, M. N., Soo-Hoo, Y., and Hayden, F. G. (2001). Selection of influenza virus mutants in experimentally infected volunteers treated with oseltamivir. *Journal of Infectious Diseases* **183**(4), 523-31.
- Gubareva, L. V., Matrosovich, M. N., Brenner, M. K., Bethell, R. C., and Webster, R. G. (1998a). Evidence for zanamivir resistance in an immunocompromised child infected with influenza B virus. *Journal of Infectious Diseases* **178**(5), 1257-62.
- Gubareva, L. V., McCullers, J. A., Bethell, R. C., and Webster, R. G. (1998b). Characterization of influenza A/HongKong/156/97 (H5N1) virus in a mouse model and protective effect of zanamivir on H5N1 infection in mice. *Journal of Infectious Diseases* **178**(6), 1592-6.

- Gubareva, L. V., Robinson, M. J., Bethell, R. C., and Webster, R. G. (1997). Catalytic and Framework Mutations in the Neuraminidase Active Site of Influenza Viruses That Are Resistant to 4-Guanidino-Neu5ac2en. *Journal of Virology* **71**(5), 3385-3390.
- Guo, Y., Wang, M., Kawaoka, Y., Gorman, O., Ito, T., Saito, T., and Webster, R. G. (1992). Characterization of a new avian-like influenza A virus from horses in China. *Virology* **188**(1), 245-55.
- Halvorson, D.A., Karunakaran, D., Abraham, A.S., Newman, J.A., Sivanandan, V., and Poss, P.E. (1986). Efficacy of vaccine in the control of Avian Influenza. Proceedings of the Second International Symposium on Avian Influenza, Athens, Georgia, USA, September 3-5, pp. 264-270.
- Halvorson, D.A. (2000). The control of avian influenza. In Proceedings of the 3rd international symposium on turkey diseases, Edited by Hafez H.M., Deutschen Veterinärmedizinischen Gesellschaft, Berlin, pp.131-138.
- Hannoun, C., et Devaux, M. (1980). Circulation enzootique permanente de virus grippaux dans la baie de la Somme. *Comparative Immunology Microbiology and Infectious Diseases*. **3**, 177-183.
- Harisson (2000). Complications de la grippe citée par P Deutsch
- Hay, A. J. (1996). Amantadine and rimantadine-mechanisms. In "Antiviral drug resistance" (D. G. Richman, Ed.), John Wiley & Sons Ltd., pp. 44-58.
- Hayden, F. G. (1994). Amantadine and rimantadine resistance in influenza A viruses. *Current Opinion in Infectious Diseases* **7**, 674-677.
- Hayden, F. G. (1996). Amantadine and rimantadine-clinical aspects. In "Antiviral drug resistance" (D. G. Richman, Ed.), pp. 59-77. John Wiley & Sons Ltd.
- Hayden, F. G., Atmar, R. L., Schilling, M., Johnson, C., Poretz, D., Paar, D., Huson, L., Ward, P., and Mills, R. G. (1999). Use of the selective oral neuraminidase inhibitor oseltamivir to prevent influenza. *New England Journal of Medicine* **341**(18), 1336-1343.
- Hayden, F. G., and Hay, A. J. (1992). Emergence and transmission of influenza A viruses resistant to amantadine and rimantadine. *Current Topics in Microbiology & Immunology* **176**, 119-30.
- Hayden, F. G., Jennings, L., Robson, R., Schiff, G., Jackson, H., Rana, B., McClelland, G., Ipe, D., Roberts, N., and Ward, P. (2000). Oral oseltamivir in human experimental influenza B infection. *Antiviral Therapy* **5**(3), 205-213.
- Hayden, F. G., Osterhaus, A. D., Treanor, J. J., Fleming, D. M., Aoki, F. Y., Nicholson, K. G., Bohnen, A. M., Hirst, H. M., Keene, O., and Wightman, K. (1997). Efficacy and safety of the neuraminidase inhibitor zanamivir in the treatment of influenza virus infections. GG167 Influenza Study Group. *New England Journal of Medicine* **337**(13), 874-80.
- Hayden, F. G., Treanor, J. J., Betts, R. F., Lobo, M., Esinhart, J. D., and Hussey, E. K. (1996). Safety and efficacy of the neuraminidase inhibitor GG167 in experimental human influenza. *Journal of the American Medical Association* **275**(4), 295-9.
- Hinshaw, V. S., Bean, W. J., Jr., Webster, R. G., and Easterday, B. C. (1978). The prevalence of influenza viruses in swine and the antigenic and genetic relatedness of influenza viruses from man and swine. *Virology* **84**(1), 51-62.
- Hinshaw, V. S., Webster, R. G., and Turner B. (1978). Novel influenza A viruses isolated Canadian feral ducks: including strains antigenically related to swine influenza (Hsw1N1) viruses. *Journal of virology* **41**(Pt 1), 115-127.
- Hinshaw, V.S., Webster, R.G., and Turner, B. (1980). The perpetuation of orthomyxoviruses and paramyxoviruses in Canadian waterfowl. *Canadian Journal of Microbiology* **26**, 622-629.
- Horimoto, T., and Kawaoka, Y. (2001) Pandemic threat posed by avian influenza A viruses; *Clinical Microbiology Reviews* **14**, 129-149.
- Ito, T., Okazaki, K., Kawaoka, Y., Takada, A., Webster, R.G., and Kida, H. (1995). Perpetuation of influenza A viruses in Alaskan waterfowl reservoirs. *Archives of Virology*, **140**, 1163-1172.
- Ito, T., Kawaoka, Y., Vines, A., Ishikawa, H., Asai, T., and Kida, H. (1998). Continued circulation of reassortant H1N2 influenza viruses in pigs in Japan. *Archives of Virology* **143**(9), 1773-82.
- Jackson, H. C., Roberts, N., Wang, Z. M., and Belshe, R. (2000). Management of influenza: Use of new antivirals and resistance in perspective. *Clinical Drug Investigation* **20**(6), 447-454.

- Karasin, A. I., Brown, I. H., Carman, S., and Olsen, C. W. (2000). Isolation and characterization of H4N6 avian influenza viruses from pigs with pneumonia in Canada. *Journal of Virology* **74**(19), 9322-7.
- Khatchakian, D., Orlich, M., and Rott, R. (1989). Increased viral pathogenicity after insertion of a 28S ribosomal RNA sequence into the haemagglutinin gene of an influenza virus. *Nature* **340**, 156-157.
- Karunakaran, D., Newman, J.A., Halvorson, D.A., and Abraham, A (1987). Evaluation of Inactivated Influenza Vaccines in Market Turkeys. *Avian diseases* **31**, 498-503.
- Kawaoka, Y., Nestorowicz, A., Alexander, D.J., and Webster, R.G. (1987). Molecular analysis of the haemagglutinin genes of H5 influenza viruses : origin of a virulent turkey strain. *Virology*, **158**, 218-227 ; Erratum in *Virology*, **159**, 196.
- Kida, H., Ito, T., Yasuda, J., Shimizu, Y., Itakura, C., Shortridge, K. F., Kawaoka, Y., and Webster, R. G. (1994). Potential for transmission of avian influenza viruses to pigs. *Journal of General Virology* **75**(Pt 9), 2183-8.
- Kodihalli, S., Sivanandan, V., Nagaraja, K.V., Shaw, D., and Halvorson, D.A. (1984). A type-specific avian influenza virus subunit vaccine for turkeys: induction of protective immunity to challenge infection. *Vaccine* **12**, 1467-1472.
- Kodihalli, S., Haynes, J.R., Robinson, H.L., and Webster, R.G. (1997). Cross- Protection among Lethal H5N2 Influenza Viruses Induced By DNA Vaccine to the Hemagglutinin. *Journal of Virology* **71**, 3391-3396.
- Kodihalli, S., and Webster, R.G. (1997). DNA vaccines for avian influenza-A model for future poultry vaccines. Proceedings of the Fourth International Symposium on Avian Influenza, May 29-31, p.263-280.
- Kodihalli, S., Kobasa, D.L., and Webster, R.G. (2000). Strategies for inducing protection against avian influenza A virus subtypes with DNA vaccines. *Vaccine* **18**, 2592-2599.
- Kurtz, J., Manvell, R. J., and Banks, J. (1996). Avian influenza virus isolated from a woman with conjunctivitis. *Lancet* **348**(9031), 901-2.
- Le Gros, F.X., Gaudry, D., Swayne, D., et Pritchard, N. (2001) Efficacité de virus recombinants variole aviaire/influenza H5 et H7. Proceedings 4^{èmes} Journées Rech. Avicole, ITAVI/INRA/AFSSA, pp 447-449.
- Leneva, I. A., Roberts, N., Govorkova, E. A., Goloubeva, O. G., and Webster, R. G. (2000). The neuraminidase inhibitor GS4104 (oseltamivir phosphate) is efficacious against A/Hong Kong/156/97 (H5N1) and A/Hong Kong/1074/99 (H9N2) influenza viruses. *Antiviral Research* **48**(2), 101-115.
- Lin, Y. P., Shaw, M., Gregory, V., Cameron, K., Lim, W., Klimov, A., Subbarao, K., Guan, Y., Krauss, S., Shortridge, K., Webster, R., Cox, N., and Hay, A. (2000). Avian-to-human transmission of H9N2 subtype influenza A viruses: relationship between H9N2 and H5N1 human isolates. *Proceedings of the National Academy of Sciences USA* **97**(17), 9654-8.
- Makarova, N.V., Kaverin, N.V., Krauss, S., Senne, D., and Webster, R.G. (1999). Transmission of Eurasian avian H2 influenza virus to shorebirds in North America. *Journal of General Virology*, **80**, 3167-3171.
- Mandell (1985). Complications de la grippe citée par P Deutsch
- Manuguerra, J.-C., Mosnier, A., and EISS, o. b. o. t. m. o. (2000). Surveillance de la grippe en Europe d'octobre 1999 à février 2000, , 5(6), 63-8, 2000. *Eurosurveillance* **5**(6), 63-8.
- Manuguerra, J.-C. (2001). Ecologie, biodiversité et évolution des virus grippaux. *Virologie* **5**(3), 195-205.
- Manuguerra, J.-C., et van der Werf, S. (1999). Les antiviraux contre la grippe. *Virologie* **3**, 439-452.
- Manvell, R.J., Jorgensen, P.H., Nielsen, O.L., and Alexander, D.J. (1998). Experimental assesment of the pathogenicity of two avian influenza A H5 viruses in ostrich chicks (*Struthio camelus*) and chickens. *Avian Pathology* **27**, 400-404.
- Marius, V., Bonnaud, P., Guittet, M., Trap, D., Gaumont, R., et Bennejean, G. (1983). Résultats d'une enquête sérologique effectuée en France (Vendée) chez le canard à rôtir. *Avian Pathology*, **12**, 419-435.
- Mc Graw Hill (1992). "Médecine interne", 14^{ème} ed. (Harrisson, Ed.), 1 vol.

- McKimm-Breschkin, J. L., Blick, T. J., Sahasrabudhe, A., Tiong, T., Marshall, D., Hart, G. J., Bethell, R. C., and Penn, C. R. (1996). Generation and characterization of variants of NWS/G70C influenza virus after in vitro passage in 4-amino-Neu5Ac2en and 4-guanidino-Neu5Ac2en. *Antimicrobial Agents & Chemotherapy* **40**(1), 40-6.
- McKimm-Breschkin, J. L., Sahasrabudhe, A., Blick, T. J., McDonald, M., Colman, P. M., Hart, G. J., Bethell, R. C., and Varghese, J. N. (1998). Mutations in a conserved residue in the influenza virus neuraminidase active site decreases sensitivity to Neu5Ac2en-derived inhibitors. *Journal of Virology* **72**(3), 2456-62.
- McNulty, M.S., Allan, G.M., and Adair, B.M. (1986). Inactivated avian influenza neuraminidase-specific vaccines in chickens. Proceedings of the Second International Symposium on Avian Influenza, Athens, Georgia, USA, September 3-5, p.279-282.
- Mickle, T.R., Kinney, N., Taylor, J., Gettig, R., Swayne, D.E., and Beck, J.R. (1997). *In vitro* and *in vivo* studies for licensing a recombinant fowlpox-avian influenza vaccine. Proceedings of the Fourth International Symposium on Avian Influenza, Athens, Georgia, USA, May 29-31, pp. 240-244.
- Mo, I.P., Brugh, M., Fletcher, O.J., Rowland, G.N., and Swayne, D.E. (1997). Comparative pathology of chickens experimentally inoculated with avian influenza viruses of low and high pathogenicity. *Avian Diseases*, **41**, 125-136.
- Monto, A. S., Robinson, D. P., Herlocher, M. L., Hinson, J. M., Elliott, M. J., and Crisp, A. (1999). Zanamivir in the prevention of influenza among healthy adults - a randomized controlled trial. *Journal of the American Medical Association* **282**(1), 31-35.
- Mounts, A. W., Kwong, H., Izurieta, H. S., Ho, Y., Au, T., Lee, M., Buxton Bridges, C., Williams, S. W., Mak, K. H., Katz, J. M., Thompson, W. W., Cox, N. J., and Fukuda, K. (1999). Case-control study of risk factors for avian influenza A (H5N1) disease, Hong Kong, 1997. *Journal of Infectious Diseases* **180**(2), 505-8.
- Neiryck, S., Deroo, T., Saelens, X., Vanlandschoot, P., Jou, W.M., and Fiers, W. (1999). A universal influenza A vaccine based on the extracellular domain of the M2 protein. *Nature Medicine*, vol. 5, 1157-1163.
- Nicholson, K. G. (1996). Use of Antivirals in Influenza in the Elderly - Prophylaxis and Therapy. *Gerontology* **42**(5), 280-289.
- Nicholson, K. G. (1998). Human influenza. In "Textbook of Influenza" (K. G. Nicholson, R. G. Webster, and A. J. Hay, Eds.), Blackwell Science Ltd, Oxford, pp. 219-264..
- Orlich, M., Khatchikian, D., Teigler, A. and Rott R. (1990). Structural variation occurring in the hemagglutinin of influenza virus A/Turkey/Oregon/71 during adaptation to different cell types. *Virology* **176**, 531-539.
- Patriarca, P. A., Kater, N. A., Kendal, A. P., Bregman, D. J., Smith, J. D., and Sikes, R. K. (1984). Safety of prolonged administration of rimantadine hydrochloride in the prophylaxis of influenza A virus infections in nursing homes. *Antimicrobial Agents & Chemotherapy* **26**(1), 101-3.
- Pellé-Duporté, D., Kouyoumdjian, S., Tuchais, E., Carbonnelle, B., et Simon, B. (1996). Une épidémie d'ornithose dans un abattoir de volailles. *Archives des Maladies Professionnelles*, **57**, 51-54.
- Perdue, M.L., Latimer, J.W., Crawford, J.M. (1995). A novel carbohydrate addition site on the hemagglutinin protein of a highly pathogenic H7 subtype avian influenza virus. *Virology* **213**, 276-281.
- Potter, C.W. (2001). A history of influenza. *Journal of Applied Microbiology* **91**, 572-579
- Reid, A. H., Fanning, T. G., Hultin, J. V., and Taubenberger, J. K. (1999). Origin and evolution of the 1918 "Spanish" influenza virus hemagglutinin gene. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* **96**(4), 1651-6.
- Robinson, H.L., Hunt, L.A., and Webster, R.G. (1993). Protection against a lethal influenza virus challenge by immunization with a haemagglutinin-expressing plasmid DNA. *Vaccine* **11**, 957-960.
- Rogers, G. N., and Paulson, J. C. (1983). Receptor determinants of human and animal influenza virus isolates: differences in receptor specificity of the H3 hemagglutinin based on species of origin. *Virology* **127**(2), 361-73.
- Rousset, J., Cherbonnel, M. et Jestin, V. (2002). Immunization with hemagglutinin and matrix DNAs suppresses excretion of low pathogenic H7 avian influenza after homologous challenge. Abstracts 12th international symposium of virology Paris 27 juillet 1^{er} août 2002.

- Rowe, T., Abernathy, R. A., Hu-Primmer, J., Thompson, W. W., Lu, X., Lim, W., Fukuda, K., Cox, N. J., and Katz, J. M. (1999). Detection of antibody to avian influenza A (H5N1) virus in human serum by using a combination of serologic assays. *Journal of Clinical Microbiology* **37**(4), 937-43.
- Scholtissek, C. (1994). Source for influenza pandemics. *European Journal of Epidemiology* **10**(4), 455-8.
- Scholtissek, C., Burger, H., Bachmann, P. A., and Hannoun, C. (1983). Genetic relatedness of hemagglutinins of the H1 subtype of influenza A viruses isolated from swine and birds. *Virology* **129**(2), 521-3.
- Scholtissek, C., V. S. Hinshaw, V. S., and Olsen, C. W. (1998). Influenza in pigs and their role as the intermediate host. In "Textbook of Influenza" (K. G. Nicholson, R. G. Webster, and A. J. Hay, Eds.), Blackwell Science Ltd, Oxford, pp. 137-145.
- Schultz, U., Fitch, W. M., Ludwig, S., Mandler, J., and Scholtissek, C. (1991). Evolution of pig influenza viruses. *Virology* **183**(1), 61-73.
- Schvoerer, C., Guillaumot, P., et Vieuxbled, J. (1997). Epidémie de psittacose parmi les ouvriers d'un abattoir de volailles Morbihan (France)- Octobre 1997. Rapport de la cellule Interrégionale d'Epidémiologie Ouest (DRASS de Bretagne) et de la DDASS du Morbihan, 16 pages.
- Senne, D.A., Pearson, J.E., Miller, L.D., and Gustafson, G.A. (1983). Virus isolations from pet birds submitted for importation into the United States. *Avian Diseases* **27**, 731-744.
- Seo, S.H., and Webster, R.G. (2001). Cross-reactive, cell-mediated immunity and protection of chickens from lethal H5N1 influenza virus infection in Hong Kong markets. *Journal of Virology*. **75**, 2516-2525.
- Shiver, J.W., Ulmer, J.B., Donnelly, J.J., and Liu, M.A. (1996). Humoral and cellular immunities elicited by DNA vaccines : Application to the human immunodeficiency virus and influenza. *Advanced Drug Delivery Reviews* **21**, 19-31.
- Shu, L. L., Zhou, N. N., Sharp, G. B., He, S. Q., Zhang, T. J., Zou, W. W., and Webster, R. G. (1996). An Epidemiological Study of Influenza Viruses Among Chinese Farm Families With Household Ducks and Pigs. *Epidemiology & Infection* **117**(1), 179-188.
- Slemons, R.D., Shieldcastle, M.C., Heyman, L.D., Bednarik, K.E., and Senne, D.A. (1991). Type A Influenza viruses in waterfowl in Ohio and implications for domestic turkeys. *Avian Diseases* **35**, 165-173.
- Stallknecht, D.E., and Shane, S.M. (1988). Host range of avian influenza virus in free-living birds. *Veterinary Research Communications*, **12**, 125-141.
- Stallknecht, D.E., Shane, S.M., Kearney, M.T., and Zwank, P.J. (1990). Persistence of avian influenza viruses in water. *Avian Diseases* **34**, 406-411.
- Stallknecht, D.E. (1998). Ecology and epidemiology of avian influenza viruses in wild bird populations. In : Proceedings of the fourth international symposium on avian influenza, Athens, Georgia. USA, May 29-31, pp. 61-69.
- Staschke, K. A., Colacino, J. M., Baxter, A. J., Air, G. M., Bansal, A., Hornback, W. J., Munroe, J. E., and Laver, W. G. (1995). Molecular basis for the resistance of influenza viruses to 4-guanidino-Neu5Ac2en. *Virology* **214**(2), 642-6.
- Stone, D.H. (1987). Efficacy of Avian Influenza Oil-Emulsion Vaccines in Chickens of Various Ages. *Avian Diseases* **31**, 483-490.
- Stone, H., Mitchell, B., and Brugh, M. (1997). In Ovo Vaccination of Chicken Embryos with Experimental Newcastle Disease and Avian Influenza Oil-emulsion Vaccines. *Avian diseases* **41**, 856-863.
- Suarez, D.L., and Schultz-Cherry, S. (2000). The Effect of Eukaryotic Expression Vectors and Adjuvants on DNA Vaccines in Chickens Using an Avian Influenza Model. *Avian diseases* **44**, 861-868.
- Subbarao, K., Klimov, A., Katz, J., Regnery, H., Lim, W., Hall, H., Perdue, M., Swayne, D., Bender, C., Huang, J., Hemphill, M., Rowe, T., Shaw, M., Xu, X., Fukuda, K., and Cox, N. (1998). Characterization of an avian influenza A (H5N1) virus isolated from a child with a fatal respiratory illness. *Science* **279**(5349), 393-6.

- Subbarao, K., and Katz, J. (2000). Review : avian influenza viruses infecting humans. *Cellular and molecular life sciences* **57**, 1770-1784.
- Süss, J., Schafer, J., Sinnecker, H., and Webster, R.G. (1994). Influenza virus subtypes in aquatic birds of eastern Germany. *Archives of Virology* **135**, 101-114.
- Swayne, D.E., Beck, J.R., and Mickle, T.R. (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, D.E., Beck, J.R., Garcia, M. and Stone, H.D. (1999). Influence of virus strain and antigen mass on efficacy of H5 avian influenza inactivated vaccines. *Avian Pathology* **28**, 245-255.
- Swayne, D.E., Beck, J.R., and 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 diseases* **44**, 132-137.
- Swayne, D.E., Garcia, M., Beck, J.R., Kinney, N., and Suarez, D.L. (2000b). Protection against diverse highly pathogenic H5 avian influenza viruses in chickens immunized with a recombinant fowlpox vaccine containing an H5 avian influenza hemagglutinin gene insert. *Vaccine* **18**, 1088-1095.
- Swayne, D.E., Beck, J.R., Perdue, M.L., and Beard, C.W. (2001). Efficacy of vaccines in chickens against highly pathogenic Hong Kong H5N1 avian influenza. *Avian diseases* **45**, 355-365
- Tai, C. Y., Escarpe, P. A., Sidwell, R. W., Williams, M. A., Lew, W., Wu, H., Kim, C. U., and Mendel, D. B. (1998). Characterization of human influenza virus variants selected *in vitro* in the presence of the neuraminidase inhibitor GS 4071. *Antimicrobial Agents & Chemotherapy* **42**(12), 3234-41.
- Taubenberger, J. K., Reid, A. H., Krafft, A. E., Bijwaard, K. E., and Fanning, T. G. (1997). Initial Genetic Characterization of the 1918 Spanish Influenza Virus. *Science* **275**(5307), 1793-1796.
- Taylor, J., Weinberg, R., Kawaoka, Y., Webster, R.G., and Paoletti, E. (1988). Protective immunity against avian influenza induced by a fowlpox virus recombinant. *Vaccine* **6**, 504-508.
- Tominack, R. L., and Hayden, F. G. (1987). Rimantadine hydrochloride and amantadine hydrochloride use in influenza A virus infections. *Infectious Disease Clinics of North America* **1**(2), 459-78.
- Wainright, P. O., Perdue, M. L., Brugh, M., and Beard, C. W. (1991). Amantadine resistance among hemagglutinin subtype 5 strains of avian influenza virus. *Avian Diseases* **35**(1), 31-9.
- Webster, R. G., Hinshaw V.S., Bean W.J. Jr, Turner B. and Shortridge K.F. (1977). Influenza viruses from avian and porcine sources and their possible role in the origin of human pandemic strains. *Developments in Biological Standardization* **39**(1-3), 461-468.
- Webster, R. G., and Berton, M. T. (1981). Analysis of antigenic drift in the haemagglutinin molecule of influenza B virus with monoclonal antibodies. *Journal of General Virology* **54**(Pt 2), 243-51.
- Webster, R.G., Kawaoka, Y., Taylor, J., Weinberg, R., and Paoletti, E. (1991). Efficacy of nucleoprotein and haemagglutinin antigens expressed in fowlpox virus as vaccine for influenza in chickens. *Vaccine* **9**, 303-308.
- Webster, R. G., Sharp, G. B., and Claas, E. C. (1995). Interspecies transmission of influenza viruses. *American Journal of Respiratory & Critical Care Medicine* **152**(4 Pt 2), S25-30.
- Webster, R.G., Taylor, J., Pearson, J., Rivera, E., and Paoletti, E. (1996). Immunity to Mexican H5N2 Avian Influenza Viruses Induced by a Fowl Pox-H5 Recombinant. *Avian diseases* **40**, 461-465.
- Whitley, R. J., Hayden, F. G., Reisinger, K. S., Young, N., Dutkowski, R., Ipe, D., Mills, R. G., and Ward, P. (2001). Oral oseltamivir treatment of influenza in children. *Pediatric Infectious Disease Journal* **20**(2), 127-133.
- Wilkinson, B.E. (1997). Recombinant Hemagglutinin Subunit vaccine Produced in a Baculovirus Expression Vector System. Proceedings of the Fourth International Symposium on Avian Influenza, Athens, Georgia, USA, May 29-31, pp. 253-262.
- Wintermeyer, S. M., and Nahata, M. C. (1995). Rimantadine: a clinical perspective. *Annals of Pharmacotherapy* **29**(3), 299-310.
- Wood, J.M., Kawaoka, Y., Newberry, L.A., Bordwell, E., and Webster, R.G. (1985). Standardization of Inactivated H5N2 Influenza Vaccine and Efficacy Against Lethal A/Chicken/Pennsylvania/1370/83 Infection. *Avian diseases* **29**, 867-872.

- Yasuda, J., Shortridge, K. F., Shimizu, Y., and Kida, H. (1991). Molecular evidence for a role of domestic ducks in the introduction of avian H3 influenza viruses to pigs in southern China, where the A/Hong Kong/68 (H3N2) strain emerged. *Journal of General Virology* **72**(Pt 8), 2007-10.
- Zambon, M. (1998). Sentinel Surveillance of influenza in Europe, 1997/1998. *Eurosurveillance* **3**, 29-31.
- Zhou, N., He, S., Zhang, T., Zou, W., Shu, L., Sharp, G. B., and Webster, R. G. (1996). Influenza infection in humans and pigs in southeastern China. *Archives of Virology* **141**(3-4), 649-61.
- Zhou, N. N., Senne, D. A., Landgraf, J. S., Swenson, S. L., Erickson, G., Rossow, K., Liu, L., Yoon, K., Krauss, S., and Webster, R. G. (1999). Genetic reassortment of avian, swine, and human influenza A viruses in American pigs. *Journal of Virology* **73**(10), 8851-6.

BASES LEGISLATIVES ET REGLEMENTAIRES POUR LES PESTES AVIAIRES

(Liste transmise par le Dr B. Arbelot, Ministère de l'agriculture, Direction générale de l'Alimentation, Bureau de la Santé Animale,)

Décret du 21 août 1948 : MRC

Décret n° 95-218 du 27 février 1995 complétant et modifiant la liste des maladies des animaux réputées contagieuses.

Arrêté du 8 juin 1994 modifié fixant les mesures de lutte contre la maladie de Newcastle

Arrêté du 8 juin 1994 modifié fixant les mesures de lutte contre l'influenza aviaire

Arrêté du 10 septembre 2001 modifiant les arrêtés du 8 juin 1994 fixant les mesures de lutte contre la maladie de Newcastle et l'influenza aviaire

Arrêté du 10 septembre 2001 établissant des mesures financières relatives à la lutte contre les pestes aviaires

Arrêté du 30 août 1995 interdisant l'introduction sur le territoire métropolitain des oiseaux, des volailles, des oeufs à couver et des viandes fraîches de volailles en provenance de l'île de la Réunion.

Note de service DGAL/SDSPA/N2001-8096 du 10 juillet 2001 : Plan d'urgence pestes aviaires : préparation de la crise

Note de service DGAL/SDSPA/N2001-8097 du 10 juillet 2001 : Plan d'urgence pestes aviaires : gestion des suspicions

Note de service DGAL/SDSPA/N2001-8113 du 30 juillet 2001 : Plan d'urgence pestes aviaires : les prélèvements et les analyses de laboratoire

Note de service DGAL/SDSPA/N2002-8010 du 16 janvier 2002 : Plan d'urgence pestes aviaires : les laboratoires d'analyses pour le diagnostic sérologique

Note de service DGAL/SDSPA/N2001-8098 du 10 juillet 2001 : Plan d'urgence pestes aviaires : l'enquête épidémiologique

Note de service DGAL/SDSPA/N2001-8099 du 10 juillet 2001 : Plan d'urgence pestes aviaires : mesures à prendre par les services vétérinaires

Note de service DGAL/SDSPA/N2001-8100 du 10 juillet 2001 : Plan d'urgence pestes aviaires : confirmation, mise en œuvre du plan d'urgence départemental

Note de service DGAL/SDSPA/N2001-8114 du 30 juillet 2001 : Plan d'urgence pestes aviaires : mesures dans le foyer, le nettoyage et la désinfection

Note de service DGAL/SDSPA/N2001-8101 du 10 juillet 2001 : Plan d'urgence pestes aviaires : la vaccination

Note de service DGAL/SDSPA/N2001-8145 du 16 octobre 2001 : Enquête sérologique relative à l'influenza aviaire en 2001-2002

Note de service DGAL/SDSPA/N2001-8154 du 24 octobre 2001 : Mesures de lutte contre les pestes aviaires, application des arrêtés ministériels du 10 septembre 2001