

# Virus de la grippe et barrière d'espèce

Corinne Amiel<sup>1,a,\*</sup>

## RÉSUMÉ

Les oiseaux sauvages aquatiques représente le grand réservoir du virus de la grippe A et de sa diversité. Le caractère segmenté du génome viral (8 segments d'ARN) et l'infidélité de son ARN polymérase sont à l'origine des phénomènes de réassortiments et de mutations qui ont permis au virus de franchir la barrière d'espèce, entraînant des pandémies chez l'homme. La dernière pandémie liée au virus 2009 A (H1N1) correspond à un triple réassortant entre un virus porcine, un virus aviaire et un virus humain. Le porc est un hôte intermédiaire qui joue un rôle important dans les phénomènes de réarrangement. Il possède au niveau de sa trachée des récepteurs pour les virus humains et aviaires. Le franchissement de la barrière d'espèce nécessite une adaptation du virus à son nouvel hôte. Pour ce faire, il va développer des stratégies pour maintenir sa capacité répliquative et sa pathogénicité au niveau optimal par le biais de mutations qui vont progressivement s'installer en particulier au niveau des gènes de la polymérase (PB1, PB2, PA et NP) tout en respectant certaines contraintes fonctionnelles. Certaines mutations sont signature d'espèce comme la présence d'une lysine au niveau du résidu 627 de PB2 chez les mammifères, alors qu'il s'agit d'un acide glutamique chez les oiseaux. Les mutations adaptatives retrouvées dans les ribonucléoprotéines permettent ainsi au virus d'optimiser son interaction avec le microenvironnement cellulaire qui pourraient influencer sur chaque étape du cycle répliquatif.

**Grippe – influenza – H1N1 – H5N1 – réassortiment – mutation.**

## 1. Introduction

Les virus influenza de type A sont des pathogènes majeurs chez l'homme et peuvent avoir un impact considérable sur la santé publique, en particulier en cas de pandémie. L'analyse des souches virales responsables des pandémies, des épidémies et des cas sporadiques depuis 1918 nous a démontré que ce virus pouvait franchir la barrière d'espèce par le biais de phénomènes de mutations et/ou de réassortiments. Il en est ainsi de la dernière pandémie 2009 A (H1N1) où le virus responsable était un triple réassortant d'origine aviaire, porcine et humaine.

La grippe est classiquement une maladie à durée d'incubation courte avec diffusion et répliquations localisées dans l'arbre respiratoire. Dans les formes habituelles, le virus ne

<sup>a</sup> Université Pierre-et-Marie-Curie – Paris 6

Service de virologie  
Hôpital Tenon (AP-HP)  
4, rue de la Chine  
78970 Paris cedex 20

\* Correspondance

corinne.amiel@tnn.aphp.fr

article reçu le 14 février, accepté le 17 février 2010.

© 2010 – Elsevier Masson SAS – Tous droits réservés.

## SUMMARY

### Host species barriers to influenza virus infections.

Wild aquatic birds represent the main reservoir and genetic diversity of influenza viruses that allows the barrier species crossing, with virus-host interactions and host-host interactions. There is a specificity of receptor molecules that governs virus entry into cells: hemagglutinin molecules of avian influenza viruses preferentially bind to one form of sialic acid molecule in the host cell membrane [sialic acid (SA)-a-2,3-Gal-terminated saccharides] and the hemagglutinins on human influenza viruses prefer another (SA-a-2,6-Gal-terminated saccharides). The genetic diversity of flu strains is the consequence of reassortants and mutations, due to the segmented RNA genome and RNA polymerase infidelity. As an illustration, the A(H1N1)2009 pandemic is a triple-reassortant between one swine strain, 2 avian strains and 1 human strain. Swines, that possess avian and human strain receptors on their tracheal cells, have been considered as an intermediate host for the adaptation of avian influenza viruses to humans or as mixing vessels for the generation of genetically reassortant viruses. Evolution patterns among swine viruses include evolution of host adaptation, antigenic drift and genetic reassortment as the species barrier crossing needs adaptation to the new host. In that way, the flu virus has developed strategies to improve fitness and pathogenicity with mutation selection particularly on the polymerase gene (PB1, PB2, PA and NP) in respect to functional constraints. Some mutations are signature of species such as at residue 627 on PB2: in the avian virus, this residue is usually glutamic acid, whereas in mammalian influenza virus it is lysine, suggesting that this residue might be important in determining species range. Adaptive mutations found in ribonucleoproteins offer optimisation of interaction between the virus and microcellular environment that could influence each step of the replicative cycle. In that way, the threat of a new flu pandemic will persist for a long time.

**Flu – species barrier – mutation – reassortant.**

se multiplie pas dans les alvéoles pulmonaires et ne dépasse pas en profondeur la membrane basale. Ainsi, en dehors de la grippe aviaire H5N1 et de certains cas de grippe 2009 A (H1N1), il n'y a pas de virémie et la multiplication virale reste localisée. La répliquation virale entraîne une nécrose de l'épithélium respiratoire cilié avec des lésions intenses mais réversibles. Les complications principales sont les surinfections bactériennes et la grippe maligne, pneumopathie

purement virale qui associe à la nécrose de la muqueuse respiratoire ciliée, un œdème alvéolaire hémorragique massif. La sécrétion inappropriée de cytokines est tenue responsable de ce tableau ; c'est « l'orage cytokinique ».

## 2. Les étapes nécessaires pour franchir la barrière d'espèce

### Généralités

Pour franchir la barrière d'espèce, le virus doit pénétrer dans un organisme et trouver les tissus dans lesquels se reproduire. Le chimpanzé par exemple est résistant au virus influenza humain du fait de la présence de mucines dans ses sécrétions respiratoires.

Ensuite le virus par le biais de son hémagglutinine de surface doit trouver son récepteur cellulaire (acide sialique couplé à du galactose en position 2-3 ou 2-6). Les virus aviaires trouvent peu de récepteur spécifique dans le tractus respiratoire supérieur de l'homme, ce qui n'est plus le cas s'ils franchissent les voies aériennes inférieures où ils trouvent de nombreuses cellules cibles et peuvent alors s'y répliquer entraînant parfois un taux de mortalité élevé par réaction inflammatoire délétère. Lorsque le virus a pénétré dans la cellule, la réplication n'est pas systématique. Ainsi, les virus aviaires infectent les cellules de souris, mais ne peuvent se répliquer, sans doute par défaut de l'activité polymérisique du virus qui doit avoir une séquence particulière en acides aminés (rôle du PB2 627).

Lorsque la réplication a pu avoir lieu, le virus doit pouvoir disséminer de cellules en cellules ; pour ce faire les nouvelles particules virales doivent être libérées de la cellule (clivage de la liaison hémagglutinine-acide sialique par une neuraminidase). Le virus hors de la cellule va rencontrer le système immunitaire en particulier les interférons qui offrent une résistance antivirale aux cellules non infectées ; mais le virus peut contrer cette résistance par le biais d'un polypeptide (NS1) qui est un antagoniste de la production d'interféron. Ensuite, le virus peut rester localisé dans un tissu (le tractus respiratoire) ou disséminer dans d'autres organes en passant par le système lymphatique et/ou sanguin. Pour les volailles, le caractère localisé ou disséminé dépend de la séquence en acide aminé du site de clivage du précurseur de

l'hémagglutinine. Enfin, le virus doit être transmis d'un hôte à l'autre, et pour les virus humains, cette transmission est favorisée par le fait que la réplication se fait au niveau des voies aériennes supérieures et non des voies aériennes inférieures comme pour les virus aviaires [1]. La transmission du virus à plus grande échelle est liée à la migration du réservoir viral (les oiseaux sauvages), à la promiscuité des oiseaux et porcs d'élevage, au contact rapproché des hommes et des animaux potentiellement infectés, et au déplacement des hommes. Une fois franchie la barrière d'espèce, si le virus a les capacités de s'adapter à son nouvel hôte, ce qui se fera a priori par l'acquisition de mutations sur certains gènes clés de la réplication (polymérase), l'infection par ce nouveau virus pourra alors s'établir définitivement.

## 3. Les espèces sensibles

Les espèces sensibles au virus de la grippe A sont les mammifères terrestres (homme, porc, cheval, vison), les mammifères marins (dauphins, baleines phoques, requins) et l'espèce aviaire qui représente le réservoir de la diversité génétique virale. Ainsi l'impact du virus de la grippe concerne non seulement les hommes mais aussi les porcs et les chevaux chez lesquels il donne également une infection respiratoire, et aussi les oiseaux domestiques chez qui certaines souches de virus aviaire hautement pathogènes donnent des infections systémiques avec un taux de mortalité élevé [2].

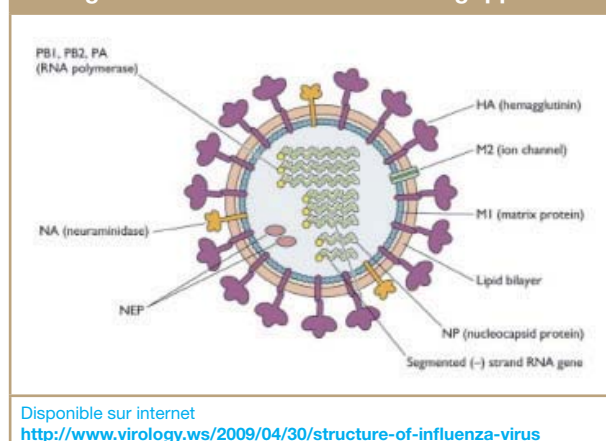
Le grand réservoir de virus et de sa diversité génétique est l'espèce aviaire, en particulier les oiseaux sauvages aquatiques, chez qui l'on retrouve les 16 hémagglutinines (HA) et les 9 neuraminidases (NA) jusqu'alors référencées. Chez ces oiseaux sauvages, le virus de la grippe est rarement pathogène. L'infection se fait par voie orale, le virus se réplique dans le tube digestif et est excrété en grande quantité dans les selles. Ces oiseaux aquatiques peuvent occasionnellement transmettre le virus à d'autres espèces aviaires, en particulier aux volailles, aux mammifères aquatiques (dauphins, requins, baleines) et aux mammifères terrestres (chevaux, porcs, visons). Différents virus d'origine aviaire ont déjà été responsables de pathologies chez l'homme comme H7N7, H9N2 et H5N1 (voir chapitre historique) mais il n'y a que quelques souches de virus grippaux qui se sont bien établies chez les mammifères comme H1N1, H2N2 et H3N2 chez l'homme. Ceci pose la question des mécanismes et des déterminants moléculaires impliqués dans la restriction de la transmission et l'adaptation des virus aviaires à leurs nouveaux hôtes [2, 3].

## 4. Récepteur cellulaire et cycle répliatif du virus de la grippe

Les virus de la grippe appartiennent à la famille des *Orthomyxoviridae*, et au genre *influenzae* (*orthomyxovirus influenzae*). Ce sont des virus enveloppés à ARN segmenté (figure 1) [2, 3].

L'enveloppe virale dérivée de la membrane cytoplasmique contient deux glycoprotéines de surface, l'hémagglutinine (H ou HA) et la neuraminidase, (N ou NA), ainsi que la protéine M2 (figure 1). HA et NA déterminent le « sous-type » viral qui ne concerne que le type A. Actuellement,

Figure 1 – Structure du virus de la grippe A.



Disponible sur internet  
<http://www.virology.ws/2009/04/30/structure-of-influenza-virus>

16 hémagglutinines et 9 neuraminidases ont été retrouvées dans l'espèce aviaire [2].

L'hémagglutinine permet l'attachement du virus sur la membrane cytoplasmique de la cellule hôte et la fusion de l'enveloppe virale avec la membrane endosomale cellulaire. Le récepteur cellulaire de l'hémagglutinine est l'**acide sialique** (ou N-acetyl-neuraminique), lié à un galactose sur la membrane cellulaire. Les virus aviaires ont un tropisme préférentiel pour l'acide sialique couplé au galactose en position 2-3 (« 2,3-SA ») alors que les virus humains se lient préférentiellement à de l'acide sialique couplé au galactose en position 2-6 (« 2,6-SA »). Chez l'homme, les 2,6-SA sont abondamment exprimés dans l'épithélium du tractus respiratoire supérieur alors que les 2,3-SA sont principalement retrouvés dans le tractus respiratoire inférieur et sur les cellules épithéliales ciliées [4]. Chez le porc, au niveau de la trachée on trouve les deux types d'acides sialiques couplés au galactose (liaisons 2-3 et 2-6) (figure 2). Les cellules endothéliales humaines expriment également les deux récepteurs 2-3 et 2-6-SA et ne sont susceptibles ni aux virus humains ni aviaires [4]. Ces cellules jouent un rôle important dans la physiopathogénèse de l'infection car elles sont abondantes dans les poumons comme dans tous les autres organes, et qu'elles favorisent les phénomènes inflammatoires par la régulation de l'extravasation des leucocytes, par la production de cytokines inflammatoires et de chimiokines et par la régulation de la coagulation [4]. Une réaction inflammatoire excessive peut être délétère pour l'organisme et contribuer à la léthalité observée en particulier avec le virus H5N1. Les différents modèles d'infection des cellules endothéliales pulmonaires (hPMEC) par différents isolats viraux ou par des virus créés par génétique inverse montrent que les virus exprimant l'hémagglutinine H5 présentent le plus fort potentiel d'infection et de réplication dans ces cellules, entraînant une hyperactivation cellulaire avec réponse inflammatoire intense [4]. Les virus H5 ont donc un tropisme très prononcé pour les cellules humaines endothéliales, du moins *in vitro*.

Comparés aux virus humains, les virus aviaire H5N1 ne sont pas bien adaptés à l'infection et à la réplication dans les cellules épithéliales du tractus respiratoire supérieur qui sont les cellules cibles pour une transmission virale efficace. Néanmoins, si le virus a pu franchir cette barrière, il a un tropisme non seulement pour les macrophages et les cellules dendritiques mais aussi pour les cellules endothéliales. Ainsi, la transmission de H5N1 est rarement efficace mais lorsque l'infection est établie, elle est souvent fatale [4].

Le clivage de l'hémagglutinine (de HA0 en HA1 et HA2) est nécessaire pour la formation de particules virales matures. Pour les virus humains, ce clivage se fait au niveau d'un seul acide aminé, l'arginine, et implique des protéases extracellulaires de type trypsine qui sont sécrétées sur le site de la réplication virale c'est-à-dire au niveau de l'épithélium respiratoire ou digestif. Dans le cas du virus hautement pathogène de sous-type H5 ou H7, plusieurs résidus basiques adjacents sont reconnus comme site de clivage par une protéase intracellulaire ubiquitaire de type furine qui permet un clivage plus efficace et dans un plus grand nombre de cellules [2, 3, 4]

La neuraminidase permet le détachement de nouvelles particules virales lors de leur bourgeonnement à la sur-

Figure 2 – L'acide sialique couplé au galactose : récepteurs de l'hémagglutinine.

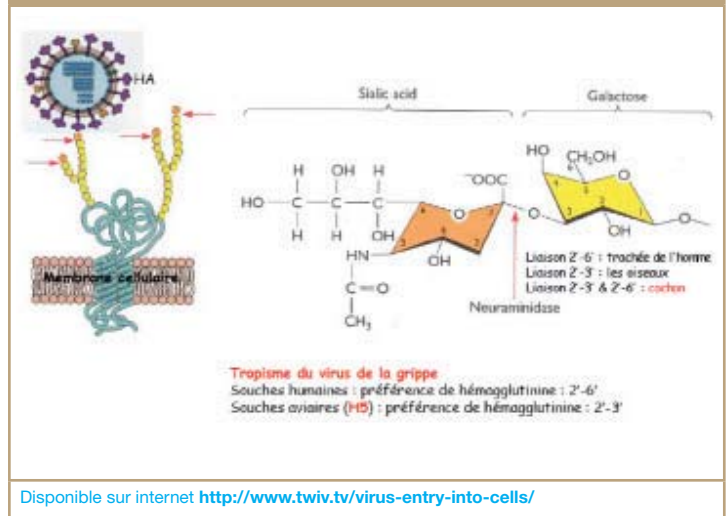
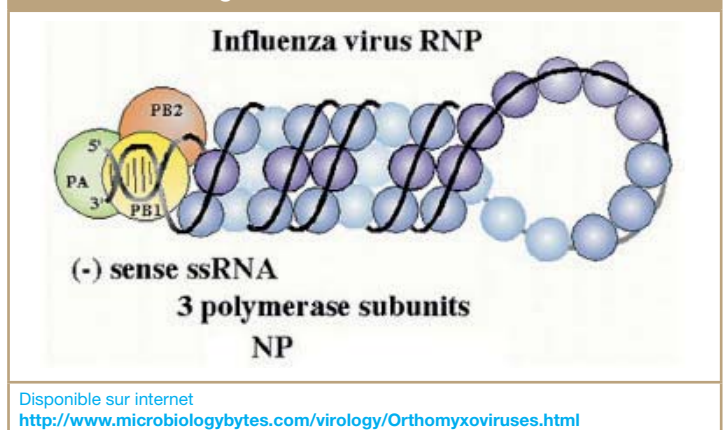


Figure 3 – Structure des RNP.



face de la cellule, ainsi que la lyse le mucus bronchique. La neuraminidase tout comme l'hémagglutinine issue des virus aviaires a une préférence pour les 2,6 -Gal SA (et 2,3 -Gal SA pour les virus humains) [1].

HA et NA interviennent dans la nomenclature des virus de type A qui incluent le type de virus, l'origine géographique, le numéro de la souche virale, l'année de l'isolement et le sous-type (H et N). Ainsi le nouveau variant 2009 A (H1N1) responsable de la pandémie actuelle est identifié de la sorte : A/California/04/2009 (H1N1) [5].

Sous l'enveloppe, se trouve la **protéine de matrice M1** puis à l'intérieur de la particule virale se trouve le **génom viral** constitué d'ARN segmenté (8 segments pour le virus de type A) associé à des protéines, l'ensemble formant les ribonucléoprotéines (RNP). C'est le caractère segmenté du matériel génétique de ce virus qui favorise les réassortiments génétiques.

Les ARN viraux sont associés à la nucléoprotéine (NP) et leurs extrémités sont liées au complexe polymérasique présent sous forme d'hétérotrimère et regroupant les protéines **PB1, PB2 et PA** (polymerase basic 1 et 2 et polymerase acid respectivement) (figure 3).

Il existe également une autre protéine de structure, **NEP** (nuclear export protein), présente en faible quantité dans la particule virale [3]. Au total, les 8 segments codent pour 11 gènes : H, N, M1, M2, PB1, PB2, PA, NP, NEP et 2 protéines non structurales PB1-F et NS1.

Lors de l'infection, le virus s'attache à la cellule par le biais de l'acide sialique, la particule virale est internalisée par endocytose, et l'acidification de l'endosome modifie la conformation de l'HA qui va favoriser la fusion de l'enveloppe virale avec la membrane de l'endosome. Ceci permet de libérer les RNP dans le cytoplasme qui seront transportés dans le noyau où auront lieu la transcription et la réplication.

L'initiation de la synthèse d'ARNm par le complexe polymérasique se fait par la fixation de petits ARN pré-messagers cellulaires au niveau des extrémités 5' des ARN viraux (c'est l'initiation par « capture de coiffe »). Ces ARN cellulaires servent d'amorces de transcription ; ils sont fixés par PB2 puis clivés par l'activité endonucléasique de PB1. PB1 est également une ARN polymérase – ARN dépendante responsable de l'élongation. La fin de la synthèse de l'ARNm et la polyadénylation se fait près de l'extrémité 5' de l'ARN viral et la traduction se fait par la machinerie cellulaire avec épissage pour certains segments. Les RNP servent également de matrice à leur propre réplication grâce au complexe polymérasique [3].

## 5. Diversité génétique

L'évolution des virus de la grippe est liée à deux mécanismes : **les réassortiments et les mutations** (figure 4).

### 5.1. Les réassortiments

Cassure, saut, « shift », ce sont des variations génétiques brutales puisqu'elles correspondent à des échanges de segments de gènes qui se font lorsqu'une cellule est infectée par deux virus différents. Ils se feraient préférentiellement chez le porc et sont à l'origine de nouveaux sous-types et de pandémies (voir historique).

### 5.2. Les mutations

Elles sont liées au caractère peu fidèle de la polymérase et à la pression de sélection du système immunitaire de l'hôte ou aux conditions environnementales. Le virus doit parfois s'adapter à un nouvel hôte, adaptation d'autant plus difficile qu'il y a franchissement de la barrière d'espèce.

L'accumulation de mutations ponctuelles (glissement, dérive,

« drift ») durant la réplication virale est un phénomène progressif qui apparaît à l'intérieur d'un même sous-type et donne des variants qui vont s'éloigner progressivement de la souche d'origine. Ainsi les variants A H3N2 actuels sont très différents de la souche A H3N2 initiale apparue en 1968, en particulier au niveau de l'hémagglutinine. Ces modifications antigéniques mineures, bien connues dans le cadre de la grippe saisonnière, donnent des épidémies limitées, touchant une fraction seulement de la population, et nécessitent la réactualisation annuelle du vaccin trivalent.

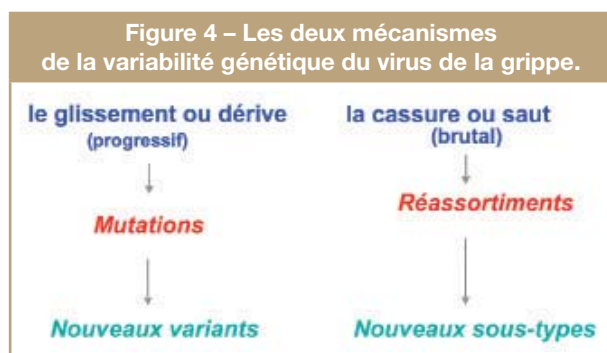
D'autres mutations interviennent dans l'adaptation du virus à son nouvel hôte. Ces mutations concernent l'ensemble des segments viraux même si l'évolution des protéines internes est plus lente que celle de H ou N, du fait sans doute de la pression du système immunitaire [3]. Les analyses phylogénétiques montrent que les gènes des RNP ont évolué dans différentes lignées spécifiques d'espèce avec des regroupements phylogénétiques sur deux branches, l'une correspondant aux virus humains et porcins, la seconde aux virus aviaires et équins [3]. Il est de plus en plus démontré ainsi que certains acides aminés seraient spécifiques d'espèce.

Le taux d'évolution des protéines internes (PB1, PB2, PA et NP) est beaucoup plus lent dans le réservoir naturel aviaire que dans le réservoir des mammifères ; de ce fait le ratio des mutations synonymes (mutations ne changeant pas l'acide aminé) par rapport aux mutations non synonymes est plus élevé pour les virus aviaires que pour les virus touchant les mammifères. L'accumulation progressive des mutations chez les mammifères est le résultat d'une pression de sélection sur le virus pour qu'il s'adapte à son nouvel hôte [3]. Ainsi quand les gènes aviaires PB1, H et N ont été introduits chez l'homme lors des épidémies de 1957 et 1968, des mutations sont progressivement apparues sur ces gènes comme autant de preuves d'une adaptation à l'hôte.

L'évolution des protéines internes peut être différente selon leurs contraintes. PB1 qui présente des contraintes fonctionnelles limiterait son taux d'évolution lorsqu'elle passe d'une espèce à l'autre alors que PB2, PA et NP co-évolueraient plus facilement et parallèlement, ce qui pourrait correspondre à une interaction forte entre ces trois protéines [3].

L'évolution de ces protéines internes concerne les virus aviaires provenant des oiseaux sauvages aquatiques qui infectent les mammifères mais également ceux qui infectent les volailles lesquelles ne doivent pas être considérées comme des hôtes naturels pour les virus influenza, mais plutôt comme des hôtes intermédiaires dans la transmission des virus des oiseaux sauvages à l'homme [3].

De ces mécanismes de variabilité génétique découlent les différentes pandémies et épidémies connues à ce jour.



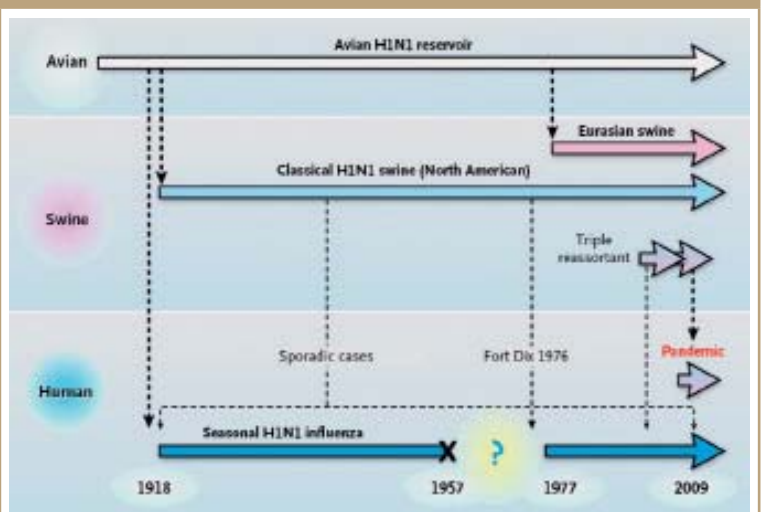
## 6. Historique des épidémies et pandémies

La grippe est connue depuis plus de 2 millénaires puisque des épidémies d'allure grippale avaient déjà été décrites par Hippocrate (-412 avant JC) (tableau 1). Si les oiseaux constituent le grand réservoir de la diversité génétique des virus de la grippe, le porc est un acteur important dans le franchissement de la barrière d'espèce et donc dans la

Tableau I – Historique des pandémies et épidémies chez l'homme.

|              |  |
|--------------|--|
| - 412 avt JC | Hippocrate: épidémies d'allure grippale                                |
| 1918         | <b>Grippe espagnole (H1N1)</b> (pandémie la plus sévère)               |
| 1931-33      | Isolement 1 <sup>er</sup> virus grippal porcin et humain (H1N1)        |
| 1957-58      | Pandémie de <b>grippe asiatique (H2N2)</b> « asian-flu »               |
| 1968         | Pandémie de <b>grippe de Hong-Kong (H3N2)</b>                          |
| 1977         | Epidémie grippe russe: réémergence <b>H1N1</b>                         |
| Depuis 1977  | Co-circulent deux sous-types A chez l'homme : H1N1 et H3N2             |
| 1996         | Grippe aviaire (oie en Chine) <b>H5N1</b> : « grippe du poulet »       |
| 1997         | Extension grippe aviaire à Hong-Kong et 1 <sup>er</sup> cas humain     |
| 1999         | <b>H9N2</b> grippe poulet → cas humains en Chine                       |
| 2003         | <b>H7N7</b> mouettes → cas humains Pays-Bas (conjonctivites et grippe) |
| 2003-2004    | H5N1 de nouveau (Vietnam) → extension mondiale                         |
| 2005         | 1 <sup>er</sup> cas humain de transmission virus <b>porcin H1N1</b>    |
| 2009         | Pandémie avec le nouveau variant <b>A(H1N1)v</b>                       |

Figure 5 – Évolution depuis 1918 du virus H1N1 chez l'oiseau, l'homme et le porc à l'origine du tripe réassortant 2009 A (H1N1).



D'après Zimmer SM, Burke DS. N Engl J Med 2009;361:279-85.

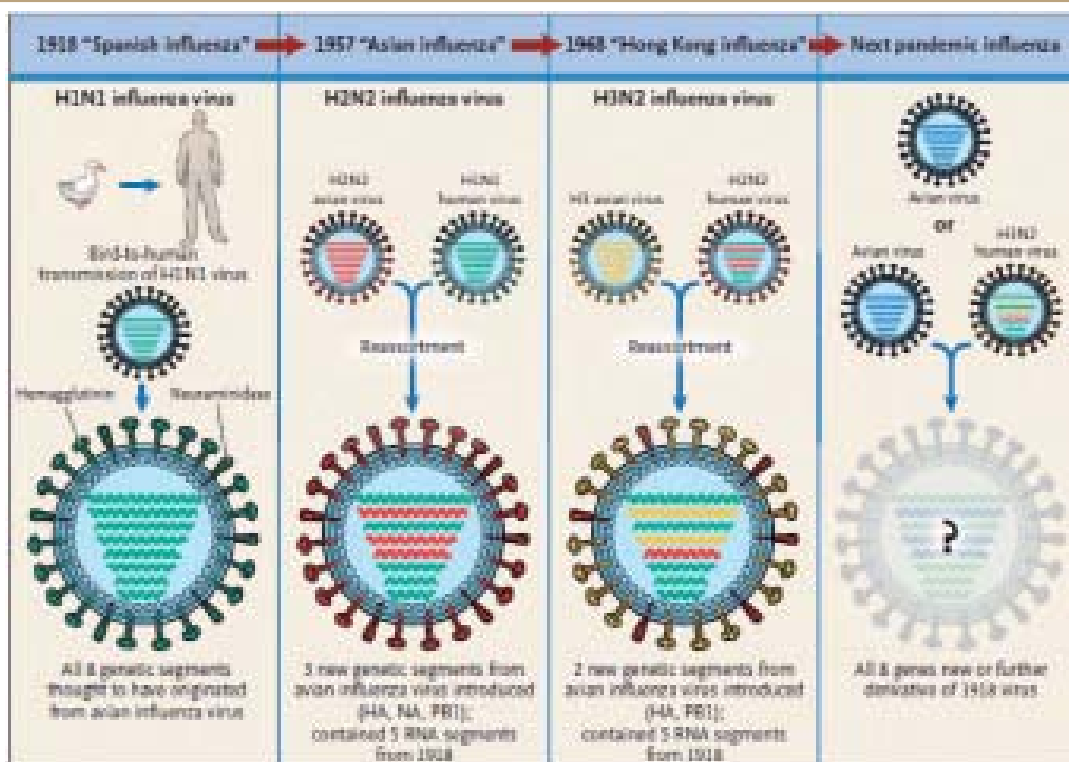
genèse des pandémies, du fait de la présence au niveau de l'épithélium respiratoire des deux types de récepteurs (2-3 SA et 2-6 SA) qui favorisent les co-infections et donc les phénomènes de réassortiments.

Trois importantes pandémies sont apparues au XX<sup>e</sup> siècle : la pandémie de 1918 (grippe espagnole) qui aurait fait plus de décès que la première guerre mondiale (plus de 40 mil-

lions de morts), la pandémie de 1957 (grippe asiatique) et la pandémie de 1968 (grippe de Hong-Kong).

Le virus H1N1 responsable de la **pandémie de 1918** est d'origine aviaire et son extrême virulence n'est pas encore expliquée. Il a contaminé non seulement l'espèce humaine mais également les porcs lors de la seconde vague épidémique. Depuis cette époque, il y a eu divergence antigénique entre le H1N1 de l'homme et le H1N1 porcin (*figure 5*).

Figure 6 – Les pandémies du XX<sup>e</sup> siècle et le risque pandémique ultérieur.



D'après Belshe RB. The origins of pandemic influenza - lessons from the 1918 virus. N Engl J Med 2005;353(21):2209-11.

Deux pandémies ont suivi, en 1957 et en 1968. **En 1957**, H1N1 était remplacé par H2N2, réassortiment entre un virus humain et un virus aviaire (H2, N2 et PB1 et d'origine aviaire) et en **1968**, H3N2 remplaçait H2N2 (réassortiment entre un virus humain et un virus aviaire : H3 et PB1 et d'origine aviaire). On attendait ainsi pour la pandémie suivante une transmission intégrale d'un virus aviaire à l'homme ou un nouveau réassortant entre un virus aviaire et H3N2 (figure 6).

**En 1976**, H1N1 ré-émerge dans l'armée à Fort Dix dans le New Jersey, puis un an plus tard en Chine et en Union soviétique. Depuis, co-circulent chez l'homme H1N1 et H3N2.

**En 1997**, sont décrits les premiers cas humains de grippe aviaire **A H5N1** avec quelques cas d'infections humaines mortelles à Hong-Kong. Les capacités épidémiologiques de ce virus aviaire se sont en fait révélées très limitées chez l'homme, peut-être grâce à l'abattage de millions de poulets immédiatement entrepris à Hong-Kong, puis dans tous les pays, en particulier asiatiques, où des foyers de grippe aviaire ont été découverts. Un nouveau virus du poulet, **A H9N2**, a infecté quelques Chinois en avril 1999, puis **en 2003** aux Pays-Bas, un virus **A H7N7** venant des mouettes et responsable d'une épidémie sévère de peste aviaire chez les poulets est passé à l'homme, avec plus de cent cas de conjonctivite mais aussi deux cas de syndromes grippaux dont un mortel. Pour finir sur les virus aviaires, une nouvelle alerte à la grippe du poulet A H5N1 avec de nouveaux cas humains sévères est apparue en 2003. Depuis, des cas humains de grippe aviaire sont régulièrement rapportés par l'OMS (seuls les cas confirmés par biologie moléculaire sont rapportés).

H5N1 est un virus aviaire hautement pathogène (HPAI) pour *highly pathogenic avian influenza* qui entraîne des

infections respiratoires sévères associées à un syndrome de détresse respiratoire aigu voire une atteinte systémique du virus qui a pu ainsi être retrouvé dans le sang, le liquide céphalorachidien et les selles. Le taux de mortalité chez l'homme de l'infection par le virus aviaire H5N1 est très élevé. Depuis 2003, le nombre de cas cumulés déclarés à l'OMS et enregistrés uniquement si la PCR spécifique est positive est de 473 cas dont 282 décès, soit un taux de mortalité de 59,6 % ([http://www.who.int/csr/disease/avian\\_influenza/country/cases\\_table\\_2010\\_02\\_08/en/index.html](http://www.who.int/csr/disease/avian_influenza/country/cases_table_2010_02_08/en/index.html)) (tableau II).

En 1998, un nouveau triple réassortant **H1N1** est identifié chez des porcs d'Amérique du Nord; il contient 5 segments de gène provenant du classique H1N1 porcin, le gène de PB2 et de PA d'origine aviaire et le gène de PB1 d'origine humaine (H3N2). Ce virus a été responsable d'une première contamination humaine en 2005 et depuis, plus d'une dizaine d'individus ont été contaminés avec ce triple réassortant porcin entre 2005 et 2009 (tableau II).

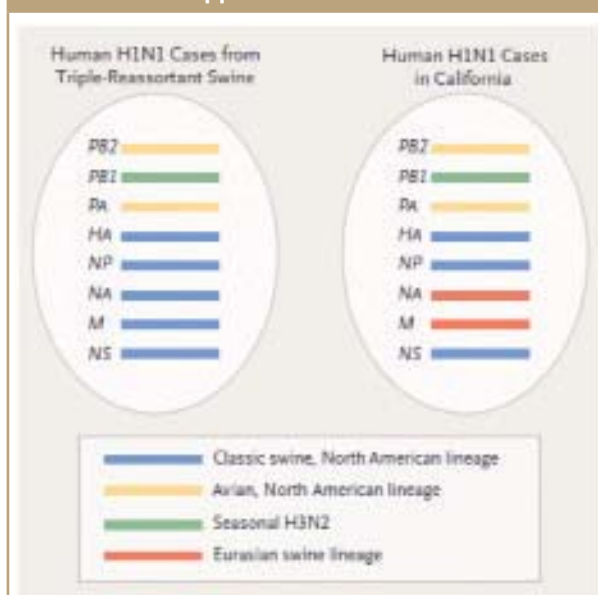
Enfin, une nouvelle pandémie est apparue en avril 2009, liée au virus A (H1N1) nouveau variant ou «**2009 A (H1N1)**», qui n'a pas été associée à un taux de mortalité élevé comme pour les pandémies précédentes et dont la première (et dernière ?) vague est terminée (tableau II et figure 7). Il s'agit du même triple réassortant si ce n'est pour 2 segments (N et M) qui sont originaires du porc eurasien et non pas du porc classique nord américain [5].

Le réservoir viral est aviaire, le porc est un excellent hôte intermédiaire pour les réassortiments, et l'homme peut ainsi être contaminé directement par les oiseaux ou par les porcs. Mais peu de virus aviaires se sont définitivement établis chez l'homme même si le virus a su développer

Tableau II – Nombre cumulatif de cas humains confirmés de grippe aviaire H5N, répertoriés par l'OMS au 8 février 2010 (année 2009, année 2010 et cas cumulés depuis 2003).

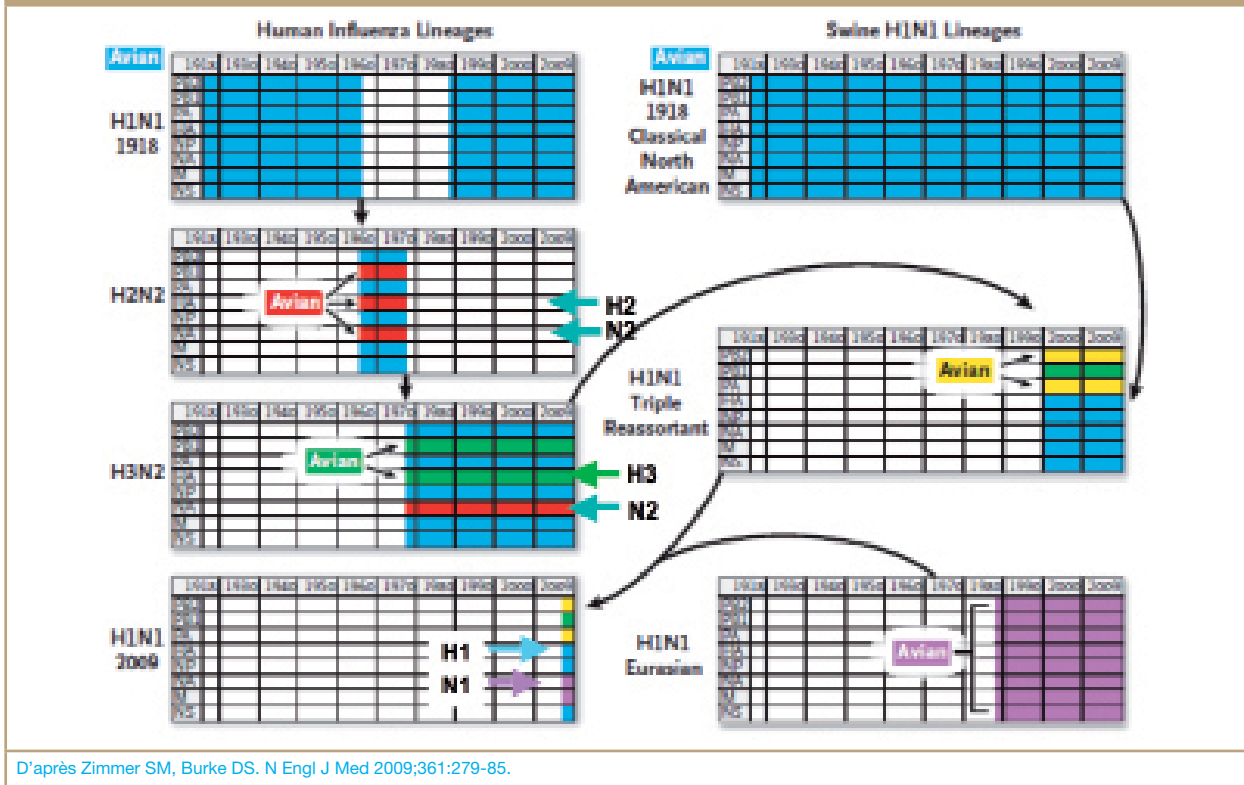
| Pays         | 2009      |           | 2010     |          | Total      |            |
|--------------|-----------|-----------|----------|----------|------------|------------|
|              | Nbre      | Décès     | Nbre     | Décès    | Nbre       | Décès      |
| Azerbaïdjan  | 0         | 0         | 0        | 0        | 8          | 5          |
| Bangladesh   | 0         | 0         | 0        | 0        | 1          | 0          |
| Cambodge     | 1         | 0         | 0        | 0        | 9          | 7          |
| Chine        | 7         | 4         | 0        | 0        | 38         | 25         |
| Djibouti     | 0         | 0         | 0        | 0        | 1          | 0          |
| Egypte       | 39        | 4         | 6        | 0        | 96         | 27         |
| Indonésie    | 20        | 19        | 0        | 0        | 161        | 134        |
| Irak         | 0         | 0         | 0        | 0        | 3          | 2          |
| Laos         | 0         | 0         | 0        | 0        | 2          | 2          |
| Birmanie     | 0         | 0         | 0        | 0        | 1          | 0          |
| Nigeria      | 0         | 0         | 0        | 0        | 1          | 1          |
| Pakistan     | 0         | 0         | 0        | 0        | 3          | 1          |
| Thaïlande    | 0         | 0         | 0        | 0        | 25         | 17         |
| Turquie      | 0         | 0         | 0        | 0        | 12         | 4          |
| Vietnam      | 5         | 5         | 0        | 0        | 112        | 57         |
| <b>Total</b> | <b>72</b> | <b>32</b> | <b>6</b> | <b>0</b> | <b>473</b> | <b>282</b> |

Figure 7 – Comparaison du triple réassortant H1N1 porcin ayant contaminé l'homme de 2005 à 2009 avec le nouveau triple réassortant apparu en avril 2009.



D'après le Novel Swine-Origin Influenza A (H1N1) Virus Investigation Team; Dawood S, et al. N Engl J Med 2009;360:2605-15.

Figure 8 – Origine du nouveau variant A (H1N1)v responsable de la pandémie de 2009.



des mécanismes d'adaptation à son nouvel hôte, en particulier par le biais de mutations portant sur le complexe polymérasique viral.

## 7. Facteurs impliqués dans le franchissement de la barrière d'espèce

La transmission des virus influenza à partir du réservoir aviaire dans la population humaine nécessite de franchir la barrière d'espèce. Un déterminant majeur du tropisme du virus est la polymérase composée des protéines PB1, PB2 et PA associées à l'ARN et de la nucléoprotéine (NP) nécessaires à la transcription et à la réplication virale. Parmi les 52 signatures génétiques spécifiques d'hôte identifiées par Chen, 35 sont localisées au niveau des RNP : 2 dans PB1, 8 dans PB2, 10 dans PA et 15 dans NP [6].

L'acide aminé 627 situé sur la sous-unité de PB2 peut réguler l'activité de la polymérase de manière spécifique d'espèce. La présence d'une lysine en position 627 (K627) sur PB2 est un fort déterminant d'adaptation aux mammifères et presque tous les isolats humains en sont pourvus, alors que pour les virus aviaires, il s'agit d'un acide glutamique en position 627 (E627) [3, 6, 7]. Ainsi environ deux tiers des virus H5N1 retrouvés chez l'homme ont une PB2 aviaire E627.

PB2 K627 est corrélé chez les mammifères à une augmentation de l'activité polymérasique, de la capacité répliquative et de la pathogénicité du virus alors que PB2 E627 est associé à une baisse importante de la réplication virale et

de la pathogénicité [7]. Une température abaissée à 33 °C diminue la réplication virale et l'activité polymérasique des virus aviaires dans des cellules de mammifères, ce qui n'est pas le cas pour les virus humains. Le virus aviaire se réplique généralement dans le tube digestif des oiseaux, où la température est de l'ordre de 41 °C; cette sensibilité au froid de la polymérase aviaire pourrait limiter la croissance dans le tractus respiratoire supérieur de l'homme, et prévenir la transmission inter-humaine. Mais une simple substitution Glu627Lys (E627K) confère de nouveau la capacité des isolats H5N1 à se répliquer à 33 °C dans différentes lignées cellulaires humaines [3].

De plus, tous les nouveaux variants 2009 A (H1N1) possèdent également cette « signature aviaire » E627 alors que le virus se réplique et se transmet aisément chez l'homme. Ceci est vraisemblablement lié au fait que le virus d'origine aviaire utilise des stratégies alternatives pour s'adapter à l'espèce humaine. Ainsi Mehle et Doudna ont récemment décrit deux mécanismes qui permettent aux virus qui contiennent une PB2 E627 d'augmenter leur activité polymérasique dans des cellules humaines : l'évolution d'un site de polymorphisme dans la protéine PB2 des virus 2009 A (H1N1) et le réassortiment d'une sous-unité humaine PA dans la polymérase aviaire [7]. Les auteurs ont ainsi identifié une paire d'acides aminés conservés dans les souches 2009 A (H1N1) et très rares dans les souches précédemment isolées chez l'homme : une sérine en position 590 et une arginine en position 591 donnant ainsi le « polymorphisme SR ». Ce polymorphisme n'a pu être identifié à partir de souches humaines anciennes que dans 3 séquences sur plus de 2 800 séquences analysées ;

pour 2 d'entre elles, les patients infectés avaient été exposés à des porcs et infectés par le triple réassortant contenant une PB1 humaine, une PB2 et une PA aviaire et une NP porcine, identiques au 2009 A (H1N1). Tous les polymorphismes SR ont été mis en évidence dans des souches PB2 E627. Les mutations induites S590G et R591Q, qui rétablissent une séquence consensus, réduisent de 50 % l'activité polymérasique virale ce qui suggère que le polymorphisme SR est bien un des mécanismes d'adaptation du virus aviaire à l'homme [7].

En revanche, l'étude des virus H5N1 transmis à l'homme montre que les souches ont une PB2 E627, mais sans polymorphisme SR ; l'activité polymérasique réduite de ces souches se trouve parfaitement restaurée quand on introduit ce polymorphisme SR (GQ → SR).

D'autres acides aminés sont également associés à l'espèce infectée. Ainsi **le résidu 375 sur PB1** est une sérine (S375) pour les virus humains et une asparagine pour les isolats aviaires (N375). Les séquences des gènes PB1 des trois pandémies du XX<sup>e</sup> siècle diffèrent de la séquence aviaire consensus de 4 à 7 acides aminés, et la seule substitution commune à ces trois virus est la S375. Une substitution d'une glycine en sérine (G375S) a également été observée dans les virus impliqués dans les épidémies de 1957 et de 1968 où PB1 dérivé d'un virus porcin. Le résidu 375 de PB1 serait donc impliqué

dans l'adaptation aux mammifères. Enfin, la substitution d'un aspartate en asparagine au niveau du résidu 701 de PB2 (D701N) est détectée dans des isolats de canards ; ces souches PB2 701N sont les seules à pouvoir naturellement infecter les souris [7].

## 8. Conclusion

Pour qu'une espèce aviaire puisse s'installer avec succès chez un nouvel hôte en particulier chez l'homme, plusieurs étapes sont nécessaires : une transmission à l'hôte à partir du réservoir aviaire, une réplication efficace dans ce nouvel hôte, et la capacité d'établir une chaîne soutenue de transmission et d'entrer efficacement en compétition avec les virus pré-circulants. Les interactions entre les protéines virales et des facteurs liés à l'hôte jouent un rôle essentiel dans la capacité répliquative du virus et sa pathogénicité. Des mutations adaptatives dans les RNP permettent d'optimiser ces interactions et des modifications du microenvironnement cellulaire pourraient influencer sur chaque étape du cycle répliquatif. Ainsi, par leur capacité d'adaptation à leur nouvel hôte, les virus influenza semblent avoir de beaux jours devant eux...

Conflit d'intérêt : aucun

## Références

- [1] Kuiken T, Holmes EC, McCauley J et al. Host species barriers to influenza virus infections. *Science* 2006;312:394-7.
- [2] Huraux JM, Nicolas JC, Agut H, Peigue-Lafeuille H. *Traité de Virologie médicale*. Edition Estem 2003. Chapitre 29 : Orthomyxoviridae. N.Naffak, S.van der Werf ; p.459-480.
- [3] Naffakh N, Tomoiun A, Rameix-Welti MA, et al. Host restriction of avian influenza viruses at the level of the ribonucleoproteins. *Annu Rev Microbiol*, 2008;62:403-24.

- [4] Ocana-Macchi M, Bel M, Guzylack-Piriou L, et al. Hemagglutinin-dependent tropism of H5N1 avian influenza virus for human endothelial cells. *J.Virol* 2009;83:12947-55.
- [5] Sullivan SJ, Jacobson RM, Dowdle WR, et al. 2009 H1N1 influenza. *Mayo Clin.Proc* 2010;85 :64-76.
- [6] Chen GW, Chang SC, Mok CK, et al. Genomic signatures of human versus avian influenza viruses. *Emerg.Infect.Dis* 2006;12:1353-60.
- [7] Mehle A, Doudna JA. Adaptive strategies of the influenza virus polymerase for replication in humans. *PNAS* 2009;106:21312-6.