



AVERTISSEMENT

Ce document est le fruit d'un long travail approuvé par le jury de soutenance et mis à disposition de l'ensemble de la communauté universitaire élargie.

Il est soumis à la propriété intellectuelle de l'auteur. Ceci implique une obligation de citation et de référencement lors de l'utilisation de ce document.

D'autre part, toute contrefaçon, plagiat, reproduction illicite encourt une poursuite pénale.

Contact : ddoc-theses-contact@univ-lorraine.fr

LIENS

Code de la Propriété Intellectuelle. articles L 122. 4

Code de la Propriété Intellectuelle. articles L 335.2- L 335.10

http://www.cfcopies.com/V2/leg/leg_droi.php

<http://www.culture.gouv.fr/culture/infos-pratiques/droits/protection.htm>

UNIVERSITE HENRI POINCARÉ - NANCY 1

2009

FACULTE DE PHARMACIE

**L'INFLUENZA AVIAIRE A
VIRUS A(H5N1)
CHEZ LES OISEAUX
DOMESTIQUES ET SAUVAGES**

Présentée et soutenue publiquement

Le 10 septembre 2009

pour obtenir

le Diplôme d'Etat de Docteur en Pharmacie

par **Tiffany NZAMBA**
né le 16 décembre 1982 à Bordeaux (33)

Membres du Jury

Président : Mme Chantal FINANCE, Professeur

Juges : Mme Sandrine BANAS, Maître de Conférences, Faculté de Pharmacie de Nancy
Mme Jocelyne COLLOMB, Maître de Conférences, Faculté de Pharmacie de Nancy
Mme Martine MAYOT-BOUDAT, Pharmacienne à Saint-Max

« LA FACULTE N'ENTEND DONNER AUCUNE APPROBATION,
NI IMPROBATION AUX OPINIONS EMISES DANS LES
THESES, CES OPINIONS DOIVENT ETRE CONSIDEREES
COMME PROPRES A LEUR AUTEUR ».

UNIVERSITE Henri Poincaré - Nancy 1
FACULTE DE PHARMACIE

DOYEN

Chantal FINANCE

Vice-Doyen

Francine PAULUS

Président du Conseil de la Pédagogie

Pierre LABRUDE

Responsable de la Commission de la Recherche

Jean-Claude BLOCK

Directeur des Etudes

Gérald CATAU

Responsable de la Commission des Relations Internationales

Janine SCHWARTZBROD

Responsable de la Communication

Francine KEDZIEREWICZ

Responsable de la Commission Hygiène Sécurité

Laurent DIEZ

Responsable de la filière Officine :

Gérald CATAU

Responsables de la filière Industrie :

Isabelle LARTAUD

Jean-Bernard REGNOUF de VAINS

Responsable du CEPH :

(Collège d'Enseignement Pharmaceutique Hospitalier)

Jean-Michel SIMON

Doyen Honoraire : Claude VIGNERON

Professeur Emérite : Gérard SIEST

Professeurs Honoraires

Thérèse GIRARD

Michel JACQUE

Lucien LALLOZ

Pierre LECTARD

Vincent LOPPINET

Marcel MIRJOLET

François MORTIER

Maurice PIERFITTE

Louis SCHWARTZBROD

Maîtres de Conférences Honoraires

Marie-Claude FUZELLIER

Françoise HINZELIN

Marie-Andrée IMBS

Marie-Hélène LIVERTOUX

Jean-Louis MONAL

Marie-France POCHON

Anne ROVEL

Maria WELLMAN-ROUSSEAU

Assistante Honoraire

Marie-Catherine BERTHE

ENSEIGNANTS

PROFESSEURS

Gilles AULAGNER	Pharmacie clinique
Alain BAGREL	Biochimie
Jean-Claude BLOCK	Santé publique
Christine CAPDEVILLE-ATKINSON	Pharmacologie cardiovasculaire
Chantal FINANCE	Virologie, Immunologie
Pascale FRIANT-MICHEL	Mathématiques, Physique, Audioprothèse
Marie-Madeleine GALTEAU.....	Biochimie clinique
Christophe GANTZER	Microbiologie environnementale
Max HENRY	Botanique, Mycologie
Jean-Yves JOUZEAU	Bioanalyse du médicament
Pierre LABRUDE	Physiologie, Orthopédie, Maintien à domicile
Dominique LAURAIN-MATTAR.....	Pharmacognosie
Isabelle LARTAUD.....	Pharmacologie
Pierre LEROY.....	Chimie physique générale
Philippe MAINCENT.....	Pharmacie galénique
Alain MARSURA.....	Chimie thérapeutique
Patrick MENU.....	Physiologie et physiopathologie humaine
Jean-Louis MERLIN.....	Biologie cellulaire oncologique
Alain NICOLAS.....	Chimie analytique
Jean-Bernard REGNOUF de VAINS.....	Chimie thérapeutique
Bertrand RIHN.....	Biochimie, Biologie moléculaire
Janine SCHWARTZBROD	Bactériologie, Parasitologie
Jean-Michel SIMON.....	Economie de la santé, Législation pharmaceutique
Claude VIGNERON.....	Hématologie, Physiologie

MAITRES DE CONFERENCES

Monique ALBERT.....	Bactériologie, Virologie
Sandrine BANAS.....	Parasitologie
Mariette BEAUD.....	Biologie cellulaire
Emmanuelle BENOIT.....	Communication et Santé
Michel BOISBRUN.....	Chimie thérapeutique
Catherine BOITEUX.....	Biophysique, Audioprothèse
François BONNEAUX.....	Chimie thérapeutique
Cédric BOURA.....	Physiologie
Gérald CATAU.....	Pharmacologie
Jean-Claude CHEVIN.....	Chimie générale et minérale
Igor CLAROT.....	Chimie analytique
Jocelyne COLLOMB.....	Parasitologie, Organisation animale
Joël COULON.....	Biochimie
Sébastien DADE.....	Bio-informatique
Dominique DECOLIN.....	Chimie analytique
Béatrice DEMORE.....	Pharmacie clinique
Joël DUCOURNEAU.....	Biophysique, Audioprothèse, Acoustique
Florence DUMARCAY.....	Chimie thérapeutique
François DUPUIS.....	Pharmacologie
Raphaël DUVAL.....	Microbiologie clinique

Béatrice FAIVRE.....	Hématologie
Adel FAIZ.....	Biophysique-accoustique
Luc FERRARI.....	Toxicologie
Stéphane GIBAUD.....	Pharmacie clinique
Françoise HINZELIN.....	Mycologie, Botanique
Thierry HUMBERT.....	Chimie organique
Frédéric JORAND.....	Santé et Environnement
Francine KEDZIEREWICZ.....	Pharmacie galénique
Alexandrine LAMBERT.....	Informatique, Biostatistiques
Brigitte LEININGER-MULLER.....	Biochimie
Faten MEHRI-SOUSSI.....	Hématologie biologique
Christophe MERLIN.....	Microbiologie environnementale et moléculaire
Blandine MOREAU.....	Pharmacognosie
Maxime MOURER.....	Pharmacochimie supramoléculaire
Dominique NOTTER.....	Biologie cellulaire
Francine PAULUS.....	Informatique
Christine PERDICAKIS.....	Chimie organique
Caroline PERRIN-SARRADO.....	Pharmacologie
Virginie PICHON.....	Biophysique
Anne SAPIN.....	Pharmacie galénique
Marie-Paule SAUDER.....	Mycologie, Botanique
Nathalie THILLY.....	Santé publique
Gabriel TROCKLE.....	Pharmacologie
Noëlle VAULTIER.....	Biodiversité végétale et fongique
Mohamed ZAIYOU.....	Biochimie et Biologie moléculaire
Colette ZINUTTI.....	Pharmacie galénique

PROFESSEUR ASSOCIE

Anne MAHEUT-BOSSER.....	Sémiologie
-------------------------	------------

PROFESSEUR AGREGÉ

Christophe COCHAUD.....	Anglais
-------------------------	---------

ASSISTANT

Annie PAVIS.....	Bactériologie
------------------	---------------

SERVICE COMMUN DE DOCUMENTATION DE L'UNIVERSITE (SCD)

Anne-Pascale PARRET.....	Directeur
Jeannine GOLEC.....	Responsable de la section Pharmacie-Odontologie

SERMENT DES APOTHICAIRES



Je jure, en présence des maîtres de la Faculté, des conseillers de l'ordre des pharmaciens et de mes condisciples :

D' honorer ceux qui m'ont instruit dans les préceptes de mon art et de leur témoigner ma reconnaissance en restant fidèle à leur enseignement.

D'exercer, dans l'intérêt de la santé publique, ma profession avec conscience et de respecter non seulement la législation en vigueur, mais aussi les règles de l'honneur, de la probité et du désintéressement.

De ne jamais oublier ma responsabilité et mes devoirs envers le malade et sa dignité humaine ; en aucun cas, je ne consentirai à utiliser mes connaissances et mon état pour corrompre les mœurs et favoriser des actes criminels.

Que les hommes m'accordent leur estime si je suis fidèle à mes promesses.

Que je sois couvert d'opprobre et méprisé de mes confrères si j'y manque.



REMERCIEMENTS

Je tiens à remercier

Madame le Professeur Finance pour avoir accepté de présider notre jury de thèse.

Madame le Docteur Sandrine Banas, maître de conférences à la faculté de pharmacie de Nancy, qui m'a permis de mener à bien ce travail grâce à son soutien, sa patience et ses relectures attentives.

Madame le Docteur Jocelyne Collomb, maître de conférences à la faculté de pharmacie de Nancy, pour son intérêt pour mon sujet de thèse et avoir accepté de faire partie de ce jury.

Madame le Docteur Mayot-Boudat, Pharmacienne à Saint-Max, pour avoir accepté de participer à ce jury de thèse, de m'avoir fait partager ses connaissances et son expérience lors de mon stage en 6^{ème} année et bien après.

Mes parents pour leur soutien, leur amour et les sacrifices qu'ils ont faits.

Mes frères et sœurs : Bibouche, Léo, Roma et Francis.

Mes grands-parents.

Le reste de ma famille dispersée ça et là au Congo et en France.

Mes amis : Anne-Hélène, Anne-Sophie, Betty, Delphine, Gwenaëlle, Nathalie, Nicolas, Petite Steph, Samuel, Stéphanie.

Toute l'équipe de la pharmacie Carnot à Saint-Max : Céline, Christine, Véronique pour m'avoir accueillie à bras ouverts, sans oublier Isabelle, les étudiantes et stagiaires que j'ai pu et peux encore y rencontrer.

Tous les pharmaciens qui m'ont fait profiter de leur expérience tout au long de mes études universitaires

Peggy pour son soutien.

Tous ceux qui de près ou de loin m'ont encouragée pour la réalisation de ce travail.

L'INFLUENZA AVIAIRE A VIRUS A(H5N1) CHEZ LES

OISEAUX DOMESTIQUES ET SAUVAGES

L'INFLUENZA AVIAIRE A VIRUS A(H5N1) CHEZ LES OISEAUX DOMESTIQUES ET SAUVAGES..... 1

I. INTRODUCTION..... 6

II. RENCONTRE AVEC LE VIRUS GRIPPAL A (H5N1)..... 8

A. Historique..... 8

1. Histoire des pestes aviaires 8

2. La découverte de l'agent causal 9

3. L'histoire des pandémies grippales 10

4. L'histoire du virus H5N1 13

B. Présentation du virus de la peste aviaire 14

1. Taxonomie..... 14

2. Structure 15

a) L'enveloppe virale..... 16

b) Le génome 19

3. La réplication..... 21

4. Caractères physico-chimiques du virus..... 23

5. Virulence du virus H5N1 24

6. Variabilité génétique du virus 26

a) Les variations mineures : les glissements antigéniques 27

b) Les variations majeures : les cassures antigéniques..... 28

C. Epidémiologie 30

1. Réservoir du virus H5N1.....	30
2. Répartition géographique	32
3. Transmission du virus	33
D. L'influenza aviaire : la pathologie.....	34
1. Physiopathologie	34
2. Clinique	35
3. Diagnostic.....	38
a) L'identification de l'agent.....	38
b) Les tests sérologiques.....	40
4. Traitement	41
5. Procédures de décontamination.....	41
a) L'abattage des volailles	41
b) L'élimination des carcasses.....	44
c) La décontamination et la désinfection.....	45
6. La prévention par la vaccination	46
E. Conséquence pour l'homme : la grippe humaine d'origine aviaire	48
1. Physiopathologie	48
2. Clinique de l'infection humaine à H5N1	50
3. Les signes paracliniques.....	51
4. Diagnostic.....	52
a) Le diagnostic direct	52
b) Le diagnostic indirect	54
5. Prévention.....	55
a) Les vaccins inactivés	56
b) Les vaccins vivants atténués	57

6.	Traitement	60
a)	Les inhibiteurs de la protéine M2 ou adamantanes	62
b)	Les inhibiteurs de l'inosine 5' monophosphate (IMP) déhydrogénase.....	63
c)	Les inhibiteurs de l'ARN polymérase	64
d)	Les siRNA (small interfering RNA)	65
e)	Les inhibiteurs de la neuraminidase	65
III.	Les épizooties de peste aviaire en France et en Europe	70
A.	En France.....	70
1.	L'arrivée du virus H5N1	70
2.	Modalités de surveillance de la mortalité des oiseaux sauvages.....	73
B.	Prise en charge d'un foyer de peste aviaire : exemple de la Moselle.....	74
C.	L'IAHP en Europe	82
1.	En Allemagne	82
2.	En Suisse	83
3.	En Espagne	84
D.	Définition d'une pandémie grippale.....	85
E.	Les organismes internationaux de surveillance.....	86
1.	L'Organisation Mondiale de la Santé (OMS)	87
2.	L'OIE	88
3.	L'European Influenza Surveillance Scheme (EISS)	88
F.	Les réseaux de surveillance en France	89
1.	Objectifs	89
2.	Les différents types de réseaux	90
a)	Les réseaux de laboratoire.....	90
b)	Les réseaux de surveillance en population générale	90

3.	Résultats de la surveillance	93
G.	Prévention des épizooties et de leur extension.....	94
1.	Les niveaux de risque épizootique	95
2.	La surveillance des élevages et de la faune sauvage sur le territoire national	96
3.	La protection des élevages de volailles et des autres oiseaux	97
4.	Le plan d'urgence « Peste aviaire ».....	98
H.	Prévention de la transmission à l'homme	99
1.	La vaccination	99
2.	Les antiviraux.....	102
3.	Les mesures d'hygiène	103
I.	Evolution spatio-temporelle de l'influenza à H5N1 : où en sommes-nous aujourd'hui ?	104
1.	Chez l'oiseau	104
2.	Chez l'homme	105
IV.	CONDUITE A TENIR EN CAS DE PANDEMIE GRIPPALE A A(H5N1).....	107
A.	Les professionnels de santé	107
1.	Leur place dans la lutte contre la pandémie grippale	107
2.	Suspicion d'un cas de grippe à virus H5N1	109
3.	La réaction du professionnel de santé	110
4.	Le plan « grippe aviaire » et les pharmaciens	114
B.	Conseils pour les éleveurs et professionnels en contact avec des volailles vivantes .	115
1.	Mesures d'hygiène générales	115
2.	Suspicion d'influenza aviaire	116
3.	Confirmation d'un foyer d'infection	117
C.	Quels risques ?	118
1.	En cas de découverte de plusieurs oiseaux morts ?.....	118

2. Après consommation de volailles et d'œufs ?.....	119
V. CONCLUSION.....	121
BIBLIOGRAPHIE	122
WEBOGRAPHIE.....	144
TABLE DES FIGURES.....	150
TABLE DES TABLEAUX	151

I. INTRODUCTION

Depuis 2003, l'influenza aviaire hautement pathogène (IAHP) est devenue un sujet d'inquiétude pour les institutions sanitaires mondiales. Appelée communément « grippe aviaire », « grippe du poulet » ou encore « peste aviaire », cette infection est due au virus grippal de type A et de sous-type H5N1.

Durant ces dernières années, l'IAHP a connu un véritable tapage médiatique ; les livres, les publications scientifiques et les sites Internet se sont multipliés face à l'inquiétude suscitée par la propagation du virus.

Le monde a encore en tête la grippe espagnole en 1918 qui a provoqué la mort de plusieurs millions de personnes à travers le monde. Depuis, des moyens de lutte contre cette maladie mortelle qu'est la grippe ont été développés.

La première partie de ce travail propose de mieux comprendre l'origine des inquiétudes qu'ont provoqué les différentes épidémies liées au virus A(H5N1) en revisitant l'histoire des pestes aviaires et des pandémies de grippe ainsi que la vie du virus. L'IAHP est une zoonose, c'est-à-dire une maladie transmissible de l'animal à l'homme. Il est donc apparu important de relater les conséquences de cette maladie non seulement chez l'oiseau, réservoir naturel des virus grippaux mais également chez l'homme.

La deuxième partie fait état de l'épizootie d'influenza aviaire hautement pathogène à H5N1 en France et en Europe, notamment dans les pays limitrophes de la métropole.

La troisième partie met en avant les différents moyens mis en place dans le monde et surtout en France pour empêcher la propagation du virus H5N1 et le passage à la pandémie. Ceci permettra de faire également le point sur l'évolution géographique du virus H5N1.

La dernière partie est consacrée au rôle inhérent aux professionnels de santé dont le pharmacien et aux conseils susceptibles d’être apportés en période de crise.

II. RENCONTRE AVEC LE VIRUS GRIPPAL A (H5N1)

A. Historique

1. Histoire des pestes aviaires

L'histoire des pestes aviaires est relativement peu connue. En effet, jusqu'au XX^{ème} siècle, les volailles, ayant peu de valeur en comparaison aux autres animaux domestiques, intéressaient peu. De plus, les descriptions cliniques étaient difficiles, la peste aviaire se distinguant peu des autres maladies aviaires.

Les épisodes de peste aviaire peuvent aussi bien se rapporter à la vraie peste aviaire qu'à la pseudo peste aviaire (appelée aujourd'hui maladie de Newcastle), à la variole ou au choléra aviaire.

Dans l'Antiquité déjà, des mortalités concomitantes du bétail, de l'homme et des oiseaux sont décrites. Plus tard, en 1614, on rapporte une épidémie mortelle chez les hommes en Bohême, contemporaine d'une épizootie chez les poules qui « se réunissaient à 6 ou 7, mettaient les têtes ensemble, tombaient à terre et mourraient » ^{1, 2}. En 1714, les pigeons de Paris sont atteints de « petite vérole » et on ordonne leur abattage général « parce qu'on croyait qu'ils transportaient le virus chez les hommes et les brebis » ^{1,2}. 60 ans plus tard, en 1774, selon la Gazette de la Santé de février, 600 oies seraient mortes aux bords de la Meurthe en Lorraine, après avoir présenté des symptômes de diarrhée et des vertiges. En 1789, il sévit une épizootie grave chez les poules en Italie du Nord ^{1,2}. Les symptômes décrits sont ceux d'une maladie infectieuse, les lésions affectant les appareils respiratoire et intestinal. En 1948, la France

connaît très probablement des cas de peste aviaire chez des poules, des dindons et des canards.

En ce qui concerne les oiseaux sauvages, les chroniqueurs pensaient que toute mortalité était le résultat d'une bataille rangée entre eux. Les dates de ces batailles ont été répertoriées par Fleming ³. On notera notamment celle de 1366. Il s'agit d'une bataille entre moineaux anglais, suivie d'une épidémie humaine : « cette année, survint aussi une grande querelle entre moineaux, qui tourna en une bataille rangée au cours de laquelle d'innombrables combattants perdirent la vie. Il s'ensuivit une importante mortalité chez les êtres humains, dont beaucoup furent trouvés morts le matin, alors qu'ils s'étaient couchés en bonne santé la veille ».

2. La découverte de l'agent causal

Il faut attendre la fin du XIX^{ème} siècle pour que la vraie peste aviaire soit enfin caractérisée. La découverte de l'agent responsable s'est principalement déroulée en Italie. Depuis les premières découvertes de Louis Pasteur, tous les chercheurs européens sont sur les starting-blocks pour l'isolement des microbes pathogènes de l'homme et des animaux, dont ceux des maladies aviaires.

Dès 1880, Rivolta et Delprato rapportèrent qu'il existait une maladie dont les caractères cliniques étaient différents de ceux du choléra ⁴. En 1901, Centanni et son élève Savonuzzi démontrèrent que cette maladie était due à un agent filtrable : un virus. Ils écrivirent alors : « cette maladie n'est ni le choléra des poules, ni une infection due à un virus décelable par les méthodes actuelles ». La plus importante des particularités de ce virus est son aptitude à traverser les filtres en terre poreuse et l'impossibilité de le cultiver en milieux artificiels, ce qui le distingue d'une bactérie. Ils baptisèrent cette maladie « peste aviara » ⁴.

En 1926, à l'occasion d'une épizootie observée aux Indes néerlandaises puis en Angleterre à Newcastle, la maladie de Newcastle ou « pseudo peste aviaire » est décrite pour la première fois et reconnue comme épidémiologiquement différente de la peste aviaire ⁴. Mais il faut attendre 1955 pour que les deux virus soient différenciés : le virus de la peste aviaire est classé dans la famille des Orthomyxoviridae (genre **Influenza**, type A) alors que le virus de la maladie de Newcastle est classé dans la famille des Paramyxoviridae (genre **Rubulavirus**).

A partir de 1959, il est plus aisé pour les services vétérinaires officiels de rapporter les épizooties de pestes aviaires et de distinguer d'une part les épisodes d'influenza aviaire hautement pathogène et d'autre part ceux de la maladie de Newcastle. Depuis cette date, on compte officiellement plus de 25 épisodes d'influenza aviaire hautement pathogène (à virus H5 ou H7) avec entre autres ⁵ :

- 1997 à Hong Kong avec le premier cas humain lié à une contamination par les oiseaux
- 1997 et 1999 en Italie
- 2003 aux Pays-Bas où sont abattus 32 millions de volailles
- 2004 en Asie du Sud-Est.

3. L'histoire des pandémies grippales

Une pandémie grippale est une épidémie caractérisée par sa diffusion rapide et géographiquement très étendue (plusieurs continents ou monde), à l'occasion de l'apparition d'un nouveau sous-type de virus résultant d'une modification génétique.

La grippe en tant que pathologie humaine est connue depuis l'Antiquité. En effet, déjà 500 ans avant Jésus-Christ, Hippocrate évoquait des épidémies d'allure grippale. On décrit

également des épidémies de maladies respiratoires pendant le Moyen Age où elle reçut le nom d'influenza (di freddo) ^{6,7}.

En 1918 sévit la plus sévère et la plus meurtrière épidémie de grippe de l'Histoire : c'est la grippe espagnole qui a causé entre 20 et 40 millions de victimes dans le monde dont 120000 en France et 250000 aux Etats-Unis. D'après les études, le virus H1N1 responsable serait apparenté à un virus aviaire qui a développé un potentiel pathogène et s'est adapté à l'homme. La pandémie se déroula en trois phases : la première, bénigne, au printemps 1918, la deuxième en septembre - novembre qui fut la plus terrible et la dernière en février/mars 1919⁶.

L'espérance de vie fut réduite de 10 ans, le taux de létalité était de 2,5% au lieu de 0,1% habituellement. Les formes cliniques furent fulminantes chez le jeune adulte (20 fois la fréquence habituelle). On retrouva fréquemment comme séquelles des maladies de Parkinson, des encéphalites de Von Economo ⁶.

On constata par ailleurs que les sujets plus âgés étaient moins sévèrement atteints et on peut penser qu'ils bénéficiaient de l'immunité acquise contre d'autres virus de type A datant entre autres, de la pandémie de 1889-90 ⁶.

En 1931, les travaux de l'Américain Shope aboutirent au premier isolement de virus grippal, d'origine porcine. Quelques années plus tard en 1933, trois Britanniques Smith, Andrewes et Laidlaw isolèrent le premier virus de la grippe humaine ⁶.

Depuis se sont succédées plusieurs pandémies et alertes grippales recensées dans le tableau 1 ci-dessous :

- en 1947, la grippe italienne due à un virus H1N1 légèrement différent du virus isolé en 1933 en Angleterre ;

- la grippe asiatique en 1957 due au virus H2N2 d'abord à Hong-Kong. Il s'est ensuite propagé vers le Japon et l'Asie du Sud-est en mai ; en juin, on le retrouvait aux Etats-Unis. Puis il gagnait l'Europe ;
- en 1968, le virus H3N2 est celui de la grippe de Hong-Kong. Sa diffusion est quasiment identique à celle du virus H2N2 en 1957.

Il a été alors émis l'hypothèse selon laquelle il y aurait des cycles réguliers espacés l'un de l'autre d'environ dix ans. Mais cela a été démenti par de fausses pandémies en 1976 et 1977.

Pourtant en 1997, une menace sérieuse de pandémie est réapparue lorsque dix-huit cas de grippe sont survenus à Hong-Kong liés au virus H5N1 qui n'avait jamais été rencontré dans des cas humains ⁶.

Tableau 1 : Principales pandémies grippales du XX^{ème} siècle et alertes suite à l'identification de nouveaux variants grippaux chez l'Homme ⁵.

Pandémies grippales :

1900 : H3N8

1918 : H1N1 (grippe espagnole) → 20 millions de morts

1947 : H1N1 (grippe italienne)

1957 : H2N2 (grippe asiatique)

1968 : H3N2 (grippe de Hong Kong)

1977 : H1N1 (échappée probablement d'un laboratoire)

Alertes :

1984 : H5N2 – USA (grippe aviaire)

1997 : H5N1 – Hong Kong : 6 morts / 18 cas (virus aviaire)

1999 : H9N2 – Hong Kong : 1 mort / 2 cas (virus aviaire)
1999 : H7N1 – Italie (virus aviaire)
2000 : H6N1 – Hong Kong (grippe aviaire)
2003 : H7N7 – Pays-Bas et Belgique (virus aviaire)
2004 : H5N1 – Asie du Sud-Est : 23 morts / 31 cas (virus aviaire)

4. L'histoire du virus H5N1

La détection du virus H5N1 a été faite la première fois sur des oies en Chine en 1996, mais la souche a été isolée en 1959 en Ecosse. Les premiers cas humains sont apparus en 1997 à Hong-Kong. Dix-huit personnes sont infectées, il y aura six décès. Mais la maladie est contenue après l'extermination des poulets contaminés ⁶.

En 2004, le virus H5N1 émerge de nouveau au Viêt-Nam et en Thaïlande avant de se propager vers d'autres pays de l'Asie du Sud-Est tels que l'Indonésie, la Chine, le Japon, la Corée du Sud. Une autre émergence du virus est confirmée en janvier 2005 au Viêt-Nam où 1,2 millions d'oiseaux sont abattus.

En août de la même année, c'est au Kazakhstan et en Mongolie que l'on retrouve le virus. Le même mois, il fait sa première apparition européenne en Russie. Suivront la Roumanie, la Turquie.

La France sera touchée en février 2006 dans le département de l'Ain. Actuellement, le virus est présent dans les élevages anglais.

Aujourd'hui encore, le virus H5N1 est très présent, ayant causé la mort de cinq cygnes en Moselle (France) pendant l'été 2007.

B. Présentation du virus de la peste aviaire

1. Taxonomie

Le virus de l'Influenza aviaire appartient à la famille des Orthomyxoviridae. Ce nom vient du grec : **Ortho** = « droit, correct » et **Myxo** = « mucus »⁸.

Cette famille se divise en deux genres : les **Influenzavirus** et les **Thogotovirus**⁷.

Le genre **Influenzavirus** se distingue en trois types A, B et C. Cette classification repose sur la nature antigénique de la nucléocapside, tous les virus appartenant à un même type possédant la même nucléoprotéine⁷.

Le virus de type A infecte naturellement l'homme ainsi que plusieurs autres espèces de mammifères et une grande variété d'animaux⁸. Seul ce type évolue sous forme de pandémie⁵.

Le virus de type B semble n'infecter naturellement que l'homme et cause quelques épidémies de temps en temps⁸. Le virus de type C est pathogène pour l'homme mais il n'a été signalé qu'en Chine, le porc pouvait être contaminé par des souches semblables.

Les virus de type A sont classés en sous-types en fonction de leurs antigènes de surface : l'hémagglutinine (H ou HA) et la neuraminidase (N ou NA). Actuellement, il existe seize hémagglutinines et neuf neuraminidases recensées chez les oiseaux d'où un grand nombre de sous-types d'**Influenzavirus** A (ces sous-types possibles sont au nombre de $16 \times 9 = 144$). C'est ce qu'on appelle le polymorphisme⁵.

Les virus **Influenza** sont désignés selon une nomenclature officielle proposée par le Comité d'experts de l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS). Leur dénomination comporte :

- le type antigénique A, B ou C,
- l'espèce animale dont le virus a été isolé,
- la localisation géographique de l'isolement (pays ou ville),
- un numéro de référence ou un nom,
- l'année d'isolement,
- pour les virus **Influenza** type A, l'identification des sous-types H et N ⁹.

On peut citer comme exemple : A/Dinde/Angleterre/199/79 (H7N7) est un virus de type A, isolé en 1979 chez la dinde en Angleterre. Il a été référencé sous le numéro 199 et est de sous-type H7N7 ⁹.

Les **Thogotovirus** ou virus de type D sont génétiquement et structuralement proches des virus grippaux. On trouve parmi eux le virus **Thogoto** et le virus **Dhori**. Ils sont transmis par les tiques et peuvent infecter occasionnellement l'homme ^{7,8}.

2. Structure

Les virus **Influenza** de type A (figure 1) sont des virus enveloppés de 80 à 120 nm de diamètre, de forme généralement sphérique et plus rarement filamenteuse ⁷.

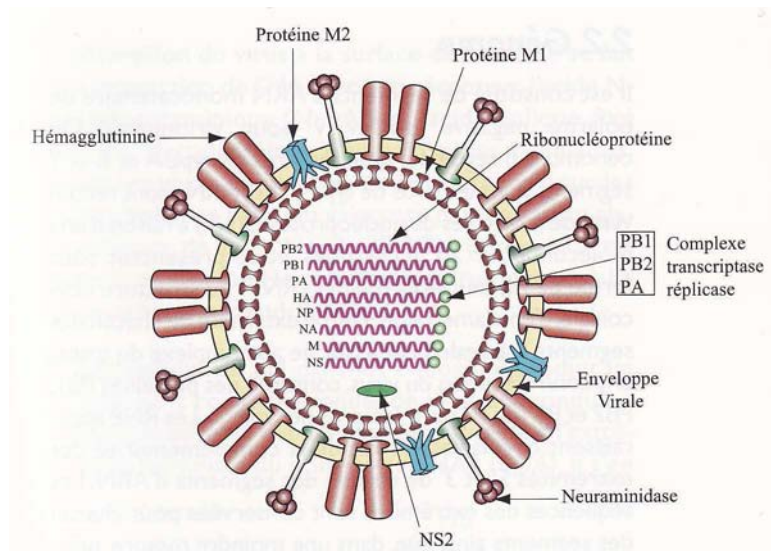


Figure 1 : Schéma de la structure des virus grippaux de type A ^{7,10}.

a) L'enveloppe virale

Elle dérive de la membrane plasmique de la cellule infectée et porte des spicules visibles en microscopie électronique, formées par des glycoprotéines virales membranaires ¹¹.

Deux types de glycoprotéines sont présents à la surface des virus de type A : ce sont l'hémagglutinine et la neuraminidase ¹¹.

Comme dit précédemment, il existe seize sous-types d'hémagglutinine, numérotés de H1 à H16. Le dernier, H16, a été découvert récemment sur les virus de grippe A, isolés sur des goélands de Suède et de Norvège par Fouchier en 2005 ¹¹.

L'hémagglutinine est la protéine de surface la plus représentée : on en dénombre 300 à 500 par particule virale. Les molécules d'hémagglutinine sont constituées de deux chaînes polypeptidiques HA1 et HA2 liées par un pont disulfure. Ces molécules sont associées en

trimères. Ainsi elles présentent d'une part un domaine globulaire (HA1) qui sert à l'attachement au récepteur et d'autre part une région (HA2) qui assure l'ancrage de l'HA dans l'enveloppe virale ⁷ et la libération du contenu du virus dans la cellule. L'hémagglutinine a deux fonctions principales :

- la reconnaissance des cellules vertébrées cibles, c'est-à-dire les cellules de l'épithélium cilié de l'arbre respiratoire, lors de la fixation aux récepteurs de ces cellules contenant de l'acide sialique,
- la fusion des membranes hôtes et virales ⁶.

C'est une protéine très variable qui présente plusieurs sites antigéniques distincts (A, B, C, D, E) situés sur HA1 qui va se fixer sur la cellule attaquée par le virus ¹².

L'hémagglutinine constitue également un déterminant moléculaire de la spécificité d'espèce. Comme dit précédemment, elle se lie sur des récepteurs cellulaires sialyloligosaccharidiques. L'extrémité distale de chaque sous-unité de l'HA se fixe à l'acide sialique lié à une molécule de galactose.

Les virus de type A sont capables de reconnaître deux types d'acide sialique : l'acide N-acétylneuraminique (NeuAc) et l'acide N-glycolneuraminique (NeuGc), qui s'attachent à une molécule de galactose voisine par deux types de liaison α 2-3 ou α 2-6. Chez l'homme, les organes cibles contiennent majoritairement des variétés NeuAc, à la différence des oiseaux (et des porcs) où l'on trouve des acides sialiques de type NeuGc. L'adaptation d'un virus à une nouvelle variété d'acide sialique nécessitera son échappement aux inhibiteurs sériques (sialylprotéines, lectines liant le mannose) et ce, par des mutations au niveau du site de fixation à l'acide sialique de l'HA ¹³.

Quel que soit le type d'HA, les virus aviaires montrent une plus grande affinité pour les oligosaccharides sialylés à leur extrémité terminale avec des acides sialiques liés au galactose

par une liaison $\alpha 2-3$ ^{14, 15}. Les récepteurs de type $\alpha 2-6$ sont majoritaires au niveau des cellules épithéliales respiratoires humaines. Les études du tropisme cellulaire des virus influenza humains démontrent que l'infection des cellules épithéliales respiratoires non ciliées (possédant majoritairement des récepteurs de type $\alpha 2-6$) est indispensable à une réplication et une transmission efficaces du virus. Les cellules ciliées de l'épithélium respiratoire humain possèdent, quant à elles, des récepteurs de type $\alpha 2-3$ qui seraient les cibles des virus aviaires dans les cas où ils infectent l'homme ¹⁶.

La nature des acides aminés en position 226 et 228 du site de fixation de l'HA au récepteur cellulaire intervient aussi dans la capacité de réplication du virus de type A. La présence de glutamine en position 226 est associée à la spécificité des virus aviaires pour le récepteur de type $\alpha 2-3$; cette glutamine y est associée à la glycine en position 228. Les virus humains possèdent tous la leucine en position 226 et la sérine en position 228 ¹⁷. Il est démontré qu'une simple substitution au niveau d'un acide aminé en position 205, 226 ou 227 de l'HA virale suffit à modifier sa spécificité de fixation à l'un des deux types de récepteurs ^{18, 19, 20}.

La neuraminidase est une glycoprotéine enzymatique. Il en existe neuf sous-types numérotés de N1 à N9. Elle fait partie de la famille des glycosilases et de la sous-famille des glycosidases (= enzymes hydrolysant les composés O- et S-glycoyl) qui comprend également aussi les amylases, enzymes humaines digestives. Les molécules de NA se présentent sous forme de tétramère et adoptent une structure en champignon dont la partie globulaire possède une activité sialidase. En effet, la neuraminidase scinde les liaisons de résidus d'acide sialique entre l'hémagglutinine et l'acide sialique et permet ainsi la libération des nouveaux virions. Elle évite par son action l'agglutination des virus libérés et facilite leur passage à travers le mucus très riche en acide sialique, présent au niveau de l'épithélium respiratoire. Par contre, elle est inefficace sur les cellules à membranes lipidiques faiblement glucosées (comme les

cellules de la peau et des muqueuses intestinales). Elle est la cible des antineuraminidases avec en chef de file, l'oseltamivir (Tamiflu®).

L'enveloppe virale comporte également en quantité plus faible une protéine intégrée dans la membrane : la protéine M2⁷. Elle fonctionne comme un canal ionique et régule le pH par le transport des protons H^+ dans les vésicules. Elle permet ainsi la libération des ribonucléoprotéines dans le cytoplasme de la cellule hôte.

Il existe par ailleurs une protéine de matrice ou de membrane appelée protéine M1. C'est la protéine la plus abondante du virion. Elle tapisse la face interne de l'enveloppe virale et interagit avec les glycoprotéines virales d'une part et les ribonucléoprotéines d'une autre⁷. Elle intervient dans la maturation et le bourgeonnement des virions. Lorsque au cours des cycles infectieux abortifs, elle n'est pas synthétisée, on n'observe pas d'assemblage de la particule virale²¹.

b) Le génome

Le génome du virus H5N1 est constitué de huit segments d'ARN monocaténaire de polarité négative (tableau 2). Cet ARN porte le nom d'ARN virionique soit ARN_v⁷.

Ces segments sont protégés par une protéine NP (NP = nucléoprotéine), à raison d'une molécule NP pour 20 nucléotides. En se polymérisant, cette protéine confère une symétrie

hélicoïdale à chacun des segments. Ils sont de longueur variable et codent pour une protéine (pour six d'entre eux) et pour deux protéines (pour les deux autres) ⁷.

Tableau 2 : Les dix protéines codées par le génome viral et leurs fonctions ^{6, 7, 22}

Segment	Longueur (nt)	Polypeptide	Fonctions principales
1	2341	PB2	Fixation de la coiffe
2	2341	PB1 & PB2-F2	ARN polymérase ARN dépendante
3	2233	PA	Inconnue
4	1778	HA	Fixation au récepteur et fusion membranaire
5	1565	NP	Nucléoprotéine
6	1413	NA	Relargage et dissémination du virus
7	1027	M1 & M2	Export des ribonucléoprotéines – assemblage M2 : canal à protons
8	890	NS1 & NS2	Régulation de l'expression des gènes viraux NS2 : export nucléaire des RNPs

Les segments d'ARN et les molécules de protéine NP forment ensemble des ribonucléoprotéines RNP.

Les ribonucléoprotéines sont associées au complexe de transcription/réplication du virus, appelé aussi complexe polymérase. Ce complexe est formé de trois polymérases : PA (Protéine Acide), PB1 et PB2 (Protéine Basique 1 et 2).

3. La réplication

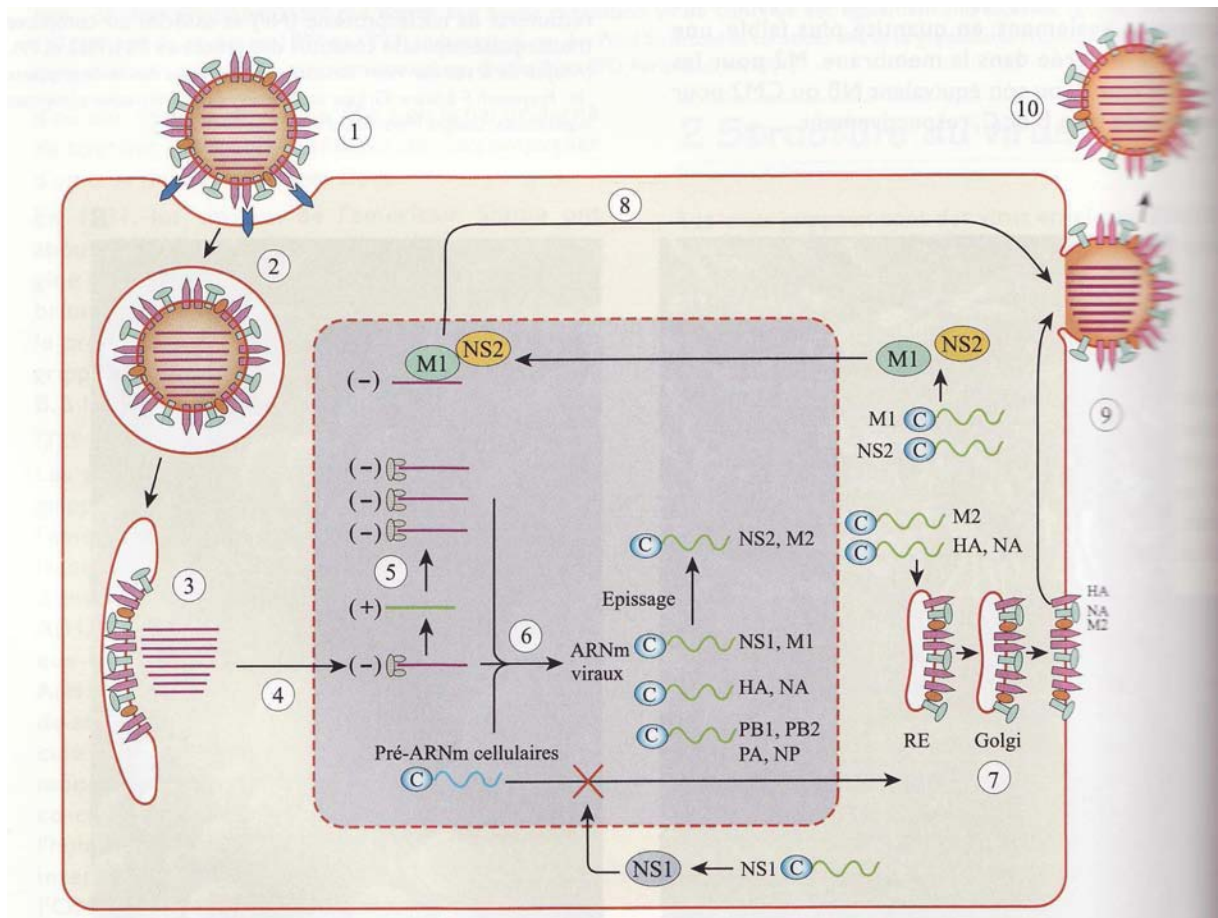


Figure 2 : Cycle de réplication du virus grippal ^{7,23}

Le cycle de réplication du virus H5N1 se déroule en dix étapes ⁷ (figure 2) :

1. La fixation du virus à la surface de la cellule se fait par interaction de l'hémagglutinine avec son récepteur situé sur la membrane cellulaire. Ce récepteur contient de l'acide N-acétylneuraminique (NeuAc) ou acide sialique.
2. La pénétration se fait par endocytose : il se forme alors des vésicules endosomales contenant le virus.

3. La diminution du pH dans les vésicules provoque un changement de conformation de l'hémagglutinine. Il s'ensuit la fusion entre la membrane virale et la membrane endosomale et donc libération du génome dans la cellule hôte.
4. Par ailleurs, cette diminution de pH active la protéine M2, une protéine tétramérique qui constitue un canal à protons. Il permet l'acidification du contenu de la particule virale et la dissociation de la protéine M1 des ribonucléoprotéines. Celles-ci migrent vers le noyau où auront lieu la réplication et la transcription.
5. La réplication consiste en la synthèse de molécules d'ARN complémentaires dits ARNc, qui vont servir à leur tour de matrice pour la synthèse d'ARNv. Ils sont encapsidés avec la nucléoprotéine.
6. Parallèlement, s'effectue la transcription, c'est-à-dire la synthèse d'ARNm à partir de l'ARNv. Ici, comme dans la réplication, vont intervenir les protéines du complexe polymérase ainsi que la NP. La protéine PB1 se lie aux extrémités de l'ARN viral, ce qui induit la fixation de PB2 à la coiffe d'un ARN cellulaire. Par son activité endonucléase, PB1 clive la coiffe au niveau d'une purine à environ 10 à 13 nucléotides de l'extrémité de l'ARN cellulaire. Le segment d'ARN coiffé ainsi clivé sert d'amorce à la synthèse de l'ARNm viral. Celle-ci est assurée par l'action polymérase ARN-dépendante de PB1.
7. Les ribonucléoprotéines nouvellement formées passent dans le cytoplasme. Dans le cytoplasme a lieu la synthèse des protéines d'enveloppe, à savoir l'hémagglutinine, la neuraminidase et la protéine M2. Elles sont synthétisées au niveau du réticulum endoplasmique avant de transiter par

l'appareil de Golgi, puis après avoir subi plusieurs modifications post-traductionnelles (clivage, glycosylations...) avant d'être incorporées dans la membrane de la cellule hôte.

8. L'ARN viral néoformé est exporté vers le cytoplasme, ce passage étant favorisé par les protéines NS2 et M1.
9. Les ribonucléoprotéines et les protéines d'enveloppe s'assemblent, les nouvelles particules virales bourgeonnent. Il semblerait que la protéine M1 intervienne dans cette étape.
10. La neuraminidase intervient grâce à son activité sialidase et permet la libération des virions néoformés.

4. Caractères physico-chimiques du virus

Les virus grippaux peuvent résister plusieurs semaines dans l'eau à basse température, ce qui pourrait contribuer à leur circulation au sein de la population des oiseaux aquatiques. Le virus H5N1 est inactivé par :

- la température : à 56°C pendant 3 heures ou à 60°C pendant 30 minutes ²⁴
- un pH acide
- des agents chimiques tels que les agents oxydants, les solvants des lipides, la β -propiolactone, le dodécylsulfate de sodium, le formol, les composés iodés, les détergents (anioniques, cationiques ou neutres ⁸), les savons, les chlorures et leurs dérivés, les acides, les alcalins, les alcools... Ils vont faire office de désinfectants ²⁴
- les rayons UV, gamma ⁸.

5. Virulence du virus H5N1

La virulence est la capacité pour un microorganisme de pénétrer dans un organisme hôte, de s'y multiplier, avec pour conséquence le développement d'une maladie. Elle dépend de l'interaction entre le virus et ses composants, avec un type de cellule, un tissu spécifique ou un organisme entier, cette association lui permettant de se répliquer et de se disséminer au sein de l'organisme hôte. Le passage des virus A de l'avifaune sauvage (hôtes naturels des virus influenza A) à la volaille industrielle s'accompagne du développement d'une virulence chez les nouveaux hôtes. Un certain nombre de déterminants moléculaires de la virulence a été identifié :

- le rôle des glycoprotéines HA et NA

La fusion du virus avec la membrane endosomale cellulaire nécessite que l'HA soit activée. Celle-ci est synthétisée sous la forme d'un polyprécurseur HA0 d'environ 550 acides aminés. Elle possède un peptide signal hydrophobe de 16 acides aminés, qui permet à la protéine de transiter par le réticulum endoplasmique et l'appareil de Golgi, où elle subit des modifications post-traductionnelles. HA0 est ensuite clivé par des protéases de type furine (dans le cas d'un virus hautement pathogène tel que H5N1) présentes dans l'épithélium respiratoire mais aussi dans un grand nombre de cellules de l'organisme, au niveau d'un domaine particulier dit le site de clivage. Ce sont des acides aminés basiques^{25, 26, 27}. Il en résulte deux sous unités HA1 et HA2 reliées par un pont disulfure. Ce clivage est indispensable pour que le virus soit infectieux¹⁴. D'ailleurs, l'importance de ces acides basiques a été démontrée en inoculant des virus H5N1 recombinants ne possédant pas ces acides aminés basiques chez des souris. Ces virus n'étaient pas virulents²⁸. L'hémagglutinine des souches avirulentes ou peu pathogènes

ne contient qu'un seul acide aminé basique (arginine) au niveau du site de clivage qui n'est reconnu que par des enzymes cellulaires de type trypsine présentes dans les tractus respiratoire et digestif. Ceci explique les symptômes limités de l'infection par ce type de virus¹⁴.

La neuraminidase semble jouer un rôle important dans l'activation de l'HA. Par exemple, la présence d'un site de glycosylation supplémentaire au niveau de la structure globulaire de NA du virus H5N1 augmente sa virulence chez le poulet, peut-être par une augmentation de l'activation des protéases de la cellule hôte²⁹. On pense qu'un équilibre est nécessaire entre les activités de l'HA et de la NA : la force de fixation de l'HA sur la cellule hôte au début de l'infection doit être adaptée à l'efficacité de la NA dans la libération des nouveaux virions de la surface cellulaire³⁰.

- le rôle des polymérases virales

Les protéines du complexe polymérase sont impliquées dans la virulence du virus H5N1. Les études menées sur les souches virulentes et avirulentes humaines isolées pendant l'épidémie de Hong Kong en 1997, démontrent que le pouvoir pathogène des deux souches est déterminé par l'acide aminé en position 627 de la protéine PB2. La présence de la lysine à la place de la glutamine augmente la capacité répliquative de virus chez la souris³¹.

- le rôle de la protéine NS1

On note comme exemple l'infection du porc par un virus recombinant H1N1 porteur du gène NS de la souche A/Hong Kong/156/97 (H5N1) qui est responsable d'une virémie plus importante et durable que l'infection par le virus sauvage H1N1. La virulence du virus réassorti requiert l'existence d'un acide glutamique en position 92 de la protéine NS1³². De même que l'infection de macrophages dérivés de monocytes par deux souches A/Hong

Kong/97 (H5N1)isolées chez l'homme induit une production de cytokines proinflammatoires en comparaison à d'autres virus influenza A de type H1 ou H3. Un taux élevé de cytokines circulantes contribuerait au pouvoir pathogène du virus H5N1 ³³.

- le pouvoir apoptotique des virus influenza A

Les virus influenza A ont la capacité de déclencher la mort programmée de cellules en culture. L'apoptose se caractérise par la désintégration du cytosquelette et la fragmentation de l'ADN cellulaire.

Trois protéines virales seraient impliquées dans ce mécanisme. La NA joue un rôle initiateur du processus par l'activation d'un facteur de croissance, l'absence de la protéine NS1A augmente l'activité apoptotique d'un virus recombinant ; tout ceci provoquant l'augmentation importante de cytokines circulantes ³⁴. Le gène PB1 code pour une troisième protéine de 87 acides aminés qui augmente spécifiquement l'apoptose des monocytes ³⁵.

6. Variabilité génétique du virus

Les virus grippaux présentent une grande labilité génétique, ce qui permet aux virus d'échapper à la réponse immunitaire de l'hôte face à l'agression ⁶.

Ces mutations concernent les glycoprotéines de surface à savoir l'hémagglutinine et la neuraminidase, cibles des anticorps neutralisants.

Elles sont de deux types : les variations mineures (ou dérive génétique) et les variations majeures (ou réassortiment génétique) ^{6,36,37}.

**a) Les variations mineures : les glissements
antigéniques**

Ce sont des mutations ponctuelles et progressives, qui affectent un site antigénique et s'accumulent dans le temps. Elles sont favorisées par l'instabilité génétique de l'ARN (par opposition à l'ADN). On les appelle aussi dérives génétiques.

C'est un phénomène constant, dû à l'ARN polymérase ARN dépendante qui commet des erreurs lors de la synthèse. Par ailleurs, cette enzyme est dépourvue d'activité d'édition et de correction, ce qui fait que les erreurs commises lors de la synthèse restent intégrées au génome du nouveau virus ⁶.

Les mutations peuvent être silencieuses si elles ne modifient pas la nature et la fonction de l'acide aminé correspondant.

Mais elles peuvent aussi s'exprimer de manière favorable ou défavorable au niveau de la séquence du polypeptide correspondant. Favorable si elles affectent un site antigénique de façon à échapper à l'immunité humorale antigrippale ; défavorable si elles modifient un site essentiel.

Lorsqu'une mutation aboutit à la modification d'un site antigénique, on parle de glissement antigénique. La capacité du virus à se fixer aux cellules hôtes progresse au fil des infections successives. De ce fait, il existe une moindre reconnaissance du virus par le système immunitaire de l'organisme.

Ce phénomène concourt à l'émergence progressive et continue de nouvelles lignées de virus de type A et explique la nécessité de réactualiser annuellement la composition du vaccin

antigrippal. La décision est prise au mois de février de la nouvelle année, pour l'hémisphère Nord par l'Organisation Mondiale de la Santé ⁶.

b) Les variations majeures : les cassures antigéniques

Elles sont plus brutales. Elles surviennent chez les virus grippaux humains et animaux. Elles portent soit sur les deux antigènes d'enveloppe HA et NA, soit sur un seul antigène HA.

On invoque trois mécanismes ²¹ pour expliquer ces variations :

- la mutation de souches de virus influenza A humains préexistantes : mais cette hypothèse est peu probable
- la transmission directe de sources animales
- le réassortissement génétique entre souches humaines et souches animales. Cela correspond à des réassortiments génétiques lors de co-infections : c'est l'encapsidation d'un mélange de segments d'ARN issus de l'un et l'autre de deux virus parentaux, par exemple un virus aviaire et un virus humain, générant ainsi un nouveau virus. Ceci est rendu possible par le caractère segmenté du génome ⁶.

Même s'ils sont capables d'infecter directement l'homme, il est difficile pour les virus aviaires de se répliquer efficacement et de se transmettre d'un individu à l'autre. Le déterminisme d'adaptation à l'hôte fait intervenir plusieurs gènes et notamment les gènes internes (ceux qui codent pour la nucléoprotéine et pour les protéines du complexe polymérase).

Le porc constituerait un hôte intermédiaire possible dans le processus de réassortiment. En effet, lors d'une co-infection d'un porc par un virus humain et un virus aviaire, il peut se former une particule virale hybride. Il semble cependant que toutes les combinaisons des huit segments ne soient pas toutes possibles. Le virus hybride peut emprunter les gènes internes servant à l'adaptation au virus humain et les gènes HA et NA au virus aviaire. Le virus peut alors se répliquer efficacement chez son hôte, l'homme qui ne possède pas de défense spécifique puisque les antigènes de surface lui sont inconnus. C'est un nouveau virus capable de provoquer une pandémie ⁶.

Ce mécanisme serait à l'origine des deux dernières pandémies grippales et de la grippe de Hong-Kong en 1968 ⁶ (figure 3).

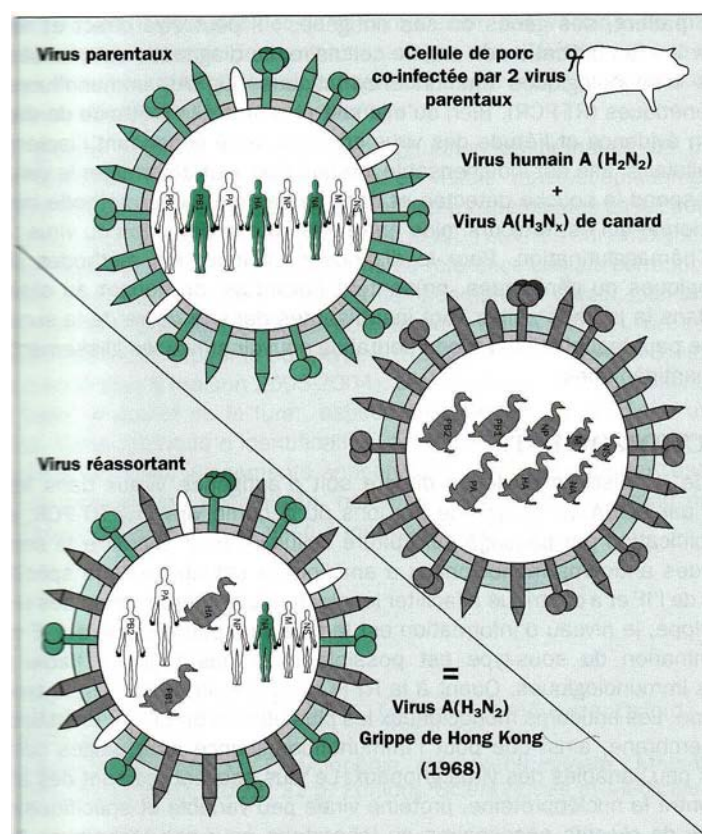


Figure 3 : Scénario d'un mécanisme du réassortiment génétique des virus grippaux et genèse de nouveaux sous-types de virus de type A ⁶

Ces phénomènes expliquent pourquoi il est important de développer des moyens de lutte contre la grippe et de surveillance mondiale des virus en circulation dans la population humaine mais également dans les espèces animales susceptibles de transmettre de nouveaux virus à l'homme.

C. Epidémiologie

1. Réservoir du virus H5N1

Les oiseaux sauvages et notamment aquatiques (canards, oies, cygnes...) sont aujourd'hui considérés comme étant le réservoir naturel des virus influenza aviaires^{38,39}. Il est également prouvé qu'ils sont le réservoir de la diversité génétique à partir duquel de nouveaux sous-types viraux peuvent être introduits chez de nouvelles espèces⁷. En effet, on y trouve l'ensemble des espèces d'hémagglutinine et de neuraminidase connues⁷, même si toutes les combinaisons possibles n'ont pu être isolées (figure 4).

La plupart de ces virus sont adaptés à leur hôte naturel et cause rarement d'infection au sein des populations aviaires sauvages. Cependant, on pense que ces oiseaux peuvent introduire dans les élevages de volailles des virus H5 faiblement pathogènes qu'une mutation rendrait ensuite hautement pathogènes.

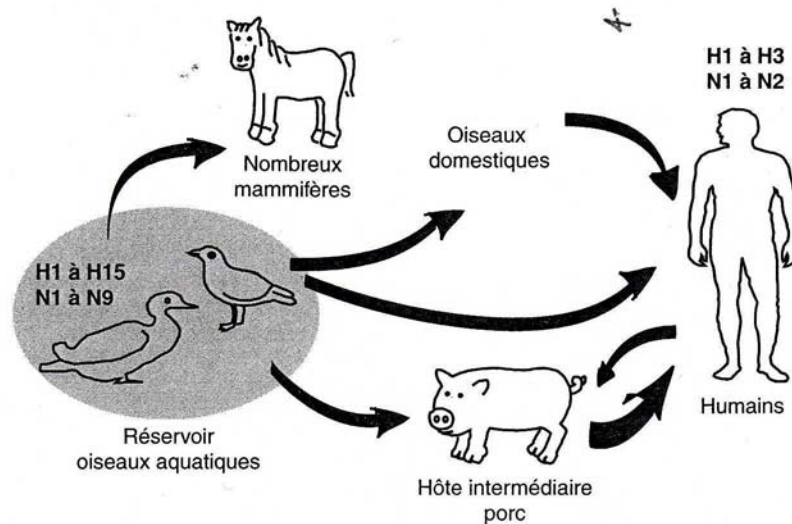


Figure 4 : Réservoir de l'*Influenzavirus A* ⁵

Les oiseaux sont le réservoir naturel des virus grippaux de type A dont le H5N1. De là, le virus peut se transmettre soit directement à l'homme ; soit par le biais d'un intermédiaire tel que les oiseaux domestiques, le porc ou d'autres mammifères.

Concernant l'homme, celui-ci ne connaît qu'un nombre limité de sous-types viraux ¹⁴.

Seulement trois sous-types de HA (H1, H2, H3) et deux sous-types de NA (N1 et N2) ont été identifiés à ce jour chez l'homme. Les mammifères tels que le porc ou le cheval sont en fait des hôtes accidentels de même que les oiseaux d'élevage.

l'Ain), en Allemagne, en Pologne ou encore au Royaume-Uni. Le virus H5N1 s'est répandu partout dans le monde excepté en Amérique et en Océanie.

Les souches du virus de la peste aviaire sont isolées principalement chez les poulets et les dindons. Elles appartiennent aux sous-types H5 et H7 de l'hémagglutinine ³⁹.

En 1997, le virus H5N1 est mis en cause lors de l'épidémie de Hong Kong. Vers la fin de l'année 2003, la république de Corée confirme l'existence d'une épidémie due à une souche hautement pathogène A(H5N1) dans un élevage de poulets. L'épizootie s'étendra en 2004 et atteindra le Vietman, le Japon, la Thaïlande, le Cambodge, le Laos, l'Indonésie et la Chine. En 2005, le virus H5N1 arrive en Europe : Grèce, Italie, Slovénie, Autriche, Allemagne, Suisse. Les flux migratoires des oiseaux sauvages sont mis en cause.

Le 20 février 2006, la France déclare un premier cas d'influenza aviaire A(H5N1) chez un canard sauvage. Le virus présente 99% d'homologie avec la souche aviaire hautement pathogène.

3. Transmission du virus

Chez les oiseaux infectés, le virus influenza est excrété au niveau des voies respiratoires, de la conjonctive et des excréments. Ceux-ci peuvent contenir jusqu'à 10^7 particules infectieuses par gramme ⁴⁰. La transmission se fait par contact direct avec d'autres animaux infectés ou indirect dans un environnement contaminé par les fientes, les plumes. Aucun cas de transmission verticale (« mère – enfant ») n'a été documenté. Cependant, on a pu mettre en évidence la contamination d'œufs lors d'une épidémie en Pennsylvanie ⁴¹. De même, un virus A(H5N1) proche de celle du virus de Hong Kong de 1997 a été isolé dans des œufs de canard

et d'oies sauvages ⁴². Il existe également une transmission entre exploitations animales ⁴³ qui se fait par le biais de vecteurs animés (personnel, vétérinaire) ou inanimés (matériel, moyen de transport) souillés par les fèces contaminées.

Habituellement, les virus grippaux aviaires n'infectent pas l'homme. Cette transmission est beaucoup plus difficile, mais plus facile en milieu confiné. Des études virologiques menées lors de l'épidémie de Hong Kong ont montré le passage direct du virus A(H5N1) d'origine aviaire à l'homme ⁴⁴. La transmission interhumaine des virus grippaux humains se fait par inhalation d'aérosol de particules infectieuses, par contact direct ou même indirect, par autoinoculation au niveau de la conjonctive et des voies respiratoires.

Le virus A(H5N1) peut être transmis au singe ⁴⁵, la souris ⁴⁶, le porc ⁴⁷, le furet ⁴⁸. Jusqu'alors, les félinés étaient considérés comme résistants aux virus de type A ⁴⁹. On note des infections naturelles par le virus A(H5N1) chez le tigre et le léopard dans un zoo en Thaïlande en 2004⁵⁰. L'enquête épidémiologique a conclu à une contamination par ingestion de carcasses de poulet cru infectées par le virus A(H5N1).

D. L'influenza aviaire : la pathologie

1. Physiopathologie

Chez les oiseaux sauvages, le virus se multiplie essentiellement dans le tractus digestif et dans ce cas, l'infection est asymptomatique.

Quand le virus s'exprime cliniquement, il a un tropisme plus général entérotrope, pneumotrope ou neurotrope : il touche alors le système digestif, respiratoire ou nerveux ¹⁴.

2. Clinique

Toutes les espèces de volaille (la dinde est beaucoup plus sensible que la poule ¹⁴) sont susceptibles d'être infectées par le virus Influenza de type A ⁵. Le tableau clinique dépend de plusieurs facteurs :

- la souche virale,
- l'espèce infectée,
- l'âge,
- les infections associées telles que la maladie de New Castle, des infections bactériennes (*Escherischia coli*, *Pasteurella*, staphylocoques) ou dues à des mycoplasmes,
- les facteurs environnementaux : stress, changements brutaux de température et d'humidité, conditions d'élevage défavorables,
- l'utilisation de vaccins vivants atténués pour prévenir d'autres maladies infectieuses.

La symptomatologie est très variée. On distingue quatre formes cliniques d'Influenza aviaire dont la peste aviaire ou Influenza aviaire hautement pathogène qui est la plus sévère :

- les formes asymptomatiques : ce sont les plus fréquentes, la mortalité est nulle

- les formes frustres : les infections sont inapparentes, de légers symptômes respiratoires sont associés à une réduction de la ponte
- les formes subaiguës
- les formes graves d'évolution aiguë ou subaiguë.

Les formes subaiguës se traduisent par une atteinte de l'état général de l'animal avec des symptômes respiratoires, une aérosacculite (= infection des sacs aériens) et une réduction de la ponte, voire un arrêt de la ponte. Dans les troubles respiratoires, on retrouve un gonflement des sinus orbitaires, une toux et une dyspnée. La mortalité peut atteindre entre 50 et 70% ⁵.

Les formes graves d'évolution aiguë ou subaiguë correspondent à la peste aviaire ou influenza aviaire hautement pathogène (IAHP). A ce jour, elles ont été provoquées par des virus grippaux A de sous-types H5 et H7. L'Union européenne définit l'IAHP comme étant « l'infection des volailles causée par tout virus influenza A ayant, chez les poulets âgés de 6 semaines, un indice de pathogénicité intraveineux supérieur à 1,2 ou pour tout virus influenza A de sous-type H5 ou H7 » ⁵¹. Elles se traduisent par une atteinte septicémique avec de nombreux organes affectés. Elles provoquent la mort en 24 à 48 heures dans 90% à 100% des cas. Les différents symptômes sont soit isolés, soit associés. On distingue :

- des symptômes généraux : altération de l'état général, anorexie, prostration, réduction considérable de la production d'œufs,
- des symptômes cutanés : œdème céphalique avec tuméfaction, congestion et cyanose avec parfois hémorragies de la crête et des barbillons,
- des symptômes respiratoires : dyspnée, râles, toux,

- des symptômes digestifs : diarrhées verdâtres devenant progressivement blanchâtres ou diarrhées hémorragiques,
- des symptômes d'attaque systémique des organes internes : hémorragies, oedèmes, pétéchies,
- des symptômes nerveux : incoordination motrice, paralysie des ailes, torticollis, dépression sévère, diminution de l'appétit.

Chez certains oiseaux, souvent les plus jeunes, il y a mort subite sans signes cliniques prémonitoires. Dans ces cas-là, il n'y a presque aucune lésion.

Les signes cliniques sont très souvent associés à des lésions sur l'animal. L'aspect lésionnel varie selon la virulence de la souche virale.

On rencontre diverses lésions dans la peste aviaire :

- congestion sévère de l'appareil musculaire
- déshydratation
- oedème sous-cutané de la tête et du cou
- écoulement par le nez et le bec
- congestion sévère de la conjonctive, s'accompagnant parfois de pétéchies
- exsudats muqueux importants dans la lumière trachéale ou trachéite hémorragique sévère
- pétéchies à la face interne du sternum, sur les séreuses et les tissus adipeux de l'abdomen, sur les surfaces séreuses et dans la cavité splanchnique
- congestion rénale sévère, parfois accompagnée de dépôts d'urates dans les tubules
- hémorragies et dégénérescence des ovaires
- hémorragies de la surface muqueuse de l'estomac glandulaire, notamment à la jonction avec le gésier

- hémorragies et érosions de la muqueuse du gésier
- foyers hémorragiques sur les tissus lymphoïdes de la muqueuse intestinale.

3. Diagnostic

Le diagnostic de la peste aviaire est à la fois clinique et biologique. Le diagnostic biologique se déroule en deux étapes : l'identification de l'agent et les tests sérologiques.

a) L'identification de l'agent

Elle se fait sur des prélèvements trachéaux et cloacaux par écouvillonnage (ou prélèvements de fèces) chez les oiseaux vivants ou à partir d'organes (trachée, poumons, sacs aériens, rate, cerveau, foie cœur et sang) et de fèces regroupées, provenant d'oiseaux morts.

Elle commence par l'isolement du virus. Celui-ci se fait par l'inoculation dans la cavité allantoïde d'œufs embryonnés de poule âgés de 9 à 11 jours. Il est important que tous les échantillons prélevés soient immédiatement placés en milieu tamponné à pH compris entre 7,0 et 7,4 car les virus ***Influenza*** sont particulièrement sensibles et inactivés à pH acide. A noter que certaines souches se cultivent mieux dans le liquide amniotique, leur présence étant alors détectée dès la première inoculation alors que des passages en série sont nécessaires lors d'une inoculation dans l'allantoïde ⁹.

Les œufs inoculés sont incubés pendant 7 jours maximum puis tués puis s'effectue la caractérisation du virus :

- la mise en évidence de l'héماغglutination : le liquide allantoïde des œufs morts ou tués est ensuite testé en présence de globules rouges à 1% selon la technique décrite par Allan et Gough ⁵² afin de rechercher la présence d'héماغglutinine. En cas de réaction positive, il est nécessaire d'identifier l'agent héماغglutinant car l'héماغglutination peut résulter de la présence de bactéries ou de virus (Orthomyxoviridae ou Paramyxoviridae),
- la microscopie électronique : la technique de coloration négative permet de distinguer les Orthomyxoviridae des Paramyxoviridae, après lyse éventuelle des particules virales par le désoxycholate de soude à 0,5%. La nucléocapside est généralement absente dans les préparations d'Orthomyxoviridae, alors qu'elle est visible dans celles de Paramyxoviridae.
- les tests d'hémolyse : s'il y a hémolyse à un pH inférieur à 6, il s'agit de virus ***Influenza*** ; si cette hémolyse survient entre 7,0 et 7,2, c'est un virus de la famille des Paramyxoviridae.
- le test d'immunodiffusion pour confirmer la présence du virus grippal de type A : la présence de l'antigène de type A peut être mise en évidence par réaction de précipitation en milieu gélosé avec un sérum anti-nucléocapside de référence selon la méthode de Beard ⁵³.
- la détermination du sous-type par des antisérums monospécifiques
- l'évaluation de la virulence de la souche par des tests in vivo ou in vitro :
 - o détermination de l'indice de pathogénicité par voie intraveineuse (IPIV) chez des poulets de 4 à 8 semaines. Tout virus dont l'IPIV est égal ou supérieur à 1,25 est considéré comme très pathogène ;
 - o la pathogénicité des virus influenza est directement corrélée au clivage de leur glycoprotéine HN par des protéases cellulaires.

L'hémagglutinine des souches pathogènes est clivée dans tous les types cellulaires pour qu'elle soit effective alors que celle des souches non pathogènes ne l'est pas. L'hémagglutinine des souches peu ou pas pathogènes ne contient qu'un seul résidu basique (arginine) au sein du site de clivage de la molécule. Ce motif n'est reconnu et n'est clivé que par des enzymes cellulaires de type trypsine présentes dans un nombre restreint de cellules limitées aux tractus respiratoires et digestifs. Ceci explique la symptomatologie modérée des infections peu ou modérément pathogènes. Par contre, l'hémagglutinine des souches pathogènes contient beaucoup de résidus basiques au niveau du site de clivage. Ils sont reconnus par des enzymes de type furine présentes dans un grand nombre de cellules d'où la symptomatologie de la peste aviaire ¹⁴.

b) Les tests sérologiques

Ils sont réalisés sur des échantillons de sang coagulé ou de sérum.

On effectue des tests d'hémagglutination et l'inhibition de l'hémagglutination, ainsi que l'immunodiffusion en gélose.

On peut utiliser la méthode ELISA qui va détecter les anticorps du virus influenza type A chez un grand nombre d'espèces d'oiseaux (domestiques et sauvages). Elle est sensible, facile à mettre en œuvre, rapide, fiable et convient particulièrement au screening d'un grand nombre d'échantillons.

4. Traitement

Il n'existe aucun traitement pour l'influenza aviaire hautement pathogène.

5. Procédures de décontamination

Lorsqu'il y a confirmation d'un foyer, il est prévu par le plan d'urgence « peste aviaire » : l'abattage sur place de toutes les volailles et la destruction des œufs de l'exploitation, l'enlèvement sécurisé des cadavres, l'application d'un protocole très rigoureux de nettoyage et de désinfection de l'exploitation suivi d'un vide sanitaire de 21 jours, la mise en place de zones de protection (3 km) et de surveillance (rayon de 10 km) autour de l'exploitation.

a) L'abattage des volailles

Le personnel impliqué dans la mise à mort décente d'animaux doit être qualifié et compétent. Les compétences sont acquises dans le cadre d'une formation professionnelle ou de l'expérience pratique.

Une fois prise la décision d'abattre les oiseaux, ceux-ci doivent être mis à mort le plus rapidement possible. Les manipulations et déplacements d'animaux doivent être réduits au minimum.

Les méthodes utilisées pour une mise à mort à des fins prophylactiques, doivent entraîner la perte immédiate de conscience qui doit persister jusqu'à la mort.

Pour des raisons de protection animale, les jeunes animaux doivent être abattus avant les vieux.

Diverses méthodes sont utilisées pour la mise à mort des volailles :

- le pistolet à percussion : il est employé chez les volailles adultes. Il s'agit d'un pistolet fonctionnant à l'air comprimé ou avec une cartouche à blanc. La percussion provoque la mort chez les volailles. Les oiseaux doivent être immobilisés dans des cônes, par des entraves, dans des cages de contention ou à la main
- la macération utilisée pour les nouveau-nés et les œufs. Elle fait appel à un appareil mécanique muni de lames rotatives ou d'un système à projections, entraînant une fragmentation et la mort immédiate de volailles nouveau-nées et des œufs embryonnés. Par cette méthode, un grand nombre de volailles peuvent être tuées rapidement
- l'électrocution employée pour les adultes. Il existe deux méthodes. La première méthode implique l'étourdissement et la mise à mort par passage des volailles inversées et entravées au travers d'un étourdisseur à bain d'eau électrifié. Le contact électrique est établi entre l'eau électrifiée et l'entrave mise à la terre. Quand un courant suffisant est appliqué, les volailles sont simultanément étourdiées et tuées. La deuxième méthode comprend l'application unique d'un courant électrique suffisant au niveau de la tête d'une volaille dans une position enserrant le cerveau, ce qui produit une perte de conscience ; cette opération est suivie d'une méthode de mise à mort telle que la décapitation ou la dislocation cervicale
- le mélange CO₂/air. La mise à mort par atmosphère contrôlée consiste à exposer les animaux à un mélange gazeux prédéfini soit en les introduisant dans un container ou un appareil rempli de ce gaz, soit en faisant passer le gaz dans le poulailler. L'inhalation de dioxyde de carbone induit une acidose

respiratoire et métabolique et réduit ainsi le pH du liquide céphalo-rachidien et des neurones d'où une perte de conscience et la mort après une exposition prolongée

- le mélange d'azote ou de gaz inerte avec du CO₂. Le CO₂ peut être mélangé en proportions diverses avec de l'azote ou un gaz inerte comme l'argon. L'inhalation de tels mélanges entraîne une hypoxie par hypercapnie et la mort lorsque la concentration d'oxygène est $\leq 2\%$ (V/V). Il faut introduire les animaux dans un conteneur ou un appareil contenant ces gaz.. Ces mélanges n'entraînent pas de perte de conscience immédiate
- le mélange de l'azote avec des gaz inertes. Cette méthode consiste à introduire les animaux dans un conteneur ou un appareil contenant de l'azote ou un gaz inerte tel que l'argon. L'atmosphère contrôlée produite conduit à la perte de conscience et à la mort par hypoxie
- l'injection de barbituriques ou d'autres produits. Cette injection faite à l'aide de doses élevées d'anesthésiques et de sédatifs entraîne une dépression du système nerveux central, une perte de conscience et la mort
- l'addition d'anesthésiques aux aliments ou à l'eau de boisson, suivie d'une méthode de mise à mort adaptée
- la dislocation cervicale. Les volailles inconscientes peuvent être mises à mort par dislocation cervicale manuelle (étirement) ou écrasement mécanique du cou avec une paire de pinces. Les deux méthodes entraînent l'anoxie cérébrale due à l'arrêt de la respiration et/ou de la distribution du sang du cerveau
- la décapitation à l'aide d'une guillotine ou d'un couteau entraîne la mort par ischémie cérébrale.

b) L'élimination des carcasses

Il existe différentes méthodes recommandées pour l'élimination des carcasses. Pour certaines d'entre elles, un prétraitement peut être nécessaire. Cela consiste à broyer des carcasses d'animaux qui peuvent être ensuite transportées dans des conteneurs scellés ou être soumises à un processus de fermentation, de compostage ou de congélation.

On recense comme méthodes :

- l'équarrissage, système fermé de traitement mécanique et thermique des tissus animaux. Elle permet une inactivation efficace du virus H5N1
- l'incinération dans une installation spéciale. Dans une telle installation, des carcasses entières ou des portions de carcasses peuvent être entièrement incinérées et réduites en cendres, souvent en association avec d'autres substances telles que des déchets de collectivités locales, des déchets dangereux et des déchets d'hôpitaux. Les incinérations sont totalement confinées
- l'équarrissage et l'incinération combinées
- l'incinération à rideau d'air qui fait appel à une machine de ventilation forcée dans laquelle une masse d'air traverse un collecteur, créant un environnement turbulent dans lequel l'incinération peut être six fois plus rapide qu'à ciel ouvert. Le matériel nécessaire peut être mobile

- l'incinération à ciel ouvert. Il s'agit d'un système ouvert d'incinération qui permet de conduire sur site une procédure bien établie sans nécessiter de transports. Mais elle ne permet de vérifier l'inactivation des agents pathogènes
- le compostage des carcasses qui est un processus naturel de décomposition se produisant en présence d'oxygène
- l'enfouissement. Les carcasses entières sont ensevelies et recouvertes de terre. Cette procédure peut être conduite sur le site
- la méthanisation. C'est un système fermé de fermentation anaérobie qui nécessite un traitement mécanique et thermique préalable sur le matériel utilisé
- l'hydrolyse alcaline qui fait appel à de l'hydroxyde de sodium ou de l'hydroxyde de potassium pour catalyser l'hydrolyse des matières biologiques en une solution aqueuse stérile constituée de peptides courts, d'acides aminés, de sucres et de savons. Le processus est accéléré par la chaleur (150°C)
- le bioraffinage. Il s'agit d'une hydrolyse se déroulant à haute pression et à haute température, réalisée dans une cuve pressurisée, scellée. Les déchets sont traités à 180°C, à 12 bars pendant 40 minutes, chauffés par application indirecte de vapeur, d'autres substances compostables, de papiers ou de matériaux analogues et des pailles de céréales, ces matières pouvant être utilisées séparément ou ensemble
- le déversement des carcasses en mer.

c) La décontamination et la désinfection

Les techniques de désinfection doivent comporter quelque soient les substances utilisées :

- un arrosage abondant des litières et des déjections avec le désinfectant
- un lavage et un nettoyage par raclage et brossage soigneux des sols, planchers et parois
- puis à nouveau un lavage avec le désinfectant
- le lavage et la désinfection de l'extérieur des véhicules ; ces deux opérations seront si possible effectuées avec des liquides sous pression et on n'oubliera pas de laver, désinfecter ou détruire les moyens d'attache des animaux.

6. La prévention par la vaccination

La politique d'abattage sanitaire a été adoptée en 1992^{54, 55}. Cependant, depuis, beaucoup de changements ont été faits dans le secteur avicole : les cycles de production se sont raccourcis, la densité des populations animales a augmenté. Il est donc important d'envisager d'autres stratégies de lutte contre l'influenza aviaire afin d'éviter la destruction d'un grand nombre d'animaux, d'autant plus que le côté éthique est discutable.

Dans une région à forte densité de population, où l'application de mesures rigoureuses de biosécurité est incompatible avec les systèmes d'élevage modernes, en cas d'apparition d'un foyer d'influenza aviaire, la vaccination doit apparaître comme la première mesure pour contrôler la propagation de l'infection. Pour être efficace, cette politique de vaccination doit apporter la baisse de la sensibilité à l'infection et la réduction de la quantité de virus excrétée dans l'environnement.

Il existe différents types de vaccins contre l'influenza aviaire de sous-type H5 ou H7 :

- les vaccins inactivés homologues : ils contiennent la même souche d'influenza aviaire que celle responsable des foyers et un adjuvant huileux. Ils ont été largement utilisés au Mexique et au Pakistan pendant les épizooties d'influenza

aviaire ⁵⁶. Ils assurent une bonne protection clinique et une réduction de l'excrétion virale. Cependant, ils ne permettent pas la distinction entre animaux vaccinés et animaux infectés ;

- les vaccins inactivés hétérologues : ils contiennent le même sous-type de virus (hémagglutinine) circulant sur le terrain. La protection clinique et la réduction de l'excrétion virale sont assurées par la réaction immunitaire produite par le groupe homologue H. La production d'anticorps contre la neuraminidase est un marqueur d'infection. Le degré de protection n'est pas strictement corrélé au degré d'homologie entre les gènes de l'hémagglutinine du vaccin et les souches d'épreuve ⁵⁷;
- les vaccins vivants : en raison de la fréquence des mutations dans le génome des virus influenza, aucun n'est autorisé ;
- les vaccins recombinants : plusieurs virus recombinants de la variole aviaire exprimant l'antigène H5 ont été développés ^{58,59,60,61,62}. L'un de ces vaccins est actuellement au Mexique ⁵⁶. D'autres vecteurs ont été utilisés tels que le virus de la laryngo-trachéite infectieuse ⁶³.

La vaccination à l'aide de vaccins inactivés hétérologues a été utilisée avec succès en Italie pour contrôler une épizootie de type IAFP de sous-type H7N1 ⁵⁴. Cette vaccination nécessite plusieurs injections intramusculaires à intervalles réguliers ⁶⁴ et la protection est acquise après quelques semaines. Cependant ce protocole présente des inconvénients :

- en raison de leur durée de vie, la vaccination éventuelle des poulets de chair industriels est peu compatible avec ce type de protocole

- en zone d'épizootie, la vaccination est susceptible d'augmenter le risque de transmission du virus sauvage entre exploitations par les manipulations des sujets dans les différentes exploitations
- la vaccination réduit l'excrétion virale sans toutefois l'empêcher
- les tests d'immunofluorescence pour identifier le marqueur de l'infection sont peu sensibles.

Actuellement deux vaccins contre l'influenza aviaire de sous-type H5 bénéficient d'une autorisation temporaire de vente : Nobilis Influenza du laboratoire Intervet et Bio Flu H5N9 du laboratoire Merial. Ce sont des vaccins inactivés hétérologues.

La vaccination d'urgence est raisonnable s'il existe la preuve de l'introduction d'un virus d'influenza aviaire hautement transmissible au sein d'une région à forte densité avicole ou si la situation épidémiologique laisse entrevoir la possibilité d'une propagation massive et rapide de l'infection. Elle doit être également envisagée quand les oiseaux de valeur économique élevée ou les oiseaux rares sont exposés à un risque d'infection.

La vaccination peut contribuer à l'éradication de la maladie mais elle ne sera efficace que si elle est associée à des restrictions sur les déplacements et à une biosécurité accrue ⁵⁴.

E. Conséquence pour l'homme : la grippe humaine d'origine aviaire

1. Physiopathologie

La grippe est une infection virale respiratoire aiguë. Elle est très contagieuse et est capable d'affecter toutes les tranches d'âge. Elle se propage rapidement de personne à personne au cours d'épisodes de toux, d'éternuements via les gouttelettes de Pflüge.

Comme dit précédemment, il existe différents types de virus **Influenza** : A, B et C. Les virus de type B et C ne sont jamais responsables de pandémies. Ils provoquent des infections rhinopharyngées banales, n'évoluant pas sous forme d'épidémies. Les virus de type A qui nous intéressent actuellement ont un pouvoir pathogène supérieur à celui des virus de type B⁶. Le pouvoir pathogène des virus Influenza et la physiopathologie provoquée sont le reflet des facteurs de virulence développés par les virus et de l'interaction entre les protéines virales et le système immunitaire humain. Ce pouvoir pathogène est également lié à la facilité à engendrer des surinfections bactériennes. Dans le cas d'infection par ces virus, les épisodes de surinfection sont fréquents notamment chez l'enfant et des personnes dites à risque. Ils aggravent la mortalité et la morbidité. Mais il existe aussi des formes cliniques de grippe graves sans surinfection⁶.

La multiplication virale atteint un pic au bout de 48 heures d'infection avec des titres de 10^3 à 10^7 TCID₅₀/ml dans les lavages naso-pharyngés, en corrélation avec l'intensité des signes cliniques. Elle reste détectable pendant 6 à 8 jours. Le virus pénètre par le nez et la gorge suite à l'inhalation de gouttelettes en suspension dans l'air. Il est présent dans le nasopharynx un à deux jours après le début des symptômes. La neuraminidase abaisse la viscosité du flux muqueux, dénude les récepteurs des surfaces cellulaires et permet la diffusion du liquide infecté aux voies aériennes inférieures. Le virus se propage dans les voies respiratoires supérieures et inférieures, et induit une inflammation des muqueuses et un œdème du larynx, de la trachée et des bronches. La desquamation des cellules épithéliales mucosales ou ciliées peut atteindre la monocouche de cellules basales dans les voies respiratoires inférieures. Dès le cinquième jour, la régénération des cellules détruites se met en place, aboutissant à la

réparation complète de l'épithélium en un mois environ ⁷. Le virus provoque la nécrose des cellules ciliées et des cellules à mucus mais ne lèse pas la couche basale de l'épithélium, ce qui explique la rareté d'une pneumonie. Celle-ci est plutôt liée à une surinfection bactérienne²¹.

2. Clinique de l'infection humaine à H5N1

Elle se limite aux cas décrits chez des patients hospitalisés lors des épisodes de grippe humaine d'origine aviaire depuis 1997. Il a été noté que la grippe aviaire touchait préférentiellement les enfants.

La symptomatologie est variée, allant des formes bénignes aux formes mortelles^{65, 66,67}.

L'incubation est courte, de un à trois jours, pouvant aller jusqu'à une semaine, voire dix jours. La période initiale est caractérisée dans la plupart des cas par un syndrome grippal. Au cours de la première épidémie de Hong Kong en 1997 ⁶⁸, les malades présentent une fièvre élevée avec maux de tête, malaise général et myalgies, une pharyngite, une toux et une rhinite. Plus rarement on trouve des troubles gastro-intestinaux et une conjonctivite. En 2004, au Vietnam⁶⁸ et en Thaïlande ^{70,71}, les cas décrits parlent également d'un syndrome grippal avec dyspnée et diarrhée chez la moitié des patients.

La période d'état est dominée par des signes d'atteinte des voies respiratoires hautes dans les formes bénignes et des voies respiratoires basses dans les formes sévères. Le tableau clinique est celui d'une pneumopathie le plus souvent grave avec détresse respiratoire, tachypnée et crépitants.

L'évolution se fait généralement vers une insuffisance respiratoire aiguë nécessitant une assistance respiratoire. Le dernier stade d'insuffisance organique multiple avec insuffisance rénale et insuffisance cardiaque est fréquent ⁷². La durée moyenne d'évolution dans les formes

mortelles varie de huit jours (Cambodge, 2005) à vingt-trois jours (Hong Kong, 1997) ⁷². la mortalité est très élevée, de l'ordre de 63% depuis 2003 d'après les informations de l'OMS au 17 avril 2008.

En Thaïlande, un cas d'infection à virus A(H5N1) sans troubles respiratoires a été rapporté en 2004 : la clinique était celle d'une diarrhée fébrile ^{73,74}. Au Vietman, c'est une forme neurologique avec encéphalite mortelle qui est associée au virus A(H5N1) ⁷⁵. Ces formes graves sont observées chez des individus sains, sans facteur de risque particulier.

Il existe également des formes asymptomatiques et paucisymptomatiques mises en évidence par les différentes études sérologiques effectuées dans le cadre des infections humaines dues au virus A(H5N1) à Hong Kong. La présence d'anticorps sériques anti-H5 a été démontrée chez des personnes exposées professionnellement et chez des sujets contacts de cas confirmés de grippe A(H5N1) ^{76,77,78}.

3. Les signes paracliniques

A côté des signes cliniques, on trouve des signes biologiques et des signes radiographiques.

Les examens biologiques montrent une leucopénie avec lymphopénie, une thrombopénie, une anémie, une atteinte de la fonction hépatique avec élévation des transaminases sériques et augmentation des temps de coagulation, une atteinte de la fonction rénale avec augmentation de la créatininémie ^{70,71}.

La radiographie montre quant à elle, des signes de pneumonie dans le cas d'une atteinte des voies respiratoires basses. On trouve des images d'infiltrats clairsemés, localisés ou diffus, des infiltrations interstitielles, de distribution lobaire, plurilobaire, unilatérale ou bilatérale/ les

poumons prennent un aspect en verre dépoli, de façon diffuse et bilatérale au fur et à mesure de l'évolution. Le délai d'apparition de ces images a été étudié en Thaïlande : il est évalué à six jours en moyenne à partir du début des signes cliniques ⁷⁰. Les pneumothorax sont rares.

4. Diagnostic

Le diagnostic de la grippe est avant tout clinique mais il doit tenir compte du contexte épidémiologique ⁷. Mais d'autres virus peuvent induire de tels symptômes ²¹.

Le diagnostic de certitude de la grippe repose sur les examens de laboratoire (figure 6). En médecine communautaire, les examens virologiques ne sont généralement pas utilisés pour le diagnostic des affections respiratoires communes sauf pour la surveillance épidémiologique.

La recherche des virus grippaux se fait dans des prélèvements précoces, riches en virus. Les lavages ou aspirations nasales, les écouvillonnages nasaux, les aspirations trachéales ou bronchiques ou les lavages bronchoalvéolaires conviennent très bien. Les prélèvements au niveau de la gorge ne sont pas adaptés car l'épithélium du pharynx n'est pas infecté. Pour pallier la labilité des virus grippaux, les sécrétions sont recueillies dans un milieu de transport protecteur et si possible conservées au froid à 4°C ou -70°C ⁷.

a) Le diagnostic direct

L'isolement viral est la technique de référence. L'inoculation par voie amniotique et allantoïque d'œufs de poule embryonnés de 10-11 jours permet l'isolement des virus grippaux quel que soit le type ou leur espèce d'origine. A savoir que pour l'isolement des virus grippaux humains ou porcins, on préférera l'isolement en culture cellulaire plus commode.

Dans ce cas, on utilise couramment les cellules de la lignée MDCK (cellules épithéliales de rein de chien) qui possèdent à leur membrane des acides sialiques liés en $\alpha 2,3$ ou en $\alpha 2,6$ au galactose. D'autres lignées cellulaires (Vero, SK) ou des cultures primaires (fibroblastes embryonnaires de poulet, cellules épithéliales de rein de singe) sont aussi utilisées. La plupart du temps, la multiplication doit se passer en présence de trypsine afin d'assurer le clivage de l'hémagglutinine indispensable à la virulence ⁷.

La multiplication virale est mise en évidence par un test d'hémagglutination avec des globules rouges de différentes espèces (coq, dinde, cobaye, homme).

L'identification est faite par inhibition de l'hémagglutination (IHA) à l'aide d'une batterie de sérums de référence des différents types, sous-types et variants. Des sérums de lapin, mouton ou poulet peuvent être utilisés mais ceux de furet sont plus discriminants pour apprécier la dérive antigénique. Le principal inconvénient de l'isolement viral associé à l'identification par IHA reste le délai de réponse qui est de 4 à 6 jours, malgré le fait que ce soit une méthode de choix ⁷.

La culture virale permet à la fois l'identification du virus, sa caractérisation et l'étude de sa variabilité antigénique et génétique, notamment par technique de RT-PCR, la réalisation de tests de sensibilité médicamenteuse et la préparation de vaccins ⁷⁹.

Différentes méthodes immunologiques sont employées pour la détection rapide des virus grippaux directement sur les échantillons cliniques ou après 12 à 48h de culture. Les techniques d'immunofluorescence (IF) ou immuno-enzymatiques (EIA) permettent le typage des virus grippaux par détection des antigènes conservés tels que la NP ou M1 à l'aide d'anticorps monoclonaux. Des tests reposant sur la détection immunologique ou enzymatique (activité de la NA) ont été développés ⁷.

L'ARN viral est détectée par RT-PCR et permet la discrimination des virus selon les types A, B ou C avec des amorces ciblant les segments génomiques conservés (NP, M, NS) et dans le

cas d'un virus de type A, la détermination du sous-type à l'aide d'amorces ciblant les segments de l'HA ou de la NA.

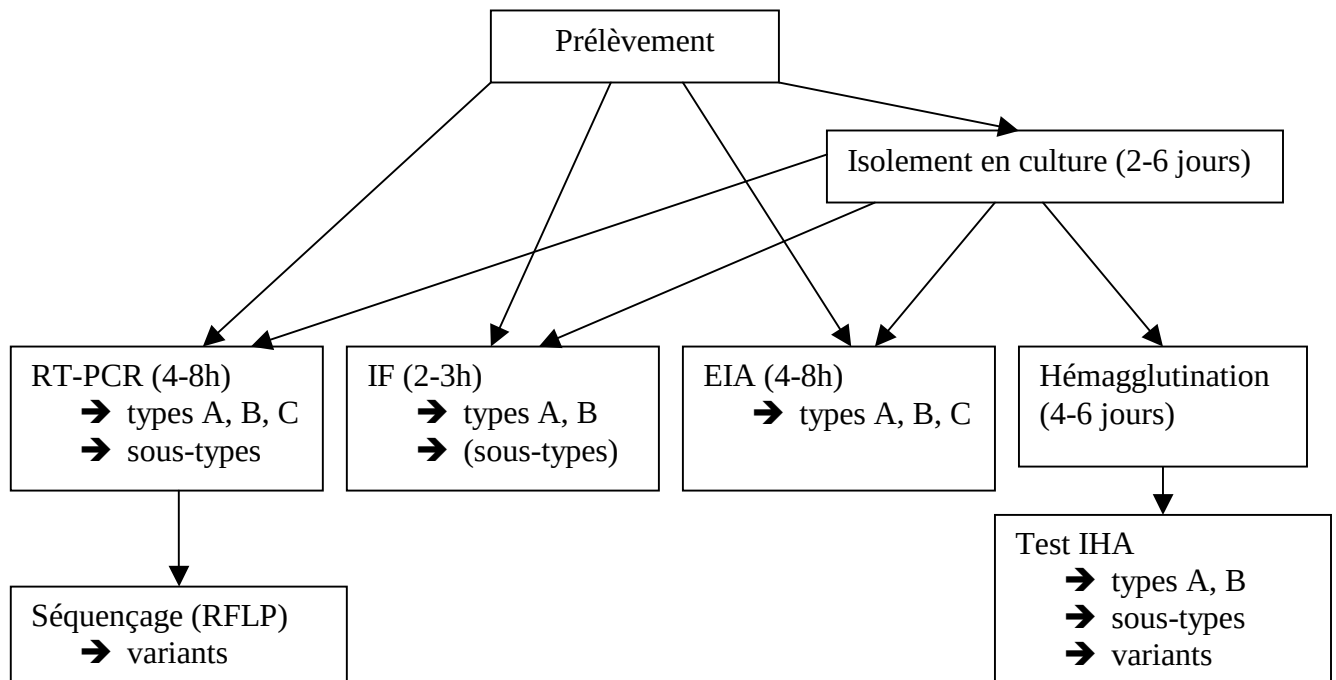


Figure 6 : Techniques utilisées pour le diagnostic de la grippe au laboratoire

La figure recense les différentes techniques employées pour diagnostiquer la grippe au laboratoire. Certaines nécessitent un isolement préalable du virus en culture, ce qui rallonge l'examen de 2 à 6 jours. Le résultat fourni n'est pas le même d'une technique à l'autre. Par exemple, les techniques immuno-enzymatiques ne permettent de définir que le type du virus ; contrairement au test IHA qui permet de connaître, le type, le sous-type et le variant. Malheureusement, cette technique a un délai de réponse long ; de ce fait, on lui préférera la RT-PCR.

b) Le diagnostic indirect

Il existe des examens sérologiques mais ils n'ont qu'un intérêt rétrospectif, nécessitant l'analyse de sérums successifs ⁷. Parmi ces examens, on distingue :

- la technique d'inhibition de l'hémagglutinine (IHA) qui sont l'examen de référence pour la détection des anticorps dirigés contre les virus grippaux humains (figure 6)
- la technique de séroneutralisation
- la technique immuno-enzymatique
- la réaction de fixation du complément
- l'hémolyse radiale simple
- la diffusion radiale simple.

5. Prévention

Il est important de préciser que nos vaccins actuels ne protègent pas contre la grippe aviaire de type A(H5N1). Mais elle se justifie par la crainte de voir apparaître des réassortiments entre les virus aviaires et humains, en cas d'infection mixte. Un vaccin efficace ne pourra être fabriqué que si le virus mute et devient transmissible d'homme à homme. A savoir que le délai de fabrication serait de plusieurs mois à partir du début de la pandémie.

De plus, les capacités mondiales actuelles de fabrication de vaccins antigrippaux sont limitées. Il est délicat de fabriquer en grandes quantités un vaccin contre la pandémie, sachant qu'il faut produire des vaccins saisonniers. L'OMS recommande d'équilibrer les capacités de production entre les vaccins saisonniers et les préparations à la pandémie. Une fois que celle-ci sera déclarée, tous les fabricants arrêteront de produire les premiers pour se consacrer exclusivement au vaccin contre la pandémie.

La prévention de la grippe saisonnière repose essentiellement sur la vaccination. Celle-ci permet la réduction de la morbidité et de la mortalité, notamment chez les personnes âgées et les sujets atteints de comorbidités.

Le premier vaccin contre la grippe a été développé et utilisé dans l'armée américaine en 1944, douze ans après la découverte du virus et quatre ans après la mise au point de la culture sur œuf de poule embryonné.

Il existe actuellement deux types de vaccins antigrippaux : les vaccins inactivés et les vaccins vivants atténués⁸⁰.

a) Les vaccins inactivés

Ils exploitent la nature segmentée du génome. Ils sont composés de virus réassortis contenant les segments codant pour l'hémagglutinine et la neuraminidase des souches saisonnières et les six gènes internes provenant d'une souche mère A/Puerto Rico/8/34 (PR8) (H5N1) avirulente. Les virus réassortis possèdent les propriétés antigéniques des souches circulantes, l'innocuité et les capacités de multiplication de la souche PR8.

Les vaccins inactivés se divisent en trois groupes :

- les vaccins à virions entiers : les virions sont obtenus après culture sur œufs embryonnés, purification et inactivation par formaldéhyde ou β -propiolactone. Ce sont des vaccins très réactogènes ; ils ne sont plus utilisés
- les vaccins fractionnés : dits aussi fragmentés ou « splités », ils sont constitués des nucléoprotéines des virus obtenues par dissolution de la membrane lipidique par l'action d'un détergent
- les vaccins sous-unitaires : ils contiennent les protéines de l'enveloppe virale (hémagglutinine et neuraminidase) séparées des autres antigènes et purifiées.

Les vaccins fragmentés et sous-unitaires sont d'efficacité et de tolérance comparables.

Il s'agit de vaccins trivalents où trois sous-types de virus grippaux humains sont représentés : une souche de type A(H3N2), une souche de type A(H1N1), une souche de type B. Le choix des souches vaccinales est réévalué annuellement, en raison des données de la surveillance des variants en circulation : glissements antigéniques, souches émergentes. Les souches susceptibles de circuler à un niveau significatif sont retenues et des recommandations formulées sous l'égide de l'OMS.

La composition du vaccin disponible au début de l'automne est déterminée pour l'hémisphère Nord après une réunion des experts à la mi-février.

Les vaccins utilisés et disponibles en France sont des vaccins inactivés.

La durée moyenne de protection est estimée entre quatre et six mois. Les vaccins inactivés sont administrés par voie intramusculaire dans le deltoïde ou la face antérolatérale de la cuisse chez l'adulte, la personne âgée et l'enfant à partir de 6 ans.

b) Les vaccins vivants atténués

Pour faire face à l'inconvénient d'une injection annuelle, de nouvelles voies de recherche ont été explorées telles que des formes intranasales. Ce type de vaccins est utilisé en Russie depuis plusieurs années.

En 2003, la FDA américaine a autorisé la mise sur le marché d'un vaccin trivalent vivant atténué par administration nasale chez les personnes de 5 à 49 ans (FluMist). Le transfert des six gènes des protéines internes d'une souche mère de virus influenza A/Ann Arbor/-/60 (AA)(H2N2) vivante, atténuée, adaptée au froid, dans chacune des trois souches sauvages circulantes, contenant les gènes HA et NA recommandés par l'OMS, permet de générer des

vaccins réassortis possédant un phénotype d'atténuation (spécifié par des mutations au niveau des gènes internes) et d'immunogénicité adapté pour l'homme, une stabilité génétique et une transmissibilité absente ou négligeable des sujets vaccinés aux sujets contacts non immunisés

81.

Ils ont une efficacité comparable aux vaccins inactivés. Les principaux effets secondaires recensés sont des réactions anaphylactiques et des problèmes respiratoires.

En terme d'effets secondaires, les vaccins antigrippaux sont généralement bien tolérés. On note parfois une réaction locale au point d'injection, un syndrome pseudo-grippal avec fièvre, un malaise général dans les 6 à 12 heures suivant la vaccination.

En situation épidémique, la vaccination antigrippale en France est fortement recommandée chez les sujets à risque. Ces sujets sont les personnes âgées de plus de 65 ans et les personnes atteintes de pathologies chroniques telles que :

- les affections respiratoires chroniques (asthme, mucoviscidose, dysplasie broncho-pulmonaire)
- les pathologies cardiovasculaires (cardiopathies congénitales mal tolérées, insuffisances cardiaques graves et valvulopathies)
- les pathologies rénales (néphropathies graves, syndromes néphrotiques purs et primitifs)
- la drépanocytose
- les déficits immunitaires nécessitant un traitement prolongé comme le VIH
- le diabète ne pouvant être équilibré par le seul régime.

De même qu'elle est conseillée pour les personnes séjournant dans un établissement de santé de moyen et long séjour ainsi que les enfants et adolescents dont l'état de santé nécessite un

traitement prolongé par l'aspirine (syndrome de Kawasaki compliqué et arthrite chronique juvénile). Afin d'éviter les contaminations dans les hôpitaux et les institutions pour personnes âgées, on conseille la vaccination chez les professionnels de santé et tout professionnel en contact régulier et prolongé avec des sujets à risque.

Mais toute personne le souhaitant peut bénéficier de la vaccination antigrippale, en l'absence de contre-indication.

Le vaccin est pris en charge à 100% par la Sécurité Sociale pour les personnes de plus de 65 ans et les sujets présentant l'une des neuf affections de longue durée.

Il faut savoir également que les antiviraux n'ont pas vocation à se substituer à la vaccination dans la prévention de la grippe, même si certains ont une AMM en prophylaxie.

En effet, en situation interpandémique, l'amantadine et l'oseltamivir peuvent être utilisés ; toutefois les études cliniques n'ont porté que sur des sujets sains et des personnes âgées en institution, sur une période ne dépassant pas six semaines. Le bénéfice sur les complications n'a pas été évalué. En cas d'épidémie de grippe dans la communauté, leur utilisation n'est pas recommandée. Mais dans l'éventualité d'un cas index dans la famille ou dans l'entourage, l'utilisation de l'oseltamivir en post-exposition est indiquée dans les deux jours suivant le contact chez les sujets de 13 ans et plus non vaccinés ou vaccinés depuis moins de deux semaines ou si la souche circulante n'est pas concordante avec la souche vaccinale ; et chez tout sujet en contact ayant des facteurs de risque liés à l'âge (>65 ans) et/ou institutionnalisés et/ou présentant des comorbidités et/ou immunodéprimés.

Il existe par ailleurs des recommandations, hormis la vaccination, mises en place par l'OMS afin de contrer une éventuelle pandémie. Nous les verrons plus tard.

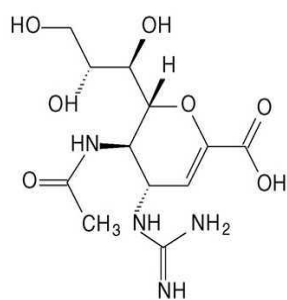
6. Traitement

Plusieurs molécules existent pour le traitement de la grippe saisonnière humaine mais leur utilisation reste limitée pour ce qui est de la grippe aviaire à A(H5N1).

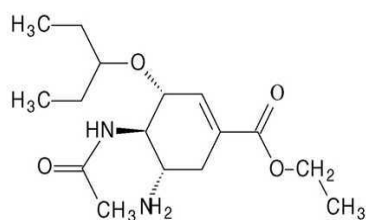
Les différentes molécules utilisées comme antiviraux sont divisées en classes selon leur mode d'action⁸³ (figure 7) :

- les inhibiteurs de la protéine M2 tels que l'amantadine et la rimantadine
- les inhibiteurs de l'inosine 5' monophosphate déhydrogénase (IMP déhydrogénase) tels que la ribavirine et la viramidine
- les inhibiteurs de l'ARN polymérase tels que le T705 et le flutimide
- les siRNAs
- les inhibiteurs de la neuraminidase comme le zanamivir, l'oseltamivir et le peramivir

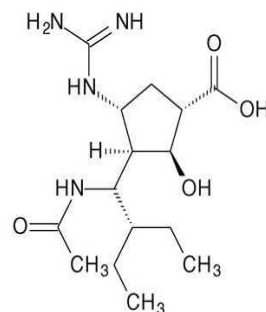
Neuraminidase inhibitors



Zanamivir
Relenza®

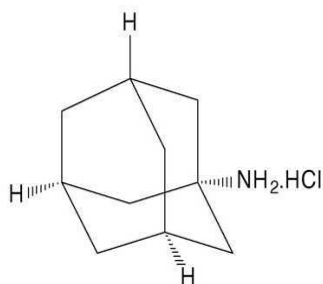


Oseltamivir
Tamiflu®

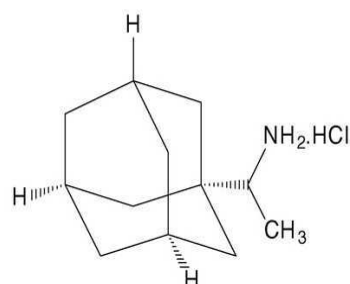


Peramivir

M2 ion channel blockers

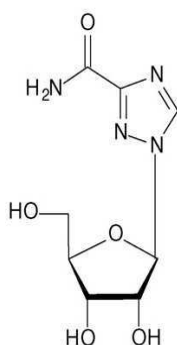


Amantadine
Symmetrel®, Mantadix®

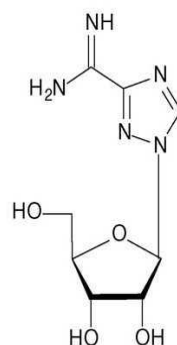


Rimantadine
Flumadin®

IMP dehydrogenase inhibitors

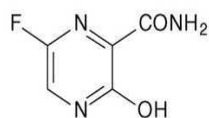


Ribavirin
Virazole®

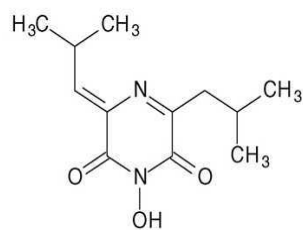


Viramidine (prodrug of ribavirin)

RNA polymerase (endonuclease) inhibitors



T705



Flutimide

Figure 7 : Différentes classes de médicaments utilisés contre le virus A(H5N1) ⁸³.

a) Les inhibiteurs de la protéine M2 ou adamantanes

On y trouve l'amantadine (Mantadix[®]) et la rimantadine (Roflual[®]). A l'origine ce sont des médicaments antiparkinsonniens.

Ce sont des inhibiteurs de la protéine M2 des virus de la grippe de type A. Rappelons que la protéine M2 est un canal à protons essentiel pour acidifier l'intérieur des particules virales et permettre la libération des ribonucléoprotéines dans le cytoplasme de la cellule hôte.

Les adamantanes bloquent la décapsidation virale. Par conséquent, elles empêchent la libération des nucléoprotéines et leur translocation dans le noyau.

Historiquement, elles sont utilisées exclusivement pour prévenir les infections grippales et réduire la durée des gripes saisonnières non compliquées⁸⁴. Elles ne sont pas chères et restent stables longtemps ; les effets secondaires au niveau gastro-intestinal et du système nerveux central ne sont pas à négliger.

Cependant, ces molécules sont réputées pour induire rapidement une résistance du virus ce qui compromet leur utilisation dans le traitement des infections à A(H5N1)⁸³. D'autant plus que les virus aviaires A(H5N1) récents sont naturellement résistants aux adamantanes. En effet, l'analyse des séquences aminoacides de la protéine M2 montre que tous les isolats viraux circulant en 2003 et en 2004 en Thaïlande et au Vietnam présentent une mutation correspondant à l'acide aminé en position 31 (substitution de la sérine par l'asparagine). Cette mutation confère inévitablement la résistance à l'amantadine. Il existe une résistance croisée entre l'amantadine et la rimantadine.

Plusieurs nouveaux dérivés de l'adamantane tels que le 2-(1-adamantyl)-2-méthylpyrrolidine ont été synthétisés⁸⁵. S'ils se sont révélés efficaces contre les virus A(H3N2), ils n'ont pour l'instant pas encore été testés contre le virus A(H5N1).

L'OMS recommande de ne pas les utiliser pour prévenir ou traiter les infections à H5N1 à moins qu'il ne soit démontré que le virus y est sensible⁸⁶.

b) Les inhibiteurs de l'inosine 5' monophosphate (IMP) déhydrogénase

La ribavirine (Virazole®) est un analogue nucléosidique proche de la guanosine. Il s'agit d'un antiviral de large spectre utilisé depuis plus de 30 ans contre les virus grippaux de type A et B⁸⁷.

Son action n'est pas spécifique aux virus grippaux. Elle inhibe la réplication de plusieurs virus à ADN (Adénovirus) et à ARN (virus respiratoire syncytial, virus de la rougeole, virus ***Parainfluenzae***...). Mais elle n'est pas reconnue officiellement dans le traitement de la grippe.

La ribavirine est moins active contre les virus grippaux que les adamantanes ou les inhibiteurs de la neuraminidase. Et des résistances à la molécule sont rarement observées⁸⁸.

Une première étude a montré qu'une dose journalière de 1g de ribavirine administrée par voie orale dès l'apparition des symptômes n'avait aucun effet sur le cours de la maladie mais qu'on pouvait voir des bénéfices si la dose était quadruplée^{89, 90}.

La ribavirine en aérosol, qui est la forme la plus efficace, a permis de réduire la durée de la fièvre chez de jeunes enfants atteints de grippe mais est cause de bronchospasmes.

Il existe également une forme intraveineuse de la ribavirine mais son usage est limité en raison du risque d'anémie hémolytique. De plus, la ribavirine est contre-indiquée chez la femme enceinte du fait de sa tératogénicité⁸⁴.

Récemment, la viramidine, une prodrogue de la ribavirine, a montré une efficacité semblable contre les infections grippales avec une toxicité moindre⁹¹.

c) Les inhibiteurs de l'ARN polymérase

Il s'agit principalement du T705 (= 6-fluoro-3-hydroxy-2-pyrazinecarboxamide), un dérivé de la pyrazine.

C'est un inhibiteur à large spectre des virus à ARN, y compris les virus grippaux de type A, B et C^{92, 93, 94}.

En entrant dans la cellule, la molécule est transformée en son dérivé monophosphate par une phosphoryltransférase, puis en un triphosphate par une kinase cellulaire. C'est sous cette forme qu'elle va inhiber l'ARN polymérase ARN-dépendant⁹³.

Le T705 est très actif in vitro contre un panel de virus saisonniers et de virus A(H5N1), y compris ceux résistants à l'oseltamivir et à l'amantadine⁹⁵. Il n'y a pas de cytotoxicité et la molécule n'entraîne pas de résistance.

Bien qu'il soit moins actif in vitro que l'oseltamivir contre les virus grippaux, il est plus protecteur in vivo. A raison de 200 mg/kg/j **per os** donnés une à treize heures après le début de l'infection, le T705 prévient la mort de la souris atteinte d'une forme létale d'infection à H1N1 alors que commencer le traitement 25 heures après le début de l'infection ne donne plus que 71% de chance de survie^{92, 96}.

Dans le cas d'une infection létale à H5N1 chez une souris, un traitement journalier par le T705 commencé 96 heures après le début de l'infection a permis d'éviter la mort. Des doses élevées uniques étaient non toxiques et hautement protectrices, en accord avec une longue demi-vie intracellulaire⁹⁵.

Il existe un autre inhibiteur de l'ARN polymérase, appelé le flutimide mais il y a encore peu d'informations à son sujet⁸³.

d) Les siRNA (small interfering RNA)

Ces molécules qui ciblent des séquences d'ARNm des virus grippaux^{97, 98, 99, 100, 101} ont montré une efficacité certaine chez les modèles murins et aviaires atteints de grippe sévère. A condition que des méthodes soient développées pour permettre une administration efficace au sein des cellules infectées, la capacité de ces molécules à bloquer la traduction des ARNm viraux devrait donner à ce genre de thérapeutiques un rôle précieux dans le traitement de la maladie humaine.

e) Les inhibiteurs de la neuraminidase

La neuraminidase est une glycoprotéine de surface des virus de la grippe. Comme dit précédemment, elle agit en fin de réplication en clivant le pont entre les particules virales néoformées bourgeonnant à la surface de la cellule infectée et la membrane de celle-ci. Ce clivage s'opère au niveau de l'acide sialique présent à l'extrémité des glycoconjugués de différents constituants de la cellule hôte ainsi que du mucus.

Les inhibiteurs de la neuraminidase (INA) sont des analogues de l'acide sialique. Ils inhibent par compétition spécifique l'action de la neuraminidase en bloquant son site actif. Il s'ensuit un blocage du relargage des virions qui s'agrègent à la surface de la cellule hôte et entre eux, par liaison de leur hémagglutinine aux résidus de l'acide sialique non clivé. La dissémination virale se retrouve diminuée.

Ces molécules ont une efficacité supérieure à celle de l'amantadine et agissent même sur les souches résistantes à celle-ci. Elles sont actives sur les souches de virus aviaires, en particulier A (H5N1) au cours d'infections chez l'homme.

Deux molécules sont disponibles :

- le zanamivir (Relenza®) mis au point en 1993 et ayant obtenu son autorisation de mise sur le marché (AMM) française en juillet 1999
- l'oseltamivir (Tamiflu®) mis au point en 1997 et ayant obtenu une AMM européenne en juillet 2002.

L'oseltamivir est une prodrogue rapidement absorbée et transformée en métabolite actif (=carboxylate d'oseltamivir) par les estérases hépatiques et intestinales. Environ 80% de la dose orale atteint la circulation systémique sous forme de métabolite actif. Celui-ci est décelé dans le plasma dans les trente minutes suivant la prise. Le métabolite est distribué dans tous les tissus. La demi-vie est de six à dix heures. L'élimination se fait par voie rénale.

L'oseltamivir possède une AMM en traitement curatif chez l'adulte (75 mg deux fois par jour pendant cinq jours) et chez l'enfant de un an ou plus (2 mg par kg et par jour, durant cinq jours). Il existe également une AMM chez les sujets de 13 ans ou plus en prophylaxie post-contact (75 mg par jour en une prise pendant sept à dix jours) et en prophylaxie saisonnière (75 mg par jour en une prise jusqu'à six semaines). Quelques effets indésirables ont été décrits : nausées, vomissements, céphalées. Les tests de sensibilité in vitro ont démontré l'efficacité de la molécule sur la souche A(H5N1) circulant à Hong Kong en 1997¹⁰² et sur la souche A/Vietnam/1194/04 (H5N1) circulant dans le Sud-Est asiatique.

Cependant, il ne faut pas ignorer que l'usage de cet antiviral peut mener au développement de résistances.

La résistance à l'oseltamivir est liée à diverses mutations de la neuraminidase.

Récemment, il a été montré que la résistance du virus H5N1 à l'oseltamivir était liée à la mutation H274Y¹⁰³.

Par ailleurs, le probénécide qui est un diurétique prévient l'élimination rénale du métabolite actif de l'oseltamivir, augmentant ainsi nettement sa concentration sanguine¹⁰⁴.

Des études sur la souris ont permis de déduire qu'une exposition prolongée à l'oseltamivir et à forte dose (150 mg au lieu de 75 mg 2 fois par jour) pouvaient entraîner une meilleure efficacité¹⁰⁵.

Le zanamivir a une faible biodisponibilité orale et se présente sous la forme d'une poudre sèche inhalée à l'aide d'un diskhaler. Environ 10 à 20% du médicament atteignent les voies respiratoires basses, 70 à 80% se déposent dans l'oropharynx. Moins de 20% passent dans la circulation systémique et 90% du médicament absorbé sont excrétés sous forme inchangée dans l'urine. La demi-vie sérique est de trois à cinq heures. Le zanamivir a une AMM chez les sujets de 12 ans ou plus en traitement curatif de la grippe saisonnière à raison de dix milligrammes deux fois par jour pendant cinq jours). Les effets secondaires sont relativement rares. On note, à côté d'effets mineurs tels qu'une toux, des céphalées, une gêne au niveau de la gorge, quelques cas de bronchospasme.

Il est actif sur le virus H5N1 présentant une mutation H274Y. Bien que cela n'ait pas encore été prouvé, la résistance liée à la neuraminidase est plus probable de se développer contre l'oseltamivir que contre le zanamivir¹⁰⁶.

L'association de ces deux molécules peut être envisagée à condition que les mutations conférant la résistance à chacune des molécules ne se chevauchent pas.

D'autres inhibiteurs de la neuraminidase tels que le peramivir (RWJ270201) ont été décrits^{107, 108}. Ces deux molécules sont efficaces contre cinq variants résistants au zanamivir et six variants résistants à l'oseltamivir¹⁰⁹.

Cependant, les premières études montraient une moindre efficacité du peramivir par voie orale contre le virus de type A. Le peramivir a l'avantage d'une demi-vie plus longue, ce qui permet de réduire les posologies^{107, 108}. Les études suivantes se sont intéressées à

l'administration intraveineuse du peramivir. Un essai de phase I a montré que la molécule avait une demi-vie de 22 h dans le plasma et était bien tolérée. Une étude de phase II est en cours pour évaluer l'administration intramusculaire d'une dose unique de peramivir pour les gripes saisonnières non compliquées ; il y a également un essai en cours pour comparer l'efficacité de 5 jours de traitement par peramivir en intraveineuse et le traitement approuvé par oseltamivir per os pour les gripes sévères.

D'autres voies ont été explorées afin de développer des inhibiteurs de la neuraminidase de seconde génération. Pour cela, ont été étudiées des formes modifiées ou des formes multimériques des molécules existantes. Les formes dimériques de zanamivir sont plus efficaces *in vitro* que la forme simple. Et la demi-vie est considérablement augmentée. Administré par voie intranasale, cette forme dimérique a une rémanence d'une semaine dans le poumon d'un rat. On peut penser qu'à l'avenir une dose hebdomadaire de ce type de produit sera suffisante pour prévenir une infection grippale.

D'autres voies de recherche ont été explorées telles que les thérapies basées sur les anticorps mais aucun produit n'est utilisé en clinique⁸⁴.

Il est même possible de combiner plusieurs molécules de mécanisme d'action différent pour améliorer le résultat sur les gripes sévères. Ceci permettrait de réduire les doses de chaque molécule ainsi que les effets secondaires et l'apparition de virus résistants¹¹⁰.

Des combinaisons entre inhibiteurs de la neuraminidase et adamantanes ont été étudiées ***in vitro*** et ***in vivo***.

Quand la ribavirine est testée en combinaison avec l'un des trois inhibiteurs de la NA, toutes les trois combinaisons ont montré un bénéfice supplémentaire sur des souris infectées par le

virus A(H5N1) : l'oseltamivir seule donne 30% de chance de survie et l'amantadine seule 70%, les deux ensemble augmentent le pourcentage à 90%¹¹¹. L'association a aussi considérablement diminué le titre viral dans les poumons et prévenu la propagation au cerveau.

Dans l'unique étude sur l'homme, le traitement d'une grippe sévère par la rimantadine et le zanamivir évoquait un bénéfice, par rapport à la rimantadine seule¹¹².

III. Les épizooties de peste aviaire en France et en Europe

A. En France

1. L'arrivée du virus H5N1

Le 13 février 2006, un canard sauvage est trouvé mort dans la commune de Joyeux dans l'Ain. Le laboratoire national de référence de Ploufragan confirme l'infection par le virus H5N1 hautement pathogène.

Ce virus présente 99% d'homologie avec le virus asiatique.

Une zone de protection dans un rayon de 3 km et une zone de surveillance dans un rayon de 10 km ont été mises en place dès la suspicion.

Un second canard est retrouvé mort le 19 février sur le territoire de la commune de Bouvert, toujours dans l'Ain.

Dans le cadre de la surveillance renforcée des élevages situés dans la zone de protection de 3 km mise en œuvre autour de la commune de Joyeux, une forte mortalité a été observée le 23 février dans un élevage de plus de 11000 dindes. Le vétérinaire sanitaire ayant suspecté une IAHP a immédiatement informé la Direction Départementale des Services Sanitaires.

Des prélèvements ont été effectués sur les oiseaux touchés. L'exploitation a été isolée. Toutes les entrées et sorties dans l'élevage sont interdites sauf en cas de nécessité. De même, un dispositif de désinfection est prévu. Les équipements de protection ont été fournis aux agents habilités à intervenir dans la zone ainsi qu'à l'éleveur.

Le laboratoire a confirmé la présence du virus H5N1 chez ces dindes. Les dindes ont toutes été euthanasiées, puis détruites. Les bâtiments ont été désinfectés.

Les mesures ont été renforcées : élargissement de la zone de surveillance à 160 communes, installation de pédiluves dans les zones de protection et de surveillance, confinement de toutes les basses-cours.

Le 26 février, le laboratoire national de référence (LNR) de l'agence française de sécurité sanitaire des aliments (AFSSA) confirmait des cas positifs de virus de type H5N1 sur quinze cygnes sauvages de la région de Joyeux (Ain). Ils ont une très forte homologie avec la souche trouvée le 18 février sur le canard sauvage à Joyeux. Les 15 cygnes ont été ramassés dans des communes des étangs de la Dombes proches de Joyeux : Birieux, Marlieux, Sandrans, Versailleux, Villars les Dombes.

Deux jours plus tard, le LNR confirme la présence du virus H5N1 sur un cygne sauvage trouvé mort sur le territoire de la commune de Saint-Mitre-lès-Remparts dans le département des Bouches-du-Rhône.

La France retrouve son statut de pays indemne d'influenza aviaire dès le 18 juin 2008. Après l'élimination du foyer et en l'absence de nouvelle contamination durant 3 mois, la France a été officiellement reconnue « indemne » au regard des normes internationales.

Suite à la découverte dans le land de Bavière de deux cygnes contaminés par l'influenza aviaire hautement pathogène, la France a décidé de renforcer son dispositif de prévention et de surveillance le 25 juin 2007. Michel Barnier a choisi de passer du niveau de risque « négligeable 2 » au niveau de risque « modéré ».

Quelques temps plus tard, trois jeunes cygnes sont retrouvés morts sur un étang de la commune d'Assenoncourt (Moselle) le 27 juin 2007. ils ont été infectés par le virus H5N1. Après plusieurs cas de contamination qui seront relatés plus tard, le 8 octobre de la même

année, vu l'évolution favorable de la situation épidémiologique de l'influenza aviaire hautement pathogène à virus H5N1 sur l'avifaune sauvage, le Premier Ministre a décidé d'abaisser le niveau de risque « élevé » au niveau de risque « modéré » sur l'ensemble du territoire national. Pour la campagne de surveillance renforcée sur la faune sauvage qui n'a fait état d'aucun nouveau cas depuis 8 semaines, 787 oiseaux ont été analysés.

Le 13 octobre 2007, le niveau est abaissé au niveau de risque « faible ».

Cependant, les communes des cinq zones humides à risque prioritaire de Lorraine conserveront jusqu'au 15 novembre 2007 leur régime antérieur : interdiction des rassemblements, confinement obligatoire des volailles, interdiction d'utilisation et de transports des appelants pour la chasse au gibier d'eau. Si la situation épidémiologique se maintient, elles rejoindront le 16 novembre le régime de l'ensemble du territoire.

Suite à la découverte de trois cas d'IAHP sur trois cygnes en Angleterre, la France élève son niveau de risque de « faible » à « modéré » le 12 janvier 2008.

La situation épidémiologique étant stable en Europe, il a été décidé le 24 janvier 2008 d'abaisser le niveau de risque « modéré » au niveau de risque « faible » sur le territoire français sauf les six départements côtiers les plus proches des cas découverts en Grande-Bretagne (Finistère, Côtes-d'Armor, Ille-et-Vilaine, Manche, Calvados, Seine-Maritime).

La confirmation de cas d'IAHP en Suisse le 27 mars 2008 conduit le gouvernement français à élever le niveau de risque de « faible » à « modéré ».

Suite à l'avis de l'AFSSA du 9 avril 2008, le territoire français voit le niveau de risque passé de « modéré » à « faible ».

2. Modalités de surveillance de la mortalité des oiseaux sauvages

La mise en place de cette surveillance s'appuie sur :

- la déclaration des mortalités observées à la direction départementale des services vétérinaires (DDSV) qui centralise les appels ; la prise de décision de collecter des cadavres revient à la DDSV
- la collecte et le transport des cadavres vers le laboratoire départemental d'analyses, sont assurés par le service départemental de l'Office National de la Chasse et de la Faune sauvage et les fédérations départementales de chasseurs (FDC) en zone rurale, tandis que la gestion des cadavres d'oiseaux découverts en agglomération est organisée par le DDSV qui détermine les conditions de collecte et de transport au laboratoire départemental d'analyses vétérinaires (LDAV) des cadavres
- le traitement des cadavres par les LDAV et la prise de décision de mettre en œuvre des recherches influenza qui relève de la responsabilité de la DDSV
- la recherche et l'identification des souches virales éventuellement présentes sur les prélèvements qui sont réalisés par le LDAV de criblage agréé et le LNR.

C'est la DDSV du département où les cadavres ont été découverts qui prend la décision de collecter ou non les oiseaux. Cette décision se fait en fonction des critères d'aide à la décision :

- une série de mortalités est anormale et doit déclencher la collecte dès que l'on découvre au moins cinq cadavres d'oiseaux (d'une ou plusieurs espèces) sur un même site (500 mètres de rayon) dans un laps de temps maximal d'une semaine et ce sur tout le territoire

- des cas particuliers doivent déclencher la collecte :
 - o pour l'ensemble du territoire et quel que soit le niveau de risque épizootique, la découverte d'un seul cadavre de cygne
 - o dans les zones à risques particuliers, en cas de niveau de risque modéré ou supérieur, la découverte d'un seul cadavre d'anatidé
 - o dans les zones de restriction (protection et surveillance), la découverte d'un seul cadavre d'anatidé ou d'une autre espèce.

B. Prise en charge d'un foyer de peste aviaire : exemple de la Moselle

Le 27 juin 2007, trois jeunes cygnes tuberculés, non volants, ont été découverts morts sur l'étang de Villers de la commune d'Assenoncourt en Moselle.

Des prélèvements ont été faits et des tests approfondis ont été réalisés.

Le 3 juillet, un communiqué du Ministère de l'Agriculture et de la Pêche et un arrêté préfectoral mettent en place un dispositif suite à la découverte d'oiseaux sauvages morts.

L'arrêté définit tout d'abord des périmètres :

- une zone de contrôle délimitée par un cercle d'un rayon de 1 km autour de l'étang de Villers où ont été découverts les trois cygnes suspectés d'être atteints par l'influenza aviaire
- une zone d'observation constituée par les communes listées dans la figure 8 au delà du périmètre de la zone de contrôle.

La zone de contrôle



La zone d'observation

ASSENONCOURT (sauf partie intégrée dans la zone de contrôle)
AVRICOURT (lieu-dit Nouvel Avricourt)
AZOUDANGE
BELLES-FORETS (lieu-dit Angviller les Bisping)
BERTHELMING
BOURDONNAY
DESSELING
DIANE CAPELLE
DIEUZE
FENETRANGE
FOULCREY
FRIBOURG

GELUCOURT
GONDREXANGE
GOSSELMING
GUERMANGE
KERPRICH AUX BOIS
LANGATTE
LANGUIMBERG
LINDRE BASSE
LOUDREFING
MAIZIERES LES VIC
MITTERSHEIM
MOUSSEY (lieu-dit Bataville)
NIEDERSTINZEL
RECHICOURT LE CHATEAU
RHODES
ROHRBACH LES DIEUZE
ROMELFING
ST GEORGES
ST JEAN DE BASSEL
TARQUIMPOL
ZOMMANGE

Figure 8 : Zone de contrôle et zone d'observation définis par l'arrêté préfectoral du 3 juillet 2007 en Moselle.

Des mesures ont été établies en vue d'être appliquées dans les différentes zones.

Pour les oiseaux en captivité :

- recensement des exploitations détenant des oiseaux exceptées celles correspondant à des lieux à usage d'habitation ou de bureau (où les oiseaux sont détenus en permanence)
- interdiction des entrées et des sorties des volailles et oiseaux captifs des explorations. Cette mesure ne s'applique que pendant les quinze premiers jours suivant la date à laquelle a été établie la zone d'observation
- confinement des volailles et gibiers à plumes

- confinement des autres oiseaux captifs sauf s'ils sont soumis à un programme officiel de vaccination contre le sous-type H5 de l'influenza aviaire
- nettoyage et désinfection des roues des véhicules rentrant dans les exploitations
- utilisation obligatoire d'un pédiluve contenant un désinfectant pour toute personne entrant ou sortant d'un élevage d'oiseaux. L'emploi du pédiluve peut être remplacé par l'utilisation de chaussures réservées à la zone d'élevage
- seules les personnes indispensables au fonctionnement de l'élevage peuvent pénétrer à l'intérieur des sites d'élevage
- interdiction des rassemblements d'oiseaux.

Pour l'avifaune sauvage :

- surveillance renforcée des populations d'oiseaux sauvages
- interdiction de la chasse aux oiseaux
- interdiction du lâcher de gibiers à plumes.

Par ailleurs, certaines mesures relatives aux carnivores domestiques ont été envisagées :

- les chiens doivent être tenus à l'attache ou enfermés. Ils peuvent circuler sur la voie publique s'ils sont tenus en laisse ou sont sous contrôle direct de leur maître
- les chats doivent être tenus enfermés
- les chats peuvent être transportés en cage, en panier ou à l'intérieur d'une voiture
- toute symptomatologie ou mortalité de chats pouvant être liée à l'IAHP doit être signalée.

Le 5 juillet 2007, le laboratoire national de référence de Ploufragan a confirmé l'infection par le virus H5N1 chez les trois cygnes retrouvés morts.

Un nouvel arrêté préfectoral confirme les mesures de précaution prises dès le 3 juillet.

Ces mesures restent applicables vingt et un jours à compter de la date de réalisation du dernier prélèvement positif en H5N1.

L'objectif de ces mesures est d'éviter le passage du virus H5N1 de la population d'oiseaux sauvages aux volailles domestiques.

La profession agricole, les éleveurs, les vétérinaires sanitaires et les services de l'administration sont en contact régulier.

Une fois les mesures levées, la zone de contrôle est soumise aux mêmes règles que la zone d'observation. Dans cette dernière, les mesures applicables peuvent être levées après un délai de dix jours suivant la levée des mesures dans la zone de contrôle. Le non-respect des mesures prises par cet arrêté expose à des procès verbaux.

Par ailleurs, le ministre de l'Agriculture et de la Pêche, Michel Barnier, met en place des mesures de prévention du risque correspondant au passage du niveau « modéré » au niveau « élevé » conformément aux dispositions réglementaires.

Ces mesures s'appliquent à tout le territoire métropolitain. Les détenteurs de volailles et d'oiseaux d'agrément doivent mettre en œuvre les mesures de protection suivantes :

- les volailles et les oiseaux doivent être protégés afin de prévenir tout contact direct ou indirect avec les oiseaux vivant à l'état sauvage ou faire l'objet de mesures alternatives avec une visite vétérinaire d'évaluation. Cette visite doit être renouvelée à une fréquence mensuelle dans les 98 zones humides à risque déterminées par l'Office National de la Chasse et de la Faune sauvage

- les rassemblements de volailles et les compétitions de pigeons sont interdits.

En France, le dispositif de prévention et de lutte contre l'influenza aviaire repose sur une surveillance continue de la faune sauvage et des élevages, et sur la mise en place de mesures proportionnées au niveau du risque. Sur le terrain, la mobilisation de tous les acteurs de ce dispositif (éleveurs, services vétérinaires, office de la chasse...) concourt à la protection des élevages français.

Les mesures prévues par l'arrêté du 5 juillet 2007 ont été levées à partir du 28 juillet.

Cependant, la surveillance de la mortalité des oiseaux doit être poursuivie conjointement selon les protocoles en vigueur, par les agents de la Direction des Services Vétérinaires et de l'Office National de la Chasse et de la Faune Sauvage. Le risque épizootique est maintenu élevé sur l'ensemble du territoire national.

Le 29 juillet 2007, deux cygnes sont retrouvés morts sur l'étang de la Grande Creusière à Diane-Capelle à proximité du premier d'Assenoncourt.

La Préfecture de la Moselle a reconduit les mesures de prévention établies auparavant. Outre les communes précédemment concernées, deux communes supplémentaires rentrent dans la zone d'observation : Barchain et Bebing.

Les résultats des premières analyses font état d'une suspicion d'influenza aviaire. Les résultats ont été confirmés par RT-PCR (amplification génomique en chaîne avec polymérase-transcriptase inverse).

Quatre canards ont été à nouveau trouvés morts sur l'étang de Diane-Capelle le 8 août 2007.

Ils ont été confirmés positifs au virus H5N1 par le laboratoire national de référence de Ploufragan le 14 août. L'arrêté préfectoral en vigueur depuis le 31 juillet 2007 est donc prolongé jusqu'au 8 septembre.

L'absence de nouveaux cas d'IAHP sur des oiseaux sauvages depuis la découverte en Moselle des ces trois cygnes a conduit le Ministère de l'agriculture et de la pêche à saisir le 16 juillet l'agence française de sécurité sanitaire des aliments (AFSSA) afin de réévaluer le risque influenza aviaire hautement pathogène lié aux pigeons voyageurs.

En effet, la présence du virus dans la faune sauvage pendant la période estivale paraissait surprenante. L'hypothèse la plus plausible concernant l'origine de la contamination de l'étang de Lindre semble être l'arrivée massive de fuligules milouins et nycoras en provenance d'Allemagne et de République tchèque.

Les trois jeunes cygnes retrouvés morts à Assenoncourt étaient « non volants », c'est-à-dire encore très jeunes. Leurs parents n'ont pas manifesté de signes de l'IAHP. Mais l'étang où ces oiseaux ont été découverts est un important site de mues post-nuptiales pour les fuligules milouins. Ces canards auraient donc pu amener le virus depuis leur site de reproduction en Europe du Nord et de l'Est et contaminer les jeunes cygnes plus vulnérables à la maladie. Jusqu'à l'émergence de la lignée asiatique du virus H5N1, les pigeons ont été considérés comme très peu réceptifs aux virus influenza aviaires. En décembre 2002-janvier 2003, le virus a été isolé à Hong Kong chez un pigeon trouvé mort dans la zone de quarantaine de l'un des deux parcs ornithologiques touchés. Puis en 2004, le virus a été isolé chez des pigeons morts en Thaïlande.

Le pigeon se révélerait donc une espèce réceptive et sensible à l'infection dans des conditions naturelles au virus H5N1 hautement pathogène mais on ne connaît pas la dose minimale infectante, ni son rôle dans la propagation de la maladie dans l'avifaune sauvage ou domestique.

Le groupe d'expertise collective d'urgence « Influenza aviaire » GECU IA recommande, en qui concerne les pigeons voyageurs, de ne pas interdire leurs rassemblements, de lever la suspension temporaire des lâchers de pigeons pour participation aux compétitions sportives sauf lorsqu'elles comportent un départ, une arrivée ou un survol des zones infectées.

Si de nouveaux foyers d'IAHP sont découverts dans d'autres zones que celle initialement identifiée, il faut appliquer l'interdiction des courses de pigeons voyageurs sur l'ensemble du territoire métropolitain et l'autorisation seule des sorties de pigeons voyageurs à proximité immédiate du pigeonnier et des autres oiseaux utilisés à des fins de sécurité civile ou militaire sous la supervision directe du détenteur.

En ce qui concerne les pigeons de sport dits « culbutants » et « haut-volants » qui restent sur place au-dessus de leurs pigeonniers et ne présentent aucun risque, le GECU IA recommande de permettre la poursuite de leur activité quel que soit le niveau de risque, hors des périmètres de protection en zone infectée.

Par ailleurs, concernant les compétitions internationales, notamment celles en lien avec l'Allemagne ou tout autre pays dans lequel la situation épidémiologique de l'IAHP reste évolutive et touche plus d'une région ou zone géographique, le GECU IA considère qu'il n'est pas souhaitable de permettre les compétitions des pigeons voyageurs utilisant des oiseaux en provenance de ces pays infectés ou d'oiseaux partant ou survolant ces mêmes pays.

C. L'IAHP en Europe

La panzootie actuelle a démarré en décembre 2003 et s'est propagée courant 2004 en Asie.

Le premier pays européen à faire état d'une contamination de l'avifaune par le virus H5N1 est la Russie. Le virus identifié s'est génétiquement révélé proche du virus isolé au lac de Qinghai (A/Qinghai/05 H5N1).

Le virus s'est ensuite propagé vers la Roumanie et la Croatie en octobre 2005, puis l'Ukraine en décembre. En février 2006, le nombre de pays européens touchés explose : Bulgarie, Slovénie, Grèce, Italie, Allemagne, Autriche, Slovaquie, Suisse, Hongrie, France.

Nous nous limiterons aux pays limitrophes de la France et ce à cause de l'impact sur les mesures de prévention prises sur le territoire.

1. En Allemagne

De février à mai 2006, l'Allemagne a connu un grand nombre de cas dans la faune sauvage.

Durant le mois de février, de nombreux oiseaux sauvages ont été retrouvés morts sur l'île de Rügen. Il s'agissait de cygnes mais également de canards et d'oies. Le virus a été également isolé chez des chats.

Le virus a vite gagné le continent.

En mars, une fouine est retrouvée, infectée par le virus H5N1.

L'infection des chats et de la fouine s'expliqueraient par le fait qu'ils aient consommé des oiseaux eux-mêmes contaminés. En effet, selon des études phylogénétiques, des comparaisons

avec la souche ayant contaminé les cygnes de l'île de Rügen ont montré une très grande similitude entre les souches A/cygne chanteur, *Cygnus cygnus*/Allemagne/R65/2006 et A/chat/Allemagne/R606/2006.

Au 3 mai 2006, 339 cas d'IAHP avaient été identifiés dans l'avifaune sauvage pour un total de 123 foyers. Le dernier cas a été découvert en Bavière le 12 mai.

Le 2 août 2006, le virus H5N1 est isolé sur un cygne mort à Dresde, dans le land de Saxe.

Il faudra attendre près d'un an pour voir le virus réapparaître en Allemagne. En 2007, à la fin du mois de juin, le virus H5N1 est découvert chez six cygnes et canards sauvages morts.

Quelques jours plus tard, le virus est détecté sur trois cygnes au sud de Leipzig. Début juillet, les länder de Saxe Anhalt et Thuringe font état de plusieurs cas dans l'avifaune sauvage. Au 26 juillet, l'OIE dénombrait 264 foyers pour 284 cas d'IAHP dans l'avifaune sauvage.

Le 25 août, un élevage de canards est touché. 4000 sont découverts morts, le reste est détruit.

2. En Suisse

Le 26 février 2006, un harle bièvre est retrouvé mort dans le port de la ville de Genève. Le 2 mars, un fuligule morillon est retrouvé mort dans le canton de Thurgau et un foulque macroule dans le canton de Zurich.

Deux jours plus tard, un fuligule milouin est retrouvé mort dans le canton de Thurgau. Les 6 et 11 mars, un grèbe castagneux, un fuligule milouin et un fuligule morillon sont découverts morts dans le canton de Schaffhausen.

Le 10 mars, deux canards sont retrouvés dans le canton de Zurich.

Ces cas ont tous été détectés à proximité du lac de Constance, un grand lac située entre l'Allemagne, l'Autriche et la Suisse.

3. En Espagne

Le seul cas et unique cas d'IAHP en Espagne a été signalé le 7 juillet 2006. Un grèbe huppé a été retrouvé mort le 30 juin dans le marais de Salburua dans la commune de Vitoria. Il était porteur du virus H5N1.

COMMENT EVITER LA PANDEMIE GRIPPALE LIEE AU VIRUS A (H5N1) ?

D. Définition d'une pandémie grippale

D'après le plan national « Pandémie grippale », une pandémie grippale est définie comme une forte augmentation dans l'espace et dans le temps des cas de grippe. Elle résulte de l'introduction dans l'espèce humaine, le plus souvent à partir d'un réservoir animal, d'un virus de composition antigénique nouvelle contre lequel l'immunité de la population est faible ou nulle. Cela entraîne un nombre de cas important et une mortalité élevée. Elle fait suite à une cassure antigénique.

Les pandémies ont la particularité de toucher toutes les régions du monde, indépendamment de leur niveau socio-économique ou de leur niveau de développement des soins de santé, d'hygiène et de l'assainissement.

Plusieurs pandémies sont survenues au cours du XXème siècle, provoquant plusieurs millions de morts.

Une pandémie peut se déclencher quand trois conditions sont remplies :

- l'émergence d'un nouveau sous-type de virus grippal,
- l'infection de l'homme par ce virus qui provoque une pathologie grave,
- la propagation interhumaine aisée et durable du virus.

Dans le cas du virus H5N1, les deux premières conditions sont remplies : il s'agit d'un nouveau virus pour l'homme et d'un virus qui a infecté plus de 100 sujets humains dont

plus de la moitié sont morts. Personne ne disposera d'une immunité en cas d'un virus H5N1 humanisé.

Le risque de voir un virus H5N1 acquérir la capacité de se transmettre d'homme à homme subsistera tant que les occasions d'infection de sujets humains existent.

L'extension d'une pandémie se fait généralement en vagues successives pouvant s'installer en deux à quatre semaines et durer chacune entre huit et douze semaines, séparées de quelques mois, voire davantage. Toutefois, en raison de la mondialisation des échanges, une extension sans vagues successives mais avec des pics associés avec un fond permanent de cas est tout à fait possible.

Il est donc important que des mesures soient mises en place par les différents gouvernements pour assurer la protection des populations. Pour cela, l'Organisation Mondiale de la Santé a instamment demandé à tous les pays de mettre au point des plans de préparation et à ceux ayant des ressources suffisantes de stocker des antiviraux au niveau national pour les utiliser dès le début d'une pandémie.

Ces plans de préparation visent à renforcer la préparation nationale, à réduire les occasions de l'émergence d'un virus pandémique, à améliorer le système d'alerte avancée, à retarder la propagation internationale initiale et à accélérer la mise au point de vaccins.

E. Les organismes internationaux de surveillance

1. L'Organisation Mondiale de la Santé (OMS)

Il s'agit d'une organisation dépendant de l'Organisation des Nations Unies (ONU). L'OMS joue un rôle important dans la lutte contre l'influenza aviaire et sa transmission à l'homme. Elle a en effet développé depuis des années un programme de contrôle et de surveillance de la grippe qui vise à coordonner les actions globales et nationales, à centraliser et analyser les données recueillies afin de gérer les épidémies annuelles, de faire diminuer la mortalité et la morbidité dues à ces épidémies et préparer une éventuelle pandémie. Ce programme aborde différents points :

- le renforcement de la surveillance virologique et épidémiologique nationale et internationale
- la prise en compte des éléments de surveillance de la grippe animale (notamment aviaire) dans les programmes de surveillance de la grippe humaine
- l'amélioration du recueil, de l'utilisation, de l'échange et du traitement des données
- la promotion pour l'utilisation des vaccins antigrippaux
- l'aide aux pays pour l'implémentation d'une politique sanitaire de vaccination de vaccination et la préparation de plans de lutte contre les pandémies.

L'OMS coordonne le réseau international de surveillance de la grippe, composé d'une part de 110 centres nationaux de référence de la grippe répartis dans 83 pays et d'autre part, de

quatre grands centres mondiaux de la grippe, situés à Atlanta, Londres, Melbourne et Tokyo. Elle peut ainsi rassembler grâce à son réseau de surveillance les analyses détaillées des prélèvements animaux et humains effectués au cours d'une année, ce qui permet de détecter les variations génétiques des souches circulantes et de déterminer la composition des vaccins de la prochaine saison hivernale.

2. L'OIE

L'Office International des Epizooties, désormais appelée Organisation Mondiale de la Santé Animale, est un organisme international regroupant actuellement 167 pays. Elle a pour mission principale de recueillir les déclarations de maladies animales et de diffuser ces informations à tous les pays membres pour qu'ils puissent se protéger des épizooties. On trouve sur leur site, tous les rapports officiels suite à des épisodes d'influenza aviaire ainsi que des normes et règles sanitaires internationales qui font référence dans le domaine animale. Dernièrement, elle émet des recommandations en cas de crise.

3. L'European Influenza Surveillance Scheme (EISS)

L'EISS est un réseau d'alerte de la grippe européen. Il regroupe 14 pays dont la France. Il collecte les données virologiques et cliniques concernant les virus ***Influenza***. Son but est de faciliter les échanges d'informations sur l'activité grippale, de fournir aux autorités une description de la situation de la grippe en Europe. Il contribue à la détermination de la

composition vaccinale et, le cas échéant, à donner l'alerte. Pour ce faire, il travaille en collaboration avec un réseau de laboratoires de référence spécialisés dans le diagnostic de la grippe. Ces laboratoires sont désignés par l'Union européenne et l'OMS¹¹³.

F. Les réseaux de surveillance en France

1. Objectifs

La grippe est une maladie banale, fréquente, susceptible de toucher plusieurs millions d'habitants. Elle est à l'origine d'une morbidité importante ; et elle coûte cher.

C'est un véritable problème de santé publique. Il était donc essentiel de mettre en place un système de surveillance épidémiologique.

La surveillance de la grippe permet :

- la connaissance précoce d'une alerte épidémiologique qui permet la limitation des conséquences sur le système de soins : ruptures de stock médicamenteux, désorganisation de la prise en charge en ville ou en hôpital
- la connaissance des souches de virus grippal en circulation pour la réalisation des vaccins adéquats et pour la recherche d'un éventuel virus émergent à potentiel pandémique
- la mise en place de protocoles de soins, par exemple sur le bon usage des antibiotiques ou de molécules antivirales.

Pour résumer, elle a pour but d'alerter et de détecter, de mesurer l'impact épidémique et d'aider à la décision (prise en charge adaptée à la pathologie).

2. Les différents types de réseaux

Il existe deux types de réseaux de surveillance : les réseaux de laboratoires et les réseaux de surveillance en population générale.

a) Les réseaux de laboratoire

Ce sont les Centres Nationaux de Référence (CNR). Ils sont répartis dans 83 pays et articulés autour de 4 centres mondiaux. C'est sur eux que l'OMS s'appuie pour son travail de surveillance.

Ils assurent la détection précoce et la caractérisation des virus grippaux en circulation. L'analyse de ces virus sert de base aux recommandations faites chaque année pour la composition des vaccins et participe à la recherche d'un virus potentiellement pandémique. En France, il existe deux CNR : l'institut Pasteur de Paris et les Hospices Civils de Lyon qui centralisent les informations du réseau national des laboratoires hospitaliers (RENAL). Parallèlement, des réseaux de surveillance de la grippe animale ont été mis en place, notamment en aviculture.

b) Les réseaux de surveillance en population générale

Ces réseaux se sont mis en place en s'appuyant sur le travail des soignants de première ligne : médecins de ville, pharmaciens... Ceux-ci peuvent ainsi fournir deux types de données de surveillance épidémiologique :

- des données cliniques : ce sont des indicateurs d'activité sanitaire. On utilise le décompte du nombre de patients présentant un tableau clinique compatible avec la grippe. Des définitions de cas standardisés sont transmises aux médecins mais peuvent varier.
- des données virologiques : recherche de virus grippaux par prélèvement rhinopharyngé de patients consultant pour un tableau d'allure grippale. Les différentes techniques utilisées sont la détection par méthode immunoenzymatique directe, la détection de l'activité agglutinante des virus par des sérums spécifiques de furet, la RT-PCR suivie ou non de séquençage.

En France, deux réseaux cohabitent depuis 1984 :

- les groupes régionaux d'observation de la grippe (GROG) : ils sont reliés à des structures de même type en Europe au sein du réseau EISS (European Influenza Surveillance Scheme). Leur objectif principal est la détection précoce et régionalisée de la circulation des virus grippaux et la mise en alerte du système de soins. Le principe repose sur la confrontation hebdomadaire :
 - o d'indicateurs épidémiologiques d'activité sanitaire recueillis auprès de nombreuses vigies de première, volontaires. Ces vigies sont des médecins (généralistes, pédiatres, SOS médecins), des pharmaciens,

des médecins conseils. L'indicateur principal est le décompte des infections respiratoires aiguës répondant à la définition de cas retenue ;

- o et de données virologiques émanant de l'analyse par les deux centres nationaux de référence et par les cinq laboratoires hospitaliers des prélèvements rhinopharyngés réalisés par les médecins chez des patients présentant une IRA.

L'ensemble des données de la semaine écoulée est centralisé et analysé à l'échelon régional, puis national avant le mardi soir suivant, permettant une synthèse et un retour d'information vers les acteurs du réseau et les autorités sanitaires. Pendant la période de surveillance intensive (octobre à avril), les GROG mettent en ligne, chaque mercredi, sur leur site Internet, un bulletin épidémiologique hebdomadaire.

Dès le début de l'épidémie, l'analyse des premières fiches cliniques permet de décrire les particularités cliniques des virus en circulation et d'analyser les éventuels cas de grippe chez des personnes vaccinées.

A la fin de chaque hiver, un échantillon de personnes ayant eu une grippe confirmée fait l'objet d'une enquête rétrospective : description des soins reçus, coût direct d'un cas de grippe en fonction de l'âge et de l'intensité des symptômes.

- le réseau Sentinelles (ex RNTMT=Réseau National Téléinformatique de surveillance et d'information sur les Maladies Transmissibles) : il a été développé par l'INSERM (Institut national de la Santé et de la Recherche

Médicale). Il s'articule autour de 1260 médecins généralistes libéraux en activité dont une partie se connecte volontairement sur Internet chaque semaine afin de saisir des informations épidémiologiques concernant des pathologies transmissibles fréquentes en ville dont les syndromes grippaux. Ainsi chaque semaine, les incidences estimées pour la France et la région sont automatiquement redressées selon le niveau de participation régional des médecins du réseau rapporté au nombre de médecins de ville en activité. Le suivi permanent du statut vaccinal des cas de grippe clinique permet une surveillance constante de l'efficacité vaccinale de terrain. De même que le suivi des hospitalisations liées à la grippe permet d'évaluer la gravité des épidémies. Le retour d'information consiste dans la mise à disposition de cartes, de graphiques et de tableaux de données de la situation épidémiologique ainsi que d'animations et de prévisions des épidémies de grippe. Un bulletin hebdomadaire de surveillance et de prévision des épidémies « Sentiweb Hebdo » est publié sur le site et automatiquement adressé à l'ensemble du réseau « Cegetel. rss ».

3. Résultats de la surveillance

Les données recueillies par les différents réseaux permettent la constitution d'une base de données considérable permettant de développer des modèles prévisionnels, d'affiner les critères d'alerte et d'effectuer des estimations de l'impact sanitaire et économique des différentes épidémies. Ainsi sont les objectifs de la surveillance, comme nous les avons définis auparavant.

Pourtant, il subsiste encore certains facteurs limitants à cette surveillance :

- profil clinique variable selon les saisons pouvant rendre caduques les définitions de cas
- signification différente du dépassement du seuil épidémique pour les épidémiologistes et la population générale
- manque d'intérêt de certains soignants de terrain pour rechercher les informations et les utiliser
- confrontation des données de différents systèmes existants rendue difficile par l'absence d'harmonisation et de mise en commun de données exhaustives.

G. Prévention des épizooties et de leur extension

Le ministère de l'agriculture surveille la présence de virus influenza chez les animaux et veille :

- à la mise en application des mesures réglementaires de protection des élevages vis-à-vis des risques de contamination à partir du milieu sauvage ou d'autres élevages

- au maintien d'un système performant de vigilance et d'alerte
- à l'actualisation et au contrôle de l'efficacité des plans d'urgence départementaux.

Ces mesures s'inscrivent dans le dispositif sanitaire européen.

1. Les niveaux de risque épizootique

Une échelle du risque épizootique pour le territoire métropolitain a été établie en fonction de la menace que représente le virus dans l'avifaune. Cette échelle fait apparaître différents niveaux qui régissent les mesures de surveillance et de protection des élevages. Ces niveaux sont au nombre de six :

- niveau négligeable 1 : absence de cas d'influenza aviaire en France, dans les couloirs de migration passant par la France et dans les zones de départ de ces couloirs
- niveau négligeable 2 : présence de cas dans les zones de départ des couloirs de migration
- niveau faible : absence de cas en France, présence de cas dans les couloirs de migration dans des pays non limitrophes
- niveau modéré : présence de cas dans les couloirs de migration dans des pays limitrophes
- niveau élevé : présence de quelques cas isolés en France ou cas groupés dans une unité écologique. La notion d'«unité écologique» correspond à la détermination d'un périmètre écologiquement homogène en terme de

fréquentation par l'avifaune, considéré comme infectée dès lors que plus de deux oiseaux sauvages infectés sont identifiés

- niveau très élevé : présence de plusieurs cas isolés en France ou cas groupés dans deux unités écologiques ou plus.

2. La surveillance des élevages et de la faune sauvage sur le territoire national

La surveillance active conduite par les services vétérinaires départementaux a pour but de repérer la présence de souches H5 ou H7 dans les élevages de volailles les plus sensibles. Les épizooties passées montrent en effet qu'une souche hautement pathogène apparaît le plus souvent quelques semaines à quelques mois après la circulation dans ces élevages d'une souche faiblement pathogène H5 ou H7. Cette surveillance suit les directives de l'Union européenne qui a demandé à ses états membres de renforcer les plans de surveillance des virus influenza : un échantillon d'élevages est ainsi analysé chaque année en France.

La surveillance passive des élevages est réalisée par les éleveurs et par les vétérinaires disposant d'un mandat sanitaire ; les éleveurs sont informés des critères d'appel au vétérinaire ; tout signe pouvant être lié à l'influenza impose la déclaration de suspicion au directeur départemental des services vétérinaires (DDSV). La suspicion entraîne la séquestration de l'élevage et des analyses. Les mesures sont levées lorsque tout risque d'infection est écarté. Cette surveillance est renforcée dès le niveau de risque épizootique modéré.

La surveillance de la faune sauvage est réalisée par des campagnes de prélèvements sur les oiseaux connus comme « réservoirs » des souches faiblement pathogènes et par la conduite d'analyses en cas de mortalité significative inexplicée. La surveillance est renforcée dès le niveau de risque épizootique faible.

La veille épidémiologique est assurée au niveau mondial par l'OIE. Le ministère de l'agriculture ainsi que la Commission européenne est en liaison permanente avec l'OIE.

3. La protection des élevages de volailles et des autres oiseaux

En accord avec la Commission européenne, la France a pris des mesures visant à limiter les risques d'introduction de la maladie animale dans l'Union européenne. Il est notamment interdit d'importer des oiseaux vivants et des produits non traités de volailles en provenance de pays infectés par l'influenza aviaire.

Les éleveurs français sont régulièrement sensibilisés aux règles de protection sanitaire des élevages et se doivent de se respecter un guide de bonnes pratiques d'élevages :

- barrières sanitaires à l'endroit des personnes et des véhicules provenant d'autres élevages,
- nettoyage et désinfection réguliers des locaux,
- prévention des contacts étroits entre oiseaux domestiques et oiseaux sauvages.

Les rassemblements d'oiseaux sont interdits dans les zones à risque à partir du niveau de risque faible et sur tout le territoire métropolitain à partir du niveau de risque élevé. Un

arrêté fixe les conditions de vaccination des oiseaux des espèces rares ou protégées ainsi que les oiseaux d'agrément ou d'ornement qui ne peuvent être confinés ou protégés par un système équivalent.

4. Le plan d'urgence « Peste aviaire »

Pour faire face à un éventuel foyer d'influenza aviaire dans un élevage, un plan d'urgence indiquant les démarches à suivre a été élaboré au niveau national.

En cas de suspicion dans un élevage de volailles, les mesures à prendre sont :

- la publication d'un arrêté préfectoral de mise sous surveillance
- la séquestration de l'élevage
- les prélèvements pour analyses
- la mise en place des dispositifs de contrôle de tous les mouvements (personnes, autres animaux, ...) et de désinfection des véhicules qui sortent de l'élevage
- une enquête épidémiologique visant à déterminer les élevages à la source de l'infection, ceux pouvant avoir été contaminés à partir de cet élevage, et les produits et denrées pouvant être contaminés.

En cas de foyer confirmé, les mesures prévues sont :

- la publication d'un arrêté préfectoral portant déclaration d'infection
- l'abattage immédiat sur place des volailles infectées

- la destruction des cadavres et de tous les produits ne pouvant être désinfectés
- le nettoyage et la désinfection des locaux
- la mise en place d'une zone de protection (rayon minimal de 3 km) et d'une zone de surveillance (rayon minimal de 10 km).

L'Etat prend en charge les visites vétérinaires de contrôle, les analyses de laboratoire, les pertes subies par l'éleveur concerné par les volailles ou les oiseaux déclarés infectés : valeur de remplacement des animaux battus, perte de production liée au blocage de l'exploitation, remboursement des produits et denrées détruits sur ordre de l'administration, frais liés à la désinfection.

H. Prévention de la transmission à l'homme

1. La vaccination

Comme dit auparavant, la prévention contre passe principalement par la vaccination même s'il est vrai qu'il n'existe aucun vaccin contre le virus H5N1. Cependant en empêchant le virus de la grippe humaine de se développer chez l'homme, on diminue les chances de recombinaison génétique entre un virus aviaire et un virus humain chez l'homme. Jusqu'alors il a été impossible de produire des souches vaccinales contre le virus A(H5N1) mais on peut considérer quatre approches pour cette génération de vaccins :

- un vaccin inactivé à partir d'une souche A(H5N1) isolée chez l'homme. La faisabilité de cette approche pose deux problèmes : elle est limitée techniquement par la létalité du virus sur les embryons de poulet et sa croissance insuffisante pour sa propagation dans les oeufs fertilisés ; de plus, la manipulation de souches virales hautement pathogènes soulève la question de la sécurité des personnels de laboratoire et nécessite un niveau de confinement trois au minimum
- un vaccin inactivé préparé à partir d'une souche virale avirulente, antigéniquement proche d'une souche virale A(H5N1) isolée chez l'homme et capable d'induire la fabrication d'anticorps contre la souche pathogène (comme le vaccin issu de la souche A/duck/Singapore/97 (H5N3)
- l'utilisation de l'hémagglutinine HA comme molécule immunogène unique :
 - o dans un vaccin à ADN nu ou vaccin génétique : le gène de HA est introduit directement dans l'organisme, le plus souvent dans les cellules musculaires par voie musculaire ; le vaccin est produit, in situ, dans l'organisme à immuniser
 - o par la production d'une hémagglutinine recombinante dans un système d'expression de type adénovirus humain, dans lequel le gène codant pour HA est inséré dans le génome du vecteur viral, qui exprimera ensuite HA à sa surface. Le vecteur est inclus dans le vaccin, injecté par voie intramusculaire ou par voie intranasale, agit comme un système de délivrance d'antigènes au système immunitaire

- o par la production d'une hémagglutinine recombinante dans un système d'expression de type ***baculovirus***¹¹⁴ dans lequel un baculovirus génétiquement modifié pour l'expression de HA est introduit et propagé dans des cellules d'insectes en culture. La protéine recombinante exprimée est ensuite extraite et purifiée, et peut servir de base à des vaccins sous-unités ; elle est souvent administrée avec un adjuvant qui potentialise leur pouvoir immunogène
- un vaccin conventionnel préparé à partir de virus réassortis à haut potentiel de multiplication, porteurs des gènes HA et NA d'une souche A(H5N1) isolée chez l'homme et des gènes internes d'une souche vaccinale mère telle que PR8 ou A/Ann Arbor/6/60 adaptée au froid¹¹⁵. L'hémagglutinine est rendue avirulente par une modification de la séquence qui code pour son site de clivage^{116, 117, 118}.

L'efficacité des vaccins antigrippaux humains est basée sur la synthèse d'anticorps neutralisants dirigés contre l'antigène majeur des virus influenza : l'hémagglutinine HA. En 1997, le virus A/Hong Kong/97 (H5N1) est isolé et mis en cause pour la première fois dans des cas humains de grippe aviaire. Une souche variante non pathogène du virus, la souche A/Duck/Singapore-Q/F119-3/97 (H5N3) est testée cliniquement en tant que vaccin candidat en raison d'une similitude antigénique suffisante avec la souche A(H5N1) d'origine humaine et aviaire. Le vaccin sous-unité sans adjuvant est faiblement immunogène quelles que soient les doses utilisées. Des taux protecteurs d'anticorps

neutralisants sont atteints uniquement par l'utilisation d'adjuvant immunologique, tel le MF59 (qui est une émulsion huile/eau) et deux doses vaccinales de 7,5 µg ¹¹⁹.

L'immunogénicité et la tolérance d'un vaccin exprimant l'hémagglutinine recombinante H5, générée par un système d'expression ***baculovirus*** à partir d'un isolat humain, de la souche A/Hong Kong/156/97 (H5N1) ont été testées chez 147 adultes sains ; une immunité protectrice est atteinte uniquement dans 50% des cas pour les dosages les plus élevées d'hémagglutinine (90 µg) et deux doses vaccinales. On peut penser d'hémagglutinine plus élevées et/ou l'addition d'adjuvants améliorerait la réponse immunitaire ¹²⁰.

Un certain nombre d'essais cliniques sur des vaccins candidats réalisés à partir des souches A(H5N1) circulant dans le sud-est asiatique en 2004 et 2005 sont en cours ou planifiés. Par exemple, en décembre 2005, Sanofi Pasteur a annoncé les premiers résultats des études réalisées en Europe et notamment en France, sur un vaccin prototype inactivé adjuvé (aluminium) contre le virus H5N1, réassorti par génétique inverse, produit par le NIBSC (Institut National des Standards et Contrôles Biologiques), au Royaume-Uni.

2. Les antiviraux

Les adamantanes ne sont pas indiqués en prophylaxie des infections humaines à A(H5N1). En effet, la protéine M2, cible de ces molécules, présente une substitution d'acide aminé à la position 31. Cette mutation confère inévitablement une résistance.

Les inhibiteurs de la neuraminidase ont démontré leur efficacité dans la prévention de la grippe saisonnière ^{121, 122, 123}. L'oseltamivir a été utilisé efficacement pour contrôler la transmission du virus A(H7N7) chez l'homme aux Pays Bas en 2003 ^{94, 95}. Une dose de 75

mg par jour a été administrée chez les personnes exposées professionnellement et leur famille.

Cependant en ce qui concerne le virus A(H5N1), des cas de résistance à l'oseltamivir ont été rapportés. Le premier cas de résistance a été documenté en 2005 au Vietnam ¹²⁶. Il concernait une fille de 14 ans de la région de Hanoi qui avait soigné son frère également atteint. Pendant 4 jours, elle avait reçu une dose prophylactique de 75 mg d'oseltamivir par jour. Malheureusement son état s'aggravant, elle reçut un traitement à raison de 75 mg deux fois par jour pendant 7 jours. La fille a survécu et les études virologiques ont montré une mutation H274Y, c'est-à-dire qu'une histidine avait été remplacée par une tyrosine en position 274. Cette substitution conférait une forte résistance vis-à-vis de l'oseltamivir.

L'OMS recommande l'utilisation de l'oseltamivir chez les personnes en contact avec un sujet atteint par le virus A (H5N1) à la dose de 75 mg par jour chez l'adulte pendant sept à dix jours, et à des doses adaptées en fonction du poids chez l'enfant de plus d'un an. Pour les expositions prolongées et/ou répétées comme chez le personnel soignant et les personnes impliquées dans les opérations de destruction des élevages de volaille, des cures préventives ou un traitement continu peuvent être nécessaires.

3. Les mesures d'hygiène

L'hygiène occupe une place importante dans la lutte contre la transmission du virus à l'homme. Il ne faut pas la négliger.

A commencer par :

- un lavage des mains fréquent à l'eau et au savon ou avec un soluté hydro-alcoolique

- éviter la consommation de produits alimentaires crus ou peu cuits
- le port de masques en présence de personnes malades.

On y reviendra plus amplement dans la partie suivante.

I. Evolution spatio-temporelle de l'influenza à H5N1 : où en sommes-nous aujourd'hui ?

1. Chez l'oiseau

Le virus hautement pathogène H5N1 est isolé pour la première fois chez une oie d'élevage dans la province de Guangdong en Chine en 1996. L'année d'après, à Hong Kong sont rapportés des flambées d'IAHP au sein des volailles d'élevages et sur les marchés. Pendant six ans, on n'entend plus parler du virus H5N1 jusqu'en janvier 2003 lorsque Hong Kong signale deux foyers de H5N1 chez des volailles d'élevage et trois chez des oiseaux sauvages. En décembre de la même année, la République de Corée déclare son premier foyer de H5N1 chez des volailles d'élevage. Cet épisode est distinct de ceux survenus à Hong Kong et est considéré comme le tout premier de la série actuelle des foyers H5N1.

En janvier 2004, le VietNam, le Cambodge, le Japon, la Thaïlande et le Laos déclarent leur premier foyer. En février 2004, c'est au tour de la Chine et de l'Indonésie de rapporter la maladie. En juillet de la même année, aucun nouveau pays n'a été touché mais les foyers se multiplient dans les pays contaminés. Le mois suivant, la Malaisie signale son premier foyer au sein de volailles d'élevage. En novembre 2004, Hong Kong déclare un premier foyer non pas dans les volailles d'élevage mais au sein des oiseaux sauvages.

Il faut attendre juillet 2005 pour qu'il y ait un premier foyer H5N1 en Europe : il s'agit de la Russie qui fait état d'un foyer au sein de volailles d'élevage. En octobre, le virus continue sa progression en Europe et atteint la Roumanie et la Croatie ; entre-temps, il a gagné le Kazakhstan et la Mongolie. En décembre, l'Ukraine est atteinte.

En février 2006, quatorze pays déclarent un foyer initial chez les oiseaux sauvages : Bulgarie, Slovénie, Grèce, Italie, Azerbaïdjan, Iran, Allemagne, Egypte, Autriche, Bosnie-Herzégovine, France, Slovaquie, Suisse, Hongrie. En mars 2006, suivent la Serbie-et-Montenegro, la Pologne, le Danemark, le Nigeria, la Suède, la Géorgie, la République tchèque, toujours chez les oiseaux sauvages. Le même mois, le Pakistan, l'Albanie, le Cameroun, la Suède, l'Israël, l'Afghanistan, la Jordanie déclarent le virus au sein des volailles d'élevage. Le Burkina Faso, le Soudan, la Côte d'Ivoire, les Territoires Autonomes Palestiniens, le Royaume-Uni et Djibouti.

Durant l'année 2007, de nombreux pays d'Afrique déclarent un foyer initial : c'est le cas du Ghana, du Togo et du Bénin.

Sur la période 2003-2008, soixante et un pays ont déclaré l'influenza aviaire hautement pathogène à virus H5N1 chez des volailles d'élevage ou des oiseaux sauvages. Nous nous apercevons que le continent américain et l'Océanie sont indemnes.

2. Chez l'homme

L'infection humaine à virus H5N1 débute en 1997 à Hong Kong. Dix-huit cas y sont répertoriés, six d'entre eux seront mortels.

Comme l'infection aviaire, elle tend ensuite à disparaître mais en 2003, date du début de la panzootie actuelle, deux nouveaux cas sont confirmés à Hong Kong. Mais cette infection a du mal à se dépasser les frontières asiatiques. Bien que depuis 2006, on dénombre fréquemment des cas en Afrique, notamment en Egypte.

De 2003 à 2008, 385 cas humains ont été recensés, dont 243 mortels.

Les cas humains ont été décrits dans neuf pays d'Asie (Bangladesh, Birmanie, Cambodge, Chine, Indonésie, Laos, Pakistan, Thaïlande, Viêt-Nam), dans trois pays du Moyen-Orient (Azerbaïdjan, Irak, Turquie) et dans trois pays africains (Djibouti, Egypte et Nigeria).

La plupart du temps, la contamination est due à des contacts avec des animaux malades ou morts ou leurs excréments. Il faut tout de même noter qu'une quarantaine d'épisodes de cas groupés familiaux a été décrite depuis le début de l'épidémie. Cela s'est passé dans douze pays : Azerbaïdjan, Cambodge, Chine, Egypte, Indonésie, Irak, Laos, Nigeria, Pakistan, Thaïlande, Turquie et VietNam, ceci étant lié le plus souvent à une exposition commune avec de la volaille malade.

Dans quelques épisodes, une transmission interhumaine a pu être évoquée. Elle était liée à des contacts étroits et répétés au sein de groupes familiaux.

IV. CONDUITE A TENIR EN CAS DE PANDEMIE GRIPPALE A A(H5N1)

A. Les professionnels de santé

1. Leur place dans la lutte contre la pandémie grippale

Les professionnels de santé tels que les pharmaciens jouent un rôle essentiel dans l'application du plan gouvernemental.

En effet, si une pandémie grippale se présente, ils seront amenés à prendre en charge plusieurs millions de malades en un temps court (la vague pandémique étant estimée à douze semaines) dans des conditions difficiles.

Les mesures à appliquer dépendent des différentes phases du plan.

Dès maintenant, chaque professionnel de santé doit être équipé du matériel de protection nécessaire :

- masques FFP2 (ou à défaut FFP1) et masques chirurgicaux pour le patient
- lunettes de protection ou à défaut, lunettes de vue ou de soleil (pour la protection des conjonctives)
- gants plastiques jetables, solution hydroalcoolique, lingettes désinfectantes ou alcoolisées, sacs-poubelles en plastique.

Le masque médical ou chirurgical est destiné à éviter lors de l'expiration de celui qui le porte, la projection de sécrétions des voies aériennes supérieures ou de salive pouvant contenir des agents infectieux transmissibles par voie aérienne (fines particules,

poussières) ou par des gouttelettes (=salive, sécrétions des voies aériennes supérieures). Le masque médical protège celui qui le porte contre les agents infectieux transmissibles par gouttelettes mais pas contre les agents infectieux transmis par les poussières. Parfois, il est équipé d'une visière pour protéger les yeux.

Le masque médical est un dispositif médical de classe I qui relève de la directive européenne 93/42/CEE.

Les masque FFP2 font partie des appareils de protection respiratoire jetable filtrant contre les particules. Ils sont destinés à protéger celui qui le porte contre l'inhalation d'agents infectieux transmissibles par les gouttelettes ou des poussières. Il existe trois types d'appareils de protection respiratoire jetables classés par ordre croissant d'efficacité : FFP1, FFP2 et FFP3. La protection apportée dépend de la classe de l'appareil et de sa bonne mise en place. Ces appareils sont des équipements de protection individuelle qui relèvent de la directive 89/686/CEE.

Pour bien utiliser ces masques, il faut :

- consulter les notices d'utilisation fournies par le fabricant
- ajuster les masques ou appareils de protection respiratoire : dépliage complet, liens bien serrés ou élastiques bien en place, pince-nez ajusté
- une fois en place, ne pas manipuler le masque ou l'appareil de protection pour éviter la détérioration du dispositif et la contamination des mains
- se laver les mains après avoir enlevé le masque
- éliminer le masque utilisé dans la filière des Déchets d'Activité de Soins à Risques Infectieux
- porter un masque avec couche imperméable s'il y a risque de projection de liquides biologiques

- le masque et l'appareil de protection respiratoire ne protègent pas de l'inhalation de gaz ou de vapeurs.

2. Suspicion d'un cas de grippe à virus H5N1

Les cas faisant l'objet d'une enquête sont dits « cas possibles » et répondent à deux définitions selon que le patient revient d'un pays avec cas humains notifiés ou d'un pays où sévit une épizootie sans cas humains.

Le premier cas concerne un patient :

- qui présente un syndrome respiratoire aigu : fièvre (température > 38°C) et toux et/ou dyspnée
- et qui revient d'un pays où sévit l'épizootie avec cas humains notifiés
- et qui a eu dans les sept jours précédant le début des signes :
 - o un contact prolongé ou répété ou rapproché à moins d'un mètre avec des volatiles (vivants ou morts ou leurs fientes)
 - o ou un contact avec un cas humain confirmé.

Le deuxième cas concerne un patient :

- qui présente une détresse respiratoire aiguë au décours d'un syndrome grippal
- et qui revient depuis moins de sept jours d'un pays où sévit l'épizootie liée au virus H5N1 sans cas humain notifié.

3. La réaction du professionnel de santé

Que faire dans un cas de suspicion de grippe à H5N1 en phase prépandémique sans transmission interhumaine :

- appeler le centre 15, c'est-à-dire le SAMU.

Tous les appels concernant des cas suspects de grippe aviaire sont centralisés par le centre 15 qui, en fonction des signes cliniques et de l'exposition du patient, examine si ce dernier correspond à la définition de cas possibles, avec l'aide de l'institut de veille sanitaire (InVS) si nécessaire.

- si le centre 15 retient le diagnostic de cas possible, la validation par l'InVS, s'il n'a pas déjà contacté, est systématique, en vue de confirmer le classement.

Si on a affaire à un cas possible :

- utiliser le matériel de protection recommandé en cas d'examen clinique et de prélèvement
- organiser le prélèvement nasopharyngé à visée diagnostique en lien avec le centre 15
- discuter de l'hospitalisation du cas toujours avec le centre 15. Il existe différents critères d'hospitalisation :
 - o chez l'enfant : difficultés alimentaires, tolérance clinique médiocre de la fièvre malgré les mesures adaptées, signes de déshydratation aiguë associée, troubles de la vigilance, signes de détresse respiratoire, apnées, très jeune âge (<3 mois), antécédents de prématurité et/ou situations à risque connues

- o chez l'adulte : troubles de la vigilance, désorientation, confusion, pression artérielle systolique inférieure à 90 mmHg, température inférieure à 35°C ou supérieure ou égale à 40°C, fréquence respiratoire supérieure à 30/min, fréquence cardiaque supérieure à 120/min
- o critères psychologiques et sociaux : isolement impossible, panique, souhait de la personne et/ou de sa famille du fait de difficultés, précarité familiale. Ceux-ci sont à évaluer par le médecin
- prescrire le plus tôt possible le traitement curatif précoce à la personne, dans les 48 premières heures après le début des symptômes : oseltamivir (Tamiflu[®]), selon les indications de l'AMM, après que le prélèvement nasopharyngé ait été effectué et sans attendre la confirmation du diagnostic
- en cas de maintien à domicile, expliquer les précautions particulières d'hygiène à adopter au patient et à son entourage
- suivre le patient jusqu'à sa guérison, en lui demandant d'appeler si son état s'aggrave.

Les conseils à donner pour un patient suivi à domicile sont :

- dès le début des symptômes, placer le malade dans une pièce en limitant les contacts avec l'entourage
- port du masque chirurgical (achetable en pharmacie) par le patient symptomatique lors de la présence d'un tiers dans sa chambre ou de déplacement
- éviter les visites inutiles dans la chambre du malade et dans la famille, en particulier avec des sujets à haut risque médical

- aération régulière de la pièce
- se couvrir la bouche lors d'une toux, puis se laver les mains
- se couvrir le nez lors des éternuements puis se laver les mains
- se moucher avec des mouchoirs en papier à usage unique jetés dans une poubelle recouverte d'un couvercle, puis se laver les mains, de même que pour les masques chirurgicaux usagés
- cracher systématiquement dans un mouchoir en papier à usage unique jeté dans une poubelle recouverte d'un couvercle puis se laver les mains

D'une façon générale, le lavage des mains au savon ou l'utilisation de produit hydro-alcoolique (achetable en pharmacie) est essentielle. Il doit se faire soigneusement et être répété très souvent dans la journée, plus particulièrement après chaque contact avec le malade, avec le matériel qu'il utilise ou avec ses effets personnels.

Les objets personnels du patient (serviettes, couverts, linge...) doivent subir un nettoyage courant (lavage au savon et à l'eau chaude). Chaque membre de la famille possède son propre linge, en particulier les serviettes de toilette ainsi que sa propre brosse à dents. La vaisselle et le linge du patient peuvent être lavés en commun avec la vaisselle ou le linge du reste de la famille dans un lave-vaisselle ou un lave-linge.

A ce stade de prise en charge, il n'y a pas de transmission interhumaine.

La phase prépandémique avec transmission interhumaine limitée est une phase intermédiaire. Quelques cas de grippe H5N1 surviennent avec transmission de personne à personne. La marche à suivre est de :

- appeler le centre 15 pour une évaluation téléphonique
- organiser le prélèvement nasopharyngé en lien avec le centre 15

- renforcer les mesures de protection pour le professionnel de santé, le patient et son entourage
- discuter de l'hospitalisation du patient avec le centre 15
- prescrire le plus tôt possible le traitement curatif à la personne dans les 48 premières heures après le début des symptômes : oseltamivir selon les indications de l'AMM
- l'entourage du malade sera avisé d'appeler le centre 15 s'il présente des signes cliniques comme une fièvre $>38^{\circ}\text{C}$, une toux et/ou une dyspnée, en spécifiant leur exposition
- en cas de maintien à domicile, suivre le patient jusqu'à la guérison, en lui demandant d'appeler si son état s'aggrave.

Concernant la phase pandémique c'est-à-dire la troisième phase, les recommandations n'ont pas été clairement établies. En effet, les signes cliniques de grippe pandémique ne sont pas encore connus et dépendront du nouveau virus. Ces signes seront analysés au tout début de la pandémie et communiqués à l'ensemble des professionnels de santé. Le prélèvement nasopharyngé n'est plus nécessaire pour faire le diagnostic.

La décision d'hospitalisation du patient dépendra des critères de gravité qui seront définis au moment de cette phase. Les mesures de protection seront renforcées pour le professionnel de santé, pour le patient et pour l'entourage.

4. Le plan « grippe aviaire » et les pharmaciens

Ce plan a notamment pour objectif d'éviter tout déplacement des malades et de créer les conditions nécessaires à une prise en charge des malades à leur domicile.

Le rôle du pharmacien est précisé. Celui-ci est sollicité à tous les niveaux :

- l'industrie pharmaceutique pour la fabrication et la conception de médicaments et de vaccins
- les logisticiens pour l'acheminement des produits
- les pharmaciens des Armées pour assurer la transformation en comprimés de l'oseltamivir livré en vrac
- les pharmaciens hospitaliers et d'officine pour valider et délivrer les ordonnances
- les pharmaciens de laboratoire pour le diagnostic.

Le dispositif prévoit :

- de contrôler l'éventuel développement de la maladie en assurant une prise en charge au domicile du malade avec des mesures de précaution et un traitement par un antiviral
- de mettre en œuvre une vaccination de la population dès que le vaccin sera disponible.

En pratique, le ministère de la Santé a constitué des stocks stratégiques de produits destinés à la protection de la population et des professionnels de santé. Ceci concerne notamment les antiviraux (Tamiflu[®], Relenza[®]). Le ministère bénéficie pour ça de la collaboration du

Service de Santé des armées. Actuellement, nous disposons de 7,2 millions de traitement par Tamiflu® l'équivalent poudre de 13 millions de traitement par oseltamivir, 9 millions de traitement par Relenza® pour les adultes et 3 millions pour les grands enfants.

Des conventions avec les grossistes-répartiteurs et les syndicats de pharmaciens sont en cours de finalisation pour assurer la distribution des produits.

La dispensation du Tamiflu® sera effectuée gratuitement dans un conditionnement adapté.

Il s'agira de 5 comprimés sécables dosés à 30 mg pour une adaptation du dosage.

Les répartiteurs fourniront une dotation de base aux officinaux.

Pour le renouvellement des stocks, la commande se fera par fax au grossiste.

Les commandes pourront faire l'objet d'un contrôle de la DDASS pour vérifier qu'il n'y a pas constitution de stocks non utilisés.

B. Conseils pour les éleveurs et professionnels en contact avec des volailles vivantes

1. Mesures d'hygiène générales

Pour les éleveurs :

- il est conseillé de disposer d'un sas d'entrée dans le bâtiment d'élevage pour respecter au mieux les règles d'hygiène
- porter une tenue dédiée à l'élevage avec une combinaison et une paire de bottes

- disposer d'une tenue supplémentaire pour tout visiteur devant entrer dans l'élevage (combinaison en tissu ou jetable, des bottes ou protège-chaussures)
- se laver les mains avant d'entrer dans l'élevage et en en sortant. Il est même recommandé d'installer une douche dans le sas d'entrée
- installation recommandée d'un pédiluve pour désinfecter les bottes en sortant de l'élevage. Le pédiluve consiste en une baignoire contenant de l'eau avec l'eau de javel ou un produit désinfectant autorisé. Le contenu du pédiluve est à changer régulièrement
- nettoyer, rincer et désinfecter le matériel à l'eau de javel par exemple
- éviter de manger, boire ou fumer à l'intérieur du bâtiment d'élevage
- pour les abattoirs, les employés sont protégés du risque de zoonose par des protocoles de sécurité
- il est recommandé aux chauffeurs pour le transport d'animaux de suivre les mêmes règles d'hygiène que le personnel interne.

2. Suspicion d'influenza aviaire

- mise sous surveillance de l'élevage concerné par arrêté préfectoral
- aucun animal n'entre ni ne sort de l'exploitation
- le personnel autorisé à entrer dans l'exploitation est restreint : éleveur, vétérinaire, agents de la DDSV, techniciens de maintenance
- l'éleveur devra porter une tenue spécifique adaptée aux risques :

- o un masque bucco-nasal de type FFP2
- o une protection oculaire
- o des gants (à usage unique si les activités le permettent)
- o une charlotte à usage unique
- o une double-combinaison (en tissu ou jetable)
- o des bottes ou surbottes à usage unique
- o des mouchoirs en papier jetables.

Le matériel jetable est déposé après usage dans un sac plastique qui reste dans le sas en attendant les résultats des analyses

- limiter les manipulations d'animaux malades
- installer un rotoluve : il s'agit d'un dispositif contenant de l'eau et un désinfectant homologué renouvelés régulièrement. Tout véhicule (camion, voiture, vélo, moto) entrant ou sortant de l'exploitation passe par le rotoluve.

3. Confirmation d'un foyer d'infection

- les règles d'hygiène sont les mêmes que précédemment
- de la même façon, la famille de l'éleveur est tenue de ne pas pénétrer au sein de l'exploitation
- afin de limiter le risque de coinfection par les deux virus (aviaire et humain), il peut être conseillé pour certaines populations d'avoir recours à la vaccination antigrippale

- les agents des DDSV ou l'équarrisseur suivant l'étendue de l'infection intervenant pour euthanasier les volailles sur l'exploitation suivent un protocole précis pour se protéger :
 - o des sas de décontamination sont installés
 - o des tenues spécifiques sont obligatoires : doubles combinaisons avec capuche, masques à protection renforcée, gants et bottes ou surbottes
- un périmètre de protection de 3 km et un périmètre de surveillance de 10 km sont mis en place autour de l'élevage infecté. Les élevages situés dans ce périmètre sont contrôlés par les services vétérinaires
- une enquête épidémiologique est réalisée pour déterminer l'origine de la contamination et les exploitations susceptibles d'avoir été infectées à partir du foyer reconnu.

C. Quels risques ?

1. En cas de découverte de plusieurs oiseaux morts ?

Si vous constatez dans le milieu naturel la présence de plusieurs oiseaux morts dans un rayon de quelques centaines de mètres, il ne faut surtout pas les manipuler.

Il faut par contre :

- en zone rurale, prévenir la DDSV ou l'Office National de la Chasse et de la Faune sauvage ou la Fédération départementale des chasseurs ou les associations de protection de la nature qui participent au réseau SAGIR

(réseau de surveillance de la faune sauvage, disposant de personnes formées pour récupérer des oiseaux morts et faire procéder aux analyses de laboratoires utiles)

- en zone urbaine, prévenir les services de voiries municipales qui ramasseront les oiseaux morts.

En cas de manipulation, les personnes habilitées doivent prendre les précautions nécessaires :

- port de gants étanches à usage unique ou en latex et lavage des mains à l'eau et au savon après toute intervention
- port d'une blouse jetable ou facile à laver
- utilisation d'un sac étanche et fermé placé dans un second sac étanche et fermé pour le transport
- nettoyage et désinfection des bottes et autres matériels ayant pu entrer en contact avec les oiseaux ou les fientes ; les désinfectants ménagers habituels tels que l'eau de Javel sont recommandés.

2. Après consommation de volailles et d'œufs ?

Les volailles ne présentent aucun risque à condition d'être bien cuits. En effet, la cuisson des volailles à 70°C ou davantage dans toutes les parties du produit de façon à ce qu'aucune partie de la chair ne reste crue ou rouge est un moyen sûr de tuer le virus.

De même, un œuf bien cuit ne présente aucun danger.

De bonnes pratiques d'hygiène ont été mises en place pour diminuer l'exposition au virus dans les zones touchées par des flambées chez des volailles :

- veiller à ce qu'aucun oiseau provenant d'un élevage touché par la maladie ne pénètre dans la chaîne alimentaire
- s'abstenir de consommer de la volaille crue, y compris du sang cru ou des œufs crus dans les zones touchées par l'épizootie
- séparer la viande crue des aliments cuits ou prêts à être consommés pour éviter la contamination. Ne pas utiliser la même planche à hacher ou le même couteau pour la viande crue et les autres aliments
- se laver les mains
- laver et désinfecter toutes les surfaces et les ustensiles ayant été en contact avec la viande crue.

V. CONCLUSION

Depuis l'année 2003 où l'influenza aviaire hautement pathogène à H5N1 a tué six personnes à Hong Kong, le monde est dans l'expectative d'une nouvelle pandémie grippale et craint une nouvelle année 1918. Si cette crainte est légitime, il ne faut pas oublier que les choses ont évolué depuis 1918. De nombreuses instances sanitaires telles que l'OMS ont été créées dans le but de surveiller la santé humaine et animale.

Les conditions d'hygiène et de vie au contact des oiseaux ont été nettement améliorées, même si dans certains pays d'Asie ou d'Afrique, celles-ci restent précaires.

A l'heure actuelle, il est impossible de dire quand la pandémie sera déclenchée. Il est fort probable que le virus pandémique émergera au sein des populations asiatiques, du fait des conditions d'élevage.

Si la préparation à une éventuelle pandémie est importante, la lutte contre la maladie animale en améliorant les conditions d'élevage des volailles l'est tout autant.

BIBLIOGRAPHIE

1. Heusinger C.F. (1853). Recherches de pathologie comparée. Vol I. Eds Cassel chez H. Hotop, 674 p.
2. Heusinger C.F. (1853). Recherches de pathologie comparée. Vol II. Eds Cassel chez H. Hotop, 549 p.
3. Fleming G. (1821). Animal plagues : their history, nature and prevention. Eds Chapman and Hall, London, 548 p.
4. Blancou J. (2000). Histoire de la surveillance et du contrôle des maladies animales transmissibles. Eds Office international des épizooties, Paris, 366 p.
5. Pasquier C., Bertagnoli S., Messud-Petit F., Izopet J. (2005). Les virus à ARN : famille des Orthomyxoviridae. In : Virologie humaine et animale, cours, fiches de synthèse et QCM, Eds Pasquier C., Bertagnoli S., Messud-Petit F., Izopet J., Dunod, Paris, 212-215.
6. Hannun C., Léophonte P., Peyramond D. (2003). La grippe : conceptions actuelles, Eds John Libbey Eurotext, Montrouge, 156 p.

7. Naffakh N., Van der Werf S. (2003). Orthomyxoviridae. In: Traité de virologie médicale Eds Huraux J.M., Agut H., Nicolas J.C., Peigue-Lafeuille H., Estern, Paris, 439-457.
8. Klenk H.D. (1994). Orthomyxoviridés. In : Classification et nomenclature des virus ., 5^{ème} rapport du Comité International de Taxonomie des Virus, Eds Francki R.I.B., Fauquet C.M., Knudson D.L., Brown, Paris, 253-261.
9. Meulemans G. (1992). Infections à Orthomyxoviridus. In : Manuel de pathologie aviaire, Eds Bruyère-Picoux J., Silim A., Chaire de pathologie médicale du bétail et des animaux de basse-cour, Ecole nationale vétérinaire d'Alfort, Maisons Alfort, 107-112.
10. Van der Werf S. (2001). Structure et variation des virus grippaux. In : Grippe et infections virales des voies aériennes supérieures, tome 1. Guides Médi/Bio, Freymuth F., Elsevier, Paris, 51.
11. Fouchier R.A., Munster V., Wallensen A., Bestebroer T.M., Herfst S., Smith D., Rimmelzwaan G.F., Olsen B., Osterhaus A.D. (2005). Characterization of a novel influenza A virus hemagglutinin subtype (H16) obtained from black-headed gulls, J. Virology **79**: 2814-2822.
12. Derenne J.P., Bricaire F. (2005). Pandémie : la grande menace. Grippe aviaire : 500000 morts en France ? Eds Fayard, 325 p.

13. Parrish C.R., Kawaoka Y. (2005). The origins of new pandemic viruses : the acquisition of new host ranges by canine parvovirus and influenza A viruses, *Annu Rev Microbiol* **59** : 553-586.
14. Saegerman C., Meulemans G., Van Reeth K., Marlier D., Yane F., Vindevogel H., Brochier B., Van Der Berg T., Thiry E. (2004). Evaluation, contrôle et prévention du risque de transmission du virus influenza aviaire à l'homme. *Ann. Med. Vét*, **148**: 65-77.
15. Rogers G.N., 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**: 361-373.
16. Matrosovich M.N., Matrosovich T.Y., Gray T., Roberts N.A., Klenk H.D. (2004). Human and avian influenza viruses target different cell types in cultures of human airway epithelium. *Proc Natl Acad Sci USA* **101** : 4620-4624.
17. Baigent S.J., McCauley J.W. (2003). Influenza type A in humans, mammals and birds: determinants of virus virulence, host-range and interspecies transmission. *Bioessays* **25** : 657-671.
18. Suzuki Y. (2001). Host mediated variation and receptor binding specificity of influenza viruses. *Adv Exp Med Biol* **491**: 445-451.

19. Suzuki Y. (2005). Sialobiology of influenza: molecular mechanism of host-range variation of influenza viruses. *Biol Pharm Bull* **28** : 399-408.
20. Gambaryan A., Tuzikov A., Pazynina G., Bovin N., Balish A., Klimov A. (2005). Evolution of the receptor binding phenotype of influenza A (H5) viruses. *Virology* **344** : 432-438.
21. Freymuth F. (2002). Orthomyxoviridae: les virus influenza. In : *Virologie médicale*, Eds Mammette A., Presses universitaires de Lyon, 407-420.
22. Nicholson K.G., Webster R.G., Hay A.J. Eds (1998). *Textbook of Influenza*. Oxford: Blackwell Science Ltd
23. Lamb R.A., Krug R.M. (2001). Orthomyxoviridae : the viruses and their replication. In: Knipe D.M., Howley P.M., Griffin DE, editors-in-chief; Lamb RA, Martin MA, Roizman B, Straus SE, associate editors. *Fields Virology*. 4th ed. Philadelphia, PA, USA: Lippincott Williams & Wilkins, 1505
24. Benedictis P. (2007). Inactivation of Avian Influenza Viruses by Chemical Agents and Physical Conditions : A Review. *Zoonoses and Public Health* **54** : 51-68.
25. Puthavathana P., Auewarakul P., Charoenying P.C., Sangsiriwut K., Pooruk P., Boonnak K., Khanyok R., Thawachsupha P., Kijphati R., Sawanpanyalert P. (2005). Molecular characterization of the complete genome of human influenza H5N1 virus isolates from Thailand. *J Gen Virol* **86** : 423-433.

26. Govorkova E.A., Rehg J.E., Krauss S., Yen H.L., Guan Y., Peiris M., Nguyen T.D., Hanh T.H., Puthavathana P., Long H.T., Buranathai C., Lim W., Webster R.G., Hoffmann E. (2005). Lethality to ferrets of H5N1 influenza viruses isolated from humans and poultry in 2004. *J Virol* **79** : 2191-2198.
27. Perdue M.L., Suarez D.L., Van R.K., Pensaert M. (2000). Structural features of the avian influenza virus hemagglutinin that influence virulence. *Veterinary microbiology* : (Amsterdam) **74** : 77-86.
28. Hatta M., Peng G.A.O., Halfmann P., Kawaoka Y. (2001). Molecular basis for high virulence of Hong Kong H5N1 influenza A viruses. *Science* : (Washington, D.C.) **293**: 1840-1842.
29. Hulse D.J., Webster R.G., Russell R.J., Perez D.R. (2004). Molecular determinants within the surface proteins involved in the pathogenicity of H5N1 influenza viruses in chickens. *J Virol* **78** : 9954-9964.
30. Baigent S.J., McCauley J.W. (2001). Glycosylation of haemagglutinin and stalk-length of neuraminidase combine to regulate the growth of avian influenza viruses in tissue culture. *Virus Res* **79** : 177-185.
31. Shinya K., Hamm S., Hatta M., Ito H., Ito T., Kawaoka Y. (2004). PB2 amino acid at position 627 affects replicative efficiency, but not cell tropism, of Hong Kong H5N1 influenza A viruses in mice. *Virology* **320** : 258-266.

32. Seo S.H., Hoffmann E., Webster R.G. (2004). The NS1 gene of H5N1 influenza viruses circumvents the host anti-viral cytokine responses. *Virus Res* **103** : 107-113.
33. Lipatov A.S., Andreansky S., Webby R.J., Hulse D.J., Rehg J.E., Krauss S., Perez D.R., Doherty P.C., Webster R.G., Sangster M.Y. (2005). Pathogenesis of Hong Kong H5N1 influenza virus NS gene reassortants in mice : the role of cytokines and B- and T-cell responses. *J Gen Virol* **86** : 1121-1130.
34. Cheung C.Y., Poon L.L., Lau A.S., Luk W., Lau Y.L., Shortridge K.F., Gordon S., Guan Y., Peiris J.S. (2002). Induction of proinflammatory cytokines in human macrophages by influenza A (H5N1) viruses : a mechanism for the unusual severity of human disease? *Lancet* **360** : 1831-1837.
35. Noah D.L., Krug R.M. (2005). Influenza virus virulence and its molecular determinants. *Adv Virus Res* **65** : 121-145.
36. Abed Y., Hardy I., Li Y., Boivin G. (2002). Divergent evolution of hemagglutinin and neuraminidase genes in recent influenza A:H3N2 viruses isolated in Canada. *Journal of medical virology* **67** : 589-595.
37. Van D.W.S., Manuguerra J.C. (2000). Bases moléculaires de la variabilité et diffusion des virus grippaux. (Molecular basis of influenza virus variability and diffusion). *L'Eurobiologiste* : (Paris) **34** : 38-41.

38. Stallknecht D.E., Shane S.M. (1988). Host range of avian influenza virus in free-living birds. *Vet. Res. Com* **12**: 125-141.
39. Alexander D.J. (2000). A review of avian influenza in different bird species. *Vet. Microbiology* **74**: 3-13.
40. Alexander D.J. (1995). The epidemiology and control of avian influenza and Newcastle disease. *J. Comp.pathol* **112**: 105-126.
41. Cappucci D.T.Jr., Johnson D.C., Brugh M., Smith T.M., Jackson C.F., Pearson J.E., Senne D.A. (1985). Isolation of avian influenza virus (subtype H5N2) from chicken eggs during a natural outbreak. *Avian Dis* **29** : 1195-1200.
42. Li Y., Lin Z., Shi J., Qi Q., Deng G., Li Z., Wang X., Tian G., Chen H. (2006). Detection of Hong Kong 97-like H5N1 influenza viruses from eggs of Vietnamese waterfowl. *Arch Virol* **151**: 1615-1624.
43. Easterday B.C., Hinshaw V.S., Halvorson D.A. (1997). Influenza. In: Eds Calnek B.W., Barnes H.J., Beard C.W., McDougald L.R., Saif Y.M., *Diseases of Poultry*, 10th edition, Iowa state University Press: Ames: 583-605.
44. Claas E.C.J., De J.J.C., Van B.R., Rimmelzwaan G.F. and Osterhaus A.D.M.E. (1998). Human influenza virus A/HongKong/156/97 (H5N1) infection. *Vaccine* **16** : 977-978.

45. Kuiken T., Rimmelzwaan G.F., Van Amerongen G., Osterhaus A.D. (2003).
Pathology of human influenza A (H5N1) virus infection in cynomolgus macaques
(*Macaca fascicularis*). *Vet Pathol* **40** : 304-310.
46. Bright R.A., Cho D.S., Rowe T., Katz J.M. (2003). Mechanisms of pathogenicity of
influenza A (H5N1) viruses in mice. *Avian Dis* **47** : 1131-1134.
47. Choi Y.K., Nguyen T.D., Ozaki H., Webby R.J., Puthavathana P., Buranathal C.,
Chaisingh A., Auewarakul P., Hanh N.T., Ma S.K., Hui P.Y., Guan Y., Peiris J.S.,
Webster R.G. (2005). Studies of H5N1 influenza virus infection of pigs by using
viruses isolated in Vietnam and Thailand in 2004. *J Virol* **79** : 10821-10825.
48. Govorkova E.A., Rehg J.E., Krauss S., Yen H.L., Guan Y., Peiris M., Nguyen T.D.,
Hanh T.H., Puthavathana P., Long H.T., Buranathai C., Lim W., Webster R.G. and
Hoffmann E. (2005). Lethality to ferrets of H5N1 influenza viruses isolated from
humans and poultry in 2004. *J Virol* **79** : 2191-2198.
49. Keawcharoen J., Oraveerakul K., Kuiken T., Fouchier R.A., Amonsin A., Payungporn
S., Noppornpanth S., Wattanodorn S., Theambooniers A., Tantilertcharoen R.,
Pattanarangsarn R., Arya N., Ratanakorn P., Osterhaus D.M., Poovorawan Y. (2004).
Avian influenza H5N1 in tigers and leopards. *Emerg Infect Dis* **10** : 2189-2191.
50. Quirk M. (2004). Zoo tigers succumb to avian influenza. *Lancet Infect Dis* **4** : 716.

51. European Commission. Scientific Committee on animal health and animal welfare (2000). The definition of avian influenza. The use of vaccination against avian influenza. Document Sanco/B3/AH/R17/2000. European Commission: Brussels, 36p
52. Allan W.H., Gough R.E. (1974). A standard hemagglutination inhibition test for Newcastle disease. A comparison of macro and micro methods. Vet Rec **95**: 120-123.
53. Beard C.W. (1970). Demonstration of type specific influenza antibody in mammalian and avian serum by immunodiffusion. Bull. World Health Organ **42**: 779-785.
54. Capua I., Marangaon S. (2003). La vaccination en tant qu'outil utilisable contre l'influenza aviaire. In : Organisation Mondiale de la Santé animale. 71^{ème} session générale du Comité International, Paris, 18-23 mai 2003, document 71SG/12/CS3E. Organisation Mondiale de la Santé animale : Paris, 10 p.
55. Council of the European Communities (1992). Council Directive 92/40/EEC of 19th May 1992 introducing Community measures for the control of avian influenza. Off.J.European Communities
56. Swayne D.E., Suarez D.L. (2000). Highly pathogenic avian influenza. Rev.Sci.tech.Off.int.epiz **20**: 463-482.
57. Capua I., Maragon S., Dalla Pozza M., Santucci U. (2000). Vaccination for avian influenza in Italy. Vet. Rec **147**: 751.

58. Beard C.W., Schnitzlein W.M., Tripathy D.N. (1991). Protection of chickens against highly pathogenic avian influenza virus (H5N2) by recombinant fowlpox viruses. *Avian Dis* **35**: 356-359.
59. Beard C.W., Schnitzlein W.M., Tripathy D.N. (1992). Effect of administration on the efficacy of a recombinant fowlpox virus against H5N2 avian influenza. *Avian Dis* **36**: 1052-1055.
60. Swayne D.E., Beck J.R., 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.
61. Swayne D.E., Garcia M., Beck J.R., Kinney N., Suarez D.L. (2000). 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.
62. Webster R.G., Taylor J., Pearson J.E., Rivera E., Paoletti E. (1996). Immunity to Mexican H5N2 avian influenza viruses induced by a fowl pox-H5 recombinant. *Avian Dis* **40**: 461-465.
63. Luschow D., Werner O., Mettenleiter T.C., Fuchs W. (2001). Protection of chickens from lethal avian influenza A virus infection by live-virus vaccination with infectious laryngotracheitis virus recombinants expressing the hemagglutinin (H5) gene. *Vaccine* **19**: 4249-4259.

64. Maragon S., Bortolotti L., Capua I., Bettio M., Dalla Pozza M. (2003). Low-pathogenicity avian influenza (LPAI) in Italy (2002-01): epidemiology and control. *Avian Dis* **47**:1006-1009.
65. De Jong M.D., Hien T.T. (2006). Avian influenza A(H5N1). *J Clin Virol* **35** : 2-13.
66. Yuen K.Y., Wong S.S. (2005). Human infection by avian influenza AH5N1. *Hong Kong Med J* **11** : 189-199.
67. Grose C., Chokephaibulkit K. (2004). Avian influenza virus infection of children in Vietman and Thailand. *Pediatr Infect Dis J* **23** : 793-794.
68. Chan P.K. (2002). Outbreak of avian influenza A(H5N1) virus infection in Hong Kong in 1997. *Clin Infect Dis* **34** : 58-64.
69. Tran T.H., Nguyen T.L., Nguyen T.D., Luong T.S., Pham P.M., Nguyen V.C., Pham T.S., Vo C.D., Le T.Q., Ngo T.T., Dao B.K., Le P.P., Nguyen T.T., Hoang T.L., Cao V.T., Le T.G., Nguyen D.T., Le H.N., Nguyen K.T., Le H.S., Le V.T., Christiane D., Tran T.T., Menno de J., Schultsz C., Cheng P., Lim W., Horby P., Farrar J. (2004). Avian influenza A(H5N1) in 10 patients in Vietman. *N England J Med* **350** : 1179-1188.
70. Chotpitayasunondh T., Ungchusak K., Hanshaoworakul W., Chunsuthiwat S., Sawanpanyalert P., Kijphati R., Lochindarat S., Srisan P., Suwan P., Osotthanakorn

Y., Anantasetagoon T., Kanjanawasri S., Tanupattarachai S., Weerakul J., Chaiwirattarana R., Maneerattanaporn M., Poolsavathitikool R., Chokephaibulkit K., Apisarnthanarak A., Dowell S.F. (2005). Human disease from influenza A(H5N1), Thailand, 2004. *Emerg Infect Dis* **11** : 201-209.

71. Chokephaibulkit K., Uprasertkul M., Puthavathana P., Chearskul P., Auewarakul P., Dowell S.F., Vanprapar N. (2005). A child with avian influenza A(H5N1) infection. *Pediatr Infect Dis J* **24** : 162-166.

72. Beigel J.H., Farrar J., Han A.M., Hayden F.G., Hyer R., de Jong M.D., Lochindarat S., Nguyen T.K., Nguyen T.H., Tran T.H., Nicoll A., Touch S., Yuen H.Y. (2005). Avian influenza A(H5N1) infection in humans. *N Engl J Med* **353** : 1374-1385.

73. Apisarnthanarak A., Kitphati R., Thongphubeth K., Patoomanunt P., Anthanont P., Auwanit W., Thawatsupha P., Chittaganpitch M., Saeng-Aroon S., Waicharoen S., Apisarnthanarak P., Storch G.A., Mundy L.M., Fraser V.J. (2004). Atypical avian influenza (H5N1). *Emerg Infect Dis* **10** : 1321-1324.

74. Wiwanitkit V. (2005). Diarrhoea as a presentation of bird flu infection : a summary on its correlation to outcome in Thai cases. *Gut* **54** : 1506.

75. De Jong M.D., Bach V.C., Phan T.Q., Vo M.H., Tran T.T., Nguyen B.H., Beld M., Le T.P., Truong H.K., Nguyen V.V., Tran T.H., Do Q.H., Farrar J. (2005). Fatal avian influenza A(H5N1) in a child presenting with diarrhea followed by coma. *N Engl J Med* **352** : 686-691.

76. Katz J.M., Lim W., Bridges C.B., Rowe T., Hu-Primmer J., Lu X., Abernathy R.A., Clarke M., Conn L., Kwong H., Lee M., Au G., Ho Y.Y., Mak K.H., Cox N.J., Fukuda K. (1999). Antibody response in individuals infected with avian influenza A (H5N1) viruses and detection of anti-H5 antibody among household and social contacts. *J Infect Dis* **180** : 1763-1770.
77. Bridges C.B., Katz J.M., Seto W.H., Chan P.K.S., 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., Xiuhua L.U., Cox N.J., Fukuda K. (2000). Risk of influenza A (H5N1) infection among health care workers exposed to patients with influenza A (H5N1), Hong Kong. *The Journal of infectious diseases* **181** : 344-348.
78. Bridges C.B., Lim W., Hu-Primmer J., Sims L., Fukuda K., Mak K.H., Rowe T., Thompson W.W., Conn L., Lu X., Cox N.J., Katz J.M. (2002). Risk of influenza A (H5N1) infection among poultry workers, Hong Kong, 1997-1998. *J Infect Dis* **185** : 1005-1010.
79. Collins R.A., Ko L.S., So K.L., Ellis T., Lau L.T., Cheung H.O.I.Y.U.A. (2002). Detection of highly pathogenic and low pathogenic avian influenza subtype H5 (Eurasian lineage) using NASBA. *Journal of virological methods* **103** : 213-225.
80. Demicheli V., Jefferson T., Rivetti D., Deeks J. (2000). Prevention and early treatment of influenza in healthy adults. *Vaccine* **18** : 957-1030.

81. Girard M.P., Cherian T., Pervikov Y., Kieny M.P. (2005). A review of vaccine research and development : Human acute respiratory infections. *Vaccine* **23** : 5708-5724.
82. Puthavathana P., Auewarakul P., Charoenying P.C., Sangsiriwut K., Pooruk P., Boonnak K., Khanyok R., Thawachsupha P., Kijphati R., Sawanpanyalert P. (2005). Molecular characterization of the complete genome of human influenza H5N1 virus isolates from Thailand. *J Gen Virol* **86** : 423-433.
83. De Clercq E., Neyts J. (2007). Avian influenza A(H5N1) infection : targets and strategies for chemotherapeutic intervention. *Trends Pharmacol Sci* **28**: 280-285.
84. Beigel J., Bray M. (2008). Current and future antiviral therapy of severe seasonal and avian influenza. *Antiviral research* **78**: 91-102.
85. Zoidis G., Fytas C., Papanastasiou I., Foscolos G.B., Fytas G., Padalko E., De Clercq E., Naesens L., Neyts J., Kolocouris N. (2006). Heterocyclic rimantadine analogues with antiviral activity. *Bioorg. Med. Chem.* **14**: 3341-3348.
86. Schunemann H.J., Hill S.R., Kadad M., Bellamy R., Uyeki T.M., Hayden F.G., Yazdanpanah Y., Beigel J., Chotpitayasunondh T., Del Mar C., Farrar J., Tran T.H., Ozbay B., Sugaya N., Fukuda K., Shindo N., Stockman L., Vist G.E., Croisier A., Nagjdaliyev A., Roth C., Thomson G., Zucker H., Oxman A.D. (2007). WHO Rapid Advice Guidelines for pharmacological management of sporadic human infection with avian influenza A(H5N1) virus. *Lancet Infect. Dis.* **7**: 21-31.

87. Sidwell R.W., Huffman J.H., Khare G.P., Allen L.B., Witkowski J.T., Robins R.K. (1972). Broad-spectrum antiviral activity of virazole: 1-β-D-ribofuranosyl-1,2,4-triazole-3-carboxamide. *Science* **177**: 705-706.
88. Leyssen P., De Clercq E., Neyts J. (2008). Molecular strategies to inhibit the replication of RNA viruses. *Antivir.Res.* **78**: 9-25.
89. Smith C.B., Charette R.P., Fox J.P., Cooney M.K., Hall C.E. (1980). Lack of effect of oral ribavirin in naturally occurring influenza A virus (H1N1) infection. *J. Infect. Dis.* **141**: 548-554.
90. Stein D.S., Creticos C.M., Jackson G.G., Bernstein J.M., Hayden F.G., Schiff G.M., Bernstein D.I. (1987). Oral ribavirin treatment of influenza A and B. *Antimicrob. Agents Chemother.* **31**: 1285-1287.
91. Sidwell R.W., Bailey K.W., Wong M.H., Barnard D.L., Smee D.F. (2005). ***In vitro*** and ***in vivo*** influenza virus-inhibitory effects of viramidine. *Antiviral Res.* **68**: 10-17.
92. Furuta Y., Takahashi K., Fukuda Y., Kuno M., Kamiyama T., Kozaki K., Nomura N., Egawa H., Minami S., Watanabe Y., Narita H., Shiraki K. (2002). In vitro and in vivo activities of anti-influenza virus compound T-705. *Antimicrob. Agents Chemother.* **46**: 977-981.

93. Furuta Y., Takahashi K., Kuno-Maekawa M., Sangawa H., Uehara S., Kozaki K., Nomura N., Egawa H., Shiraki K. (2005). Mechanism of action of T-705 against influenza virus. *Antimicrob. Agents Chemother.* **49**: 981-986.
94. Gowen B.B., Wong M.H., Jung K.H., Sanders A.B., Mendenhall M., Bailey K.W., Furuta Y., Sidwell R.W.(2007). ***In vitro*** and ***in vivo*** activities of T-705 against arenavirus and bunyavirus infections. *Antimicrob. Agents Chemother.* **51**: 3168-3176.
95. Sidwell R.W., Barnard D.L., Day C.W., Smee D.F., Bailey K.W., Wong M.H., Morrey J.D., Furuta Y. (2007). Efficacy of orally administered T-705 on lethal avian influenza A (H5N1) virus infections in mice. *Antimicrob. Agents Chemother.* **51**: 845-851.
96. Takahashi K., Furuta Y., Fukuda Y., Kuno M., Kamiyama T., Kozaki K., Nomura N., Egawa H., Minami S., Shiraki K. (2003). In vitro and in vivo activities of T-705 and oseltamivir against influenza virus. *Antimicrob. Agents Chemother.* **14**: 235-241.
97. Ge Q., Filip L., Bai A., Nguyen T., Eisen H.N., Chen J.(2004). Inhibition of influenza virus production in virus-infected mice by RNA interference. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* **101**: 8676-8681.
98. Ge Q, Pastey M, Kobasa D, Puthavathana P, Lupfer C, Bestwick RK, Iversen PL, Chen J, Stein DA (2006). Inhibition of multiple subtypes of influenza A virus in cell cultures with morpholino oligomers. *Antimicrob Agents Chemother.* **50**: 3724-3733.

99. To K.F., Chan P.K., Chan K.F., Lee W.K., Lam W.Y., Wong K.F., Tang N.L., Tsang D.N., Sung R.Y., Buckley T.A., Tam J.S., Cheng A.F.(2001). Pathology of fatal human infection associated with avian influenza A H5N1 virus. *J. Med. Virol.* **63**: 242-246.
100. Wu Y., Zhang G., Li Y., Jin Y., Dale R., Sun L.Q., Wang M.(2008). Inhibition of highly pathogenic avian H5N1 influenza virus replication by RNA oligonucleotides targeting NS1 gene. *Biochem. Biophys. Res. Commun.***365**: 369-374.
101. Zhou H., Jin M., Yu Z., Xu X., Peng Y., Wu H., Liu J., Liu H., Cao S., Chen H.(2007). Effective small interfering RNAs targeting matrix and nucleocapsid protein gene inhibit influenza A virus replication in cells and mice. *Antiviral Res.* **76**: 186-193.
102. Leneva I.A., Roberts N., Govorkova E.A., Goloubeva O.G., 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. *Antiviral research* **48** : 101-115.
103. Le Q.M., Kiso M., Someya K., Sakai Y.T., Nguyen T.H., Nguyen K.H., Pham N.D., Ngyen H.H., Yamada S., Muramoto Y., Horimoto T., Takada A., Goto H., Suzuki T., Suzuki Y., Kawaoka Y.(2005). Avian flu: isolation of drug-resistant H5N1 virus. *Nature* **437**: 1108.

104. Hill G., Cihlar T., Oo C., Ho E.S., Prior K., Wiltshire H., Barrett J., Liu B., Ward P.(2002). The anti-influenza drug oseltamivir exhibits low potential to induce pharmacokinetic drug interactions via renal secretion-correlation of in vivo and in vitro studies. *Drug Metab. Dispos.* **30**: 13-19.
105. Yen H.L., Monto A.S., Webster R.G., Govorkova E.A.(2005). Virulence may determine the necessary duration and dosage of oseltamivir treatment for highly pathogenic A/Vietnam/1203/04 influenza virus in mice. *J. Infect Dis.* **192** :665-672.
106. Varghese J.N., Smith P.W., Sollis S.L., Blick T.J., Sahasrabudhe A., McKimm-Breschkin J.L., Colman P.M.(1998). Drug design against a shifting target: a structural basis for resistance to inhibitors in a variant of influenza virus neuraminidase. *Structure* **6**: 735-746.
107. Sidwell R.W., Smee D.F., Huffman J.H., Barnard D.L., Morrey J.D., Bailey K.W., Feng W.C., Babu Y.S., Bush K.(2001). Influence of virus strain, challenge dose, and time of therapy initiation on the in vivo influenza inhibitory effects of RWJ-270201. *Antiviral Res.* **51**: 179-187.
108. Kati W.M., Montgomery D., Carrick R., Gubareva L., Maring C., McDaniel K., Steffy K., Molla A., Hayden F., Kempf D., Kohlbrenner W.(2002). ***In vitro*** characterization of A-315675, a highly potent inhibitor of A and B strain influenza virus neuraminidases and influenza virus replication. *Antimicrob. Agents Chemother.* **46**: 1014-1021.

109. Mishin V.P., Hayden F.G., Gubareva L.V.(2005).Susceptibilities of antiviral-resistant influenza viruses to novel neuraminidase inhibitors. *Antimicrob. Agents Chemother.* **49**: 4515-4520.
110. Tsiodras S., Mooney J.D., Hatzakis A (2007). Role of combination antiviral therapy in pandemic influenza and stockpiling implications. *BMJ* **334**: 293-294.
111. Ilyushina N.A., Hoffmann E., Salomon R., Webster R.G., Govorkova E.A.(2007). Amantadine-oseltamivir combination therapy for H5N1 influenza virus infection in mice. *Antivir. Ther.* **12**: 363-370.
112. Ison M.G., Gnann J.W. Jr, Nagy-Agren S., Treannor J., Paya C., Steigbigel R., Elliott M., Weiss H.L., Hayden F.G.(2003).Safety and efficacy of nebulized zanamivir in hospitalized patients with serious influenza. *Antivir. Ther.* **8**: 183-190.
113. Meijer A., Valette M., Manuguerra J.C., Perez-Brena P., Paget J., Brown C., van der Velden K. (2005). Implementation of the community network of reference laboratories for human influenza in Europe. *J Clin Virol* **34** : 87-96.
114. Nwe N., He Q., Damrongwatanapokin S., Du Q., Manopo I., Limlamthong Y., Fenner B.J., Spencer L., Kwang J. (2006). Expression of hemagglutinin protein from the avian influenza virus H5N1 in a baculovirus/insect cell system significantly enhanced by suspension culture. *BMC Microbiol* **6** : 16.

115. Shengqiang L.I., Chongguang L.I.U., Klimov A., Subbarao K., Perdue M.L., Delia M.O., Yaying J.I., Woods L., Hietala S., Bryant M. (1999). Recombinant influenza A virus vaccines for the pathogenic human A/Hong Kong/97 (H5N1) viruses. *The Journal of infectious diseases* **179** : 1132-1138.
116. Subbarao K., Chen H., Swayne D., Mingay L., Fodor E., Brownlee G., Xu X., Lu X., Katz J., Cox N., Matsuoka Y. (2003). Evaluation of a genetically modified reassortant H5N1 influenza A virus vaccine candidate generated by plasmid-based reverse genetics. *Virology* **305** : 192-200.
117. Horimoto T., Takada A., Fujii K., Goto H., Hatta M., Watanabe S., Iwatsuki-Horimoto K., Ito M., Tagawa-Sakai Y., Yamada S., Ito H., Ito T., Imai M., Itamura S., Odagiri T., Tashiro M., Lim W., Guan Y., Peiris M., Kawaoka Y. (2006). The development and characterization of H5 influenza virus vaccines derived from a 2003 human isolate. *Vaccine* **24** : 3669-3676.
118. Lipatov A.S., Webby R.J., Govorkova E.A., Krauss S., Webster R.G. (2005). Efficacy of H5 influenza vaccines produced by reverse genetics in a lethal mouse model. *J Infect Dis* **191** : 1216-1220.
119. Nicholson K.G., Colegate A.E., Podda A., Stephenson L., Wood J., Ypma E., Zambon M.C. (2001). Safety and antigenicity of non-adjuvanted and MF59-adjuvanted influenza A/Duck/Singapore/97 (H5N3) vaccine : a randomised trial of two potential vaccines against H5N1 influenza. *Lancet* : (British edition) **357** (9272): 1937-1943.

120. Treanor J.J., Wilkinson B.E., Masseoud F., Hu-Primmer J., Battaglia R., O'Brien D., Wolff M., Rabinovich G., Blackwelder W., Katz J.M. (2001). Safety and immunogenicity of a recombinant hemagglutinin vaccine for H5 influenza in humans. *Vaccine* **19** : 1732-1737.
121. McClellan K., Perry C.M. (2001). Oseltamivir : A review of its use in influenza. *Drugs : (Basel)* **61** : 263-283.
122. McNicholl I.R., McNicholl J.J. (2001). Neuraminidase inhibitors : Zanamivir and oseltamivir. *(The) Annals of pharmacotherapy* **35** : 57-70.
123. Dreitlein W.B., Maratos J., Brocavich J. (2001). Zanamivir and oseltamivir : Two new options for the treatment and prevention of Influenza. *Clinical therapeutics* **23** : 327-355.
124. Koopmans M., Wilbrink B., Conyn M., Natrop G., van der Nat H., Vennema H., Meijer A., van Steenbergen J., Fouchier R., Osterhaus A., Bosman A. (2004). Transmission of H7N7 avian influenza A virus to human beings during a large outbreak in commercial poultry farms in the Netherlands. *Lancet* **363** : 587-593.
125. Ward P., Small I., Smith J., Suter P., Dutkowski R. (2005). Oseltamivir (Tamiflu) and its potential for use in the event of an influenza pandemic. *J Antimicrob Chemother* **55** suppl 1: i5-i21.

126. Le Q.M., Kiso M., Someya K., Sakai Y.T., Nguyen T.H., Nguyen K.H., Pham N.D., Ngyen H.H., Yamada S., Muramoto Y., Horimoto T., Takada A., Goto H., Suzuki T., Suzuki Y., Kawaoka Y.(2005). Avian flu: isolation of drug-resistant H5N1 virus. *Nature* **437** : 1108.

WEBOGRAPHIE

Blancou J. (2007). La longue histoire des pestes aviaires, In : Site de l'Académie vétérinaire de France. <http://academieveterinaire.free.fr/fiche/historique.html> (consulté le 17 mars 2008)

Site de l'OIE (Organisation Mondiale de la Santé animale). http://www.oie.int/wahid-prod/reports/fr_fup_0000005909_20070816_112710.pdf (consulté le 29 août 2007)

Delvallée T (2006). Actualités sur la grippe aviaire et sa transmission chez l'homme. In : Site du CNRS et de l'INIST, la grippe aviaire et l'homme, le dossier de synthèse. <http://veille.inist.fr/IMG/pdf/GrippeAviaire2006.pdf> (consulté le 13 avril 2008)

Wikipédia (2008) La neuraminidase. In:Wikipedia. <http://fr.wikipedia.org/wiki/Neuraminidase> (consulté le 13 avril 2008)

Guerin JL (2006). Dossier d'actualité : ce qu'il faut savoir sur l'influenza aviaire ou grippe aviaire In : Site de l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse. http://www.envt.fr/Actualite/grippe_aviaire/03-03-06/grippe_aviaire-ENVT-03-03-06.pdf (consulté le 14 avril 2008)

OIE (Organisation Mondiale de la Santé animale). Influenza aviaire hautement pathogène (peste aviaire) In : Site de l'OIE (2002) http://www.oie.int/fr/maladies/fiches/f_A150.htm (consulté le 14 novembre 2005)

Organisation Mondiale de la Santé. Grippe aviaire : questions fréquemment posées. In : Site de l’OMS. http://www.who.int/csr/disease/avian_influenza/avian_faqs/fr/index.html (consulté le 14 novembre 2005)

Organisation Mondiale de la Santé (17 mars 2008). Areas reported confirmed occurrence of H5N1 avian influenza in poultry and wild birds since 2003.

http://gamapserver.who.int/mapLibrary/Files/Maps/Global_SubNat_H5N1inAnimalConfirmedCUMULATIVE_20080317.png (consulté le 14 avril 2008)

Site de l’OIE (Organisation Mondiale de la Santé animale). Rapport de notification immédiate. Référence du rapport: , Ref OIE: 4764, Date du rapport: 20/02/2006 , Pays: France. http://www.oie.int/wahid-prod/reports/fr_imm_0000004764_20060220_121642.pdf (consulté le 14 avril 2008)

Plan national de prévention et de lutte “Pandémie grippale” (2007). In : Site du Ministère de la Santé, de la Jeunesse et des Sports (consulté le 08 mars 2007).

Site de l’Agence Nationale du Médicament Vétérinaire. <http://www.anmv.afssa.fr> (consulté le 19 avril 2008)

OMS (2008) Nombre cumulé des cas humains infectés par l’influenza aviaire à virus A(H5N1) confirmés au 17 avril 2008. In : Site de l’Organisation Mondiale de la Santé. http://www.who.int/csr/disease/avian_influenza/country/cases_table_2008_04_17/en/index.html (consulté le 20 avril 2008).

Organisation Mondiale de la Santé (2 septembre 2005). Comment faire face à la menace d'une pandémie de grippe aviaire. Mesures stratégiques recommandées.

http://www.who.int/csr/resources/publications/influenza/WHO_CDS_CSR_GIP_2005_8/fr/

(consulté le 13 mars 2008)

Ministère de la Santé. Grippe saisonnière :prévention des épidémies et du risque nosocomial.

<http://www.sante.gouv.fr/htm/dossiers/grippe/grippe2.htm> (consulté le 27 avril 2008)

Ministère de l'Agriculture et de la Pêche. Notion d'information sur le dispositif de surveillance et de prévention de l'influenza aviaire chez les oiseaux captifs, retenu pour l'automne et l'hiver des années 2006 et 2007.

http://www.grippeaviaire.gouv.fr/IMG/pdf/Note_d_information_dispositif.pdf (consulté le 1er mai 2008)

Mesures à appliquer en fonction des différents niveaux du risque d'exposition des oiseaux captifs (risque d'épizootie) au virus influenza hautement pathogène circulant dans la faune sauvage. http://www.grippeaviaire.gouv.fr/IMG/pdf/Annexe_tableau_mesures.pdf (consulté le 1er mai 2008)

Résistance à l'oseltamivir de souches A (H5N1), Asie du Sud-Est, Egypte (4 juillet 2007). In Site de l'Institut de Veille Sanitaire :

http://www.invs.sante.fr/international/notes/h5n1_oseltamivir_asie_040707.pdf (consulté le 15 mai 2008)

Conduite à tenir en cas de risque de pandémie grippale à H5N1.

http://www.grippeaviaire.gouv.fr/IMG/pdf/Reperes_professionnels_sante.pdf (consulté le 02 juin 2008)

La grippe aviaire (ou grippe du poulet ou influenza aviaire) : risques infectieux en milieu de soins. In Site du Ministère de la Santé.

http://www.sante.gouv.fr/htm/dossiers/grippe_aviaire/masque.htm (consulté le 02 juin 2008)

Conduite à tenir devant des cas possibles de grippe à nouvelle souche de virus grippal sans transmission interhumaine (25 novembre 2005).

http://www.grippeaviaire.gouv.fr/IMG/pdf/Conduite_a_tenir_devant_des_cas_possibles_de_grippe_aviaire.pdf (consulté le 24 juin 2008)

Houssin Didier. L'indispensable préparation à une pandémie. Les Nouvelles Pharmaceutiques, n°309, 1^{er} décembre 2005.

http://www.ordre.pharmacien.fr/Actualites/frame_news1.asp?actu_id=589 (consulté le 14 juin 2008)

Le plan pharmacien en cas de grippe aviaire transmission. Les Nouvelles Pharmaceutiques, n°306, 20 octobre 2005.

http://www.ordre.pharmacien.fr/Actualites/frame_news1.asp?actu_id=575 (consulté le 14 juin 2008)

Rapport interministériel d'activité (2007). Préparation à une pandémie grippale.

http://www.grippeaviaire.gouv.fr/IMG/pdf/Rapport_interministeriel_d_activite_2007.pdf

(consulté le 14 juin 2008)

Ministère de l'Agriculture et de la Pêche (février 2006). Influenza aviaire : protection des éleveurs et professionnels au contact avec des volailles vivantes.

http://www.grippeaviaire.gouv.fr/IMG/pdf/protection_des_eleveurs_et_professionnels_en_contact_avec_des_volailles_vivantes.pdf (consulté le 10 juin 2008)

Ministère de l'Ecologie et du Développement durable. Grippe aviaire et oiseaux des villes et des campagnes : face à la grippe aviaire vis-à-vis des oiseaux sauvages ?

<http://www.grippeaviaire.gouv.fr/IMG/pdf/SIA.pdf> (consulté le 10 juin 2008)

Organisation Mondiale de la Santé (5 décembre 2005). Les volailles et œufs bien cuits ne présentent aucun risque de grippe aviaire pour le consommateur.

<http://www.who.int/mediacentre/news/releases/2005/pr66/fr/index.html> (consulté le 10 juin 2008)

Site de la préfecture de Moselle (dernière mise à jour : le 31 juillet 2007).

http://www.moselle.pref.gouv.fr/frameset.htm?http://www.moselle.pref.gouv.fr/grands_dossiers_actualite/g_d_grippe_aviaire/g_d_grippe_aviaire.htm?grands_dossiers_actualite/g_d_a_guide_eau/g_d_a_eau.htm (consulté le 06 octobre 2008)

Site de l'OIE (Organisation Mondiale de la Santé animale). Code sanitaire pour la santé des animaux terrestres. Chapitre 4.13 : élimination des carcasses.

http://www.oie.int/fr/normes/mcode/fr_chapitre_1.4.13.htm (consulté le 13 mars 2009)

Site de l'OIE (Organisation Mondiale de la Santé animale). Code sanitaire pour la santé des animaux terrestres. Chapitre 7.6 : mise à mort d'animaux à des fins prophylactiques.

http://www.oie.int/fr/normes/mcode/fr_chapitre_1.7.6.htm (consulté le 13 mars 2009)

TABLE DES FIGURES

Figure 1 : Structure des virus grippaux de type A

Figure 2 : Cycle réplcatif du virus grippal

Figure 3 : Mécanisme du réassortiment génétique et génèse de nouveaux sous-types de virus de type A

Figure 4 : Réservoir de l'Influenzavirus de type A

Figure 5 : Foyers confirmés de l'influenza aviaire hautement pathogène à H5N1 chez les volailles d'élevage et les oiseaux sauvages depuis 2003

Figure 6 : Techniques utilisées pour le diagnostic de la grippe au laboratoire

Figure 7 : Différentes classes de médicaments utilisés contre le virus A(H5N1).

Figure 8 : Zone de contrôle et zone d'observation définis par l'arrêté préfectoral du 3 juillet 2007 en Moselle

.

TABLE DES TABLEAUX

Tableau 1 : Principales pandémies grippales du XX^{ème} siècle et alertes suite à l'identification de nouveaux variants grippaux chez l'homme

Tableau 2 : Les dix protéines codées par le génome viral et leurs fonctions

DEMANDE D'IMPRIMATUR

Date de soutenance : 10 septembre 2009

DIPLOME D'ETAT DE DOCTEUR EN PHARMACIE présenté par Tiffany NZAMBA <u>Sujet :</u> L'influenza aviaire à virus A(H5N1) chez les oiseaux domestiques et sauvages <u>Jury :</u> Président : Mme Chantal FINANCE, Professeur Juges : Mme Sandrine BANAS, Maître de Conférences Mme Jocelyne COLLOMB, Maître de Conférences Mme Martine MAYOT-BOUDAT, Pharmacienne	Vu, Nancy, le 9 juillet 2009 Le Président du Jury Le Directeur de Thèse <i>Mme Chantal FINANCE,</i> <i>Mme Sandrine BANAS</i> Professeur Maître de Conférences <i>[Signature]</i>
Vu et approuvé, Nancy, le 9 juillet 2009 Doyen de la Faculté de Pharmacie de l'Université Henri Poincaré - Nancy 1, <i>Chantal FINANCE</i> 	Vu, Nancy, le 20.07.09 Le Président de l'Université Henri Poincaré - Nancy 1,  <i>Jean-Pierre FINANCE</i> N° d'enregistrement : 3331

TITRE

L'INFLUENZA AVIAIRE A A(H5N1) CHEZ LES OISEAUX DOMESTIQUES ET SAUVAGES

Thèse soutenue le 10 septembre 2009

Par Tiffany NZAMBA

RESUME :

L'influenza aviaire hautement pathogène (IAHP), aussi connue sous le nom de peste aviaire, est une maladie virale touchant les oiseaux sauvages et domestiques.

Il s'agit habituellement d'une affection difficilement transmissible à l'homme ; pourtant la souche A(H5N1) dont il est question dans ce travail, a contaminé dix-huit personnes et provoqué la mort de six personnes à Hong Kong.

Dès lors, l'IAHP à A(H5N1) est devenue un sujet de préoccupation. Depuis, le virus s'est non seulement répandu au reste de l'Asie mais également en Europe et en Afrique.

Les autorités sanitaires mondiales ont réagi en élaborant des stratégies visant à contenir l'épizootie et à éviter un passage du virus à l'homme.

MOTS CLES : Influenza aviaire, virus A(AH5N1), pandémie, volaille

Directeur de thèse	Intitulé du laboratoire	Nature
Mme Sandrine BANAS	Laboratoire de Parasitologie LCPME	Expérimentale ☐
		Bibliographique ☐
		Thème ☐

Thèmes

**1 – Sciences fondamentales
3 – Médicament
5 - Biologie**

**2 – Hygiène/Environnement
4 – Alimentation – Nutrition
6 – Pratique professionnelle**