

# Emergence virale et risque pandémique: exemple des souches aviaires de virus grippal

M1 Microbiologie-Pathologies

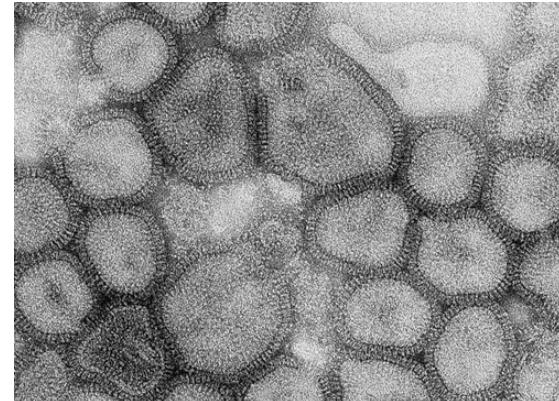
BM Imbert-Marcille

Année 2022-2023

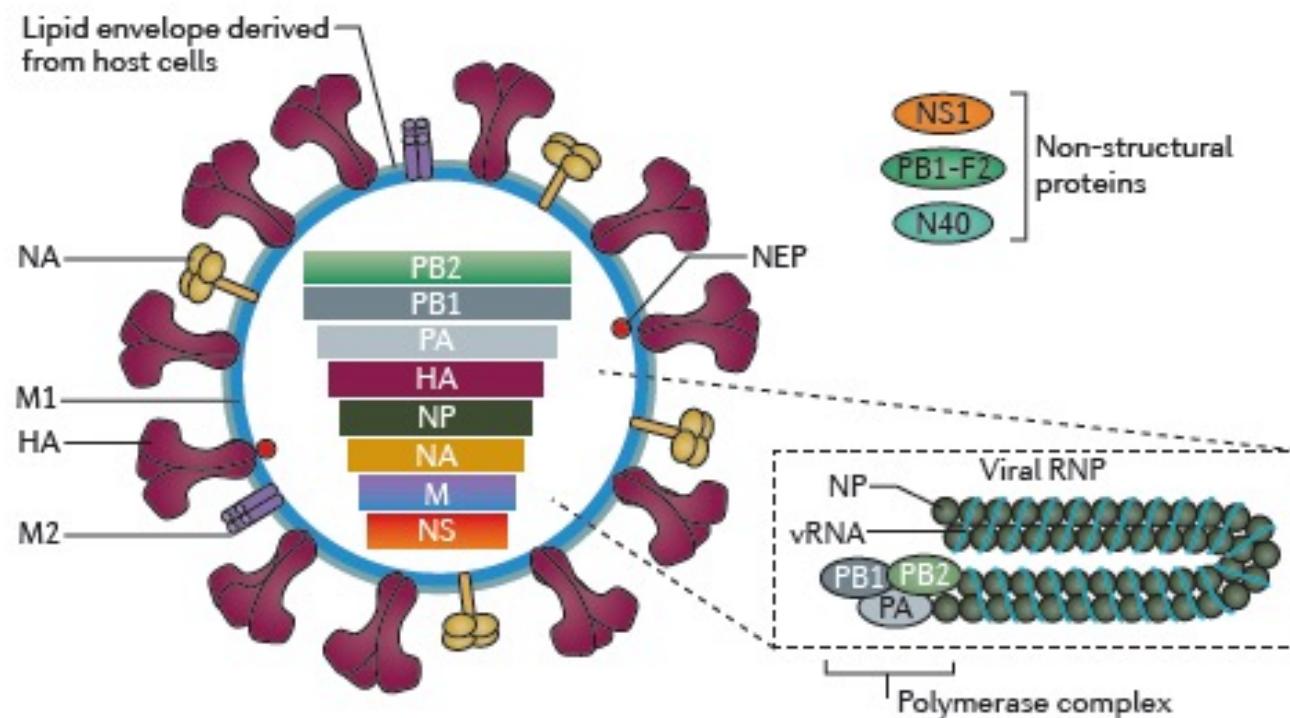
# Les virus respiratoires émergents

- Plus de 1400 pathogènes humains identifiés à ce jour:
  - 65% d'entre eux sont d'origine animale
  - 5% sont des virus...mais 1/3 des agents identifiés dans les infections émergentes au XXème siècle sont des virus
  - L'adaptation des virus à l'homme est le plus souvent rendue possible par des mutations du virus animal
- Nombreux nouveaux virus « respiratoires » identifiés depuis 2000
  - Certains au pouvoir pathogène encore « incertain »
  - D'autres identifiés comme de réels pathogènes: Metapneumovirus, Coronavirus du SARS, virus grippaux aviaires
- Pandémie de SARS-CoV2
- Intérêt du modèle Influenzaevirus (virus grippal), pour étudier
  - le passage de virus animaux à l'homme
  - les mécanismes de la diffusion pandémique des maladies infectieuses et la mise en place de mesures de prévention
  - la physiopathologie des atteintes pulmonaires virales

# Structure des virus grippaux (7-8 segments)

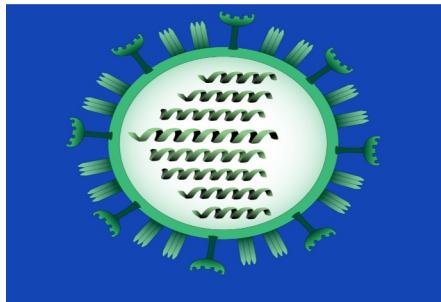


- PB1, PB2, PA:  
transcriptase
- HA:  
hémagglutinine
- NP:  
nucléocapside
- NA:  
neuraminidase
- M: prot matrice  
M1 et canal  
ionique M2
- NS: prot non  
structurales

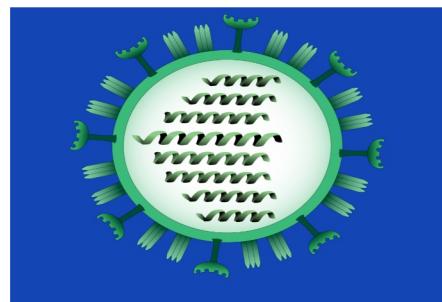


Trois types et de nombreux sous-types

Type B



Type C (7 seg)



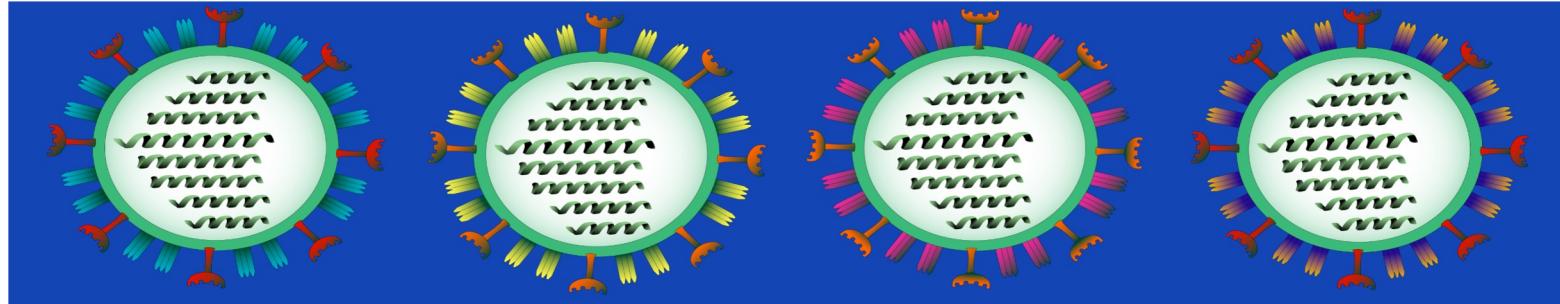
Type A (144 sous-types possibles)

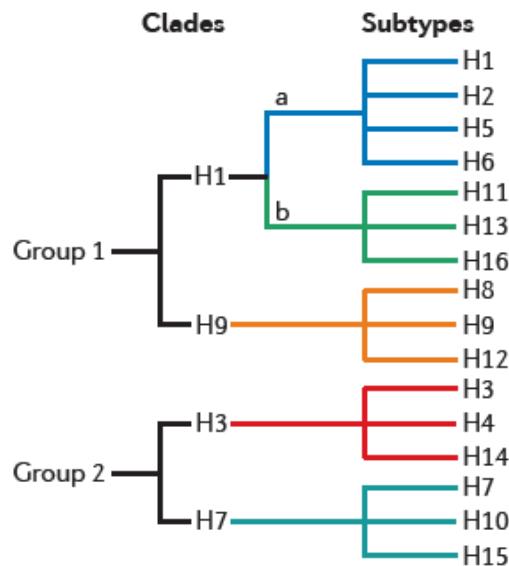
H1N1

H2N2

H3N2

H5N1





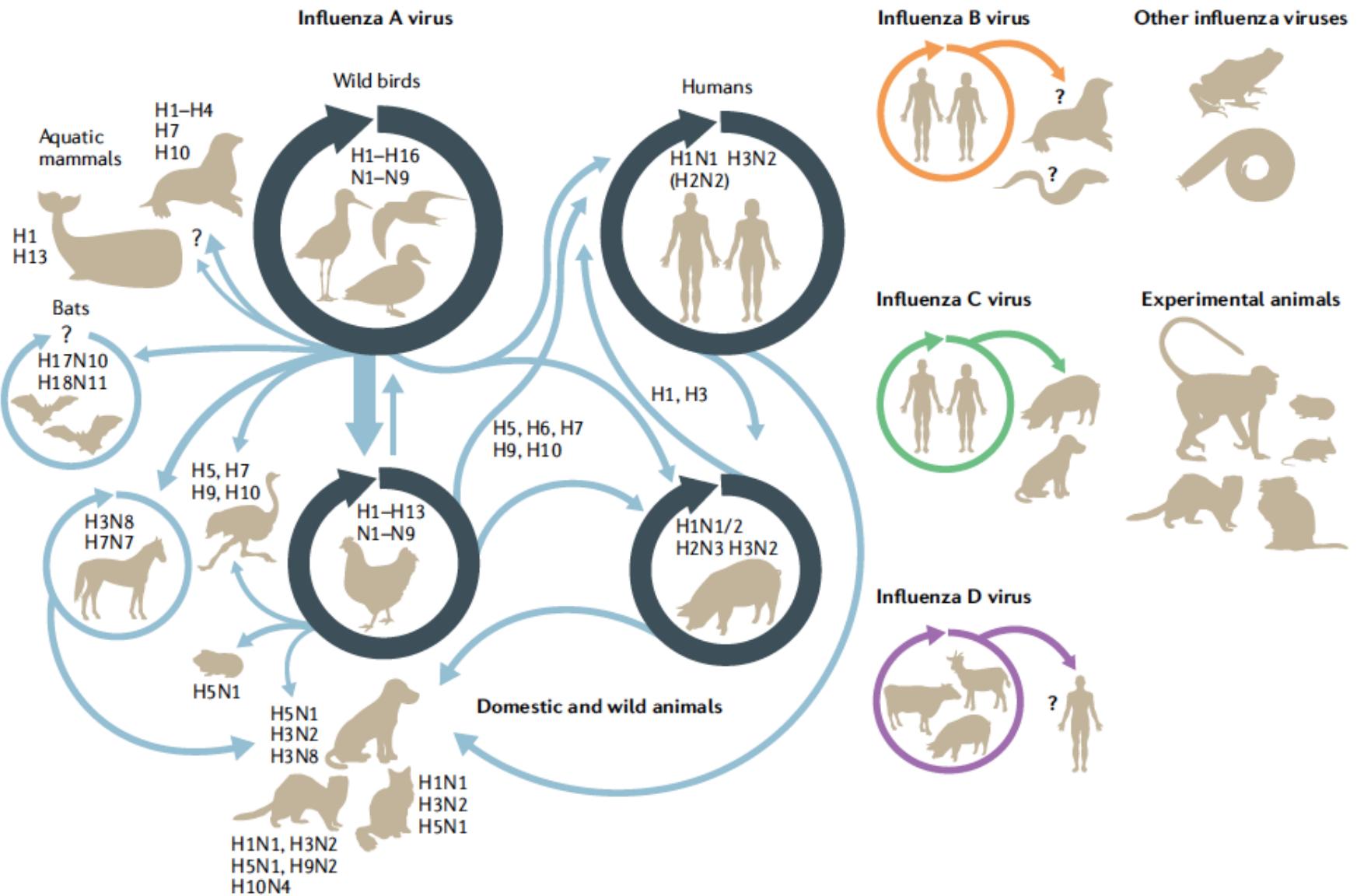
**Distribution des sous-types de la neuraminidase du virus A dans la nature**

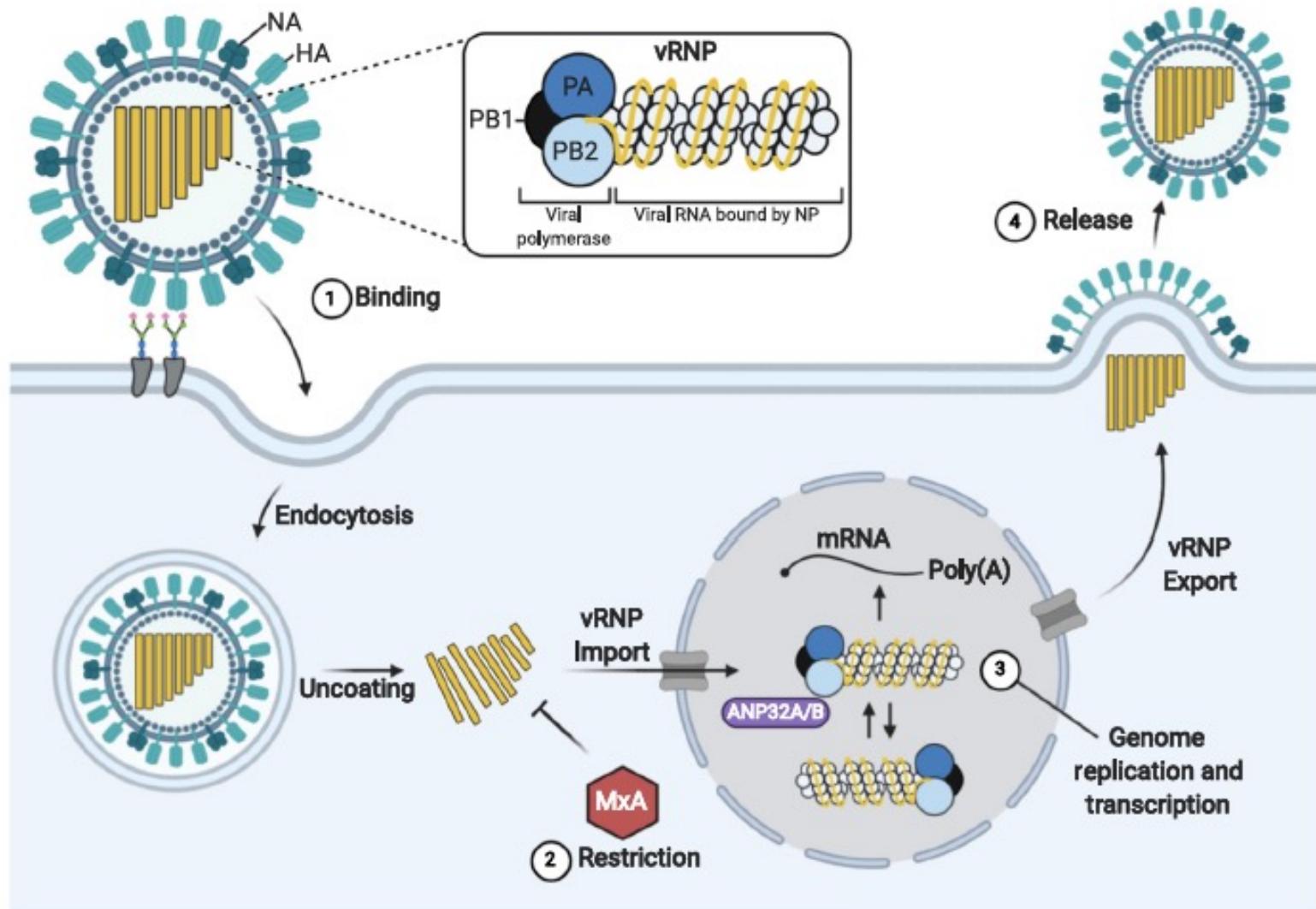
N1	Human	Pig	Duck	Horse
N2	Human	Pig	Duck	
N3			Duck	
N4		Mustelid	Duck	
N5			Duck	
N6		Mustelid	Duck	
N7			Duck	Horse
N8			Duck	Horse
N9			Duck	

**Distribution des sous-types de l'hémagglutinine du virus A dans la nature**

H1	Human	Pig	Duck	
H2	Human		Duck	
H3	Human	Pig	Duck	Horse
H4		Mustelid	Duck	
H5			Duck	
H6			Duck	
H7		Mustelid	Duck	Horse
H8			Duck	
H9			Duck	
H10			Duck	
H11			Duck	
H12			Duck	
H13			Duck	
H14			Duck	
H15			Duck	
H16			Duck	

# Tropisme des virus grippaux en fonction de la nature de H (et de la distribution des acides sialiques)





## Les caractéristiques de HA et de NA (gp d'enveloppe)

- Hémagglutinine:
  - Clivage de HAo en HA1 et HA2 par protéase (trypsine en culture)
  - Attachement du virus à la cellule: R aux acides sialiques liés au galactose par des liaisons glycosidiques:
    - de type NeuAc $\alpha$ 2,3Gal (Virus aviaires et équins)
    - de type NeuAc $\alpha$ 2,6Gal (Virus humains)
  - Activité fusogène de HA2 (dans vésicule d'endocytose)
  - Cible majeure de la réponse anticorps
- Neuraminidase:
  - Activité sialidase, permettant libération des virions néoformés par coupure entre l'acide sialique et l'hémagglutinine
  - Cible des anticorps

## La variabilité génétique...et ses conséquences

- **Variabilité liée aux erreurs de l'ARN polymérase (tous types)**
  - Modifications progressives de HA et/ou de NA = glissements antigéniques ou dérive antigénique
  - **Responsable des épidémies saisonnières**
  - Explique reformulation annuelle du vaccin (en fonction de circulation dans hémisphère sud)
- **Variabilité liée à des « sauts/cassures antigéniques » (uniquement type A)**
  - Par réassortiment génique entre deux types de virus ou par « infection directe »...
  - **Responsable des pandémies**
  - Pas de vaccin tant que la nouvelle souche infectant l'homme n'a pas été identifiée...

# Pandémies grippales

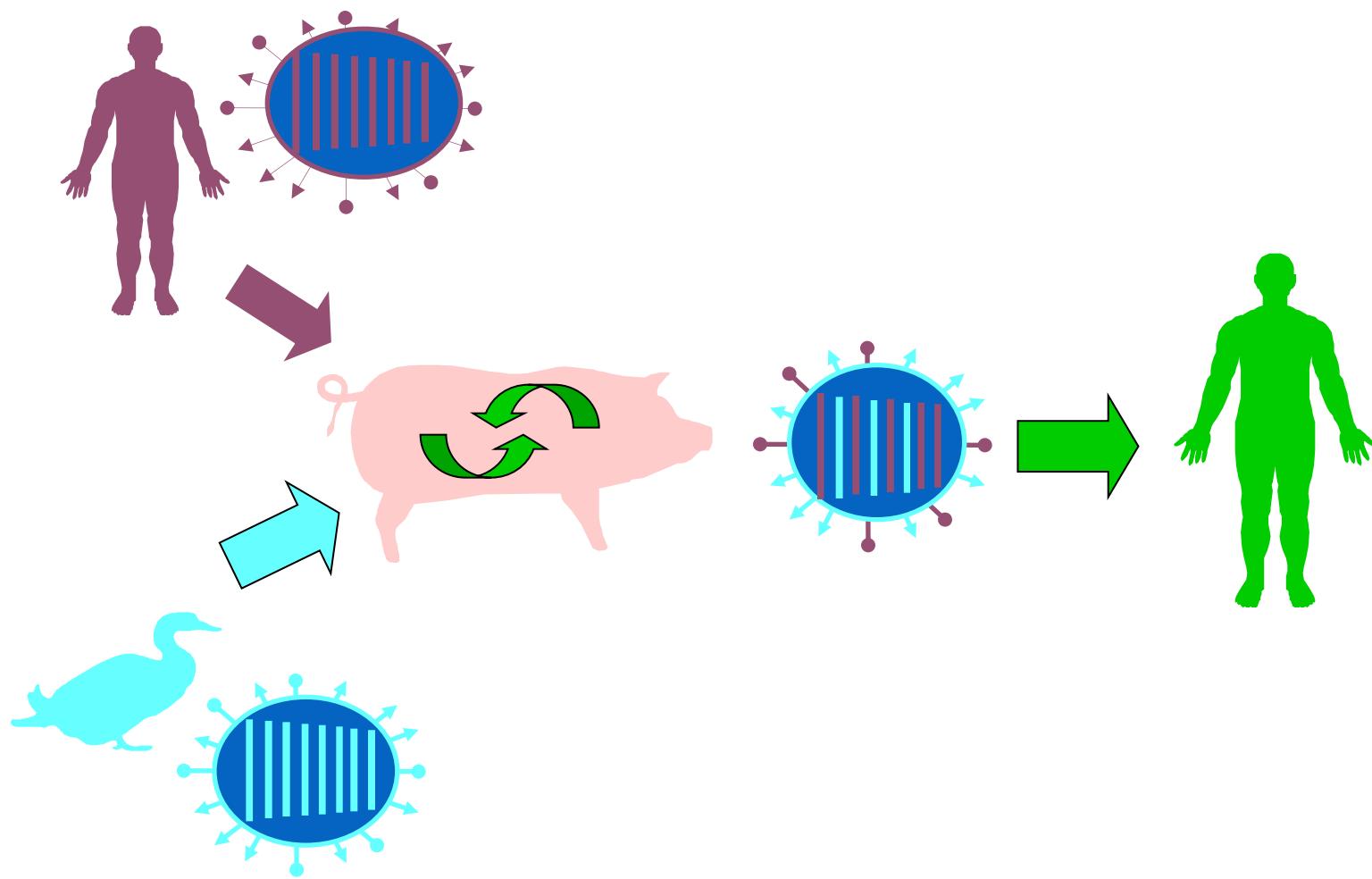
## Mortalité au cours des pandémies du XX<sup>e</sup> siècle



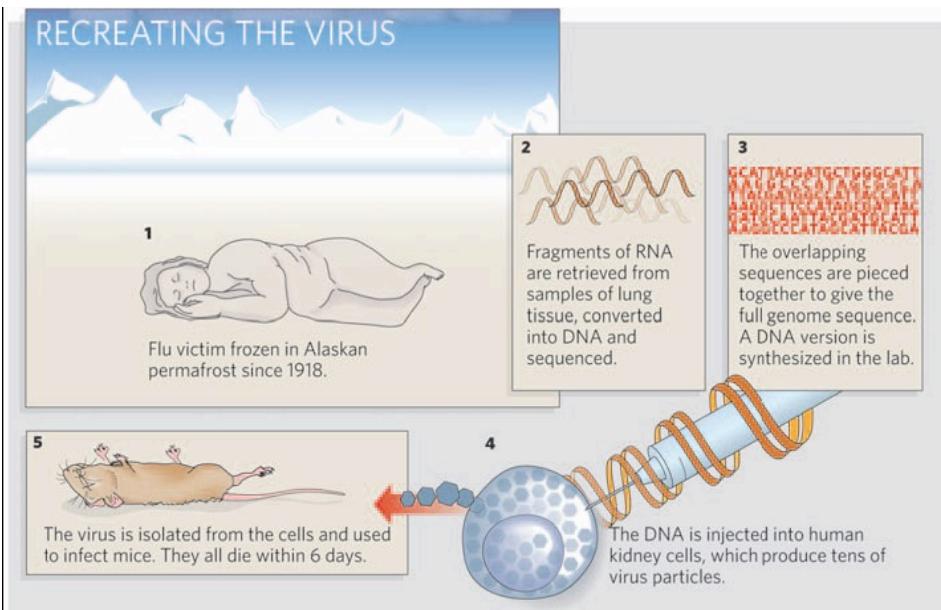
1918-19	« Grippe espagnole » A(H1N1)	≈ 40 millions de décès dans le monde
1957-58	« Grippe asiatique » A(H2N2)	1 million de décès dans le monde
1968-69	« Grippe de Hong-Kong » A(H3N2)	0,8 millions de décès dans le monde
1977	« Grippe russe » A(H1N1)	

- Les pandémies ont lieu tous les 10 à 40 ans
- Jusqu'à 50 % de la population mondiale peut être affectée
- Virus nouveau pour la population humaine
- Taux de létalité généralement élevé
- 1997 “grippe du poulet” (H5N1) à Hong Kong – rappel de la menace pandémique
- 2009

# Réassortiment entre virus aviaire et humain



# La « résurrection » du virus H1N1 de 1918

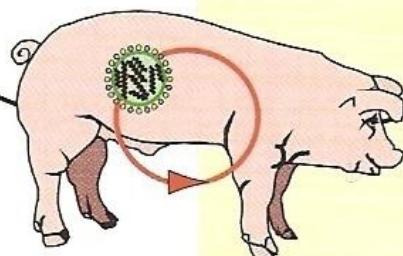
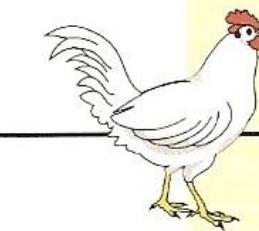


- Les 8 segments sont d'origine aviaire
- Pouvoir pathogène accru

- Comparaison souche ancestrale avec la souche Texas (H1N1 dans les 2 cas): 50 fois plus de particules virales produites sur cultures de cellules pulmonaires humaines, 39 000 fois plus de particules virales dans les poumons de souris infectées, mortalité 100% (0%)
- Gravité de l'atteinte pulmonaire (modèle murin): exacerbation du syndrome inflammatoire par augmentation de l'afflux de polynucléaires et hyperactivation des macrophages alvéolaires
- Virulence attribuée à HA et au complexe ARN polymérase

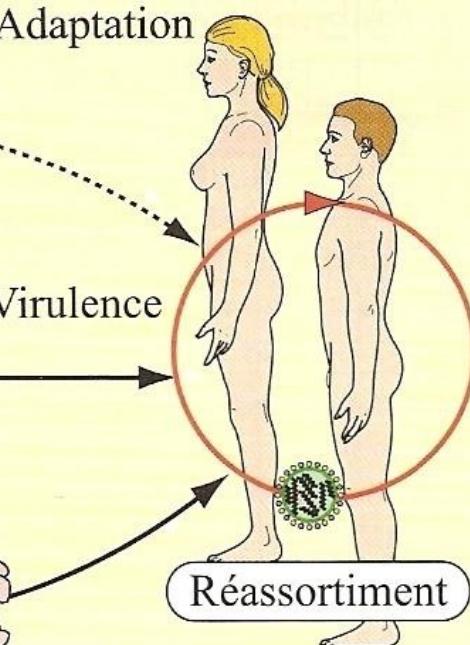


Transmission directe



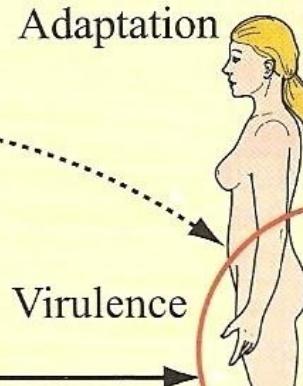
Transmission indirecte

Réassortiment



Virus humain

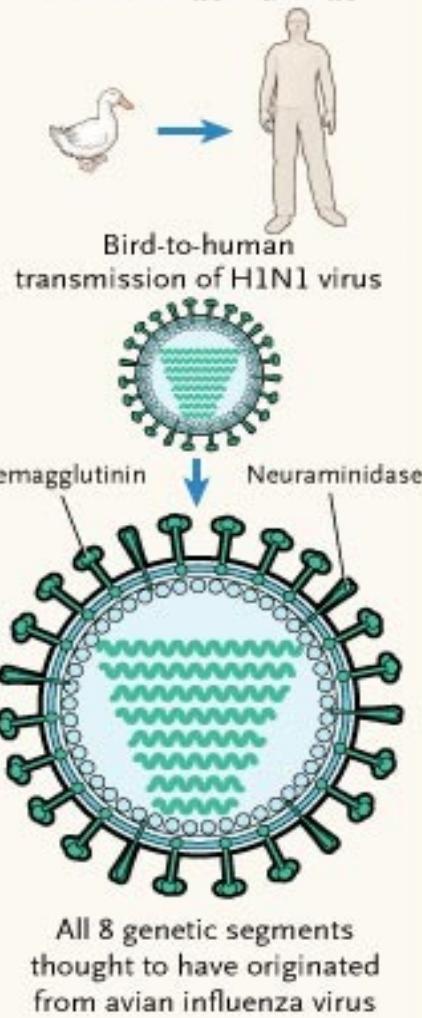
Virulence



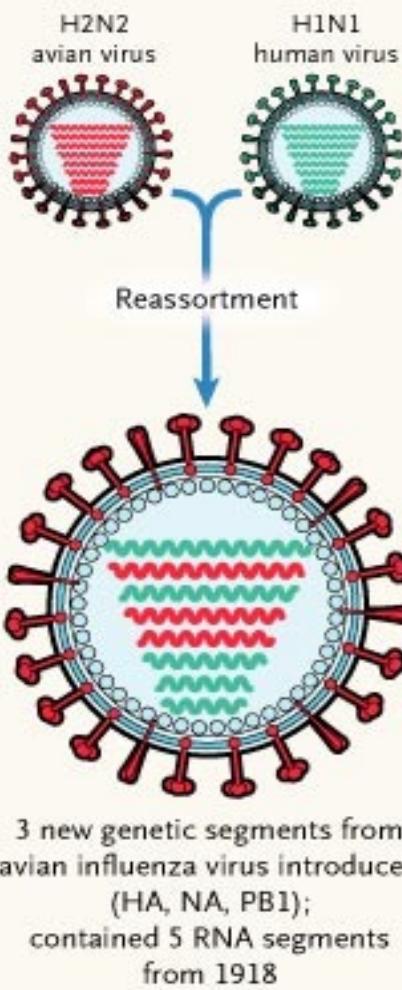
Adaptation

1918 "Spanish influenza" → 1957 "Asian influenza" → 1968 "Hong Kong influenza" → Next pandemic influenza

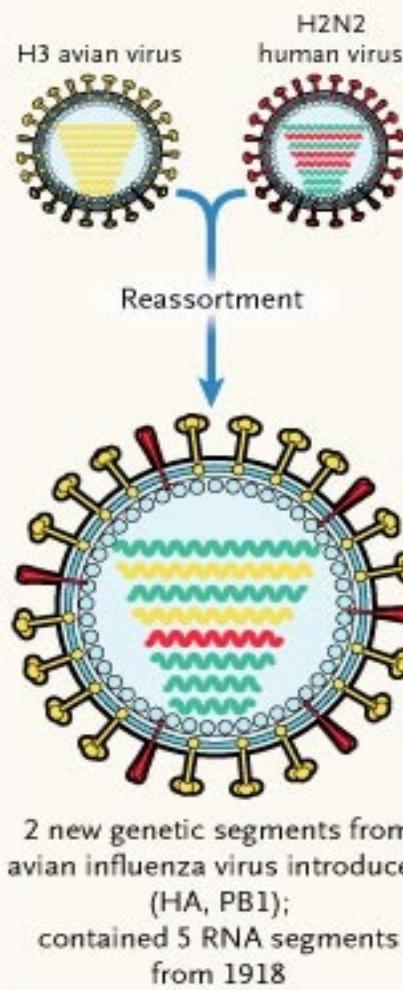
### H1N1 influenza virus



### H2N2 influenza virus



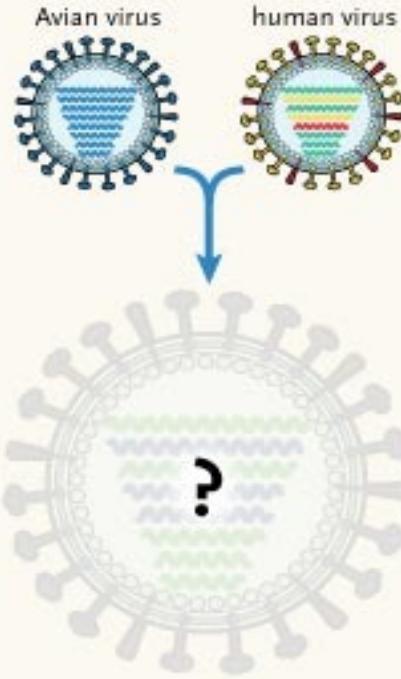
### H3N2 influenza virus



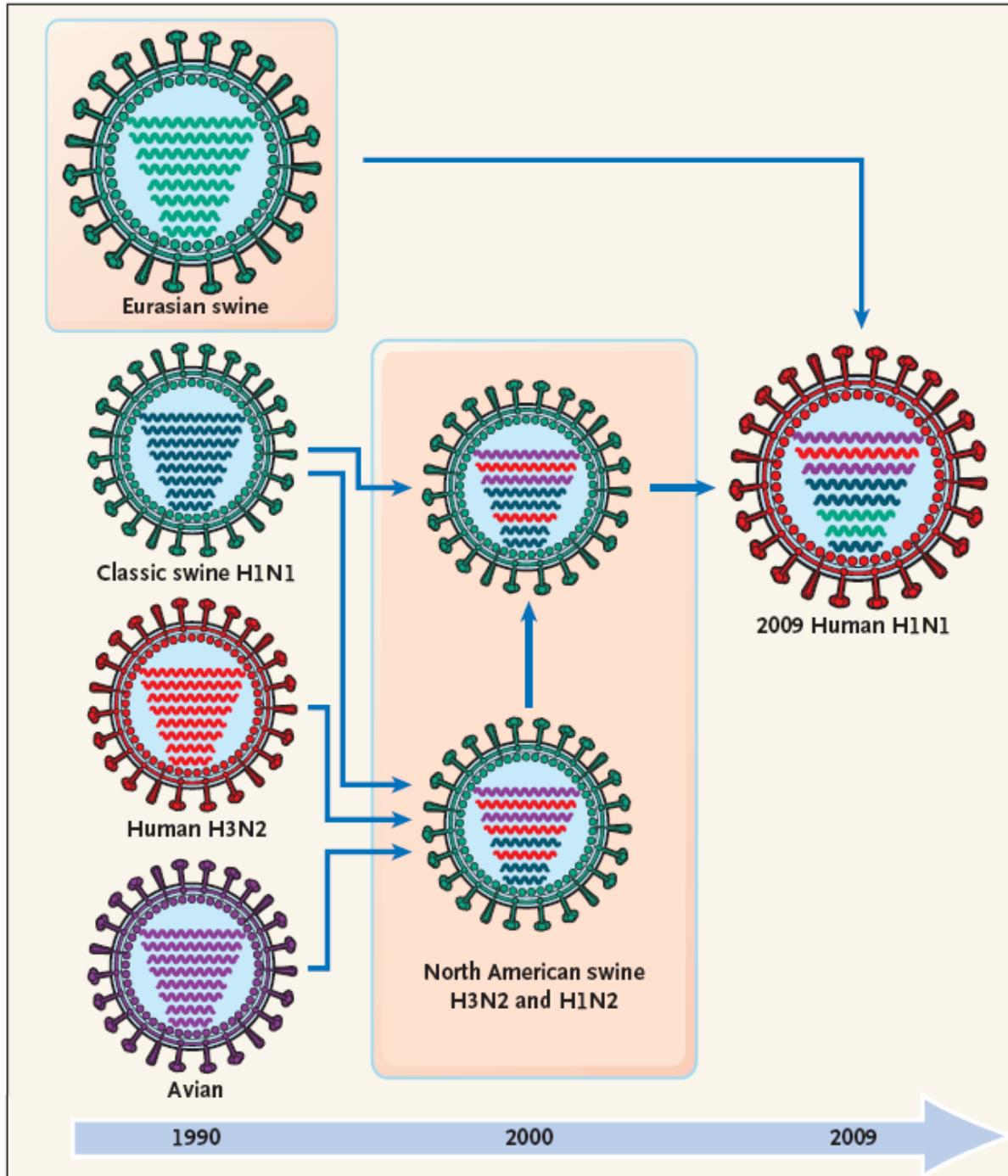
Avian virus

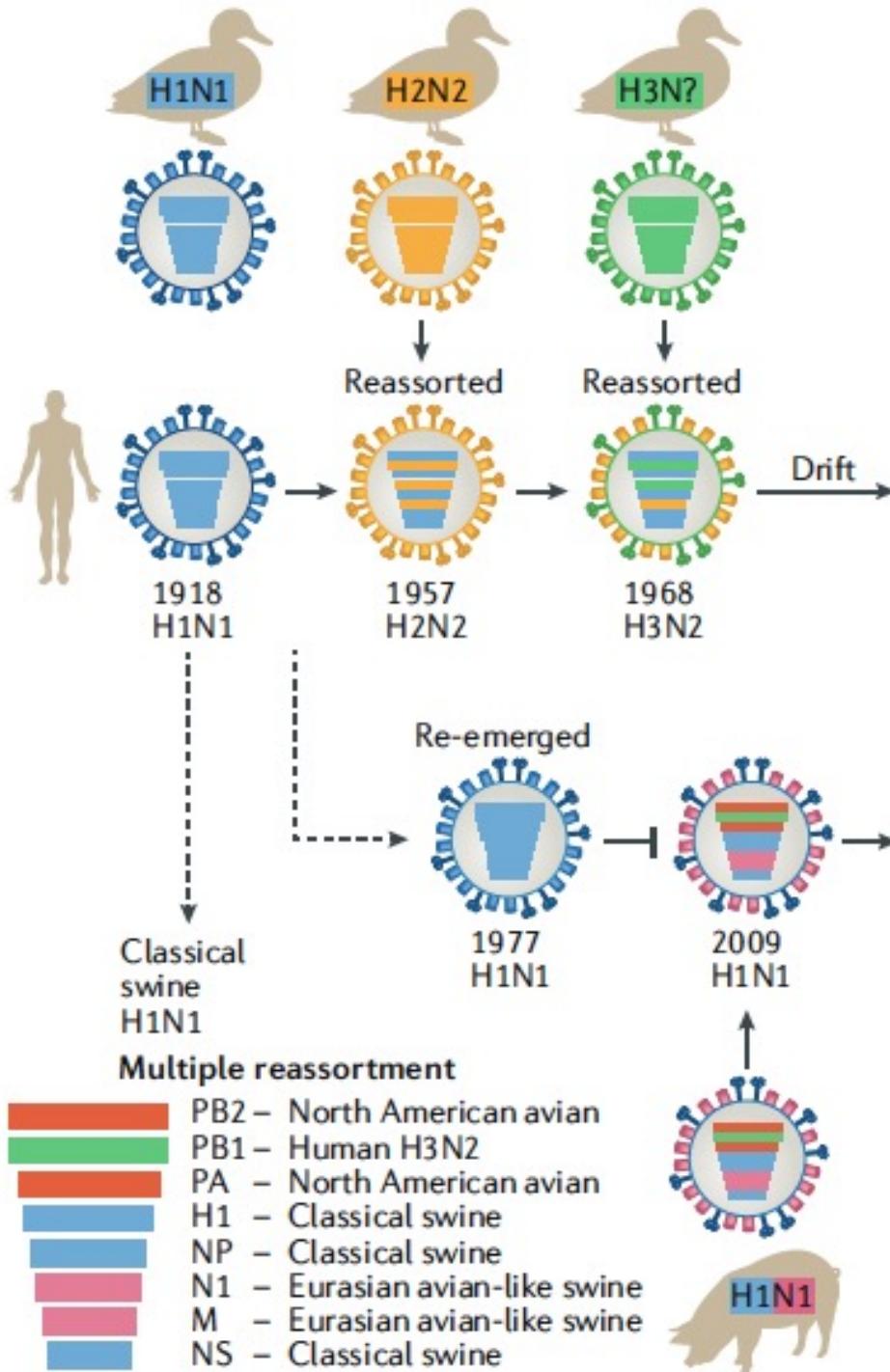
or

H3N2 human virus



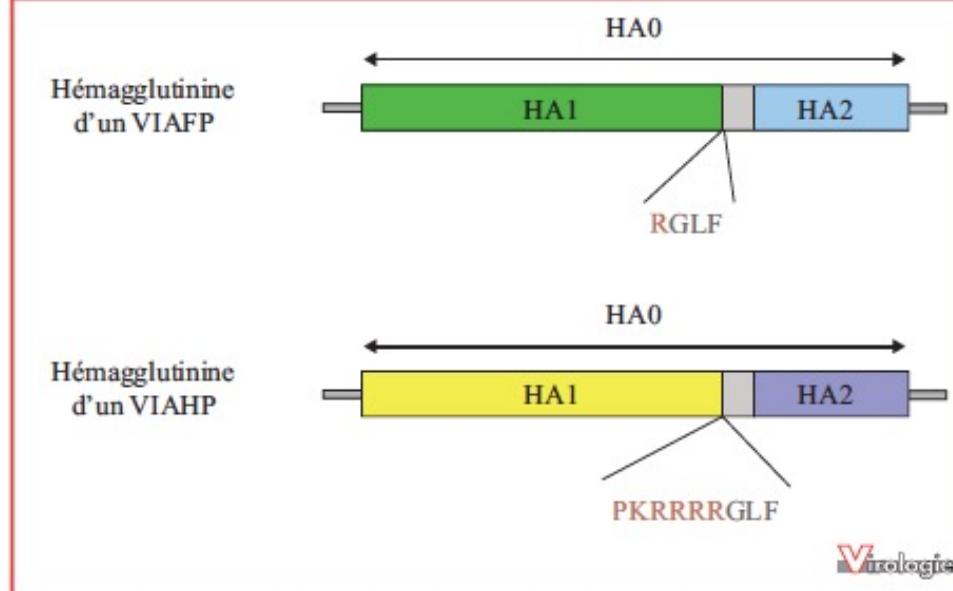
All 8 genes new or further derivative of 1918 virus





## Les virus aviaires

- Représentent la très grande majorité des virus de type A car les oiseaux (notamment aquatiques migrateurs) sont le réservoir naturel
- Chez les oiseaux (sauvages ou domestiques) :
  - multiplication du virus dans les intestins
  - présence en grande quantité dans les excréments
  - Pas de signes cliniques pour la plupart des souches (souches Low Pathogenic Avian Influenza LPAI = = VIAFP)
  - Certaines souches sont hautement pathogènes (souches HPAI = VIAHP )
    - mortalité +++
    - possibilité de transmission à d'autres animaux (notamment les volailles) et à l'homme
    - Elles sont de type H5 ou H7 et portent un site de clivage particulier



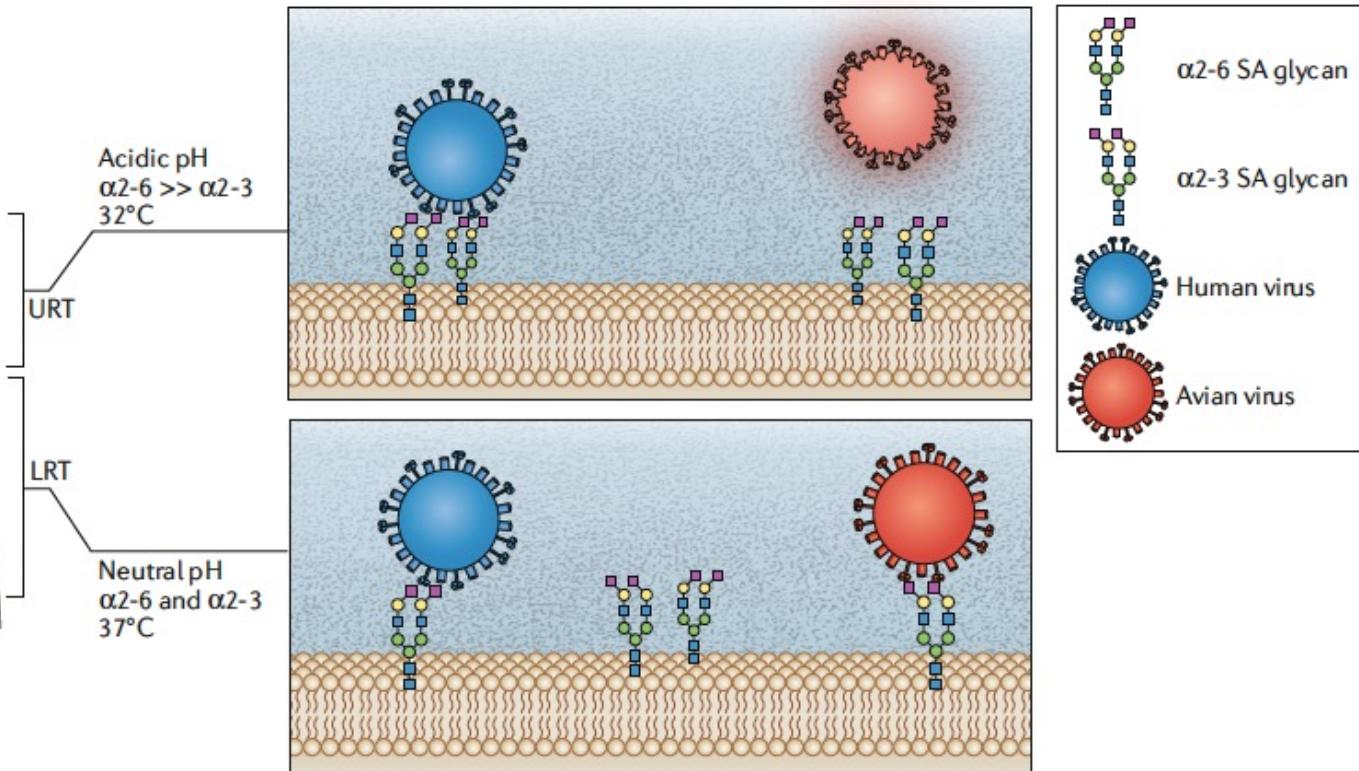
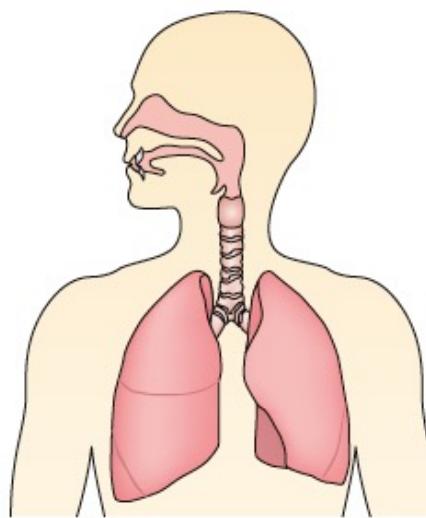
**Figure 2. Hémagglutinines des virus influenza aviaires faiblement et hautement pathogènes.** Le clivage protéolytique de la molécule précurseur HA0 en deux sous-unités HA1 et HA2 se fait au niveau d'un site de clivage qui est monobasique pour les VIAFP et polybasique pour les VIAHP.



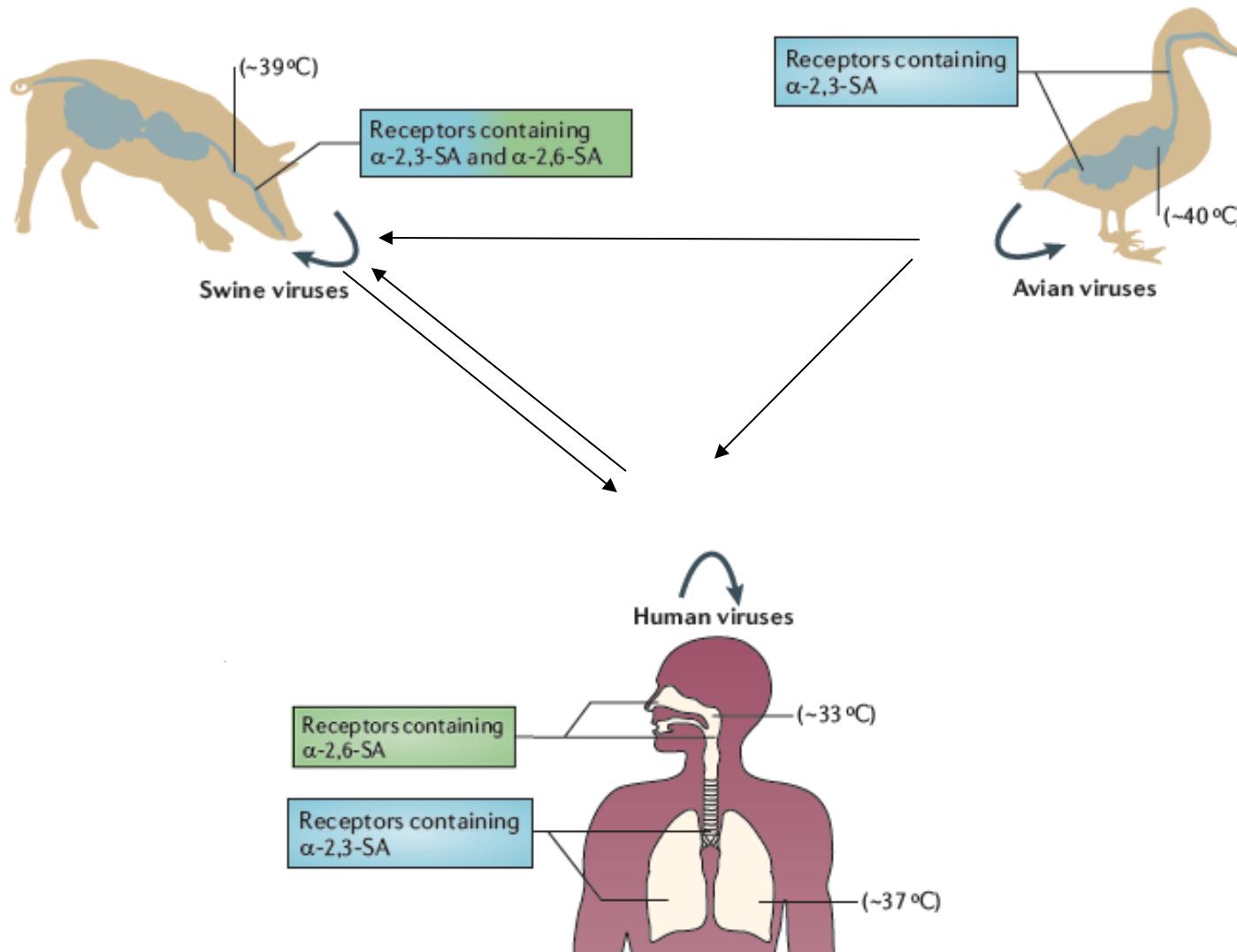
**Figure 3. Réplication des virus influenza aviaires faiblement et hautement pathogènes chez les oiseaux.** Les étoiles indiquent les sites de réplication virale. La réplication des VIAFP est généralement limitée aux appareils respiratoire et digestif, tandis que les VIAHP peuvent se répliquer de manière systémique.

# Tropisme différentiel des souches humaines et aviaires

c



# Les souches aviaires s'accrochent aux acides sialiques ayant des liaisons NeuAc $\alpha$ 2,3Gal



## La grippe aviaire chez l'homme

- Actuellement: virus H5N1 en « impasse » chez l'homme car mal adapté
- Transmission respiratoire par contacts répétés avec les déjections et sécrétions respiratoires des volailles infectées (pas de cas de contamination directe avec oiseaux sauvages)
- Quelques cas de transmission intrafamiliale...
- Présentations cliniques
  - Touche les sujets jeunes (médiane d'âge 14 ans)
  - Mortalité: 60% (délai infection-décès: 4-30 jours, mediane 12)
  - Dans plus de 50% des cas: insuffisance resp consécutive à une pneumopathie, diarrhées, lymphopénies, augmentation des transaminases

# Physiopathologie de la grippe aviaire

- Maladie dominée par l'atteinte pulmonaire...mais possibilité d'infections généralisées
- Plusieurs éléments:
  - Les acides sialiques pour les virus aviaires (2,3 gal) sont présents uniquement au niveau du tractus humain respiratoire inférieur
  - Les doses infectieuses sont très élevées:
    - réponse cytokinique précoce et très importante
    - Réponse CD8+ peu soutenue
  - Certaines souches semblent disséminer dans l'organisme
- Existence de cas asymptomatiques...terrain génétique?

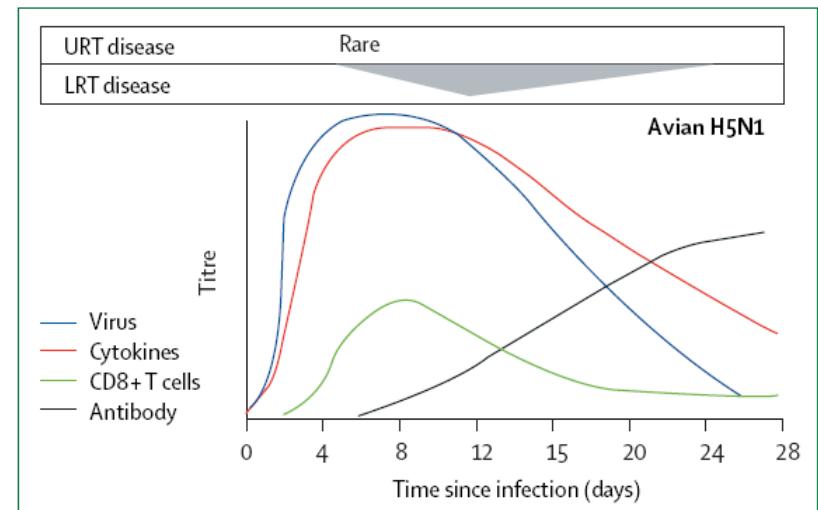
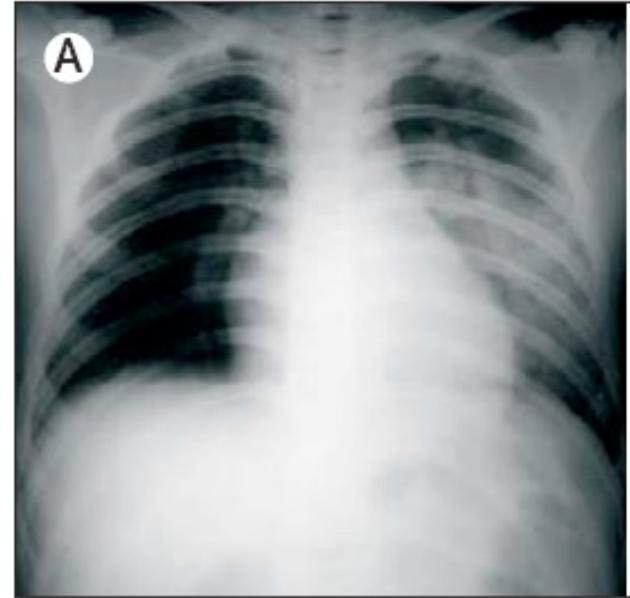


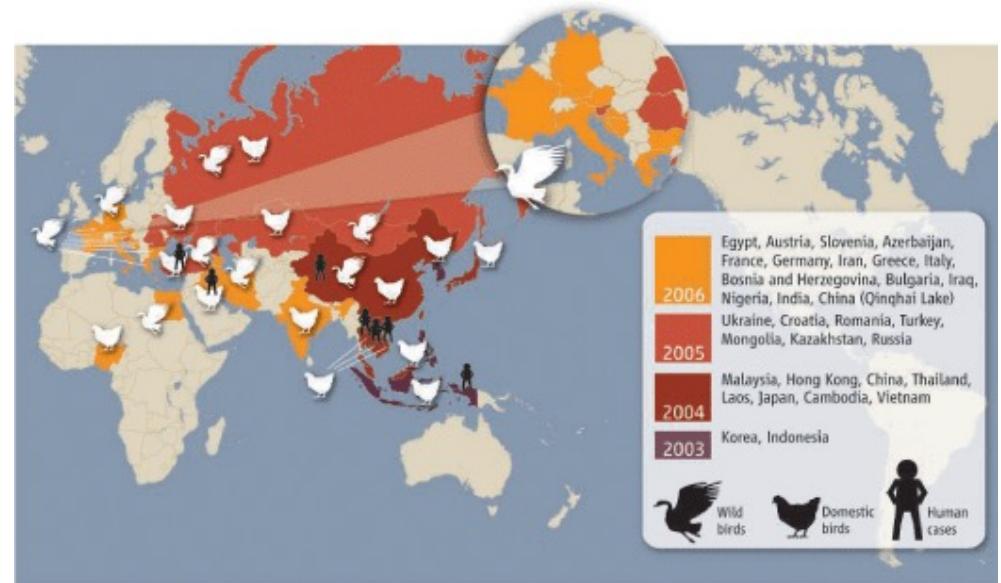
Figure 1: Course of human infection with highly pathogenic H5N1 influenza virus

## Examples of Transmission of Avian Influenza Viruses to Humans.\*

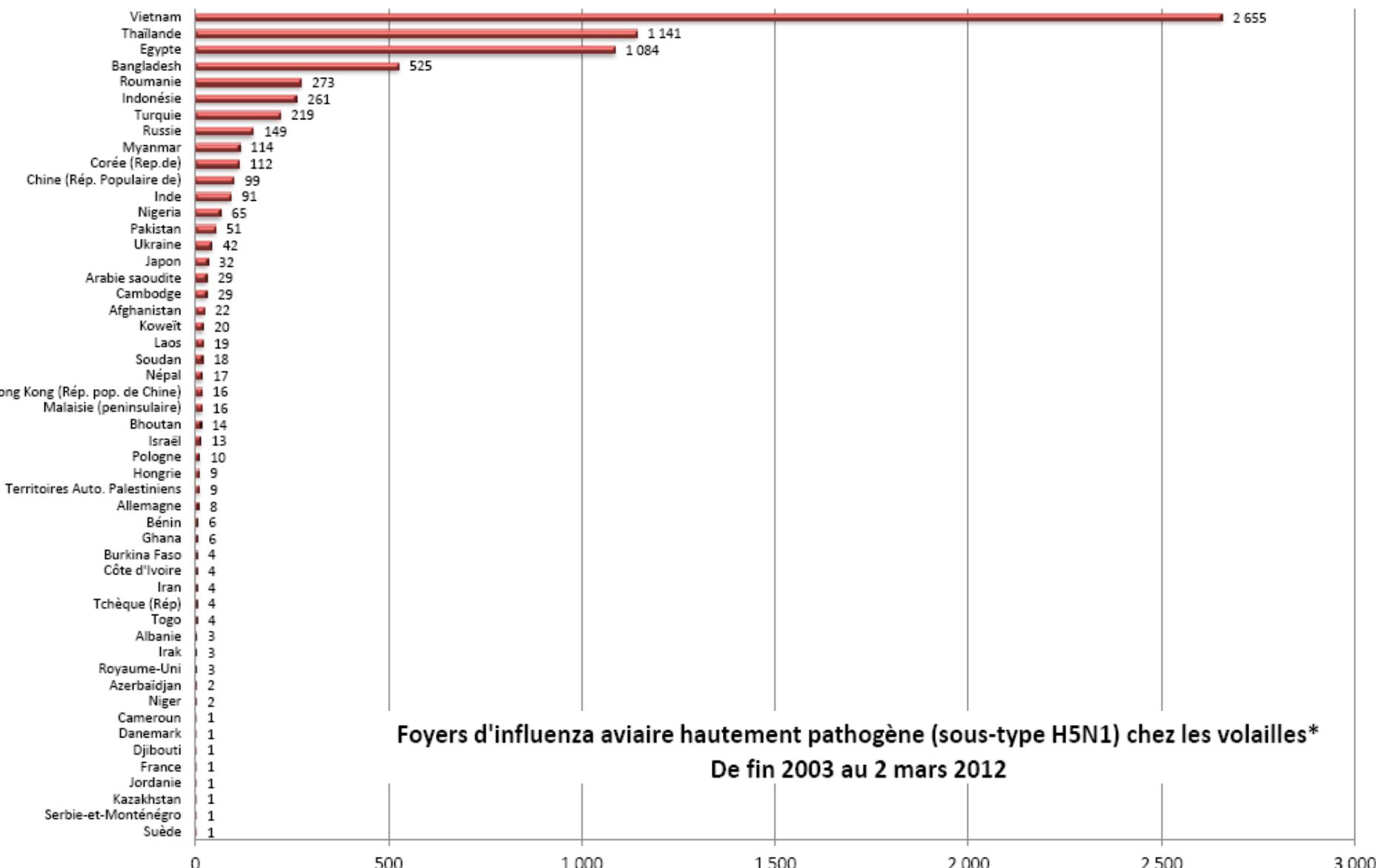
Year and Country	Virus	Designation
1995, United Kingdom	H7N7	A/Eng/268/95
1997, Hong Kong <b>18 cas humains</b>	H5N1	A/HK/156/97 A/HK/148/97
1999, Hong Kong	H9N2	A/HK/1073/99
2003, Hong Kong	H5N1	A/HK/213/03
2003, the Netherlands <b>85 cas humains</b>	H7N7	A/Neth/33/03 A/Neth/219/03
2003, Hong Kong	H9N2	A/HK/2018/03
2004, Vietnam	H5N1	A/VN/1203/04 A/VN/1194/04
2004, Thailand	H5N1	A/Thai/16/04
2004, Canada	H7N3	NA
2004, Egypt	H10N7	NA

\* H5 and H9 viruses have generally been associated with respiratory disease, whereas H7 has generally been associated with conjunctivitis. NA denotes not available.

# Souches aviaires HPAI de type H5N1



- **H5N1 => Nombreuses similitudes avec H1N1 (1918):**
  - Origine aviaire
  - Létalité chez les jeunes (ado, jeunes adultes)
  - Implication de HA et du complexe ARN pol dans virulence [Salomon *et al.*, J Exp Med mars 2006, on line]
  - Accroissement de la réponse inflammatoire pulmonaire dans les modèles animaux (furet)
  - Présence de mutations particulières sur certains gènes...ces mutations sont absentes chez les virus aviaires « classiques »
- **Emergence « continue » depuis 2003 à partir de différents foyers....**



Foyers d'influenza aviaire hautement pathogène (sous-type H5N1) chez les volailles\*

De fin 2003 au 2 mars 2012

\* Les nouveaux foyers d'IAHP H5N1 notifiés par l'Egypte et l'Indonésie ne figurent plus dans le graphique depuis le 26/09/2006 pour l'Indonésie et le 07/07/2008 pour l'Egypte, date à laquelle ces deux pays ont déclaré la maladie endémique. Le nombre de foyers d'IAHP H5N1 de ces deux pays peut être consulté dans leurs rapports semestriels respectifs.

## Countries with Highly pathogenic avian influenza outbreaks in 2015-2020

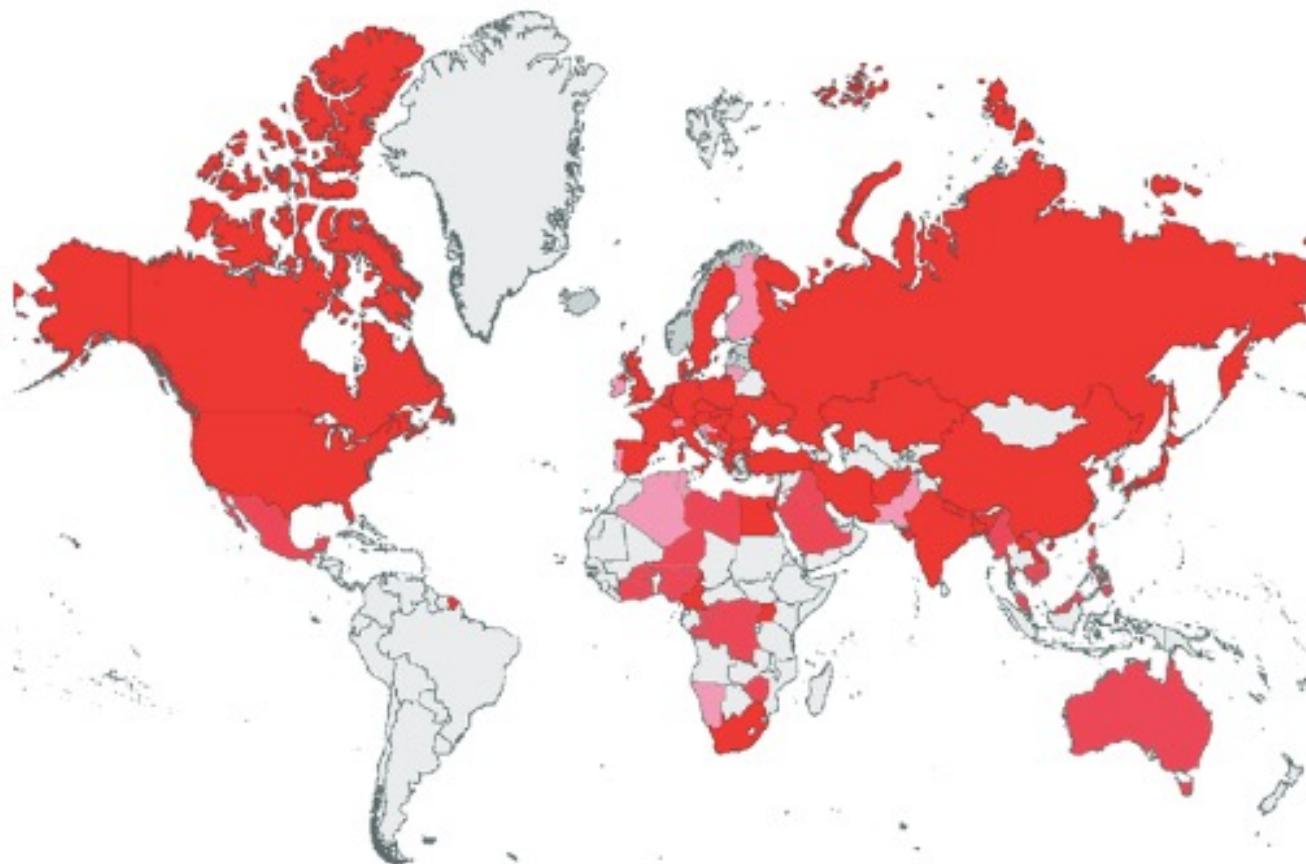
In wild birds



In poultry



In poultry and wild birds

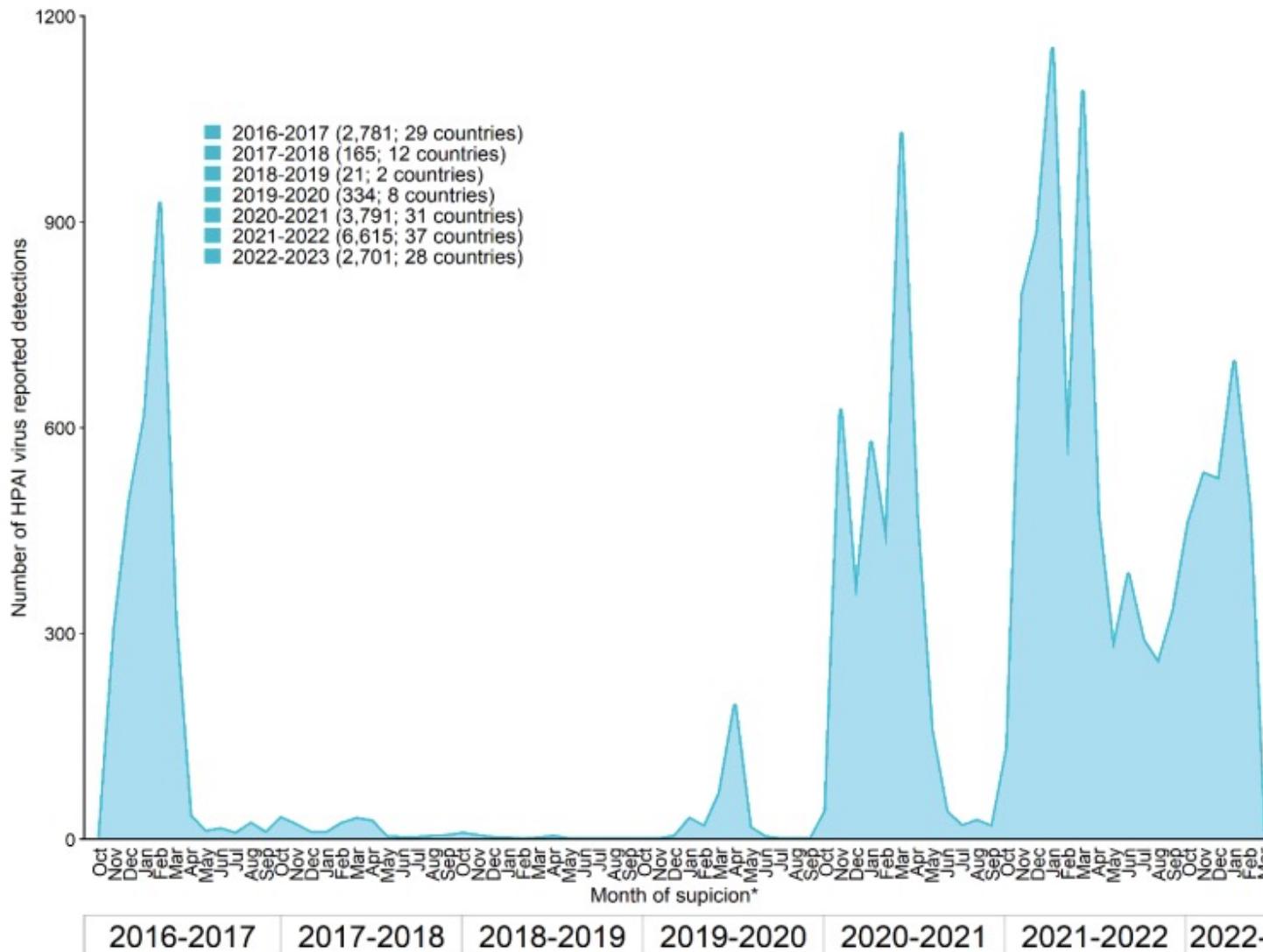


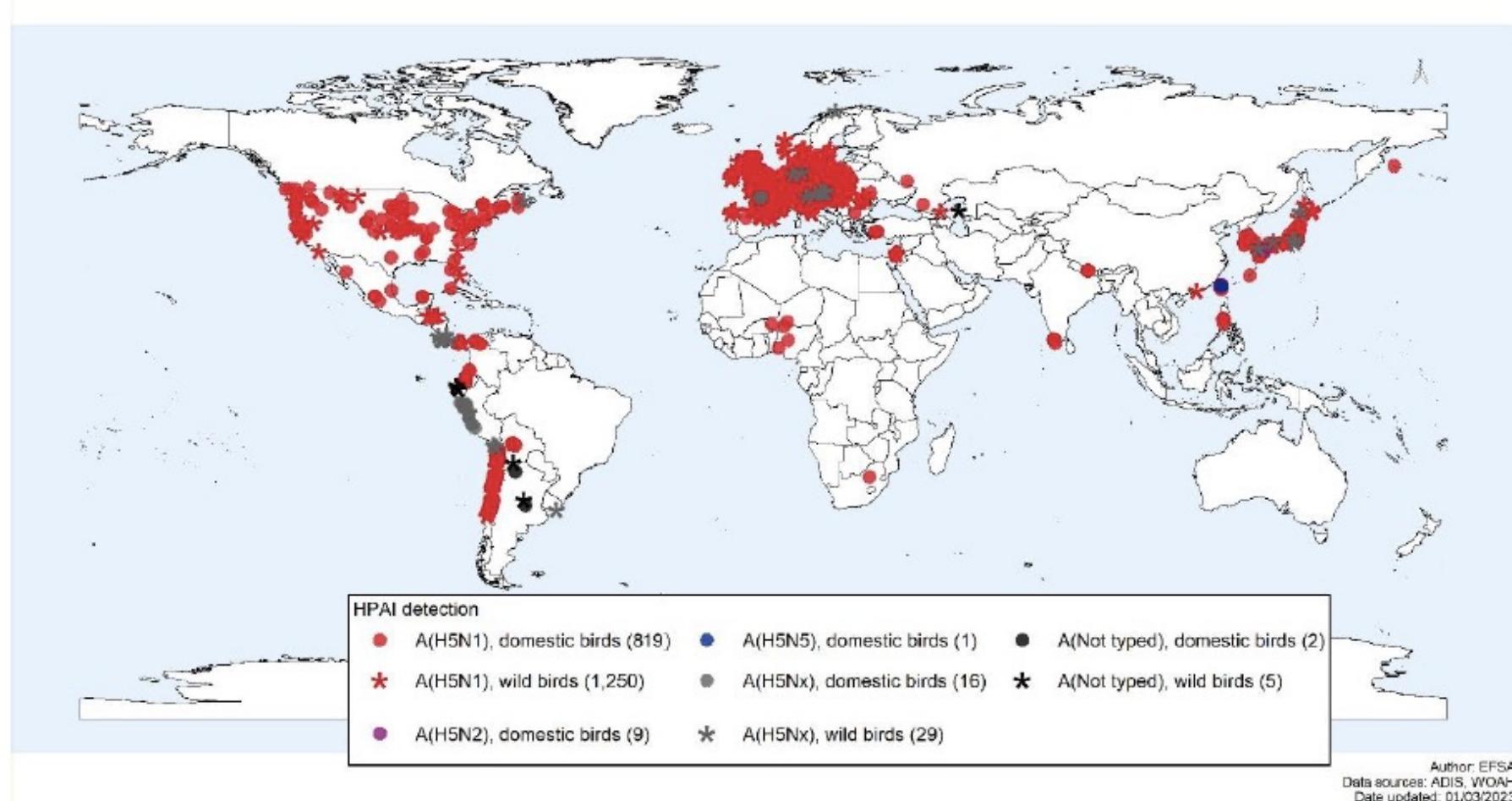
Map produced on: 13 Oct 2020. Administrative boundaries: <sup>©</sup>EuroGeographics, <sup>©</sup>UN-FAO  
Data sources: ADNS and OIE  
850 x 600

Map of countries where outbreaks of HPAI were reported in wild birds... | Download Scientific Diagram

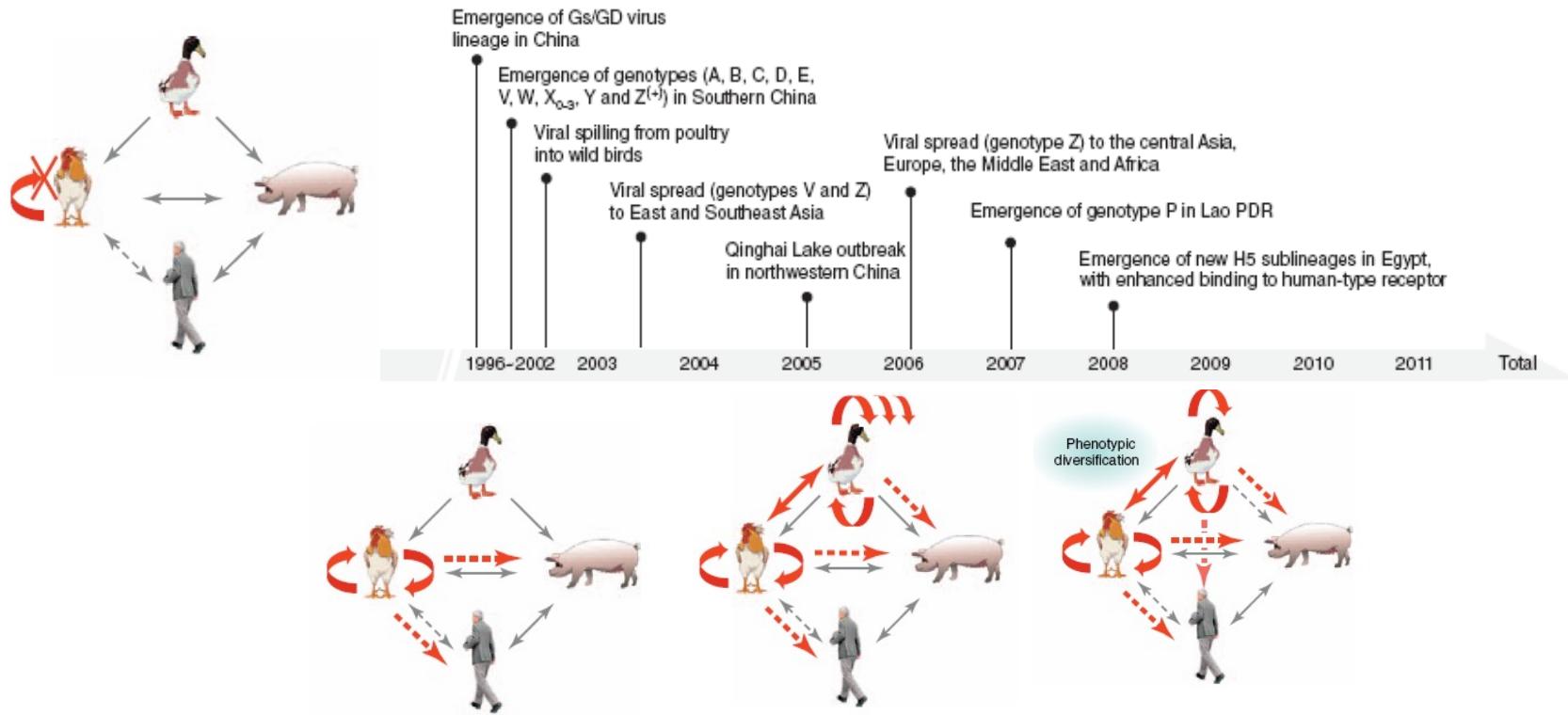
[Consulter](#)

# Nombre de foyers de HPAI depuis 2016 en Europe

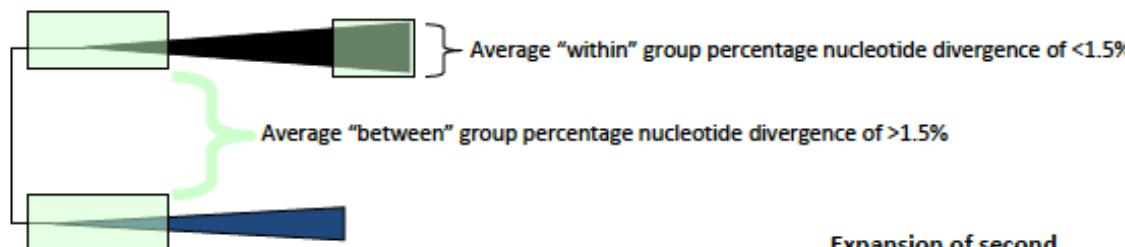




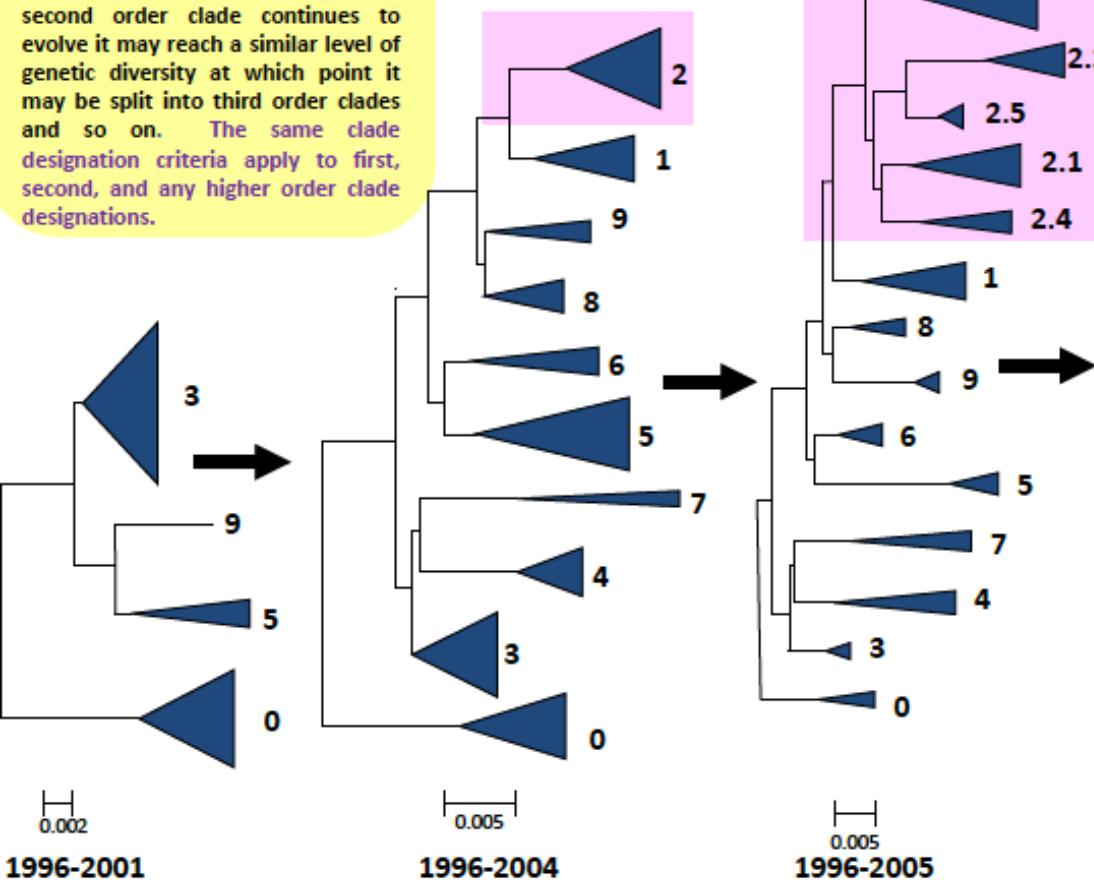
# Evolution du H5N1



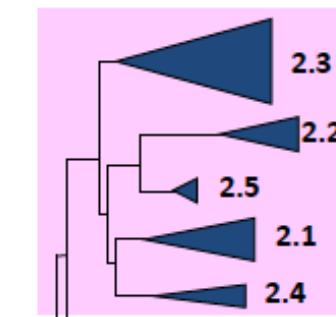
# Evolution of the Asian H5 Hemagglutinin



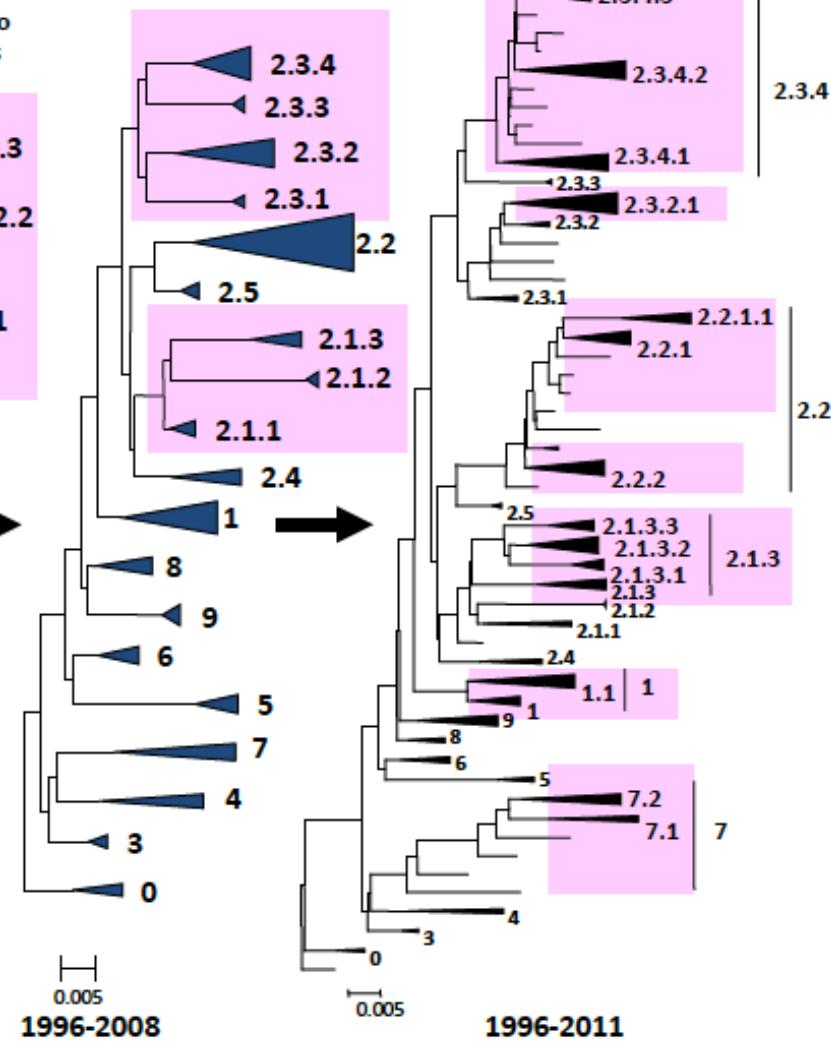
When discrete monophyletic groups begin to appear within a specific clade and those groups meet the nucleotide divergence criteria (as well as having bootstrap values >60), they are split into second order clades (but still considered part of the original first order clade). As a second order clade continues to evolve it may reach a similar level of genetic diversity at which point it may be split into third order clades and so on. The same clade designation criteria apply to first, second, and any higher order clade designations.



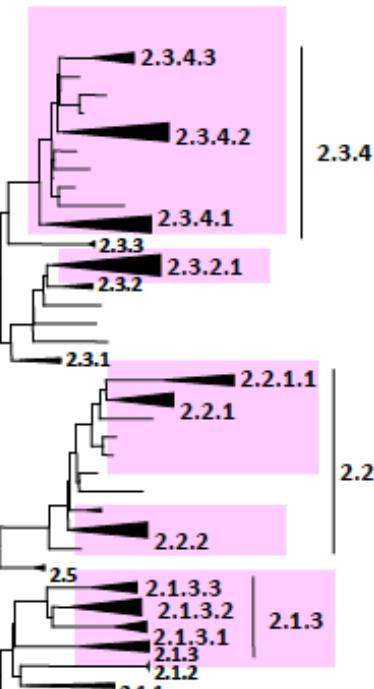
Expansion of clade 2 into five second order clades



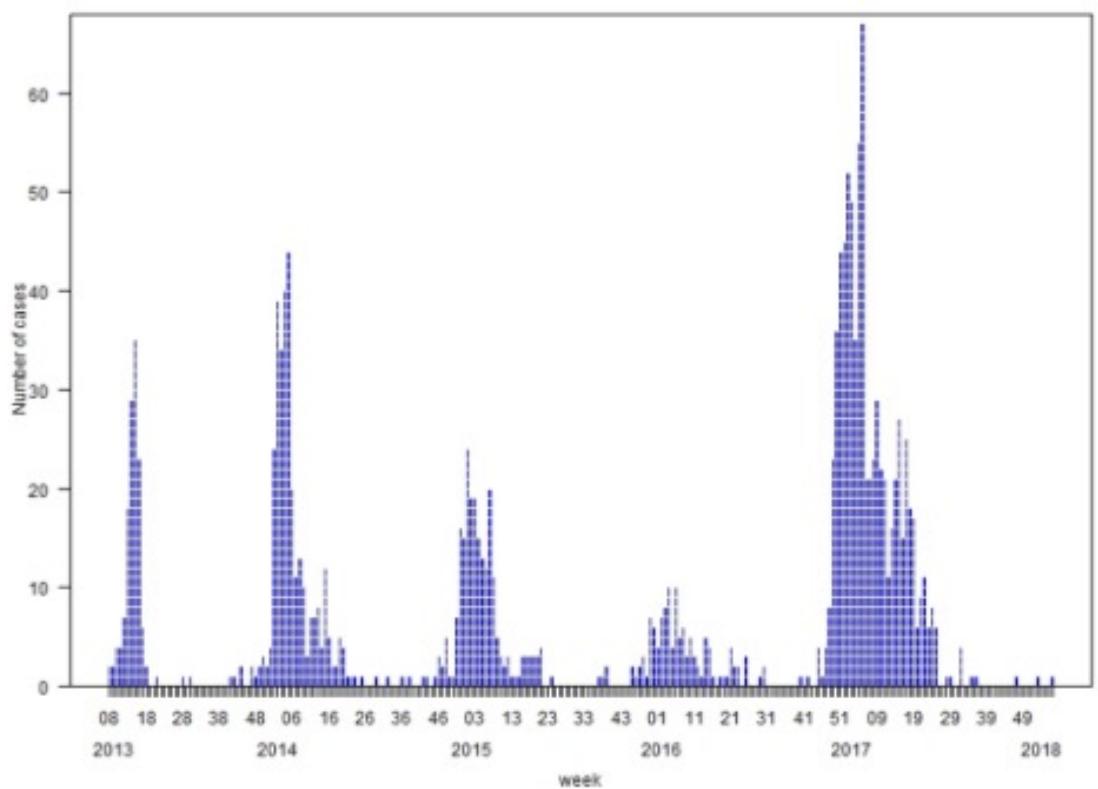
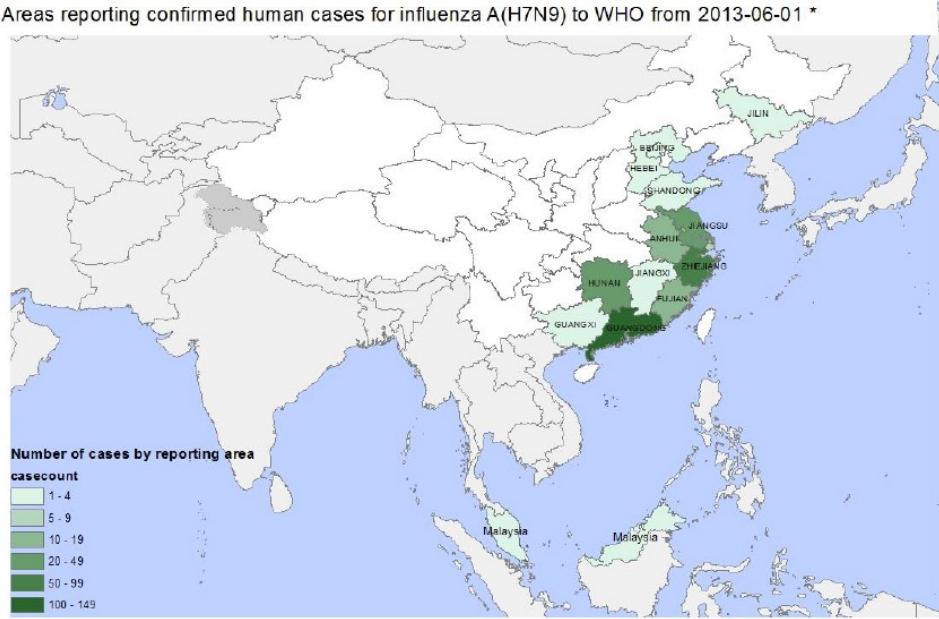
Expansion of second order clades into additional third order clades



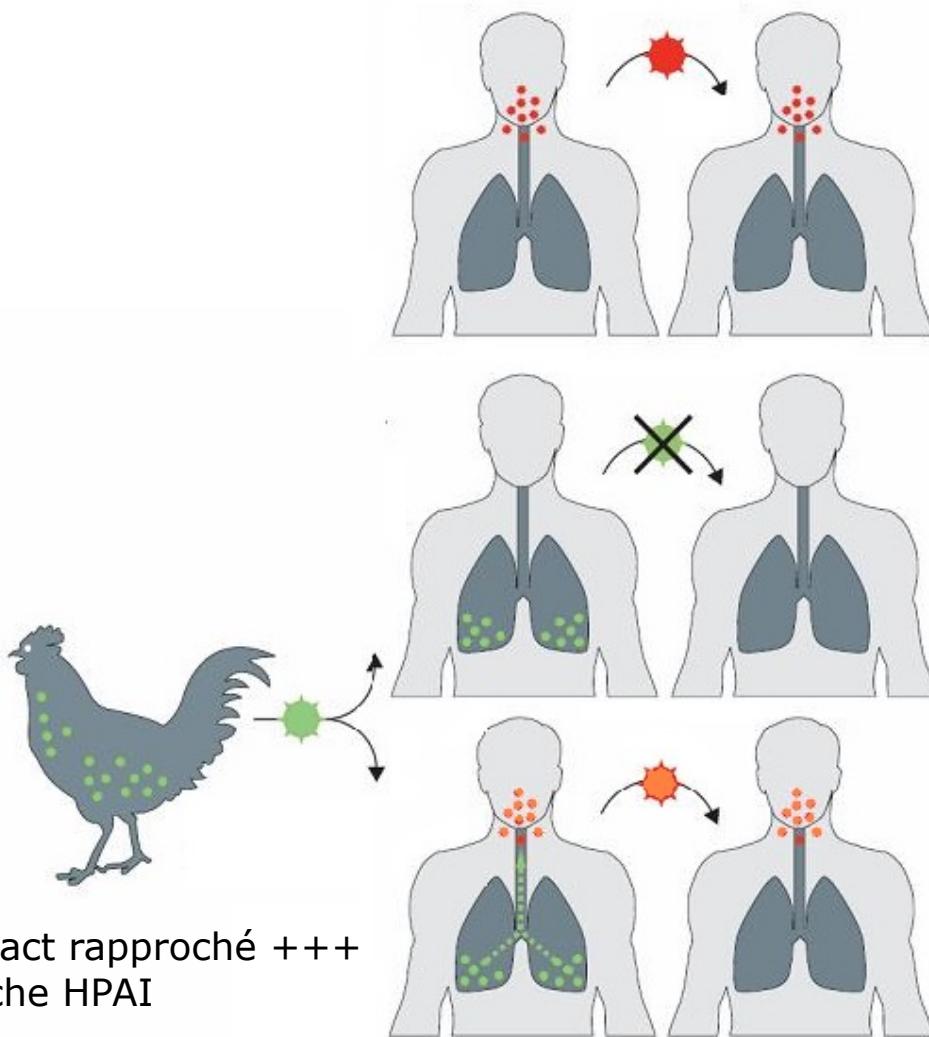
Expansion of first, second and third order clades into additional second, third and fourth order clades



Cas humains de grippe aviaire H7N9  
1567 cas au 05/09/2018 (615 décès)



# Potentiel pandémique et gravité en fonction de l'origine de la souche



Virus humain (ex: H1N1)  
Grippe classique  
Nombreux cas mais « bénin »

Virus aviaire (ex: H5N1)  
Grippe aviaire  
Peu de cas mais gravité +++

Virus aviaire « humanisé »  
(adaptation progressive à l'homme  
par mutations successives)  
Grippe classique  
Nombreux cas, gravité variable

# Principales mutations au niveau des hémagglutinines permettant l'adaptation des virus aviaires à l'homme

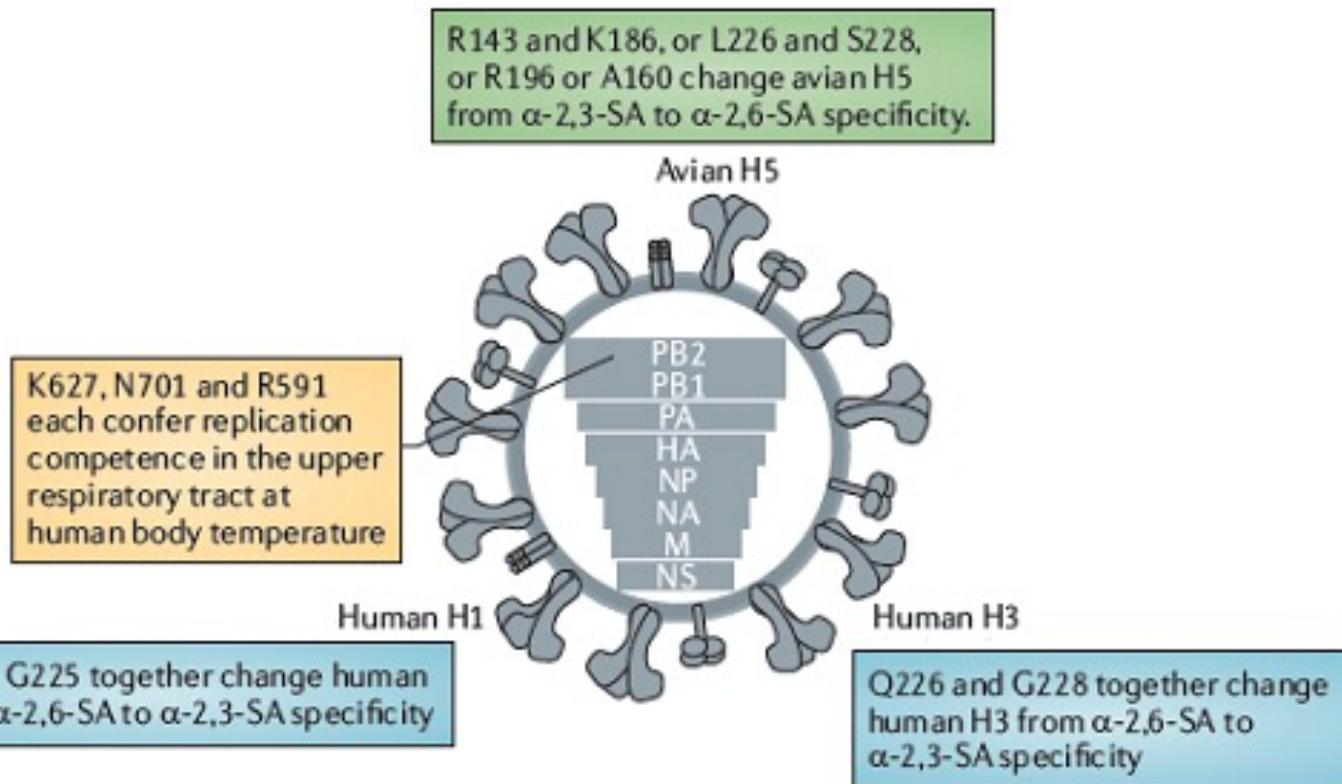


Table 1 | Major viral determinants of host range for influenza A virus pandemics

Amino acid	Avian	Human	Refs
<i>Gene segment PB2</i>			
271	T	A	60,125
590	G	S	98–100
591	Q	R	98–100
627	E	K	96,97
701	D	N	83–86
<i>Gene segment HA (H1)</i>			
190	E	D	13,18
225	G	D	13,18
<i>Gene segment HA (H2 and H3)</i>			
226	G	S	13,18
228	Q	L	13,18
192	R	G	13,18
226	Q	L	13,18

HA, haemagglutinin; PB2, polymerase basic protein 2.

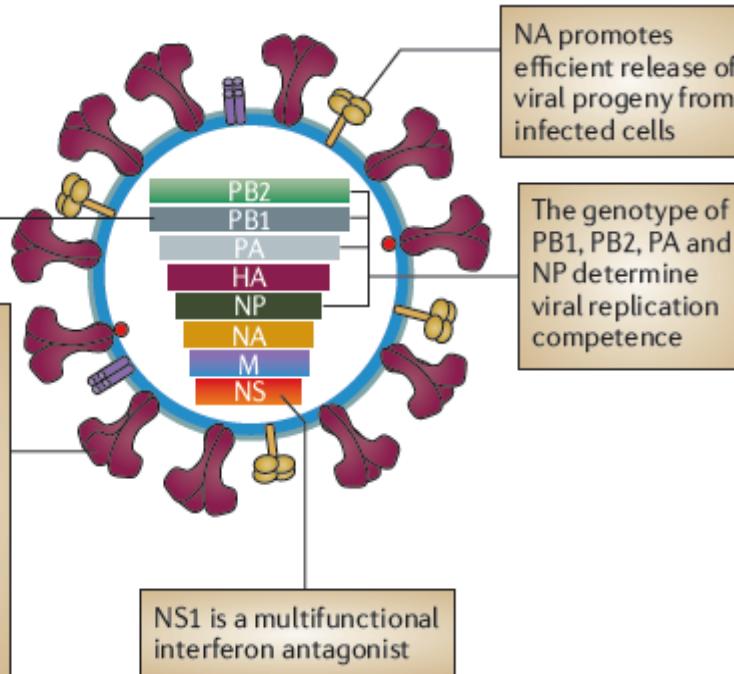
Table 1 | Molecular virulence markers and pathogenic determinants of influenza A viruses

## Viral factors

PB1-F2 induces apoptosis, promotes bacterial growth and acts as interferon antagonist

HA determines receptor binding, and antigenicity and tropism depending on the presence or absence of a polybasic cleavage site:

- H5N1: PQRERRRKRR<sub>1</sub>G
- H7N1: PEIPKR-RRR<sub>1</sub>G
- H1N1: PSIQ----SR<sub>1</sub>G
- H3N3: PEKQ----TR<sub>1</sub>G
- H2N2: PQIE----SR<sub>1</sub>G



NA promotes efficient release of viral progeny from infected cells

The genotype of PB1, PB2, PA and NP determine viral replication competence

NS1 is a multifunctional interferon antagonist

## Host factors

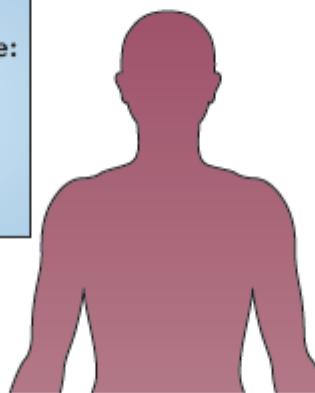
Individuals who are more susceptible to severe disease:

- Elderly (>65 years of age)
- Children (<2 years of age)
- Pregnant women
- Immunocompromised individuals

Underlying health conditions that increase susceptibility:

- Asthma and chronic obstructive airway disease
- Cardiovascular disease
- Obesity
- Diabetes

Increased and sustained inflammatory responses contribute to disease severity



Host factors influence viral infection by direct or indirect interactions with viral proteins during different stages of replication:

- Required factors include ATP6V0D1, CAMK2B, CLK1 and p27
- Restriction or regulatory factors include IIFITM3 and the WNT pathway

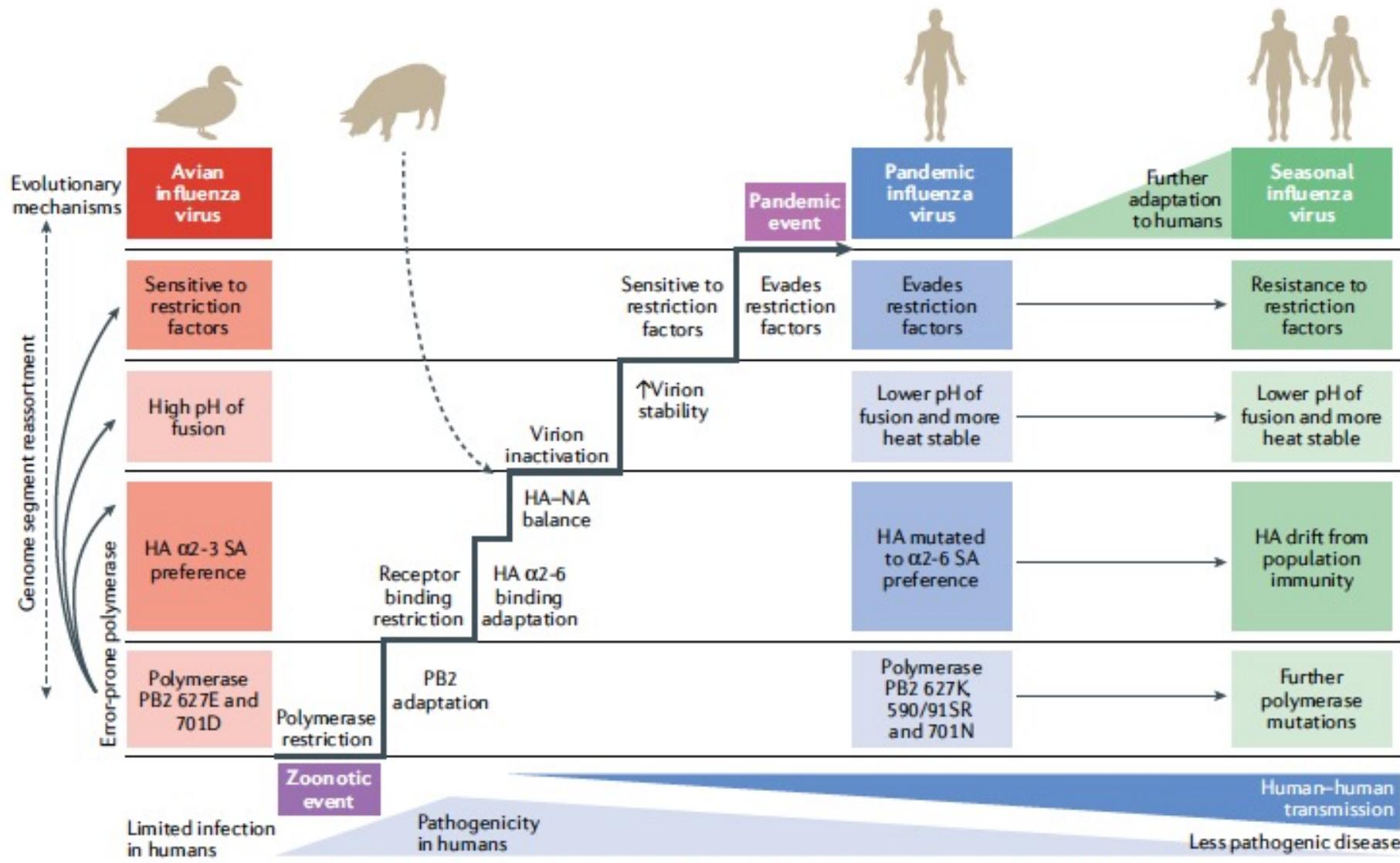
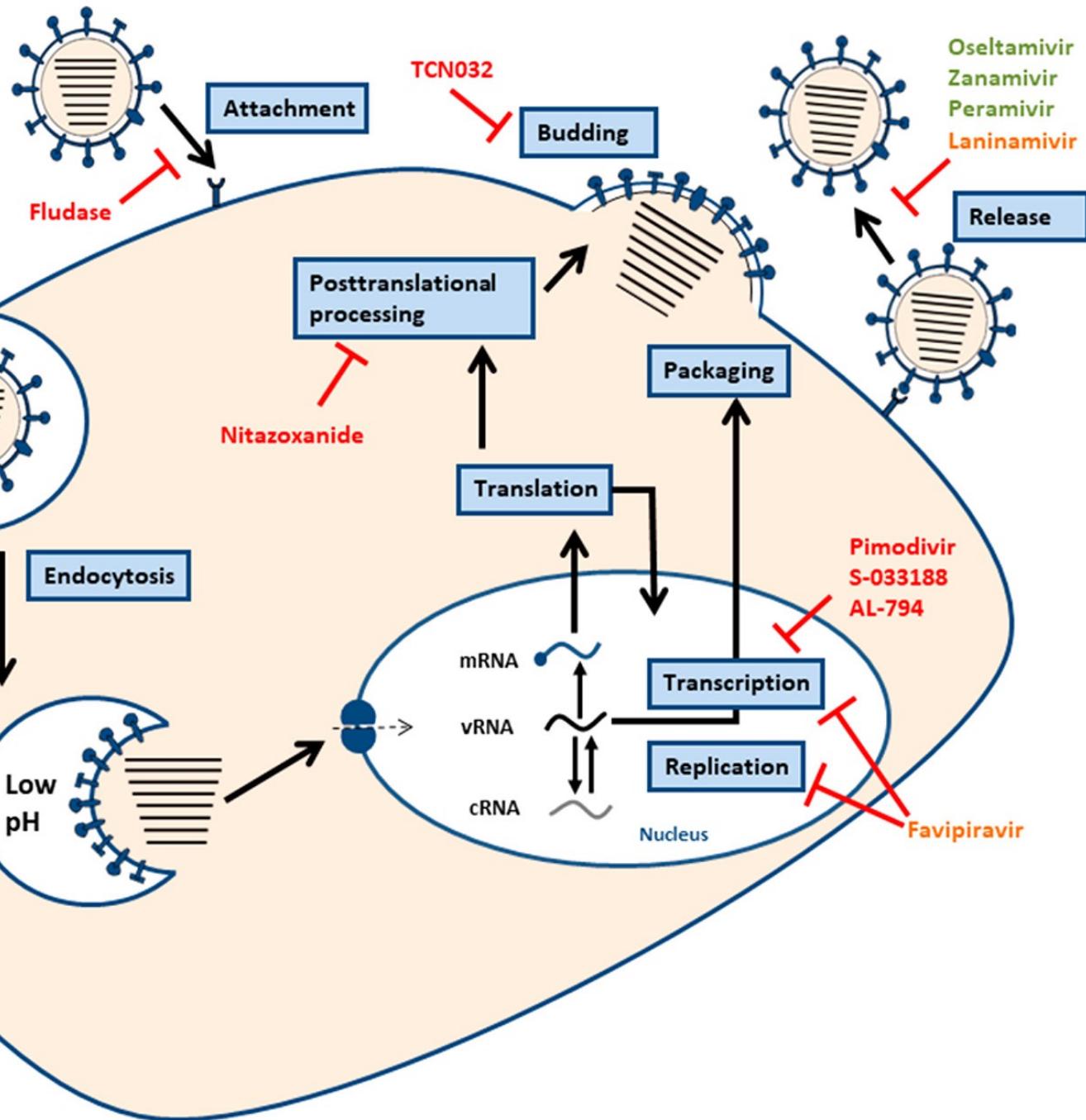


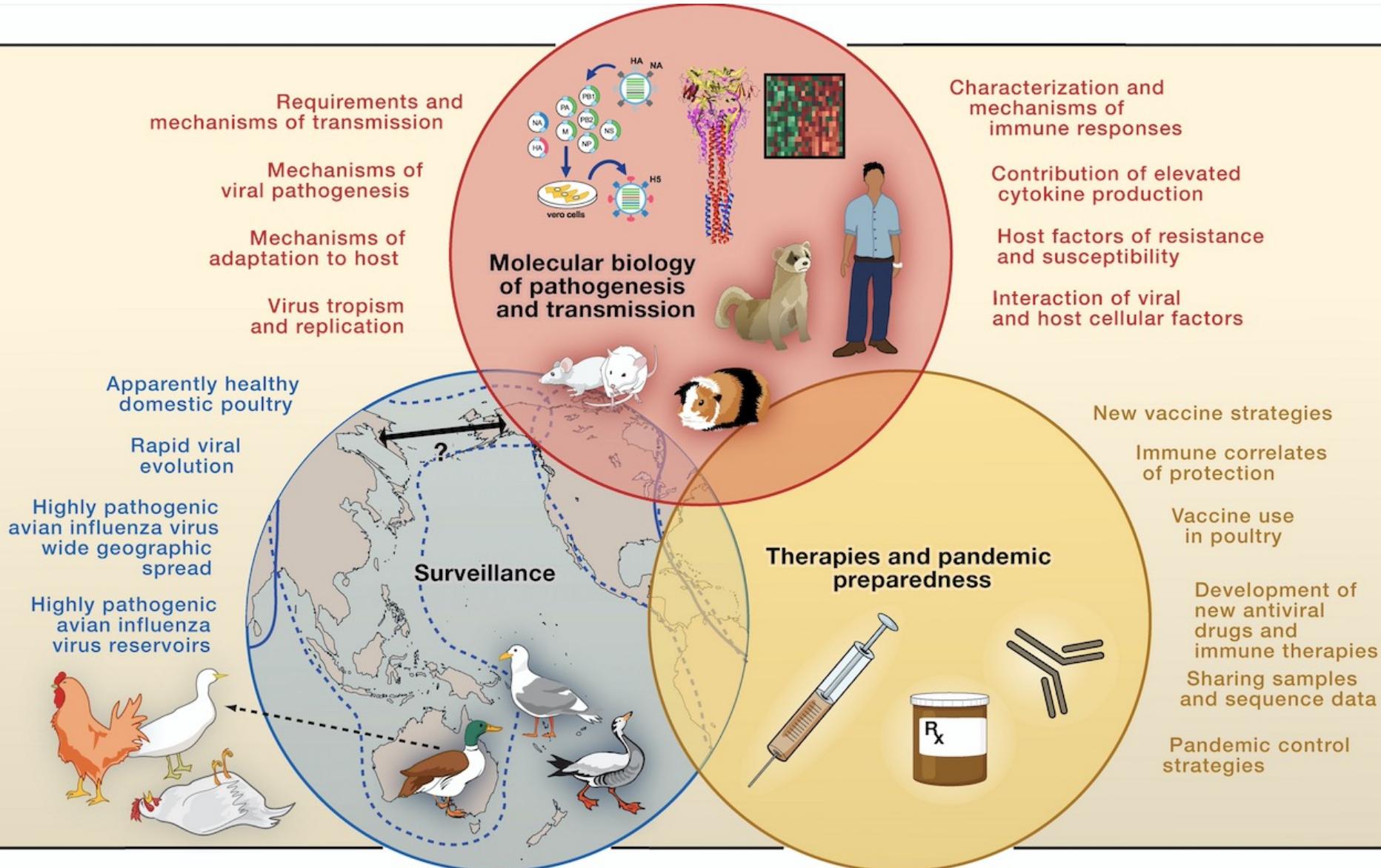
Fig. 4 | Cumulative influenza virus adaptations required to overcome species restriction and initiate a new pandemic. Influenza viruses circulating in the avian reservoir (red) face multiple host range barriers that must be overcome

FDA Approved  
Approved in Other Countries  
In Clinical Trials



# Les pistes vaccinales

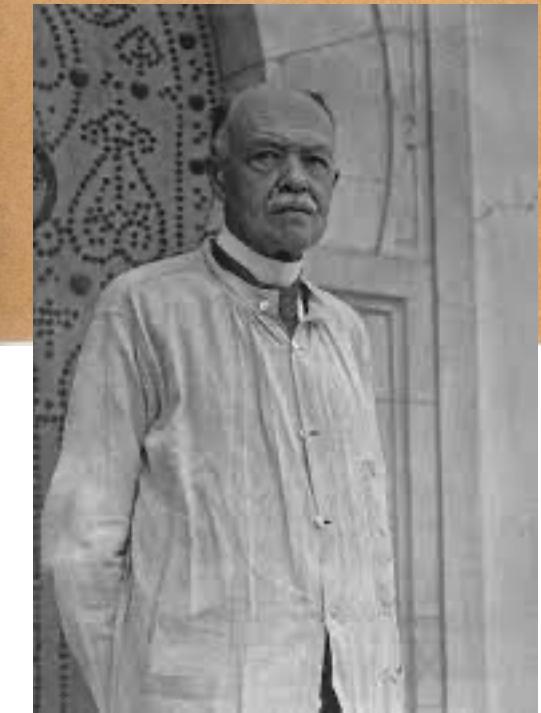
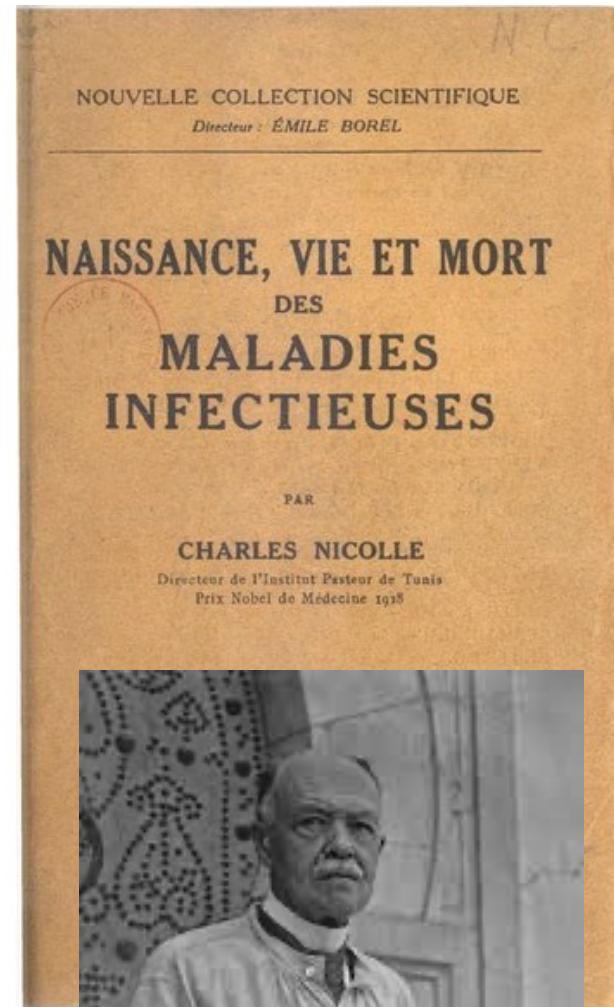
- Nombreux essais actuellement avec H5N1 mais:
  - H5 est peu immunogène => nécessité d'utiliser des adjuvants et d'injecter au moins deux doses
- Plusieurs stratégies possibles:
  - Vacciner les volailles mais problème du coût et du risque de sélectionner de nouvelles souches par pression immunologique
  - Pré-vacciner les humains, en espérant avoir une part d'immunité « croisée » avec le futur virus pandémique...
    - Données encourageantes, obtenues chez des sujets sains et adultes => effet de prime-boost
    - Essais en cours dans populations plus « fragiles »: immunodéprimés, pathologies chroniques...
    - A court/moyen terme:
      - intégration d'une souche prépandémique dans le vaccin contre la grippe saisonnière?
      - qui vacciner?



Ecrit de Charles Nicolle en 1930  
Prix Nobel de Médecine 1928

- « *Ce qui est nouveau, ce n'est pas la survenue d'une maladie antérieurement inconnue, c'est cette survenue au sein d'un monde qui se croyait définitivement aseptisé, protégé et tranquille.*
- *Les migrations humaines importeront en tous pays les maladies humaines et animales de chaque région. L'œuvre est déjà avancée, elle est assurée d'avenir.*
- *Les essais de la Nature dans la voie de la création de maladies infectieuses nouvelles sont aussi constants qu'ordinairement vains. Ce qui s'est passé aux époques anciennes où par exception la Nature a réussi un essai se répète à tous les instants présents et se répètera de même toujours.*

*Il y aura donc des maladies nouvelles :  
c'est un fait fatal. »*



# Le concept « ONE HEALTH »

