

FORMATION CONTINUE – ARTICLE DE SYNTHESE

Evaluation, contrôle et prévention du risque de transmission du virus influenza aviaire à l'homme

Saegerman C.¹, Meulemans G.², Van Reeth K.³, Marlier D.⁴, Yane F.⁵,
Vindenvogel H.⁴, Brochier B.⁵, van den Berg T.², Thiry E.^{6*}

- ¹ Secrétariat du Comité Scientifique, Administration de la Politique de contrôle, Agence fédérale pour la Sécurité de la chaîne alimentaire, WTC III, Boulevard Simon Bolivar 30, B-1000 Bruxelles, Belgique
- ² Unité de Virologie et Immunologie aviaire. Département des Maladies des animaux de petit élevage, Centre d'Etude et de Recherches vétérinaires et agrochimiques, Groeselenberg 99, B-1180 Bruxelles, Belgique
- ³ Laboratoire de Virologie des animaux domestiques, Faculté de Médecine vétérinaire, Université de Gent, Salisburylaan 133, B-9000 Gent, Belgique
- ⁴ Médecine aviaire et cunicole, Département des Maladies infectieuses et parasitaires, Faculté de Médecine vétérinaire, Université de Liège, boulevard de Colonster, 20, B42, B-4000 Liège, Belgique
- ⁵ Centre national de la grippe, Section de Virologie, Département de Microbiologie, Institut scientifique de Santé publique, rue Juliette Wytsman 14, B-1050 Bruxelles, Belgique
- ⁶ Virologie-Epidémiologie, Département des Maladies infectieuses et parasitaires, Faculté de Médecine vétérinaire, Université de Liège, boulevard de Colonster, 20, B43b, B-4000 Liège, Belgique.

* Groupe de travail sur l'influenza aviaire – Comité scientifique de l'Agence fédérale pour la Sécurité de la chaîne alimentaire.

Correspondance : Prof. E. Thiry ; tél. : +32.(0)4/366.42.50; fax : +32.(0)4/366.42.61 ; etienne.thiry@ulg.ac.be.

RESUME : Depuis décembre 2003, une épidémie d'influenza aviaire hautement pathogène (type A, sous-type H5N1) sévit en Asie orientale et du Sud-est. Cette épidémie est sans précédent du point de vue de sa virulence, de son extension géographique et de ses conséquences économiques pour le secteur agricole. Des répercussions de santé publique ont été enregistrées au Vietnam et en Thaïlande. Cet article résume les connaissances à propos de l'évaluation du risque de transmission du virus influenza aviaire à l'homme. L'épidémie asiatique actuelle a mis en lumière le rôle primordial des systèmes mondiaux d'informations sanitaires ainsi que la nécessité d'une déclaration exhaustive des cas chez l'homme et l'animal. Elle renforce le concept de santé publique vétérinaire.

INTRODUCTION

L'influenza aviaire est une affection virale à tropisme respiratoire, entéroïque ou nerveux atteignant les volailles et les oiseaux domestiques ou sauvages. La forme la plus grave se manifeste par une maladie aiguë et généralisée causant une très forte mortalité pouvant aller jusqu'à 100%. Cette forme grave était appelée antérieurement «peste aviaire», en raison d'une mortalité élevée et d'une propagation explosive, rappelant les pestes humaines. La Directive 92/40/CEE du Conseil de l'Europe définit l'influenza aviaire 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 toute infection causée par des virus influenza A et de sous-type H5 ou H7 pour lesquels le séquençage des nucléotides a prouvé la présence d'acides aminés basiques multiples au niveau du site de clivage de l'hémagglutinine (Conseil de l'Europe, 1992). Cependant, les virus influenza aviaires hautement pathogènes (IAHP) qui infectent les volailles domestiques ont pour ascendents des virus influenza aviaires faiblement pathogènes

(IAFP) de sous-type H5 ou H7 (Kawaoka *et al.*, 1984; 1987). En conséquence, l'Union européenne a proposé de modifier cette définition (European Commission, 2000) en «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 par tout virus influenza A de sous-type H5 ou H7» (Capua et Marangon, 2003).

Depuis décembre 2003, une épidémie d'IAHP (type A, sous-type H5N1) sévit en Asie orientale et du Sud-est.

Cet épisode est sans précédent du point de vue de sa virulence, de son extension géographique et de ses conséquences économiques pour le secteur agricole (Organisation Mondiale de la Santé, 2004c; European Commission, 2004b). Des répercussions sur la santé publique ont été enregistrées au Vietnam et en Thaïlande. Un nombre limité d'infections a été signalé chez l'homme avec un taux de létalité de l'ordre de 75 % (Organisation Mondiale de la Santé, 2004c; European Commission, 2004c).

L'objectif de cet article est d'évaluer le risque de transmission du virus influenza aviaire à l'homme. Cette réflexion a été initiée dans le cadre d'une auto-saisine du Comité Scientifique de l'Agence Fédérale pour la Sécurité de la Chaîne Alimentaire (AFSCA) belge. Ce Comité s'est inspiré d'un travail similaire réalisé par l'Agence Française de Sécurité Sanitaire des Aliments (AFSSA) (2002) et des conclusions d'un entretien de l'Association d'épidémiologie et de santé animale (AES) organisé sur le sujet en novembre 2003.

ETIOLOGIE

Les virus influenza appartiennent à la famille des *Orthomyxoviridae*. Leur génome est constitué de huit segments d'ARN monocaténaire de polarité négative associés à une ARN polymérase virale. Ils présentent une forme sphérique ou filamenteuse et ont une taille de 80 à 120 nm de diamètre. Leur nucléocapside hélicoïdale est entourée d'une enveloppe dérivée de la membrane plasmique de la cellule infectée. L'enveloppe présente à sa surface deux types de glycoprotéines différents : l'hémagglutinine (HA) et la neuraminidase (NA). L'hémagglutinine reconnaît le récepteur membranaire du virus alors que la neuraminidase, en hydrolysant ces récepteurs membranaires, favorise la libération des particules virales à l'issue de la phase de bourgeonnement à la surface cellulaire. Les virus influenza sont classés en types et sous-types. La classification en types (A, B et C) repose sur la nature antigénique de la nucléocapside. Tous les virus appartenant à un même type possèdent la même nucléoprotéine. Jusqu'à présent, seul le type A a été isolé chez les oiseaux

Tableau I: L'influenza aviaire chez les volailles en Asie du Sud-est : situation au 15.02.04 (Organisation Mondiale de la Santé Animale, 2004).

Localisation	Sous-type de virus	Date de première notification
République de Corée	H5N1	12.12.03
Vietnam	H5N1	8.01.04
Japon	H5N1	12.01.04
Taipei China	H5N2	20.01.04
Thaïlande	H5N1	23.01.04
Cambodge	H5N1	24.01.04
Hong Kong	H5N1	26.01.04
Laos	H5	27.01.04
République populaire de Chine	H5N1	28.01.04
Pakistan	H7	28.01.04
Indonésie	H5N1	29.01.04

alors que les types A, B et C sont isolés chez l'homme. Les virus influenza A sont classés en sous-types en fonction des caractères antigéniques des glycoprotéines de surface HA et NA. A l'heure actuelle, 15 sous-types H (H1 à H15) et 9 sous-types N (N1 à N9) ont été isolés dans les espèces aviaires (Kurtz *et al.*, 1996; Capua et Alexander, 2002). Pratiquement toutes les combinaisons de sous-types H et N ont été isolées chez les oiseaux, ce qui témoigne de l'extrême variabilité antigénique de ces virus.

Des variations dans la composition en antigènes HA et NA d'un virus peuvent être consécutives à un réassortiment des gènes dans les cellules hôtes. Une des conséquences de la segmentation du génome est qu'en cas de co-infection de la même cellule par différents virus, la descendance virale peut être le fruit du réassortiment de gènes parentaux provenant de différents virus. Ainsi, le génome du virus influenza A étant constitué de 8 segments, deux virus parentaux peuvent théoriquement donner lieu à 2^8 (256) combinaisons différentes pour les virus de nouvelle génération (Capua et Marangon, 2003). Pratiquement, toutes ces combinaisons n'aboutissent pas à des virus viables (Hirst et Pons, 1973; Webster *et al.*, 1992).

La pathogénicité et la transmissibilité des différents virus influenza aviaires sont très variables. Les souches les plus pathogènes sont issues des sous-types H5 et H7.

Les virus influenza sont désignés selon la nomenclature officielle proposée par le comité d'experts

de l'OMS. Leur dénomination comporte : (i) le type antigénique A, B ou C; (ii) l'espèce animale dont le virus a été isolé; (iii) la localisation géographique de l'isolement (région ou pays); (iv) un numéro de référence ou un nom; (v) l'année d'isolement; (vi) pour les virus influenza de type A, l'identification des sous-types H et N. Par exemple : A/Poulet/Italie/330/97 (H5N2).

EPIDÉMIOLOGIE DESCRIPTIVE

Des virus influenza ont été isolés d'un très grand nombre d'espèces aviaires à travers le monde. Historiquement, la majorité des cas cliniques d'influenza aviaire a été observée chez la dinde et la poule. Ce sont les oiseaux sauvages et principalement les oiseaux aquatiques migrateurs (notamment canards, oies, cygnes et oiseaux limicoles) qui constituent le réservoir des virus influenza aviaires (Stallknecht et Shane, 1988; Stallknecht, 1998; Alexander, 2000). Les virus sont fréquemment isolés chez des oiseaux marins, des oiseaux aquatiques migrateurs, des oiseaux domestiques importés et des oiseaux vivants de marché, cliniquement sains (Aiello, 1998).

Entre 1959 et 1999, un total de 18 épisodes IAHP a été enregistré chez la volaille (Alexander, 2000; European Commission, 2000). Ils ont nécessité la mise à mort et la destruction de 23 millions de sujets dont un épisode aux Etats-Unis d'Amérique qui a concerné 17 millions de volailles à lui seul. Depuis lors, des épisodes d'in-

Tableau II : Données disponibles concernant la transmission du virus influenza aviaire à l'homme (de 1996 au 15.02.2004)

Période	Sous-type de virus Influenza aviaire	Lieu (espèce concernée)	Patient(s) concerné(s)	Référence
1996	H7N7 (a)	Angleterre (canards)	1 femme atteinte de conjonctivite	Kurtz <i>et al.</i> , 1996
5 et 12/1997	H5N1	Hong Kong (poules)	1 enfant décédé 18 personnes dont 6 sont mortes (b)	Subbarao, 1998 Shortridge <i>et al.</i> , 1998 Claas <i>et al.</i> , 1998 Yuen <i>et al.</i> , 1998 Chan, 2002
1998	H9N2 (c)	Chine (poules)	5 personnes	Capua <i>et al.</i> , 2002
3/1999	H9N2 (c)	Hong Kong (poules)	2 filles de 1 et 4 ans	Peiris <i>et al.</i> , 1999
2/2003	H5N1	Hong Kong (poules)	2 personnes (d) dont 1 adulte est mort	Organisation mondiale de la Santé, 2003a et 2003b
4/2003	H7N7	Pays-Bas (poules)	86 personnes dont 1 adulte mort	Fouchier <i>et al.</i> , 2004
1/2004	H5N1 (e)	Thaïland (poulets)	5 personnes dont 4 garçons âgés de 6-7 ans morts	Organisation mondiale de la Santé, 2004c
1/2004	H5N1 (e)	Vietnam (poules)	18 personnes dont 13 décédées (essentiellement des adolescents) 2 de ces personnes appartenaient au même groupe familial (f)	Organisation mondiale de la Santé, 2004c Chotpitayasunondh <i>et al.</i> , 2004

- (a) > 98 % d'homologie nucléotidique avec une souche isolée d'un épisode d'influenza aviaire chez des dindes en Irlande durant l'année 1995 (Banks *et al.*, 1998) ;
- (b) les 18 patients présentaient des symptômes respiratoires sévères ;
- (c) dans les pays asiatiques, la souche H9N2 circule chez la volaille (Lin *et al.*, 2000) ;
- (d) personnes ayant voyagé dans le sud de la République de Chine ;
- (e) sous-type antigénique et génétique différent de celui identifié à Hong Kong en 1997 (Centers for Disease Control and Prevention of Atlanta, 2004)
- (f) l'enquête épidémiologique n'a pas apporté de preuves concluantes d'une transmission inter-humaine (Organisation mondiale de la Santé, 2004b et 2004c).

Tableau III : Sous-types d'influenza aviaire faiblement pathogènes (IAFP) isolés en Belgique (années 1978 à 2002)

Année	Espèce	Sous-type IAFP
1978	Canards et poules pondeuses	H3N1
1979	Poules pondeuses	H6N2
1980	Poules pondeuses et poulets de chair	H7N7
1983	Poules pondeuses	H9N2
1984	Canards	H7N7
1985	Poulets de chair	H4N6
1999	Poulets de chair (élevages amateurs)	H5N1

fluenza aviaire ont été enregistrés à Hong Kong, au Pakistan, en Arabie Saoudite, au Chili, en Italie, aux Pays-Bas, en Belgique, en Allemagne (Organisation mondiale de la Santé animale, 2004) et actuellement un épisode d'une extrême virulence sévit en Asie orientale et du Sud-est (tableau I). Des implications sur la santé publique ont été enregistrées en Grande Bretagne, aux Pays-Bas et en Asie du Sud-est (tableau II) (Kurtz *et al.*, 1996 ; Commission européenne, 2004a ; Fouchier *et al.*, 2004).

En Belgique, avant l'épisode d'influenza aviaire de l'année 2003, quelques souches de virus IAFP

avaient été identifiées durant les 25 années précédentes par le laboratoire national de référence du Centre d'Etudes et de Recherches Vétérinaires et Agrochimiques (CERVA) (tableau III).

MODES ET VOIES DE TRANSMISSION

Les virus influenza aviaires sont excrétés par les oiseaux infectés au niveau du tractus respiratoire, de la conjonctive et des fèces, ces dernières pouvant contenir jusqu'à 10^7 particules infectieuses par gramme

(Utterback, 1984 ; cité par Alexander, 1995). Les modes naturels de transmission entre oiseaux sont le contact direct ou indirect avec des sujets infectés, le contact indirect incluant l'exposition aux aérosols ou le contact avec un environnement contaminé. Les virus influenza aviaires survivent expérimentalement plus de 60 jours dans l'eau (Stallknecht *et al.*, 1990) et peuvent être isolés de l'eau de lacs naturellement contaminés (Ito *et al.*, 1995). Le virus est inactivé à 56°C après 3 heures et à 60°C après 30 minutes. Il n'y a pas de cas documenté de transmission verticale. Les œufs peuvent toutefois être contaminés comme cela a été démontré lors de l'épizootie d'influenza aviaire en Pennsylvanie (Easterday *et al.*, 1997). Les oiseaux sauvages s'infectent par voie orale à partir d'eaux contaminées par les virus influenza aviaires et, en général, les multiplient abondamment de façon asymptomatique dans leur tractus intestinal. Les virus ainsi excrétés par voie fécale à des titres élevés contribuent à contaminer l'environnement et à favoriser le cycle de l'infection. L'excrétion virale à la suite de plusieurs infections expérimentales de volailles diverses et de ratites par des virus IAFP ou IAHP inoculés par voie intramusculaire ou

intra-nasale peut durer jusqu'à 3 semaines (Alexander *et al.*, 1986; Manvell *et al.*, 1998). La morbidité des virus IAHP au sein des lots infectés peut atteindre rapidement 100% des sujets en 48 à 72 heures. Dans le cas des virus IAFP des séroconversions généralisées et tardives peuvent être observées. Les dindes et volailles guéries peuvent rester porteuses du virus influenza aviaire durant plusieurs mois (Robinson et Easterday, 1979) : elles constituent donc également une source de contamination pour d'autres volailles. La transmission aérogène, qui est prépondérante chez le porc (Easterday et Van Reeth, 1999), comme chez l'homme, ne l'est pas chez la volaille (Meulemans et van den Berg, 2003). En effet, la transmission aérogène d'une volaille infectée à une autre volaille au sein d'une même exploitation est possible ; par contre, la transmission aérogène du virus d'une exploitation à une autre n'est pas démontrée mais plutôt suspectée quand l'origine de la contamination n'a pas pu être retracée. La transmission entre exploitations résulte principalement de la contamination indirecte de vecteurs animés (personne, vétérinaire) ou inanimés (matériel, moyen de transport) par des matières fécales contaminées (Easterday *et al.*, 1997).

PATHOGÉNIE

L'hémagglutinine virale, qui constitue un déterminant majeur de la virulence, joue plusieurs rôles : attachement au récepteur cellulaire, fusion membranaire et pénétration du virus dans la cellule. Pour que ses fonctions soient effectives, l'hémagglutinine doit être clivée par des protéases cellulaires, sinon les virions produits ne sont pas infectieux et le cycle viral s'arrête. Chez les virus influenza aviaires, plusieurs mécanismes d'acquisition de la virulence ont été décrits. Parmi ceux-ci, la séquence du site de clivage de l'hémagglutinine constitue un critère officiel d'évaluation de la virulence des souches de types H5 et H7 (Conseil de l'Europe, 1992). L'hémagglutinine des souches avirulentes ou modérément pathogènes ne contient qu'un seul résidu basique (arginine) au niveau du site de clivage de la molécule. Ce motif n'est reconnu et la protéine n'est clivée que par des enzymes cellulaires de type trypsine présentes dans un nombre restreint de

cellules limitées aux tractus respiratoire et digestif. C'est pourquoi, *in vivo*, l'infection par des virus avirulents ou modérément pathogènes reste limitée aux sphères précitées. En revanche, l'hémagglutinine des souches virulentes présente des acides aminés basiques répétés au niveau du site de clivage. Ces motifs sont reconnus par des protéases de type furine présentes dans un grand nombre de cellules, ce qui explique, *in vivo*, la capacité de cette catégorie de virus à se disséminer et se multiplier dans tous les organes et tissus de l'organisme, produisant des nécroses, une maladie systémique et la mort de l'oiseau (Rogers et Paulson, 1983). Les sous-types H5, H7 et H9 peuvent être pathogènes pour l'homme, mais on ne peut pas exclure que d'autres sous-types soient également pathogènes car les mécanismes de virulence des virus influenza chez l'homme ne sont pas clairement établis. Concernant la sensibilité des pigeons au virus influenza aviaire, Panigraphy et collaborateurs (1996) ont conclu, sur base d'infections expérimentales, à la résistance ou à une sensibilité minimale du pigeon envers un virus IAFP ou IAHP.

SIGNES CLINIQUES ET LÉSIONS

Lors de l'infection naturelle par un virus IAHP chez les dindes et les poules, on peut observer une mortalité très élevée qui peut atteindre 100%, associée aux signes cliniques suivants : détresse respiratoire, larmoiement, sinusite, œdème de la tête, cyanose de la crête et des barbillons et diarrhée. Il est important de noter qu'aucun de ces signes cliniques n'est pathognomonique de l'influenza aviaire, car ceux-ci peuvent se retrouver dans d'autres affections aiguës de la volaille. Chez certains oiseaux, principalement les plus jeunes, on peut observer une mortalité soudaine sans signes cliniques prémonitoires. La localisation et la sévérité des lésions macroscopiques sont extrêmement variables et peuvent comprendre des hémorragies, un transsudat et une nécrose de l'appareil respiratoire, du tube digestif, des téguments et de l'appareil uro-génital. Néanmoins, ce tableau clinique dramatique est plutôt exceptionnel et souvent limité aux pics d'épidémie. Les premiers épisodes d'influenza aviaire peuvent s'accompagner de faibles taux de mortalité et d'absence de

signes cliniques caractéristiques. Sur le terrain, de nombreux facteurs, tels que l'espèce (la dinde est beaucoup plus sensible que la poule), l'âge et la race des volailles, les conditions d'exploitations et les infections concomitantes doivent être pris en compte. L'infection naturelle peut ainsi présenter un large éventail de tableaux cliniques. Cette situation comporte le risque de retarder le diagnostic avec tous les dangers que cela implique en termes d'épizootie et de gestion de crise. Ceci plaide en faveur d'une surveillance constante de la situation sur le terrain.

DIAGNOSTIC

Bien que les signes cliniques et les lésions observées puissent suggérer une infection à virus influenza, ceux-ci ne sont pas toujours présents et ne sont pas pathognomoniques. Dès lors, le diagnostic doit toujours être confirmé par l'isolement et la caractérisation du virus. Tous les virus influenza aviaires hémagglutinent les globules rouges de volaille et la plupart se multiplient facilement dans la cavité allantoïde d'œufs embryonnés. Les tests utilisés sont détaillés dans le rapport du Comité scientifique de la Commission européenne sur la santé et le bien-être animal, intitulé « Diagnostic techniques and vaccines for foot-and-mouth disease, classical swine fever, avian influenza and some other important OIE list A diseases » (Commission européenne, 2003).

MESURES DE CONTRÔLE

Les mesures Communautaires de contrôle de l'influenza aviaire sont reprises dans la Directive 92/40/CEE (Conseil de l'Europe, 1992). Elles reposent sur une politique d'abattage sanitaire. Les changements radicaux intervenus ces vingt dernières années dans le secteur avicole en Europe se sont traduits par un raccourcissement des cycles de production et une augmentation de la densité des populations animales par unité territoriale. Dans ces conditions, le contrôle des maladies infectieuses touchant les animaux nécessite l'application de mesures de biosécurité adaptées telles que l'entrée et la sortie des animaux dans les locaux en une seule fois (*all in – all out*), le suivi sanitaire de ces

lots ainsi qu'une désinfection efficace des locaux entre chaque bande. La vaccination en tant qu'outil utilisable contre l'influenza aviaire n'est autorisée qu'après l'accord de la Commission européenne et à la seule condition que cette vaccination soit considérée comme un moyen complémentaire à la politique d'abattage sanitaire. La vaccination, en particulier celle qui permet la différenciation entre animaux vaccinés et infectés, fait l'objet d'une réflexion soutenue au sein de l'Union européenne (European Commission, 2000) et de l'OMSA (Capua et Marangon, 2003).

ETUDE DE LA TRANSMISSIBILITÉ DU VIRUS INFLUENZA AVIAIRE À L'HOMME

Contrairement au porc qui peut être infecté directement par des virus aviaires de façon naturelle (Pensaert *et al.*, 1981 ; Scholtissek *et al.* ; 1983) ou expérimentale (Kida *et al.*, 1994), la contamination de l'homme par des virus aviaires avec apparition d'un syndrome grippal n'a que très rarement été démontrée.

Les voies de contamination envisageables pour la transmission de virus influenza aviaire à l'homme sont la voie respiratoire (contact étroit et dose virale élevée, comme ce fut le cas à Hong Kong) ou la voie oculaire lors de contaminations accidentelles.

De 1996 à 2004, un faible nombre de cas de transmission du virus influenza aviaire à l'homme a été enregistré (tableau II) (Commission européenne, 2004b ; Organisation mondiale de la Santé, 2004b ; 2004c).

Sur base d'une étude épidémiologique rétrospective concernant l'épisode humain d'influenza aviaire à Hong Kong en 1997, il a été démontré que le virus H5N1 a pu être transmis d'un patient au personnel soignant (Buxton Bridges *et al.*, 2000). Cependant, ces infections secondaires étaient rares, asymptomatiques et ont disparu spontanément. Récemment, une enquête menée sur le terrain au Vietnam, à propos d'un groupe familial de cas comprenant deux cas confirmés (IAHP, sous-type H5N1) et un décès inexpliqué imputable à une affection respiratoire aiguë, n'a pas apporté de preuves concluantes de transmission inter-humaine (Organisation mondiale de la Santé, 2004b ; 2004c).

Lors de l'épisode d'influenza aviaire aux Pays-Bas en 2003, des écouvillons de conjonctive et de gorge ont été prélevés chez 293 patients susceptibles d'avoir été en contact avec le virus influenza aviaire, dont 260 présentaient de la conjonctivite et/ou des signes grippaux (Koopmans *et al.*, 2003). Le virus influenza (H7N7) a été identifié chez 89 patients dont 78 présentaient de la conjonctivite (Fouchier *et al.*, 2004). Parmi ceux-ci, un vétérinaire âgé de 57 ans est décédé et le virus influenza (mêmes type et sous-type) a été isolé à partir d'un lavage bronchoalvéolaire et des poumons (van Kolschooten, 2003 ; Fouchier *et al.*, 2004). Même si elle peut être suggérée (van Kolschooten, 2003), la relation de cause (influenza aviaire) à effet (décès du vétérinaire) ne peut pas être formellement démontrée (Fouchier *et al.*, 2004). Le virus influenza isolé chez ce patient présentait toutefois des mutations qui pourraient être associées à une exacerbation de la maladie (Fouchier *et al.*, 2004).

Lors de l'épisode d'influenza aviaire en Belgique, des mesures hygiéniques et médicales ont été prises (voir section 11.5.). Les personnes susceptibles d'avoir pu être en contact avec le virus influenza aviaire étaient principalement : les détenteurs, le personnel de l'AFSCA ayant été en contact avec les volailles et le personnel du CERVA et de l'entreprise de destruction Rendac ayant participé à la mise à mort des animaux et à leur destruction. Un total de 150 collaborateurs de l'AFSCA ont été mobilisés pour les opérations d'abattage sanitaire durant l'épisode d'influenza aviaire en Belgique. Parmi ceux-ci, un cas de conjonctivite chez un travailleur a été recensé. Ce travailleur oeuvrait dans le cadre de la mise à mort et la destruction de volailles contaminées. Ce patient a reçu un traitement anti-neuraminidase et une guérison rapide a été constatée. Aucun prélèvement n'a été pratiqué.

Le porc pourrait constituer une espèce intermédiaire dans la transmission du virus influenza aviaire à l'homme. Aussi, concernant le danger que représente la population porcine en Belgique, un total de 385 échantillons de sérum provenant d'exploitations mixtes (détenant à la fois des volailles et des porcs) situées dans la zone de protection de 3 km autour des foyers identifiés en 2003 ont été prélevés et analysés en vue de la recherche d'anti-

corps envers le virus influenza aviaire par un test d'inhibition de l'hémagglutination. Tous les examens se sont révélés négatifs (Agence fédérale pour la Sécurité de la chaîne alimentaire, 2003b). Lors de l'épisode aux Pays-Bas en 2003, 13 exploitations mixtes sur 46 exploitations testées contenait des porcs séropositifs dans la vallée de la Gueldre. Toutefois, tant en conditions expérimentales qu'en conditions de terrain, aucune transmission ultérieure entre porcs n'a pu être mise en évidence (Loeffen *et al.*, 2003).

BASE MOLÉCULAIRE DE LA VIRULENCE DES SOUCHE DE VIRUS INFLUENZA AVIAIRE POUR L'HOMME

Virulence directe pour l'homme

Quel que soit le type d'hémagglutinine, les virus aviaires montrent une plus grande affinité pour les oligosaccharides sialylés à leur extrémité terminale avec des acides sialiques particuliers (SA alpha 2,3 Gal) qui sont abondamment présents dans les cellules de volaille (Rogers et Paulson, 1983). A la différence des virus aviaires, les virus humains se lient préférentiellement à des oligosaccharides sialylés porteurs d'acides sialiques d'un autre type (SA alpha 2,6 Gal) que pour les virus aviaires. Ces oligosaccharides sont prépondérants à la surface des cellules humaines. Un mécanisme moléculaire a récemment été proposé pour expliquer la sensibilité particulière du porc aux virus d'origines humaine et aviaire. Celui-ci repose sur la présence conjointe des deux types d'oligosaccharides au niveau des cellules trachéales du porc (Ito *et al.*, 1998). Des gènes codant pour les protéines impliquées dans le complexe de réplication déterminent aussi l'aptitude des virus aviaires à se multiplier dans les cellules aviaires et non dans les cellules des mammifères. Toutefois, les mécanismes moléculaires impliqués dans le franchissement de la barrière d'espèces ne sont pas encore établis. Les sous-types H5 et H7 sont potentiellement transmissibles à l'homme, ce qui n'exclut cependant pas que d'autres sous-types se comportent de la même manière. Des données récentes indiquent que les récepteurs sialylés ne sont pas identiques dans les différentes espèces aviaires (Gambaryan *et al.*, 2002) ;

2003). Des tissus épithéliaux de poulets, au contraire de tissus épithéliaux de canards, contiennent des résidus SA alpha 2,6 Gal. De plus, les récepteurs de virus influenza chez le poulet sont plus semblables au spectre de récepteurs rencontrés chez les primates que chez les canards. Ces résultats suggèrent que l'adaptation de virus de canards au poulet pourrait être la cause occasionnelle d'émergence de virus présentant une capacité plus grande à se lier au récepteur SA alpha 2,6 Gal et, ainsi, une plus grande propension à se transmettre à l'homme.

Mécanismes de variation génétique des virus influenza A

Mutations ponctuelles

Ce premier mécanisme qui est partiellement responsable de la variabilité antigénique des virus influenza consiste dans l'apparition de mutations ponctuelles, liées à la fréquence élevée des erreurs d'incorporation de nucléotides commises par l'ARN polymérase ARN dépendante du virus (responsable de la dérive antigénique). Ces mutations sont importantes pour expliquer l'évolution antigénique des virus grippaux humains. En effet, le taux d'évolution au niveau des gènes codant pour l'hémagglutinine atteint $6 \cdot 10^{-3}$ substitutions nucléotidiques par site et par an (Fitch *et al.*, 1997), ce qui est relativement élevé si on le compare au taux habituellement rencontré chez les cellules eucaryotes (10^{-6} à 10^{-8}). L'importance évolutive des mutations ponctuelles est variable selon le gène et l'espèce aviaire considérée : le taux d'évolution est faible chez les espèces d'oiseaux aquatiques (les mutations ne procurant pas d'avantage sélectif) et beaucoup plus élevé chez les volailles qui constituent un hôte accidentel (le taux d'évolution est de 7 à 10 10^{-3} substitutions nucléotidiques par site et par an). Les virus influenza sélectionnés, de sous-type H5 ou H7, possèdent des gènes permettant de coder pour une hémagglutinine moins spécifique du récepteur et possédant plus de résidus basiques au site de clivage (principal mécanisme d'acquisition de la virulence) ainsi qu'une neuraminidase moins efficace.

Réassortiment génétique

A l'occasion d'une co-infection d'une cellule par deux particules virales provenant de souches virales différentes,

des particules virales de nouvelle génération peuvent acquérir une partie des segments génomiques de l'un des virus parentaux et le reste de segments génomiques de l'autre. Ce réassortiment génétique est particulièrement important pour l'évolution antigénique des virus influenza A humains et est responsable des phénomènes de cassure antigénique observés chez l'homme (Webster *et al.*, 1992). La nature des virus grippaux qui circulent dans l'espèce porcine indique que des réassortiments se produisent chez cette espèce à une fréquence non négligeable (Yasuda *et al.*, 1991 ; Castrucci *et al.*, 1993 ; Brown *et al.*, 1995 ; 1998 ; Zhou *et al.*, 1999). Une hypothèse est que les porcs peuvent jouer un rôle d'hôtes intermédiaires pour des réassortants entre les virus influenza aviaires et humains et, de ce fait, pourraient faciliter la transmission des réassortants dans la population humaine et initier une nouvelle pandémie (Claas *et al.*, 1994 ; Kurtz *et al.*, 1996).

de vie et de 0,5 % les semaines suivantes) ;

- la détermination de la séroprévalence des populations cibles pour les virus IAfp et IAHP (en particulier chez les espèces à faible expression clinique et les espèces élevées en plein air).

Epidémiovigilance

Faisant suite à la déclaration du premier foyer d'influenza aviaire aux Pays-Bas le 4 mars 2003, des actions d'épidémiovigilance (actions de veille) avaient été mises en application dans toute la Belgique deux jours plus tard et ensuite adaptées à l'évolution de la situation (Agence fédérale pour la Sécurité de la chaîne alimentaire, 2003b), conjointement aux mesures applicables dans les zones de protection, de surveillance et tampon. Ces actions avaient pour objectifs : (i) d'identifier les premières suspicions si celles-ci survenaient et (ii) de prendre des mesures de gestion des risques (interdiction des rassemblements, limitations des mouvements, identification des détenteurs de volailles, mesures de biosécurité au sein des exploitations, registre des visites, déclaration de chaque maladie ou mortalité au vétérinaire d'exploitation, interdiction de traitement thérapeutique sur des volailles malades sans échantillonnage préalable). Ces mesures ont permis d'identifier les foyers d'influenza aviaire en Belgique : la première suspicion confirmée datait du 15 avril 2003. Le séquençage d'un fragment de 600 paires de bases du gène H de la souche virale d'influenza aviaire isolée en Belgique démontre une identité totale avec la séquence homologue de celle isolée aux Pays-Bas (Meulemans, résultats non publiés). Ces données confirment que la mise en place d'un système d'épidémiovigilance est utile lorsque des foyers sont identifiés dans des pays limitrophes ou d'autres pays avec lesquels des échanges commerciaux ont lieu.

Mise en place et respect de mesures structurelles strictes

Toutes les exploitations avicoles devraient être soumises à des mesures structurelles visant au respect de règles de biosécurité. Ces règles devraient être perçues par le secteur comme un investissement et non comme une contrainte.

De plus, les voyageurs qui visitent un pays atteint d'influenza aviaire, en particulier les détenteurs de volaille, doivent prendre des précautions pour éviter d'introduire le virus dans les exploitations de volaille (éviter tous contacts directs ou indirects avec de la volaille dans les pays visités et ne pas revenir avec des produits animaux).

Le recours à la vaccination

Different types de vaccins contre l'influenza aviaire de sous type H5 ou H7 sont disponibles (Commission européenne, 2000a ; European Commission, 2004a) :

- vaccins inactivés homologues : ils contiennent la même souche d'influenza aviaire qui est responsable des foyers et un adjuvant huileux. Ils assurent une bonne protection clinique et une réduction de l'excrétion virale (Swayne et Suarez, 2000). Ils ne permettent pas la distinction entre animaux vaccinés et vaccinés infectés. L'utilisation d'oiseaux sentinelles permet toutefois de compenser partiellement ce défaut ;
- vaccins inactivés hétérologues : ils contiennent le même sous-type de virus (hémagglutinine) circulant sur le terrain mais un sous-type différent en ce qui concerne la neuramidase. La production d'anticorps contre la neuramidase est un marqueur de l'infection (Capua et Maragon, 2000). A l'intérieur d'un même sous-type de hémagglutinine, une certaine variabilité peut être observée. Cependant, le degré de protection n'est pas strictement corrélaté au degré d'homologie entre les gènes de l'hémagglutinine du vaccin et des souches d'épreuve (Swayne et Suarez, 2000), ce qui offre l'avantage de permettre la création de banques de vaccins contenant des souches virales qui ne sont pas strictement identiques aux virus contre lesquels on désire immuniser ;
- vaccins vivants : en raison de la fréquence des mutations dans le génome des virus influenza, aucun de ceux-ci n'est autorisé ;
- vaccins recombinants : plusieurs virus recombinants de la variole aviaire (*fowlpox*) exprimant l'antigène H5 ont été développés (Beard *et al.*, 1991 ; 1992 ; Webster *et al.*, 1996 ; Swayne *et al.*, 1997 ; 2000). Un des vaccins est actuellement utilisé sous licence au Mexique (Swayne et Suarez, 2000). Des don-

nées expérimentales ont également été obtenues pour les virus recombinants de la variole aviaire exprimant l'antigène H7 (Boyle *et al.*, 2000). D'autres vecteurs ont été utilisés avec succès pour produire les antigènes H5 et H7, notamment en utilisant le virus de la laryngo-trachéite infectieuse (Luschow *et al.*, 2001). Ce type de vaccin n'a pas reçu à ce jour d'autorisation de mise sur le marché par l'Union européenne.

La vaccination à l'aide de vaccins inactivés hétérologues a été utilisée avec succès en Italie pour contrôler une épizootie de virus IAfp de sous-type H7N1 (Capua et Maragon, 2003). Cette vaccination à l'aide de vaccins inactivés nécessite plusieurs injections intra-musculaires à intervalles réguliers (Maragon *et al.*, 2003 ; European Commission, 2004d) et la protection conférée est acquise après quelques semaines. Ceci constitue un handicap majeur pour la vaccination éventuelle des poulets de chair industriels en raison de leur durée de vie qui est peu compatible avec un tel protocole de vaccination. La vaccination en zone d'épizootie est aussi susceptible d'augmenter le risque de transmission du virus sauvage entre exploitations par les manipulations des sujets dans les différentes exploitations. Par ailleurs, la vaccination réduit l'excrétion virale sans toutefois l'empêcher (Garcia *et al.*, 1998 ; Swayne, 2003). De plus, les tests sérologiques utilisés pour identifier le marqueur de l'infection (tests d'immunofluorescence) ne sont pas très sensibles.

Les situations pouvant justifier la vaccination contre l'influenza aviaire sont les suivantes (Jestin V., communication personnelle) :

- vaccination d'urgence pour lutter contre une souche virale IAHP ou IAfp :
 - multiplication alarmante du nombre de foyers d'infection ;
 - forte densité avicole ;
 - présence d'espèces protégées et/ou rares ;
- vaccination prophylactique pour lutter contre une souche virale IAfp :
 - production avicole à risque (élevage en plein air) lorsque la prévalence de l'infection est élevée ou lorsque la production avicole est située sur des trajets migratoires.

Epidémiosurveillance de l'avifaune

Il n'y a pas de données publiées concernant la prévalence des infections par les virus influenza aviaires dans l'avifaune en Belgique. Une surveillance sérologique et virologique permettrait d'obtenir des informations concernant la prévalence des infections par les virus influenza aviaires (épidémiosurveillance). Celle-ci doit viser les courants migratoires et les aires de repos qui s'y rapportent. Des outils prédictifs restent toutefois à développer.

Epidémiosurveillance des oiseaux importés et d'ornement

L'importation fréquente d'oiseaux exotiques augmente le risque d'introduction d'agents zoonotiques. En effet, les oiseaux peuvent être excréteurs de virus avant l'expression des signes cliniques (Easterday *et al.*, 1997). Ils peuvent aussi être excréteurs asymptomatiques d'une souche IAfp.

L'autorisation d'importation d'oiseaux exotiques est notamment régie par la Convention sur le commerce international des espèces de faune et de flore sauvages menacées d'extinction (CITES). Un renforcement des mesures de quarantaine lors d'importation dans l'Union européenne d'oiseaux de compagnie en provenance des pays tiers est d'application suite à la décision communautaire 2000/666/CE et ses modifications (Commission européenne, 2000b). Cette décision fixe la durée de quarantaine à 30 jours pour toutes les espèces d'oiseaux d'ornement importées et détermine les conditions de cette quarantaine. Elle impose un dépistage de l'influenza dans tous les lots importés, même en dehors de tout signe clinique, par des examens virologiques sur des écouvillonnages cloacaux ou des matières fécales prélevés entre le 7^e et le 15^e jour de quarantaine ou par un examen sérologique sur des poussins sentinelles placés au moins 21 jours en contact avec les oiseaux importés. Ces examens de dépistage ne peuvent être réalisés que par un laboratoire agréé. La gestion centralisée des résultats des analyses réalisées permettrait d'obtenir des données d'épidémiosurveillance concernant la prévalence des infections par les virus influenza aviaires.