

Charles Nicolle, 1866-1936
Membre de l'Institut
Directeur de l'Institut Pasteur de Tunis
Professeur au Collège de France,
Chaire de Médecine et Physiologie
Prix Nobel de Physiologie ou
Médecine, 1928

Il y aura donc des maladies nouvelles. C'est un fait fatal. Un autre fait, aussi fatal, est que nous ne saurons jamais les dépister dès leur origine. Lorsque nous aurons notion de ces maladies, elles seront déjà toutes formées, adultes pourrait-on dire. Comment les reconnaitrons nous ces maladies nouvelles, comment soupçonnerons nous leur existence avant qu'elles n'aient revêtu leur costume de symptômes ?

Charles Nicolle,
Le Destin des Maladies Infectieuses (1933)

**Leçon No 1 – 9 déc 2010
Une barrière au cœur de
l'émergence infectieuse:
la barrière d'espèce.**

Schémas d'évolution des maladies infectieuses de la préhistoire à nos jours

McMichael AJ. 2001. Human frontiers, environments and diseases: past patterns, Uncertain futures. Cambridge University Press.

3 transitions majeures dans la co-évolution de l'homme avec les agents infectieux:

A partir de 75 000 ans avant JC, petites communautés de cueilleurs pêcheurs, chasseurs s'organisent. Evènements d'émergence progressifs au sein de petites communautés.

Homme-animaux sauvages - certains en voie de domestication - petits prédateurs (rongeurs, etc...)

De ces sources animales, les populations agraires primitives ont acquis les pathogènes que nous considérons actuellement comme spécifiquement humains: tuberculose, peste, lèpre, variole, paludisme, rougeole, grippe, syphilis. (Guère différent des conditions d'émergences récentes des premiers cas d'infection par le VIH, Ebola, etc...).

Se poser néanmoins la question de l'origine environnementale: Choléra...

1ère transition: Il y a environ 5000 ans: premiers contacts entre les civilisations méditerranéennes et d'Asie méridionale (rapports archéologiques, bibliques, mais pas d'évidence prouvée de transmission, bien que probable) - Echanges régionaux entre ces groupes de populations.

2 ème transition: Il y a 2000 ans. L'expansion des deux grands empires (Romain et Chinois) permet les premiers grands échanges à travers l'Eurasie : variole, peste.

3 ème transition: Echanges transocéaniques. Quand l'Europe commence à explorer le monde il y a 5 siècles, un effet d'équilibre s'instaure entre les continents. Introduction de la variole, du typhus, de la rougeole et de la grippe. Le trafic transatlantique des esclaves introduit le paludisme en Amérique du sud et Amérique centrale (hypersensibilité des populations jamais exposées, effets pandémiques dévastateurs)

Nouvelle transition en cours (quatrième): globalisation, rupture des écosystèmes du fait de la croissance de la population mondiale et de la consommation intensive. Persistance de la 7ème pandémie de choléra, SIDA, SRAS, grippe, prions. Diffusion des microorganismes multirésistants, incluant le BK, résurgence des arboviroses, particulièrement la dengue.

Même évènements chez les animaux domestiques, surtout le bétail. Fusion de la microbiologie humaine et vétérinaire (Résurgence des salmonelloses, encéphalopathie bovine)

EMERGENCE

MALADIES INFECTIEUSES EMERGENTES:

Maladies infectieuses classiques mais demeurées rares, voire maladies véritablement nouvelles dont le microorganisme causal était préalablement inconnu, qui explosent du fait de conditions socio-économiques, écologiques, ou pathologiques nouvelles (Ebola, *Legionella*, VIH, VHC, KSV8, SRAS, etc..).

MALADIES INFECTIEUSES RE-EMERGENTES:

Maladies infectieuses ou microorganismes classiques réapparaissant à l'occasion de conditions socio-économiques, pathologiques ou technologiques nouvelles.

Souvent sous une forme nouvelle, plus sévère, causée par des microorganismes multi-résistants (Tuberculose).

Comment définir les virus émergents et les maladies qui les accompagnent ?

Nouvelles maladies chez l'homme due à des virus présents chez l'animal (zoonoses): SIV/VIH (SIDA), Sin Nombre / Hantavirus (syndromes pulmonaires), Coronavirus (SRAS).

Maladies déjà décrites chez l'homme mais dont on découvre l'agent étiologique: VHC et hépatite C, HTLV1 et TSP/HAM, HHV8 et sarcome de Kaposi, « émergence de reconnaissance ».

Virus déjà connus comme agents étiologiques de maladies définies mais donnant lieu soudainement à une variante clinique (gravité), à des caractéristiques épidémiques nouvelles ou à des modifications de la distribution géographique: West Nile/USA, grippe aviaire, Chikungunya.

Qu'est il advenu des prévisions de Charles Nicolle en dépit de l'introduction des agents antiinfectieux et des vaccins ?

Totalement confirmées !

Jones KE et coll. 2008. Global trends in emerging infectious diseases. Nature, 451:990-3

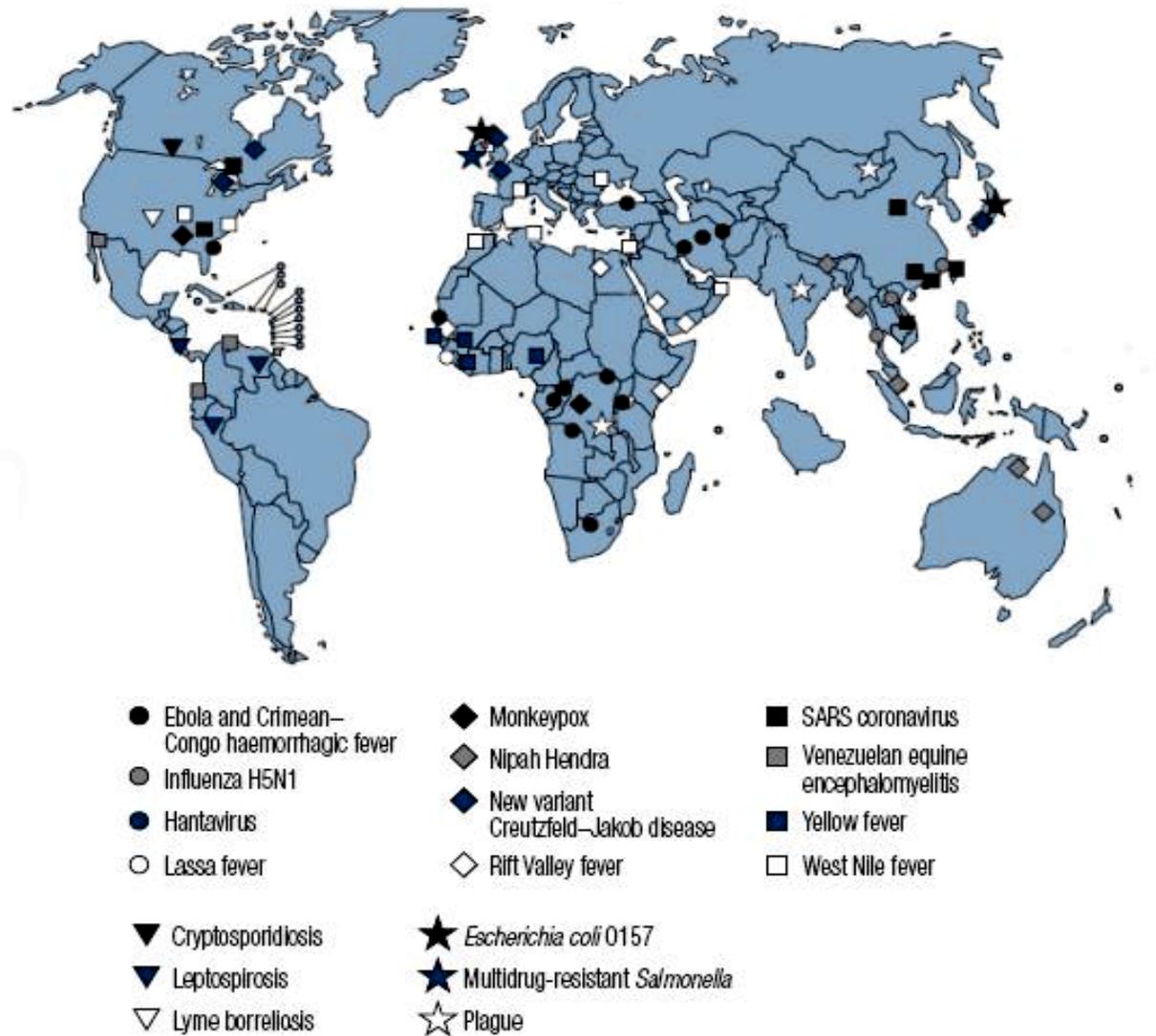
De 1940 à 2004: 335 maladies émergentes détectées
Croissance régulière des évènements jusqu'à un pic dans les années 80 (100), largement en rapport avec la survenue du SIDA

Prédominance paradoxale dans les régions de hautes latitudes (sous-identification, sous-déclaration et sous-publication dans les pays du sud)

Dominées par les zoonoses (60,3 %), dont 71,8 % transmises à partir de la faune sauvage (VIH, Lassa, Marburg, Ebola, SRAS, H5N1, H1N1...)

Bactéries et Rickettsies majoritaires (54,3 %), largement du fait de la fréquence d'émergences dues à l'acquisition de la résistance à un ou plusieurs antibiotiques

Une sélection d'infections émergentes et ré-émergentes, 1996-2004



1100 épidémies confirmées par l’OMS de 2003 à 2007

Causes principales sous-jacentes à l'émergence des maladies infectieuses

Changements démographiques (augmentation de la population de la planète, mobilité accrue et accélérée des populations, accroissement des groupes de populations réfugiées)

Changements sociologiques globaux (exode rural / urbanisation, usage de drogues intraveineuses, modifications des pratiques sexuelles)

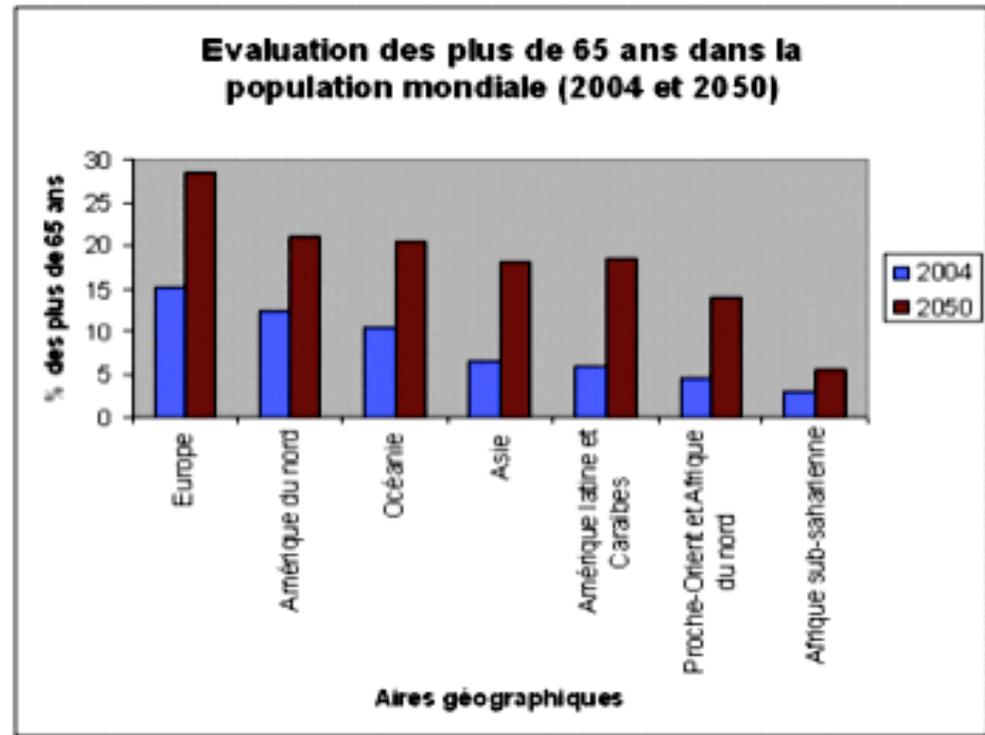
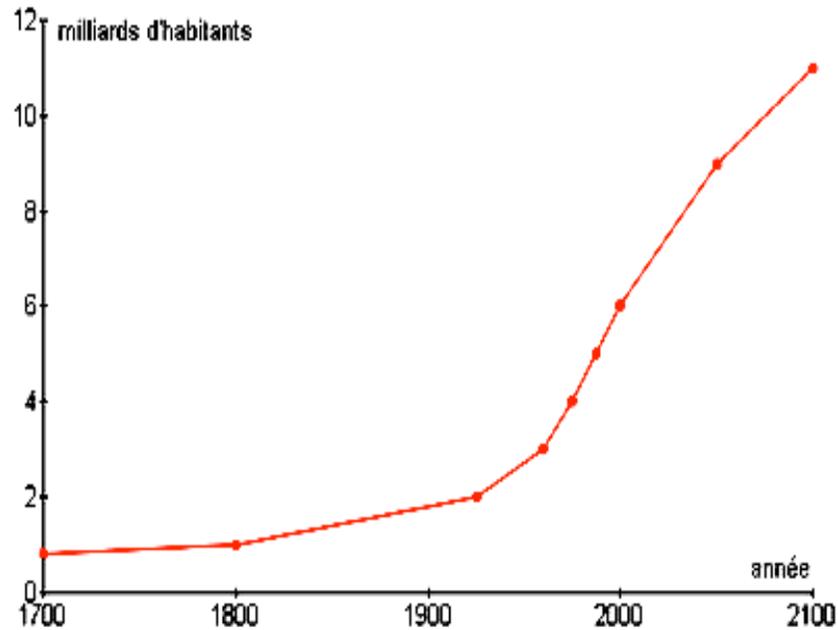
Prises en charge médicales/hospitalisations (infections nosocomiales: hôpitaux et maisons de retraite), techniques médicales (transfusion de produits sanguins, transplantation d'organes, réutilisation de matériel d'injection, mauvais usage des antibiotiques causant la sélection et la dissémination des résistances).

Grandes tendances économiques et commerciales (production intensive/ industrielle d'aliments, extension de l'irrigation, libéralisation du commerce).

Changements climatiques locaux et planétaires (réchauffement global).

Modifications massives des écosystèmes (déforestation, eutrophication des eaux) amenant à une diminution des prédateurs des larves d'insectes vecteurs.

Accroissement de la population mondiale



La population par continent se répartit comme suit en millions d'habitants:

Europe: 728

Asie: 3905

Afrique: 906

Amérique du Nord: 331

Amérique latine et Caraïbes: 561

Océanie: 33

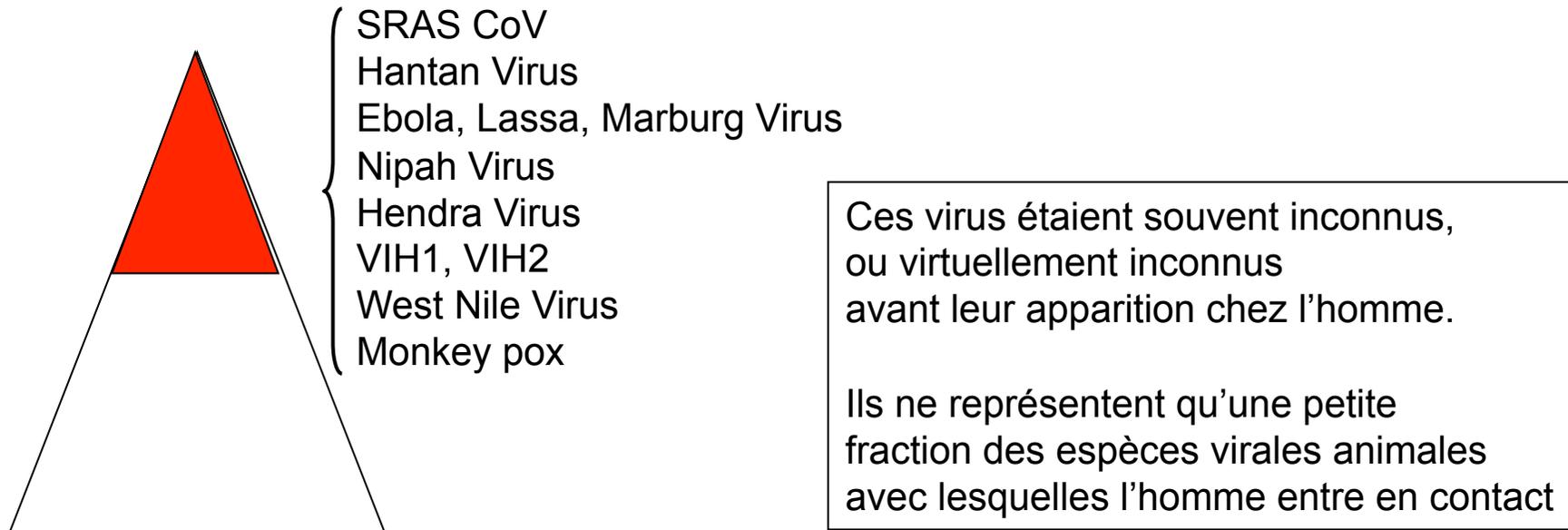


60% des émergences infectieuses de 1940 à 2004 ont été d'origine animale (Jones K., et coll., 2008, Nature)

L'essentiel des nouveaux virus émergents est issu du monde animal (zoonoses), surtout des animaux sauvages

Epizootie = Maladie qui frappe simultanément un grand nombre d' animaux de même espèce ou d'espèces différentes (panzootie).

Endozootie = Maladie qui frappe une région de façon constante (incidence stable), ou à certaines époques déterminées.



Emergence à partir de bactéries de l'environnement ?

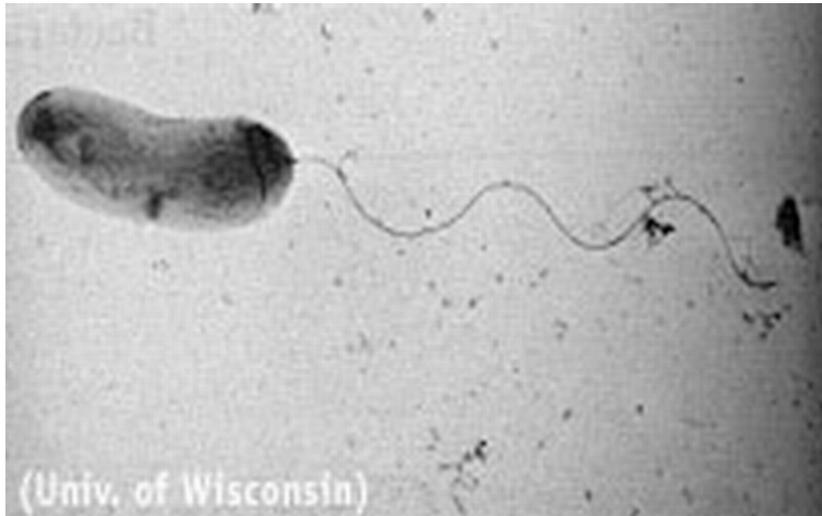
Toutes les émergences infectieuses ne sont pas, ou n'ont pas été d'origine zoonotique.

Possibilité d'acquisition directe de microorganismes de l'environnement

Récepteur commun ? (Choléra)

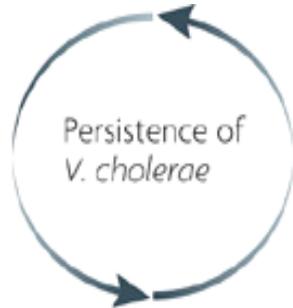
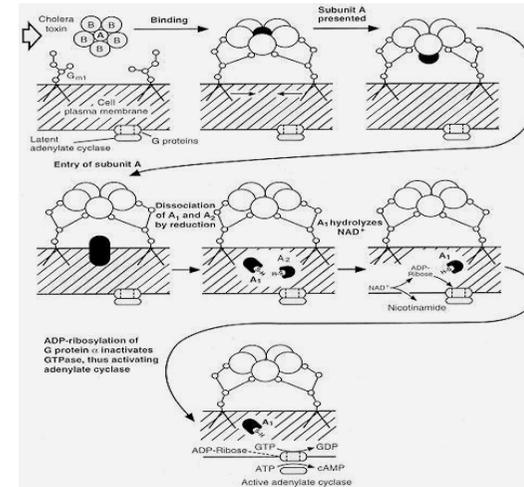
Analogie de mode d'association cellulaire ?
(Légionellose)

Choléra



Vibrio cholerae

Adhérence au duodénojéjunum humain +
sécrétion de la toxine cholérique (CT)



Aquatic reservoir

- Planktonic vibrios
- Aggregate vibrios: phytoplankton, zooplankton, insect egg masses, exoskeletons and detritis

Ingestion of environmental vibrios
Start of outbreak

Human host

- Colonization of small intestine
- Secretory diarrhoea



Shedding of hyperinfectious vibrios in stool
Ingestion of hyperinfectious vibrios

Intermediate during an outbreak

- Hyperinfectious vibrios
- Household spread
- Fomites
- Contaminated foods
- Aquatic intermediate

Nature 438, 863-866 (8 December 2005) | doi:10.1038/nature04249;

A colonization factor links *Vibrio cholerae* environmental survival and human infection

Thomas J. Kirn^{1,2,3}, Brooke A. Jude^{1,3} & Ronald K. Taylor¹

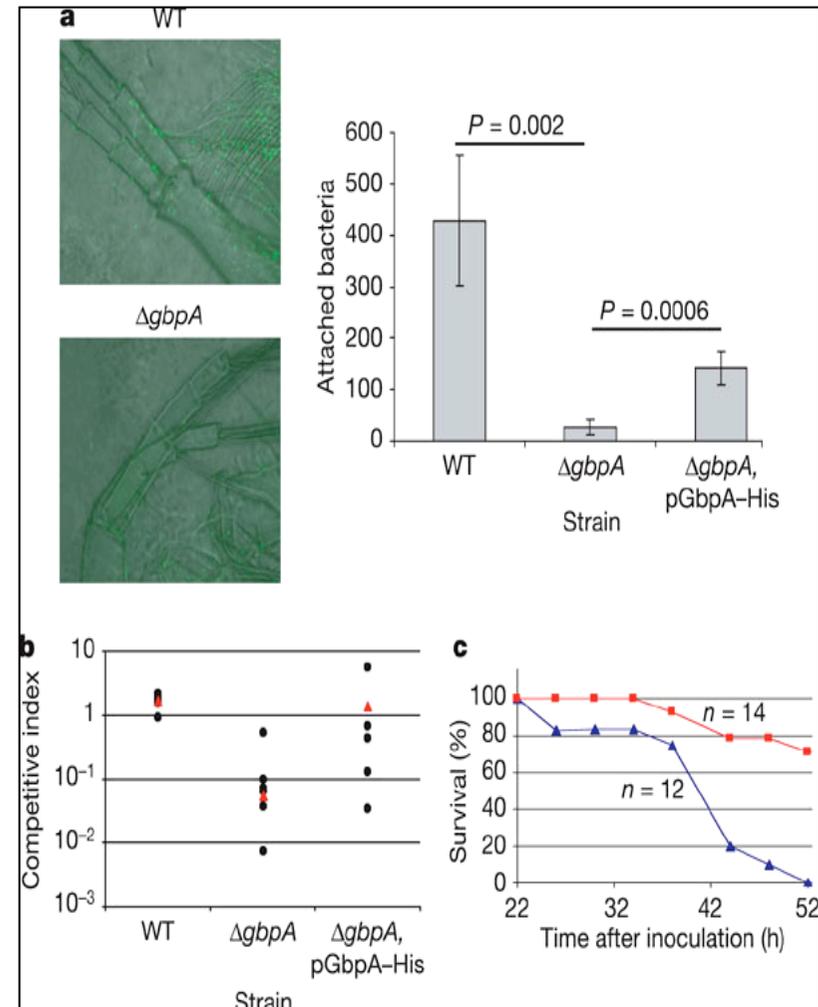
Daphnia magna = zooplancton

Exosquelette = chitine

Récepteur commun dans chitine et dans duodéno/jéjunum des mammifères (Nac-Glc)



GbpA =
adhésine
de *V. cholerae*



Ecologie de *Legionella pneumophila*

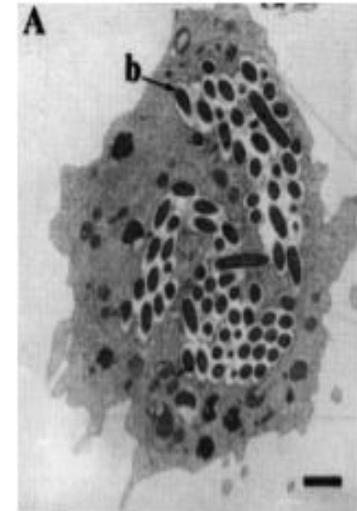
Réservoir principalement aquatique:

Environnements naturels: lacs, rivières

Environnements artificiels: tuyauterie architectures complexes (douches), systèmes de conditionnement d'air, tours de refroidissement, humidificateurs, installations thermales

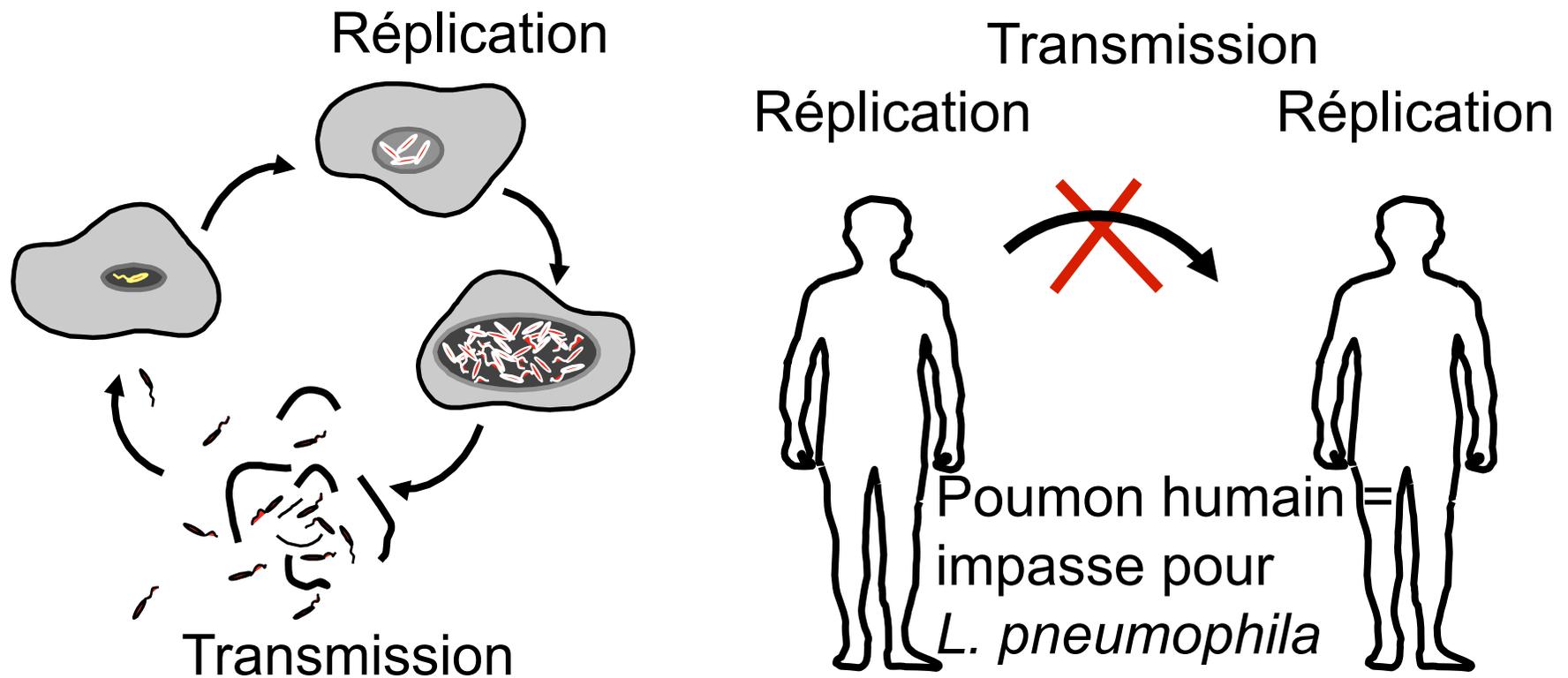
Bactérie intracellulaire:

La capacité de *L. pneumophila* de se multiplier dans les macrophages a été démontrée par **Rowbotham** dans les années 1980, conduisant à un nouveau paradigme en microbiologie: une espèce bactérienne parasite naturellement des protozoaires (14 espèces dont *Acanthamoeba castellani*, *Hartmannella vermiformis* et des protozoaires ciliés) et utilise les mêmes mécanismes pour infecter l'homme par l'intermédiaire des macrophages.



Forces évolutives s'appliquant sur *L. pneumophila*

Virulence = Réplication + Transmission



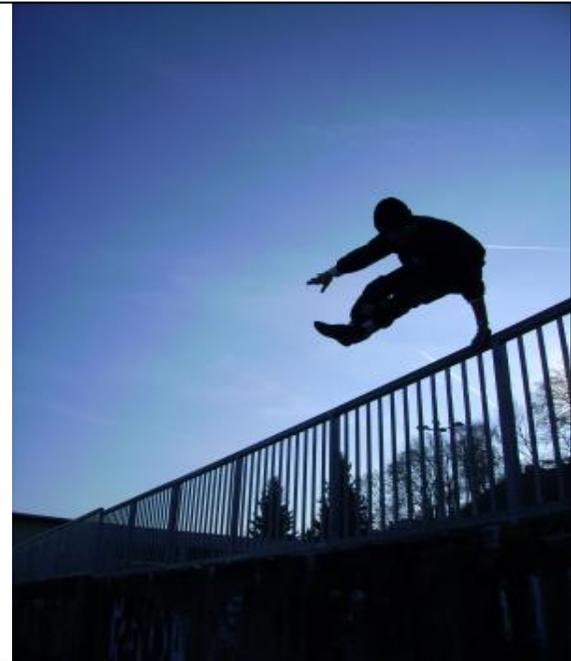
Les forces de l'évolution et de l'adaptation aux niches sont l'environnement (protozoaires) et pas l'homme.

Comment un virus change-t-il d'hôte ?

- Facteurs démographiques
- Facteurs pathogéniques (cellule/tissu, organe/individu)
- Transmission entre individus

Au centre du processus est le **saut de la barrière d'espèce.**

La barrière d'espèce rend difficile la transmission des agents infectieux d'une espèce à l'autre. Elle est due à la spécialisation des agents infectieux adaptés à l'infection d'une ou d'un nombre limité d'espèces.



Tentative de définition...

Notion de barrière d'espèce

Chaque espèce animale a ses propres germes pathogènes

- Choléra des poules (*Pasteurella multocida*) différent du choléra humain et non transmissible à l'homme
- Encéphalite de la chèvre (Lentivirus AEC) non transmissible à l'homme
- Pneumonie du porc (*Mycoplasma hyopneumoniae*) non transmissible à l'homme
- (Méningo)encéphalomyélites équines (Togavirus) spécifiques des équidés (oiseaux ?)
- *Salmonella typhi*, *Mycobacterium tuberculosis*, HBV/HCV chez l'homme non transmissibles à l'animal (problèmes des modèles expérimentaux !)

La barrière d'espèce n'est pas toujours hermétique et de nombreux pathogènes sont communs à plusieurs espèces. Salmonelles non typhi, Brucelles, Leptospires, Rickettsies, Borrelia, bacille de la peste, *Staphylococcus aureus*, ou causent une infection grave chez l'homme lors d'une contamination directe ou indirecte (vecteur) avec l'animal: rage

Ces événements de rupture de la barrière d'espèce surviennent régulièrement et l'établissement dans l'espèce humaine est conforté par des mutations facilitant l'efficacité de transmission interhumaine ultérieure, directe ou par vecteurs interposés: VIH, Grippe aviaire H5NI, SARS.

La plupart des pathogènes humains connus ont sans doute été le fruit d'un saut d'espèce, mais la réalité, de l'événement, son nombre sa/ses date(s) sont difficiles à définir.

Emergence de nouveaux virus: Importance de la transmission inter-espèces

Rétrovirus ARN		PNH → Homme PNH → Homme	{ morsures Contact sanguin	SIV / HIV STLV-1 / HTLV-1	Epidémique Endémique
Bunyavirus ARN		Rongeurs → Homme Rongeurs → Homme Rongeurs → Homme Rongeurs → Homme	{ Inhalation poussières contaminées { Contacts	Hantavirus Sin Nombre virus Junivirus Machupovirus	Sporadique Epidémique Endémo- épidémique
Paramyxovirus ARN		Chauve- souris { Homme Chevaux Porcs Humans	Contacts	Morbillivirus équin (Hendra virus) Nipahvirus	Epidémique Epidémique

Une surveillance microbiologique et immunologique soutenue au sein des populations humaines à risque est essentielle au dépistage précoce et au suivi des épisodes de passage de la barrière d'espèce.

D'après Antoine Gessain,
Institut Pasteur

Pathogénicité différentielle chez l'hôte réservoir (Hr) et l'hôte secondaire (Hs)

Hs (homme)

++++

Hr

+/- (possible portage sain)

Ces observations reflètent très probablement l'effet d'une co-évolution à long terme ayant amené par « compromis mutuel » à une situation de tolérance chez **Hr**, alors qu'une irruption sans précédent chez **Hs** donne lieu à une réaction immunologique de rejet brutal se traduisant par une symptomatologie bruyante et une maladie aiguë ou chronique grave (ex.: Ebola, VIH, SRAS).

Herpes virus B

Virus Hantan

Hr - Singe (macaque)

lésions orales
(minimales)

-

Hr - Rongeurs

-

Pas de symptômes cliniques
Discrets troubles comportement
Peu de signes histologiques

Hs - Homme

Méningoencéphalite
(70 % mortalité)*

Fièvre hémorragique avec
syndrome rénal (HFRS) ou
Fièvre hémorragique avec
syndrome pulmonaire (HSP)**

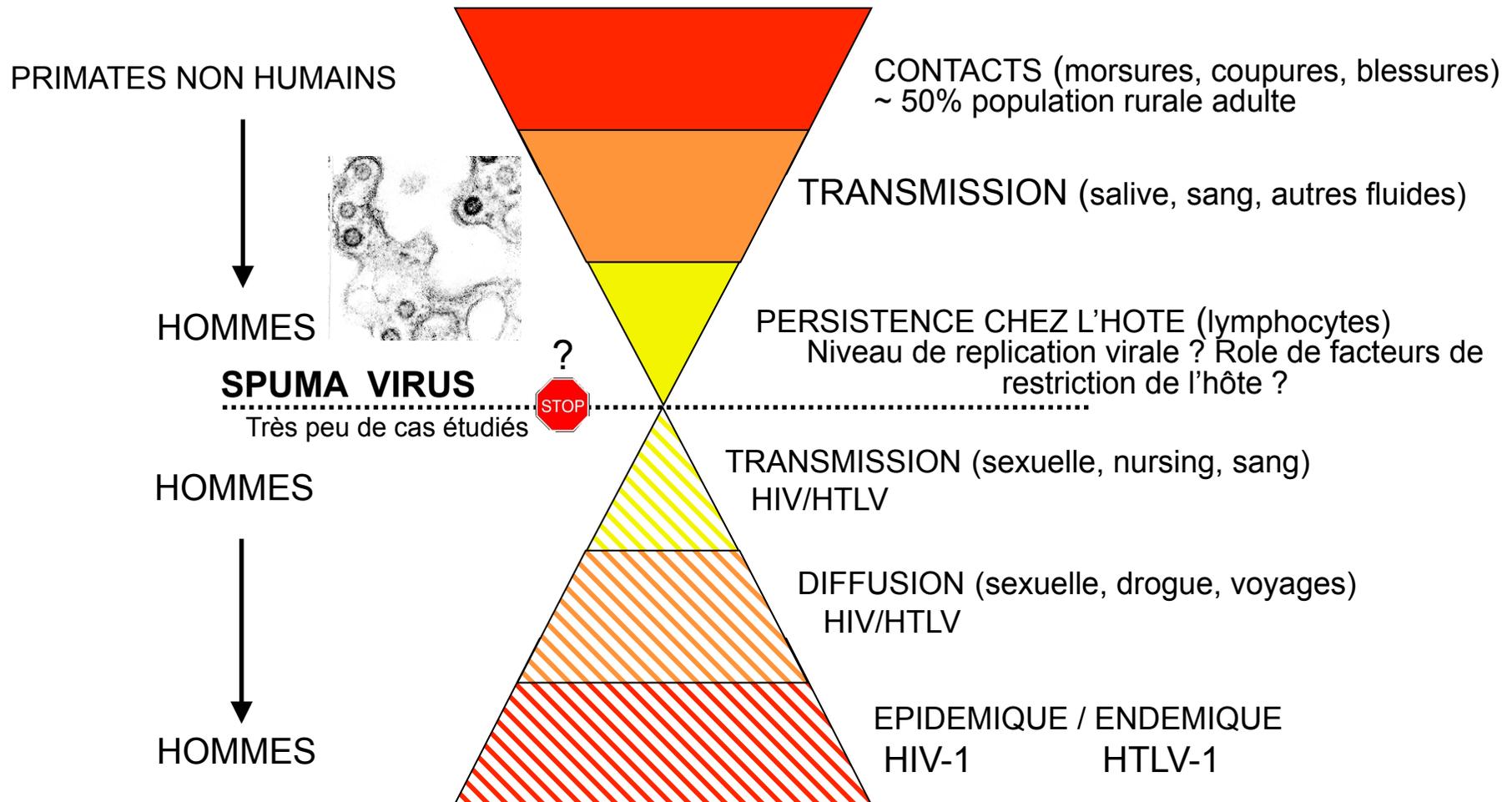
* Huff JL & Barry PA. 2003. Emeerg.Infect.Dis., 9:246-250

** Tsai TF. 1987. Lab.Ani.Sci., 37:419-427

Zaki SR etcoll. 1995. Am.J.Pathol., 146:552-579

Des primates non humains à l'homme

Etapes menant à l'émergence des rétrovirus simiens chez l'homme



Un futur pour les Foamy Virus chez l'Homme ?

Gessain et Calattini; Future in Virology 2008

Spumavirus (Foamy virus)

Travail exemplaire de veille à l'émergence du groupe d'Antoine Gessain, Institut Pasteur

Les “foamy virus” (FV) ou Spumavirus (virus spumeux) ont été décrits pour la première fois en 1954 comme des agents cytopathiques transmissibles sur des cellules dérivées de rein de macaque.

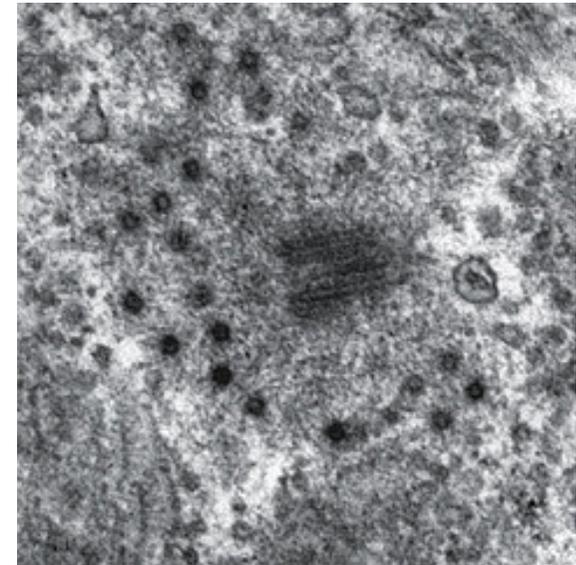
Les FV constituent le seul genre de la sous-famille *Spumaretrovirinae*.

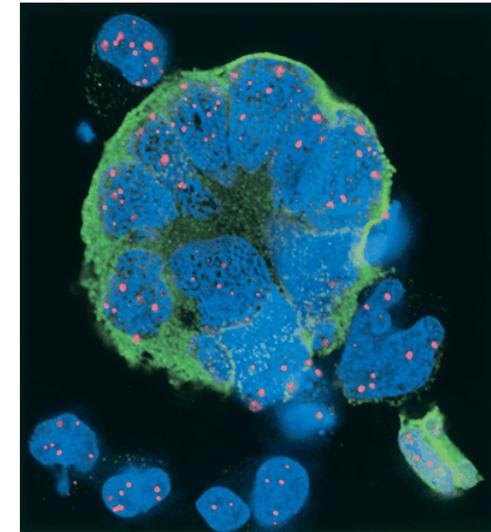
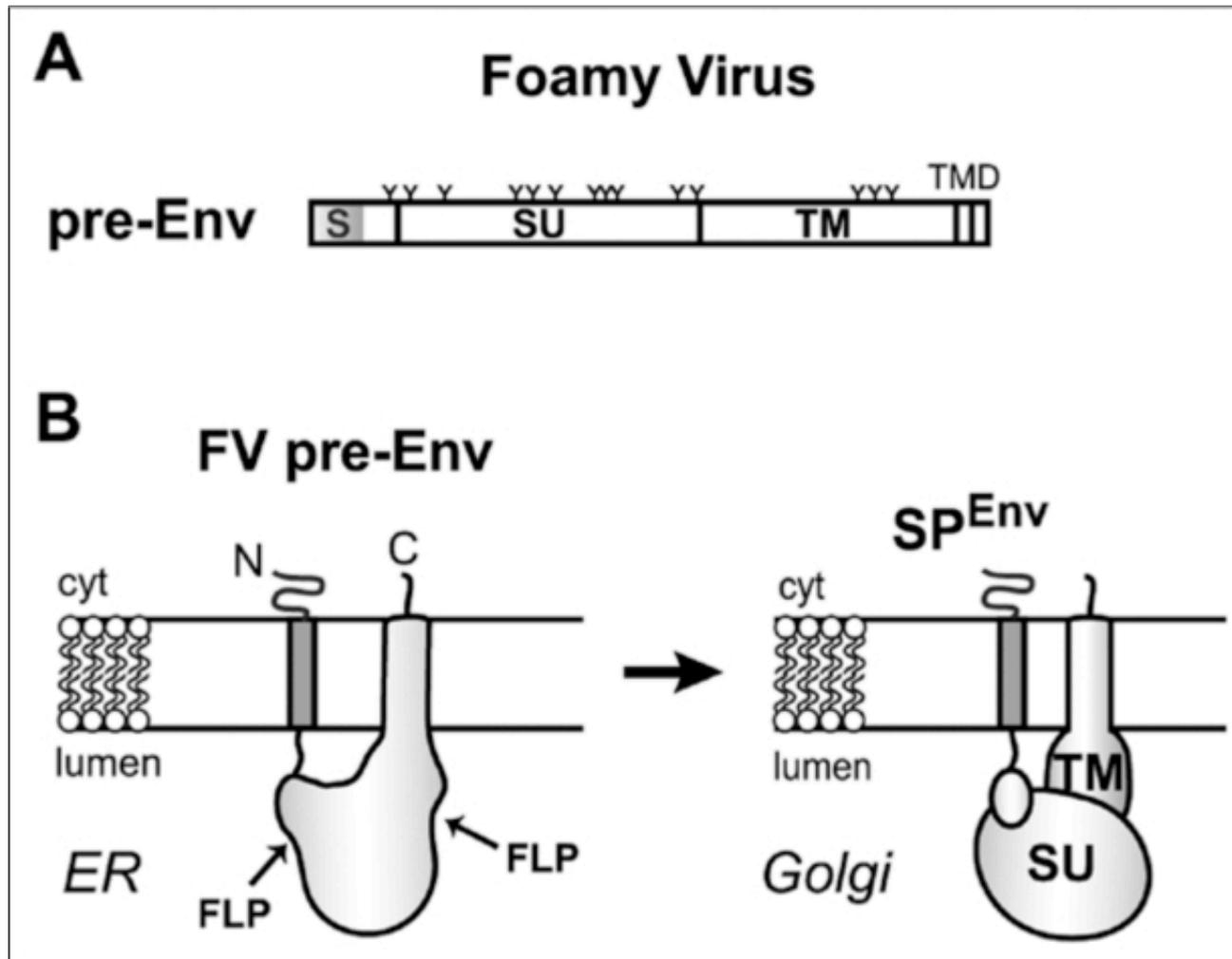
Les FV sont considérés comme les plus anciens des virus ARN des vertébrés (co-spéciation avec les primates de l'Ancien Monde depuis plus de 30 millions d'années).

Génome: ~ 12 Kb, LTR, *gag*, *pol*, *env* + gènes accessoires (*Tas*, *Bet*, etc.) et quelques caractéristiques moléculaires spécifiques.

Fort effet cytopathique *in vitro* sur de nombreuses lignées cellulaires

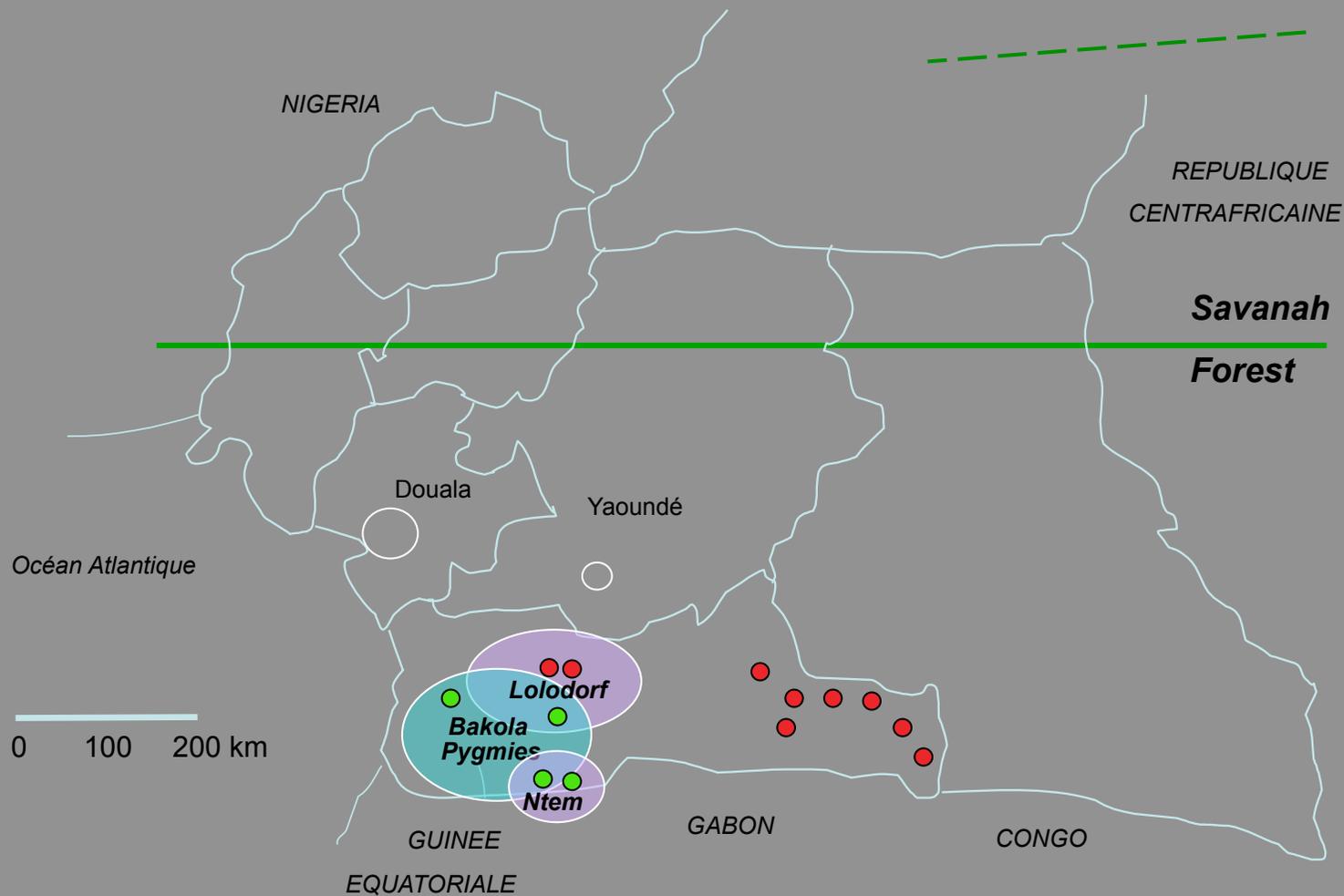
Tropisme *in vivo* : lymphocytes CD4+, CD8+, monocytes. Récepteur inconnu





Post-targetting function of signal peptides

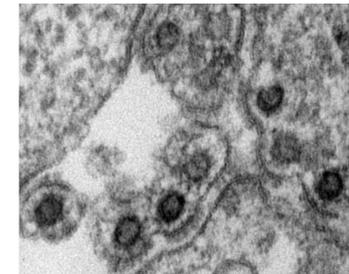
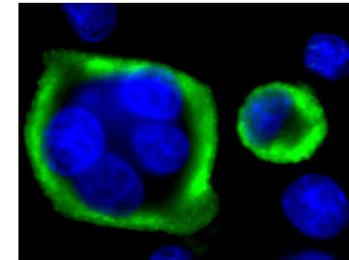
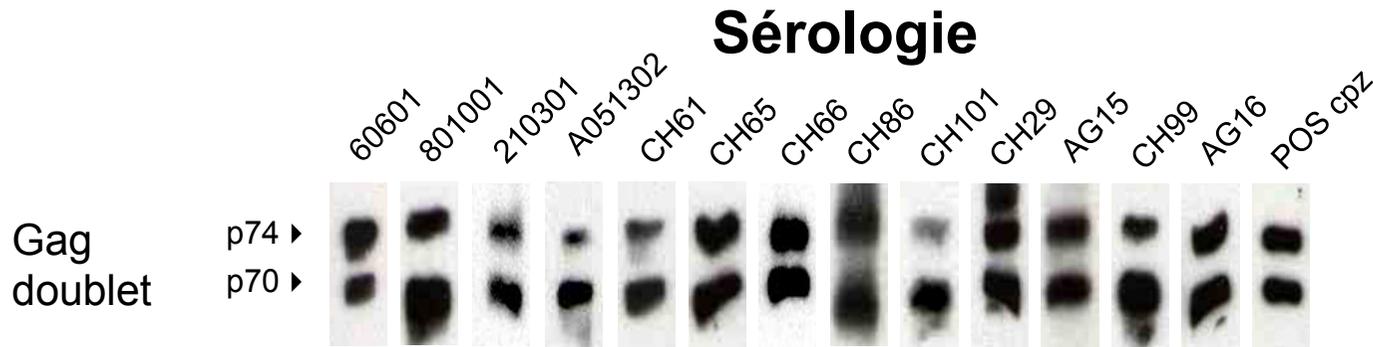
The signal sequence of Foamy virus (FV) Env protein is cleaved by a furin-like protease (FLP).
 A) Outline of the precursor of the Foamy virus envelope protein (pre-Env). Indicated are the signal sequence (S), the signal peptide (SP^{Env}), the glycoprotein subunit SU and the transmembrane domain (TMD) containing subunit TM (B) The FV Env protein is synthesized as a precursor protein with an N-terminal signal sequence (formally representing a signal anchor), which is cleaved off in the Golgi by a furin-like protease (FLP). The resulting signal peptide, SP^{Env} remains an essential component of the mature Env complex.



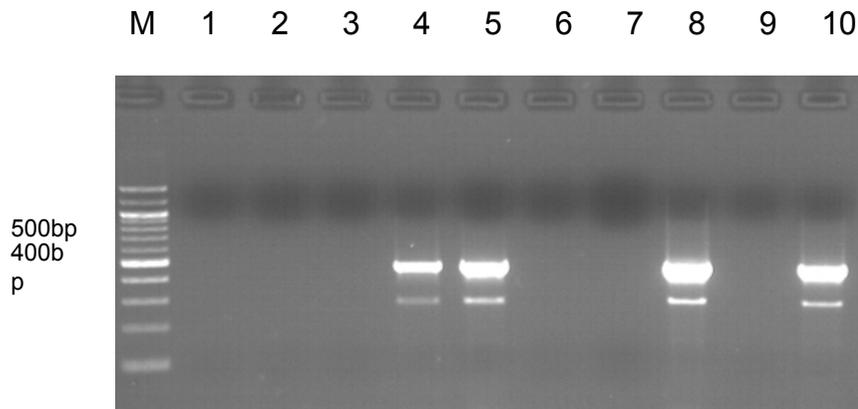
- "Etude chasseurs". 9/102
- Etude épidémiologique globale. 4/1164

Résultats

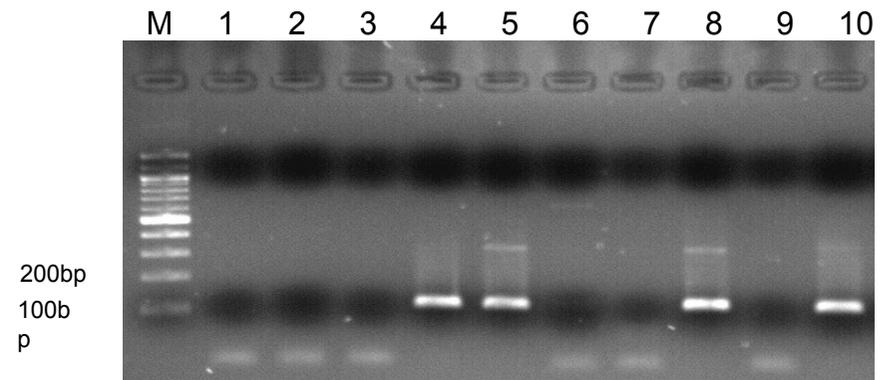
Parmi les 1266 personnes testées, un total de 13 a été trouvé infecté par un FV (Sérologie + et PCR +). Anamnèse de morsure de singe lors d'une chasse (cicatrices)



Polymerase chain reaction



425 bp du gène de l'*integrase*. 1, 2, 4, 5, 7, 8: échantillons; 3, 6, 9: contrôles négatifs; 10: contrôle positif.



109 bp de la région LTR. 1, 2, 4, 5, 7, 8: échantillons; 3, 6., 9: contrôles négatifs; 110 contrôle positif.

Les stades de l'émergence d'une maladie virale

Parrish, C.R. et coll.2008. Microb. & Mol. Biol. Rev., 72:457-470

1 - Episode (accidentel) d'infection d'un nouvel hôte sans transmission secondaire. Notion de « spill over » (débordement) et de « dead end » (impasse infectieuse).

2 - Débordements successifs donnant lieu à une chaîne locale/limitée de transmission dans la nouvelle population touchée.

L'épidémie potentielle s'éteint spontanément.

Notion d'«outbreak » (flambée).

3 - L'épidémie s'installe, voire se transforme en pandémie du fait d'une transmission très efficace au sein de la nouvelle population hôte.

Des variables peuvent affecter le processus d'émergence à chacune de ces trois étapes:

- Le type et l'intensité du contact entre le réservoir (donneur) du virus et le nouvel hôte (receveur).
- Les barrières de l'hôte à l'infection (cellulaires, tissulaires, d'organe), combinées aux facteurs viraux permettant l'infection efficace du nouvel hôte.
- Les déterminants du passage efficace de nouvel hôte à nouvel hôte (mode de contamination, vecteur).

Mesurer le potentiel de développement d'une épidémie

R_0 = Taux de reproduction de base ou Seuil épidémique.

Nombre moyen d'infections secondaires produites lorsqu'un individu infecté est introduit dans une population où l'ensemble des individus sont sensibles. Synthétise le potentiel de transmission d'un agent infectieux par un individu durant toute la période de son infection au début d'une épidémie.

$R_0 > 1$: survenue d'une épidémie.

$R_0 < 1$: extinction de l'épidémie potentielle.

Ordres de grandeur:

- Epidémies de grippe saisonnière: $R_0 = 1,5-2,5$

- Pandémies de grippe: Grippe espagnole (1918): $R_0 = 2-3$

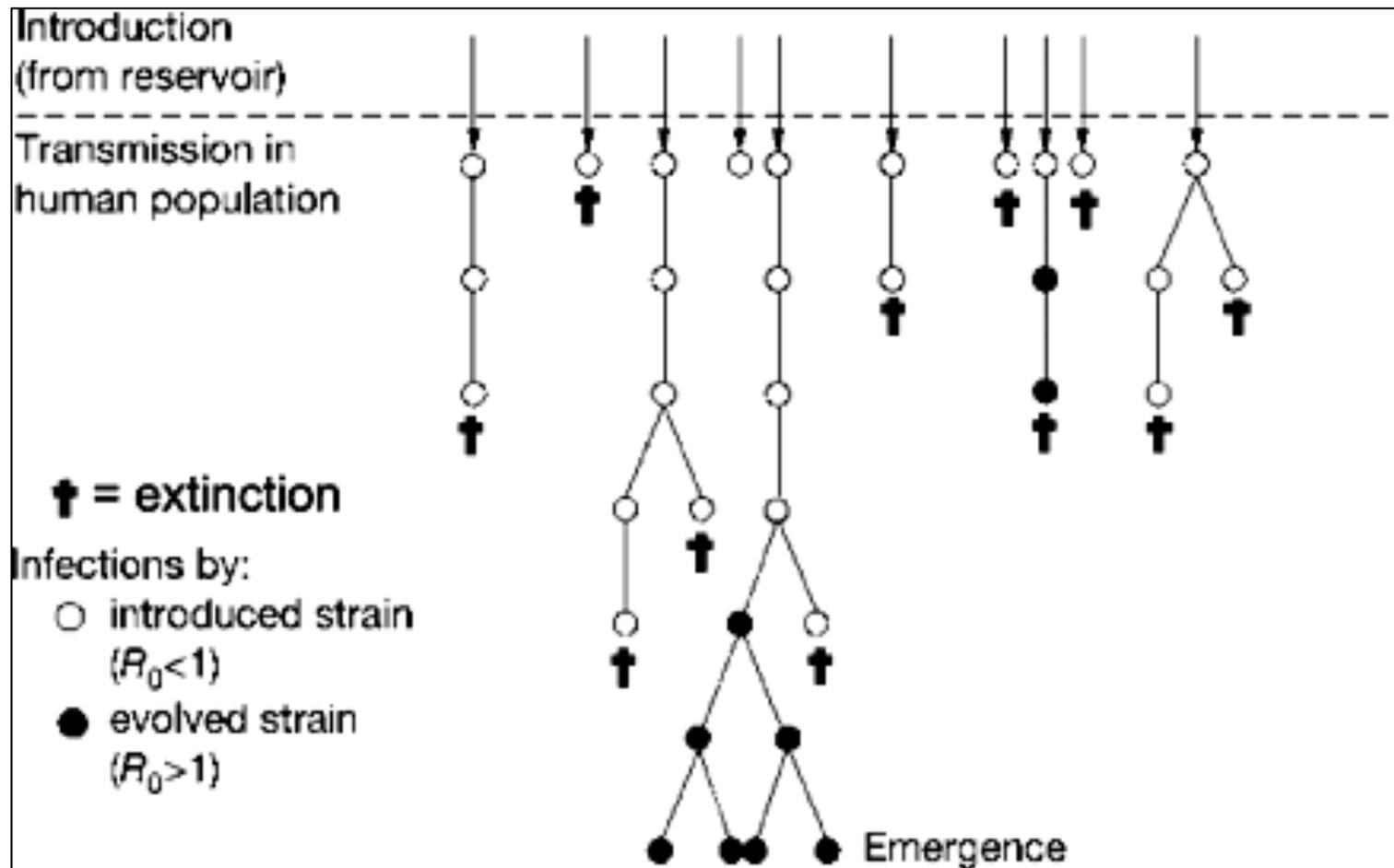
Pandémies de 1957 & 1968: $R_0 = 1,5-2$

- Rougeole: $R_0 = 15$!

- Tuberculose: $R_0 = 10$!

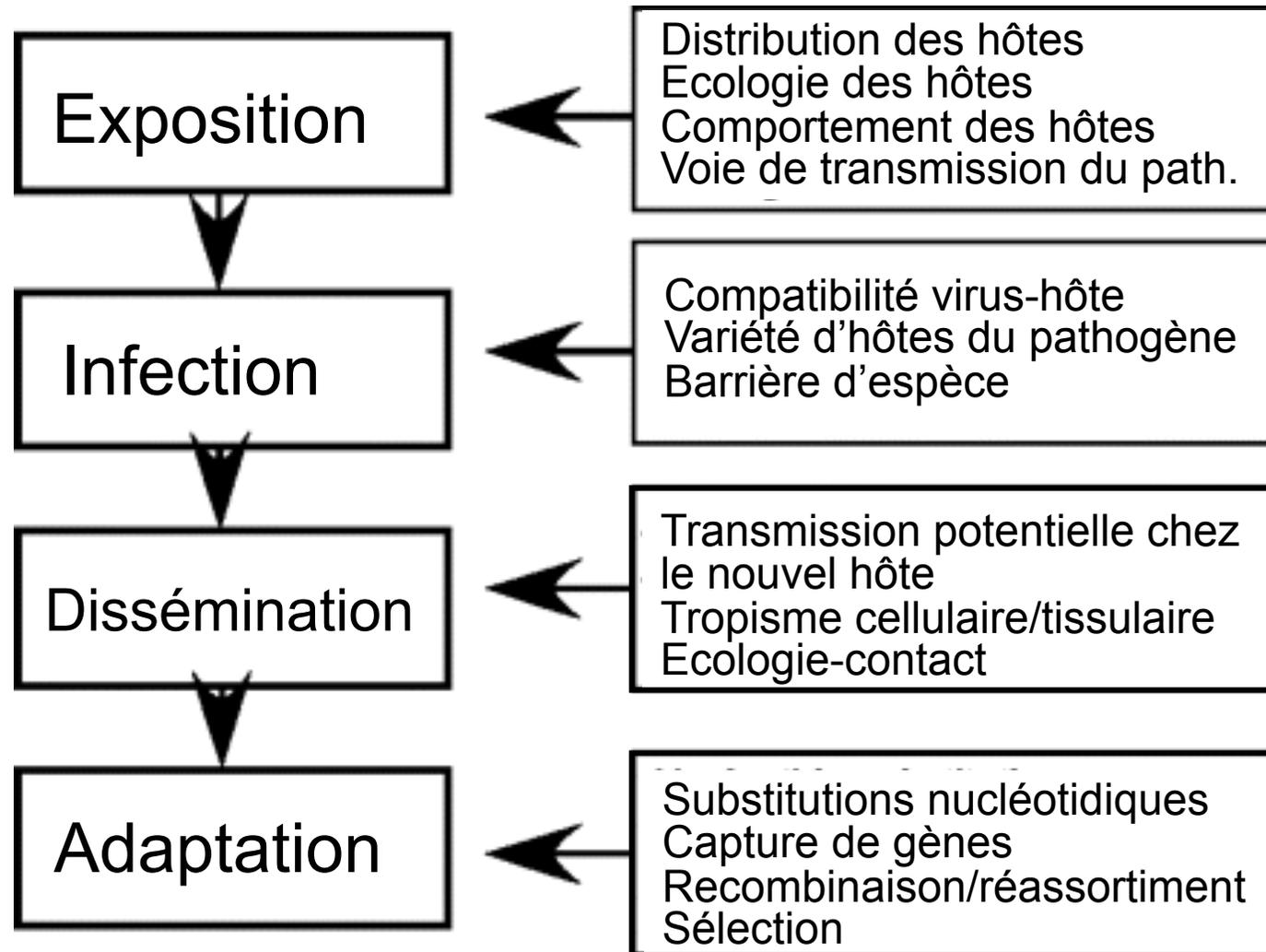
λ = taux de croissance (vitesse à laquelle le nombre de cas augmente)

Ω = Fraction de la population infectée



Représentation diagrammatique des étapes impliquées dans la survenue d'un événement de saut d'espèce amenant à un changement d'hôte d'un virus issu d'un réservoir animal. La plupart de ces événements de débordement (spill over) se terminent en impasse (dead end), en dépit de la possible survenue de modifications du virus (mutations, recombinaisons, etc.). Occasionnellement, un virus acquiert la capacité de se développer dans le nouvel hôte et de se transmettre d'individu à individu ($R_0 > 1$). De telles situations sont génératrices d'épidémies.

Les étapes impliquées dans l'émergence d'un virus suite à un changement d'hôte.



La transmission, une problématique dominante:

Une fois passée la barrière d'espèce, ce que peuvent faire de nombreux virus animaux vers l'homme, l'étape de transmission interhumaine efficace est indispensable à l'émergence d'une épidémie voire d'une pandémie.

La transmission efficace entre les nouveaux hôtes fait donc partie intégrante du concept de barrière d'espèce. Il existe des bases moléculaires et cellulaires de la transmission qui demeurent peu et mal connues.

Infection aiguë: efficacité de la voie respiratoire (Grippe, SRAS), d'un vecteur adapté (*Aedes albopictus* et Virus Chikungunya)

Infections chroniques: efficacité additionnelle d'autres voies comme la transmission sexuelle (VIH)

Mécanismes moléculaires du saut d'espèces

Les mécanismes permettant l'adaptation d'un virus à un nouvel hôte, donc les bases moléculaires du saut d'espèce sont encore mal connues.

La capacité et le degré de variation génétique sont importants car la plupart des virus transférés à un nouvel hôte sont faiblement adaptés, se répliquent médiocrement et sont transmis très inefficacement.

Ainsi, plus la capacité de variation sera importante, plus le virus aura de chances de s'adapter à un nouvel hôte.

Ceci suggère que les changements d'espèces devraient être plus fréquents chez les virus évoluant le plus rapidement.

Variante moléculaire de *De l'origine des espèces par la sélection naturelle* de Charles Darwin:

Les espèces qui survivent ne sont pas les espèces les plus fortes, ni les plus intelligentes, mais celles qui s'adaptent le mieux aux changements.

Rapidité d'évolution des Virus ARN

- Les virus ARN sont sujets à de nombreuses erreurs car leur **ARN polymérase** est en général peu fidèle, ils n'ont pas de mécanismes de contrôle de qualité (proof reading), leur taux de réplication est rapide, leur temps de génération très court, et les populations virales atteintes au sein des tissus infectés très importantes.

Notion de « quasi espèces » jouant un rôle clé dans l'adaptation des virus à des changements d'environnements et d'hôtes et dans le destin de la population virale dans son ensemble. Le spectre des mutations générées peut donner lieu à des modifications de pathogénicité, peut modifier l'expression de certains traits phénotypiques. La diversité de ces quasi-espèces, si elle peut être reconstituée, offre la « mémoire » de l'histoire évolutive de l'espèce (« memory genomes »). Inversement l'apparition de mutations létales peut amener l'extinction virale.

(Domingo E., et coll. 2006. Viruses as quasispecies: biological implications. Curr.Top.Microbiol.Immunol. 299:51-82)

- Les modifications génomiques engendrées sont source de diversité pour des événements de recombinaison intra-espèce amplifiant la rapidité d'évolution de certains virus.

Des exceptions à la règle...

Les virus ADN sont en général moins variables et le plus souvent engagés dans une co-spéciation hôte-virus étroite (Holmes EC et coll. 2004. Mol.Evol., 13:745-756)

La distinction entre virus ARN et ADN en matière d'évolution et d'adaptation a cependant ses limites.

- Certains rétrovirus (virus spumeux simiens) montrent des taux de substitution nucléotidique beaucoup plus faibles (10^{-8} substitution/site/an) que ceux d'autres virus ARN (Switzer WM, et coll. 2005. Nature, 434:376-380).
- Il existe des évidences pour une co-évolution hôte-virus prolongée et stable pour certains virus ARN (Bowen MD et coll. 1997. Mol.Phylogen.Evol., 8:301-316). Inversement, certains virus ADN simple-brin (Parvovirus et Circovirus) évoluent aussi rapidement que certains virus ARN (Prescott LE et coll. 1999. J.Gen.Virol., 80:1751-1758).

Le potentiel d'émergence n'est donc pas a priori le privilège des virus ARN.

Animaux intermédiaires et amplificateurs

Daszak P., et coll. 2006. The emergence of Nipah and Hendra virus. In Disease ecology: community structure and pathogens dynamics. Oxford Press, 186-201.

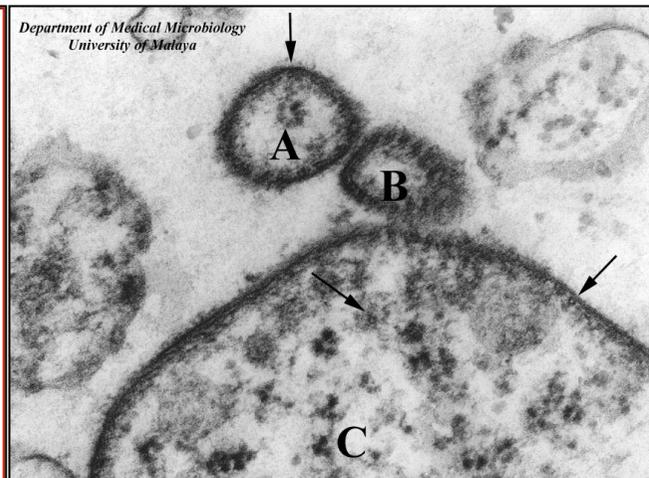
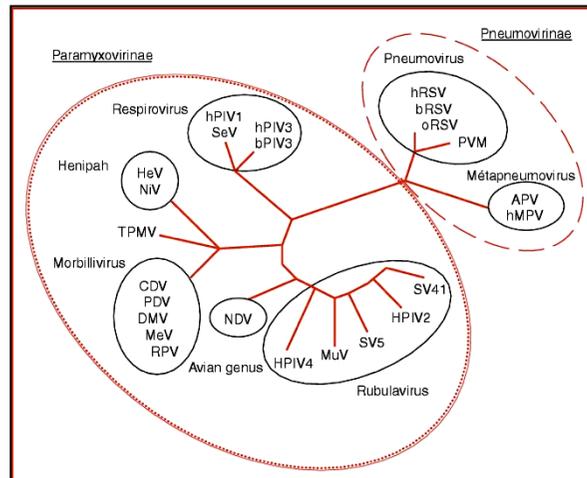
La chauve-souris comme réservoir viral

Virus Nipah en Malaisie:

épidémie facilitée par le développement de l'élevage

intensif du porc. La chauve-souris (*Pteropus*) est le réservoir du virus Nipah.

La plantation de vergers autour des élevages de porcs a amené ces animaux friands de fruits (fruit bat = roussette) près des porcs amplificateurs du virus.



SRAS CoV: la chauve souris est sans doute le réservoir primaire qui a permis la transmission du virus à la Civette (*Paguma larvata*) et à l'homme.

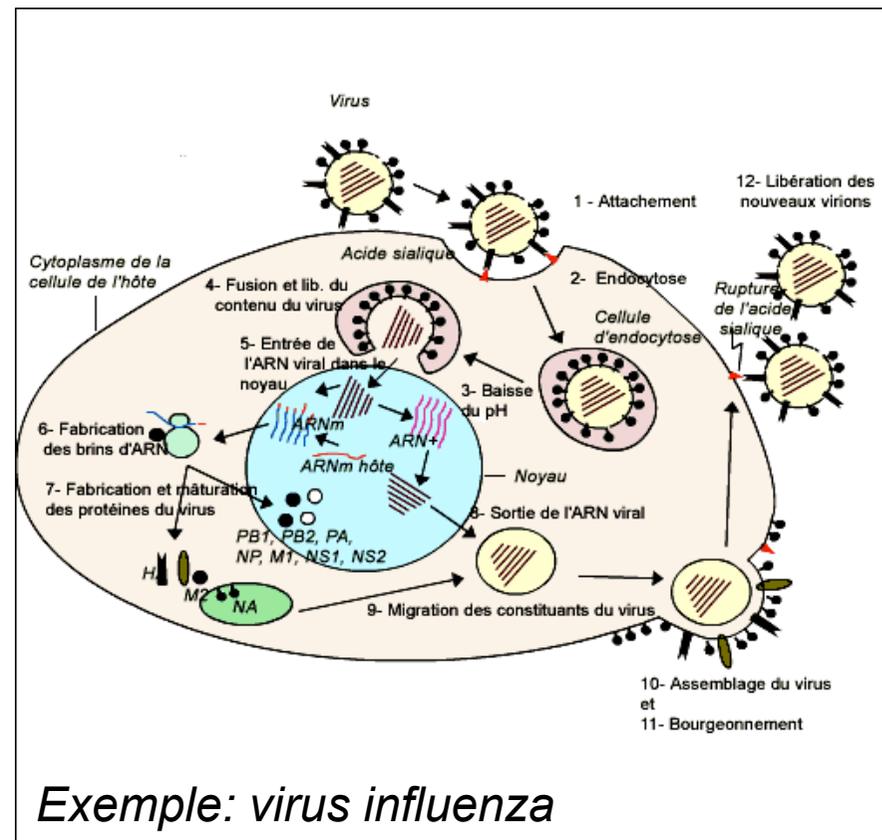
[Vector Borne Zoonotic Dis.](#) 2009 Dec;9(6):723-8. **Human Ebola outbreak resulting from direct exposure to fruit bats in Luebo, Democratic Republic of Congo, 2007.** [Leroy EM](#), [Epelboin A](#), [Mondonge V](#), [Pourrut X](#), [Gonzalez JP](#), [Muyembe-Tamfum JJ](#), [Formenty P](#). Centre International de Recherches Médicales de Franceville (CIRMF), Franceville, Gabon. eric.leroy@ird.fr

Abstract Twelve years after the Kikwit Ebola outbreak in 1995, Ebola virus reemerged in the Occidental Kasaï province of the Democratic Republic of Congo (DRC) between May and November 2007, affecting more than 260 humans and causing 186 deaths. During this latter outbreak we conducted several epidemiological investigations to identify the underlying ecological conditions and animal sources. Qualitative social and environmental data were collected through interviews with villagers and by direct observation. The local populations reported no unusual morbidity or mortality among wild or domestic animals, but they described a massive annual fruit bat migration toward the southeast, up the Lulua River. Migrating bats settled in the outbreak area for several weeks, between April and May, nesting in the numerous fruit trees in Ndongo and Koumelele islands as well as in palm trees of a largely abandoned plantation. They were massively hunted by villagers, for whom they represented a major source of protein. By tracing back the initial human-human transmission events, we were able to show that, in May, the putative first human victim bought freshly killed bats from hunters to eat. We were able to reconstruct the likely initial human-human transmission events that preceded the outbreak. This study provides the most likely sequence of events linking a human Ebola outbreak to exposure to fruit bats, a putative virus reservoir. These findings support the suspected role of bats in the natural cycle of Ebola virus and indicate that the massive seasonal fruit bat migrations should be taken into account in operational Ebola risk maps and seasonal alerts in the DRC.

Barrières de l'hôte au transfert de virus:

Facteurs cellulaires essentiels à l'établissement de la spécificité:

- Liaison au récepteur
- Entrée dans la cellule, fusion membranaire
- Trafic intracellulaire
- Replication du génome viral
- Expression des gènes
- Réponses immunitaires innées anti-virales (Interférons)
- Réponses assurant la restriction de certains virus



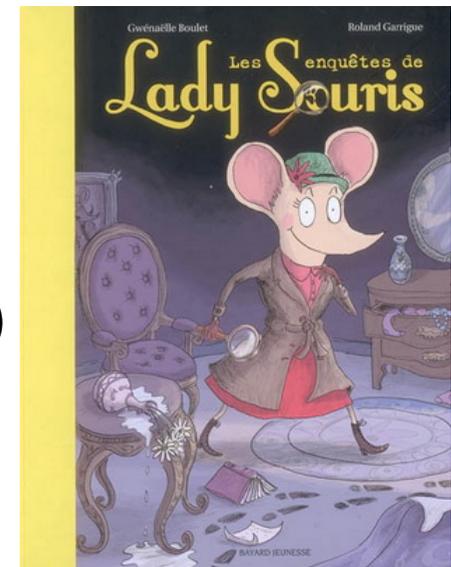
Ces facteurs cellulaires s'intègrent au niveau des tissus, organes et principales barrières de l'organismes. Ils se combinent avec des facteurs solubles, circulants porteurs de spécificités: inhibiteurs sériques (glycanes, lectines..)

Approche analytique de la barrière d'espèce par modélisation moléculaire et cellulaire de l'interface pathogène (virus) *in vitro* et *in vivo*. « Humanisation de la souris »

PEUT-ON CONCRETEMENT DEFINIR LA NOTION DE BARRIERE D'ESPECE A LA DIFFUSION DES PATHOGENES ?

Barrière d'espèce: plusieurs barrières en une

- 1 - Barrière physico-chimique (ex. température)
- 2 - Barrière « moléculaire »
- 3 - Barrière immunologique (innée et adaptative)



« Cahier des charges » pour la complétion d'un cycle infectieux

Adhésion à une surface (muqueuse)



Colonisation de la surface



Invasion tissulaire ← Inoculation



Résistance aux défenses innées



Réplication



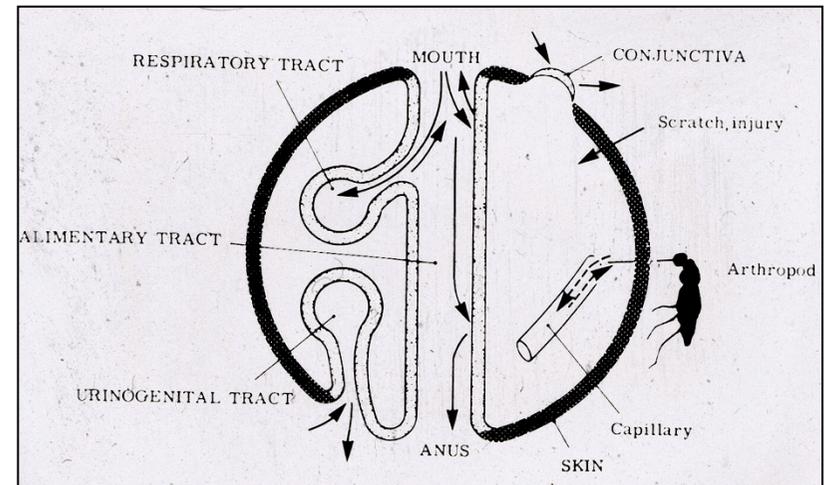
Diffusion systémique (passages barrières, ex.: BHE)



Invasion des organes cibles + Potentiel proinflammatoire

+

Dissémination d'individu à individu (directe ou indirecte)



1

2

L'approche expérimentale optimale de la définition de la barrière d'espèce est la transgénése murine visant à « l'humanisation », c'est à dire à rendre la souris sensible à un pathogène spécifique de l'homme (Lecuit M & Cossart P. 2002. Trends Mol.Med. 8:537-541).

Elle est biaisée vers les récepteurs primaires à l'agent infectieux, elle ne pose la question que dans le contexte homme-souris. Exercice théorique qui permet surtout de fournir un modèle expérimental murin pertinent pour étudier les mécanismes d'une infection dont l'agent étiologique est spécifique de l'homme.

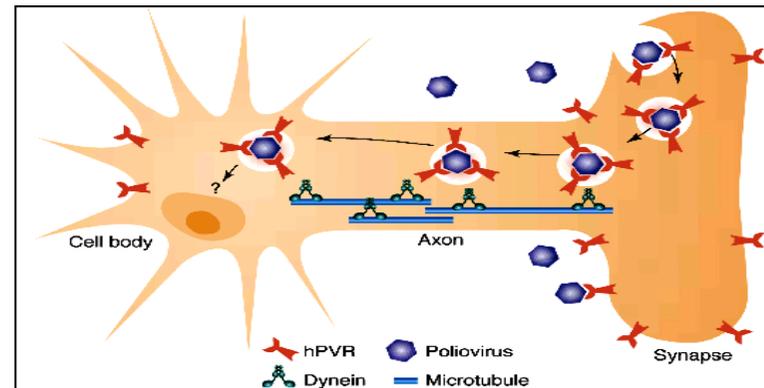
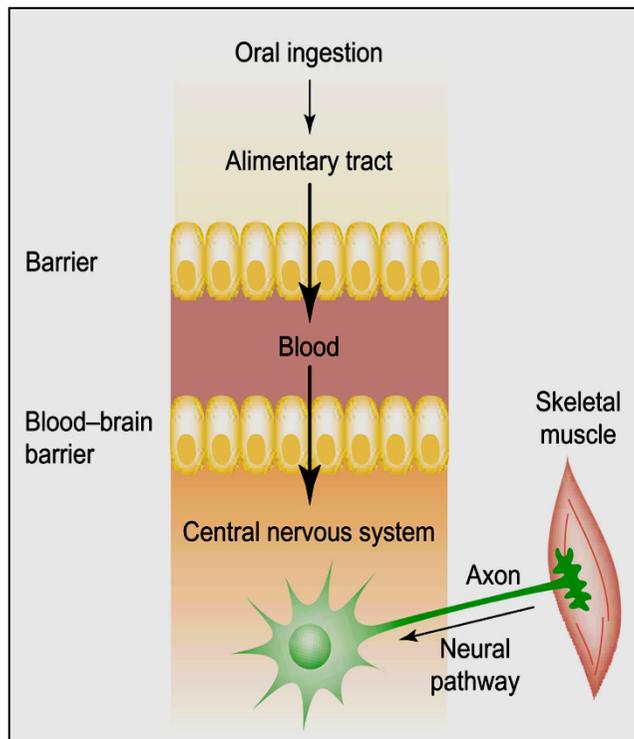
Espèce microbienne	Maladie humaine	Récepteurs spécif. d'espèce
Entérovirus		
Poliovirus	Poliomyélite	CD155
Echovirus 1	Myocardite	VLA2
Coxsackievirus A21	Inf. respiratoires	ICAM1
Coronavirus SRAS	Inf. respiratoires	ACE2 "Angiotensin Conv. Enz.2"
Morbillivirus	Rougeole	CD46, SLAM
HCV	Hépatite C	CD81
VIH	SIDA	CD4, CCR5, cycline T1 Trim5a, APOBEC
<i>Listeria monocytogenes</i>	Listériose	E-cadhérine
<i>Neisseria meningitidis</i>	Méningite	CD46, CD66
<i>Corynebacterium diphtheriae</i>	Diphthérie	proHB-EGF
<i>Helicobacter pylori</i>	Ulcère gastrique	Lewis ^b
<i>Streptococcus pyogenes</i>	Impetigo, scarlatine, ...	Plasminogène

Modèle transgénique de poliomyélite (hPVR/CD155 = membre de la famille des Ig-like Récepteurs) Ren et coll., Cell, 1990

La sensibilité est apparue lors de la spéciation du singe par quelques substitutions d'acides aminés dans le domaine D1 de CD155.



Premier modèle transgénique étudiant la spécificité d'espèce d'un pathogène
En contraste par rapport aux souris parentales, les souris transgéniques développent une poliomyélite suite à une inoculation IC, IV ou IM.

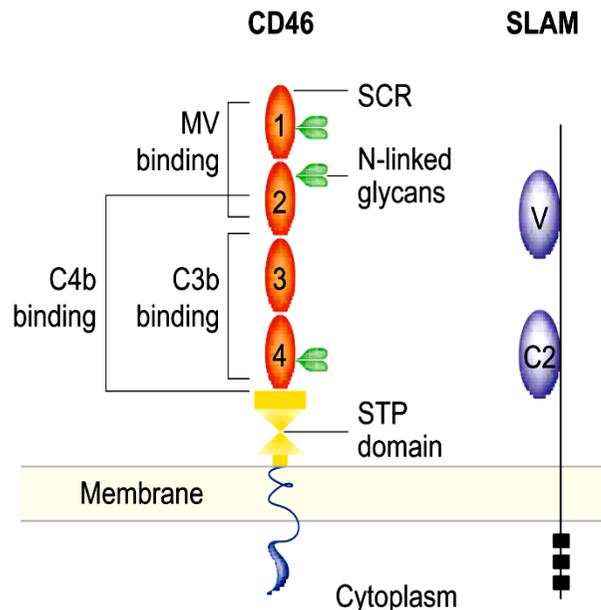


La voie d'administration orale n'est pas permissive !

Il existe au moins un autre système assurant le passage de la barrière intestinale dont le(s) couple(s) ligand(s)-récepteur(s) reste(nt) à définir.

Modèles transgéniques murins exprimant le récepteur humain du virus de la rougeole (VR)

hCD46 = cofacteur membranaire de régulation du complément



Différentes lignées transgéniques exprimant hCD46 sous le contrôle de systèmes promoteurs variés (ubiquitaire, naturel, spécifique du tissu nerveux) ont été établies:

→ **Expression restreinte au SNC: Maladie localisée au SNC.**

→ **Expression similaire à l'homme (YAC): Maladie du SNC + manifestations immunosuppressives systémiques.**

Aucun système ne permet de reconstituer intégralement la maladie humaine.

Oldstone M et coll., Cell, 1999

Problème: CD46 = récepteur alternatif pour les souches de VR passées en laboratoire (y compris la souche vaccinale), du fait de quelques substitutions d'acides aminés dans l'HA.

Véritable récepteur = hSLAM (Signaling Lymphocyte Activating Molecule, CD150) exprimé par thymocytes, lymphocytes activés, mΦ, DC. Plus en accord avec le tropisme viral et la physiopathologie de la maladie.

Welstead GG et coll. 2005. PNAS, 102:16416-16420

La transgénése visant à l'humanisation de la souris pour la rendre sensible à l'ensemble du cycle infectieux d'un pathogène humain illustre le caractère multifactoriel de la barrière d'espèce:

- Récepteurs permettant le passage d'étapes clés (barrière intestinale, vasculaire, hémato-encéphalique, etc...)
- Les facteurs sous-tendant la réplication *in vivo* sont mal maîtrisés.
- Les facteurs de la transmission inter-individus sont peu connus et mal modélisés/..ables.

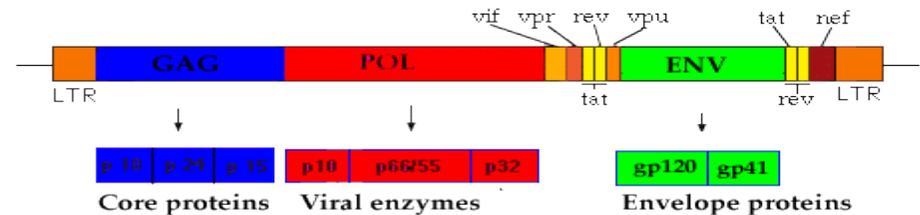
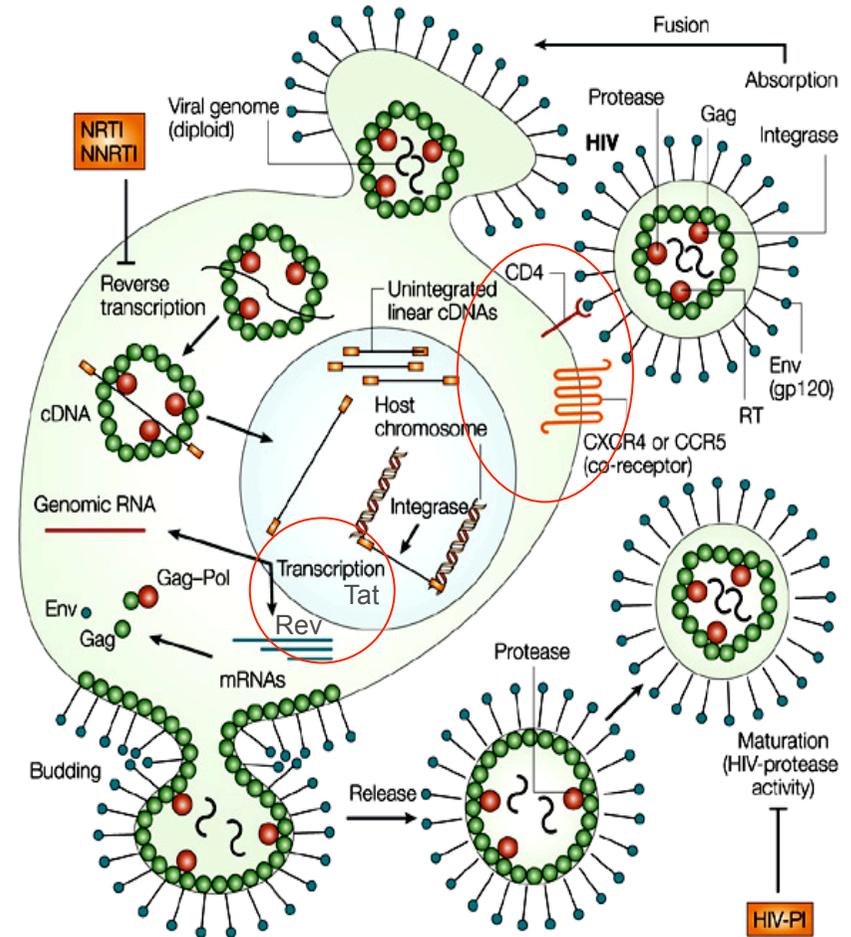
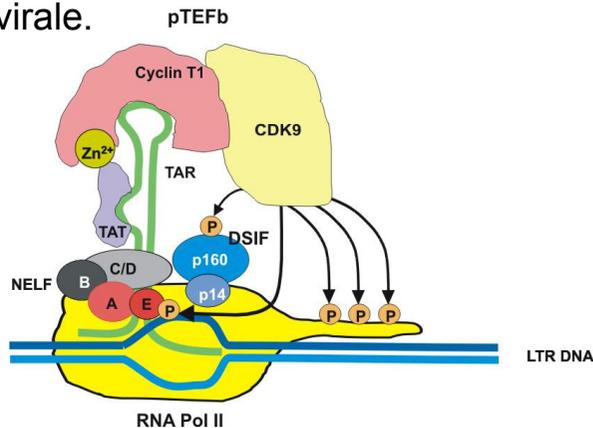
Exemple: tentative d'humanisation de la souris pour la rendre sensible au VIH...



1 - Interaction entre **Env** et les récepteurs primaires **CD4** et **CXCR4** ou **CCR5**.

2 - Interaction entre les protéines virales régulatrices **Tat** et **Rev** au niveau de la régulation transcriptionnelle et post-transcriptionnelle de l'expression des gènes du VIH.

Tat agit sur la transcription des gènes rétroviraux en recrutant des cofacteurs essentiels sur le promoteur rétroviral dont le complexe **Cdk9/cyclin T1**. *In vitro*, importance +++ de l'association **Tat-hCycline T1** dans la réplication virale.



Rev agit sur l'export nucléaire des ARNm. Partenaires ?
Machinerie d'import/export nucléaire...

VIH

Limitation de l'approche de souris humanisées dans la définition moléculaire et cellulaire de la barrière d'espèce.

- Souris TG exprimant hCD4 et hCCR5: permissives à VIH1 mais incapables d'assurer sa réplication.
- Souris TG exprimant hCD4, hCCR5 et hCycline T1: idem malgré démonstration *in vitro* de l'importance de l'association Tat-Cycline T1 dans la réplication virale.

Browning et coll., 1997, PNAS

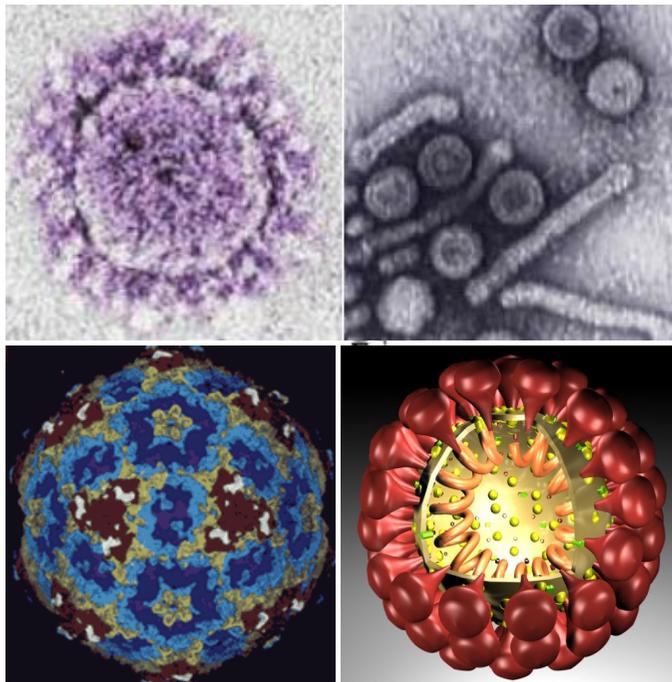
- D'autres facteurs s'associent à Tat pour optimiser la transcription de VIH1: Cdk2/cyclin E; acetyltransférases p300/CBP, p300/CBP-associated factor et hGCN5; protéine-phosphatases et autres facteurs.
- Rev régule l'export des RNA retroviraux non ou partiellement épissés du noyau vers le cytoplasme. Pour cette activité, Rev coopère avec les protéines de transport cellulaire CRM1 et les RNA-hélicases DDX1 et DDX3 (parmi d'autres...).
- Facteurs de restriction intracellulaire (APOBEC, TRIM5 α).

Matériellement impossible d'humaniser une souris pour l'ensemble de ces facteurs et sans doute d'autres. On utilise actuellement des souris SCID ou Rag2/gammaC dépourvues de système immunitaire, repeuplées par des cellules hématopoïétiques humaines (ou cellules souches).

Koyanagi et coll. 2008. Curr.Top.Microbiol.Immunol.

Approche analytique de la barrière d'espèce par analyse moléculaire et cellulaire de l'interface pathogène (virus) - hôte au cours d'un événement d'émergence.

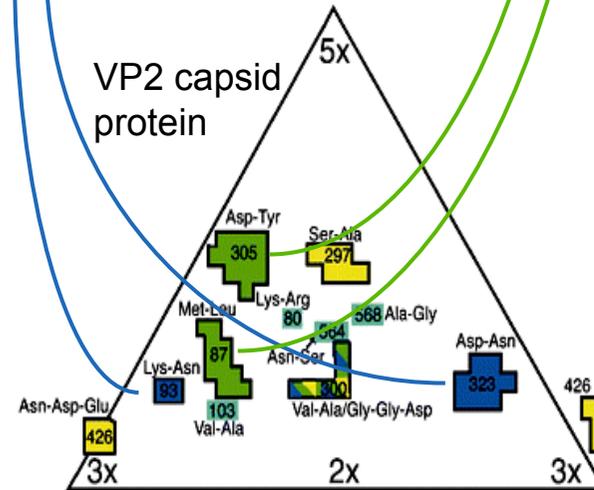




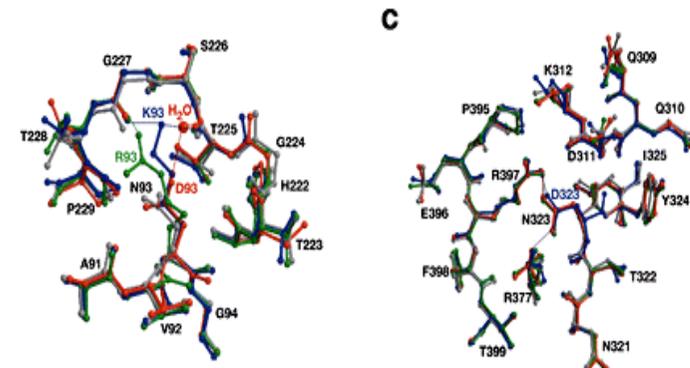
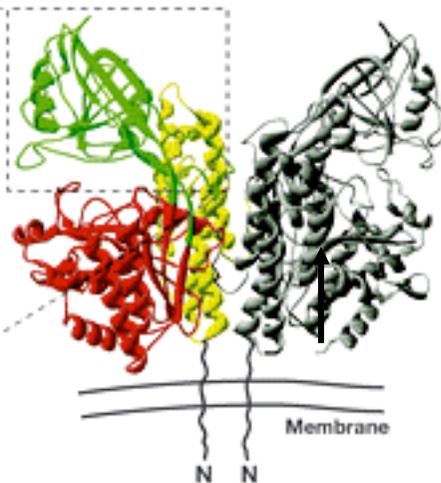
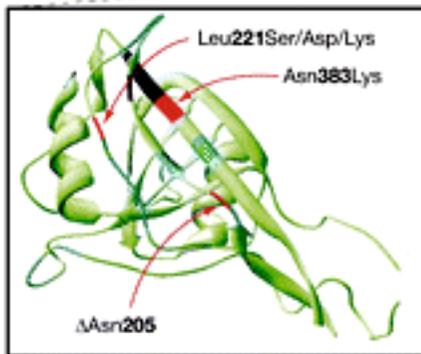
Modifications génétiques supplémentaires ont « fixé » CPV2 chez le chien



Changement de deux acides aminés de la protéine de capsid permet une liaison de haute affinité au récepteur intestinal de la transferrine du chien



Récepteur de la transferrine



Parrish CR, Kawaoka Y. 2005. Annu. Rev. Microbiol. 59:553-86

Parrish CR, Kawaoka Y. 2005. Annu. Rev. Microbiol. 59:553-86

L'identification et la caractérisation du virus du SRAS a été réalisée grâce un effort multidisciplinaire sans précédent coordonné par l'OMS.

La PCR et le séquençage ont fait dans ces circonstances la preuve de leur efficacité.

Après quelques fausses pistes (paramyxovirus), un coronavirus jusqu'alors inconnu a été identifié (Peiris JS et coll. 2003. Lancet, 361:1319-1325). En quelques semaines, la séquence du génome de ce virus (SARS-CoV) était publiée (Marra MA et coll. 2003. Science, 300:1399-1404; Rota, PA et coll. 2003. Science, 300:1394-1399)

Sur la base d'analyse phylogéniques, SARS-CoV a été montré ne pas faire partie des trois groupes de coronavirus classiquement reconnus ni de correspondre à un événement de recombinaison entre des virus connus.

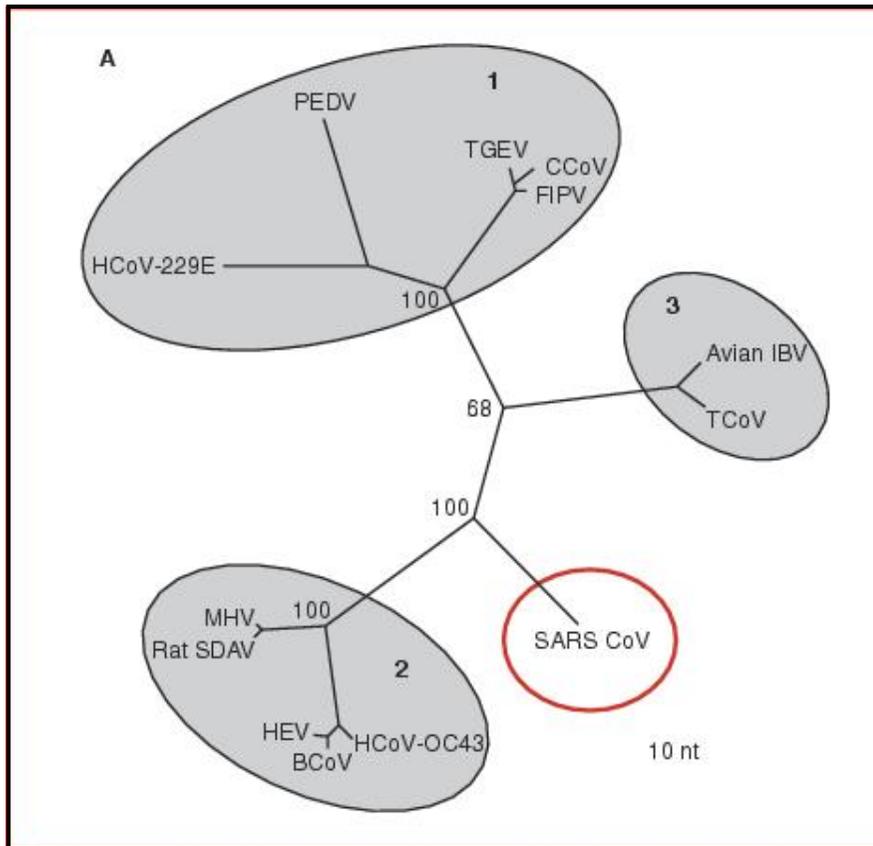
Il fut donc placé dans un nouveau groupe (groupe 4, Marra MA et coll., 2003)

La capacité du virus de causer chez la macaque des symptômes et lésions similaires à celles causées chez l'homme et l'identification du SARS-CoV dans une grande majorité des patients examinés en détail a fourni la preuve finale que SARS-CoV était l'agent causal du SRAS (Fouchier RA et coll.2003. Nature, 423:240; Kuiken T et al. 2003. Lancet, 362:263-270)

Postulats de Koch remplis !

Conditions de survenue ?

Accroissement de la consommation de viande d'animaux « exotiques » élevés ou capturés dans leur environnement naturel ?



J8

m6

m6

Syndrome de détresse respiratoire aiguë à J8, infiltrats bilatéraux diffus. Fibrose des 2 bases à 6 mois. SARS-CoV peut se transmettre d'homme à homme, mais inefficacement (intra-familial, personnels hospitaliers. Séro-prévalence faible autour des cas index.

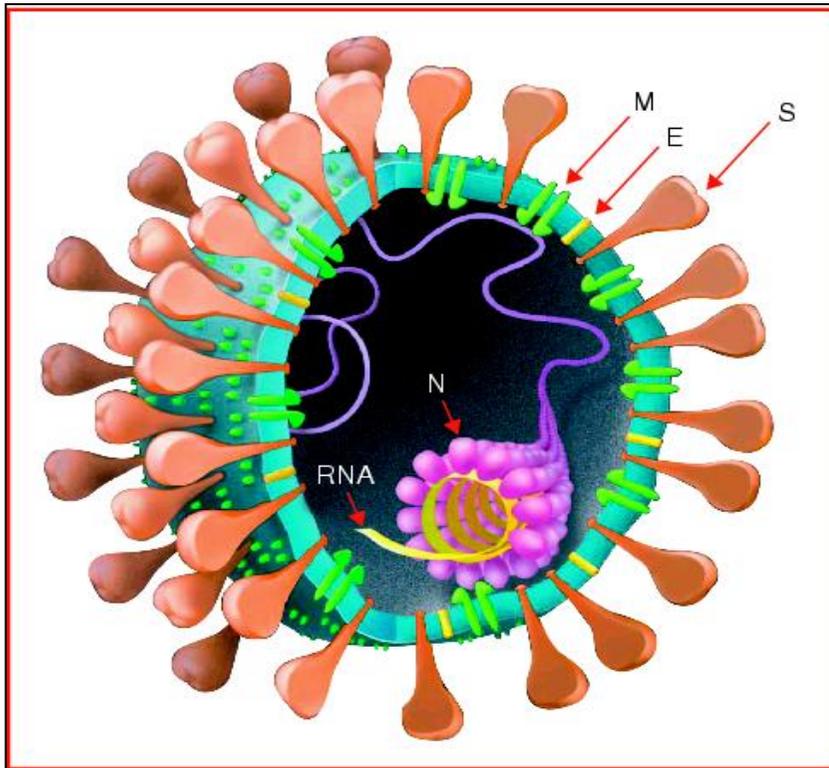
Groupe 1: Coronavirus humain 229E (hCoV-229E), Virus de la diarrhée épidémique du porc, Virus de la péritonite infectieuse féline (FIPV).

Groupe 2: coronavirus bovin, virus de l'hépatite murine, Coronavirus humain OC43 (hCoV-OC43).

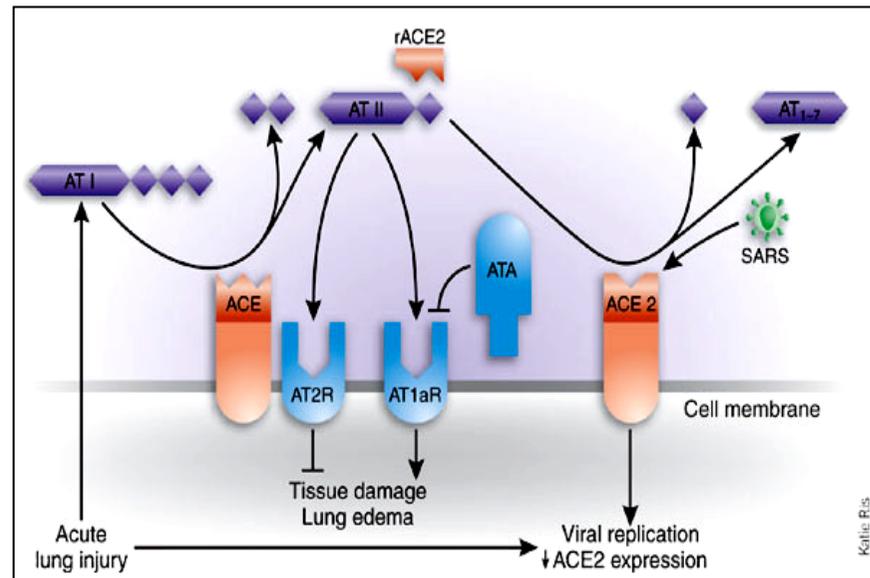
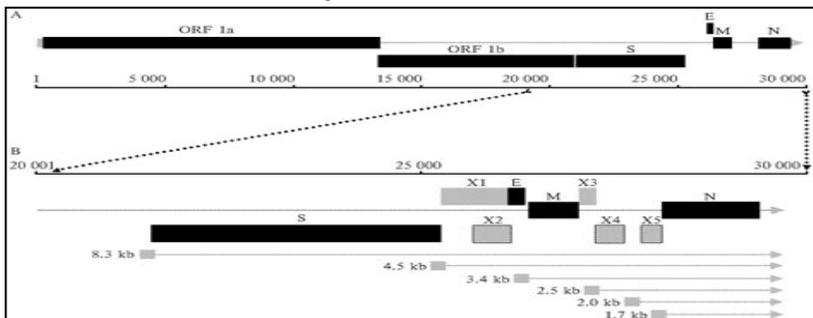
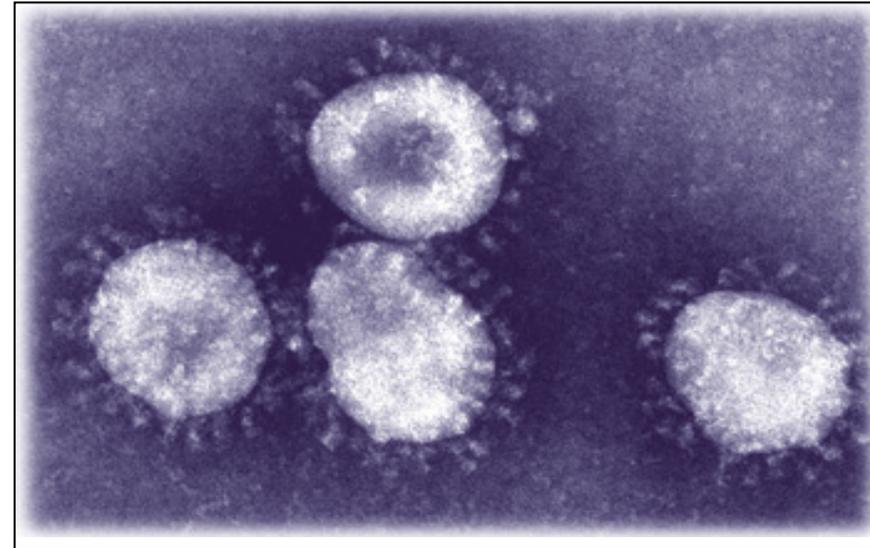
Groupe 3: Virus de la bronchite infectieuse aviaire.

Le SARS CoV n'appartient à aucun de ces groupes antigéniques, bien que proche du Groupe 2

SARS CoV



Suzuki H & Taguchi F. 1996. J.Virol., 70:2632
 Représentation d'un Coronavirus. La protéine S forme de larges spicules à la surface de la capside



Li W. et coll. 2003. Nature, 426:450.

Généalogie du SARS-CoV:

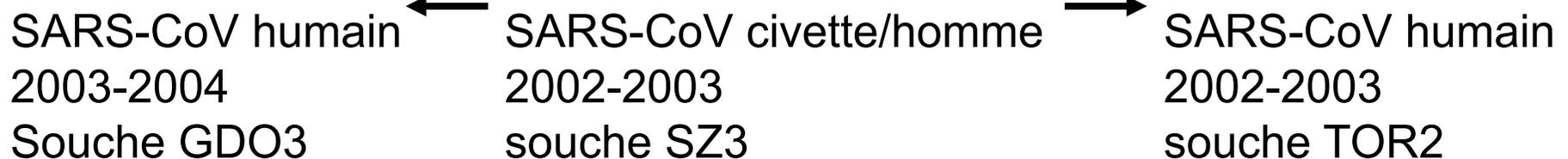
Le SARS CoV est issu d'une population de coronavirus circulant de façon enzootique chez la chauve-souris (Shi et coll. 2005. Science, 310:676-9).

Les virus issus de la chauve souris (et les virus du Groupe 2 qui en sont proches) qui sont susceptibles d'infecter la civette (Himalaya Palm Civette, *Paguma larvata*), ou l'homme, interagissent différemment avec l'ACE2 félin et l'ACE-2 humain.

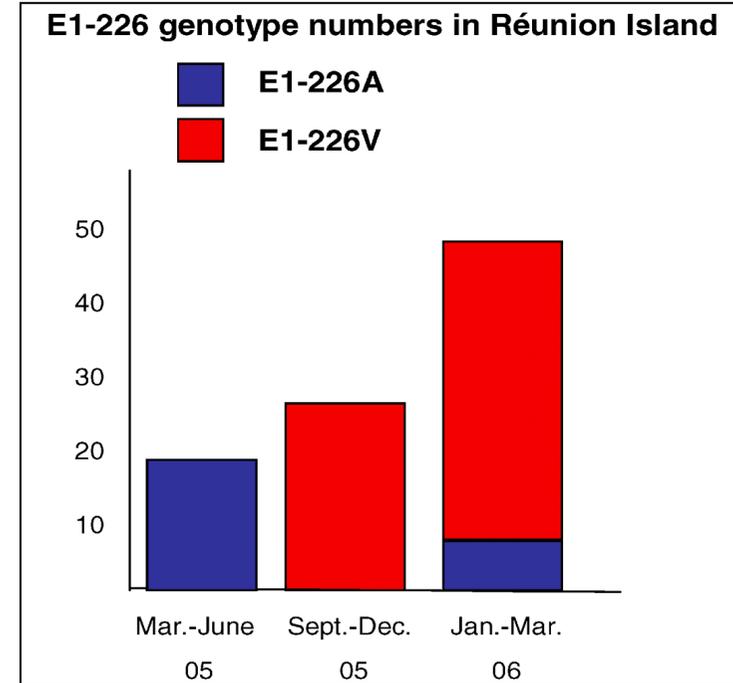
(séroprévalence de 70% chez les marchands de civettes = efficacité de passage d'espèce !!!, mais transmission homme-homme TRES faible)

Le motif de liaison de la protéine S à ACE-2 correspond à une courte région manquante dans les virus du Groupe 2 et les virus apparentés retrouvés chez la chauve souris.

Ce fragment a probablement été acquis par recombinaison à partir d'un CoV du Groupe 1 puis soumis à mutation ayant permis l'adaptation différentielle aux félidés et à l'homme, puis ayant généré les isolats ultérieurs (Li W, et coll. 2006. J. Virol., 80:4211-4219).

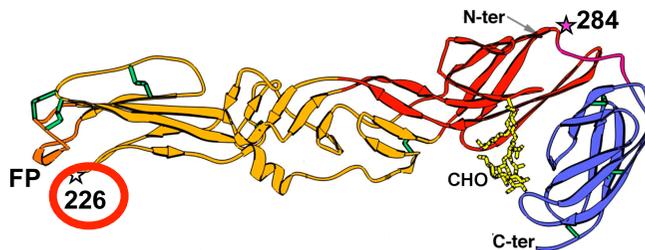


Un nouveau variant du virus Chikungunya (Famille des togaviridae, genre alphavirus) a émergé à la Réunion en 2005-2006



Schuffenecker *et al.* PLoS Med (2006)

E1-A226V

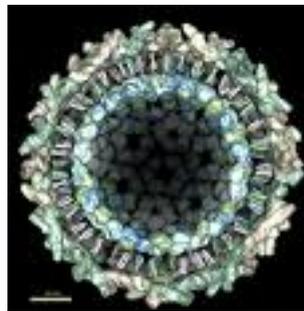
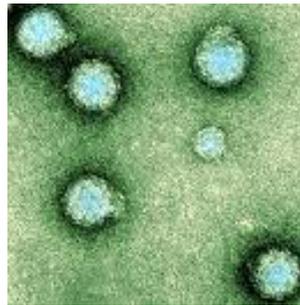


Même mutation que chez un autre alphavirus: Semliki Forest Virus (SMV) qui augmente son pouvoir encéphalitogène

Passage de la barrière d'espèce chez les arthropodes vecteurs, un mécanisme nouvellement reconnu d'émergence virale par amélioration du « fit » du virus avec un vecteur plus agressif vis à vis de l'homme: exemple du virus Chikungunya

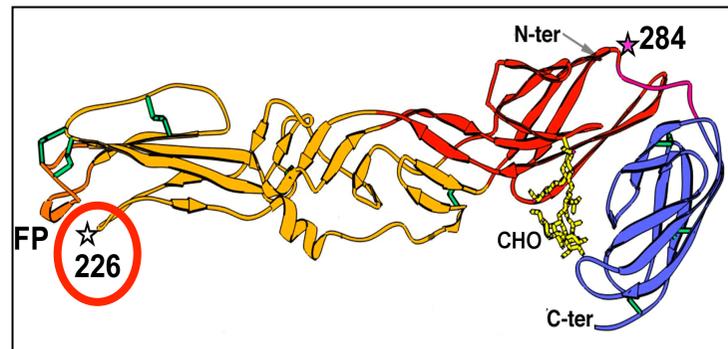


Aedes aegypti

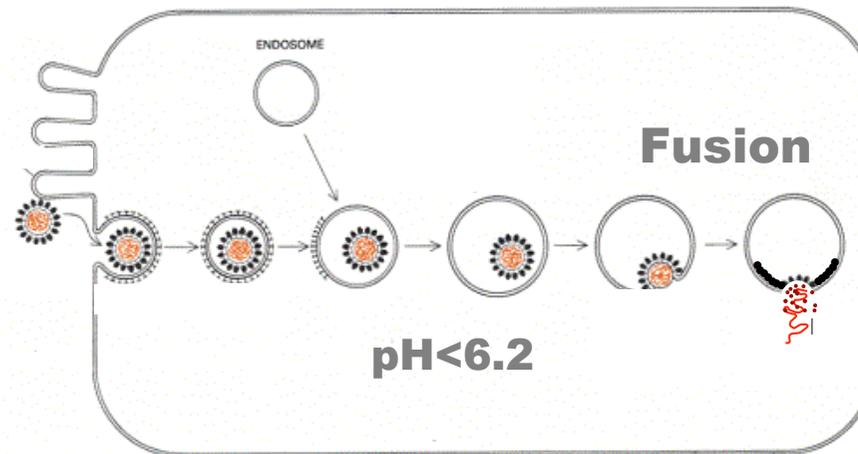
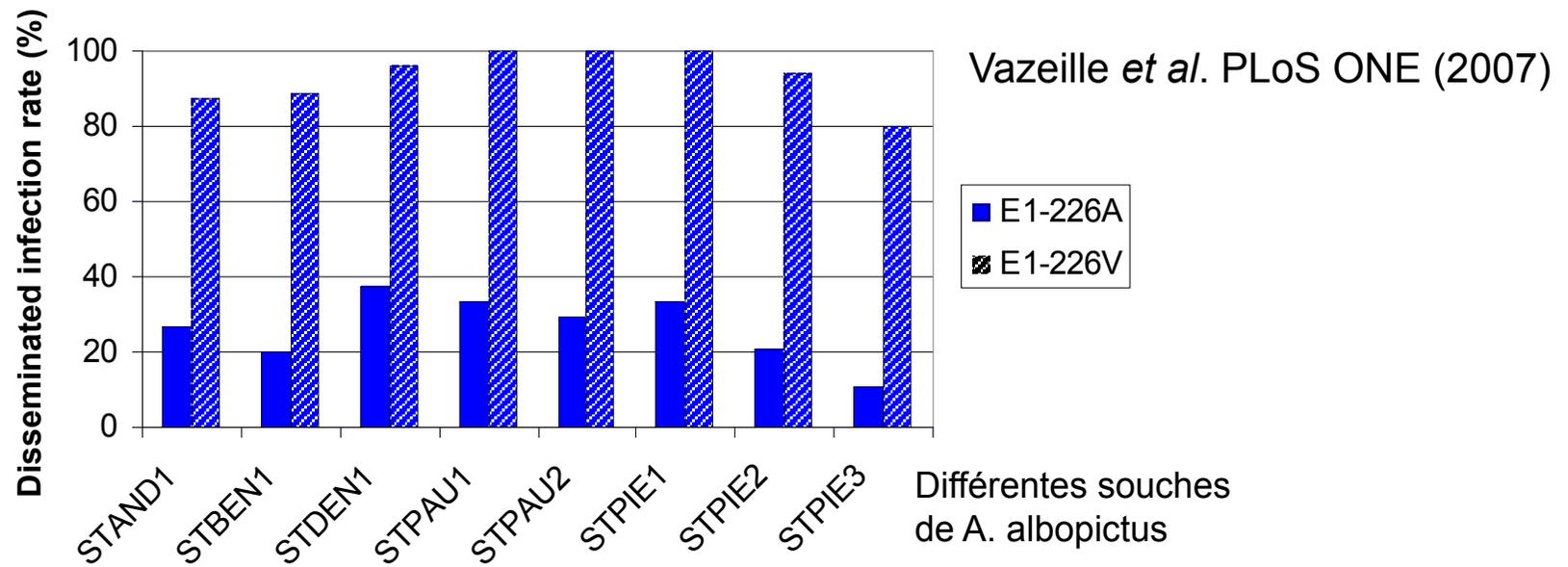


Aedes albopictus

E1-226V



Plus forte replication de CHIKV E1-226V chez *Aedes albopictus*



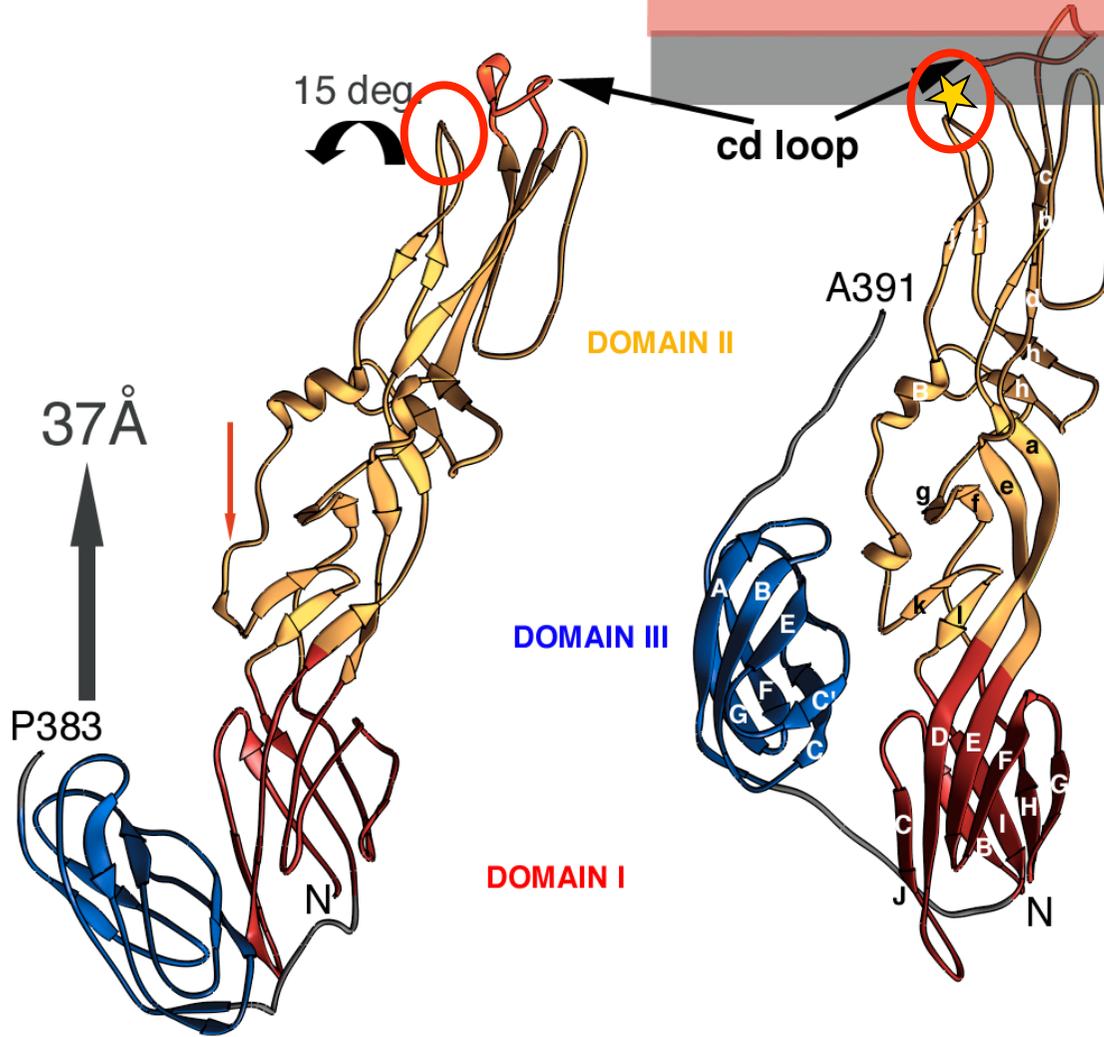
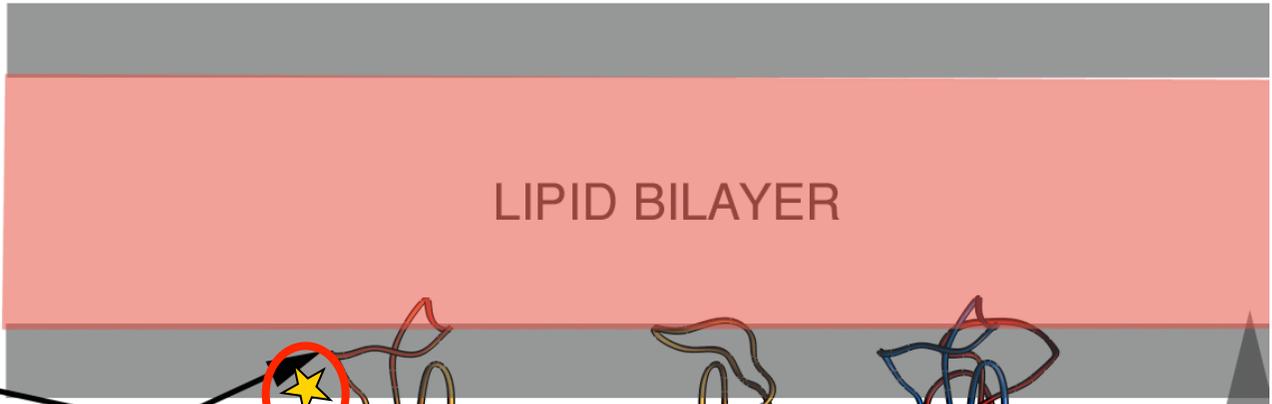
A Single Mutation in Chikungunya Virus Affects Vector Specificity and Epidemic Potential

Konstantin A. Tsetsarkin, Dana L. Vanlandingham, Charles E. McGee, Stephen Higgs*

Department of Pathology, University of Texas Medical Branch, Galveston, Texas, United States of America

Chikungunya virus (CHIKV) is an emerging arbovirus associated with several recent large-scale epidemics. The 2005–2006 epidemic on Reunion island that resulted in approximately 266,000 human cases was associated with a strain of CHIKV with a mutation in the envelope protein gene (E1-A226V). To test the hypothesis that this mutation in the epidemic CHIKV (strain LR2006 OPY1) might influence fitness for different vector species, viral infectivity, dissemination, and transmission of CHIKV were compared in *Aedes albopictus*, the species implicated in the epidemic, and the recognized vector *Ae. aegypti*. Using viral infectious clones of the Reunion strain and a West African strain of CHIKV, into which either the E1–226 A or V mutation was engineered, we demonstrated that the E1-A226V mutation was directly responsible for a significant increase in CHIKV infectivity for *Ae. albopictus*, and led to more efficient viral dissemination into mosquito secondary organs and transmission to suckling mice. This mutation caused a marginal decrease in CHIKV *Ae. aegypti* midgut infectivity, had no effect on viral dissemination, and was associated with a slight increase in transmission by *Ae. aegypti* to suckling mice in competition experiments. The effect of the E1-A226V mutation on cholesterol dependence of CHIKV was also analyzed, revealing an association between cholesterol dependence and increased fitness of CHIKV in *Ae. albopictus*. Our observation that a single amino acid substitution can influence vector specificity provides a plausible explanation of how this mutant virus caused an epidemic in a region lacking the typical vector. This has important implications with respect to how viruses may establish a transmission cycle when introduced into a new area. Due to the widespread distribution of *Ae. albopictus*, this mutation increases the potential for CHIKV to permanently extend its range into Europe and the Americas.

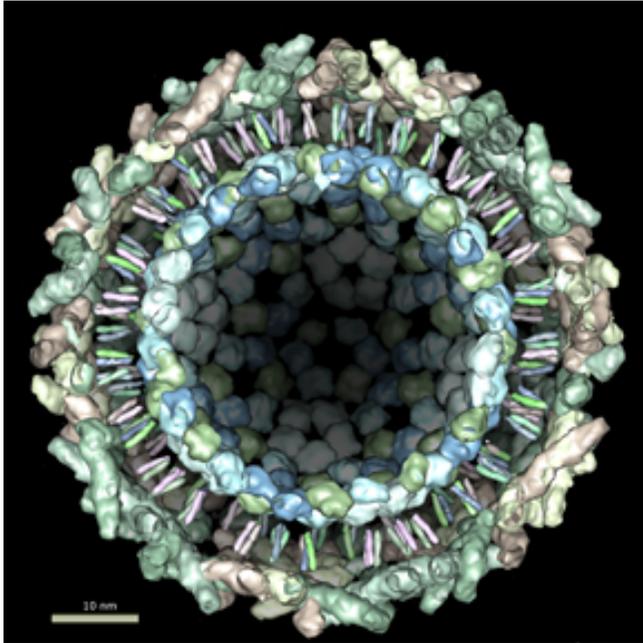
ALPHAVIRUS E1 ECTODOMAINE



Trimer subunit



Whole E1 trimer



L'adaptation du virus Chikungunya à l'infection d'*A. albopictus* semble liée à une meilleure insertion de la boucle de fusion de E1 dans la membrane endosomale de cette espèce de moustique vecteur.

Ce meilleur « fit » en condition acide est lié à deux paramètres:

1 – L'équilibre particulier cholestérol/sphingolipides des membranes endosomales d'*A. albopictus* par rapport à *A. aegypti*.

2 – A la mutation A226V qui jouxte la boucle de fusion et augmente son affinité à l'équilibre lipidique propre à *A. albopictus*.

La mutation E221 sur la protéine E2 semble plus liée à un phénomène de plus grande affinité à un récepteur cellulaire encore inconnu.

Professeur Antoine Flahault
Directeur de l'Ecole des Hautes Etudes en Santé Publique

« L'émergence des gripes »