

Leçon #5 :

Grippe, l'éternel retour

Séminaire #5 :

Les vaccins de demain, réponse aux émergences,
personnalisation : jusqu'où pousser de nouveaux
paradigmes ?

Odile Launay (CIC Vaccinologie Cochin-Pasteur)

Grippe, l'éternel retour

Prof. Philippe Sansonetti

Leçon # 5

Collège de France
25 janvier 2017



COLLÈGE
DE FRANCE
— 1530 —



INSTITUT PASTEUR

Inserm

Institut national
de la santé et de la recherche médicale



“There are known knowns. There are things we know we know. We also know there are known unknowns. That is to say we know there are some things we do not know. But there are also unknown unknowns, the ones we don't know we don't know.”

Donald Rumsfeld

Virus associés aux infections respiratoires

Syndrome	Virus communément associés	Virus plus rarement associés
Coryza	Rhinovirus / Coronavirus	Influenza / Parainfluenza / Enterovirus / Adenovirus
Grippe	Virus Influenza	Virus parainfluenza / Adenovirus
Croup	Virus Parainfluenza	Virus Influenza / VRS / Adenovirus
Bronchiolite	VRS	Virus Influenza et Parainfluenza Adenovirus
Broncho- Pneumonie	Virus Influenza / VRS / Adenovirus	Virus Parainfluenza / Rougeole / VZV / CMV

Moteurs de la variation génétique chez les virus

Les virus sont des parasites intracellulaires dont les gènes permettent la réplication en présence de la machinerie cellulaire

Génome: ARN ou ADN

Certains virus ARN s'intègrent dans le chromosome de la cellule hôte: une transcriptase réverse les transforme pour cela en ADN (rétrovirus)

La plupart des virus pathogènes émergents sont des virus ARN

Moteurs de la variation génétique chez les virus

- Mutations: 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 infectées 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.

Moteurs de la variation génétique chez les virus

Recombinaison entre virus: existe chez les virus ARN et ADN (intra et interspécifique)

Recombinaison avec des gènes de la cellule hôte: survient chez les virus ADN lors de leur intégration dans le génome hôte, ou chez les rétrovirus au stade de réplication du provirus ADN. Si le chromosome de l'hôte a antérieurement intégré des fragments de génome viral, la recombinaison à ce site peut amener à l'intégration de morceaux de génome viral et de l'hôte dans le génome du virus

Réassortiment de segments viraux: les virus ARN à génome segmenté (virus de la grippe) peuvent présenter des réassortiments entre segments de génomes de virus différents provoquant une importante variabilité génétique chez ces virus

Moteurs de la variation génétique chez les 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.

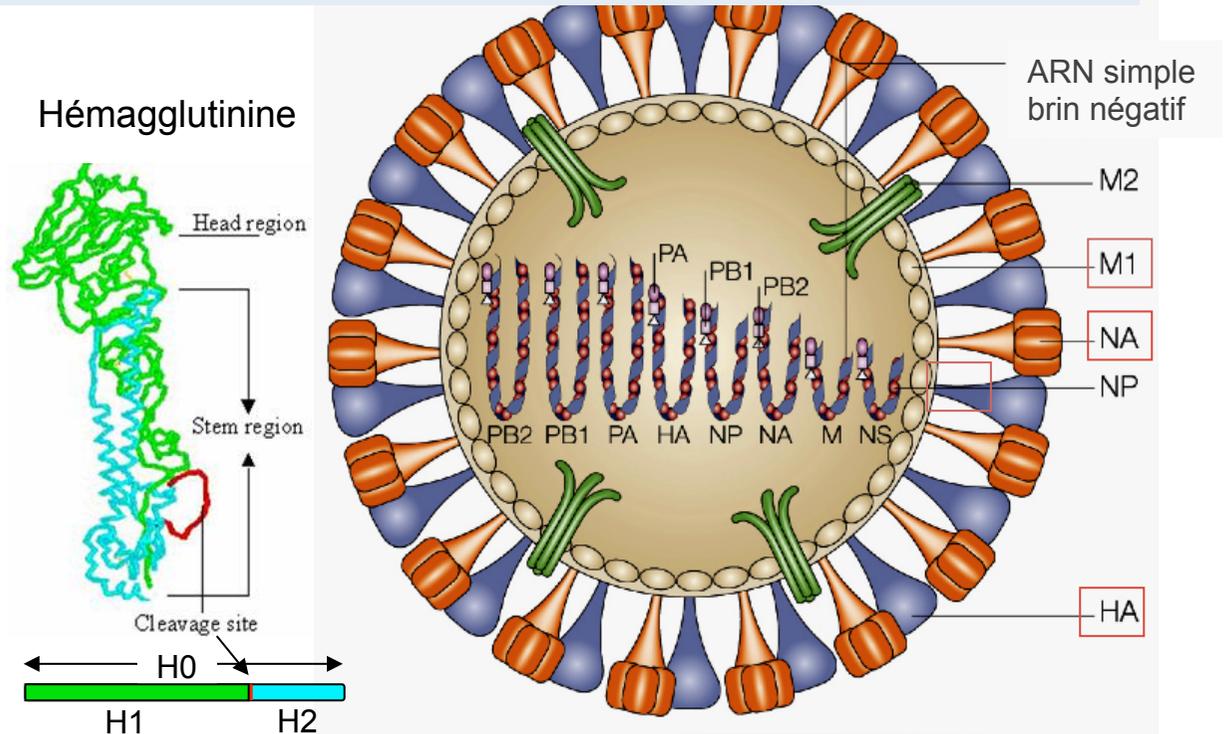
- Certains rétrovirus (virus spumeux simiens) montrent des taux de substitution nucléotidique beaucoup plus faibles (10^{-8} substitution/site/an) que ceux d'autres virus ARN (Switzer WM, et coll. 2005. Nature, 434:376-380).
- Il existe des évidences pour une co-évolution hôte-virus prolongée et stable 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, même si ces derniers sont clairement les plus impliqués

Grippe: virus Influenza (*Myxovirus influenzae*)

Différences antigéniques dans:
Nucléoprotéine (NP)
Protéine de matrice (M1)

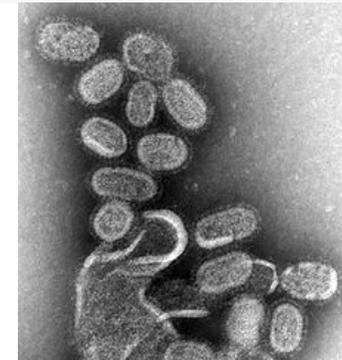
↓
Types **A**, **B**, **C**



8 brins ARN - 8 protéines structurales
2 protéines non-structurales

Type A | HA (hémagglutinine) = 16 sous-types
NA (neuraminidase) = 9 sous-groupes

Toutes combinaisons possibles chez les virus aviaires (oiseaux aquatiques)
Seulement H1,2,3/N1,2 chez l'homme



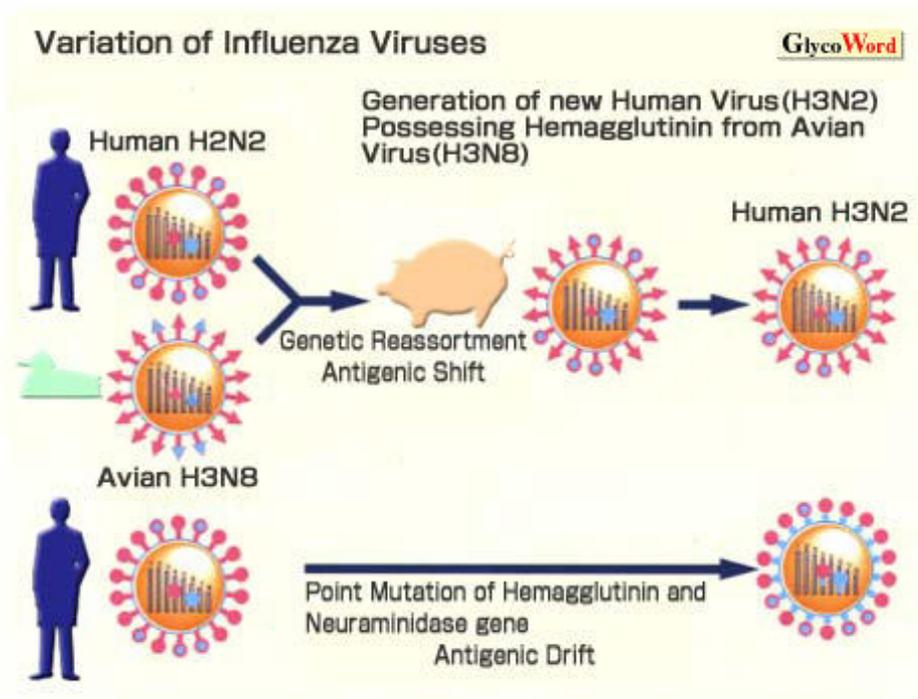
Variabilité du virus grippal A

Glissement antigénique ("drift")

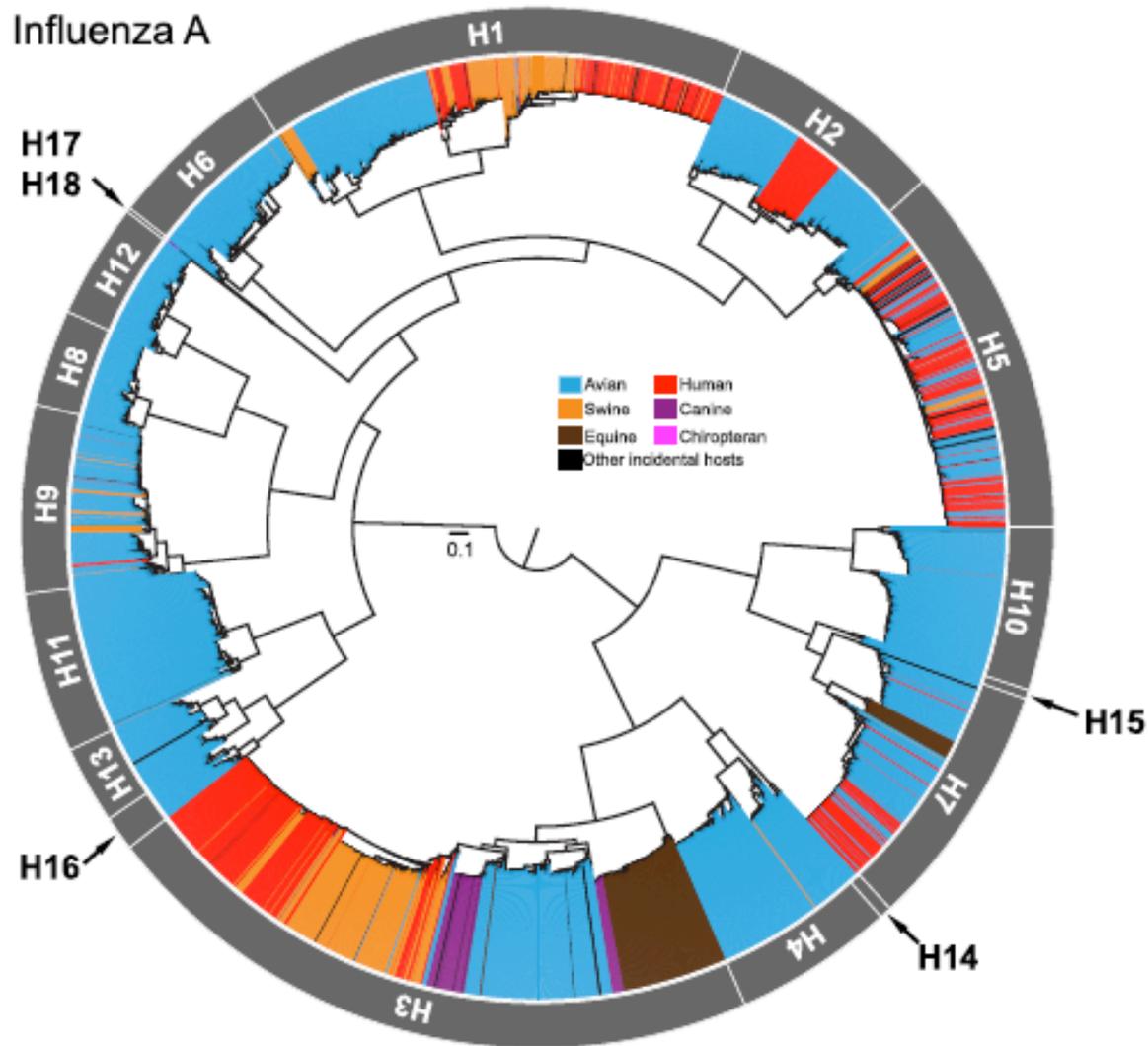
Mutations ponctuelles dans génome viral: Hémagglutinine (H) et/ou Neuraminidase (N)
Altèrent la reconnaissance immunitaire
Pas de nouvelle nomenclature H/N
Responsables des épidémies annuelles

Remplacement antigénique ("shift")

Réassortiment de fragments de génomes viraux
Change la reconnaissance immunitaire
Nouvelle nomenclature H/N
Responsable des grandes pandémies
(population immunologiquement naïve)



Diversité et distribution chez différents hôtes de clones viraux Influenza A



Lai et coll. 2016. Lancet

FIGURE 1 Diversity and host distribution of influenza A viruses (IAVs). Maximum-likelihood (ML) estimation of the haemagglutinin (HA) gene sequences of all subtypes of IAVs downloaded from the NCBI GenBank database. Overall data set randomly subsampled to include 200 isolates per subtype per host for the tree reconstruction. External branches of tree coloured by the major host groups from which the virus has been isolated from: avian (blue), canine (purple), chiropteran (pink), equine (brown), human (red), swine (amber) and other incidental hosts (black). Scale for branch length represents number of nucleotide substitution per site (subs/site) in the HA alignment

Transmission du virus grippal et sa mesure

Transmission:

Le virus est transmis de personne à personne par aérosols (gouttelettes de taille inférieure à 10 microns) qui trouvent accès vers les voies aériennes du fait de leur petite taille. Incubation courte: 18-72 heures.

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

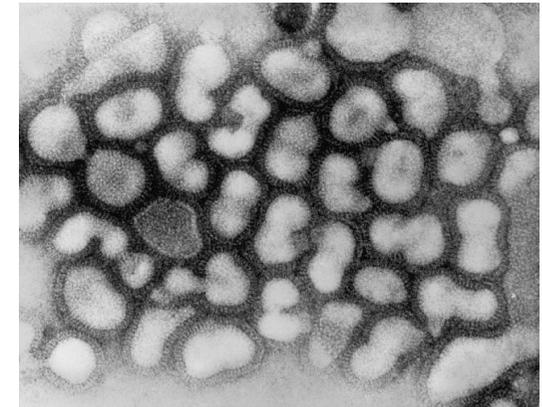
Ordres de grandeur:

- 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

Physiopathologie de la grippe



Carrat et coll. 2008. Am J Epidemiol

Infectiosité:

La concentration de virus dans les sécrétions nasales et trachéales sont très élevées durant 24 à 48 heures après le début des symptômes ($m = 4,8j$). Et peut se prolonger, en particulier chez le jeune enfant. Le contenu viral d'une gouttelette est contaminant. En dépit de ces fortes concentrations virales dans les sécrétions muqueuses, la virémie est un événement rare au cours de la grippe

Sites d'infection:

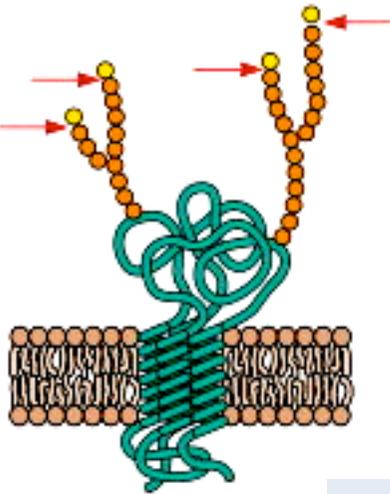
Le virus influenza infecte les cellules épithéliales de l'arbre respiratoire. Les cellules meurent, du fait de l'effet direct de la réplication virale et indirectement du fait de la sécrétion importante d'interféron. A des temps plus tardifs, la mort cellulaire peut aussi être due aux cellules T cytotoxiques. De ce fait, la motilité ciliaire est réduite amenant un dysfonctionnement profond de l'escalator muco-ciliaire. Ceci crée un profond déficit de clairance des microorganismes présents dans le tractus trachéo-bronchique (risque de surinfection bactérienne)

Guérison:

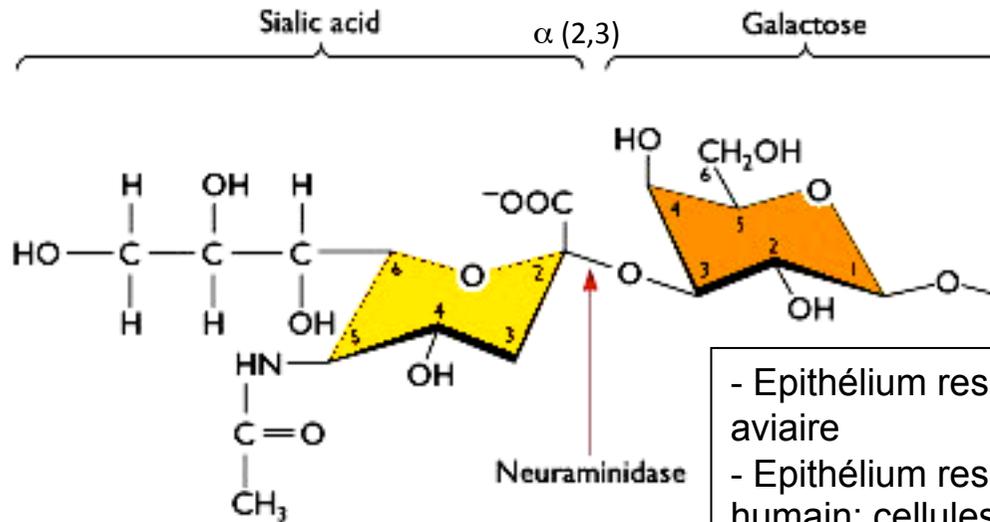
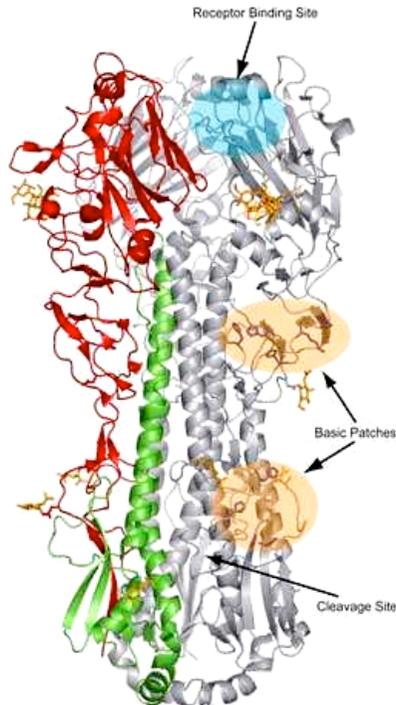
L'interféron joue un rôle dans la diminution de la production virale. Les symptômes non respiratoires de la grippe (fièvre, courbatures, fatigue) sont plus liés aux titres élevés d'Interféron circulant qu'à une virémie. La réponse cellulaire, en particulier T-cytotoxique, est essentielle à la clairance du virus. L'apparition de titres significatifs d'anticorps (protecteurs) est secondaire à cette réponse cellulaire. La restitution épithéliale commence rapidement mais sa réalisation complète peut être longue

Attachement du virus influenza aux cellules de l'épithélium respiratoire

Glycoprotéines
Glycolipides
mb cellulaire

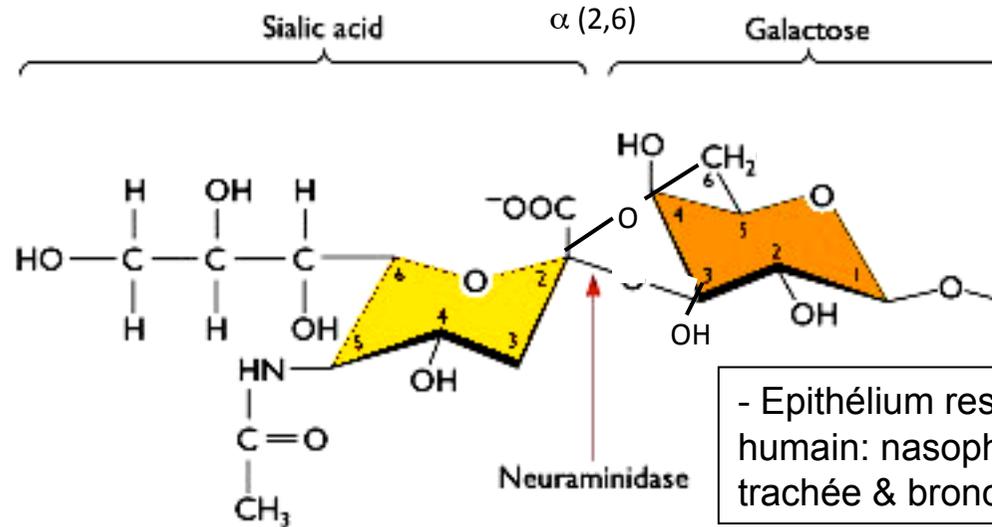


Hémagglutinine (HA)



Acide N-acetyl-neuraminique = acide sialique

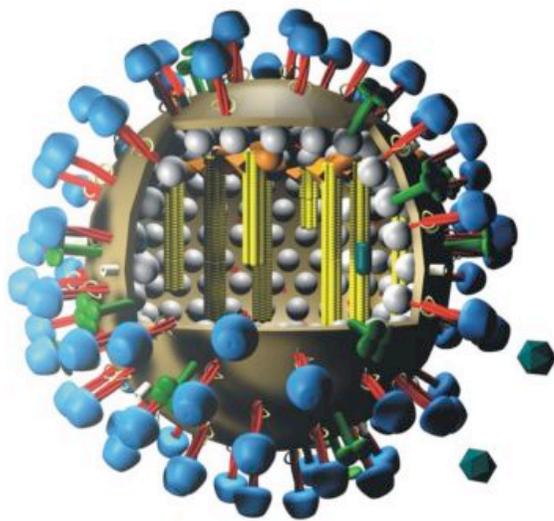
- Epithélium respiratoire aviaire
- Epithélium respiratoire humain: cellules ciliées et alvéolaires



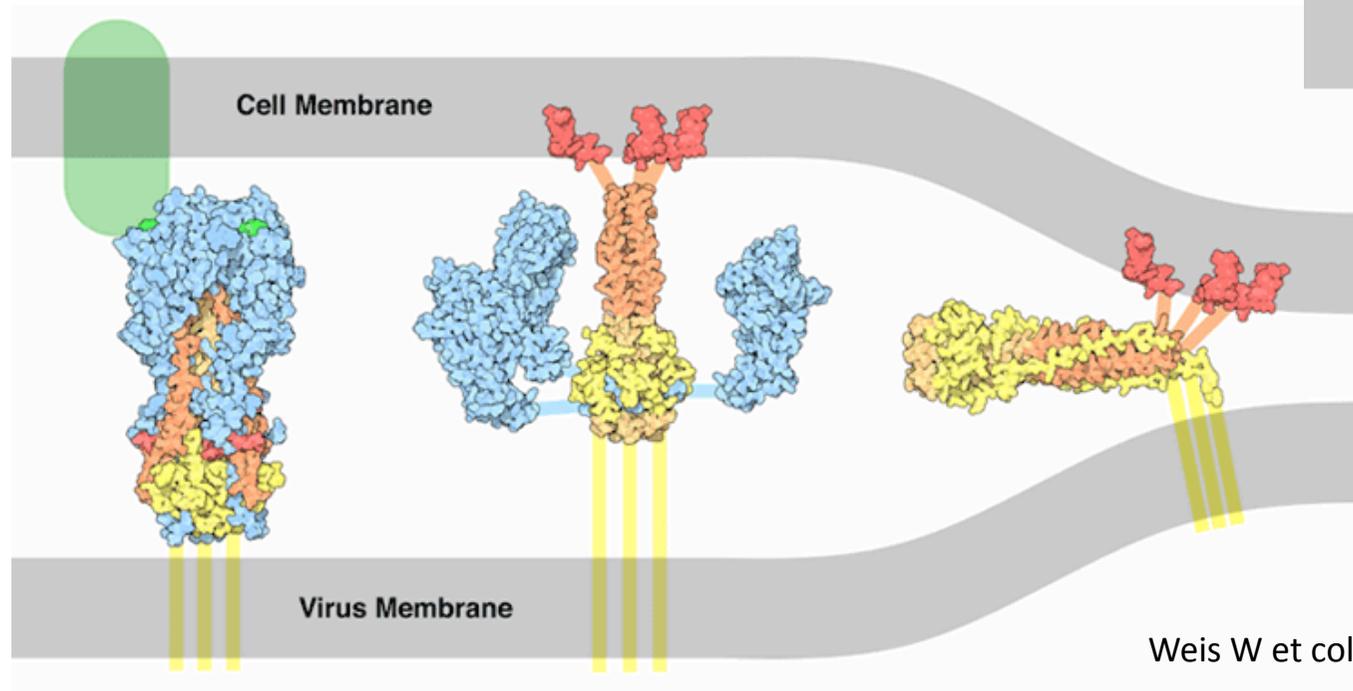
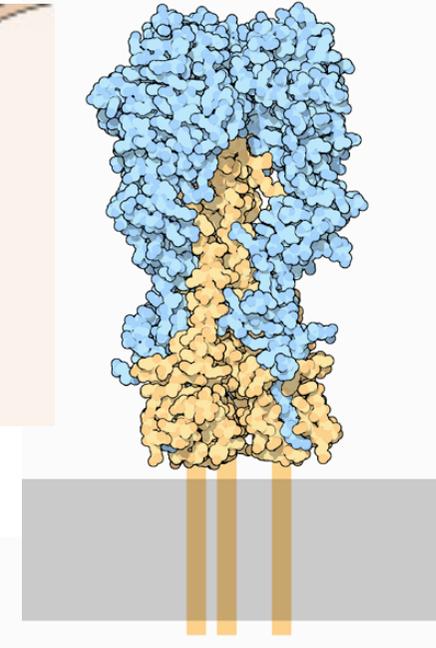
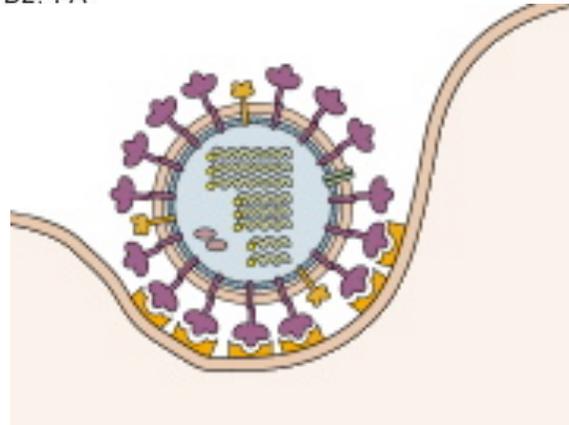
- Epithélium respiratoire humain: nasopharynx, trachée & bronches

Epithélium respiratoire du porc = $\alpha(2,3)$ ET $\alpha(2,6)$

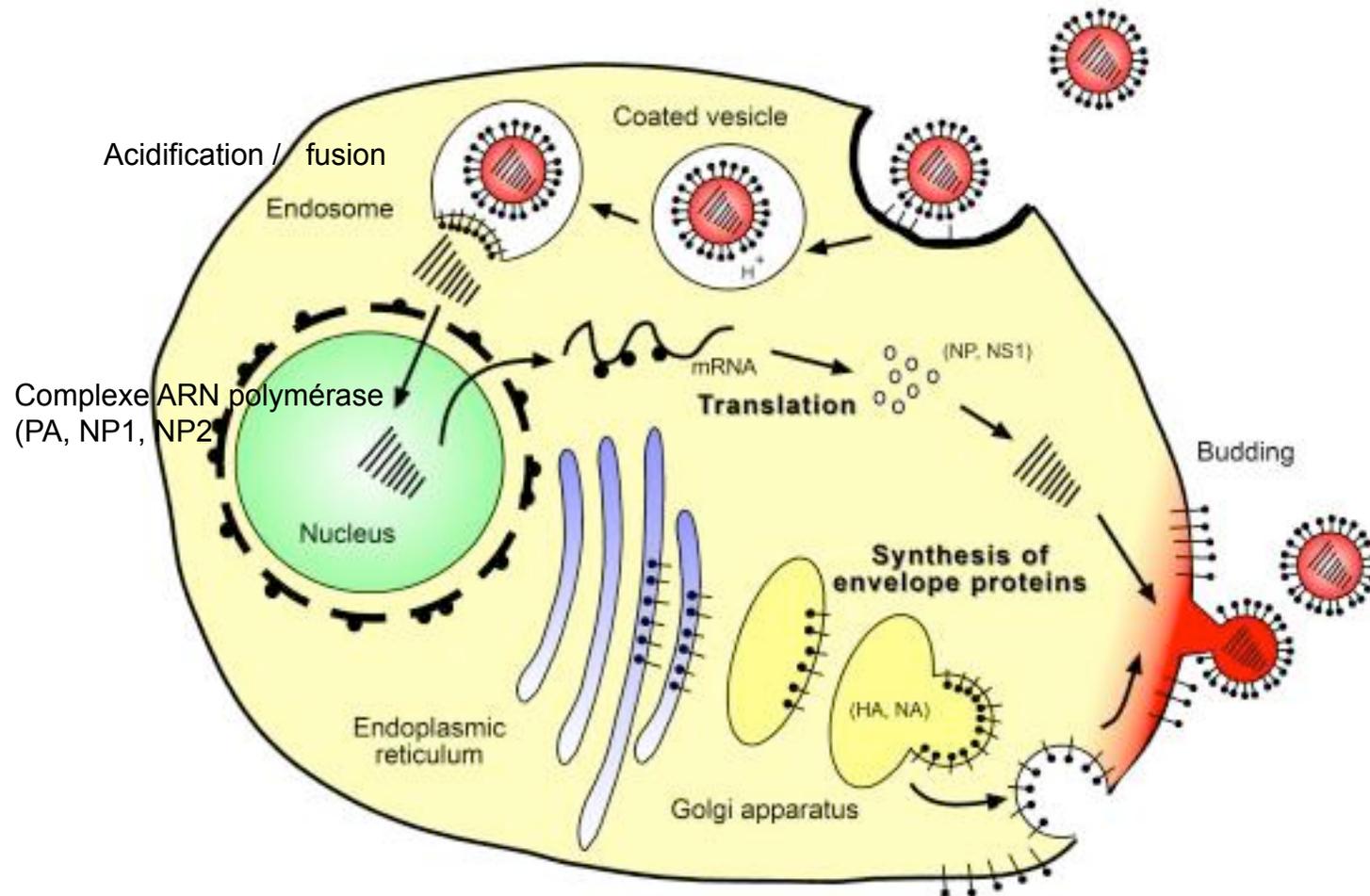
Hémagglutinine du virus influenza, adhérence / fusion



-  PB1, PB2. PA
-  HA
-  NP
-  NA
-  M1
-  M2
-  NS2
-  NS1



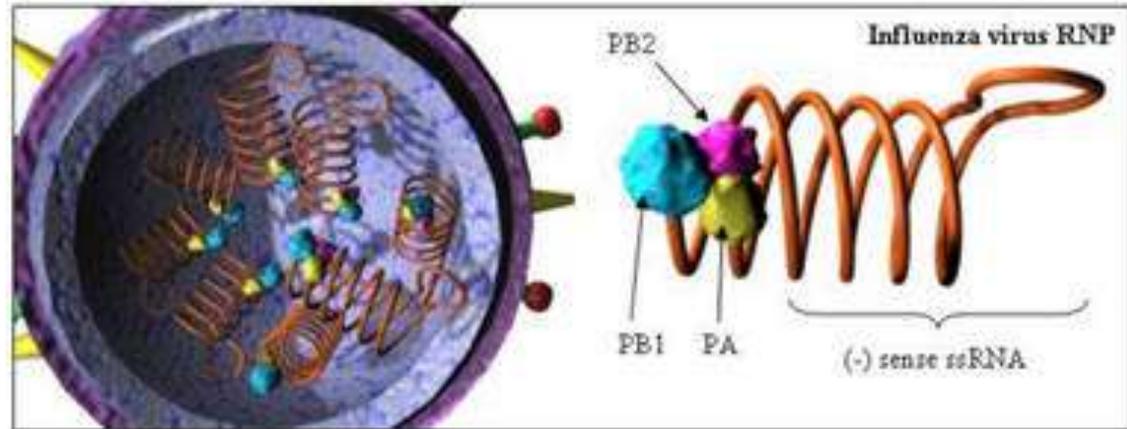
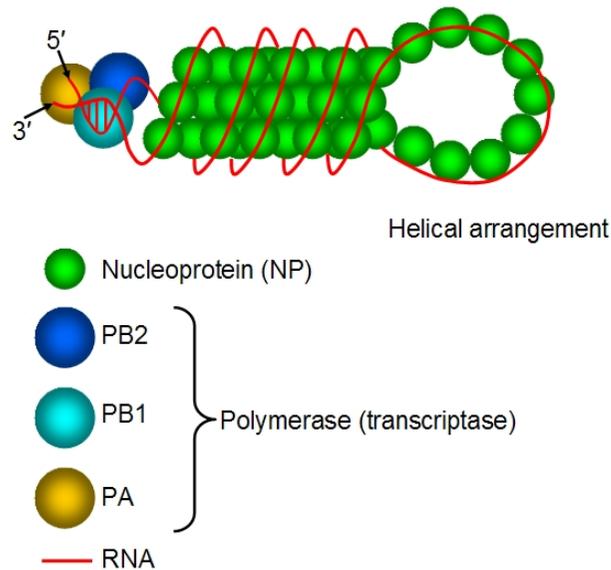
Cycle de réplication du virus influenza



(Modifié d'après Cox & Kawaoka 1997)

Transcription et réplique du génome du virus Influenza

Influenza ribonucleoprotein particle (RNP)



- **Les nucléoprotéines (NP) s'associent à chaque segment d'ARN viral** pour former huit nucléocapsides à symétrie hélicoïdale.
- **Les protéines acide PA, basiques PB1 et PB2 forment un complexe polymérase** qui s'associe avec les nucléocapsides et interviennent dans le contrôle de la transcription et la réplique de l'ARN viral.
- PB1 correspond à l'**ARN polymérase** ARN dépendante. PB2 intervient dans le décodage lors de la formation des protéines. PA joue un rôle dans la formation de nouveaux brins d'ARN de polarité négative, qui sont incorporés dans les nouveaux virions.
- **La protéine NS2 assure le transport des ribonucléoprotéines nouvellement formées du noyau vers le cytoplasme.** La protéine NS1 est produite directement dans la cellule infectée et n'est pas incorporée dans les nouveaux virions ; elle jouerait un rôle dans l'échappement du virus à l'action antivirale de l'interféron.

Epithélium respiratoire /bronchique avant (-) et après (+)
une infection par le virus influenza A

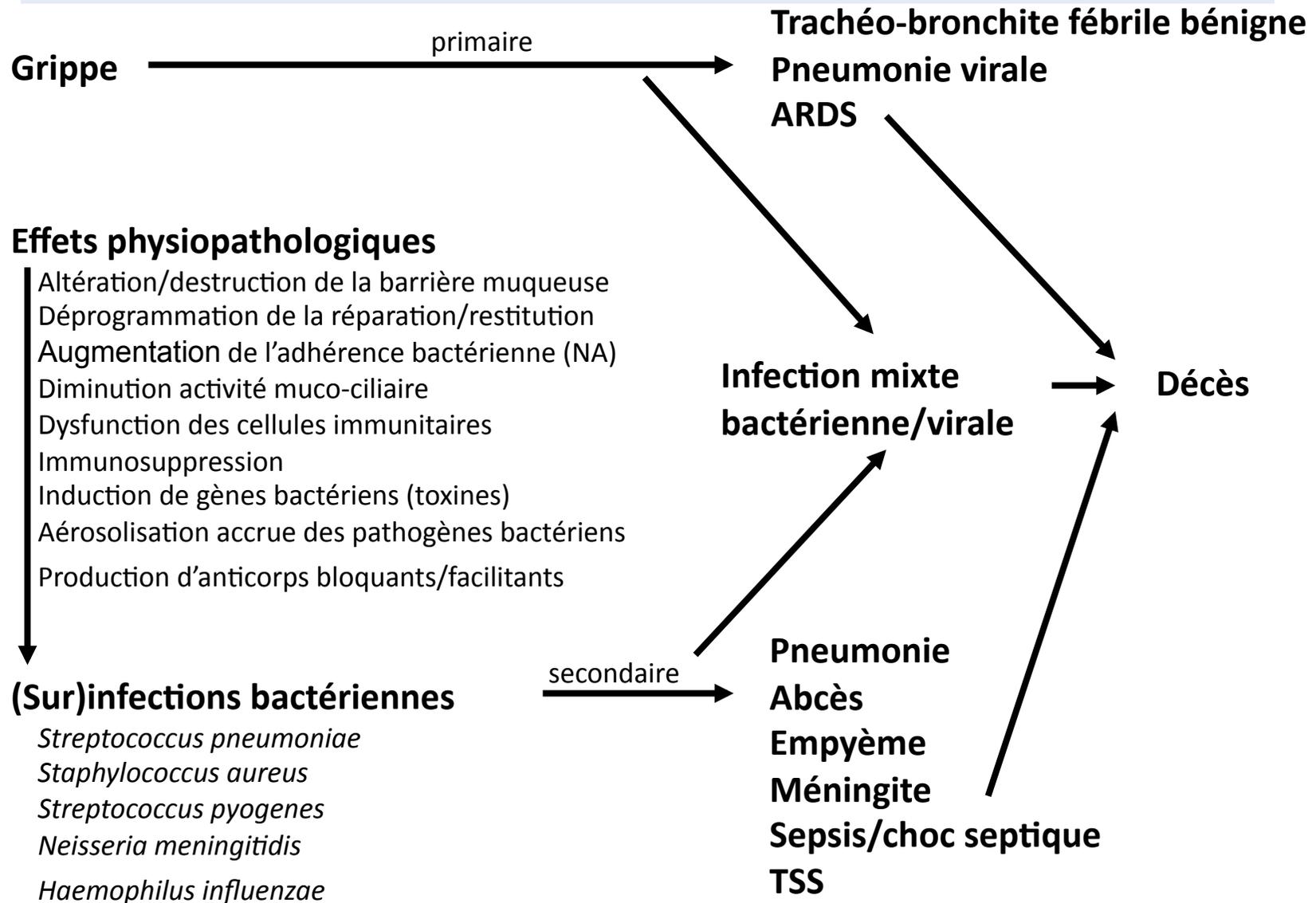
(-)



(+)

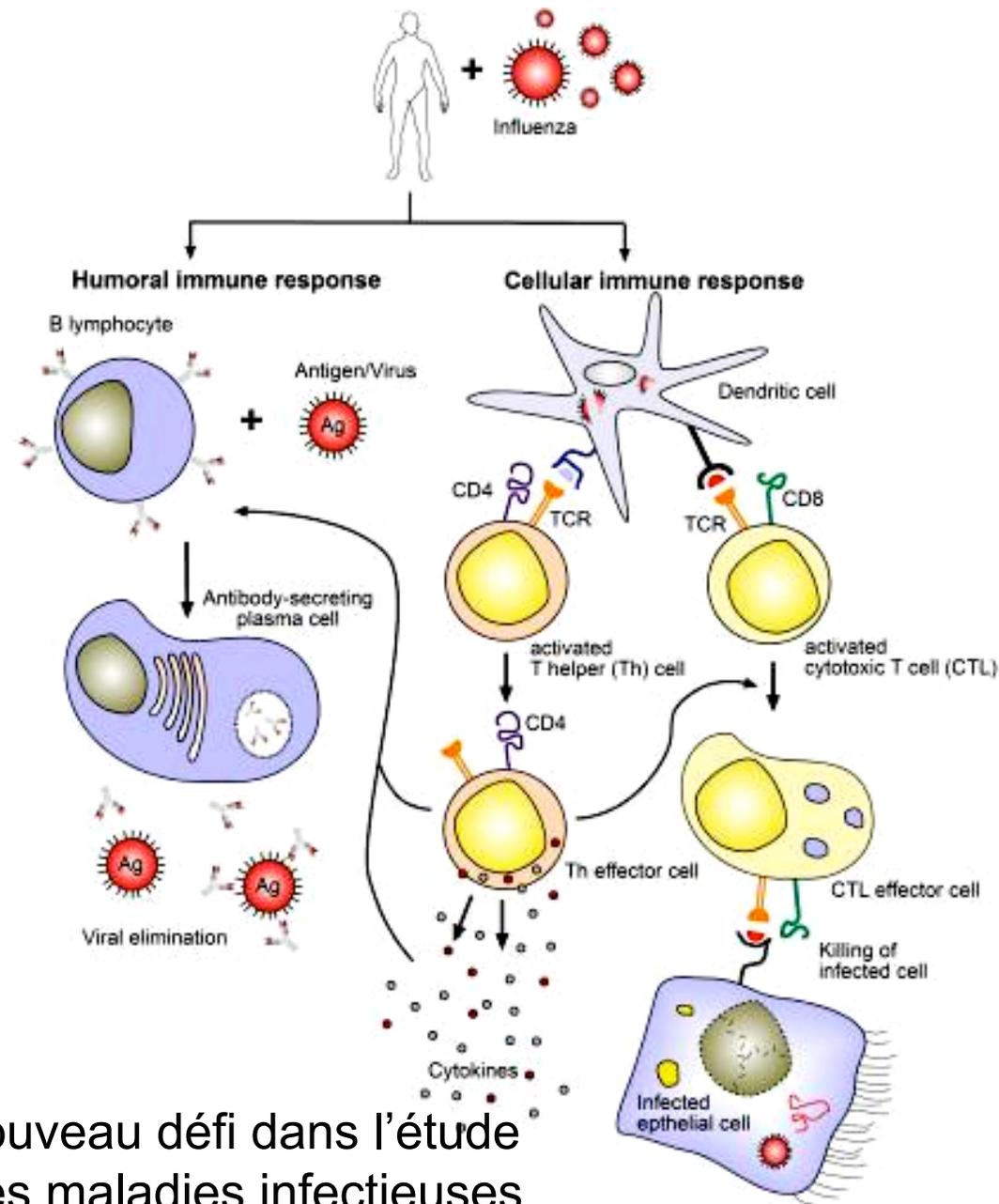


Interactions physiopathologiques entre virus influenza et pyogènes



Adapté de Brundage J. 2006. Lancet Infect. Dis., 6:303-312
Peltola VT & McCullers JA. 2004. Pediatr. Infect. Dis. J., 23:S87-S97

Réponse cellulaire et humorale à l'infection par le virus influenza



Plus que cela...

Co-infections: un nouveau défi dans l'étude des mécanismes des maladies infectieuses

***Streptococcus pneumoniae* Coinfection Is Correlated with the Severity of H1N1 Pandemic Influenza**

Gustavo Palacios^{1,3*}, Mady Hornig^{1,3}, Daniel Cisterna², Nazir Savji¹, Ana Valeria Bussetti¹, Vishal Kapoor¹, Jeffrey Hui¹, Rafal Tokarz¹, Thomas Briese¹, Elsa Baumeister², W. Ian Lipkin^{1*}

PLoS One (2009), 4:e8540

199 patients argentins (23 juin-4 juillet 2009) pris en charge pour grippe A H1N1.

39 = cas sévères (20 décès, 19 hospitalisations prolongées) / 160 cas bénins

Au moins un agent infectieux supplémentaire de grade « pathogène » dans 152 échantillons (76 %):

S. pneumoniae (62), *H. influenzae* (104), *S. aureus* (31), RSV, Rhinovirus, Coronavirus, *K. pneumoniae* (1-4)

La présence de *S. pneumoniae* était fortement corrélée au mauvais pronostic:

56,4 % des cas sévères vs 25 % des cas bénins.

Chez les individus de 6 à 55 ans, l'odd ratio corrigé de maladie sévère était de **125,5 !**

Confirme de nombreuses observations cliniques, y compris l'observation d'une bactériémie à *S. pneumoniae* chez 30 % des gripes graves.

Des études cliniques ont montré que la vaccination contre la grippe diminuait l'incidence des infections bactériennes secondaires.

Peltola VT & McCullers JA. 2004. *Pediatr. Infect. Dis. J.*, 23:S87-S97

Facilitation de l'infection à *S. pneumoniae* par l'infection à virus influenza. Un déséquilibre viro-induit de la réponse innée ?

TLR7 (ssRNA) est aussi activé par l'infection respiratoire par le virus influenza et est responsable de la lymphopénie parfois profonde observée au décours de l'infection chez la souris (Gunzer M et coll. 2005. Blood, 106:2424-2432). La responsabilité de cette lymphopénie dans la sensibilité accrue à *S. pneumoniae* n'a pas été confirmée (Stegeman S et coll. 2009. Plos One, 4(3):e4840).

L'infection expérimentale de la souris par le virus influenza entraîne une réponse innée délétère médiée, entre autre, par **TLR3 (dsRNA)** qui est constitutivement exprimé dans le poumon: hyperinflammation et effondrement des lymphocytes T CD8+. Les animaux TLR3^{-/-} présentent une charge virale plus élevée que les wt, mais paradoxalement une plus grande tolérance/survie à l'infection (Le Goffic R et coll. 2006. PLoS Pathog., 2(6):e53).

IL-10 est massivement induit au cours de la réponse innée à l'infection par le virus influenza. Cette cytokine anti-inflammatoire présente au sein de chimiokines et cytokines pro-inflammatoires pourrait « désamorcer » les PNN recrutés et faciliter la prolifération de *S. pneumoniae* (van der Poll et coll. 1996. J. Infect. Dis., 174:994-1000; van der Sluijs et coll. 2004. J. Immunol., 172:7063-7069)

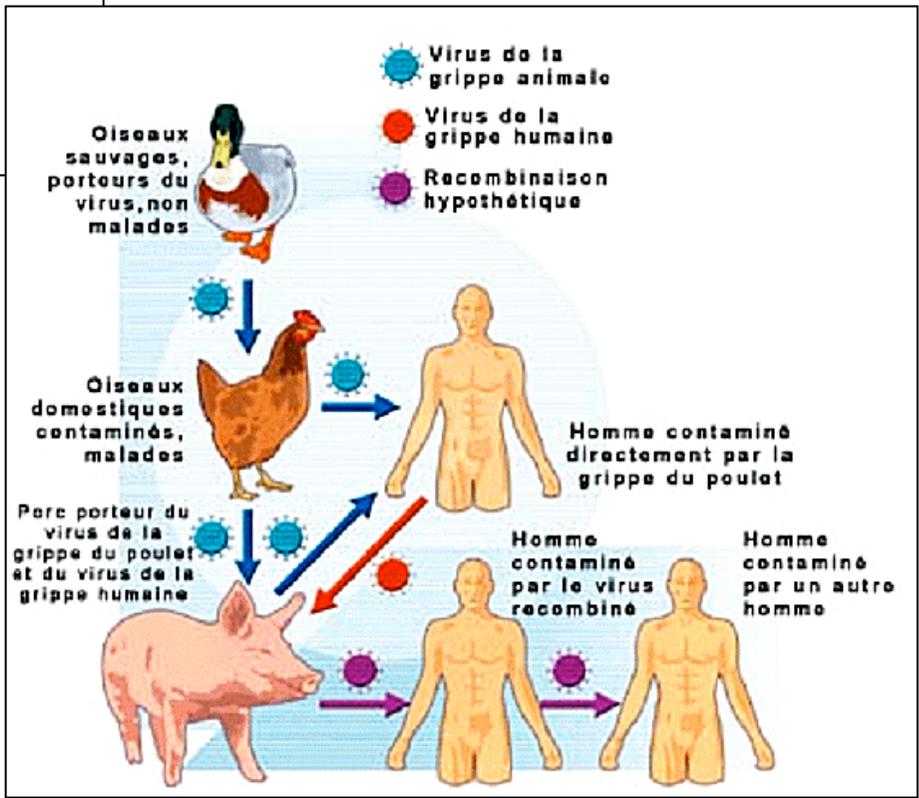
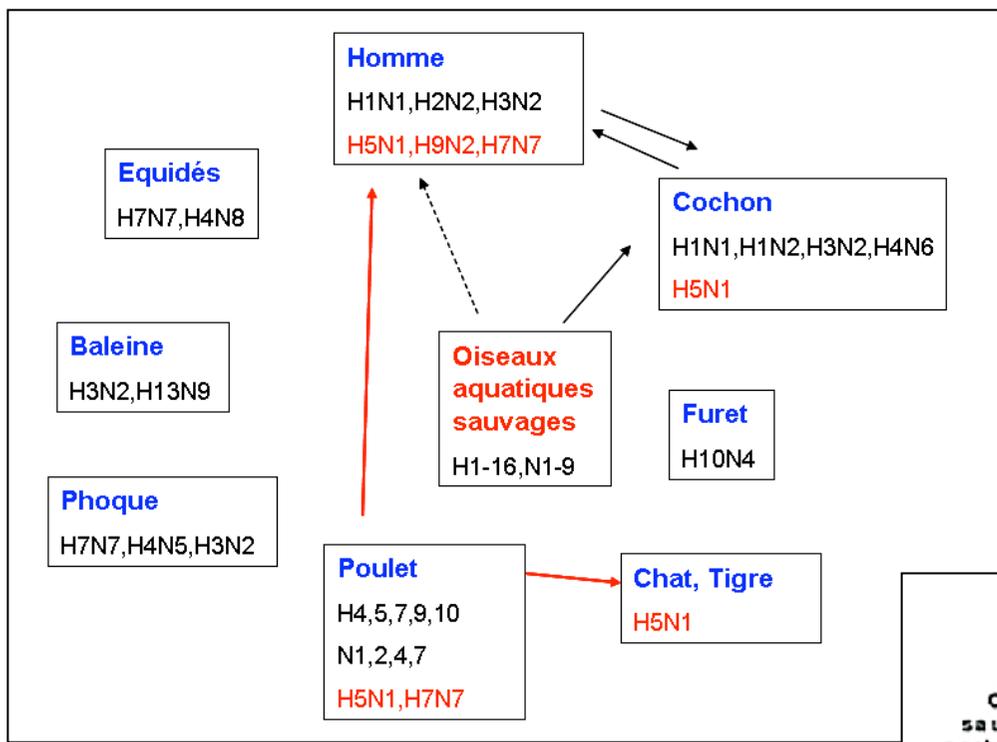
Pandémies grippales:
le Ying et le Yang du saut d'espèces



Pandémies grippales

Name of pandemic	Date	Deaths	Case fatality rate	Subtype involved
1889–1890 flu pandemic (Asiatic or Russian Flu) ^[184]	1889–1890	1 million	0.15%	possibly H3N8 or H2N2
1918 flu pandemic (Spanish flu) ^[185]	1918–1920	20 to 100 million	2%	H1N1
Asian Flu	1957–1958	1 to 1.5 million	0.13%	H2N2
Hong Kong Flu	1968–1969	0.75 to 1 million	<0.1%	H3N2
Russian flu	1977–1978	no accurate count	N/A	H1N1
2009 flu pandemic ^[186]	2009–2010	105,700-395,600 ^[187]	0.03%	H1N1

Ecologie du « shift » Réassortiment et saut d'espèce

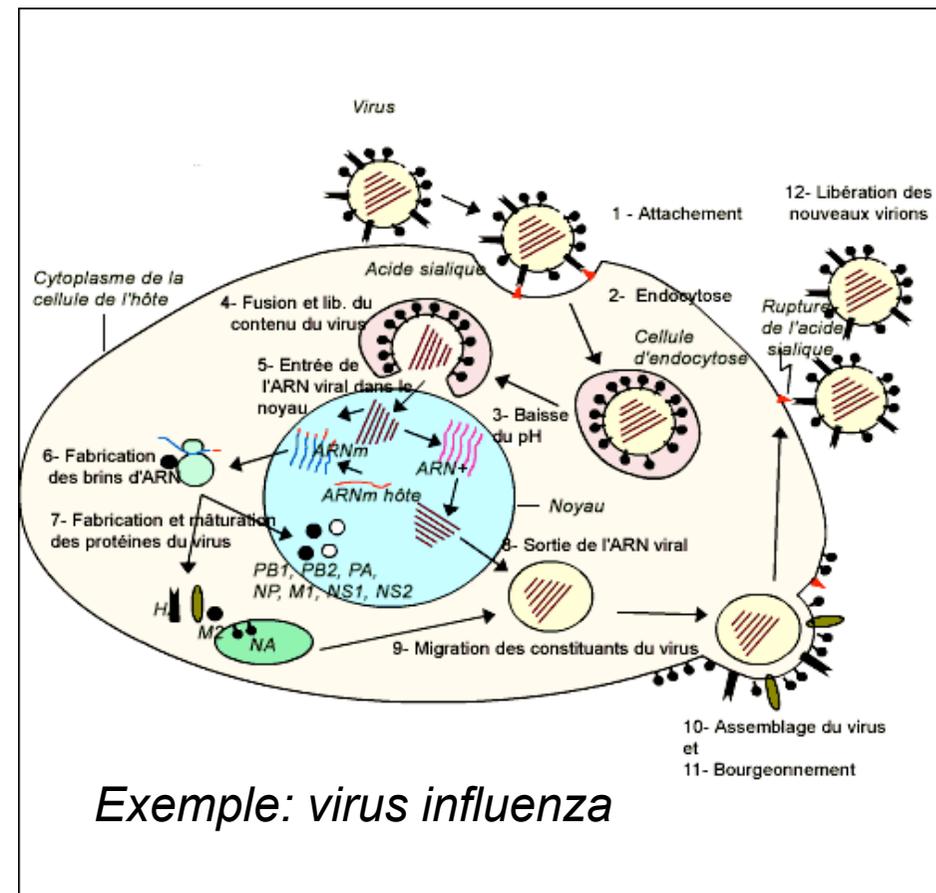


Barrières de l'hôte au transfert de virus

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..)



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 connus

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

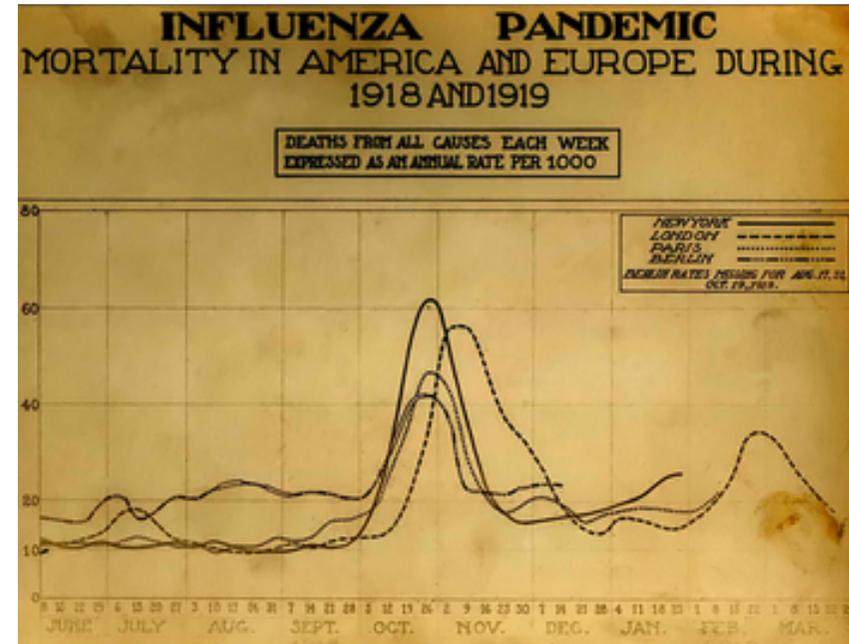
Ainsi, plus la capacité de variation sera importante, plus le virus aura de chances de s'adapter à un nouvel hôte

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:

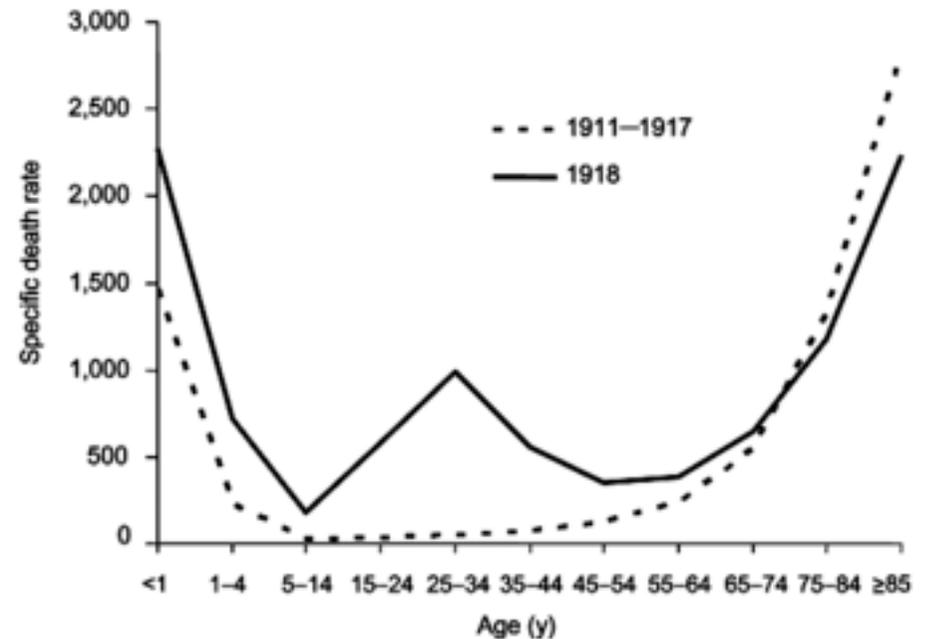
Les espèces qui survivent ne sont pas les espèces les plus fortes, ni les plus intelligentes, mais celles qui s'adaptent le mieux aux changements

Grippe "espagnole" H1N1, 1918-1919



40 millions de décès (au moins)
Doute sur l'origine du clone H1N1
responsable de la maladie
Sous-type d'une souche aviaire H1N1
Passage direct oiseau-homme ?
Passage indirect oiseau-porc-homme ?
Difficile de conclure, seconde hypothèse
plus souvent considérée (épidémiologie)

Efforts pour isoler le virus = échec



RESEARCH ARTICLE

Characterization of the Reconstructed 1918 Spanish Influenza Pandemic Virus

Terrence M. Tumpey,^{1*} Christopher F. Basler,²
Patricia V. Aguilar,² Hui Zeng,¹ Alicia Solórzano,²
David E. Swayne,⁴ Nancy J. Cox,¹ Jacqueline M. Katz,¹
Jeffery K. Taubenberger,³ Peter Palese,² Adolfo García-Sastre²

the HA from the Tx/91 virus with the remaining seven genes from the 1918 virus (Tx/91 HA:1918); a virus having the NA from 1918 with the remaining seven genes from the Tx/91 virus (1918 NA:Tx/91); and recombinant viruses having two 1918 (1918 HA/NA:Tx/91) or five 1918 genes (1918 HA/NA/M/NP/NS:Tx/91) with the remaining genes derived from the Tx/91 virus. The HA of the 1918 viruses used throughout these studies was derived from A/South Carolina/1/18 strain that was shown to preferentially bind the α 2,6 sialic acid (human) cellular

Reconstruction du virus de 1918

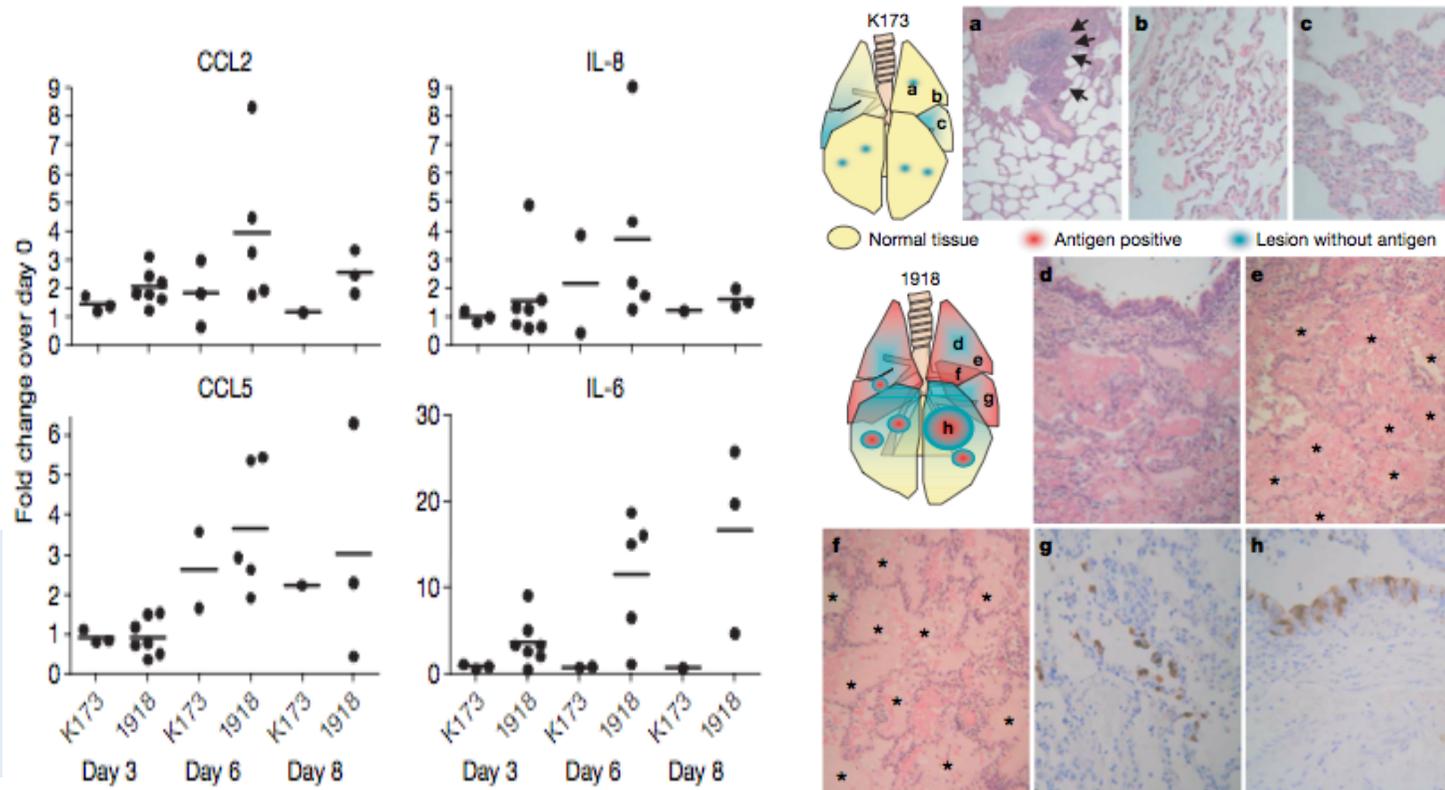
2005 = collaboration entre CDC, "Armed Force Institute of Pathology", USDA ARS Southeast Poultry Lab., Mount Sinai School of Medicine (New York). Reconstitution de la séquence du génome à partir du corps d'une femme décédée en Alaska et congelée dans le permafrost (Brevig Mission où toute la population était décédée sauf les enfants) et de tissus pulmonaires de soldats morts de la grippe (Tumpey et coll. 2005. Science)

LETTERS

Aberrant innate immune response in lethal infection of macaques with the 1918 influenza virus

Darwyn Kobasa¹, Steven M. Jones^{2,3}, Kyoko Shinya⁵, John C. Kash⁶, John Copps⁸, Hideki Ebihara^{2,9,10,11}, Yasuko Hatta¹², Jin Hyun Kim¹², Peter Halfmann¹², Masato Hatta¹², Friederike Feldmann², Judie B. Alimonti², Lisa Fernando², Yan Li¹, Michael G. Katze^{6,7}, Heinz Feldmann^{2,4} & Yoshihiro Kawaoka^{9,10,11,12}

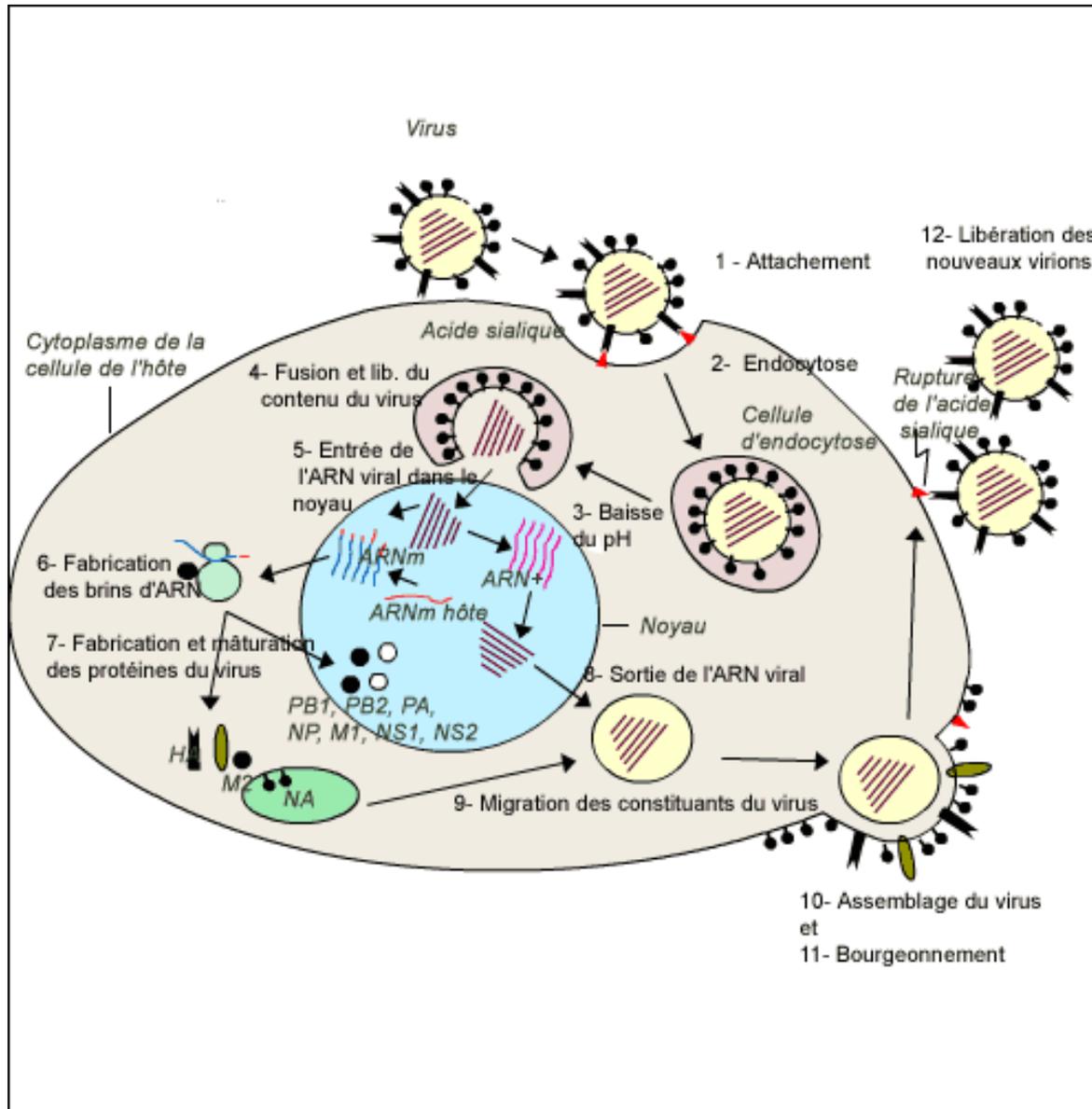
2007 = des singes macaques infectés par la souche reconstituée développaient la même forme clinique grave que la grippe de 1918. **Virémie très élevée**
 Décès de "**cytokine storm**" (Kobasa et coll. 2007. Nature) entraînant ARDS
 Explication de la gravité chez les adultes jeunes au système immunitaire plus réactif ?



K173 = souche H1N1 contemporaine

1918 = souche H1N1 reconstituée

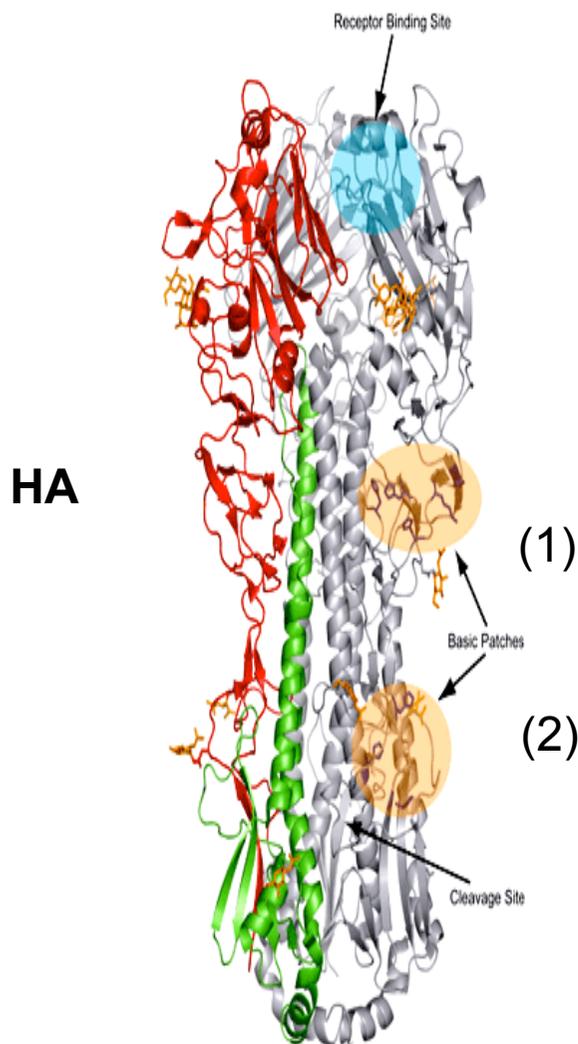
Quelle étape du cycle viral peut rendre compte de la virulence particulière de ce clone H1N1 ?



?

Deux hypothèses complémentaires

Caractéristiques de l'hémagglutinine



Stevens, J., Corper, A. L., Basler, C. F., Taubenberger, J. K., Palese, P. & Wilson, I. A. 2004. Structure of the uncleaved human H1 hemagglutinin from the extinct 1918 influenza virus. *Science* 303: 1866-1870

Bien que les analyses phylogéniques positionnent classiquement le virus H1N1 à la base de l'arbre phylogénique des virus humains, l'analyse de son hémagglutinine (HA) révèle plutôt une appartenance aux virus aviaires:

- Poche formant le site de liaison très étroite, comme dans les souches aviaire, la seule différence étant la présence d'une mutation Glu¹⁹⁰Asp entraînant un élargissement minime de la poche peut être capable d'accommoder les récepteurs humains.

- Deux petits domaines basiques riches en Histidine pourraient rendre compte d'une plus grande efficacité de clivage pH dépendant dans le compartiment endosomal:

Domaine (1) situé à la base du domaine globulaire de HA1 exclusivement présent chez les virus H1 aviaires = signature moléculaire d'un saut d'espèce de l'oiseau aux populations humaines naïves ?

Domaine (2) adjacent au site de clivage unique aux souches aviaires et humaines H1, H2 et H5. Pourrait être impliqué dans la déstabilisation du trimère ou dans une plus grande efficacité de l'expulsion du peptide fusogène avant l'événement de fusion membranaire.

Viral RNA polymerase complex promotes optimal growth of 1918 virus in the lower respiratory tract of ferrets

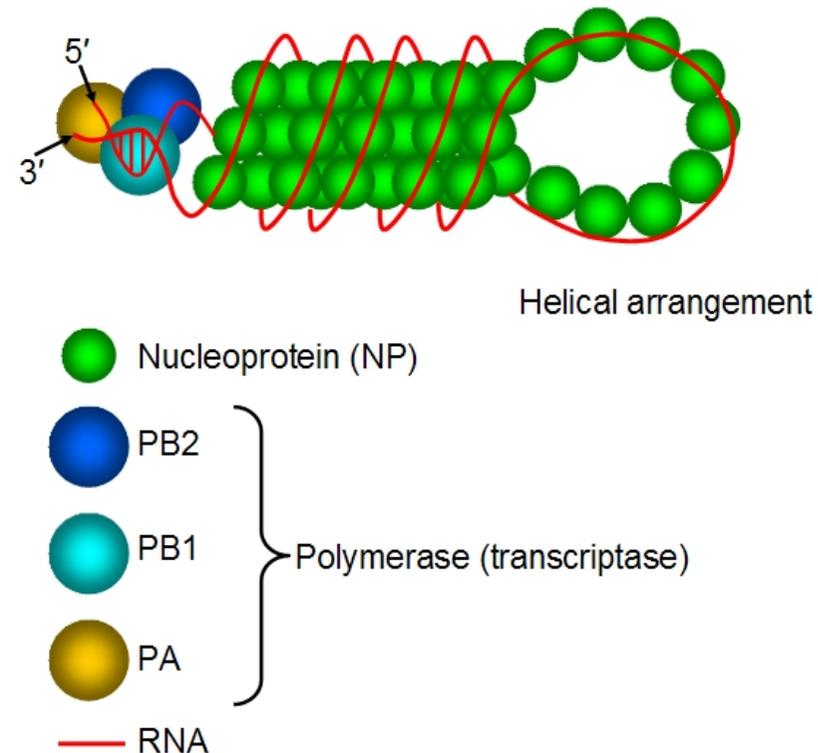
Tokiko Watanabe^a, Shinji Watanabe^a, Kyoko Shinya^b, Jin Hyun Kim^a, Masato Hatta^a, and Yoshihiro Kawaoka^{a,b,c,d,1}

^aDepartment of Pathobiological Sciences, School of Veterinary Medicine, University of Wisconsin-Madison, 2015 Linden Drive, Madison, WI 53706; ^bDivision of Zoonosis, Department of Microbiology and Infectious Diseases, Graduate School of Medicine, Kobe University, Kobe 650-0017, Japan; and ^cDivision of Virology, Department of Microbiology and Immunology, and ^dInternational Research Center for Infectious Diseases, Institute of Medical Science, University of Tokyo, Tokyo 108-8639, Japan

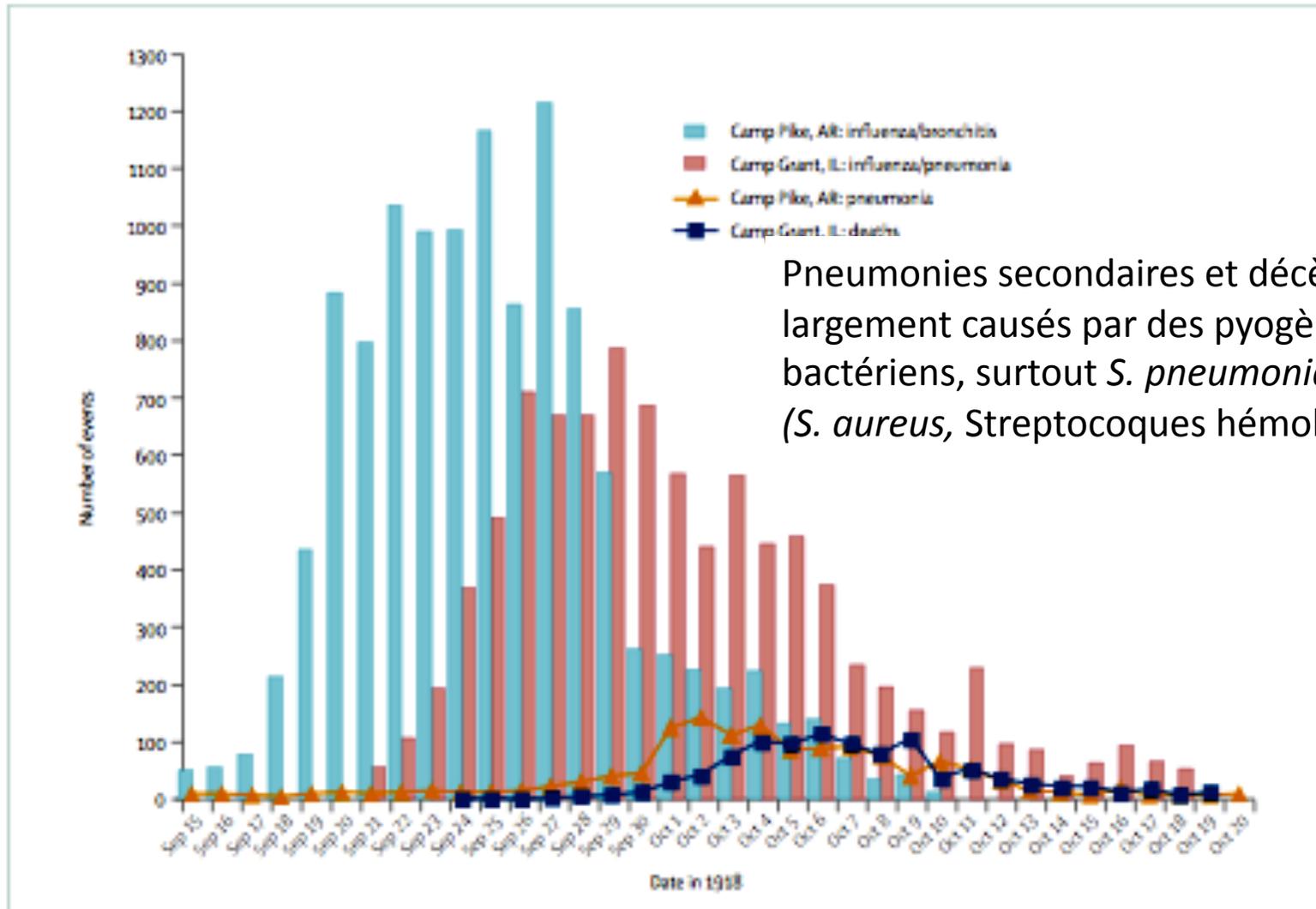
Nature Rev Struct Biol 2010

2008 = établissement du lien entre la présence de trois gènes spécifiques (PA, PB1 et PB2) plus une nucléoprotéine du virus capables d'assurer la gravité de la maladie (Watanabe et coll. 2008. PNAS)

Influenza ribonucleoprotein particle (RNP)

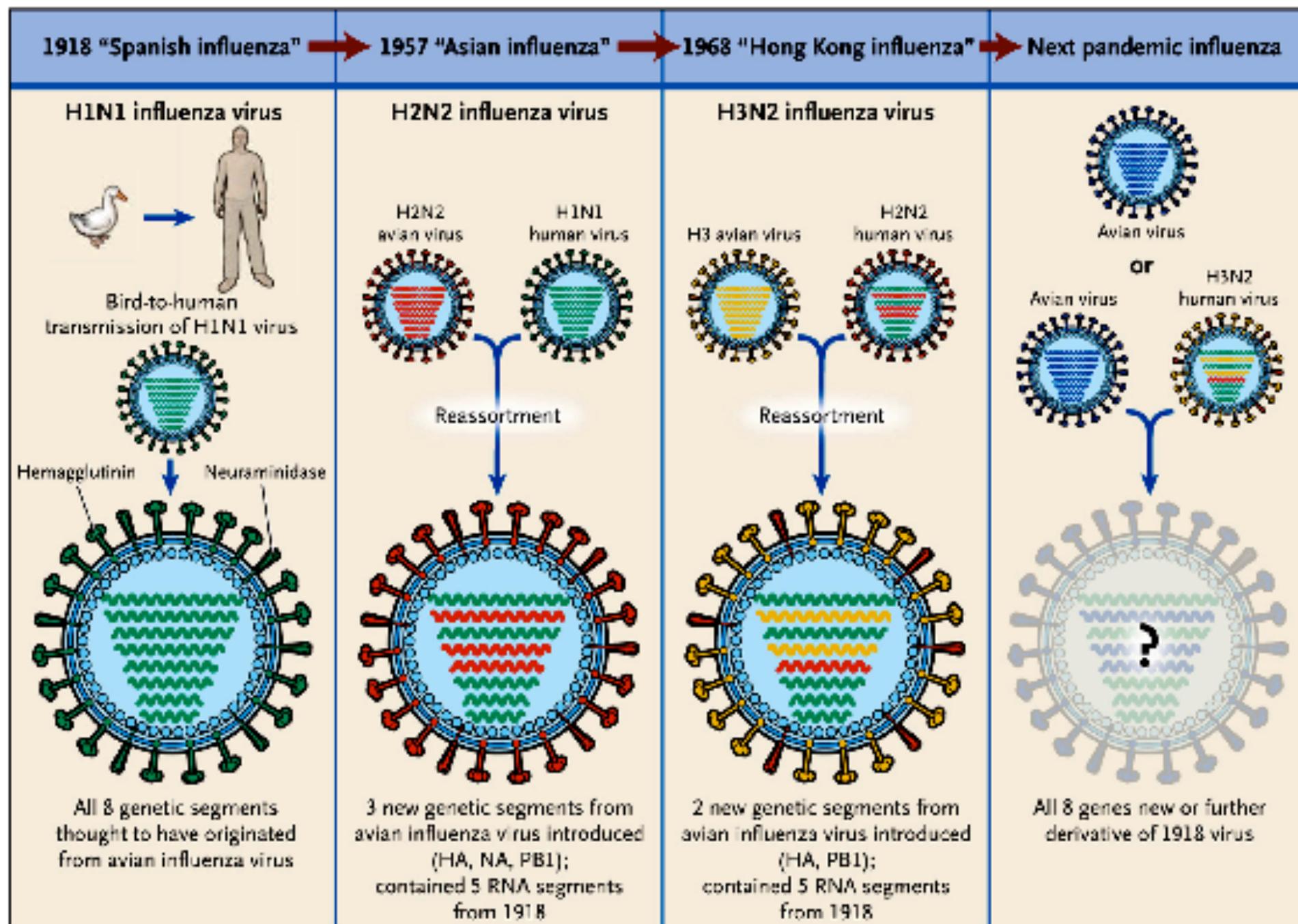


Interactions entre virus influenza et bactéries pathogènes respiratoires

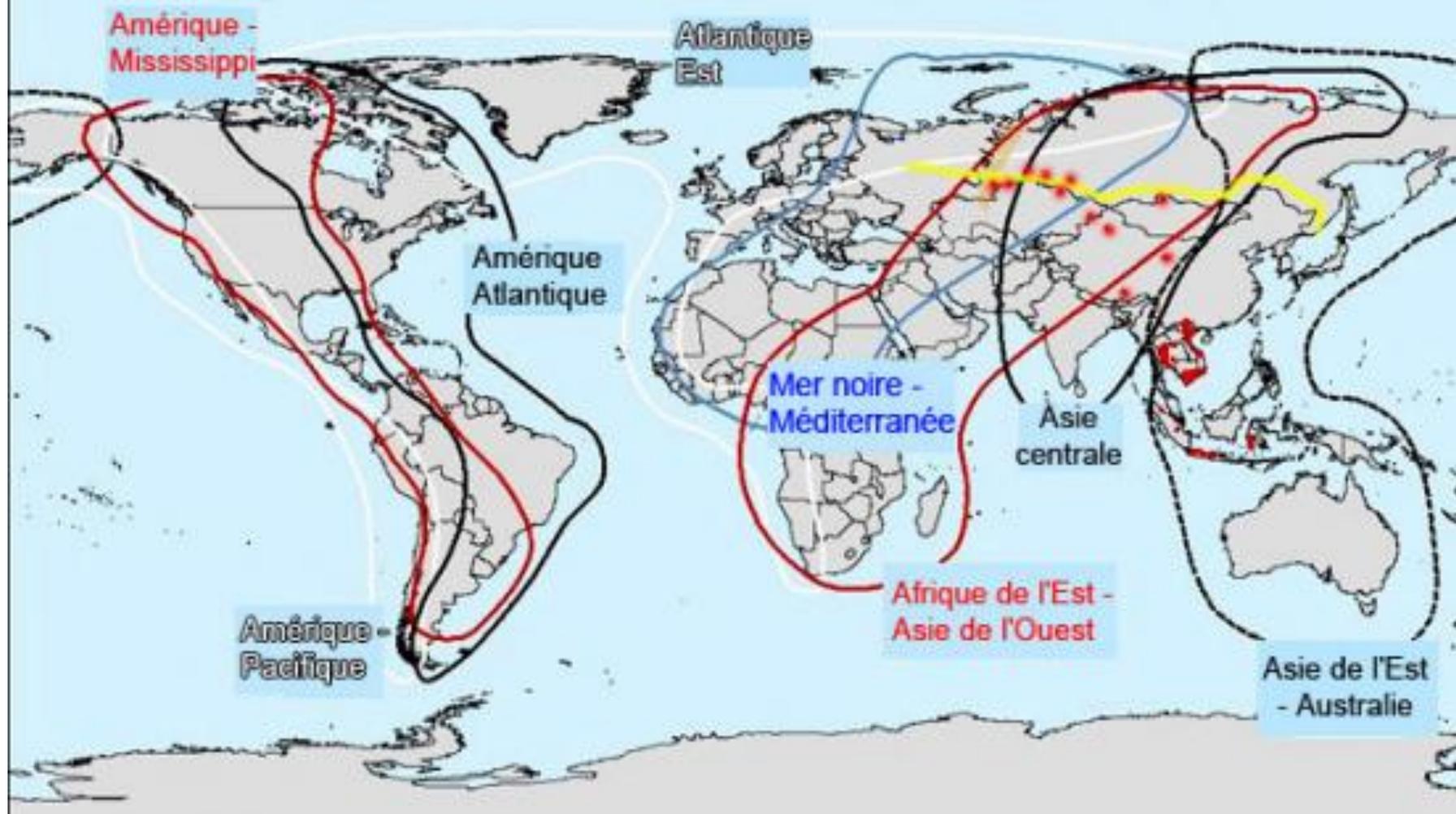


Pneumonies secondaires et décès largement causés par des pyogènes bactériens, surtout *S. pneumoniae* (*S. aureus*, Streptocoques hémolytiques)

Figure 4: Between Sept 15 and Oct 20, 1918, there were approximately 7-10 day lags between the epidemic curves of "influenza/bronchitis" and "pneumonias" at Camp Pike, AR,¹⁸ and "influenza/pneumonia" and associated "fatalities" at Camp Grant, IL.¹⁹



Les différentes routes migratoires



Prochaine pandémie ?

Grippe aviaire ?

Des "émergences" inattendues

Grippe aviaire H5N1 = n'a pas tourné en pandémie

Un "flirt" non conclus avec la barrière d'espèce...

Grippe "porcine" H1N1 = une première pandémie "bénigne"...

Global epidemiology of avian influenza A H5N1 virus infection in humans, 1997–2015: a systematic review of individual case data



Shengjie Lai*, Ying Qin*, Benjamin J Cowling*, Xiang Ren, Nicola A Wardrop, Marius Gilbert, Tim K Tsang, Peng Wu, Luzhao Feng, Hui Jiang, Zhibin Peng, Jiandong Zheng, Qiaohong Li, Sa Li, Peter W Horby, Jeremy J Farrar, George F Gao, Andrew J Tatem, Hongjie Yu

907 cas confirmés de grippe aviaire H5N1

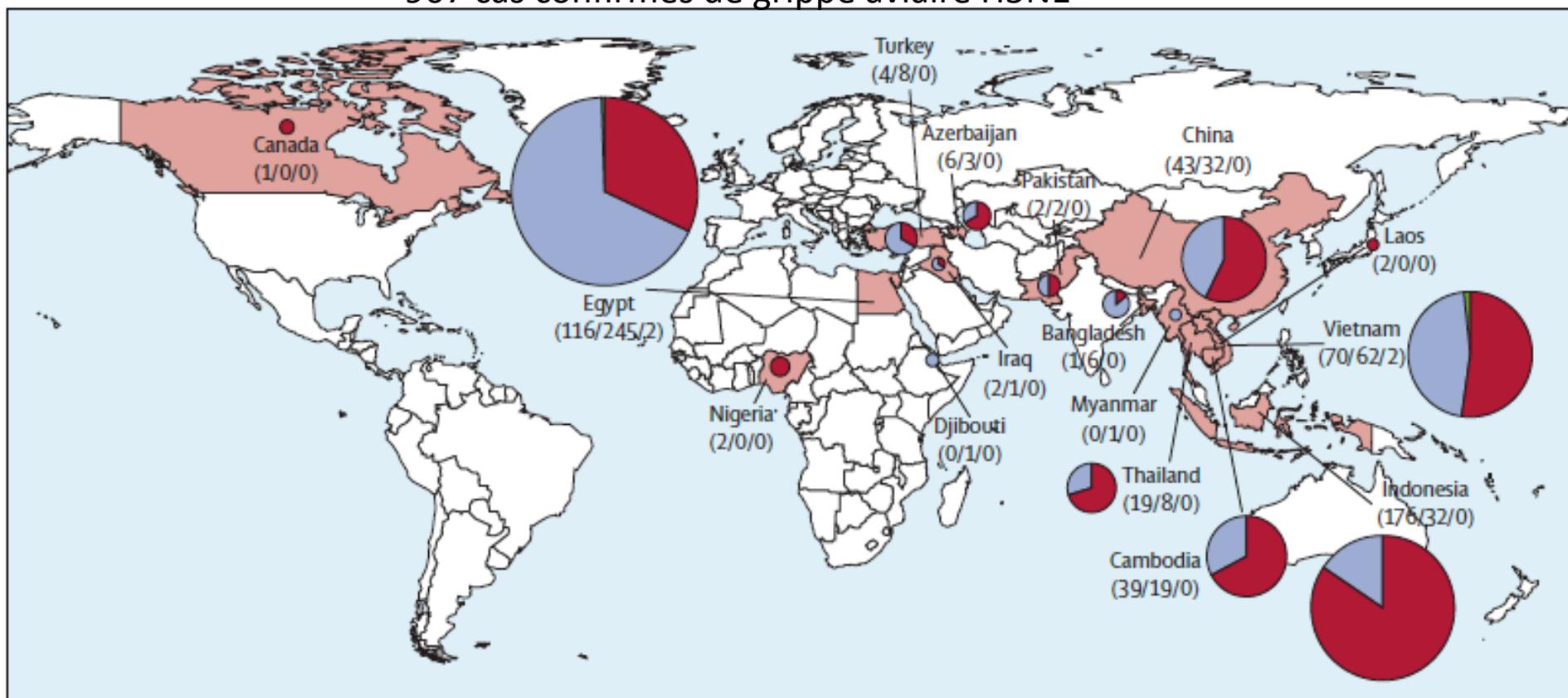


Figure 2: Geographic distribution of human cases of H5N1 infection by outcome, May, 1997, to April, 2015 (n=907)

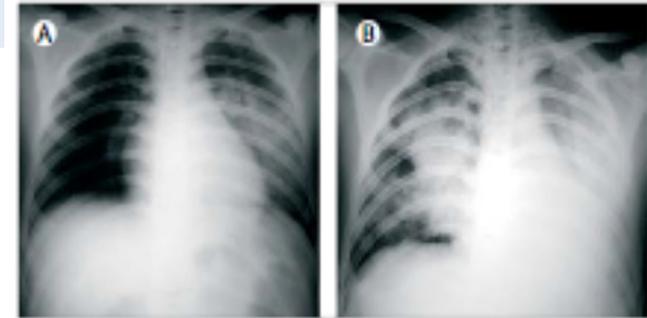
Data for China include cases reported by mainland China (52 cases) and Hong Kong, China (23 cases). In the pie charts, the blue sectors show the proportion of non-fatal cases, the red fatal cases, and the green unresolved cases. The numbers beneath the country names show numbers of cases: fatal/non-fatal/unresolved.

Découverte depuis 1997 de la possibilité de transmission à l'homme de souches aviaires de haute pathogénicité (AIHP): H5N1, H7N7, H7N3, H9N2

Ces souches aviaires sont:

Asymptomatiques chez le canard = AIFP.

Fortement pathogènes chez le poulet = AIHP



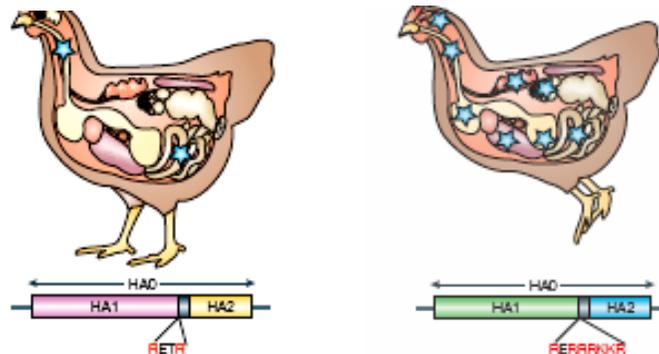
Epidémie H5N1 de HONG-KONG en 1997: 18 cas / 6 décès, mais pas d'évidence de transmission interhumaine

Panzootie H5N1 depuis 2004: plusieurs centaines de cas de transmission à l'homme avec une mortalité > 50 %. Essentiellement le fait de contacts avec des volailles moribondes ou mortes, inoculat très lourds (pathologie initialement intestinale pouvant laisser penser à une porte d'entrée intestinale), pneumopathie gravissime (ARDS) causant le décès, quelques encéphalites. Pas d'évidence de transmission aérienne. Publications de « clusters » familiaux (Wang H et coll., 2008. Lancet Infect.Dis.371:1427-1434).

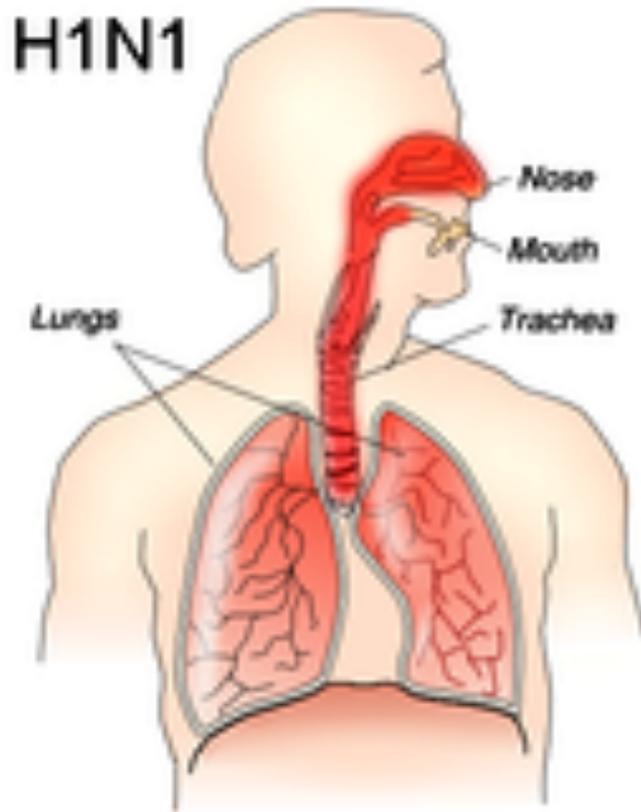
H5N1 A REMPLI UNE PARTIE DU « CAHIER DES CHARGES ».
MANQUE LA CAPACITE DE TRANSMISSION INTERHUMAINE EFFICACE (TRANSMISSION AERIENNE PEU OU PAS EFFICACE).

Mutations causant le phénotype « haute pathogénicité » des souches H5N1 (IAHP)

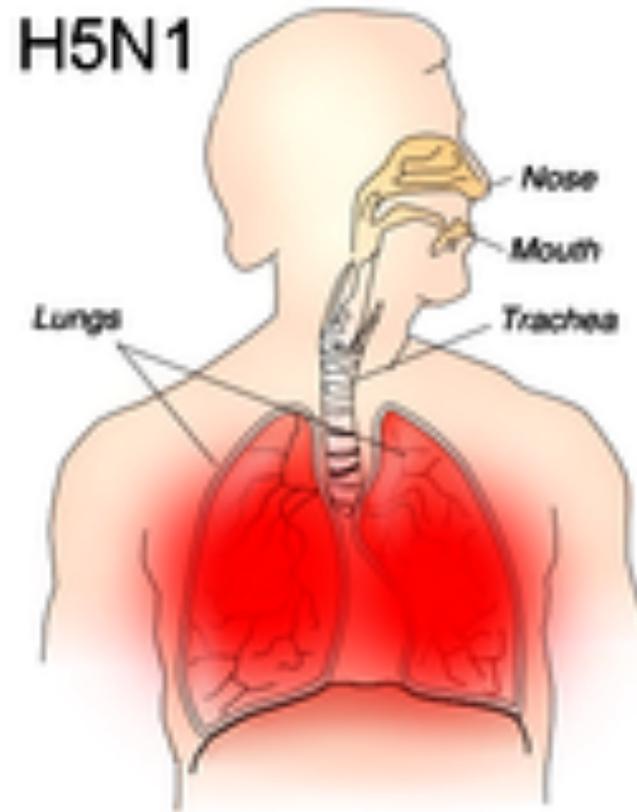
Gène/protéine	Mutation	Effet	Ref.
HA	Site basique endoprotéolytique H0 = H1 + H2 (protéase inutile !)	Replication/dissémination augmentés	Nbx...
NA	Délétion de 19-26 aa dans « stalk »	Adaptation croissance chez poulet/dinde	Matsosovich, 1999 Giannechini, 2006
PB2	627K	Augmentation de la replication systémique chez la souris	Hatta, 2001 Shinya, 2004
	701N	Augmentation pathologie chez la souris	Li, 2005
PB1	13P, 678N	Augmentation de l'activité Polymérase avantageuse pour les étapes précoces d'adaptation à de nouvelles espèces	Gabiél, 2005
NS1	92E	Echappement à la réponse immunitaire, clairance virale réduite chez le cochon	Seo, 2004



Différence physiopathologique entre grippe saisonnière H1N1 et grippe aviaire H5N1



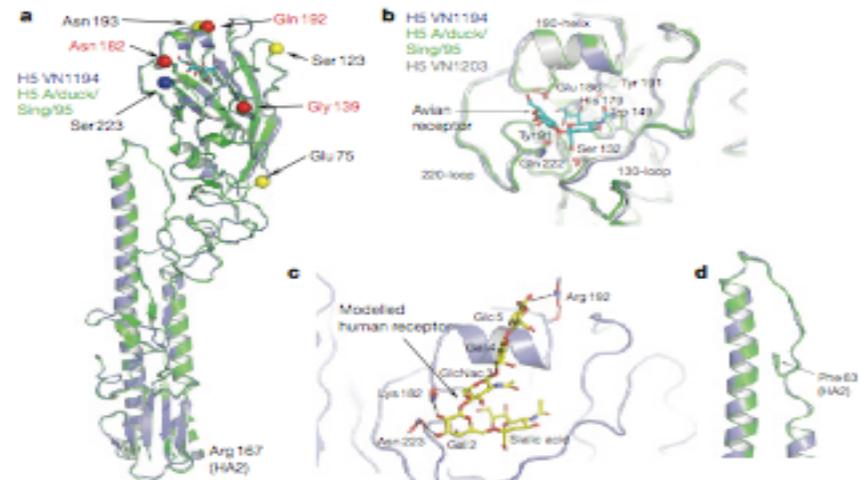
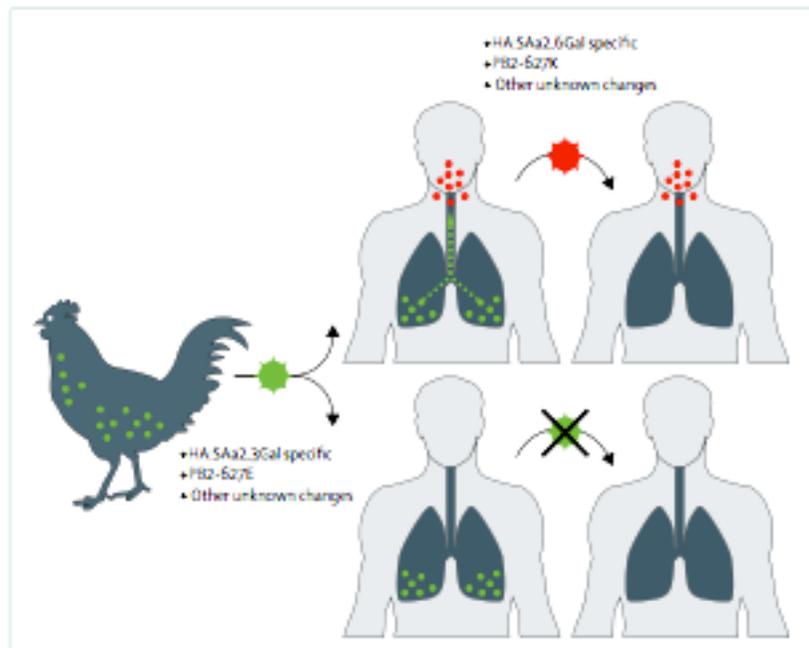
**Easily spread
Rarely fatal**



**Spreads slowly
Often fatal**

ADHESION/COLONISATION: Acide Sialique = Récepteur pour HA du Virus Influenza

	Récept	NeuAca2,3Gal Virus Aviaires	NeuAca2,6Gal Récept. Virus Humains
CANARD/POULET	Trachée	+++	-
	Intestin	+++	-
HOMME	Trachée	-	+++
	Alvéoles	++	+++
	Intestin	+++	+++
PORC	Trachée	+++	+++
	Intestin	+++	+++



Des mutations en aa 182 à 192 sont observées dans l'HA de Certains virus H5N1 isolés de l'homme, permettant un switch de spécificité de SA α 2,3Gal (récepteur aviaire) vers SA α 2,6Gal (récepteur virus humain). Un autre petit pas...

Airborne Transmission of Influenza A/H5N1 Virus Between Ferrets

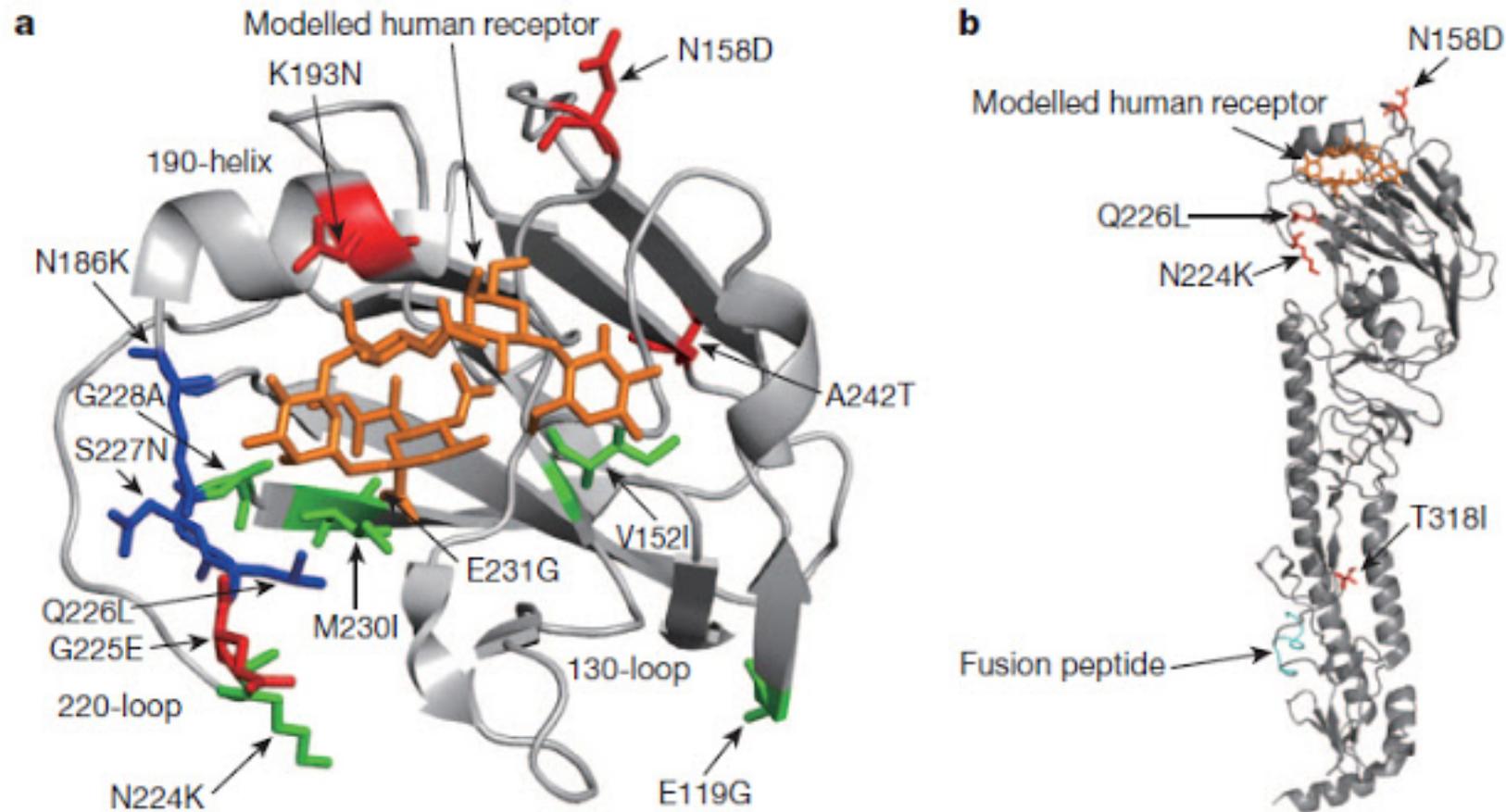
Sander Herfst¹, Eefje J. A. Schrauwen¹, Martin Linster¹, Salin Chutinimitkul¹, Emmie de Wit¹, Vincent J. Munster¹, Erin M. Sorrell¹, Theo M. Bestebroer¹, David F. Burke², Derek J. Smith^{1,2,3}, Guus F. Rimmelzwaan¹, Albert D. M. E. Osterhaus¹, and Ron A. M. Fouchier^{1,†}

¹Department of Virology, Erasmus Medical Center, Rotterdam, The Netherlands ²Department of Zoology, University of Cambridge, Cambridge, UK ³Fogarty International Center, National Institutes of Health (NIH), Bethesda, MD 20892, USA

Virus A/H5N1 très pathogène chez l'homme avec forte morbidité et mortalité
Mais pas de transmission interhumaine par voie aérienne
Démonstration de la possibilité "naturelle" d'acquisition de la capacité de transmission aérienne
après mutagenèse "site-directed" suivie de passages successifs chez un mammifère modèle: le furet
Aucun décès noté chez les animaux infectés par les mutants transmissibles
Résultats: quatre substitutions d'acides aminés dans HA dont Q222I et G224S
Une substitution d'acide aminé dans le composant PB2 de l'ARN polymérase du virus: E627K
Tous les mutants sont demeurés sensibles à Oseltamivir
Conclusion: possibilité d'adaptation par mutation sans échange génétique intersérotype pour assurer l'acquisition d'un phénotype de transmissibilité

Experimental adaptation of an influenza H5 HA confers respiratory droplet transmission to a reassortant H5 HA/H1N1 virus in ferrets

Masaki Imai¹, Tokiko Watanabe^{1,2}, Masato Hatta¹, Subash C. Das¹, Makoto Ozawa^{1,3}, Kyoko Shimya⁴, Gongxun Zhong¹, Anthony Hanson¹, Hiroaki Katsuma⁵, Shinji Watanabe^{2,3}, Chengjun Li², Eiryu Kawakami², Shinya Yamada², Maki Kiso², Yasuo Suzuki⁶, Eileen A. Maher¹, Gabriele Neumann¹ & Yoshihiro Kawakoba^{1,3,5,6}



Combinaison N224K/Q226L critique pour assurer le shift de reconnaissance de Sia α 2,3-Gal vers Sia α 2,6-Gal

Mutations "gains de fonction": la controverse

LETTERS

Regulating Dual-Use Research in Europe

Giorgio Palù

+ Author Affiliations

E-mail: giorgio.palu@unipd.it

Science 24 Jan 2014:
Vol. 343, Issue 6169, pp. 368-369
DOI: [10.1126/science.343.6169.368-b](https://doi.org/10.1126/science.343.6169.368-b)



[Front Public Health](#). 2014; 2: 77.

Published online 2014 Jul 16. Prepublished online 2014 Jun 9. doi: [10.3389/fpubh.2014.00077](https://doi.org/10.3389/fpubh.2014.00077)

The Irrationality of GOF Avian Influenza Virus Research

[Simon Wain-Hobson](#)^{1,2,*}



Open Access

Perspective

Pandemic influenza viruses: time to recognize our inability to predict the unpredictable and stop dangerous gain-of-function experiments

Simon Wain-Hobson

Mutations "gains de fonction": la controverse



European Academies Advise on Gain-of-Function Studies in Influenza Virus Research

Robin Fears,^{a,c} Volker ter Meulen^{b,c}

Biosciences Programme,^a Biosciences Steering Panel,^b and Gain of Function Working Group,^c EASAC, German National Academy of Sciences, Halle (Saale), Germany

Gain-of-function (GoF) studies to understand factors affecting transmissibility of potentially pandemic pathogens are controversial. The European Academies Science Advisory Council (EASAC) recently published consensus recommendations relating to GoF research review and management on self-regulation and harmonization; bioethical considerations; benefit-risk assessment; biosafety, and biosecurity advisory options; and publication of sensitive information. A layered approach to integration of responsibilities must include conforming to the stringent rules and guidance already existing. Further commitment is essential to extend the debate on issues worldwide.

EDITORIAL



Vagueness and Costs of the Pause on Gain-of-Function (GOF) Experiments on Pathogens with Pandemic Potential, Including Influenza Virus

Michael J. Imperiale,^a Editor, *mBio*, Arturo Casadevall,^{b,c} Founding Editor-in-Chief, *mBio*

Department of Microbiology and Immunology, University of Michigan, Ann Arbor, Michigan, USA^a; Department of Microbiology and Immunology, Albert Einstein College of Medicine, Bronx, New York, USA^b; Division of Infectious Diseases, Department of Medicine, Albert Einstein College of Medicine, Bronx, New York, USA^c

Pandémie de grippe "porcine" A/H1N1

L'épidémie de grippe "porcine" A/H1N1 est survenue en 2009 sur un fond de préparation internationale motivée par la crainte de la grippe aviaire A/H5N1 dont l'extension dans les populations aviaires et la survenue de cas humains sporadiques mais en nombre significatif (spill over) semblait prélude à une émergence inéluctable

La complétion du "cahier des charges" du saut d'espèce et la survenue d'une pandémie dramatique aux dimensions de la grippe espagnole était l'hypothèse de travail considérée

Cet état de préparation eut certainement un effet bénéfique le moment venu

Ce n'est pourtant pas ce scénario qui prévalut, mais celui de l'émergence à partir du Mexique d'une souche A/H1N1 totalement inconnue ("hors des écrans radar")

Ce virus était le fruit d'une combinaison complexe d'un lignage porcin nord-américain et d'un lignage porcin eurasiatique

Pandémie de grippe "porcine" A/H1N1

Pas de parenté avec la souche H1N1 saisonnière circulant depuis 1977
Pas de protection par la vaccination contre cette souche saisonnière
Cependant un pourcentage non négligeable de personnes > 65 ans
présentaient une protection croisée, indiquant
la circulation antérieure possible de cette souche ou d'une souche
apparentée

Les premiers isolats nord-américains montraient une résistance à
l'amantadine et à la rimantadine, mais une sensibilité à l'ozeltamivir et au
zanamivir

Il apparut très vite que si les premiers cas étaient sans doute d'origine
porcine la souche avait acquis
la capacité de transmission interhumaine et progressait rapidement dans
la population, remplissant donc totalement le "cahier des charges" de
l'émergence

Pandémie de grippe "porcine" A/H1N1

Début épidémie mars/avril 2009

25 avril: Déclaration par la Directrice Générale de l'OMS de l'épidémie de grippe A/H1N1: "Urgence de santé publique de niveau international"
(http://www.who.int/mediacentre/news/statements/2009/h1n1_20090425/en/index.html)

50 isolats identifiés et séquencés, séquence mise en ligne fin avril,
publication de la phylogénie du virus en mai
(collaboration USA (CDC), UK et Mexique)

Dès juillet, choix de la souche proposée pour développer un vaccin
(A/California/O7/2009)

29 avril: OMS élève l'alerte au niveau 5 et signale l'imminence d'une
pandémie (http://www.who.int/mediacentre/news/statements/2009/h1n1_20090429/en/index.html)
(<http://www.cdc.gov/Other/disclaimer.html>)



6 Phases pandémiques

Période interpandémique Nouveau virus chez les animaux Pas de cas chez les humains	1	Risque faible de cas chez les humains
	2	Risque élevé de cas chez les humains
Période d'alerte Nouveau virus Présence de cas humains	3	Pas ou rares cas de transmission interhumaine
	4	Évidence d'un accroissement de transmission interhumaine
	5	Évidence significative de transmission interhumaine
Période pandémique	6	Transmission interhumaine soutenue

Nous sommes en phase 3

Antigenic and Genetic Characteristics of Swine-Origin 2009 A(H1N1) Influenza Viruses Circulating in Humans

Rebecca J. Garten,^{1*} C. Todd Davis,^{1*} Colin A. Russell,^{2,3} Bo Shu,¹ Stephen Lindstrom,¹ Amanda Balish,¹ Wendy M. Sessions,¹ Xiyan Xu,¹ Eugene Skepner,² Varough Deyde,¹ Margaret Okomo-Adhiambo,¹ Larisa Gubareva,¹ John Barnes,¹ Catherine B. Smith,¹ Shannon L. Emery,¹ Michael J. Hillman,¹ Pierre Rivailler,¹ James Smagala,¹ Miranda de Graaf,^{2,4} David F. Burke,² Ron A. M. Fouchier,⁴ Claudia Pappas,¹ Celia M. Alpuche-Aranda,⁵ Hugo López-Gatell,⁵ Hiram Olivera,⁵ Irma López,⁵ Christopher A. Myers,⁶ Dennis Faix,⁶ Patrick J. Blair,⁶ Cindy Yu,⁷ Kimberly M. Keene,⁸ P. David Dotson Jr.,⁹ David Boxrud,¹⁰ Anthony R. Sambol,¹¹ Syed H. Abid,¹² Kirsten St. George,¹³ Tammy Bannerman,¹⁴ Amanda L. Moore,¹⁵ David J. Stringer,¹⁶ Patricia Blevins,¹⁷ Gail J. Demmler-Harrison,¹⁸ Michele Ginsberg,¹⁹ Paula Kriner,²⁰ Steve Waterman,²¹ Sandra Smole,²² Hugo F. Guevara,²³ Edward A. Belongia,²⁴ Patricia A. Clark,²⁵ Sara T. Beatrice,²⁶ Ruben Donis,¹ Jacqueline Katz,¹ Lyn Finelli,¹ Carolyn B. Bridges,¹ Michael Shaw,¹ Daniel B. Jernigan,¹ Timothy M. Uyeki,¹ Derek J. Smith,^{2,3,4†} Alexander I. Klimov,¹ Nancy J. Cox^{1†}

Souche A/H1N1 de la grippe "porcine" 2009: un OVNI...

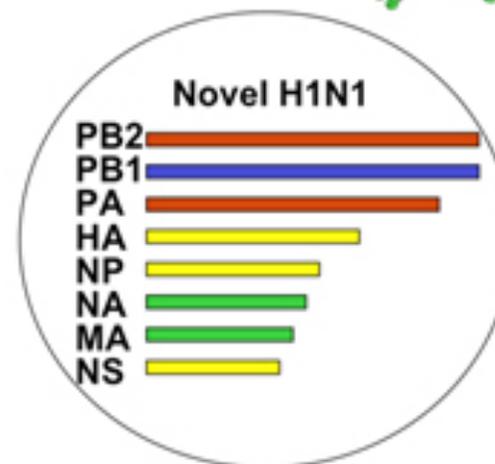
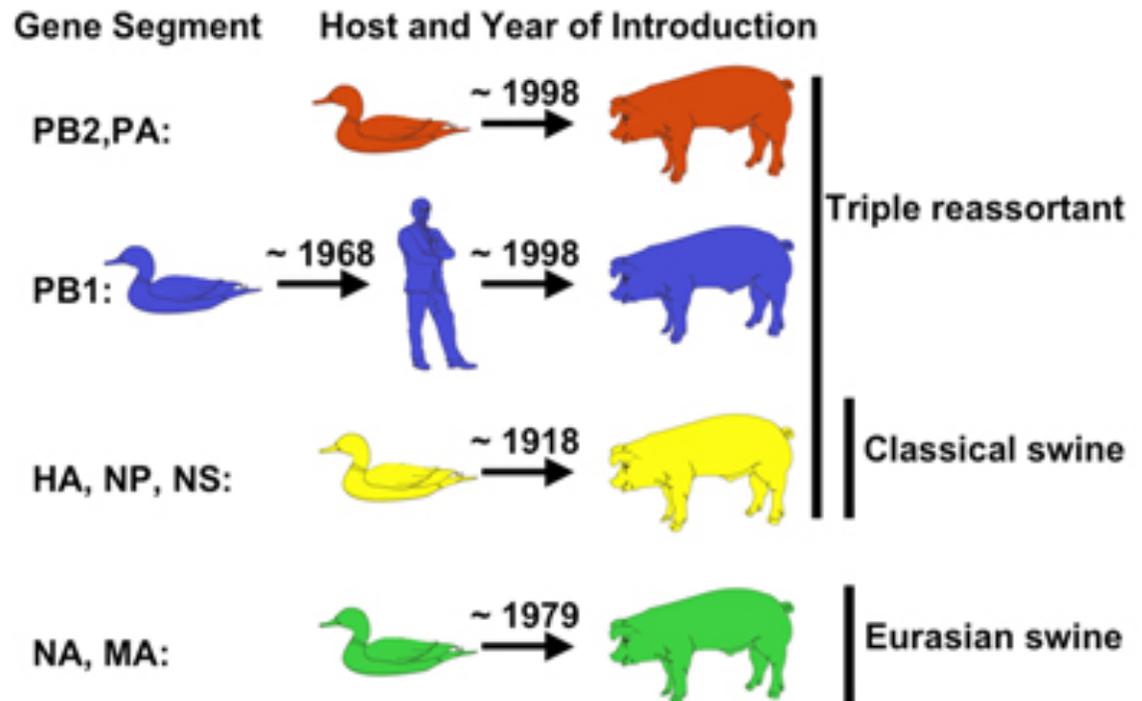
Tous les 8 segments étaient ancestralement d'origine aviaire et avaient commencé à circuler dans la population porcine entre 1918 et 1998.

Six des huit segments étaient issues de réassortants incluant du matériel génétique originaire de virus humains, aviaires et porcins

Ces différents virus circulaient en Amérique du Nord/Centrale et en Asie depuis 1998.

Les deux autres segments étaient originaires de virus porcins eurasiatiques

Ce virus ne montrait pas de signature de haute transmissibilité humaine suggérant l'existence de séquences cryptiques responsables de la transmissibilité élevée nouvellement acquise



Pandémie de grippe "porcine" A/H1N1

11 juin: OMS élève l'alerte au niveau 6 (maximum) = pandémie en cours et engage les pays à prendre les mesures prévues (<http://www.who.int/mediacentre/news/statements>

[/2009/h1n1_pandemic_phase6_20090611/en/index.html](http://www.who.int/mediacentre/news/statements/2009/h1n1_pandemic_phase6_20090611/en/index.html))

La maladie touchait déjà 70 pays et montrait clairement une surmortalité, particulièrement dans des catégories inhabituelle lors des épisodes annuels de grippe hivernale (enfants, femmes enceintes, sujets obèses) et une mortalité à la phase virale sans nécessité de surinfection bactérienne, d'où un traitement plus difficile en l'absence d'efficacité des antibiotiques (hospitalisations requises en USI)

La crainte était à l'aggravation progressive...

Mise en réserve d'antiviraux...

Début en octobre d'une campagne internationale de vaccination...

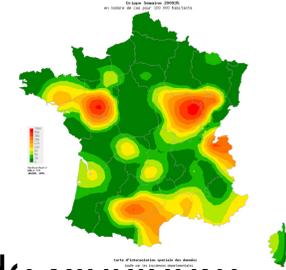
La pandémie s'avèrera moins grave que l'apocalypse prévue

Mortalité inférieure (incidence mortalité = 0,001-0,007 % contre 1-3 % pour la grippe espagnole de 1918)

Tout de même entre 105 700 et 395 600 décès (Dawood et coll. 2012. Lancet Infect Dis)

Ce ne fut pas une "gripette"

Pandémie de grippe "porcine" A/H1N1



Pourquoi les experts se sont-ils "énervés"

Après tout, la grippe saisonnière entraîne chaque année une mortalité de plusieurs centaines de milliers sur la planète (4000 à 6000 en France)

Le virus émergent était nouveau et la population, sauf exception chez certaines personnes > 65 ans, ne bénéficiait pas de l'immunité de fond fournie par la maladie/le vaccin saisonniers

On était donc dans une situation de "switch" classique à l'origine de pandémies historiquement toujours graves, causant des millions de décès

Des catégories "sensibles" de la population étaient plus touchées (enfants, femmes enceintes, sujets obèses)

Comment éviter surestimations/sous-estimations de l'impact ?

Modélisation de la dynamique des épidémies en particulier dans leurs phases initiales

Renforcement des structures, en particulier de modélisation utilisant des modèles mathématiques de pointe pour mieux comprendre et anticiper la propagation

Veille internationale, collections de données inédites

Compréhension des déterminants spatiaux et temporels de la propagation en vue d'apporter une contribution

aux décisions publiques et d'améliorer les stratégies de prise en charge