

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

M1 Microbiologie-Pathologies

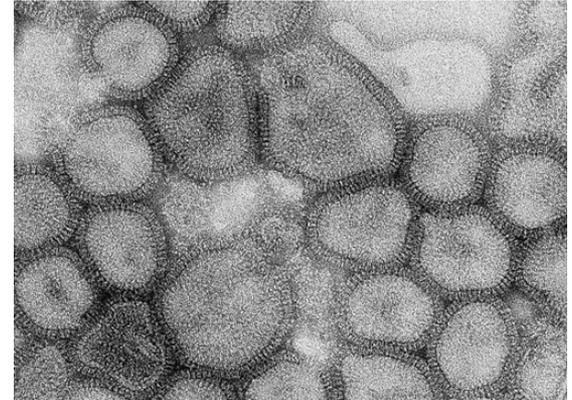
BM Imbert-Marcille

Année 2023-2024

Les virus respiratoires émergents

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

Structure des virus grippaux (7-8 segments)



-PB1, PB2, PA:
transcriptase

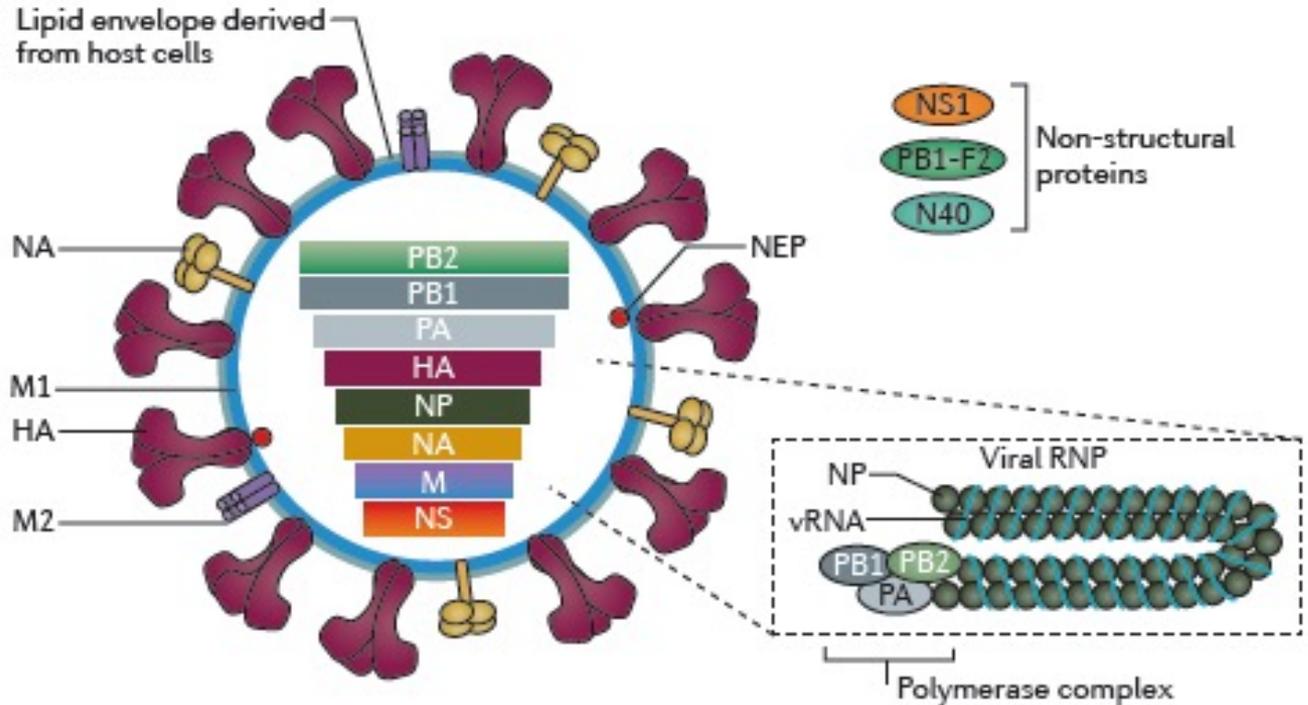
-HA:
hémagglutinine

-NP:
nucléocapside

-NA:
neuraminidase

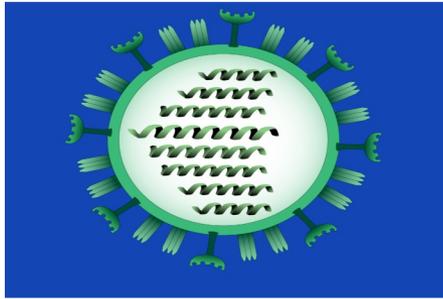
-M: prot matrice
M1 et canal
ionique M2

-NS: prot non
structurales

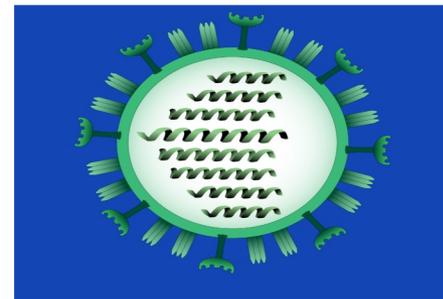


Trois types et de nombreux sous-types

Type B



Type C (7 seg)



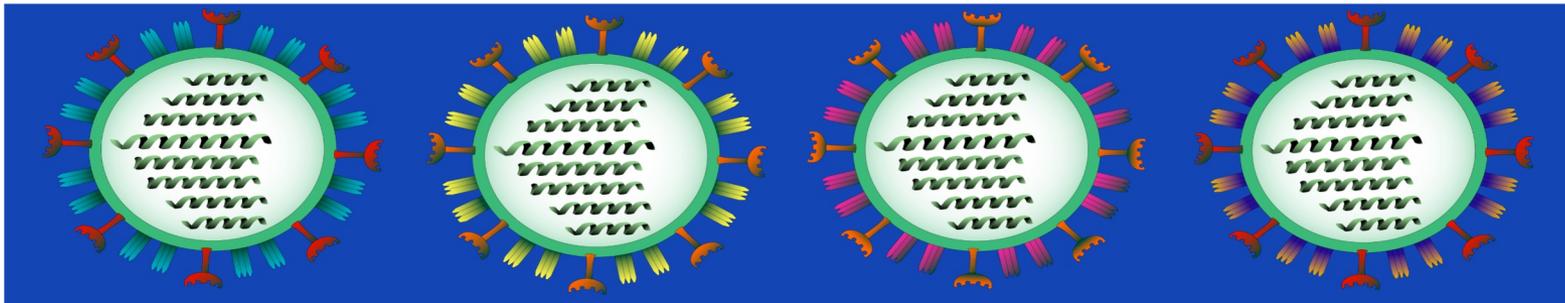
Type A (144 sous-types possibles)

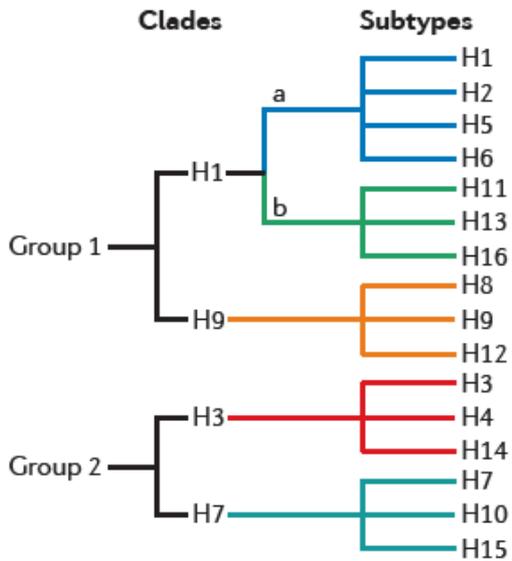
H1N1

H2N2

H3N2

H5N1





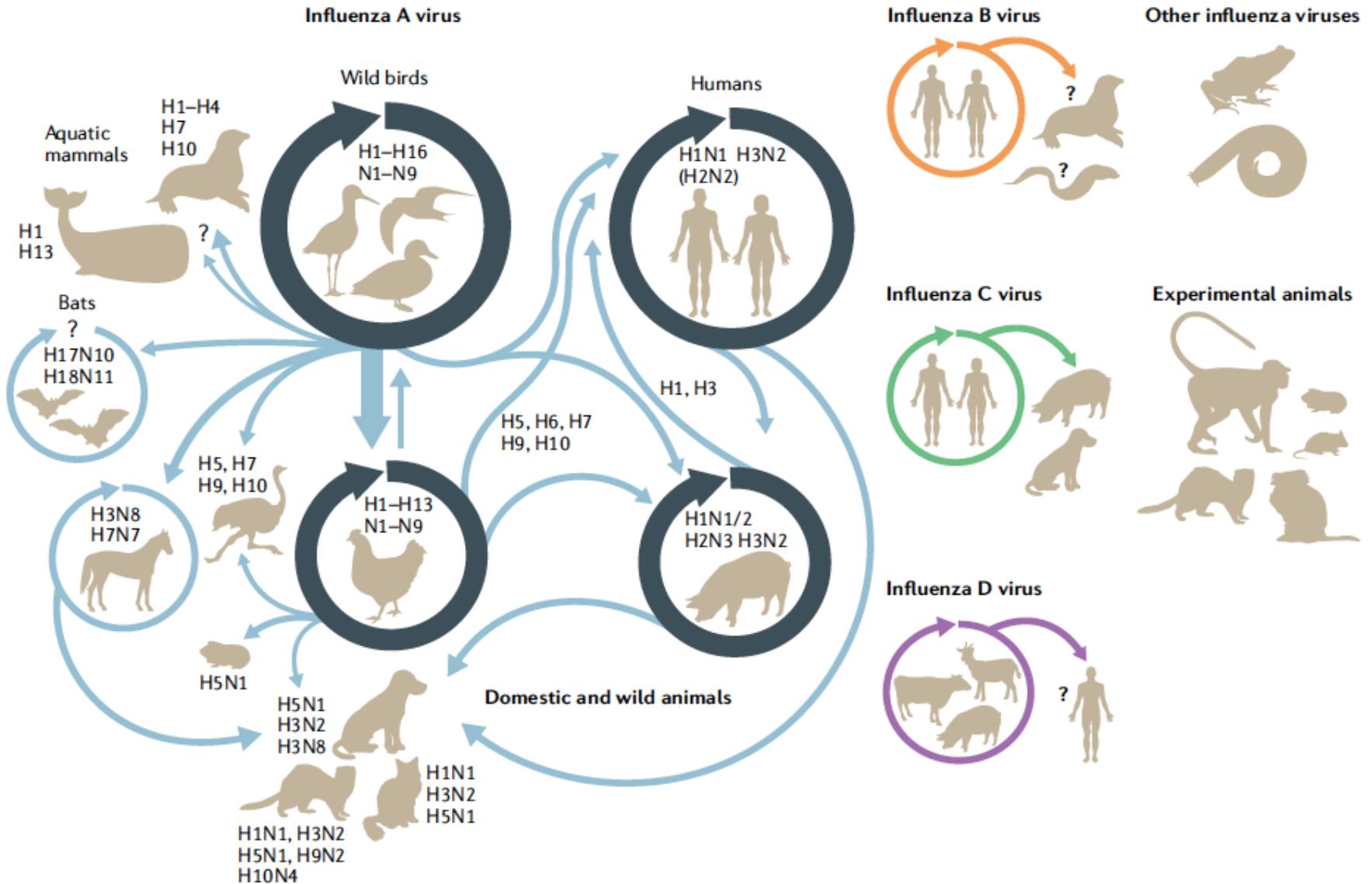
Distribution des sous-types de la neuraminidase du virus A dans la nature

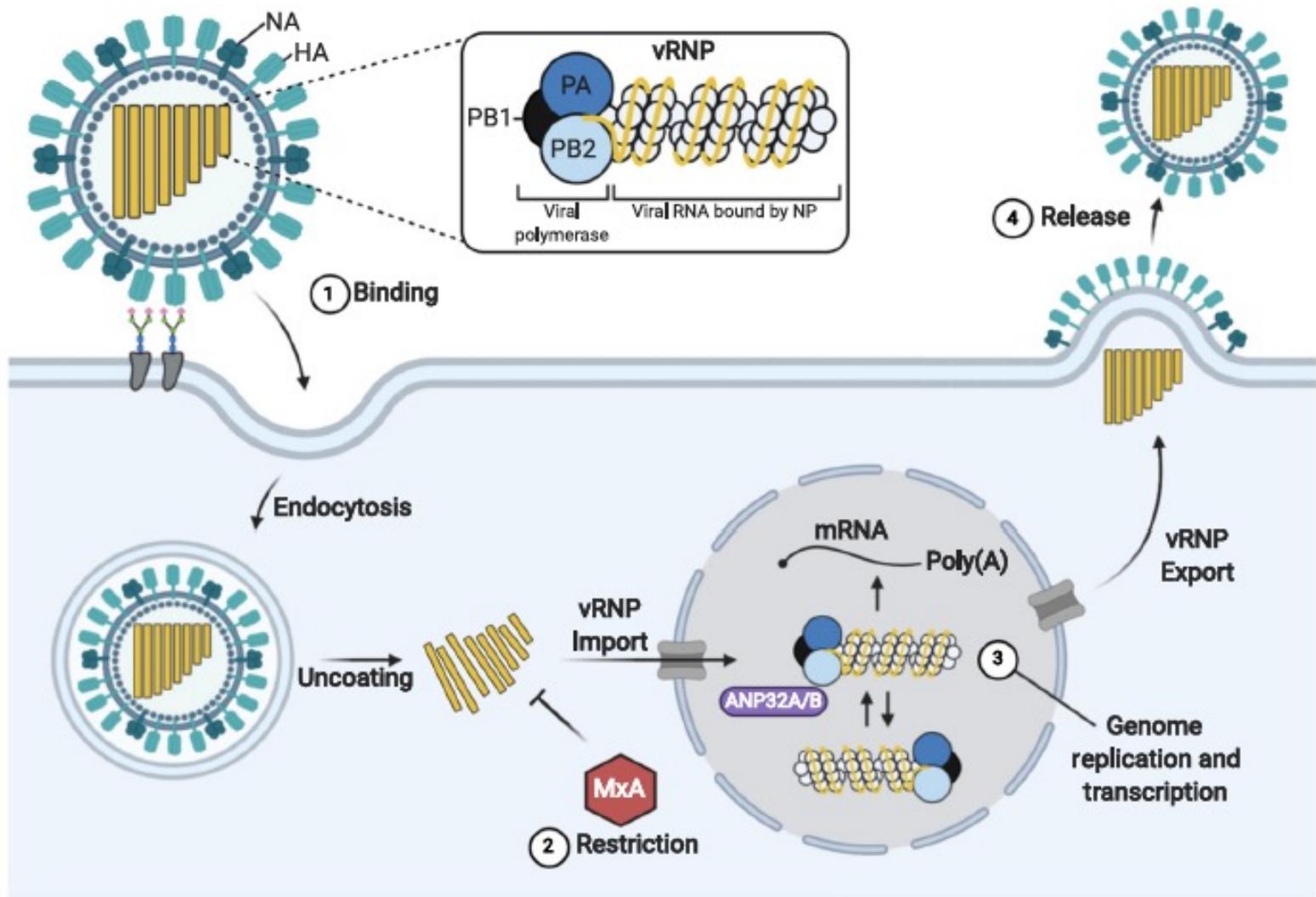
Subtype	Human	Pig	Duck	Horse
N1	✓	✓	✓	✓
N2	✓	✓	✓	
N3			✓	
N4			✓	
N5			✓	
N6			✓	
N7			✓	✓
N8			✓	✓
N9			✓	

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

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

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





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

- Hémagglutinine:

- Clivage de HAo en HA1 et HA2 par protéase (trypsine en culture)
- Attachement du virus à la cellule: R aux acides sialiques liés au galactose par des liaisons glycosidiques:
 - de type NeuAc α 2,3Gal (Virus aviaires et équins)
 - de type NeuAc α 2,6Gal (Virus humains)
- Activité fusogène de HA2 (dans vésicule d'endocytose)
- Cible majeure de la réponse anticorps

- Neuraminidase:

- Activité sialidase, permettant libération des virions néoformés par coupure entre l'acide sialique et l'hémagglutinine
- Cible des anticorps

La variabilité génétique...et ses conséquences

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

Pandémies grippales

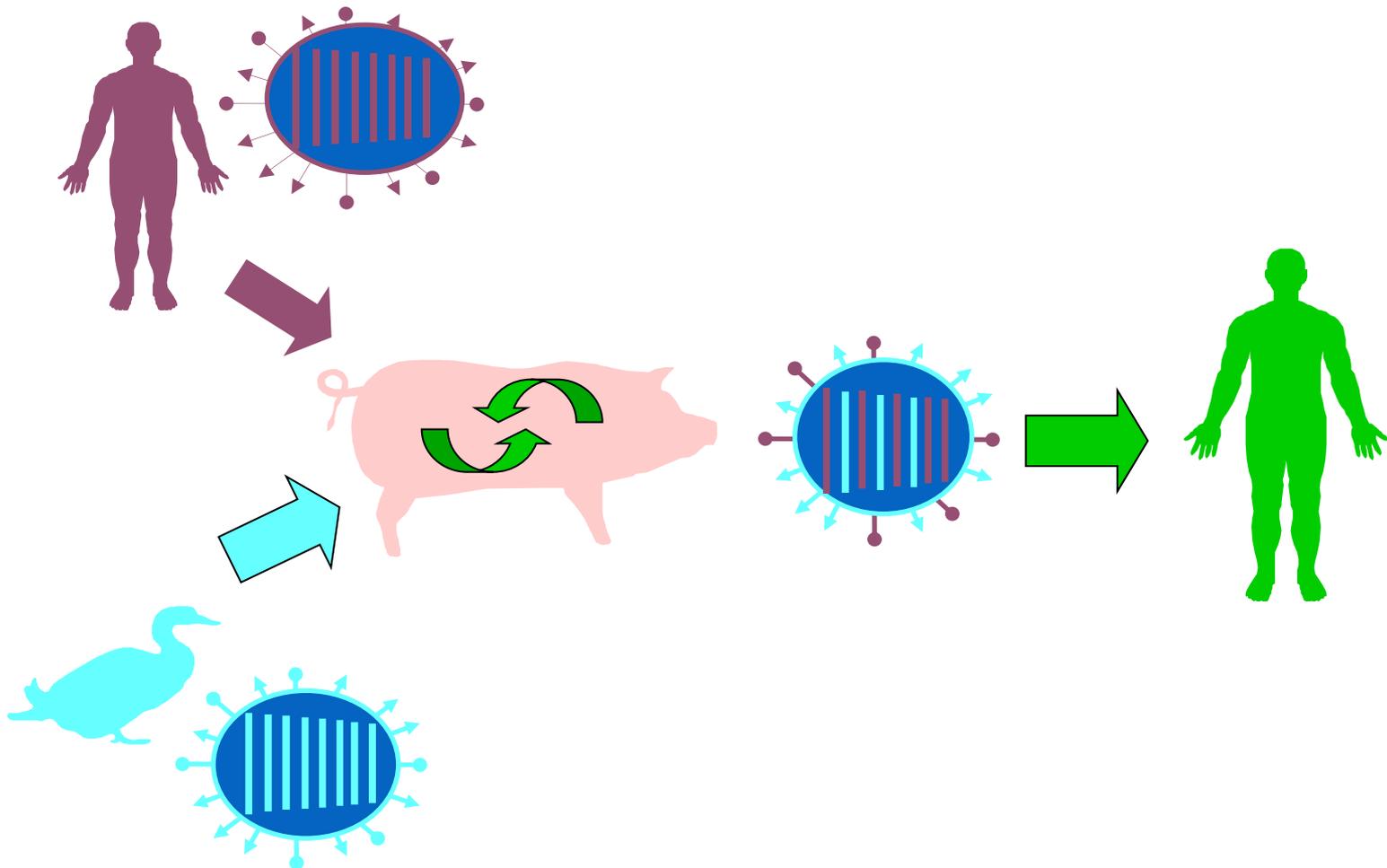
Mortalité au cours des pandémies du XX^e siècle



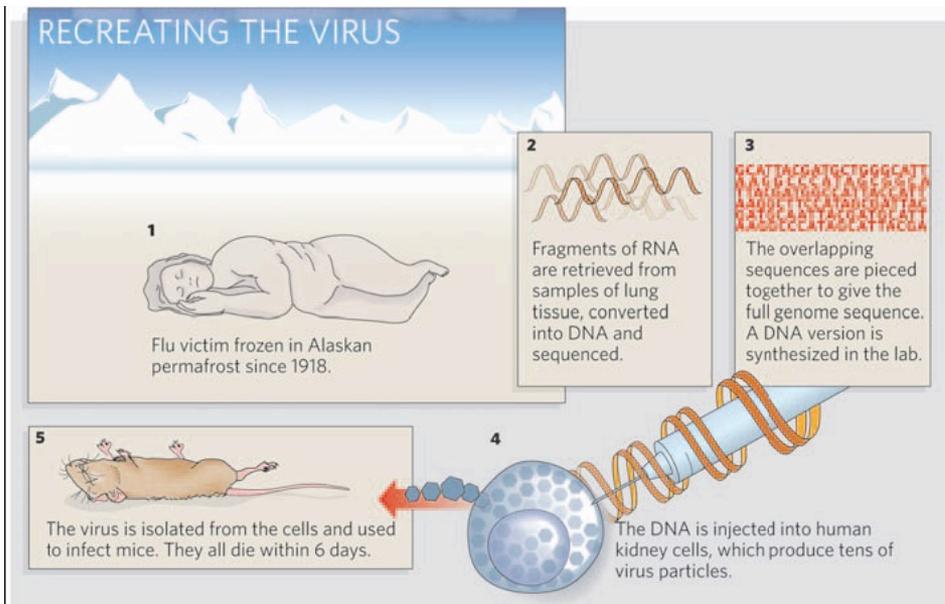
1918-19	« Grippe espagnole » A(H1N1)	≈ 40 millions de décès dans le monde
1957-58	« Grippe asiatique » A(H2N2)	1 million de décès dans le monde
1968-69	« Grippe de Hong-Kong » A(H3N2)	0,8 millions de décès dans le monde
1977	«Grippe russe» A(H1N1)	

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

Réassortiment entre virus aviaire et humain



La « résurrection » du virus H1N1 de 1918

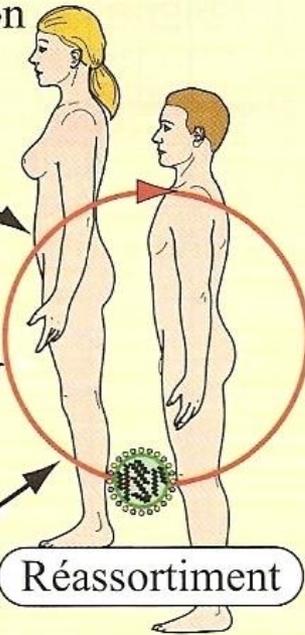


- Les 8 segments sont d'origine aviaire
- Pouvoir pathogène accru
 - Comparaison souche ancestrale avec la souche Texas (H1N1 dans les 2 cas): 50 fois plus de particules virales produites sur cultures de cellules pulmonaires humaines, 39 000 fois plus de particules virales dans les poumons de souris infectées, mortalité 100% (0%)
 - Gravité de l'atteinte pulmonaire (modèle murin): exacerbation du syndrome inflammatoire par augmentation de l'afflux de polynucléaires et hyperactivation des macrophages alvéolaires
 - Virulence attribuée à HA et au complexe ARN polymérase

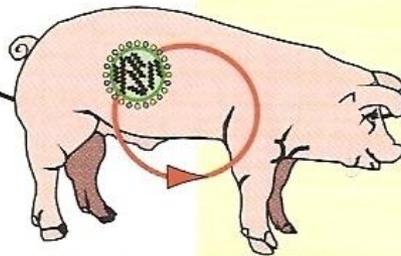
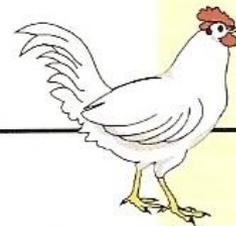
Transmission directe



Adaptation



Virulence



Réassortiment

Réassortiment

Virus humain



Transmission indirecte

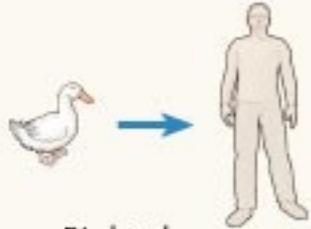
1918 "Spanish influenza"

1957 "Asian influenza"

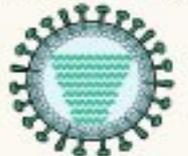
1968 "Hong Kong influenza"

Next pandemic influenza

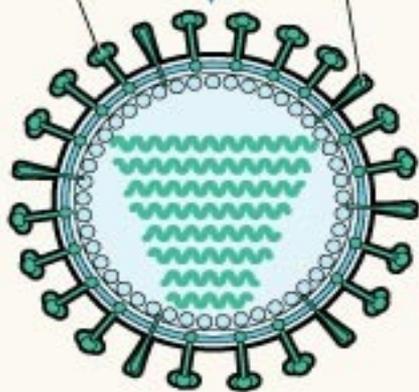
H1N1 influenza virus



Bird-to-human transmission of H1N1 virus

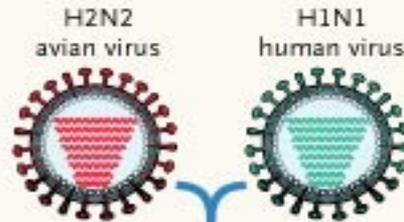


Hemagglutinin Neuraminidase

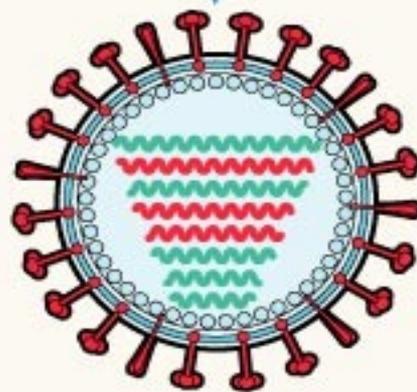


All 8 genetic segments thought to have originated from avian influenza virus

H2N2 influenza virus

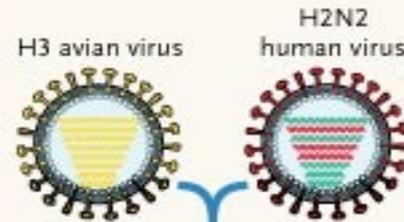


Reassortment

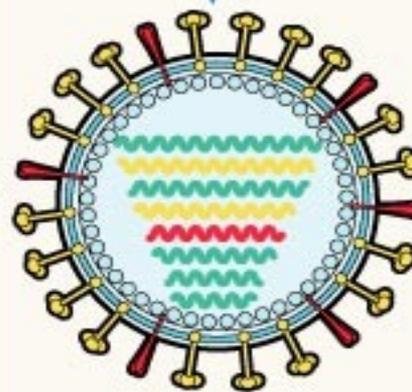


3 new genetic segments from avian influenza virus introduced (HA, NA, PB1); contained 5 RNA segments from 1918

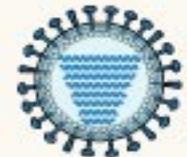
H3N2 influenza virus



Reassortment



2 new genetic segments from avian influenza virus introduced (HA, PB1); contained 5 RNA segments from 1918



Avian virus

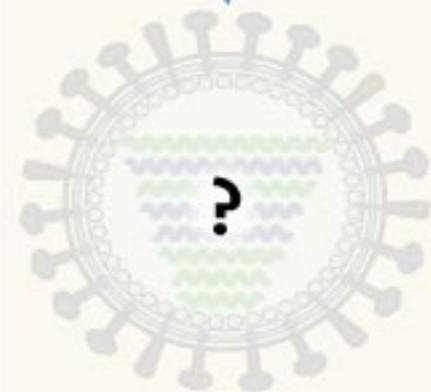
or



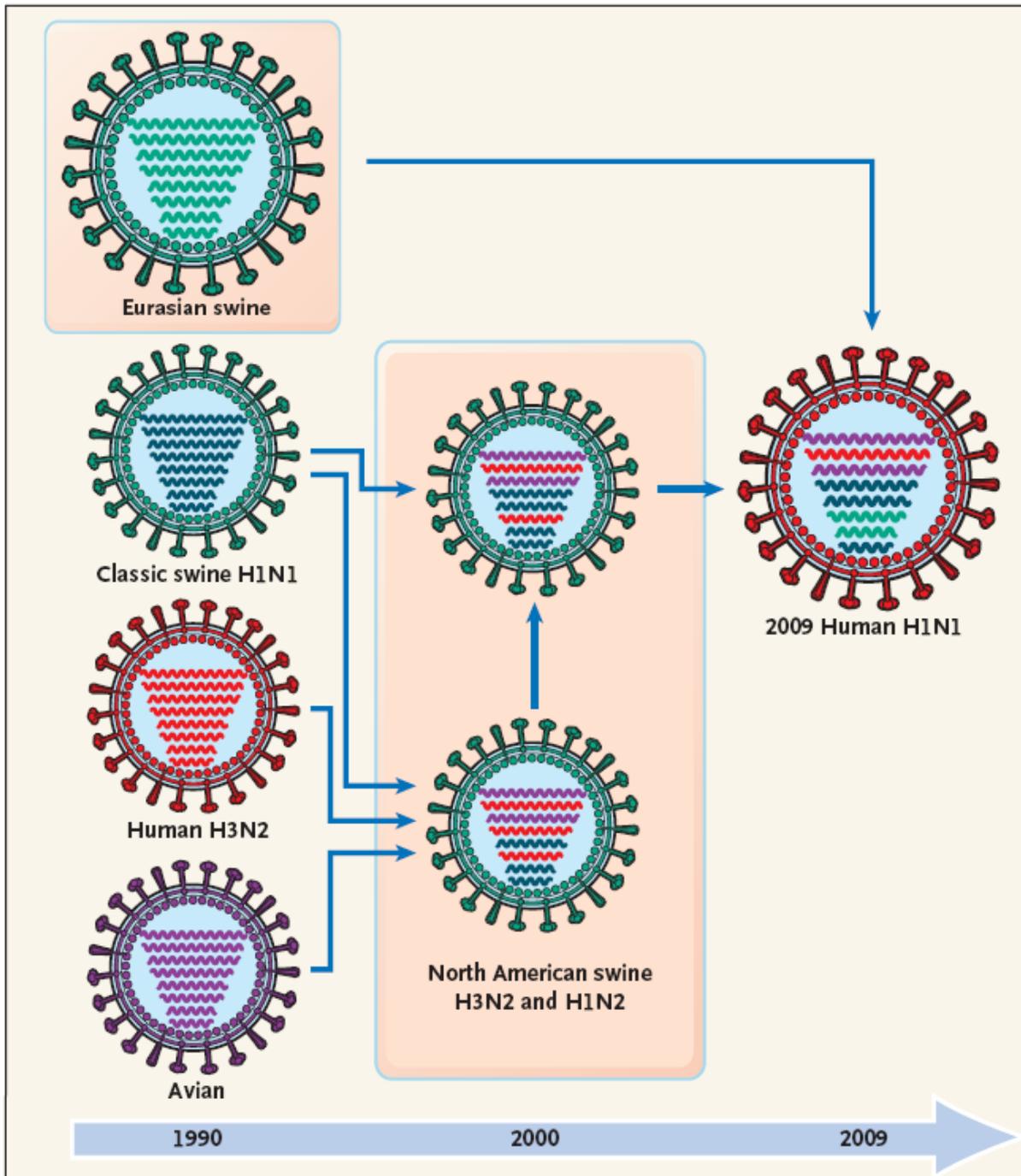
Avian virus

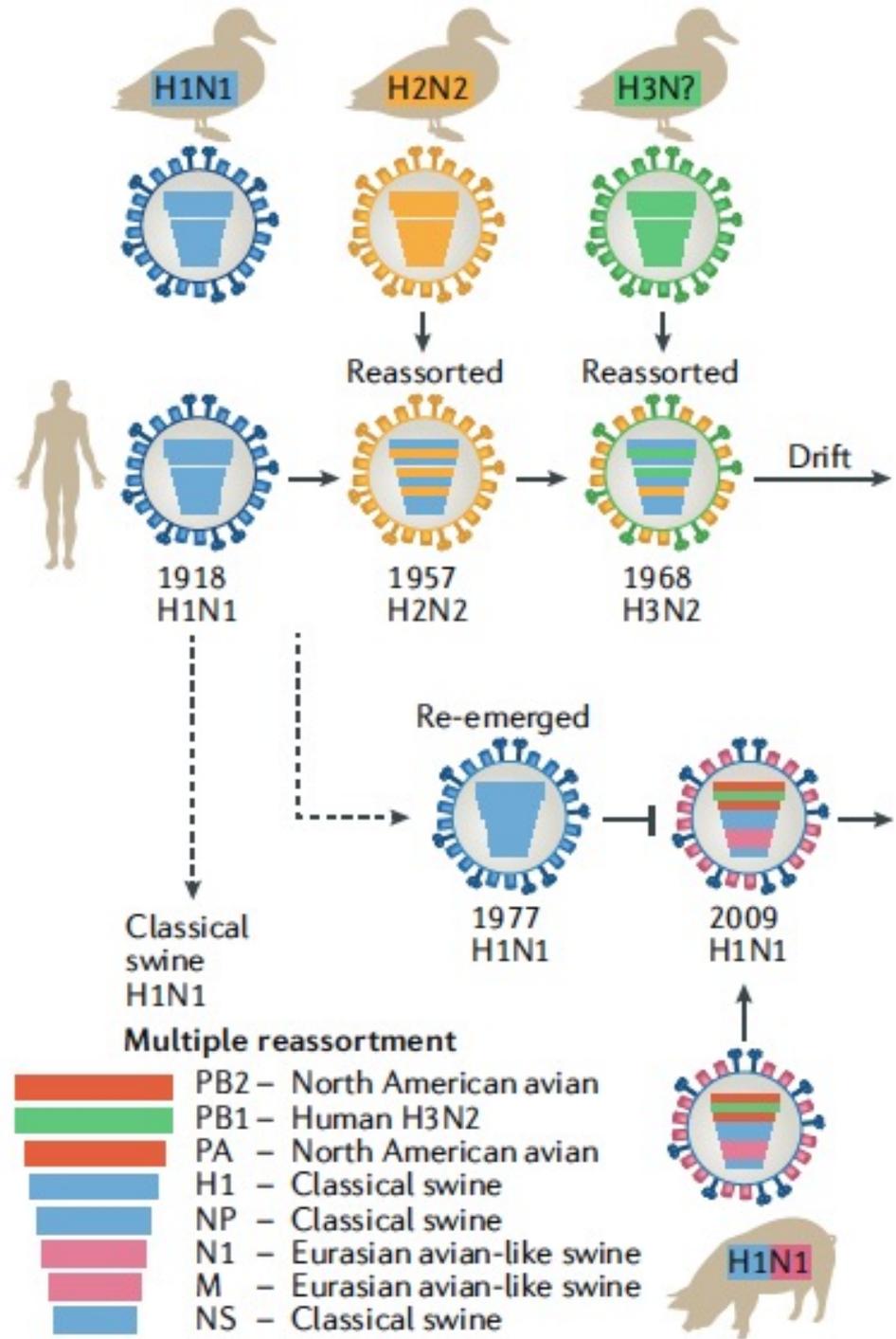


H3N2 human virus



All 8 genes new or further derivative of 1918 virus





Les virus aviaires

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

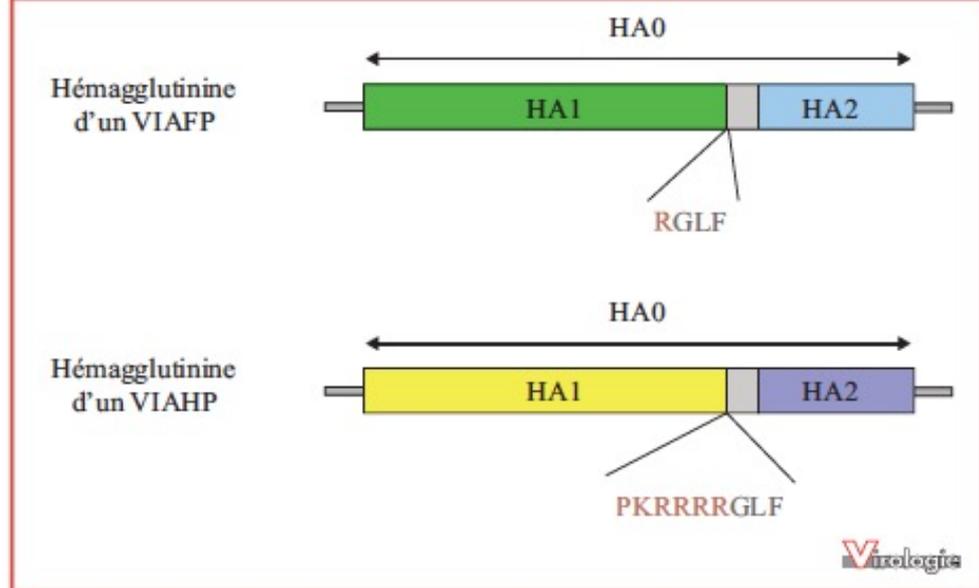


Figure 2. Hémagglutinines des virus influenza aviaries faiblement et hautement pathogènes. Le clivage protéolytique de la molécule précurseur HA0 en deux sous-unités HA1 et HA2 se fait au niveau d'un site de clivage qui est monobasique pour les VIAFP et polybasique pour les VIAHP.

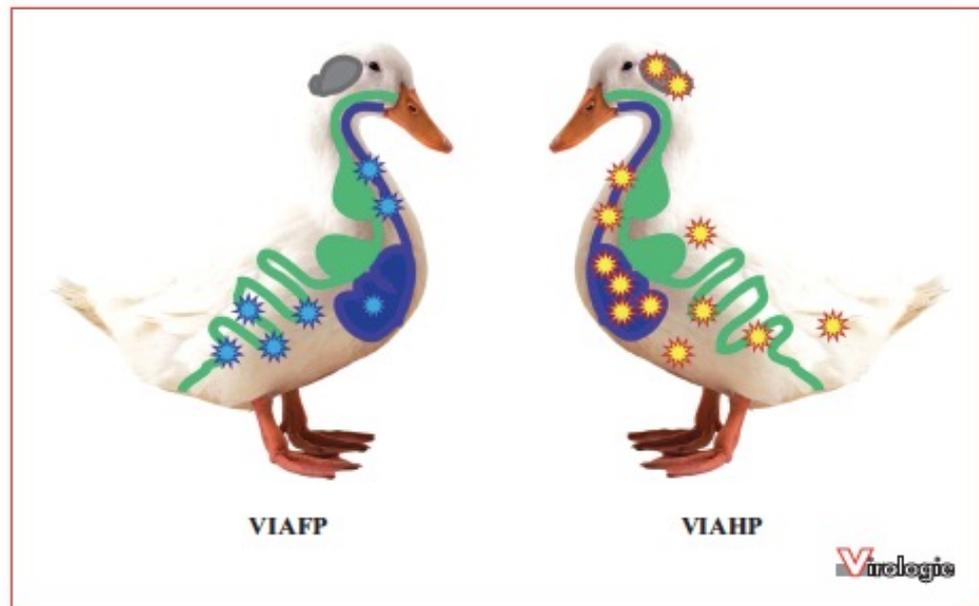


Figure 3. Réplication des virus influenza aviaries faiblement et hautement pathogènes chez les oiseaux. Les étoiles indiquent les sites de réplication virale. La réplication des VIAFP est généralement limitée aux appareils respiratoires et digestifs, tandis que les VIAHP peuvent se répliquer de manière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

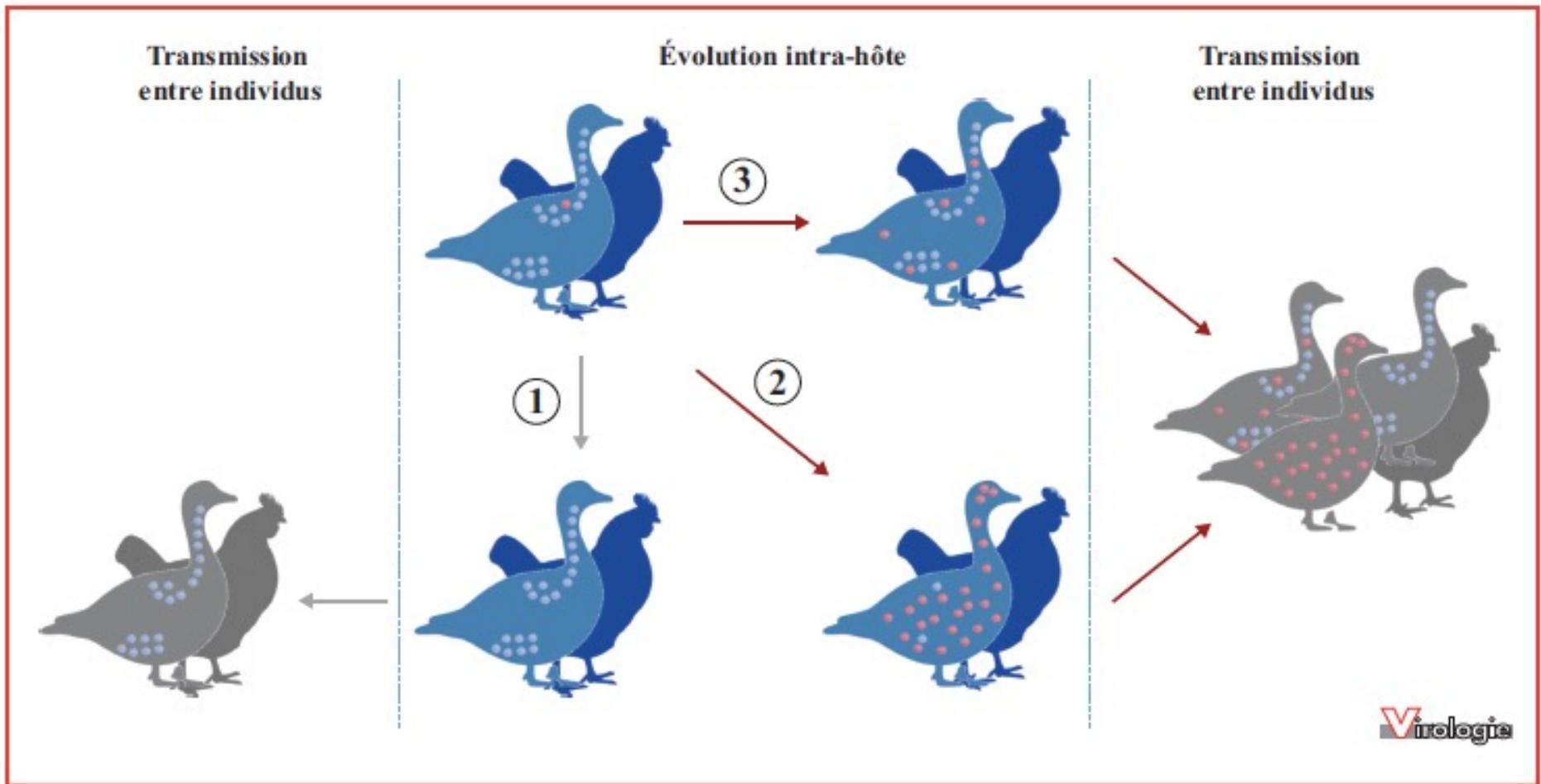
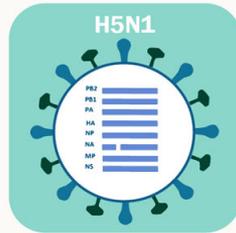
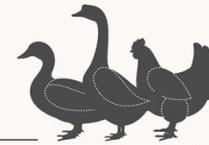


Figure 5. Scénarios possibles suite à l'émergence d'un VIAHP au sein d'un individu. Lorsqu'un VIAHP (rouge) émerge à partir d'un VIAFP précurseur (bleu) au sein d'un hôte, il pourrait disparaître (1), du fait de facteurs dépendant de l'hôte comme de la souche virale, et ne jamais être transmis, ou bien parvenir à devenir un variant (plus ou moins majoritaire) de la quasi-espèce (2 et 3) et être transmis à d'autres individus.

Emergence and Evolution of H5N1 BIRD FLU

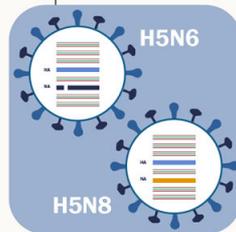
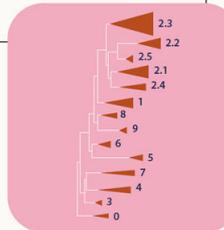


1996-1997 H5N1 bird flu virus first detected

In 1996, highly pathogenic avian influenza H5N1 virus is first identified in domestic waterfowl in Southern China. The virus is named A/goose/Guangdong/1/1996. In 1997, H5N1 poultry outbreaks happen in China and Hong Kong with 18 associated human cases (6 deaths) in Hong Kong. This virus would go on to cause more than 860 human infections with a greater than 50% death rate.

H5N1 spreads 2003-2005

For several years, H5N1 viruses were not widely detected; however, in 2003, H5N1 re-emerges in China and several other countries to cause widespread poultry outbreaks across Asia. In 2005, wild birds spread H5N1 to poultry in Africa, the Middle East and Europe. The hemagglutinin (HA) gene of the virus diversifies into many genetic groups (clades). Multiple genetic lineages (genotypes) are detected.

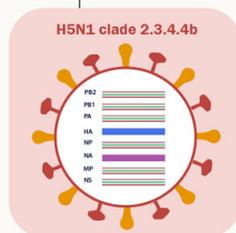
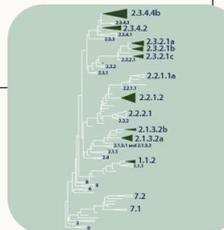


2014-2016 H5N6 and H5N8 viruses emerge

Gene-swapping of H5 viruses from poultry and wild birds leads to emergence/detection of H5N6 and H5N8 virus subtypes. HA diversifies further into clade 2.3.4.4 in Asia, Africa, Europe, the Middle East and North America. H5 viruses with various neuraminidase (NA) genes continue to be detected, including in U.S. wild birds and poultry.

2.3.4.4b viruses spread widely 2018-2020

H5N6 and H5N8 viruses become predominant globally, replacing the original H5N1 viruses. As of 2022, there have been more than 70 reported H5N6 human infections and 7 H5N8 human infections. The H5 HA diversifies further into clade 2.3.4.4b which becomes predominant in Asia, Africa, Europe, and the Middle East.



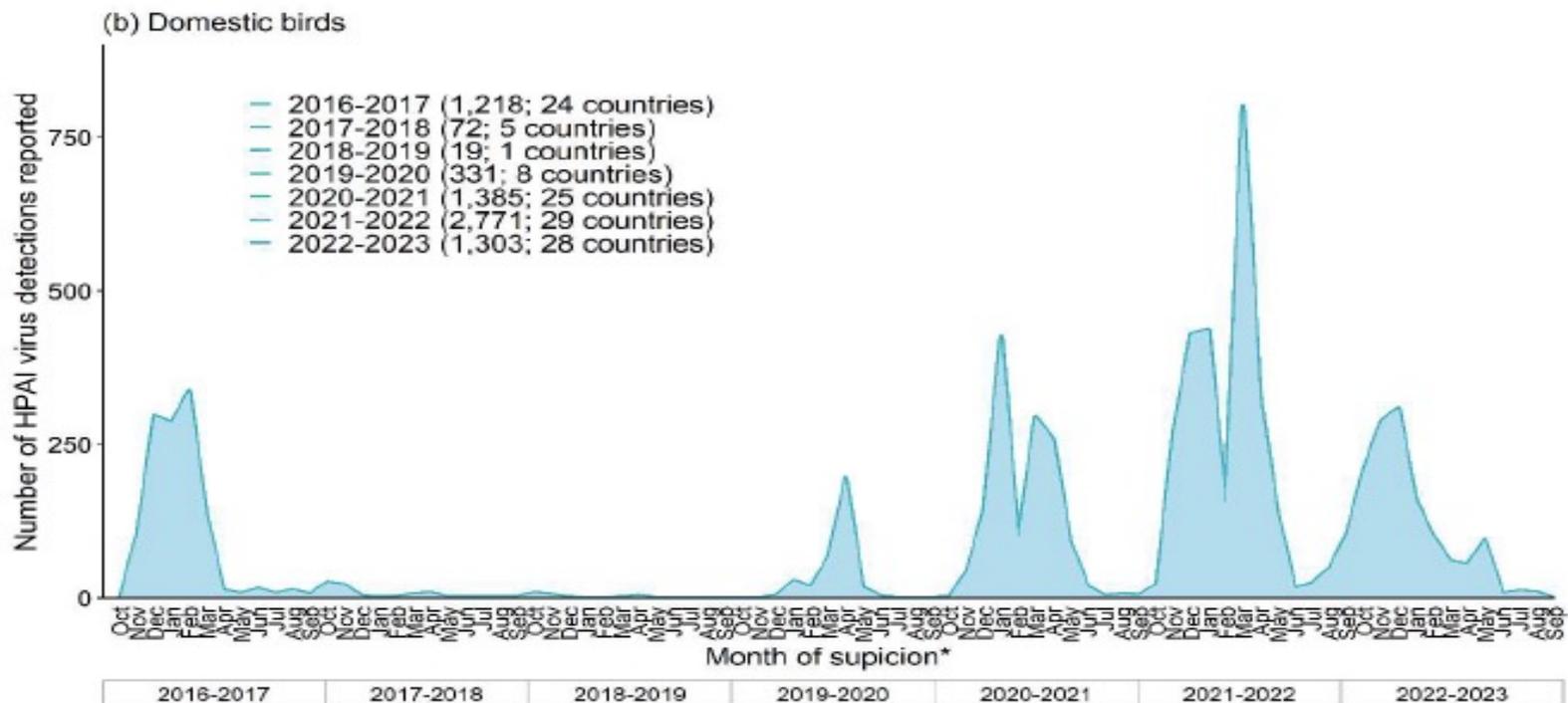
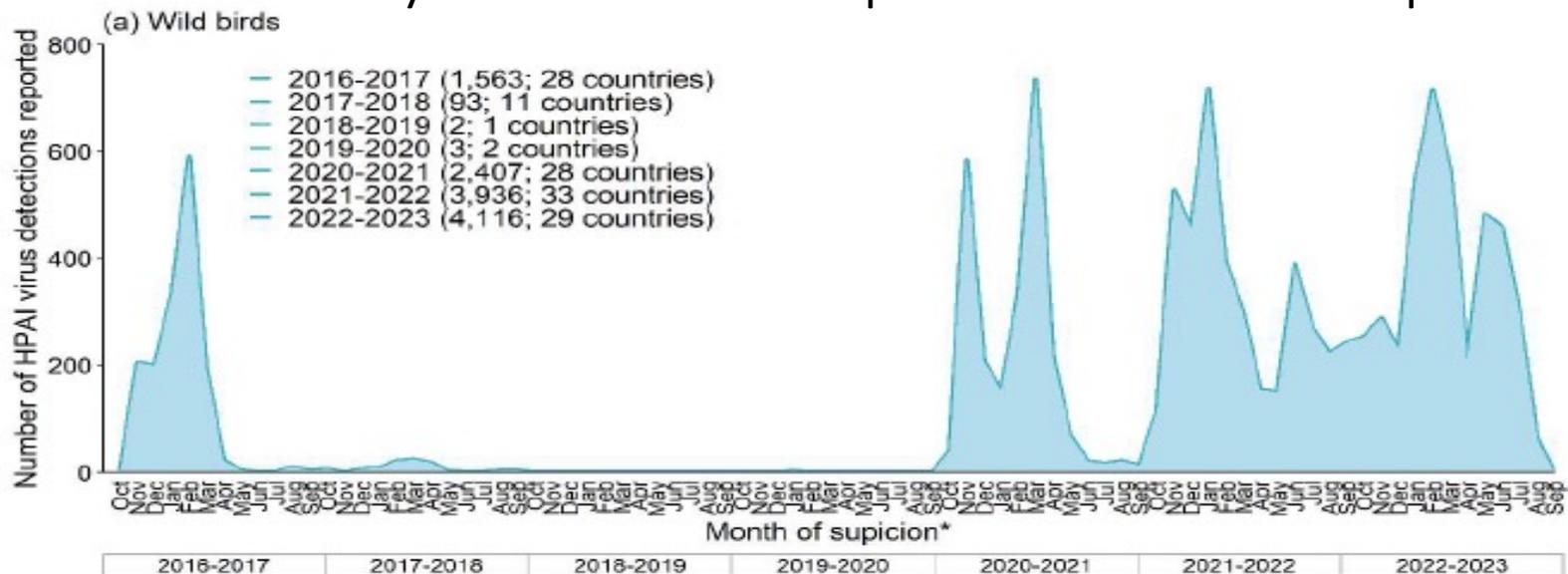
2021-2022 H5N1 found in Canada, US

A new H5N1 virus belonging to clade 2.3.4.4b with a wild bird adapted N1 NA gene emerges. Clade 2.3.4.4b H5N1 viruses become predominant in Asia, Africa, Europe, and the Middle East by the end of 2021. The virus is detected in Canada and U.S. wild birds in late 2021. In February 2022, the virus begins causing outbreaks in U.S. commercial and backyard poultry. At this time, two human cases with current H5N1 bird flu viruses have been reported. One occurred in the United Kingdom in 2021 and one in the United States in 2022.

More information is available:
<https://www.cdc.gov/flu/avianflu/inhumans.htm>.



Nombre de foyers de HPAI depuis 2016 en Europe



Countries with Highly pathogenic avian influenza outbreaks in 2015-2020

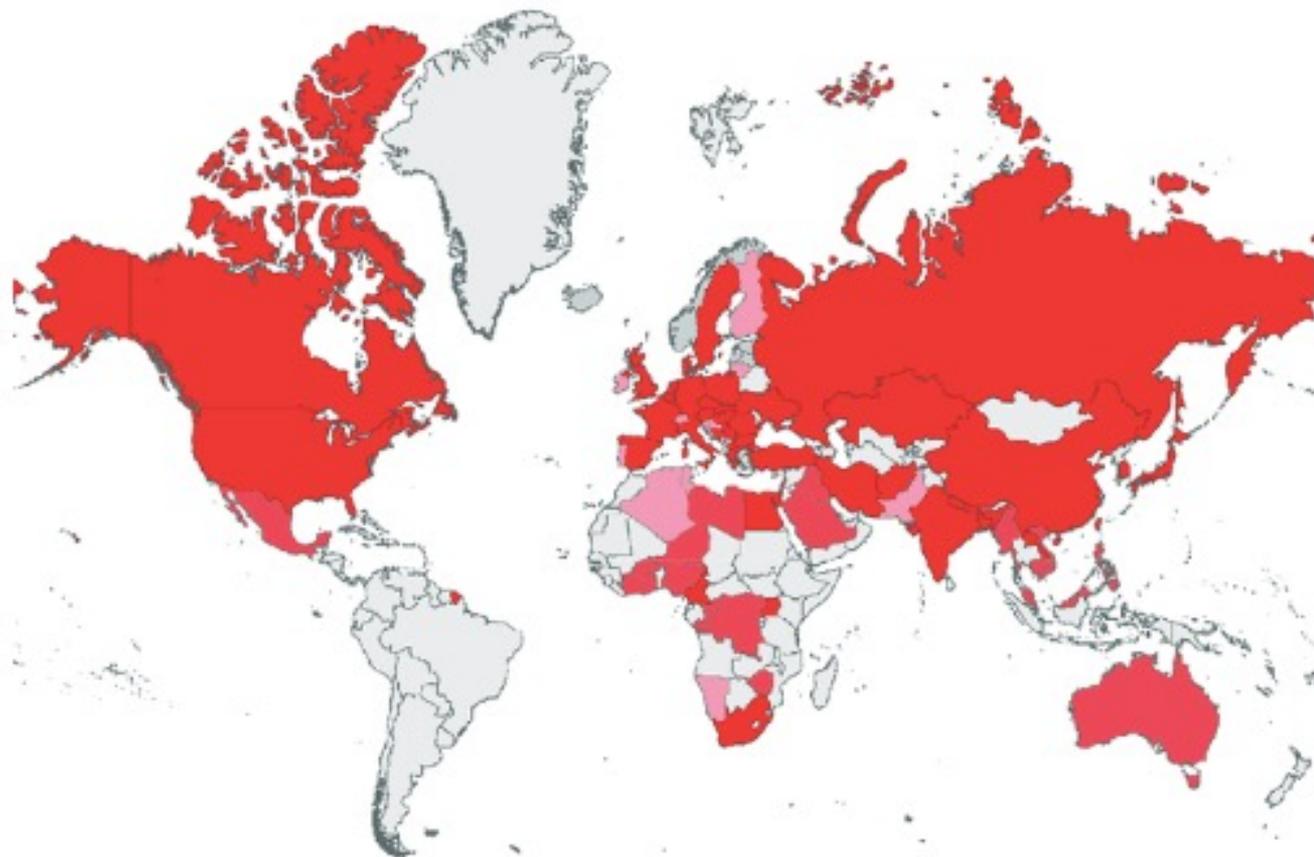
In wild birds



In poultry



In poultry and wild birds

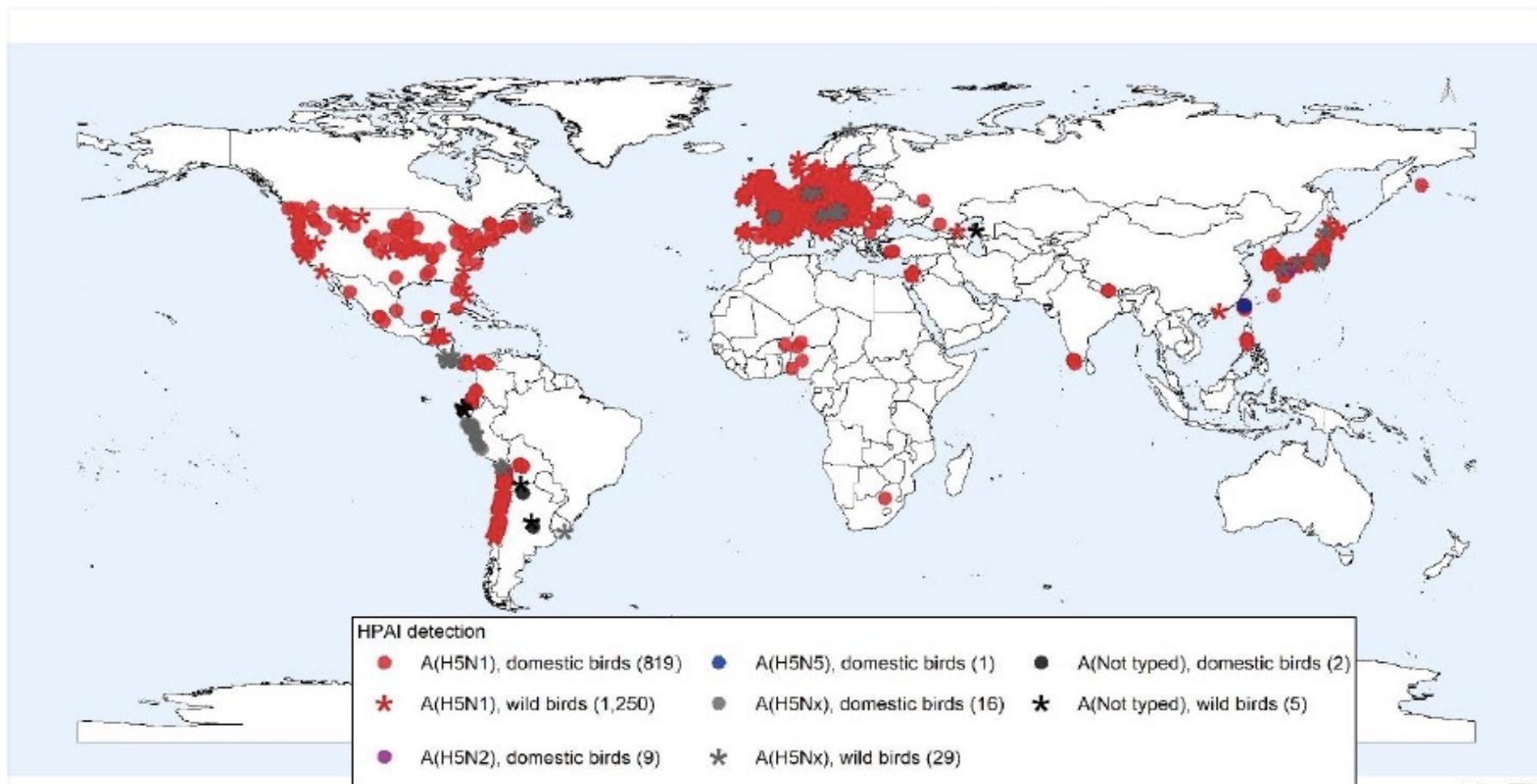


Map produced on: 13 Oct 2020. Administrative boundaries: [©]EuroGeographics, [©]UN-FAO
Data sources: ADNS and OIE
850 x 600

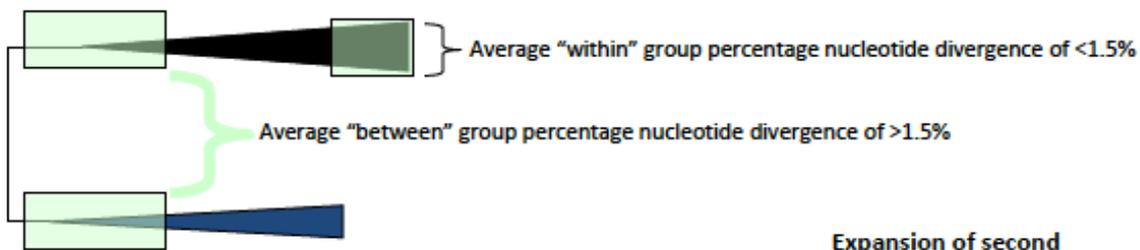
Map of countries where outbreaks of HPAI were reported in wild birds... | Download Scientific Diagram

Consulter

Avian influenza overview December 2022 - March 2023

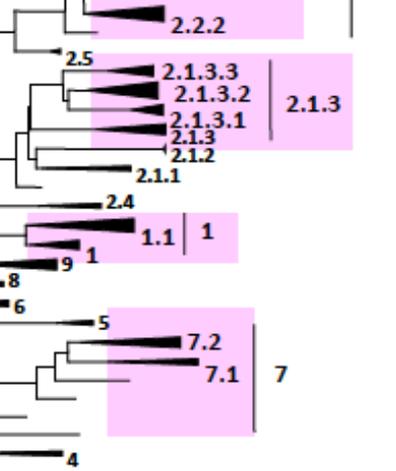
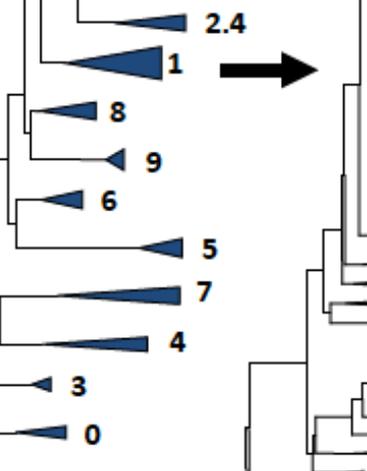
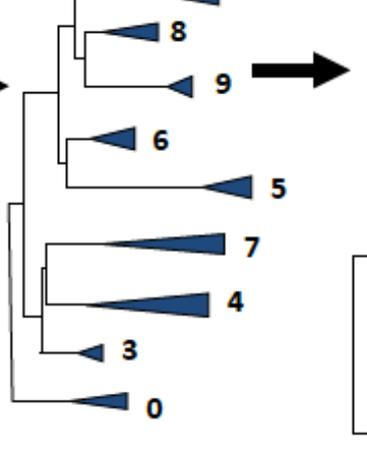
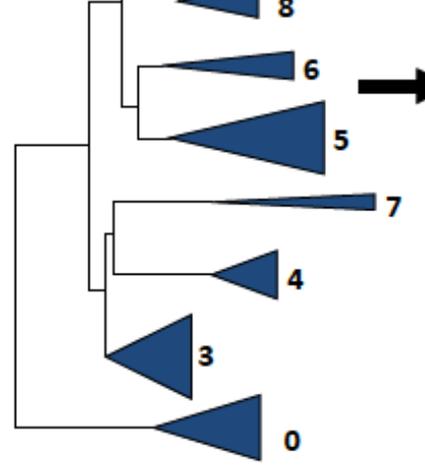
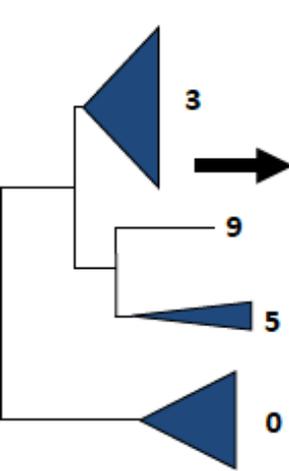


Evolution of the Asian H5 Hemagglutinin

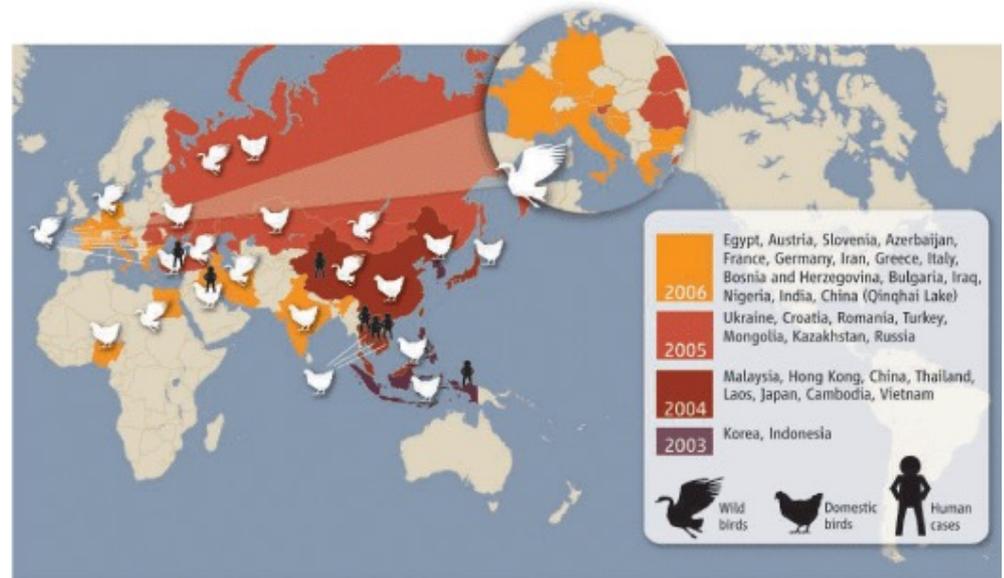


Expansion of first, second and third order clades into additional second, third and fourth order clades

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



Souches aviaires HPAI



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

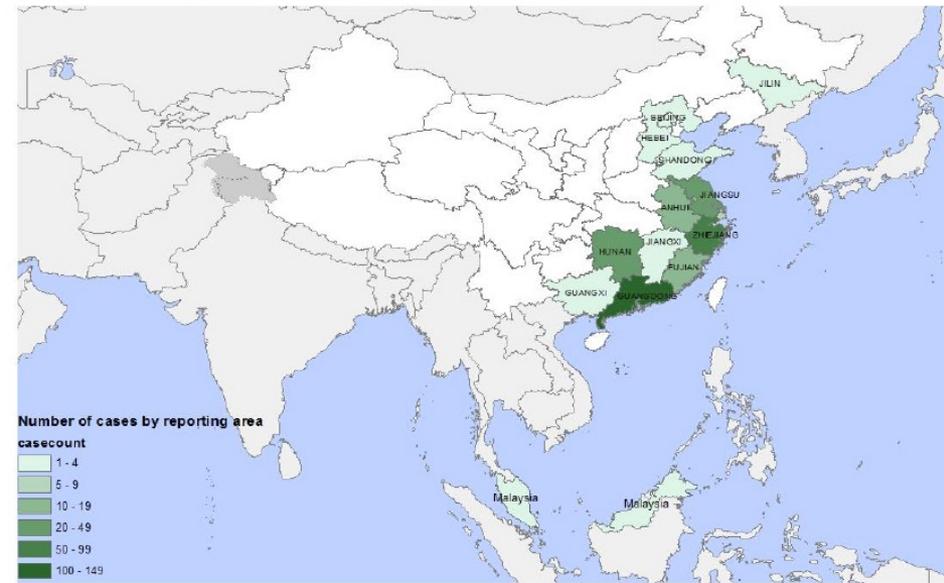
Examples of Transmission of Avian Influenza Viruses to Humans.*

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

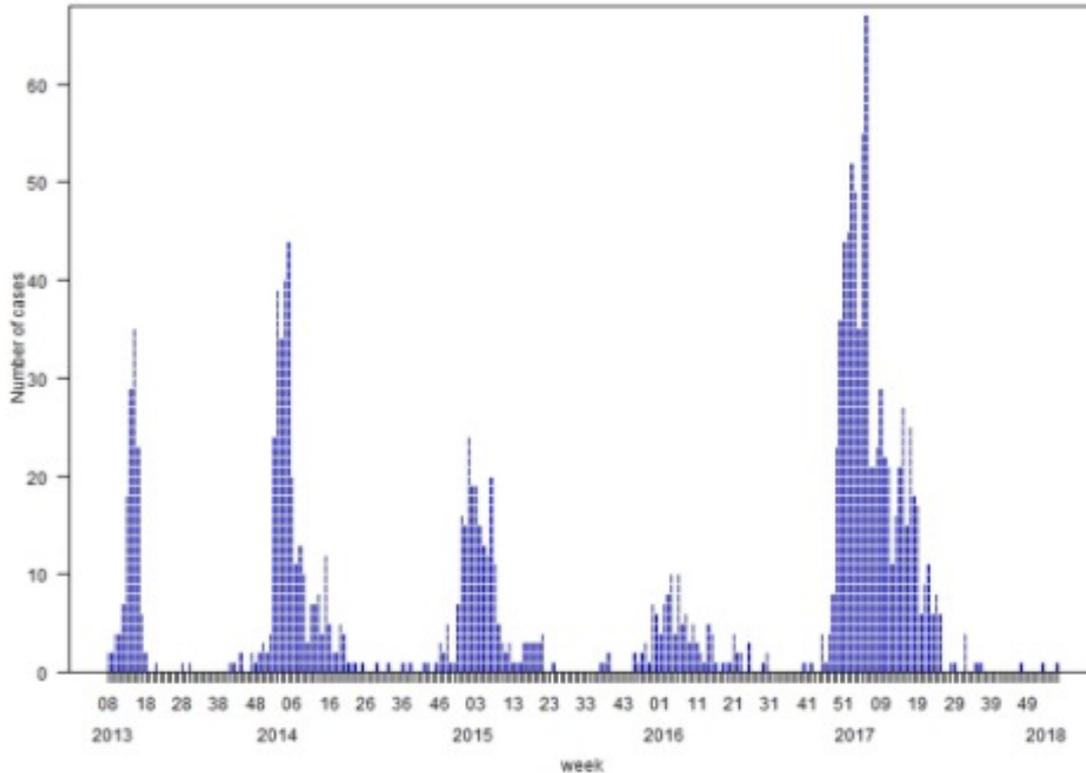
* H5 and H9 viruses have generally been associated with respiratory disease, whereas H7 has generally been associated with conjunctivitis. NA denotes not available.

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

Areas reporting confirmed human cases for influenza A(H7N9) to WHO from 2013-06-01 *



Number of Confirmed Human H7N9 Cases
by week as of 2018-8-31



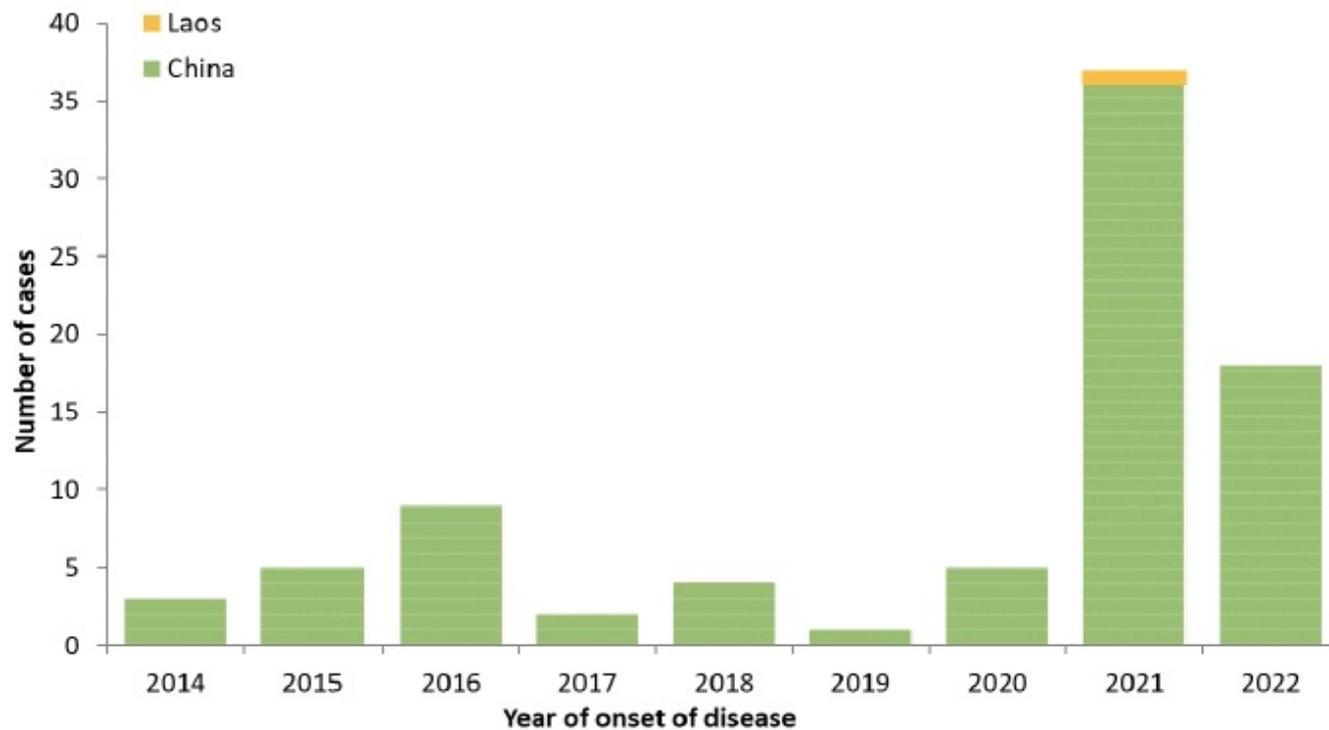


Figure 11: Distribution of confirmed human cases of avian influenza A(H5N6) virus infection by year of onset and country, 2014–2023 (updated on 2 March 2023, n=84)

La grippe aviaire chez l'homme

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

Physiopathologie de la grippe aviaire

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

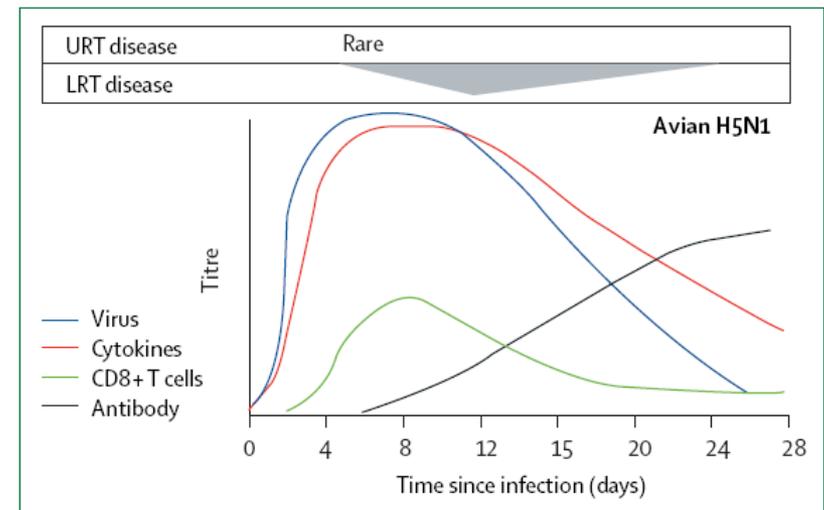
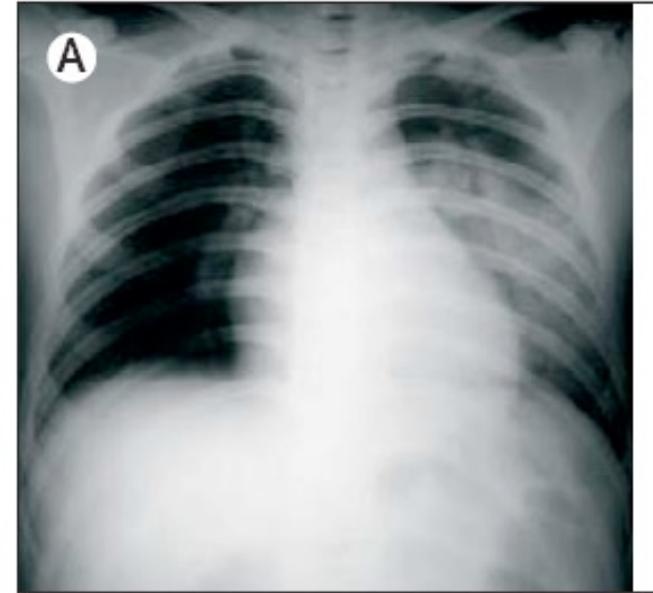
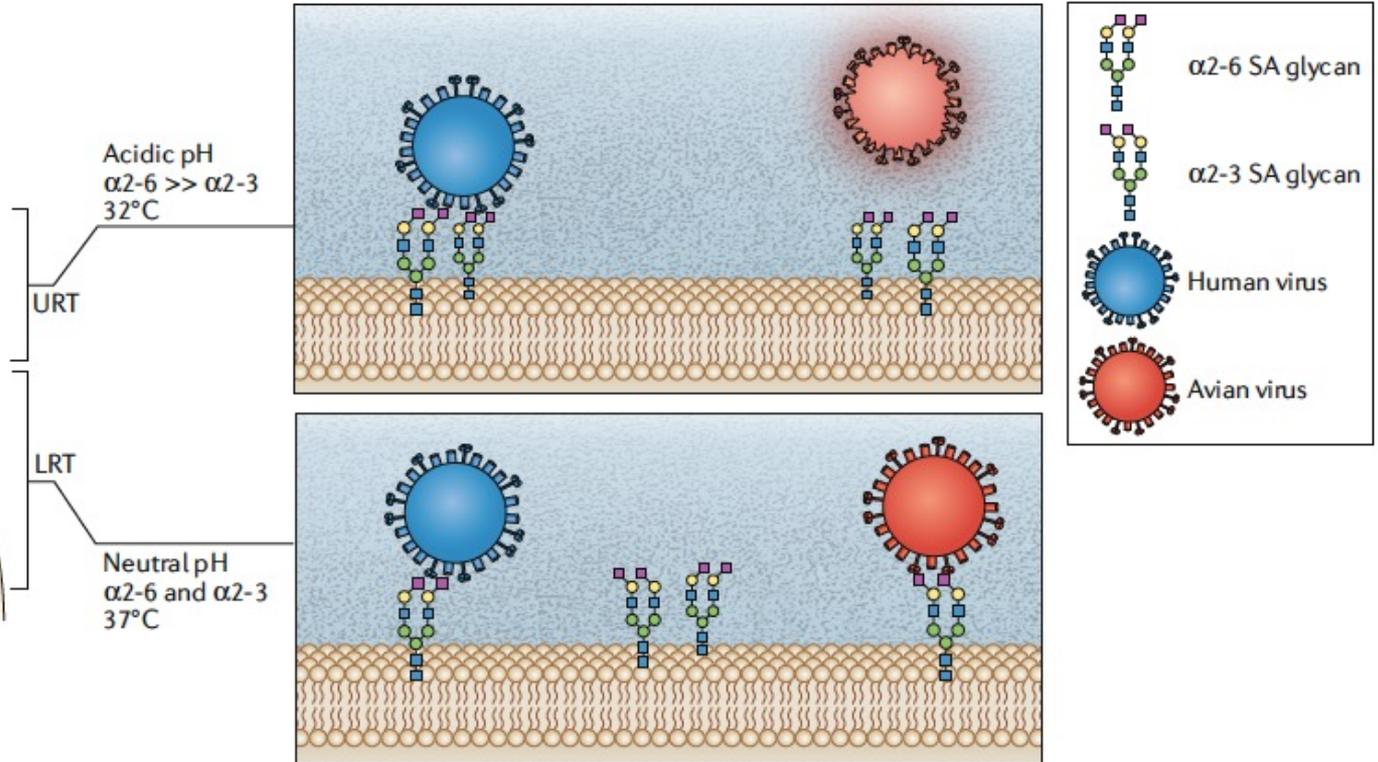
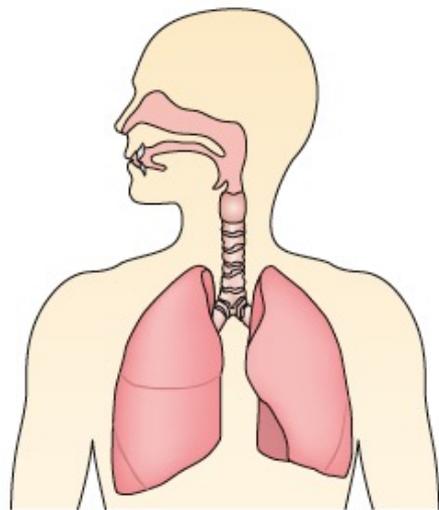


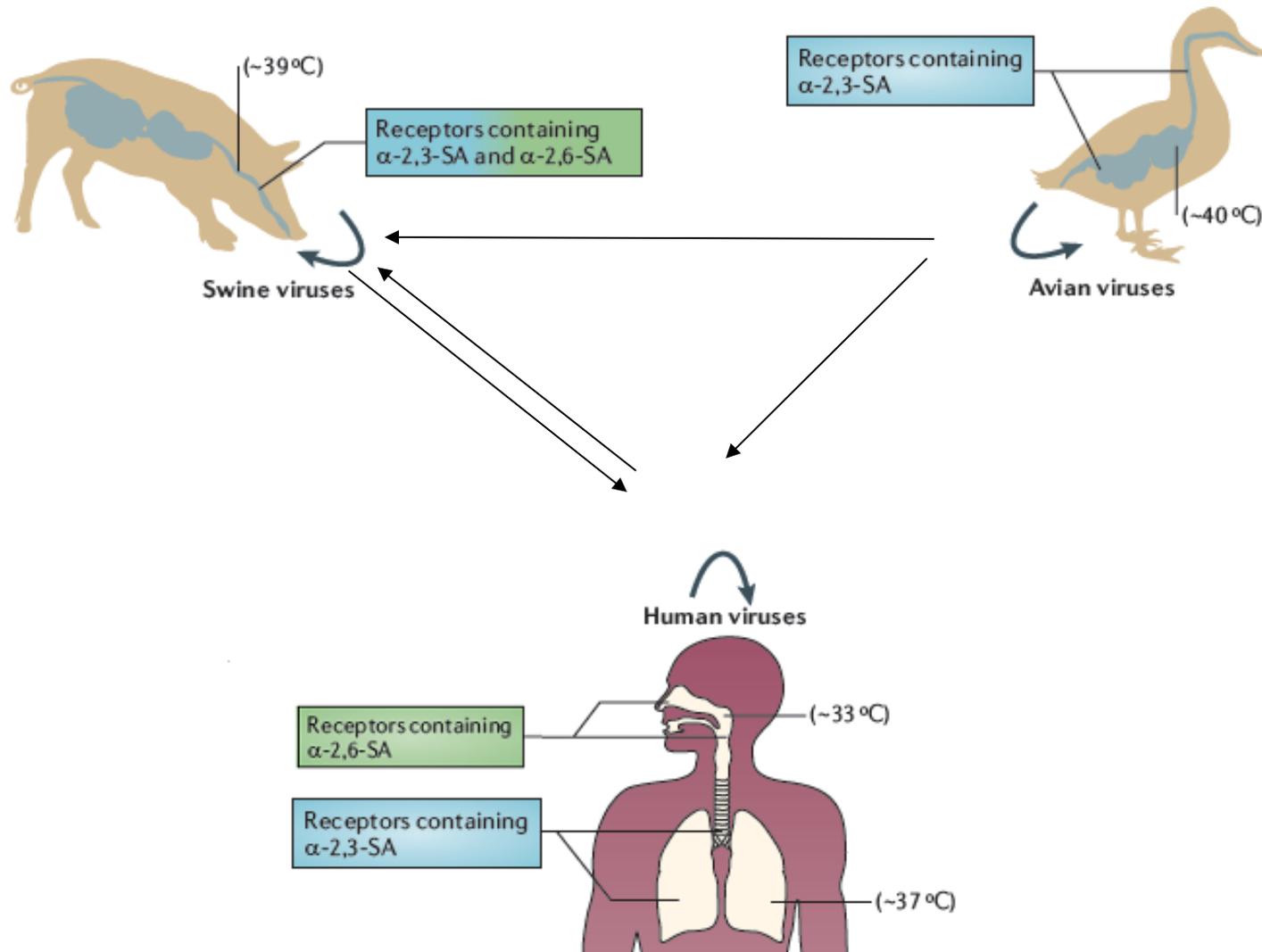
Figure 1: Course of human infection with highly pathogenic H5N1 influenza virus

Tropisme différentiel des souches humaines et aviaires

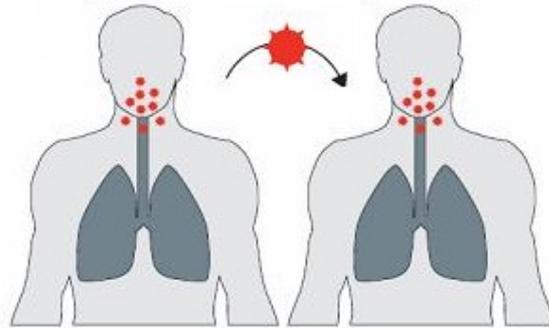
c



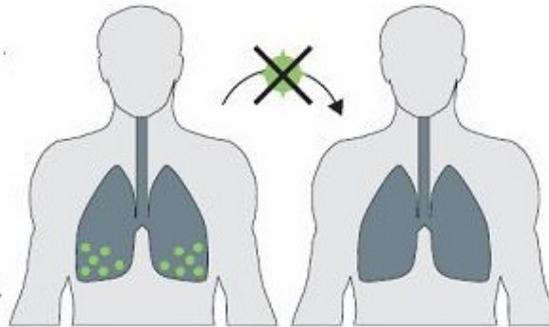
Les souches aviaires s'accrochent aux acides sialiques ayant des liaisons NeuAc α 2,3Gal



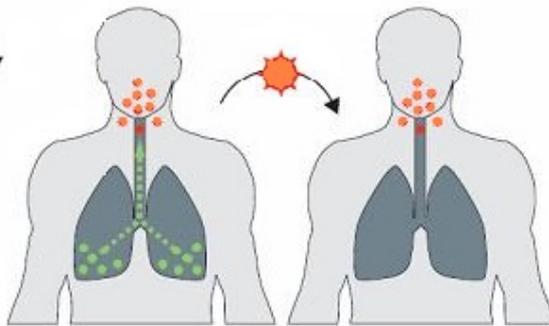
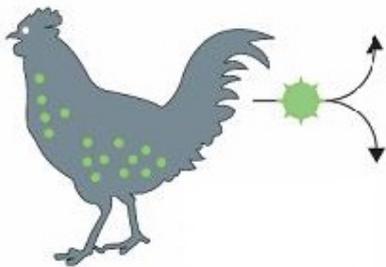
Potentiel pandémique et gravité en fonction de l'origine de la souche



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



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



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

Contact rapproché +++
Souche HPAI

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

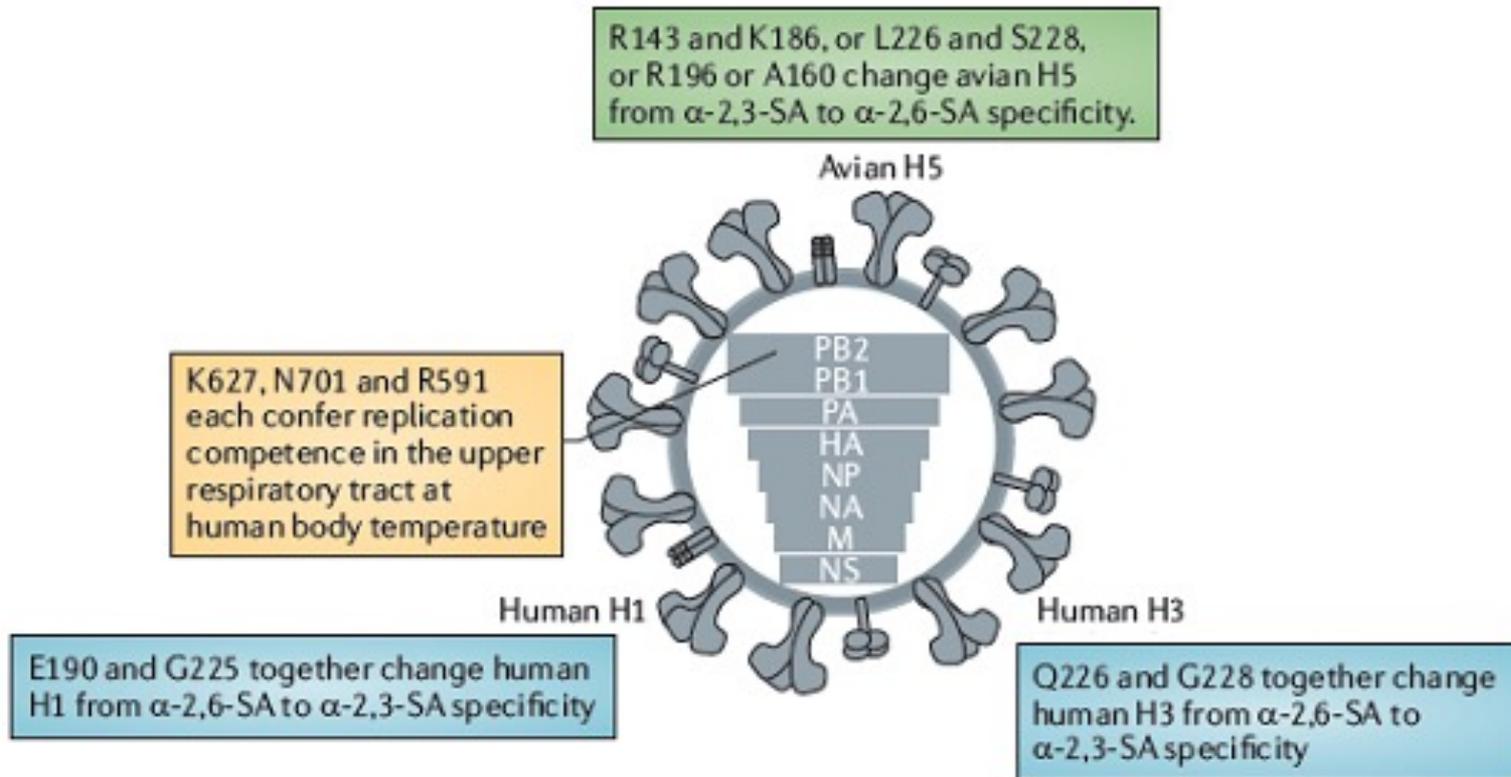


Table 1 | Major viral determinants of host range for influenza A virus pandemics

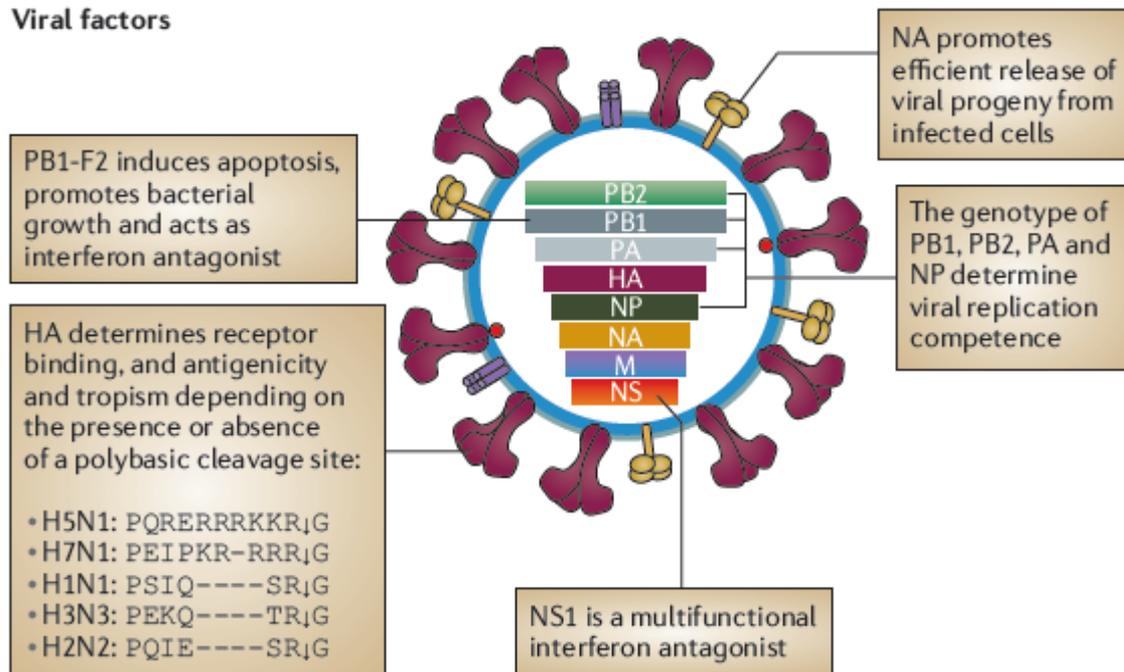
Amino acid	Avian	Human	Refs
<i>Gene segment PB2</i>			
271	T	A	60,125
590	G	S	98–100
591	Q	R	98–100
627	E	K	96,97
701	D	N	83–86
<i>Gene segment HA (H1)</i>			
190	E	D	13,18
225	G	D	13,18
<i>Gene segment HA (H2 and H3)</i>			
226	G	S	13,18
228	Q	L	13,18
192	R	G	13,18
226	Q	L	13,18

HA, haemagglutinin; PB2, polymerase basic protein 2.

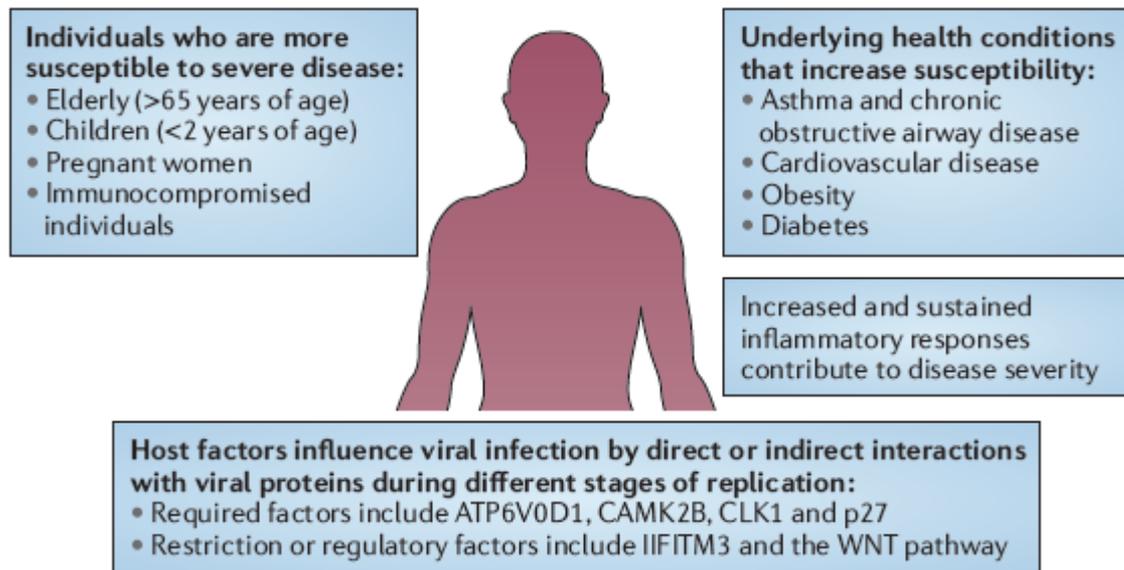
Table 1 | Molecular virulence markers and pathogenic determinants of influenza A viruses

Virulence marker and pathogenic determinant	Pandemic virus				HPAI virus		Contemporary seasonal virus	
	1918 H1N1	1957 H2N2	1968 H3N2	2009 H1N1	H5N1	H7N7	H1N1	H3N2
<i>HA (binding and fusing with the host cell; antigenic determinant)</i>								
Sialic acid linkage specificity	α-2,6	α-2,6	α-2,6	α-2,6 and α-2,3	α-2,3	α-2,3	α-2,6	α-2,6
Residues involved in binding specificity	D190 and D225	Q226 and N186, or L226 and S228	L226 and S228	D190 and D225 ; K133 , K145 and K222	G143, T160, N186, Q196, Q226 and G228	Q226	D190 and D225	L226 and S228
Multibasic cleavage site	No	No	No	No	Yes	Yes	No	No
<i>PB1-F2 (induction of apoptosis; promotion of secondary bacterial infection)</i>								
S66 (associated with increased virulence), N66 or truncation	S66	N66	N66	Truncation	S66 or N66	N66	Truncation	N66
<i>PB2 (temperature-dependent replication competence)</i>								
Adaptation to mammalian hosts	K627	K627	K627	R591	K627 or N701	K627 or N701	K627	K627
<i>NS1 (host antiviral response antagonist)</i>								
PDZ domain-binding motif	KSEV	RSKV	RSKV	Truncated	ESEV or EPEV;	ESEV	RSEV	RSKV
CPSF30 binding	Yes	Yes	Yes	No	Yes	Yes	Yes	Yes
E91 associated with virulence	No	No	No	No	Yes	No	No	No
<i>M2 (ion channel)</i>								
Resistant to adamantanes (presence of N31)	No	No	No	Yes	Yes and no	No	No	Yes
<i>NA (receptor-destroying enzyme)</i>								
Resistant to oseltamavir (presence of Y275 and S294)	No	No	No	No	No	No	Yes	No

Viral factors



Host factors



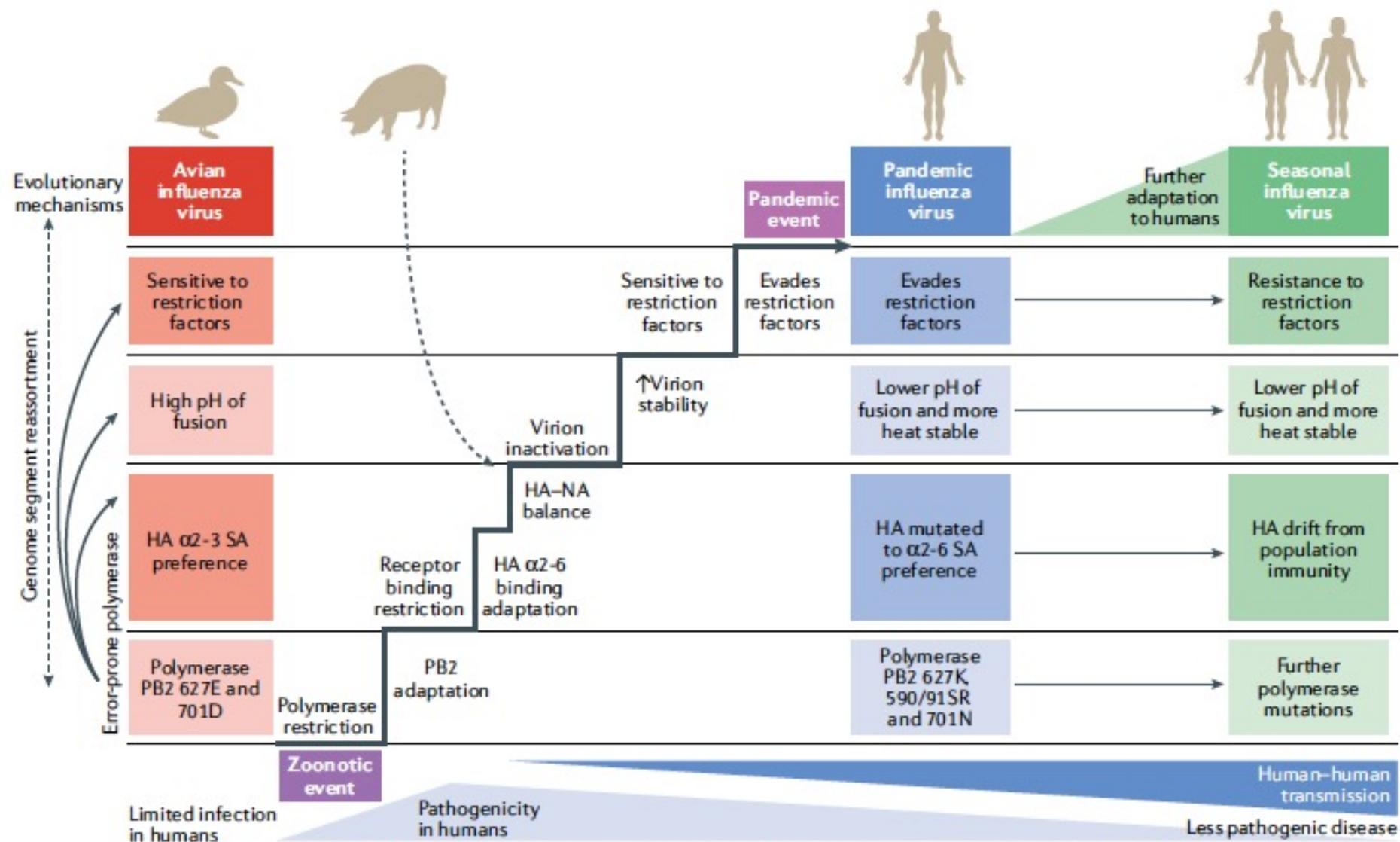
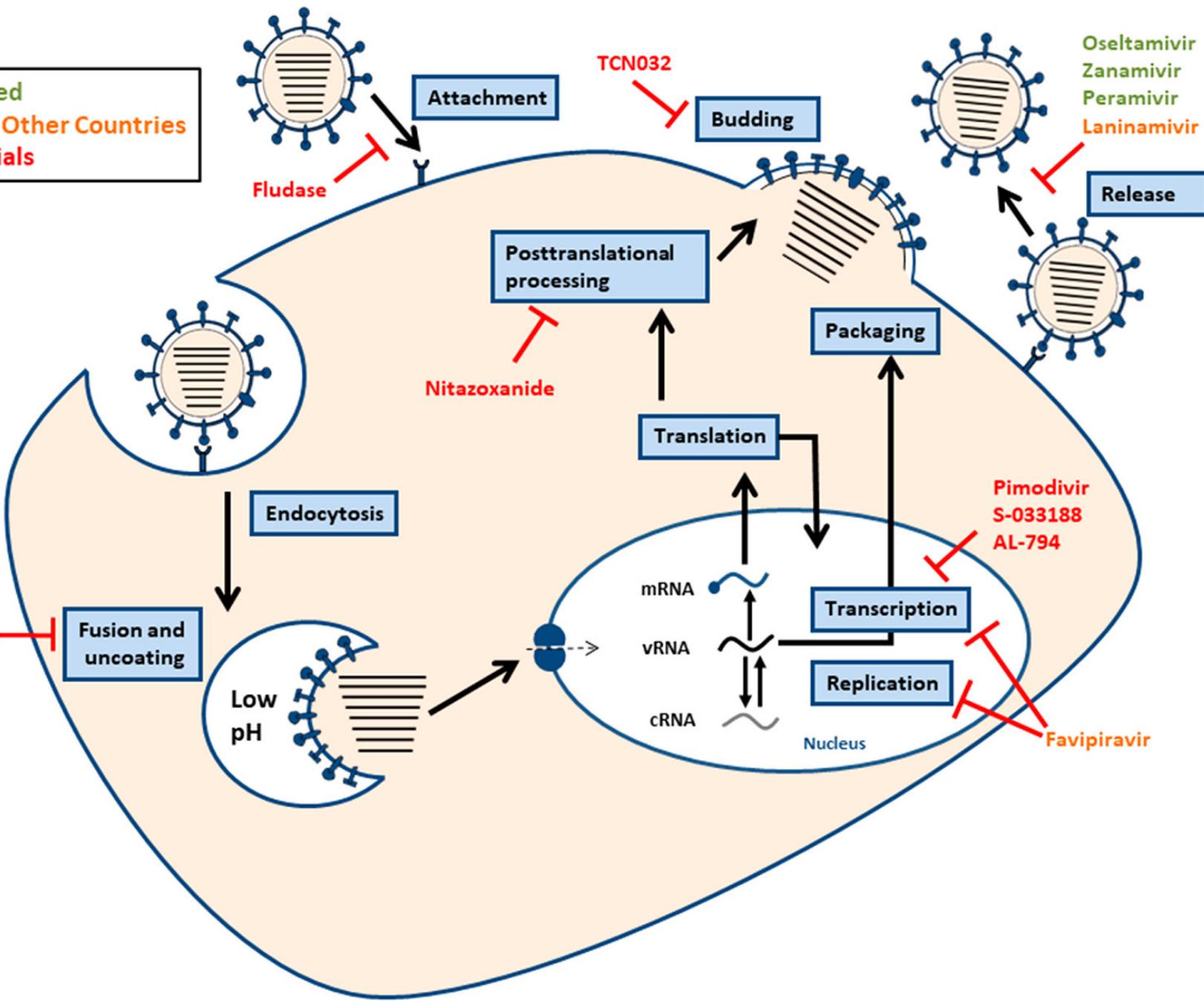


Fig. 4 | Cumulative influenza virus adaptations required to overcome species restriction and initiate a new pandemic. Influenza viruses circulating in the avian reservoir (red) face multiple host range barriers that must be overcome

FDA Approved
Approved in Other Countries
In Clinical Trials

Amantadine
Rimantadine
MEDI8852
MHAA4549A
VIS-410
CT-P27
CR6261
CR8020

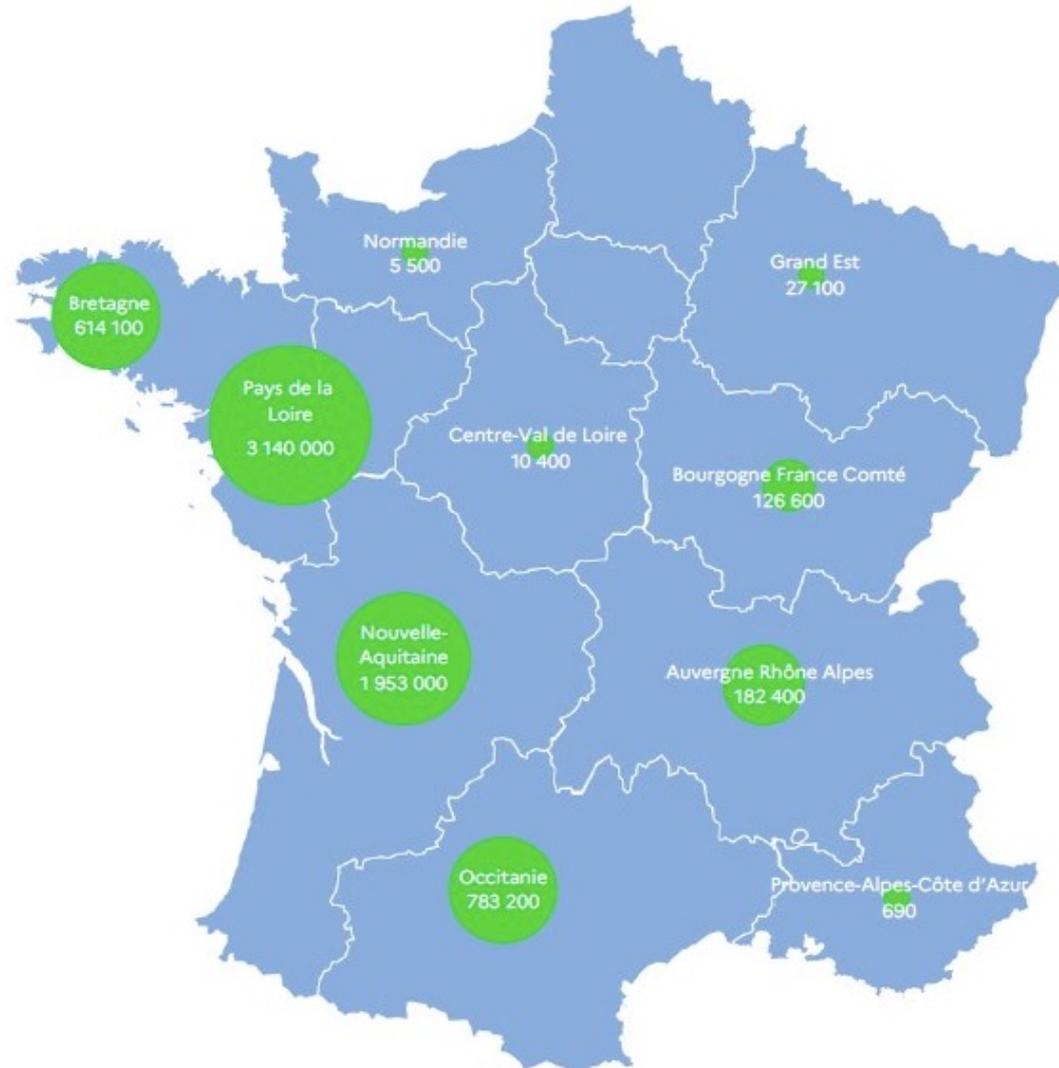


Les pistes vaccinales

- Nombreux essais actuellement avec H5N1 mais:
 - H5 est peu immunogène => nécessité d'utiliser des adjuvants et d'injecter au moins deux doses
- Plusieurs stratégies possibles:
 - Pré-vacciner les humains, en espérant avoir une part d'immunité « croisée » avec le futur virus pandémique...
 - Données encourageantes, obtenues chez des sujets sains et adultes => effet de prime-boost
 - Essais en cours dans populations plus « fragiles »: immunodéprimés, pathologies chroniques...
 - A court/moyen terme:
 - intégration d'une souche pré-pandémique dans le vaccin contre la grippe saisonnière?
 - qui vacciner?
 - Vacciner les volailles => programme de vaccination systématique des canards en France à l'automne 2023

Vaccination IAHP

Nombre de canards ayant reçu une première dose par région
à la date du 19/11/2023 :

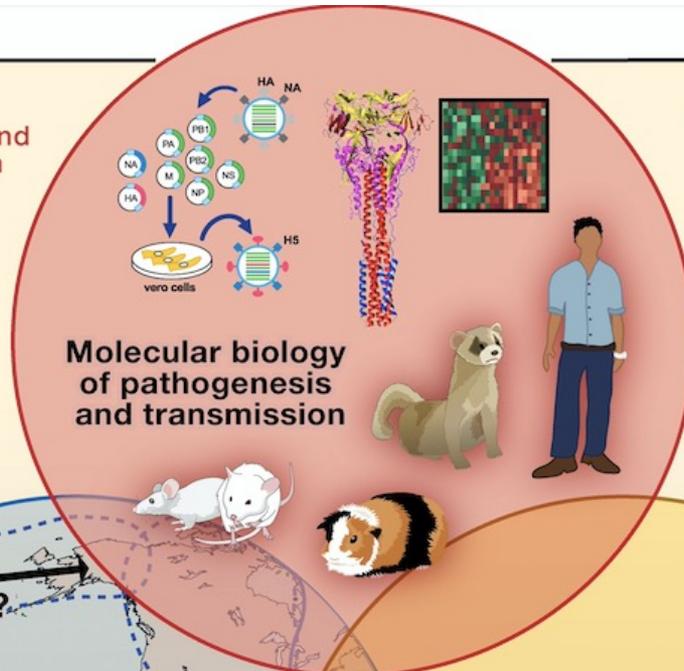


Requirements and mechanisms of transmission

Mechanisms of viral pathogenesis

Mechanisms of adaptation to host

Virus tropism and replication



Characterization and mechanisms of immune responses

Contribution of elevated cytokine production

Host factors of resistance and susceptibility

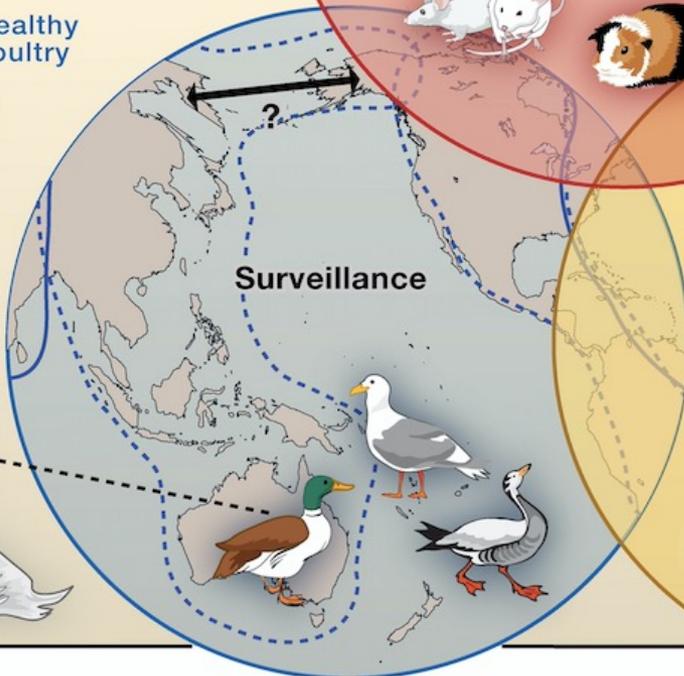
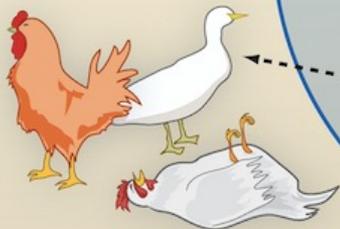
Interaction of viral and host cellular factors

Apparently healthy domestic poultry

Rapid viral evolution

Highly pathogenic avian influenza virus wide geographic spread

Highly pathogenic avian influenza virus reservoirs



Therapies and pandemic preparedness



New vaccine strategies

Immune correlates of protection

Vaccine use in poultry

Development of new antiviral drugs and immune therapies

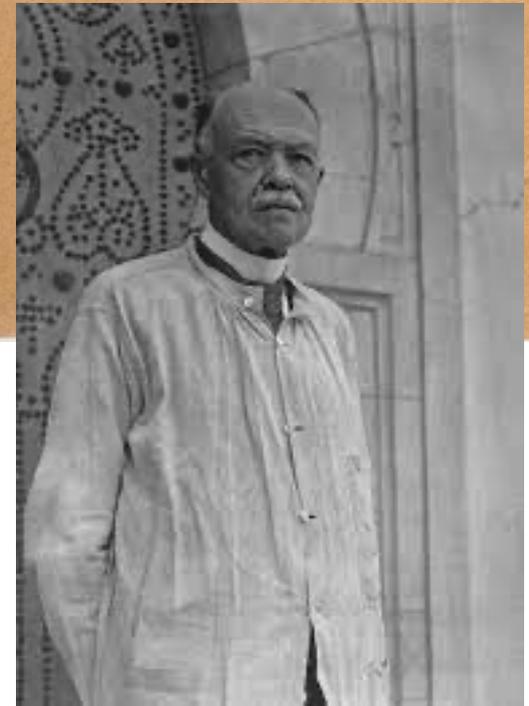
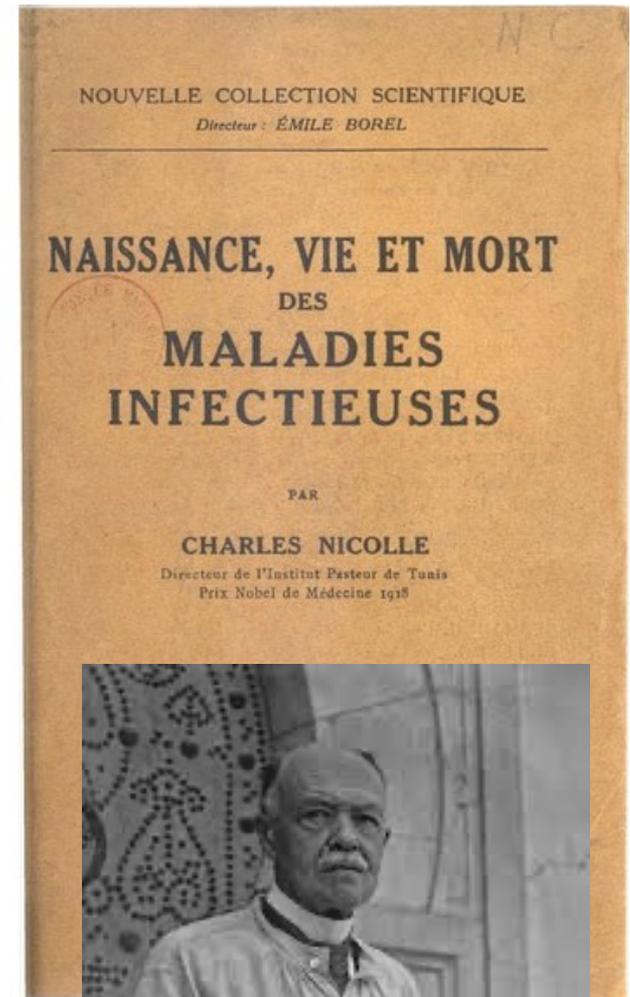
Sharing samples and sequence data

Pandemic control strategies

Ecrit de Charles Nicolle en 1930
Prix Nobel de Médecine 1928

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

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



Le concept « ONE HEALTH »

