



Open Archive TOULOUSE Archive Ouverte (OATAO)

OATAO is an open access repository that collects the work of Toulouse researchers and makes it freely available over the web where possible.

This is an author-deposited version published in : <http://oatao.univ-toulouse.fr/Eprints> ID : 16493

To cite this version :

Sabourin, Pauline. *Affinité des virus influenza A et distribution de leurs récepteurs chez différents hôtes dont l'homme : implication pour les sauts d'espèces*. Thèse d'exercice, Médecine vétérinaire, Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse - ENVT, 2016, 113 p.

Any correspondence concerning this service should be sent to the repository administrator: staff-oatao@inp-toulouse.fr.

AFFINITE DES VIRUS INFLUENZA A ET DISTRIBUTION DE LEURS RECEPTEURS CHEZ DIFFERENTS HOTES DONT L'HOMME : IMPLICATION POUR LES SAUTS D'ESPECES

THESE
pour obtenir le grade de
DOCTEUR VETERINAIRE

DIPLOME D'ETAT

*présentée et soutenue publiquement
devant l'Université Paul-Sabatier de Toulouse*

par

SABOURIN Pauline

Née, le 8 septembre 1990 à Châteauroux (36)

Directeur de thèse : M. Stéphane BERTAGNOLI

JURY

PRESIDENT :

M. Christophe PASQUIER

Professeur à l'Université Paul-Sabatier de TOULOUSE

ASSESEURS :

M. Stéphane BERTAGNOLI

Mme Séverine BOULLIER

Professeur à l'Ecole Nationale Vétérinaire de TOULOUSE

Maître de Conférences à l'Ecole Nationale Vétérinaire de TOULOUSE

MEMBRE INVITE :

M. Vincent BOURRET

Répartition des Enseignants-Chercheurs par Département.

Mise à jour : 06/09/2016

DIRECTRICE : ISABELLE CHMITELIN

ELEVAGE ET PRODUITS/SANTÉ PUBLIQUE VÉTÉRINAIRE	SCIENCES BIOLOGIQUES ET FONCTIONNELLES	SCIENCES CLINIQUES DES ANIMAUX DE COMPAGNIE, DE SPORT ET DE LOISIRS
<p>Responsable : M. SANS</p> <p><u>ALIMENTATION ANIMALE :</u> M. ENJALBERT Francis, PR Mme PRIYMENKO Nathalie, MC Mme MEYNADIER Annabelle, MC</p> <p><u>EPIDEMIOLOGIE :</u> Mathilde PAUL, MC</p> <p><u>MALADIES REGLEMENTEES-ZOONOSES-MEDECINE PREVENTIVE DES CARNIVORES DOMESTIQUES-DROIT VETERINAIRE :</u> M. PICAUVET Dominique, PR</p> <p><u>PARASITOLOGIE-ZOOLOGIE :</u> M. FRANC Michel, PR M. JACQUIET Philippe, PR M. LIENARD Emmanuel, MC Mme BOUHSIRA Emilie, MC</p> <p><u>HYGIENE ET INDUSTRIE DES ALIMENTS :</u> M. BRUGERE Hubert, PR M. BAILLY Jean-Denis, PR Mme BIBBAL Delphine, MC Mme COSTES Laura, AERC Mme DAVID Laure, MCC</p> <p><u>PATHOLOGIE DE LA REPRODUCTION :</u> M. BERTHELOT Xavier, PR M. BERGONIER Dominique, MC Mme CHASTANT-MAILLARD Sylvie, PR Mme HAGEN-PICARD Nicole, PR M. NOUVEL Laurent-Xavier, MC Mme MILA Hanna, MC</p> <p><u>PATHOLOGIE DES RUMINANTS :</u> M. SCHELCHER François, PR M. FOUCRAS Gilles, PR M. CORBIERE Fabien, MC M. MAILLARD Renaud, MC M. MEYER Gilles, PR</p> <p><u>PRODUCTION ET PATHOLOGIE AVIAIRE ET PORCINE :</u> Mme WARET-SZKUTA Agnès, MC M. JOUGLAR Jean-Yves, MC M. GUERIN Jean-Luc, PR M. LE LOC'H Guillaume, MC</p> <p><u>PRODUCTIONS ANIMALES AMELIORATION GENETIQUE ECONOMIE :</u> M. DUCOS Alain, PR M. SANS Pierre, PR M. RABOISSON Didier, MC</p>	<p>Responsable : Mme GAYRARD</p> <p><u>ANATOMIE :</u> M. MOGICATO Giovanni, MC M. LIGNEREUX Yves, PR Mme DEVIERS Alexandra, MC</p> <p><u>ANATOMIE PATHOLOGIQUE - HISTOLOGIE :</u> M. DELVERDIER Maxence, PR Mme LETRON-RAYMOND Isabelle, MC Mme BOURGES-ABELLA Nathalie, PR Mme LACROUX Caroline, PR</p> <p><u>BIOLOGIE MOLECULAIRE :</u> Mme BOUCLAINVILLE-CAMUS Christelle, MC</p> <p><u>MICROBIOLOGIE – IMMUNOLOGIE - MALADIES INFECTIEUSES :</u> M. MILON Alain, PR M. BERTAGNOLI Stéphane, PR M. VOLMER Romain, MC Mme BOULLIER Séverine, MC Mme DANIELS Hélène, MC</p> <p><u>BIostatISTIQUES :</u> M. CONCORDET Didier, PR M. LYAZRHI Faouzi, MC</p> <p><u>PHARMACIE-TOXICOLOGIE :</u> M. PETIT Claude, PR Mme CLAUW Martine, PR M. GUERRE Philippe, PR M. JAEG Philippe, MC</p> <p><u>PHYSIOLOGIE –PHARMACOLOGIE THERAPEUTIQUE :</u> M. BOUSQUET-MELOU Alain, PR Mme GAYRARD-TROY Véronique, PR Mme FERRAN Aude, MC M. LEFEBVRE Hervé, PR</p> <p><u>BIOCHIMIE :</u> Mme BENNIS-BRET Lydie, MC</p> <p><u>ANGLAIS :</u> M. SEVERAC Benoît, PLPA Mme MICHAUD Françoise, PCEA</p>	<p>Responsable : Mme CADIERGUES</p> <p><u>ANESTHESIOLOGIE</u> M. VERWAERDE Patrick, MC</p> <p><u>CHIRURGIE :</u> M. AUTEFAGE André, PR M. ASIMUS Erik, MC M. MATHON Didier, MC Mme MEYNAUD-COLLARD Patricia, MC Mme PALIERNE Sophie, MC</p> <p><u>MEDECINE INTERNE :</u> Mme DIQUELOU Armelle, MC M. DOSSIN Olivier, MC Mme LAVOUE Rachel, MC Mme GAILLARD-THOMAS Elodie, MCC</p> <p><u>OPHTALMOLOGIE :</u> M. DOUET Jean-Yves, MC</p> <p><u>DERMATOLOGIE :</u> Mme CADIERGUES Marie-Christine, PR</p> <p><u>IMAGERIE MEDICALE</u> M. CONCHOU Fabrice, MC</p> <p><u>BIOLOGIE MOLECULAIRE :</u> Mme TRUMEL Catherine, PR</p> <p><u>PATHOLOGIE DES EQUIDES :</u> M. CUEVAS RAMOS Gabriel, MC Mme PRADIER Sophie, MC Mme LALLEMAND Elodie, AERC</p>

REMERCIEMENTS

A Monsieur le Professeur Christophe PASQUIER

Professeur des Universités – Praticien hospitalier

Doyen de la Faculté des Sciences Pharmaceutiques

Microbiologie - Virologie

Qui nous a fait l'honneur d'accepter la présidence de notre jury de thèse.

Hommages respectueux.

A Monsieur le Professeur Stéphane BERTAGNOLI

Professeur de l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse

Virologie - Infectiologie

Pour m'avoir fait l'honneur d'encadrer notre travail. Pour sa disponibilité et sa réactivité malgré un emploi du temps déjà très rempli !

Sincères remerciements.

A Madame le Docteur Séverine BOULLIER

Maître de conférences à l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse

Immunologie générale et médicale

Pour m'avoir fait l'honneur d'accepter d'être l'assesseur de cette thèse,

Qu'elle trouve ici sincères remerciements et hommages respectueux.

A Monsieur le Docteur Vincent BOURRET

Docteur vétérinaire, Docteur en Virologie

Pour sa grande implication dans la réalisation de ce travail, sa disponibilité et sa gentillesse.

Sincères remerciements.

Table des matières

REMERCIEMENTS	3
INTRODUCTION.....	7
I. Les virus influenza : des virus en constante évolution	10
1.1 Classification	10
1.2 Morphologie et structure des virions.....	11
1.3 Structure du génome viral et cycle viral.....	14
1.3.1 Le génome	14
1.3.2 Le cycle viral.....	16
1.4 Les possibilités d'évolution des virus Influenza	17
1.4.1 La variabilité par mutation : la dérive antigénique ou « antigenic drift »	18
1.4.2 La variabilité par néo-combinaisons : le réassortiment génétique	19
1.5 Les récepteurs des virus influenza.....	22
1.6 Ecologie des virus influenza.....	24
1.6.1 Les oiseaux aquatiques sauvages comme principal réservoir	24
1.6.2 Un virus pouvant se transmettre à de nombreuses espèces	26
1.6.3 Conséquence sur la santé humaine et enjeux pour la communauté vétérinaire	29
1.7 Objectifs de cette étude	31
II. Affinité des virus pour les récepteurs $\alpha 2,3$ ou $\alpha 2,6$	33
2.1 Méthodologie.....	33
2.2 Résultats	36
III. Répartition des récepteurs $\alpha 2,3$ et $\alpha 2,6$ dans les organismes des différents hôtes.....	45
3.1 Méthodologie.....	45
3.2 Résultats	48
3.2.1 Espèces principales.....	48
3.2.2 Espèces secondaires.....	56
IV. Discussion : Confrontation avec la littérature, mise en relation des deux parties précédentes et interprétation pour les sauts d'espèces	62
4.1 Préférence des sous-types pour les récepteurs.....	62
4.2 Répartition des récepteurs dans les organes des espèces.....	67
4.3 Mise en relation entre la répartition des récepteurs et la préférence des virus.....	74
V. Franchissement de la barrière des espèces : autres enjeux	78
5.1 Mutation des hémagglutinines et switch des récepteurs : un facteur important pour l'émergence d'une population virale stable chez une autre espèce.....	78
5.2 Mutations des neuraminidases.....	83

5.3 Conformation différente des récepteurs et accroche des virus.....	83
5.4 Autre enjeux : la présence de récepteurs ne suffit pas à expliquer la liaison des virus aux tissus.	88
5.5 Passage d'un virus faiblement pathogène à un virus hautement pathogène : influence du sialoglycopolymère terminant le récepteur	90
CONCLUSION	93
BIBLIOGRAPHIE	96
WEBOGRAPHIE	112
ANNEXES	113

Table des illustrations

Figure 1 : Diagramme de nomenclature des virus influenza.....	10
Figure 2 : Schéma d'un virus influenza et de ses composants	11
Figure 3: Structure tridimensionnelle de l'hémagglutinine du virus influenza (Receptor binding site: site de fixation au récepteur cellulaire ; Cleavage site : site de clivage). © Lisa Dunn.....	13
Figure 4: Structure du génome de la souche influenza A/Duck/Netherlands/10-Nmkt/1999.....	15
Figure 5 : Cycle de réplication du virus influenza	17
Figure 6 : La dérive antigénique.....	19
Figure 7: Exemple de réassortiment génétique © National Institute of Allergy and Infectious Diseases (NIAID) (modifiés) <i>Source : http://www.evolution-of-life.com/</i>	20
Figure 8: Hypothèse sur la genèse du virus pandémique H1N1 en 2009.....	21
Figure 9: Structure des récepteurs des virus influenza A	22
Figure 10: Projection de Haworth du Galactose (à gauche) et représentation de Cram de l'Acide sialique (à droite).....	22
Figure 11: Attachement du virus influenza aux récepteurs humains ou aviaires	23
Figure 12 : Préférence des sous-types pour les récepteurs $\alpha 2,3$	36
Figure 13: Numéro des articles dont les données ont été extraites.....	37
Figure 14: Correspondance entre les numéros et les articles de référence.....	38
Figure 15: Expression relative des récepteurs $\alpha 2,3$ dans les organes des espèces principales.....	48
Figure 16: Numéro des articles dans lesquels les données ont été extraites	49
Figure 17: Correspondance entre les numéros et les articles de référence.....	50
Figure 18: Expression relative des récepteurs $\alpha 2,3$ chez les espèces secondaires	56
Figure 19: Numéro des articles à partir desquels les données ont été extraites	57
Figure 20: Représentation schématique de la distribution des récepteurs chez les espèces déterminantes	61
Figure 21: Diagramme final des transmissions inter-espèces	77
Figure 22: Structure 3D de l'hémagglutinine et mutations des acides aminés du site récepteurs-liaison impliqués dans la spécificité des récepteurs.....	79
Figure 23: Différentes structures possibles de sialylglycopolymères	84
Figure 24: Représentation de Cram du fucose (à gauche) et représentation de Haworth du N-acétylglucosamine	85
Figure 25: Fixation préférentielle du virus H5N1 du poulet sur le récepteurs $\alpha 2,3$ fucosylé	85
Figure 26: Structure 3D du Neu5Ac $\alpha 2,3$ Gal $\beta 1,4$ (Fuc $\alpha 1,3$)(6-O-Su)GlcNac β	86
Figure 27: Récepteurs possédant des liaisons N ou O-glycosidiques	87
Figure 28: Incohérence entre la présence des récepteurs et la fixation des virus.....	88

INTRODUCTION

L'influenza, plus communément appelée la grippe, est une maladie contagieuse qui représente une menace sérieuse pour la santé humaine, mais aussi pour la santé animale. Cette maladie est transmise par les virus influenza. Le genre Influenza A en particulier est le plus commun et peut infecter un large spectre d'espèces dont l'homme, faisant de ce virus un agent de zoonose. Ce genre a d'ailleurs causé trois pandémies pendant le siècle dernier faisant sans doute des dizaines de millions de victimes. Plus récemment, le monde a dû faire face à une grippe aviaire causée par un virus H5N1 à partir de 1996, et à la pandémie de 2009 causée par une souche H1N1.

Les oiseaux constituent un réservoir pour ce virus, notamment les oiseaux aquatiques. Du fait des nombreux sous-types déjà existants et leurs capacités de mutations, les virus influenza A peuvent parfois franchir les barrières inter-espèces, pour infecter des mammifères : porcs, chevaux, mammifères marins, furets, et l'homme. Alors que chez les oiseaux aquatiques sauvages l'infection reste majoritairement asymptomatique, chez les volailles domestiques comme les poulets, les canards, les dindes ou encore les cailles ; les manifestations cliniques dépendent largement de la souche virale, pouvant aller de l'asymptomatique à une forme systémique létale. Chez l'homme, l'infection peut rester asymptomatique, ou bien être sévère voire fatale, notamment chez les personnes âgées ou immunodéprimées.

Devant l'émergence de nouvelles souches potentiellement pandémiques, et devant les impacts socioéconomiques que représenterait une nouvelle pandémie, l'étude poussée de ces virus est devenue une priorité.

Les barrières moléculaires que franchissent les virus pour se transmettre à d'autres espèces hôtes semblent être nombreuses. L'une d'entre elle, représentée par l'expression et la distribution des récepteurs est primordiale (Shinya et al. 2006). Ces récepteurs sont constitués d'une molécule d'acide sialique : l'acide N-Acétyl-Neuraminique (Neu5Ac) ou l'acide N-Glycolyl-Neuraminique (Neu5Gc). L'homme ne possédant pas les récepteurs Neu5Gc, seul le premier nous intéresse dans le cadre de cette étude. Il est relié à une molécule de galactose par deux types de liaisons : les liaisons α 2,3, et les liaisons α 2,6. Les virus aviaires et humains ne

se lie pas de la même façon à ces deux types de récepteurs. Des centaines d'articles ont été publiés sur ce sujet.

Des études ont suggéré que les virus aviaires se liaient plus facilement aux récepteurs $\alpha 2,3$ alors que les virus humains préféreraient les $\alpha 2,6$ (Rogers, Paulson 1983)(Suzuki et al. 2000), (Matrosovich et al. 1997). La préférence des virus chez d'autres hôtes comme le cheval, est tournée vers les acide sialiques reliés au galactose par une liaison de type $\alpha 2,3$ ce qui explique une transmission directe des virus aviaires au cheval (Baigent, McCauley 2003).

Toutefois, de nombreuses études expérimentales ont montrés qu'un certain nombre de souches et de sous-types viraux adoptaient des comportements contrastés, ce qui rend difficile l'émission de conclusions générales fiables.

Les conditions pour qu'une pandémie se produise sont une bonne répllication du virus chez son hôte et une bonne diffusion entre les hôtes.

Or, la distribution des récepteurs varie selon les espèces. Il est généralement dit que les virus aviaires se répliquent dans le tractus gastro-intestinal de leurs hôtes « classiques » (les oiseaux aquatiques), là où prédominent les récepteurs $\alpha 2,3$ (Lu et al. 2013); alors que chez l'homme ils se répliquent plutôt dans le tractus respiratoire dans sa partie inférieure, là où les récepteurs $\alpha 2,3$ se trouvent en quantité plus importante (Ito et al. 1998). Les virus humains, se lie classiquement chez l'homme dans l'appareil respiratoire supérieur, là où prédominent les $\alpha 2,6$ (Shinya et al. 2006).

Néanmoins, tout comme l'affinité des différents virus pour les récepteurs, la distribution de ces derniers dans l'organisme dépend des hôtes. En premier lieu, les récepteurs $\alpha 2,6$ semblaient prédominer chez l'homme dans l'appareil respiratoire supérieur (ce résultat fut celui trouvé par Shinya et al 2006), avec la présence de $\alpha 2,3$ réservé à l'appareil respiratoire bas (Couceiro et al en 1993 n'avait pas non plus détecté de $\alpha 2,3$ dans la trachée). Ce qui explique qu'en théorie, les virus H5 aviaires, qui se lie à $\alpha 2,3$ ne peuvent infecter facilement les humains mais qu'une fois établis, ils se développent dans le bas de l'appareil respiratoire, ce qui rend l'infection plus grave mais peu contagieuse.

Cependant, en 2007, Nicholls et al ont observé une plus large expression des $\alpha 2,3$, dans l'ensemble de l'appareil respiratoire. Ce groupe de recherche a également observé une plus grande quantité de $\alpha 2,3$ dans l'appareil respiratoire des enfants.

Chez la souris aussi des résultats contrastés ont été observés : alors qu'une étude a constaté l'infection de poumons de souris par une souche préférant $\alpha 2,6$ (Gambaryan et Boravleva. 2005), une autre n'a pas pu mettre en évidence la présence de ces récepteurs dans le poumon de la souris (Ibricevic et al. 2006). Enfin chez le porc, la présence des deux types de récepteurs au niveau de l'épithélium trachéal explique sa sensibilité aux virus grippaux humains et aviaires (Nelli et al. 2010). Ce dernier pourrait jouer le rôle d'hôte intermédiaire où virus humains et porcins pourraient se recombinaison pour former un nouveau virus capable d'infecter l'homme (Ito et al. 1998).

La connaissance précise de la répartition des récepteurs dans les organismes des hôtes est donc primordiale.

Devant des résultats aussi hétérogènes, le but de cette thèse a donc été de réaliser une méta-analyse afin de compiler le plus de résultats déjà mis en évidence lors d'études précédentes, pour tirer les conclusions les plus fiables possibles, sur :

- L'affinité des virus pour les récepteurs
- La distribution des récepteurs chez les différentes espèces
- Les sauts d'espèces
- La mise en évidence de possibles autres barrières que celle des récepteurs impliquées dans les sauts d'espèces.

I. Les virus influenza : des virus en constante évolution

1.1 Classification

Les virus influenza font partie de la famille des *Orthomyxoviridae*, qui comprend cinq genres :

- Les virus influenza A, celui des mammifères et des oiseaux, le plus étudié
- Les virus influenza B et C, essentiellement identifiés chez l'homme
- Les *Thogotovirus* (arbovirus)
- Les *Isavirus* (virus provoquant l'anémie infectieuse du saumon) (McCauley et al.2012).

La dénomination adoptée pour les virus influenza est la suivante : on identifie le type d'influenza (A si influenza A), son hôte (animal dans lequel on a isolé le virus, sauf si l'hôte est l'homme auquel cas l'espèce est omise), son origine géographique, son numéro de souche, l'année où il a été découvert et éventuellement les sous-types de glycoprotéines de surface (HxNy).

Exemple : A/Chicken/Hong Kong/220/1997 (H5N1)

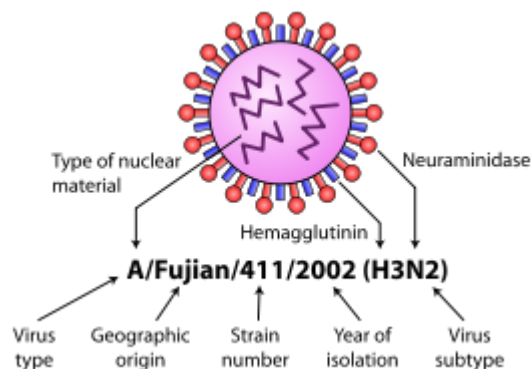


Figure 1 : Diagramme de nomenclature des virus influenza

Source : <http://www.medscape.org/>

1.2 Morphologie et structure des virions

Les virus influenza sont des virus sphériques de diamètre d'environ 80 à 100 nm, généralement enveloppés par une bicouche lipidique dérivée de la membrane plasmique de la cellule hôte (Webster et al, 1992). Cette enveloppe est fragile et facilement détruite en milieu extérieur, faisant des virus influenza des virus assez sensibles aux conditions environnementales.

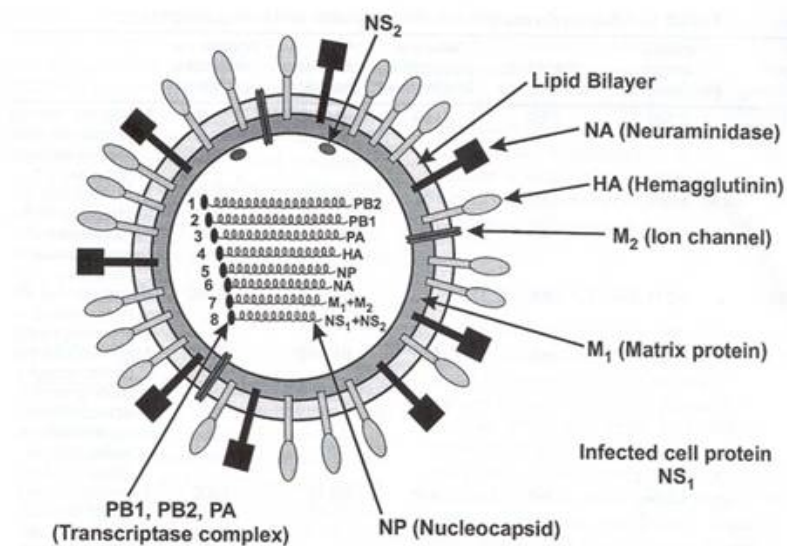


Figure 2 : Schéma d'un virus influenza et de ses composants

Source : <http://www.medicalecology.org/>

L'enveloppe est composée de protéines de surface, les glycoprotéines : l'hémagglutinine notée HA, et la neuraminidase notée NA. Les sous-types des virus influenza sont donc définis en fonction des glycoprotéines de surface (par exemple Influenza H1N1).

- L'hémagglutinine

L'hémagglutinine (HA) est composée de deux sous-unités qui possèdent des sites de fixation spécifiques à certains récepteurs des cellules cibles, et des sites de fixation pour les anticorps neutralisants anti-hémagglutinine. Elle permet l'attachement du virus à son récepteur et la fusion entre la membrane de la cellule et l'enveloppe virale. Elle est la cible majeure de la réponse immunitaire humorale de l'hôte (Forrest et Webster 2010). L'hémagglutinine est une protéine trimérique, et chaque monomère est composé d'une tête globulaire et d'une tige, et peut être décomposé en deux sous-unités nommée H1 et H2. La sous-unité H1 est formée par la tête globulaire complète et une partie de la tige, et possède le site récepteur qui permet l'attachement du virus à la cellule cible. La sous-unité HA2 est comprise dans la tige uniquement, et intervient dans la fusion entre la membrane de la cellule et l'enveloppe virale (cité dans Forrest et Webster 2010). L'hémagglutinine des virus s'attache à l'acide N-acétyl-neuraminique (ou acide sialique) (Rosenberg et al. 1956) terminal des récepteurs membranaires de la cellule hôte, permettant ainsi l'entrée du virus dans la cellule par endocytose. L'endosome contenant la particule virale migre vers l'intérieur de la cellule. Le pH va chuter dans l'endosome jusqu'à environ 5, provoquant un changement de conformation de la molécule d'hémagglutinine qui permet la fusion de l'enveloppe virale avec la membrane endosomale (ens-lyon.fr).

- La neuraminidase

La neuraminidase est la deuxième protéine la plus représentée dans l'enveloppe virale. Son rôle est complémentaire à celui de l'hémagglutinine. Elle est dotée d'une activité enzymatique et catalyse le clivage des résidus terminaux de l'acide sialique. Cette fonction est capitale au stade tardif de la réplication, pour permettre la libération des virions nouvellement formés, attachés à la surface de la cellule infectée. Des données récentes indiquent qu'elle facilite également le détachement des virions du mucus présent au niveau de l'épithélium respiratoire, riche en acide sialique (Webster et al. 1992, Landolt et al. 2007). Comme l'hémagglutinine, la neuraminidase est un déterminant antigénique et montre une variation importante en réponse à la pression immunitaire de l'hôte (Forrest et Webster 2010).

Il existe au moins dix-sept sous-types d'hémagglutinine et neuf sous-types de neuraminidase, donc un très grand nombre de combinaisons possibles. L'hémagglutinine est la molécule qui va le plus nous intéresser ici car c'est elle qui est impliquée dans l'attachement du virus sur des récepteurs cellulaires sialyloligosaccharidiques.

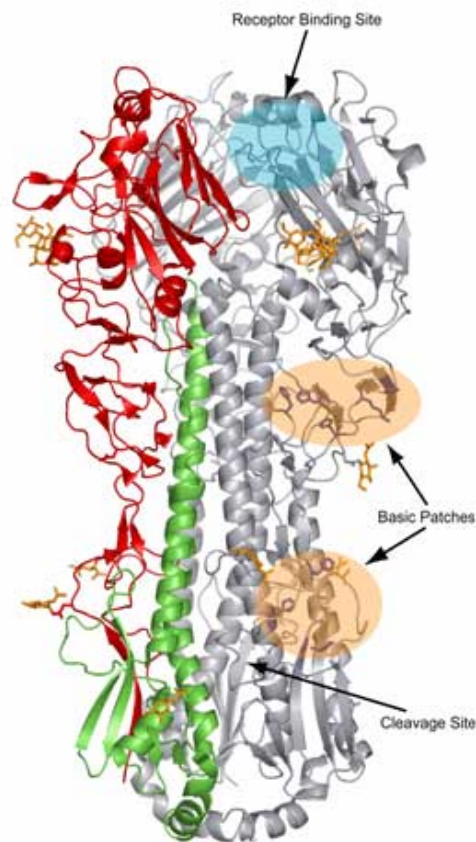


Figure 3:Structure tridimensionnelle de l'hémagglutinine du virus influenza (Receptor binding site: site de fixation au récepteur cellulaire ; Cleavage site : site de clivage). © Lisa Dunn

Sources : <http://www.futura-sciences.com/>

- Autres éléments de structure

Les protéines M1 et M2 se trouvent sous la couche lipidique et assurent la cohérence de la structure. La protéine M1 est la protéine la plus abondante du virion. Elle s'associe à la partie intracellulaire des protéines de surface et à la nucléoprotéine, et assure la rigidité du virion (Forrest et Webster 2010). La protéine M2 est codée par le même segment d'ARN que M1 et

est insérée dans l'enveloppe virale. Elle se comporte comme un canal ionique activé à pH bas et permet l'entrée d'ions hydrogène. Elle intervient également dans la maturation des glycoprotéines, agissant en association avec l'hémagglutinine dans les processus de décapsidation et le transport des glycoprotéines vers la surface cellulaire pour la formation de nouvelles particules infectieuses.

A l'intérieur du virion, les 8 segments de gènes sont entourés par une nucléoprotéine, qui lie et habille les segments de gènes et contribue à la mise en volume du virion. Chaque complexe RNP (pour ribonucléoprotéine) est donc composé d'un segment d'ARN négatif et d'une nucléoprotéine. Au bout de ces derniers se trouve un complexe polymérase 3P composé de trois sous-unités : PB1, PB2 et PA. La protéine de matrice M1 entoure les 8 complexes RNP et se situe sous la membrane (Bourret, 2012). Enfin, bien que la protéine NS1 soit présente en grande quantité dans les cellules infectées pendant la réplication des virus, elle n'est pas incorporée dans les nouveaux virions (Forrest et al. 2010). Elle jouerait plusieurs rôles, dont un rôle important dans l'échappement du virus à l'action antivirale de l'interféron (Hale et al. 2008). Quant à la protéine NS2, elle assure le transport des ribonucléoprotéines nouvellement formées du noyau vers le cytoplasme.

1.3 Structure du génome viral et cycle viral

1.3.1 Le génome

Le génome est composé de 8 segments d'ARN simple brin négatifs. On dit que le génome viral a une forme caractéristique de « poêle » car les deux extrémités de ce dernier sont hybridées sur une douzaine de paires de bases et se séparent ensuite (Palese, 1977). L'ARN non hybridé est enveloppé dans la nucléoprotéine, associé aux trois sous-unités de la polymérase. Cet assemblage permet de maintenir l'ARN. Chaque segment d'ARN code pour une à trois protéines différentes. Ces protéines comprennent une polymérase et les différentes protéines de structure ou d'enveloppe. (Bourret, 2012).

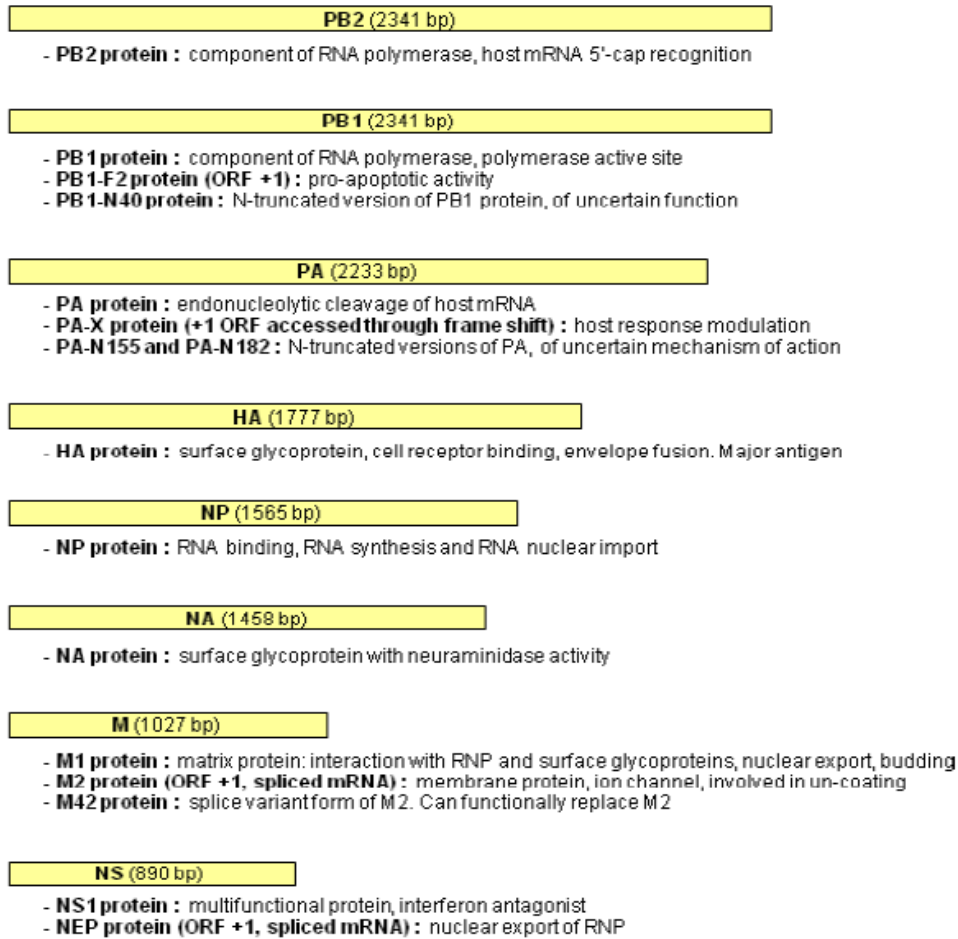


Figure 4: Structure du génome de la souche influenza A/Duck/Netherlands/10-Nmkt/1999

Source : Bourret, 2012

Ce génome est sujet à de nombreuses mutations et lors de la co-infection par deux virus, il est possible d'obtenir de nouveaux virions avec un nouvel assemblage des segments de gènes.

1.3.2 Le cycle viral

L'entrée du virus dans la cellule hôte est permise par l'hémagglutinine qui permet l'attachement virus/cellule sensible. Elle reconnaît le récepteur à l'extérieur de la cellule qui se termine par un acide sialique relié à un galactose. Ensuite se produit l'endocytose grâce aux clatrines. La vésicule d'endocytose contenant le virus est acidifiée et son canal ionique permet le passage des protons à l'intérieur du virus. Si des antiviraux n'inhibent pas ce transfert, la membrane de l'endosome fusionne avec la membrane du virus grâce à la sous-unité H2 de l'hémagglutinine. Les RNP sont libérées dans le cytosol.

Les ARN viraux sont ensuite transportés vers le noyau grâce à la protéine NP, où le cycle de réplication se déroule (le virus de la grippe constitue donc une exception notable car la majorité des virus à ARN ont un cycle de réplication cytoplasmique). Ils pénètrent le noyau à travers les pores nucléaires (ens-lyon.fr)

Dans le noyau, chaque segment de l'ARN viral (négatif) est, d'une part, transcrit en ARN message (positif) et d'autre part, répliqué pour former de nouveaux segments génomiques viraux (ARN- → ARN+ → ARN-). Les ARNm produits grâce au complexe polymérase à partir des segments 7 et 8, subissent un épissage différentiel ce qui permet la synthèse de 2 protéines différentes à partir d'un même segment (ex : le segment 7 fournit deux protéines: la protéine M1 qui forme la matrice et la protéine M2 qui forme les canaux ioniques). C'est l'utilisation de l'épissage différentiel qui explique sans doute le fait que le cycle viral soit nucléaire. Les ARNm sont maturés puis exportés dans le cytoplasme pour y être traduits, permettant ainsi la synthèse des protéines virales.

Dans le cytoplasme, les différentes protéines virales sont assemblées. Les glycoprotéines d'enveloppe sont transportées vers la membrane. Les protéines NP se lient aux brins d'ARN négatifs pour former les RNP. Ces derniers, avec la protéine M1, vont former la matrice (<http://www.afd-ld.org>). Les nouveaux virions formés par bourgeonnement, se détachent de la cellule par clivage de l'hémagglutinine par la neuraminidase (ens-lyon.fr). Il existe certains antiviraux qui agissent comme des inhibiteurs de la neuraminidase. Un cycle de réplication entier d'un virus dans une cellule hôte ne dure souvent que quelques heures et a pour effet la genèse de plusieurs centaines de virus.

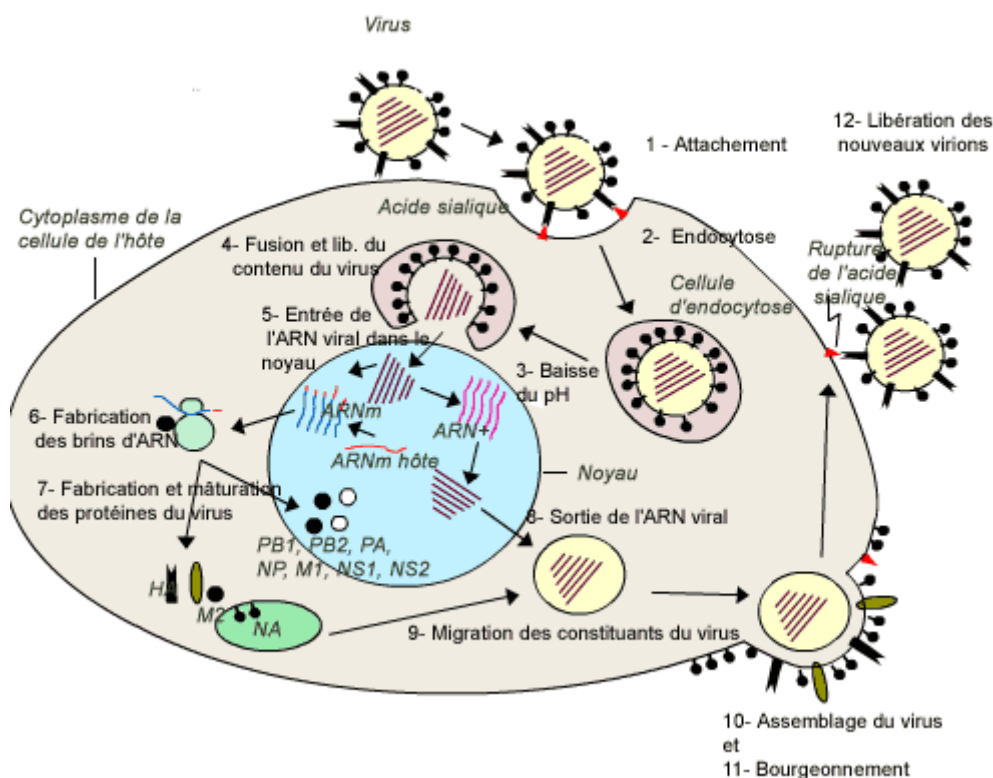


Figure 5 : Cycle de réplication du virus influenza

Source : <http://acces.ens-lyon.fr>

1.4 Les possibilités d'évolution des virus Influenza

Représentant des antigènes importants pour la fabrication d'anticorps du côté des systèmes immunitaires des organismes hôtes, les protéines d'enveloppes virales sont exposées à une pression de sélection élevée de ces systèmes immunitaires. L'hémagglutinine est ainsi détectée, combattue et enregistrée en tant qu' « envahisseur » par le système immunitaire de l'hôte. Pour survivre, chaque virus doit par conséquent, soit trouver un hôte qui n'a pas encore été exposé auparavant à ce type d'hémagglutinine, soit modifier sa propre hémagglutinine de façon à ce qu'elle ne soit pas détectée par le système immunitaire. Il doit donc développer un

avantage sélectif par rapport aux virus plus « conservateurs ». Cette variabilité qui est indispensable à la survie du virus est garantie par différents mécanismes durant le cycle de multiplication.

Il existe de nombreux type d'hémagglutinines (H1 à H16) et de neuraminidases (N 1 à N9) chez les *influenzas A* aviaires. Chez l'homme, on connaît 3 H et 2 N. Il existe deux types de variations génétiques (et donc antigéniques) du virus qui se traduisent respectivement par la "dérive antigénique" et par le "saut antigénique"(Forrest, Webster 2010).

1.4.1 La variabilité par mutation : la dérive antigénique ou « antigenic drift »

Puisque les ARN polymérase virales ne possèdent pas de fonction de réparation des erreurs de réplication de l'ARN, par cycle de réplication d'ARN, le taux de mutation des nucléotides serait de l'ordre de 9×10^{-6} à 7×10^{-5} (Drake 1993), ce qui est un taux de mutations très élevé (le taux d'erreurs est 1000 fois plus élevé qu'avec l'ADN polymérase humaine). Ces caractéristiques (grand nombre, temps de génération court, taux de mutations élevé) contribuent à une évolution virale extrêmement rapide. Chaque mutation permettant au virus d'esquiver le système immunitaire de son hôte, est sélectionné, transmise et propagée. Ainsi, il y a un changement d'environ un nucléotide par génération virale. Les nombreuses mutations ponctuelles mènent à des modifications (minimales) dans le génome et peuvent aboutir à un changement de la séquence des acides aminés. Cette modification continue du génome est appelée « dérive génétique ». Si la mutation se rapporte aux gènes qui codent des antigènes, la structure de ces protéines en question peut changer légèrement; on parle alors de « dérive antigénique » (Raman et al. 2014).

Les erreurs dans les gènes codant la neuraminidase et l'hémagglutinine sont les plus fréquentes. Or, l'hémagglutinine est la cible majeure de la réponse immunitaire humorale de l'hôte, ce qui va conduire à la sélection de mutant avec des substitutions d'acides aminés au niveau du site antigénique de l'hémagglutinine (Landolt, Olsen 2007). En effet, les changements au niveau du site antigénique rendent les virus moins reconnaissables par le système immunitaire de l'hôte, ils ne seront plus neutralisés par les anticorps et seront naturellement sélectionnés.

Cette dérive antigénique est très présente chez les virus influenza humains, et cause des épidémies annuelles de la grippe. Cette dérive est un peu moins présente chez les virus équin et porcins et encore moins chez les influenzas aviaires. Le taux d'évolution de ces derniers est d'ailleurs beaucoup plus important chez les volailles que chez l'hôte naturel représenté par les oiseaux sauvages.

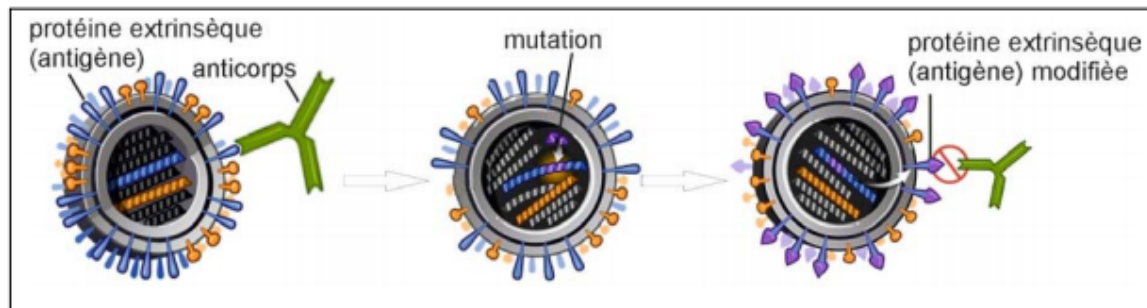


Figure 6 : La dérive antigénique

Source : <http://www.evolution-of-life.com/>

Ci-dessus se trouve une illustration schématique de la dérive antigénique. Sous la pression immunitaire de l'hôte (l'action des anticorps), les mutants avec des substitutions d'acides aminés touchant le site antigénique de l'hémagglutinine et de la neuraminidase sont sélectionnés. Ici, la mutation touche l'hémagglutinine et protège le nouveau virion des anticorps de l'hôte. C'est pourquoi il sera sélectionné parmi la population.

1.4.2 La variabilité par néo-combinaisons : le réassortiment génétique

Les virus ayant un génome segmenté, peuvent en plus des mutations, faire preuve de modifications génétiques appelées réassortiments génétiques. Cela correspond à l'échange d'un ou de plusieurs segments d'ARN entre deux virus qui ont infecté simultanément la même cellule hôte. Pendant l'assemblage des virus lors de la réplication, il se peut que des segments de gène appartenant aux deux virus se retrouvent dans un même virion. En effet, le système réplicatif de l'hôte ne fait pas de distinction sur l'origine des différents ARN. Cette nouvelle combinaison de segments entiers de matériel génétique mène à la création de nouveaux virus. Si, durant le réassortiment génétique, il y a un échange des segments

génétiques codant les protéines extrinsèques virales de l'hémagglutinine et de la neuraminidase, les virus reçoivent une nouvelle structure antigénique. On parle de substitution antigénique. C'est ainsi que ces nouveaux virus peuvent éventuellement franchir la barrière de l'espèce (Landolt et al.2007). Deux des trois majeures pandémies d'influenza A chez l'homme au siècle dernier (en 57 et 68), et de celle de 2009, ont été causées par des virus réassortis entre des virus influenza A humains et des virus d'autres espèces hôtes (Landolt et al. 2007).

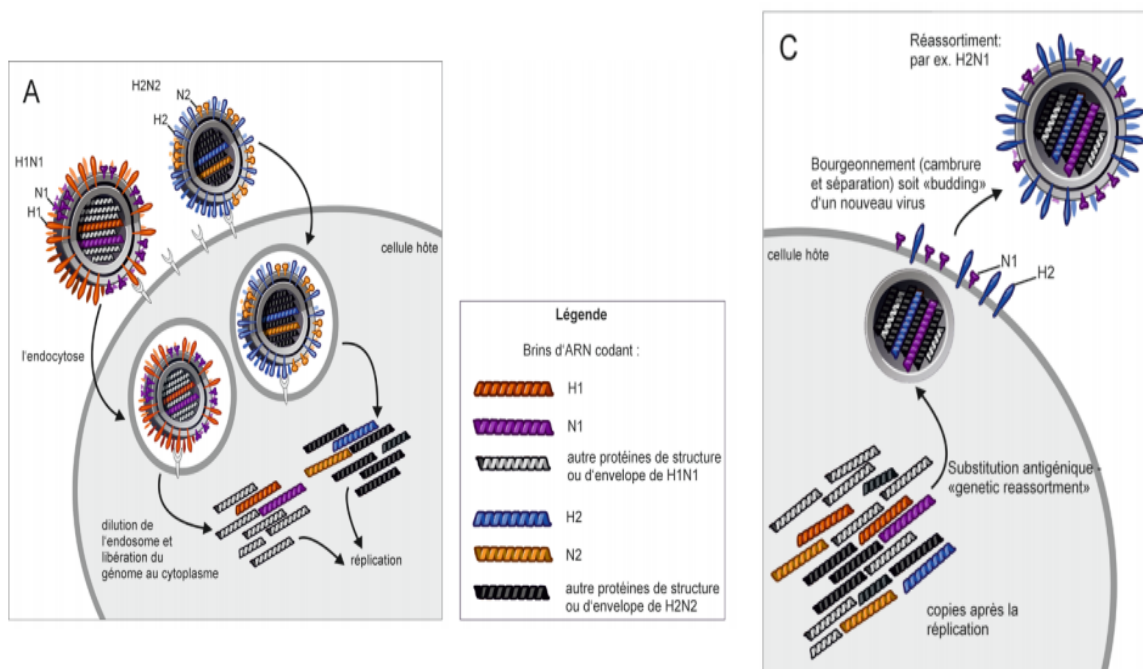


Figure 7: Exemple de réassortiment génétique © National Institute of Allergy and Infectious Diseases (NIAID) (modifiés) Source : <http://www.evolution-of-life.com/>

La figure 6 illustre de façon schématique un réassortiment génétique. Lors de la co-infection d'une même cellule par deux virus distincts, des segments de gènes peuvent être échangés, entraînant la formation d'un nouveau sous-type de virus avec une hémagglutinine différente. Le virus peut donc échapper au système immunitaire et causer une pandémie ou épidémie. Il faut pour cela un hôte sensible à deux virus différents. Ces deux virus peuvent provenir de deux espèces différentes (aviaires et porcines par exemple). C'est d'ailleurs l'hypothèse sur la genèse du virus pandémique de 2009 H1N1.

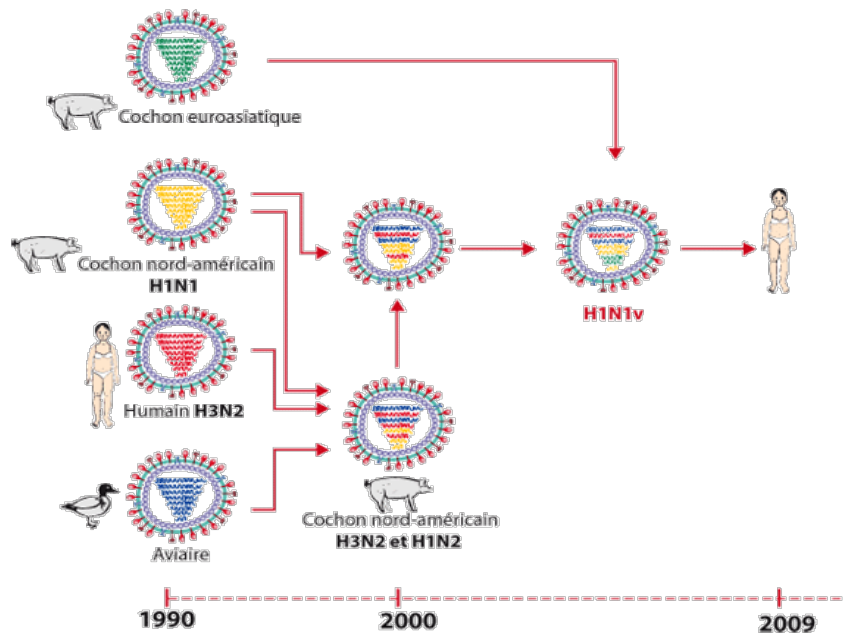


Figure 8: Hypothèse sur la genèse du virus pandémique H1N1 en 2009

Source : Trifonov et al. N Eng J Med 2009, 361:115-119

1.5 Les récepteurs des virus influenza

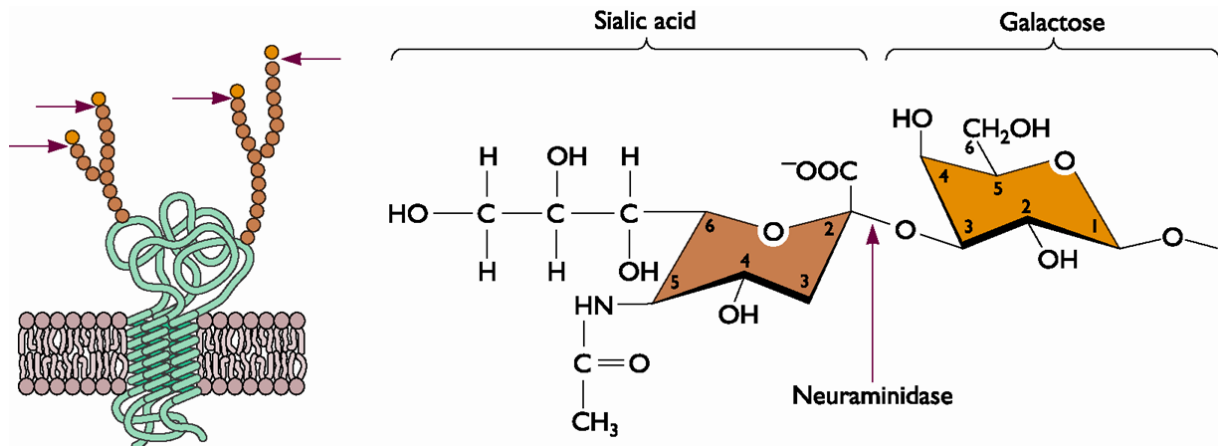


Figure 9: Structure des récepteurs des virus influenza A

Source : <http://accs.ens-lyon.fr/>

Les récepteurs des virus sont composés d'un acide sialique, présent à l'extrémité terminale de molécules sialylooligosaccharidiques de la membrane cellulaire, relié à une molécule de galactose, soit par une liaison glycosidique $\alpha 2,3$ (plutôt pour les virus aviaires) ou $\alpha 2,6$ (plutôt chez les virus d'origine humaine). Le galactose est un hexose épimère du glucose au 4^{ème} carbone. L'acide sialique (ou N-acétylneuraminique) est un dérivé d'ose possédant 11 atomes de carbone, pouvant se lier à de nombreuses lectines (protéines se liant aux glucides, dans le cas des virus à l'hémagglutinine).

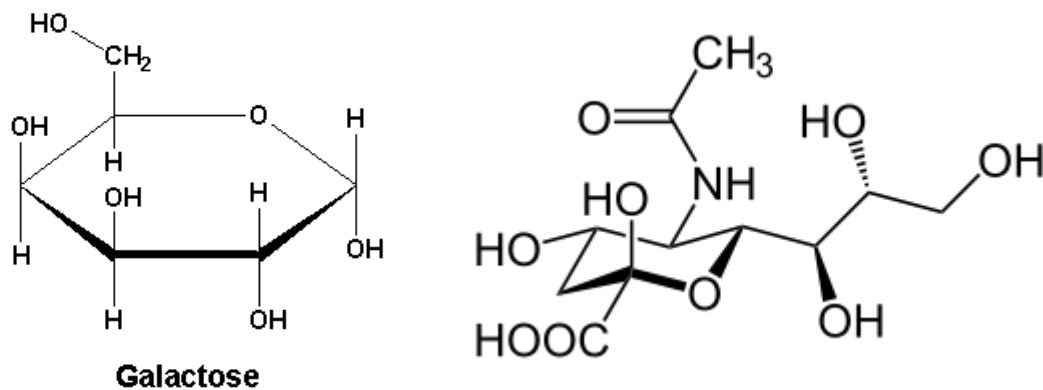


Figure 10: Projection de Haworth du Galactose (à gauche) et représentation de Cram de l'Acide sialique (à droite)

L'abondance d'un ou plusieurs types de récepteurs sur les cellules cibles aux sites de réplication virale exerce une pression de sélection variable sur la spécificité d'hôte.

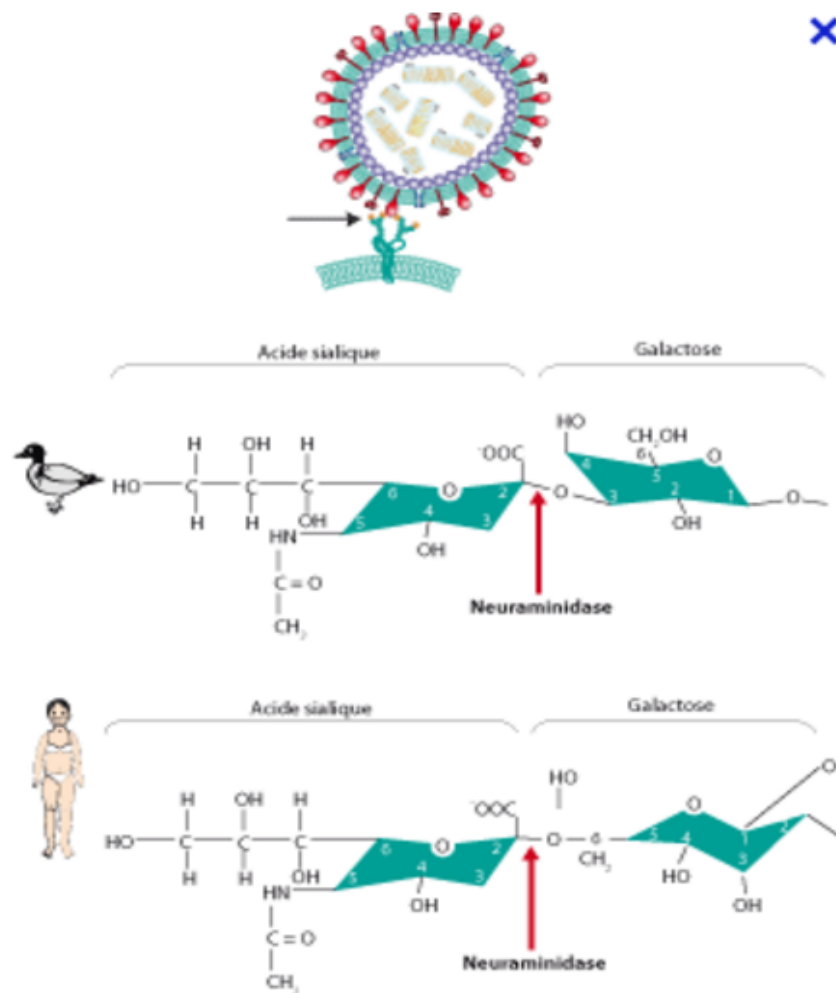


Figure 11: Attachement du virus influenza aux récepteurs humains ou aviaires

Source : <http://www.afd-ld.org/>

1.6 Ecologie des virus influenza

1.6.1 Les oiseaux aquatiques sauvages comme principal réservoir

Les virus influenza ont été détectés chez plus de 105 espèces d'oiseaux de 12 ordres différents, mais il existe des différences de sensibilité entre les espèces. Les oiseaux aquatiques sauvages sont considérés comme le réservoir principal des virus influenza A dans la nature (Webster et al 1992), en particulier les espèces de l'ordre des Anseriformes (dont la famille des Anatidés comprenant canards et oies) et de l'ordre des Charadriiformes (dont la famille des Laridés comprenant mouettes et goélands). Les virus influenza peuvent parfois être isolés chez des espèces appartenant à d'autres ordres tels que les Ciconiiformes, les Gaviiformes, les Gruiformes, les Pelecaniformes, Podicipediformes et Procellariiformes ; et d'autres espèces d'oiseaux terrestres comme les Columbiformes, les Falconiformes, les Passeriformes, Piciformes et Psittaciformes (França et al. 2013).

Les oiseaux sauvages sont porteurs de l'infection mais celle-ci ne se manifeste que par de légers symptômes, voire passe inaperçue. Parmi ce réservoir de nombreuses souches de virus existent, puisqu'il n'existe pas moins de 16 sous-types de HA et 9 sous-types de NA. Plus récemment H17 et H18 ainsi que N10 et N11 ont été isolés chez les chauves-souris. La détection de virus influenza A chez les chauves-souris (qui représentent 20% des tous les mammifères connus) étend la gamme d'hôte de façon dramatique (Mehle 2014).

Au moins 82 combinaisons HA/NA différentes ont été identifiées, la plupart chez les oiseaux aquatiques. Des virus ont pu être isolés dans un lac où de nombreux oiseaux coexistent. Malgré leur relative fragilité, des virus persistants ont pu être isolés dans un lac où de nombreux oiseaux coexistent. La persistance des virus dans l'eau dépendrait de plusieurs paramètres (température, pH) (Webster et al 1992).

Deux voies principales de transmissions peuvent alors être impliquées dans la propagation de la grippe aviaire :

- une contamination par contact direct d'individu à individu
- une transmission par l'eau

Les oiseaux peuvent contracter la maladie et en engendrer une flambée épidémique en buvant ou bien en filtrant l'eau lorsqu'ils mangent, donnant naissance à une transmission fécale-orale (Webster et al. 1992).

Des études menées au Canada ont montré que plus de 20% des jeunes oiseaux étaient infectés par un virus influenza avant leur migration automnale, alors qu'aucun d'entre eux ne présentaient de symptômes. Elles ont montré que les virus influenza prédominent chez les canards en Août et Septembre. Le taux d'isolation des virus varie d'une année sur l'autre, et durant leur migration du Canada vers le Mississippi, les oiseaux continuent de répandre le virus même si le taux tombe à 0.4% en Janvier. Des échantillons ont montré qu'à leur retour, les canards étaient porteurs à hauteur de 0.25%, ce qui est un taux suffisant pour dire que les virus influenza sont rapportés par les canards sauvages (Webster et al. 1992). De nombreuses espèces d'oiseaux sauvages ont donc un fort potentiel disséminatoire des virus influenza sur de larges distances, quand ce sont des grandes espèces migratoires. Certains auteurs pensent que le comportement migratoire de certaines espèces peut être affecté par une éventuelle infection par un virus influenza, même dans le cas de souches faiblement pathogènes (Vandegrift et al. 2010)

Les sous-types de virus isolés diffèrent selon les espèces. Par exemple alors que H3 et H6 sont prévalents chez les canards, ils sont peu isolés chez les limicoles et les mouettes, chez qui on retrouve plus fréquemment H4, H9, H11, H13. De même pour la neuraminidase, chez les canards on retrouve plus souvent N2, N6 ou N8, et plus souvent N6 et N9 chez les mouettes et les oiseaux de rivage.

Il existe plusieurs souches de virus influenza, généralement classées en deux catégories:

- Les souches faiblement pathogènes (IAFP) provoquant généralement peu ou pas de manifestations cliniques chez les oiseaux
- Les souches hautement pathogènes (IAHP) entraînant de graves manifestations cliniques et/ou une forte mortalité (jusqu'à 100% dans un délai de 48 heures).

La souche hautement pathogène H5N1 du virus de l'IA a beaucoup fait parler d'elle ces dernières années en raison de l'apparition de foyers importants chez les oiseaux domestiques et les oiseaux sauvages au niveau mondial à partir de l'Asie. La situation est préoccupante en raison du degré de virulence non seulement chez les volailles mais également chez les oiseaux

sauvages ainsi que la capacité de cette souche à s'étendre aux mammifères, les virus de l'IAHP H5N1 ayant provoqué des cas humains. Il existe des souches de virus IAHP H5N1 faiblement pathogènes qui n'entraînent pas de manifestations cliniques graves.

La plupart des virus isolés chez des oiseaux sauvages (dont la majorité appartient aux sous-types H5 et H7) présentent un profil faiblement pathogène. L'hypothèse actuelle est que les virus H5 et H7 hautement pathogènes émergeraient suite à la transmission d'un virus faiblement pathogène depuis les oiseaux sauvages vers les oiseaux d'élevage, chez qui ils évolueraient vers un phénotype pathogène. Ces virus hautement pathogènes pour les volailles d'élevage se répliquent peu et sont rarement pathogènes pour les oiseaux sauvages (Van Reeth 2007).

1.6.2 Un virus pouvant se transmettre à de nombreuses espèces

Les virus influenza des oiseaux aquatiques sont parfois transmis aux volailles domestiques. Les espèces domestiques les plus sensibles sont la dinde, la poule, la caille, l'oie, le faisan, la pintade et l'autruche. Le canard domestique est régulièrement infecté mais il n'exprime en général pas de signe clinique. Les infections sont plus importantes dans les zones géographiques de migration des espèces sauvages, et plus particulièrement quand les volailles sont élevées en plein air ; par exemple, les troupeaux de dindes dans le Minnesota aux États-Unis sont infectés chaque année au moment du rassemblement d'oiseaux pour la migration (Webster et al. 1992).

L'adaptation des souches aux volailles domestiques s'accompagne souvent d'un changement de tropisme : d'un tropisme digestif, les souches passent à un tropisme respiratoire. Ce changement de tropisme s'accompagne de changement au niveau génomique et notamment, une délétion dans la tige de la neuraminidase. Une fois adaptée à l'espèce domestique, la souche se transmet par aérosol ou par ingestion. Contrairement à celui des grippe humaine, porcine et équine, le virus de la grippe aviaire ne circule pas de façon pérenne dans les populations aviaires domestiques, et l'infection est le plus souvent épizootique. Cependant, dans certaines régions comme au Moyen Orient (souches H9N2), en Asie « de l'Est » (souches H5N1) et au Mexique (souches H5N2) ou dans certains segments du marché avicole tels les marchés d'animaux vivants (aux USA, souches H7N2), l'infection est endémique (Swayne, D. E., and D. A. Halvorson. 2003).

Le virus influenza aviaire peut être transmis naturellement à des mammifères sauvages (mammifères marins, vison, furet, et récemment tigre et panthère) ou domestiques tels le porc (voir ci-dessus), le cheval (Guo et al. 2007), et plus récemment, le chat (voir ci-dessous). Ces transmissions restent cependant très rares. Les volailles domestiques peuvent également être infectées par des virus influenza de mammifères. L'exemple connu est l'infection de troupeaux de dindes par des souches d'influenza porcine (sous-types H1N1 et H1N2 et H3N2) (Suarez et al. 2002a) (Choi et al. 2004, p. 2).

La transmission directe de la grippe aviaire à l'homme est extrêmement rare. Les premiers cas préoccupants ont été observés durant l'épizootie de peste aviaire (sous-type H5N1) de 1997 à Hong Kong : 6 personnes infectées sur les 18 hospitalisées sont décédées. Les autorités décidèrent l'abattage de la population entière de poulets. Deux ans plus tard, toujours à Hong Kong, une souche H9N2 était isolée de deux enfants souffrant de grippe. Cette souche d'origine aviaire comportait des gènes internes très similaires à la souche H5N1 de 1997. En 2003, un père et son fils ont été infectés avec une souche H5N1 en Chine, le père est décédé. La transmission d'influenza aviaire à l'homme a également été observée lors de la récente épizootie de peste aviaire aux Pays-Bas. Quarante-neuf isollements d'influenza ont été obtenus sur les 260 personnes testées présentant une conjonctivite ou un syndrome grippal. Un vétérinaire de 57 ans présentant des symptômes grippaux et porteur de la souche H7N7 est décédé à la suite d'une pneumopathie (Fouchier et al. 2004).

Vingt-huit décès humains sur trente-neuf cas ont été rapportés entre janvier et début septembre 2004 lors de la récente épizootie de grippe H5N1 en Asie. Ces cas n'ont été détectés que dans 2 des 8 pays touchés par l'épizootie (Vietnam et Thaïlande). Au Canada, des infections humaines ont également été détectées durant l'épizootie de grippe de 2004. Les signes cliniques chez l'homme vont d'une simple conjonctivite à des signes grippaux sévères. Jusqu'à présent, parmi les souches aviaires, seules les souches hautement pathogènes ont provoqué des décès humains. Le risque de transmission à l'homme des virus influenza aviaires a fait l'objet d'un excellent rapport de l'Agence Française de Sécurité Sanitaire des aliments (AFSSA, rapport adopté le 10 juillet 2002).

L'évolution des souches H5N1 en Chine a été étudiée depuis l'épizootie de grippe aviaire H5N1 en 1997. Alors que les souches isolées chez l'homme n'ont plus été retrouvées après l'abattage des poulets, les précurseurs putatifs de ces souches ont continué de circuler, se sont réassortis avec d'autres souches et ont infecté différentes espèces aviaires (Li et al. 2004).

Bien que les souches HP ne soient généralement pas pathogènes pour les oiseaux sauvages, sont apparues en 2002 à Hong Kong plusieurs souches H5N1 de génotype différent mais létales pour les oiseaux aquatiques sauvages et notamment, le canard considéré jusqu'alors comme très résistant. Ces souches présentent également un profil antigénique et un tropisme (notamment pour la souris) différent des souches isolées d'épizooties précédentes (Guan et al. 2004). Les souches isolées en 2003 induisent la production *in vitro* de cytokines pro-inflammatoires par des macrophages primaires humains contrairement aux souches isolées en 2001 ou 1997 (Guan et al. 2004). Ces nouvelles souches asiatiques ont également été isolées en 2004 en Thaïlande d'un tigre et d'un léopard d'un zoo près de Bangkok ainsi que de chats domestiques ; le léopard ainsi que 14 des 15 chats présents dans le même foyer sont décédés. Une infection de félidés de zoo (tigre, léopard,...) a également été observée au Cambodge. Tous ces animaux infectés avaient été nourris ou en contact avec des poulets infectés (Keawcharoen et al. 2004).

L'infection expérimentale (administration intra-trachéale ou infection par l'intermédiaire de poulet infecté) de chats par ces souches asiatiques a provoqué des symptômes de grippe (fièvre, troubles respiratoires, et même mortalité) chez les animaux inoculés mais également chez des animaux en contacts. Les chats pourraient donc être un vecteur de transmission entre poulaillers (Kuiken et al. 2004).

Alors que la transmission inter-espèces de virus grippal était considérée aller dans le sens « espèces sauvages vers espèces domestiques », il est maintenant bien établi qu'en Chine du Sud, les deux sens de transmission sont observés, notamment pour les sous-types H5N1 et H9N2 (Li et al. 2004). Il est probable que les espèces sauvages migratrices aient joué un rôle important dans l'extension de la grippe aviaire en Asie. Chaque passage dans une autre espèce que celle d'origine s'accompagne d'une adaptation de la souche virale à la nouvelle espèce ; ces multiples passages entre espèces sont certainement une des causes des variations croissantes de génotype, de profil antigénique et de tropisme des souches asiatiques H5N1.

1.6.3 Conséquence sur la santé humaine et enjeux pour la communauté vétérinaire

Le sous-type A(H5N1) (comprenant des virus de la grippe aviaire hautement pathogènes) a infecté pour la première fois des êtres humains en 1997, lors d'une épizootie touchant la volaille à Hong Kong (région administrative spéciale de Chine). Depuis sa réémergence à une vaste échelle en 2003 et 2004, ce virus aviaire s'est propagé de l'Asie à l'Europe et à l'Afrique et s'est durablement enraciné dans les populations de volailles de certains pays, provoquant des millions d'infections chez ces oiseaux, des centaines de cas humains et de nombreux décès chez l'homme. Les flambées épidémiques affectant la volaille ont eu de graves répercussions sur les moyens de subsistance, l'économie et le commerce international dans les pays touchés (Capua, Alexander 2006).

Le sous-type A(H7N9), un virus de la grippe aviaire faiblement pathogène, a tout d'abord infecté trois personnes, deux habitants de la ville de Shanghai et un habitant de la province de l'Anhui, en mars 2013. Aucun cas d'infection à virus A(H7N9) n'a été notifié en dehors de la Chine. Les mesures de confinement, dont la fermeture des marchés d'oiseaux vivants pendant plusieurs mois, ont eu des effets sur les secteurs agricoles des pays touchés et le commerce international. Il sera nécessaire de poursuivre la surveillance du virus A(H7N9) pour détecter et endiguer sa propagation (Capua, Alexander 2006).

Le fait que le A(H5N1) et le A(H7N9) continuent à circuler parmi les volailles d'élevage (en particulier à l'état endémique) représente une menace persistante pour la santé publique, car ces virus ont à la fois le potentiel de causer de graves maladies chez l'homme et la capacité de muter sous une forme qui est davantage transmissible d'homme à homme. D'autres sous-types du virus grippal circulent également parmi les volailles et d'autres animaux et peuvent aussi constituer une menace potentielle pour la santé publique.

Plusieurs pandémies ont d'ailleurs eu lieu au cours du 20^{ème} et 21^{ème} siècle. En premier lieu la grippe espagnole, en 1918, causée par un virus H1N1, la plus sérieuse pandémie enregistrée à ce jour. Le nombre de mort causé par cette pandémie pourrait atteindre entre 20 et 50 millions (Johnson, Mueller 2002), ce qui signifie un taux de mortalité de 1% de la population mondiale.

Ensuite s'est déroulée la grippe asiatique de 1957 causée par un sous-type H2N2 provenant d'une source aviaire, causant 2 millions de morts. Puis est arrivée la grippe dite de Hong

Kong de 1968 avec un virus H3N2 faisant 1 à 2 millions de morts (Guan et al. 2010). Ces deux pandémies venaient de virus contenant à la fois du génome aviaire et humain. Puis la grippe russe de 1977 faisant peu de cas, et enfin la grippe porcine en 2009, causée par un virus H1N1. Ce dernier épisode a causé 18449 cas humains confirmés (WHO 2010), ce qui est peu par rapport aux précédentes pandémies. Néanmoins, en s'étendant à au moins 214 pays, cela démontre l'existence d'un virus possédant un potentiel de transmission entre êtres humains important et cela reste préoccupant car il pourrait se réassortir avec un virus plus létal tel que le virus hautement pathogène H5N1. Fort heureusement, la combinaison hautement pathogène/ transmissible entre êtres humains ne s'est encore jamais produite (Bourret, 2012).

Le principal facteur de risque d'infection humaine semble être l'exposition directe ou indirecte à des volailles infectées, vivantes ou mortes, ou à des environnements contaminés. Il est essentiel de contenir la circulation des virus A(H5N1) et A(H7N9) chez les volailles pour réduire les risques de transmission à l'homme. Compte tenu de la persistance des virus A(H5N1) et A(H7N9) dans certaines populations de volailles, cette lutte nécessite un engagement à long terme des pays et une bonne coordination entre les autorités de santé animale et de santé publique (WHO 2014).

Les données actuelles ne permettent pas de dire si les virus H5N1 et H7N9 pourraient contaminer l'homme par l'intermédiaire des œufs ou de la viande de volailles, si ces derniers sont bien préparés. Quelques rares cas humains de A(H5N1) ont été mis en relation avec la consommation de mets préparés avec du sang de volaille cru contaminée (WHO 2014). Enfin, la préparation des volailles pour leur consommation (abattage, plumage) entraînant la manipulation des carcasses infectées serait un facteur de risque, en particulier dans le cadre familial (WHO 2014).

Prédire l'apparition des pandémies de grippe (flambées affectant un fort pourcentage de la population mondiale) est impossible malgré leur caractère récurrent, et ces dernières ont des conséquences sanitaires, économiques et sociales à l'échelle mondiale. Une pandémie de grippe survient lors de la présence simultanée de plusieurs facteurs essentiels.

- L'émergence d'un virus grippal capable d'induire une transmission interhumaine durable
- Une immunité très faible ou nulle vis-à-vis de ce virus chez la plupart des individus (WHO 2014).

Avec la mondialisation, les échanges sont très importants entre les pays, autant en marchandises qu'en population. Ainsi, une épidémie localisée pourrait se transformer rapidement en pandémie, laissant peu de temps pour préparer une riposte de santé publique permettant d'enrayer la propagation de la maladie (WHO 2014).

Les virus H5N1 et H7N9 par leur circulation constante à grande échelle dans certaines populations de volailles sont des virus dits à « potentiel pandémique » (WHO 2014). La plupart des personnes ne sont probablement pas immunisées contre ces virus qui peuvent occasionner chez eux de graves maladies et des décès. On ignore toutefois si le virus grippal A(H7N9) pourrait véritablement provoquer une pandémie (WHO 2014).

La communauté scientifique vétérinaire joue un rôle clé dans le contrôle et l'éradication des virus influenza aviaire hautement pathogènes, la gestion adéquate des foyers émergents et dans les résultats des efforts qui sont produits pour combattre cette menace mondiale. Des analyses rétrospectives portées sur les récents foyers émergents ont permis d'identifier les points faibles dans le système de gestion, ce qui nécessite des améliorations. La communauté scientifique doit donc analyser toutes les informations obtenues et développer des stratégies de contrôle et de prévention appropriées (Capua, Alexander 2006).

1.7 Objectifs de cette étude

Nous avons vu que la transmission inter-espèce des virus influenza A était un facteur essentiel dans l'apparition de pandémies ou panzooties aux conséquences parfois dramatiques. La spécificité de liaison aux récepteurs cellulaires et l'expression de ces récepteurs chez les hôtes sont considérés comme des déterminants majeurs de ces phénomènes de transmission inter-espèce. En particulier, la théorie dominante indique que les virus aviaires se lient à des récepteurs présentant une liaison $\alpha 2,3$ entre l'acide sialique et le galactose, alors que les virus humains se lieraient à des récepteurs possédant une liaison $\alpha 2,6$.

Cependant, la situation est bien moins décrite chez d'autres espèces, et certaines études empiriques ont rapporté des résultats contradictoires à ce sujet (Zhang 2009).

Devant l'importance de cette question, nous proposons ici une méta-analyse quantitative de la préférence des virus de différents hôtes pour l'un et l'autre des récepteurs, ainsi que l'expression de ces deux types de récepteurs chez les différents hôtes. Notre objectif est ainsi d'offrir une référence la plus générale possible sur ce sujet.

Nous discuterons enfin les implications de ces résultats pour l'épidémiologie des virus influenza A, et notamment les différentes voies de transmission inter-espèce.

II. Affinité des virus pour les récepteurs $\alpha 2,3$ ou $\alpha 2,6$

Devant la difficulté à généraliser des résultats concernant l'affinité des différentes souches et sous-types de virus pour les deux types de récepteurs pour un hôte donné, le but est ici de rassembler le maximum de données afin de faire une méta-analyse et de tirer des conclusions aussi solides que possible.

2.1 Méthodologie

Le but ici a été de compiler des données empiriques publiées sur l'affinité relative de différentes souches et sous-types de virus influenza isolés pour chacun des deux récepteurs. Les estimations d'affinité des liaisons pour l'un ou pour l'autre des récepteurs ont été extraites à partir de quarante-deux articles scientifiques analysés pour cette étude, et décrivant les tests expérimentaux de liaisons de différentes souches de virus influenza A de différents hôtes aux récepteurs. Pour effectuer la recherche de littérature de manière exhaustive et reproductible, des mots clés précis ont été utilisés dans PubMed. Pour l'année 2013 par exemple, les mots clés utilisés ont été :

```
("2013"[PDAT] : "2013"[PDAT]) AND influenza[Title/Abstract] AND receptor[Title/Abstract] AND (binding[Title/Abstract] OR distribution[Title/Abstract] OR preference[Title/Abstract])
```

Une fois ces mots clés rentrés, il a fallu faire le tri et analyser les articles pertinents pour en extraire les informations voulues. Chaque année a été traitée individuellement de 2015 à 1970. Il a été décidé de stopper la collecte des publications en fin d'année 2015.

Ensuite l'objectif a été de quantifier par des scores l'affinité des virus pour les deux types de récepteurs. Dans un tableau ont été consignées les souches étudiées dans les différentes études, leur hôte, le sous-type, l'affinité estimée pour les deux récepteurs, ainsi que la référence de l'article dans lequel cela a été trouvé. Les études plus anciennes utilisaient la méthode d'hémagglutination, qui dans ce cas consistait à ôter les acides sialiques présents naturellement à la surface des érythrocytes pour les remplacer par des acides sialiques précis : ici les récepteurs SA- $\alpha 2,3$ ou SA- $\alpha 2,6$. Dans ce cas, la valeur de la réciproque de la dernière

dilution où une hémagglutination était observée a été retenue comme score d'affinité du virus pour la liaison (excepté dans les cas où une mesure quantitative d'affinité était directement donnée). Les études les plus récentes consistaient à doser les liaisons directes des virus avec des sialyglycopolymères synthétiques, et fournissaient parfois des constantes de dissociations, qui sont d'autant plus basses que l'affinité est élevée. Dans ce cas, la réciproque de la constante de dissociation a été utilisée.

Lorsque l'affinité de la liaison a été donnée en fonction de la concentration en sialyglycopolymère, la valeur donnée à la plus forte concentration a été retenue.

Dans les études où la valeur la plus haute correspondait à l'affinité la plus faible, comme c'est le cas dans l'étude Gambaryan et al. 1997, 2005, l'inverse de la valeur a été utilisé. Lorsque différents variants du même virus étaient utilisés, les mesures du variant ayant subi le plus faible nombre d'amplification ont été retenues. Lorsque des valeurs d'haemagglutination et d'adsorption ont été fournies pour le même virus, comme c'est le cas pour Rogers et D'Souza 1989, seules les valeurs d'adsorption ont été utilisées. Enfin, les données obtenues à partir de virus chimériques reconstitués ou réassortis artificiellement n'ont pas été pris en compte ; et les données d'haemagglutination obtenues avec des globules rouges non désialisés puis re-sialisés n'ont pas été retenues.

Pour permettre une comparaison quantitative des estimations entre les différentes études, chaque virus a été assigné d'un score normalisé « Si » obtenue par la présente formule :

$$Si = \frac{Ai}{Ai + Bi}$$

où Ai et Bi représentent les estimations empiriques des affinités de liaisons rapportées pour les récepteurs $\alpha 2,3$ et $\alpha 2,6$ respectivement pour un virus i . Si est donc le score pour le récepteur $\alpha 2,3$, ce score peut varier entre 0 et 1, où 1 signifie une liaison exclusive pour le récepteur $\alpha 2,3$, 0,5 signifiant que le virus n'a pas de préférence pour l'un ou pour l'autre des récepteurs et 0 signifiant une liaison exclusive pour $\alpha 2,6$.

Pour ensuite faciliter l'analyse des données, il a fallu les extraire du tableau créé précédemment pour ne garder que les données les plus importantes et regrouper les espèces.

Pour cela, les espèces telles que faisan, pigeon, pintade, autruche, étourneau ont été regroupées sous le terme T pour « oiseaux terrestres ». Les espèces telles que le canard (et apparentés comme le canard pékin ou encore le canard pilet), l'oie, l'oie à tête barrée, la mouette rieuse, le goéland, la sterne et la sarcelle ont été regroupées sous le terme W pour « oiseaux aquatiques ». La caille, le poulet et la dinde ont été séparées volontairement car elles joueraient un rôle particulier qui pourrait être celui d'hôte intermédiaire, d'après la littérature (Costa et al, 2012). Enfin, les sous-types possédant moins de trois valeurs par espèce ont été écartés. Finalement, les analyses ont été conduites pour les espèces suivantes dans l'ordre : Oiseaux aquatiques (W), Homme (H), Poulet (Ck), Caille (Qu) , Dinde (Tky), Oiseaux terrestres (T) , Porc (P) , Cheval (E), Phoque (Ph).

L'affinité relative des sous-types de virus influenza A isolés des différents hôtes envers les deux récepteurs a ensuite été représentée sur un graphique. Ce graphique a été réalisé à l'aide du logiciel Excel. Un intervalle de confiance à 95% de la moyenne des scores de chaque sous-type pour chaque hôte a été calculé à l'aide de la fonction bootstrap du logiciel R, interface RStudio (logiciel en téléchargement libre sur internet). Ce bootstrap permet de simuler un grand nombre de données de façon aléatoire, et effectue un ré échantillonnage ; cela permet de s'affranchir de l'assurance pour nos valeurs de suivre une loi Normale. En effet, dans de nombreux cas le nombre de données était trop faible pour suivre une loi normale, et surtout les valeurs extrêmes (0 ou 1) étaient sur-représentées. Ces intervalles de confiance sont représentés par les rectangles blancs sur la figure 12. Les traits en pointillés donnent une idée de la dispersion des données. Les limites des traits en pointillés ont été calculées à l'aide de la formule suivante : moyenne – écart type pour les limites basses ; moyenne + écart-types pour les limites hautes. En effet, certaines valeurs étaient très éloignées de la moyenne, rajouter la dispersion totale autour des intervalles de confiance n'aurait pas été très informatif.

2.2 Résultats

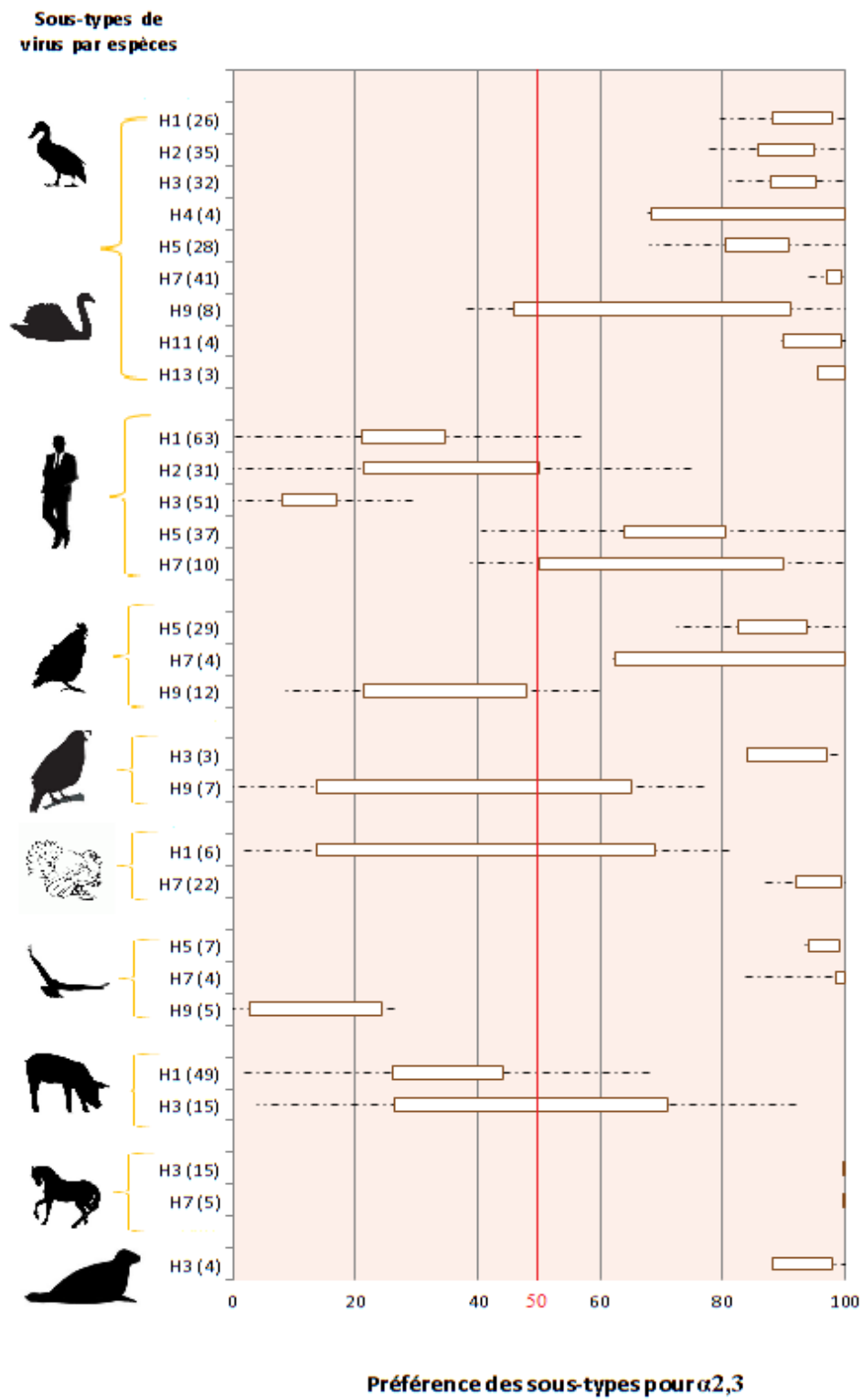


Figure 12 : Préférence des sous-types pour les récepteurs $\alpha 2,3$

Hôtes et Sous-types	Articles de référence
Oiseaux Aquatiques	
H1 (26)	9,10,11,12,16,17,21,22,23,28,29,33,
H2 (35)	6,9,11,12,17,21,22,23,25,26
H3 (32)	6,9,10,12,17,21,22,23,29,38
H4 (4)	7,9,11,12
H5 (28)	9,11,15,18,19,21,22,31,35,36,37,38
H7 (41)	9,12,18
H9 (8)	9,24,42
H11 (4)	9,12,17,29
H13 (3)	9, 20
Homme	
H1 (61)	1,7,8,9,13,14,16,19,25,28,29,32,33,34,36,38,40
H2 (31)	5,6,21,23,26,29
H3 (51)	6,7,8,9,11,13,14,17,21,23,24,25,27,29,32,35,36
H5 (37)	1,2,3,7,11,13,21,27,31,34,36,37,40,41
H7 (10)	3,12,36,39
Poulet	
H5 (29)	4,7,11,13,15,21,35
H7 (4)	3, 12
H9 (12)	24, 42
Caille	
H3 (3)	38,,
H9 (7)	24,30,42
Dinde	
H1 (6)	10,23,28
H7 (22)	3,12,
Autres oiseaux terrestres	
H5 (7)	11,4
H7 (4)	3,12,
H9 (5)	24,30,42
Porc	
H1 (49)	9,10,16,23,38,29,32,
H3 (15)	9,10,25,34
Cheval	
H3 (15)	6,29,
H7 (5)	12,29,
Phoque	
H3 (4)	23,,

Figure 13: Numéro des articles dont les données ont été extraites

Numérotation de l'article	Référence	Numérotation de l'article	Référence
1	Auewarakul <i>et al.</i> (2007)	22	Matrosovich <i>et al.</i> (1999)
2	Ayora-Talavera <i>et al.</i> (2009)	23	Matrosovich <i>et al.</i> (2000)
3	Belser <i>et al.</i> (2008)	24	Matrosovich <i>et al.</i> (2001)
4	Boltz <i>et al.</i> (2010)	25	Meng <i>et al.</i> (2010)
5	Carroll <i>et al.</i> (1981)	26	Pappas <i>et al.</i> (2015)
6	Connor <i>et al.</i> (1994)	27	Ramos <i>et al.</i> (2015)
7	Crusat <i>et al.</i> (2013)	28	Rogers and D'Souza (1989)
8	Fei <i>et al.</i> (2015)	29	Rogers and Paulson (1983)
9	Gambaryan <i>et al.</i> (2006)	30	Srinivasan <i>et al.</i> (2013)
10	Gambaryan <i>et al.</i> (1997)	31	Stevens <i>et al.</i> (2006)
11	Gambaryan <i>et al.</i> (2005)	32	Suzuki <i>et al.</i> (1997)
12	Gambaryan <i>et al.</i> (2012)	33	Tumpey <i>et al.</i> (2007)
13	Gopinath <i>et al.</i> (2013)	34	Tzarum (2015)
14	Guo <i>et al.</i> (2007)	35	Watanabe <i>et al.</i> (2011)
15	Hiono <i>et al.</i> (2014)	36	Wei <i>et al.</i> (2014)
16	Ito <i>et al.</i> (1998)	37	Yamada <i>et al.</i> 2012
17	Ito <i>et al.</i> (2000)	38	Yamada <i>et al.</i> (2006)
18	Kumlin <i>et al.</i> 2008	39	Yang <i>et al.</i> (2010)
19	Li <i>et al.</i> (2014)	40	Zhang <i>et al.</i> (2015)
20	Lu <i>et al.</i> 2013	41	Zhou <i>et al.</i> (2012)
21	Mastrosovich <i>et al.</i> (1998)	42	Zhu <i>et al.</i> (2015)

Figure 14: Correspondance entre les numéros et les articles de référence

La figure numéro 12 montre la préférence relative des sous-types de virus selon les espèces. En ordonnée se trouvent les espèces placées dans l'ordre suivant : en premier les oiseaux aquatiques incluant le canard. Ensuite l'homme, le poulet, la caille, la dinde, les autres oiseaux terrestres, le porc, le cheval, le phoque. Le chiffre entre parenthèse indique le nombre de données utilisées pour calculer les intervalles de confiance à 95% de la moyenne. Pour savoir à partir de quel article ont été extraites les données, deux tableaux de références sont donnés. Le tableau source dans lequel se trouvent toutes les données est donné en annexe sur CD. Au total, 42 articles ont été analysés.

En abscisse on peut donc voir une échelle comprise entre 0 et 100. 0 signifie une affinité relative nulle pour les récepteurs $\alpha_{2,3}$ et donc par déduction une affinité relative à 100% pour les récepteurs $\alpha_{2,6}$. Le trait rouge montre une affinité à 50% pour chacun des deux récepteurs, soit pas d'affinité préférentielle pour l'un ou l'autre des récepteurs. Enfin à 100%, les virus montrent une affinité relative maximale pour $\alpha_{2,3}$ et donc nulle pour $\alpha_{2,6}$.

Analyse des résultats :

❖ **Oiseaux aquatiques :** d'après le tableau des résultats pour les oiseaux aquatiques, on peut constater que la plupart des sous-types ont une affinité relative assez importante pour les récepteurs $\alpha_{2,3}$. On peut dire que pour les sous-types H1, H2, H3, H5, H7, le nombre de données est assez important pour que les intervalles de confiance à 95% de la moyenne soient fiables. Ces sous-types présentent une affinité relative pour les $\alpha_{2,3}$ allant de 80 à 100%. Tandis que H1, H2 et H3 ont une moyenne comprise entre environ 85 et 95%, H5 montre une moyenne plutôt aux alentours de 80 à 90%. H7 montre une très nette préférence pour les récepteurs $\alpha_{2,3}$, avec une moyenne comprise entre 98 et 100% ! De plus, les données ont été obtenues à partir de nombreux articles différents : 11 pour H5 et 12 pour H1. Les 41 données rassemblées pour H7 ont été extraites à partir de 3 articles différents. H4, H9, H11 et H13 ont moins de données. On peut voir que H4 tend plutôt à se lier aux $\alpha_{2,3}$, la moyenne étant comprise entre 68 et 100%. Le peu de valeurs recueillies semblent également donner l'avantage aux $\alpha_{2,3}$ pour ce sous-type. D'autant plus que ces 4 valeurs ont été obtenues à partir de 4 études différentes, ce qui montre que malgré les différentes méthodes, la tendance reste la même pour H4. H9 lui possède plus de valeurs mais ces dernières sont plus dispersées : la moyenne va de 46 à 90%. Il est difficile de déduire une information fiable. On peut dire que la préférence relative pour $\alpha_{2,3}$ est moins certaine que pour les autres sous-types.

Enfin, H11 et H13 malgré leur faible nombre de données montrent une moyenne entre 88 et 100% et 95 et 100% respectivement. Ce qui montre une préférence relative pour les $\alpha_{2,3}$ assez fiable, surtout pour H11 qui montre 4 données issues de 4 articles différents.

Conclusion : L'affinité relative des sous-types H1, H2 H3 H4 H5 H7 H11 et H13 est importante et nette pour les $\alpha_{2,3}$, alors que le sous-type H9 se distingue des autres en présentant une affinité moins importante et un intervalle de confiance bien plus large.

❖ **Homme :** Pour l'homme, seul le sous-type H7 présente peu de données avec 10 valeurs. Le sous-type H1 possède un grand nombre de valeurs (63 issues de 17 articles

différents), et montre une moyenne comprise entre 21 et 34%, ce qui montre une faible affinité relative pour les $\alpha_{2,3}$, donc plutôt une affinité relative plus importante pour les $\alpha_{2,6}$. H2 malgré le grand nombre de données obtenues montre une moyenne plus large comprise entre 21 et 50%... L'affinité relative de H2 pour les $\alpha_{2,6}$ est donc moins prononcée que dans le cas de H1. H3 lui montre une préférence relative importante pour les $\alpha_{2,6}$. En effet, les 51 données recueillies à partir de 23 articles différents tendent vers le même résultat, et montrent une moyenne comprise entre 8 et 18%, ce qui montre une forte affinité relative pour les $\alpha_{2,6}$. H5 montre un comportement qui contraste avec les trois premiers sous-types : contrairement à aux trois premiers, la moyenne est comprise entre 65 et 80% ce qui montre une affinité relative en faveur des $\alpha_{2,3}$, les 37 valeurs ayant été obtenues à partir de 14 articles différents. H7 montre un intervalle de confiance plus large : entre 50 et 90%, l'affinité relative est donc plutôt en faveur des récepteurs $\alpha_{2,3}$ mais la position exacte de la moyenne est inconnue.

Conclusion : H1 et H3 montrent une affinité relative en faveur des $\alpha_{2,6}$ de manière assez fiable alors que cette préférence n'est pas nette dans le cas de H2 (où la moyenne pourrait aussi bien se trouver à 50% qu'à 21%). H5 montre une affinité tournée vers les $\alpha_{2,3}$, de manière plus fiable que H7.

- ❖ **Poulet** : Pour H5 29 valeurs ont été données par 7 articles différents et on voit une préférence relative nette pour les $\alpha_{2,3}$ avec une moyenne comprise entre 82 et 92% ! Pour H7 cela est moins net, la moyenne varie entre 62 et 100%, la tendance est donc à la préférence pour $\alpha_{2,3}$, mais seules 4 valeurs ont été récoltées à partir de 2 articles, ce qui est peu. Concernant H9, la tendance est inversée avec une préférence relative qui tend vers les $\alpha_{2,6}$ puisque la moyenne est comprise entre 21 et 49%.

Conclusion : H5 et H7 montrent une préférence relative pour les $\alpha_{2,3}$ contrairement à H9 qui se comporte différemment et semble se lier de façon plus importante aux $\alpha_{2,6}$.

- ❖ **Caille** : H3 montre une affinité importante pour les $\alpha_{2,3}$, avec une moyenne comprise entre 85 et 95%, cependant il n'y a que 3 données recueillies dans le même article, ce qui rend un peu moins fiable ce résultat. Il est difficile d'interpréter les valeurs

obtenues pour H9 également, car seules 7 valeurs ont été obtenues avec 3 articles différents. L'intervalle de confiance est très large allant de 15 à 65%, la dispersion est donc trop grande par rapport au nombre de valeurs qui est trop faible pour obtenir une conclusion fiable.

Conclusion : H3 semble tendre vers $\alpha_{2,3}$ d'après le peu de données obtenues. On ne peut tirer aucune conclusion générale pour H9.

- ❖ **Dinde** : H1 montre une affinité contrastée, avec un intervalle de confiance allant de 15 à 70%. Les valeurs recueillies sont faibles (6 sur 3 articles) donc on peut imaginer que soit l'affinité est contrastée pour H1, soit les valeurs ne sont pas assez nombreuses. H7 lui montre une affinité nette pour $\alpha_{2,3}$ avec des valeurs nombreuses (22).

Conclusion : H1 ne semble pas montrer d'affinité préférentielle pour l'un ou pour l'autre des récepteurs, contrairement à H7 qui montre une nette préférence pour $\alpha_{2,3}$.

- ❖ **Autres oiseaux terrestres** : H5 montre une nette préférence pour $\alpha_{2,3}$ avec une moyenne entre 94 et 100%, néanmoins le nombre de données est faible (7 sur 2 articles). H7 montre la même tendance avec une moyenne entre 98 et 100% , avec 4 valeurs obtenues avec 2 articles. H9 lui montre une tendance complètement contraire ! La moyenne se trouve entre 2 et 25%, donc ce sous-type semble bien avoir une préférence relative assez importante pour $\alpha_{2,6}$. Néanmoins le nombre de données là aussi est faible avec 5 données obtenues dans 3 articles différents.

Conclusion : Deux comportements très différents entre H5, H7 qui préfèrent nettement $\alpha_{2,3}$ et H9 qui montre une affinité importante pour $\alpha_{2,6}$.

- ❖ **Porc** : H1 montre une affinité relative qui tend vers $\alpha_{2,6}$, la moyenne étant située entre 25 et 42%. Le nombre de valeurs (49) est important et obtenu avec 5 articles différents, le résultat semble donc assez fiable. Pour H3 en revanche, le nombre de valeurs est un

peu faible et obtenu sur 4 articles différents, et l'intervalle de confiance de la moyenne est très large.

Conclusion: préférence pour $\alpha 2,3$ pour H1 et pas de préférence claire pour H3.

- ❖ **Cheval** : H3 et H7 montrent une préférence à 100% pour les $\alpha 2,3$.
- ❖ **Phoque** : H3 montre une préférence pour $\alpha 2,3$ pour un intervalle compris entre 88 et 98%.

Plusieurs virus ont été analysés plusieurs fois à travers différents articles. Il était intéressant de comparer les résultats obtenus. C'est le cas des virus suivant :

- A/Duck/Alberta/35/76, virus de sous-type H1 isolé chez le canard
- A/Duck/Bavaria/1/77, virus de sous-type H1 isolé chez le canard
- A/Mallard/Tennessee/11464/85, virus de sous-type H1 isolé chez le canard
- A/Mallard/MT/61, virus de sous-type H2 isolé chez le canard

Ces trois sous-types ont montré des résultats semblables avec une préférence pour $\alpha 2,3$, quel que soit l'article à partir duquel ils ont été analysés, seul Gambaryan et al 1997 montre une valeur légèrement en dessous avec un résultat de 77 pour A/Duck/Alberta/35/76.

- A/mallard/New York/6750/78, virus de sous-type H2 isolé chez le canard

Ce virus a montré des préférences variables selon l'article lu : alors que dans Ito et al 2000 on retrouve un score de 57 pour $\alpha 2,3$, un score de 100 est obtenu dans l'article Gambaryan et al 2012. Cet écart met encore une fois en évidence l'importance du fait d'analyser différentes études avant de tirer des conclusions générales.

- Dk/Hokkaido/7/82, virus de sous-type H3 isolé chez le canard
- A/Duck/Ukraine/1/63, virus de sous-type H3 isolé chez le canard
- A/gull/Maryland/704/1977, virus de sous-type H13 isolé chez la mouette

Ces sous-types ont eu des scores quasiment identiques malgré les origines des résultats, variant entre 94 et 100.

- A/Puerto Rico/8/34, virus de sous-type H1 isolé chez l'homme

Ce virus a obtenu des scores différents selon les études : les scores varient de 46 à 100 pour les récepteur $\alpha_{2,3}$. La série de score obtenue est la suivante : 46, 50, 67, 68, 98, 100. Ce qui donne une moyenne de 71,5 et une médiane de 67.5. Cette souche virale particulière semble avoir plus d'affinité pour les récepteurs $\alpha_{2,3}$, alors que dans l'analyse globale les sous-types H1 montraient une préférence pour les $\alpha_{2,6}$.

- A/California/04/2009, virus de sous-type H1 isolé chez l'homme
- A/Aichi/2/68, virus de sous-type H3 isolé chez l'homme

Ces deux souches ont montré une homogénéité dans les scores, allant de 0 à 17, donc en faveur des récepteurs $\alpha_{2,6}$.

- A/Udorn/307/1972, virus de sous-type H3 isolé chez l'homme
- A/Memphis/1/71, virus de sous-type H3 isolé chez l'homme

Les deux derniers sous-types ont montré des scores hétérogènes selon les articles :

Pour A/Udorn/307/1972, les scores étaient les suivants : 13,52,47,0,47. Cela donne une moyenne à 31.8 et une médiane à 47, soit des valeurs en faveur des récepteurs $\alpha_{2,6}$, ce qui suit la logique de l'analyse globale. Les valeurs pour A/Memphis/1/71 sont très disparates : 0 et 55, selon les articles.

- A/Panama/2007/1999/, virus de sous-type H3 isolé chez l'homme
- A/Vietnam/1203/2004, virus de sous-type H5 isolé chez l'homme

Cette dernière souche A/Vietnam/1203/2004 a montré des résultats homogènes : entre 75 et 100 en faveur des récepteurs $\alpha_{2,3}$. Ce qui est typique des virus H5 et va dans le sens inverse des autres sous-types.

- A/Jiangxi-Donghu/346/2013, virus de sous-type H10 isolé chez l'homme

Deux valeurs obtenues dans deux articles différents, assez disparates : 68 et 100.

- A/Turkey/MO/1/81, virus de sous-type H1 isolé chez la dinde
- A/Turkey/Kansas/4880/80, virus de sous-type H1 isolé chez la dinde

Des valeurs assez disparates pour A/Turkey/Kansas/4880/80 : 6 et 80 !

Conclusion : Non seulement différentes souches du même sous-type peuvent avoir des comportements différents d'après notre tableau général (voir le CD en annexe), mais les souches elles-mêmes ont aussi donné des résultats différents selon les études. Deux explications sont possibles : soit le comportement du virus varie réellement, soit les techniques d'étude font varier les résultats.

III. Répartition des récepteurs $\alpha 2,3$ et $\alpha 2,6$ dans les organismes des différents hôtes

Après avoir étudié la préférence des virus pour la liaison à l'un ou à l'autre des récepteurs, nous nous sommes intéressés à la proportion relative de ces derniers dans les organes chez les espèces hôtes. Cette analyse constituait le pendant indispensable à la première pour essayer de tirer des conclusions sur les possibles voies de transmission inter-espèce. De nombreuses études ont été menées sur ce sujet et les conclusions peuvent être très variables d'une étude à l'autre.

3.1 Méthodologie

Afin d'obtenir des conclusions les plus fiables possibles, un grand nombre d'études ont été compilées. Pour ne passer à côté d'aucun article, la même méthode que la recherche de littérature dans la partie II a été appliquée. Pour effectuer la recherche de littérature de manière exhaustive et reproductible, des mots clés précis ont été utilisés dans PubMed. Pour 2013 par exemple, les mots clés utilisés ont été :

("2013"[PDAT]: "2013"[PDAT]) AND influenza [Title/Abstract] AND receptor [Title/Abstract] AND (binding [Title/Abstract] OR distribution [Title/Abstract] OR preference [Title/Abstract])

Une fois ces mots clés rentrés, il a fallu faire le tri et analyser les articles pertinents pour en extraire les informations voulues. Chaque année a été traitée individuellement de 2015 à 1970. Il a été décidé de stopper la collecte des publications en fin d'année 2015.

Un tableau Excel a de nouveau été mis en place pour rassembler toutes les données. Ainsi, ont été regroupés dans ce tableau :

- L'espèce hôte
- L'organe cible
- La localisation plus précise dans cet organe

- Les cellules cibles
- La classification de l'organe
- Les valeurs pour les récepteurs $\alpha_{2,3}$ et $\alpha_{2,6}$
- Le score $\alpha_{2,3}$ calculé
- Le nombre d'individus correspondant pour cette étude
- La référence dans laquelle les valeurs ont été trouvées
- Des commentaires

La formule utilisée dans ce tableau est la même que celle déjà indiquée dans la partie II, qui nous permet de pouvoir comparer les résultats entre eux grâce à un score normalisé compris entre 0 et 1.

Une fois les articles trouvés, il a fallu au maximum extraire des données quantitatives à partir d'articles scientifiques. Certains auteurs donnent directement des valeurs chiffrées de la quantité absolue ou relative des deux récepteurs dans les organes, ces données ont été utilisées directement pour faire les scores (Pillai et al. 2010 par exemple). Cependant, dans certaines études, seulement des scores semi-quantitatifs étaient fournis sous forme de : -, +/-, +, ++, +++, qui ont été convertis en score chiffrés : 0, 1, 2, 3,4 (Costa et al. 2012 par exemple). Certains articles mettaient à disposition des images de tissus colorés, sans indication de scores. Il a donc été décidé d'attribuer des scores quantitatifs relatifs en analysant ces images. Ces analyses ont été conduites pour les tissus respiratoires et digestifs principalement, en excluant les données obtenues pour des tissus qui n'étaient pas en contact direct avec le lumen (c'est-à-dire le sub épithélium, les cellules basales et autre tissu adjacent). Pour certains articles, les images étaient trop difficiles à interpréter de manière fiable, les scores ont donc été établis d'après les indications fournies par le texte. Ainsi, les adjectifs negative, weak, moderate et strong ont été convertis également en score 0, 1, 2, et 3. Si le texte indiquait seulement la présence ou absence des récepteurs dans les tissus, le score de 0 et 1 a été utilisé respectivement.

Ensuite les scores ont été regroupés par hôtes et par organes. Etant donné le grand nombre d'espèces et d'organes analysés, ces derniers ont été regroupés. Les groupes d'espèces n'ont pas été faits au hasard, en effet, il était essentiel de regrouper les espèces vivant dans le même biotope. Ainsi, les espèces d'oiseaux pour lesquelles peu de données ont été collectées et vivant essentiellement en eau douce ont été regroupées sous le terme : « Oiseaux d'eau

douce ». De la même façon, les oiseaux vivant dans les terres ont été regroupés sous le terme « Oiseaux terrestres », enfin les espèces d'oiseaux vivant en bord de mer ont été regroupées sous le terme « Oiseaux marins ».

Les espèces pour lesquelles assez de données étaient obtenues ont été analysées séparément. Comme pour l'analyse de la préférence des virus pour les récepteurs, seuls les organes pour lesquels nous avons trois données ou plus chez une espèce ont été gardés. Pour faciliter l'analyse des tissus, nous avons également regroupé les organes. Ainsi, cavités nasales, cornets nasaux et le pharynx ont été regroupés sous le terme RU pour « respiratory upper » soit appareil respiratoire haut. Ensuite, trachée et bronches ont été regroupés sous le terme RM pour « respiratory middle » soit appareil respiratoire moyen. Enfin, bronchioles, poumons (parenchyme ou alvéoles) ont été regroupés sous RL pour « respiratory lower » soit appareil respiratoire bas. Tous les tissus appartenant au système digestif ont été regroupés sous le terme D pour digestif. Les autres organes ont chacun eu une dénomination : la lettre « s » signifie la rate, « sk » signifie la peau, « b » représente l'organe du cerveau, « h » signifie le cœur, « li » signifie le foie, « k » signifie le rein, « g » signifie les organes génitaux, « i » représente les organes du système immunitaire, « p » signifie le pancréas.

Pour faciliter l'analyse des données, seuls les organes principaux ont été gardés dans les tableaux présentés ici. Ainsi, les appareils respiratoires et digestifs sont présentés car ce sont les plus importants du point de vue de la réplication des virus et de la transmission. En effet, la transmission peut se faire par aérosols ou par la voie fécale-oral, et la réplication du virus se fait essentiellement dans l'appareil respiratoire pour l'homme et le porc, et dans l'appareil digestif pour les oiseaux. Au total, 47 articles ont été analysés pour cette partie.

Une représentation graphique des valeurs a été possible grâce au logiciel Excel. Les intervalles de confiance à 95% de la moyenne ont été calculés comme pour la partie II, à l'aide de la fonction bootstrap de R. Ils sont ici aussi représentés par des rectangles blancs. Les traits en pointillés donnent une indication de dispersion à partir de l'écart-type. Les limites de ces pointillés ont été calculées à l'aide de la formule suivante : moyenne – écart type pour les limites basses ; moyenne + écart-types pour les limites hautes. En effet, certaines valeurs étaient très éloignées de la moyenne, rajouter la dispersion totale autour des intervalles de confiance n'aurait pas été très informatif.

3.2 Résultats

3.2.1 Espèces principales

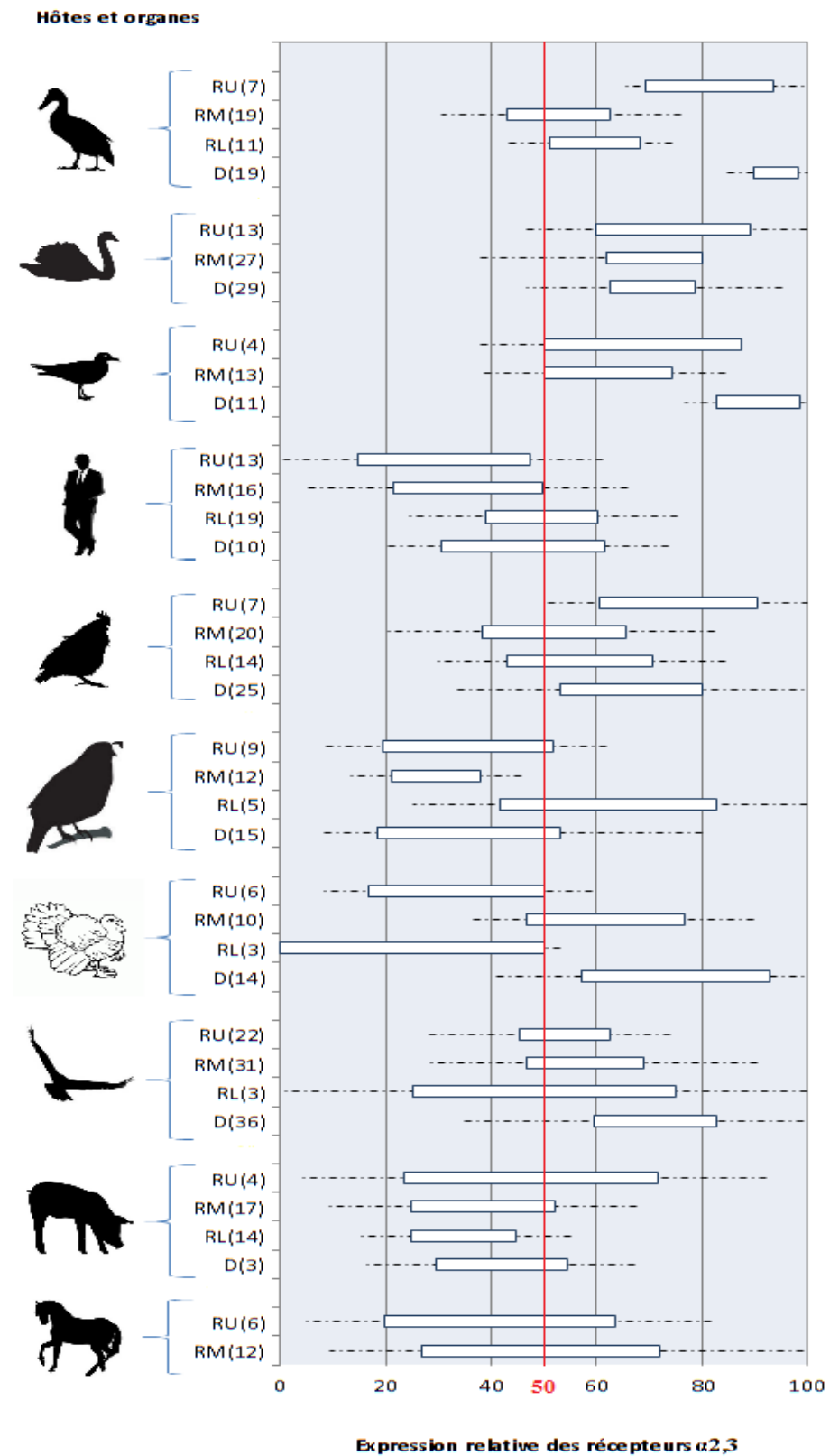


Figure 15: Expression relative des récepteurs $\alpha 2,3$ dans les organes des espèces principales

La figure ci-dessus montre l'expression relative des récepteurs $\alpha 2,3$ dans les organes des espèces principales : tout d'abord le canard qui est un important réservoir de virus. Ensuite sont montrés les oiseaux d'eau douce autres que le canard, les oiseaux marins, l'homme. Ensuite le poulet, la caille, la dinde, les autres oiseaux terrestres, le porc et le cheval. Le trait rouge à 50 indique que les deux types de récepteurs sont exprimés en même quantité.

Hôte et organes	Articles de référence	Hôte et organes	Articles de référence
Canard		Caille	
RU(7)	4,7,20	RU(9)	4,44
RM(19)	4,7,20,21,29,38,41,47	RM(12)	4,20,43,44,47
RL(11)	4,20,21,38,41,47	RL(5)	4,20,47
D(19)	4,7,9,12,14,20,21,29,43,44	D(15)	4,10,20,43,44
Autres Oiseaux d'eau douce		Dinde	
RU(13)	7, 20	RU(6)	4
RM(27)	7	RM(10)	4,20,29
D(29)	7, 20	RL(3)	4, 20
Oiseaux marins		D(14)	4,20,29
RU(4)	7	Autres Oiseaux terrestres	
RM(13)	7	RU(22)	4,7,20,22
D(11)	7	RM(31)	4,7,20,22,47
Homme		RL(3)	4,20,22,47
RU(13)	6,8,26,32,33,46	D(36)	4,7,20,22
RM(16)	6,13,17,23,26,32,42,46	Porc	
RL(19)	2,6,13,26,32,41,46	RU(4)	39,4
D(10)	8,33,46	RM(17)	14,25,34,35,36,38,39,40,43
Poulet		RL(14)	25,34,35,38,39,40
RU(7)	4,22	D(3)	25
RM(20)	4,9,12,21,22,29,38,39,41,43,47	Cheval	
RL(14)	4,18,21,22,38,39,41,42,47	RU(6)	24,31
D(25)	4,9,10,18,21,22,29,39,43	RM(12)	5,24,31,36

Figure 16: Numéro des articles dans lesquels les données ont été extraites

La figure 16 indique les numéros des articles à partir desquels les données ont été extraites. La figure 17 indique la correspondance entre les numéros des articles et la référence bibliographique.

Numérotation de l'article	Références	Numérotation de l'article	Références
1	Anthony et al. 2012	25	Nelli et al. 2010
2	Barkhordari et al. 2004	26	Nicholls et al. 2007
3	Blanco et al. 2012	27	Ning. 2009
4	Costa et al.2012	28	Ning et Wu et al 2012
5	Daly et al. 2008	29	Pillai et al. 2010
6	De graaf. 2014	30	Sasaki. 2002
7	França et al. 2013	31	Scocco. 2008
8	Gagneux. 2003	32	Shinya et al. 2006
9	Gambaryan et al. 2002	33	Shu et al. 2010
10	Guo et al. 2007	34	Song. 2008
11	Hall. 2008	35	Sriwilaijaroen et al.2011
12	Hiono et al. 2014	36	Suzuki et al. 2000
13	Ibricevic et al. 2006	37	Takahashi et al 1995
14	Ito et al. 1998	38	Thongratsakul. 2010
15	Ito et al. 1999	39	Trebbien et al. 2011
16	Jayaraman. 2012	40	Van Poucke et al.2010
17	Jia et al. 2014	41	Wang et al. 2012
18	Kim et al. 2005	42	Wang et al 2015
19	Kim et al 2013	43	Wan and Perez. 2006
20	Kimble et al. 2010	44	Yamada et al. 2012
21	Kuchipudi et al. 2009	45	Yan Li et al. 2015
22	Liu et al 2009	46	Yao et al. 2008
23	Matrosovich et al. 2004	47	Yu et al. 2011
24	Muranaka. 2011		

Figure 17: Correspondance entre les numéros et les articles de référence

Analyse des résultats :

- ❖ **Canard :** L'appareil digestif, dans lequel la réplication des virus est supposée avoir lieu chez cet hôte, exprime en grande majorité des $\alpha 2,3$ avec une moyenne comprise entre 88 et 100%, les dix-neuf données ont été obtenues avec huit articles différents, ce résultat semble donc assez fiable. Concernant l'appareil respiratoire haut, l'expression préférentielle relative est en faveur des $\alpha 2,3$ avec une moyenne comprise entre 75 et 92%. Néanmoins, ce résultat est à relativiser car pour cet organe, seules sept données ont été enregistrées à partir de deux articles. L'appareil respiratoire moyen contraste avec l'appareil respiratoire haut, en effet la moyenne est comprise entre 40 et 64%. Dix-neuf données ont été recueillies avec sept articles différents. L'expression est partagée entre les deux récepteurs. En ce qui concerne l'appareil respiratoire bas, il semble y avoir légèrement plus de récepteurs $\alpha 2,3$ la moyenne étant entre 50 et 68%. Onze valeurs ont été récoltées sur six articles différents, l'intervalle de confiance reste relativement serré, on peut donc penser que ce résultat est fiable.

Conclusion : Expression relative majoritaire des $\alpha 2,3$ dans l'appareil digestif et respiratoire haut, pas d'expression relative préférentielle dans l'appareil respiratoire moyen et légèrement plus d'expression d' $\alpha 2,3$ dans l'appareil respiratoire bas.

- ❖ **Autres oiseaux d'eau douce :** L'appareil digestif montre une expression relative plus importante des $\alpha 2,3$ avec un intervalle compris entre 64 et 78%, donc un intervalle assez resserré. Peu de données ont été récoltées pour l'appareil respiratoire haut (13) et sur seulement deux articles différents. L'intervalle de confiance montre une moyenne comprise entre 60 et 90%. Donc même si ce résultat semble montrer une plus large expression des $\alpha 2,3$, la quantification n'est pas fiable. Pour l'appareil respiratoire moyen, le nombre de données est assez important (27) mais sur deux articles seulement. La moyenne se trouve entre 62 et 80%, montrant une expression préférentielle relative pour les $\alpha 2,3$. Les résultats pour l'appareil digestif et respiratoire moyen semblent fiables. Néanmoins, pour les trois organes, les limites basses des intervalles dépassent 50, donc quelques valeurs sont en faveur des $\alpha 2,6$.

Conclusion : Expression préférentielle (mais non exclusive) des $\alpha_{2,3}$ dans tous les organes.

- ❖ **Oiseaux marins** : Concernant les données acquises pour les oiseaux marins, elles proviennent toutes du même article. Peu de données sont disponibles pour l'appareil respiratoire haut (4 seulement) et donnent une moyenne pouvant se trouver entre 50 et 88%. Un résultat plutôt en faveur d'une plus large expression des $\alpha_{2,3}$ mais qui reste à nuancer étant donné le faible nombre de valeurs. L'appareil respiratoire moyen montre plus de données (13) et la moyenne se trouve entre 50 et 75%, donc la proportion de récepteurs balance en faveur des $\alpha_{2,3}$. L'appareil digestif en revanche montre une expression relative préférentielle pour $\alpha_{2,3}$, avec une moyenne comprise entre 82 et 98%.

Conclusion : Expression légèrement en faveur des $\alpha_{2,3}$ dans l'appareil respiratoire, très en faveur des $\alpha_{2,3}$ dans l'appareil digestif des oiseaux marins.

- ❖ **Homme** : Pour l'appareil respiratoire haut, l'expression relative est en faveur des $\alpha_{2,6}$ avec une moyenne comprise entre 15 et 48%, mais le nombre de données reste peu élevé. L'intervalle est donc large, il est difficile de trancher sur l'aspect quantitatif. L'appareil respiratoire moyen a recueilli seize valeurs sur huit articles différents. La moyenne se trouve dans un intervalle de confiance large, entre 22 et 50%...même si il est difficile d'interpréter ce résultat, on voit qu'il y a plus d' $\alpha_{2,3}$ que dans l'appareil respiratoire haut. Dix-neuf valeurs ont été collectées dans sept articles différents pour l'appareil respiratoire bas, qui exprime les deux types de récepteurs, avec un intervalle compris entre 38 et 61%. Ce résultat semble fiable. L'appareil digestif montre que les deux types de récepteurs sont présents, la moyenne pouvant se trouver entre 30 et 62%. Les dix valeurs ont été recueillies sur trois articles différents, ce résultat semble fiable.

Conclusion : On peut observer un gradient le long de l'appareil respiratoire de l'homme, avec une expression préférentielle des $\alpha_{2,6}$ dans l'appareil respiratoire haut, puis on voit une quantité plus importante de $\alpha_{2,3}$ dans l'appareil respiratoire moyen, pour ensuite finalement

observer une expression partagée des deux récepteurs dans l'appareil respiratoire bas. Enfin, l'appareil digestif montre que les deux types de récepteurs sont présents.

- ❖ **Poulet** : Concernant l'appareil respiratoire haut, peu de données sur deux articles ont été récoltées. L'intervalle est assez large, allant de 60 à 90%. On peut voir l'expression relative en faveur des $\alpha_{2,3}$ mais cela reste difficile à quantifier. Pour les appareils respiratoires moyens et bas, l'expression des récepteurs est assez semblable, ne montrant pas d'expression préférentielle de l'un ou l'autre des récepteurs. Les deux types sont exprimés, avec plus d' $\alpha_{2,3}$ dans l'appareil respiratoire bas. En effet les moyennes sont comprises respectivement entre 38 et 65%, et 42 et 72%, le nombre de données est correct et obtenu sur de nombreux articles, respectivement dix et huit articles, on peut dire que le résultat est assez fiable. Il n'y a pas d'expression préférentielle dans ces deux appareils chez le poulet. L'appareil digestif suit un peu le même mouvement, avec 25 valeurs obtenues sur neuf articles, et révélant une moyenne comprise entre 52 et 80%. Un intervalle très large en faveur des $\alpha_{2,3}$. La limite basse dans l'appareil digestif dépasse 50%, montrant la détection ponctuelle de récepteurs $\alpha_{2,6}$.

Conclusion : Expression préférentielle des $\alpha_{2,3}$ dans l'appareil respiratoire haut, expression des deux récepteurs dans l'appareil respiratoire moyen et bas, expression préférentielle des $\alpha_{2,3}$ dans le digestif.

- ❖ **Caille** : L'appareil respiratoire haut de la caille semble exprimer de préférence les $\alpha_{2,6}$, mais pas de façon exclusive. Néanmoins, seulement neuf valeurs à partir de deux articles ont été récoltées, et cela donne un intervalle compris entre 18 et 52%...résultat qui reste difficile à interpréter au niveau quantitatif. L'appareil respiratoire moyen lui a récolté douze données sur cinq articles différents, et montre un intervalle entre 20 et 38%, ce résultat semble plutôt fiable, et donc plus en faveur de l'expression des $\alpha_{2,6}$. L'appareil respiratoire bas est difficilement interprétable car il montre cinq valeurs récoltées à partir de trois articles différents, et l'intervalle obtenu est très large, allant de 42 à 82%...Donc soit les données sont trop faibles, soit il n'y a pas d'expression préférentielle. Et enfin l'appareil digestif lui montre quinze valeurs obtenues sur cinq

articles et un intervalle de confiance entre 18 et 54%, on peut donc dire que les deux récepteurs sont exprimés, avec un léger avantage pour les $\alpha_{2,6}$.

Conclusion : Expression préférentielle des $\alpha_{2,6}$ dans l'appareil respiratoire moyen et haut mais pas exclusive dans ce dernier, expression des deux récepteurs dans l'appareil respiratoire bas mais plus en faveur des $\alpha_{2,3}$; et expression préférentielle des $\alpha_{2,6}$ dans le digestif mais non exclusivement.

❖ **Dinde** : L'appareil respiratoire haut de la dinde n'est représenté que par six valeurs issues du même article. L'intervalle de confiance est large allant de 18 à 50%. Ce résultat reste difficile à interpréter, même si on peut dire que l'expression est plutôt en faveur des $\alpha_{2,6}$. Les appareils respiratoires moyens, bas et digestifs ont peu de valeurs (respectivement 10, 3 et 14). Pour l'appareil respiratoire moyen, la moyenne est comprise entre 46 et 76%, donc les deux récepteurs sont exprimés mais plutôt en faveur des $\alpha_{2,3}$. L'appareil respiratoire bas montre un intervalle très large compris entre 0 et 50 %. Nous n'avons à disposition que trois valeurs très différentes, donc ce résultat n'est pas interprétable. Enfin l'appareil digestif montre une moyenne entre 58 et 92%, donc une expression préférentielle des $\alpha_{2,3}$.

Conclusion : L'appareil respiratoire haut de la dinde semble exprimer préférentiellement les $\alpha_{2,6}$ alors que l'appareil moyen exprime plus les $\alpha_{2,3}$. L'appareil digestif exprime plus de $\alpha_{2,3}$.

❖ **Autres oiseaux terrestres** : L'appareil respiratoire haut a récolté un nombre correct de données (22) sur quatre articles. L'intervalle de confiance obtenu compris entre 45 et 62% permet de dire que les deux récepteurs sont exprimés de façon comparable. L'appareil respiratoire moyen montre quasiment le même résultat avec une moyenne comprise entre 46 et 68%. Seulement trois données ont été récoltées pour l'appareil respiratoire bas, et la moyenne est compris dans un intervalle très large : entre 24 et 75%. Ce résultat n'est pas interprétable. L'appareil digestif a récolté beaucoup de valeurs (36) à partir de quatre articles différents. La moyenne est comprise entre 60 et 82%, montrant une expression préférentielle des $\alpha_{2,3}$.

Conclusion: Expression partagée des deux récepteurs pour l'appareil respiratoire haut et moyen, expression préférentielle des $\alpha 2,3$ dans le digestif.

- ❖ **Porc :** Seulement quatre données étaient disponibles pour l'appareil respiratoire haut, donc aucune conclusion fiable ne peut être tirée. L'appareil respiratoire moyen montre une expression légèrement plus prononcée pour les $\alpha 2,6$, mais les deux récepteurs sont tout de même exprimés dans cet organe, la moyenne pouvant aller de 22 à 52%. L'appareil respiratoire bas montre une expression préférentielle pour les $\alpha 2,6$ avec une moyenne pouvant se trouver entre 22 et 45%, avec quatorze valeurs récoltées dans six articles différents. Ce résultat semble assez fiable. Pour finir, l'appareil digestif montre une légère expression préférentielle pour $\alpha 2,6$ mais seulement trois valeurs sont disponibles, et l'intervalle varie entre 30 et 55%, donc ce résultat reste peu fiable.

Conclusion : Expression légèrement préférentielle pour les $\alpha 2,6$ pour l'appareil respiratoire moyen, bas, et l'appareil digestif.

- ❖ **Cheval :** L'appareil respiratoire haut montre une expression partagée pour les deux types de récepteurs, la moyenne est située dans un intervalle large compris entre 20 et 62%. Cependant seulement six valeurs ont été récoltées sur deux articles, ce résultat reste peu fiable. L'appareil respiratoire moyen a récolté plus de valeurs avec quatre articles, mais la moyenne est comprise entre 25 et 72%. Cet intervalle est très large, le résultat n'est pas clair.

Conclusion : Expression probablement partagée des deux types de récepteurs dans l'appareil respiratoire du cheval.

3.2.2 Espèces secondaires

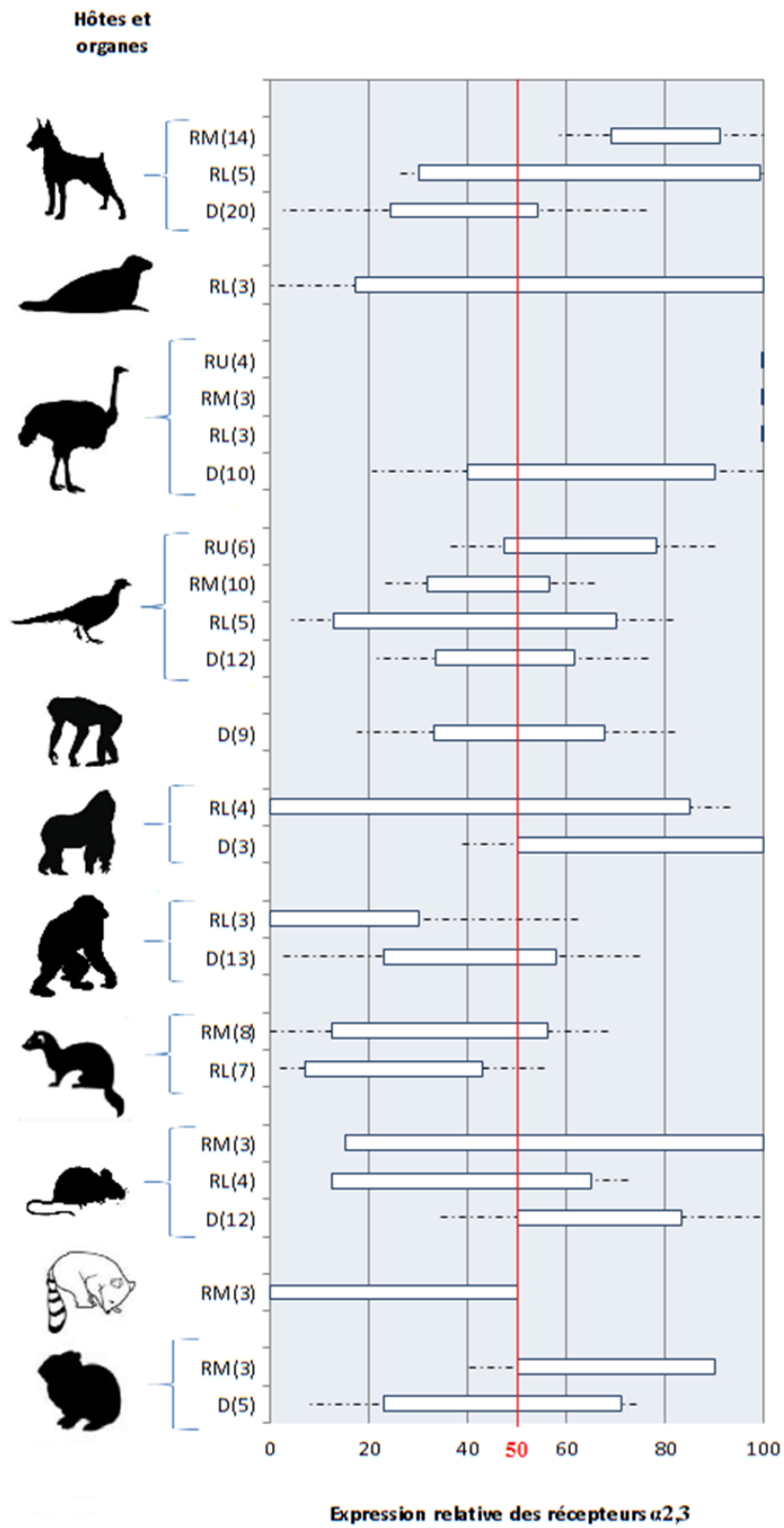


Figure 18: Expression relative des récepteurs $\alpha 2,3$ chez les espèces secondaires

La figure 18 montre les expressions relatives des récepteurs des espèces d'importance moindre, appelées arbitrairement « secondaires ». On retrouve dans l'ordre : le chien, le phoque, l'autruche, le faisan, le chimpanzé, le gorille, l'orang-outang, le furet, la souris, le raton-laveur, le pika sauvage du Tibet. Les organes respiratoires et digestifs ont été analysés.

Le tableau ci-dessous donne les numéros des articles à partir desquels les données ont été extraites. Pour retrouver quels articles correspondent à ces numéros, se reporter à la figure 17.

Hôtes et organes	Références	Hôtes et organes	Références
Chien		Gorille	
RM(14)	24,28,34,38	RL(4)	8
RL(5)	24,28,34,38	D(3)	8
D(20)	28	Orang-outan	
Phoque		RL(3)	8
RL(3)	1,15	D(13)	8
Autruche		Furet	
RU(4)	4	RM(8)	16,17,38
RM(3)	4	RL(7)	16,17,38
RL(3)	4	Souris	
D(10)	4	RM(3)	13,27,41
Faisan		RL(4)	27,41
RU(6)	4	D(12)	27
RM(10)	4,20,47	Raton laveur	
RL(5)	4,20,47	RM(3)	11
D(12)	4,2	Pika sauvage du Tibet	
Chimpanzé		RM(3)	45
D(9)	8	D(5)	45

Figure 19: Numéro des articles à partir desquels les données ont été extraites

Analyse des résultats :

- ❖ **Chien :** L'intervalle de confiance pour l'appareil respiratoire moyen du chien est compris entre 70 et 92%, les données sont au nombre de quatorze, acquises avec quatre articles différents, on peut dire de façon fiable que cet appareil exprime en majorité des $\alpha_{2,3}$. Pour l'appareil respiratoire bas, le faible nombre de données rend le résultat moins fiable (cinq données collectées). L'intervalle de confiance est très large : entre 30 et 98%. Le résultat n'est pas interprétable. Pour l'appareil digestif, l'intervalle de confiance varie entre 25 et 54%, ce qui reste large mais en faveur des $\alpha_{2,6}$. On peut voir que les écarts de valeur sont importants puisque les pointillées vont jusqu'à zéro en limite basse et 78 en limite haute...De plus les données viennent toutes du même article il est donc difficile de se fier totalement à ce résultat.

Conclusion : Expression préférentielle des $\alpha_{2,3}$ dans l'appareil respiratoire moyen, et plutôt en faveur des $\alpha_{2,6}$ dans le digestif.

- ❖ **Phoque :** Seulement trois données sont disponibles et montre un intervalle très large : 18 à 100% avec de plus un écart des valeurs important ! Ce résultat n'est pas interprétable.
- ❖ **Autruche :** Peu de données ont été récoltées et proviennent toutes du même article. Pour les trois étages de l'appareil respiratoire, on voit une expression exclusive des récepteurs $\alpha_{2,3}$. Pour l'appareil digestif, on voit un intervalle très large allant de 40 à 90%.

Conclusion : expression relative exclusive des $\alpha_{2,3}$ dans l'appareil respiratoire, difficile de conclure pour l'appareil digestif.

- ❖ **Faisan :** Pour l'appareil respiratoire haut, les six valeurs récoltées montrent une préférence relative en faveur des $\alpha_{2,3}$, avec une moyenne comprise entre 48 et 78%. Néanmoins, le nombre de valeurs est faible et sont issues du même article. Pour

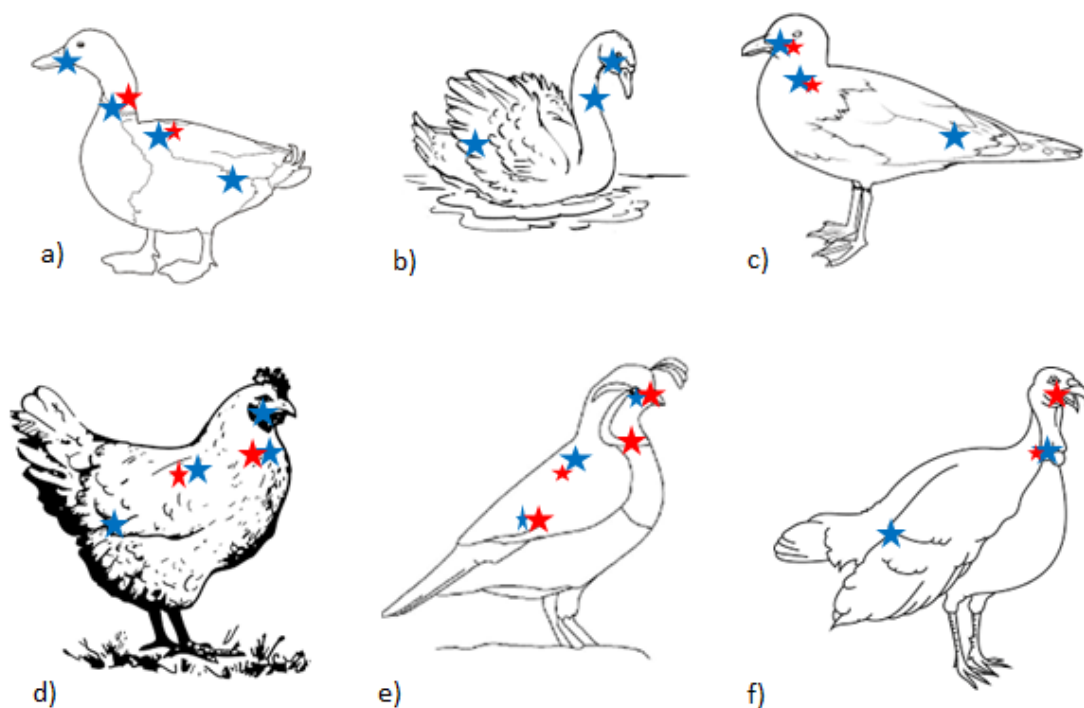
l'appareil respiratoire moyen, avec un intervalle allant de 32 et 56%, on peut dire que les deux types de récepteurs sont exprimés. Pour l'appareil respiratoire bas le nombre de valeurs est bas (5) et l'intervalle de confiance très large (entre 16 et 70%) ne permet pas de dire si l'un ou l'autre des récepteurs domine (le résultat est peu fiable). Pour l'appareil digestif, on peut dire que les deux types de récepteurs sont exprimés car l'intervalle est compris entre 36 et 62%.

Conclusion : Plus d' $\alpha_{2,3}$ dans l'appareil respiratoire haut. Expression des deux types de récepteurs dans l'appareil respiratoire moyen et digestif.

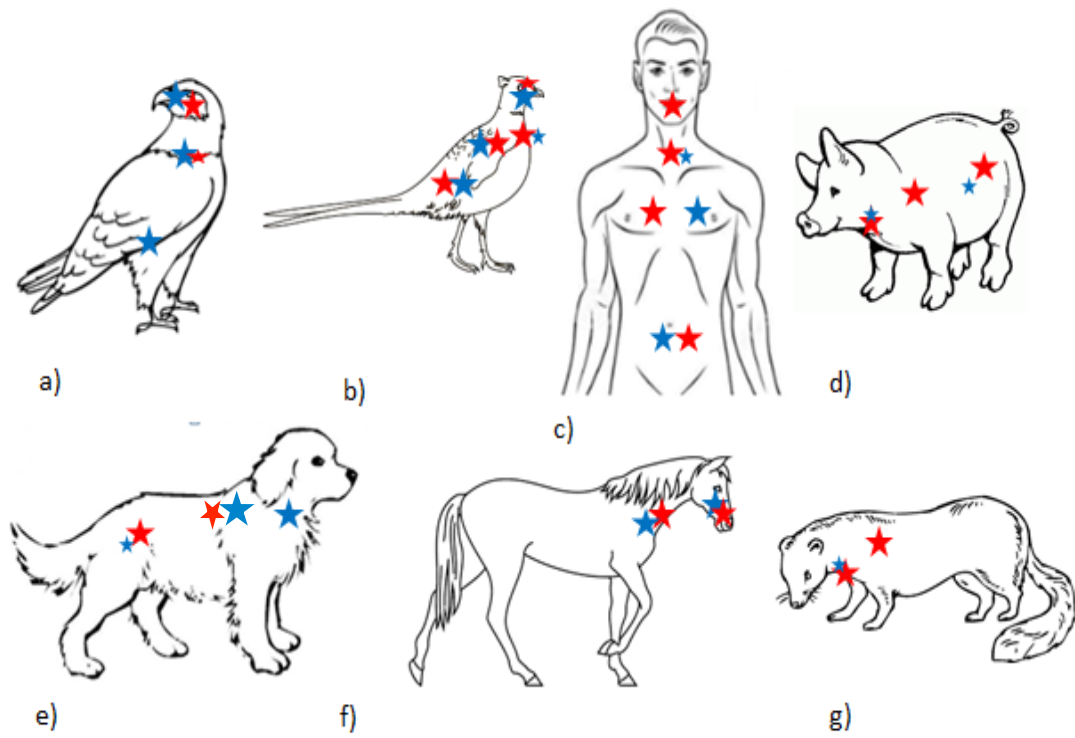
- ❖ **Chimpanzé** : Les données récoltées pour les primates proviennent toutes du même article. On peut voir que pour l'appareil digestif, les deux récepteurs sont présents sans préférence détectable, avec une moyenne pouvant aller de 35 à 68%.
- ❖ **Gorille** : Très peu de données ont été récoltées. Pour l'appareil respiratoire bas, l'intervalle est trop large pour être fiable. L'appareil digestif semblent comporter plus de récepteurs $\alpha_{2,3}$, mais avec un intervalle allant de 50 à 100%, la quantification est impossible.
- ❖ **Orang-outan** : L'appareil respiratoire bas montre une préférence pour les $\alpha_{2,6}$, mais avec une moyenne allant de 0 à 30%, la quantification reste impossible. L'appareil digestif montre une expression partagée pour les deux récepteurs, avec un intervalle compris entre 24 et 58%.
- ❖ **Furet** : Pour l'appareil respiratoire moyen, les deux types de récepteurs sont exprimés, mais la préférence semble aller vers les récepteurs $\alpha_{2,6}$ avec une moyenne pouvant aller de 15 à 55%. Pour le digestif, les $\alpha_{2,6}$ prédominent avec une moyenne comprise entre 10 et 42%.
- ❖ **Souris** : Concernant l'appareil respiratoire, les intervalles sont trop larges et le nombre de données trop faible pour interpréter le résultat. Concernant l'appareil digestif, l'expression préférentielle semble en faveur des $\alpha_{2,3}$, avec un intervalle compris entre 50 et 82%, la quantification reste néanmoins impossible.

- ❖ **Raton laveur** : Seulement trois données ont été récoltées, montrant une expression préférentielle des $\alpha 2,6$. Néanmoins, les écarts entre les valeurs sont importants, et l'intervalle trop large pour être fiable.
- ❖ **Pika sauvage du Tibet** : Expression plus importante pour les $\alpha 2,3$ avec une moyenne comprise entre 50 et 85%. Pour le digestif, pas d'expression préférentielle visible (moyenne comprise entre 22 et 70%).

La figure 20 située ci-dessous résume sous forme de schéma la distribution des deux types de récepteurs chez les espèces les plus importantes. Les étoiles bleues montrent la présence de récepteurs $\alpha 2,3$ tandis que les rouges représentent les $\alpha 2,6$. La taille des étoiles montre la proportion relative des récepteurs les uns par rapport aux autres.



Distribution des récepteurs chez le canard (a), les oiseaux aquatiques (b), les oiseaux marins (c), le poulet (d), la caille (e), la dinde (f).



Distribution des récepteurs chez les autres oiseaux terrestres (a), le faisan (b), l'homme (c), le porc (d), le chien (e), le cheval (f), le furet (g).

Légende:

★ Récepteurs $\alpha_{2,3}$

★ Récepteurs $\alpha_{2,6}$

Figure 20: Représentation schématique de la distribution des récepteurs chez les espèces déterminantes

IV. Discussion : Confrontation avec la littérature, mise en relation des deux parties précédentes et interprétation pour les sauts d'espèces

4.1 Préférence des sous-types pour les récepteurs

L'avis général concernant les virus influenza aviaires est que ces derniers se lient aux acides sialiques de conformation $\alpha 2,3$, alors que les virus humains se lient aux acides sialiques $\alpha 2,6$ (Stevens et al. (2006), Rogers and Paulson. (1983)). Cette liaison précise détermine également les espèces hôtes et est un obstacle majeur pour les virus influenza A pour franchir la barrière des espèces. Peu d'informations sont disponibles par sous-types.

Auparavant on considérait les virus influenza aviaires comme un groupe homogène en terme de spécificité de récepteurs, avec une liaison spécifique aux acides sialiques terminés par $\alpha 2,3$ (Paulson, 1985). Nous avons vu dans les résultats que selon les espèces d'oiseaux chez lesquelles ils ont été isolés et le sous-type, ils n'ont pas présenté la même spécificité de récepteurs.

- Le **sous-type H1** est un sous-type important, en effet chez l'homme il a représenté plusieurs pandémies, dont la « grippe espagnole » de 1918 ayant fait jusqu'à plus de 20 millions de victimes, et plusieurs épidémies sévères au cours du 20^{ème} siècle. Un virus de sous-type H1 issu de la grippe H1N1 de 2009 continue de plus à circuler de façon saisonnière. Les affinités des sous-types aux récepteurs dépendent en partie de l'espèce chez laquelle ils sont isolés, car ce sont des sous-types qui s'adaptent particulièrement bien à leur hôte (Matrosovich et al. 2000). Ainsi, chez la dinde, on peut voir que le sous-type H1 isolé ne présente pas de préférence marquée pour l'un ou pour l'autre, cela pourrait s'expliquer par une présence en quantité relativement équilibrée des deux types de récepteurs dans l'appareil respiratoire supérieur et moyen. Chez le canard, nous retrouvons dans notre analyse un résultat « classique », avec une affinité forte des sous-types H1 pour les $\alpha 2,3$. Chez l'homme, le sous-type H1 a bien inversé sa préférence des $\alpha 2,3$ vers les $\alpha 2,6$ lors de son adaptation chez ce

dernier (lors de la pandémie H1N1 par exemple). Chez le porc la préférence s'est également tournée vers les $\alpha 2,6$.

- La pandémie de 1957 a été causée par un virus H2N2, et la réintroduction d'un **sous-type H2** chez l'homme pourrait poser un grand problème de santé publique. Ce sous-type montre classiquement une préférence pour les récepteurs $\alpha 2,3$. A l'analyse générale de nos résultats, ce sous-type suit la tendance générale chez les oiseaux aquatiques. Chez l'homme l'inversion de la préférence vers $\alpha 2,6$ est moins claire que chez H1.
- Le **sous-types H3** chez le porc a une affinité augmentée pour les $\alpha 2,6$, d'après Gambaryan et al (2005) et Paulson. Dans notre étude nous avons pu voir que cette préférence est beaucoup moins nette, ce qui est un résultat différent. Chez le cheval, d'après Roger and Paulson (1983), les virus de sous-types H3 se lient préférentiellement aux $\alpha 2,3$, c'est également ce que nous retrouvons comme résultat. Si Anthony et al. (2012) affirment que la souche H3N8 A/harbor Seal/Massachusetts/1/11 a réussi à montrer une mutation spontanée vers le phénotype $\alpha 2,6$, notre étude nous montre que la souche étudiée par Matrosovich n'a pas réussi ce tour de force puisqu'on distingue nettement une préférence pour les $\alpha 2,3$. Concernant le sous-type H3 de la caille, ce résultat a été obtenu après plusieurs passages d'un virus H3 issu du canard chez la caille, il s'adapte donc très vite au phénotype $\alpha 2,6$. Comme pour H1, H3 a bien inversé sa préférence des $\alpha 2,3$ vers les $\alpha 2,6$.
- Le **sous-type H5** est un sous-type important car depuis 1996 les virus H5N1 ont touché les oiseaux sauvages, les oiseaux d'élevage, et ont aussi provoqué plus de 600 infections chez l'homme, avec un taux de mortalité pouvant atteindre 60% (OMS, 2013). Depuis son apparition cette souche est devenue endémique, et cause donc des infections sporadiques. Depuis 2006 en Egypte, on compte 112 cas confirmés d'infections par le H5N1 (soit plus de 50% des cas recensés dans le monde !) (Watanabe et al (2011)).

Certaines souches de H5N1 hautement pathogènes comme par exemple HK/486/97 chez l'homme, montrent une forte affinité pour les $\alpha 2,3$, mais pas pour les $\alpha 2,6$. C'est

le contraire pour A/HL/212/03 et A/HK/213/03, qui reconnaissent les deux types de récepteurs. Notre étude montre que chez l'homme le sous-type H5 n'a pas inversé sa préférence et garde le récepteur $\alpha 2,3$, mais la moyenne tend à se rapprocher des $\alpha 2,6$. Il se pourrait que ce sous-type débute son changement d'affinité. Dans notre étude, chez les oiseaux aquatiques, les sous-types H5 ont respecté la logique habituelle. Cela montre donc que les virus de sous-types H5 peuvent infecter l'homme sans réellement changer d'affinité pour le récepteur classique des mammifères (sujet aussi traité par Auewarakul et al (2007), qui montre les mutations d'acides aminés nécessaires à ce changement d'affinité). Les infections restent de ce fait sporadiques sans transmission entre êtres humains pour le moment.

Les sous-types H5 isolés chez l'homme semblent présenter tout de même une adaptation aux récepteurs $\alpha 2,6$ (ce qu'on constate légèrement dans nos résultats par rapport aux H5 isolés chez les oiseaux) pour se répliquer plus efficacement chez l'homme, qui possède essentiellement les récepteurs $\alpha 2,6$ dans son organisme. Cela va avec l'avis de Watanabe et al (2011), qui écrit des sous-types H5 qu'en même temps qu'ils s'adaptent aux $\alpha 2,6$, ils conservent une affinité résiduelle forte pour $\alpha 2,3$. Cette affinité résiduelle semble d'après notre étude assez importante. Ce résultat est plutôt rassurant pour la santé publique, car le virus H5 n'a pas encore muté, ce qui lui permettrait de s'adapter à l'homme plus facilement et d'acquérir la capacité de transmission entre homme, et donc de poser un sérieux problème d'endémie. Néanmoins, le fait que ce virus circule parmi de nombreux hôtes pourrait favoriser son adaptation chez l'homme (Watanabe et al. (2011)). Ce sous-type reste à surveiller attentivement.

Chez le poulet, malgré la délétion de dix-neuf acides aminés dans la séquence (Matrosovich et al. 99), les sous-types H5N1 gardent leur affinité pour $\alpha 2,3$ (les rendant de ce fait difficilement transmissibles à l'homme).

- Le **sous-type H7** constitue une menace pour la santé publique. Depuis 2002 il est responsable de nombreuses épidémies chez les oiseaux d'élevage et d'infections chez l'homme, en Amérique et en Europe (Belser et al. 2008). Une souche hautement pathogène : H7N7, n'a pas montré de changement d'affinité vers le récepteurs humain $\alpha 2,6$. Ce qui n'est pas le cas d'autres souches aviaires faiblement pathogènes comme H7N2 et H7N3, qui ont vu leur affinité pour $\alpha 2,6$ augmenter. Plus récemment nous

avons vu apparaître la souche zoonotique H7N9 en février 2013 (Xiong et al. 2014) en Chine, qui pourrait se lier aux deux types de récepteurs, et aurait vu son affinité pour $\alpha 2,6$ augmenter en même temps qu'elle aurait vu son affinité pour $\alpha 2,3$ diminuer, même si elle garde une légère préférence pour $\alpha 2,3$.

Dans notre étude, les sous-types H7 chez les oiseaux aquatiques comme terrestres ainsi que chez la dinde, ont gardé une forte préférence pour $\alpha 2,3$, donc la remarque de Xiong n'a pas été visible pour nous, hormis peut-être chez le poulet. Chez l'homme nous avons constaté dans notre étude que le sous-type H7 gardait sa préférence pour $\alpha 2,3$ mais tendait à augmenter son affinité pour $\alpha 2,6$, ce qui est en accord avec ce qui a également été observé par Belser et al, et Xiong et al. Ce sous-type n'a pas encore les capacités pour être un virus pandémique pour l'homme mais reste à surveiller avec attention. Concernant le cheval, d'après Gambaryan et al 2012, les sous-types H7 du cheval sont différents des sous-types H7 des autres espèces. En effet, les sous-types H7 se lient mieux aux Neu5GC qu'aux Neu5Ac, récepteurs qui n'existent pas chez les hommes et les oiseaux. Les sous-types H7 sont donc particulièrement bien adaptés au cheval et rendent peu probable la transmission de ces virus à d'autres espèces. Notre étude a montré que les sous-type H7 du cheval avaient une affinité maximale pour $\alpha 2,3$, mais toutes nos valeurs viennent de ce document de Gambaryan et al 2012.

- Le **sous-type H9** est surtout connu pour la souche H9N2, détectée chez de nombreuses espèces d'oiseaux sauvages et domestiques, dans beaucoup de pays depuis quelques dizaines d'années. Ce virus étant faiblement pathogène, son éradication n'a jamais été une priorité. Il a cependant continué à se répandre, touchant actuellement les poulets, la caille et d'autres oiseaux d'élevage en Asie, causant également quelques cas d'infection chez les humains. D'après l'étude de Matrosovich et al publiée en 2001, cette souche isolée chez des oiseaux d'élevage en Asie, montrerait une liaison exclusive aux récepteurs $\alpha 2,6$, lui donnant donc une meilleure capacité pour infecter l'homme. Les études plus récentes de Zhu et al (2005) et Li et al (2014) montrent certes une affinité nette de virus isolés chez des volailles d'élevage pour $\alpha 2,6$, mais aussi une affinité contrastée pour les $\alpha 2,3$, selon les souches testées. Dans notre étude, l'affinité des sous-types H9 a varié selon les espèces. La liaison aux $\alpha 2,6$ est moins

flagrante chez les oiseaux aquatiques. Cependant, en accord avec les résultats des équipes de Zhu et Li, les sous-types H9 chez le poulet ont montré une affinité forte pour $\alpha 2,6$ mais pas exclusive puisque la moyenne peut aller jusqu'à 50%. Chez la caille on retrouve une affinité partagée entre les deux types de récepteurs, donc nous sommes plutôt en accord avec les études les plus récentes. Chez les autres oiseaux terrestres, nous avons trouvé une affinité quasiment exclusive pour les $\alpha 2,6$, donc plutôt en accord avec l'analyse de Matrosovich. Chez l'homme, nous n'avons pas eu de données pour le virus H9, mais il semblerait que ces sous-type se lient exclusivement aux $\alpha 2,3$ (Li et al. 2014).

- Le **sous-type H13** a été isolé pour la première fois chez la mouette en 1977, et sont des sous-types faiblement pathogènes. Ils se lient exclusivement aux $\alpha 2,3$ selon Lu et al (2013), résultat que nous avons également trouvé.

- Les **sous-types H10 et H6** n'apparaissent pas dans notre étude car nous n'avons pas récoltées de données les concernant. D'après l'équipe de Tzarum (2015), les H6 d'origine aviaires et humains n'auraient pas d'affinité pour les $\alpha 2,6$. Le sous-type H10, connu pour la souche H10N8, a infecté depuis peu les hommes, et est une menace pandémique. D'après l'étude de Zhang et al (2015), ce sous-type aurait une forte affinité pour les $\alpha 2,3$ et se lieraient de façon négligeable aux $\alpha 2,6$. Ce qui contraste avec les résultats obtenus par Vachieri et al (2014), qui ont mis en évidence une liaison assez importante aux $\alpha 2,6$, presque aussi forte que l'affinité des H1 et H3 pandémiques de 1918 et 1968 ! Ramos et son équipe ont montré en 2015 une forte affinité pour les $\alpha 2,3$ et une légère interaction avec $\alpha 2,6$, contrairement aux équipes de Wang et Yang, qui eux n'ont mis en évidence aucune interaction avec les $\alpha 2,6$. Il faudrait donc mener plusieurs études, puis faire une analyse comparable à la notre pour observer la réelle préférence de ces sous-types envers les récepteurs, afin d'avoir des résultats moins contradictoires.

4.2 Répartition des récepteurs dans les organes des espèces

La question que soulève notre étude est de savoir quelle est la proportion relative des deux conformations des récepteurs dans des organes précis de différentes espèces. Cela a déjà été traité par de nombreuses études, donnant malheureusement des résultats souvent divergents et seulement qualitatifs. L'étude de la répartition des récepteurs dans le tractus respiratoire haut est particulièrement importante car c'est dans cet organe que le premier contact entre le virus et l'hôte va se faire chez les mammifères.

- Le canard est une espèce particulière car c'est à la fois une espèce domestiquée et sauvage, qui est de plus le réservoir principal des virus influenza A, chez qui l'infection reste très souvent asymptomatique. Chez le canard, les virus influenza ciblent principalement l'appareil digestif, et se lient préférentiellement aux récepteurs $\alpha 2,3$. Cela est cohérent avec le fait qu'on retrouve une prédominance des récepteurs $\alpha 2,3$ dans le tractus digestif du canard dans notre étude. La première étude sur la répartition des acides sialiques dans les tissus des canards a été menée par Ito et al (1998), et a montré que l'intestin du canard exprimaient principalement les $\alpha 2,3$, c'est ce qu'a également suggéré l'étude de Gambaryan et al (2002), nous avons un résultat similaire. Néanmoins, contrairement à Costa et al (2012) qui n'en ont pas décelé, nous avons détecté la présence de quelques récepteurs $\alpha 2,6$ dans le digestif car la moyenne n'est pas à 100%.

Dans la trachée (correspondant à l'appareil respiratoire moyen pour nous), Kuchipudi et al (2009) ont montré que les $\alpha 2,3$ sont eux aussi dominants (dans l'épithélium trachéal notamment), et que le ratio des $\alpha 2,6$ sur $\alpha 2,3$ était de 1 sur 20. C'est également le résultat trouvé par l'équipe de Gambaryan et al en 2002. Dans notre étude cependant, on voit plutôt une expression équilibrée des deux types de récepteurs. Pillai, Yu et al, se rapprochent de notre avis car ils avaient eux aussi mis en évidence certes une majorité de $\alpha 2,3$ mais aussi un peu de $\alpha 2,6$. Yu et al mentionnent le fait que les résultats différents peuvent venir des différents types de lectines de *Maackia amurensis*, pas toujours mentionnées dans les matériels et méthodes, et se liant plus aux récepteurs $\alpha 2,3$ possédant une liaison $\beta 1,4$ au galactose pour les *Maackia amurensis I* ou aux $\alpha 2,3 \beta 1,3$ pour *Maackia amurensis II*.

Dans le reste de l'appareil respiratoire du canard, les deux types de récepteurs sont présents, d'après Kimble et al (2010), Kuchipudi et al (2009), ainsi que Costa et al (2012), c'est également ce que nous observons, avec une prédominance des $\alpha 2,3$. La majorité des valeurs pour les oiseaux aquatiques, marins et autres oiseaux terrestres viennent de l'article de França et al 2013. Il est donc difficile de comparer avec d'autres études. On observe la même tendance que chez le canard (sauf pour les autres oiseaux terrestres), avec toutefois des valeurs plus dispersées.

- Le poulet est une espèce clé dans l'épidémiologie des virus influenza, en effet cette espèce est très commune dans les élevages et peut être infectée par un large panel de virus influenza A. Gambaryan et al 2002 et 2003 ont mis en évidence que les appareils respiratoires et digestifs du poulet contenaient les deux types de récepteurs. Kim et al (2005) a remarqué que dans le poumons se trouvaient des récepteurs $\alpha 2,3$ en quantité plus importante que celle des $\alpha 2,6$, ce qui est en accord avec notre résultat. Nous ne sommes pas tout à fait en accord avec Wan et Perez (2006) et Pillai et al (2010), qui ont vu comme récepteurs prédominants les $\alpha 2,3$ dans la trachée. Kuchipudi et al (2009) ainsi que Yu et al (2011) ont mis en évidence le contraire avec des $\alpha 2,6$ en quantité plus importante dans la trachée.

Finalement, dans notre étude, nous avons pu voir que l'appareil respiratoire haut (cavités nasales, pharynx) exprime des $\alpha 2,3$ préférentiellement, mais que les deux types de récepteurs étaient détectés dans les appareils respiratoires moyens (trachée, bronches) (en quantité quasiment équivalente dans ce dernier) ; et bas (parenchyme pulmonaires, bronchioles).

Kim et al (2005) a également remarqué que dans le digestif (et plus précisément le colon) les récepteurs prédominants étaient les $\alpha 2,6$, (en accord avec l'étude Wan and Perez (2006)), ce qui est n'est pas visible dans notre tableau. L'équipe de Costa et al a remarqué l'expression des deux types de récepteurs chez le poulet dans le digestif. Les avis diffèrent en fait selon les portions de l'appareil digestif étudié. Pour des raisons de simplification, nous n'avons pas distingué les différents étages de l'appareil digestif mais nous aurions pu distinguer l'intestin grêle et le côlon par exemple mais le nombre de données aurait été trop faible.

Selon les articles analysés, on voit que selon si on observe l'intestin grêle ou le gros intestin chez le poulet on trouve différentes sortes de récepteurs. Chez Costa et al donc les $\alpha 2,6$ ont été observé en faible quantité dans le jéjunum-iléon et caecum, alors que l'équipe de Liu et al

(2009) n'ont pas détecté d' $\alpha 2,6$ dans l'intestin, et Kuchipudi seulement dans le gros intestin. Selon les études les résultats peuvent être totalement différents ! Cela est peut-être dû à des méthodes d'analyses différentes, une méthodologie d'amplification différente ou l'origine des lectines ou leur concentration, la préparation des tissus ou encore de la variabilité inter-individuelle chez les hôtes. L'étude de Gambaryan et al (2002) a montré néanmoins que des virus H1N1 pouvaient se lier au colon du poulet, ce qui nous fait penser qu'il y a bien au moins quelques récepteurs $\alpha 2,6$ présent dans cet organe.

En compilant toutes les études, on constate que ce sont finalement les $\alpha 2,3$ qui prédominent, avec tout de même la présence de récepteurs $\alpha 2,6$. Le poulet, exprimant les deux types de récepteurs, est un candidat sérieux pour servir d'espèce intermédiaire au même titre que le porc, chez laquelle des réassortiments génétiques pourraient se produire, et permettre aux virus influenza de s'adapter à l'homme, en particulier de changer la préférence des virus des récepteurs $\alpha 2,3$ vers les $\alpha 2,6$.

- L'homme est atteint principalement au niveau de l'arbre respiratoire par les virus influenza A. Les articles étudiant la répartition des récepteurs dans cet organe distinguent la plupart du temps les différents types de cellules : cellules épithéliales ciliées ou non ciliées, ce qui n'est pas le cas dans notre étude (nous nous sommes restreints à la localisation globale dans les organes). L'équipe de Shinya et al a démontré la forte expression des récepteurs $\alpha 2,6$ dans l'appareil respiratoire haut et moyen chez l'homme (muqueuse nasale, sinus paranasaux, pharynx, trachée et bronches) alors que l'appareil respiratoire bas (alvéoles) exprimait en majorité des $\alpha 2,3$. Un résultat partagé par Baum et Paulson (1990) mais aussi plus récemment par Matrosovich et al (2004) ou encore Nicholls et al (2007). Nous retrouvons dans notre étude ce gradient, avec l'expression de plus en plus importante des $\alpha 2,3$ en descendant le long de l'appareil respiratoire, jusqu'à pouvoir observer une quantité quasiment identique des deux récepteurs dans l'appareil respiratoire bas! Cela rejoint donc l'avis de Nicholls et al qui avait eux aussi vu que les $\alpha 2,3$ étaient plus présents dans l'appareil respiratoire de l'homme que ce qui avait déjà été dit auparavant. En combinant les résultats de toutes les études, on trouve finalement que les $\alpha 2,3$ sont autant présents que les $\alpha 2,6$ dans les poumons. Enfin, Nicholls et al ont en plus remarqué que les enfants et les nouveaux-nés possédaient plus de récepteurs $\alpha 2,3$ que les adultes, ce qui les rend plus sensibles aux virus.

Concernant l'appareil digestif de l'homme, les études sont plutôt récentes et peu nombreuses (Gagneux 2003 et Shu 2010), et montrent l'expression préférentielle des $\alpha 2,3$ ce qui est plutôt surprenant. Nous avons pu constater avec notre analyse que les deux récepteurs étaient présents, faisant de l'appareil digestif humain une cible potentielle et une source d'excrétion de virus à partir des individus infectés, il convient donc de surveiller cette source de contamination attentivement. (Shu et al 2010).

- La caille est une espèce très intéressante car comme le poulet, elle possède les deux types de récepteurs dans sa trachée et ses intestins, même si les liaisons $\alpha 2,6$ semblent prédominer légèrement. Une étude plus récente menée par Costa en 2012 a également montré une répartition dans ce sens. Kimble et al en 2010 n'ont cependant pas détecté de récepteurs $\alpha 2,6$ dans le tractus digestif. Chez la caille on retrouve les deux types de récepteurs mais à différents étages de l'appareil respiratoire : d'abord $\alpha 2,6$ dans le RU et RM, puis les $\alpha 2,3$ dans le RL et le digestif. Alors que chez les poulets, dans RM, RL et digestif les deux récepteurs sont en quantité plus équilibrée. La caille est également une des espèces qui pourrait être hôte intermédiaire chez qui les virus pourraient s'adapter aux récepteurs humains et permettre ensuite la transmission d'homme à homme. C'est ce qu'ont montré Yamada et son équipe en 2011, avec des virus de canard H3N2. Après quelques passages dans la caille, leur capacité à se répliquer chez la caille était augmentée, en particulier dans l'appareil respiratoire, ils ont aussi montré leur capacité à se répliquer plus efficacement dans les cellules épithéliales des bronches de l'homme (qui contiennent des $\alpha 2,6$ essentiellement), et les virus présentaient 8 substitutions dans la chaîne d'acides aminés de l'hémagglutinine. Ces substitutions contribuent à l'adaptation des virus aux récepteurs de type humains, renforçant l'hypothèse de la caille comme hôte intermédiaire entre les virus des oiseaux aquatiques et l'homme.
- La dinde est une volaille dont on connaît encore assez peu de choses, et qui pourrait être comme la caille une potentielle espèce intermédiaire. La plupart des volailles d'élevage ont encore été peu étudiées et sont pourtant en contact direct avec l'homme. De plus, l'émergence des virus hautement pathogènes rend encore plus important le besoin caractériser les dangers potentiels que peuvent représenter les volailles. Kimble et son équipe s'est penché sur le cas de la dinde en 2010, et a observé l'expression des deux récepteurs dans le poumon, ce que nous n'avons pas pu montrer. Ils n'ont pas

observé d' $\alpha 2,6$ dans le tractus digestif, notamment le gros intestin, ce qui conforte notre résultat. Comme Pillai, ils ont remarqué un effet de l'âge chez la dinde. Costa et al en 2012 ont montré l'expression des deux récepteurs dans au moins une portion de l'appareil digestif et dans tout le tractus respiratoire de la dinde. En combinant les études, on voit que les deux types de récepteurs sont présents seulement dans l'appareil respiratoire moyen et seulement les $\alpha 2,3$ ont été observé dans le digestif. Dans tous les cas, avec la présence des deux types de récepteurs dans au moins une portion de son appareil respiratoire, la dinde peut avoir le même statut que le porc, le poulet ou la caille d'hôte intermédiaire et d'espèce à surveiller.

- Il est difficile de comparer les résultats obtenus pour les oiseaux terrestres car nos résultats proviennent tous du même article (Franca et al, (2013)). Néanmoins, il convient de mener d'autres études plus approfondies sur ce type d'espèces (buses, faucons, colombes...etc) qui ont été ici toutes regroupées ; car une seule étude ne suffit pas à tirer des conclusions certaines, et on a pu voir que ces oiseaux possèdent les deux types de récepteurs, ce qui pourrait également leur donner le statut d'hôte intermédiaire chez qui des réassortiments et des adaptations des virus aux récepteurs de type humain pourraient se faire. Il faudrait je pense, cibler les espèces qui pourraient être en contact important avec l'homme : les faucons, pigeons, tourterelles par exemple, qui sont fréquemment recueillis par des particuliers et conduits en centre de soin « faune sauvage », quand ils sont blessés.
- Le porc a été beaucoup étudié car des cas de transmission de virus humains ou aviaires au porc et du porc à l'homme ont été démontrés. Il a de plus été l'hôte intermédiaire le plus probable chez qui les réassortiments entre des virus aviaires et humains ont pu se produire, le mettant au cœur des grandes pandémies humaines (dont celle de 2009 avec le H1N1 par exemple). Le porc présente d'après Ito et al 1998 les deux types de récepteurs dans son appareil respiratoire, et les études plus récentes de Nelli et Kuchipudi ont montré la présence des deux récepteurs dans tous les organes.

Néanmoins, ils ont détectés une majorité de récepteurs $\alpha 2,6$ dans les voies respiratoires hautes, avec une proportion de $\alpha 2,3$ qui augmente en descendant dans l'arbre respiratoire, ce qui n'est pas notre cas. Notre étude montre que la principale différence entre l'homme et le

porc en termes de distribution de récepteurs concerne l'appareil respiratoire profond, où le porc exprime une majorité de $\alpha 2,6$ alors que l'homme exprime les deux types de récepteurs. De ce point de vue, rien n'indique qu'un virus aviaire exprimant une forte préférence pour les récepteurs $\alpha 2,3$ ait moins de difficultés à s'adapter au porc qu'à s'adapter à l'homme. En revanche, d'autres facteurs pourraient permettre l'adaptation de virus aviaires au porc, où le virus se trouverait en présence majoritaire de récepteurs $\alpha 2,6$, et modifierait donc progressivement sa préférence. Ceci faciliterait ensuite son passage à l'homme.

Suzuki et al ont étudié la répartition des récepteurs chez le cheval et ont observé la prédominance des $\alpha 2,3$ dans la trachée de ce dernier. En combinant les études, la prédominance des $\alpha 2,3$ n'a pas été confirmée par notre analyse, nous avons vu que les deux étaient présents, dans la trachée et l'appareil respiratoire haut. Peu de choses sont dites dans la littérature sur des possibles passages de virus entre le cheval et l'homme, mais à la vue de notre analyse, cela ne semble pas impossible !

Ces dernières années, le chien a été l'objet d'infection par différents virus influenza A, notamment par le sous-type H5N1 hautement pathogène mais pas seulement. Les sous-types aviaires H3N2 (Song et al 2008), et équins H3N8 (Payungporn et al 2008). Ainsi, le chien retient l'attention des vétérinaires praticiens et des spécialistes en virologie et épidémiologie. Certains virus ont même provoqué des infections respiratoires aigües chez des chiens en Corée du Sud, où circulent actuellement les sous-types H3N2, H5N1, H6N1 et H9N2 (Choi et al 2005). Les risques de transmission à l'homme sont réels car le chien est à la fois un animal de laboratoire et un animal de compagnie très commun. Connaître la distribution des récepteurs pourrait contribuer à la compréhension de la pathogénèse et la pathogénicité et ainsi estimer des risques de transmission. D'après certaines études menées précédemment, toutes les sections de tissus respiratoire de chien ont montré qu'elles contenaient en majorité des $\alpha 2,3$ (Daly et al 2008) . Ce qui pouvait expliquer la transmission des virus des oiseaux vers le chien facilement par contact direct, nous avons un résultat similaire pour l'appareil respiratoire haut. Cependant, notre étude montre que des récepteurs $\alpha 2,6$ ont été observé dans l'appareil respiratoire bas et digestif. Le chien pourrait comme l'homme présenter des troubles intestinaux avec le virus H5N1 par exemple. On peut donc comprendre pourquoi le chien est sensible aux virus d'origine aviaire, mais de plus le chien pourrait également être une espèce intermédiaire chez laquelle des virus aviaires pourraient se répliquer, s'adapter aux mammifères et ensuite franchir la barrière de l'espèce pour atteindre l'homme. La

transmission serait cependant difficile étant donné la dominance des récepteurs $\alpha 2,3$ dans l'appareil respiratoire haut. Il serait intéressant d'avoir davantage de données sur les préférences des virus issus de chien pour voir dans quelle mesure ceux-ci sont compatibles avec les récepteurs des portes d'entrée humaines.

Comme dit précédemment pour le chien, l'émergence de nouvelles souches de virus influenza constitue toujours une menace pour la santé publique, surtout quand il s'agit d'infection survenant chez des mammifères qui n'étaient pas touchés auparavant. C'est ainsi que le phoque est devenu une espèce à risque, lorsque le sous-type H3N8 a causé des pneumonies chez des phoques en Nouvelle Angleterre (Anthony et al 2012). Lors de cette épidémie, le virus s'est adapté très facilement adapté aux mammifères et cela a permis au virus d'augmenter la transmissibilité et la virulence chez cette espèce. Dans notre étude cependant il n'a pas été possible de mettre en évidence une éventuelle répartition préférentielle, d'autres études sont à mettre en œuvre pour clarifier la situation du phoque.

Le faisan est suspecté d'être un hôte intermédiaire au même titre que la caille car il exprimerait les deux types de récepteurs selon Yu et al 2011. Notre étude montre également que les faisans expriment en priorité les $\alpha 2,3$ dans le haut de l'appareil respiratoire et un peu d' $\alpha 2,6$. L'expression des deux récepteurs plus visible dans le reste de l'appareil respiratoire et le digestif. Cela peut expliquer pourquoi les faisans pourraient être infectés par des virus H9N2 d'origine aviaire possédant une forte affinité pour $\alpha 2,6$ (Costa et al. 2012). Des virus H4N5 aviaires ont aussi déjà été trouvés chez des faisans. A ce titre, le faisan est une espèce à surveiller car elle pourrait être espèce intermédiaire.

Les chimpanzés et orang-outangs ont montré les deux types de récepteurs dans le digestif comme l'homme. L'orang-outang exprime seulement les $\alpha 2,6$ dans son appareil respiratoire bas, contrairement à l'homme qui possède les deux. On suppose que des virus aviaires pourraient ainsi provoquer des signes digestifs chez les primates. Le furet pourrait jouer le rôle d'intermédiaire avec les deux types de récepteurs dans sa trachée.

4.3 Mise en relation entre la répartition des récepteurs et la préférence des virus

Le réservoir naturel des virus influenza a été bien identifié : il s'agit des Anseriformes principalement (canards colverts notamment, cygnes, oies) mais aussi des Charadriiformes (mouettes, oiseaux côtiers). Chez ces animaux, les seize sous-types sont présents, et deux d'entre eux notamment H5 et H7, peuvent passer d'une virulence basse à haute lors de la transmission aux volailles d'élevage. Tous les sous-types sauf H9 ont montré une préférence claire pour les récepteurs $\alpha 2,3$, et la présence de ce type de récepteur dans l'appareil digestif est cohérente avec une réplication principalement dans les intestins, et une transmission fécale-orale. Au niveau de la trachée cependant, la présence des deux récepteurs peut permettre la circulation des sous-types H9. Ce sous-type est particulièrement intéressant car avec les sous-types H5 et H7, il pourrait être à l'origine de la prochaine pandémie. La seule barrière à franchir par ces sous-types pour provoquer une pandémie est une bonne transmission entre les êtres humains.

Les transmissions inter-espèces les plus fréquentes arrivent entre les oiseaux aquatiques et les oiseaux terrestres domestiques dans les fermes où cohabitent différentes espèces, ou dans les marchés de volailles vivantes (en Asie principalement). C'est également dans ces marchés que des transferts entre volailles et mammifères, principalement l'homme, peuvent se produire. C'est ainsi que le virus H7N9 a été transféré chez l'homme en 2013 (Webster et al) de manière ponctuelle.

Chez l'homme notre étude confirme l'adaptation des sous-types H1, H2 et H3, avec une préférence pour les $\alpha 2,6$, alors que les sous-types isolés chez l'homme H5 et H7 n'ont pas encore basculé leur préférence vers $\alpha 2,6$. En mettant les deux tableaux des résultats, on peut dire que l'homme pourrait être infecté par les virus H1 et H3 à partir du porc, par les H9 à partir du canard et des oiseaux aquatiques, du poulet et de la caille, ainsi que des oiseaux terrestres. Le virus H1 pourrait aussi être transmis depuis la dinde.

Du côté des sous-types, le H9 est pour moi celui à surveiller. D'une part parce que ce sous-type a montré qu'il se liait aux deux types de récepteurs chez les oiseaux aquatiques, les cailles, et préférait les $\alpha 2,6$ chez le poulet et les oiseaux terrestres. Ce virus s'est peut-être d'ailleurs adapté aux récepteurs de ce type après son passage chez la caille, le poulet ou d'autres espèces d'oiseaux terrestres (comme le faisan) car ce sont des espèces qui possèdent les deux types de récepteurs.

Du côté des espèces sensibles, on retrouve en priorité le porc, la caille, le poulet, la dinde, les oiseaux terrestres, le faisan, le cheval ainsi que le chien et le furet, peuvent être considérées comme des espèces à surveiller, car pouvant potentiellement être infectées par tous les sous-types issus des oiseaux aquatiques. Elles pourraient être des hôtes intermédiaires car elles possèdent les deux types de récepteurs, voire une majorité de $\alpha 2,6$ dans l'appareil respiratoire haut pour le furet la dinde et la caille, chez qui les virus d'origine aviaires pourraient s'adapter aux $\alpha 2,6$. Les espèces d'élevage comme les volailles et les porcs sont les plus à risque car elles sont élevées en grande quantité, et les premières victimes d'une nouvelle pandémie sont les vétérinaires et les éleveurs. De plus, ce sont des espèces consommées en grande quantité, et même si la transmission à l'homme par voie digestive n'a encore jamais été montrée, cela rend encore plus à risque ces espèces. Le rôle des oiseaux terrestres (y compris le faisan) comme hôtes intermédiaires a peut-être été sous-estimé jusqu'à maintenant. La dinde et son virus H1 et le porc avec les virus H1 et H3 peuvent transmettre ces virus à l'homme. A l'inverse, des souches de H1N1 ont déjà été transmises de l'homme vers la dinde, le porc, le chat (Thongratsakul et al. 2010).

Les virus H3 du cheval proviennent probablement du canard (Guo et al 95). Quelques transmissions ont été observées entre le cheval et le chien et entre le cheval et le porc (Daly et al. 96) (Tu et al. 2009).

Les virus aviaires comme par exemple les virus H5N1 sont difficilement transmis à l'homme car ce dernier possède les $\alpha 2,3$ seulement dans la partie inférieure de son arbre respiratoire et digestif. Lorsque cette transmission se fait, elle est plus grave car elle se transforme en pneumonie.

Peu de choses sont dites dans la littérature sur des possibles passages de virus entre le cheval et l'homme, mais à la vue de notre analyse, cela ne semble pas impossible ! Il faudrait néanmoins que les virus du cheval s'adaptent chez cet hôte aux récepteurs $\alpha 2,3$ car ils sont très spécialisés envers les $\alpha 2,3$. On pourrait imaginer que des transmissions entre le cheval et le porc ou entre le cheval et le chien pourraient permettre aux virus de s'adapter aux récepteurs types des mammifères. Le cheval et le chien pourraient même servir d'intermédiaire entre les virus H5N1 des oiseaux aux mammifères si on regarde nos résultats. La transmission à l'homme serait plus probable depuis le cheval que depuis le chien d'après nos résultats (il manque en effet l'appareil respiratoire haut du chien et l'appareil respiratoire moyen ne montre pas de récepteurs $\alpha 2,6$, ainsi que la préférence pour les récepteurs des virus issus des

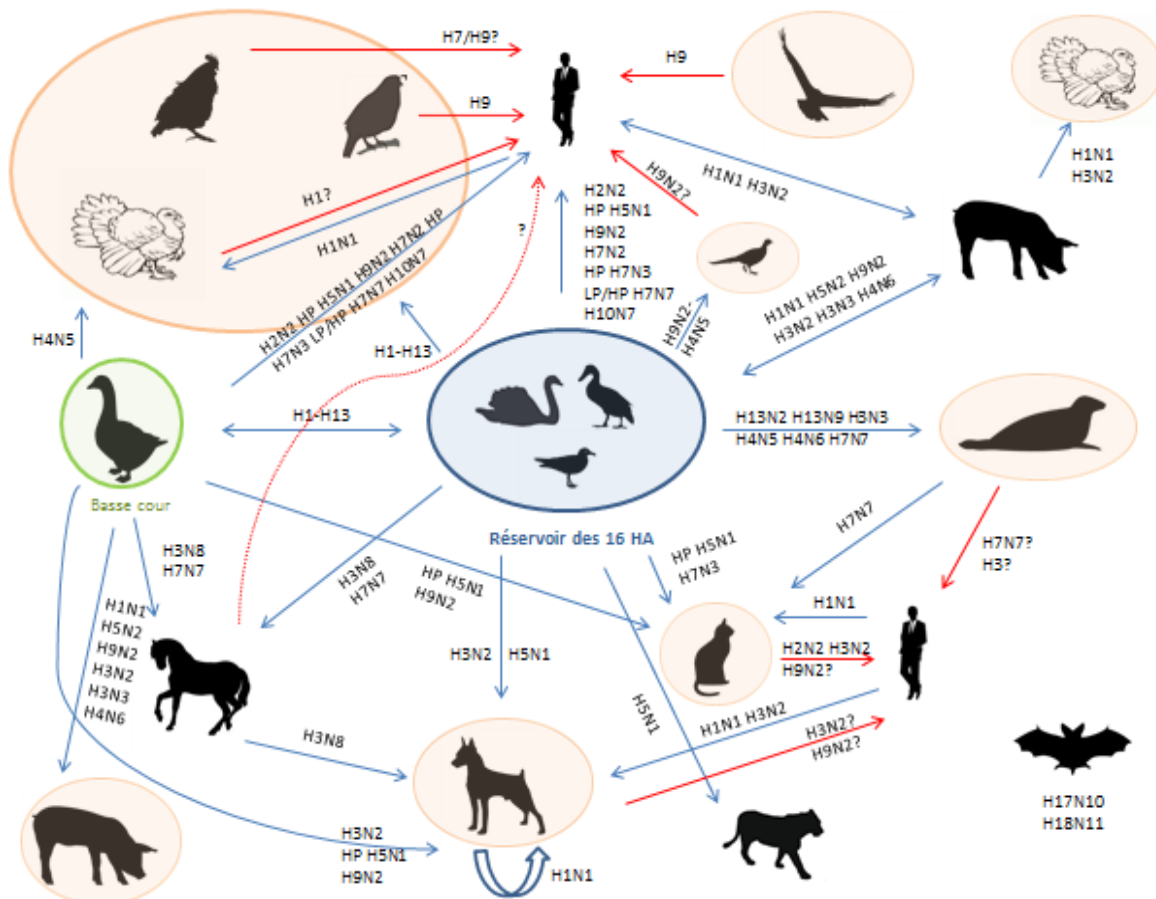
chiens). Bien que non étudié dans notre étude, le chat semble suivre le même chemin d'après la littérature : le virus H1N1 aurait infecté des chats en 2009, et plus récemment le virus humain H3N2 (Mc cullers et al. 2011). Zhang et al en 2013 avait déjà suggéré que les chiens et chats domestiques avaient été infectés par des virus H9N2, endémique chez les volailles en Eurasie. La voie des transmissions classique (voie orale) n'est peut-être pas la seule impliquée. En effet, Daly et al en 2008 rapportent des cas de chiens infectés suite à l'ingestion de tissus respiratoire de chevaux morts. Peut-être que l'ingestion de cette viande a permis d'inhaler une quantité de virus suffisante pour infecter les chiens. Néanmoins, des chats, des léopards et des chiens ont été malade suite à l'ingestion de carcasses d'oiseaux infectées par le H5N1 hautement pathogène (Kuiken et al.2004), et pourraient le transmettre à l'homme. Il convient donc de monitorer ces espèces en cas d'épidémie.

Les grands singes partagent les deux récepteurs dans l'appareil digestif. Leur rôle comme intermédiaire par la voie aérosol semble limité, ils pourraient néanmoins comme les chats, chiens et l'homme être infectés par la voie digestive.

Les récentes épidémies de grippe aviaires en France avec le virus H5N1 hautement pathogène ont posé la question de la consommation des produits issus de la volaille comme les œufs, le foie gras, la viande. Les autorités ont affirmé que le virus n'était pas transmissible par la consommation d'aliments. Néanmoins, même si le virus H5N1 est surtout transmis par aérosol et touche en premier l'appareil respiratoire, il peut aussi cibler les intestins et provoquer les troubles dans cet organe. C'est ce qu'ont montré Shu et ses associés en 2010.

Comme eux, nous avons vu que les deux types de récepteurs étaient présents dans les intestins de l'homme. De plus, ils ont montré la capacité des virus H5N1 à infecter et se répliquer directement dans les intestins de l'homme *ex vivo*. Donc, même si aucune preuve n'a réellement été apportée, une transmission de virus H5N1 par voie digestive n'est pas exclue ! De plus, les excréments importants de virus qui en résulteraient par les hommes infectés engendreraient des conséquences sur la santé publique. Malgré tout, nous ne disposons que de peu de données à ce sujet, des études complémentaires sont donc à mener pour éclaircir ce point crucial ! Il faudrait par exemple voir si les virus survivent au passage de l'estomac chez l'homme, avant d'arriver dans les cellules de l'intestin dans lesquelles on sait qu'ils peuvent se répliquer. Il faudrait mener des études *in vivo*, ce qui est impossible chez l'homme et les espèces qui se rapprochent le plus de lui, c'est-à-dire les grands singes, sauf en cas d'extrême nécessité sanitaire (ce qui pourrait arriver un jour cependant).

Avec toutes ces analyses, il est maintenant possible de retravailler le diagramme de transmission entre les espèces, à la lumière de toutes ces données nouvelles.



Légende :

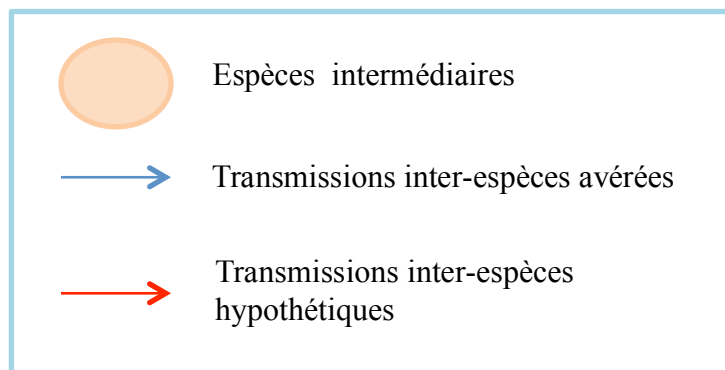


Figure 21: Diagramme final des transmissions inter-espèces

V. Franchissement de la barrière des espèces : autres enjeux

Même s'il est certain que l'expression dans les tissus des récepteurs (les acides sialiques) aux virus influenza $\alpha 2,3$ ou $\alpha 2,6$ est considéré comme l'un des facteurs déterminants de la gamme d'hôtes et du tropisme des tissus des virus influenza, il n'est très probablement pas le seul.

5.1 Mutation des hémagglutinines et switch des récepteurs : un facteur important pour l'émergence d'une population virale stable chez une autre espèce

Il avait été émis comme hypothèse par certains auteurs (Rogers Da Souza 1989, Ito et al 1998) que le réassortiment de virus aviaires chez le porc ainsi que leur adaptation en venait à changer la spécificité de récepteurs, facilitant ainsi la transmission des virus vers les humains. Néanmoins, Mastrosovich et al ont souligné le fait que certains cas humains ont été rapportés en 1997, suite à un contact proche avec des virus H5N1 aviaires, ce qui montre bien que le passage des virus aviaires vers l'homme sans réassortiment préalable et sans hôte intermédiaire préalable est possible. Certaines mutations spécifiques dans la séquence d'acides aminés, et des glycosylations au niveau du site de fixation des HA pourraient inverser la préférence de liaison de $\alpha 2,3$ vers $\alpha 2,6$, et vice versa. Par exemple, Ito et al (1998), ont montré qu'avec une seule mutation de résidus d'acide aminé à la position 145 (de Ser vers un autre acide aminé) chez un virus H3 porcin était associée à une perte de reconnaissance du récepteurs $\alpha 2,3$, au profit du seul récepteur $\alpha 2,6$ (alors qu'il reconnaissait les deux auparavant). Cet acide aminé se trouve sur la boucle de HA près du site de fixation. Il semblerait que l'abondance des $\alpha 2,6$ dans les cellules épithéliales de la trachée des porcs permette aux virus qui possèdent cette reconnaissance spécifique de se répliquer d'avantage que les autres (Van Poucke et al. 2013).

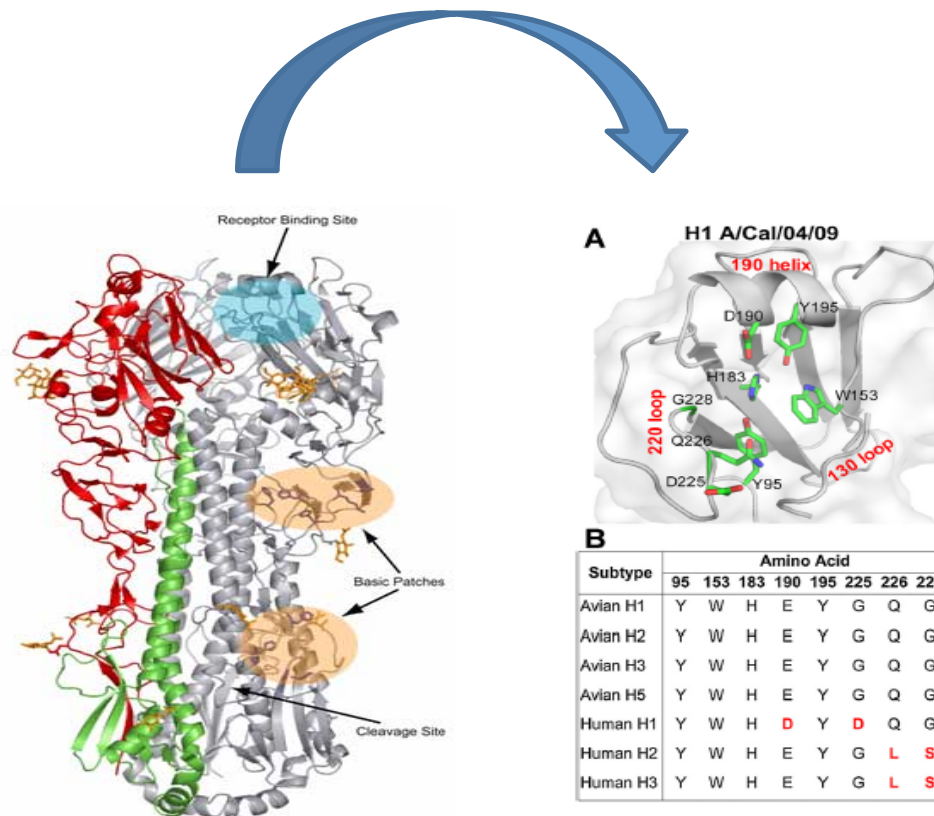


Figure 22: Structure 3D de l'hémagglutinine et mutations des acides aminés du site récepteurs-liaison impliqués dans la spécificité des récepteurs

Sur la figure ci-dessus, on peut observer la structure de base de l'hémagglutinine, avec les boucles 130, 200 et l'hélice 190 composant le site récepteur-liaison (Mair et al. 2014). Sont en vert les acides aminés (image A en haut à droite) impliqués dans la liaison aux acides sialiques ou connus pour influencer cette liaison. Le tableau montre les acides aminés (en rouge) qui confèrent la spécificité pour les récepteurs humains, comparés à la séquence d'acides aminés chez des virus aviaires.

- Les sous-types H1, H2 et H3

Comme décrit par Skehel et Wiley en 2000, le site récepteur est composé chez les souches H1 par une poche peu profonde située au sommet de l'hémagglutinine et délimitée par une hélice α 190 au sommet, et deux boucles 220 et 130 sur les côtés, comme vu sur la figure ci-

dessus. Les acides sialiques interagissent principalement avec quatre acides aminés très conservés parmi presque toutes les souches : Y98, W153, H183 et Y195. D'après Roger et al 1983, le changement de préférence pour l'un ou pour l'autre des récepteurs chez les sous types H2 et H3 serait régi par la mutation d'un acide aminé en position 226 et 228. Tandis que en 226 la leucine confère une spécificité pour $\alpha 2,6$, la glycine confère une spécificité pour $\alpha 2,3$. Pour l'acide aminé 228, il est possible de retrouver la sérine spécifique pour $\alpha 2,6$ contre la glycine pour $\alpha 2,3$. Les virus isolés plus récemment en revanche auraient remplacé la leucine en 226 par l'isoleucine ou la valine, probablement face à la réponse immunitaire des hôtes, permettant à la souche de continuer à avoir une affinité pour $\alpha 2,6$.

Pour la souche H1, ce sont les acides aminés positionnés en 190 et 225 qui seraient à l'origine de la spécificité de récepteurs. L'acide glutamique en 190 et la glycine en 225 sont spécifiques des récepteurs aviaires tandis que l'acide aspartique en 190 et en 225 sont spécifiques des récepteurs humains (Mair et al. 2014).

Avec l'analyse précise des structures des hémagglutinines de virus humains et aviaires de sous-type H2, il a été décrit des changements moléculaires qui ont toutes leur importance : la leucine en 226 créerait un environnement hydrophobe qui stabiliserait la liaison avec le récepteur humain, et déstabiliserait la liaison avec le type aviaire. Il serait de même pour les sous types H3 (Pappas et al. 2015). Pour les sous types H1 humains, des ponts hydrogènes entre les deux acides aminés 190 et 225 serait à l'origine de la préférence pour $\alpha 2,6$. En fin de compte, les acides aminés impliqués dans la préférence des récepteurs créent des interactions favorables à la stabilisation du récepteur préférentiel.

- Cas particulier de la souche H5N1

Le cas de la souche H5N1 est à analyser avec attention, étant donnée son caractère hautement pathogène observé dans le cas d'infection chez l'homme, causant 60% de mortalité parmi les cas confirmés (Gambotto et al 2008). La capacité de cette souche à acquérir une préférence envers les récepteurs typiques chez l'homme n'a pas encore été observée dans la nature, mais un changement de préférence pourrait entraîner un risque pandémique important, comme cela a été le cas pour la grippe espagnole de 1918. Pour le moment, les cas humains rapportés avec cette souche d'origine aviaire ont été infectés après un contact étroit avec la volaille d'élevage, et la capacité à se transmettre entre hommes n'a pas été observée (d'après Wang et al). Cette souche est de retour et de nouveau au cœur de l'actualité notamment en

France, où 75 foyers d'influenza aviaire hautement pathogène pour les volailles ont été détectés dans 8 départements du Sud-ouest de la France. Les souches identifiées par l'ANSES sont les souches H5N1, H5N2, et H5N9.

D'après le ministère de l'agriculture, de l'agroalimentaire et de la forêt, le séquençage de la souche a permis de confirmer l'absence des principaux marqueurs de dangerosité pour l'homme, néanmoins il convient de rester prudent, et une préférence pour les récepteurs humains de cette souche lui permettrait d'être transmissible d'un homme à un autre et causer une nouvelle pandémie. Paulson et al dans *Virus Research* en 2013 s'est intéressé aux mutations qui permettent à cette souche de se lier aux récepteurs humains et donc d'évaluer le risque d'une nouvelle pandémie.

Il semblerait que 3 ou 4 mutations simultanées soient nécessaires pour acquérir la préférence vers le récepteur humain, ce qui expliquerait pourquoi la souche n'a pas encore acquis cette préférence dans la nature (Paulson et al.2013). Une analyse de la séquence d'acides aminés chez des H5 isolés au sein d'humains infectés a montré que des mutations proche de la zone récepteur, notamment N186K, Q196R, Q196H, K193R, S227N combinées ensemble ou avec d'autres mutations augmentaient l'affinité des virus pour α 2,6 et diminuait celle pour α 2,3 (Mair et al 2014). Malgré cela, l'affinité pour α 2,3 reste forte. Les plus connues semblent être celles arrivant en position 189 et 196, déjà identifiées auparavant (Yamada et al. 2006).

Chez H7 des délétions dans la boucle 220 faciliteraient la liaison aux α 2,6, chez les H9 la leucine en 226 (comme H2 et H3) permet une meilleure réplication du virus dans l'appareil respiratoire de l'homme (Mair et al. 2014).

Le moment d'apparition de ses mutations n'est pas connu, il n'est pas encore possible de savoir si les mutations apparaissent pendant l'infection et confèrent un avantage pour la réplication chez l'homme, ou si elles apparaissent avant l'infection, dans le but d'infecter l'homme. Ces mutations arrivent naturellement et donnent un avantage pour l'hôte humain.

Shinya et al 2006 ont réussi à montrer que la mutation S227N chez des virus H5N1 de canards redonne la préférence pour le récepteur aviaire. Cela signifie que les mutations ne sont pas stables et sont probablement sélectionnées pendant la réplication chez les humains. Une autre mutation identifiée semble être Q196H, qui auraient initié ou propagé la réplication de la souche chez l'homme. Les mutations qui arrivent naturellement chez H5N1 augmente la

spécificité pour $\alpha 2,6$ et augmente la réplication virale chez l'homme. La fréquence d'apparition de ces mutations arrivant naturellement ou par sélection n'est pas connue.

Comme vu précédemment, les oiseaux terrestres tels que le faisan, le poulet ou la caille possèdent des récepteurs $\alpha 2,6$ identiques à ceux des hommes, et personne ne sait si ces espèces permettent la sélection des souches virales, mais ils jouent certainement le rôle d'hôte intermédiaire, permettant la sélection de la préférence pour les récepteurs $\alpha 2,6$, amenant ainsi un risque pandémique. Des expériences *in vitro* et *in vivo* menées par différents groupes de chercheurs ont permis d'identifier les mutations ou les combinaisons de mutations, nécessaires non seulement à l'acquisition de l'affinité pour $\alpha 2,6$, mais aussi à la capacité de transmission des virus entre furets (le modèle humain *in vitro*), et donc par extension la capacité de transmission entre humains. Des combinaisons de mutations ont pu être identifiées notamment : E190G et D187G, ou encore la combinaison S227N/D187G et S227N/Q196R. L'association de Q196R avec Q226L/G228S a montré une quasi suppression de la liaison à $\alpha 2,3$ en même temps qu'une augmentation de l'affinité pour $\alpha 2,6$ (Paulson et al. 2013). Même si les H5N1 arrivent à acquérir naturellement la spécificité pour $\alpha 2,6$, il n'est pas certain que cela suffise pour permettre la transmission entre humains. Une combinaison de quatre mutations permettant la transmission par contact direct et par aérosol a été identifiée par mutagenèse : N158D/N224K/Q226L/T318I (Paulson et al. 2013). Etudier les mutations contribue à comprendre ce dont les hémagglutinines ont besoin pour se lier aux récepteurs $\alpha 2,6$, et se lier de façon plus faible aux $\alpha 2,3$, et permettre ainsi de reconnaître une souche qui pourrait être à l'origine d'une pandémie.

Les mutations dans la séquence d'acides aminés des hémagglutinines jouent un rôle important dans le franchissement de la barrière inter-espèce. Il est donc important d'analyser celles qui peuvent permettre de franchir cette barrière notamment chez les souches hautement pathogènes. De nombreux auteurs se penchent maintenant sur cette question, (comme Xiaoli Xiong, Yang, ou encore M.Crusat par exemple). Ils travaillent entre autre sur des virus par mutagenèse et analysent les mutations. Il serait intéressant de faire une méta-analyse sur toutes les recherches menées afin de compiler toutes les mutations observées qui permettent le changement d'affinité et la transmission, afin de voir quelles sont les plus fréquentes et les plus efficaces. Xiaoli Xiong s'est d'ailleurs intéressé à ce travail, et devrait publier une méta-analyse sur les altérations de structure et les mutations des hémagglutinines chez de nombreux sous-types de virus (comme H1N1, H2N2, H3N2, H5N1, et H7N9 notamment) et leurs

implications biologiques (liaisons avec HA, fonction sialidase de la neuraminidase..), permettant l'adaptation du virus à l'homme.

Enfin, comme Mastrosovich et al (1999) l'ont remarqué au cours de leur étude, un virus d'origine aviaire tel que H5N1 (isolé chez l'homme en 97 de souche A/HK/156/97) peut causer une infection qui peut être fatale chez l'homme sans changement significatif d'affinité pour le récepteur $\alpha 2,6$, typique chez l'homme. Alors que les souches H2 et H3 ont, elles, montré un changement d'affinité clair.

5.2 Mutations des neuraminidases

Mastrosovich et al (1999) ont mis en évidence une délétion de 19 acides aminés, notamment chez H5N1 et N2, qui semble avoir une influence sur l'activité des neuraminidases. Leur activité d'enzyme serait plus lente, le taux d'élution serait plus bas que sans la délétion. Certaines mutations, peuvent également réduire la sensibilité des neuraminidases à leurs inhibiteurs (comme par exemple l'oseltamivir contenu dans le Tamiflu ou encore le zanamivir contenu dans le relenza, qui sont deux antiviraux utilisés dans la prévention ou le traitement de la grippe) (Naughtin et al. 2011).

5.3 Conformation différente des récepteurs et accroche des virus

L'hypothèse actuelle est que les virus des oiseaux sauvages diffèrent de ceux des oiseaux d'élevage de par la structure de leur hémagglutinine et neuraminidase. Des liaisons N-glycosidiques au sommet de l'hémagglutinine et des délétions dans la structure des neuraminidases diffèrent pour les H5 et H7 entre oiseaux domestiques et sauvages. C'est ce qui a été constaté dans des lignées d'oiseaux d'élevage, et qui serait donc le fruit de l'adaptation des virus depuis les oiseaux aquatiques vers les oiseaux domestiques. D'autres paramètres entre en jeu aujourd'hui, a ainsi été découverte l'importance de la structure des sialylglycopolymères. En effet, les virus se lient à l'acide sialique, et celui-ci est relié ensuite à une molécule de galactose selon une liaison $\alpha 2,3$ ou $\alpha 2,6$, mais la suite de la chaîne carbonée peut être différente :

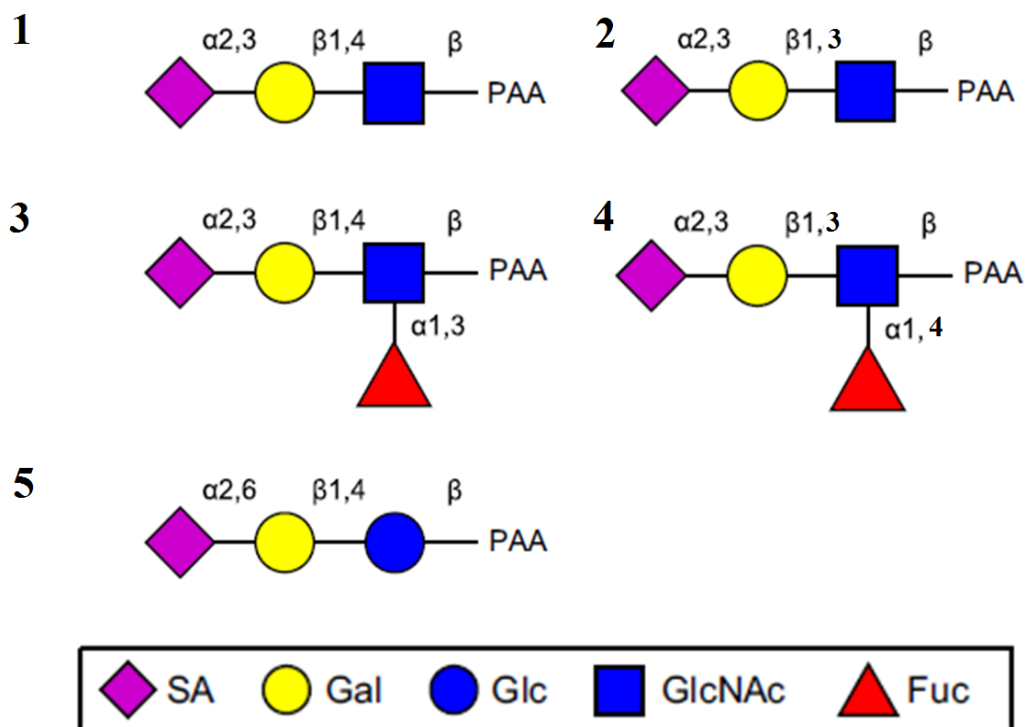


Figure 23: Différentes structures possibles de sialylglycopolymères

Source : Image modifiée d'après Hiono et al 2014

Comme montré sur la figure 22, le galactose peut être lié à une molécule de N-acétylglucosamine à l'aide d'une liaison $\beta 1,4$ ou $\beta 1,3$ (voir molécule 1 et 2). Le N-acétylglucosamine est un ose qui a la même structure que celle du glucose mais dont le carbone numéro 2 possède un groupement N-acétyl (constitué d'une fonction amide et du squelette de l'acide acétique) au lieu de la fonction alcool. La molécule de N-acétylglucosamine peut être fucosylée, c'est-à-dire qu'un ose, le fucose, est rajouté, à l'aide d'une liaison $\alpha 1,3$ ou $\alpha 1,4$ (voir molécule 3 et 4). Le fucose est un aldohexose, donc un ose qui comprend six atomes de carbone, et dont le premier atome de carbone comprend une fonction aldéhyde.

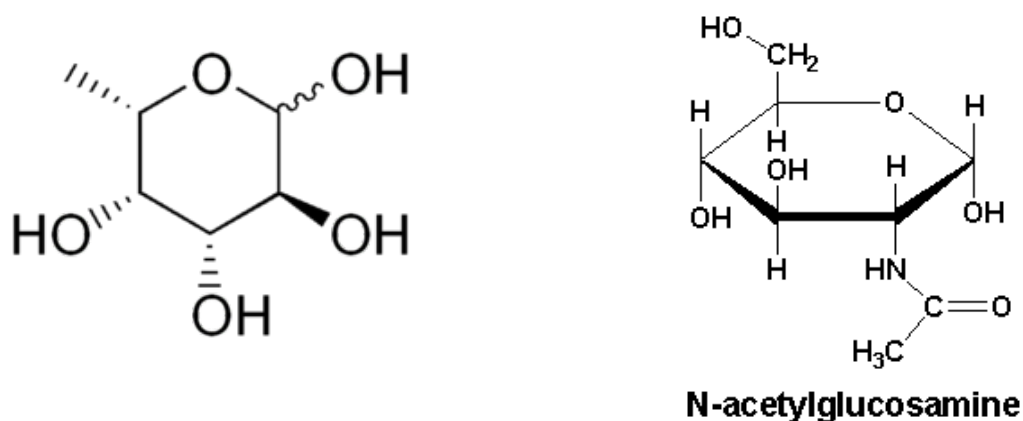


Figure 24: Représentation de Cram du fucose (à gauche) et représentation de Haworth du N-acétylglucosamine

La fucosylation ou le caractère sulfaté de la chaîne carbonée des récepteurs suggère que les acides sialiques ne sont pas tous identiques, et certains virus seraient plus réceptifs que d'autres à ces récepteurs. Dans l'étude de Hiono en 2014, il a été montré l'importance de la fucosylation et de la sulfation d'un récepteur $\alpha 2,3$, pour la fixation de virus chez les oiseaux terrestres, dont le poulet. Dans cette étude, il a été montré que le virus spécifique du poulet H5N2 se fixait six fois plus au récepteur $\alpha 2,3$ fucosylé qu'au récepteur $\alpha 2,3$ linéaire.

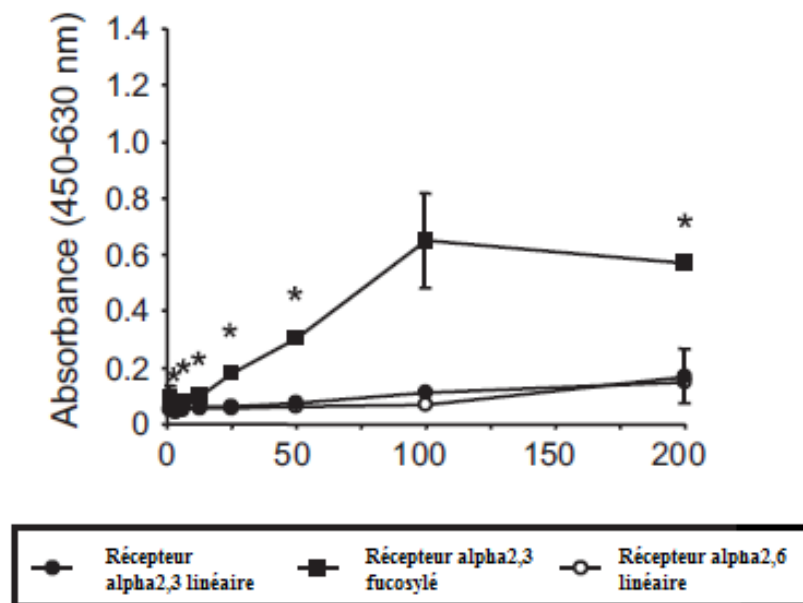


Figure 25: Fixation préférentielle du virus H5N1 du poulet sur le récepteurs $\alpha 2,3$ fucosylé

Source : Image modifiée d'après Hiono et al 2014

Un autre paramètre à prendre en compte au niveau des liaisons virus/récepteurs serait la conformation de la liaison O-glycosidique. En effet, les acides sialiques possèdent les deux types de liaisons qui les relient aux autres glycanes, se trouvant plus près de la membrane plasmique, les liaisons N et O-glycosidiques. Si le rôle de la liaison N-glycosidique a déjà montré son importance, celle de la liaison O-glycosidique n'est pas bien connue. Pourtant, ce type de liaison est parfois très présent dans certains types de cellule, notamment les cellules caliciformes, et dans la mucine qu'elles sécrètent (grande protéine glycosylée entrant dans la composition du mucus, cette protéine étant reliée à la membrane plasmique).

Jayaraman et al (2012) se sont d'ailleurs intéressés à la distribution des récepteurs possédant une liaison O-glycosidique dans l'appareil respiratoire du furet, et ont trouvé que ces liaisons se trouvaient principalement dans les cellules sécrétant la mucine dans l'appareil respiratoire bas, au niveau du hile du poumon. L'université de Hong-kong a déjà remarqué que lorsque les récepteurs avec la liaison N étaient bloqués, ceux possédant une liaison O prenaient le relais. Si ces derniers étaient également bloqués, l'infection s'en trouvait significativement réduite, ce qui démontre bien leur importance dans la liaison des virus aux cellules.

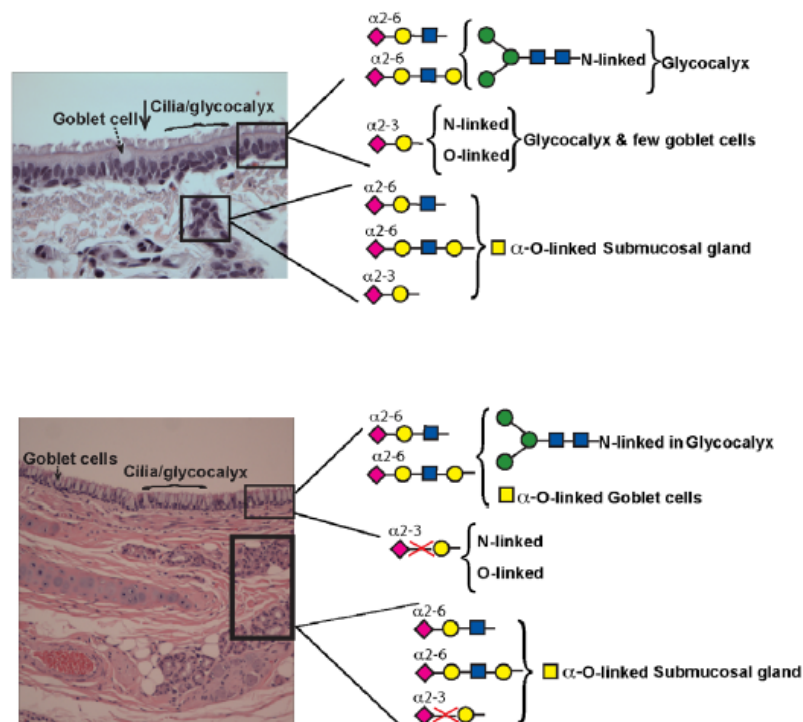


Figure 27: Récepteurs possédant des liaisons N ou O-glycosidiques

Source : Image modifiée d'après Jayaraman et al. 2012

5.4 Autre enjeu : la présence de récepteurs ne suffit pas à expliquer la liaison des virus aux tissus.

La présence de récepteurs dans les tissus semble a priori être l'endroit préférentiel de liaison des virus dans ces mêmes tissus. Or, la distribution des récepteurs ne « colle » pas toujours avec l'accroche des virus aux tissus. C'est ce qu'ont montré Costa et al, dans Veterinary Research en 2012, et qui montre donc que les récepteurs seuls ne déterminent pas l'infection virale.

Species	Tissues, types of receptor/virus binding ^d							
	Small Intestine				Large Intestine			
	α -2,3	H4N5	α -2,6	H1N1	α -2,3	H4N5	α -2,6	H1N1
Chicken	+++	++	+	+	+	++	+	+
Quail	++	+	+	+	+	+	++	+
Partridge	+	+	+	+	+	+	+	-
Turkey	+	-	-	+	+	-	+	+
Pheasant	++	+	+	+	++	+++	++	+
Ostrich	++	+	-	+	++	+	-	-
Mallard	++	+	-	+	++	+	-	-

Figure 28: Incohérence entre la présence des récepteurs et la fixation des virus

Source : Image modifiée d'après Costa et al 2012

L'étude décrite ici utilisait deux virus, un d'origine humaine H1N1, l'autre d'origine aviaire H4N5. Il a pu être démontré que malgré la présence de récepteurs, les virus ne se fixaient pas toujours, ou se fixaient en quantité plus importante que la quantité de récepteurs observée ; et que parfois même en l'absence de récepteurs, il était possible d'observer tout de même une fixation des virus. C'est le cas par exemple pour l'intestin grêle et le gros intestin de la dinde (voir rectangle rose) : malgré les récepteurs α 2,3, aucun virus H4N5 (qui ont pour récepteur préférentiel ces derniers) ne se fixe. C'est également le cas dans le gros intestin de la perdrix (voir le rectangle bleu) avec les récepteurs α 2,6 et les virus H1N1 (qui ont pour récepteurs préférentiel α 2,6).

A l'inverse, malgré l'absence de récepteurs $\alpha 2,6$, des virus H1N1 se sont attachés (de manière faible) dans les intestins grêles de la dinde, de l'autruche et du canard colvert (voir les rectangles roses et verts sur la figure 26). Ces inconstances entre répartition des récepteurs dans les tissus et fixation des virus ont également été montrées dans le tractus respiratoire de ces mêmes espèces d'oiseaux. Ces observations montrent que d'autres facteurs que la distribution des récepteurs dans les tissus, et l'affinité des virus pour ces derniers, déterminent le résultat d'une exposition à certains virus influenza A ; et la restriction des transmissions inter-espèces. D'autres facteurs comme les glycoprotéines virales ou encore la réponse immunitaire de l'hôte, interviendraient dans le processus de réplication et d'adaptation des virus chez une nouvelle espèce.

Kimble et al dans *Virology Journal*, 2010, se sont intéressés au même problème. Toujours chez des espèces d'oiseaux domestiques, ils ont testé l'accroche des virus en comparaison avec l'étude de la répartition des récepteurs dans les tissus. Comme pour Costa et al, quelques non-superpositions ont été démontrées entre la présence ou non et la fixation ou non des virus.

Par exemple, malgré la large expression de récepteurs $\alpha 2,3$ dans la trachée de l'oie, le virus H3N2 d'origine aviaire utilisé ici et ayant une préférence pour les $\alpha 2,3$ ne s'est pas fixé. De même pour les intestins, où sont principalement présents des récepteurs $\alpha 2,3$ chez tous les oiseaux, seuls les canards et oies ont pu fixer le virus H3N2 aviaire. Nicholls et al ont démontré avec une étude *ex vivo* que des tissus de nasopharynx humains ont pu être infectés malgré l'absence de récepteurs $\alpha 2,3$. Kumari et al (2007) ont observé que l'absence d'acides sialiques $\alpha 2,6$ ne protégeaient pas non plus les cellules de l'infection, et vice versa, la présence de nombreux $\alpha 2,6$ ne garantirait pas non plus l'infection.

De nombreuses autres recherches ont montré des résultats allant dans ce sens, menées par Stray et al (2000) ou encore Thompson et al (2006). Zhang Hong, dans *Science in China Press* évoque même que des études menées sur la liaison des virus aux acides sialiques auraient montré que des virus réassortis se seraient liés à des acides sialiques possédant une liaison $\alpha 2,8$. Huang et al 1996 ont montré qu'une protéine de 33 kDa, l'annexine, se trouvant dans la membrane plasmique, pouvait jouer le rôle de 'second' récepteur, qui permettrait l'infection de virus influenza A.

La longueur des glycanes auraient aussi une importance : par résonance plasmique de surface, Hidari et al (2008) ont montré que les virus influenza A aviaires préféraient se lier

aux acides sialiques α 2,3 reliés à une chaîne carbohydratée courte, comme c'était le cas du résultat de l'étude menée par Stevens et al (2006). D'autre part, les virus influenza A humains de sous-type H3 et H1 préféreraient se lier aux récepteurs α 2,6 dont la chaîne carbohydratée est longue (Stevens et al 2006). Enfin, l'importance de la structure des glycanes a été montrée par Chandrasekaran et al (2008) : les virus humains se lieraient plus à des chaînes carbohydratées longues et flexibles contre des chaînes courtes et étroites.

Tous ces résultats d'études indiquent que les acides sialiques ne sont pas les seuls déterminants du tropisme d'hôtes des virus influenza, cela serait une vision beaucoup trop simpliste des enjeux.

Il faudra de nombreuses autres études pour mieux comprendre la fonction et la capacité des récepteurs à lier les virus, et dans quelle mesure les changements minimes dans la liaison aux récepteurs permettent d'établir une infection productive chez une espèce hôte. Il faudra également s'intéresser à d'autres facteurs tels que la typologie, la longueur et la structure des glycanes (comme vu précédemment), la densité des récepteurs dans un tissu, la concentration virale nécessaire à l'infection, des co-récepteurs éventuels des acides sialiques par exemple. Un des facteurs limitant de nombreuses études est que les lectines utilisées (*Maackia amurensis* et *Sambucus nigra agglutinin*) ne peuvent pas reconnaître tous les glycanes, de ce fait la distribution d'autres sialoglycanes dans les organes n'est pas bien connue.

5.5 Passage d'un virus faiblement pathogène à un virus hautement pathogène : influence du sialoglycopolymère terminant le récepteur

Il arrive parfois comme dit précédemment dans cette étude, que des virus faiblement pathogènes présents chez des oiseaux d'élevages (de sous type H5 ou H7 par exemple) évoluent en phénotype hautement pathogène après l'acquisition de multiples bases d'acides aminés au niveau du site de clivage de l'hémagglutinine. Mais ce n'est pas la seule différence entre les deux souches de virus.

Heider et al (2015) ont montré que les affinités à différents récepteurs varient selon le caractère hautement ou faiblement pathogène de la souche virale. En étudiant toujours le récepteur de conformation de base Neu5Aca2,3Gal, il semblerait que les virus hautement

pathogènes possèdent une affinité plus grande pour les galactoses reliés à une molécule N-acétylglucosamine non fucosylée par une liaison β 1-4 ou β 1-3 (molécule 1 et 2 de la figure 22) que les virus faiblement pathogènes. Globalement, les virus faiblement pathogènes montrent une affinité deux fois plus élevée pour les récepteurs dont la N-acétylglucosamine est fucosylée en β 1-3, qui est un récepteur principal dans les volailles d'élevage. Une forte corrélation a été montrée entre le phénotype pathogénique et l'affinité pour le récepteur non fucosylé, sans différence entre la liaison β 1-3 ou β 1-4.

Tout comme pour le passage d'une espèce à une autre, la préférence des virus H5 ou H7 pour le récepteur linéaire α 2,3Gal β 1,4 (récepteur 1 de la figure 22) est également due à des substitutions d'acides aminés au niveau du site de liaison de l'hémagglutinine (Heider et al. 2015). Le site de fixation de l'hémagglutinine est compris entre les acides aminés 110 à 240, les substitutions relevées entre les deux souches virales (virus hautement ou faiblement pathogènes) sont Glu189Ala et Ala192Glu. Une autre mutation comme celle de Pro221Ser change la conformation du site récepteur, rendant la chaîne plus flexible avec Ser qu'avec Pro et plus hydrophile, donnant une affinité plus grande aux virus hautement pathogènes pour les sialosides non fucosylés. Chez d'autres souches de virus, d'autres mutations ont été responsables du changement de préférence pour les récepteurs (nous ne les décriront pas toutes ici). Pour les virus H7 même constat : entre les virus hautement et faiblement pathogènes, deux substitutions sont à l'origine du changement de préférence, ici Gly136 pour les virus faiblement pathogènes contre Asn136 pour les hautement pathogènes.

Chez un virus H7N7 isolé chez un patient humain décédé, la mutation de l'acide aminé 132 de la thréonine vers l'asparagine aurait introduit un potentiel site de glycosylation qui aurait contribué à son caractère pathogénique, en même temps qu'elle augmente l'affinité du virus pour le récepteur linéaire α 2,3Gal β 1,4. La fucosylation interfère également avec l'action de la neuraminidase, qui hydrolyse plus lentement les récepteurs fucosylés que les non-fucosylés. C'est le cas pour N1, N2, N3, N5, N6, N7, N8, N9. Néanmoins, dans cette étude, deux souches de virus faiblement pathogènes ont montré une forte affinité pour les récepteurs privilégiés normalement par les souches hautement pathogènes. Cela suggère que ces deux souches de virus faiblement pathogènes pourraient être des souches précurseur de futures souches hautement pathogènes. D'autre part, ce changement de récepteur préférentiel pourrait expliquer la capacité des virus hautement pathogènes à se répliquer dans des tissus où les

virus faiblement pathogène ne se répliquent habituellement pas, notamment dans les cellules endothéliales (Heider et al. 2015).

Un autre caractère de virulence relevé par plusieurs auteurs (notamment par Matrosovich et al 1998) est l'ajout de nombreux acides aminés basiques au niveau du site de clivage entre HA1 et HA2. Chez certains virus de sous-type H5 ou H7, de nombreux acides aminés basiques sont ajoutés à ce site de clivage suite à des mutations. La coupure entre HA1 et HA2 se fait alors directement dans la cellule et non après la libération des virus. Cela leur permet de se multiplier dans des tissus normalement peu ou pas infectés, et leur apporte donc un potentiel de diffusion dans l'organisme infecté important. Ces virus hautement virulents diffusent rapidement et entraînent une mortalité élevée chez les volailles d'élevage.

CONCLUSION

L'influenza est une maladie plus que jamais d'actualité, notamment en France où l'épidémie débutée en novembre 2015 n'a pas encore été complètement maîtrisée. Le ministère de l'agriculture a annoncé cet été que deux cas sporadiques de virus influenza hautement pathogène avaient été détectés à Ladornac dans le Périgord, et un en Aveyron (<http://agriculture.gouv.fr/>). Cela porte donc à 81 le nombre de foyers déclaré sur 10 départements du Sud-Ouest. Ceci montre que la pression d'infection est forte et que des cas isolés peuvent de nouveau surgir malgré la mise en place d'un plan de surveillance renforcée de l'ensemble du territoire national.

Notre étude a permis de mettre en avant des espèces suspectées de jouer le rôle d'hôte intermédiaire, notamment la dinde, la caille, le poulet et le faisan. De plus, elle a souligné le potentiel que pourraient avoir le furet, les oiseaux terrestres, le chien comme hôtes intermédiaires. Elle nous a permis de voir que les sous-types pouvant engendrer une prochaine pandémie pourraient être H1, H5, H7 ou encore H9, qui sont donc des sous-types à surveiller attentivement.

Enfin, cela nous a permis de reconstruire un diagramme résumant toutes les transmissions déjà connues entre espèces, tout en rajoutant celles qui pourraient potentiellement avoir lieu.

Connaître les espèces et sous-types à surveiller est primordial. En combinant ces données avec les études qui s'intéressent aux mutations favorisant la transmission des virus aviaires vers l'homme et entre hommes, il sera possible de rapidement prédire quel virus émergent pourrait devenir pandémique et ainsi éviter de nombreuses contaminations.

Néanmoins, comme nous avons vu dans la dernière partie, l'affinité des virus pour leurs récepteurs et la répartition de ces derniers ne sont pas les seuls critères permettant ou non l'infection.

Il serait intéressant de conduire une méta-analyse analogue des données déjà connues sur les mutations du site récepteur de l'hémagglutinine qui permettent un changement d'affinité des virus pour les récepteurs. Il serait également enrichissant de se pencher de plus près sur tous les autres facteurs qui permettent l'infection d'une espèce par une autre. Un échange fréquent

des informations et des données récemment acquises permettront de mieux combattre l'influenza, une maladie aussi importante pour la santé de l'homme que pour celle de l'animal.

AGREMENT SCIENTIFIQUE

En vue de l'obtention du permis d'imprimer de la thèse de doctorat vétérinaire

Je soussigné, Stéphane BERTAGNOLI, Enseignant-chercheur, de l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse, directeur de thèse, certifie avoir examiné la thèse de **SABOURIN Pauline** intitulée « **Affinité des virus influenza A et distribution de leurs récepteurs chez différents hôtes dont l'homme : implication pour les sauts d'espèces** » et que cette dernière peut être imprimée en vue de sa soutenance.

Fait à Toulouse, le 26 septembre 2016
Professeur Stéphane BERTAGNOLI
Enseignant chercheur
de l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse



Vu :
La Directrice de l'Ecole Nationale
Vétérinaire de Toulouse
Isabelle CHMITTELIN



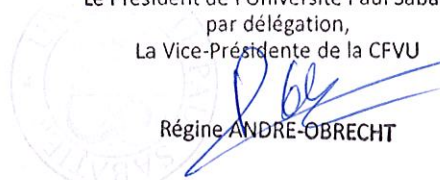
Vu :
Le Président du jury :
Professeur Christophe PASQUIER



Vu et autorisation de l'impression :
Président de l'Université
Paul Sabatier

Monsieur Jean-Pierre VINEL
Le Président de l'Université Paul Sabatier
par délégation,
La Vice-Présidente de la CFVU

Régine ANDRE-OBRECHT



Mlle SABOURIN Pauline
a été admis(e) sur concours en : 2011
a obtenu son diplôme d'études fondamentales vétérinaires le : 25/06/2015
a validé son année d'approfondissement le : 13/07/2016
n'a plus aucun stage, ni enseignement optionnel à valider.

BIBLIOGRAPHIE

ANTHONY, S. J., LEGER, J. A. St, PUGLIARES, K., IP, H. S., CHAN, J. M., CARPENTER, Z. W., NAVARRETE-MACIAS, I., SANCHEZ-LEON, M., SALIKI, J. T., PEDERSEN, J., KARESH, W., DASZAK, P., RABADAN, R., ROWLES, T. et LIPKIN, W. I., 2012. Emergence of Fatal Avian Influenza in New England Harbor Seals. *mBio*. 31 août 2012. Vol. 3, n° 4, pp. e00166-12.

AUEWARAKUL, Prasert, SUPTAWIWAT, Ormpreya, KONGCHANAGUL, Alita, SANGMA, Chak, SUZUKI, Yasuo, UNGCHUSAK, Kumnuan, LOUISIROTCHANAKUL, Suda, LERDSAMRAN, Hatairat, POORUK, Phisanu, THITITHANYANONT, Arunee, PITTAYAWONGANON, Chakrarat, GUO, Chao-Tan, HIRAMATSU, Hiroaki, JAMPANGERN, Wipawee, CHUNSUTTHIWAT, Supamit et PUTHAVATHANA, Pilaipan, 2007. An Avian Influenza H5N1 Virus That Binds to a Human-Type Receptor. *Journal of Virology*. 15 septembre 2007. Vol. 81, n° 18, pp. 9950-9955.

AYORA-TALAVERA, Guadalupe, SHELTON, Holly, SCULL, Margaret A., REN, Junyuan, JONES, Ian M., PICKLES, Raymond J. et BARCLAY, Wendy S., 2009. Mutations in H5N1 Influenza Virus Hemagglutinin that Confer Binding to Human Tracheal Airway Epithelium. *PLoS ONE*. 18 novembre 2009. Vol. 4, n° 11, pp. e7836.

BAIGENT, Susan J. et MCCAULEY, John W., 2003. Influenza type A in humans, mammals and birds: Determinants of virus virulence, host-range and interspecies transmission. *BioEssays*. juillet 2003. Vol. 25, n° 7, pp. 657-671. DOI 10.1002/bies.10303.

BARKHORDARI, Abolfazl, STODDART, Robert W., MCCLURE, Sheena F. et MCCLURE, John, [sans date]. Lectin Histochemistry of Normal Human Lung. *Journal of Molecular Histology*. Vol. 35, n° 2, pp. 147-156.

BELSER, Jessica A., BLIXT, Ola, CHEN, Li-Mei, PAPPAS, Claudia, MAINES, Taronna R., HOEVEN, Neal Van, DONIS, Ruben, BUSCH, Julia, MCBRIDE, Ryan, PAULSON, James C., KATZ, Jacqueline M. et TUMPEY, Terrence M., 2008. Contemporary North American influenza H7 viruses possess human receptor specificity: Implications for virus transmissibility. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 27 mai 2008. Vol. 105, n° 21, pp. 7558-7563.

BLANCO, Jorge C. G., PLETNEVA, Liubov M., WAN, Hongquan, ARAYA, Yonas, ANGEL, Matthew, OUE, Raymonde O., SUTTON, Troy C. et PEREZ, Daniel R., 2013. Receptor characterization and susceptibility of cotton rats to avian and 2009 pandemic influenza virus strains. *Journal of Virology*. février 2013. Vol. 87, n° 4, pp. 2036-2045.

BOLTZ, David A., DOUANGNGEUN, Bounlom, PHOMMACHANH, Phouvong, SINTHASAK, Settha, MONDRY, Ricarda, OBERT, Caroline, SEILER, Patrick, KEATING, Rachael, SUZUKI, Yasuo, HIRAMATSU, Hiroaki, GOVORKOVA, Elena A. et WEBSTER, Robert G., 2010. Emergence of H5N1 avian influenza viruses with reduced sensitivity to neuraminidase inhibitors and novel reassortants in Lao People's Democratic Republic. *The Journal of General Virology*. avril 2010. Vol. 91, n° Pt 4, pp. 949-959. DOI 10.1099/vir.0.017459-0.

BOURRET, Genetic adaptation of an avian influenza A virus to swine cells, Thèse soumise pour le degré de Docteur en Philosophie, sous la direction du Dr. Laurence S. TILEY, Cambridge, University of Cambridge?Department of Veterinary Medicine, 2012, 155 p.

CAPUA, Ilaria et ALEXANDER, Dennis J., 2006. The challenge of avian influenza to the veterinary community. *Avian Pathology: Journal of the W.V.P.A.* juin 2006. Vol. 35, n° 3, pp. 189-205. DOI 10.1080/03079450600717174.

CHANDRASEKARAN, Aarthi, SRINIVASAN, Aravind, RAMAN, Rahul, VISWANATHAN, Karthik, RAGURAM, S, TUMPEY, Terrence M, SASISEKHARAN, V et SASISEKHARAN, Ram, 2008. Glycan topology determines human adaptation of avian H5N1 virus hemagglutinin. *Nature Biotechnology.* janvier 2008. Vol. 26, n° 1, pp. 107-113. DOI 10.1038/nbt1375. 18176555

CHOI, Young K., LEE, Jee H., ERICKSON, Gene, GOYAL, Sagar M., JOO, Han S., WEBSTER, Robert G. et WEBBY, Richard J., 2004. H3N2 Influenza Virus Transmission from Swine to Turkeys, United States. *Emerging Infectious Diseases.* décembre 2004. Vol. 10, n° 12, pp. 2156-2160. DOI 10.3201/eid1012.040581.

CONNOR, Robert J., KAWAOKA, Yoshihiro, WEBSTER, Robert G. et PAULSON, James C., 1994. Receptor Specificity in Human, Avian, and Equine H2 and H3 Influenza Virus Isolates. *Virology.* 15 novembre 1994. Vol. 205, n° 1, pp. 17-23. DOI 10.1006/viro.1994.1615.

COSTA, Taiana, CHAVES, Aida J, VALLE, Rosa, DARJI, Ayub, VAN RIEL, Debby, KUIKEN, Thijs, MAJÓ, Natália et RAMIS, Antonio, 2012. Distribution patterns of influenza virus receptors and viral attachment patterns in the respiratory and intestinal tracts of seven avian species. *Veterinary Research.* 2012. Vol. 43, n° 1, pp. 28. PMID: 22489675PMCID: PMC3368784

COUCEIRO, J. N., PAULSON, J. C. et BAUM, L. G., 1993. Influenza virus strains selectively recognize sialyloligosaccharides on human respiratory epithelium; the role of the host cell in selection of hemagglutinin receptor specificity. *Virus Research.* août 1993. Vol. 29, n° 2, pp. 155-165. T

CRUSAT, Martin, LIU, Junfeng, PALMA, Angelina S., CHILDS, Robert A., LIU, Yan, WHARTON, Stephen A., LIN, Yi Pu, COOMBS, Peter J., MARTIN, Stephen R., MATROSOVICH, Mikhail, CHEN, Zi, STEVENS, David J., HIEN, Vo Minh, THANH, Tran Tan, NHU, Le Nguyen Truc, NGUYET, Lam Anh, HA, Do Quang, VAN DOORN, H. Rogier, HIEN, Tran Tinh, CONRADT, Harald S., KISO, Makoto, GAMBLIN, Steve J., CHAI, Wengang, SKEHEL, John J., HAY, Alan J., FARRAR, Jeremy, DE JONG, Menno D. et FEIZI, Ten, 2013. Changes in the hemagglutinin of H5N1 viruses during human infection--influence on receptor binding. *Virology.* décembre 2013. Vol. 447, n° 1-2, pp. 326-337. PMID: 24050651PMCID: PMC3820038

DALY, Janet M., BLUNDEN, Anthony S., MACRAE, Shona, MILLER, Jodi, BOWMAN, Samantha J., KOLODZIEJEK, Jolanta, NOWOTNY, Norbert et SMITH, Ken C., 2008. Transmission of Equine Influenza Virus to English Foxhounds. *Emerging Infectious Diseases.* mars 2008. Vol. 14, n° 3, pp. 461-464. DOI 10.3201/eid1403.070643.

DE GRAAF, Miranda et FOUCHIER, Ron A M, 2014. Role of receptor binding specificity in influenza A virus transmission and pathogenesis. *The EMBO Journal* [en ligne]. 16 avril 2014. [Consulté le 9 décembre 2015]. Disponible à l'adresse : <http://search.ebscohost.com/login.aspx?direct=true&db=mnh&AN=24668228&lang=fr&site=ehost-live24668228>

DRAKE, J W, 1993. Rates of spontaneous mutation among RNA viruses. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 1 mai 1993. Vol. 90, n° 9, pp. 4171-4175.

FEI, Yiyang, SUN, Yung-Shin, LI, Yanhong, YU, Hai, LAU, Kam, LANDRY, James P., LUO, Zeng, BAUMGARTH, Nicole, CHEN, Xi et ZHU, Xiangdong, 2015. Characterization of Receptor Binding Profiles of Influenza A Viruses Using An Ellipsometry-Based Label-Free Glycan Microarray Assay Platform. *Biomolecules*. 2015. Vol. 5, n° 3, pp. 1480-1498. PMID: 26193329PMCID: PMC4598760

FORREST, Heather L. et WEBSTER, Robert G., 2010. Perspectives on influenza evolution and the role of research. *Animal Health Research Reviews / Conference of Research Workers in Animal Diseases*. juin 2010. Vol. 11, n° 1, pp. 3-18. DOI 10.1017/S1466252310000071.

FOUCHIER, Ron A. M., SCHNEEBERGER, Peter M., ROZENDAAL, Frans W., BROEKMAN, Jan M., KEMINK, Stiena A. G., MUNSTER, Vincent, KUIKEN, Thijs, RIMMELZWAAN, Guus F., SCHUTTEN, Martin, DOORNUM, Gerard J. J. van, KOCH, Guus, BOSMAN, Arnold, KOOPMANS, Marion et OSTERHAUS, Albert D. M. E., 2004. Avian influenza A virus (H7N7) associated with human conjunctivitis and a fatal case of acute respiratory distress syndrome. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 3 février 2004. Vol. 101, n° 5, pp. 1356-1361. DOI 10.1073/pnas.0308352100.

FRANÇA, M., STALLKNECHT, D. E. et HOWERTH, E. W., 2013. Expression and distribution of sialic acid influenza virus receptors in wild birds. *Avian Pathology*. 1 février 2013. Vol. 42, n° 1, pp. 60-71. PMID: 23391183

GAGNEUX, Pascal, CHERIYAN, Monica, HURTADO-ZIOLA, Nancy, LINDEN, Els C. M. Brinkman van der, ANDERSON, Dan, MCCLURE, Harold, VARKI, Ajit et VARKI, Nissi M., 2003. Human-specific Regulation of α 2-6-linked Sialic Acids. *Journal of Biological Chemistry*. 28 novembre 2003. Vol. 278, n° 48, pp. 48245-48250. PMID: 14500706

GAMBARYAN, A. S., BORAVLEVA, E. Y., MATROSOVICH, T. Y., MATROSOVICH, M. N., KLENK, H.-D., MOISEEVA, E. V., TUZIKOV, A. B., CHINAREV, A. A., PAZYNINA, G. V. et BOVIN, N. V., 2005. Polymer-bound 6' sialyl-N-acetylglucosamine protects mice infected by influenza virus. *Antiviral Research*. décembre 2005. Vol. 68, n° 3, pp. 116-123. DOI 10.1016/j.antiviral.2005.07.008.

GAMBARYAN, A. S, TUZIKOV, A. B, PAZYNINA, G. V, WEBSTER, R. G, MATROSOVICH, M. N et BOVIN, N. V, 2004. H5N1 chicken influenza viruses display a high binding affinity for Neu5Aca2-3Gal β 1-4(6-HSO₃)GlcNAc-containing receptors. *Virology*. 1 septembre 2004. Vol. 326, n° 2, pp. 310-316.

GAMBARYAN, A. S., TUZIKOV, A. B., PISKAREV, V. E., YAMNIKOVA, S. S., LVOV, D. K., ROBERTSON, J. S., BOVIN, N. V. et MATROSOVICH, M. N., 1997. Specification of Receptor-Binding Phenotypes of Influenza Virus Isolates from Different Hosts Using Synthetic Sialylglycopolymers: Non-Egg-Adapted Human H1 and H3 Influenza A and Influenza B Viruses Share a Common High Binding Affinity for 6'-Sialyl(N-acetyl)lactosamine). *Virology*. 9 juin 1997. Vol. 232, n° 2, pp. 345-350.

GAMBARYAN, A, WEBSTER, R et MATROSOVICH, M, 2002. Differences between influenza virus receptors on target cells of duck and chicken. *Archives Of Virology*. juin 2002. Vol. 147, n° 6, pp. 1197-1208. 12111429

GAMBARYAN, Alexandra S., MATROSOVICH, Tatyana Y., PHILIPP, Jennifer, MUNSTER, Vincent J., FOUCHIER, Ron A. M., CATTOLI, Giovanni, CAPUA, Ilaria, KRAUSS, Scott L., WEBSTER, Robert G., BANKS, Jill, BOVIN, Nicolai V., KLENK, Hans-Dieter et MATROSOVICH, Mikhail N., 2012. Receptor-Binding Profiles of H7 Subtype Influenza Viruses in Different Host Species. *Journal of Virology*. avril 2012. Vol. 86, n° 8, pp. 4370-4379. PMID: 22345462PMCID: PMC3318648

GAMBARYAN, Alexandra, TUZIKOV, Alexander, PAZYNINA, Galina, BOVIN, Nicolai, BALISH, Amanda et KLIMOV, Alexander, 2006. Evolution of the receptor binding phenotype of influenza A (H5) viruses. *Virology*. 20 janvier 2006. Vol. 344, n° 2, pp. 432-438. DOI 10.1016/j.virol.2005.08.035.

GAMBARYAN, Alexandra, YAMNIKOVA, Svetlana, LVOV, Dmitryi, TUZIKOV, Alexander, CHINAREV, Alexander, PAZYNINA, Galina, WEBSTER, Robert, MATROSOVICH, Mikhail et BOVIN, Nicolai, 2005. Receptor specificity of influenza viruses from birds and mammals: new data on involvement of the inner fragments of the carbohydrate chain. *Virology*. 10 avril 2005. Vol. 334, n° 2, pp. 276-283.

GAMBOTTO, Andrea, BARRATT-BOYES, Simon M., DE JONG, Menno D., NEUMANN, Gabriele et KAWAOKA, Yoshihiro, 2008. Human infection with highly pathogenic H5N1 influenza virus. *Lancet (London, England)*. 26 avril 2008. Vol. 371, n° 9622, pp. 1464-1475. DOI 10.1016/S0140-6736(08)60627-3.

GOPINATH, S. C. B., AWAZU, K., FUJIMAKI, M. et SHIMIZU, K., 2013. Neu5Ac α 2,6Gal and Neu5Ac α 2,3Gal receptor specificities on influenza viruses determined by a waveguide-mode sensor. *Acta Biomaterialia*. février 2013. Vol. 9, n° 2, pp. 5080-5087.

GUAN, Y., POON, L. L. M., CHEUNG, C. Y., ELLIS, T. M., LIM, W., LIPATOV, A. S., CHAN, K. H., STURM-RAMIREZ, K. M., CHEUNG, C. L., LEUNG, Y. H. C., YUEN, K. Y., WEBSTER, R. G. et PEIRIS, J. S. M., 2004. H5N1 Influenza: A Protean Pandemic Threat. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 2004. Vol. 101, n° 21, pp. 8156-8161.

GUAN, Yi, VIJAYKRISHNA, Dhanasekaran, BAHL, Justin, ZHU, Huachen, WANG, Jia et SMITH, Gavin J. D., 2010. The emergence of pandemic influenza viruses. *Protein & Cell*. janvier 2010. Vol. 1, n° 1, pp. 9-13. DOI 10.1007/s13238-010-0008-z.

GUO, Chao-Tan, TAKAHASHI, Noriko, YAGI, Hirokazu, KATO, Koichi, TAKAHASHI, Tadanobu, YI, Shuang-Qin, CHEN, Yong, ITO, Toshihiro, OTSUKI, Koichi, KIDA, Hiroshi,

KAWAOKA, Yoshihiro, HIDARI, Kazuya I.-P. Jwa, MIYAMOTO, Daisei, SUZUKI, Takashi et SUZUKI, Yasuo, 2007. The quail and chicken intestine have sialyl-galactose sugar chains responsible for the binding of influenza A viruses to human type receptors. *Glycobiology*. juillet 2007. Vol. 17, n° 7, pp. 713-724. PMID: 17389652

HALE, Benjamin G., RANDALL, Richard E., ORTÍN, Juan et JACKSON, David, 2008. The multifunctional NS1 protein of influenza A viruses. *The Journal of General Virology*. octobre 2008. Vol. 89, n° Pt 10, pp. 2359-2376. DOI 10.1099/vir.0.2008/004606-0.

HALL, Jeffrey S., BENTLER, Kevin T., LANDOLT, Gabrielle, ELMORE, Stacey A., MINNIS, Richard B., CAMPBELL, Tyler A., BARRAS, Scott C., ROOT, J. Jeffrey, PILON, John, PABILONIA, Kristy, DRISCOLL, Cindy, SLATE, Dennis, SULLIVAN, Heather et MCLEAN, Robert G., 2008. Influenza Infection in Wild Raccoons. *Emerging Infectious Diseases*. décembre 2008. Vol. 14, n° 12, pp. 1842-1848. PMID: 19046505PMCID: PMC2634612

HARDER, Timm C. et VAHLENKAMP, Thomas W., 2010. Influenza virus infections in dogs and cats. *Veterinary Immunology and Immunopathology*. 15 mars 2010. Vol. 134, n° 1-2, pp. 54-60. DOI 10.1016/j.vetimm.2009.10.009.

HEIDER, Alla, MOCHALOVA, Larisa, HARDER, Timm, TUZIKOV, Alexander, BOVIN, Nicolai, WOLFF, Thorsten, MATROSOVICH, Mikhail et SCHWEIGER, Brunhilde, 2015. Alterations in hemagglutinin receptor-binding specificity accompany the emergence of highly pathogenic avian influenza viruses. *Journal of Virology*. 4 mars 2015. pp. JVI.03304-14.

HIDARI, Kazuya I. P. J., MURATA, Takeomi, YOSHIDA, Kazuhiro, TAKAHASHI, Yoshiharu, MINAMIJIMA, Yo-hei, MIWA, Yoshinobu, ADACHI, Satoshi, OGATA, Makoto, USUI, Taiichi, SUZUKI, Yasuo et SUZUKI, Takashi, 2008. Chemoenzymatic synthesis, characterization, and application of glycopolymers carrying lactosamine repeats as entry inhibitors against influenza virus infection. *Glycobiology*. 1 octobre 2008. Vol. 18, n° 10, pp. 779-788. DOI 10.1093/glycob/cwn067.

HIONO, Takahiro, OKAMATSU, Masatoshi, NISHIHARA, Shoko, TAKASE-YODEN, Sayaka, SAKODA, Yoshihiro et KIDA, Hiroshi, 2014. A chicken influenza virus recognizes fucosylated α 2,3 sialoglycan receptors on the epithelial cells lining upper respiratory tracts of chickens. *Virology*. mai 2014. Vol. 456-457, pp. 131-138.

HUANG, Richard T.C., LICHTENBERG, Beate et RICK, Oliver, 1996. Involvement of annexin V in the entry of influenza viruses and role of phospholipids in infection. *FEBS Letters*. 19 août 1996. Vol. 392, n° 1, pp. 59-62. DOI 10.1016/0014-5793(96)00783-1.

IBRICEVIC, Aida, PEKOSZ, Andrew, WALTER, Michael J., NEWBY, Celeste, BATTAILE, John T., BROWN, Earl G., HOLTZMAN, Michael J. et BRODY, Steven L., 2006. Influenza Virus Receptor Specificity and Cell Tropism in Mouse and Human Airway Epithelial Cells. *Journal of Virology*. 1 août 2006. Vol. 80, n° 15, pp. 7469-7480. PMID: 16840327

ITO, T., SUZUKI, Y., SUZUKI, T., TAKADA, A., HORIMOTO, T., WELLS, K., KIDA, H., OTSUKI, K., KISO, M., ISHIDA, H. et KAWAOKA, Y., 2000. Recognition of N-glycolylneuraminic acid linked to galactose by the α 2,3 linkage is associated with

intestinal replication of influenza A virus in ducks. *Journal of Virology*. octobre 2000. Vol. 74, n° 19, pp. 9300-9305. PMID: 10982377PMCID: PMC102129

ITO, Toshihiro, COUCEIRO, J. Nelson S. S., KELM, Sørge, BAUM, Linda G., KRAUSS, Scott, CASTRUCCI, Maria R., DONATELLI, Isabella, KIDA, Hiroshi, PAULSON, James C., WEBSTER, Robert G. et KAWAOKA, Yoshihiro, 1998. Molecular Basis for the Generation in Pigs of Influenza A Viruses with Pandemic Potential. *Journal of Virology*. 1 septembre 1998. Vol. 72, n° 9, pp. 7367-7373. PMID: 9696833

ITO, Toshihiro, KAWAOKA, Yoshihiro, NOMURA, Akiyo et OTSUKI, Koichi, 1999. Receptor Specificity of Influenza A Viruses from Sea Mammals Correlates with Lung Sialyloligosaccharides in These Animals. *Journal of Veterinary Medical Science*. 1999. Vol. 61, n° 8, pp. 955-958. DOI 10.1292/jvms.61.955.

JAYARAMAN, Akila, CHANDRASEKARAN, Aarthi, VISWANATHAN, Karthik, RAMAN, Rahul, FOX, James G. et SASISEKHARAN, Ram, 2012. Decoding the Distribution of Glycan Receptors for Human-Adapted Influenza A Viruses in Ferret Respiratory Tract. *PLoS ONE* [en ligne]. 16 février 2012. Vol. 7, n° 2. [Consulté le 4 janvier 2016]. DOI 10.1371/journal.pone.0027517. Disponible à l'adresse :

JIA, Nan, BARCLAY, Wendy S., ROBERTS, Kim, YEN, Hui-Ling, CHAN, Renee W. Y., LAM, Alfred K. Y., AIR, Gillian, PEIRIS, J. S. Malik, DELL, Anne, NICHOLLS, John M. et HASLAM, Stuart M., 2014. Glycomic Characterization of Respiratory Tract Tissues of Ferrets IMPLICATIONS FOR ITS USE IN INFLUENZA VIRUS INFECTION STUDIES. *Journal of Biological Chemistry* [en ligne]. 10 octobre 2014. [Consulté le 8 décembre 2015]. Disponible à l'adresse : <http://www.jbc.org/content/289/41/28489>

JOHNSON, Niall P. A. S. et MUELLER, Juergen, 2002. Updating the Accounts: Global Mortality of the 1918-1920 « Spanish » Influenza Pandemic. *Bulletin of the History of Medicine*. 2002. Vol. 76, n° 1, pp. 105-115. DOI 10.1353/bhm.2002.0022.

KEAWCHAROEN, Juthatip, ORAVEERAKUL, Kanisak, KUIKEN, Thijs, FOUCHIER, Ron A.M., AMONSIN, Alongkorn, PAYUNGORN, Sunchai, NOPPORNANTH, Suwanna, WATTANODORN, Sumitra, THEAMBOONLERS, Apiradee, TANTILERTCHAROEN, Rachod, PATTANARANGSAN, Rattapan, ARYA, Nlin, RATANAKORN, Parntep, OSTERHAUS, Albert D.M.E. et POOVORAWAN, Yong, 2004. Avian Influenza H5N1 in Tigers and Leopards. *Emerging Infectious Diseases*. décembre 2004. Vol. 10, n° 12, pp. 2189-2191. DOI 10.3201/eid1012.040759.

KIM, Minsoo, YU, Ji Eun, LEE, Jong-Hwan, CHANG, Byung-Joon, SONG, Chang-Seon, LEE, Beobyi, PAIK, Doo Jin et NAHM, Sang-Soep, 2013. Comparative analyses of influenza virus receptor distribution in the human and mouse brains. *Journal of Chemical Neuroanatomy*. septembre 2013. Vol. 52, pp. 49-57.

KIM J.A, Ryu S.Y ans Seo S.H, 2005. Cells in the respiratory and intestinal tracts of chickens have different proportions of both human and avian influenza virus receptors, *The Journal of Microbiology*, August 2005, p.366-369 Vol. 43, No. 4

KIMBLE, Brian, NIETO, Gloria Ramirez et PEREZ, Daniel R., 2010. Characterization of influenza virus sialic acid receptors in minor poultry species. *Virology Journal*. 2010. Vol. 7, pp. 365.

KUCHIPUDI, Suresh V, NELLI, Rahul, WHITE, Gavin A, BAIN, Maureen, CHANG, Kin Chow et DUNHAM, Stephen, 2009. Differences in influenza virus receptors in chickens and ducks: Implications for interspecies transmission. *Journal of molecular and genetic medicine : an international journal of biomedical research*. 16 janvier 2009. Vol. 3, n° 1, pp. 143-151. PMID: 19565022PMCID: PMC2702077

KUIKEN, Thijs, RIMMELZWAAN, Guus, RIEL, Debby van, AMERONGEN, Geert van, BAARS, Marianne, FOUCHIER, Ron et OSTERHAUS, Albert, 2004. Avian H5N1 Influenza in Cats. *Science*. 8 octobre 2004. Vol. 306, n° 5694, pp. 241-241. DOI 10.1126/science.1102287.

KUMARI, Kshama, GULATI, Shelly, SMITH, David F., GULATI, Upma, CUMMINGS, Richard D. et AIR, Gillian M., 2007. Receptor binding specificity of recent human H3N2 influenza viruses. *Virology Journal*. 2007. Vol. 4, pp. 42. DOI 10.1186/1743-422X-4-42.

KUMLIN, Urban, OLOFSSON, Sigvard, DIMOCK, Ken et ARNBERG, Niklas, 2008. Sialic acid tissue distribution and influenza virus tropism. *Influenza and Other Respiratory Viruses*. 1 septembre 2008. Vol. 2, n° 5, pp. 147-154. DOI 10.1111/j.1750-2659.2008.00051.x.

LANDOLT, Gabriele A. et OLSEN, Christopher W., 2007. Up to new tricks - a review of cross-species transmission of influenza A viruses. *Animal Health Research Reviews / Conference of Research Workers in Animal Diseases*. juin 2007. Vol. 8, n° 1, pp. 1-21. DOI 10.1017/S1466252307001272.

LI, K. S., GUAN, Y., WANG, J., SMITH, G. J. D., XU, K. M., DUAN, L., RAHARDJO, A. P., PUTHAVATHANA, P., BURANATHAI, C., NGUYEN, T. D., ESTOEPANGESTIE, A. T. S., CHAISINGH, A., AUEWARAKUL, P., LONG, H. T., HANH, N. T. H., WEBBY, R. J., POON, L. L. M., CHEN, H., SHORTRIDGE, K. F., YUEN, K. Y., WEBSTER, R. G. et PEIRIS, J. S. M., 2004. Genesis of a highly pathogenic and potentially pandemic H5N1 influenza virus in eastern Asia. *Nature*. 8 juillet 2004. Vol. 430, n° 6996, pp. 209-213. DOI 10.1038/nature02746.

LI, Qunhui, WANG, Xuan, GAO, Zhao, SUN, Zhongtao, CUI, Zhu, DUAN, Zhiqiang, LI, Juan, GU, Min, WANG, Xiaoquan, HU, Jiao, LIU, Xiaowen et LIU, Xiufan, 2015. Novel reassortant H5N5 viruses bind to a human-type receptor as a factor in pandemic risk. *Veterinary Microbiology* [en ligne]. 25 février 2015. [Consulté le 9 décembre 2015]. Disponible à l'adresse : <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0378113514005550>

LI, Qunhui, WANG, Xuan, GU, Min, ZHU, Jie, HAO, Xiaoli, GAO, Zhao, SUN, Zhongtao, HU, Jiao, HU, Shunlin, WANG, Xiaoquan, LIU, Xiaowen et LIU, Xiufan, 2014. Novel H5 clade 2.3.4.6 viruses with both α -2,3 and α -2,6 receptor binding properties may pose a pandemic threat. *Veterinary Research*. 17 décembre 2014. Vol. 45, n° 1, pp. 127. PMID: 25516306

LIU, Yuehuan, HAN, Chunhua, WANG, Xiuqing, LIN, Jian, MA, Ming, SHU, Yuelong, ZHOU, Jiao, YANG, Hanchun, LIANG, Qian, GUO, Chaotan, ZHU, Junjie, WEI, Haitao, ZHAO, Jingyi, MA, Zhijun et PAN, Jie, 2009. Influenza A virus receptors in the respiratory and intestinal tracts of pigeons. *Avian Pathology: Journal of the W.V.P.A.* août 2009. Vol. 38, n° 4, pp. 263-266. PMID: 19937510

LU, Xishan, QI, Jianxun, SHI, Yi, WANG, Ming, SMITH, David F., HEIMBURG-MOLINARO, Jamie, ZHANG, Yanfang, PAULSON, James C., XIAO, Haixia et GAO, George F., 2013. Structure and Receptor Binding Specificity of Hemagglutinin H13 from Avian Influenza A Virus H13N6. *Journal of Virology.* août 2013. Vol. 87, n° 16, pp. 9077-9085. DOI 10.1128/JVI.00235-13.

MAIR, Caroline M., LUDWIG, Kai, HERRMANN, Andreas et SIEBEN, Christian, 2014. Receptor binding and pH stability — How influenza A virus hemagglutinin affects host-specific virus infection. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Biomembranes.* avril 2014. Vol. 1838, n° 4, pp. 1153-1168.

MATROSOVICH, M., GAO, P. et KAWAOKA, Y., 1998. Molecular mechanisms of serum resistance of human influenza H3N2 virus and their involvement in virus adaptation in a new host. *Journal of Virology.* août 1998. Vol. 72, n° 8, pp. 6373-6380. PMID: 9658077PMCID: PMC109785

MATROSOVICH, M. N., GAMBARYAN, A. S., TENEBERG, S., PISKAREV, V. E., YAMNIKOVA, S. S., LVOV, D. K., ROBERTSON, J. S. et KARLSSON, K. -A., 1997. Avian Influenza A Viruses Differ from Human Viruses by Recognition of Sialyloligosaccharides and Gangliosides and by a Higher Conservation of the HA Receptor-Binding Site. *Virology.* 23 juin 1997. Vol. 233, n° 1, pp. 224-234.

MATROSOVICH, M., TUZIKOV, A., BOVIN, N., GAMBARYAN, A., KLIMOV, A., CASTRUCCI, M. R., DONATELLI, I. et KAWAOKA, Y., 2000. Early alterations of the receptor-binding properties of H1, H2, and H3 avian influenza virus hemagglutinins after their introduction into mammals. *Journal of Virology.* septembre 2000. Vol. 74, n° 18, pp. 8502-8512. PMID: 10954551PMCID: PMC116362

MATROSOVICH, M., ZHOU, N., KAWAOKA, Y. et WEBSTER, R., 1999. The surface glycoproteins of H5 influenza viruses isolated from humans, chickens, and wild aquatic birds have distinguishable properties. *Journal of Virology.* février 1999. Vol. 73, n° 2, pp. 1146-1155. PMID: 9882316PMCID: PMC103935

MATROSOVICH, Mikhail N., KRAUSS, Scott et WEBSTER, Robert G., 2001. H9N2 Influenza A Viruses from Poultry in Asia Have Human Virus-like Receptor Specificity. *Virology* [en ligne]. 15 mars 2001. Disponible à l'adresse : <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0042682200907992>

MATROSOVICH, Mikhail N., MATROSOVICH, Tatyana Y., GRAY, Thomas, ROBERTS, Noel A. et KLENK, Hans-Dieter, 2004. Human and avian influenza viruses target different cell types in cultures of human airway epithelium. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America.* 30 mars 2004. Vol. 101, n° 13, pp. 4620-4624. DOI 10.1073/pnas.0308001101.

MCCAULEY, J.W., S. HONGO, N.V. KAVERIN, G. KOCHS, R.A. LAMB, M.N. MATROSOVICH, D.R. PEREZ, ET AL. 2012. Family Orthomyxoviridae. In A. M. Q. King, M. J. Adams, E. B. Carstens, and E. J. Lefkowitz [eds.], *Virus Taxonomy*. Ninth Report of the International Committee on Taxonomy of Viruses, 749–761. Academic Press, Elsevier, London, U.K., Waltham, U.S.A., and San Diego, U.S.A.

MEHLE, Andrew, 2014. Unusual Influenza A Viruses in Bats. *Viruses*. 17 septembre 2014. Vol. 6, n° 9, pp. 3438-3449. DOI 10.3390/v6093438.

MENG, Bo, MARRIOTT, Anthony C. et DIMMOCK, Nigel J., 2010. The receptor preference of influenza viruses. *Influenza and Other Respiratory Viruses*. 1 mai 2010. Vol. 4, n° 3, pp. 147-153.

MURANAKA, Masanori, YAMANAKA, Takashi, KATAYAMA, Yoshinari, HIDARI, Kazuya, KANAZAWA, Hiroaki, SUZUKI, Takashi, OKU, Kazuomi et OYAMADA, Toshifumi, 2011. Distribution of influenza virus sialoreceptors on upper and lower respiratory tract in horses and dogs. *The Journal of Veterinary Medical Science / the Japanese Society of Veterinary Science*. janvier 2011. Vol. 73, n° 1, pp. 125-127. PMID: 20805638

NAUGHTIN, M., DYASON, J. C., MARDY, S., SORN, S., VON ITZSTEIN, M. et BUCHY, P., 2011. Neuraminidase Inhibitor Sensitivity and Receptor-Binding Specificity of Cambodian Clade 1 Highly Pathogenic H5N1 Influenza Virus^v. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*. mai 2011. Vol. 55, n° 5, pp. 2004-2010. DOI 10.1128/AAC.01773-10.

NELLI, Rahul K., KUCHIPUDI, Suresh V., WHITE, Gavin A., PEREZ, Belinda Baquero, DUNHAM, Stephen P. et CHANG, Kin-Chow, 2010. Comparative distribution of human and avian type sialic acid influenza receptors in the pig. *BMC Veterinary Research*. 2010. Vol. 6, pp. 4. DOI 10.1186/1746-6148-6-4.

NICHOLLS, John M., BOURNE, Anthony J., CHEN, Honglin, GUAN, Yi et PEIRIS, J. S. Malik, 2007. Sialic acid receptor detection in the human respiratory tract: evidence for widespread distribution of potential binding sites for human and avian influenza viruses. *Respiratory Research*. 2007. Vol. 8, pp. 73. PMID: 17961210 PMID: PMC2169242

NICHOLLS, John M., CHAN, Renee W.Y., RUSSELL, Rupert J., AIR, Gillian M. et PEIRIS, J.S. Malik, 2008. Evolving complexities of influenza virus and its receptors. *Trends in Microbiology*. avril 2008. Vol. 16, n° 4, pp. 149-157.

NING, Zhang-Yong, LUO, Min-Yi, QI, Wen-Bao, YU, Bo, JIAO, Pei-Rong et LIAO, Ming, 2009. Detection of expression of influenza virus receptors in tissues of BALB/c mice by histochemistry. *Veterinary Research Communications* [en ligne]. 7 août 2009. [Consulté le 30 novembre 2015]. Disponible à l'adresse : <http://link.springer.com/article/10.1007/s11259-009-9307-3>

NING, Zhang-Yong, WU, Xin-Tao, CHENG, Yan-Fen, QI, Wen-Bao, AN, Yu-Fu, WANG, Heng, ZHANG, Gui-Hong et LI, Shou-Jun, 2012. Tissue distribution of sialic acid-linked influenza virus receptors in beagle dogs. *Journal of Veterinary Science*. 2012. Vol. 13, n° 3, pp. 219.

- PALESE, P., 1977. The genes of influenza virus. *Cell*. janvier 1977. Vol. 10, n° 1, pp. 1-10. PMID: 837439
- PAPPAS, Claudia, YANG, Hua, CARNEY, Paul J., PEARCE, Melissa B., KATZ, Jacqueline M., STEVENS, James et TUMPEY, Terrence M., 2015. Assessment of transmission, pathogenesis and adaptation of H2 subtype influenza viruses in ferrets. *Virology*. mars 2015. Vol. 477, pp. 61-71. PMID: 25659818
- PAULSON JC. 1985. Interactions of animal viruses with cell surface receptors, p 131–219 *In* Conn M, editor. (ed), *The receptors*, vol. 2 Academic Press, Orlando, FL
- PAULSON, James C. et DE VRIES, Robert P., 2013. H5N1 receptor specificity as a factor in pandemic risk. *Virus Research*. 5 décembre 2013. Vol. 178, n° 1, pp. 99-113.
- PAYUNGPORN, Sunchai, CRAWFORD, P. Cynda, KOUO, Theodore S., CHEN, Li-mei, POMPEY, Justine, CASTLEMAN, William L., DUBOVI, Edward J., KATZ, Jacqueline M. et DONIS, Ruben O., 2008. Influenza A Virus (H3N8) in Dogs with Respiratory Disease, Florida. *Emerging Infectious Diseases*. juin 2008. Vol. 14, n° 6, pp. 902-908. DOI 10.3201/eid1406.071270.
- PILLAI, Smitha PS et LEE, Chang W, 2010. Species and age related differences in the type and distribution of influenza virus receptors in different tissues of chickens, ducks and turkeys. *Virology Journal*. 12 janvier 2010. Vol. 7, pp. 5. PMID: 20067630PMCID: PMC2821308
- RAMAN, Rahul, THARAKARAMAN, Kannan, SHRIVER, Zachary, JAYARAMAN, Akila, SASISEKHARAN, V. et SASISEKHARAN, Ram, 2014. Glycan receptor specificity as a useful tool for characterization and surveillance of influenza A virus. *Trends in Microbiology*. novembre 2014. Vol. 22, n° 11, pp. 632-641. PMID: 25108746PMCID: PMC4252848
- RAMOS, Irene, MANSOUR, Mena, WOHLBOLD, Teddy J., ERMLER, Megan E., HIRSH, Ariana, RUNSTADLER, Jonathan A., FERNANDEZ-SESMA, Ana et KRAMMER, Florian, 2015. Hemagglutinin Receptor Binding of a Human Isolate of Influenza A(H10N8) Virus. *Emerging Infectious Diseases*. juillet 2015. Vol. 21, n° 7, pp. 1197-1201. PMID: 26079843PMCID: PMC4480385
- ROGERS, G. N. et D'SOUZA, B. L., 1989. Receptor binding properties of human and animal H1 influenza virus isolates. *Virology*. novembre 1989. Vol. 173, n° 1, pp. 317-322. PMID: 2815586
- ROGERS, G. N. et PAULSON, J. C., 1983. Receptor determinants of human and animal influenza virus isolates: differences in receptor specificity of the H3 hemagglutinin based on species of origin. *Virology*. juin 1983. Vol. 127, n° 2, pp. 361-373. PMID: 6868370
- ROSENBERG, Abraham, HOWE, Calderon et CHARGAFF, Erwin, 1956. Inhibition of Influenza Virus Hæmagglutination by a Brain Lipid Fraction. *Nature*. 4 février 1956. Vol. 177, n° 4501, pp. 234-235. DOI 10.1038/177234a0.
- SASAKI, Tasuku, AKIMOTO, Yoshihiro, SATO, Yuji, KAWAKAMI, Hayato, HIRANO, Hiroshi et ENDO, Tamao, 2002. Distribution of Sialoglycoconjugates in the Rat Cerebellum

and Its Change with Aging. *Journal of Histochemistry & Cytochemistry*. 1 septembre 2002. Vol. 50, n° 9, pp. 1179-1186. PMID: 12185195

SCOCCO, Paola et PEDINI, Vera, 2008. Localization of influenza virus sialoreceptors in equine respiratory tract. . 2008.

SHINYA, Kyoko, EBINA, Masahito, YAMADA, Shinya, ONO, Masao, KASAI, Noriyuki et KAWAOKA, Yoshihiro, 2006. Avian flu: Influenza virus receptors in the human airway. *Nature* [en ligne]. 23 mars 2006. [Consulté le 30 novembre 2015]. Disponible à l'adresse : <http://www.nature.com/nature/journal/v440/n7083/abs/440435a.html>

SHU, Yuelong, LI, Chris Ka-fai, LI, Zi, GAO, Rongbao, LIANG, Qian, ZHANG, Ye, DONG, Libo, ZHOU, Jiangfang, DONG, Jie, WANG, Dayan, WEN, Leying, WANG, Ming, BAI, Tian, LI, Dexin, DONG, Xiaoping, YU, Hongjie, YANG, Weizhong, WANG, Yu, FENG, Zijian, MCMICHAEL, Andrew J. et XU, Xiao-Ning, 2010. Avian Influenza A(H5N1) Viruses Can Directly Infect and Replicate in Human Gut Tissues. *Journal of Infectious Diseases*. 15 avril 2010. Vol. 201, n° 8, pp. 1173-1177. DOI 10.1086/651457.

SKEHEL, J. J. et WILEY, D. C., 2000. Receptor binding and membrane fusion in virus entry: the influenza hemagglutinin. *Annual Review of Biochemistry*. 2000. Vol. 69, pp. 531-569. DOI 10.1146/annurev.biochem.69.1.531.

SONG, Daesub, KANG, Bokyu, LEE, Chulseung, JUNG, Kwonil, HA, Gunwoo, KANG, Dongseok, PARK, Seongjun, PARK, Bongkyun et OH, Jinsik, 2008. Transmission of Avian Influenza Virus (H3N2) to Dogs. *Emerging Infectious Diseases*. mai 2008. Vol. 14, n° 5, pp. 741-746.

SRINIVASAN, Karunya, RAMAN, Rahul, JAYARAMAN, Akila, VISWANATHAN, Karthik et SASISEKHARAN, Ram, 2013a. Quantitative Description of Glycan-Receptor Binding of Influenza A Virus H7 Hemagglutinin. *PLoS ONE*. 20 février 2013. Vol. 8, n° 2, pp. e49597.

SRINIVASAN, Karunya, RAMAN, Rahul, JAYARAMAN, Akila, VISWANATHAN, Karthik et SASISEKHARAN, Ram, 2013b. Quantitative Characterization of Glycan-Receptor Binding of H9N2 Influenza A Virus Hemagglutinin. *PLoS ONE*. 23 avril 2013. Vol. 8, n° 4. PMID: 23626667PMCID: PMC3634032

SRIWILAIJAROEN, Nongluk, KONDO, Sachiko, YAGI, Hirokazu, TAKEMAE, Nobuhiro, SAITO, Takehiko, HIRAMATSU, Hiroaki, KATO, Koichi et SUZUKI, Yasuo, 2011. N-Glycans from Porcine Trachea and Lung: Predominant NeuAc α 2-6Gal Could Be a Selective Pressure for Influenza Variants in Favor of Human-Type Receptor. *PLoS ONE* [en ligne]. 9 février 2011. Disponible à l'adresse : <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3036579/> PMID: 21347401PMCID: PMC3036579

STEVENS, James, BLIXT, Ola, TUMPEY, Terrence M., TAUBENBERGER, Jeffery K., PAULSON, James C. et WILSON, Ian A., 2006. Structure and Receptor Specificity of the Hemagglutinin from an H5N1 Influenza Virus. *Science*. 21 avril 2006. Vol. 312, n° 5772, pp. 404-410. PMID: 16543414

STRAY, Stephen J., CUMMINGS, Richard D. et AIR, Gillian M., 2000. Influenza virus infection of desialylated cells. *Glycobiology*. 1 juillet 2000. Vol. 10, n° 7, pp. 649-658. DOI 10.1093/glycob/10.7.649.

SUAREZ, D. L., WOOLCOCK, P. R., BERMUDEZ, A. J. et SENNE, D. A., 2002a. Isolation from turkey breeder hens of a reassortant H1N2 influenza virus with swine, human, and avian lineage genes. *Avian Diseases*. mars 2002. Vol. 46, n° 1, pp. 111-121. DOI 10.1637/0005-2086(2002)046[0111:IFTBHO]2.0.CO;2.

SUAREZ, D. L., WOOLCOCK, P. R., BERMUDEZ, A. J. et SENNE, D. A., 2002b. Isolation from turkey breeder hens of a reassortant H1N2 influenza virus with swine, human, and avian lineage genes. *Avian Diseases*. mars 2002. Vol. 46, n° 1, pp. 111-121. DOI 10.1637/0005-2086(2002)046[0111:IFTBHO]2.0.CO;2.

SUZUKI, Takashi, HORIIKE, Goh, YAMAZAKI, Yasuhiro, KAWABE, Kaoru, MASUDA, Hiroyuki, MIYAMOTO, Daisei, MATSUDA, Masao, NISHIMURA, Shin-Ichiro, YAMAGATA, Tatsuya, ITO, Toshihiro, KIDA, Hiroshi, KAWAOKA, Yoshihiro et SUZUKI, Yasuo, 1997. Swine influenza virus strains recognize sialylsugar chains containing the molecular species of sialic acid predominantly present in the swine tracheal epithelium. *FEBS Letters*. 10 mars 1997. Vol. 404, n° 2-3, pp. 192-196. DOI 10.1016/S0014-5793(97)00127-0.

SUZUKI, Yasuo, ITO, Toshihiro, SUZUKI, Takashi, HOLLAND, Robert E., CHAMBERS, Thomas M., KISO, Makoto, ISHIDA, Hideharu et KAWAOKA, Yoshihiro, 2000. Sialic Acid Species as a Determinant of the Host Range of Influenza A Viruses. *Journal of Virology*. 15 décembre 2000. Vol. 74, n° 24, pp. 11825-11831. PMID: 11090182

Swayne, D.E., Halvorson, D.A., 2003. Influenza. In: Saif, Y.M., Barnes, H.J., Glisson, J.R., Fadly, A.M., McDougald, L.R., Swayne, D.E. (Eds.), *Diseases of Poultry*. Iowa State University Press, Ames, IA, pp. 135-160.

TAKAHASHI, M., YAMADA, T., NAKAJIMA, S., NAKAJIMA, K., YAMAMOTO, T. et OKADA, H., 1995. The substantia nigra is a major target for neurovirulent influenza A virus. *The Journal of Experimental Medicine*. 1 juin 1995. Vol. 181, n° 6, pp. 2161-2169.

THOMPSON, Catherine I., BARCLAY, Wendy S., ZAMBON, Maria C. et PICKLES, Raymond J., 2006. Infection of Human Airway Epithelium by Human and Avian Strains of Influenza A Virus. *Journal of Virology*. août 2006. Vol. 80, n° 16, pp. 8060-8068. DOI 10.1128/JVI.00384-06.

THONGRATSAKUL, Sukanya, SUZUKI, Yasuo, HIRAMATSU, Hiroaki, SAKPUARAM, Thavajchai, SIRINARUMITR, Theerapol, POOLKHET, Chaithep, MOONJIT, Pattra, YODSHEEWAN, Rungrueang et SONGSERM, Thaweesak, 2010. Avian and human influenza A virus receptors in trachea and lung of animals. *Asian Pacific Journal of Allergy and Immunology / Launched by the Allergy and Immunology Society of Thailand*. décembre 2010. Vol. 28, n° 4, pp. 294-301. PMID: 21337915

TREBBIEN, Ramona, LARSEN, Lars E. et VIUFF, Birgitte M., 2011. Distribution of sialic acid receptors and influenza A virus of avian and swine origin in experimentally infected pigs. *Virology Journal*. 2011. Vol. 8, pp. 434.

TU, Jiagang, ZHOU, Hongbo, JIANG, Taozhen, LI, Chun, ZHANG, Anding, GUO, Xuebo, ZOU, Wei, CHEN, Huanchun et JIN, Meilin, 2009. Isolation and molecular characterization of equine H3N8 influenza viruses from pigs in China. *Archives of Virology*. 26 avril 2009. Vol. 154, n° 5, pp. 887-890. DOI 10.1007/s00705-009-0381-1.

TUMPEY, Terrence M., MAINES, Taronna R., HOEVEN, Neal Van, GLASER, Laurel, SOLÓRZANO, Alicia, PAPPAS, Claudia, COX, Nancy J., SWAYNE, David E., PALESE, Peter, KATZ, Jacqueline M. et GARCÍA-SASTRE, Adolfo, 2007. A Two-Amino Acid Change in the Hemagglutinin of the 1918 Influenza Virus Abolishes Transmission. *Science*. 2 février 2007. Vol. 315, n° 5812, pp. 655-659. PMID: 17272724

TZARUM, Netanel, DE VRIES, Robert P., ZHU, Xueyong, YU, Wenli, MCBRIDE, Ryan, PAULSON, James C. et WILSON, Ian A., 2015. Structure and Receptor Binding of the Hemagglutinin from a Human H6N1 Influenza Virus. *Cell Host & Microbe*. 11 mars 2015. Vol. 17, n° 3, pp. 369-376.

VACHIERI, Sebastien G, XIONG, Xiaoli, COLLINS, Patrick J, WALKER, Philip A, MARTIN, Stephen R, HAIRE, Lesley F, ZHANG, Ying, MCCAULEY, John W, GAMBLIN, Steven J et SKEHEL, John J, 2014. Receptor binding by H10 influenza viruses. *Nature*. 24 juillet 2014. Vol. 511, n° 7510, pp. 475-477. DOI 10.1038/nature13443.

VAN POUCKE, Sjouke G. M., NICHOLLS, John M., NAUWYNCK, Hans J. et VAN REETH, Kristien, 2010. Replication of avian, human and swine influenza viruses in porcine respiratory explants and association with sialic acid distribution. *Virology Journal*. 2010. Vol. 7, pp. 38. PMID: 20158900PMCID: PMC2829537

VAN POUCKE, Sjouke, UHLENDORFF, Jennifer, WANG, Zhongfang, BILLIAU, Veerle, NICHOLLS, John, MATROSOVICH, Mikhail et VAN REETH, Kristien, 2013. Effect of receptor specificity of A/Hong Kong/1/68 (H3N2) influenza virus variants on replication and transmission in pigs. *Influenza and Other Respiratory Viruses*. mars 2013. Vol. 7, n° 2, pp. 151-159. PMID: 22564359

VAN REETH, Kristen, 2007. Avian and swine influenza viruses: our current understanding of the zoonotic risk. *Veterinary Research*. avril 2007. Vol. 38, n° 2, pp. 243-260. DOI 10.1051/vetres:2006062.

VANDEGRIFT, Kurt J., SOKOLOW, Susanne H., DASZAK, Peter et KILPATRICK, A. Marm, 2010. Ecology of avian influenza viruses in a changing world. *Annals of the New York Academy of Sciences*. mai 2010. Vol. 1195, pp. 113-128. DOI 10.1111/j.1749-6632.2010.05451.x.

WAN, Hongquan et PEREZ, Daniel R., 2006. Quail carry sialic acid receptors compatible with binding of avian and human influenza viruses. *Virology*. 15 mars 2006. Vol. 346, n° 2, pp. 278-286. PMID: 16325879

WANG, Baolin, LIU, Bo, CHEN, Ling, ZHANG, Jianyong, HE, Hongxuan et ZHANG, Hong, 2012. Qualitative and quantitative analyses of influenza virus receptors in trachea and lung tissues of humans, mice, chickens and ducks. *Science China. Life Sciences*. juillet 2012. Vol. 55, n° 7, pp. 612-617. DOI 10.1007/s11427-012-4341-8.

WANG, Jing-Yu, CHEN, Zhan-Li, LI, Cheng-Shan, CAO, Xiao-lei, WANG, Rui, TANG, Chao, HUANG, Jing-Jing, CHANG, Ching-Dong et LIU, Hung-Jen, 2015. The distribution of sialic acid receptors of avian influenza virus in the reproductive tract of laying hens. *Molecular and Cellular Probes*. avril 2015. Vol. 29, n° 2, pp. 129-134.

WATANABE, Yohei, IBRAHIM, Madiha S., ELLAKANY, Hany F., KAWASHITA, Norihito, MIZUIKE, Rika, HIRAMATSU, Hiroaki, SRIWILAIJAROEN, Nogluk, TAKAGI, Tatsuya, SUZUKI, Yasuo et IKUTA, Kazuyoshi, 2011. Acquisition of human-type receptor binding specificity by new H5N1 influenza virus sublineages during their emergence in birds in Egypt. *PLoS pathogens*. mai 2011. Vol. 7, n° 5, pp. e1002068. PMID: 21637809PMCID: PMC3102706

WEBSTER, R. G., BEAN, W. J., GORMAN, O. T., CHAMBERS, T. M. et KAWAOKA, Y., 1992. Evolution and ecology of influenza A viruses. *Microbiological Reviews*. 1 mars 1992. Vol. 56, n° 1, pp. 152-179.

WEI, Jinhua, ZHENG, Longtang, LV, Xun, BI, Yuhai, CHEN, Wenwen, ZHANG, Wei, SHI, Yi, ZHAO, Lei, SUN, Xiaoman, WANG, Fei, CHENG, Shuihong, YAN, Jinghua, LIU, Wenjun, JIANG, Xingyu, GAO, George F et LI, Xuebing, 2014. Analysis of influenza virus receptor specificity using glycan-functionalized gold nanoparticles. . 27 mai 2014. 24724848

XIONG, Xiaoli, MARTIN, Stephen R., HAIRE, Lesley F., WHARTON, Stephen A., DANIELS, Rodney S., BENNETT, Michael S., MCCAULEY, John W., COLLINS, Patrick J., WALKER, Philip A., SKEHEL, John J. et GAMBLIN, Steven J., 2013. Receptor binding by an H7N9 influenza virus from humans. *Nature*. 25 juillet 2013. Vol. 499, n° 7459, pp. 496-499. DOI 10.1038/nature12372.

XIONG, Xiaoli, MCCAULEY, John W. et STEINHAEUER, David A., 2014. Receptor Binding Properties of the Influenza Virus Hemagglutinin as a Determinant of Host Range. In : *Influenza Pathogenesis and Control - Volume I* [en ligne]. Springer International Publishing. pp. 63-91. Current Topics in Microbiology and Immunology, 385. [Consulté le 2 décembre 2015]. ISBN 978-3-319-11154-4. Disponible à l'adresse : http://link.springer.com/chapter/10.1007/82_2014_423

XIONG, Xiaoli, XIAO, Haixia, MARTIN, Stephen R., COOMBS, Peter J., LIU, Junfeng, COLLINS, Patrick J., VACHIERI, Sebastien G., WALKER, Philip A., LIN, Yi Pu, MCCAULEY, John W., GAMBLIN, Steven J. et SKEHEL, John J., 2014. Enhanced human receptor binding by H5 haemagglutinins. *Virology*. mai 2014. Vol. 456-457, pp. 179-187. PMID: 24889237PMCID: PMC4053833

YAMADA, Shinya, SHINYA, Kyoko, TAKADA, Ayato, ITO, Toshihiro, SUZUKI, Takashi, SUZUKI, Yasuo, LE, Quynh Mai, EBINA, Masahito, KASAI, Noriyuki, KIDA, Hiroshi, HORIMOTO, Taisuke, RIVAILLER, Pierre, CHEN, Li Mei, DONIS, Ruben O. et KAWAOKA, Yoshihiro, 2012. Adaptation of a duck influenza A virus in quail. *Journal of*

Virology. février 2012. Vol. 86, n° 3, pp. 1411-1420. PMID: 22090115PMCID: PMC3264366

YAMADA, Shinya, SUZUKI, Yasuo, SUZUKI, Takashi, LE, Mai Q., NIDOM, Chairul A., SAKAI-TAGAWA, Yuko, MURAMOTO, Yukiko, ITO, Mutsumi, KISO, Maki, HORIMOTO, Taisuke, SHINYA, Kyoko, SAWADA, Toshihiko, KISO, Makoto, USUI, Taiichi, MURATA, Takeomi, LIN, Yipu, HAY, Alan, HAIRE, Lesley F., STEVENS, David J., RUSSELL, Rupert J., GAMBLIN, Steven J., SKEHEL, John J. et KAWAOKA, Yoshihiro, 2006. Haemagglutinin mutations responsible for the binding of H5N1 influenza A viruses to human-type receptors. *Nature*. 2006. Vol. 444, n° 7117, pp. 378-382.

YAN LI, HAIXIA XIAO, CHAOBIN HUANG, HAIGANG SUN, LAIXING LI, JINGLIANG SU, JUNCAI MA, DI LIU, HAN WANG, WENJUN LIU, GEORGE F. GAO, XIANGDONG LI et JINGHUA YAN, 2015. Distribution of sialic acid receptors and experimental infections with different subtypes of influenza A viruses in Qinghai-Tibet plateau wild pika. *Virology Journal*. avril 2015. Vol. 12, n° 1, pp. 1-10. DOI 10.1186/s12985-015-0290-8.

YANG, Hua, CARNEY, Paul J., CHANG, Jessie C., GUO, Zhu, VILLANUEVA, Julie M. et STEVENS, James, 2015. Structure and receptor binding preferences of recombinant human A(H3N2) virus hemagglutinins. *Virology*. mars 2015. Vol. 477, pp. 18-31. PMID: 25617824

YANG, Hua, CHEN, Li-Mei, CARNEY, Paul J., DONIS, Ruben O. et STEVENS, James, 2010. Structures of Receptor Complexes of a North American H7N2 Influenza Hemagglutinin with a Loop Deletion in the Receptor Binding Site. *PLOS Pathog*. 2 septembre 2010. Vol. 6, n° 9, pp. e1001081. DOI 10.1371/journal.ppat.1001081.

YAO, Lu, KORTEWEG, Christine, HSUEH, Wei et GU, Jiang, 2008. Avian influenza receptor expression in H5N1-infected and noninfected human tissues. *The FASEB Journal*. 1 mars 2008. Vol. 22, n° 3, pp. 733-740. PMID: 17925493

YU, Ji Eun, YOON, Hakyoun, LEE, Hyun Jeong, LEE, Jong Hwan, CHANG, Byung Joon, SONG, Chang Seon et NAHM, Sang-Soep, 2011. Expression patterns of influenza virus receptors in the respiratory tracts of four species of poultry. *Journal of Veterinary Science*. mars 2011. Vol. 12, n° 1, pp. 7-13. PMID: 21368557PMCID: PMC3053470

ZHANG, Heng, DE VRIES, Robert P., TZARUM, Netanel, ZHU, Xueyong, YU, Wenli, MCBRIDE, Ryan, PAULSON, James C. et WILSON, Ian A., 2015. A Human-Infecting H10N8 Influenza Virus Retains a Strong Preference for Avian-type Receptors. *Cell Host & Microbe*. 3 novembre 2015. Vol. 17, n° 3, pp. 377-384. PMID: 25766296

ZHANG, Hong, 2009. Tissue and host tropism of influenza viruses: Importance of quantitative analysis. *Science in China Series C: Life Sciences*. 17 décembre 2009. Vol. 52, n° 12, pp. 1101-1110.

ZHAO, Hanjun, ZHOU, Jie, JIANG, Shibo et ZHENG, Bo-Jian, 2013. Receptor binding and transmission studies of H5N1 influenza virus in mammals. *Emerging Microbes & Infections*. décembre 2013. Vol. 2, n° 12, pp. e85. DOI 10.1038/emi.2013.89.

ZHOU, Jian Fang, ZOU, Shu Mei, LI, Zi, WANG, Min, DONG, Jie, GUO, Jun Feng, WEI, He Jiang, WEN, Le Ying, XU, Hong et SHU, Yue Long, 2012. Identification of dual receptor-binding specific strains of human H5N1 viruses in China. *Biomedical and environmental sciences: BES*. février 2012. Vol. 25, n° 1, pp. 104-108. DOI 10.3967/0895-3988.2012.01.015.

ZHU, Yinbiao, YANG, Yang, LIU, Wei, LIU, Xin, YANG, Da, SUN, Zhihao, JU, Yong, CHEN, Sujuan, PENG, Daxin et LIU, Xiufan, 2015. Comparison of biological characteristics of H9N2 avian influenza viruses isolated from different hosts. *Archives of Virology*. avril 2015. Vol. 160, n° 4, pp. 917-927. PMID: 25616845

WEBOGRAPHIE

- ❖ <http://www.medscape.org/>
- ❖ <http://www.medicalecology.org/>
- ❖ <http://www.futura-sciences.com/>
- ❖ <http://www.evolution-of-life.com/>
- ❖ <http://acces.ens-lyon.fr/>
- ❖ <http://www.afd-ld.org/>

ANNEXES

- CD-ROM contenant :
 - Le tableau des préférences des virus pour les récepteurs
 - Le tableau de distribution des récepteurs chez les hôtes

Toulouse, 2016

NOM : SABOURIN

Prénom : Pauline

TITRE : AFFINITE DES VIRUS INFLUENZA A ET DISTRIBUTION DE LEURS RECEPTEURS CHEZ DIFFERENTS HOTES DONT L'HOMME : IMPLICATION POUR LES SAUTS D'ESPECES

RÉSUMÉ : L'influenza est une affection contagieuse touchant les oiseaux sauvages et d'élevage, certains mammifères et l'homme, pouvant causer d'importantes pertes économiques et des zoonoses graves. L'infection commence par l'attachement du virus aux récepteurs présents à la surface des cellules. Cette étude a pour but de regrouper un maximum de résultats d'études menées sur l'affinité des souches virales envers deux grands types de récepteurs d'une part, et sur la distribution de ces récepteurs chez les organismes hôtes d'autre part. L'objectif était d'obtenir le résultat le plus fiable possible concernant ces deux questions, et d'en voir les implications possibles concernant les sauts d'espèces. Nous avons conclu que la caille, le poulet, la dinde et les oiseaux terrestres ainsi que le chien et les mammifères marins dans une moindre mesure, pouvaient servir d'hôtes intermédiaires au même titre que le porc, car ils possèdent dans leurs tissus les récepteurs de « type » humains. Chez ces espèces, les virus aviaires pourraient inverser leur préférence pour finalement s'adapter aux récepteurs humains. Les sous-types à surveiller dans l'avenir sont H9, observé chez la caille, le poulet et les oiseaux terrestres, ainsi que le H7, qui montrent une tendance à inverser leur préférence des récepteurs aviaires vers les récepteurs humains. Le virus H1 isolé chez la dinde a aussi montré une préférence pour les récepteurs humains. Chez l'homme nous avons confirmé une gradation des récepteurs en descendant dans l'arbre respiratoire. Cela explique la difficulté des virus aviaires à infecter l'homme et à se transmettre entre hommes, ainsi que la gravité de l'infection lorsque celle-ci se produit. Nous avons pu établir un nouveau diagramme des transmissions inter-espèces. Enfin, présence conséquente des récepteurs aviaires dans l'appareil digestif de l'homme doit nous faire rester attentif quant à une éventuelle contamination par la nourriture.

MOTS-CLÉS : Influenza A, récepteurs, acide sialique, tropisme d'hôtes, saut d'espèce, affinité, distribution

TITLE : AFFINITY OF THE INFLUENZA A VIRUSES AND DISTRIBUTION OF THEIR RECEPTORS IN DIFFERENT HOSTS INCLUDING HUMANS : IMPLICATION FOR HOST JUMPS

ABSTRACT : Influenza is a contagious disease affecting farm and wild birds, as well as some mammals and humans, capable of causing huge economic losses and serious zoonosis. The infection starts by the virus'binding to receptors at the cell surface. The aim of this study is to consolidate the various results of studies conducted on the affinity of viral strains towards the receptors on the one hand and on the distribution the receptors among the host'organisms on the other hand. The goal is to obtain the most reliable conclusions possible regarding these two essential questions, and to discuss the possible implications for host species' jumps. We concluded that the quail, chicken, turkey, pheasant and land-based birds, and to a lesser extent dogs and marine mammals, could serve as intermediate hosts in the same way as pig does, since they express the « human type » receptors in their tissues. In those species, the avian viruses could alter their preference to eventually adapt to human receptors. In the future, the subtypes we should keep a close eye on are H9, seen in the quail, chicken and land-based birds, along with the H7, both showing a tendency to invert their avian receptor preference towards the human receptors. The H1 viruses isolated from turkeys also show a preference for the human receptors. Among humans we saw a gradient of the receptors when going down in the respiratory apparatus. That explains the difficulty for avian viruses to infect humans and get passed on between human beings, as well as the seriousness of the infection when it occurs. We also propose an update diagram of interspecies' transmissions. At last, the dominance of avian receptors in the human digestive system must be monitored closely with respect to potential food-borne contamination.

KEYWORDS : Influenza A, receptors, sialic acid, hosts tropism, species jump, affinity, distribution