

Année 2015

**LES GRIPPES DU CHIEN ET DU CHAT : ÉTAT DES
CONNAISSANCES EN 2015**

THÈSE

Pour le

DOCTORAT VÉTÉRINAIRE

Présentée et soutenue publiquement devant

LA FACULTÉ DE MÉDECINE DE CRÉTEIL

le.....

par

Anaïs, Mathilde, Rosalie DUSSART

Née le 24 septembre 1991 à Montmorency (Val-d'Oise)

JURY

Président : Pr.

Professeur à la Faculté de Médecine de CRÉTEIL

Membres

Directeur : Dr Sophie LE PODER

Maître de conférences en virologie à l'ENVA

Assesseur : Pr Nadia HADDAD-HOANG XUAN

Professeur en maladies contagieuses à l'ENVA

LISTE DES MEMBRES DU CORPS ENSEIGNANT

Directeur : M. le Professeur GOGNY Marc

Directeurs honoraires : MM. les Professeurs : COTARD Jean-Pierre, MIALOT Jean-Paul, MORAILLON Robert, PARODI André-Laurent, PILET Charles, TOMA Bernard.

Professeurs honoraires : Mme et MM. : BENET Jean-Jacques, BRUGERE Henri, BRUGERE-PICOUX Jeanne, BUSSIERAS Jean, CERF Olivier, CHERMETTE René, CLERC Bernard, CRESPEAU François, M. COURREAU Jean-François, DEPUTTE Bertrand, MOUTHON Gilbert, MILHAUD Guy, POUCHELON Jean-Louis, ROZIER Jacques.

DEPARTEMENT D'ELEVAGE ET DE PATHOLOGIE DES EQUIDES ET DES CARNIVORES (DEPEC)

Chef du département : M. GRANDJEAN Dominique, Professeur - Adjoint : M. BLOT Stéphane, Professeur

UNITE DE CARDIOLOGIE - Mme CHETBOUL Valérie, Professeur * - Mme GKOUNI Vassiliki, Praticien hospitalier - Mme SECHI-TREHIOU Emilie, Praticien hospitalier UNITE DE CLINIQUE EQUINE - M. AUDIGIE Fabrice, Professeur - Mme BERTONI Lélia, Maître de conférences contractuel - Mme BOURZAC Céline, Maître de conférences contractuel - M. DENOIX Jean-Marie, Professeur - Mme GIRAUDET Aude, Praticien hospitalier * - Mme MESPOULHES-RIVIERE Céline, Praticien hospitalier - Mme TRACHSEL Dagmar, Praticien hospitalier UNITE D'IMAGERIE MEDICALE - Mme PEY Pascaline, Maître de conférences contractuel - Mme STAMBOULI Fouzia, Praticien hospitalier UNITE DE MEDECINE - M. AGUILAR Pablo, Praticien hospitalier - Mme BENCHEKROUN Ghita, Maître de conférences - M. BLOT Stéphane, Professeur* - M. CAMPOS Miguel, Maître de conférences associé - Mme FREICHE-LEGROS Valérie, Praticien hospitalier - Mme MAUREY-GUENEC Christelle, Maître de conférences UNITE DE MEDECINE DE L'ELEVAGE ET DU SPORT - Mme CLERO Delphine, Maître de conférences contractuel - M. FONTBONNE Alain, Maître de conférences - M. GRANDJEAN Dominique, Professeur * - Mme MAENHOUDT Cindy, Praticien hospitalier - M. NUDELMANN Nicolas, Maître de conférences	DISCIPLINE : NUTRITION-ALIMENTATION - M. PARAGON Bernard, Professeur DISCIPLINE : OPHTALMOLOGIE - Mme CHAHORY Sabine, Maître de conférences UNITE DE PARASITOLOGIE ET MALADIES PARASITAIRES - M. BLAGA Radu Gheorghe, Maître de conférences (rattaché au DPASP) - Mme COCHET-FAIVRE Noëlle, Praticien hospitalier - M. GUILLOT Jacques, Professeur * - Mme MARGINAC Geneviève, Maître de conférences - M. POLACK Bruno, Maître de conférences - Mme RISCO CASTILLO Véronica, Maître de conférences (rattachée au DSBP) UNITE DE PATHOLOGIE CHIRURGICALE - M. FAYOLLE Pascal, Professeur - M. MAILHAC Jean-Marie, Maître de conférences - M. MANASSERO Mathieu, Maître de conférences - M. MOISSONNIER Pierre, Professeur - Mme VIATEAU-DUVAL Véronique, Professeur * - M. ZILBERSTEIN Luca, Maître de conférences DISCIPLINE : URGENCE SOINS INTENSIFS - Mme STEBLAJ Barbara, Praticien Hospitalier DISCIPLINE : NOUVEAUX ANIMAUX DE COMPAGNIE - M. PIGNON Charly, Praticien hospitalier
---	---

DEPARTEMENT DES PRODUCTIONS ANIMALES ET DE LA SANTE PUBLIQUE (DPASP)

Chef du département : M. MILLEMANN Yves, Professeur - Adjoint : Mme DUFOUR Barbara, Professeur

UNITE D'HYGIENE QUALITE ET SECURITE DES ALIMENTS - M. AUGUSTIN Jean-Christophe, Professeur - M. BOLNOT François, Maître de conférences * - M. CARLIER Vincent, Professeur UNITE DES MALADIES CONTAGIEUSES - Mme DUFOUR Barbara, Professeur* - Mme HADDAD/HOANG-XUAN Nadia, Professeur - Mme PRAUD Anne, Maître de conférences - Mme RIVIERE Julie, Maître de conférences contractuel UNITE DE PATHOLOGIE DES ANIMAUX DE PRODUCTION - M. ADJOU Karim, Maître de conférences * - M. BELBIS Guillaume, Assistant d'enseignement et de recherche contractuel - M. MILLEMANN Yves, Professeur - Mme RAVARY-PLUMIOEN Béangère, Maître de conférences - Mme ROUANNE Sophie, Praticien hospitalier	UNITE DE REPRODUCTION ANIMALE - Mme CONSTANT Fabienne, Maître de conférences* - M. DESBOIS Christophe, Maître de conférences (rattaché au DEPEC) - Mme MASSE-MOREL Gaëlle, Maître de conférences contractuel - M. MAUFFRE Vincent, Assistant d'enseignement et de recherche contractuel - Mme EL BAY Sarah, Praticien hospitalier UNITE DE ZOOTECHNIE, ECONOMIE RURALE - M. ARNE Pascal, Maître de conférences - M. BOSSE Philippe, Professeur* - Mme DE PAULA REIS Alline, Maître de conférences contractuel - Mme GRIMARD-BALLIF Bénédicte, Professeur - Mme LEROY-BARASSIN Isabelle, Maître de conférences - M. PONTER Andrew, Professeur - Mme WOLGUST Valérie, Praticien hospitalier
--	--

DEPARTEMENT DES SCIENCES BIOLOGIQUES ET PHARMACEUTIQUES (DSBP)

Chef du département : M. CHATEAU Henry, Professeur - Adjoint : Mme PILOT-STORCK Fanny, Maître de conférences

UNITE D'ANATOMIE DES ANIMAUX DOMESTIQUES - M. CHATEAU Henry, Professeur* - Mme CREVIER-DENOIX Nathalie, Professeur - M. DEGUEURCE Christophe, Professeur - Mme ROBERT Céline, Maître de conférences UNITE DE BACTERIOLOGIE, IMMUNOLOGIE, VIROLOGIE - M. BOULOUIS Henri-Jean, Professeur* - Mme LE PODER Sophie, Maître de conférences - Mme LE ROUX Delphine, Maître de conférences - Mme QUINTIN-COLONNA Françoise, Professeur UNITE DE BIOCHIMIE - M. BELLIER Sylvain, Maître de conférences* - Mme LAGRANGE Isabelle, Praticien hospitalier - M. MICHAUX Jean-Michel, Maître de conférences DISCIPLINE : EDUCATION PHYSIQUE ET SPORTIVE - M. PHILIPS Pascal, Professeur certifié DISCIPLINE : ETHOLOGIE - Mme GILBERT Caroline, Maître de conférences UNITE DE GENETIQUE MEDICALE ET MOLECULAIRE - Mme ABITBOL Marie, Maître de conférences - M. PANTHIER Jean-Jacques, Professeur*	UNITE D'HISTOLOGIE, ANATOMIE PATHOLOGIQUE - Mme CORDONNIER-LEFORT Nathalie, Maître de conférences* - M. FONTAINE Jean-Jacques, Professeur - Mme LALOY Eve, Maître de conférences contractuel - M. REYES GOMEZ Edouard, Maître de conférences UNITE DE MANAGEMENT, COMMUNICATION, OUTILS SCIENTIFIQUES - Mme CONAN Muriel, Professeur certifié (Anglais) - M. DESQUILBET Loïc, Maître de conférences (Biostatistiques, épidémiologie)* - Mme FOURNEL Christelle, Maître de conférences contractuel (Gestion et management) UNITE DE PHARMACIE ET TOXICOLOGIE - Mme ENRIQUEZ Brigitte, Professeur - M. PERROT Sébastien, Maître de conférences - M. TISSIER Renaud, Professeur* UNITE DE PHYSIOLOGIE ET THERAPEUTIQUE - Mme COMBRISON Hélène, Professeur - Mme PILOT-STORCK Fanny, Maître de conférences - M. TIRET Laurent, Professeur *
---	--

* responsable d'unité

REMERCIEMENTS

Au Président du Jury, Professeur de la Faculté de Médecine de Créteil, Qui m'a fait l'honneur d'accepter la présidence de mon jury de thèse, hommage respectueux.

Au Docteur Sophie LE PODER, Maître de conférences en virologie à l'ENVA, pour m'avoir guidée sur ce projet depuis un an. Pour sa patience et sa disponibilité.

Au Professeur Nadia HADDAD, Professeur en maladies contagieuses à l'ENVA, pour avoir accepté d'être mon assesseur, pour son implication et sa réactivité.

A ma famille, à mes amis, sans qui je ne serais pas là en ce jour.

TABLE DES MATIÈRES

Liste des abréviations.....	13
Liste des tableaux.....	15
Liste des figures.....	17
Introduction.....	19
PREMIÈRE PARTIE : GÉNÉRALITÉS SUR LES <i>ORTHOMYXOVIRIDAE</i>	21
I) Classification.....	23
II) Présentation des virus.....	26
A) Propriétés physico-chimiques	26
B) Présentation des particules virales.....	26
a) Organisation génomique	28
1) Le génome	28
2) Le complexe ribonucléoprotéique (RNP)	30
b) Les protéines structurales.....	30
1) L'Hémagglutinine (HA)	30
2) La Neuraminidase (NA)	32
3) La protéine de matrice M1.....	33
4) La protéine de matrice M2.....	34
5) La nucléoprotéine (NP).....	34
c) Les protéines non structurales.....	35
1) Le complexe polymérase.....	35
2) La protéine non-structurale 1 (NS1).....	36
3) La protéine non-structurale 2 (NS2 ou NEP)	36
4) La protéine PB1-F2	37
C) Le cycle viral.....	37
a) L'attachement à la cellule hôte.....	37
b) L'entrée dans la cellule hôte	37
c) L'entrée du génome viral dans le noyau de la cellule hôte	39
d) La réplication du génome viral.....	39
e) L'export des RNP du noyau vers le cytoplasme	40
f) L'assemblage des virus et bourgeonnement	40

III)	Evolution génétique et ses conséquences	44
A)	Capacités de mutation et recombinaisons	44
a)	Dérive antigénique.....	45
b)	Cassure antigénique.....	45
B)	Franchissement de la barrière d'espèce	48
a)	Exemples de franchissement	48
b)	Les différentes molécules impliquées dans le franchissement de la barrière d'espèces.....	49
1)	Le rôle de l'hémagglutinine dans le franchissement de la barrière d'espèce ...	49
2)	Le rôle de la neuraminidase dans le franchissement de la barrière d'espèce...	50
3)	Le rôle des polymérase et nucléoprotéines dans le franchissement de la barrière d'espèce.....	50
-	Modifications de PB2.....	51
-	Modifications de PA.....	52
-	Modifications de PB1.....	53
-	Modifications de NP	53
-	Modifications de NEP	54
	DEUXIÈME PARTIE : ÉPIDÉMIOLOGIE ET PHYSIOPATHOLOGIE	55
I)	Les virus de grippe adaptés aux chiens et aux chats : épidémiologie.....	57
A)	Le virus H3N8, un virus équin adapté aux chiens.....	57
a)	La découverte du virus.....	57
b)	2004 : première apparition du virus H3N8 canin ?.....	58
c)	Evolution du virus depuis sa découverte	60
1)	Présence aux Etats-Unis	60
2)	Présence au Royaume-Uni	62
3)	Prévalence en Allemagne	63
4)	Prévalence en Italie	63
5)	Prévalence en Nouvelle-Zélande.....	63
6)	Prévalence au Canada	64
B)	Le virus H5N1, un virus aviaire transmissible aux chiens et aux chats.....	64
a)	La découverte du virus.....	64
1)	Chez les félins	64
2)	Chez les chiens	65

C)	Le virus H3N2, un virus aviaire transmissible aux chiens et aux chats.....	66
a)	La découverte du virus.....	66
1)	Chez les chiens	66
2)	Chez les chats	67
b)	Prévalence de l'infection par le virus H3N2 chez les chats.....	68
c)	Prévalence de l'infection par le virus H3N2 chez les chiens.....	69
1)	Au Japon	69
2)	En Corée du Sud	69
3)	En Chine du Sud.....	69
4)	En Chine du Nord-Est	70
D)	Le virus H1N1, un virus d'origine porcine transmissible aux chiens et aux chats .	70
a)	La découverte du virus.....	70
1)	Chez les félins	70
2)	Chez les chiens	72
b)	Séroprévalence	73
1)	Aux Etats-Unis	73
2)	En Allemagne.....	73
3)	En Italie.....	73
4)	En Chine.....	73
E)	Les autres virus, peu adaptés aux espèces canines et félines.....	74
a)	Le virus H9N2, un virus transmissible aux chiens et aux chats.....	74
b)	Le virus H3N1	74
c)	Le virus H5N2	75
d)	Le virus H7N7	75
II)	Modes de transmission, incubation et excrétion.....	76
A)	Le virus H3N8 (2004)	76
B)	Le virus H5N1 (2003)	77
C)	Le virus H3N2 (2006)	78
D)	Le virus H1N1 (2009).....	78
E)	Le virus H9N2 (2012)	79
F)	Le virus H3N1 (2007)	79
G)	Le virus H5N2 (2009).....	79
H)	Le virus H7N7 (2003).....	80

III)	Présentation clinique et pronostic	82
A)	Virus H3N8.....	82
a)	Forme sévère	82
b)	Forme discrète	82
c)	Pronostic	83
d)	Infection expérimentale.....	83
B)	Les autres virus	83
a)	Le virus H5N1	83
b)	Le virus H3N2	84
c)	Le virus H1N1	84
d)	Le virus H5N2	85
e)	Les virus qui ne provoquent pas de symptôme : H9N2, H3N1 et H7N7.....	85
IV)	Lésions	86
A)	H3N8	86
a)	Animaux infectés spontanément.....	86
b)	Animaux infectés expérimentalement	87
B)	H5N1	90
C)	H3N2	92
D)	H1N1	94
E)	H9N2	97
F)	H3N1	98
G)	H5N2	98
H)	H7N7	99
TROISIÈME PARTIE : DIAGNOSTIC/DÉPISTAGE, THÉRAPEUTIQUE ET PROPHYLAXIE		103
I)	Diagnostic et dépistage	105
A)	Diagnostic clinique.....	105
B)	Diagnostic expérimental et dépistage.....	105
a)	La sérologie	106
1)	Inhibition de l'hémagglutination.....	106
2)	Test de microneutralisation	106
b)	La mise en évidence du virus	106
1)	Test ELISA	107
2)	L'isolement viral	107
		10

3) La RT-PCR.....	107
C) Les tests rapides	108
II) Traitements	109
A) Traitement symptomatique.....	109
B) Traitements antiviraux	112
III) Prévention	112
A) Vaccination	112
a) Le vaccin contre le virus H3N8.....	112
1) Evaluation de l'efficacité du vaccin	113
2) La perspective d'un nouveau vaccin	115
b) Le vaccin contre le virus H5N1 chez les chats.....	116
c) Le vaccin contre le virus H3N2 chez les chiens	117
B) Mesures d'hygiène	117
C) Mesures d'information	118
Conclusion	119
Bibliographie	121

LISTE DES ABRÉVIATIONS

- °C : Degrés Celsius
- ADCC : Antibody-dependent cell-mediated cytotoxicity
- ARN : Acide ribo-nucléique
- ARNc : Acide ribo-nucléique complémentaire
- ARNm : Acide ribo-nucléique messenger
- ATP : Adénosine triphosphate
- Crm1 : Exportine
- ELISA : Enzyme-linked immunosorbent assay
- HA : Hémagglutinine
- HA0 : Précurseur de HA
- HA1 : Sous-unité 1 de HA
- HA2 : Sous-unité 2 de HA
- HI : Hemagglutination inhibition
- IFN : Interféron
- Ig : Immunoglobuline (IgA et IgG)
- kb : Kilobase
- kDa : Kilodalton
- h : Heure
- IM : Intra-musculaire
- IV : Intraveineuse
- M1 : Protéine de matrice 1
- M2 : Protéine de matrice 2
- MDCK : Madin-Darby canine kidney
- mg : Miligramme
- mm : Milimètre
- NA : Neuraminidase
- NLS : Signaux de localisation nucléaire
- NP : Nucléoprotéine
- NS1 : Protéine non structurale 1
- NS2 (NEP) : Protéine non structurale 2
- OMP : Outer membrane porine (OMPc, OMPf)
- PA : Polymérase acide
- PB1 : Polymérase basique 1
- PB2 : Polymérase basique 2
- PCR : Polymerase chain reaction
- PO : Per-os
- q : Toutes les (q24h : Toutes les 24 heures)
- RNP : Ribonucléoprotéine ou complexe ribonucléoprotéique
- RT-PCR : Retro-transcriptase polymerase chain reaction

- SC : Sous-cutané
- snARN : Small nuclar acide ribo-nucléique
- se : Sensibilité
- sp : Spécificité
- μm : Micro-mètre
- VLP : Virus-like particle

LISTE DES TABLEAUX

- Tableau 1 : Classification des différents virus grippaux et spécificité d'espèce.
- Tableau 2 : Segments génomiques du virus Influenza A/Puerto Rico/8/1934 et protéines codées.
- Tableau 3 : Episodes de grippe canine aux Etats-Unis depuis 2004.
- Tableau 4 : Prévalence de l'infection par le virus H1N1 selon les pays.
- Tableau 5 : Récapitulatif des modes de transmission, de l'excrétion et l'incubation des différents virus.
- Tableau 6 : Récapitulatif des signes cliniques engendrés par les différents virus.
- Tableau 7 : Récapitulatif des lésions causées par les virus Influenza.
- Tableau 8 : Choix des antibiotiques pour traiter une infection de l'appareil respiratoire.
- Tableau 9 : Molécules utilisables lors d'affections du système respiratoire.

LISTE DES FIGURES

- Figure 1 : Relations phylogénétiques entre les différents genres de la famille des *Orthomyxoviridae* par rapport au gène de la PB1.
- Figure 2 : Reconstruction d'un virus de la grippe A par cryo-microscopie électronique, obtenu par culture virale.
- Figure 3 : Structure tridimensionnelle de l'hémagglutinine (monomère à gauche, trimère à droite).
- Figure 4 : Reconstruction d'un virus-modèle *Influenza* A par cryo-microscopie électronique.
- Figure 5 : Reconstitution schématique du virus *Influenza* A avec ses différents constituants (RNP et protéines structurales).
- Figure 6 : Représentation du changement conformationnel de HA à pH acide.
- Figure 7 : Schéma de la libération des nouveaux virus après le bourgeonnement (S
- Figure 8 : Bourgeonnement des nouveaux virions sur la membrane d'une cellule infectée observé en microscopie électronique (*40.000).
- Figure 9 : Schéma d'un cycle viral d'un virus Influenza A.
- Figure 10 : Schéma de la cassure antigénique, ou réassortiment.
- Figure 11 : Schéma du réassortiment subi par le virus ayant causé l'épidémie de 2009.
- Figure 12 : Schéma représentant les principales espèces hôtes avec les sous-types viraux de grippe les infectant.
- Figure 13 : Relations phylogénétiques entre les gènes des hémagglutinines des virus Influenza.
- Figure 14 : Représentation des différents niveaux de séroprévalence établis par les études selon les années.
- Figure 15 : Etats des Etats-Unis où le virus H3N8 circule parmi les chiens (40 états).
- Figure 16 : Relations phylogénétiques entre les virus Influenza canins.
- Figure 17 : arbre phylogénétique du virus H3N2 félin d'origine canine basé sur les gènes de HA.
- Figure 18 : Arbre phylogénétique des virus H1N1 félins comparés à d'autres virus *Influenza* A.

- Figure 19 : Illustration des lésions retrouvées chez un lévrier infecté naturellement par le virus H3N8 et par inoculation expérimentale.
- Figure 20 : Lésions induites par l'infection expérimentale par le virus H3N8 chez des chiots.
- Figure 21 : Lésions pulmonaires d'un chat ayant ingéré un poulet inoculé avec le virus H5N1 (à gauche) et non inoculé (à droite).
- Figure 22 : Lésions pulmonaires chez un chien au 3ème jour après inoculation expérimentale du virus H3N2.
- Figure 23 : Lésions histopathologiques chez les chiens infectés expérimentalement par le virus H3N2 trois jours post-inoculation.
- Figure 24 : Lésions pulmonaires chez un chien infecté par le virus H3N2, six jours post-inoculation.
- Figure 25 : Lésions observées chez les chats infectés par le virus H1N1.
- Figure 26 : Lésions observées après une infection expérimentale de chats et de chien par le virus H2N9.
- Figure 27 : Lésions histopathologiques chez un chat infecté expérimentalement en présence de chiens infectés expérimentalement par le virus H5N2 (chat contaminé à gauche, chat non témoin à droite).
- Figure 28 : Lésions histologiques et répartition antigénique chez le chat n°1 sept jours après infection expérimentale par le virus H7N7.
- Figure 29 : Test rapide Directigen Flu A + B™.
- Figure 30 : Comparaison des lésions 10 jours après inoculation du virus chez un chien vacciné (A) et un chien non vacciné (B).

INTRODUCTION

Les virus Influenza appartiennent à la famille des *Orthomyxoviridae* et au genre des *Orthomyxovirus*. Ces virus sont spécifiques d'espèce, mais possèdent une capacité de mutation et de recombinaison très importante. Lorsqu'ils infectent exceptionnellement une nouvelle espèce, ils peuvent s'adapter à celle-ci et provoquer une pandémie dans cette espèce hôte, celle-ci n'étant alors pas encore immunisée.

De nombreuses espèces sont reconnues sensibles à ces virus, particulièrement les oiseaux qui en sont le principal réservoir. Des infections par les virus Influenza ont depuis longtemps été rapportées également chez des mammifères tels que les humains, les porcs, les chevaux ou les phoques. Cependant la présence de ces virus chez le chien et le chat n'est connue que depuis peu.

Le premier épisode connu de grippe canine a été découvert chez des lévriers de course en 2004 en Floride, qui présentaient des signes respiratoires tels que de la toux et de la fièvre avec une mort rapide par hémorragie pulmonaire. Les agents pathogènes habituels (virus de la maladie de Carré, virus *Parainfluenza*, *Bordetella bronchiseptica*) n'avaient pas été retrouvés chez ces chiens ; un virus *Influenza A* avait cependant été isolé. Les analyses génétiques avaient révélé que ce virus était fortement apparenté au virus de la grippe équine H3N8. Ce virus avait donc franchi la barrière d'espèce et s'était transmis à l'espèce canine.

Par la suite, plusieurs cas de passage de virus aviaires ou porcins dans les espèces canine et féline ont été rapportés, comme les virus H5N1, H3N2, H1N1, etc. Ces virus sont plus ou moins bien adaptés aux chiens et aux chats.

Dans une première partie, nous étudierons les *Orthomyxoviridae* de manière générale, nous exposerons la classification et la structure ainsi que les propriétés du virus qui rendent le passage de la barrière d'espèce aussi fréquent.

Dans un second temps, nous analyserons l'épidémiologie des infections par les différents virus *Influenza* qui peuvent infecter les chiens et les chats, leur présence dans certaines parties du monde. Nous verrons également dans cette deuxième partie les conséquences associées à chaque virus chez ces animaux avec l'étude de la transmission, de l'excrétion, des symptômes et des lésions.

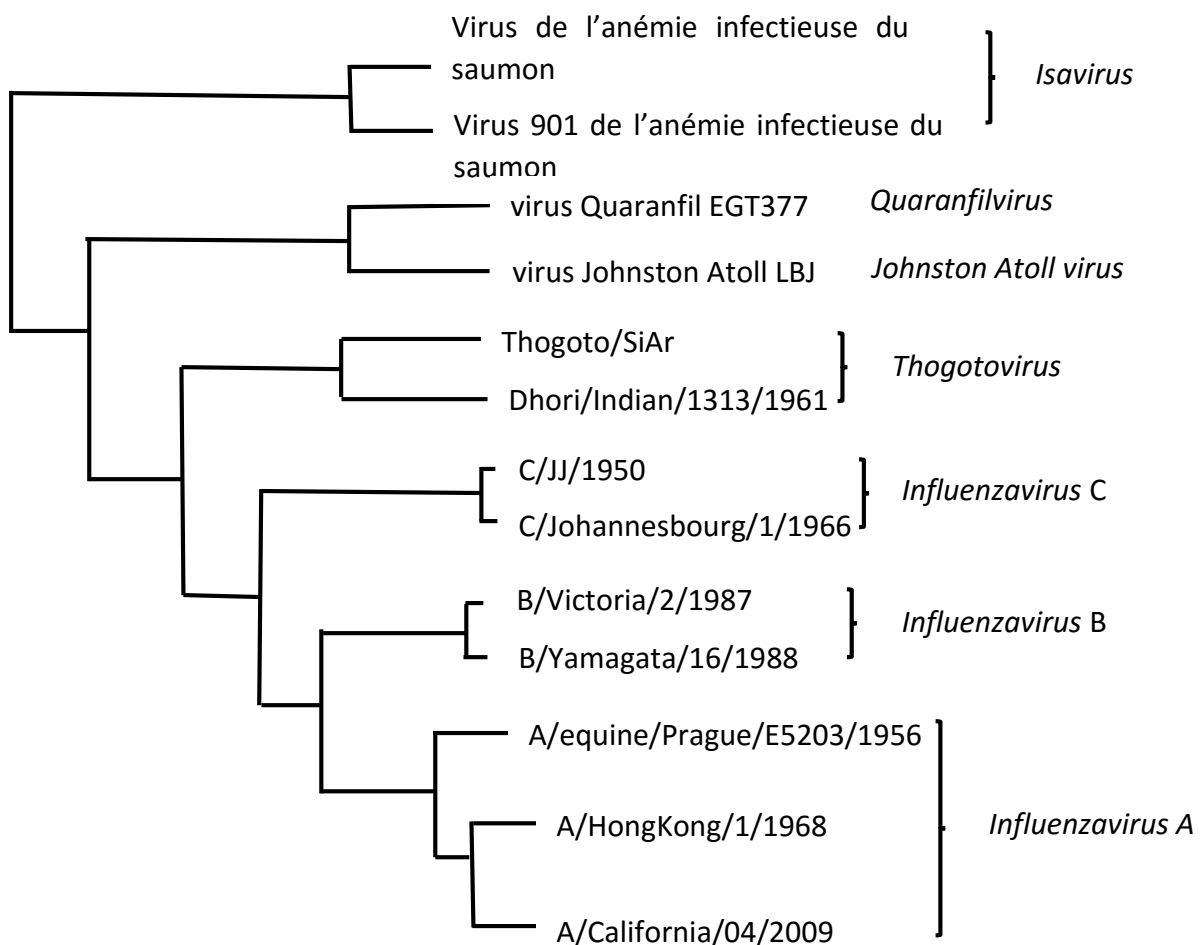
Pour terminer, nous évaluerons les méthodes de diagnostic de la maladie/dépistage de l'infection par ces virus, les traitements disponibles et la prévention par le biais notamment de vaccins disponibles sur le marché.

PREMIÈRE PARTIE : GÉNÉRALITÉS SUR LES ORTHOMYXOVIRIDAE

I) Classification

Il existe sept genres au sein de la famille des *Orthomyxoviridae* : les genres *Influenza A*, *Influenza B*, *Influenza C*, *Influenza D*, ainsi que les genres *Thogotovirus*, *Isavirus* et *Quarantivirus* (Figure 1).

Figure 1 : Relations phylogénétiques entre les différents genres de la famille des *Orthomyxoviridae* par rapport au gène de la PB1 (Source : Knipe et Howley, 2013)



Les *Isavirus* ne se rencontrent que chez le saumon. Le virus *Influenza A* se rencontre chez de nombreuses espèces parmi les oiseaux et les mammifères. Ce sont ceux qui induisent le plus fréquemment des symptômes chez ces espèces. Le genre *Thogotovirus*, se rencontre surtout chez les humains et les invertébrés. Le virus *Influenza B* se rencontre chez l'homme et le phoque, le virus *influenza C* chez l'homme, le porc et le chien. Le genre *Quarantivirus* a été isolé chez des enfants, des tiques et des oiseaux aquatiques. Le *Johnston Atoll Virus* a été isolé chez des tiques (*Ornithodoros Capensis*) [39]. Le virus *influenza D* a été découvert très récemment, en 2014, chez des porcs et des bovins [13]. Il possède environ 50 % d'identité avec le virus *Influenza C* rencontré chez l'Homme.

Les virus *Influenza* ont une nomenclature standard incluant le type de virus, l'espèce chez laquelle le virus a été isolé (si ce n'est pas chez les humains), l'endroit où il a été localisé, le numéro d'isolement, l'année d'isolement, et le type d'hémagglutinine (HA) et de neuraminidase (NA) désigné par un numéro (pour les virus *Influenza A* uniquement). Par exemple, le virus *A/Panama/2007/1999(H3N2)* était l'isolat numéro 2007 d'un virus *Influenza* humain découvert à Panama en 1999, et qui possédait l'HA H3 et la NA N2.

Les virus *Influenza* ont une spécificité d'espèce mais certains peuvent toucher plusieurs hôtes (*Tableau 1*). Par exemple, le virus H1N1 peut atteindre à la fois l'Homme, les porcins, les chiens et les chats.

Tableau 1 : Classification des différents virus grippaux et spécificité d'espèce

Genre	Sous-types	Espèces affectées	Maladie
Virus Influenza A	H1N1, H3N2, H2N2, H7N9, et nombreux autres	Homme	Grippe
	H1N1, H3N2, H9N2	Porcins	Grippe
	H3N8, H7N7	Cheval	Grippe
	H3N8, H3N2, H5N1, H1N1	Chien	Grippe
	H3N2, H1N1, H5N1	Chat	Grippe
	H10N4	Vison	Grippe
	H3N3, H4N5, H4N6, H7N7	Phoque	Grippe
	H1N3, H13N9	Baleine	Grippe
	HxNx ¹	Oiseaux aquatiques	Souvent aucun symptôme : réservoir
	H5Nx, H7Nx	Volailles	Grippe aviaire (appelée également peste aviaire)
	H7N9, H5N2, H5N8	Furets	Grippe
	H17N10, H18N11	Chauve-souris	Grippe
Virus Influenza B		Homme	Grippe
Virus Influenza C		Homme, porcins, chien	Grippe
virus Influenza D		Porcins, bovins	

¹ : Hx signifie n'importe quelle HA, Nx signifie n'importe quelle NA.

II) Présentation des virus

A) Propriétés physico-chimiques

Les *Orthomyxoviridae* sont résistants au pH acide. Ils peuvent donc se transmettre par voie digestive, car ils résistent au pH de l'estomac. Ils sont également résistants aux basses températures (4°C) [49].

En revanche, ils sont sensibles aux solvants des lipides (éther, chloroforme), aux détergents communs, au formol, aux agents oxydants et à la chaleur (56°C pendant 30 minutes).

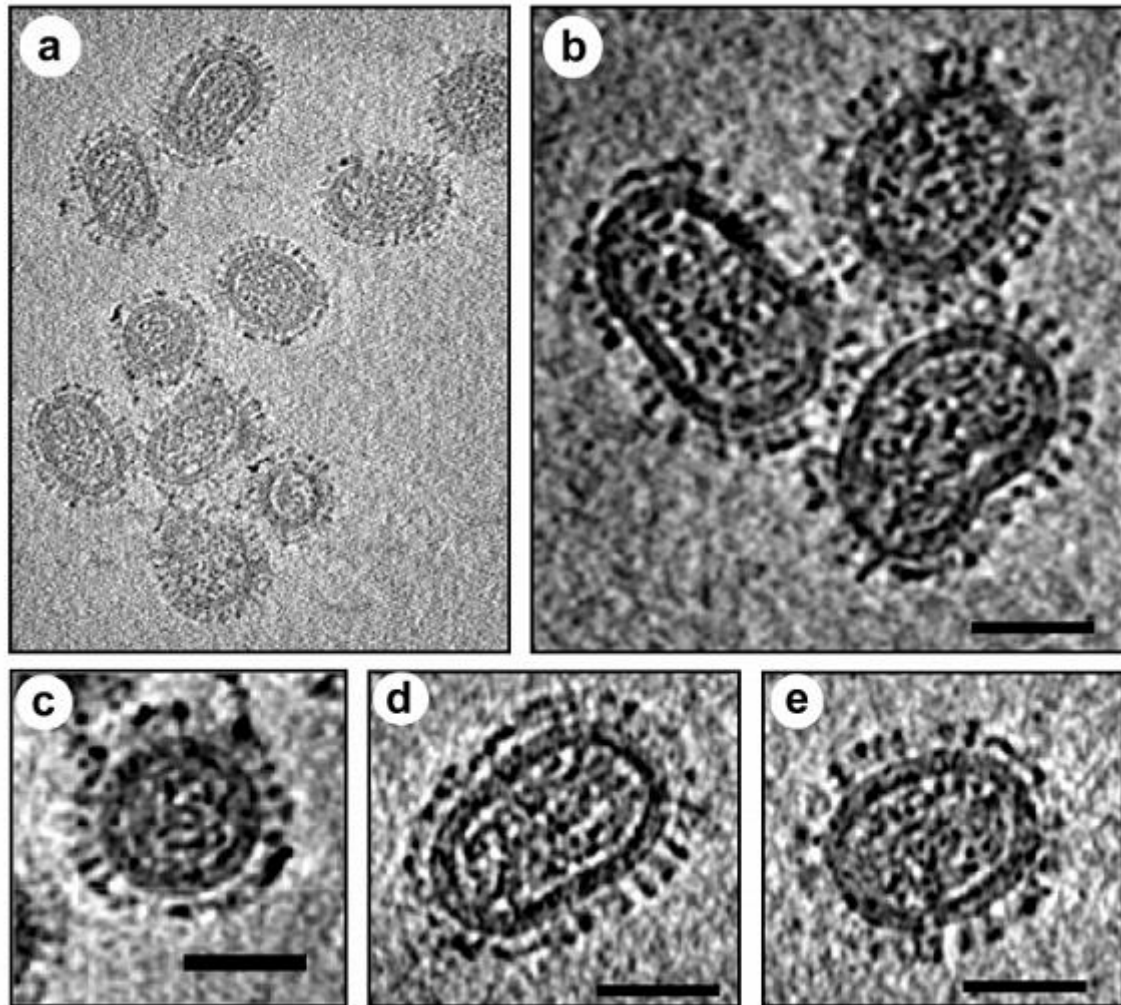
Ce sont des virus relativement fragiles dans l'environnement extérieur, mais ils y sont nettement plus résistants lorsqu'ils sont protégés par de la matière organique.

B) Présentation des particules virales

Les virus *Influenza* appartiennent à la famille des *Orthomyxoviridae*, et possèdent donc un ARN simple brin négatif segmenté.

Ce sont des virus enveloppés, de forme sphérique ou filamenteuse. Les formes sphériques mesurent environ 100 µm de diamètre, les formes filamenteuses peuvent atteindre 300 µm de long. La nucléocapside est de forme hélicoïdale. La membrane lipidique est dérivée de la cellule hôte. Elle contient de nombreuses protéines dont l'hémagglutinine et la neuraminidase d'origine virale et visibles à la cryo-microscopie électronique (*Figure 2*) [49].

Figure 2 : Reconstruction d'un virus de la grippe A par cryo-microscopie électronique, obtenu par culture virale (Source : Nayak et al., 2009)



a) Coupe d'une reconstruction par cryo-microscopie électronique en 3D d'un virus de la grippe

b-e) Comparaison de différentes particules virales observées par cryo-microscopie électronique prises au hasard. Chaque particule contient des ribonucléoprotéines (RNP) entourés d'une enveloppe avec des HA et des NA formant les pointes. Echelle = 50 nm.

Le virus *Influenza A* étant responsable en grande partie des symptômes retrouvés chez les carnivores domestiques, il sera l'objet de l'étude dans les parties suivantes.

a) Organisation génomique

1) Le génome

L'ARN des *Orthomyxoviridae* est segmenté, et compte 13,6 kb. Les virus *Influenza* A et B possèdent huit fragments, les virus *Influenza* C possèdent sept fragments. Chaque fragment contient de un à deux gènes. Le génome viral code pour 11 protéines virales.

Les huit fragments du virus *Influenza* A sont numérotés dans l'ordre décroissant de leur longueur. Les 1^{er}, 2^{ème}, 3^{ème}, 4^{ème}, 5^{ème} et 6^{ème} segments codent pour une seule protéine chacun, respectivement PB2, PB1, PA, HA, NP et NA. Le 7^{ème} fragment code pour M1 et M2, par un mécanisme d'épissage. Le 8^{ème} fragment code pour les protéines non-structurales NS1 et NS2/NEP. La synthèse des fragments d'ARN et les protéines qu'ils codent est résumée dans le *Tableau 2* :

Tableau 2 : Segments génomiques du virus Influenza A/Puerto Rico/8/1934 et protéines codées
(Source : Bouvier et Palese, 2008)

Segment	Longueur en nucléotides	Protéine(s) codée(s)	Longueur de la protéine en acides aminés	Fonction de la protéine
1	2341	PB2	759	Composant de l'ARN polymérase : reconnaissance de la coiffe des ARNm cellulaires
2	2341	PB1	757	Composant de l'ARN polymérase : élongation
		PB1-F2	87	Activité pro-apoptotique, antagoniste IFN ⁽¹⁾
3	2233	PA	716	Composant de l'ARN polymérase : activité endonucléasique, protéase
4	1778	HA	550	Glycoprotéine de surface, liaison au récepteur, activité de fusion, antigène majeur, assemblage et bourgeonnement
5	1565	NP	498	Liaison à l'ARN viral, synthèse de l'ARN viral, import des RNP viraux dans le noyau
6	1413	NA	454	Glycoprotéine de surface, clivage de la liaison entre HA et l'acide sialique
7	1027	M1	252	Protéine de matrice, interaction avec les RNP et les glycoprotéines, export des RNP hors du noyau, assemblage et bourgeonnement
		M2	97	Protéine de membrane, activité de canal ionique, assemblage et bourgeonnement
8	890	NS1	230	Protéine multi-fonctionnelle, activité antagoniste des IFN
		NEP	121	Export des RNP hors du noyau, régulation de la synthèse de l'ARN

⁽¹⁾ : Interféron

2) Le complexe ribonucléoprotéique (RNP)

Les différents fragments d'ARN s'organisent avec la nucléoprotéine (NP) et les polymérases pour former des complexes ribonucléoprotéiques (RNP) indépendants lors de la transcription et de la réplication [61]. Ceci favorise les réassortiments génomiques lors de l'infection d'une cellule par deux virus différents. Dans ces complexes RNP, ce sont les polymérases qui sont seules responsables de la transcription et de la réplication.

Les RNP forment des sortes de rubans de structure fermée superhélicoïdale. C'est surtout la nucléoprotéine qui est responsable de cette structure.

b) Les protéines structurales

La membrane lipidique contient trois protéines virales transmembranaires : NA, HA et la protéine de matrice 2 (M2). La membrane est dérivée de la membrane de la cellule hôte. Elle est constituée de radeaux lipidiques enrichis en cholestérol et d'autres lipides. HA et NA sont toujours associées aux radeaux lipidiques, alors que M2 ne l'est pas. M1 est une autre protéine structurale. Elle est située sous l'enveloppe lipidique. NP est la dernière protéine structurale, elle est associée à l'ARN viral pour former les RNP.

1) L'Hémagglutinine (HA)

C'est la principale protéine de l'enveloppe des *Orthomyxoviridae* (80 % environ des protéines de l'enveloppe).

Elle participe à la liaison au récepteur et à la fusion membranaire. Elle facilite donc l'entrée du virus dans la cellule. Elle aurait également un rôle structural dans le bourgeonnement et la formation de nouvelles particules virales.

On dénombre 18 HA différentes, qui déterminent avec la NA les sous-types de virus.

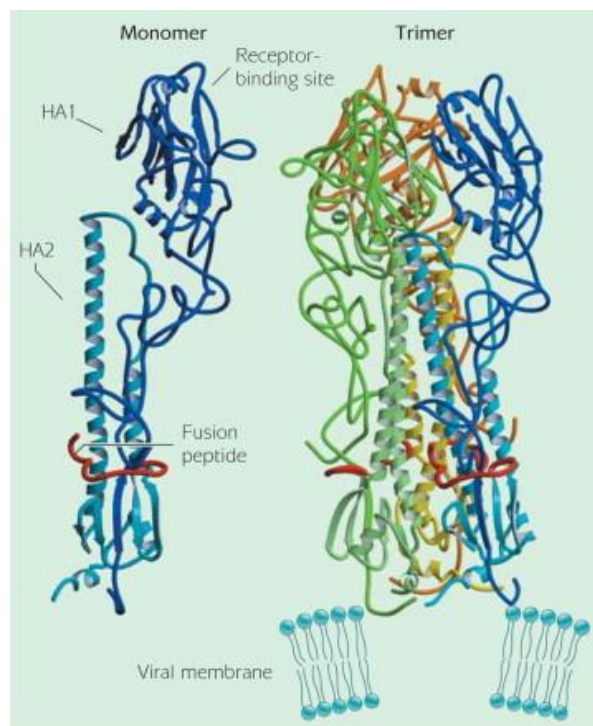
HA est un trimère de sous-unités identiques [26]. Elle se présente sous la forme d'une tige. L'extrémité carboxylée est insérée dans la membrane virale, l'extrémité hydrophylée forme une pointe à la surface de la membrane virale. Après avoir subi des modifications post-traductionnelles telles que la glycosylation et la palmitoylation, le précurseur HA0 est clivé en deux sous-unités HA1 et HA2 reliées par un pont disulfure : c'est une condition requise pour que la molécule soit active. La structure cristallographique (*Figure 3*) révèle deux structures majeures de l'hémagglutinine : une longue tige constituée d'une hélice α à trois brins enroulée sur elle-même dérivée des sous-unités HA2 (hélice A et hélice B), et une tête globulaire également constituée des trois domaines identiques des sous-unités HA1.

Les sites de liaison aux récepteurs cellulaires sont situés dans la tête globulaire de l'hémagglutinine. Les acides sialiques présents sur les membranes des cellules-hôtes sont les récepteurs des *Orthomyxoviridae*.

Chez les équins et les oiseaux, les acides sialiques forment une liaison $\alpha 2,3$ avec le galactose et les virus *Influenza* de ces espèces reconnaissent spécifiquement ce type d'acide sialique. De même chez l'Homme, les acides sialiques sont liés en $\alpha 2,6$ avec le galactose et l'hémagglutinine reconnaît spécifiquement cette configuration. Chez le porc, les deux types d'acides sialiques $\alpha 2,3$ et $\alpha 2,6$ existent, ce qui explique en partie que les porcs soient de bons vecteurs de passage du virus d'une espèce à une autre, notamment des oiseaux aux humains [41].

L'hémagglutinine possède un peptide de fusion qui forme une structure hélicoïdale en tête d'épingle qui se replie sur lui-même. La fusion entre le virus et la cellule-hôte est permise par le changement de conformation de l'hémagglutinine à pH bas. La molécule devient alors sensible à l'activité protéasique et le pont disulfure liant les sous-unités HA1 et HA2 devient sensible au β -mercaptoéthanol. Le peptide de fusion devient aligné anti-parallèlement au peptide responsable de l'ancrage à la membrane de la sous-unité HA2. Le peptide de fusion rapproche alors la membrane de la cellule-hôte et la membrane virale et permet la fusion des deux membranes [41].

Figure 3 : Structure tridimensionnelle de l'hémagglutinine (monomère à gauche, trimère à droite)
(Source : <http://www.rapidreferenceinfluenza.com/>)



La sous-unité HA1 est représentée en bleu foncée, la sous-unité HA2 est représentée en bleu clair. Le peptide de fusion est représenté en rouge. Le site de liaison de HA1 est situé à l'extrémité de la molécule.

L'hémagglutinine est l'antigène majeur reconnu par le système immunitaire adaptatif des hôtes. A la suite de l'infection et de la réplication, une réponse immunitaire importante est mise en place, aboutissant généralement à la formation d'anticorps neutralisants. Ces anticorps peuvent être responsables de la sélection de variants échappant à cette réponse immunitaire. Les acides aminés concernés par les changements sont presque exclusivement situés sur la sous-unité HA1.

2) La Neuraminidase (NA)

Il existe 11 neuraminidases différentes. Elle représente environ 17 % des protéines virales de l'enveloppe des *Orthomyxoviridae*.

Elle participe à la libération du virus de la cellule par le biais d'un clivage de la liaison HA-acide sialique.

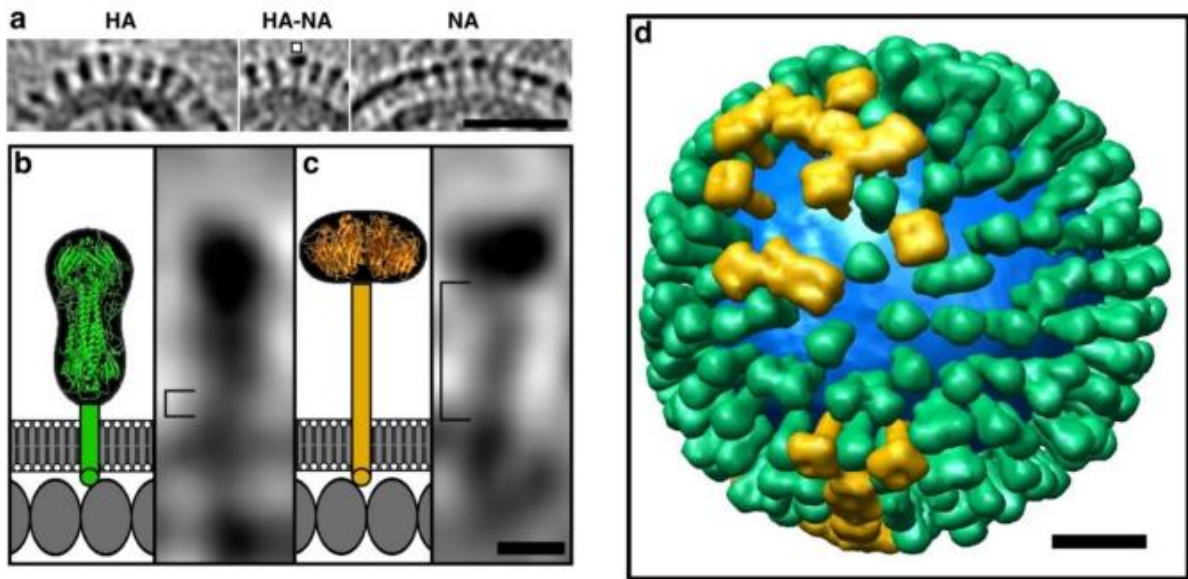
NA est une protéine intégrale de la membrane virale. Son extrémité N-terminale est dirigée vers l'intérieur du virus. Cette protéine s'assemble en tétramère de sous-unités identiques formant une tige de longueur variable sur laquelle s'attache une tête globulaire [26]. Chaque sous-unité formant la tête est composée de six feuillets β de topologie identique rassemblés en une hélice. Le site actif de l'enzyme est situé au centre de chaque sous-unité.

Durant la réplication du virus, NA supprime la liaison entre l'acide sialique et les glycoprotéines cellulaires. Les virus néoformés sont alors libérés de la membrane cellulaire et peuvent aller infecter d'autres cellules-cibles.

Les anticorps anti-NA bloquent cette activité de destruction de la liaison entre l'acide sialique et HA et limitent ainsi l'infection. Cette activité est également la cible des médicaments antigrippaux [41].

L'organisation des HA et NA au sein du virus est représentée dans la *Figure 4* :

Figure 4 : Reconstruction d'un virus-modèle Influenza A par cryo-microscopie électronique (Source : Nayak et al., 2009)



- a) Assemblage de HA (à gauche), NA (marquée ◻) au milieu de HA (au centre), et de NA majoritaires (à droite)
- b) Schéma et agrandissement en microscopie électronique des domaines transmembranaires et externes des protéines HA. Echelle = 20 nm
- c) Schéma et agrandissement en microscopie électronique des domaines transmembranaires et externes des protéines NA. Echelle = 20 nm
- d) Modèle de distribution de HA (en vert) NA (en jaune) et la membrane lipidique (en bleu) sur un virus

3) La protéine de matrice M1

M1 est la protéine virale la plus abondante du virion.

M1 est constituée de deux domaines hélicoïdaux globulaires liés par une région sensible aux protéases. Les tiges de 6 nm de longueur correspondant aux monomères de M1 possèdent une extrémité en contact avec la membrane virale et une extrémité dirigée vers l'intérieur du virus.

Située sur la face interne de la membrane lipidique, elle participe à sa rigidité. Elle est également attachée aux extrémités cytoplasmiques des glycoprotéines membranaires et aux RNP. Elle a donc une fonction d'ancrage du cœur du virus à la membrane virale [41].

4) La protéine de matrice M2

M2 est une protéine tétramérique entièrement intégrée à la membrane virale. Elle possède un court ectodomaine, un domaine transmembranaire et un domaine cytoplasmique. Le domaine transmembranaire est constitué de quatre hélices formant un pore à la surface du virus.

Chaque enveloppe virale n'en contient que 16 à 20 copies. Elle constitue un canal ionique sélectif à protons, qui sera déterminant lors de l'entrée du virus dans la cellule. En effet, elle serait responsable de la conduction des protons des endosomes acidifiés vers l'intérieur du virus afin qu'ils dissocient les complexes RNP du reste des composants viraux, ce qui faciliterait la libération des composants viraux à l'intérieur de la cellule-hôte.

La portion externe de la protéine pourrait servir de base à un projet de vaccin universel contre toutes les souches de virus grippaux car elle contient une séquence hautement conservée au cours du temps.

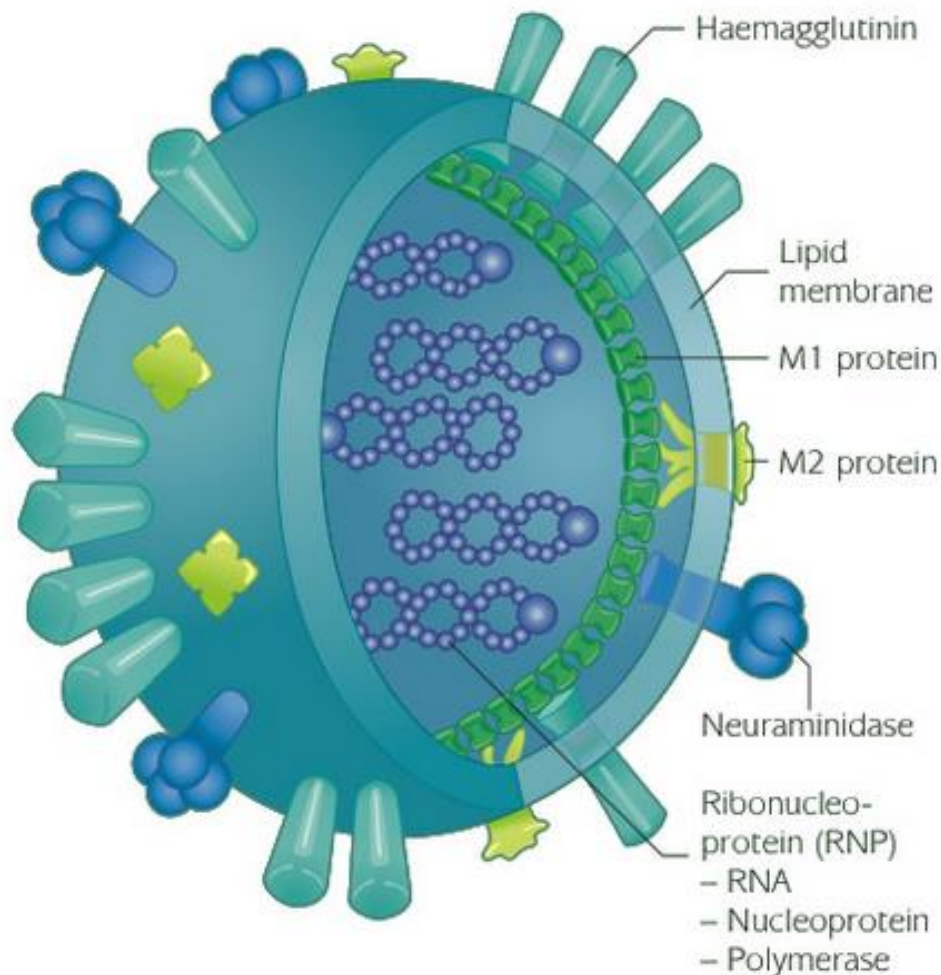
5) La nucléoprotéine (NP)

C'est la protéine virale principale permettant la formation des RNP liant l'ARN et les polymérases. Elle possède des signaux de localisation nucléaire (NLS), qui sont les médiateurs dans le transport de l'ARN viral du noyau au cytoplasme des cellules [41].

L'importine α , qui est une protéine cellulaire, reconnaît les NLS et se lie à eux. Elle recrute ensuite l'importine β pour former un complexe trimérique qui se fixe aux pores nucléaires, permettant ainsi le transport des ARN viraux.

La structure du virus *Influenza A* est schématisée dans la *Figure 5* :

Figure 5 : Reconstitution schématique du virus Influenza A avec ses différents constituants (RNP et protéines structurales) (Source : <http://www.rapidreferenceinfluenza.com/>)



c) Les protéines non structurales

1) Le complexe polymérase

Le complexe ARN polymérase est constitué de trois sous-unités, PA, PB1 et PB2, dont la masse moléculaire globale est de 250 kDa. Les trois protéines sont assemblées en une structure compacte. PB1 est attachée à PA par son extrémité N-terminale et à PB2 par son extrémité C-terminale. L'extrémité N-terminale de PA est attachée à PB2.

PB1 (Polymérase Basique 1) catalyse l'addition séquentielle des nucléotides durant l'élongation du brin d'ARN, lors de la réplication. Elle contient les motifs caractéristiques conservés de l'ARN polymérase ARN-dépendante. Le site actif de l'activité polymérase est situé en position 444 à 446. Elle participerait également à l'initiation de la transcription et de la traduction.

PB2 (Polymérase Basique 2) joue un rôle critique dans l'initiation de la transcription et participe à la liaison de la coiffe des pré-ARNm de l'hôte. C'est le domaine comprenant les résidus 318 à 483 qui est responsable de la liaison à la coiffe.

PA (Polymérase Acide) possède un rôle dans la traduction de par sa fonction protéase. L'extrémité N-terminale contient l'activité endonucléase qui sera utile lors du clivage des parties de la coiffe des ARNm de la cellule hôte qui serviront de séquence primaire à la transcription virale. PA possède également une fonction protéolytique. PA est aussi la cible de la caséine-kinase II ; elle est phosphorylée sur les résidus sérine et thréonine [41].

2) La protéine non-structurale 1 (NS1)

NS1 est une protéine nucléaire dimérique. Elle possède un domaine de liaison à l'ARN, présentant le site actif et une queue. Le site actif contient plusieurs sites de liaison à de multiples facteurs de l'hôte.

NS1 est une antagoniste des IFN. Elle inhibe la réponse immunitaire innée de l'hôte basée sur la sécrétion d'IFN induite par l'infection par le virus. Un virus mutant ne contenant pas le gène codant la protéine NS1 présente des capacités de multiplication limitées dans un milieu contenant des IFN, alors que la multiplication virale est efficace dans un milieu dépourvu d'IFN.

En plus de l'inhibition de la synthèse d'IFN, NS1 inhibe également la transcription des pré-ARNm de l'hôte. Elle interfère avec l'export des ARNm cellulaires et induit ainsi une diminution de la synthèse des protéines de l'hôte [41].

3) La protéine non-structurale 2 (NS2 ou NEP)

Elle est responsable avec la protéine M1 de l'export des RNP nouvellement formés du noyau vers le cytoplasme afin que les nouveaux virions puissent être construits. NEP interagit avec le récepteur de l'export Crm1 et plusieurs nucléoporines. Elle s'associe également à M1, un complexe RNP-M1-NEP est alors formé dans le noyau. NEP recrute alors la machinerie cellulaire de l'export et dirige l'export du complexe en dehors du noyau. L'injection d'anticorps anti-NEP dans le noyau de cellules infectées inhibe l'export du complexe, ce qui traduit l'importance de NEP.

Un signal d'export constitué de méthionines et de leucines est présent sur l'extrémité N-terminale de NEP et est déterminant dans la fonction d'export des RNPs. NEP participerait

également au bourgeonnement des nouveaux virions par le biais d'une liaison avec une ATPase cellulaire [41].

4) La protéine PB1-F2

Elle contribue à la pathogénicité par le biais de plusieurs mécanismes. Elle possède une fonction pro-apoptotique qui permet aux virus d'échapper à la réponse immunitaire. Elle possède également des propriétés pro-inflammatoires : elle augmente la quantité de certaines cytokines et chémokines, renforce l'infiltration par des cellules inflammatoires et exacerbe les lésions pulmonaires chez des souris infectées expérimentalement. Il a été prouvé que la présence d'une sérine en position 66 augmente de façon importante la mortalité et les phénomènes immunopathologiques induits par le virus H5N1 et par le virus H1N1 responsable de la pandémie de 1918 [41].

C) Le cycle viral

a) L'attachement à la cellule hôte

Les HA se lient aux acides sialiques retrouvés à la surface des cellules hôtes. Selon les virus, les HA peuvent reconnaître des acides sialiques avec les liaisons $\alpha 2,3$ et/ou $\alpha 2,6$. La présence de l'un ou l'autre type d'acide sialique dépend de l'espèce [64]. Cependant la spécificité n'est pas absolue et certaines cellules humaines et aviaires possèdent les deux types de liaisons. Par ailleurs, cette spécificité de liaison peut faire l'objet de mutations : le changement d'un seul acide aminé peut changer la spécificité de reconnaissance d'une liaison $\alpha 2,3$ vers une liaison $\alpha 2,6$.

La liaison préférentielle des virus canins et félins est encore mal connue.

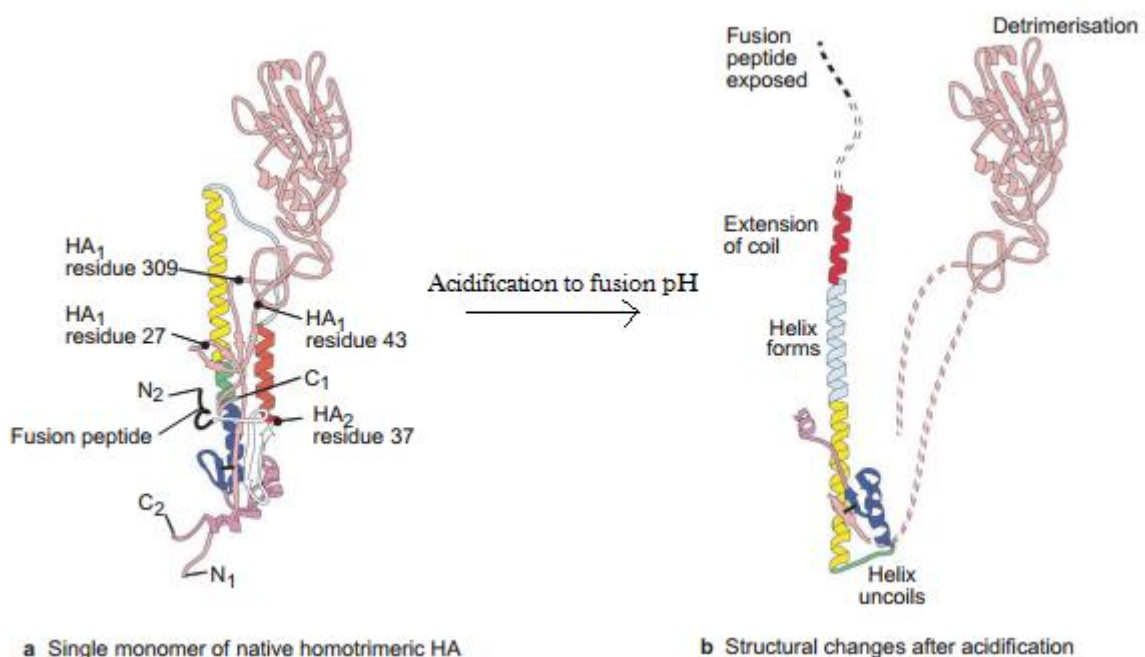
b) L'entrée dans la cellule hôte

Une fois la liaison entre HA et l'acide sialique de la cellule hôte effectuée, le virus entre par endocytose récepteur-dépendante. Le pH de l'endosome est de 5-6 : ce pH bas est indispensable à la fusion de la membrane de l'endosome et de l'enveloppe virale. La fusion est induite par un changement de conformation de HA qui expose alors le peptide de fusion situé à l'extrémité N-terminale de la sous-unité HA2 (*Figure 6*). Le peptide peut alors interagir avec la membrane de l'endosome. A pH bas, le changement conformationnel entraîne la juxtaposition du domaine transmembranaire (inséré dans la membrane virale) de HA2 et du

peptide de fusion (inséré dans la membrane de l'endosome). Le changement structural de plusieurs HA en même temps entraîne la formation d'un pore qui permet de libérer le contenu de la particule virale (les RNP) dans le cytoplasme de la cellule hôte [41].

L'environnement acide de l'endosome permet également l'ouverture du canal à protons formé par M2 : les protons sortent de l'endosome et se retrouvent dans le virus, entraînent alors son acidification. L'acidification perturbe les liaisons entre les protéines et permet la libération des complexes RNP des protéines M1. Les RNP sont donc libres dans le cytoplasme de la cellule hôte.

Figure 6 : Représentation du changement conformationnel de HA à pH acide (Source : <http://www-ermm.cbcu.cam.ac.uk>)



- La structure de base de l'ectodomaine de HA est présentée comme un monomère de la molécule homotrimerique. La région proche de la membrane est située en bas de la figure. Les extrémités N- et C- terminales de chaque segment sont indiquées (N1 et C1 pour HA1 ; N2 et C2 pour HA2) et représentent les lieux de clivage. Le peptide de fusion à l'extrémité N-terminale de HA2 est représenté en noir (l'autre court trait noir représente le pont disulfure reliant les deux sous-unités HA1 et HA2).
- L'acidification de HA induit un changement de conformation. Une sous-unité du trimère réorganisé est présentée. Les domaines globulaires distaux à la membrane se détremèrent et le domaine HA2 subit deux réarrangements structuraux majeurs. La chaîne (en bleu clair) constituant le prolongement entre les deux hélices α (en jaune et en rouge) devient hélicoïdale et étend la double spirale. Ceci permet d'exposer le peptide de fusion qui était en position cachée au sein du trimère à la membrane de l'endosome (vers le haut de la figure). L'autre changement implique la région représentée en vert : l'hélice est transformée en boucle, ce qui

induit la réorientation de l'extrémité C-terminale de la longue hélice représentée en bleu foncé.

c) L'entrée du génome viral dans le noyau de la cellule hôte

Après la libération des RNP dans le cytoplasme, ceux-ci doivent pénétrer dans le noyau. Tous les composants des RNP possèdent des signaux de localisation nucléaire (NLS), mais ce sont les signaux de NP qui sont le plus efficaces et suffisants pour l'import des RNP [41]. Ces signaux se lient au récepteur Crm1, ce qui déclenche l'import du génome viral dans le noyau de la cellule. Cependant ce mécanisme est encore non totalement élucidé. Le génome viral peut alors pénétrer dans le noyau de la cellule hôte où se déroulera la réplication.

d) La réplication du génome viral

Afin que le génome viral puisse être transcrit, il doit être converti en simple brin positif.

Les segments d'ARN des virus *Influenza* possèdent des séquences non codantes. Les séquences des extrémités sont conservées entre tous les segments d'ARN. Les 12 nucléotides de l'extrémité 3' et les 13 nucléotides de l'extrémité 5' du génome viral sont inversement complémentaires et peuvent s'apparier : les segments forment alors des poignées. Ces régions appariées constituent le promoteur, c'est à cet endroit que s'attache la polymérase pour débiter la transcription.

La synthèse de l'ARN messager (ARNm) viral nécessite une séquence primaire provenant de la coiffe en 5' d'un pré-ARNm cellulaire. Ceci est permis grâce à l'activité endonucléase de PA et des protéines PB1 et PB2. PB1 se lie à l'extrémité 5' méthylée de l'ARNm de la cellule-hôte, ce qui induit un changement allostérique du complexe polymérase et permet la reconnaissance et la liaison de PB2 à la coiffe. Cette dernière se lie également à l'extrémité 3' de l'ARN viral qui est appariée à l'extrémité 5', ce qui confère une plus grande stabilité au complexe polymérase et active la fonction endonucléase de PA. PA clive alors la coiffe en 5' 10 à 13 nucléotides plus loin. C'est ce fragment qu'utilise le complexe polymérase pour amorcer la transcription.

Des ARNm sont alors produits, ils sont ensuite polyadénylés. La polyadénylation est catalysée par la même polymérase qui sert à la transcription. Elle est nécessaire pour l'export du matériel hors du noyau.

Sur les huit fragments d'ARN que possède le virus *Influenza A*, deux codent pour deux protéines (le fragment n°7 code pour M1 et M2, le fragment n°8 code pour NS1 et NS2). Ceci est permis grâce à l'épissage : le virus utilise le système d'épissage de la cellule hôte et le détourne pour l'empêcher de réaliser l'épissage de ses propres ARNm. Celui-ci est permis en

partie par NS1 qui se lie aux small nuclear RNA (snRNA) et à d'autres agents d'épissage et les relocalise vers le noyau de la cellule-hôte.

Les RNA viraux servent de modèle pour la synthèse des RNA complémentaires (ARNc) de polarité positive et des ARNm. Les ARNc servent d'intermédiaires pour la synthèse de nouveaux RNA viraux à polarité négative. Les ARNm sont alors traduits pour former les protéines qui constitueront les nouvelles particules virales.

Les RNP nouvellement formés s'assemblent dans le noyau, à partir duquel ils sont exportés vers le cytoplasme de la cellule [41].

e) L'export des RNP du noyau vers le cytoplasme

Les protéines M1 et NS2 sont responsables de l'export des RNP. M1 s'associe avec RNP dans le noyau et aboutit à la formation de complexes de RNP. NS2 s'associe à M1, et le complexe RNP-M1-NS2 se lie à la machinerie d'export par le biais de la liaison de NS2 au récepteur Crm1 et aux nucléoporines [41].

f) L'assemblage des virus et bourgeonnement

Une fois les RNP sortis du noyau, des particules virales sont formées et doivent sortir de la cellule. Les particules virales s'assemblent et bourgeonnent à partir de la membrane apicale des cellules polarisées. Ce processus asymétrique (les virus ne bourgeonnent jamais à partir de la membrane basolatérale) possède un rôle important dans la pathogénicité et le tropisme tissulaire restreint du virus.

Les trois protéines intégrales de la membrane (HA, NA et M2) entrent dans le réticulum endoplasmique et HA et NA sont alors glycosylées (M2 ne l'est pas) ; HA s'assemble en trimère et NA et M2 s'assemblent en tétramères. Elles sont ensuite transportées jusqu'à l'appareil de Golgi où les résidus cystéine de HA et M2 sont palmytoylés. HA, NA et M2 sont alors transportées directement vers le site d'assemblage des virus sur la membrane apicale grâce à des signaux situés dans leur domaine transmembranaire. Ce domaine contient aussi des déterminants dans l'association des protéines avec les radeaux lipidiques, qui sont le lieu préférentiel de bourgeonnement des virus. M2 ne s'associe pas aux radeaux, elle se lie préférentiellement aux cholestérols de la membrane et est responsable de la capture des RNP au site d'assemblage. La manière dont les autres composants viraux atteignent le site d'assemblage reste non élucidée.

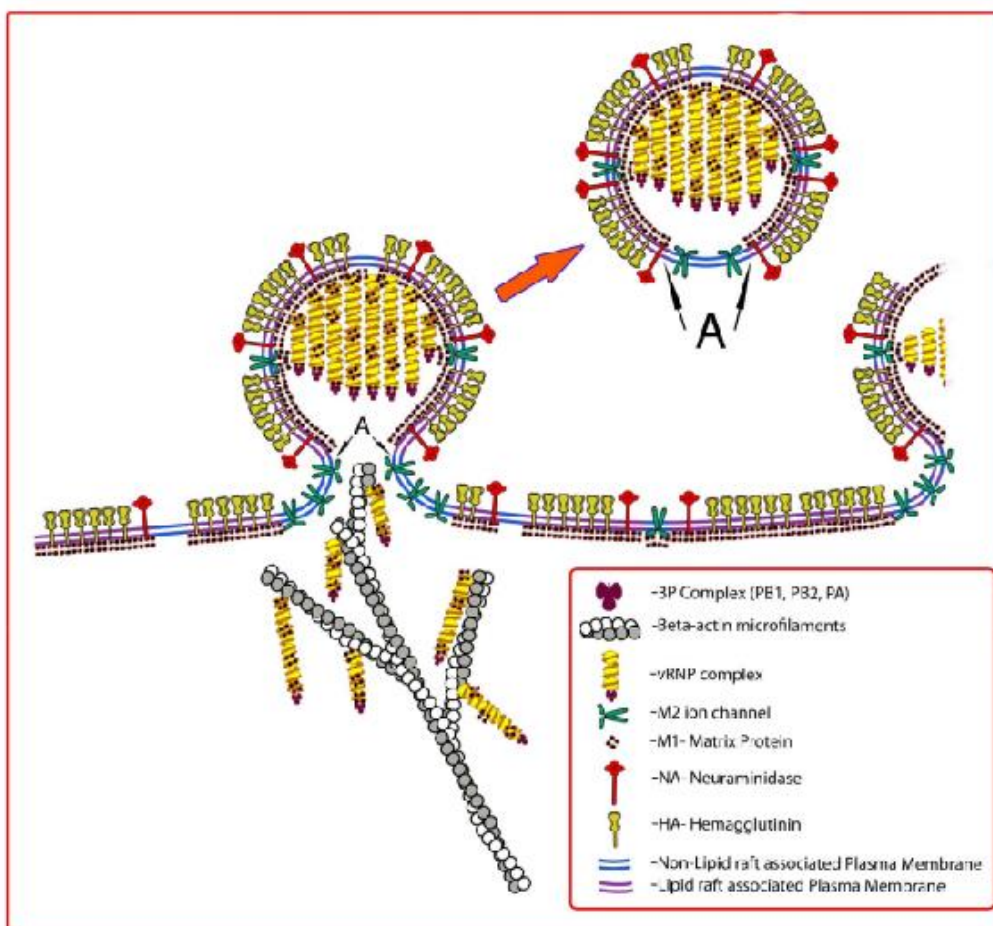
Deux modèles sont proposés pour l'assemblage des nouvelles particules virales : un assemblage aléatoire de huit RNA ou plus dans chaque virus conduirait à un faible

pourcentage de virus ayant la capacité d'infecter d'autres cellules. Un deuxième modèle d'incorporation sélective suggère que chaque segment d'ARN agit indépendamment. C'est ce modèle qui est privilégié.

Le virus *Influenza* est un virus enveloppé : il doit donc utiliser la membrane de la cellule hôte pour former sa membrane lipidique, qui lui permettra de quitter la cellule et infecter les cellules voisines. La membrane cellulaire s'incurve, le bourgeon se forme et la membrane fusionne à la base du bourgeon. La particule virale est libérée après la fission à partir de la membrane.

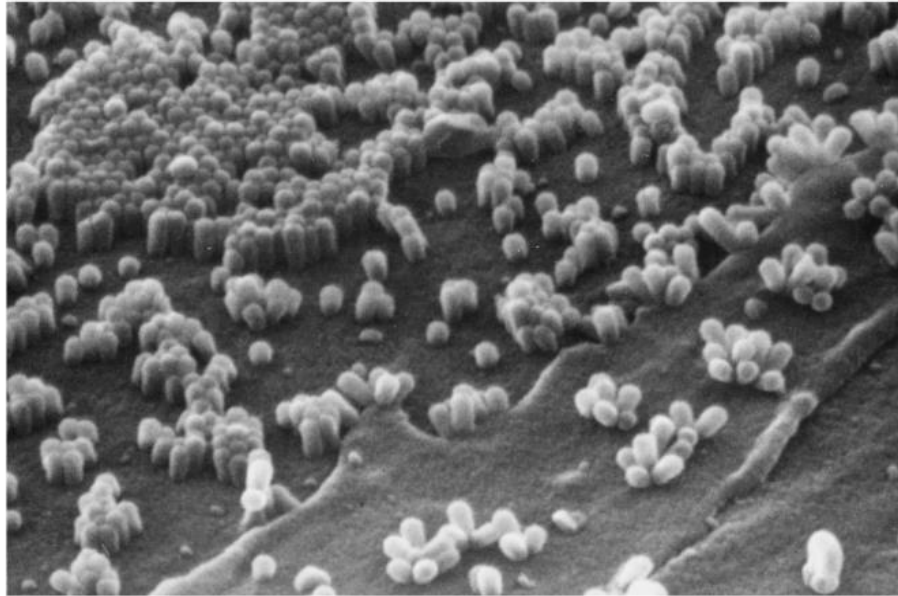
M1 joue un rôle majeur dans le bourgeonnement et la fusion de la membrane des nouveaux virus, ainsi que M2 qui serait responsable de l'incurvation de la membrane et de la scission (*Figure 7*). Cependant l'étape la plus importante est le clivage de la liaison entre l'acide sialique de la cellule-hôte et HA. Ce clivage est permis par l'activité enzymatique de NA, et entraîne la libération des nouveaux virus de la membrane de la cellule cible (*Figure 8*).

Figure 7 : Schéma de la libération des nouveaux virus après le bourgeonnement (Source : Nayak et al., 2009)



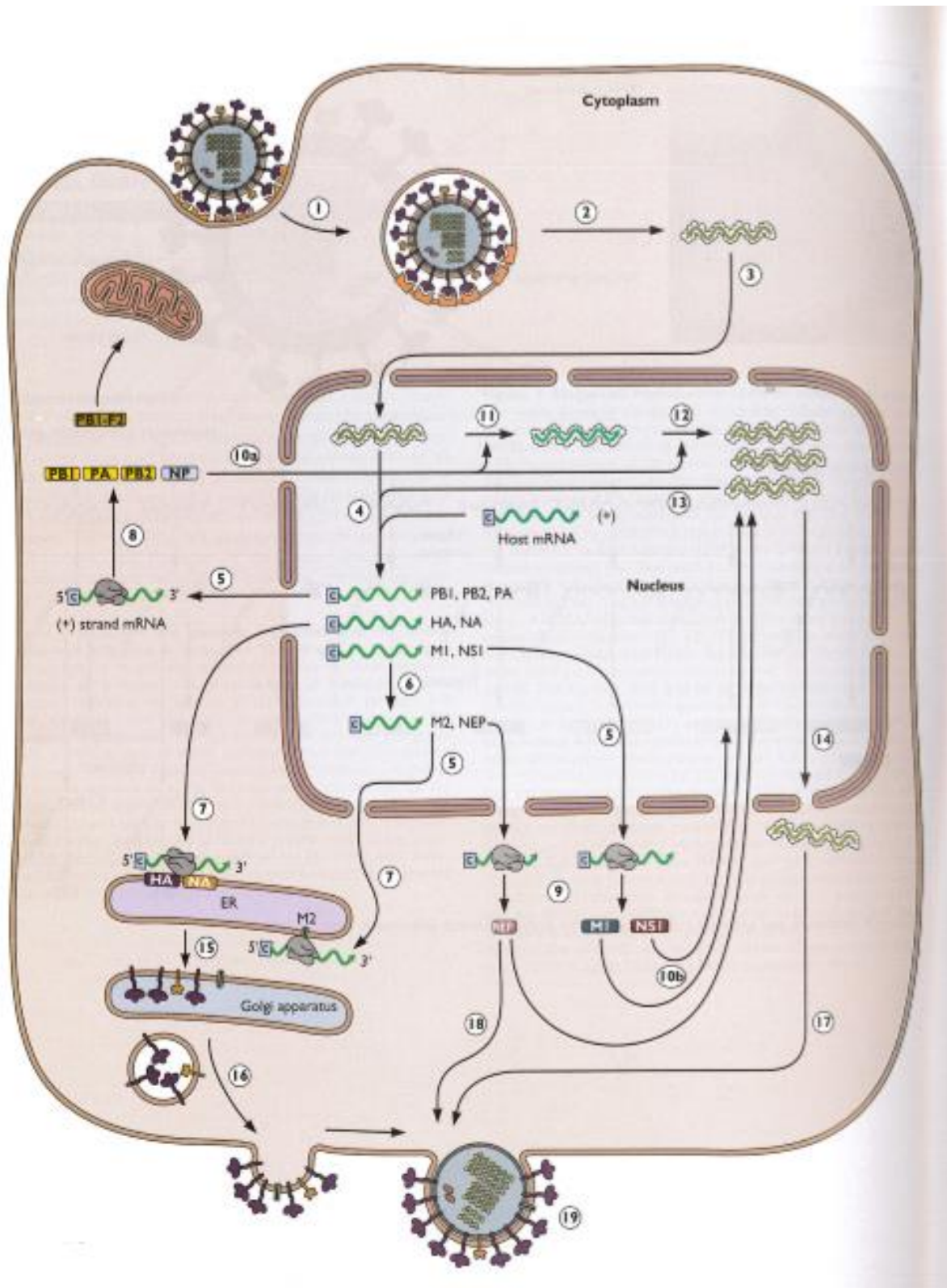
M2 permet le rapprochement des membranes au niveau de zones dépourvues de radeaux lipidiques.

Figure 8 : Bourgeonnement des nouveaux virions sur la membrane d'une cellule infectée observé en microscopie électronique (*40.000) (Source : Nayak et al., 2009)



Un schéma global du cycle des virus *Influenza* est présenté dans la Figure 9 :

Figure 9 : Schéma d'un cycle viral d'un virus Influenza A (Source : Flint et al., 2013)



Le virus se lie à l'acide sialique situé sur des protéines ou les lipides de la surface de la membrane cellulaire et pénètre dans la cellule par le biais d'une endocytose récepteur-dépendante (1). L'acidification de la vésicule permet la fusion de la membrane virale et la membrane cellulaire. La nucléocapside virale est alors libérée dans le cytoplasme (2). La nucléocapside contient des ARN simple brins, des NP et des polymérases qui sont transportées dans le noyau (3). L'ARN négatif est copié par l'ARN polymérase virale, à l'aide de la coiffe à l'extrémité 5' des pré-ARNm de l'hôte qui constitue la séquence primaire et permet d'initier la synthèse (4). Les ARNm sont transportés dans le cytoplasme (5), après épissage des segments codant pour deux protéines (6). Les ARNm codant pour les protéines membranaires (HA, NA et M2) sont traduits par les ribosomes fixés au réticulum endoplasmique (7). Ces protéines pénètrent dans la machinerie de sécrétion de la cellule hôte, où HA et NA sont glycosylées. Les autres ARNm sont traduits par les ribosomes dans le cytoplasme (8 et 9). Les protéines PA, PB1, PB2 et NP sont importées dans le noyau (10a), où elles participent à la synthèse d'ARN à polarité positive (11) puis des ARN à polarité négative (12), qui sont synthétisés sous la forme de nucléocapsides. Certains ARN à polarité négative nouvellement synthétisés entrent dans la voie de synthèse des ARNm (13). Les protéines M1 et NS1 sont transportées dans le noyau (10b). La fixation de M1 aux ARN à polarité négative nouvellement synthétisés interrompt la synthèse d'ARNm et avec l'aide de NS1, induit l'export des nucléocapsides dans le cytoplasme (14). Les protéines HA, NA et M2 sont transportées vers la surface cellulaire (15) et sont incorporées à la membrane plasmique (16). La nucléocapside virale associée à la protéine M1 (17), et la protéine NS2 (18) sont transportées à la surface de la cellule et s'associent aux régions de la membrane plasmique contenant les protéines HA et NA. L'assemblage des particules virales est suivi du bourgeonnement à partir de la membrane plasmique (19).

III) Evolution génétique et ses conséquences

Les virus *Influenza* ont un déterminisme d'hôtes : ils sont spécifiques d'espèces.

Ils évoluent selon un processus complexe impliquant l'accumulation de mutations au cours du temps et le réarrangement des segments d'ARN viraux dans les cellules infectées par deux (voire plus) virus différents.

Les oiseaux sauvages aquatiques sont leur principal réservoir : ils peuvent être infectés par presque toutes les HA et NA, à l'exception de H17 et H18 ainsi que N10 et N11, qui ne sont rencontrées que chez les chiroptères. Il arrive que certains virus habituellement absents passent la barrière d'espèce et s'adaptent au nouvel hôte grâce à des mutations qui affectent certains de leurs gènes.

A) Capacités de mutation et recombinaisons

La variabilité antigénique des virus *Influenza* repose sur deux mécanismes : la dérive antigénique et la cassure antigénique.

a) Dérive antigénique

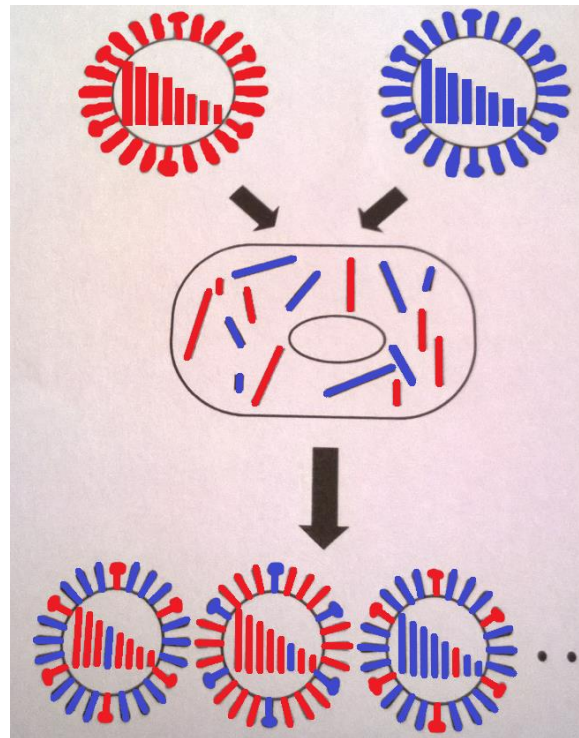
Elle intervient lorsque les gènes codant pour les antigènes de surface, soit HA et NA, subissent des mutations minimales probablement à chaque cycle de réplication du virus. À force de mutations, ces protéines situées à la surface des virus subissent un changement assez important pour que les anticorps de l'hôte soient incapables de neutraliser le virus. Le variant échappe alors à la réponse immunitaire et est capable de causer la maladie.

Le taux de mutation du génome des virus *Influenza* est élevé. En effet, l'ARN polymérase ARN-dépendante est peu fidèle et introduit beaucoup d'erreurs lors de la réplication : elle ne possède pas la capacité de relecture. Le taux de mutation serait de 5×10^{-4} à 8×10^{-3} substitutions de nucléotide par site et par an. De nombreuses souches non viables ou atténuées sont produites par cette constante mutation, et la pression de sélection exercée par les anticorps et par le passage à de nouvelles espèces entraîne la disparition de ces variants. Cependant, certains variants issus des mutations vont pouvoir se développer dans le contexte de ces nouvelles contraintes. Les protéines des virus des mammifères et des oiseaux terrestres subissent continuellement des substitutions d'acides aminés, alors que celles des oiseaux sauvages aquatiques n'évoluent que très lentement [86].

b) Cassure antigénique

Le deuxième mécanisme de variabilité est beaucoup moins fréquent. Il intervient lorsque deux virus différents, provenant éventuellement de deux espèces différentes, infectent un même hôte, par exemple un porc, qui agit alors comme un support de mélange (« mixing vessel » en anglais) des deux virus (Figure 10). Par le biais de réassortiments de fragments de génome, un nouveau virus possédant des éléments des deux différents virus est créé. Ce virus recombinant ou hybride peut manquer des facteurs de virulence suffisants pour se développer : il est alors atténué ou non viable. Il peut aussi posséder des facteurs de virulence pour l'Homme et un nouvel antigène de surface, le plus souvent HA (provenant d'un hôte animal). Un tel virus possède un potentiel pandémique car il est pathogène pour l'Homme et possède un nouvel antigène de surface qui n'est pas reconnu par les anticorps humains. Une fois que la nouvelle souche est créée, le virus continue à répliquer et à s'adapter au sein de l'espèce par le biais de la dérive antigénique [86].

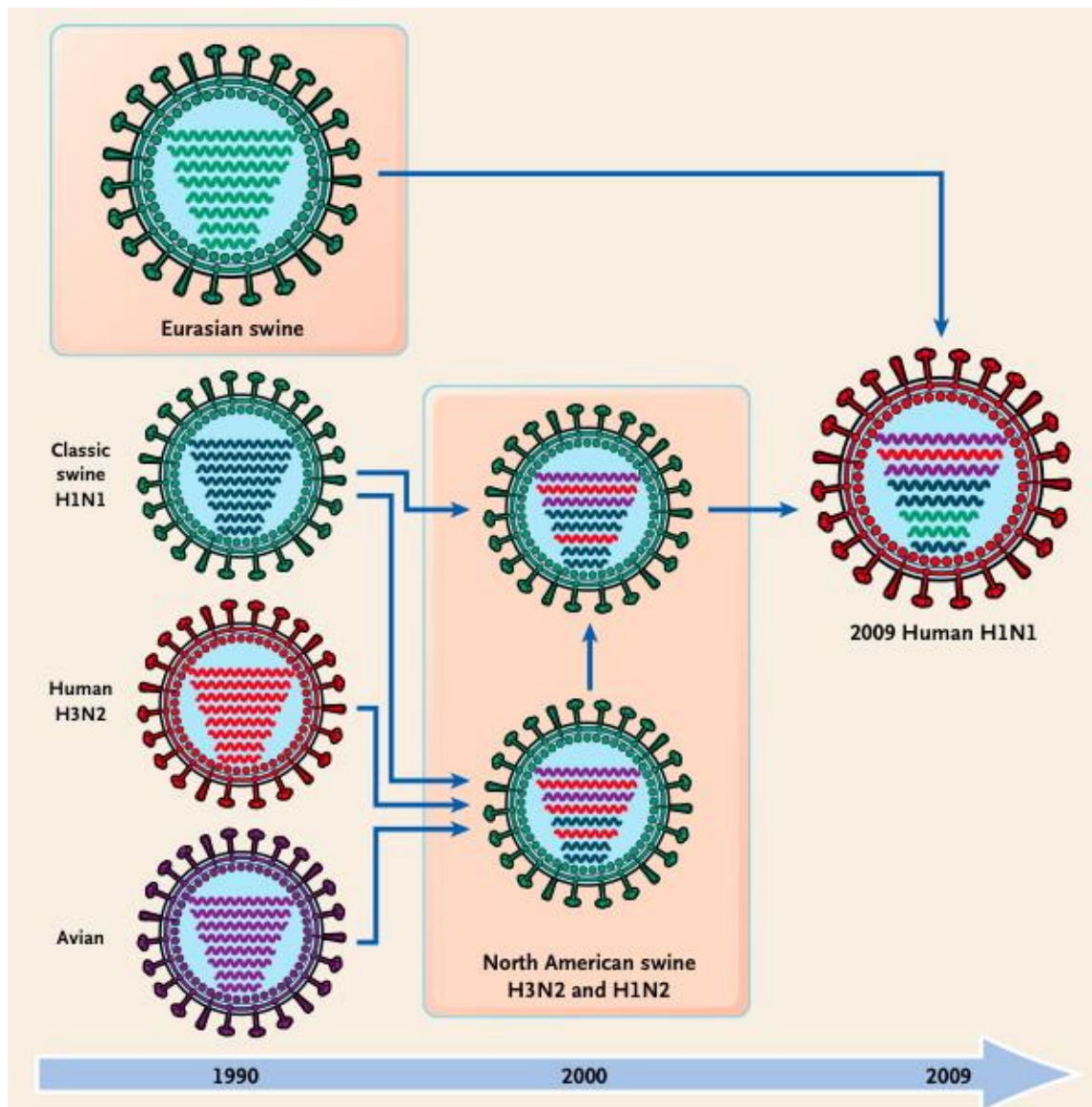
Figure 10 : Schéma de la cassure antigénique, ou réassortiment (Source : Knipe et al., 2013)



Une cellule infectée par deux virus de la grippe A différents peut théoriquement produire 256 génotypes différents (2^8 nouveaux génotypes et les deux génotypes parentaux). Le réassortiment est le phénomène majeur d'apparition de pandémies de grippe.

Par exemple, l'épidémie liée au virus H1N1 en 2009 était causée par un virus ayant subi plusieurs réassortiments (Figure 11) : il possédait les segments PA et PB2 d'un virus aviaire Nord-Américain, les segments NA et M d'un virus porcin dérivé d'une souche aviaire eurasiennne, un segment PB1 dérivé d'un virus H3N2 humain, et les segments HA et NP d'un virus H1N1 porcin classique. Six de ces segments (tous sauf NA et M) étaient dérivés d'un virus ayant subi un triple réassortiment humain/aviaire/porcin qui avait émergé en 1997/1998 et s'était répandu à travers la population porcine nord-américaine. Dans ce cas en 2009, au moins deux réassortiments ont été à l'origine de l'émergence de la nouvelle souche pandémique : la génération d'un virus triple réassortant porcin, et l'introduction dans ce virus d'une NA provenant d'une souche d'origine aviaire eurasiennne.

Figure 11 : Schéma du réassortiment subi par le virus ayant causé l'épidémie de 2009 (Source : <http://www.virology.ws/>)



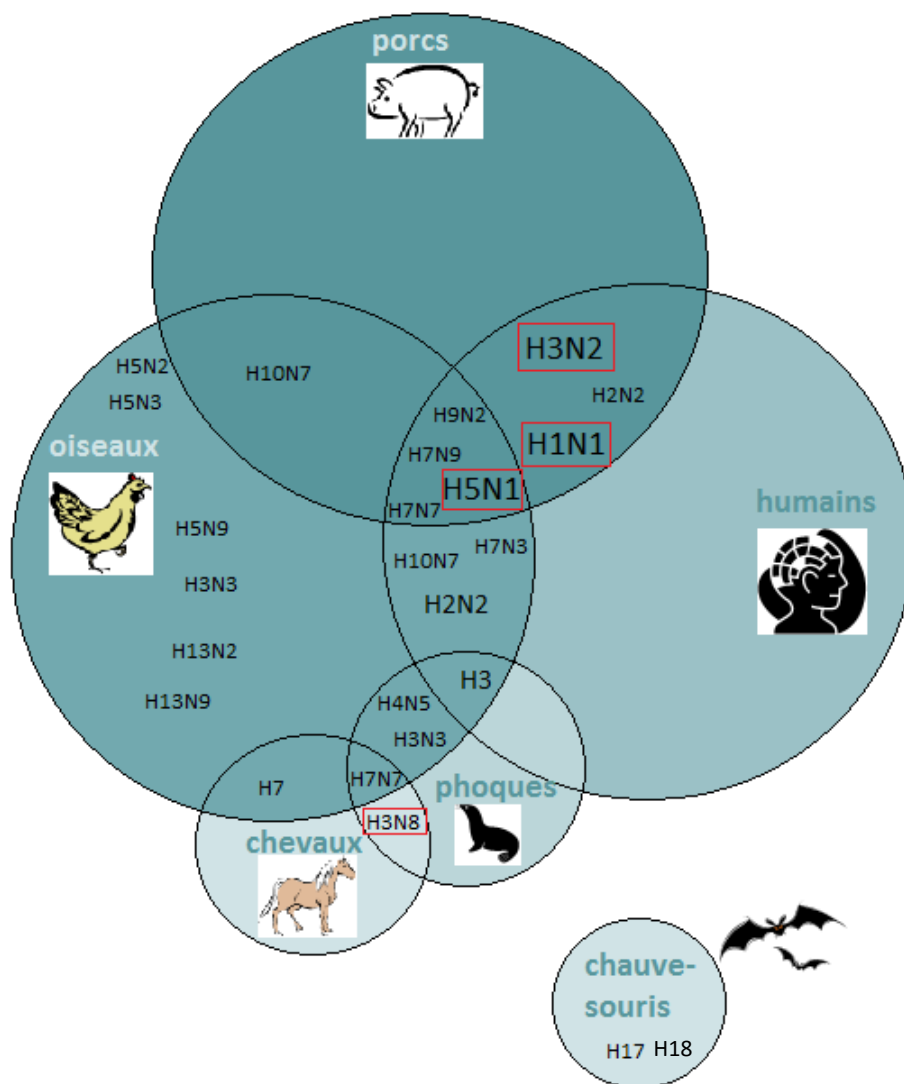
Des virus aviaire, porcin et humain se sont recombinaés pour former un virus de grippe porcine nord-américain ayant provoqué une épidémie chez les porcs en 1997/1998. Un virus aviaire eurasién s'est recombinaé avec ce virus pour former le virus H1N1 responsable de la pandémie de 2009.

B) Franchissement de la barrière d'espèce

a) Exemples de franchissement

Un schéma récapitulant les différents virus infectant les différentes espèces est présenté dans la Figure 12.

Figure 12 : Schéma représentant les principales espèces hôtes avec les sous-types viraux de grippe les infectant (Source : courrier international, n°1177, mai 2013)



Les intersections des cercles correspondent aux sous-types ayant franchi la barrière d'espèce. Les chiens et les chats peuvent être infectés par les souches encadrées en rouge.

Les porcs sont une source récurrente de virus responsables de pandémies grippales car ils peuvent être infectés par les virus aussi bien aviaires que porcins ou humains. Ils peuvent être le lieu d'émergence de nouvelles souches virales hybrides à partir des oiseaux et des humains [82].

Les oiseaux sont la principale source des virus grippaux et sont à l'origine de nombreuses souches pouvant être transmises aux autres espèces.

L'Homme peut être infecté par plusieurs souches de virus aviaires et porcins.

b) Les différentes molécules impliquées dans le franchissement de la barrière d'espèces

1) Le rôle de l'hémagglutinine dans le franchissement de la barrière d'espèce

HA reconnaît les oligosaccharides contenant un acide sialique terminal, à la surface des cellules épithéliales. Les virus humains reconnaissent les acides sialiques reliés au galactose par une liaison $\alpha 2,6$, alors que les virus aviaires reconnaissent les acides sialiques reliés au galactose par une liaison $\alpha 2,3$.

Chez l'Homme, les récepteurs $\alpha 2,6$ sont exprimés principalement sur les cellules ciliées de la partie haute de l'appareil respiratoire, alors que les récepteurs $\alpha 2,3$ se trouvent plutôt dans la partie basse de l'appareil respiratoire. Les virus aviaires se multiplient donc efficacement dans les poumons, où les récepteurs $\alpha 2,3$ sont nombreux. La faible teneur en récepteurs $\alpha 2,3$ de l'appareil respiratoire supérieur est une barrière à la transmission interhumaine des virus aviaires. Pour être efficacement transmis d'Homme à Homme, les virus aviaires doivent alors muter et avoir la capacité à reconnaître des acides sialiques $\alpha 2,6$.

Des mutations spécifiques au niveau du site de liaison à acide sialique de HA peuvent modifier la préférence de la liaison $\alpha 2,3$ pour la liaison $\alpha 2,6$ [11]. Par exemple, pour les sérotypes H2 et H3, le remplacement de la glutamine par la leucine en position 226 (mutation Q226L) et/ou le remplacement de la glycine par la sérine en position 228 (mutation G226S) entraînent l'augmentation de préférence pour la liaison $\alpha 2,6$ par rapport à la liaison $\alpha 2,3$. Par ailleurs, pour le sérotype H1, les mutations E190D et D225G sont requises pour la liaison $\alpha 2,6$.

En 2012, deux études se sont intéressées à la transmission par aérosol de virus H5 hautement pathogène chez des furets, qui ont la même répartition d'acides sialiques que l'Homme [29, 33]. Des mutations censées augmenter la préférence de HA pour la liaison $\alpha 2,6$ ont été introduites dans ces virus. Ces mutations ont été insuffisantes pour l'adaptation du virus aux furets. Cependant, après plusieurs passages chez les furets, d'autres mutations ont été sélectionnées qui ont permis la transmission aux furets. Ces mutations concernaient notamment un site de glycosylation situé près du site de reconnaissance du récepteur et ont

pu modifier l'affinité de HA pour les différents acides sialiques. Des mutations au niveau de la tige de HA ont été également mises en évidence, ce qui aurait pour conséquence de modifier le pH de fusion des membranes virale et cellulaire.

L'introduction d'un nouveau gène de HA par réassortiment n'est donc pas suffisante pour que le nouveau virus ainsi créé soit responsable d'une pandémie ou d'une panzootie chez une espèce donnée. Le virus réassortant doit subir des mutations du gène de HA pour qu'il s'adapte à l'hôte et qu'il acquière une stabilité dans l'environnement.

2) Le rôle de la neuraminidase dans le franchissement de la barrière d'espèce

L'activité enzymatique de NA est située au niveau de la tête globulaire de la protéine.

L'équilibre entre les activités de HA qui se lie au récepteur et de NA qui détruit cette liaison est nécessaire pour une multiplication efficace des virus. Cet équilibre peut être perturbé lors du réassortiment de nouveaux virus qui sont transmis à une espèce ayant des récepteurs différents de ceux de l'espèce d'origine. Des mutations sont alors sélectionnées pour restaurer cet équilibre.

Des délétions d'acides aminés au niveau de la tige de NA ont pu être identifiées suite au passage du virus de la grippe d'oiseaux sauvages vers des poulets [11]. Par exemple, les virus H5N1 ont subi pour la plupart 19 délétions d'acides aminés sur NA. La plus longue délétion reportée est de 35 acides aminés chez un virus H7N7.

La délétion d'acides aminés sur la tige de la protéine réduit sa capacité à libérer les virions de la surface de la cellule. La raison pour laquelle cette mutation a été sélectionnée est encore floue, mais la baisse d'activité de destruction du récepteur par NA pourrait contrebalancer la baisse de liaison de HA avec l'acide sialique chez ces hôtes. Une délétion dans le domaine de la tige de NA améliore la réplication et augmente la pathogénicité chez les poulets, en maintenant un équilibre entre les activités de HA et de NA.

3) Le rôle des polymérases et nucléoprotéines dans le franchissement de la barrière d'espèce

Il a été montré que les polymérases virales des souches aviaires ne fonctionnaient pas bien chez les mammifères et que les mutations qui améliorent leur fonctionnement sont un prérequis pour l'adaptation à de nouveaux hôtes. Des acides aminés spécifiques d'espèce localisés à une position précise ont été identifiés sur toutes les sous-unités des polymérases et les nucléoprotéines. Certaines de ces mutations interviennent durant l'évolution naturelle, et ont souvent été identifiées lors d'études bio-informatiques comparant les séquences génétiques de souches aviaires et de mammifères, d'autres ont été observées dans des conditions expérimentales, après plusieurs passages de souches aviaires chez des souris.

Les protéines PB2, PA et NP co-évoluent souvent avec les nouvelles souches, étant donné les interactions fonctionnelles et physiques qu'elles ont entre elles.

- Modifications de PB2

Plusieurs mutations de PB2 adaptées aux mammifères ont été introduites dans le gène de la PB2 des virus aviaires. Les effets sur l'activité polymérase ont alors été comparés chez les humains, les porcs et les oiseaux. Certaines mutations de PB2 ont entraîné une augmentation de l'activité de la polymérase dans toutes les espèces testées, d'autres augmentaient l'activité seulement chez les mammifères. Certaines de ces mutations introduites *in vitro* ont par ailleurs été détectées dans la nature. PB2 est la polymérase la plus déterminante dans la barrière d'espèce.

En 1977, Almond [2] a été le premier à identifier le segment de PB2 responsable de la restriction d'espèce d'un virus aviaire au sein de mammifères. En 1993, Subbarao et al. [77] ont montré que la restriction d'espèce d'un virus réassortant contenant le gène PB2 d'une souche aviaire pouvait être outrepassée par plusieurs passages du virus chez des mammifères. Cette mutation a été identifiée : c'est le remplacement d'un acide glutamique par une lysine en position 627.

La position 627 de PB2 est une position spécifique d'espèce particulièrement notable. Un acide glutamique (E) est présent à cette position chez presque tous les virus aviaires. Le remplacement de ce résidu par une lysine (K) (mutation E627K) peut faciliter la réplication chez les mammifères, l'augmentation de la pathogénicité des virus aviaires chez la souris et faciliter la transmission du virus entre des cobayes ou des furets [11]. Cette mutation est présente chez presque tous les virus humains [82].

Cette mutation a été retrouvée chez les souches pandémiques zoonotiques de 1918, 1957 et 1968, ainsi que chez plusieurs autres souches aviaires ayant infecté des humains (32% des virus H5N1 isolés chez des humains depuis 1997 possèdent la mutation 627K, ainsi que la majorité des virus H7N9 isolés en Chine en 2013).

Le mécanisme d'augmentation de l'activité polymérase due à cette mutation n'est pas totalement identifié. La mutation pourrait être responsable de la stabilisation des interactions entre les composants NP et PB2 du complexe RNP au sein du noyau des cellules infectées.

La position 627 est située au sein d'une boucle sur la structure cristallographique de PB2. La nature de l'acide aminé présent sur cette position affecte la manière dont la polymérase interagit avec le promoteur de l'ARN.

La température est impliquée dans la sélection de la mutation 627K au sein de PB2. Les virus de la grippe humaine se répliquent dans l'appareil respiratoire supérieur, qui est à une température moyenne de 33°C, alors que les virus aviaires se répliquent dans l'intestin des oiseaux, dont la température moyenne est 41°C. La polymérase contenant la mutation 627K est reconnue plus active à 33°C que la polymérase contenant un acide glutamique en position

627. La nature de l'acide aminé en position 627 peut donc altérer l'activité enzymatique température-dépendante de la polymérase, ce qui est déterminant dans le passage d'un virus aviaire à une autre espèce.

D'autres mutations au sein de PB2 peuvent également jouer un rôle dans l'adaptation aux mammifères. Le virus H1N1 ayant causé la pandémie chez l'Homme en 2009 contenait un acide glutamique en position 627, ce qui est habituellement typique des virus aviaires. Malgré l'absence de la mutation E627K, le virus peut se répliquer et causer des symptômes chez l'Homme et des animaux utilisés comme modèles, et sa substitution par une lysine n'affectait pas la réplication ou la pathogénicité chez des souris. Cependant, la PB2 de ce virus possédait d'autres mutations : G590S, Q591R, qui sont localisées au sein de la même structure en cristallographie que la position 627. Cette mutation a été nommée le polymorphisme sérine-arginine, elle permet de diminuer la restriction d'espèce causée par l'acide glutamique en position 627 [82].

D'autres mutations de PB2 sont cruciales dans le déterminisme d'espèce des virus grippaux. Ainsi, une autre mutation présentée par le virus H1N1 de 2009 est située en position 271. La plupart des virus aviaires possèdent une thréonine à cet emplacement, alors qu'une alanine est présente sur la souche ayant provoqué la pandémie. Cette mutation est reconnue pour améliorer l'activité polymérase dans les cellules humaines et améliorer la réplication chez des souris. La mutation inverse (passage de l'alanine à la thréonine) entraîne la disparition de la transmissibilité au sein des cochons d'Inde et, associée à une mutation du site de fixation de HA, supprime la transmissibilité de la souche parmi les furets.

La mutation E158G identifiée après le passage du virus H1N1 chez la souris est responsable de l'augmentation de l'activité polymérase, de la morbidité et de la mortalité chez la souris. Cette mutation a également été retrouvée au sein de deux virus H5 chez des souris.

La mutation D701N est également impliquée dans l'adaptation chez les mammifères [82]. Elle a été identifiée après plusieurs passages chez des souris chez une souche H7 aviaire. Le virus se répliquait plus efficacement que la souche parentale dans les cellules de mammifères. Elle contribue à l'adaptation aux cellules de mammifères, notamment les souris et l'Homme, et elle peut compenser l'absence de la mutation 627K. L'acide aminé en position 701 est impliqué dans la fonction de localisation nucléaire de PB2. La mutation concernant ce site pourrait alors optimiser l'entrée dans le noyau des composants des RNP, ou faciliter l'utilisation de l'importine- α comme un cofacteur pour améliorer l'activité des RNP.

De nombreuses mutations de PB2 permettent donc d'augmenter l'activité de la polymérase et d'outrepasser la restriction d'hôte.

- Modifications de PA

Son rôle dans le franchissement de la barrière d'espèce est moins caractérisé que celui de PB2, mais est tout de même reconnu comme important [11].

La restriction de la polymérase de souche aviaire dans des cellules humaines peut être surmontée par le remplacement de la PA d'origine du virus aviaire par une PA d'origine humaine.

Plusieurs mutations de la PA du virus H1N1 de 2009 ont été reconnues comme impliquées dans l'adaptation au nouvel hôte : T85I, G186S et L336M. Ces mutations sont responsables de l'augmentation de l'activité polymérase et de la pathogénicité chez l'Homme.

Des études de 2012 ont exploré les effets de plusieurs mutations sur l'activité des polymérases dans des cellules humaines et aviaires. Plusieurs mutations augmentaient significativement l'activité polymérase chez de l'Homme (P400L, M423I, V476A, T552S, V630E) et n'avaient aucun effet sur les cellules aviaires. La position 552 était la plus importante dans l'augmentation d'activité de PA.

De multiples résidus de PA participent donc à l'adaptation du virus chez les mammifères.

- Modifications de PB1

L'acide aminé en position 375 de la protéine PB1 est impliqué dans la spécificité d'espèce. La plupart des souches aviaires ont une asparagine à cette position, alors que la plupart des souches humaines ont une sérine. Les épidémies humaines de 1918, 1957 et 1968 ont été causées par des virus possédant des gènes de PB1 d'origines différentes mais quasiment tous possédaient une sérine au lieu d'une asparagine en position 375.

PB1 jouerait un rôle important mais n'est pas un déterminant strict de la barrière d'espèce. En effet, une sérine est présente à la position 375 chez plusieurs virus aviaires, et inversement plusieurs virus humains possèdent une asparagine à cette position.

Le mécanisme par lequel les mutations du résidu 375 de PB1 peuvent affecter l'activité polymérase reste inconnu en ce jour [11].

- Modifications de NP

L'introduction d'un gène de NP aviaire dans une souche humaine n'atténue pas la croissance virale chez des hommes « volontaires » infectés expérimentalement. Cependant la croissance du virus a été stoppée dans les cellules respiratoires chez des écureuils [11].

Des acides aminés spécifiques d'espèce ont été détectés dans la protéine NP. Certaines d'entre elles sont impliquées dans la facilitation de l'échappement à la réponse immunitaire médiée par les interférons.

La mutation N314K augmente la réplication virale dans les cellules des mammifères en augmentant l'interaction avec l'importine α , ce qui facilite la réplication.

- Modifications de NEP

NEP est impliquée dans l'adaptation de virus aviaires chez les mammifères, notamment ceux chez qui la mutation PB2 E627K est absente. Des mutations de NEP, notamment la mutation M61I, améliore la capacité de virus hautement pathogènes à répliquer dans les cellules de mammifères [53].

La protéine PB2 est donc la principale responsable de l'adaptation aux nouveaux hôtes. Cependant, d'autres protéines peuvent jouer un rôle, bien que plus réduit, dans le passage de la barrière d'espèce.

DEUXIÈME PARTIE : ÉPIDÉMIOLOGIE ET PHYSIOPATHOLOGIE

I) Les virus de grippe adaptés aux chiens et aux chats : épidémiologie

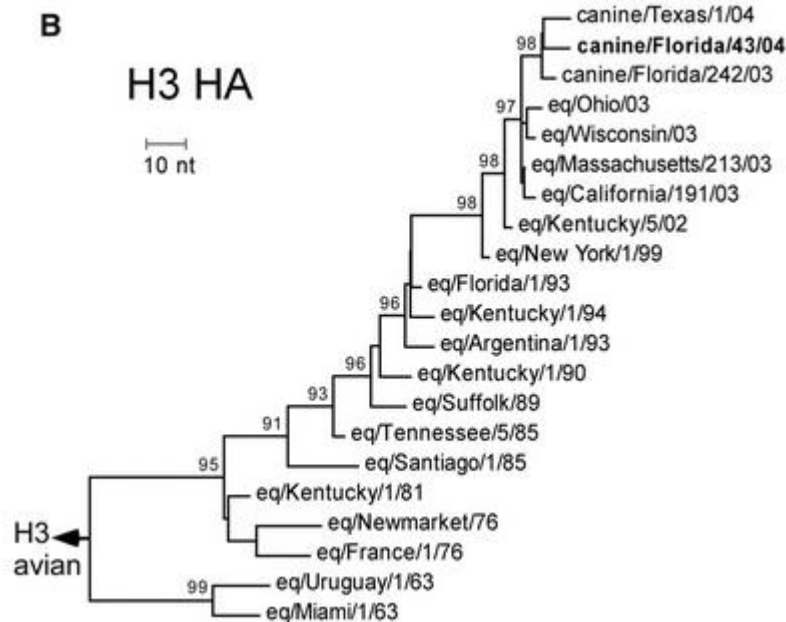
A) Le virus H3N8, un virus équin adapté aux chiens

a) La découverte du virus

L'Université de Floride a documenté le premier épisode connu de grippe canine chez des lévriers de course sur une piste de Floride en janvier 2004 [30]. La pathologie respiratoire prenait deux formes : une forme atténuée consistant en de la fièvre, de la toux et une récupération spontanée en 10 à 14 jours, et une forme suraiguë entraînant la mort après un épisode d'hémorragie du tractus respiratoire. Sur les 22 chiens affectés, 14 présentaient la forme atténuée et huit sont morts (le taux de létalité était alors de 36 %). Une autopsie a été pratiquée sur six des huit chiens décédés, et des cultures virales, des isolements de virus et des analyses immunohistochimiques ont été réalisés afin de déterminer l'étiologie de cette maladie. Les pathologies respiratoires les plus communes comme le virus *Parainfluenza*, *Bordetella bronchiseptica*, la maladie de Carré, et l'adénovirus canin de type deux n'ont pas été retrouvées.

Un test PCR sur le tissu pulmonaire a révélé que l'agent étiologique de cet épisode contenait des gènes du virus *Influenza A*. Le virus a alors été séquencé et sa séquence comparée à celle des gènes des virus grippaux connus, et des études phylogénétiques ont été réalisées comme présenté sur la *Figure 13*. Ces comparaisons ont prouvé que les huit gènes du virus canin isolé étaient très similaires à ceux du virus *Influenza A* équin H3N8 : les séquences étaient identiques à 96 %. Les autres virus grippaux connus (ceux des porcs, des humains et des volailles) ne présentaient que 80 à 94 % d'identité avec le nouveau virus. Grâce à ces études, le virus canin a été identifié comme le virus de la grippe A H3N8 et nommé *A/canin/Florida/43/2004* (*canine/FL/04*). Sur des bases sérologiques, virologiques et moléculaires, il a été conclu que le génome entier de du virus *Influenza A* équin a été transmis au virus canin.

Figure 13 : Relations phylogénétiques entre les gènes des hémagglutinines des virus Influenza
(Source : www.sciencemag.org)



B : Arbre phylogénétique représentant les gènes HA des virus Influenza canin et les gènes HA des virus équins récents et moins récents, utilisant le A/duck/Ukraine/63 comme groupe de référence.

L'Université de Floride a alors fait une enquête sur 27 chiens supplémentaires impliqués dans l'épisode de problèmes respiratoires [30]. Les chiens ont été divisés en deux groupes : les malades (11 chiens) et les asymptomatiques (16 chiens), et leur titre en anticorps anti-virus *canin/FL/04* a été déterminé à l'aide d'un test d'inhibition de l'hémagglutination et de microneutralisation. Les résultats ont révélé une séroconversion chez 73 % des chiens malades (huit sur 11) et chez 87,5 % des chiens asymptomatiques (14 sur 16). Trois mois après l'épisode, une nouvelle étude a été menée chez 46 chiens asymptomatiques qui avaient été en contact avec les chiens malades : 93 % des chiens (43 sur 46) étaient séropositifs. Donc, parmi les 73 chiens supplémentaires testés, 93 % étaient séropositifs, dont 82 % (neuf sur 11) des chiens symptomatiques et 95 % (59 sur 62) des chiens asymptomatiques.

b) 2004 : première apparition du virus H3N8 canin ?

Pour déterminer si le virus *canin/FL/04* était bien apparu en 2004, l'Université de Floride a évalué des tissus et sérums archivés provenant de lévriers de course en Floride qui

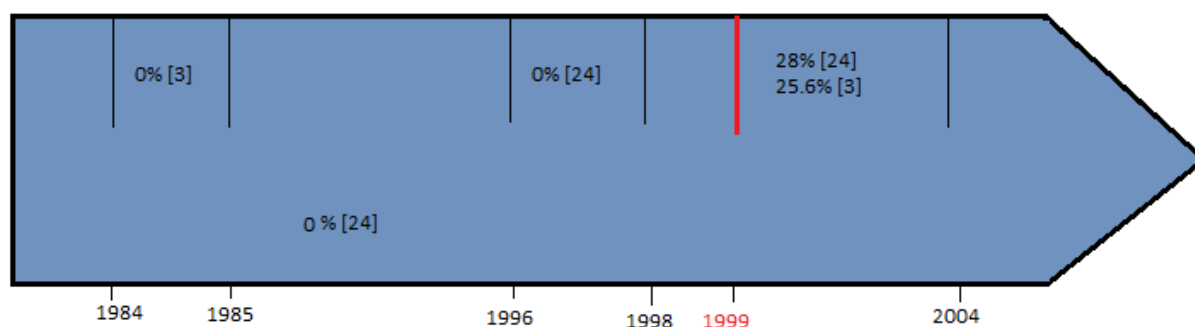
avaient été impliqués dans des épisodes de troubles respiratoires d'origine inconnue [30]. Des échantillons de 65 lévriers ont été testés. Les 33 chiens prélevés entre 1996 et 1998 n'ont présenté aucune trace d'exposition ni d'infection par le virus de la grippe canine/FL/04. Sur les 32 chiens prélevés entre 2000 et 2003, neuf étaient séropositifs pour ce virus, soit un taux moyen de 28 %. Des échantillons de poumon archivés de lévriers morts d'une hémorragie pulmonaire en mai 2003 ont été également analysés : l'échantillon d'un des chiens a été retrouvé positif pour un virus H3N8, qui a alors été nommé *A/canin/Florida/242/03* (*canin/FL/03*). La séquence de ce virus était identique à 99 % avec le virus *canin/FL/04*. Il existait donc un virus de la grippe canine H3N8 avant la découverte de janvier 2004. Des recherches de l'université de Floride ont mis en évidence la présence du virus dès 1999.

D'après une autre étude [4], une séroprévalence de 25,6 % sur un total de 549 animaux a été retrouvée chez des lévriers de course entre 1999 et 2004, et le test d'inhibition de l'hémagglutination a révélé que les sérums étaient positifs pour des H3 canine et équine : le virus avait donc une origine équine. Une séroprévalence de 0 % a par ailleurs été retrouvée chez des chiens de course prélevés entre 1984 et 1985, sur un total de 153 échantillons, ainsi que chez des chiens de chenils du nord de la Floride entre 1984 et 2004.

Les lévriers séropositifs entre 1999 et 2001 avaient des titres en anticorps plus élevés vis-à-vis du virus équin H3N8 de 1999 que du virus H3N8 canine de 2004 : le virus était alors plus apparenté au virus H3N8 équin. En revanche, les lévriers séropositifs entre 2002 et 2004 avaient un titre en anticorps plus élevé vis-à-vis du virus canine de 2004 que du virus équin. Le virus était donc plus apparenté au virus H3N8 canine. Le virus a donc évolué entre 1999 et 2004 : d'origine équine, il a acquis des mutations qui l'ont fait s'adapter à l'espèce canine et il est devenu un virus canine à part entière.

Le bilan des niveaux de séroprévalence en fonction des années est récapitulé dans la *Figure 14*.

Figure 14 : Représentation des différents niveaux de séroprévalence établis par les études selon les années



Les chiffres dans la partie supérieure correspondent aux lévriers de course. Le chiffre dans la partie inférieure correspond aux chiens de chenil.

Le trait rouge correspond à la date d'apparition du virus dans la population canine.

Le virus est donc apparu en 1999, à partir d'une souche équine.

c) Evolution du virus depuis sa découverte

1) Présence aux Etats-Unis

Le virus H3N8 s'est étendu aux Etats-Unis dans la population canine dès sa découverte en 2004. Différentes études ont été menées, les résultats sont récapitulés dans le *Tableau 3*.

Tableau 3 : Episodes de grippe canine aux Etats-Unis depuis 2004

Date	Prévalence / présence du virus H3N8
2004	Présence dans six états des Etats-Unis, environ 10 000 lévriers de course atteints [30]. Prévalence 100 % sur 94 chiens de piste.
2005 : janvier à mai	Présence dans 11 états des Etats-Unis, 20 000 lévriers de course [30]. Prévalence 100 % sur 96 chiens de piste. Prévalence 97 % sur 70 chiens de compagnie présentant des troubles respiratoires [30].
2005 : avril- mai	Episode de maladies respiratoires en Floride, 58 chiens atteints.
2005-2009	1268 chiens. Prévalence 49 %, différente selon les régions (plus élevée dans le Nord-Est : 62 %, moins élevée dans le Midwest : 11 %) [5].
2008 (octobre à décembre)	Refuge infecté en Pennsylvanie. 42 % séropositifs sur 74 chiens testés [31].
2009	Prévalence 3,6 % sur 250 chiens de compagnie dans le Colorado de mars à décembre. Facteur prédisposant = passage dans une garderie canine [5]. Prévalence 3 % dans un tournoi de flyball en Pennsylvanie [66].
2009 à 2012	Ecouvillons nasaux positifs sur 4,4 % des chiens dans l'état de New-York, 4,7 % dans l'état du Colorado, 3,2 % dans l'état de Caroline du Sud, 1,2 % dans l'état de Floride et 0 % dans les états du Texas et de Californie. Séropositivité de 10 % des chiens dans l'état du Colorado et 8,5 % dans l'état de New York. Dans les autres états, la séropositivité était de 0 %.
2013	Présence du virus dans 40 états des Etats-Unis (<i>Figure 13</i>).

Le virus de la grippe canine s'est étendu à plusieurs états des Etats Unis en 2004 [30]. Des épisodes de troubles respiratoires ont été signalés dans six états des Etats-Unis (Floride, Alabama, Texas, Arkansas, Virginie de l'Ouest, Kansas) en juin, juillet et août, et ont affecté une population de 10 000 lévriers de course environ. Sur 94 chiens de quatre pistes différentes en Floride, 56 % avaient un taux d'anticorps supérieur à quatre fois le seuil de séropositivité, et 100 % étaient séropositifs pour le virus *canin/FL/04*.

De janvier à mai 2005, des épisodes de troubles respiratoires ont continué à se répandre sur les pistes de courses de 11 états (Arizona, Arkansas, Colorado, Floride, Iowa, Kansas, Massachussets, Rhode Island, Texas, Virginie de l'Ouest, Wisconsin), sur une population d'environ 20 000 chiens. Sur 96 chiens provenant de sept pistes en Floride, le virus *canin/FL/04* a été retrouvé chez 100 % des animaux, et 58 % avaient un titre en anticorps supérieur à quatre fois le seuil de positivité.

Par ailleurs, chez les chiens de compagnie ou de chenil, des anticorps spécifiques ont été retrouvés chez 97 % des 70 chiens présentant des troubles respiratoires en Floride et testés. En avril-mai 2005, des chiens de refuge du nord-est de la Floride ont été atteints par le virus (environ 58 chiens) [56]. Il a été conclu que le virus canin H3N8 se propageait efficacement au sein de la population canine et pas seulement chez les lévriers de course, et était responsable d'une infection très répandue.

Entre 2005 et 2009, une séroprévalence de 49 % a été retrouvée sur un total de 1268 chiens provenant de régions différentes. Cette séroprévalence variait en fonction de la région : 62 % des chiens dans le nord-est, 57 % dans l'ouest, 39 % dans le sud-est et 11 % dans le Midwest. Cette séroprévalence était plus élevée de 2005 à 2007 par rapport à la période de 2007 à 2009 [5].

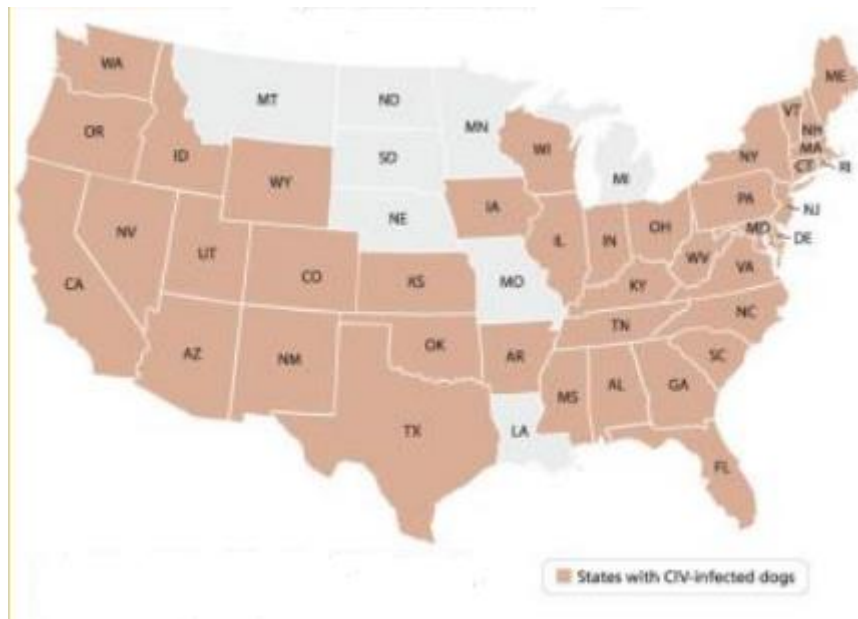
En 2008 en Pennsylvanie, un refuge a été touché par la grippe canine [31]. Trente et un chiens sur les 74 testés étaient séropositifs pour le virus canin H3N8.

De 2009 à 2012, 5160 sérums et écouvillons nasaux de chiens ont été analysés dans six refuges canins de différents états des Etats-Unis. Les écouvillons nasaux étaient alors positifs pour 4,4 % des chiens dans l'état de New-York, 4,7 % dans l'état du Colorado, 3,2 % dans l'état de Caroline du Sud, 1,2 % dans l'état de Floride et 0 % dans les états du Texas et de Californie. La séropositivité était de 10 % dans l'état du Colorado et de 8,5 % dans l'état de New York. Dans les autres états, la séropositivité était de 0 % [58].

En 2009, une séroprévalence de 3,6 % sur un total de 250 sérums de chiens de compagnie vivant dans le Colorado a été retrouvée [6]. Le seul facteur prédisposant était l'accès à un service de garderie dans les 6 derniers mois. Par ailleurs, une séroprévalence de 3 % sur environ 250 chiens testés a été observée lors d'un tournoi de flyball en Pennsylvanie [66].

En 2013, le virus était présent dans 40 états des Etats-Unis (*Figure 15*).

Figure 15 : Etats des Etats-Unis où le virus H3N8 circule parmi les chiens (40 états) (Source : Center for Food Security and Public Health, 2014)



On remarque que la prévalence est plus importante chez les chiens de course ou les chiens vivant en chenil ou en refuge que chez les chiens de compagnie. Ceci peut être associé au fait que lorsqu'un grand nombre de chiens sont présents dans la même structure, le virus peut alors se transmettre facilement.

2) Présence au Royaume-Uni

Le virus a été rétrospectivement mis en évidence au Royaume-Uni en 2002 [16]. Un épisode de toux chez un groupe de 92 Foxhound anglais est survenu brutalement. Certains chiens étaient léthargiques et faibles avec des pertes de conscience. Un des chiens est décédé, six autres ont été euthanasiés. L'autopsie des chiens décédés avait révélé une pneumonie broncho-interstitielle suraiguë. Une infection virale avait été suspectée mais aucun virus habituellement recherché (herpèsvirus, adénovirus, *Parainfluenzavirus*) n'avait pu être retrouvé chez ces chiens. Le diagnostic restait alors non abouti. En 2005, une étude rétrospective a été menée chez ces chiens. Trois groupes de 31 à 33 chiens concernés par l'épisode en 2002 ont été créés. Les sérums de ces chiens ont été analysés ainsi que ceux d'autres foxhounds de décembre 2004 à février 2005. Neuf sérums possédaient des anticorps anti-H3N8, dont huit provenant des chiens ayant été impliqués dans l'épisode de 2002, et un provenant d'un autre chien né après l'épisode. La circulation du virus au Royaume-Uni a donc été mise en évidence de manière rétrospective. Il s'est avéré que les chiens concernés avaient été nourris avec de la viande de cheval contaminé par le virus H3N8 quelques jours avant le début des symptômes.

Aucun autre épisode d'infection par ce virus de la grippe canine n'a été mis en évidence par la suite au Royaume-Uni [28].

3) Prévalence en Allemagne

Une étude de janvier 2014 a cherché à déterminer la prévalence de l'infection par le virus H3N8 chez les chiens en Allemagne [65]. Deux cent soixante-douze chiens sains et 35 chiens présentant des troubles respiratoires aigus ont été testés pour détecter la présence d'anticorps anti-virus *Influenza* dans leur sérum (test ELISA et test d'inhibition de l'héماغglutination détectant les anticorps spécifiques de H3N8). Les individus positifs vis-à-vis d'un de ces tests ont également été testés à l'aide d'un test d'immunofluorescence, détectant les antigènes du virus H3N8. Une RT-PCR a également été effectuée sur l'écouvillonnage nasal des chiens présentant des symptômes. Seul un chien parmi les chiens sains et un chien parmi les chiens malades ont fourni un résultat positif au test ELISA. Tous les animaux ont répondu négativement au test d'inhibition de l'héماغglutination et ont également fourni un résultat négatif à la fois au test d'immunofluorescence et en RT-PCR. . Pour toutes ces raisons, les résultats trouvés positifs avec le test ELISA ont été considérés comme des résultats faussement positifs

L'ensemble de ces résultats suggèrent que la séroprévalence peut être considérée comme nulle en Allemagne.

4) Prévalence en Italie

Une étude [59] a cherché à évaluer la prévalence de l'infection par le virus de la grippe canine en Italie. Le sérum de 563 chiens a été collecté parmi des chiens de compagnie et des chiens de chenil du sud de l'Italie. Ces sérums ont été testés avec un test ELISA, détectant les anticorps. Une prévalence de 3,56 % d'infection par le virus de la grippe a été détectée. Le test d'inhibition d'héماغglutination spécifique des sous-types de virus n'a détecté que deux sérums positifs pour le virus H3N8.

Le virus semble donc présent en Italie mais à un taux de prévalence très faible.

5) Prévalence en Nouvelle-Zélande

Une étude sérologique de 2009 a cherché à évaluer la prévalence de l'infection par le virus de la grippe en Nouvelle-Zélande [40]. Le sérum de 251 chiens a été testé avec un test d'immunofluorescence indirecte. Aucun ne s'est avéré séropositif vis-à-vis du virus de la grippe.

Le virus n'était donc pas présent en Nouvelle-Zélande à la date de l'enquête.

6) Prévalence au Canada

D'après une étude de 2008 [42], un chien sur 225 testés a fourni un résultat positif au test d'inhibition de l'hémagglutination. La séroprévalence était donc de 0,4 %. Le chien positif provenait par ailleurs d'un élevage de lévriers de course en Floride.

Il semblerait que le virus de la grippe se propage de manière enzootique aux Etats-Unis mais qu'il ne soit pas encore présent au sein des autres pays ayant fait l'objet d'investigations, à part le Royaume-Uni. Il est intéressant de noter à ce propos que l'émergence dans ce pays et aux Etats-Unis semblent correspondre à deux phénomènes indépendants, ce qui tend à montrer que le passage du virus H3N8 du cheval au chien serait un événement rare mais non exceptionnel. En revanche, à ce jour, la diffusion du virus au sein des populations canines après adaptation au chien, semble avoir été confinée aux Etats-Unis.

B) Le virus H5N1, un virus aviaire transmissible aux chiens et aux chats

a) La découverte du virus

Après la découverte du virus en 1996 chez des oies en Chine, le virus a subi de nombreux réassortiments et mutations lui permettant de se propager dans de nombreuses espèces. Après l'épidémie chez les volailles en Asie en 2003/2004, le virus s'est répandu à travers le monde et a pu infecter de nombreux mammifères tels que les humains, les furets, les chiens, les souris, les porcs, les singes, les chats, les tigres et léopards [54].

1) Chez les félins

Chez les félins, la première découverte du virus a eu lieu en 2003 avec l'infection de deux tigres et deux léopards présentant une forte fièvre et une détresse respiratoire et décédés dans un zoo en Thaïlande [54].

En 2004, l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS) a rapporté le décès de 14 à 15 chats au sein d'une habitation en Thaïlande. Trois des chats avaient été testés pour la présence du virus H5N1, deux étaient positifs pour ce virus. Au moins un des chats avait été en contact avec des carcasses de poulet infectées [7].

Toujours en 2004, un léopard est décédé d'une infection par le virus H5N1 dans un zoo de Thaïlande. Un mois plus tard, un tigre a été reconnu infecté dans le même zoo mais a récupéré de la maladie.

Un autre tigre a été reconnu infecté après avoir ingéré de la viande crue de poulets infectés. L'alimentation des félins a donc été modifiée, avec cuisson de la viande. Malgré les mesures de prévention, d'autres félins ont été contaminés, ce qui laissait supposer une transmission entre les individus. Cent quarante-sept tigres ont été euthanasiés pour limiter la diffusion du virus [54].

En 2006, un chat domestique est décédé après avoir présenté des signes de fièvre importante, de dyspnée, de convulsions et d'ataxie [54]. Le virus a été isolé chez ce chat.

En février 2006, en Europe, l'infection de chats domestiques a été décrite lors de l'épidémie d'infection par le H5N1 sur une île en Allemagne. Trois chats errants ayant été découverts morts, le virus a été isolé chez ces chats. En Autriche, trois chats d'un refuge ont également été testés positifs mais sans présenter de signe clinique. Ils ont été testés car ils avaient pénétré dans un poulailler où un cygne infecté avait été retrouvé. Sur les 40 chats testés, trois ont fourni un résultat positif. Une semaine plus tard, deux des trois chats ont été re-testés et étaient devenus négatifs. Un portage asymptomatique du virus H5N1 a donc été redouté chez les chats. Cependant, étant donné la faible diffusion du virus parmi ces chats malgré leur proximité par rapport à l'Homme, cela semblait improbable. La transmission du virus entre les chats n'a pas été prouvée [7].

D'autres cas ont été recensés en Iraq, au Vietnam et en Indonésie, toujours en 2006 [28].

L'incidence de la grippe H5N1 chez les chats semble être corrélée avec l'apparition d'infections chez des volailles ou des oiseaux sauvages dans le même périmètre [54]. Des analyses phylogénétiques ont montré que le virus isolé chez les chats et les tigres était quasiment identique au virus qui circulait chez les volailles au même moment, et que les virus isolés chez les félins étaient d'origine aviaire. Ceci indiquait qu'aucun réassortiment avec un virus de mammifères n'avait eu lieu. Plusieurs mutations ponctuelles associées à une augmentation de la virulence chez les mammifères ont été identifiées, mais aucune ne semblait être nécessaire pour l'infection des félins.

Dans le sous-type H5N1, au moins deux lignées différentes au niveau génétique et antigénique étaient simultanément présentes (clades 1 et 2) dans des régions distinctes d'Asie. Le clade 1 a été isolé principalement au Vietnam et en Thaïlande, alors que le clade 2 a été isolé en Chine et en Indonésie. Le clade 2 s'est étendu à l'est en Europe et en Afrique et s'est divisé en trois sous-groupes. Tous les cas asiatiques rapportés chez des félins ont été causés par des virus de clade 1 jusqu'en février 2006, notamment les épisodes d'infection en Iraq et en Allemagne. Les chats se sont donc alors montrés sensibles à plusieurs lignées de virus H5N1.

2) Chez les chiens

Une infection fatale causée par le virus H5N1 a été décrite en Thaïlande en 2004 chez un chien d'un an qui avait ingéré des carcasses de poulet contaminées [72]. Environ cinq jours après l'ingestion, il a présenté une forte fièvre, une dyspnée et un abattement sévère. Il est décédé le lendemain du début des symptômes. Le virus H5N1 a été isolé à partir des poumons de

l'animal. Les analyses génétiques ont montré que le virus était le même que ceux isolés chez les volailles, les humains et les félins infectés pendant la même période en Thaïlande.

Dans le centre de la Thaïlande, une séroprévalence d'environ 25 % a été détectée chez 629 chiens de villages : 160 chiens possédaient des anticorps anti-H5N1 [9]. La même étude chez les chats de village a montré que huit chats sur 111 possédaient des anticorps anti-H5N1.

C) Le virus H3N2, un virus aviaire transmissible aux chiens et aux chats

a) La découverte du virus

1) Chez les chiens

En Chine du Sud, plusieurs cas d'infection par un virus H3N2 ont été rapportés depuis 2006 [75, 79]. Le premier cas a été rapporté dans la province de Guandong, puis plusieurs cas ont été recensés dans des cliniques vétérinaires. En 2009-2010, un virus H3N2 a été isolé dans un hôpital de Chine du nord à partir de 12 chiens présentant des symptômes respiratoires. Le virus H3N2 circulait alors aussi parmi les chiens en Chine du nord. En décembre 2011, un virus H3N2 (*A/Canin/Guandong/2/2011*) a été isolé chez un chien d'élevage présentant des difficultés respiratoires sévères.

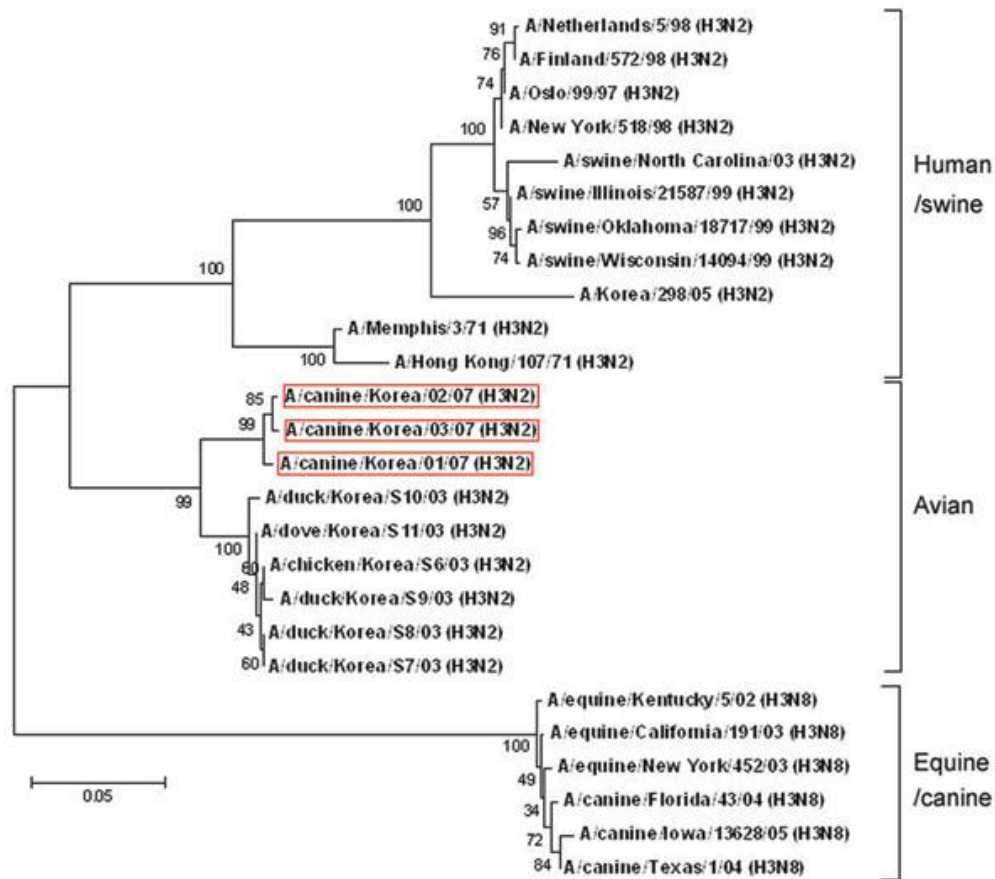
En Corée du Sud, les virus H3N2, H5N1, H6N1 et H9N2 au moins circulent au sein de la population aviaire. De mai à septembre 2007, des chiens présentant des difficultés respiratoires sévères ont été signalés dans trois cliniques vétérinaires et un chenil en Corée du Sud [69]. Un Schnauzer de cinq ans présentait une obstruction nasale depuis trois jours et un écoulement nasal depuis deux jours, un cocker de trois ans présentait de la fièvre, de la toux, une obstruction nasale, de l'anorexie et est décédé après l'apparition des symptômes. Des difficultés respiratoires sévères ont aussi été notées chez des chiens de race coréenne et un Yorkshire Terrier de trois ans : toux forte, fièvre importante, obstruction nasale et décès deux jours après la visite dans le même hôpital vétérinaire. Pour finir, un groupe de 13 chiens vivant en chenil a présenté une obstruction nasale, une toux et une fièvre marquée.

Des écouvillonnages nasaux ont été réalisés sur le schnauzer, le cocker et le Yorkshire. Les écouvillons ont fourni un résultat positif pour le virus de la grippe et négatif pour la maladie de Carré, le virus *parainfluenza* et *Bordetella bronchiseptica*. Les virus isolés étaient des virus H3N2. Ils ont été nommés *A/canin/Korea/01/2007*, *A/canin/Korea/02/2007*, *A/canin/Korea/03-/2007*.

Les huit segments génétiques des virus isolés ont été comparés à ceux des virus aviaires et ont présenté de 95,5 % à 98,9 % d'identité avec eux. Le génome entier du virus H3N2 aviaire a

donc été transmis aux chiens. L'arbre phylogénétique de ces virus est représenté dans la *Figure 16*.

Figure 16 : Relations phylogénétiques entre les virus Influenza canins et ceux provenant d'autres espèces par rapport au gène codant pour l'hémagglutinine (*Source : Song et al., 2008*)



L'arbre phylogénétique compare les relations phylogénétiques entre les principaux virus porcins, aviaires et canins. L'échelle représente une différence génétique de 5 %. Les souches encadrées en rouge représentent les souches isolées dans l'étude.

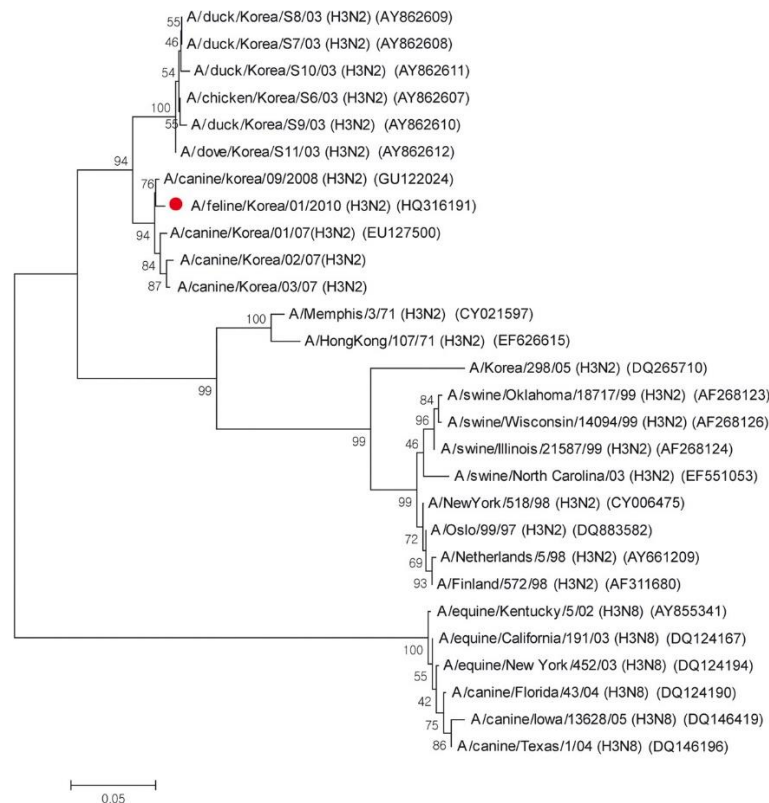
Le virus H3N2 est donc présent au moins depuis 2006 chez le chien en Asie. D'abord isolé en Chine du Sud, il a été découvert également en Corée du Sud dès 2007.

2) Chez les chats

De décembre à janvier 2009-2010, des difficultés respiratoires sévères ont été observées à Séoul, en Corée du Sud, affectant 200 chiens et 50 chats. Le taux de létalité chez les chiens était de 25 %. Chez les chats le taux de morbidité était de 100 %, et le taux de létalité de 40 % [67]. Le virus H3N2 a été isolé chez tous ces animaux, il a été nommé *A/feline/Korea/01/2010*

(H3N2) et est très proche des virus H3N2 canins d'où il prend son origine, comme le montre l'arbre phylogénétique (figure 17).

Figure 17 : arbre phylogénétique du virus H3N2 félin d'origine canine basé sur les gènes de HA
(Source : Song et al., 2011)



En octobre 2010, un refuge de Corée du sud a connu un autre épisode de grippe à H3N2, dans une population de 400 chiens et 60 chats [35]. Des symptômes discrets à sévères tels que de la toux, de la dyspnée et de la fièvre ont été observés chez 25 chiens du refuge. Trois semaines plus tard, environ 300 chiens ont présenté les mêmes symptômes, qui ont été imputés au virus H3N2, ainsi que quatre chats. Deux semaines plus tard, 28 chats ont présenté les mêmes symptômes. Chez les chiens, le taux de morbidité était de 77 % et le taux de létalité de 23 %. Chez les chats, le taux de morbidité était de 46,6 % et le taux de létalité de 21,7 % deux semaines après le début des symptômes.

Le virus H3N2 a donc été isolé pour la première fois chez le chat en 2009.

b) Prévalence de l'infection par le virus H3N2 chez les chats

Une étude de séroprévalence a été menée en Corée du Sud sur des chats domestiques (218 chats) et des chats de compagnie (809 chats) [34]. Des anticorps anti H3 ont été retrouvés

chez 2,43 % des chats avec le test d'inhibition de l'hémagglutination et chez 3,12 % des chats avec le test ELISA spécifique de NP.

Au Japon, la séroprévalence chez les chats est de 2,1 % [63], sur un total de 237 sérums de chats prélevés entre 1997 et 2008.

Aux Etats-Unis, une séroprévalence de 43,5 % a été détectée sur un total de 400 chats prélevés entre septembre 2009 et septembre 2010 en Ohio [1].

c) Prévalence de l'infection par le virus H3N2 chez les chiens

1) Au Japon

Au Japon, entre 2002 et 2008, la séroprévalence a été estimée à 3,8 % sur un total de 582 sérums récoltés [63].

2) En Corée du Sud

Une étude de 2007 [46] a cherché à établir la prévalence de l'infection par le virus H3N2 en Corée du Sud. Pour cela, 829 échantillons ont été collectés parmi 361 animaux d'élevage et 468 animaux de compagnie. Des tests ELISA et d'inhibition de l'hémagglutination spécifiques du virus H3N2 ont été utilisés. Une séroprévalence de 19 % a été mise en évidence parmi les chiens d'élevage, contre seulement 0,5 % chez les chiens de compagnie. Cependant parmi les 361 échantillons provenant des animaux d'élevage, 52 provenaient d'un élevage qui avait été infecté par le virus H3N2 peu de temps avant les prélèvements. 100 % de positivité ont été mis en évidence avec le test ELISA et 35 % avec le test d'inhibition de l'hémagglutination, au sein de cet élevage, alors que la séropositivité dans les autres élevages était très faible (0 à 6 %). Le test ELISA est donc plus sensible que le test d'inhibition d'hémagglutination d'après les auteurs. Cependant, étant donné qu'il est moins spécifique, le taux de séropositivité de 100 % de l'élevage peut donc être considéré comme discutable.

Le virus H3N2 d'origine aviaire semblerait donc évoluer de manière sporadique en Corée du Sud. Cependant, la séropositivité de 100 % au sein de l'élevage où un épisode de grippe canine avait été introduit ainsi que l'absence de séroconversion contre ce virus dans la plupart des fermes suggèrent qu'une épidémie pourrait survenir, avec une transmission entre les chiens.

3) En Chine du Sud

Une étude [75] a déterminé la prévalence de l'infection par le virus dans les élevages canins du Sud de la Chine. Six élevages à grande échelle de six villes différentes du sud de la Chine ont été étudiés, de septembre 2011 à février 2012. Un total de 900 échantillons a été récolté

(540 échantillons de sang, 360 écouvillons nasaux) sur des chiens d'âge et de sexe différents. Une séroprévalence de 12,6 % (66 sérums) parmi les chiens d'élevage a été détectée grâce au test ELISA. Chez les chiens de compagnie, cette séroprévalence a été estimée à 5,3 %.

4) En Chine du Nord-Est

Une étude [89] a évalué la prévalence de l'infection par le virus en Chine du Nord-Est. Un total de 723 sérums prélevés dans 24 cliniques vétérinaires et refuges différents du Nord-Est de la Chine a été récolté chez des chiens, entre février et novembre 2012. Deux-cent vingt-trois échantillons ont été récoltés sur des chiens errants dans des refuges, 500 dans des cliniques vétérinaires. Trente des 723 chiens présentaient des signes cliniques compatibles avec la grippe. Quarante-cinq échantillons parmi les 223 provenant des chiens de refuge (20,2 %) ont fourni un résultat positif pour le virus H3N2, 166 parmi les 500 provenant des chiens de compagnie (33,2 %) ont fourni un résultat positif pour le virus H3N2 au test de neutralisation.

Une autre étude [80] a mis en évidence une séroprévalence de 3,5 % chez 882 chiens de Chine du Nord prélevés entre janvier 2012 et juin 2013, grâce au test d'inhibition de l'hémagglutination.

D) Le virus H1N1, un virus d'origine porcine transmissible aux chiens et aux chats

a) La découverte du virus

1) Chez les félins

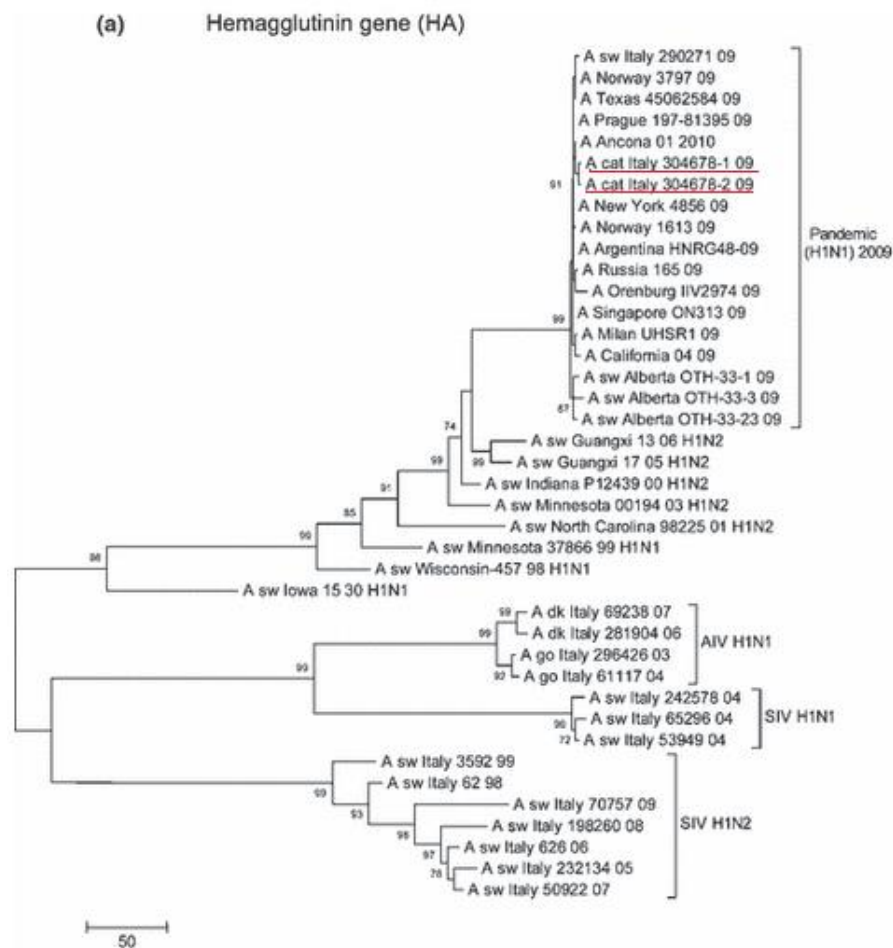
En 2009, un nouveau virus H1N1 d'origine porcine responsable d'une pandémie chez l'Homme a été identifié. Des infections naturelles de chiens et de chats par ce virus ont été détectées par la suite. Les premiers cas recensés concernaient des chats de compagnie en Oregon, aux Etats-Unis. Deux chats de dix ans et huit ans sont décédés après l'apparition de difficultés respiratoires sévères [51]. Le virus a été mis en évidence par RT-PCR dans les sécrétions nasales et dans un échantillon de poumon. Le virus a probablement été transmis par les propriétaires des chats à leurs animaux.

Par la suite, plusieurs cas sporadiques ont été détectés chez des chats et des guépards aux Etats-Unis. En novembre 2009, quatre guépards appartenant à un parc animalier de Californie ont été trouvés infectés par le virus H1N1. Ils présentaient des difficultés respiratoires sévères, un ptyalisme, une anorexie, une léthargie [15]. Des écouvillonnages nasaux ont alors été réalisés chez deux des guépards, les deux autres n'ayant plus de symptômes au moment des prélèvements. Les deux échantillons ont fourni un résultat positif vis-à-vis du virus H1N1.

Un autre cas a été détecté par PCR chez un chat domestique dans l'Iowa [73]. C'était un chat mâle castré de 13 ans. Il présentait une apathie, une anorexie et des difficultés respiratoires depuis quatre jours. Le chat était proche de ses propriétaires, dont deux ou trois membres avaient présenté des signes cliniques compatibles avec la grippe (fièvre, toux et myalgie pendant trois jours) avant l'apparition des signes chez le chat. Il a été désigné comme le virus *A/feline/IA/NVSL026991/2009*. Le gène de HA du virus présentait 99,4 % d'identité par rapport à celui du virus humain H1N1 ayant causé la pandémie en 2009.

En novembre 2009, un épisode d'infections par le virus H1N1 est apparu dans une colonie de chats errants dans le nord de l'Italie, avec des symptômes respiratoires et digestifs et une forte mortalité [24]. La colonie comprenait environ 90 chats répartis dans neuf cages. Durant la première semaine de cet épisode, 18 chatons de quatre à six mois ont été retrouvés morts ; la semaine suivante, sept chats adultes sont morts également. Les symptômes affectaient 50 % de la colonie. Les symptômes incluaient des vomissements, une forte fièvre, une dyspnée sévère, une conjonctivite, des écoulements nasaux et oculaires, une rhinorrhagie et une discordance. Le virus a été isolé dans les poumons de deux des chats morts, les autres n'ayant pas pu être analysés. Les virus ont été nommés *A/Cat/It/304678-1/09* et *A/Cat/It/304678-2/09*. La source de l'épisode de grippe chez ces chats serait le gardien du chenil. En effet, le virus isolé montrait 99 % d'identité avec le gène HA du virus humain et 100 % d'identité avec le gène NA. L'arbre phylogénétique est présenté dans la *Figure 18*. Par ailleurs, la colonie n'avait été en contact qu'avec le gardien et celui-ci avait développé des symptômes grippaux environ une semaine avant l'apparition de l'épisode. Il avait été détecté séropositif pour le virus H1N1 en janvier 2010, ainsi que ses deux chats. Néanmoins, il n'est pas exclu qu'une autre source soit à l'origine de cet épisode, comme un chat errant ou d'autres animaux sauvages ayant été en contact avec la colonie. Des échantillons de sang et des écouvillons nasaux ont alors été prélevés chez les 65 chats ayant survécu : 55 % d'entre eux étaient séropositifs. Une transmission horizontale de chat à chat a alors été envisagée. Le virus a également été isolé dans le système digestif des deux chats morts. Il pourrait donc également avoir un tropisme digestif, ou bien ce sont des facteurs secondaires comme la précarité de la vie de ces chats qui sont responsables de l'implication du système digestif dans la maladie.

Figure 18 : Arbre phylogénétique des virus H1N1 félins comparés à d'autres virus Influenza A
(Source : Fiorentini et al., 2011)



Les deux virus soulignés en rouge correspondent aux virus isolés chez des chats en Italie.

2) Chez les chiens

Le premier cas canin est apparu en novembre 2009 en Chine [50]. C'était un Pékinois femelle de neuf ans qui était présentée pour une toux sévère avec expectorations, discret abattement et anorexie depuis trois jours. Les propriétaires avaient eux-mêmes manifesté un épisode grippal avant le début des symptômes du chien. Le 20 novembre, un Dalmatien femelle de sept ans a été présenté dans une autre clinique pour toux avec expectorations, adénomégalie mandibulaire, écoulements nasaux et fièvre depuis quatre jours. Les PCR réalisées sur écouvillon nasaux ont fourni un résultat positif pour le virus H1N1/2009 chez ces deux chiens. Une étude expérimentale a par ailleurs montré que les chiens infectés expérimentalement par le virus pouvaient les transmettre à d'autres chiens.

b) Séroprévalence

1) Aux Etats-Unis

Sur un total de 400 chats ayant été prélevés entre septembre 2009 et septembre 2010 en Ohio, la séroprévalence de l'infection par le virus H1N1 chez les chats aux Etats-Unis était de 21,8 % pour le virus responsable de la pandémie de 2009. Elle était de 41,9 % pour le virus de la grippe saisonnière de l'Homme [1].

2) En Allemagne

Les sérums de 736 chiens et 414 chats ont été collectés entre 2010 et 2011 [17]. La séroprévalence mise en évidence par cette étude était de 0,13 % chez les chiens et 1,93 % chez les chats. La séroprévalence était donc faible en Allemagne.

3) En Italie

Les sérums de 964 chiens et 97 chats ont été prélevés entre octobre et décembre 2009 en Italie et testés pour le virus H1N1 [22]. Les chats étaient tous séronégatifs alors que sept sérums se sont révélés positifs parmi les chiens. La séroprévalence était alors de 0,7 % chez les chiens et nulle chez les chats. Le virus ne circulait donc pas de manière enzootique en Italie, mais le contact avec le virus a été démontré.

4) En Chine

Une étude de 2013 a évalué la présence du virus parmi les chiens et les chats en Chine [76]. Un total de 1080 sérums a été collecté entre février et décembre 2011. Six cent quatre-vingt sérums ont été collectés sur des chats de compagnie présentés dans des cliniques vétérinaires, 400 sérums provenaient de chats de refuges. La séroprévalence obtenue grâce au test ELISA était de 1,75 % (sept sérums positifs) parmi les chats de refuge et 0,88 % (six sérums positifs) parmi les chats de compagnie. La prévalence était donc également faible en Chine.

Une autre étude [80] a mis en évidence une séroprévalence de 1,5 % sur 882 sérums prélevés sur des chiens en Chine du Nord entre janvier 2012 et juin 2013 grâce au test d'inhibition de l'hémagglutination.

Le virus est donc très présent aux Etats-Unis mais reste rare dans les autres pays. Un tableau récapitulatif est présenté ci-dessous (*Tableau 4*).

Tableau 4 : Prévalence de l'infection par le virus H1N1 selon les pays

Pays	Prévalence
Etats-unis	Chats : 21,8 % pour le virus responsable de la pandémie de 2009 41,9 % pour la grippe saisonnière [1]
Allemagne	Chiens : 0,13 % Chats : 1,93 % [17]
Italie	Chiens : 0,7 % Chats : 0 % [22]
Chine	Chats de refuge : 1,75 % chats de compagnie : 0.88 % [76] Chiens : 1,5 % chez les [80]

E) Les autres virus, peu adaptés aux espèces canines et félines

a) Le virus H9N2, un virus transmissible aux chiens et aux chats

Le virus H9N2 circule de manière enzootique chez les oiseaux, et a été retrouvé à plusieurs reprises chez des Hommes et des porcs en Asie depuis 1998. De par la proximité des chiens et des chats avec ces populations, il a été envisagé que ces animaux pouvaient également être réceptifs/sensibles à ce virus.

Une enquête de séroprévalence a donc été mise en œuvre en Chine pour rechercher une infection des chiens et des chats par ce virus. Un total de 914 échantillons de sang ont été récoltés chez des chiens et testés de janvier 2012 à juin 2013 grâce au test d'inhibition de l'hémagglutination [78]. Un taux de séroprévalence de 44,85 % (410 sur 914 échantillons positifs) a été observé. L'infection par ce virus est donc courante en Chine.

L'inoculation expérimentale de chats et de chiens avec le virus H9N2 a par ailleurs montré que les chiens et les chats sont sensibles à l'infection [88].

b) Le virus H3N1

Dans le cadre d'un programme de surveillance de l'infection par le virus H5N2 de chiens de chenil et de refuge en Corée du Sud, un nouveau virus H3N1 a été isolé [70]. Il n'avait jamais

été détecté auparavant. Le séquençage du virus a révélé qu'il consiste en un réassortiment entre le virus d'origine aviaire H3N2 et le virus de la pandémie à H1N1.

De mai 2007 à décembre 2010 en Corée du Sud, 252 écouvillons nasaux ont été prélevés sur des chiens montrant des signes d'atteinte du système respiratoire comme de la toux, des écoulements nasaux et de la fièvre. Cinquante échantillons sur les 252 étaient positifs pour n'importe quel sous-type de la grippe A. Afin d'identifier le sous-type, des RT-PCR et des séquençages de HA et NA ont été réalisés. Sur les 50 isolats, 49 ont été identifiés comme le virus H3N2, mais un des isolats a été identifié comme un virus H3N1. Les analyses génétiques ont révélé que le gène de HA du nouveau virus était similaire au virus H3N2 circulant à cette période (99 % d'identité). Les sept autres segments étaient similaires à ceux du virus H1N1 responsable de la pandémie de 2009.

c) Le virus H5N2

En 2009, un virus grippal a été isolé chez un chien présentant une atteinte respiratoire, en Chine. Ce virus était de sous-type H5N2 [71]. Les sept gènes de HA, NP, NS, M, PB2, PB1 et PA étaient très proches de ceux du virus H5N1. Le gène de NA était quant à lui très proche de celui du virus H9N2. Le virus H5N2 était donc un réassortant de ces deux virus.

En 2009, une étude a cherché à évaluer la prévalence de l'infection par ce virus en Chine [87]. Des échantillons de sang ont été collectés sur 187 chiens. Des écouvillons nasaux ont été prélevés sur les 30 chiens parmi les 187 présentant des symptômes respiratoires (toux, éternuements, reniflements, fièvre). Une prévalence de 3,21 % a alors été mise en évidence (six chiens positifs sur 187).

d) Le virus H7N7

Les chats sont sensibles expérimentalement au virus H7N7 [85]. Trois chats ont été inoculés par voie intra-trachéale avec un virus H7N7 isolé à partir d'un cas humain en 2003 aux Pays-Bas. Les trois chats n'ont présenté qu'une élévation de la température rectale de 1,5 à 2°C entre deux jours post-inoculation et six jours post-inoculation. Le virus a été isolé à partir des écouvillons pharyngés de tous les chats inoculés, mais pas des écouvillons nasaux et rectaux.

Le virus n'existe pas chez les chats en situation naturelle.

II) Modes de transmission, incubation et excrétion

A) Le virus H3N8 (2004)

La grippe est très contagieuse et le virus se répand rapidement par aérosolisation ou par voie indirecte [20]. Les virus contenus dans les gouttelettes d'aérosols sont inhalés et se déposent sur le film muqueux qui recouvre l'épithélium de l'appareil respiratoire supérieur. Les virus situés sur les objets contaminés (chaussures, vêtements, murs, etc.) pourraient pénétrer dans le tractus respiratoire par les narines, les conjonctives ou la bouche par transmission indirecte.

Le virus peut résister sur les surfaces pendant 48 heures, sur les vêtements pendant 24 heures, et sur les mains pendant 12 heures. Si le virus est introduit dans un chenil ou dans un groupe de chiens dans un lieu clos, un fort pourcentage de chiens vont être infectés et symptomatiques, mais environ 20-25 % resteront asymptomatiques, tout en excréant le virus et en participant donc à l'expansion de la maladie.

La transmission du virus à des chiens sains par aérosol infectieux à partir d'un groupe de chiens infecté expérimentalement avec le virus H3N8 [36]. Les chiens sains mis en contact avec les chiens expérimentalement infectés développent les mêmes signes cliniques que les chiens infectés avec une séroconversion 21 jours après l'inoculation du virus.

La période d'incubation de la maladie est de deux à cinq jours, et le pic d'excrétion virale intervient deux à cinq jours après l'infection chez le chien adulte. Les chiens infectés excrètent donc le virus avant d'exprimer des signes cliniques. L'excrétion devient moins importante dans les deux à quatre jours suivant l'apparition des symptômes mais peut continuer jusqu'à sept jours après l'apparition des symptômes chez la plupart des chiens et jusqu'à dix jours chez certains. Les chiens de tout âge, de toute race et avec n'importe quel statut vaccinal, mais non vaccinés contre la grippe, sont susceptibles d'être infectés.

La cinétique d'infection est quelque peu différente chez les chiots et elle est notamment plus longue. Lors de l'inoculation expérimentale de chiots avec le virus H3N8 [18], le virus a été excrété dans les sécrétions nasales dès le 1^{er} jour post-inoculation. Le pic d'excrétion intervient au 4^{ème} jour post-inoculation et l'excrétion a chuté brutalement aux 5^{ème} et 6^{ème} jours. Elle s'est achevée chez la plupart des chiots aux 7^{ème} et 8^{ème} jours, certains ayant continué à excréter aux 9^{ème} et 10^{ème} jours. Le virus n'a plus été détectable au 14^{ème} jour post-inoculation.

Le tractus respiratoire supérieur est le site initial d'infection. Les bronches et la trachée sont communément touchées, développant les atteintes cliniques, notamment inflammatoires (bronchite et trachéite). Le film muqueux représente un mécanisme de défense de l'hôte avec des anticorps (IgA) et des glycoprotéines. Les glycoprotéines peuvent s'attacher au virus et ainsi faire diminuer le nombre de virus qui s'attachent à l'épithélium respiratoire. Cependant

les protéines NA peuvent détruire ces glycoprotéines. Si elles en détruisent suffisamment, les virus s'attacheront alors à l'épithélium, et pourront envahir les cellules épithéliales et s'y répliquer.

B) Le virus H5N1 (2003)

L'infection des chiens et des chats par le virus H5N1 a souvent été imputée à une contamination des animaux par des oiseaux infectés, particulièrement après l'ingestion de viande crue. Par ailleurs, la transmission indirecte est possible par contact avec des fientes d'oiseaux contaminés ou par inhalation. [54].

La transmission horizontale entre des chats infectés expérimentalement a aussi été démontrée [43] : lorsque des chats sains ont été placés directement en présence de chats infectés par voie intra-trachéale, ils ont présenté les mêmes signes cliniques et les mêmes lésions et ont excrété le virus de la même manière. La transmission horizontale avait d'ailleurs été suspectée lors de l'épisode dans le zoo de Thaïlande, où 147 félins étaient décédés ou avaient été euthanasiés.

Jusqu'à présent, aucune transmission entre des chats et d'autres espèces n'a été mise en évidence. Cependant, des anticorps spécifiques ont été retrouvés chez deux des 58 personnes qui avaient été en contact avec les tigres infectés en 2004 en Thaïlande. Ces personnes n'avaient exprimé aucun symptôme.

Une étude [27] a montré que les chiens peuvent être infectés expérimentalement par le virus, mais aucune transmission horizontale entre chiens ou entre chiens et chats n'a été observée. En effet, le virus a été isolé dans les écouillons nasaux des chiens infectés expérimentalement qui présentaient des signes cliniques compatibles avec la maladie, mais les animaux non infectés placés en contact direct avec les animaux inoculés expérimentalement n'ont pas développé de symptômes et le virus n'a pas été retrouvé dans leurs écouillons nasaux. Les auteurs en ont conclu que le virus ne semble pas bien adapté à cette espèce, qui ne semble pas pouvoir le disséminer [28].

Chez le chat, l'incubation virale est plus courte après infection expérimentale par voie orale ou respiratoire (un à deux jours d'incubation) qu'après infection horizontale par d'autres chats (cinq jours d'incubation) [54]. Les félins infectés excrètent le virus par les voies respiratoires, digestives et urinaires. En effet, le virus a été retrouvé à partir d'écouvillons nasaux, pharyngés et rectaux ainsi que dans des échantillons d'urine et de selles.

L'excrétion aurait lieu avant l'expression des symptômes. Lors d'une étude expérimentale [43], l'excrétion a débuté trois jours après l'infection et était encore présente sept jours après l'infection, au moment où les animaux ont été euthanasiés. Les symptômes sont apparus dès le premier jour post-infection (élévation de la température corporelle, baisse de l'activité,

conjonctivite, difficultés respiratoires). Les animaux infectés de manière subclinique pouvaient excréter pendant deux semaines.

C) Le virus H3N2 (2006)

La contamination par le virus H3N2 serait induite par l'ingestion de viande crue de volaille infectée, largement utilisée en Corée du Sud notamment pour l'alimentation des carnivores domestiques. La transmission horizontale entre chiens a été démontrée [38, 68]. Une séroconversion de tous les chiens du chenil en contact avec les chiens ayant développé la maladie a été mise en évidence [69]. Les chiens peuvent également transmettre le virus aux chats, mais l'inverse n'a pas été démontré.

Chez les chiens infectés par le virus de manière expérimentale, le virus n'a pas été détecté dans les selles. L'excrétion virale dans les écoulements nasaux a débuté le 1^{er} jour après l'inoculation. L'excrétion était maximale à quatre jours post-inoculation et a duré jusqu'au 6^{ème} jour post-inoculation [69].

La transmission horizontale entre chats a été démontrée [48]. Les chats infectés de manière expérimentale ont excrété le virus dans les sécrétions nasales aux 2^{ème}, 4^{ème} et 7^{ème} jours post-inoculation, avec un pic d'excrétion au 2^{ème} jour [67].

D) Le virus H1N1 (2009)

Le mode de transmission privilégié du virus serait la transmission par aérosol avec les Hommes infectés [73], étant donné que l'infection du chat présenté dans l'étude était secondaire à des symptômes grippaux chez les propriétaires du chat. De même dans le cas du refuge de chats errants [24], la principale source suspectée était le gardien du refuge.

La transmission horizontale du virus entre chiens est possible mais faible [49]. En effet, sur les trois chiens sains mis en présence de chiens inoculés expérimentalement par le virus, un seul a développé des signes montrant que le virus s'est multiplié (écoulement nasal). Une séroconversion était par ailleurs mise en évidence chez ce chien.

La transmission horizontale entre chats a été suspectée lors de l'épisode de grippe affectant le refuge de chats errants en Italie car 50 % de la colonie a été touchée par la maladie [24]. Cette transmission a été démontrée dans une autre étude ayant mis en contact des chats sains avec des chats infectés de façon expérimentale [84]. Tous les chats sentinelles ont présenté une séroconversion 21 jours post-inoculation et des lésions pulmonaires discrètes.

L'excrétion par voie nasale chez les chiens infectés expérimentalement a débuté au 1^{er} jour post-inoculation et a persisté au-delà de cinq jours post-inoculation [50]. L'excrétion par voie digestive était inexistante.

E) Le virus H9N2 (2012)

Un virus H9N2 a été inoculé par voie intranasale ou orale à des chiens et des chats [88]. Le virus a été retrouvé dans les tissus respiratoires des chats inoculés à trois jours post-inoculation, et a été excrété dans les lavages nasaux et les écouvillons pharyngés dès le jour deux et jusqu'au 10^{ème} jour post-inoculation. Parmi les trois chats sains mis en contact des chats infectés, deux ont présenté une séroconversion mais aucun n'a excrété le virus. Le virus a donc été transmis de chat à chat mais cette transmission a abouti à une infection non productive.

Le virus a été isolé dans le tissu pulmonaire des chiens à trois jours post-inoculation mais n'a pas été retrouvé dans les lavages nasaux et les écouvillons pharyngés : les chiens n'ont pas excrété le virus. Les chiens en contact des chiens infectés n'ont pas excrété non plus le virus.

Le virus H9N2 semble donc mieux adapté aux chats car ils excrètent et transmettent le virus contrairement aux chiens qui ne l'excrètent pas.

F) Le virus H3N1 (2007)

L'excrétion du virus par les chiens expérimentalement infectés par le virus H3N1 était plus faible que celle des chiens infectés par les virus parents H3N2 et H1N1 [70]. La séroconversion a été observée chez tous les chiens inoculés.

Les modes de transmission du virus entre les chiens et la durée d'incubation de la maladie n'ont pas été étudiées à ce jour.

G) Le virus H5N2 (2009)

La transmission horizontale entre chiens à partir de chiens infectés expérimentalement est possible. En effet, une étude [71] a montré que sur huit chiens sains placés en présence directe d'un groupe de chiens infectés expérimentalement, quatre ont développé les mêmes signes cliniques que les chiens infectés, et deux autres ont été infectés sans présenter de symptômes.

La transmission horizontale est donc possible entre chiens mais avec une excrétion assez faible.

Une étude [23] a montré que les chats peuvent être contaminés selon les mêmes modalités. En effet, sur cinq chats mis en présence des chiens infectés expérimentalement, un a présenté des signes cliniques compatibles avec la grippe. Il a présenté également une séroconversion, ainsi qu'un autre chat asymptomatique du groupe. Le virus était présent dans les écouvillons nasaux prélevés chez les deux chats. La transmission de chien à chat est donc possible mais peu efficace.

Le virus a été isolé dans les écouvillons nasaux de tous les chiens infectés expérimentalement du 1^{er} jour au 5^{ème} jour post-inoculation, et chez six des huit chiens en contact avec les chiens infectés expérimentalement du 3^{ème} jour au 6^{ème} jour post-inoculation [71]. Les écouvillons rectaux ont fourni des résultats négatifs. Les chiens excrètent donc le virus par voie nasale. Le pic d'excrétion pour le groupe inoculé s'est situé entre le 1^{er} et le 3^{ème} jour post-inoculation alors que le pic d'excrétion du groupe en contact avec les chiens inoculés s'est situé au 3^{ème} et 4^{ème} jour post-inoculation, avec un taux d'excrétion plus faible.

H) Le virus H7N7 (2003)

Le virus a été retrouvé dans les écouvillons pharyngés de trois chats domestiques infectés expérimentalement avec le virus H7N7 isolé chez un Homme infecté aux Pays-Bas en 2003. Les chats excrètent donc le virus [85]. Cependant la transmissibilité du virus entre les animaux sensibles expérimentalement n'a pas été étudiée à ce jour.

Un récapitulatif des modes d'infection et de transmission, de l'excrétion et de l'incubation est présenté dans le *Tableau 5*.

Tableau 5 : Récapitulatif des modes de transmission, de l'excrétion et l'incubation des différents virus

Virus	Mode d'infection	Mode de transmission	Excrétion	Incubation
H3N8	Naturelle chez les chiens	Aérosols, voie indirecte Très contagieux Horizontale entre chiens	J2 à J5	2 à 5 jours
H5N1	Naturelle chez les chats Expérimentale chez les chiens	Aérosols, fientes d'oiseaux Horizontale entre chats	J3 à J7 chez les chats	?
H3N2	Naturelle chez les chiens Expérimentale chez les chats	Ingestion viande contaminée Horizontale entre chiens et chats Horizontale de chiens à chats	J2 à J6	?
H1N1	Naturelle chez les chats Expérimentale chez les chiens	Aérosols humains chez les chats Horizontale entre chiens mais peu efficace Horizontale entre chats	J1 à J5 chez les chiens	?
H9N2	Expérimentale chez les chiens et les chats	Horizontale entre chats mais peu efficace	Présente chez les chats infectés Nulle chez les chats en contact Nulle chez les chiens	?
H3N1	Expérimentale chez les chiens	?	Faible	?
H5N2	Expérimentale chez les chiens et chats	Horizontale entre chiens Horizontale de chiens à chats (peu efficace)	Faible Pic de J1 à J3	1 j chiens inoculés 3 j chiens en contact
H7N7	Expérimentale chez les chats	?	?	?

III) Présentation clinique et pronostic

Les signes cliniques de la grippe canine et féline ne sont pas pathognomoniques [21]. Il s'agit essentiellement de signes généraux associés à des signes d'atteinte respiratoire [60].

A) Virus H3N8

Environ 80 % des chiens infectés présentent des signes cliniques associés à l'infection par le virus H3N8. La forte morbidité est due au fait que la vaccination est peu développée et que les chiens sont immunologiquement naïfs par rapport à ce nouveau virus émergent [60]. Il existe deux formes de la maladie : une forme peu sévère et une forme de pneumonie sévère [30]. Il n'existe aucune prédisposition de sexe, d'âge ou de race [74].

a) Forme sévère

La forme de pneumonie sévère est associée à une forte fièvre (40 - 41°C), une toux humide, une tachypnée, une dyspnée, des écoulements nasaux purulents, un abattement et une anorexie. La radiographie thoracique montre des signes de bronchopneumonie sévère avec une consolidation pulmonaire et un épanchement pleural. Une hémorragie pulmonaire aiguë peut survenir et être responsable du décès.

b) Forme discrète

La forme peu sévère est retrouvée dans la majorité des cas (95 à 99 % des chiens infectés). Cette maladie se traduit par une fièvre modérée, une toux discrète et humide persistant 10 à 30 jours malgré les traitements. Certains chiens déclenchent seulement une toux sèche paroxystique. La grippe peut alors être confondue avec la toux de chenil provoquée par *Bordetella bronchiseptica* et par le virus *Parainfluenza*. Une rougeur des muqueuses nasales et un écoulement nasal séreux peuvent aussi être observés. Si une infection bactérienne secondaire (souvent due à *Pasteurella multocida*, *Mycoplasma spp.*, ou *Streptococcus spp*) est présente, l'écoulement nasal devient mucopurulent, et une pneumonie peut alors apparaître.

c) Pronostic

Chez un chien présentant une forme discrète, une guérison complète est observée en deux à trois semaines avec éventuellement un soutien par traitement médical.

Chez un chien atteint de la forme sévère, un taux de létalité de 1 à 8 % est observé selon les études. Les animaux décèdent d'une hémorragie pulmonaire suraiguë.

d) Infection expérimentale

Pour évaluer les effets d'une inoculation expérimentale par le virus de la grippe canine chez les chiens et ainsi en observer les effets dans un milieu non contaminé, une étude a été menée : huit chiots de 14 à 16 semaines ont reçu par voie intranasale trois souches différentes de virus H3N8, isolées à partir de l'épisode des lévriers de course en Floride en 2004 [18]. Les chiots ont développé à partir du 1^{er} jour des signes respiratoires tels que des éternuements, de la toux, des écoulements oculaires et nasaux, de la dyspnée et un abattement. Au 4^{ème} jour, 96 % des chiots présentaient des signes cliniques. La toux était le signe prédominant et partagé par la majorité des chiots. Les signes cliniques ont atteint leur pic d'expression entre 10 et 11 jours post-inoculation puis ont diminué à partir du 12^{ème} jour. Seuls deux chiots ont développé une fièvre significative (supérieure à 39.5°C). La fièvre n'était donc pas un signe prédominant de la grippe canine à virus H3N8.

Tous les chiots ont présenté une séroconversion. Les anticorps étaient détectables à partir du 7^{ème} jour et le taux était le plus élevé à 14 jours post-infection.

B) Les autres virus

a) Le virus H5N1

Les symptômes décrits chez les félins infectés par le virus H5N1 consistent en une fièvre, un abattement, des difficultés respiratoires, une conjonctivite, un écoulement nasal muco-sanguin, une protrusion de la troisième paupière, et des signes neurologiques tels que des convulsions ou de l'ataxie. La mort peut alors survenir dès le deuxième jour après l'infection [54].

Certains félins peuvent être asymptomatiques, excréter le virus et développer des anticorps.

Une relation dose-effets a été démontrée. Lorsqu'une forte dose a été inoculée, les chats développaient des symptômes importants. Avec des doses modérées, ils manifestaient pas ou peu de signes cliniques, mais présentaient une séroconversion et excrétaient le virus. Les chats inoculés avec de faibles doses ne développaient pas de symptômes, n'excrétaient pas et ne présentaient pas de séroconversion [7, 28].

Les symptômes constatés chez le chien décédé du virus H5N1 en 2004 en Thaïlande étaient une forte fièvre, une dyspnée et un abattement sévère. Certains chiens infectés excrétaient le virus dans les cavités nasales mais ne présentaient pas de signes de la maladie [52].

b) Le virus H3N2

Un seul épisode d'infection par le virus H3N2 a été rapporté en Corée du Sud. L'infection de chiens par le virus H3N2 était caractérisée par une atteinte sévère de l'appareil respiratoire. Une forte fièvre était présente, ainsi qu'un écoulement nasal, des éternuements, une toux et une anorexie. Un seul des cinq chiens ayant été présentés dans des cliniques vétérinaires avait survécu [7].

Les chats infectés expérimentalement par le virus H3N2 présentaient une fièvre, des éternuements, de la toux et, une dyspnée et des écoulements nasaux mais pas de mortalité [67].

c) Le virus H1N1

Les chats infectés naturellement par le virus présentaient une dépression, une anorexie et des signes respiratoires tels que de la dyspnée [73].

Les chats de l'Oregon [51] présentaient une augmentation de la température corporelle, une polypnée, une respiration superficielle et des bruits inspiratoires et expiratoires. Aucune toux et aucun éternuement n'a été reporté durant l'examen clinique.

Les chiens infectés naturellement par le virus présentaient une toux sévère expectorante, un abattement et une dysorexie depuis trois jours lors de la consultation. Les chiens inoculés expérimentalement présentaient une toux discrète pendant un à sept jours post-inoculation, et deux chiens sur les six inoculés présentaient des écoulements nasaux pendant deux à quatre jours post-inoculation. La température rectale était élevée (39.1 à 39.4°C) deux jours post-inoculation puis a diminué aux 8^{ème} et 9^{ème} jours [50].

d) Le virus H5N2

Parmi les huit chiens infectés expérimentalement dans une étude [71], cinq présentaient des signes cliniques tels qu'une conjonctivite, des éternuements, des écoulements nasaux et une toux discrète, du 3^{ème} jour au 6^{ème} jour post-inoculation. Aucun signe respiratoire sévère n'a été observé. Six chiens ont présenté une température rectale augmentée au 2^{ème} et au 3^{ème} jour post-inoculation (39,2 à 39,8 °C). Tous les chiens ont récupéré de la maladie.

e) Les virus qui ne provoquent pas de symptôme : H9N2, H3N1 et H7N7

Les chiens et les chats inoculés expérimentalement par le virus H9N2 n'ont présenté aucun symptôme [88]. La température n'était pas significativement différente chez les chats infectés expérimentalement par rapport aux chats témoins. Le virus H9N2 induit donc une infection asymptomatique chez les chiens et les chats.

Les animaux infectés expérimentalement par le virus H3N1 et H7N7 n'ont pas présenté non plus de signes cliniques [70, 85]. Les chats infectés par le virus H3N1 ont seulement présenté une élévation modérée de la température rectale, de 1.5 à 2°C.

Un tableau récapitulatif des signes cliniques est présenté dans le *Tableau 6*.

Tableau 6 : Récapitulatif des signes cliniques engendrés par les différents virus

Virus	Symptômes
H3N8	Forme sévère : forte fièvre, toux, tachypnée, dyspnée, écoulements nasaux purulents, abattement, anorexie, mort possible Forme discrète : fièvre modérée, toux discrète et humide
H5N1	Fièvre, abattement, difficultés respiratoires, conjonctivite, écoulement nasal muco-sanguin, protrusion de la troisième paupière, signes neurologiques, mort possible
H3N2	Atteinte sévère de l'appareil respiratoire, forte fièvre, écoulement nasal, éternuements, toux, anorexie, mort possible chez les chiens Fièvre, éternuements, toux, dyspnée, écoulements nasaux, pas de mortalité chez les chats
H1N1	Dépression, anorexie, dyspnée, polypnée, augmentation des bruits pulmonaires, hyperthermie chez les chats Toux sévère expectorante, abattement, dysorexie chez les chiens
H5N2	Conjonctivite, éternuements, écoulements nasaux, toux discrète, hyperthermie
H9N2, H3N1, H7N7	Aucun symptôme

IV) Lésions

A) H3N8

a) Animaux infectés spontanément

Chez les chiens infectés spontanément par le virus H3N8 (13 lévriers de course infectés en 2004 en Floride, décédés ou euthanasiés), une hémorragie pulmonaire importante concernant des lobes entiers ou le poumon entier a été observée [10]. L'hémorragie était parfois retrouvée également dans le médiastin ou dans l'espace pleural. On pouvait alors avoir 100 à 200 mL de sang en nature dans la cavité pleurale.

Les 13 chiens présentaient aussi une trachéite et une bronchite caractérisées par une nécrose et une érosion de l'épithélium de surface ou une hyperplasie de la couche superficielle avec infiltration par des neutrophiles ou des cellules mononucléées (lymphocytes et macrophages). Les glandes trachéales et bronchiques étaient aussi concernées par cette nécrose ou hyperplasie, ainsi que les cellules épithéliales ciliées.

Tous les chiens présentaient une hyperplasie discrète à modérée des nœuds lymphatiques trachéo-bronchiques.

Une bronchopneumonie suppurée modérée à sévère était présente chez 12 des 13 chiens, avec une localisation préférentiellement cranio-ventrale. Les cellules inflammatoires dominantes étaient des neutrophiles et macrophages. L'exsudat alvéolaire était constitué de fibrine en quantité abondante et d'érythrocytes. Dans les autres parties du poumon, l'hémorragie était présente sans infiltration de cellules inflammatoires.

Des surinfections bactériennes ont été identifiées chez tous les chiens, avec majoritairement *Streptococcus equi* subsp *zooepidemicus* (sept chiens), *Escherichia coli* (cinq chiens), *Pasteurella multocida* (deux chiens) et *Mycoplasma sp* (deux chiens).

Neuf chiens sur 13 présentaient une rhinite modérée caractérisée par une nécrose ou une érosion et une infiltration de la muqueuse par des lymphocytes ou des monocytes.

Sur les 13 chiens, deux présentaient une bronchiolite caractérisée par une nécrose et une érosion épithéliale ou par une hyperplasie associée à une infiltration de cellules inflammatoires telles que des neutrophiles et des macrophages.

Les lésions observées étaient donc une hémorragie pulmonaire, une hyperplasie des nœuds lymphatiques trachéo-bronchiques, une trachéite et une bronchite, une bronchopneumonie, une rhinite et parfois une bronchiolite.

b) Animaux infectés expérimentalement

Pour établir la chronologie des lésions observées, des inoculations expérimentales ont été réalisées ainsi que des autopsies à différents moments après inoculation [10].

La trachéite et la bronchite apparaissaient dès le 1^{er} jour post-inoculation, avec des lésions multifocales le long de la trachée et des bronches : nécrose des cellules épithéliales ou rarement apoptose, avec infiltration des cellules épithéliales, de la *lamina propria* et de la sous-muqueuse par des neutrophiles. Les zones de nécrose et d'érosion de l'épithélium s'étendaient à partir du 2^{ème} jour jusqu'au 5^{ème} jour, puis elles diminuaient et étaient minimales au 6^{ème} jour. L'hypertrophie et l'hyperplasie épithéliale étaient observées aux jours 4, 5 et 6 post-inoculation. Les lymphocytes et les macrophages étaient les cellules inflammatoires dominantes et leur nombre augmentait aux 2^{ème}, 3^{ème}, 4^{ème} et 5^{ème} jours post-inoculation et étaient associées à un œdème de la *lamina propria* et de la sous-muqueuse [10].

L'inflammation des glandes sous-muqueuses des bronches et bronchioles était caractérisée par une nécrose épithéliale ou la perte des cellules cuboïdes glandulaires normales, remplacées par des cellules cuboïdes aplaties, et l'infiltration de l'épithélium et la sous-muqueuse par des neutrophiles et des lymphocytes. L'hyperplasie de l'épithélium glandulaire était observée aux 4^{ème}, 5^{ème} et 6^{ème} jours post-inoculation. Les lésions inflammatoires trachéales et bronchiques avaient presque entièrement disparu 14 jours post-inoculation, on ne retrouvait alors que quelques agrégats lymphoïdes multifocaux de faible densité cellulaire dans la *lamina propria*.

Au 1^{er} et 2^{ème} jour post-inoculation, des agrégats à faible densité cellulaire de neutrophiles et macrophages étaient présents dans la lumière bronchiolaire et occasionnellement dans la *lamina propria* des bronchioles. Des érosions multifocales discrètes étaient retrouvées aux 4^{ème} et 5^{ème} jours, associées à un faible nombre de lymphocytes et macrophages avec un œdème discret de la paroi des bronchioles.

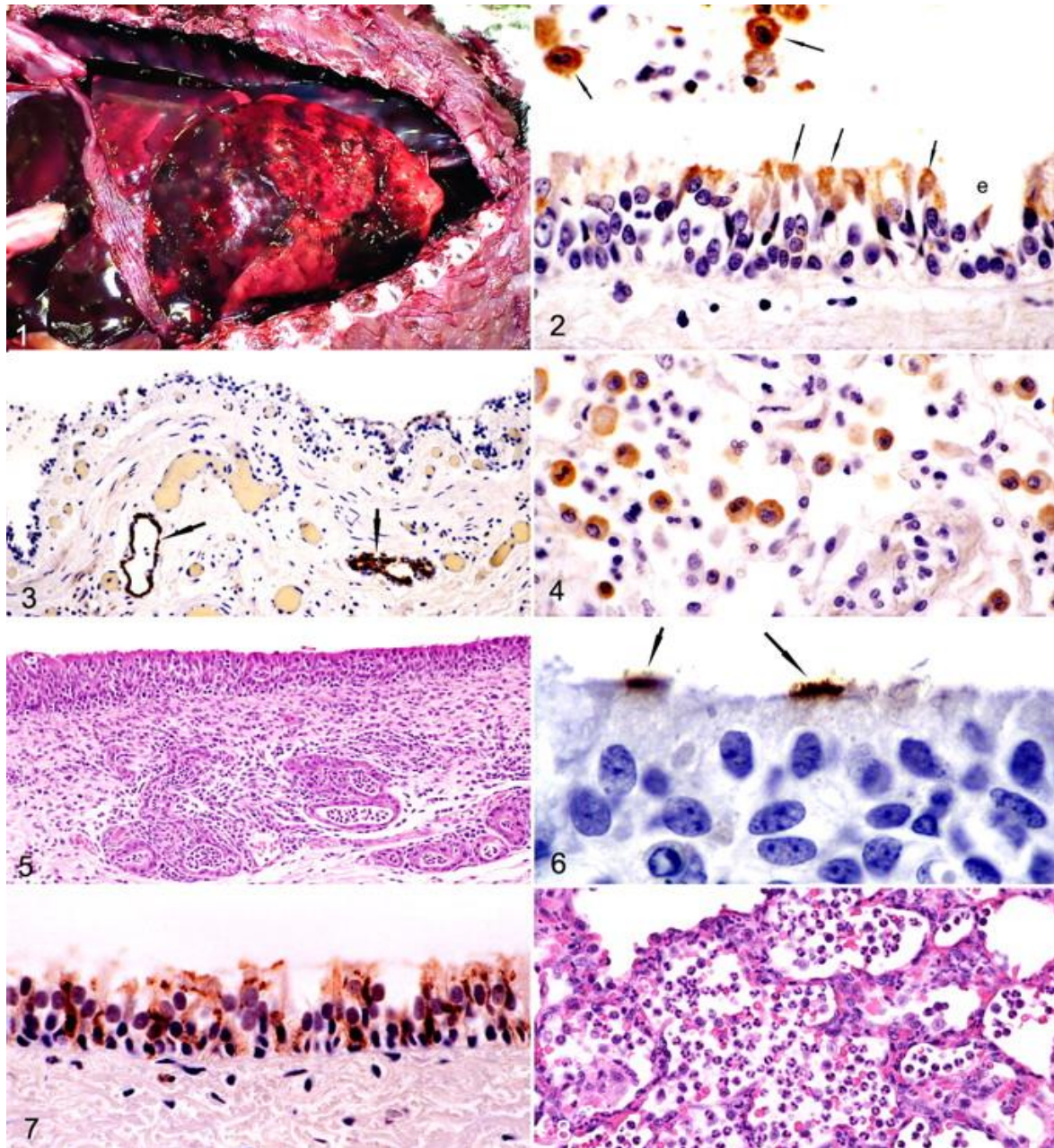
La pneumonie était présente aux 1^{er}, 2^{ème} et 3^{ème} jours post-inoculation intra-trachéale. Elle était localisée aux lobes cranio-ventraux et caractérisée par une infiltration par des cellules inflammatoires dominée par des neutrophiles dans les alvéoles et les septums inter-alvéolaires des bronchioles terminales. Des lésions grossières étaient visibles aux 2^{ème} et 3^{ème} jours post-inoculation, lorsque respectivement 0,5 % et 8 % du poumon avait acquis une couleur rouge correspondant aux sites de la pneumonie.

Au 4^{ème} jour, une distribution cranio-ventrale et acinaire proximale des lésions était retrouvée à l'histologie. La densité des cellules inflammatoires était plus faible. Les macrophages étaient les cellules inflammatoires prédominantes dans les alvéoles, le septum inter-alvéolaire était aminci. Une hyperplasie discrète des cellules épithéliales alvéolaires de type 2 était observée. Aux 5^{ème} et 6^{ème} jours post-inoculation, un amincissement discret du septum alvéolaire des acini proximaux était observée ainsi qu'une hyperplasie des cellules épithéliales de type 2, et des agrégats multifocaux de macrophages dans les espaces alvéolaires.

Les animaux infectés expérimentalement présentaient également une rhinite de degré comparable, avec une nécrose cellulaire épithéliale multifocale discrète et une infiltration de la muqueuse et de la *lamina propria* par des agrégats de faible densité de neutrophiles et lymphocytes aux 2^{ème} et 6^{ème} jours post-inoculation.

L'ensemble des lésions est présenté dans la Figure 19.

Figure 19 : Illustration des lésions retrouvées chez un lévrier infecté naturellement par le virus H3N8 et par inoculation expérimentale (Source : Castelman et al., 2010)



1- Thorax ouvert d'un lévrier spontanément infecté. Une hémorragie atteint la totalité des lobes pulmonaires. Le lobe moyen droit est plus affecté que les autres. Du sang est présent dans la cavité pleurale et une hémorragie diffuse est observée à la surface de la plèvre costale dorsale.

2- Bronches d'un lévrier spontanément infecté. Une érosion focale épithéliale est présente (e) à la surface de l'épithélium. Le cytoplasme des cellules épithéliales et des macrophages de la lumière est positif immunohistochimie pour l'antigène de l'hémagglutinine (flèches) en HA3.

3- Bronches d'un lévrier spontanément infecté. L'épithélium de surface est érodé, les glandes sous-muqueuses sont positives en immunohistochimie pour l'antigène de l'hémagglutinine (flèches) HA3.

4- Région pulmonaire atteinte de pneumonie chez un lévrier spontanément infecté. Des neutrophiles, des macrophages et des lymphocytes sont présents dans le septum inter-alvéolaire et dans la lumière des alvéoles. Les macrophages de la lumière des alvéoles sont positif immunohistochimie pour l'antigène de l'hémagglutinine (flèches) HA3.

5- Bronches d'un chien cinq jours après l'inoculation expérimentale par H3N8. Une hyperplasie de l'épithélium de surface et de l'épithélium bordant les glandes sous-muqueuses est présente, avec infiltration de cellules inflammatoires (neutrophiles et lymphocytes) dans les couches épithéliales et dans la lumière des glandes.

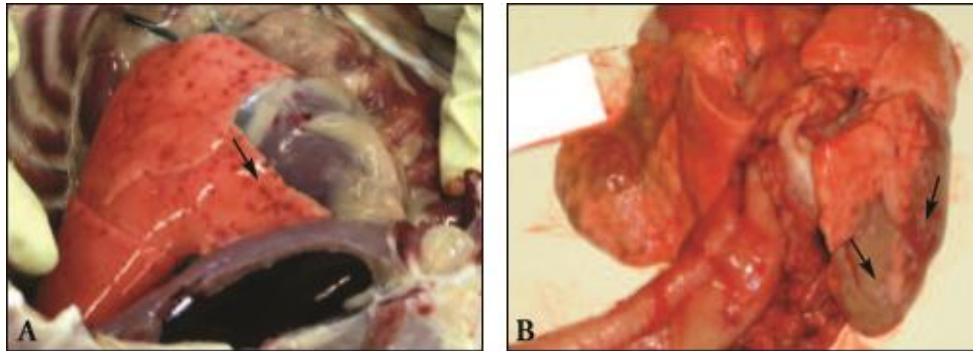
6- Trachée d'un chien deux jours après l'inoculation expérimentale par H3N8. L'antigène de HA HA3 est présent sur la surface ciliée des cellules ciliées (détection par immunohistochimie).

7- Trachée d'un chien sept jours après l'inoculation expérimentale par H3N8. L'antigène de HA HA3 est présent dans le cytoplasme des cellules ciliées et non-ciliées ainsi que dans les cellules basales (détection par immunohistochimie).

8- Pneumonie chez un chien trois jours après l'inoculation expérimentale par H3N8. Les lumières alvéolaires et les septums inter-alvéolaires contiennent des neutrophiles et des macrophages.

Chez les chiots infectés expérimentalement [18], une congestion pulmonaire et des hémorragies sous forme de pétéchies étaient présentes au 3^{ème} jour post-inoculation. Ces lésions étaient combinées à une charge virale importante, ce qui traduisait une réplication active du virus et une inflammation précoce. Au 6^{ème} jour, les lésions pulmonaires étaient caractérisées par une consolidation (accumulation de liquide dans les alvéoles), avec une charge virale moins élevée. Les lésions étaient plus importantes au 14^{ème} jour post-inoculation, mais le virus n'était pas présent. Les lobes crâniens droit et gauche étaient plus atteints que les lobes caudaux, probablement à cause de leur localisation anatomique (Figure 20).

Figure 20 : Lésions induites par l'infection expérimentale par le virus H3N8 chez des chiots (Source : Deshpande et al., 2009a)

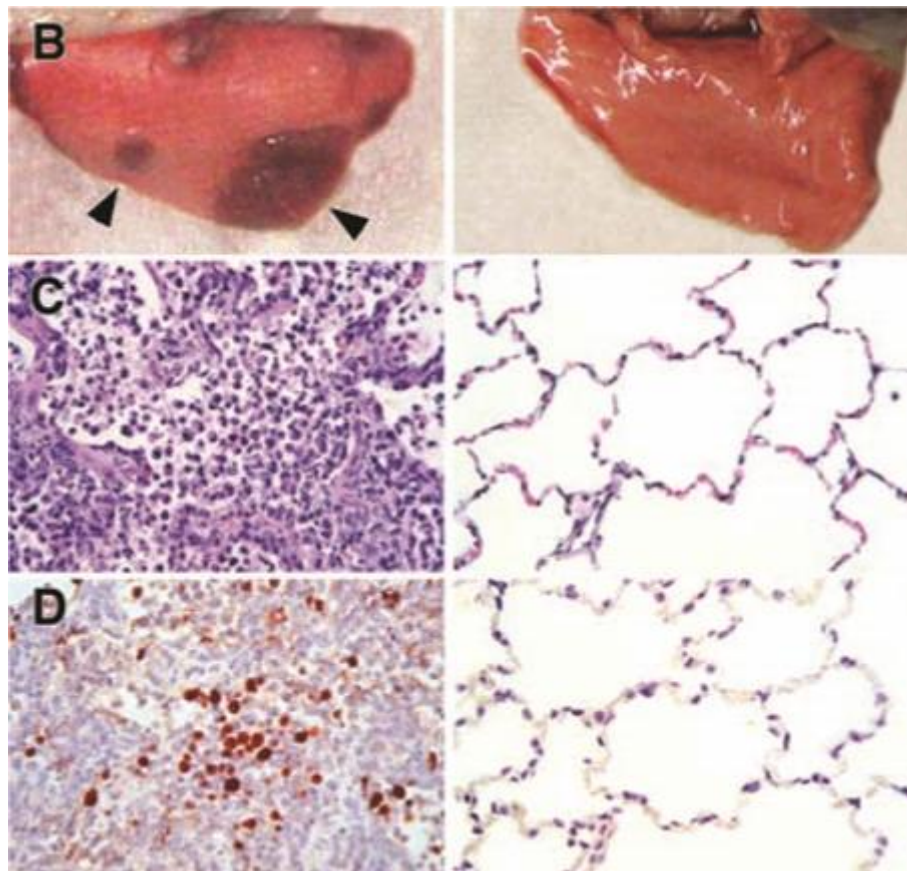


(A) Lésions au 3^{ème} jour post-inoculation caractérisées par une congestion pulmonaire et des hémorragies sous forme de pétéchies (flèches). (B) Lésions au 14^{ème} jour post-inoculation caractérisées par une consolidation (flèches).

B) H5N1

A l'autopsie des chats infectés par le virus H5N1, on pouvait trouver des modifications pulmonaires importantes : consolidation, hémorragie, œdème, ainsi qu'un épanchement pleural. L'analyse histopathologique a révélé une inflammation extensive et une nécrose du tissu pulmonaire à l'origine d'une pneumonie interstitielle et une atteinte alvéolaire diffuse (Figure 21) [54, 43].

Figure 21 : Lésions pulmonaires d'un chat ayant ingéré un poulet inoculé avec le virus H5N1 (à gauche) et non inoculé (à droite) (Source : Kuiken et al., 2004)



A gauche : (B) Nombreux foyers de consolidation (pointes), consistant histologiquement (C) En une atteinte alvéolaire globale avec (D) Expression de l'antigène viral dans les tissus enflammés mise en évidence par immunohistochimie

A droite : Poumon sain

Une congestion cérébrale et cérébelleuse a été observée ainsi qu'une méningoencéphalite non suppurée accompagnée de vasculite. La diarrhée observée chez les volailles et les Hommes infectés n'a pas été retrouvée chez les chats.

L'analyse histopathologique du foie a montré une hépatite nécrosante multifocale expliquant l'augmentation des enzymes hépatiques et l'ictère généralisé visible à l'autopsie des animaux infectés.

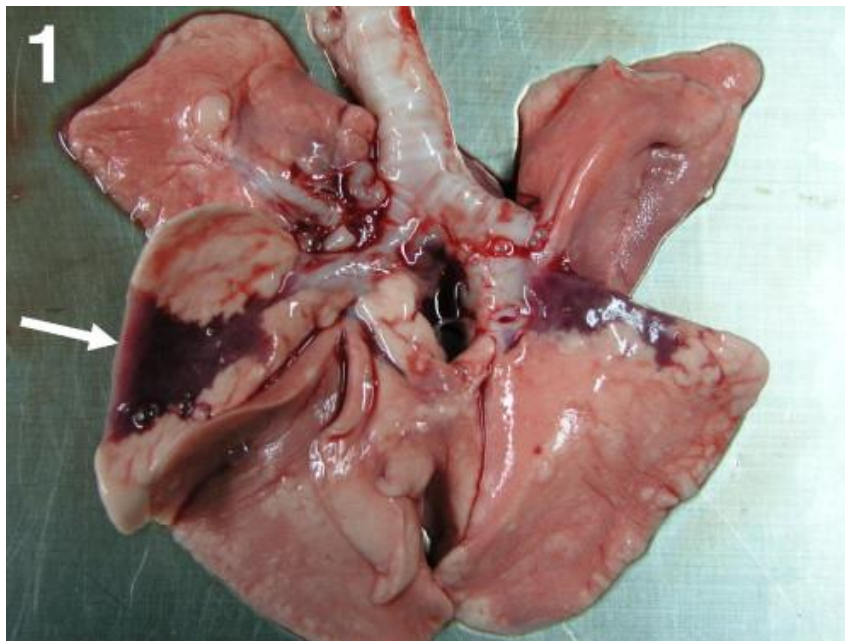
Une hémorragie multifocale a été décrite sur de nombreux organes comme les poumons, le cœur, le thymus, l'estomac, l'intestin, le foie, l'amygdale, les nœuds lymphatiques, les reins, le diaphragme et le pancréas [54].

Chez le chien décédé en 2004, un écoulement nasal sanguin, une pneumonie sévère avec congestion pulmonaire, une nécrose focale du foie une néphrite discrète avec nécrose tubulaire ont été mis en évidence [72].

C) H3N2

Les lésions ont été peu décrites chez les chiens infectés naturellement par le virus H3N2. Les animaux infectés expérimentalement [69, 37] développaient une pneumonie sévère trois jours après l'inoculation, avec une hémorragie pulmonaire et une consolidation touchant particulièrement les lobes moyens (Figure 22). La pneumonie était de même intensité aux 3^{ème}, 6^{ème} et 9^{ème} jours post-inoculation.

Figure 22 : Lésions pulmonaires chez un chien au 3^{ème} jour après inoculation expérimentale du virus H3N2 (Source : Song et al., 2008 ; Jung et al., 2010)



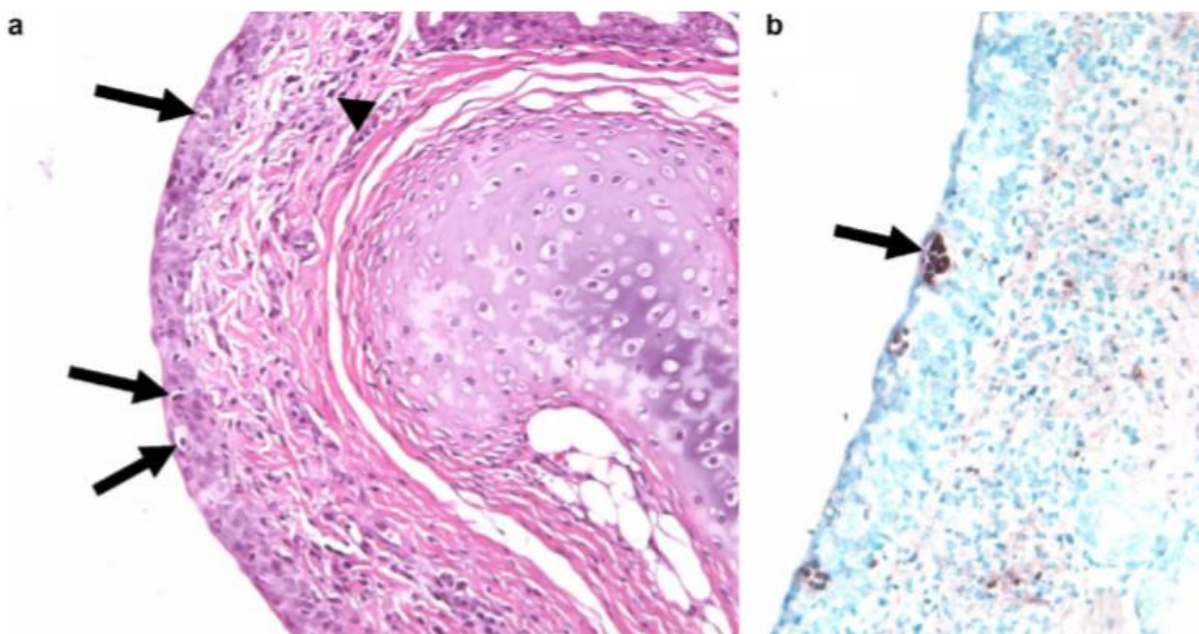
Une hémorragie est constatée plus particulièrement sur les lobes moyens.

A l'histopathologie, les modifications étaient sévères dans le tractus respiratoire inférieur alors qu'elles étaient discrètes dans l'appareil respiratoire supérieur, ce qui s'explique par le fait que les virus aviaires se lient préférentiellement à l'acide sialique par des liaisons $\alpha 2,3$ dont les récepteurs sont nombreux dans l'appareil respiratoire inférieur. Une trachéobronchite sévère suppurative et nécrosante diffuse était observée chez tous les chiens aux 3^{ème}, 6^{ème} et 9^{ème} jours après inoculation. Au 3^{ème} jour, l'épithélium trachéal présentait une nécrose et une érosion sévères suivies d'une métaplasie squameuse. Les

cellules ciliées étaient rarement observées (Figure 23). Aux 6^{ème} et 9^{ème} jours, l'épithélium trachéal présentait des signes de renouvellement caractérisés par une hyperplasie des cellules épithéliales avec un noyau hyperchrome mais toujours accompagnée par une nécrose discrète. Alors que les cellules épithéliales étaient toujours rarement observées aux 6^{ème} et 9^{ème} jours, certaines étaient visibles au 9^{ème} jour. Ces modifications histopathologiques pourraient faciliter la surinfection bactérienne durant les phases précoces et plus tardives de l'infection par le virus H3N2.

L'épithélium trachéal était également discrètement à modérément infiltré par des neutrophiles. La *lamina propria* et la sous-muqueuse, comprenant les glandes trachéales, étaient infiltrées par un nombre important de lymphocytes et de cellules mononucléées. Ces résultats suggèrent que le virus H3N2 induit une inflammation active chronique de la trachée, ce qui coïncide avec le fait que les écoulements nasaux persistent jusqu'au 6^{ème} jour.

Figure 23 : Lésions histopathologiques chez les chiens infectés expérimentalement par le virus H3N2 trois jours post-inoculation (Source : Jung et al., 2010)



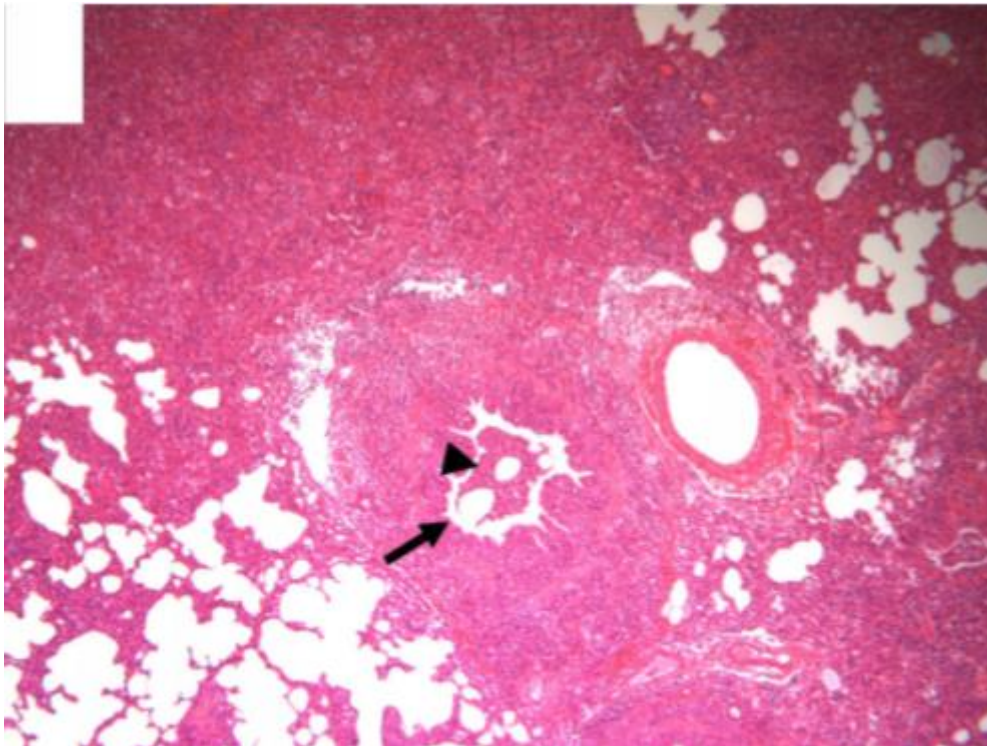
a) La trachée présente une trachéite suppurative nécrosante. Une métaplasie squameuse remplace les cellules ciliées épithéliales. Un nombre faible de neutrophiles, contenant des corps apoptotiques (flèches), infiltrent l'épithélium trachéal, alors qu'un nombre faible de lymphocytes et de cellules mononucléées (pointes) sont visibles au sein de la lamina propria et la sous-muqueuse.

b) La trachée présente des zones d'apoptose des neutrophiles (flèches) au sein des lésions. Les signaux apoptotiques ne sont pas observés dans les cellules épithéliales.

L'appareil respiratoire inférieur au 3^{ème}, 6^{ème} et 9^{ème} jour présentait une bronchopneumonie sévère suppurative (Figure 24). Les espaces alvéolaires n'étaient pas observés. Les analyses

immunohistochimiques montraient que les antigènes étaient plus particulièrement retrouvés dans les épithéliums bronchiques et bronchiolaires. Les cellules nécrotiques se trouvaient dans la lumière et occasionnellement dans les cellules des épithéliums alvéolaires tels que des pneumocytes de type 2. Un amincissement des septums alvéolaires était également observé suite à l'infiltration par des cellules inflammatoires.

Figure 24 : Lésions pulmonaires chez un chien infecté par le virus H3N2, six jours post-inoculation
(Source : Jung et al., 2010)



Une pneumonie interstitielle active chronique sévère est présente. L'épithélium bronchiolaire et alvéolaire présente une nécrose extensive (flèches) et les cellules épithéliales nécrotiques (pointe) s'exfolient et s'accumulent dans la lumière avec des cellules inflammatoires comme des neutrophiles. Le septum alvéolaire est aminci par l'infiltration de macrophages alvéolaires, de pneumocytes de type 2, et occasionnellement de lymphocytes.

D) H1N1

Les données proviennent de l'autopsie des deux chats dans l'Oregon précédemment évoqués, chez qui le virus H1N1 a été détecté (Figure 25), [51].

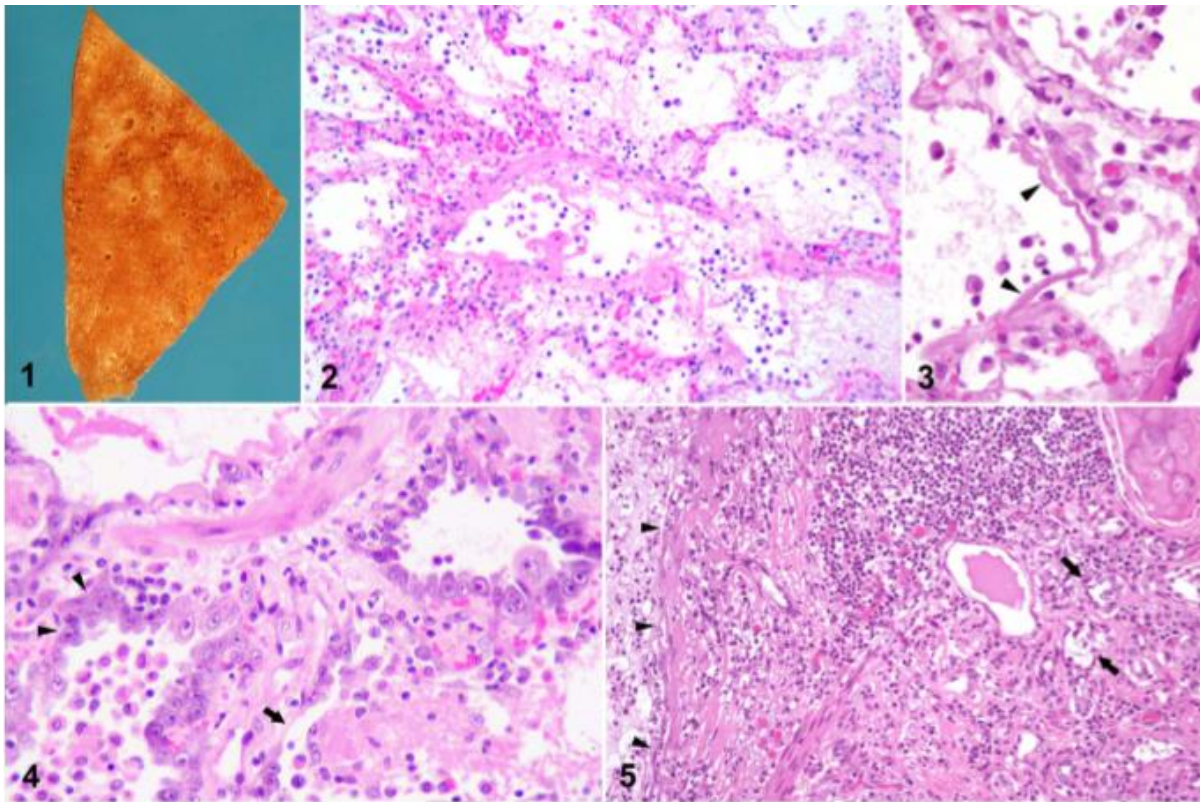
Le poumon du premier cas était noir, collapsé par endroits. Il présentait une pneumonie broncho-interstitielle nécrosante diffuse, aiguë à suraiguë ainsi qu'une hyperplasie sévère des pneumocytes de type II des alvéoles péri-bronchiolaires (Figure 25 – 1).

Les bronches présentaient une infiltration multifocale discrète lymphoplasmocytaire ou histiocytaire dans la lamina propria et une dégénérescence épithéliale des rares glandes bronchiques. Un œdème diffus discret périvasculaire était présent, ainsi qu'une hypertrophie et une hyperplasie mésothéliale pleurale multifocale.

Les bronchioles présentaient une nécrose épithéliale complète ou partielle, et quelques cellules multinucléées. Les régions dénudées étaient recouvertes de fibrine. Les lumières des bronchioles contenaient quelques macrophages, des cellules épithéliales exfoliées, et des débris cellulaires discrets. L'épithélium bronchiolaire persistant était atténué ou d'aspect normal (*Figure 25 – 2*). Les espaces alvéolaires étaient remplis de matériel protéique léger à dense, d'une membrane hyaline, d'un nombre variable de grosses cellules rondes avec un cytoplasme en quantité modérée, de neutrophiles et de quelques cellules géantes multinucléées (*Figure 25 – 3*). Sur une section, la plupart des alvéoles péri-bronchiolaires étaient bordées d'un épithélium cuboïde (pneumocytes de type II hyperplasiés) ou de grosses cellules parfois multinucléées et présentaient une nécrose épithéliale segmentaire et une dense accumulation de fibrine (*Figure 25 – 4*).

Le deuxième cas présentait une pneumonie broncho-interstitielle modérée à sévère, multifocale, nécrosante à mucopurulente, superposée à une bronchite chronique oblitérante multifocale et focalement extensive. Les nœuds lymphatiques bronchiques présentaient une hyperplasie lymphoïde marquée avec une lymphadénite discrète nécrosante. Une nécrose épithéliale segmentaire ou diffuse de quelques bronches et de la plupart des bronchioles a été observée, ainsi qu'une accumulation de mucus contenant des neutrophiles dégénérés dans les lumières. Une infiltration lymphoplasmocytaire discrète à modérée de la sous-muqueuse bronchique a été notée, ainsi qu'une nécrose épithéliale multifocale des glandes bronchiques (*Figure 25 – 5*). Dans les espaces alvéolaires, une accumulation discrète à modérée de macrophages et de neutrophiles avec une exsudation discrète de fibrine a été observée. Une bronchite et une bronchiolite sévères chroniques avec une fibrose péribronchiolaire, une atrophie des glandes bronchiques, une métaplasie épithéliale squameuse ont été notées, ainsi qu'une bronchiolite et une alvéolite suppuratives, focalement extensives. Un œdème alvéolaire sévère et un emphysème modéré ont été observés, ainsi qu'une fibrose pleurale et interstitielle modérée et une hyperplasie lymphoïde avec follicules secondaires.

Figure 25 : Lésions observées chez les chats infectés par le virus H1N1 (Source : Löhr et al., 2010)



1) Poumon du chat n°1 : le parenchyme est rouge foncé à marron et partiellement collapsé. Une augmentation de la densité tissulaire est observée en région péri-bronchique.

2) Poumon du chat n°1 : la bronchiole présente une perte épithéliale diffuse. Elle est bordée par une couche dense de fibrine et contient des macrophages et des débris cellulaires dans sa lumière, ainsi que des brins de fibrine. Les septums interalvéolaires sont sévèrement amincis, les espaces alvéolaires sont noyés par de la fibrine, des macrophages et des cellules épithéliales desquamées.

3) Poumon du chat n°1 : les alvéoles contiennent des cellules rondes dégénérées, des brins de fibrine, des membranes hyalines (pointes).

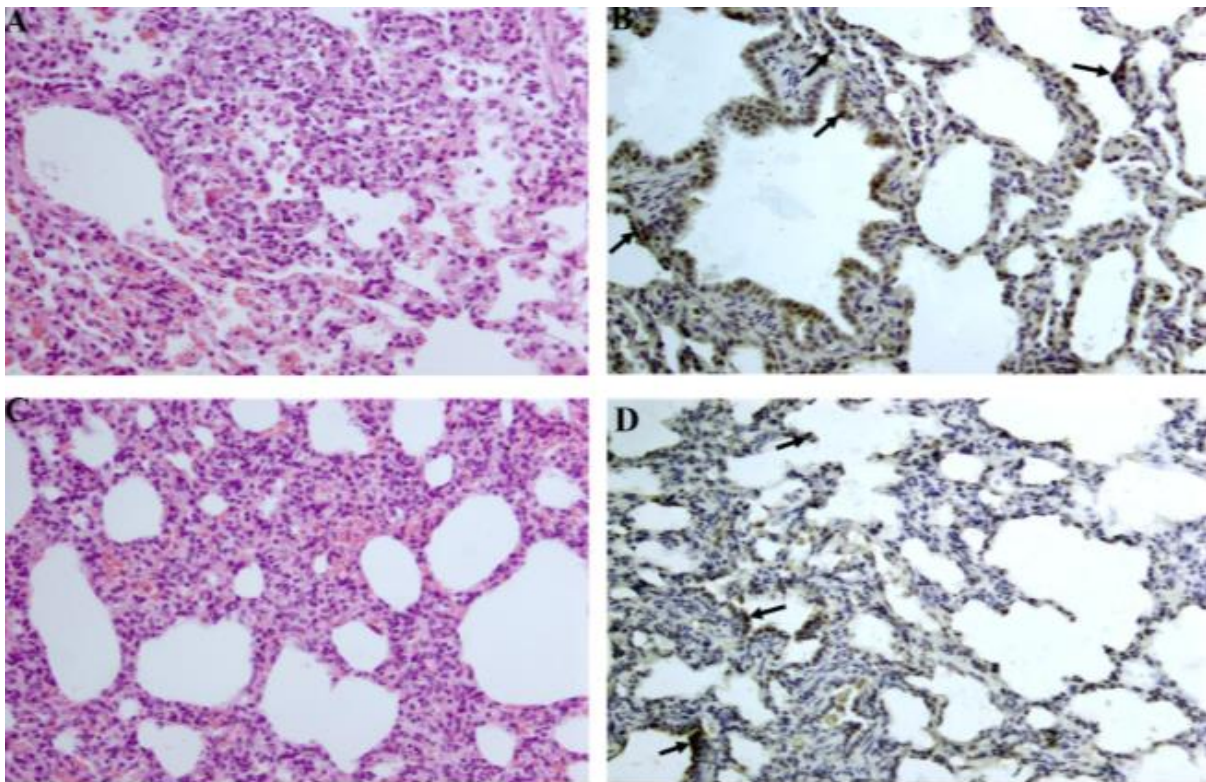
4) Poumon du chat n°1 : les alvéoles péribronchiolaires sont bordées par un épithélium cuboïde formé de pneumocytes de type 2 hypertrophiés. Les espaces alvéolaires sont remplis de grosses cellules rondes, d'accumulations de fibrine, et de petites quantités de débris cellulaires. Le bord de l'alvéole de gauche possède quelques cellules multinucléées (pointes). L'alvéole du centre présente des pertes épithéliales segmentaires (flèches). La bronchiole en haut de la figure présente une atténuation de son épithélium, et un segment érodé est recouvert de fibrine.

5) Poumon du chat n°2 : la lumière bronchique sur la gauche est remplie de mucus et de neutrophiles disséminés. L'épithélium bronchique est absent ou aplati (pointes). La sous-muqueuse bronchique est recouverte de glandes hyperplasiques et d'infiltrat lymphoplasmocytaire. La dégénérescence des cellules épithéliales s'étend dans les glandes bronchiques (flèches). Le cartilage bronchique est visible dans le coin en haut à droite.

E) H9N2

Les lésions causées par le virus H9N2 lors d'une infection expérimentale de chats et de chiens étaient minimales et concernaient surtout le parenchyme pulmonaire (Figure 26), [88]. Un amincissement des septums interalvéolaires a été observé, avec une infiltration de cellules inflammatoires (macrophages et neutrophiles). Une fusion des alvéoles et une discrète hémorragie ont été notées.

Figure 26 : Lésions observées après une infection expérimentale de chats et de chien par le virus H2N9 (Source : Zhang et al., 2013a)



A et C : Lésions du poumon d'un chat (A) et d'un chien (C) : Amincissement des septums interalvéolaires et accumulation de cellules inflammatoires (macrophages et neutrophiles), accompagnée d'une fusion des alvéoles et d'une discrète hémorragie.

B et D : Analyse immunohistochimique d'échantillons de poumon de chats inoculés (B) et de chiens inoculés (D). La coloration des antigènes viraux est située dans les cellules alvéolaires et l'épithélium bronchique (flèches).

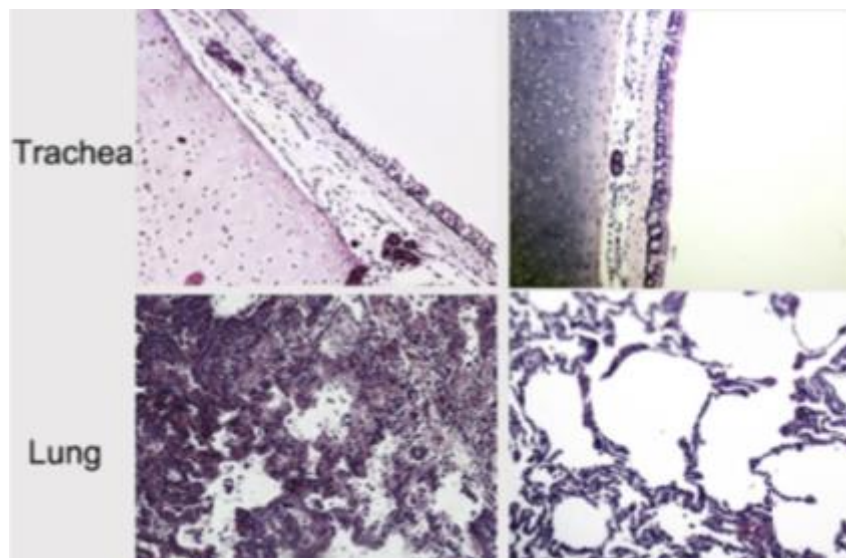
F) H3N1

Les lésions caractéristiques de l'infection par le virus H3N1 sont une discrète consolidation des poumons qui prennent une légère couleur rouge, avec des lésions focales discrètes à modérées de pneumonie interstitielle [70].

G) H5N2

Les lésions pulmonaires chez le chat infecté contaminés par des chiens infectés expérimentalement consistaient en des zones rouges de consolidation multifocale. Au niveau histopathologique, une trachéite suppurative a été observée ainsi qu'une trachéobronchite nécrosant lobulaire ou diffuse, et une bronchiolite et une alvéolite multilobulaire (Figure 27).

Figure 27 : Lésions histopathologiques chez un chat infecté expérimentalement en présence de chiens infectés expérimentalement par le virus H5N2 (chat contaminé à gauche, chat non témoin à droite) (Source : Feng et al., 2014)



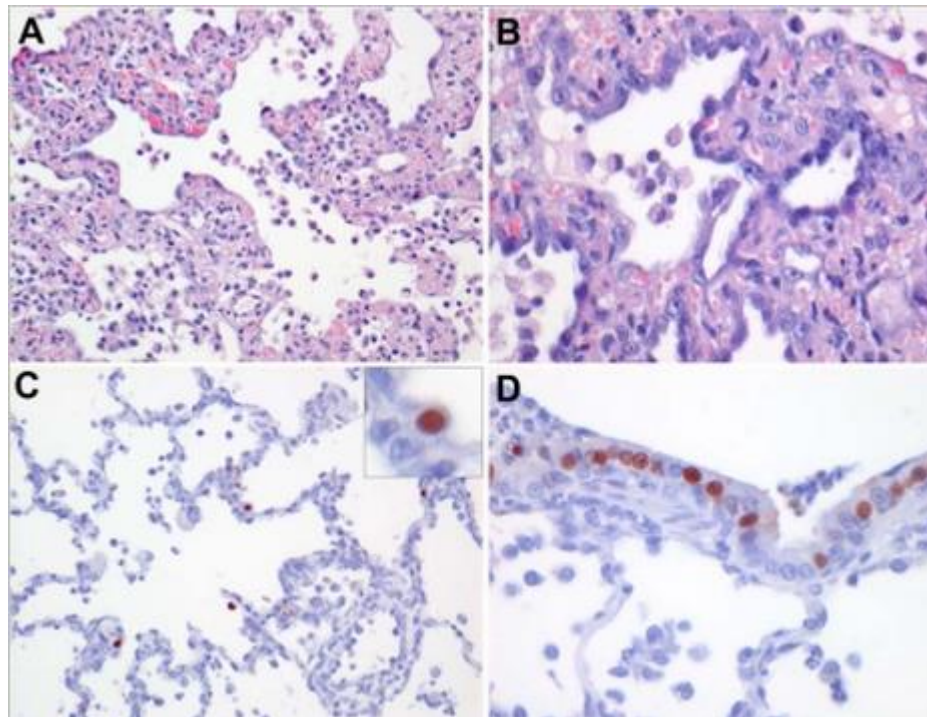
Le chat infecté présente une trachéite suppurative nécrosante et une bronchio-alvéolite au 4^{ème} jour post-infection. Aucune lésion pulmonaire n'est mise en évidence chez ce chat.

H) H7N7

Les trois chats infectés expérimentalement présentaient des lésions pulmonaires multifocales ou coalescentes rouges, légèrement surélevées et de consistance plus ferme, concernant 25 à 80 % du volume pulmonaire. Les nœuds lymphatiques trachéo-bronchiques étaient de taille augmentée, et un des chats avait une amygdale de taille augmentée. Les lésions étaient donc restreintes au tractus respiratoire [85].

Dans les poumons des trois chats, de nombreux sites de nécrose subaiguë ou chronique ont été observés, ainsi qu'une inflammation du parenchyme centrée sur les bronchioles. Les lumières alvéolaires et bronchiques étaient envahies par un nombre variable de larges cellules mononucléées, des neutrophiles et des lymphocytes, ainsi que par du fluide d'oedème, de la fibrine, des érythrocytes et des débris cellulaires. Les parois des alvéoles et des bronchioles présentaient une perte focale d'épithélium. Au sein des alvéoles, une ré-épithélialisation a été observée avec des cellules cuboïdes basses à hautes (pneumocytes de type II hyperplasiés). Les parois alvéolaires et bronchiques étaient discrètement amincies et infiltrées de macrophages, neutrophiles et lymphocytes (*Figure 28*).

Figure 28 : Lésions histologiques et répartition antigénique chez le chat n°1 sept jours après infection expérimentale par le virus H7N7 (Source : Van Riel et al., 2010)



A : Alvéoles présentant un septum épaissi, recouvert de pneumocytes de type II hyperplasiés. La lumière alvéolaire est remplie de cellules mononucléées, neutrophiles et lymphocytes mélangés avec du liquide, de la fibrine, des érythrocytes et des débris cellulaires.

B : Alvéoles recouvertes par des pneumocytes de type II

C : Antigène du virus de la grippe présent dans quelques pneumocytes sur des alvéoles localisées le bord d'une lésion

D : Cellules bronchiolaires non ciliées exprimant l'antigène du virus

Le bilan des lésions est présenté dans le tableau 7.

Tableau 7 : Récapitulatif des lésions causées par les virus Influenza

Virus	Espèce concernée	Infection expérimentale/ naturelle	Gravité des lésions	Lésions principales à l'autopsie
H3N8	Chien	Expérimentale et naturelle	Sévères	Hémorragie pulmonaire, trachéite, bronchite, hyperplasie des nœuds lymphatiques trachéo-bronchiques, bronchopneumonie, rhinite, parfois bronchiolite
H5N1	Chat	Naturelle	Sévères	Consolidation pulmonaire, hémorragie de plusieurs organes, pneumonie interstitielle, hépatite, néphrite, congestion cérébrale et cérébelleuse
H3N2	Chien	Expérimentale	Sévères	Bronchopneumonie, consolidation, hémorragie pulmonaire, trachéobronchite
H1N1	Chat	Naturelle	Sévères	Collapsus pulmonaire, pneumonie broncho-interstitielle, lymphadénite, bronchite, bronchiolite, œdème
H9N2	Chats et chiens	Expérimentale	Minimes	Amincissement des septums inter-alvéolaires
H3N1	Chiens	Expérimentale	Minimes	Discrète consolidation, discrète pneumonie interstitielle
H5N2	Chats	Expérimentale	Discrètes	Discrète consolidation, trachéite suppurative nécrosante, bronchio-alvéolite
H7N7	Chats	Expérimentale	Discrètes à modérées	Hyperplasie trachéo-bronchique, consolidation pulmonaire, bronchite, bronchio-alvéolite

**TROISIÈME PARTIE :
DIAGNOSTIC/DÉPI-
STAGE,
THÉRAPEUTIQUE ET
PROPHYLAXIE**

I) Diagnostic et dépistage

A) Diagnostic clinique

L'anamnèse et le contexte épidémiologique sont nécessaires au diagnostic de la grippe canine [30]. Par exemple, la forme discrète est difficilement différenciable de la toux de chenil. Cependant, il est atypique de rencontrer une toux de chenil chez un chien en bonne santé, d'âge moyen et correctement vacciné. Un tel signalement doit faire penser à un virus contre lequel les chiens sont très peu protégés par leur immunité, comme le virus de la grippe.

La grippe peut être confondue chez le chien et le chat avec d'autres infections virales ou bactériologiques telles que la pneumonie à *Bordetella bronchiseptica* (bactérie la plus courante chez les chats), la pneumonie à *Pasteurella multocida*, la maladie de Carré chez les chiens, l'herpesvirose chez le chat, l'infection causée par le virus *Parainfluenza*, ou des infections parasitaires telles que l'aélurostrongylose chez le chat, et l'angiostrongylose chez le chien. Le diagnostic différentiel comprend également d'autres atteintes comme un collapsus ou une hypoplasie de la trachée, une adénomégalie péri-hilaire, une maladie cardiaque ou un processus tumoral.

Une radiographie thoracique permet de mettre en évidence l'atteinte du bas appareil respiratoire. Si une pneumonie est présente, les modifications radiographiques peuvent varier en fonction du stade de la maladie et peuvent inclure des modifications bronchiques, interstitielles ou alvéolaires.

Les examens sanguins ne sont pas spécifiques de la grippe. La numération-formule sanguine peut révéler une réponse de stress ou un comptage leucocytaire normal. Si une infection secondaire est présente, une leucocytose neutrophilique associée ou non à une monocytose peut être observée.

Un lavage trachéal ou broncho-alvéolaire en vue d'une analyse cytologique et une mise en culture peut être indiqué en cas de suspicion de surinfection de l'appareil respiratoire. Dans l'idéal, un antibiogramme devrait être obtenu avant le début du traitement antibiotique.

B) Diagnostic expérimental et dépistage

Les méthodes *ante-mortem* les plus fiables pour détecter l'infection par le virus de la grippe canine ou féline est la sérologie mettant en évidence la présence d'anticorps antigrippaux et la RT-PCR mettant en évidence le génome viral.

a) La sérologie

Les anticorps se développent environ sept à 10 jours après l'infection par le virus et continuent d'augmenter jusqu'à 14 jours post-infection.

1) Inhibition de l'hémagglutination

Le test de choix pour détecter les anticorps est la méthode d'inhibition de l'hémagglutination (HI). Les anticorps spécifiquement dirigés contre l'hémagglutinine du sous-type et présents dans le sérum interfèrent avec le virus fixé sur les érythrocytes, inhibant alors l'hémagglutination et indiquant une infection préalable par le virus. La sensibilité de ce test a été estimée à 99,6 % et sa spécificité à 94,6 % [3].

L'idéal est de prélever du sérum en phase aiguë de l'infection et en phase de convalescence afin de diagnostiquer une infection active. Le premier sérum doit être prélevé dans les sept premiers jours suivant l'apparition des symptômes. Le suivant doit être récolté dans les deux à trois semaines suivant la disparition des symptômes. Une augmentation de quatre fois le titre en anticorps signe une infection active par le virus de la grippe. Cependant, étant donné la faible prévalence de l'infection aux Etats-Unis, un seul échantillon collecté plus de sept jours après l'infection est suffisant pour mettre en évidence l'exposition au virus [20]. Les échantillons peuvent être envoyés au Cornell Animal Health Diagnosis Center ou à l'université vétérinaire de Floride.

2) Test de microneutralisation

Ce test permet de déterminer si un sérum contient des anticorps bloquant l'infection virale. Un échantillon de sérum est mélangé avec le virus avant d'infecter les cellules. Si le sérum contient des anticorps bloquant l'infection virale, les cellules vont survivre. Si les anticorps sont absents, les cellules vont mourir.

Ce test est peu utilisé en routine car difficile à mettre en œuvre et long [90].

b) La mise en évidence du virus

La fiabilité de la détection du virus dépend du moment où l'échantillon est collecté. En effet, la période pendant laquelle le virus est présent chez l'animal est relativement courte. L'excrétion du virus est maximale deux à cinq jours après l'infection, et des données expérimentales indiquent que le virus ne peut plus être détecté après le 7^{ème} jour post-

infection. Les méthodes de détection du virus peuvent donc encore utilisées 2 jours après les symptômes mais pas au-delà.

1) Test ELISA

Ce test n'est pas très utile pour détecter les antigènes chez des chiens individuellement, en raison de la faible production de virus chez un individu et de la courte période d'excrétion. Le moment où le prélèvement de l'échantillon est réalisé est donc rarement optimal. La sensibilité de ce test est bien plus faible que celle de la RT-PCR et plus faible que celle de l'isolement du virus, elle est de 50 %, elle est donc en soi très insuffisante. Les faux positifs sont également fréquents. Ce test est donc surtout utilisé lorsqu'on veut détecter l'infection chez un groupe d'animaux, car ils sont à différents stades de l'infection et certains seront dans la période d'excrétion du virus [90].

2) L'isolement viral

L'isolement du virus n'est pas une méthode fiable pour la confirmation de l'infection car elle ne peut être réalisée qu'en *post mortem*. La culture virale est possible à partir de tissus pulmonaires ou trachéaux en *post mortem* mais ceux-ci ne peuvent pas être congelés ni placés dans le formol. Ils doivent être envoyés dans la journée et maintenus au froid.

L'isolement viral repose sur deux méthodes : la culture sur œufs embryonnés ou sur cellules MDCK (Madin-Darby canine kidney) [30].

3) La RT-PCR

La RT-PCR est également disponible pour détecter une infection par le virus de la grippe. C'est la méthode la plus fiable pour détecter directement le virus, de par sa sensibilité. Elle peut être effectuée à partir d'écouillons nasaux sur des animaux vivants ou de tissus prélevés dans l'appareil respiratoire en *post-mortem*. Elle est généralement utilisée deux à trois jours après l'infection, lorsque l'excrétion du virus est maximale, ce qui correspond à la période d'incubation ou au début de l'expression des symptômes. Une PCR négative n'exclut donc pas l'infection par le virus. Les échantillons peuvent être envoyés à l'Université de Californie à Davis ou au Centre de Diagnostic de Santé Animale de Cornwell [30].

La RT-PCR détecte d'abord si le virus en cause est un virus de la grippe. Si le résultat du test est positif, des tests complémentaires identifieront le sous-type du virus responsable de l'infection.

C) Les tests rapides

Il existe des tests rapides pour la détection du virus de la grippe canine H3N8, disponibles aux Etats-Unis [57]. Ces tests se basent sur l'analyse d'écouvillons nasaux ou pharyngés. La sensibilité de ces tests a été comparée avec celle de l'isolement viral. Les tests rapides sont le Flu-Detect™ et le Directigen Flu A+B™ (Figure 29), qui détectent des antigènes de la grippe. La sensibilité et la spécificité de l'isolement viral, de la RT-PCR et du test Directigen Flu-AB™ ont été comparées à partir d'écouvillons nasaux de 124 chiens de compagnie et de refuge entre mars 2006 et avril 2007 dans un hôpital vétérinaire du Colorado. Pour évaluer la performance du test Flu-Detect™, 1372 chiens ont été prélevés par écouvillonnage nasal entre décembre 2009 et novembre 2010 dans un refuge.

Les résultats de l'étude montrent que la sensibilité de l'isolement viral, du test rapide Flu-Detect™ et de la RT-PCR est de 72 %, 65 % et 95 %, respectivement. Le test Flu-Detect™ a détecté moins efficacement le virus canin dans les sécrétions nasales en comparaison avec la RT-PCR. La sensibilité du test Directigen Flu AB™ était de 48 à 80 %. En conclusion, la RT-PCR était le test diagnostic le plus fiable pour détecter le virus et devrait être utilisée en test rapide de détection du virus.

Figure 29 : Test rapide Directigen Flu A + B™ (Source : www.bd.com)



II) Traitements

A) Traitement symptomatique

Comme pour toutes les maladies virales, le traitement de la grippe consiste en un traitement de soutien [30].

Des antitussifs peuvent être utilisés chez les animaux qui présentent une toux sèche paroxystique. Les antitussifs ne doivent pas être utilisés si la toux est productive et si une atteinte du bas appareil respiratoire est suspectée (bronchite, bronchopneumonie) car le réflexe de toux et l'appareil muco-ciliaire sont nécessaires pour l'évacuation du mucus et des débris inflammatoires.

La nébulisation et le coupage peuvent être bénéfiques chez les animaux présentant une atteinte du bas appareil respiratoire. La nébulisation avec une solution saline aide à expulser les accumulations de sécrétions bronchiques et trachéales. Le coupage de la cage thoracique (technique de percussion du thorax) aide à l'expulsion de ces sécrétions. La nébulisation d'agents mucolytiques (exemple : N-acétylcystéine) peut aboutir à une bronchoconstriction et n'est pas recommandée en routine. Un pré-traitement à base de bronchodilatateurs peut aider à l'augmentation de l'absorption des médicaments inhalés. Les nébulisateurs utilisés pour traiter les animaux contaminés doivent être méticuleusement nettoyés afin d'éviter une contamination iatrogène par d'autres agents (susceptibles d'être) pathogènes. En effet, une nébulisation entraînant une contamination par des agents d'infection nosocomiale pourrait avoir de graves conséquences chez un animal présentant une altération de la fonction de son appareil respiratoire.

Les grippes canines à H3N8 non compliquées avec des symptômes modérés se résolvent facilement en général et ne nécessitent pas l'utilisation d'antibiotiques. La plupart des chiens récupèrent en deux à trois semaines. Cependant, l'infection virale peut favoriser les surinfections bactériennes. Le traitement antibiotique est recommandé chez les animaux présentant une toux productive, une affection du bas appareil respiratoire, ou une maladie systémique (*Tableau 8*). Dans ces cas, les antibiotiques devraient être choisis de manière optimale après une culture bactérienne et un antibiogramme. De plus, des clichés radiographiques montrant une résolution de la pneumonie doivent être effectués avant l'arrêt des antibiotiques [74].

Tableau 8 : Choix des antibiotiques pour traiter une infection de l'appareil respiratoire (*Source : Hilling et Hanel, 2010*)

Antibiotiques de 1 ^{er} choix	Antibiotiques de 2 nd choix
• Amoxicilline/acide clavulanique • Céphalosporines (céfazoline, cefpodoxime, céphalexine) • Fluoroquinolones (difloxacin, enrofloxacin, marbofloxacin, orbifloxacin)	• Aminoglycosides (amikacin, gentamicin) • Carbapénèmes (imipénème, méropénème, pour les infections résistantes) • Chloramphénicol • Clindamycine • Céphalosporines de 2^{ème} à 4^{ème} génération (céfotaxime, céfotaxime, ceftazidime, céfépime) • Macrolides (azithromycine, érythromycine) • Triméthoprime-sulfadiazine

Les médicaments utilisables lors d'une atteinte du bas appareil respiratoire ainsi que leur posologie, leur voie d'administration et leur fréquence d'utilisation sont résumés dans le *tableau 9*.

Tableau 9 : Molécules utilisables lors d'affections du système respiratoire (Source : Source : Hilling et Hanel, 2010)

Molécule	Dose pour les chiens (mg/kg)	Voie d'administration	Fréquence d'administration
Antibiotiques			
Amikacine	15-30	IV (sepsis), IM, SC	q24h
Amoxicilline-acide clavulanique	10-20	PO	q21h
Ampicilline	20	PO, IV, IM, SC	q8h
Ampicilline-sulbactam	20-30	IV	q8h
Azithromycine	5-10	PO	q24h pendant 1-5j
Céfazoline	11-33	IV	q8h
Cefepime	1,4 en dose de charge puis 1,04 mg/kg/h 50	CRI IV, IM	- q8h
Cefixime	5-10	PO	q24h
Cefotaxime	25-50	IV, IM, SC	q8h
Cefotetan	30	IV	q8h
Cefpodoxime	5	PO	q24h
Ceftazidome	30	IV, IM, SC	q8h
Cephalexine	20-30	PO	q8h
Chloramphenicol	25-50	PO, IV, IM, SC	q8h
Clindamycine	5-11	PO, IV, IM, SC	q12h
Doxycycline	5-10	PO, IV	q12-24h
Enrofloxacin	5-20	PO, IV	q24h
Gentamicine	10-14	IV, IM, SC, nébuliseur	q24h
Imipénème-cilastatine	3-10	IV	q6-8h
Meropénème	12 24-25	SC IV	q8h q12-24h
Ticarilline-acide clavulanique	40-110	IV	q6h
Triméthoprime-sulfadiazine	15	PO, IV	q12h
Anti-tussifs			
Butorphanol	0.055-0.11	SC, PO	q6-12h
Hydrocodone	0.22	PO	q6-12h

Les cas compliqués peuvent nécessiter une hospitalisation, un traitement antibiotique, une supplémentation en oxygène, et des nébulisations. Le maintien d'une hydratation de l'appareil respiratoire par le biais d'une fluidothérapie intraveineuse et un support nutritionnel peuvent également être bénéfiques chez certains patients.

B) Traitements antiviraux

Des traitements antiviraux sont reconnus efficaces pour lutter contre la grippe humaine : l'amantadine, la rimantadine, le zanamivir, l'oseltamivir. L'amantadine et la rimantidine (ou adamantanes) sont des inhibiteurs des canaux ioniques qui empêchent la réplication virale. L'oseltamivir et le zanamivir sont des inhibiteurs de la neuraminidase qui préviennent la libération et la diffusion du virus. Depuis 2006, les inhibiteurs de la neuraminidase ont été les seuls antiviraux recommandés en raison de la résistance aux adamantanes parmi les souches de virus H3N2. Durant la grippe saisonnière de l'année 2007-2008, 10,9 % des virus H1N1 testés aux Etats-Unis étaient résistants à l'oseltamivir, et une augmentation significative de cette résistance a été observée à travers le monde. En mars 2006, l'utilisation des adamantanes et des inhibiteurs de la NA a été interdite chez les poulets, les dindes et les canards, afin que l'efficacité des médicaments soit conservée pour l'utilisation humaine. L'utilisation et les effets secondaires sont très peu connus chez le chien et le chat.

Il n'existe pas de publication sur les recommandations d'utilisation des médicaments antiviraux pour la grippe canine et féline. Pour la grippe canine, le bénéfice théorique de l'oseltamivir consisterait à piéger le virus avant qu'il ne diffuse. La plupart des chiens infectés ne peuvent pas être détectés à ce stade car ils sont souvent encore infectés de façon asymptomatique. De nouvelles études sont nécessaires pour prouver l'efficacité de l'oseltamivir comme traitement de la grippe canine. Pour le moment, il n'est pas recommandé.

III) Prévention

A) Vaccination

a) Le vaccin contre le virus H3N8

Il existe un vaccin contre le virus H3N8. Le vaccin est produit à partir de virus inactivés, adjuvés avec de l'aluminium. Il vise à contrôler la maladie liée au virus H3N8 grâce à la production d'anticorps neutralisants dirigés contre des régions hypervariables de la tête de l'hémagglutinine [45]. La licence pour le vaccin a été obtenue le 27 mai 2009 [62].

Le vaccin permet de limiter l'occurrence et la sévérité des lésions pulmonaires ainsi que la durée de la toux et l'excrétion virale [30]. Le produit est administré par injection sous-cutanée et son utilisation est recommandée pour un chien sain à six semaines d'âge ou plus. Le vaccin est largement distribué auprès des vétérinaires aux Etats-Unis. La primo-vaccination

requiert deux doses à deux à quatre semaines d'intervalle, puis un rappel annuel. Le vaccin est recommandé pour certains chiens particulièrement exposés par leur mode de vie (chiens vivant en collectivité, chiens participant à des activités avec d'autres chiens, chiens vivant dans une zone où le virus a été isolé). Les chiens recevant le vaccin contre l'agent de la toux de chenil *Bordetella bronchiseptica* sont de bons candidats à la vaccination contre ce virus. Etant donné que la grippe peut être seule l'origine de symptômes respiratoires ou en association avec d'autres agents pathogènes respiratoires comme *Bordetella bronchiseptica*, le *Parainfluenzavirus*, le virus de la maladie de Carré, ou le coronavirus respiratoire, il est important de vacciner contre les maladies classiques en plus de la grippe. Il faut noter également qu'aucune immunité croisée n'est induite par la vaccination contre le virus *Parainfluenza*, qui est un *Paramyxoviridae*, et que donc la vaccination contre l'un ne dispense pas de la vaccination contre l'autre.

L'immunité contre le virus de la grippe canine implique les réponses à médiation cellulaire et humorale. La réponse à médiation humorale entraîne la production d'anticorps avec un rôle prépondérant des IgA sécrétés à la surface épithéliale et des IgG. L'immunité cellulaire est importante dans l'élimination des cellules infectées par le virus.

La prévention repose donc sur une bonne vaccination. Les animaux protégés contre les autres agents pathogènes seront moins vulnérables aux infections intercurrentes s'ils sont infectés par le virus de la grippe.

1) Evaluation de l'efficacité du vaccin

Une étude a évalué l'efficacité du vaccin contre la grippe canine [19]. Pour cela, 36 chiots de six à huit semaines séronégatifs pour le virus H3N8 ont été répartis dans deux groupes, un groupe de chiots vaccinés (21 chiens) et un groupe de chiots témoins (15 chiens), qui reçoivent un placebo. Les chiens ont reçu une première dose de vaccin ou de placebo puis une deuxième dose trois semaines plus tard. Treize jours après l'administration de la 2^{ème} dose, le virus a été inoculé aux chiens par aérosol.

La toux était la principale manifestation de la grippe chez les chiens recevant un placebo. 93 % des chiens ayant reçu un placebo ont exprimé de la toux à des degrés variables à partir du 2^{ème} jour post-inoculation et jusqu'au 6^{ème} jour. Dans le groupe vacciné, la toux n'a été observée que chez 33 % des chiens, elle était plus discrète et ne durait qu'un à deux jours, jusqu'à six jours chez un seul chiot. Le score clinique a été significativement plus bas chez les chiens vaccinés que chez les chiens non vaccinés.

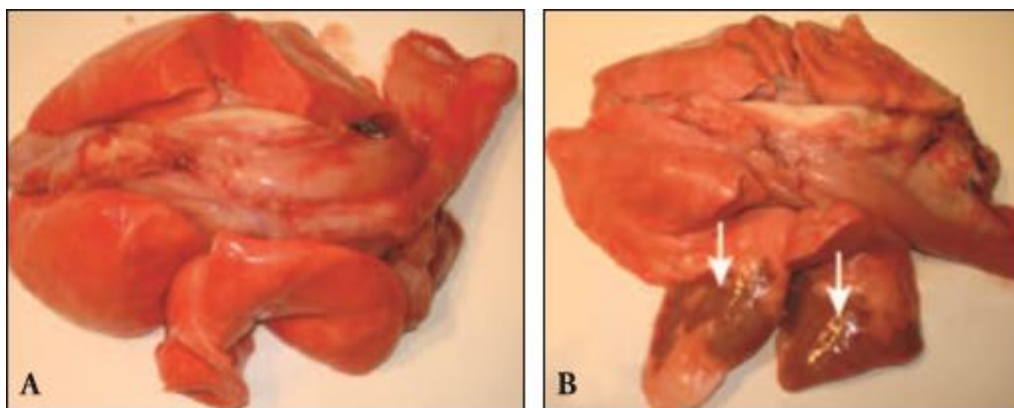
L'excrétion du virus a été évaluée à partir d'écouvillons nasaux testés par RT-PCR. Tous les chiens non vaccinés ont excrété le virus dans les sécrétions nasales, avec un pic d'excrétion quatre jours après l'inoculation. Les chiens vaccinés ont excrété le virus à des doses significativement plus faibles, le pic d'excrétion étant à deux jours post-inoculation. Par

ailleurs les chiens non vaccinés ont excrété le virus pendant cinq jours en moyenne alors que les chiens vaccinés l'ont excrété pendant deux jours en moyenne.

Dans le groupe non vacciné, 73 % des chiens présentaient des lésions pulmonaires de consolidation de différents degrés, contre 28 % dans le groupe vacciné, avec une consolidation qui est alors discrète. Le score de lésions pulmonaires était situé entre 0 et 27,9 avec un score médian de 1,1 et une moyenne de 5,52 chez les chiens non vaccinés. Chez les chiens vaccinés, le score de lésion était situé entre 0 et 2,9 avec un score médian de 0 et une moyenne de 0,18. Les lésions pulmonaires causées par le virus H3N8 étaient donc significativement moins importantes dans le groupe des chiens vaccinés par rapport au groupe des chiens non vaccinés (*Figure 30*). Au niveau histo-pathologique, le tissu pulmonaire de 53 % des chiens témoins présentait des lésions modérées à sévère de pneumonie interstitielle, bronchiolite proliférative et trachéite. Seuls 21 % des chiens vaccinés présentaient des signes de pneumonie discrète à modérée.

A l'immunohistochimie, l'antigène du virus était retrouvé dans 53 % des poumons des chiens contrôle contre 10 % des chiens vaccinés, 10 jours après infection. L'association entre la sévérité des lésions et la détection de l'antigène dans les poumons était significative.

Figure 30 : Comparaison des lésions 10 jours après inoculation du virus chez un chien vacciné (A) et un chien non vacciné (B) (*Source : Deshpande et al., 2009b*)



A : Le poumon ne présente pas de lésions.

B : Le poumon présente des lésions de consolidation et d'hépatisation (flèches) ; score lésionnel de 17,1.

Le vaccin développé en 2009 avec un virus inactivé est donc efficace pour limiter l'excrétion et la gravité des symptômes et des lésions dues au virus H3N8.

Par ailleurs, une autre étude [44] a montré que le vaccin protège également contre les infections opportunistes à *Streptococcus equi* subsp *zooepidemicus*, fréquemment retrouvé dans les poumons des chiens atteints de grippe canine et responsable de l'accentuation de la sévérité de la maladie et parfois du décès des animaux.

2) La perspective d'un nouveau vaccin

Le vaccin actuel contre le virus H3N8 protège efficacement les chiens contre la souche actuelle de grippe canine, par le biais de la production d'anticorps dirigés contre des antigènes de parties hypervariables de la tête de l'hémagglutinine HA3. Cependant le virus est susceptible de muter rapidement, ce qui conduirait à l'apparition de nouvelles souches qui ne seront pas neutralisées par le vaccin actuel. Il est donc nécessaire d'élaborer un vaccin à plus large spectre qui assurera un meilleur contrôle de la diffusion du virus et protégera contre les souches émergentes produites par mutation [45].

Idéalement, pour être efficace contre un spectre large de souches de grippe A, un vaccin devrait induire une immunité contre des épitopes hautement conservés retrouvés dans la plupart des isolats de virus grippaux. La séquence du peptide M2e localisé à l'extrémité N-terminale de la protéine de matrice M2 est très conservée parmi tous les virus de la grippe A (172 souches de H3N8 possèdent un peptide identique sur les 178 souches identifiées chez les chiens jusqu'à maintenant), ce qui en fait un épitope candidat pour le développement d'un vaccin à large spectre protecteur contre la maladie.

L'utilisation du peptide M2e seul comme un antigène vaccinal reste un défi majeur car le peptide est instable et non immunogène. Cependant, l'ajout de différents adjuvants permet la stabilisation du peptide et l'amélioration de la réponse humorale dirigée contre cet épitope.

Le mécanisme de protection par le nouveau vaccin diffère de celui du vaccin disponible sur le marché. Alors que le vaccin actuel induit une réponse humorale uniquement, le nouveau vaccin induit une immunité cellulaire basée sur un mécanisme de cytotoxicité à médiation cellulaire dépendante des anticorps (ADCC). Dans ce modèle, les immunoglobulines (préférentiellement IgG2a ou IgG2c) se lient au peptide M2e localisé à la surface des cellules infectées, recrutent et activent les cellules NK qui détruisent les cellules infectées.

Une nouvelle formule vaccinale est étudiée, constituée de protéines de surface d'un virus de plante, le virus de la mosaïque de la mauve (malva mosaic virus, MaMV). MaMV est un virus de la famille des *Potyviridae*. Il est utilisé pour servir d'adjuvant au nouveau vaccin, le peptide M2e étant fusionné à ce virus.

L'utilisation d'un adjuvant pour augmenter la réponse immunitaire dirigée contre un épitope en particulier est souvent nécessaire pour maximiser l'efficacité de la formule vaccinale. Les porines de membrane externe (OMPs) purifiées à partir de la membrane bactérienne de *Salmonella typhi* contiennent deux types de porines : OmpC et OmpF, dont la propriété immunomodulatrice responsable de l'augmentation de la réponse immunitaire a déjà été prouvée, ce qui en fait un bon adjuvant [45].

Le nouveau vaccin capable d'induire une immunité à large spectre contre la grippe chez le chien serait donc une combinaison du virus MaMV, de l'antigène universel M2e et de l'adjuvant OmpC.

Par ailleurs, l'étude a montré qu'une immunité croisée a été obtenue vis-à-vis des virus H9N2, H5N1 et H1N1 [45]. En effet, sept chiots ont été vaccinés trois fois à trois semaines d'intervalle. Trois semaines après, du sang a été prélevé chez ces chiens pour une recherche d'anticorps. Des anticorps contre les virus H9N2 (quatre chiens sur sept), H5N1 (trois chiens sur sept) et H1N1 (un chien sur sept) ont été retrouvés en plus des anticorps anti-H3N8. La meilleure immunité croisée a été obtenue avec le peptide M2e de H9N2 car celui-ci est identique à celui de H3N8. Le peptide M2e de H5N1 ne présente qu'une substitution d'un acide aminé à l'extrémité C-terminale du peptide. L'immunité croisée vis-à-vis de H1N1 est plus faible car le peptide présente deux substitutions d'acides aminés. Il n'est toujours pas prouvé si l'immunité croisée générée contre les virus H3N2, H5N1 et H1N1 par cette formule vaccinale est efficace chez les animaux infectés.

Ce vaccin permettrait donc *a priori* de protéger contre l'ensemble des souches du virus de la grippe canine (H3N8) et éventuellement contre les autres virus de la grippe A pouvant infecter les chiens.

b) Le vaccin contre le virus H5N1 chez les chats

Pour diminuer la probabilité de transmission du virus H5N1 aux hommes, un vaccin contre ce virus chez les chats a été testé [83]. Un vaccin à virus inactivé adjuvé spécifique du virus H5N1 a été fabriqué à partir d'un virus aviaire H5N6 faiblement pathogène. Cinq chats ont alors reçu une dose du vaccin deux fois à quatre semaines d'intervalles puis inoculés avec le virus quatre semaines après la dernière vaccination. Cinq autres chats ont été inoculés sans recevoir le vaccin. Contrairement aux chats non vaccinés, l'augmentation de la température rectale des chats vaccinés n'excédait pas 39,3°C alors qu'elle montait à 41,4 °C chez les chats non vaccinés, et les signes cliniques n'étaient pas observés. Chez trois chats vaccinés, les écouillons rectaux et nasaux ont fourni un résultat négatif pour le virus. L'excrétion est donc diminuée chez les chats vaccinés.

Le vaccin contre le virus H5N1 n'est pas encore commercialisé mais cette vaccination devrait être reconsidérée pour limiter la contamination des hommes.

c) Le vaccin contre le virus H3N2 chez les chiens

Les pseudo-particules virales (VLP), qui ressemblent à des virus dans leur structure et leur morphologie et qui exposent de nombreux épitopes antigéniques à leur surface, ont été proposées comme une nouvelle génération de vaccins contre les virus de la grippe. Elles contiennent des protéines de surface du virus de la grippe (HA, NA) et des protéines M1. Une étude [47] a évalué l'immunogénicité et l'efficacité de la protection d'un vaccin utilisant une VLP contenant H3 chez des chiens.

Quatre groupes de trois chiens ont été utilisés pour l'étude. Des vaccins adjuvés à différentes doses ont été injectés par voie intramusculaire. Un groupe de chiens n'a pas été vacciné. Puis les chiens ont été inoculés expérimentalement par voie intranasale quatre semaines après la vaccination.

Chez les chiens vaccinés, quelle que soit la dose vaccinale, aucun signe clinique témoin de l'infection n'a été observé. Dans le groupe de chiens non vaccinés, tous les chiens ont présenté des signes respiratoires comme des écoulements nasaux et oculaires, de la toux, de l'anorexie et de l'abattement, dès deux jours après l'inoculation. Les écoulements nasaux et la toux étaient les signes prédominants. Les chiens non vaccinés ont développé une hyperthermie transitoire supérieure à 39.5°C. L'excrétion par les chiens vaccinés a été significativement réduite comparée à celle des chiens non vaccinés. Les lésions pulmonaires ont également été significativement moins importantes chez les chiens vaccinés, et elles ont été inexistantes chez les chiens ayant reçu une forte dose de vaccin.

La protection induite par ce vaccin est donc efficace chez les chiens inoculés expérimentalement par le virus H3N2. Cette étude fournit donc la preuve d'une possibilité de développer des vaccins VLP pour induire une immunité contre les virus grippaux et ainsi contrôler cette infection chez les animaux.

B) Mesures d'hygiène

Les protocoles de nettoyage sont importants dans la prévention de la transmission de la grippe canine et féline, notamment dans les endroits où les chiens sont nombreux (cliniques vétérinaires, animaleries, salons de toilettage, refuges, parcs, boutiques acceptant les animaux) car le virus peut se transmettre directement ou indirectement par aérosol de sécrétions respiratoires, *via* des objets contaminés, ou par les mains. Le virus de la grippe canine est détruit par des désinfectants de routine comme des produits contenant de l'ammonium quaternaire, de la javel diluée à 1/30, des produits contenant 1 % d'hypochlorite de sodium, l'éthanol à 70 %, le glutaraldéhyde, le formaldéhyde et les solvants lipidiques. Il est aussi inactivé par une température de 56°C pendant un minimum de 30 minutes et par un pH bas (pH = 2). Dans la clinique, les employés doivent suivre des protocoles de nettoyage des

cages, des surfaces de travail, des sols et autres surfaces, et se laver les mains après avoir manipulé un animal [30].

Des protocoles d'isolement devraient être établis pour les chiens présentant des symptômes respiratoires ou une traditionnelle toux de chenil. Tous les membres du personnel devraient être formés pour être en mesure d'accueillir et isoler correctement ces animaux dès qu'ils arrivent à la clinique, avant que d'autres chiens ne soient exposés.

Les animaux ne devraient pas être nourris avec de la viande crue de volaille infectée dans les pays où les virus H5N1 circulent par exemple. Lors du décès de plusieurs oiseaux sauvages dans une région, les animaux devraient rester à l'intérieur et ne pas avoir accès à l'extérieur afin de diminuer la contamination par les oiseaux sauvages [81]. De plus, le contact homme-animal lorsque l'un des deux présente des signes grippaux devrait être réduit, étant donné la suspicion d'un risque potentiel de transmission homme-chats du virus H1N1 par exemple [32]. Il est recommandé d'éviter le contact physique avec la salive, les selles et les urines et l'exposition à des aérosols infectieux. Il est par ailleurs recommandé de porter des gants lors de la manipulation et de soumettre les chats à une sédation lors de la réalisation des prélèvements. En cas de suspicion d'une grippe chez l'animal, l'idéal serait de l'isoler dans une cage dans une clinique vétérinaire. La litière et tous les objets possiblement contaminés devraient être désinfectés avec une solution adaptée, ainsi que les pièces auxquelles l'animal a eu accès. Les animaux suspects devraient être isolés dans une pièce séparée avant la visite à la clinique vétérinaire [81].

C) Mesures d'information

Les vétérinaires devraient être alertés lorsqu'un nouvel épisode de grippe est reconnu dans la région. On devrait conseiller aux clients d'aller consulter leur vétérinaire lorsque leur animal présente des symptômes respiratoires, et le vétérinaire devrait interroger les clients sur l'exposition possible de leur animal au virus [90].

Il est nécessaire d'informer les propriétaires que le virus peut se transmettre de l'Homme à animal et vice-versa.

CONCLUSION

De nombreux virus grippaux peuvent affecter le chien et le chat. Le seul virus grippal complètement adapté à l'espèce canine est le virus H3N8, découvert en 2004 mais présent chez cette espèce plusieurs années avant sa découverte. Il est responsable de deux formes différentes de maladie : une forme discrète caractérisée par des symptômes respiratoires et une guérison spontanée en quelques jours, et une forme sévère provoquant le décès par hémorragie pulmonaire. Ce virus a dans un premier temps été identifié chez des lévriers de course mais par la suite de nombreuses races ont été identifiées comme infectées. De plus, si ce virus est particulièrement rencontré dans des structures à forte concentration de chiens comme des chenils, des refuges ou lors d'activités réunissant un grand nombre de chiens, il peut également infecter des chiens de compagnie. Ce virus s'est répandu aux Etats-Unis où il est rencontré de nos jours dans de nombreux Etats. Cependant, il ne semble pas encore présent en Europe ou à une prévalence très faible.

D'autres virus peuvent être rencontrés chez ces espèces. Le virus aviaire H5N1 fortement pathogène chez les oiseaux a été observé à plusieurs reprises en Asie chez des félins depuis 2003 et chez des chiens depuis 2004, mais il est peu adapté à cette dernière espèce. Le virus aviaire H3N2 a été découvert en 2007 en Corée du Sud chez des chiens. La circulation de ce virus a également été montrée en Chine et en Thaïlande et il a été prouvé que les chats y sont également sensibles. Le virus H1N1 a été responsable d'une pandémie dans la population humaine en 2009. Des infections naturelles par ce virus chez des chats en Oregon aux Etats-Unis ont été mises en évidence la même année, puis chez des chiens en Chine. D'autres virus peu adaptés aux espèces canine et féline ont été mis en évidence, comme le virus H2N9, le virus H3N1 qui résulte d'une recombinaison des virus H3N2 et H1N1, et le virus H5N2 qui résulte d'une recombinaison des virus H5N1 et H3N2.

Un vaccin contre le virus H3N8 a été élaboré en 2009 pour limiter l'expansion de ce virus chez des animaux prédisposés. Il s'est révélé efficace dans l'atténuation des symptômes et lésions et dans la diminution de la durée d'excrétion. Actuellement de nouveaux vaccins protégeant contre différents sous-types sont à l'étude, afin de pallier aux mutations et recombinaisons virales.

Le nombre de virus Influenza reconnus comme étant capables d'infecter les carnivores domestiques s'est nettement accru depuis plusieurs années, de nouveaux virus émergeant régulièrement, notamment à partir des réservoirs aviaires. La présence des virus grippaux chez les chiens et les chats soulève le problème de leur transmission aux humains, mettant encore davantage en exergue l'importance du concept « One Health – Une santé », et incitant à une grande vigilance. En effet, ces espèces domestiques côtoient l'homme de très près et pourraient être à l'origine d'une contamination humaine par des virus auxquels les deux espèces sont réceptives et/ou sensibles, ou pire encore de l'apparition de nouveaux virus par mutation ou recombinaison, qui pourraient passer chez l'homme et occasionner le cas échéant une pandémie. Une surveillance de l'évolution des virus grippaux chez les espèces canine et féline est donc primordiale pour anticiper l'apparition de pandémies chez l'homme.

BIBLIOGRAPHIE

1. ALI A, DANIELS JB, ZHANG Y, RODRIGUEZ-PALACIOS A, HAYES-OZELLO K, MATHES L *et al.* (2011). Pandemic and seasonal human influenza virus infections in domestic cats: prevalence, association with respiratory disease, and seasonality patterns. *J. Clin. Microbiol.*, **49**, 4101–4105.
2. ALMOND J (1977). A single gene determines the host range of influenza virus. *Nature*, **270**, 617–618.
3. ANDERSON TC, CRAWFORD PC, KATZ JM, DUBOVI EJ, LANDOLT G, GIBBS PJ (2012a). Diagnostic performance of the canine influenza A virus subtype H3N8 hemagglutination inhibition assay. *J. Vet. Diagn. Invest.*, **191**, 499–508.
4. ANDERSON TC, BROMFIELD CR, CRAWFORD PC, DODDS WJ, GIBBS PJ, HERNANDEZ JA *et al.* (2012b). Serological evidence of H3N8 canine influenza-like virus circulation in USA dogs prior to 2004. *Vet. J.*, **242**, 312–316.
5. ANDERSON TC, CRAWFORD PC, DUBOVI EJ, GIBBS PJ, HERNANDEZ JA (2013). Prevalence of and exposure factors for seropositivity to H3N8 canine influenza virus in dogs with influenza-like illness in the United States. *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, **242**, 209–216.
6. BARELL EA, PECORARO HL, TORRES-HENDERSON C, MORLEY PS, LUNN KF, LANDOLT GA (2010). Seroprevalence and Risk Factors for Canine H3N8 Influenza Virus Exposure in Household Dogs in Colorado. *J. Vet. Intern. Med.*, **24**, 1524–1527.
7. BEELER E (2009). Influenza in Dogs and Cats. *Vet. Clin. North Am. Small Anim. Pract.*, **39**, 251–264.
8. BOUVIER NM, PALESE P (2008). The biology of influenza viruses. *Vaccine*, **26**, 49–53.
9. BUTLER D (2006). Thai dogs carry bird-flu virus, but will they spread it ? *Nature*, **439**, 773.
10. CASTELMAN WL, POWE JR, CRAWFORD PC ET AL., GIBBS PJ, DUBOVI EJ, DONIS RO *et al.* (2010). Canine H3N8 influenza virus infection in dogs and mice. *Vet. Pathol.*, **47**, 507–517.
11. CAULDWELL AV, LONG JS, MONCORGE O, BARCLAY WS (2014). Viral determinants of influenza A host range. *J. Gen. Virol.*, **95**, 1193-1210.
12. CLEMENTS M. L., SUBBARAO E. K., FRIES L. F., KARRON R. A., LONDON W. T. & MURPHY B. R. (1992). Use of single-gene reassortant viruses to study the role of avian influenza A virus genes in attenuation of wild-type human influenza A virus for squirrel monkeys and adult human volunteers. *J Clin Microbiol.*, **30** , 655-662.

13. COLLIN EA, SHENG Z, LANG Y, MA W, HAUSE BM *et al.* (2015). Cocirculation of two distinct genetic and antigenic lineages of proposed influenza D virus in cattle. *J. virol.*, **89**, 1036-1042.
14. CRAWFORD P, DUBOVI E, CASTLEMAN W, STEPHENSON I, GIBBS E, CHEN L *et al.* (2005). Transmission of equine Influenza virus to dogs. *Science*, **310**, 482-485.
15. CROSSLEY B, HIETALA S, HUNT T, BENJAMIN G, MARTINEZ M, DARNELL D *et al.* (2012). Pandemic (H1N1) 2009 in captive cheetah. *Emerg. Infect. Dis.*, **18**, 315–317.
16. DALY JM, BLUNDEN AS, MACRAE S, MILLER J, BOWMAN SJ, KOLODZIEJEK J *et al.* (2008). Transmission of Equine Influenza Virus to English Foxhounds. *Emerg. Infect. Dis.*, **14**, 461–464.
17. DAMIANI AM, KAKTHOFF D, BEER M, MÜLLER M, OSTERRIEDER N (2012). Serological survey in dogs and cats for influenza A(H1N1) pdm09 in Germany. *Zoonoses and Public Health*, **59**, 549–552.
18. DESHPANDE MS, ABDELMAGID O, TUBBS AL, JAYAPPA H, WASMOEN T (2009a). Experimental reproduction of canine influenza virus H3N8 infection in young puppies. *Vet. Ther.*, **10**, 29–39.
19. DESHPANDE MS, JIRJIS FF, TUBBS AL, JAYAPPA H, SWEENEY D, SPENCER JS *et al.* (2009b). Evaluation of the Efficacy of a Canine Influenza Virus (H3N8) Vaccine in Dogs Following Experimental Challenge. *Vet. Ther.*, **10**, 103–112.
20. DUBOVI EJ (2010). Canine influenza. *Vet. Clin. North Am. Small Anim. Pract.*, **40**, 1063–1071.
21. DUBOVI EJ, NJAA BL (2008). Canine influenza. *Vet. Clin. North Am. Small Anim. Pract.*, **38**, 827–835.
22. DUNDON WG, DE BENEDICTIS P, VIALE E, CAPUA I (2010). Serologic evidence of pandemic (H1N1) 2009 infection in dogs, Italy. *Emerg. Infect. Dis.*, **16**, 2019–2021.
23. FENG H, LIU Y, SONG Q ET AL, LING Z, ZHAN F, ZHU Y *et al.* (2014). Interspecies transmission of canine influenza virus H5N2 to cats and chickens by close contact with experimentally infected dogs. *Vet. Microbiol.*, **170**, 414–417.
24. FIORENTINI L, TADDEI R, MORENO A, GELMETTI D, DE MARCO MA, TOSI G *et al.* (2011). Influenza A pandemic (H1N1) 2009 virus outbreak in a cat colony in Italy. *Zoonoses and Public Health*, **58**, 573–581.
25. FLINT A, ENQUIST L, RACANIELLO V, SKALKA A (2013). *Principles of virology : molecular biology, pathogenesis, and control of animal viruses*. 2nd ed. ASM Press, 850p.
26. GAMBLIN S, SKEHEL J (2010). Influenza Hemagglutinin and Neuraminidase Membrane Glycoproteins. *J. Biol. Chem.*, **285**, 28403–28409.

27. GIESE M, HARDER TC, TEIFKE JP, KLOPFLEISCH R, BREITHAUPT A, METTENLEITER TC *et al.* (2008). Experimental Infection and Natural Contact Exposure of Dogs with Avian Influenza Virus (H5N1). *Emerg. Infect. Dis.*, **14**, 308–310.
28. HARDER TC, VAHLENKAMP TW (2010). Influenza Virus Infection in Dogs and Cats. *Veterinary Immunology and Immunopathology*, **134**, 54–60.
29. HERFST, S., SCHRAUWEN E, LINSTER M, CHUTINIMITKUL S, DE WIT E, MUNSTER V *et al.* (2012). Airborne transmission of influenza A/H5N1 virus between ferrets. *Science*, **336**, 1534–1541.
30. HILLING K, HANEL R (2010). Canine Influenza. *Compend. Contin. Educ. Vet.*, **32**, E1-9
31. HOLT DE, MOYER MR, BROWN DC (2010). Serologic prevalence of antibodies against canine influenza virus (H3N8) in dogs in a metropolitan animal shelter. *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, **237**, 71–73.
32. HORZINEK MC, ADDIE D, BELAK S, BOUCRAUT-BARALON, EGBERINK H, FRYMUS T *et al.* (2013). ABCD: Update of the 2009 guidelines on prevention and management of feline infectious diseases. *J. Feline. Med. Surg.*, **15**, 530–539.
33. IMAI, M., WATANABE T, HATTA M, DAS S, OZAWA M, SHINYA K *et al.* (2012). Experimental adaptation of an influenza H5 HA confers respiratory droplet transmission to a reassortant H5 HA/H1N1 virus in ferrets. *Nature*, **486**, 420–428.
34. JEOUNG HY, SHIN BH, LEE WH, SONG DS, CHOI YK, JEONG WS *et al.* (2012). Seroprevalence of subtype H3 influenza A virus in South Korean cats. *J. Feline. Med. Surg.*, **165**, 746–750.
35. JEOUNG HY, LIM SI, SHIN BH, LIM JA, SONG JY, SONG DS *et al.* (2013). A novel canine influenza H3N2 virus isolated from cats in an animal shelter. *Vet. Microbiol.*, **14**, 281–286.
36. JIRJIS FF, DESHPANDE MS, TUBBS AL, JAYAPPA H, LAKSHMANAN N, WASMOEN TL (2010). Transmission of canine influenza virus (H3N8) among susceptible dogs. *Vet. Microbiol.*, **144**, 303–309.
37. JUNG K, LEE CS, KANG BL, PARK BK, OH JS, SONG DS *et al.* (2010). Pathology in dogs with experimental canine H3N2 influenza virus infection. *Res. Vet. Sci.*, **88**, 523–527.
38. KIM H, SONG D, MOON H, YEOM M, PARK S, HONG M *et al.* (2013). Inter- and intraspecies transmission of canine influenza virus (H3N2) in dogs, cats, and ferrets. *Influenza Other Respir Viruses*, **7**, 265–270.
39. KING A, ADAMS M, CARSTENS E, LEFKOWITZ E (2012). *Virus Taxonomy*. Elsevier, 1338p.
40. KNESEL O, ALLAN FJ, SHIELDS S (2009). The seroprevalence of canine respiratory coronavirus and canine influenza virus in dogs in New Zealand. *N. Z. Vet. J.*, **57**, 295–

41. KNIPE D, HOWLEY P, COHEN J *et al.* (2013). *Fields Virology*. 6th ed. Wolter Kluwer, 2664p.
42. KRUTH SA, CARMAN S, WEESE JS (2008). Seroprevalence of antibodies to canine influenza virus in dogs in Ontario. *Can. Vet. J.*, **49**, 800–802.
43. KUIKEN T, RIMMELZWAAN G, VAN RIEL D, VAN AMERONGEN G, BAARS M, FOUCHIER R *et al.* (2004). Avian H5N1 Influenza in Cats. *Science*, **306**, 241.
44. LARSON LJ, HENNINGSON J, SHARP P, THIEL B, DESHPANDE MS, DAVIS T *et al.* (2011). Efficacy of the Canine Influenza Virus H3N8 Vaccine To Decrease Severity of Clinical Disease after Cochallenge with Canine Influenza Virus and *Streptococcus equi* subsp. *zooepidemicus*. *Clin. Vaccine Immunol.*, **18**, 559–564.
45. LECLERC D, RIVEST M, BABIN C, LOPEZ-MACIAS C, SAVARD P (2013). A novel M2e based flu vaccine formulation for dogs. *PLoS One*, **8**.
46. LEE CS, SONG DS, KANG B, KANG D, YOO J, JUNG K *et al.* (2009). A serological survey of avian-origin H3N2 canine influenza virus in dogs in Korea. *Vet. Microbiol.*, **137**, 359–362.
47. LEE DH, BAE SW, PARK JK, KWON JH, YUK SS, SONG JM *et al.* (2013). Virus-like particle vaccine protects against H3N2 canine influenza virus in dog. *Vaccine*, **31**, 3268–3273.
48. LEI N, YUAN ZG, HUANG SF, ZHANG DW, ZHANG AG, HUANG BH *et al.* (2012). Transmission of avian-origin canine influenza viruses A (H3N2) in cats. *Vet. Microbiol.*, **160**, 481–483.
49. LE PODER S (2012-2013). *Virologie*. Polycopié. Ecole Nationale Vétérinaire d'Alfort. Unité d'enseignement de virologie, 369p.
50. LIN D, SUN S, DU L, MA J, FAN L, PU J *et al.* (2012). Natural and experimental infection of dogs with pandemic H1N1/2009 influenza virus. *J. Gen. Virol.*, **93**, 119–123.
51. LÖHR CV, DEBESS EE, BACKER RJ, HIET SL, HOFFMAN KA, MURDOCH VJ *et al.* (2010). Pathology and Viral Antigen Distribution of Lethal Pneumonia in Domestic Cats Due to Pandemic (H1N1) 2009 Influenza A virus. *Vet. Pathol.*, **47**, 378–386.
52. MAAS R, TACKEN M, RUULS L, GUUS K, VAN ROOIJ E, STOCKHOFE-ZURWIEDEN N (2007). Avian Influenza (H5N1) Susceptibility and Receptors in Dogs. *Emerg. Infect. Dis.*, **13**, 1219–1221.
53. MANZ B., BRUNOTT E L., REUTHER P. & SCHWEMMLE M. (2012). Adaptive mutations in NEP compensate for defective H5N1 RNA replication in cultured human cells. *Nat Commun*, **3**.
54. MARSHALL J, HARTMANN K (2008). Avian influenza A H5N1 infections in cats. *J. Feline*

Med. Surg., **10**, 359–365.

55. NAYAK D, BALOGUN R, YAMADA H, ZHOU ZH, BARMAN S (2009). Influenza virus morphogenesis and budding. *Virus. Res.*, **143**, 147–161.
56. PAYUNGPORN S, CRAWFORD C, KOUO T, CHEN LM, POMPEY J, CASTELMAN WL *et al.* (2008). Influenza A Virus (H3N8) in Dogs with Respiratory Disease, Florida. *Emerg. Infect. Dis.*, **14**, 902–908.
57. PECORARO HL, SPINDEL ME, BENNETT S, LUNN KF, LANDOLT GA (2013). Evaluation of virus isolation, one-step real-time reverse transcription polymerase chain reaction assay, and two rapid influenza diagnostic tests for detecting canine influenza A virus H3N8 shedding in dog. *J. Vet. Diagn. Invest.*, **25**, 402–406.
58. PECORARO HL, BENNETT S, HUYVAERT KP, LANDOLT GA (2014). Epidemiology and Ecology of H3N8 Canine Influenza Viruses in US Shelter Dog. *J. Vet. Intern. Med.*
59. PRATELLI A, COLAO V (2014). A population prevalence study on influenza infection in dogs in Southern Italy. *New Microbiologica*, **37**, 277–283.
60. PRIESTNALL NL, MITCHELL JA, WALKER CA, ERLES K, BROWNLIE J *et al.* (2013). New and Emerging Pathogens in Canine Infectious Respiratory Disease. *Vet. Pathol.*, **51**, 492–504.
61. RESA-INFANTE P, JORBA N, COLOMA R, ORTIN J (2011). The influenza RNA synthesis machine. *RNA Biology*, **8**, 207–215.
62. REUSS-LAMKY H (2009). First vaccine against canine influenza granted conditional license. *Vet Forum*, **26**.
63. SAID AW, USUI T, SHINYA K, ONO E, ITO T, HIKASA Y *et al.* (2011). A sero-survey of subtype H3 influenza A virus infection in dogs and cats in Japan. *J. Vet. Med. Sci.*, **73**, 541–544.
64. SAMJI T. (2009). Influenza A: Understanding the Viral Life Cycle. *The Yale Journal of Biology and Medicine*, **82**, 153–159.
65. SCHULZ B, KLINKENBERG C, FUX R, ANDERSON T, DE BENEDICTIS P, HARTMANN K (2014). Prevalence of canine influenza virus A (H3N8) in dogs in Germany. *Vet. J.*, **202**, 184–185.
66. SERRA VF, STANZANI G, SMITH G, OTTO CM *et al.* (2011). Point seroprevalence of canine influenza virus H3N8 in dogs participating in a flyball tournament in Pennsylvania. *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, **238**, 726–730.
67. SONG D, AN D, MOON H, YEOM M, JEONG H, JEONG W *et al.* (2011). Interspecies transmission of the canine influenza H3N2 virus to domestic cats in South Korea. *J. Gen. Virol.*, **92**, 2350–2355.

68. SONG DS, LEE CH, KANG B, JUNG K, OH T, KIM H *et al.* (2009). Experimental Infection of Dogs with Avian-Origin Canine Influenza A Virus (H3N2). *Emerg. Infect. Dis.*, **15**, 56–58.
69. SONG DS, KANG B, LEE CH, JUNG K, HA G, KANG D *et al.* (2008). Transmission of Avian Influenza Virus (H3N2) to Dogs. *Emerg. Infect. Dis.*, **14**, 741–746.
70. SONG DS, MOON HJ, AN DJ, JEOUNG HY, KIM H, YEOM HJ *et al.* (2012). A novel reassortant canine H3N1 influenza virus between pandemic H1N1 and canine H3N2 influenza viruses in Korea. *J. Gen. Virol.*, **93**, 551–554.
71. SONG QQ, ZHAN FX, LIU JJ, LING ZS, ZHU LY, JIANG SJ *et al.* (2013). Dog to dog transmission of a novel influenza virus (H5N2) isolated from a canine. *Vet. Microbiol.*, **161**, 331–333.
72. SONGSERM T, AMONSIN A, JAM-ON R, SAE-HENG N, PARIYOTHORN N, PAYUNGPORN S *et al.* (2006). Fatal Avian Influenza A H5N1 in a Dog. *Emerg. Infect. Dis.*, **12**, 1744–1747.
73. SPONSELLER BA, STRAIT E, JERGENS A, TRUJILLO J, HARMON K, KOSTER L *et al.* (2010). Influenza A Pandemic (H1N1) 2009 Virus Infection in Domestic Cat. *Emerg. Infect. Dis.*, **16**, 534–537.
74. STAFFORD J, BYERS CG (2008). Canine influenza. *Standard of care*, **10**.
75. SU S, CHEN Y, ZHAO FR, CHEN JD, XIE JX, CHEN ZM *et al.* (2013a). Avian-origin H3N2 canine influenza virus circulating in farmed dogs in Guangdong, China. *Infect. Genet. Evol.*, **14**, 444–449.
76. SU S, YUAN L, LI H, CHEN J, XIE J, HUANG Z *et al.* (2013b). Serologic evidence of pandemic influenza virus H1N1 2009 infection in cats in China. *Clin. Vaccine. Immunol.*, **20**, 115–117.
77. SUBBARAO E, LONDON W, MURPHY B, (1993). A single amino acid in the PB2 gene of influenza A virus is a determinant of host range. *J. Virol.* **67**, 1761–1764.
78. SUN X, XU X, LIU Q, LIANG D, LI C, HE Q *et al.* (2013a). Evidence of avian-like H9N2 influenza A virus among dogs in Guangxi, China. *J. Infect. Genet. Evol.*, **20**, 471–475.
79. SUN Y, SUN S, MA J, TAN Y, DU L, SHEN Y *et al.* (2013). Identification and characterisation of avian-origin H3N2 canine influenza viruses in dogs in northern china during 2009-2010. *Virology*, **435**, 301–307.
80. SUN Y, SHEN Y, ZHANG X, WANG Q, LIU L, HAN X *et al.* (2014). A serological survey of canine H3N2, pandemic H1N1/09 and human seasonal H3N2 influenza viruses in dogs in China. *Vet. Microbiol.*, **168**, 193–196.
81. THIRY E, ADDIE D, BELAK S, BOUCRAUT-BARALON C, EGBERINK H, FRYMUS T *et al.* (2009). H5N1 Avian Influenza in Cats: ABCD Guidelines on Prevention and

Management. *J. Feline Med. Surg.*, **11**, 615–618.

82. URBANIAK K, KOWALCZYK A, MARKOWSKA-DANIEL I (2014). Influenza A virus of avian origin circulating in pigs and other mammals. *Acta Biochimica Polonica*, **61**, 433–439.
83. VAHLENKAMP TW, HARDER TC, GIESE M, LIN F, TEIFKE JP, KLOPFLEISCH R *et al.*, (2008). Protection of cats against lethal influenza H5N1 challenge infection. *J. Gen. Virol.*, **89**, 968–974.
84. VAN DEN BRAND J, STITTELAAR K, VAN AMERONGEN G, VAN DE BILDT MWG, LEIJTEN LME, KUIKEN T *et al.* (2010). Experimental pandemic (H1N1) 2009 virus infection of cats. *Emerg. Infect. Dis.*, **16**, 1745–1747.
85. VAN RIEL D, RIMMELZWAAN GF, VAN AMERONGEN G, OSTERHAUS AD, KUIKEN T (2010). Highly pathogenic avian influenza virus H7N7 isolated from a fatal human case causes respiratory disease in cats but does not spread systemically. *Am. J. Pathol.*, **177**, 2185–2190.
86. ZAMBON M (1999). Epidemiology and pathogenesis of influenza. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, **44**, 3–9.
87. ZHAN G, LING Z, ZHU Y, JIANG SJ, XIE ZJ (2012). Genetic characterization of a novel influenza A virus H5N2 isolated from a dog in China. *Vet. Microbiol.*, **155**, 409–416.
88. ZHANG K, ZHANG Z, YU Z, LI L, CHENG K, WANG T *et al.* (2013a). Domestic cats and dogs are susceptible to H9N2 avian influenza virus. *Virus Res.*, **175**, 52–57.
89. ZHANG YB, CHEN JD, XIE JX, ZHU WJ, WEI CY, TAN LK *et al.* (2013b). Serologic Reports of H3N2 Canine Influenza Virus Infection in Dogs in Northeast China. *J. Vet. Med. Sci.*, **75**, 1061–1062.
90. Canine influenza (2014). *The Center for Food Security and Public Health*.
91. Courrier international, n°1177, mai 2013.
92. www.bd.com
93. www.ermm.cbcu.cam.ac.uk
94. www.rapidreferenceinfluenza.com
95. www.sciencemag.org