

Virus influenza porcin : implications en santé animale et en santé publique

Gaëlle KUNTZ-SIMON, Nathalie FRANCK

AFSSA-LERAPP, Unité Virologie Immunologie Porcines, Zoopôle Les Croix, BP 53, 22440 Ploufragan

g.kuntz.simon@ploufragan.afssa.fr

Virus influenza porcin : implications en santé animale et en santé publique

Chez le porc, la grippe est une maladie virale respiratoire devenue enzootique dans toutes les régions du monde à forte densité porcine. Elle a en outre gardé un caractère épizootique principalement lié aux mouvements d'animaux. Bien que peu notifiés, les syndromes grippaux peuvent être à l'origine de pertes économiques importantes en élevage. Les virus influenza porcins (SIV) sont des virus génétiquement instables et la variabilité antigénique résultant des modifications génomiques peuvent avoir des conséquences sur la clinique de l'infection, sur l'efficacité des protocoles de vaccination ou sur la sensibilité des tests de diagnostic. Les SIV peuvent être transmis à l'homme, la plupart du temps de manière asymptomatique, mais quelques cas aux conséquences plus graves ont conféré à la grippe porcine un caractère zoonotique. L'espèce porcine, réceptive à la fois aux virus influenza aviaires et humains, constituerait en outre un maillon dans les transmissions inter-espèces et la génération de virus réassortants. Cette revue propose, après avoir rappelé quelques caractéristiques des virus influenza de type A, d'évoquer les mécanismes de restriction d'hôtes et de transmission inter-espèces et de dresser un bilan des connaissances sur les virus influenza actuellement en circulation dans la population porcine mondiale, sur la pathologie qui leur est associée ainsi que sur son diagnostic et sa prophylaxie. Un état de l'art est fait quant à l'implication des SIV en santé publique et sur l'évaluation du risque que le porc puisse jouer un rôle dans la génération de nouveaux virus réassortants à caractère pandémique.

Swine influenza virus: implication in animal health and in public health.

In pig, flu is a viral respiratory disease that has become enzootic in high porcine density areas. Epidemic events can also occur due to animal movements. While only occasionally notified, flu can cause severe economic losses in pig herds. Swine influenza viruses (SIV) is a genetically unstable virus and the antigenic variability resulting from genomic changes can have consequences on clinical signs, vaccination efficiency or diagnostic assays sensitivity. SIV can be transmitted to humans, usually without symptoms, but some reported cases of fatal infections indicated it has to be considered as a zoonosis. Pig is susceptible to both avian and human influenza viruses, and thus would serve as an intermediate host for inter-species transmission and for reassortment. First, this review presents general influenza A virus properties and mechanisms for inter-species transmission. Then, it will focus on current knowledge about virus sub-types that circulate in pigs worldwide, about associated pathogenesis, diagnosis and prophylaxis. State of the art is done concerning swine influenza public health significance and evaluation of the potential risk of swine in the generation of new reassortant viruses that could cause a pandemic.

INTRODUCTION

La grippe constitue depuis plus d'une centaine d'années une préoccupation sanitaire majeure chez l'homme et de nombreuses espèces animales. Trois pandémies, dues à des infections par des virus influenza de type A, ont touché au cours du XX^{ème} siècle un nombre considérable de personnes, la « grippe espagnole » de 1918-1919 provoquant à elle seule plus de 20 millions de décès. L'épizootie de grippe aviaire sévissant depuis 2003 en Asie, et ayant récemment touché l'Europe, est à l'origine de pertes considérables en aviculture. Elle a déjà causé plusieurs centaines de décès et pourrait être à l'origine de l'apparition de nouveaux agents à caractère pandémique. Chez le porc, la grippe est une maladie respiratoire répandue aux conséquences économiques importantes. L'espèce porcine, réceptive à la fois aux virus influenza aviaires et humains, constitue en outre un maillon dans les transmissions inter-espèces et la génération de virus réassortants.

1. LES VIRUS INFLUENZA DE TYPE A

1.1. Classification, organisation et cycle de réplication

Les virus influenza de type A, famille des *Orthomyxoviridae*, se distinguent des types B et C sur la base de différences antigéniques déterminées par leur nucléoprotéine (NP) et leur protéine de matrice (M), protéines internes spécifiques et peu variables (Lamb and Krug, 1996). Bien qu'ayant été ponctuellement isolés chez le phoque et le porc, les types B et C se répliquent quasiment exclusivement chez l'homme, tandis que les influenza A infectent une grande variété d'espèces, dont l'homme, le porc, le cheval, le furet, le phoque ainsi que les oiseaux sauvages et domestiques (Webster et al., 1992). Au sein du type A, on distingue des sous-types sérologiques définis par la nature des deux antigènes de surface que sont l'hémagglutinine (HA) et la neuraminidase (NA). A ce jour, 16 molécules différentes de HA et 9 molécules de NA ont été identifiées.

Le virus influenza A, de morphologie sphérique ou filamenteuse et de 80 à 120 nm de diamètre, est enveloppé d'une bicouche lipidique dans laquelle sont enchâssées les deux glycoprotéines HA et NA, et une protéine trans-membranaire peu représentée, la protéine de matrice M2. La protéine de matrice M1 forme une couche sous l'enveloppe, donnant sa structure à la particule et encapsidant les complexes ribonucléoprotéiques (RNP). Ceux-ci associent l'acide ribonucléique (ARN), la nucléoprotéine (NP) et les polymérases PA, PB1 et PB2 responsables de la réplication et de la transcription du génome viral. Deux protéines non structurales (NS) sont également codées, NS2 et NS1, cette dernière étant uniquement retrouvée dans la cellule infectée. Le génome est composé de 8 segments uniques d'ARN monocaténaire de polarité négative.

Le cycle de réplication du virus démarre par le clivage de HA en HA1 et HA2 par des protéases présentes au site d'infection. HA1 se fixe à son récepteur, un résidu d'acide sialique (AS) localisé à la surface de la cellule cible. L'internalisation

du virion par endocytose conduit à un changement de conformation de HA, capable alors de fusionner enveloppe virale et membrane endosomale. Les ARN viraux sont synthétisés dans le noyau et les protéines virales traduites dans le cytoplasme. Les virions néo-formés lors du bourgeonnement de la membrane plasmique sont libérés dans l'espace extracellulaire après clivage de la liaison AS-récepteur par NA, laquelle facilite ainsi la dissémination du virus dans l'organisme.

1.2. Variabilité antigénique des virus influenza de type A

Les glycoprotéines HA et NA sont les antigènes viraux impliqués dans l'induction d'une immunité protectrice, mais ce sont également ceux qui varient le plus. La soudaine émergence de souches virales antigéniquement différentes des souches circulant précédemment dans une espèce donnée peut résulter de divers mécanismes :

- le transfert direct d'un virus « entier », d'une espèce à une autre espèce.
- le réassortiment génétique, dû au fait que le génome viral soit segmenté. Lorsqu'une cellule est co-infectée par deux virus de sous-types différents, il peut, lors de l'assemblage et du bourgeonnement, se former un virus hybride ayant emprunté des segments génomiques à l'un et l'autre des virus originaux. Quand le réassortiment concerne les gènes codant HA ou NA, il conduit au remplacement des antigènes majeurs (cassure antigénique).
- la ré-émergence d'un virus ayant causé une épidémie plusieurs années auparavant.
- le glissement antigénique. L'ARN polymérase ARN dépendante virale est un enzyme peu fidèle commettant un grand nombre d'erreurs lors de la copie du génome. Elle est dépourvue d'activité de correction et toutes les erreurs commises persistent. L'ARN étant monocaténaire, il est impossible de réparer les erreurs après la réplication du génome. Ces mutations peuvent être silencieuses ou se répercuter au niveau de la séquence protéique. Les mutations exprimées peuvent être létales pour le virus si elles affectent un site fonctionnel ou structural vital. En revanche, elles peuvent être bénéfiques si elles affectent un site antigénique, contribuant alors à l'échappement du virus à l'immunité antivirale de l'hôte infecté.

L'apparition d'un nouveau sous-type dans une espèce entraîne généralement la disparition du sous-type majeur précédemment en circulation, mais ce n'est pas toujours le cas, notamment chez le porc, plusieurs sous-types pouvant alors co-circuler dans une population donnée.

2. TRANSMISSION INTER-ESPÈCES DES VIRUS INFLUENZA DE TYPE A

Les oiseaux aquatiques sauvages (notamment les canards) sont l'hôte naturel des virus influenza A et constituent le réservoir de leur diversité génétique. Les virus influenza aviaires se répliquent dans les cellules du tractus gastro-intestinal des oiseaux, entraînant des infections sub-cliniques avec de longues périodes d'excrétion virale dans les fèces. Les virus libérés dans l'eau et propagés du fait des migrations saison-

nières peuvent occasionnellement être transmis aux oiseaux domestiques et à des espèces mammifères, dont le porc et l'homme, chez qui les infections à tropisme respiratoire se révéleront plus ou moins sévères (Fouchier et al., 2003).

Les souches virales faiblement pathogènes possèdent des HA généralement clivées par les protéases extracellulaires des voies digestives ou respiratoires. Il en résulte donc une infection locale. Chez les volailles, le virus peut, au fur et à mesure des multiplications, acquérir un caractère hautement pathogène (HP). Celui-ci est lié à l'introduction d'une séquence d'acides aminés multibasiques au site de clivage de HA, laquelle peut alors être clivée par une plus large variété de protéases. Cette modification entraîne une infection systémique (Garten et Klenk, 1999). L'augmentation de l'excrétion virale qui en résulte constitue un facteur favorisant le potentiel de transmission, y compris à l'homme. Ce fut le cas lors des épisodes de grippe à virus HP H5N1 en 1997 à Hong Kong et depuis 2004 dans plusieurs pays de l'Asie du Sud-Est, ou encore H7N7 en 2003 aux Pays-Bas et 2004 au Canada (Alexander, 2006). Ces cas d'infection chez l'homme n'ont heureusement pas donné lieu à une transmission inter-humaine efficace, faute d'adaptation du virus à son nouvel hôte. Celle-ci pourrait néanmoins se produire, soit au fur et à mesure de transmissions inter-humaines, soit par réassortiment à la faveur d'une co-infection avec un virus humain. De ce point de vue l'espèce porcine mérite une attention particulière. En effet, le porc étant à la fois sensible aux infections par des virus aviaires et humains, il peut constituer l'hôte intermédiaire chez lequel des réassortiments pourraient aboutir à l'émergence d'un nouveau sous-type adapté à l'hôte mammifère. L'hypothèse de tels événements a été avancée quant à la génération des virus H2N2 et H3N2 qui ont été à l'origine de pandémies sur le continent asiatique, en 1957 et 1968 (Scholtissek, 1997).

Les mécanismes moléculaires à la base de la restriction d'hôte et de l'adaptation à un nouvel hôte sont encore aujourd'hui largement incompris mais apparaissent multigéniques. Ils sont notamment liés à la spécificité des virus grippaux vis-à-vis de leur récepteur (Ito, 2000). Les HA de virus aviaires se lient préférentiellement aux acides sialiques liés en $\alpha 2,3$ au galactose sous-jacent ($AS\alpha 2,3Gal$), tandis que les HA de virus humains se lient préférentiellement aux $AS\alpha 2,6Gal$. De même, les NA de virus aviaires et humains hydrolysent préférentiellement les $AS\alpha 2,3Gal$ et les $AS\alpha 2,6Gal$, respectivement, et il a été montré que la NA (d'espèce N2) d'origine aviaire a acquis une spécificité pour les $AS\alpha 2,6Gal$ à la suite de son introduction dans la population humaine en 1968 (Baum et Paulson, 1991). Chez le porc, les deux types d'AS sont largement représentés au niveau de la trachée, ce qui expliquerait la capacité, tant des virus humains que des virus aviaires, à se multiplier chez cet animal (Ito et al., 1998). A noter qu'il a été récemment montré que l'homme possède également les deux types de récepteurs, les $AS\alpha 2,3Gal$ ayant été identifiés dans le tractus respiratoire inférieur (Shinya et al., 2006).

D'autres déterminants de la restriction d'hôte résident au niveau des gènes codant les protéines internes, M, NP et PB2 (Naffakh et al. 2000). La nature de l'acide aminé 627 de

PB2 serait un déterminant majeur de l'efficacité des complexes de transcription/réplication, notamment au regard de la température (Massin et al., 2001).

3. LE VIRUS INFLUENZA PORCIN : HISTORIQUE DES SOUCHES

On distingue l'historique de l'évolution des souches de virus influenza porcine (SIV) selon trois grandes régions mondiales : Europe, continent Nord Américain et Asie (Tableau 1).

3.1. Sous-type H1N1

La grippe porcine fut pour la première fois observée en 1918 pendant la pandémie de grippe espagnole, mais le virus responsable ne fut isolé et identifié par Shope qu'en 1930 (Shope, 1931). Ce virus de sous-type H1N1 devint le prototype d'un groupe de virus aujourd'hui dénommé « classical swine H1N1 ». Il circule encore aujourd'hui sur les continents américain et asiatique (Webby et al., 2004) mais a disparu des élevages européens, ayant été supplanté en 1979 par un virus « avian-like swine H1N1 », antigéniquement différent du virus « classical swine H1N1 » car ayant été intégralement transmis au porc par la volaille (Pensaert et al., 1981 ; Schultz et al., 1991 ; Brown et al., 1997a). L'étude génomique de ces souches « avian-like swine H1N1 » a démontré leur variabilité et l'émergence de variants en Europe (Marozin et al., 2002). En Asie, le virus « avian-like swine H1N1 » co-circule avec le virus « classical swine H1N1 » ainsi qu'avec des virus d'origine humaine, dits « human-like swine H1N1 » (Shu et al., 1994 ; Katsuda et al., 1995). Le sous-typage antigénique de souches isolées fin des années 90', début des années 2000 dans les Côtes d'Armor, montre qu'on a également isolé en Europe des virus possédant une HA de type humain (J.P. Buffereau, L. Miéli, communication personnelle). Les caractérisations antigéniques et génétiques préliminaires d'isolats récents tendent à démontrer que ces virus circulent encore en Bretagne aujourd'hui (H. Guilmoto, communication personnelle ; Kuntz-Simon G. et Franck N., données non publiées).

3.2. Sous-type H3N2

Suite à la pandémie de Hong-Kong de 1968, le virus humain H3N2 fut retrouvé chez le porc, auquel il s'est adapté (Miwa et al., 1987). Ces virus dits « human-like swine H3N2 » circulent encore en Asie, mais plus en Europe ni en Amérique du Nord. Ils entraînent des infections généralement asymptomatiques. L'expression clinique des infections à virus H3N2 n'est vraiment apparue qu'en 1984 en Europe, après qu'ait eu lieu un réassortiment entre la souche « human-like swine H3N2 » et le virus « avian-like swine H1N1 » (Madec et al., 1984 ; Castrucci et al., 1993). Ce nouveau variant « european reassortant human-like swine H3N2 » a acquis les gènes HA et NA du virus H3N2, les 6 autres segments génomiques provenant du virus H1N1 (Schrader and Suss, 2004). A noter qu'un virus H3N2 isolé en France en 1999 s'est distingué de la souche H3N2 réassortante, étant proche d'une souche H3N2 humaine contemporaine (Marozin et al., 2002). En 1998, il a été montré qu'une souche « human-like swine H3N2 » circulait également dans la population

Tableau 1 - Historique des sous-types H1N1, H3N2 et H1N2 de virus influenza porcin circulant chez le porc, en Europe et sur le continent Nord-Américain

Continent	Sous-type	Dénomination	Souche de référence	Introduction chez le porc	Origine	Situation actuelle
Europe	H1N1	« classical swine H1N1 »	A/Sw/Iowa/30	1918	? pandémie 1918	Ne circule plus depuis 1993
		« avian-like swine H1N1 »	A/Sw/Finistère/2899/82	1979	aviaire	En circulation
		« human-like swine H1N1 »			humaine	En circulation ?
	H3N2	« human-like swine H3N2 »	A/Port Chalmers/1/73	1973	humaine	Ne circule plus depuis fin années 80'
		« European reassortant human-like swine H3N2 »	A/Sw/Gent/1/84	1984	human-like swine H3N2 x avian-like swine H1N1	En circulation
	H1N2	Réassortant H1N2 (HA aviaire, NA humaine)	A/Sw/France/5027/87	1987	human-like swine H3N2 x avian-like swine H1N1	Ne circule plus depuis 1994
		Réassortants « human-like swine H1N2 » (HA humaine, NA humaine)	A/Sw/Scotland/410440/94 (a)	1994	europ. reass. human-like swine H3N2 x souche H1N1 humaine	En circulation
			A/Sw/Cotes d'Armor/790/97 (b)	1997	(a) x avian-like swine H1N1	En circulation ?
			A/Sw/Cotes d'Armor/800/00	2000	(b) x human-like swine H1N1	En circulation
	H1N1	« classical swine H1N1 »	A/Sw/Iowa/30	1918	? pandémie 1918	En circulation
Amérique du Nord	H3N2	« human-like swine H3N2 »	A/Port Chalmers/1/73	1973	humaine	En circulation
		« american reassortant human-like swine H3N2 »	A/Sw/North Carolina/35922/98	1998	human-like H3N2 x «classical H1N1	En circulation
		« american triple reassortant swine H3N2 »	A/Sw/Texas/4199-2/98	1998	human-like H3N2 x classical swine H1N1 X duck H9N2	En circulation
	H1N2	reassortant « human-like swine H1N2 » (HA humaine, NA humaine)	A/Sw/Indiana/9K035/99	1999	classical swine H1N1 x american triple reassortant H3N2	En circulation

porcine aux Etats-Unis (Zhou et al., 1999). Cependant, ce sous-type américain est différent du sous-type européen, puisque résultant d'un réassortiment entre le virus « human-like swine H3N2 » et la souche « classical swine H1N1 ». Ce virus « american reassortant human-like swine H3N2 » a causé de graves symptômes et des avortements chez des truies. A la même époque, a également été isolé aux Etats-Unis un autre variant H3N2 résultant quant à lui du triple réassortiment entre la souche « human-like swine H3N2 », la souche « classical swine H1N1 » et une souche aviaire, probablement un virus de canard de sous-type H9N2 (Zhou et al., 1999). Le virus « american triple reassortant swine H3N2 » a acquis les gènes PB2 et PA du virus aviaire, les gènes PB1, HA, et NA du virus H3N2, les autres gènes, NP, M et NS, provenant du virus H1N1 (Webby et al., 2000). En Asie, on décèle un sous-type « avian-like swine H3N2 » résultant de la transmission totale d'un virus H3N2 depuis la volaille (Yasuda et al., 1991).

3.3. Sous-type H1N2

Au cours des 30 dernières années, des virus de sous-type H1N2 ont également émergé dans la population porcine mondiale. Le premier virus du genre a été isolé au Japon en 1978, issu d'un réassortiment entre la souche « classical swine H1N1 » et la souche « human-like swine H3N2 » (Sugimura et al., 1980). D'autres variants ont depuis été isolés en Asie (Karasin et al., 2000a). Concernant l'Europe, c'est en Bretagne en 1987, qu'a été isolé le premier virus H1N2, résultant du réassortiment entre la souche « avian-like swine H1N1 » et la souche « human-like swine H3N2 » (Gourreau et al., 1994). Elle n'a cependant pas continué à circuler, ayant été supplantée par un autre variant H1N2 dit « human-like reassortant swine H1N2 », décrit en 1994 au Royaume-Uni et issu du réassortiment entre la souche « european reassortant human-like swine H3N2 » et une souche humaine H1N1 s'étant adaptée au porc et ayant circulé dans cette espèce pendant une dizaine d'années, entre 1983 et 1994 (Brown et al., 1995). Seul le gène HA du virus H3N2 fut échangé, mais cette modification génomique conduisit à l'apparition de souches de pathogénicité et antigénicité bien différentes. Depuis, de nombreux variants du sous-type H1N2 ont été isolés, issus de réassortiments entre la souche H1N2 apparu au Royaume-Uni et la souche « avian-like swine H1N1 », ou encore, entre les nouveaux variants H1N2 eux-mêmes et le nouveau variant « human-like swine H1N1 » récemment transmise au porc (Brown et al., 1998 ; Marozin et al., 2002). Sur le continent américain, la première souche H1N2 fut isolée à la fin des années 90, résultant du réassortiment entre la souche « classical swine H1N1 classique » et la souche « american reassortant human-like swine H3N2 », tandis que depuis 2003 des virus H1N2 d'origine humaine circuleraient également chez le porc (Karasin et al., 2002, 2006).

3.4. Autres sous-types (H1N7, H4N6, H3N3, H7N7, H9N2, H3N1 et H5N1)

D'autres sous-types de virus influenza de type A ont été isolés chez le porc, mais contrairement aux virus de sous-types H1N1, H3N2 et H1N2, ils ne se sont pas (encore)

adaptés à cette espèce. On a ainsi identifié un virus H1N7 en Angleterre en 1992, probablement issu du réassortiment entre une souche humaine H1N1 et une souche équine H7N7 (Brown et al., 1997b). Des souches H4N6, H3N3 et H1N1 d'origine aviaire ont été décrites au Canada (Karasin et al., 2000b, 2004). En Asie, des souches H9N2, également d'origine aviaire, ont été transmises au porc (Peiris et al., 2001 ; Choi et al., 2004a). Ayant été isolées à plusieurs reprises, il est possible que ces souches se soient adaptées, ou que leur transmission soit particulièrement fréquente. Bien qu'aucune souche n'ait été isolée, il a été montré que le virus aviaire HP de sous-type H7N7, responsable d'une épizootie aux Pays-Bas en 2003, a été transmis aux porcs, des anticorps ayant été détectés chez les porcins de fermes où la volaille était contaminée (Loeffen et al., 2004). Récemment, plusieurs rapports font état de l'isolement de souches H3N1 chez le porc, aux USA et en Corée (Ma et al., 2006 ; Lekcharoensuk et al., 2006 ; Shin et al., 2006). Ces souches sont des virus réassortants, mais tous différents. Elles ont été associées à des épisodes cliniques et auraient la capacité de se transmettre de porc à porc. Des souches de sous-type H5N1 ont été isolées en Chine à partir de prélèvements porcins récoltés en 2001 et 2003 dans le Sud-Est du pays (Li et al., 2004 ; Cyranoski, 2004). Un autre virus H5N1 aurait été isolé chez le porc en Chine, des séquences génomiques ayant été publiées en août 2004 dans les banques de données. En mai 2005, l'OIE fait état de l'isolement, en Indonésie, de souches H5N1 chez des porcs ne présentant aucun symptôme mais issus de fermes mixtes porc/volaille (Cyranoski, 2005). Début octobre 2006, une équipe indonésienne déclare que l'infection par le virus H5N1 a été diagnostiquée chez 2/20 porcs malades entre mai et juin 2006 (proMED-mail, 2006).

4. IMPLICATION DU VIRUS INFLUENZA PORCIN EN SANTÉ ANIMALE

4.1. Epidémiologie

La grippe est devenue endémique dans la population porcine mondiale (Olsen et al., 2006). En Europe, les examens sérologiques des porcs en engraissement ont révélé pour le sous-type H1N1 des prévalences allant de 50 à 90 % selon les pays. La prévalence du sous-type H3N2, très forte au début des années 1990, tend à diminuer, n'étant plus que de 13 % seulement aux Pays-bas en 2001. La prévalence du sous-type H1N2, par contre, n'a cessé d'augmenter au cours des dernières années. En France, la grippe concerne surtout les élevages de Bretagne, région où la densité porcine est importante. Certains élevages connaissent 2 à 3 épisodes d'allure grippale par an chez les porcs à l'engrais. D'après les résultats des sous-typages antigéniques ou moléculaires, il est isolé à peu près autant de souches H1N1 que de souches H1N2, mais aucun virus de sous-type H3N2 n'a plus été isolé depuis la fin des années 90 (J.P. Buffereau, communication personnelle ; Kuntz-Simon et al., données non publiées). Des analyses sérologiques menées dans le cadre d'enquêtes épidémiologiques ont confirmé cette tendance (Madec et al., 2004a). Est-ce à dire que la population porcine bretonne, voire française, est désormais naïve vis-à-vis du virus « european reassortant human-like swine H3N2 » ?

sortant human-like swine H3N2 » qui circule encore dans d'autres pays européens voisins ?

La grippe est une maladie économiquement importante pour l'industrie porcine (Madec et al., 2004b). En effet, le syndrome fébrile et les troubles respiratoires entraînent une diminution directe et immédiate des performances zootechniques. Au Royaume-Uni, la perte financière résultant de la réduction du gain de poids a été estimée à £7 par porc, ce qui équivaut à une perte totale de £60 millions/an (Kay et al., 1994). Le SIV est impliqué dans 50 % des cas de pathologie respiratoire aiguë chez les porcs à l'engrais. L'association d'autres agents pathogènes, notamment bactériens, à tropisme respiratoire aggravent cette pathologie, entraînant une relance de la pneumonie enzootique et de la rhinite atrophique. La grippe peut aussi concerner le porcelet au stade du post-sevrage : la rémanence du problème à ce stade est alors fréquente, les lots successifs d'animaux étant touchés (Guilmoto, 2003).

La maladie est liée au mouvement des porcs d'un troupeau infecté vers un troupeau susceptible. Le virus introduit peut ensuite persister jusqu'à l'introduction des lots suivants (Madec et al., 1985). Des foyers apparaissent tout au long de l'année, mais leur nombre augmente pendant la saison hivernale. La transmission est d'abord directe, par le biais des aérosols formés lors des toux ou éternuements, ou indirecte après contact physique. Les sécrétions nasales contiennent du virus pendant la phase aiguë fébrile de l'infection et l'excrétion dure 5-6 jours. La sévérité de la maladie est influencée par de nombreux facteurs, dont l'immunité maternelle, la souche virale, la voie d'inoculation et les infections bactériennes secondaires. Les anticorps maternels contenus dans le colostrum permettent de diminuer la sévérité de la maladie, les symptômes étant alors limités aux porcs séronégatifs.

4.2. Signes cliniques de l'infection et lésions

La maladie développée par le porc suite à l'infection par le SIV est similaire à la grippe humaine, bien que moins marquée. La période d'incubation varie de 1 à 3 jours (Kothalawala et al., 2006). Le taux de mortalité reste en général très faible et les symptômes disparaissent rapidement, en 5-7 jours. La manifestation clinique la plus évidente est l'anorexie. Les autres symptômes associés sont l'hyperthermie (40,5-41°C), l'apathie, la dyspnée, la polypnée et la discordance. La toux peut apparaître dans les stades tardifs. D'autres signes moins fréquents sont l'éternuement, le jetage nasal et la conjonctivite. Dans certains cas, les signes cliniques sont peu prononcés (anorexie partielle) ou ne semblent concerner qu'une partie des porcs d'une même salle, mais l'infection peut aussi prendre une tournure plus sévère, la morbidité pouvant toucher 100 % des individus, ceci en fonction de la virulence de la souche impliquée. Ainsi, le sous-type « avian-like swine H1N1 » a causé des foyers plus sévères que les sous-types « classical swine H1N1 » et « european reassortant human-like H3N2 ». Les géogroupes identifiés au sein des sous-types H1N1 et H1N2 se distinguent bien souvent par des propriétés antigéniques spécifiques, mais peu de travaux ont concerné l'étude comparée de leurs pouvoirs pathogènes (Van Reeth et al., 2004).

La quantité de virus qui atteint les bronches profondes, et la production résultante de virus dans les poumons, site principal de multiplication virale, déterminent la sévérité de la maladie. Celle-ci dépend également des pratiques sanitaires, les infections secondaires pouvant entraîner des complications. Les lésions pulmonaires observées dans le cas d'infections influenza simples se limitent généralement à des lésions de pneumonie restreintes aux lobes apical et cardiaque, tandis que dans les cas sévères d'infections mixtes, la moitié des poumons peut être affectée. Les ganglions bronchiques et médiastinaux associés aux poumons sont souvent hypertrophiés.

L'infection peut également avoir des effets néfastes sur la gestation lorsqu'elle atteint des truies non immunes (Madec et al., 1989).

4.3. Réponses immunes anti-virales

L'infection par le SIV induit le déclenchement immédiat d'une réponse immunitaire innée anti-virale chez l'hôte infecté, afin de limiter la diffusion du virus (Van Reeth et al., 1998, 1999). Parallèlement, sont mises en place des réponses spécifiques humorales et cellulaires dont les mécanismes ne seront pas détaillés ici (Heinen et al. 2001a). Retenons que la réponse spécifique est très efficace, tant pour l'élimination du virus après infection primaire, qu'en terme de protection contre l'infection secondaire (Olsen et al., 2006). Parmi les anticorps produits, ceux dirigés contre HA ont la capacité de neutraliser le pouvoir infectieux du virus en bloquant son attachement aux récepteurs de la cellule hôte. Ils sont détectés dans le sérum 7-10 jours post-infection (pi) et les titres atteindraient un maximum au bout de 2-3 semaines (Heinen et al., 2000). Ces titres élevés pourraient se maintenir pendant plusieurs semaines avant de décliner (Kuntz-Simon et al., données non publiées). Des infections expérimentales ont montré que l'animal immun est protégé contre une infection similaire pendant 6-9 semaines (Larsen et al., 2000), mais la durée exacte de la protection conférée après infection naturelle n'est pas connue. La glycoprotéine HA étant exposée, ses épitopes sont très variables, ce qui limite l'effet de la réponse humorale acquise lors d'une ré-infection par une souche différente (Heinen et al., 2001b). La protection après vaccination est également spécifique du sous-type (Van Reeth et al., 2003).

Les anticorps (Ac) d'isotype IgG sont transmis de la truie au porcelet nouveau-né par le biais du colostrum. Des études expérimentales ont montré que les porcelets ayant reçu des Ac anti-SIV maternels sont en partie protégés, capables de surmonter une infection sans développer la maladie, mais qu'ils restent excréteurs du virus (Loeffen et al., 2003). Lorsque le taux d'Ac maternels est élevé, les porcelets infectés ne développent aucune réponse immunitaire et restent susceptibles à une ré-infection. Une réponse faible et retardée a été observée chez des porcelets ayant un faible taux d'Ac maternels. Les Ac maternels ne confèrent pas de protection croisée entre les sous-types (Choi et al., 2004b ; Labarque et al., 2004) et réduisent l'induction de réponses immunitaires spécifiques. Ils auraient même un impact négatif sur l'efficacité de la prise vaccinale (Kitikoon et al., 2006).

4.4. Prophylaxie

Les vaccins influenza utilisés chez le porc sont des virus inactivés inoculés avec un adjuvant de type huile dans l'eau. Les préparations utilisées sont bivalentes, contenant depuis de nombreuses années deux souches humaines, de sous-types H1N1 (A/New Jersey/8/76) et H3N2 (A/Port Chalmers/1/73). La protection conférée par ces souches humaines vis à vis de souches porcines H1N1 et H3N2 circulant en Europe a été vérifiée à plusieurs reprises (Van Reeth et al., 2001 ; Heinen et al., 2001b). Néanmoins, une cassure antigénique dans le sous-type H3N2 a eu lieu aux Pays-Bas et en Belgique, ayant conduit à une perte de réaction croisée entre certains isolats récents et la souche vaccinale H3N2. Par ailleurs, les vaccins actuels protègent mal contre l'infection par le sous-type H1N2 (Van Reeth et al., 2003).

4.5. Diagnostic virologique et sérologique de l'infection SIV

Le diagnostic de l'infection SIV, tant virologique que sérologique, est difficile chez les porcelets du fait de la présence des anticorps maternels. Chez le porc en engraissement, la grippe peut être diagnostiquée par isolement du virus, détection des antigènes viraux, du génome viral ou encore des anticorps sériques spécifiques, méthodes qui ne seront pas détaillées ici (OIE, 2004). Brièvement, l'isolement viral se fait par amplification sur œufs embryonnés de poule ou en culture cellulaire et le virus amplifié est mis en évidence par réaction d'hémagglutination (test HA) ou induction d'effet cytopathogène, respectivement. La procédure standard pour le sous-typage des isolats consiste en la réalisation de tests d'inhibition de l'hémagglutination (IHA) et de tests d'inhibition de la neuraminidase (INA). Ces tests permettent de discriminer différents sous-types et des variants antigéniques dans un sous-type donné, mais sont techniquement lourds, nécessitant de renouveler les réactifs en fonction de l'évolution des souches. Une alternative est le sous-typage par double RT-PCR multiplexe (Kuntz-Simon et al., 2005). Le génome viral peut être détecté directement dans les prélèvements biologiques par RT-PCR classique ou quantitative en temps réel. Plusieurs méthodes immunoenzymatiques sont également disponibles pour détecter les antigènes viraux, mais sont peu utilisées pour le diagnostic du SIV, car peu sensibles et de coût élevé.

Le test sérologique le plus courant est le test IHA, basé sur la capacité des anticorps présents dans le sérum à tester à inhiber l'agglutination d'hématies par un antigène de référence. Ce test est assez insensible et peut ne pas détecter une réponse anticorps si la souche infectieuse est antigéniquement différente de l'antigène utilisé dans l'essai. Les souches virales de référence utilisées doivent donc être mises à jour régulièrement, en fonction des souches circulant sur le terrain. L'affirmation de la séroconversion après infection nécessite de démontrer une augmentation significative du titre IHA entre deux sérums, obtenus à 3 à 4 semaines d'intervalle. Des ELISAs (enzyme-linked immunosorbent assays) sont commercialisés, mais ils sont nettement moins sensibles et moins spécifiques que les tests

IHA pour la détection des souches SIV européennes. Enfin, les anticorps anti-SIV peuvent être détectés dans un test de neutralisation virale.

5. VIRUS INFLUENZA PORCIN ET SANTÉ PUBLIQUE

5.1. Transmission du SIV à l'homme

Les virus influenza porcins peuvent être transmis directement à l'homme, provoquant des syndromes plus ou moins sévères. La grippe porcine doit être considérée comme une zoonose.

La transmission du SIV à l'homme est généralement bénigne et donc souvent inapparente. Il est, de ce fait, assez difficile de déterminer sa fréquence. Néanmoins, d'après les quelques études sérologiques réalisées visant à évaluer la présence d'anticorps anti-SIV chez l'homme, il semblerait que le virus soit fréquemment transmis, notamment aux personnes travaillant régulièrement au contact des porcs (Pyhala et al., 1976). Les jeunes seraient les plus exposés. Une étude italienne rapporte ainsi des séroconversions vis à vis de la souche H3N2 porcine européenne chez 20 % des jeunes porcs de moins de 20 ans (Campitelli et al., 1997). Trois autres études menées aux USA ont révélé une plus forte prévalence d'anticorps anti-H1N1 ou anti-H1N2 chez les personnes fréquentant régulièrement les élevages par rapport à une population citadine (Olsen et al., 2002 ; Myers et al., 2006 ; Ramirez et al., 2006). A noter que 76 % des personnes ayant visité un élevage au moment où les porcs étaient en plein syndrome grippal ont été trouvées séropositives vis à vis de la souche incriminée (Wells et al. 1991).

La transmission peut néanmoins avoir des conséquences graves. Elle a parfois entraîné une grippe sévère, voire une pneumonie aiguë, laquelle a été à l'origine de décès. Ce n'est malheureusement qu'à ces occasions que l'on peut vraiment se rendre à l'évidence du passage inter-espèces. Ainsi, il a été isolé chez l'homme des virus porcins de sous-types H1N1 et H3N2. Les personnes concernées étaient des enfants, immunodéprimés (Patriarca et al., 1984 ; Smith et al., 1976) ou en bonne santé (Gregory et al. 2001 ; Claas et al., 1994), une femme enceinte (Rota et al., 1989), des personnes travaillant au contact direct des porcs (Wentworth et al., 1994 ; Gregory et al., 2003) ou non (Palese and Schulman, 1976 ; Beare and Craig, 1976). Dans la plupart des cas, le virus transmis n'a pas acquis la capacité pour une transmission inter-humaine efficace. Celle-ci a cependant été mise en évidence à deux occasions. Dans le New Jersey en 1976, le virus porcine transmis à des soldats de Fort Dix a provoqué une épidémie dans l'enceinte. Treize militaires furent gravement malades, 1 décès fut enregistré et quelques 500 militaires furent déclarés séropositifs vis à vis de la souche responsable (Krause, 2006). Wells et al. (1991) indiquent également que le tiers du personnel hospitalier s'étant occupé de la femme enceinte affectée en 1989 ont contracté le virus.

Les virus H3N2 qui circulent actuellement chez le porc en Europe sont proches des souches humaines des années 70. Certaines souches porcines « human-like swine H1N1 » sont

également proches de souches ayant circulé chez l'homme au milieu des années 80. Le porc peut ainsi servir de réservoir pour d'anciennes souches humaines. Le risque inhérent à cette situation réside dans le fait que ces souches puissent être retransmises à une population humaine naïve. Il existe peu de données sur les relations antigéniques existant entre les souches qui circulent en ce moment dans les deux populations. Une telle analyse fournirait des renseignements sur les possibilités de réactions de protection croisée entre les souches virales des deux espèces.

5.2. Rôle du porc dans la transmission inter-espèces

Comme déjà expliqué plus haut, le porc est susceptible aux infections par les virus influenza aviaires. Sachant qu'il peut aussi retransmettre ses virus à l'homme (voir 5.1), il peut donc devenir un hôte intermédiaire pour la transmission de virus influenza de l'espèce aviaire vers l'espèce humaine (Ito et al., 1998 ; Alexander and Brown, 2000). Depuis 1996, de nombreux cas d'infections humaines par des virus aviaires ont été rapportés, comme en Angleterre en 1996 (H7N7), à Hong Kong en 1997 (H5N1), 1999 (H9N2) et 2003 (H5N1), aux Pays-Bas en 2003 (H7N7), au Canada en 2004 (H7N3), et dans plusieurs pays de l'Asie du Sud-Est depuis 2004 (H5N1) (Alexander, 2006). Ces virus, issus des oiseaux aquatiques sauvages, ont été transmis à l'homme, la plupart du temps après s'être adaptés à la volaille, sans que le porc ne joue un rôle dans le passage inter-espèces. Ils n'ont pas acquis la capacité de se transmettre d'homme à d'homme, mais l'infection actuelle par le virus H5N1 est particulièrement alarmante : la fréquence du nombre de décès provoqués est élevée (64 %) et elle s'inscrit dans un contexte de panzootie chez les oiseaux. On retiendra que les sous-types H5N1, H7N7 et H9N2 ont également été retrouvés chez des porcs (voir chapitre 3.4). Des essais expérimentaux d'infection ont confirmé la susceptibilité de l'espèce porcine à l'égard des virus HP H5N1 et H7N7 : des anticorps sont détectés dans le sérum après inoculation, les virus se multiplient dans le tractus respiratoire supérieur, mais ne provoquent pas de signes cliniques et ne sont pas transmis aux porcs contacts (Shortridge et al., 1998 ; Loeffen et al., 2004 ; Choi et al., 2005). On peut craindre que les virus aviaires transmis au porc s'adaptent un jour à cette espèce et acquièrent la capacité à reconnaître les récepteurs spécifiques des virus humains (Ito et al., 1998), pouvant rendre alors le passage à l'homme plus lourd de conséquences que lorsqu'ils se transmettent directement.

Le porc est le seul mammifère domestiqué à la fois susceptible aux infections par les virus influenza humains et aviaires. Il peut donc également servir d'hôte intermédiaire, où, à la faveur d'une co-infection, pourraient être générés de nouveaux réassortants, aviaires-humains notamment, adaptés de surcroît à l'hôte mammifère. Même si cela n'a jamais été clairement démontré, le porc a ainsi été suspecté avoir été l'hôte intermédiaire chez lequel se seraient développés les virus réassortants responsables des pandémies de 1957 (H2N2) et 1968 (H3N2) (Scholtissek, 1997 ; Webster et al., 1992).

Il est à noter que les virus influenza porcins peuvent également se transmettre à la volaille et entraîner des symptômes, voire des pertes. Plusieurs cas ont été rapportés, concernant notamment l'infection de dindes (Andral et al. 1985 ; Suarez et al. 2002 ; Choi et al. 2004c). Des traces de virus porcins ont également été retrouvés chez des canards sauvages, illustrant l'ampleur des réassortiments pouvant exister dans la nature (Olsen et al. 2003 ; Hatchette et al. 2004).

CONCLUSION

Aujourd'hui, les conditions d'élevage permettent au virus influenza, lorsqu'il s'est adapté à l'espèce, de se transmettre aisément de porc à porc. La grippe porcine est ainsi devenue enzootique dans les régions du monde à forte densité porcine et son contrôle est donc difficile. Elle a en outre gardé un caractère épizootique, souvent lié aux mouvements commerciaux d'animaux, intenses et réguliers. Bien que peu notifiés, les syndromes grippaux en élevage peuvent être à l'origine de pertes économiques importantes, surtout lorsque les passages viraux sont associés à des co-infections par d'autres agents pathogènes à tropisme respiratoire. Même s'ils apparaissent plus stables que les virus humains, les SIV sont régulièrement soumis à des modifications génomiques et antigéniques pouvant avoir des conséquences non négligeables, tant sur la clinique de l'infection, que sur l'efficacité des protocoles de vaccination ou sur la sensibilité des tests de diagnostic. Il apparaît donc important de caractériser régulièrement les souches en circulation dans les élevages, tant au niveau moléculaire qu'en termes d'antigénicité et de pathogénicité.

Cette épidémiologie est d'autant plus justifiée que la grippe est une zoonose potentielle, même si le nombre de cas répertoriés d'infections à conséquences graves reste un événement très rare au vu du nombre de personnes travaillant quotidiennement au contact des porcs dans le monde, et que pour l'instant, ces quelques cas n'ont pas donné suite à une transmission inter-humaine efficace (Van Reeth et al., 2006a, 2006b). La surveillance des virus influenza circulant dans l'espèce porcine est également importante sachant que le porc est un hôte chez lequel peuvent être générés des virus réassortants. Même si ces événements sont exceptionnels, de nouvelles souches apparaissent au fil du temps. Des opportunités sont créées du fait de la fréquence des contacts entre porcs, hommes et volailles. Des élevages de porcs sont situés à proximité d'élevages avicoles ou à proximité de réserves d'oiseaux aquatiques sauvages. En Asie, d'où émergent désormais la plupart des nouvelles souches de virus influenza A, les porcs sont souvent élevés au contact direct des volailles. De nombreux facteurs limitent la transmission et l'adaptation des virus influenza d'une espèce à une autre, et ils ne sont pas encore tous complètement compris aujourd'hui (Kuiken et al., 2006). Aussi, afin d'évaluer le plus objectivement possible le risque que le porc puisse jouer un rôle dans la génération de nouveaux virus influenza, notamment à caractère pandémique, il est indispensable d'étudier de manière approfondie les changements génétiques majeurs qui permettent aux virus aviaires et humains de se transmettre au porc de manière efficace, c'est à dire conduisant à une transmission inter-porcine.

REMERCIEMENTS

La recherche sur le virus influenza porcine au sein de l'Unité Virologie et Immunologie Porcines de l'AFSSA-Ploufragan, est financée par le Conseil Régional de Bretagne dans le cadre du PRIR FLUPORC 2183. L'Unité est également partenaire de l'Action Concertée Européenne ESNIP2 (European Surveillance Network for Influenza in Pigs) du 6^{ème} PCRD (Contract N° 022749), du programme inter-

unités « Pathologie respiratoire chez le porc à l'engrais », financé par la Région Bretagne, le Comité Régional Porcin, et les industriels de la pharmacie vétérinaire (Boehringer Ingelheim, Fort-Dodge, Intervet, Pfizer et Schering-Plough), et du PTR AFSSA/Institut Pasteur de Paris sur l'étude de la transmission des virus influenza animaux à l'homme. Merci aux éleveurs et aux vétérinaires pour leur collaboration. Merci à K. Michel pour sa participation à la mise en forme de ce texte.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Alexander D.J., 2006. Avian influenza viruses and human health. *Dev. Biol. (Basel)*, 124, 77-84.
- Alexander D.J., Brown I.H., 2000. Recent zoonoses caused by influenza A viruses. *Rev. Sci. Tech.*, 19, 197-225.
- Andral B., Toquin D., Madec F., Aymard M., Gourreau J.M., Kaiser C., Fontaine M., Metz M.H., 1985. Disease in turkeys associated with H1N1 influenza virus following an outbreak of the disease in pigs. *Vet. Rec.*, 116, 617-618.
- Baum L.G., Paulson J.C., 1991. The N2 neuraminidase of human influenza virus has acquired a substrate specificity complementary to the hemagglutinin receptor specificity. *Virology*, 180, 10-15.
- Beare A.S., Craig J.W., 1976. Virulence for man of a human influenza-A virus antigenically similar to "classical" swine viruses. *Lancet*, 2, 4-5.
- Brown I.H., Chakraverty P., Harris P.A., Alexander D.J., 1995. Disease outbreaks in pigs in Great Britain due to an influenza A virus of H1N2 subtype. *Vet. Rec.*, 136, 328-329.
- Brown I.H., Ludwig S., Olsen C.W., Hannoun C., Scholtissek C., Hinshaw V.S., Harris P.A., McCauley J.W., Strong I., Alexander D.J., 1997a. Antigenic and genetic analyses of H1N1 influenza viruses from European pigs. *J. gen. Virol.*, 78, 553-562.
- Brown I.H., Hill M.L., Harris P.A., Alexander D.J., McCauley J.W., 1997b. Genetic characterisation of an influenza A virus of unusual subtype (H1N7) isolated from pigs in England. *Arch. Virol.*, 142, 1045-1050.
- Brown I.H., Harris P.A., McCauley J.W., Alexander D.J., 1998. Multiple genetic reassortment of avian and human influenza A viruses in European pigs, resulting in the emergence of an H1N2 virus of novel genotype. *J. Gen. Virol.*, 79, 2947-2955.
- Campitelli L., Donatelli I., Foni E., Castrucci M.R., Fabiani C., Kawaoka Y., Krauss S., Webster R.G., 1997. Continued evolution of H1N1 and H3N2 influenza viruses in pigs in Italy. *Virology*, 232, 310-318.
- Castrucci M.R., Donatelli I., Sidoli L., Barigazzi G., Kawaoka Y., Webster R.G., 1993. Genetic reassortment between avian and human influenza A viruses in Italian pigs. *Virology*, 193, 503-506.
- Choi Y.K., Ozaki H., Webby R.J., Webster R.G., Peiris J.S., Poon L., Butt C., Leung Y.H., Guan Y., 2004a. Continuing evolution of H9N2 influenza viruses in Southeastern China. *J. Virol.*, 78, 8609-8614.
- Choi Y.K., Goyal S.M., Joo H.S., 2004b. Evaluation of transmission of swine influenza type A subtype H1N2 virus in seropositive pigs. *Am. J. Vet. Res.*, 65, 303-306.
- Choi Y.K., Lee J.H., Erickson G., Goyal S.M., Joo H.S., Webster R.G., Webby R.J., 2004c. H3N2 influenza virus transmission from swine to turkeys, United States. *Emerg. Infect. Dis.*, 10, 2156-2160.
- Choi Y.K., Nguyen T.D., Ozaki H., Webby R.J., Puthavathana P., Buranathal C., Chaisingh A., Auewarakul P., Hanh N.T., Ma S.K., Hui P.Y., Guan Y., Peiris J.S., Webster R.G., 2005. Studies of H5N1 influenza virus infection of pigs by using viruses isolated in Vietnam and Thailand in 2004. *J. Virol.*, 79, 10821-10825.
- Claas E.C., Kawaoka Y., de Jong J.C., Masurel N., Webster R.G., 1994. Infection of children with avian-human reassortant influenza virus from pigs in Europe. *Virology*, 204, 453-457.
- Cyranoski D., 2004. Bird flu data languish in Chinese journals. *Nature*, 430, 955.
- Cyranoski D., 2005. Bird flu spreads among Java's pigs. *Nature*, 435, 390-391.
- Fouchier R.A.M., Osterhaus A.D.M.E., Brown I.H., 2003. Animal influenza virus surveillance. *Vaccine*, 21, 1754-1757.
- Garten W., Klenk H.D., 1999. Understanding influenza virus pathogenicity. *Trends Microbiol.*, 7, 99-100.
- Gourreau J.M., Kaiser C., Valette M., Douglas A.R., Labie J., Aymard M., 1994. Isolation of two H1N2 influenza viruses from swine in France. *Arch. Virol.*, 135, 365-382.
- Gregory V., Bennell M., Thomas Y., Kaiser L., Wunderli W., Matter H., Hay A., Lin Y.P., 2003. Human infection by a swine influenza A (H1N1) virus in Switzerland. *Archives of Virology*, 148, 793-802.
- Gregory V., Lim W., Cameron K., Bennett M., Marozin S., Klimov A., Hall H., Cox N., Hay A., Lin Y.P., 2001. Infection of a child in Hong Kong by an influenza A H3N2 virus closely related to viruses circulating in European pigs. *J. Gen. Virol.*, 82, 1397-1406.
- Guilmoto H., 2003. La grippe touche les porcelets en post-sevrage. *Activéto*, 16, 1-4.
- Hatchette T.F., Walker D., Johnson C., Baker A., Pryor S.P., Webster R.G., 2004. Influenza A viruses in feral Canadian ducks: extensive reassortment in nature. *J. Gen. Virol.*, 85, 2327-2337.
- Heinen P.P., van Nieuwstadt A.P., Pol J.M., de Boer-Luijze E.A., van Oirschot J.T., Bianchi A.T., 2000. Systemic and humoral isotype-specific antibody responses in pigs to experimental influenza virus infection. *Viral Immunol.*, 13, 237-247.
- Heinen P.P., de Boer-Luijze E.A., Bianchi A.T., 2001a. Respiratory and systemic humoral and cellular immune responses of pigs to a hetero-subtypic influenza A virus infection. *J. Gen. Virol.*, 82, 2697-2707.
- Heinen P.P., van Nieuwstadt A.P., deBoerLuijze E.A., Bianchi A.T.J., 2001b. Analysis of the quality of protection induced by a porcine influenza A vaccine to challenge with an H3N2 virus. *Vet. Immunol. Immunop.*, 82, 39-56.
- Ito T., Couceiro J.N., Kelm S., Baum L.G., Krauss S., Castrucci M.R., Donatelli I., Kida H., Paulson J.C., Webster R.G., Kawaoka Y., 1998. Molecular basis for the generation in pigs of influenza A viruses with pandemic potential. *J. Virol.*, 72, 7367-7373.
- Ito T., 2000. Interspecies transmission and receptor recognition of influenza A viruses. *Microbiol. Immunol.*, 44, 423-430.
- Karasin A.I., Olsen C.W., Anderson G.A., 2000a. Genetic characterization of an H1N2 influenza virus isolated from a pig in Indiana. *J. Clin. Microbiol.*, 38, 2453-2456.
- Karasin A.I., Brown I.H., Carman S., Olsen C.W., 2000b. Isolation and characterization of H4N6 avian influenza viruses from pigs with pneumonia in Canada. *J. Virol.*, 74, 9322-9327.

- Karasin A.I., Landgraf J., Swenson S., Erickson G., Goyal S., Woodruff M., Scherba G., Anderson G., Olsen C.W., 2002. Genetic characterization of H1N2 influenza A viruses isolated from pigs throughout the United States. *J. Clin. Microbiol.*, 40, 1073-1079.
- Karasin A.I., West K., Carman S., Olsen C.W., 2004. Characterization of avian H3N3 and H1N1 influenza A viruses isolated from pigs in Canada. *J. Clin. Microbiol.*, 42, 4349-4354.
- Karasin A.I., Carman S., Olsen C.W., 2006. Identification of human H1N2 and human-swine reassortant H1N2 and H1N1 influenza A viruses among pigs in Ontario, Canada (2003 to 2005). *J. Clin. Microbiol.*, 44, 1123-6.
- Katsuda K., Sato S., Shirahata T., Lindstrom S., Nerome R., Ishida M., Nerome K., Goto H., 1995. Antigenic and genetic characteristics of H1N1 human influenza virus isolated from pigs in Japan. *J. Gen. Virol.*, 76, 1247-1249.
- Kay R.M., Done S.H., Paton D.J., 1994. Effect of sequential porcine reproductive and respiratory syndrome and swine influenza on the growth and performance of finishing pigs. *Vet. Rec.*, 135, 199-204.
- Kitikoon P., Nilubol D., Erickson B.J., Janke B.H., Hoover T.C., Sornsen S.A., Thacker E.L., 2006. The immune response and maternal antibody interference to a heterologous H1N1 swine influenza virus infection following vaccination. *Vet. Immunol. Immunopathol.*, 15, 117-28.
- Kothalawala H., Toussaint M.J., Gruys E., 2006. An overview of swine influenza. *Vet. Q.*, 28, 46-53.
- Krause R., 2006. The swine flu episode and the fog of epidemics. *Emerg. Infect. Dis.*, 12, 40-43.
- Kuiken T., Holmes E.C., McCauley J., Rimmelzwaan G.F., Williams C.S., Grenfell B.T., 2006. Host species barriers to influenza virus infections. *Science*, 312, 394-397.
- Kuntz-Simon G., Quéguiner S., Baudouard M.-A., Fablet C., Buffereau J.-P., Madec F., Le Potier M.-F., 2005. Evaluation of multiplex RT-PCR assays for detection and subtyping of swine influenza H1N1, H3N2 and H1N2 viruses in french clinical samples. *Proceedings of IABS International Congress "New Diagnostic Technology: Applications in Animal Health & Biologics Controls"*, Saint-Malo, France, p. 97.
- Labarque G., Barbé F., Pensaert M., Van Reeth K., 2004. Maternal immunity to H1N1 and H3N2 swine influenza viruses fails to protect against the novel H1N2 subtype. *Proceedings of the 18th IPVS Congress, Hamburg, Germany*, 1, 83.
- Lamb R.A., Krug R.M., 1996. *Orthomyxoviridae: the viruses and their replication*. In *Fields Virology*, pp. 1353-1445. Edited by Fields B.N., Knipe D.M., Howley P.M. Philadelphia: Lippincott-Raven.
- Larsen D.L., Karasin A., Zuckermann F., Olsen C.W., 2000. Systemic and mucosal immune responses to H1N1 influenza virus infection in pigs. *Vet. Microbiol.*, 74, 117-131.
- Li H.Y., Yu K.Z., Yang H.L., Xin X.G., Chen J.Y., Zhao P., Bi Y.Z., Chen H.L., 2004. Isolation and characterization of H5N1 and H9N2 influenza viruses from pigs in China. *Chin. J. Prev. Vet. Med.*, 26, 1-6.
- Lekcharoensuk P., Lager K.M., Vemulapalli R., Woodruff M., Vincent A.L., Richt J.A., 2006. Novel swine influenza virus subtype H3N1, United States. *Emerg. Infect. Dis.* 12, 787-794.
- Loeffen W.L.A., de Boer E.A., Koch G., 2004. Transmission of highly pathogenic avian influenza virus to swine in the Netherlands, p. 329. Edited by Congress P.o.t.I.S.f.a.H.
- Loeffen W.L.A., Heinen P.P., Bianchi A.T.J., Hunneman W.A., Verheijden J.H.M., 2003. Effect of maternally derived antibodies on the clinical signs and immune response in pigs after primary and secondary infection with an influenza H1N1 virus. *Vet. Immunol. Immunop.*, 92, 23-35.
- Ma W., Gramer M., Rossow K., Yoon K.J., 2006. Isolation and genetic characterization of new reassortant H3N1 swine influenza virus from pigs in the midwestern United States. *J. Virol.*, 80, 5092-6006.
- Madec F., Gourreau J.M., Kaiser C., Aymard M., 1984. Apparition de manifestations grippales chez les porcs en association avec un virus A/H3N2. *Bull. Acad. Vét. France*, 57, 513-522.
- Madec F., Gourreau J.M., Kaiser C., Le Dantec J., Vannier P., Aymard M., 1985. [The persistence of activity of H1N1 (swine) influenza virus in pig breeding units during non-epidemic phases]. *Comp Immunol Microbiol Infect. Dis.*, 8, 247-258.
- Madec F., Kaiser C., Gourreau J.M., Martinat-Botte F., 1989. [Pathologic consequences of a severe influenza outbreak (swine virus A/H1N1) under natural conditions in the non-immune sow at the beginning of pregnancy]. *Comp. Immunol. Microb. Infect. Dis.*, 12, 17-27.
- Madec F., Eveno E., Rousseaux C., Miéti L., Buffereau J.-P., Azebi S., Van der Werf S., Manuguerra J.C., Gourreau J.M., 2004a. La grippe du porc : situation épidémiologique en France. *Bull. Acad. Vét. France*, 157, 29-34.
- Madec F., Eveno E., Jolly J.P., Oger A., Blanchard P., Rousseaux C., Azebi S., van der Werf S., Miéti L., Manuguerra J.C., 2004b. Une étude épidémiologique à propos des manifestations d'allures grippales chez le porc en croissance. *Journées de la Recherche porcine*, 36, 353-35.
- Marozin S., Gregory V., Cameron K., Bennett M., Valette M., Aymard M., Foni E., Barigazzi G., Lin Y., Hay A., 2002. Antigenic and genetic diversity among swine influenza A H1N1 and H1N2 viruses in Europe. *J. Gen. Virol.*, 83, 735-745.
- Massin P., van der Werf S., Naffakh N., 2001. Residue 627 of PB2 is a determinant of cold sensitivity in RNA replication of avian influenza viruses. *J. Virol.*, 75, 5398-5404.
- Miwa Y., Piao F.Z., Goto H., Noro S., 1987. Isolation of human (H3N2) influenza virus and prevalence of the virus-antibody in swine. *Nippon Juigaku Zasshi*, 49, 1168-1170.
- Myers K.P., Olsen C.W., Setterquist S.F., Capuano A.W., Donham K.J., Thacker E.L., Merchant J.A., Gray G.C., 2006. Are swine workers in the United States at increased risk of infection with zoonotic influenza virus? *Clin. Infect. Dis.*, 42, 14-20.
- Naffakh N., Massin P., Escriviou N., Crescenzo-Chaigne B., van der Werf S., 2000. Genetic analysis of the compatibility between polymerase proteins from human and avian strains of influenza A viruses. *J. Gen. Virol.*, 81, 1283-1291.
- OIE, Manuel des tests de diagnostic et des vaccins pour les animaux terrestres, 2004. Swine influenza, Chapter 2.10.11.
- Olsen C.W., Brammer L., Easterday B.C., Arden N., Belay E., Baker I., Cox N.J., 2002. Serologic evidence of H1 swine Influenza virus infection in swine farm residents and employees. *Emerg. Infect. Dis.*, 8, 814-819.
- Olsen C.W., Karasin A., Erickson G., 2003. Characterization of a swine-like reassortant H1N2 influenza virus isolated from a wild duck in the United States. *Virus Res.*, 93, 115-121.
- Olsen C.W., Brown I.H., Easterday B.C., van Reeth K., 2006. Swine Influenza, In *Diseases of Swine*, edited by B.E. Straw, J.J. Zimmerman, S. D'Allaire, D.J. Taylor. Chapter 28, 469-482.
- Palese P., Schulman J.L., 1976. RNA pattern of " swine " influenza virus isolated from man is similar to those of other swine influenza viruses. *Nature*, 263, 528-530.
- Patriarca P.A., Kendal A.P., Zakowski P.C., Cox N.J., Trautman M.S., Cherry J.D., Auerbach D.M., McCusker J., Belliveau R.R., Kappus K.D., 1984. Lack of significant person-to-person spread of swine influenza-like virus following fatal infection in an immunocompromised child. *Am. J. Epidemiol.*, 119, 152-158.
- Peiris J.S., Guan Y., Markwell D., Ghose P., Webster R.G., Shortridge K.F., 2001. Cocirculation of avian H9N2 and contemporary "human" H3N2 influenza A viruses in pigs in southeastern China: potential for genetic reassortment? *J. Virol.*, 75, 9679-9686.
- Pensaert M., Ottis K., Vandeputte J., Kaplan M.M., Bachmann P.A., 1981. Evidence for the natural transmission of influenza A virus from wild ducts to swine and its potential importance for man. *Bull. World Health Organ*, 59, 75-78.
- ProMED-mail, 2006. Bird flu virus infects pigs in Bali. 6 Oct.20061008.2890. <<http://www.promedmail.org>>.

- Pyhala R., 1976. Antibodies to influenza A/swine-like viruses (Hsw1N1) in human sera: antigenic stimulation and changes in antibody status. *Acta. Pathol. Microbiol. Scand. [B]*, 84B, 373-378.
- Ramirez A., Capuano A.W., Wellman D.A., Leshner K.A., Setterquist S.F., Gray G.C., 2006. Preventing zoonotic influenza virus infection. *Emerg. Infect. Dis.*, 12, 996-1000.
- Rota P.A., Rocha E.P., Harmon M.W., Hinshaw V.S., Sheerar M.G., Kawaoka Y., Cox N.J., Smith T.F., 1989. Laboratory characterization of a swine influenza virus isolated from a fatal case of human influenza. *J. Clin. Microbiol.*, 27, 1413-1416.
- Scholtissek C., 1997. Molecular epidemiology of influenza. *Arch. Virol. Suppl.*, 13, 99-103.
- Schrader C., Suss J., 2004. Molecular epidemiology of porcine H3N2 influenza A viruses isolated in Germany between 1982 and 2001. *Intervirology*, 47, 72-77.
- Schultz U., Fitch W.M., Ludwig S., Mandler J., Scholtissek C., 1991. Evolution of pig influenza viruses. *Virology*, 183, 61-73.
- Shin J.Y., Song M.S., Lee E.H., Lee Y.M., Kim S.Y., Kim H.K., Choi J.K., Kim C.J., Webby R.J., Choi Y.K., 2006. Isolation and characterization of novel H3N1 swine influenza viruses from pigs with respiratory diseases in Korea. *J. Clin. Microbiol.* Aug 23, [Epub ahead of print]
- Shinya K., Ebina M., Yamada S., Ono M., Kasai N., Kawaoka Y., 2006. Avian flu: influenza virus receptors in the human airway. *Nature*, 440, 435-436.
- Shope R.E., 1931. Swine Influenza. III. Filtration experiments and aetiology. *J. Exp. Med.*, 54, 373-380.
- Shortridge KF, Zhou NN, Guan Y, Gao P, Ito T, Kawaoka Y, Kodihalli S, Krauss S, Markwell D, Murti KG, Norwood M, Senne D, Sims L, Takada A, Webster RG. 1998. Characterization of avian H5N1 influenza viruses from poultry in Hong Kong. *Virology*, 252, 331-42.
- Shu L.L., Lin Y.P., Wright S.M., Shortridge K.F., Webster R.G., 1994. Evidence for interspecies transmission and reassortment of influenza A viruses in pigs in southern China. *Virology*, 202, 825-833.
- Smith T.F., Burgert E.O., Jr., Dowdle W.R., Noble G.R., Campbell R.J., Van Scoy R.E., 1976. Isolation of swine influenza virus from autopsy lung tissue of man. *N. Engl. J. Med.*, 294, 708-710.
- Suarez D.L., Woolcock P.R., Bermudez A.J., Senne D.A., 2002. Isolation from turkey breeder hens of a reassortant H1N2 influenza virus with swine, human, and avian lineage genes. *Avian Dis.*, 46, 111-121.
- Sugimura T., Yonemochi H., Ogawa T., Tanaka Y., Kumagai T., 1980. Isolation of a recombinant influenza virus (Hsw 1 N2) from swine in Japan. *Arch. Virol.*, 66, 271-274.
- Van Reeth K., Brown I., Essen S., Pensaert M., 2004. Genetic relationships, serological cross-reaction and cross-protection between H1N2 and other influenza - A virus subtypes endemic in European pigs. *Virus Res.*, 103, 115-124.
- Van Reeth K., Labarque G., DeClercq S., Pensaert M., 2001. Efficacy of vaccination of pigs with different H1N1 swine influenza viruses using a recent challenge strain and different parameters of protection. *Vaccine*, 19, 4479-4486.
- Van Reeth K., Labarque G., Nauwynck H., Pensaert M., 1999. Differential production of proinflammatory cytokines in the pig lung during different respiratory virus infections: correlations with pathogenicity. *Res. Vet. Sci.*, 67, 47-52.
- Van Reeth K., Nauwynck H., Pensaert M., 1998. Bronchoalveolar interferon-alpha, tumor necrosis factor-alpha, interleukin-1, and inflammation during acute influenza in pigs: a possible model for humans? *J. Infect. Dis.*, 177, 1076-1079.
- Van Reeth K., VanGucht S., Pensaert M., 2003. Investigations of the efficacy of European H1N1- and H3N2-based swine influenza vaccines against the novel H1N2 subtype. *Vet. Rec.*, 153, 9-13.
- Van Reeth K., 2006a. Avian influenza in swine: a threat for the human population? *Verh K. Acad. Geneesk Belg.* 68, 81-101.
- Van Reeth K., De Vleeschauwer A., Kyriakis C., Pensaert M., 2006b. Influenza in birds, pigs and humans: old theories versus current viewpoints. *Proceedings of the 19th IPVS Congress, Copenhagen, Denmark*, 1, 26-35.
- Webby R.J., Swenson S.L., Krauss S.L., Gerrish P.J., Goyal S.M., Webster R.G., 2000. Evolution of swine H3N2 influenza viruses in the United States. *J. Virol.*, 74, 8243-8251.
- Webby R.J., Rossow K., Erickson G., Sims Y., Webster R., 2004. Multiple lineages of antigenically and genetically diverse influenza A virus co-circulate in the United States swine population. *Virus Res.*, 103, 67-73.
- Webster R.G., Bean W.J., Gorman O.T., Chambers T.M., Kawaoka Y., 1992. Evolution and ecology of influenza A viruses. *Microbiol Rev.*, 56, 152-179.
- Wells D.L., Hopfensperger D.J., Arden N.H., Harmon M., W., Davis J.P., Tipple M.A., Schonberger L.B., 1991. Swine influenza infections. Transmission from ill pigs to humans at a Wisconsin agricultural fair and subsequent probable person-to-person transmission. *JAMA*, 265, 478-481.
- Wentworth D.E., Thompson B.L., Xu X., Regnery H.L., Cooley A.J., McGregor M.W., Cox N.J., Hinshaw V.S., 1994. An influenza A (H1N1) virus, closely related to swine influenza virus, responsible for a fatal case of human influenza. *J. Virol.*, 68, 2051-2058.
- Yasuda J., Shortridge K.F., Shimizu Y., Kida H., 1991. Molecular evidence for a role of domestic ducks in the introduction of avian H3 influenza viruses to pigs in southern China, where the A/Hong Kong/68 (H3N2) strain emerged. *J. Gen. Virol.*, 72, 2007-2010.
- Zhou N.N., Senne D.A., Landgraf J.S., Swenson S.L., Erickson G., Rossow K., Liu L., Yoon K., Krauss S., Webster R.G., 1999. Genetic reassortment of avian, swine, and human influenza A viruses in American pigs. *J. Virol.*, 73, 8851-8856.

