

étendu à toute la province. Par ailleurs, la présence chez un même patient de génotypes de poliovirus recombinants différant par une séquence d'HEV-C de quelques centaines de nucléotides rajoute une dimension supplémentaire à la complexité et à la diversité de cet écosystème.

O85

Caractérisation génétique et antigénique des souches de virus influenza porcin en circulation dans les élevages bretons : identification de nouveaux réassortants de sous-type H1N1

Franck N¹, Queguiner S¹, Gorin S¹, Eveno E², Madec F², Kuntz-Simon G¹

¹Unité virologie immunologie porcines ; ²Unité épidémiologie et bien-être porcin, Laboratoire d'études et de recherches avicoles porcines et piscicoles, Afssa, Zoopôle, BP53, 22440 Ploufragan.

<g.kuntz.simon@ploufragan.afssa.fr>

Chez le porc, la grippe est une maladie respiratoire devenue enzootique dans toutes les régions du monde à forte densité porcine. L'infection par le virus influenza porcin (SIV) a en outre gardé un caractère épizootique lié aux mouvements d'animaux et peut entraîner de lourdes pertes économiques. Des virus de sous-types H1N1, H3N2 et H1N2 se sont adaptés à l'espèce, des lignées différentes étant distinguées au sein de ces sous-types en fonction des continents. Les SIV peuvent être transmis à l'homme, généralement de manière asymptomatique, mais quelques cas graves ont conféré à la grippe porcine un caractère zoonotique. Réceptif à la fois aux virus influenza aviaires et humains, le porc pourrait constituer un maillon dans la transmission inter-espèces, voire dans la génération de réassortants à caractère pandémique. La variabilité génétique et antigénique des souches pouvant avoir des conséquences sur la clinique de l'infection, l'efficacité des protocoles de vaccination, la sensibilité des tests de diagnostic et le potentiel de transmission à l'homme, le but de ce travail a été de faire un bilan des souches circulant dans les élevages de Bretagne depuis 2002, date des dernières caractérisations de souches françaises.

Les virus sont isolés de surnageants d'écouvillons nasaux prélevés lors de syndromes grippaux, par amplification sur œufs de poule embryonnés ou culture de cellules MDCK. Ils sont révélés par test d'hémagglutination et sous-typés par double RT-PCR multiplex (H1/H3 et N1/N2). L'ARN viral extrait des liquides allantoïdiens ou des surnageants de culture est rétrotranscrit à l'aide d'une amorce commune aux 8 segments génomiques des SIV. Les gènes d'intérêt sont amplifiés par PCR à l'aide d'amorces spécifiques puis séquencés, directement ou après clonage. Des reconstructions phylogéniques sont effectuées par la méthode de *neighbor-joining* avec correction par *bootstrap*. La caractérisation antigénique des souches est réalisée par tests d'inhibition de l'hémagglutination et de la neuraminidase.

83 souches SIV ont été isolées entre 2000 et mi-2007 : 41 sont de sous-type H1N1, 42 de sous-type H1N2, mais aucune de sous-type H3N2. L'analyse phylogénique des séquences de l'hémagglutinine HA1 des souches H1N2 montre qu'elles se répartissent dans deux génogroupes dérivant de la souche Sw/Scotland/410440/94, apparue suite à un réassortiment entre la souche porcine H3N2 et la souche humaine H1N1 USSR/1/77. En dépit de leur diversité génétique, les souches H1N2 restent antigéniquement proches les unes des autres. La caractérisation des virus H1N1 montre que la quasi-totalité sont des variants de la souche *avian-like* Sw/IleVilaine/1455/99, elle-même dérivée de la souche d'origine Sw/Finistère/2899/82, adaptée au porc après transmission d'un virus aviaire. Cependant, il apparaît que 4 isolats H1N1 (2 de 2001, 1 de 2005 et 1 de 2006) possèdent un gène HA1, non pas d'origine aviaire, mais d'origine humaine, génétiquement proche de celui des SIV H1N2. Les autres gènes de ces isolats sont d'origine aviaire, comme ceux des autres souches H1N1. Les tests IHA révèlent une réaction antigénique entre ces virus H1N1 particuliers et des anticorps anti-H1N2, à l'exception de l'isolat de 2006. L'analyse approfondie de la séquence de sa protéine HA1 révèle une délétion et des mutations d'acides aminés proches du site de fixation au récepteur. Cette délétion est également retrouvée dans de nombreuses séquences HA1 de souches européennes humaines récentes de type H1.

Contrairement aux situations dans les autres pays européens, les SIV H3N2 ne circulent plus en Bretagne depuis 1999, date du dernier isolement. Les virus sont pour moitié de sous-type H1N1, pour moitié de sous-type H1N2. Ce sont pour la plupart des variants des souches *avian-like* H1N1 et *human-like reassortant* H1N2 apparues en Europe en 1982 et 1994, respectivement. Cependant, nous avons caractérisé de nouveaux virus H1N1 issus très probablement du réassortiment entre SIV H1N1 et SIV H1N2, le virus H1N1 ayant échangé son gène HA avec celui du virus H1N2. Les réassortants de 2001 et 2005 ayant été isolés dans le même élevage et étant très similaires, on peut craindre une adaptation à l'espèce. Les conséquences fonctionnelles des modifications relevées au niveau du site de fixation au récepteur du réassortant de 2006 sont en cours d'évaluation, notamment en termes d'augmentation du potentiel de transmission à l'homme