RÉPUBLIQUE FRANÇAISE
Liberté
Égalité
Fraternité

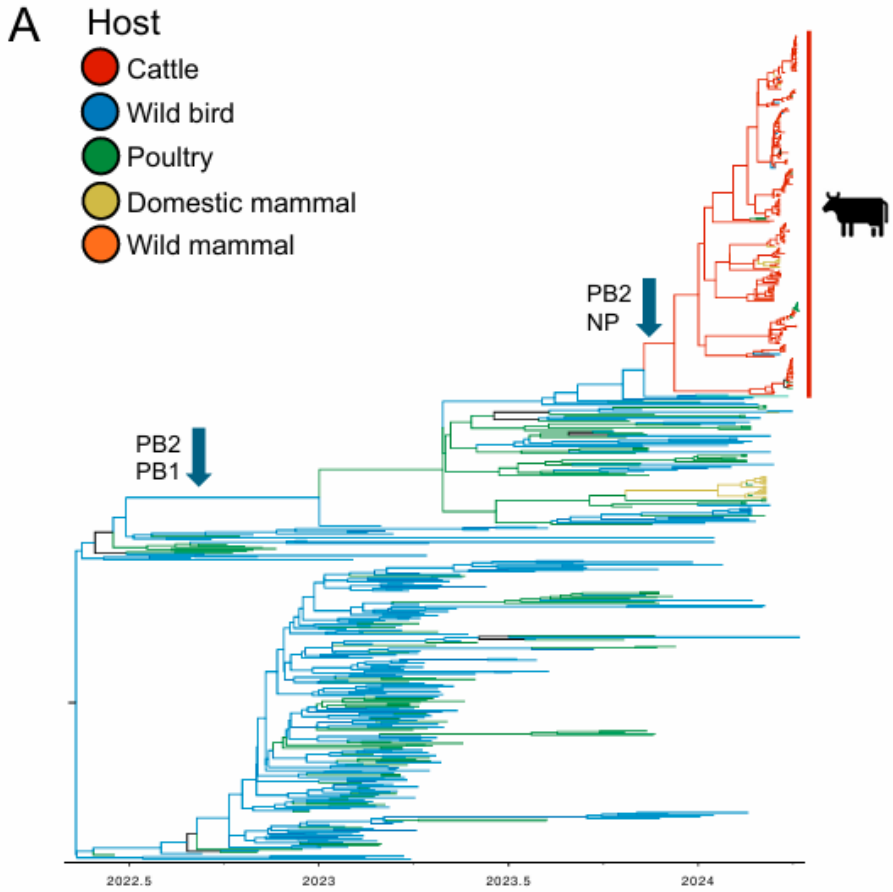
anses

FAUT-IL SURVEILLER LES VIRUS INFLUENZA POTENTIELLEMENT ZOONOTIQUES PAR LES EAUX USÉES ?

Conflit d'interêt

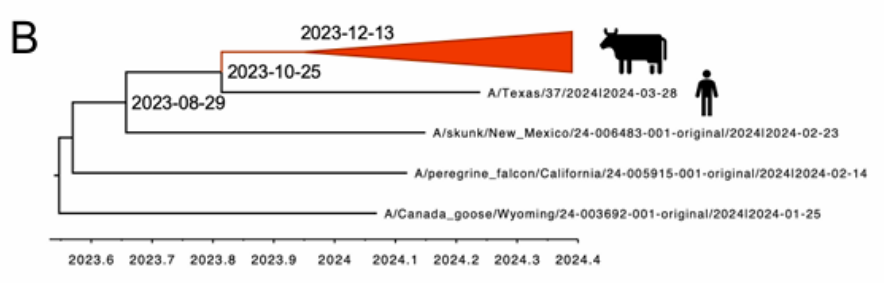
- *Je n'ai pas de conflit d'intérêt déclaré en lien avec la présentation à venir*
- *Néanmoins les équipes de l'Anses sont LNR pour les virus influenza aviaires et porcins et pour la surveillance des agents pathogènes dans les eaux usées*

Un seul génotype



- **genotype B3.13**

Réassortant EA / NAm (PB2, PB1, NP, NS)



- **séquence du virus humain :**

Branche ancestrale du virus bovins apparue en 12/2023

- **scénario probable :** au départ de l'épizootie passage unique des oiseaux aux bovins (comment ???) puis diffusion par transport et transmission locale directe et indirecte

(Nguyen et al. 2024, https://doi.org/10.1101/2024.05.01.591751)

Infection du lait

nature

Explore content · About the journal · Publish with us · Subscribe

nature › news › article

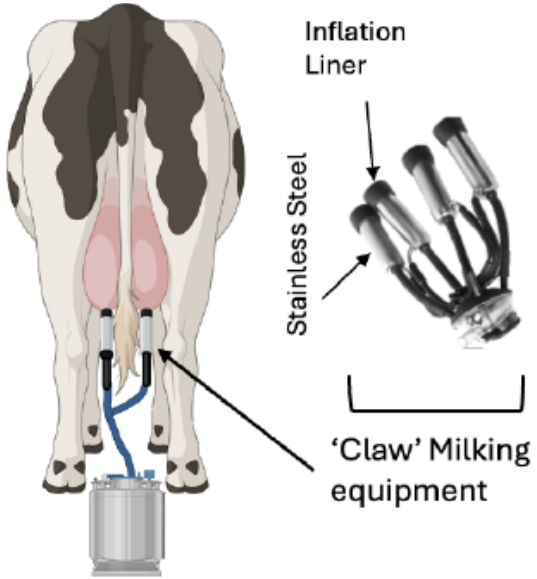
NEWS | 05 June 2024

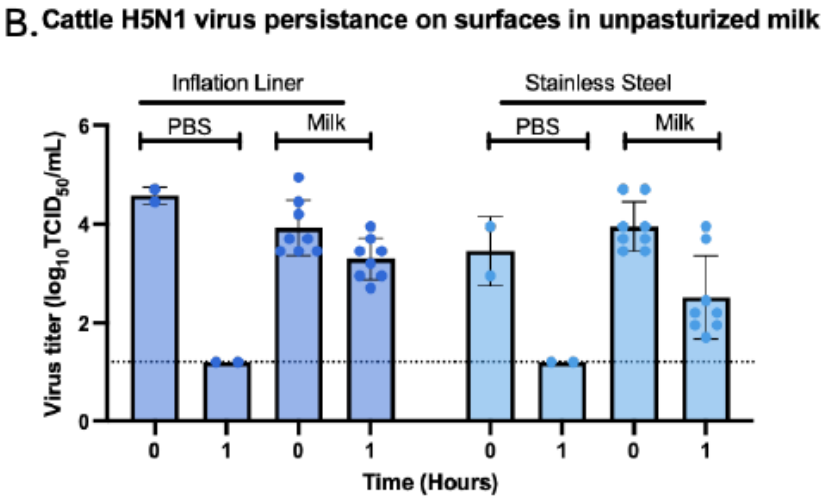
Huge amounts of bird-flu virus found in raw milk of infected cows

New findings point to the milking process as a possible route of avian-influenza spread between cows – and from cow to human.

By Max Kozlov

- Ct =10 !
- Survie du virus sur le matériel de traite au moins 5 heures à 70% d'humidité



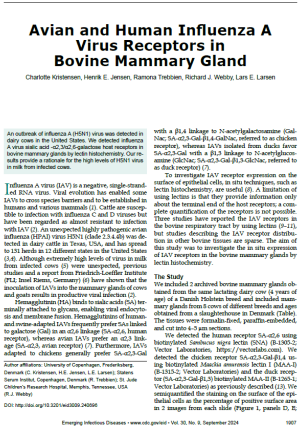


Le Sage et al. 2024 https://doi.org/10.1101/2024.05.22.24307745

Transmission expérimentale

- **Existence de récepteurs aviaires et mammifères dans les glandes mammaires de bovins :**
  - **Présence des récepteurs hôtes de l'acide sialique -α2,3 (aviaires) /α2,6-galactose (humains et mammifères) du virus de la grippe A dans les glandes mammaires bovines**
  - **niveaux élevés de virus H5N1 dans le lait des vaches infectées.**

- **Infection expérimentale de veaux et vaches laitières avec B3.13 (souche US) et H5N1 (souche UE) :**
  - **Veaux : réplication et une excrétion nasales modérées, sans signes cliniques graves ni transmission aux veaux sentinelles.**
  - **Vaches laitières :**
    - **pas d'excrétion nasale,**
    - **infection sévère des glandes mammaires, mastite nécrosante, forte fièvre, baisse drastique de lactation : pour les deux souches**
    - **Titre de 10^8 TCID50/mL,**
    - **Pas d'infection systémique.**
    - **Sélection de la mutation adaptative PB2 E627K sur la souche UE**



Avian and Human Influenza A Virus Receptors in Bovine Mammary Gland

Charlotte Kristensen, Henrik E. Jensen, Ramona Trebbien, Richard J. Webby, Lars E. Larsen

An outbreak of influenza A (H5N1) virus was detected in dairy cows in the United States. We detected influenza A virus sialic acid –α2,3/α2,6-galactose host receptors in bovine mammary glands by lectin histochemistry. Our results provide a rationale for the high levels of H5N1 virus in milk from infected cows.

Influenza A virus (IAV) is a negative, single-stranded RNA virus. Viral evolution has enabled some IAVs to cross species barriers and to be established in humans and various mammals (*1*). Cattle are susceptible to infection with influenza C and D viruses but have been regarded as almost resistant to infection with IAV (*1*). An unexpected highly pathogenic avian influenza (HPAI) virus H5N1 (clade 2.3.4.4b) was detected in dairy cattle in Texas, USA, and has spread to 131 herds in 12 different states in the United States (*3*,*4*). Although extremely high levels of virus in milk from infected cows (*5*) were unexpected, previous studies and a report from Friedrich-Loeffler Institute (FLI; Insel Riems, Germany) (*6*) have shown that the inoculation of IAVs into the mammary glands of cows and goats results in productive viral infection (*2*).

Hemagglutinin (HA) binds to sialic acids (SAs) terminally attached to glycans, enabling viral endocytosis and membrane fusion. Hemagglutinins of human- and swine-adapted IAVs frequently prefer SAs linked to galactose (Gal) in an α2,6 linkage (SA–α2,6, human receptor), whereas avian IAVs prefer an α2,3 linkage (SA–α2,3, avian receptor) (*7*). Furthermore, IAVs adapted to chickens generally prefer SA–α2,3-Gal with a β1,4 linkage to *N*-acetylgalactosamine (GalNAc; SA–α2,3-Gal-β1,4-GalNac, referred to as chicken receptor), whereas IAVs isolated from ducks favor SA–α2,3-Gal with a β1,3 linkage to *N*-acetylglucosamine (GlcNAc; SA–α2,3-Gal-β1,3-GlcNAc, referred to as duck receptor) (*7*).

To investigate IAV receptor expression on the surface of epithelial cells, in situ techniques, such as lectin histochemistry, are useful (*8*). A limitation of using lectins is that they provide information only about the terminal end of the host receptors; a complete quantification of the receptors is not possible. Three studies have reported the IAV receptors in the bovine respiratory tract by using lectins (*9*–*11*), but studies describing the IAV receptor distribution in other bovine tissues are sparse. The aim of this study was to investigate the in situ expression of IAV receptors in the bovine mammary glands by lectin histochemistry.

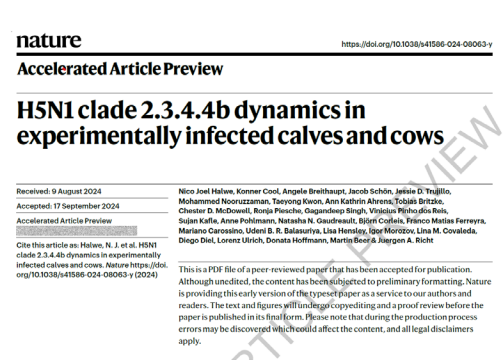
The Study

We included 2 archived bovine mammary glands obtained from the same lactating dairy cow (4 years of age) of a Danish Holstein breed and included mammary glands from 8 cows of different breeds and ages obtained from a slaughterhouse in Denmark (Table). The tissues were formalin-fixed, paraffin-embedded, and cut into 4–5 μm sections.

We detected the human receptor SA–α2,6 using biotinylated *Sambucus nigra* lectin (SNA) (B-1305-2; Vector Laboratories, https://vectorlabs.com). We detected the chicken receptor SA–α2,3-Gal-β1,4 using biotinylated *Maackia amurensis* lectin I (MAA-I) (B-1315-2; Vector Laboratories) and the duck receptor (SA–α2,3-Gal-β1,3) biotinylated MAA-II (B-1265-1; Vector Laboratories) as previously described (*12*). We semiquantified the staining on the surface of the epithelial cells as the percentage of positive surface area in 2 images from each slide (Figure 1, panels D, E,

Author affiliations: University of Copenhagen, Frederiksberg, Denmark (C. Kristensen, H.E. Jensen, L.E. Larsen); Statens Serum Institut, Copenhagen, Denmark (R. Trebbien); St. Jude Children's Research Hospital, Memphis, Tennessee, USA (R. J. Webby)

DOI: http://doi.org/10.3201/eid3009.240696



nature

https://doi.org/10.1038/s41586-024-08063-y

Accelerated Article Preview

H5N1 clade 2.3.4.4b dynamics in experimentally infected calves and cows

Received: 9 August 2024

Accepted: 17 September 2024

Accelerated Article Preview

Cite this article as: Halwe, N. J. et al. H5N1 clade 2.3.4.4b dynamics in experimentally infected calves and cows. Nature https://doi.org/10.1038/s41586-024-08063-y (2024)

Nico Joel Halwe, Konner Cool, Angele Breithaupt, Jacob Schön, Jessie D. Trujillo, Mohammed Nooruzzaman, Taeyong Kwon, Ann Kathrin Ahrens, Tobias Britze, Chester D. McDowell, Ronja Plesche, Gagandeep Singh, Vinicius Pinho dos Reis, Sujan Kafle, Anne Pohlmann, Natasha N. Gaudreault, Björn Corleis, Franco Matias Ferreyra, Mariano Carossino, Udeni B. R. Balasuriya, Lisa Hensley, Igor Morozov, Lina M. Covaleda, Diego Diel, Lorenz Ulrich, Donata Hoffmann, Martin Beer & Juergen A. Richt

This is a PDF file of a peer-reviewed paper that has been accepted for publication. Although unedited, the content has been subjected to preliminary formatting. Nature is providing this early version of the typeset paper as a service to our authors and readers. The text and figures will undergo copyediting and a proof review before the paper is published in its final form. Please note that during the production process errors may be discovered which could affect the content, and all legal disclaimers apply.

Dans le cas de contamination du lait la surveillance des eaux usées est elle pertinente pour évaluer le portage humain ?

- **Détection de génome H5 via surveillance des eaux usées (Tisza et al. 2024, https://doi.org/10.1101/2024.05.10.24307179 ; Wolfe et l. 2024, https://doi.org/10.1101/2024.04.26.24306409)**
- **Charges virales très élevées dans le lait des BV infectés : CT10 eq à 10^{11} à 10^{12} copies du virus/mL**
- **Soit 10^{14} à 10^{15} copies du virus/L**
- **Les volumes quotidiens traités par le plus grosse station de traitement des eaux usées de la région parisienne (Achères) : 1,5M m^3/J soit 1,5 10^9 L/J**
- **Un litre de lait cru rejeté aux égouts par un consommateur : il reste au maximum 10^5 à 10^6 copies du virus/L d'eaux usées**
- **Probablement moins du fait des inactivations en cours d'acheminement mais suffisamment pour une détection dans les eaux usées.**
- **Pas un bon indicateur d'une exposition humaine dans ce cas sauf si les souches « humanisées » sont suffisamment différentes pour obtenir une PCR spécifique.**
- **De même, risque de contamination des STEU par les déjections d'oiseaux sauvages (goelands, mouettes…) positifs IAHP en cas d'épizootie**

Important risque de confusion sur la source par la surveillance des eaux usées pour l'IAHP

Et pour les souches zoootiques d’origine porcine ?

- **Moindre risque de contamination des STEU par les lisiers de cochons en zone urbaine**
- **Plus grand risque de transmission directe du cochon à l’humain.**
- **Intérêt plus grand de la surveillance des eaux usées pour des virus zoonotiques d’origine porcine.**



Conclusion



- La surveillance des eaux usées est un bon indicateur de circulation des agents pathogènes en population produisant une surveillance à moindre coût.
- Il doit être interprété avec discernement pour le transformer en indicateur épidémiologique.
- Il est nécessaire de bien identifier les possibilités de confusion des signaux dans une approche One Health
- Tout l'intérêt de la co-construction des dispositifs de surveillance par la collaboration de SPF et de l'Anses !

