

## EVOLUTION GÉNÉTIQUE DU POLIOVIRUS : SUCCÈS ET DIFFICULTÉS DE L'ÉRADICATION DE LA POLIOMYÉLITE PARALYTIQUE

Blondel B, Autret A, Brisac C, Pelletier I, Martin-Latit S, Jegouic S, Bessaud M, Joffret ML, Balanant J, Colbère-Garapin F, Delpeyroux F

Unité Biologie des Virus Entériques, Institut Pasteur, Paris, France

*Med Trop* 2008 ; 68 : 189-202

**RÉSUMÉ** • Le poliovirus, agent étiologique de la poliomyélite, est un entérovirus de la famille des *Picornaviridae*. Malgré le succès de la campagne mondiale de vaccination contre la poliomyélite mise en place par l'Organisation mondiale de la santé (OMS), le poliovirus reste un problème de santé publique dans plusieurs pays en voie de développement, notamment en Afrique et en Asie. Ceci est dû en partie à la grande capacité des souches de poliovirus à circuler et à diffuser dans des populations où la couverture vaccinale est insuffisante. De plus, les souches atténuées du vaccin polio oral (VPO) peuvent évoluer rapidement vers un phénotype neurovirulent et être à l'origine de rares cas de poliomyélite paralytique. Par ailleurs, de récentes épidémies associées à des souches de poliovirus dérivées du vaccin (vaccine derived poliovirus ; VDPV) ont révélé l'émergence de souches recombinantes dont les génomes sont constitués de séquences provenant des souches du VPO et d'autres entérovirus non polio. Dans cette revue, après avoir présenté brièvement la biologie moléculaire du poliovirus et la pathogenèse de la poliomyélite, nous ferons le point sur la prophylaxie de la poliomyélite et les stratégies mises en oeuvre pour remporter la lutte contre la maladie. La question d'une possible réémergence du poliovirus après la proclamation de l'éradication du poliovirus sauvage sera également abordée.

**MOTS-CLÉS** • Poliovirus - Poliomyélite - Eradication de la poliomyélite.

.....

### GENETIC EVOLUTION OF POLIOVIRUS: SUCCESS AND DIFFICULTIES IN THE ERADICATION OF PARALYTIC POLIOMYELITIS

**ABSTRACT** • Poliovirus, the aetiological agent of poliomyelitis, is an enterovirus of the *Picornaviridae* family. Despite the success of the World Health Organisation (WHO) worldwide vaccination campaign against poliomyelitis, poliovirus remains a public health problem in several developing countries, in Africa and Asia in particular. This is partly due to the considerable capacity of poliovirus strains to circulate and spread in populations with insufficient vaccine coverage. In addition, the attenuated strains of the oral polio vaccine (OPV) may rapidly evolve a neurovirulent phenotype, causing rare cases of paralytic poliomyelitis. The recent occurrence of epidemics associated with vaccine-derived poliovirus (VDPV) has highlighted the emergence of recombinant strains with genomes constituted of sequences from OPV strains together with sequences from non-polio enteroviruses. In this review, after briefly describing the molecular biology of poliovirus and the pathogenesis of poliomyelitis, we will provide an overview of the current situation concerning poliomyelitis prophylaxis and the strategies developed to fight this disease. We will also deal with the issue of the possible re-emergence of poliovirus after declaration of the eradication of wild-type poliovirus.

**KEY WORDS** • Poliovirus - Poliomyelitis - Poliomyelitis eradication.

En 1909, le poliovirus a été identifié par Karl Landsteiner et Erwin Popper (1), deux médecins autrichiens, comme étant l'agent responsable de la poliomyélite (en grec, polios : gris et myelos : moelle) paralytique aiguë (PPA). Quarante ans plus tard, John Enders, Thomas Weller et Frederick Robbins (2) réussirent à le cultiver sur des cellules non nerveuses d'origine humaine, puis simienne. Ce progrès

capital leur valut le prix Nobel en 1955 et déboucha sur le développement de deux vaccins anti-poliomyélitiques efficaces (3, 4). En 1988, l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS) a mis en place un programme d'éradication de la poliomyélite reposant sur des campagnes de vaccination massive et après 19 ans de vaccination anti-polio intensive, l'incidence de la poliomyélite a diminué de 99 % dans le monde (5). Cependant, du fait de la propagation rapide du poliovirus dans des populations insuffisamment immunisées et de l'émergence de souches neuropathogènes dérivées des souches vaccinales, la poliomyélite reste un problème de santé publique dans plusieurs pays en voie de développement, notamment en Afrique et en Asie.

• Correspondance : B. Blondel, Unité Biologie des Virus Entériques, Institut Pasteur, 25 rue du Docteur Roux, 75724 Paris cedex 15, France.

• Courriel : bblondel@pasteur.fr

Tableau I - Classification des entérovirus. Adaptés d'après (17).

Espèces	Sérotypes
Poliovirus (PV)	PV 1-3
Human enterovirus A (HEV-A)	Coxsackievirus A (CVA) 2-8, 10, 12, 14, 16 Human enterovirus (HEV) 71, 76, 89-92
Human enterovirus B (HEV-B)	CVA 9 Coxsackievirus B (CVB) 1-6 Echoviruses (EV) 1-7, 9, 11-21, 24-27, 29-33 HEV 69, 73-75, 77-88, 93, 97, 98, 100, 101
Human enterovirus C (HEV-C)	CVA 1, 11, 13, 17, 19, 22, 24 HEV 95, 96, 99, 102
Human enterovirus C (HEV-D)	HEV 68, 70, 94

**LE POLIOVIRUS**

Le poliovirus, dont on distingue 3 sérotypes (PV-1, PV-2 et PV-3), est classé dans le genre des Entérovirus de la famille des *Picornaviridae* (pico : petit ; rna : acide ribonucléique), qui représente l'un des plus grands groupes de virus pathogènes humains et animaux (6). Cette famille comprend notamment le virus humain de l'hépatite A, les rhinovirus humains (agents infectieux responsables de rhinites) et le virus de la fièvre aphteuse. Les entérovirus humains (HEV) sont à présent divisés en cinq espèces, les HEV-A à -D et le poliovirus (Tableau I). Les HEV-C comprennent plusieurs coxsackievirus A et ségrégent, selon le degré de similitude de leurs séquences nucléotidiques, dans un même groupe phylogénétique que le poliovirus. Le poliovirus possède une capsidie icosaédrique non enveloppée d'environ 30 nm de diamètre, constituée de 60 copies de chacune des 4 protéines structurales VP1, VP2, VP3 et VP4 (Fig. 1). La surface de la capsidie virale comporte une dépression, appelée « canyon »,

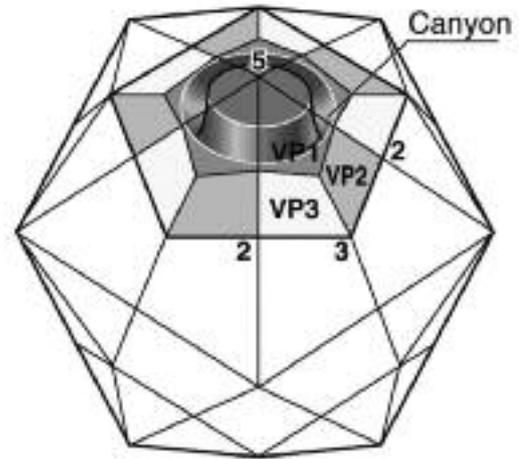


Figure 1 - Structure schématique de la capsidie du poliovirus. Les axes de symétrie -2, -3 et -5, et la position des protéines de capsidie VP1, VP2 et VP3, sont représentés pour un protomère. Les protéines VP1 sont réparties autour des axes de symétrie 5, tandis que VP2 et VP3 alternent autour des axes de symétrie 3. Les protéines VP4, qui n'apparaissent pas sur ce schéma, sont exclusivement internes. La dépression, nommée « canyon », qui entoure les axes de symétrie 5, contient le site de fixation du poliovirus à son récepteur cellulaire (CD155). Adapté d'après (7).

qui entoure les axes de symétrie d'ordre 5 et contient le site d'attachement du virus à son récepteur cellulaire CD155 (7). CD155 est une glycoprotéine appartenant à la superfamille des immunoglobulines qui est présente uniquement à la surface des cellules de primates. Il est apparenté à la famille des nectines qui sont des molécules d'adhésion participant à l'organisation des jonctions adhérentes intercellulaires (8-10). Le génome du poliovirus est une molécule d'ARN monocaténaire de polarité positive, d'environ 7 500 nucléotides, poly-

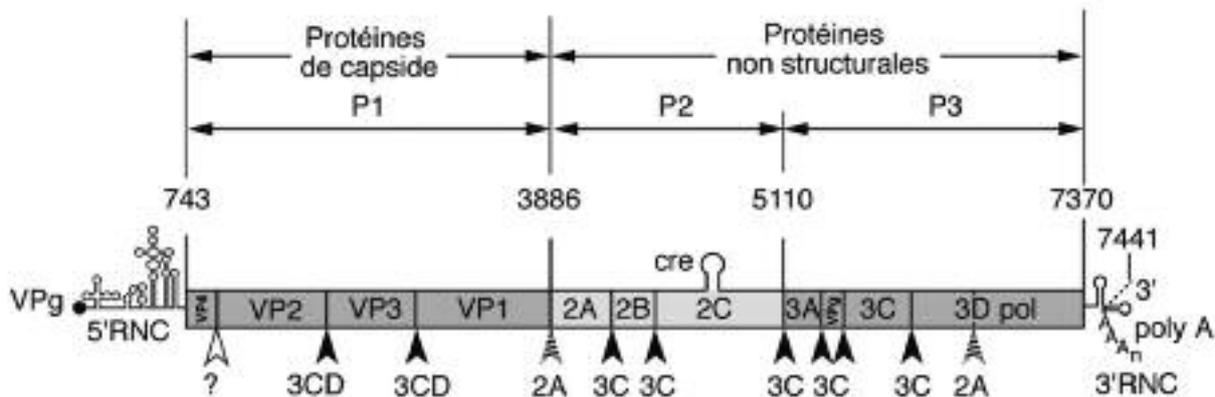


Figure 2 - Organisation génétique du génome du poliovirus de type 1 (PV-1/Mahoney). Deux régions non codantes (RNC) en 5' et 3' encadrent une unique phase ouverte de lecture qui code pour une polyprotéine dont les clivages protéolytiques successifs, assurés par les protéases virales 2A, 3C et 3CD, génèrent l'ensemble des protéines virales. La région P1 code les protéines de capsidie et les régions P2 et P3 codent les protéines non structurales impliquées dans les clivages protéolytiques et la réplication du génome viral. La position des nucléotides délimitant les régions P1, P2 et P3 est indiquée. La protéine virale VPg est liée à l'extrémité 5'-terminale du génome par une liaison covalente. Les clivages protéolytiques ont lieu entre les paires d'acides aminés Asn-Ser, Gln-Gly et Tyr-Gly, comme indiqués respectivement par les têtes de flèches vides, pleines et hachurées. Les sites de clivage des protéases 2A, 3CD et 3C, sont indiqués. Le mécanisme de clivage du précurseur VP0 qui génère VP4 et VP2 n'est pas encore déterminé. Adapté d'après (97).

adénylée à l'extrémité 3' et dont l'extrémité 5' est liée de façon covalente à une petite protéine virale (VPg) (Fig. 2) (11). Cette molécule d'ARN est constituée d'une unique phase de lecture ouverte, encadrée par deux régions non codantes en 5' et en 3' (5'NC et 3'NC).

*In vitro*, le poliovirus ne se multiplie que dans des cellules de primates (humaines ou simiennes) ou des cellules murines génétiquement modifiées pour exprimer le récepteur du virus, CD155. Le cycle viral (Fig. 3), entièrement cytoplasmique, dure environ 8 heures en culture cellulaire à 37 °C (pour revue voir (11)). L'interaction du poliovirus avec CD155 s'accompagne d'importants changements de conformation de la particule virale nécessaires à la libération de l'ARN dans le cytoplasme des cellules infectées (décapsidation) (12). Après libération de l'ARN viral dans le cytoplasme, la traduction débute par la fixation de la sous unité 40S du ribosome au niveau d'un segment hautement structuré, nommé IRES (internal ribosome entry site), localisé dans la région 5'NC du génome du poliovirus (11). L'efficacité de l'initiation de la traduction IRES-dépendante nécessite des facteurs cellulaires spécifiques qui pourraient jouer le rôle de « protéines chaperonnes » pour stabiliser les structures secondaires et tertiaires de l'IRES. Le génome du poliovirus est traduit en une seule polyprotéine dont les clivages protéolytiques successifs, assurés par les protéases

virales 2A, 3CD et 3C, produisent les différentes protéines de capsid et les protéines non structurales impliquées dans les clivages protéolytiques, la réplication du génome viral et l'inhibition des synthèses cellulaires.

La réplication du génome du poliovirus est assurée par l'ARN polymérase virale ARN dépendante 3D (3Dpol) en association avec la plupart des protéines non structurales et plusieurs facteurs cellulaires. Dans une première étape, le génome viral sert de matrice pour la synthèse d'une molécule d'ARN de polarité complémentaire (négative) et dans un second temps, le brin négatif néosynthétisé sert lui-même de matrice pour la synthèse de nombreuses molécules d'ARN de polarité génomique (positive). La formation des virions semble être un processus couplé à la réplication de l'ARN. Les virions néoformés s'accumulent dans le cytoplasme des cellules infectées sous forme d'inclusions cristallines, puis sont libérés par éclatement de vacuoles à la surface des cellules. Un processus apoptotique, décrit au cours de l'infection par le poliovirus dans de nombreux types cellulaires, semble également jouer un rôle dans la libération des virions (13, 14). De plus, une libération vectorielle a été décrite dans les cellules humaines intestinales polarisées. La libération massive des virions néosynthétisés est concomitante à la lyse des cellules survenant à la fin du cycle viral.

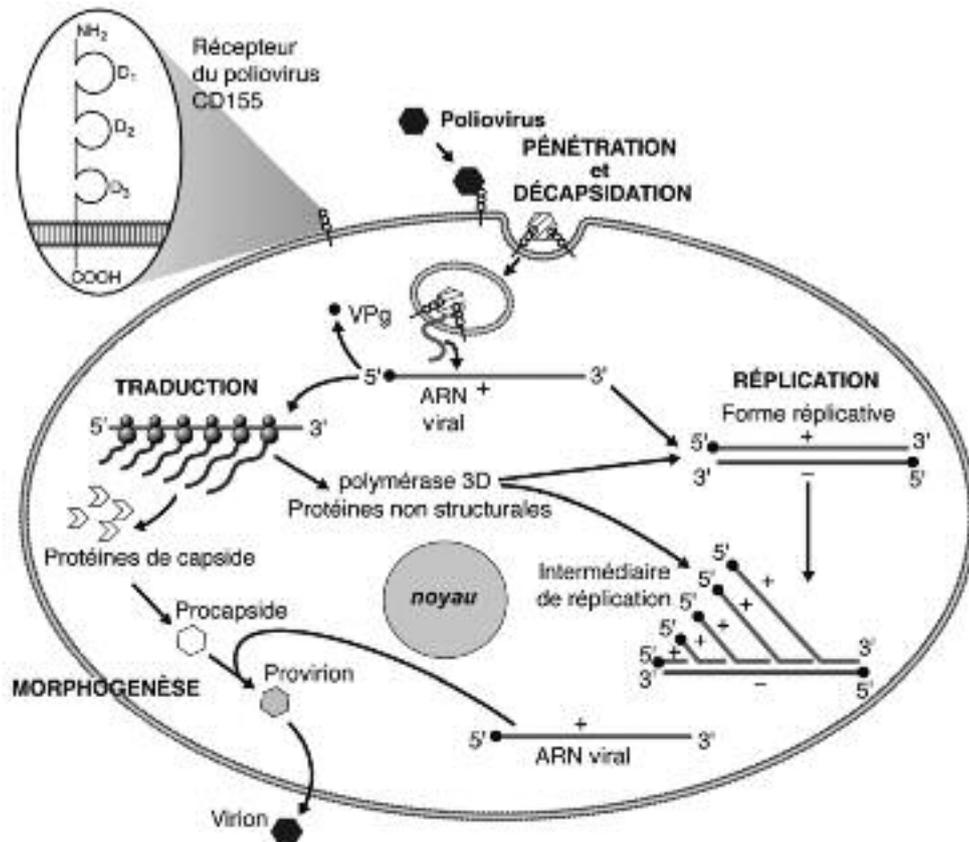


Figure 3 - Cycle de multiplication du poliovirus.

**LA POLIOMYÉLITE**

L'homme est le seul hôte naturel du poliovirus. L'infection est le plus souvent inapparente ou abortive puisque seuls 1 à 2% des sujets infectés développent une PPA caractérisée par des paralysies flasques consécutives à l'atteinte des neurones moteurs de la moelle épinière (pour revue voir (15-17)). Le tropisme du poliovirus est lié à l'expression de CD155, cependant, d'autres facteurs doivent être impliqués tels que la traduction IRES-dépendante (18) et la réponse interféron (19).

La transmission du poliovirus se fait par voie fécale-orale (Fig. 4). Le poliovirus se multiplie principalement dans l'intestin grêle, après avoir franchi la barrière stomacale grâce à sa résistance au pH acide, mais aussi dans l'oropharynx. Il se multiplie en particulier dans les tissus lymphoïdes (amygdales et plaques de Peyer) (20, 21). Il pourrait franchir la barrière de l'épithélium intestinal par transcytose à travers les cellules M (microfold) qui recouvrent les plaques de Peyer et qui sont spécialisées dans l'échantillonnage des macromolécules (22, 23).

La nature des cellules productrices de virus dans ces muqueuses n'est pas encore définie. A cette étape, le virus est excrété dans les selles pendant plusieurs semaines. A partir des sites primaires de multiplication, le poliovirus migre vers les ganglions lymphatiques régionaux (cervicaux et mésentériques) puis rejoint la circulation sanguine. Dans une minorité de cas, le poliovirus présent dans le sang infecte des tissus extra-neuraux (probablement des tissus graisseux bruns, réticuloendothéliaux et/ou musculaires), amplifiant ainsi la virémie. Trois hypothèses ont été proposées pour expliquer le franchissement de la barrière hématoencéphalique (BHE) par le poliovirus : (i) Des cellules mononucléées infectées pourraient servir de cheval de Troie pour importer le poliovirus dans le système nerveux central (SNC) (24) ; (ii) Le poliovirus pourrait passer la BHE de façon passive, indépendamment du récepteur CD155 (25) ; (iii) Enfin, il a été suggéré que le poliovirus pourrait également atteindre le SNC par un transport axonal rétrograde suite à un traumatisme musculaire durant la phase virémique (chutes, injections intramusculaires, etc ...) (21, 26). En accord avec cette dernière hypothèse, il a été montré récemment que la partie intracytoplasmique du récepteur du poliovirus, CD155, inter-

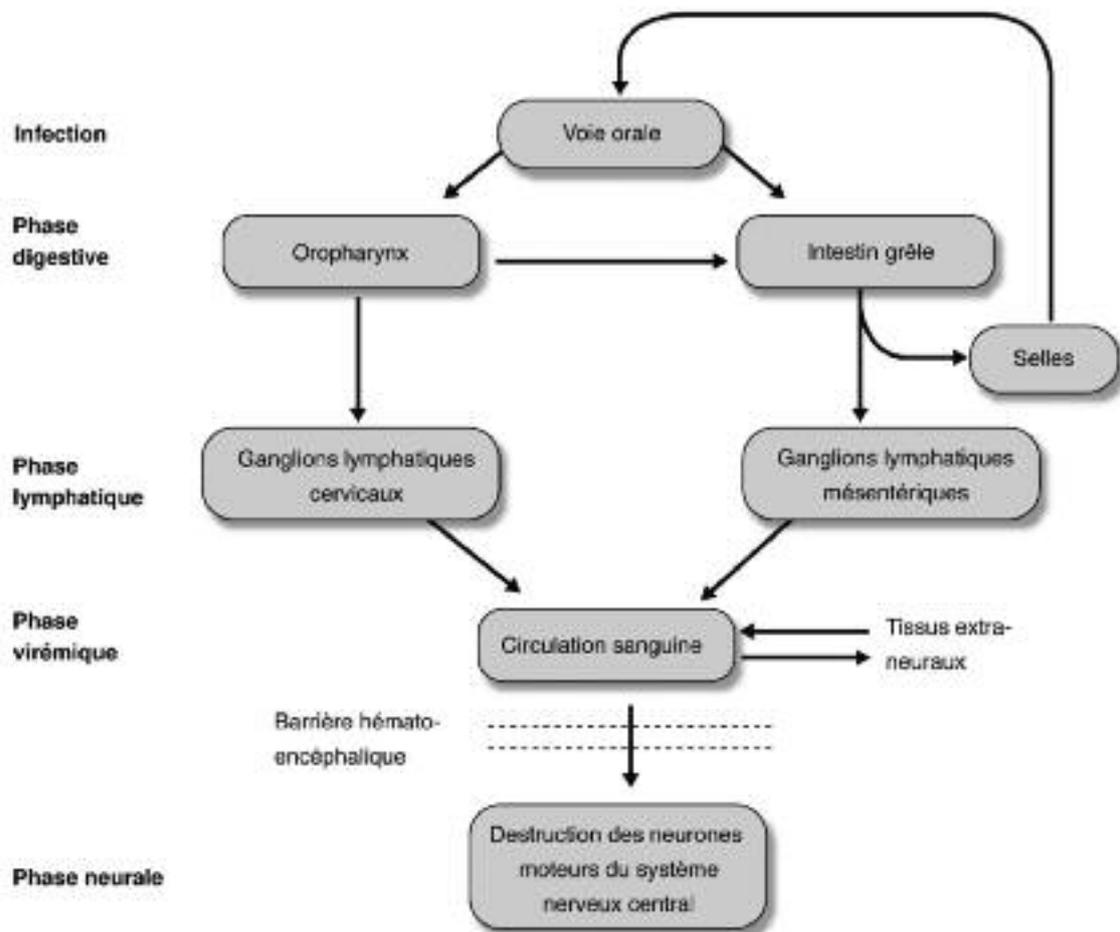


Figure 4 - Schéma de la pathogenèse de la poliomyélite.

agit avec la chaîne légère Tctex-1 du complexe moteur de la dynéine associée aux microtubules (27). Les auteurs ont ainsi proposé que les vésicules endoplasmiques contenant les complexes poliovirus-CD155 pourraient être, grâce à cette interaction, transportées le long des microtubules de l'axone vers le corps cellulaire des neurones. Les cellules cibles privilégiées du poliovirus dans le SNC sont les neurones moteurs localisés dans les cornes ventrales des régions cervicales et lombaires de la moelle épinière.

Le poliovirus peut également infecter les neurones du cortex moteur et de la formation réticulaire, ainsi que certains noyaux moteurs du tronc cérébral. La destruction des neurones moteurs infectés est responsable des paralysies flasques des membres, et conduit à l'atrophie des muscles concernés. La poliomyélite est mortelle quand les neurones moteurs innervant les muscles respiratoires sont atteints (10% des cas de PPA).

Suite à un épisode de PPA, malgré plusieurs années de stabilité clinique, 20 à 40% des malades peuvent développer une pathologie neuromusculaire tardive appelée syndrome postpolio (SPP) (28). Ce syndrome est caractérisé notamment par de nouvelles atrophies musculaires lentement progressives. La présence de séquences d'ARN de poliovirus ou apparentées à celles du poliovirus (29) et celle d'IgM anti-poliovirus spécifiques (30) dans le liquide céphalo-rachidien des patients, suggère que l'étiologie du SPP pourrait être la persistance du poliovirus dans le SNC. En accord avec cette hypothèse, notre groupe a montré que le poliovirus peut établir des infections persistantes dans des cultures de cellules neuronales humaines *in vitro* et *ex vivo* (31-33).

La PPA peut être reproduite expérimentalement chez le singe et la souris transgénique qui exprime CD155 (souris Tg-CD155) après inoculation des souches sauvages des trois sérotypes de poliovirus, par voies intracérébrale ou intraspinal (34, 35). Le développement de paralysies a également été décrit après inoculation des souris Tg-CD155 par voie intraveineuse, intra-musculaire, intra-péritonéale et intranasale (34-37). Chez la souris Tg-CD155 la sensibilité cellulaire au poliovirus dans le SNC est restreinte aux neurones moteurs ; cependant, l'infection est habituellement extensive et résulte le plus souvent en une poliomyélite fatale. Chez les souris non transgéniques, seules quelques souches adaptées à cet animal peuvent induire une poliomyélite. Nous avons isolé et caractérisé deux souches mutantes de poliovirus pathogènes pour la souris (38, 39). Ces mutants induisent une poliomyélite paralytique chez la souris, qui, comme chez l'homme, n'est pas toujours mortelle. En utilisant ce modèle, nous avons pu montrer que le poliovirus persiste dans le SNC de la souris tout au long de la vie de l'animal (40), et que la persistance du poliovirus pouvait être due, au moins en partie, à une inhibition de la synthèse du génome viral dans le SNC (41). Ces modèles murins nous ont également permis de montrer que la multiplication du poliovirus et les lésions observées au cours de la poliomyélite sont associées à un processus apoptotique (42). Les modèles animaux simien et murin ont été utilisés pour étudier principalement la phase

neurologique de la poliomyélite. Les souris non-transgéniques et les souris Tg-CD155 ne sont pas sensibles après une infection orale, ce qui ne permet donc pas d'étudier la phase digestive de la maladie. En revanche, l'excrétion du poliovirus dans les selles des souris a été décrite après inoculation intrapéritonéale du poliovirus chez la souris Tg-CD155 (43).

Récemment, il a été montré que des souris Tg-CD155 délétées du gène codant le récepteur de l'interféron alpha/bêta peuvent développer des paralysies après inoculation du poliovirus par voie orale (44). Ces travaux semblent suggérer que l'interféron alpha/bêta joue un rôle important dans la permissivité du tractus intestinal au poliovirus.

### LA PROPHYLAXIE DE LA POLIOMYÉLITE

La prophylaxie de la poliomyélite est réalisée par l'emploi en parallèle de deux types de vaccins trivalents protégeant contre les trois sérotypes de poliovirus : le vaccin polio inactivé (VPI) et le VPO. L'emploi de ces vaccins a permis de réduire massivement l'incidence de la poliomyélite (5, 45).

Le VPI, mis au point par Jonas Salk, a été introduit en 1955 (4). Il est préparé à partir de souches sauvages des trois sérotypes de poliovirus dont le pouvoir infectieux est inactivé au formol. Il est administré par voie parentérale, éventuellement avec d'autres vaccins (Tétracoq®, Pentacoq®). Il a une parfaite innocuité, y compris pour les personnes immunodéprimées, et induit une immunité générale protectrice contre la poliomyélite paralytique. Cependant, le VPI nécessite des injections de rappel. De plus, il n'induit qu'une faible immunité intestinale, et, par conséquent, ne bloque pas la transmission du virus sauvage. Toutefois, ce vaccin s'est montré capable d'éliminer la poliomyélite dans les pays industrialisés qui l'ont utilisé exclusivement (Pays-Bas, Suède et Finlande).

Le VPO, développé par Albert Sabin, a été introduit en 1956 (3). Il est constitué de souches vivantes atténuées des trois sérotypes de poliovirus. L'approche suivie par Sabin a été d'adapter le poliovirus à un type cellulaire nouveau, le rendant ainsi moins virulent pour le SNC. Ces souches ont été obtenues après de multiples passages *in vitro* sur des cultures de cellules de testicule et de rein de singe et *in vivo* sur de la peau de singe après inoculation intradermique. Elles peuvent reproduire le processus infectieux naturel du poliovirus dans le tractus digestif et conférer ainsi une bonne immunité générale et locale sans provoquer de maladie neurologique. Ainsi, le VPO empêche l'infection intestinale ultérieure par le virus sauvage et bloque sa propagation. De plus, l'immunité induite est rapide et durable et ne nécessite pas de nombreux rappels. Les propriétés de ce vaccin ainsi que son mode d'administration aisé et son prix de revient peu élevé en ont fait un candidat de choix pour les campagnes de vaccination massive notamment dans les pays en voie de développement.

L'inconvénient principal du VPO réside dans le fait que les souches atténuées, qui sont thermosensibles, peuvent

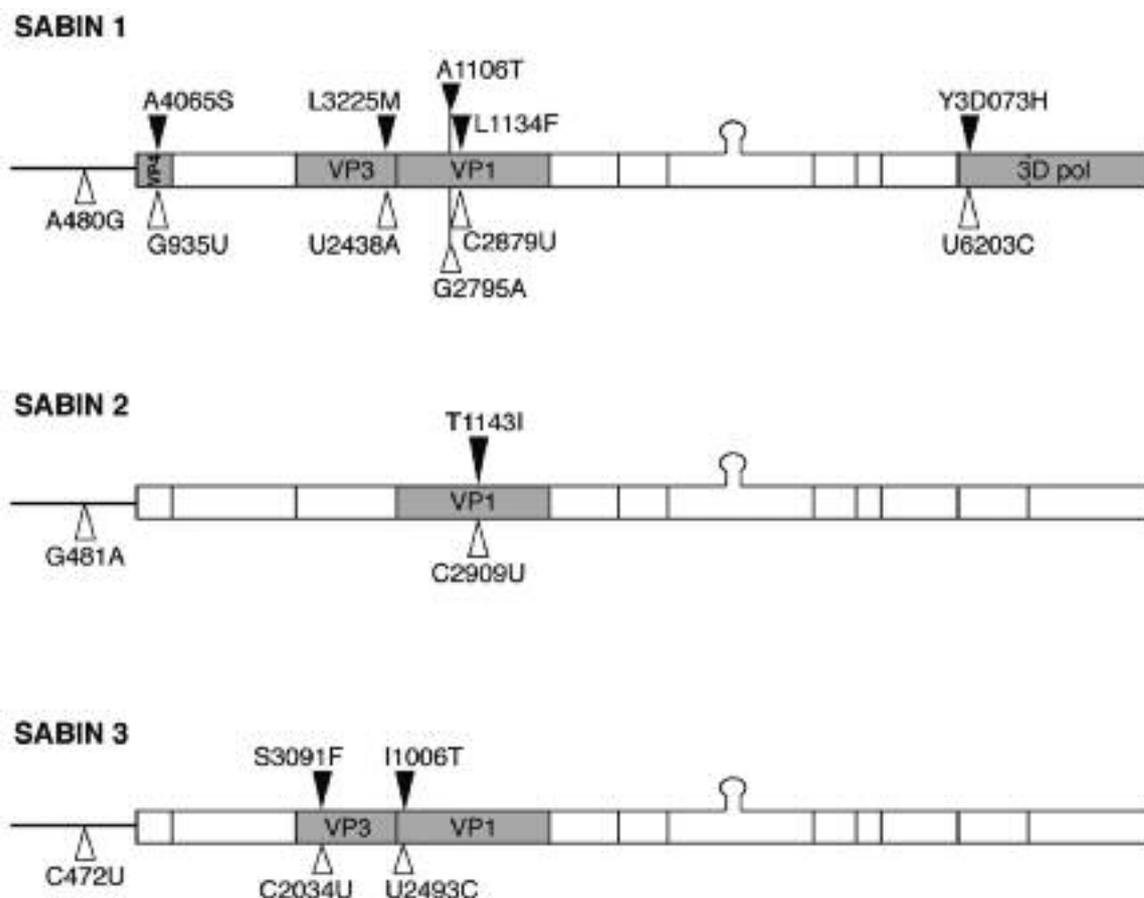


Figure 5 - Localisation des déterminants de l'atténuation des souches vaccinales Sabin. Les nucléotides (flèches blanches) et les acides aminés (flèches noires) sont indiqués pour les 3 sérotypes de poliovirus. Abréviations des résidus nucléotidiques : A, adénine ; C, cytosine ; G, guanine ; U, uracile. Abréviations des résidus acides aminés : A, alanine ; C, cystéine ; F, phénylalanine ; H, histidine ; I, isoleucine ; L, leucine ; M, méthionine ; S, sérine ; T, thréonine ; Y, tyrosine. Les substitutions sont indiquées comme suit : le résidu parental (de la souche sauvage), sa position et le résidu correspondant de la souche Sabin atténuée. Les positions des nucléotides sont numérotées à partir du premier résidu de l'ARN génomique. Les positions des acides aminés sont indiquées par le nom abrégé de la protéine virale (4, VP4; 2, VP2; 3, VP3; 1, VP1; 3D, 3D-polymérase) et numérotées à partir du premier résidu de chaque protéine. Par exemple, la substitution guanine (souche sauvage) par uracile (souche Sabin 1) en position 935 de l'ARN génomique (G935U) entraîne le remplacement d'une alanine par une sérine au niveau du résidu en position 65 de VP4 (A4065S). Adapté d'après (45).

recouvrer un phénotype neurovirulent lors de leur multiplication dans l'intestin à 37 °C, et être à l'origine de rares cas de poliomyélite paralytique associée à la vaccination (PPAV). Ces cas de PPAV concernent soit le vacciné lui-même, soit les personnes non vaccinées en contact avec celui-ci (45). Leur fréquence est évaluée à 1 cas pour 750 000 primo doses distribuées (45, 46).

#### LES DÉTERMINANTS CELLULAIRES ET VIRAUX DE L'ATTÉNUATION DU VPO

La neurovirulence des souches de poliovirus fait référence à leur capacité de se répliquer dans les neurones et d'en détruire un nombre suffisant pour induire une poliomyélite paralytique. Le phénotype neurovirulent du poliovirus est habituellement déterminé chez le singe en examinant les paralysies et le développement des lésions histopathologiques dans le SNC des animaux inoculés par voie intracérébrale ou

intraspinale (47). Depuis une quinzaine d'années, les souris Tg-CD155 se sont révélées être également un modèle adapté pour tester la neurovirulence du poliovirus (34, 35, 48). D'autres caractères phénotypiques pouvant avoir une corrélation avec le degré d'atténuation, comme la thermosensibilité (marqueur ts), la capacité de multiplication en milieu acide (marqueur d), ou la dimension réduite des plages sous couche d'agar (marqueur s) ont également été décrits (49). Le marqueur qui présente la meilleure corrélation avec l'atténuation est le marqueur ts. En effet, André Lwoff a montré en 1959, que l'infection du SNC par le poliovirus était liée à sa capacité de multiplication à 40°C (50).

De nombreux travaux ont été réalisés afin de comprendre les mécanismes de l'atténuation des souches vaccinales de poliovirus aux niveaux moléculaire et cellulaire (pour revue, voir (45) (17, 51, 52)). Les déterminants moléculaires viraux de l'atténuation, identifiés pour les trois souches Sabin, sont représentés sur la figure 5. Ces déterminants sont localisés principalement dans la région 5' non

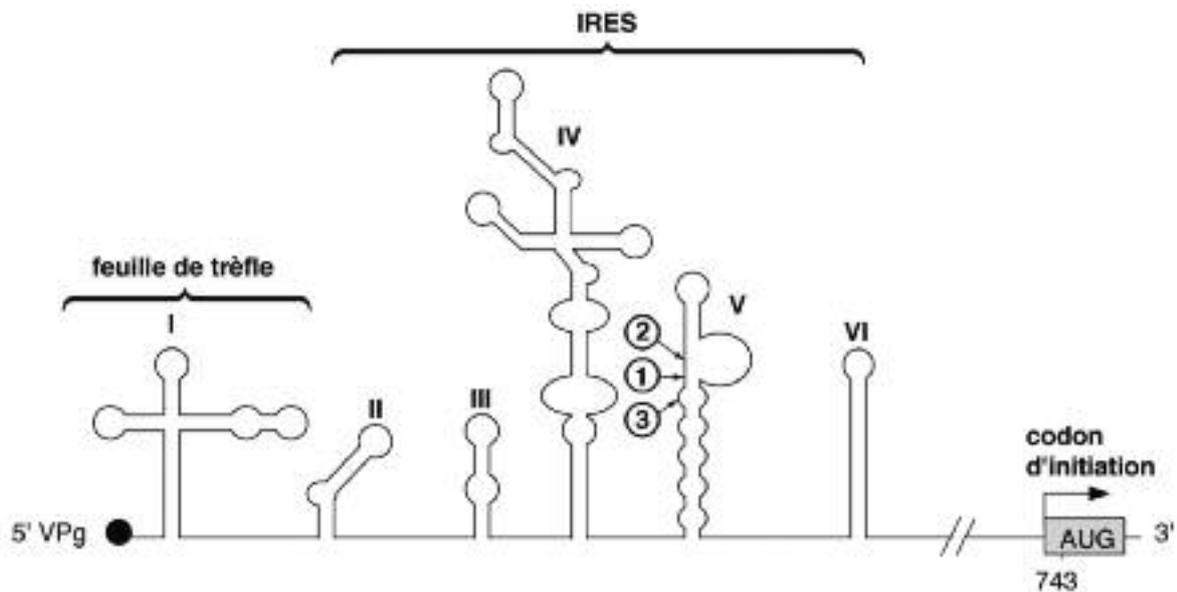


Figure 6 - Représentation schématique de la structure secondaire de la région 5'NC du génome du poliovirus de type 1. Les six structures en tige-boucle de la région 5'NC sont notées I à VI. La structure I constitue le site d'initiation de la réplication du génome (structure en feuille de trèfle) et les structures II à IV comprennent le site d'initiation interne de la traduction (IRES) en amont du codon initiateur de la traduction (AUG). Les positions des mutations d'atténuation dans la région 5'NC des souches Sabin de type 1 (nucléotide 480, A vers G), 2 (nucléotide 481, A vers G) et 3 (nucléotide 472, C vers U) sont indiquées par les flèches 1, 2 et 3 respectivement. Adapté d'après (98).

codante et dans les protéines de capsid et sont, pour la plupart, également impliqués dans le phénotype thermosensible des souches Sabin. Il est remarquable que les trois souches atténuées Sabin contiennent un déterminant fort de l'atténuation localisé dans le domaine V de l'extrémité 5' NC de leur génome (Fig. 6). Des simulations faites sur ordinateur montrent que ces déterminants pourraient affecter la stabilité de cette structure (53). De plus, ces études structurales pourraient expliquer l'implication de ces déterminants dans la thermosensibilité des souches atténuées. Le domaine V de l'extrémité 5' non codante est un composant essentiel du site d'initiation interne de la traduction (IRES). Les mutations localisées dans ce domaine affectent le niveau de traduction du génome viral dans des cellules de neuroblastome, mais pas dans les cellules HeLa (cellules épithéliales humaines d'un carcinome du col de l'utérus) qui sont couramment utilisées pour répliquer le poliovirus (54). Dans un système de traduction utilisé *in vitro* (lysate de réticulocyte de lapin), la traduction des souches atténuées est également affectée. De plus, tandis que des extraits cytoplasmiques de cellules HeLa restaurent l'efficacité de traduction des souches atténuées dans ce système, les extraits de cellules de neuroblastome sont sans effet (55). Ainsi le phénotype atténué des souches Sabin observé dans les cellules neuronales pourrait s'expliquer par une capacité réduite de la souche vaccinale à se multiplier dans les cellules nerveuses. Les déterminants de l'atténuation pourraient donc, en déstabilisant la structure secondaire de l'IRES, affecter la liaison de facteurs cellulaires nécessaires à l'initiation de la traduction. Si dans les cellules nerveuses ces facteurs étaient qualitativement ou quantitativement différents de ceux présents dans les cellules HeLa, leur inter-

action avec l'ARN viral serait d'autant plus altérée que la structure secondaire de l'ARN serait modifiée, expliquant ainsi la moindre efficacité de traduction des souches atténuées dans les cellules nerveuses.

*In vivo*, la situation est sans doute plus complexe. Cependant, la nature des cellules cibles dans l'organisme pourrait, au moins en partie, expliquer comment les déterminants de l'atténuation peuvent conférer un phénotype atténué aux souches Sabin en termes de pathogénèse chez l'homme. En effet, une corrélation a été observée entre le phénotype atténué et une multiplication réduite, non seulement dans les cellules de neuroblastome, comme cela a été décrit précédemment, mais également dans les cellules mononucléées du sang périphérique (56). Au cours de l'infection naturelle, si la multiplication du poliovirus a lieu dans ces cellules, une multiplication restreinte pourrait être responsable d'une réduction de la charge virale sanguine et donc affecter la capacité du virus à atteindre le SNC. Il reste cependant à déterminer s'il existe des facteurs, responsables de la réduction de la multiplication du poliovirus, qui seraient communs aux neurones et aux cellules mononucléées. Un autre mécanisme de l'atténuation du poliovirus chez l'homme pourrait impliquer le phénotype de thermosensibilité des souches atténuées limitant leur réplication à des températures physiologiques (37°C). Il est intéressant de noter que ce phénotype est accentué dans les cellules nerveuses. En conclusion, les déterminants de l'atténuation pourraient agir en réduisant la multiplication virale intraneurale mais également extraneurale, laissant ainsi le temps au système immunitaire de développer une réponse efficace pour prévenir l'atteinte des cellules nerveuses.

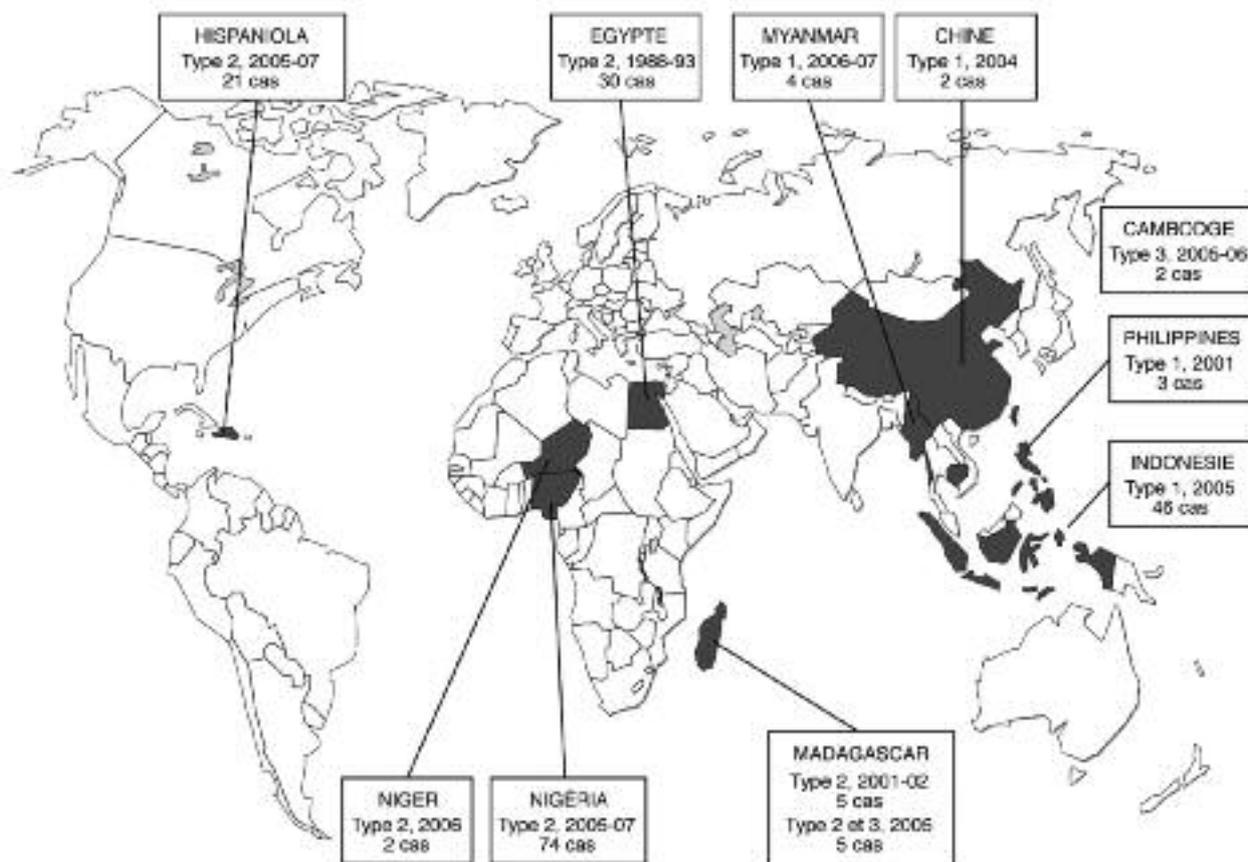


Figure 7 - Cas de poliomyélites paralytiques associées aux souches neuropathogènes circulantes de PV dérivées du Vaccin anti-Poliomyélite Oral atténué (cVDPV).

### LES SOUCHES DE POLIOVIRUS NEUROPATHOGENES DERIVEES DU VPO

Le Programme d'éradication mondiale de la poliomyélite initié par l'OMS et basé principalement sur l'utilisation du VPO, a permis de réduire l'incidence des cas de PPA associés au poliovirus sauvage, d'environ 350 000 cas estimés en 1988 à seulement 1998 cas rapportés en 2006 (5). L'élimination de la poliomyélite a été obtenue en 2004 sur l'ensemble du continent Américain, en 2000 dans la région du pacifique occidental et en 2002 dans la région européenne de l'OMS. Cependant, malgré le succès considérable de la vaccination, le poliovirus sauvage garde une prise tenace dans 4 pays (Afghanistan, Inde, Nigéria et Pakistan) à partir desquels il réinfecte des pays où le poliovirus avait été préalablement éliminé. Ceci est dû en partie à sa rapide expansion au sein des populations insuffisamment immunisées, comme cela s'est malheureusement produit récemment dans le nord du Nigeria où l'abandon pendant une courte période de la vaccination a été suivi par une épidémie explosive de poliomyélite. A partir de cette épidémie, de nombreux pays d'Afrique tropicale et quelques pays asiatiques, dont certains exempts de cas de poliomyélite depuis de nombreuses années, ont été recontaminés, de 2003 à 2005. L'autre cause de pré-

occupation associée à une couverture vaccinale insuffisante est l'émergence des souches neuropathogènes de poliovirus dérivées du VPO (vaccine derived poliovirus ; VDPV) (45). En effet, le problème majeur associé au VPO est son instabilité génétique et phénotypique, qui est aussi à l'origine des cas de PPAV (pour revue voir (46, 57)). Cette instabilité est inhérente à la plupart sinon à tous les virus à ARN.

Deux raisons majeures peuvent expliquer cette instabilité : d'une part, l'absence d'activité correctrice de l'ARN polymérase ARN dépendante entraîne un taux de mutations ponctuelles dont la fréquence est évaluée à environ  $10^{-4}$  substitutions par position nucléotidique (58) ; d'autre part, le poliovirus peut subir au cours de sa réplication de nombreux événements de recombinaison, affectant 1% des génomes viraux par cycle de réplication cellulaire (59, 60). La variabilité génomique va de paire avec la variabilité de certains caractères phénotypiques du poliovirus : l'antigénicité (variabilité au niveau des épitopes de neutralisation), la température optimale de multiplication (variants thermorésistants), ou la neurovirulence évaluée chez les primates et la souris Tg-CD155. L'évolution des souches dérivées du VPO peut-être divisée schématiquement en 2 phases (46). La première se déroule pendant une courte période (habituellement 2 mois) après leur ingestion par le vacciné, et a lieu dans l'organisme du receveur ou dans celui des personnes de son

entourage. Cette étape est caractérisée par les variations génétiques et phénotypiques décrites ci-dessus. Il est à noter que de nombreuses recombinaisons ont lieu pendant cette période entre les souches de poliovirus vaccinales elles-mêmes, ainsi qu'entre les souches de poliovirus vaccinales et les souches de poliovirus sauvages ou d'HEV-C (57, 61-63). C'est au cours de cette première étape que les souches du VPO acquièrent les phénotypes thermorésistant et neurovirulent. La seconde étape de l'évolution des souches dérivées du VPO est caractérisée par l'accumulation prédominante de mutations silencieuses (synonymes) qui est accompagnée par peu sinon aucune modification du phénotype. Le génome des souches vaccinales évolue avec un taux de mutations identique à celui de l'évolution des souches de poliovirus sauvage, soit approximativement 1 % par an, (0,03 mutation par site synonyme et par an dans les régions codantes). Ce taux est déterminé habituellement par séquençage de la région codant la protéine de la capsid VPI. Le terme de VDPV est restreint jusqu'à présent aux souches qui présentent au moins 1 % de mutations et donc que l'on estime s'être répliquées pendant au moins un an après l'administration de la dose de VPO. Les VDPV sont divisés en 3 catégories (45) : 1) les VDPV circulants (cVDPV) qui émergent des régions où la couverture vaccinale n'est pas suffisante ; 2) les VDPV associés à l'immunodéficiência (iVDPV) qui sont isolés de personnes hypogammaglobulinémiques infectées de façon prolongée avec des souches du VPO ; 3) les VDPV ambigus (aVDPV) qui sont des isolats provenant soit de malades immunocompétents mais qui ne sont pas associés à des épidémies, soit de l'environnement et dont la source n'a pas été identifiée.

### Les cVDPV

Récemment, des cVDPV ont été associés à plusieurs épidémies de poliomyélite (Fig. 7).

La première épidémie a été décrite en République de Saint-Domingue et en Haïti de 2000 à 2001 (57). D'autres épidémies dues aux cVDPV sont ensuite survenues dans les Philippines, en Chine, en Indonésie, au Cambodge, à Madagascar et plus récemment au Myanmar (ex-Birmanie), au Nigéria et au Niger (64-69). Dans la plupart des cas, ces épidémies ont été décrites dans des communautés ayant une faible couverture vaccinale (< 50%) et ont affecté des enfants qui n'étaient pas vaccinés ou qui avaient reçu un nombre insuffisant de doses de VPO (45). La durée de circulation des VDPV impliqués dans ces épidémies a été estimée de 1 à 2,5 ans d'après la divergence de leurs séquences nucléotidiques avec celles des souches de VPO correspondantes (45, 67). Rétrospectivement, la circulation prolongée (pendant 10 ans) d'une souche de VDPV de type 2, responsable de 30 cas de PPA entre 1983 et 1993 a été mise en évidence en Egypte (70). Toutes ces épidémies (sauf en Chine) ont révélé l'émergence de souches de VDPV recombinantes, dont les génomes étaient constitués d'une part de séquences provenant des souches du VPO pour les régions codant au moins les protéines de capsid et d'autre part de séquences provenant

d'autres HEV-C pour tout ou partie des autres régions génomiques. A partir d'un cas de PPAV au Cambodge en 2002, Arita *et al.* (71) ont isolé un poliovirus de type 3 recombinant. Le séquençage de la région codant la polymérase 3D des entérovirus isolés au Cambodge entre 1999 et 2003, de cas de poliomyélite suggère que cette région du génome du cVDPV recombinant est dérivée de souches apparentées aux coxsackievirus A13 circulant dans le pays à la même époque. Rakoto-Andrianarivelo *et al.* (72) ont analysé les isolats des cVDPV impliqués dans les 5 cas d'une épidémie de poliomyélite survenues à Madagascar entre octobre 2001 et avril 2002 (65). Ces cVDPV présentent des caractéristiques phénotypiques similaires à celles des poliovirus sauvages, dont la neurovirulence chez la souris TgCD155. De plus, ils s'avèrent appartenir à 2 lignages de recombinants différents qui ont émergé et évolué indépendamment. Leurs génomes sont constitués de séquences provenant de la souche de type 2 du VPO pour la moitié 5' et de séquences dérivées d'HEV-C pour la moitié 3'. La recherche des entérovirus co-circulants isolés chez des enfants sains vivant à proximité des endroits où la majorité des cas de polio ont été rapportés, a révélé de façon inattendue une importante diversité d'HEV-C (5 sérotypes différents) qui ont co-évolué par recombinaison intertypique et inter-espèces. Parmi ces isolats, plusieurs coxsackievirus A17 et A13 portent des séquences fortement apparentées à celles des régions codant les protéines 2C et 3D des cVDPV malgaches. Ces données confirment que les HEV-C sont des partenaires fréquents de la recombinaison génétique avec les souches du VPO. Elles apportent un éclairage nouveau sur l'écosystème VPO/HEV-C et sur les mécanismes évolutifs qui favorisent l'émergence de cVDPV recombinants.

### Les iVDPV

Comme nous l'avons introduit précédemment, en dehors des épidémies associées aux cVDPV, il y a d'autres sources de poliovirus pathogènes dérivées du VPO. Notamment, les personnes immunodéficientes recevant le VPO peuvent développer des infections persistantes et excréter des souches d'iVDPV hautement virulentes pendant des années. Les personnes concernées souffrent en général d'une anomalie génétique responsable d'hypo- ou d'agammaglobulinémie (il ne semble pas que l'immunodéficiência acquise soit un facteur de risque). L'excrétion d'iVDPV par ces personnes est très rare, mais elle a cependant été décrite dans au moins 30 cas et peut durer plus de 20 ans (68, 73, 74). L'évolution des iVDPV excrétés par ces patients suit celle des cVDPV, avec une augmentation précoce de leur pathogénicité. Dans certains cas, ces iVDPV ont été détectés par hasard et n'ont pas été associés à des paralysies, dans d'autres cas ces virus ont été responsables de paralysies après que le virus ait été excrété pendant une longue période (75, 76). Si le taux de clairance spontanée du virus est inconnu, le taux de mortalité chez les malades immunodéficients développant une PPAV reste élevé (77). Le fait que des patients ne dévelop-

pent pas de signes cliniques est probablement dû aux immunoglobulines qu'ils ont reçues en traitement par voie intraveineuse et qui ont permis de confiner le poliovirus dans l'intestin de ces patients. Cependant, les traitements à base d'immunoglobulines, ou faisant appel aux antiviraux disponibles (pleconaril®), n'aboutissent que rarement à l'élimination totale du virus (73, 78).

Le nombre exact d'excréteurs ne peut pas être déterminé à l'heure actuelle, notamment dans les pays en voie de développement. Ces personnes risquant de poser un problème dans la période de post-éradication, des recherches restent nécessaires pour évaluer le risque que peuvent représenter les excréteurs chroniques en tant que réservoir de souches pathogènes.

### Les aVDPV

Les excréteurs chroniques pourraient éventuellement être à l'origine des aVDPV qui ont été isolés des eaux usées au Japon, en Slovaquie, en Estonie et en Israël (79-83). En effet, des souches pathogènes de poliovirus dérivées du VPO continuent à circuler dans les eaux de ces pays où aucun cas de poliomyélite n'est détecté depuis plusieurs années. En Israël, un lignage recombinant type 2/type 1 de aVDPV a été isolé d'un collecteur d'eau usée plusieurs années de suite entre 1998 et 2006. Les dernières souches isolées montrent une dérive génétique de plus de 14% (82). Il s'avère fort difficile de retrouver parmi les 800 000 personnes que dessert ce collecteur, la ou les sources à l'origine de ce virus. Ces résultats soulignent d'une part le danger potentiel que peuvent représenter les excréteurs de VDPV et, d'autre part, l'importance de surveiller les entérovirus présents dans les eaux usées des pays dans lesquels la poliomyélite a disparu.

---

### LES VACCINS POLIO CANDIDATS POUR L'APRÈS POLIOVIRUS SAUVAGE

---

En l'absence d'études probantes montrant que l'utilisation exclusive du VPI permettrait d'éliminer les souches sauvages de poliovirus, le VPO reste le vaccin de choix pour éradiquer le virus naturel des quelques pays où il subsiste. Cependant, la mise en évidence récente des VDPV vient souligner qu'une fois la transmission du poliovirus sauvage interrompue, l'arrêt de la vaccination avec le VPO semble être la seule possibilité pour arrêter l'émergence et la dissémination de virus pathogènes d'origine vaccinale. C'est pour ces raisons que beaucoup de pays développés utilisent déjà le VPI à la place du VPO. Il paraît par ailleurs fort sage de protéger la population mondiale contre les VDPV résiduels, au moins pendant toute la période nécessaire pour s'assurer de la disparition (ou de la persistance éventuelle) de poliovirus circulants. L'utilisation exclusive du VPI paraît cependant difficile à mettre à en œuvre en tant que stratégie globale de vaccination, du fait de son coût élevé et de la nécessité d'un personnel qualifié pour son administration. Ce vaccin pourrait

cependant être combiné avec les autres vaccins injectables dans les programmes d'immunisation de routine. Il pourrait être ainsi intégré aux vaccins du Plan élargi de vaccination que soutient l'OMS.

Un problème associé à l'arrêt de la vaccination avec le VPO pourrait venir du fait que le VPI seul ne soit pas suffisant pour stopper la transmission des VDPV qui continueront peut être à circuler de manière silencieuse. L'utilisation d'un VPO plus stable pourrait être une solution. En effet, une des mutations d'atténuation, présente chez les 3 souches du VPO, qui réverte rapidement durant leur répllication dans l'intestin est localisée dans la région 5'NC du génome (Fig. 5). Comme nous l'avons vu, cette mutation affecte la stabilité d'une structure secondaire impliquée dans l'initiation des synthèses protéiques, probablement de façon tissu dépendante.

Un poliovirus atténué plus stable a été obtenu en échangeant la région 5'NC du génome du poliovirus par celle d'un picornavirus apparenté ayant un tropisme différent, le rhinovirus, l'agent étiologique des rhumes saisonniers (84). D'autres interventions génétiques ponctuelles visant à stabiliser cette région génomique critique pour l'atténuation ont été proposées par Macadam *et al.* (85). Cependant, le développement d'un vaccin est le produit d'une science empirique et d'un long périple dépendant d'essais cliniques. Aussi, un nouveau VPO ne sera probablement jamais développé à moins d'un besoin crucial. En revanche, étant donné le danger que représentera dans la phase post-éradication la production de grandes quantités de souches sauvages nécessaires à la fabrication du VPI, le développement d'un nouveau VPI utilisant les souches du VPO est d'ores et déjà pris en compte. Par ailleurs, les nouvelles souches vaccinales génétiquement stables pourraient fournir un matériel plus adéquat pour la fabrication de cette nouvelle génération de VPI (84, 85).

---

### RÉÉMERGENCE DU POLIOVIRUS APRÈS L'ÉRADICATION DU POLIOVIRUS SAUVAGE.

---

La Commission mondiale de certification de l'éradication de la poliomyélite, créée en 1995, sous l'égide de l'OMS, déclarera le monde exempt du poliovirus quand toutes les régions auront montré l'absence de transmission de poliovirus sauvage pendant au moins trois années consécutives et quand les laboratoires possédant des souches de poliovirus sauvages auront mis en place des mesures de confinement appropriées. On peut se poser la question de savoir si le poliovirus sera pour autant vaincu après la déclaration de l'éradication mondiale du poliovirus.

En effet, plusieurs raisons font craindre la possible réémergence du poliovirus (pour revue voir : 52, 86-88). La première, mentionnée précédemment, est que le poliovirus puisse réémerger à partir des souches sauvages ou de cVDPV qui pourraient persister sans être détectées et ainsi évoluer en circulant dans les populations. Par ailleurs, des souches

pourraient s'échapper du pergélisol, d'un laboratoire de recherche ou de production de vaccin. Par ailleurs, des échantillons cliniques conservés à long terme, notamment des prélèvements de malades atteints de syndromes gastro-intestinaux, pourraient contenir de façon fortuite des souches de poliovirus. Pour prévenir le risque d'échappement, l'OMS demande aux états membres d'entamer un processus de confinement des poliovirus sauvages en laboratoire. La première phase qui consiste à recenser les laboratoires pouvant détecter du matériel infectieux et/ou potentiellement infectieux est bien avancée notamment en Europe (89). La phase suivante qui prendra effet après la disparition des souches sauvages consistera à détruire ou maintenir dans un confinement adéquat les poliovirus et le matériel suspect.

Le poliovirus pourrait aussi être réintroduit volontairement par les actes de bio terrorisme et on peut se poser la question : est-ce qu'un virus dont la séquence génomique est connue pourra jamais être éradiqué ? En effet, la production de virions infectieux a pu être obtenue *in vitro* après traduction et réplication de l'ARN viral synthétisé chimiquement dans des extraits cellulaires (86, 90). Le poliovirus paraît cependant une piètre arme militaire étant donné le faible taux de maladie induit par l'infection virale (de 1 à 2% des personnes infectées).

Enfin, bien que plus hypothétiques, des scénarios ont été proposés, dans lesquels des virus possédant les mêmes propriétés biologiques que le poliovirus pourraient émerger suite à l'évolution d'HEV-C (51, 91). A l'origine, les HEV-C n'étaient pas considérés comme apparentés aux poliovirus du fait de leur profonde différence en termes de pathogénicité (poliomyélite pour les poliovirus et rhume ou conjonctivite pour les HEV-C) et de récepteurs cellulaires utilisés (CD155 pour le poliovirus probablement ICAM-1 pour de nombreux HEV-C).

Leur proximité génétique révélée par le séquençage de leurs génomes a soulevé la question intéressante de savoir si l'ancêtre commun des HEV-C et des poliovirus était biologiquement plus proche de l'un ou de l'autre. Les résultats récents de Jiang *et al.* (91) s'accordent avec l'hypothèse que le poliovirus pourrait dériver d'un ancêtre proche des HEV-C. Selon cette hypothèse, des mutations affectant la capsid virale de cet ancêtre auraient entraîné la reconnaissance du récepteur CD155, conduisant à un changement de tropisme cellulaire et de pathogénicité. Les HEV-C pourraient donc jouer un rôle double, dans l'origine et l'évolution des poliovirus : ils pourraient être d'une part, la source de l'ancêtre du poliovirus, suite à des mutations, et d'autre part, le partenaire contemporain du poliovirus dans l'émergence de nouveaux variants par recombinaison. Ceci n'exclut pas que les deux phénomènes de mutation et recombinaison aient toujours co-existé chez les HEV-C, favorisant une évolution rapide.

Ces éléments confortent les taxonomistes dans l'idée de classer poliovirus et HEV-C au sein d'une même espèce.

## SURVEILLANCE ET RECHERCHE

Les risques associés à la ré-émergence de poliovirus pathogènes ou aux mécanismes d'évolution des HEV-C impliquent de maintenir actives, pendant encore une très longue période, recherche et surveillance en ce qui concerne le poliovirus et les virus apparentés. Le réseau de surveillance de la poliomyélite développé par l'OMS (Global Poliomyelitis Laboratories Network) dans le but de contrôler, au niveau mondial, l'impact des campagnes de vaccination et notamment la disparition des lignées de virus sauvages, est un modèle de surveillance pour les maladies infectieuses. La surveillance de la PPA est basée sur le diagnostic virologique des PPA et ne permet de détecter que la partie émergente de « l'iceberg » des personnes infectées (>1%) (92, 93). Ce diagnostic représente cependant un bon marqueur de la circulation du poliovirus dans les populations. Ainsi, il est important qu'aucun cas de PPA n'échappe à la surveillance. Il a de ce fait fallu développer des réseaux nationaux de surveillance qui mobilisent aussi bien les centres de soin reculés que les hôpitaux des capitales.

Des laboratoires nationaux reçoivent les échantillons, entreprennent isolement et sérodiagnostic, puis en réfèrent à des laboratoires régionaux qui complètent les analyses. Les résultats sont transmis aux bureaux régionaux de l'OMS puis au siège de Genève dans des délais très courts. Ce réseau d'environ 150 laboratoires fonctionne selon des critères de qualité, de standardisation et d'accreditation très stricts et sélectifs. Il fait appel à des technologies de virologie de base comme l'isolement viral sur culture cellulaire mais aussi à l'épidémiologie moléculaire la plus sophistiquée grâce au séquençage systématique de tous les isolats de poliovirus sauvages et de virus vaccinaux suspects. Cette surveillance qui a été dotée des moyens et des technologies capables de détecter rapidement tout virus isolé d'un cas de PPA, permet également d'évaluer la circulation des lignages de virus, en particulier les migrations internationales de souches pathogènes (importation), et de mettre en oeuvre et d'adapter les réponses vaccinales aux situations épidémiologiques spécifiques. Les critères d'efficacité et de performance des laboratoires impliqués font de ce réseau un outil de surveillance particulièrement fiable qui est d'ores et déjà utilisée pour la surveillance de maladies comme la rougeole. Si les VDPV et les HEV-C représentent longtemps encore des menaces sérieuses (comme c'est le cas pour le virus de la variole du singe, à l'origine de nombreux cas de maladie humaine), ils peuvent être gardés sous haute surveillance grâce à ce réseau.

## CONCLUSION

L'éradication mondiale de la poliomyélite est estimée, à juste titre, techniquement et opérationnellement réalisable du fait de ses caractéristiques épidémiologiques, de l'absence d'un réservoir animal du poliovirus et de la disponibilité de deux vaccins efficaces (94).

L'éradication de la poliomyélite due aux poliovirus sauvages est officiellement constatée aux Amériques, en Europe et dans la région Est-Pacifique. Les pays encore endémiques pour le virus sauvage ne sont plus actuellement qu'un nombre de quatre. Par ailleurs, toutes causes confondues, la poliomyélite a complètement disparu dans les pays développés où le VPI est utilisé. Malgré ce succès, la campagne mondiale de vaccination pour l'éradication de la poliomyélite, commencée il y a 19 ans, se révèle beaucoup plus difficile que celle de la variole (87), la seule maladie virale humaine éradiquée à ce jour (95).

Une des raisons de cette difficulté est la grande capacité des souches de poliovirus à circuler et à diffuser dans des populations à couverture vaccinale réduite. Ainsi l'absence de vaccination dans les états du nord du Nigéria pendant une courte période a eu des répercussions dramatiques, avec une flambée épidémique qui a atteint tous les pays de la ceinture subsaharienne où la couverture vaccinale, suite à la rareté de la maladie avait considérablement chuté. Par ailleurs, la capacité des souches de VPO à évoluer vers des souches de cVDPV hautement neurovirulentes et à perdre ainsi leur rôle protecteur pose un réel problème. Ce problème de la dérive des souches vaccinales n'a pas été rencontré avec le virus vaccinal atténué contre la variole qui était le virus de la variole de la vache (vaccine), virus distinct du virus de la variole humaine et génétiquement plus stable que le VPO. Comme nous l'avons vu, la biodiversité des HEV-C circulants, combinée à une faible couverture vaccinale, pourrait faire de l'écosystème des régions concernées par ces épidémies associées aux cVDPV, un chaudron particulièrement favorable pour l'émergence de nouveaux cVDPV recombinants. Le maintien d'une couverture vaccinale élevée faisant appel au VPO et/ou au VPI est la seule garantie pour protéger les populations contre les poliovirus sauvages ou d'origine vaccinale et pour lutter contre l'apparition des VDPV (88, 96). Il est heureux que les virus d'origine vaccinale restent sensibles à l'immunité induite par le VPO. En effet, les campagnes de vaccination organisées en urgence sont venues rapidement à bout de toutes les épidémies dues à ces souches qui ont été détectées rapidement grâce à une surveillance efficace.

Quand la transmission du poliovirus sauvage sera interrompue, la certification que celui-ci aura disparu ne sera pas non plus une tâche facile, contrairement à ce qui s'est passé pour la variole, pour laquelle la surveillance fut relativement simple. En effet, l'infection par la variole causait une éruption cutanée que même une personne non entraînée pouvait identifier. Le poliovirus, quant à lui, peut circuler de façon asymptomatique pendant de longues périodes et ne peut être diagnostiqué qu'au laboratoire. Un seul poliovirus circulant peut compromettre l'éradication de la maladie si la couverture vaccinale n'est pas maintenue à un bon niveau.

Cependant, toutes ces difficultés qui rendent le programme d'éradication de la poliomyélite plus complexe et plus laborieux que celui de la variole font aussi de ce pro-

gramme un défi nouveau qui nécessitera des travaux de recherche fondamentale et appliquée ainsi que des moyens adaptés. A l'heure actuelle, seules quelques institutions gouvernementales ou caritatives contribuent à financer le projet piloté par l'OMS, bien que celui-ci contribue à accroître nos connaissances et nos moyens de surveillance et d'intervention sur le monde des pathogènes viraux humains. Il faudra donc des moyens supplémentaires pour remporter la lutte contre la poliomyélite, afin que l'ensemble des populations mondiales, développées et en développement, ne soit plus confronté à ce fléau.

*Remerciements • Nous remercions vivement Laurent Blondel pour son aide précieuse dans la réalisation des figures qui illustrent ce manuscrit. Les travaux décrits dans cette revue ont été effectués grâce à des subventions de l'Institut Pasteur, en particulier de la Direction des Programmes Transversaux de Recherche et de la Direction des Affaires Internationales, et des subventions de Danone Vitapole, Centre Daniel Carasso. A.A. est boursier du Ministère de l'Éducation Nationale, de la Recherche et de la Technologie et S.J. boursière de la Délégation générale pour l'armement et du Centre national pour la recherche scientifique (CNRS).*

## RÉFÉRENCES

- 1 - Landsteiner K, Popper E. Übertragung der poliomyelitis acuta auf affen. *Zeitschr Immunitätsforsch* 1909; Orig 2 : 377-90.
- 2 - Enders JF, Weller TH, Robbins FC. Cultivation of Lansing strain of poliomyelitis virus in culture of various human embryonic tissues. *Science* 1949; 109 : 85-7.
- 3 - Sabin AB, Boulger LR. History of Sabin attenuated poliovirus oral live vaccine strains. *J Biol Stand* 1973; 1 : 115-8.
- 4 - Salk JE. Consideration in the preparation and use of poliomyelitis virus vaccine. *J Am Med Assoc* 1955; 1548 : 1239-48.
- 5 - WHO. Progress towards interrupting wild poliovirus transmission, January 2006-May 2007. *Wkly Epidemiol Rec* 2007; 82 : 245-51.
- 6 - Pallansch M, Roos R. 2001. Enteroviruses: polioviruses, coxsackieviruses, echoviruses, and newer enteroviruses, p. 723-775. In D.M. Knipe and P.M. Howley (ed.), *Fields Virology*, vol. 1. Lippincott Williams and Wilkins, Philadelphia.
- 7 - Hogle JM, Chow M, Filman DJ. Three-dimensional structure of poliovirus at 2.9 Å resolution. *Science* 1985; 229 : 1358-65.
- 8 - Koike S, Horie H, Ise I, Yoshida M, Iizuka N, Takeuchi K *et al.* The poliovirus receptor protein is produced both as membrane-bound and secreted forms. *EMBO J* 1990; 9 : 3217-24.
- 9 - Mendelsohn CL, Wimmer E, Racaniello VR. Cellular receptor for poliovirus: molecular cloning, nucleotide sequence and expression of a new member of the immunoglobulin superfamily. *Cell* 1989; 56 : 855-65.
- 10 - Reymond N, Garrido-Urbani S, Borg JP, Dubreuil P, Lopez M. PICK-1: a scaffold protein that interacts with Nectins and JAMs at cell junctions. *FEBS Lett* 2005; 579 : 2243-49.
- 11 - Racaniello VR. 2001. Picornaviridae: the viruses and their replication, p. 685-722. In D.M. Knipe and P.M. Howley (ed.), *Fields Virology*, 4 ed, vol. 1. Lippincott Williams and Wilkins, Philadelphia.
- 12 - Brandenburg B, Lee LY, Lakadamyali M, Rust MJ, Zhuang X, Hogle JM. Imaging poliovirus entry in live cells. *PLoS Biol* 2007; 5 : e183.
- 13 - Autret A, Martin-Latit S, Mousson L, Wirotius A, Petit F *et al.* Poliovirus induces Bax-dependent cell death mediated by c-Jun NH2-terminal kinase. *J Virol* 2007; 81 : 7504.
- 14 - Blondel B, Autret A, Martin-Latit S, Mousson L, Pelletier I, Couderc T *et al.* Poliovirus et apoptose. *Virologie* 2006; 10 : 7-20.

- 15 - Mueller S, Wimmer E, Cello J. Poliovirus and poliomyelitis: a tale of guts, brains, and an accidental event. *Virus Res* 2005; 111 : 175-93.
- 16 - Racaniello VR. One hundred years of poliovirus pathogenesis. *Virology* 2006; 344 : 9-16.
- 17 - DE Jesus NH. Epidemics to eradication: the modern history of poliomyelitis. *Virol J* 2007; 4 : 70.
- 18 - Kauder SE, Racaniello VR. Poliovirus tropism and attenuation are determined after internal ribosome entry. *J Clin Invest* 2004; 113 : 1743-53.
- 19 - Ida-Hosonuma M, Iwasaki T, Yoshikawa T, Nagata N, Sato Y, Sata T *et al.* The alpha/beta interferon response controls tissue tropism and pathogenicity of poliovirus. *J Virol* 2005; 79 : 4460-69.
- 20 - Iwasaki A, Welker R, Mueller S, Linehan M, Nomoto A, Wimmer E. Immunofluorescence analysis of poliovirus receptor expression in Peyer's patches of humans, primates, and CD155 transgenic mice: implications for poliovirus infection. *J Infect Dis* 2002; 186 : 585-92.
- 21 - Bodian D. Viremia, invasiveness, and the influence of injections. *Ann NY Acad Sci* 1955; 61 : 877-82.
- 22 - Ouzilou L, Caliot E, Pelletier I, Prévost MC, Pringault E, Colbère-Garapin F. Poliovirus transcytosis through M-like cells. *J Gen Virol* 2002; 83 : 2177-82.
- 23 - Siciński P, Rowiński J, Warchol JB, Jarzabek Z, Gut W, Szczygiel B *et al.* Poliovirus type 1 enters the human host through intestinal M cells. *Gastroenterology* 1990; 98 : 56-8.
- 24 - Freistadt MS, Fleit HB, Wimmer E - Poliovirus receptor on human blood cells: a possible extraneural site of poliovirus replication. *Virology* 1993; 195 : 798-803.
- 25 - Yang WX, Terasaki T, Shiroki K, Ohka S, Aoki J, Tanabe S *et al.* Efficient delivery of circulating poliovirus to the central nervous system independently of poliovirus receptor. *Virology* 1997; 229 : 421-28.
- 26 - Gromeier M, Wimmer E. Mechanism of injury-provoked poliomyelitis. *J Virol* 1998; 72 : 5056-60.
- 27 - Ohka S, Matsuda N, Tohyama K, Oda T, Morikawa M, Kuge S *et al.* Receptor (CD155)-dependent endocytosis of poliovirus and retrograde axonal transport of the endosome. *J Virol* 2004; 78 : 7186-98.
- 28 - Dalakas MC. 1995. The post-polio syndrome as an evolved clinical entity. Definition and clinical description, p. 68-80. In MC. Dalakas, H. Bartfeld, L.T. Kurland (ed.), The post-polio syndrome, vol. 753. The New York Academy of Sciences, New York.
- 29 - Leparç-Goffart I, Julien J, Fuchs F, Janatova I, Aymard M, Kopecka H. Evidence of presence of poliovirus genomic sequences in cerebrospinal fluid from patients with postpolio syndrome. *J Clin Microbiol* 1996; 34 : 2023-26.
- 30 - Sharief MK, Hentges MR, Ciardi M. Intrathecal immune response in patients with the post-polio syndrome. *N Engl J Med* 1991; 325 : 749-55.
- 31 - Colbère-Garapin F, Christodoulou, Crainic R, Pelletier. Persistent poliovirus infection of human neuroblastoma cells. *Proc Natl Acad Sci USA* 1989; 86 : 7590-94.
- 32 - Colbère-Garapin F, Pelletier I, Ouzilou L. 2002. Persistent infection by poliovirus, p. 437-448. In B. L. Semler and E. Wimmer (ed.), Molecular biology of picornaviruses. ASM Press, Washington D.C.
- 33 - Pavio N, Buc-Caron MH, Colbère-Garapin F. Persistent poliovirus infection of human fetal brain cells. *J Virol* 1996; 70 : 6395-401.
- 34 - Koike S, Taya C, Kurata T, Abe S, Ise I, Yonekawa H *et al.* Transgenic mice susceptible to poliovirus. *Proc Natl Acad Sci USA* 1991; 88 : 951-5.
- 35 - Ren RB, Costantini F, Gorgacz EJ, Lee JJ, Racaniello JR. Transgenic mice expressing a human poliovirus receptor: a new model for poliomyelitis. *Cell* 1990; 63 : 353-62.
- 36 - Nagata N, Iwasaki T, Ami Y, Sato Y, Hatano I, Harashima A *et al.* A poliomyelitis model through mucosal infection in transgenic mice bearing human poliovirus receptor, TgPVR21. *Virology* 2004; 321 : 87-100.
- 37 - Horie H, Koike S, Kurata T, Sato-Yoshida Y, Ise I, Ota Y *et al.* Transgenic mice carrying the human poliovirus receptor: new animal models for study of poliovirus neurovirulence. *J Virol* 1994; 68 : 681-8.
- 38 - Couderc T, Delpeyroux J, Le Blay H, Blondel B. Mouse adaptation determinants of poliovirus type 1 enhance viral uncoating. *J Virol* 1996; 70 : 305-12.
- 39 - Couderc T, Guivel-Benhassine F, Calaora V, Gosselin AS, Blondel B. An *ex vivo* murine model to study poliovirus-induced apoptosis in nerve cells. *J Gen Virol* 2002; 83 : 1925-30.
- 40 - Destombes J, Couderc T, Thiesson D, Girard S, Wilt SG, Blondel B. Persistent poliovirus infection in mouse motoneurons. *J Virol* 1997; 71 : 1621-8.
- 41 - Girard S, Gosselin AS, Pelletier I, Colbère-Garapin F, Couderc T, Blondel B. Restriction of poliovirus RNA replication in persistently infected nerve cells. *J Gen Virol* 2002; 83 : 1087-93.
- 42 - Girard S, Couderc T, Destombes J, Thiesson D, Delpeyroux F, Blondel B. Poliovirus induces apoptosis in the mouse central nervous system. *J Virol* 1999; 73 : 6066-72.
- 43 - Boot HJ, Kasteel DT, Buisman AM, Kimman TG. Excretion of wild-type and vaccine-derived poliovirus in the feces of poliovirus receptor-transgenic mice. *J Virol* 2003; 77 : 6541-5.
- 44 - Ohka S, Igarashi H, Nagata N, Sakai M, Koike S, Nochi T *et al.* Establishment of a poliovirus oral infection system in human poliovirus receptor-expressing transgenic mice that are deficient in alpha/beta interferon receptor. *J Virol* 2007; 81 : 7902-912.
- 45 - Kew OM, Sutter RW, De Gourville EM, Dowdel WR, Pallansch MA. Vaccine-derived polioviruses and the endgame strategy for global polio eradication. *Annu Rev Microbiol* 2005; 59 : 587-635.
- 46 - Agol VI. Vaccine-derived polioviruses. *Biologicals* 2006; 34 : 103-8.
- 47 - WHO. Requirements for poliomyelitis vaccine (oral). *WHO Technical Report series* 1990; 800 : 30-65.
- 48 - Abe S, Ota Y, Doi Y, Nomoto A, Nomura T, Chumakov KM *et al.* Studies on neurovirulence in poliovirus-sensitive transgenic mice and cynomolgus monkeys for the different temperature-sensitive viruses derived from the Sabin type 3 virus. *Virology* 1995; 210 : 160-6.
- 49 - Nakano JH, Hatch MH, Thieme ML, Nottay B. Parameters for differentiating vaccine-derived and wild poliovirus strains. *Prog Med Virol* 1978; 24 : 178-206.
- 50 - LWOFF A, LWOFF M. Remarks on various characteristics of poliomyelitis virus development. *C R Hebd Seances Acad Sci* 1959; 248 : 1725-7.
- 51 - Gromeier M, Wimmer E, Gorbalenya AE. Genetics, pathogenesis and evolution of picornaviruses. In Domingo E, Webster RG, Holland JJ (ed.), Origin and evolution of viruses. Academic press, Inc., New York. 1999 pp287-343.
- 52 - Minor PD - Polio eradication, cessation of vaccination and re-emergence of disease. *Nat Rev Microbiol* 2004; 2 : 473-82.
- 53 - Macadam AJ, Ferguson G, Burlison J, Stone D, Skuce R, Almond JW, Minor PD. Correlation of RNA secondary structure and attenuation of Sabin vaccine strains of poliovirus in tissue culture. *Virology* 1992; 189 : 415-22.
- 54 - La Monica N, Racaniello VR. Differences in replication of attenuated and neurovirulent polioviruses in human neuroblastoma cell line SH-SY5Y. *J Virol* 1989; 63 : 2357-60.
- 55 - Haller AA, Stewart SR, Semler BL. Attenuation stem-loop lesions in the 5' noncoding region of poliovirus RNA: neuronal cell-specific translation defects. *J Virol* 1996; 70 : 1467-74.
- 56 - Freistadt MS, Eberle KE. Correlation between poliovirus type 1 Mahoney replication in blood cells and neurovirulence. *J Virol* 1996; 70 : 6486-92.
- 57 - Kew O, Morris-Glasgow V, Landaverde M, Burns C, Shaw J, Garib Z *et al.* Outbreak of poliomyelitis in Hispaniola associated with circulating type 1 vaccine-derived poliovirus. *Science* 2002; 296 : 356-9.

- 58 - Minor PD. The molecular biology of polio vaccines. *J Gen Virol* 1992; 73 : 3065-77.
- 59 - Dahourou G, Guillot S, Le Gall o, Crainic R. Genetic recombination in wild-type poliovirus. *J Gen Virol* 2002; 83 : 3103-10.
- 60 - Liu HM, Zheng DP, Zhang LB, Oberste MS, Kew OM, Pallansch MA. Serial recombination during circulation of type 1 wild-vaccine recombinant polioviruses in China. *J Virol* 2003; 77 : 10994-1005.
- 61 - Guillot S, Caro V, Cuervo N, Korotkova E, Combiescu M, Persu A *et al.* Natural genetic exchanges between vaccine and wild poliovirus strains in humans. *J Virol* 2000; 74 : 8434-43.
- 62 - Cuervo N, Guillot S, Romanenkova N, Combiescu M, Aubert-Combiescu A, Seghier M *et al.* Genomic features of intertypic recombinant Sabin poliovirus strains excreted by primary vaccinees. *J Virol* 2001; 75 : 5740-51.
- 63 - Georgescu MM, Delpeyroux F, Crainic R. Tripartite genome organization of a natural type 2 vaccine/nonvaccine recombinant poliovirus. *J Gen Virol* 1995; 76 : 2343-8.
- 64 - Liang X, Zhang Y, Xu W, Wen N, Zuo S, Lee LA *et al.* An outbreak of poliomyelitis caused by type 1 vaccine-derived poliovirus in China. *J Infect Dis* 2006; 194 : 545-51.
- 65 - Rousset D, Rakoto-Andrianarivelo M, Razafindratsimandresy R, Randriamanalina B, Guillot S, Balanant J *et al.* Recombinant vaccine-derived poliovirus in Madagascar. *Emerg Infect Dis* 2003; 9 : 885-7.
- 66 - Shimizu H, Thorley B, Paladin FJ, Brussen KA, Stambos V, Yyen L *et al.* Circulation of type 1 vaccine-derived poliovirus in the Philippines in 2001. *J Virol* 2004; 78 : 13512-21.
- 67 - WHO. Vaccine-derived polioviruses-update. *Wkly Epidemiol Rec* 2006; 81 : 398-404.
- 68 - WHO. Global update on vaccine derived polioviruses, January 2006. August 2007. *Wkly Epidemiol Rec* 2007; 82 : 337-44.
- 69 - Adu F, Iber J, Bukbuk D, Gumede N, Yang SJ, Jorba J *et al.* Isolation of recombinant type 2 vaccine-derived poliovirus (VDPV) from a Nigerian child. *Virus Res* 2007; 127 : 17-25.
- 70 - Yang CF, Naguib T, Yang SJ, Nasr E, Jorba J, Ahmed N *et al.* Circulation of endemic type 2 vaccine-derived poliovirus in Egypt from 1983 to 1993. *J Virol* 2003; 77 : 8366-77.
- 71 - Arita M, Zhu SL, Yoshida H, Yoneyama T, Miyamura T, Shimizu H. A Sabin 3-derived poliovirus recombinant contained a sequence homologous with indigenous human enterovirus species C in the viral polymerase coding region. *J Virol* 2005; 79 : 12650-7.
- 72 - Rakoto-Andrianarivelo M, Guillot S, Iber R J, Balanant J, Blondel B, Riquet F *et al.* Co-circulation and evolution of polioviruses and species C enteroviruses in a district of Madagascar. *PLoS Pathog* 2007; 3 : e191.
- 73 - MacLennan C, Dunn G, Huissoon AP, Kumararatne DS, Martin J, O'Leary P *et al.* Failure to clear persistent vaccine-derived neurovirulent poliovirus infection in an immunodeficient man. *Lancet* 2004; 363 : 1509-13.
- 74 - Fiore L, Plebani A, Buttinelli G, Fiore S, Donati V, Marturano J *et al.* Search for poliovirus long-term excretors among patients affected by agammaglobulinemia. *Clin Immunol* 2004; 111 : 98-102.
- 75 - Martin J, Dunn G, Hull R, Patel V, Minor PD. Evolution of the Sabin strain of type 3 poliovirus in an immunodeficient patient during the entire 637-day period of virus excretion. *J Virol* 2000; 74 : 3001-10.
- 76 - Martin J, Odoom K, Tuite G, Dunn G, Hopewell N, Cooper G *et al.* Long-term excretion of vaccine-derived poliovirus by a healthy child. *J Virol* 2004; 78 : 13839-47.
- 77 - Khetsuriani N, Prevots DR, Quick L, Elder ME, Pallansch M, Kew O *et al.* Persistence of vaccine-derived polioviruses among immunodeficient persons with vaccine-associated paralytic poliomyelitis. *J Infect Dis* 2003; 188 : 1845-52.
- 78 - Buttinelli G, Donati V, Fiore S, Marturano J, Plebani A, Balestri P *et al.* Nucleotide variation in Sabin type 2 poliovirus from an immunodeficient patient with poliomyelitis. *J Gen Virol* 2003; 84 : 1215-21.
- 79 - Blomqvist S, Savolainen C, Laine P, Hirttiö P, Lamminsalo E, Penttilä E *et al.* Characterization of a highly evolved vaccine-derived poliovirus type 3 isolated from sewage in Estonia. *J Virol* 2004; 78 : 4876-83.
- 80 - Cernáková B, Sobotová Z, Rovný I, Bláhova S, Roivainen M, Hovi T. Isolation of vaccine-derived polioviruses in the Slovak Republic. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 2005; 24 : 438-9.
- 81 - Matsuura K, Ishikura M, Yoshida H, Nakayama T, Hasegawa S, Ando S *et al.* Assessment of poliovirus eradication in Japan: genomic analysis of polioviruses isolated from river water and sewage in Toyama prefecture. *Appl Environ Microbiol* 2000; 66 : 5087-91.
- 82 - Shulman LM, Manor Y, Sofer D, Handsher R, Swartz T, Delpeyroux F, Mendelson E. Neurovirulent vaccine-derived polioviruses in sewage from highly immune populations. *PLoS ONE* 2006; 1 : e69.
- 83 - Yoshida H, Horie H, Matsuura K, Miyamura T. Characterisation of vaccine-derived polioviruses isolated from sewage and river water in Japan. *Lancet* 2000; 356 : 1461-3.
- 84 - Gromeier M, Bossert B, Arita M, Nomoto A, Wimmer E. Dual stem loops within the poliovirus internal ribosomal entry site control neurovirulence. *J Virol* 1999; 73 : 958-64.
- 85 - Macadam AJ, Ferguson G, Stone DM, Meredith J, Knowlson S, Auda G *et al.* Rational design of genetically stable, live-attenuated poliovirus vaccines of all three serotypes: relevance to poliomyelitis eradication. *J Virol* 2006; 80 : 8653-63.
- 86 - Wimmer E. The test-tube synthesis of a chemical called poliovirus. The simple synthesis of a virus has far-reaching societal implications. *EMBO Rep* 2006; 7 Spec No : S3-9.
- 87 - Ariat I, Nakane M, Fenner F. Public health. Is polio eradication realistic? *Science* 2006; 312 : 852-4.
- 88 - Chumakov K, Herenfeld E, Wimmer E, Agol VI. Vaccination against polio should not be stopped. *Nat Rev Microbiol* 2007; 5 : 952-8.
- 89 - Lerasle S. Confinement des poliovirus en laboratoire. *BEH* 2005 : 203-4.
- 90 - Cello J, Paul AV, Wimmer E. Chemical synthesis of poliovirus cDNA: generation of infectious virus in the absence of natural template. *Science* 2002; 297 : 1016-8.
- 91 - Jiang P, Faase JA, Toyoda H, Paul A, Wimmer E, Gorbalenya AE. Evidence for emergence of diverse polioviruses from C-cluster coxsackie A viruses and implications for global poliovirus eradication. *Proc Natl Acad Sci USA* 2007; 104 : 9457-62.
- 92 - Hovi T. Surveillance for polioviruses. *Biologicals* 2006; 34 : 123-6.
- 93 - Hull BP, Dowdel WR. Poliovirus surveillance: building the global Polio Laboratory Network. *J Infect Dis* 1997; 175 Suppl 1 : S113-6.
- 94 - Antona D. L'éradication des maladies infectieuses : l'exemple de la poliomyélite. *M/S* 2002; 18 : 55-61.
- 95 - Fenner F, Henderson D, Arita I, Jezek A, Ladnyi ID. Chapter I : The clinical features of smallpox, 1988 p. 1-68. In W. H. Organization (ed.). Smallpox and its eradication, Geneva, Switzerland.
- 96 - Agol VI, Chumakov K, Herenfeld E, Wimmer E. Don't drop current vaccine until we have new ones. *Nature* 2005; 435 : 881.
- 97 - Kitamura N, Semler BL, Rothberg PG, Larsen GR, Adler CJ, Dörner AJ *et al.* Primary structure, gene organization and polypeptide expression of poliovirus RNA. *Nature* 1981; 291 : 547-53.
- 98 - Wimmer E, Hellen CU, Cao XM. Genetics of poliovirus. *Ann Rev Genet* 1993; 27 : 353-436.