

CONFÉRENCES DU CENTENAIRE DE LA SPE

La grippe H5N1.

Kruy S.L. (1), Y. Buisson (2) & P. Buchy (1)

(1) Institut Pasteur du Cambodge, 5 boulevard Monivong, BP 983, Phnom Penh, Cambodge.

(2) Institut de la francophonie pour la médecine tropicale, Ban Kaognoth, rue Samsenthai, Vientiane, Laos

Manuscrit n° 3215 bf. "Conférences du centenaire de la SPE".

Summary: Avian influenza H5N1.

The emergence of the first human cases of avian influenza in Hong Kong in 1997 has raised fears of a new pandemic originating from the Asian continent. Despite unprecedented international mobilization, first to stop then to limit its diffusion, the highly pathogenic avian virus A/H5N1 has successfully spread in Asia, Europe and Africa by successive epizootic outbreaks affecting migratory birds and poultry. Transmission from animals to humans is uncommon but severe with a fatality rate exceeding 60% in confirmed cases.

Nearly half of the countries struck by the disease is in Asia. With 87% of confirmed cases and 91% of deaths, Asia is also one of the continent most heavily affected. Like the neighbouring countries in South-East Asia, Cambodia has been repeatedly hit by avian flu in the recent years. The measures implemented to prevent the spread of A/H5N1 virus in farms, to improve the behaviour of farmers and to clean up the poultry markets emphasize the multiple difficulties to control this zoonosis. Meanwhile, influenza surveillance is being carried out in humans, based on a reporting system and a network of sentinel hospitals connected to the Institut Pasteur du Cambodge. Thus, Cambodia takes an active part in the wide international network which should quickly detect any mutational event among avian flu viruses that might lead to the emergence of a pandemic.

Résumé :

L'émergence des premiers cas humains de grippe aviaire à Hong Kong en 1997 a fait resurgir la crainte d'une nouvelle pandémie venue du continent asiatique. Malgré une mobilisation internationale considérable visant d'abord à l'éradiquer, puis à limiter sa diffusion, le virus aviaire hautement pathogène A/H5N1 a pu se propager en Asie, en Europe et en Afrique par des flambées épizootiques successives affectant les oiseaux migrateurs et les oiseaux d'élevage. La transmission de l'animal à l'homme reste peu fréquente, mais l'infection est redoutable avec un taux de létalité supérieur à 60 % des cas confirmés.

Près de la moitié des pays touchés par l'épizootie est en Asie. Avec 87 % des cas confirmés dans le monde et 91 % des décès, c'est aussi le continent qui paye le plus lourd tribut humain. Comme les pays voisins du Sud-Est asiatique, le Cambodge a été plusieurs fois touché par la grippe aviaire au cours des dernières années. Les mesures appliquées pour enrayer la propagation du virus A/H5N1 dans les élevages avicoles, pour changer le comportement des éleveurs et pour assainir le commerce des volailles illustrent toute la complexité de la lutte contre cette zoonose. Parallèlement, la mise en place d'une surveillance de la grippe chez l'homme, reposant sur un système de déclaration et sur un réseau d'hôpitaux sentinelles connectés à l'Institut Pasteur du Cambodge, place ce petit pays au cœur du grand dispositif international dont la vigilance devrait permettre de détecter dans les meilleurs délais tout événement mutationnel pouvant aboutir à l'émergence d'un variant pandémique.

**avian influenza
influenza virus A/H5N1
epizootic
epidemiologic surveillance
Cambodia
South-East Asia**

**grippe aviaire
virus de la grippe A/H5N1
épizootie
surveillance épidémiologique
Cambodge
Asie du Sud-Est**

Introduction

Le XX^e siècle a été marqué par trois grandes pandémies de grippe : la grippe espagnole due au virus A/H1N1 en 1918, la grippe asiatique due au virus A/H2N2 en 1957 et la grippe de Hong Kong due au virus A/H3N2 en 1968. Trois décennies plus tard, c'est précisément à Hong Kong qu'un virus grippal de sous-type A/H5N1, hautement pathogène pour les élevages de volaille, vient raviver pendant quelques semaines la peur d'une nouvelle pandémie. Sa réapparition à la fin de l'année 2003, sa diffusion épizootique dans de nombreux pays d'Asie, puis en Europe et en Afrique et son taux de létalité élevé chez l'homme, en font un candidat potentiel pour devenir l'agent de la première pandémie du XXI^e siècle.

L'Asie, berceau des virus grippaux pandémiques ?

Il serait injuste et inexact d'affirmer que toutes les émergences virales viennent d'Extrême-Orient. Les fièvres hémorragiques virales africaines et américaines et l'épidémie de VIH/sida sont des exemples qui suffisent à contredire de telles assertions. Pourtant, avec les émergences apparues depuis l'avènement du nouveau millénaire, syndrome respiratoire aigu sévère (SRAS) et grippe aviaire H5N1, c'est bien vers l'est que convergent inquiétudes et pressentiments. Le virus grippal A/H5N1, hautement pathogène, a été isolé pour la première fois en 1997, dans la région de Guandong, en Chine, lors d'une épizootie de faible ampleur touchant les

élevages d'oies. Il a été identifié par la formule : A/Goose/Guangdong/1/96. Alors qu'on pensait les virus aviaires incapables d'infecter l'homme, les premiers cas humains ont été détectés la même année à Hong Kong chez 18 patients (dont 6 sont décédés), dans un contexte épidémiologique affectant les élevages de volailles. Il a pu être démontré par les études génétiques que le virus A/H5N1 avait été transmis directement des volailles contaminées à l'homme. Afin d'interrompre très vite le développement d'une éventuelle pandémie, les autorités sanitaires ont décidé l'abattage de toutes les volailles de Hong Kong, soit un million et demi d'oiseaux en trois jours. Cette mesure vigoureuse s'est révélée efficace, aucun nouveau cas de grippe aviaire n'étant apparu pas la suite (20).

Le virus A/H5N1 n'avait pourtant pas disparu, des épizooties étant signalées en mai 2001, puis en février 2003 dans le Sud-Est asiatique. Mais il avait génétiquement évolué, comme en témoignent sa diffusion fulgurante dans huit pays de la région à partir du mois de décembre 2003 (Corée du Sud, Vietnam, Japon, Thaïlande, Cambodge, Chine, Indonésie, Laos) et sa capacité à infecter un grand nombre d'espèces animales (canards, oiseaux sauvages, Félidés, Canidés). En 2005, la Russie, le Kazakhstan, la Mongolie, puis l'Inde, le Moyen-Orient, l'Europe et l'Afrique étaient touchés (3). Selon l'Office international des épizooties (OIE), le virus A/H5N1 a été identifié dans 63 pays, dont 28 pays d'Asie. Depuis 2004, en date du 1^{er} mars 2008, 368 cas humains de grippe A/H5N1 ont été diagnostiqués dans 14 pays, le taux de létalité restant très élevé, supérieur à 60 %. La situation en Indonésie est particulièrement préoccupante car, malgré tous les efforts nationaux et internationaux déployés, le virus A/H5N1 a déjà infecté 127 patients et causé la mort de 103 d'entre eux (<http://www.info.gov.hk/info/flu/eng/global.htm>). L'analyse génétique et antigénique des isolats collectés entre 2003 et 2005 dans les pays asiatiques révèle une grande diversité génétique (4), les virus ayant évolué en groupes phylogénétiques distincts appelés clades, qui diffèrent non seulement par leur séquence nucléotidique, mais également par leurs caractères antigéniques. On distingue trois clades de virus A/H5N1 : les virus de clade 1 ont été identifiés au Vietnam, au Cambodge, en Thaïlande, au Laos et en Malaisie. Les virus de clade 2, ayant une grande diversité génétique, sont classés en sous-clades (2.1, 2.2, 2.3, etc.) différemment répartis dans le monde et à l'origine de grandes vagues épidémiologiques et de la majorité des infections humaines. Les virus de clade 3 étaient restés limités à Hong Kong (19).

L'accumulation des mutations d'adaptation, aboutissant à une telle diversité génétique, pourrait conduire *in fine* à l'émergence d'un virus à potentiel pandémique. Il semble que ce soit un mécanisme de cet ordre qui ait fait émerger le virus A/H1N1 responsable de la grippe espagnole en 1918.

Virus aviaires et épizooties

L'analyse phylogénétique des virus de la grippe nous apprend qu'ils ont tous une origine aviaire plus ou moins lointaine, certains variants ayant pu franchir la barrière d'espèce et s'adapter à différentes espèces de mammifères. Les 16 types d'hémagglutinine connus (H1 à H16) et les 9 types de neuraminidase connus (N1 à N9) sont tous présents parmi les virus aviaires. Ces virus ne présentent que de très lentes évolutions génétiques chez leurs hôtes naturels (18). Les oiseaux sauvages, notamment les canards migrateurs chez lesquels l'infection est souvent inapparente, constituent donc le véritable réservoir des virus de grippe. La volaille peut être infectée par des virus peu pathogènes, responsables d'affections bénignes,

et des virus hautement pathogènes (HP), possédant l'hémagglutinine H5 ou H7. Ces derniers envahissent rapidement de multiples organes, occasionnant des hémorragies internes massives caractéristiques. Ils peuvent anéantir des élevages de poulets en moins de 48 heures. Au plan génomique, les virus HP diffèrent des virus peu pathogènes par le site de clivage de l'hémagglutinine : une séquence de plusieurs acides aminés possédant des radicaux basiques permet à des protéases cellulaires très ubiquitaires, présentes chez un grand nombre d'espèces, de cliver l'hémagglutinine et favorise ainsi l'entrée du virus dans de nombreuses cellules et sa diffusion dans l'organisme infecté (23).

Il n'est cependant pas encore clairement établi si les oiseaux sauvages migrateurs constituent, à eux seuls, le réservoir de virus A/H5N1. Certains d'entre eux contribuent à véhiculer le virus, bien que peu d'espèces soient infectées de manière totalement asymptomatique. Ce sont le plus souvent des oiseaux contaminés qui, au cours de leur voyage, transmettent le virus à d'autres oiseaux, sauvages ou domestiques, avant de mourir prématurément de leur infection (8). Les petites collections d'eau douce ou saumâtre, contaminées par les déjections d'oiseaux infectés, sont propices à ces échanges de virus entre individus de même espèce venant de régions différentes ou entre individus d'espèces différentes. Excrétés en grandes quantités dans les fientes d'oiseaux, les virus grippaux peuvent survivre un mois à 4 °C et sept jours à 20 °C. Ainsi, l'eau des mares peut conserver le virus plusieurs semaines en saison froide.

Les mouvements migratoires ne se limitent pas aux déplacements des pays froids vers les pays chauds; il existe aussi des migrations intertropicales, nombreuses, mais de moins grande ampleur. Parmi les multiples itinéraires connus, plusieurs passent par la Chine. En 2005, une épizootie apparue parmi les oiseaux migrateurs du lac Qinghai en Chine a été suivie de l'éclosion de plusieurs foyers secondaires le long de leurs voies de migration (5). Les virus de clade 2.2 isolés dans des élevages avicoles et chez quelques malades étaient très proches de ceux isolés chez les oiseaux du grand lac chinois. Mais la diffusion du virus n'est pas seulement due aux oiseaux migrateurs; les échanges commerciaux de volailles ou de produits d'origine aviaire jouent un rôle prépondérant (13). D'autres vecteurs facilitent sa propagation de ferme en ferme, parfois sur de longues distances : déjections de volailles souvent utilisées comme engrais ou comme nourriture pour les poissons, objets souillés (cages, semelles de chaussures, roues de véhicules). Les marchés de volailles vivantes ont un rôle amplificateur : contaminées au contact d'animaux infectés, des volailles non vendues le jour même et rapportées dans les fermes d'origine peuvent à leur tour contaminer tout l'élevage (photo 1) (12). Les combats de coqs, très prisés en Asie, sont également l'occasion pour le virus de passer facilement d'un élevage à l'autre et même d'une région à une autre.

Les répercussions économiques et sociales de la diffusion du virus A/H5N1 dans les volailles d'élevage sont considérables, l'infection et l'abattage réduisant les effectifs de 15 à 20 % en Thaïlande, au Vietnam, en Chine et en Indonésie. De plus, la peur des contaminations entraîne une diminution de la consommation et une chute des prix, affectant gravement la filière avicole au niveau des petits élevages domestiques.

Le Vietnam, la Malaisie, la Thaïlande ou la Corée ont, à plusieurs reprises, essayé d'éradiquer la grippe aviaire de leur territoire par de vigoureuses campagnes d'abattage ou de vaccination des volailles. Malgré quelques périodes de répit, aucune de ces mesures n'a pu empêcher la réapparition de virus H5N1 dans ces pays.

Photo 1.

Promiscuité entre espèces de volailles vivantes vendues au marché de Phnom Penh, mars 2008 (photographie BUCHY P).
Different species of live-poultry living in close quarters sold at the Phnom Penh market, in March 2008 (photo BUCHY P).



Passage chez l'homme du virus A/H5N1

L'une des redoutables caractéristiques du virus aviaire A/H5N1 est sa capacité de franchir la barrière d'espèce et d'infecter l'homme parmi d'autres mammifères (tigres, chats, chiens, souris, furets, *etc.*). L'origine de la contamination est généralement facile à établir. Ce sont les contacts directs avec des volailles infectées (capture, abattage, plumée, éviscération, découpe) ou certaines pratiques alimentaires traditionnelles (consommation de sang cru ou de viande mal cuite). Les oiseaux de basse-cour circulent librement dans les habitations et souillent l'environnement de leurs fientes. Cette promiscuité homme-volailles, très répandue dans les élevages traditionnels asiatiques, devrait s'accompagner d'une incidence des cas humains beaucoup plus élevée parmi la population exposée (fermiers, grossistes et détaillants, clients des marchés, agents des services vétérinaires, *etc.*). Heureusement, le virus A/H5N1 est resté, jusqu'à présent, peu transmissible de l'animal à l'homme et surtout d'homme à homme. La difficulté de documenter une transmission interhumaine avec certitude, c'est-à-dire après avoir exclu toute source commune de contamination, fait que les cas avérés sont rares (16, 22). La découverte de virus A/H5N1 dans le sang et le rectum de certains patients peut faire envisager d'autres voies potentielles de contamination interhumaine que la projection aérienne des gouttelettes de Pflügge (2).

Chez l'homme, le virus A/H5N1 provoque une grippe singulière par son expression clinique et sa gravité. Tous les cas humains survenus jusqu'en 2005 ont été observés en Asie du Sud-Est et en Chine. C'est donc parmi les malades vietnamiens, thaïlandais, cambodgiens, indonésiens et chinois que les manifestations cliniques de l'infection ont été le mieux décrites. Ce sont pour la plupart des patients jeunes, dont l'âge moyen est de 18 ans avec des extrêmes de 3 mois à 75 ans (20).

Après une incubation de 2 à 8 jours, le syndrome grippal s'accompagne volontiers de diarrhées, de vomissements et de douleurs abdominales pouvant orienter le diagnostic vers une infection digestive (1, 2, 9, 21). Un tableau d'encéphalite aiguë peut aussi s'observer et égarer le diagnostic un certain temps (10). L'aggravation des troubles respiratoires après quelques jours d'évolution, l'apparition d'une dyspnée sévère et la détérioration rapide de l'état général nécessitant une assistance respiratoire caractérisent l'infection par le virus A/H5N1. La radiographie du thorax révèle une pneumopathie sévère avec des opacités diffuses s'étendant dans les deux champs pulmonaires. La gazométrie artérielle confirme l'hypoxémie. Les

examens biologiques montrent habituellement une lymphopénie avec inversion du rapport CD4/CD8, une thrombopénie modérée, une élévation des transaminases, de la créatinine, de la créatine kinase et de la lactate déshydrogénase. Des taux élevés de cytokines et de chimiokines de l'inflammation et l'existence d'un syndrome d'hémophagocytose, impliqués dans la pathogénèse des formes graves, annoncent une réponse systémique majeure à l'agression virale (11). C'est l'association d'un syndrome de détresse respiratoire aiguë (SDRA) et de défaillances viscérales multiples qui précipite l'évolution, le décès ne pouvant être évité dans plus de la moitié des cas (2, 7, 11). Les taux de létalité les plus élevés (100 % au Cambodge et au Laos) relèvent d'un retard à l'hospitalisation et à la prise en charge thérapeutique des patients infectés.

Le traitement repose sur les inhibiteurs de la neuraminidase. L'oseltamivir (Tamiflu®) est prescrit à la posologie de 150 mg par jour pendant 7 à 10 jours à partir de l'âge de 12 ans et à des doses ajustées au poids entre 1 et 12 ans. Il doit être administré de préférence dans les 12 heures suivant l'apparition des premiers symptômes; il est sans efficacité après 48 heures. Ces conditions sont souvent difficiles à remplir, l'expression clinique de la maladie étant initialement peu spécifique, surtout dans les pays où les structures sanitaires demeurent insuffisamment développées. Le zanamivir (Relenza®) est administré par inhalation à partir de l'âge de 5 ans, ce qui réserve son emploi chez les patients n'ayant pas d'altération de la fonction respiratoire.

L'utilisation des inhibiteurs de la pompe à protons (amantadine et rimantadine) en monothérapie n'est pas recommandée en raison du fort degré de résistance des virus de clade 1, les virus indonésiens et chinois de clade 2 restant toutefois parfois sensibles (6).

L'expérience cambodgienne

Le Cambodge est un des pays les plus pauvres de l'Asie du Sud-Est. Ses ressources sont essentiellement rurales, 79 % de la population et des emplois appartenant au monde paysan. La plupart des exploitations familiales possèdent un petit élevage familial où poulets, canards, porcs, et animaux de compagnie (chiens, chats) vivent en étroite promiscuité avec l'homme. L'élevage des volailles est un appoint indispensable

Photo 2.

Transport des volailles sur motocyclette depuis les élevages vers les marchés de Phnom Penh (photographie SARTHOU J.-L.).
Transport of poultry on motorbike from livestock farms to the Phnom Penh markets (photograph SARTHOU J.-L.).



Photo 3.

Abattage « artisanal », sans protection individuelle, de volailles de diverses espèces dans le marché de Phnom Penh, mars 2008 (photographie BUCHY P.).
 "Traditional way" of killing different species of poultry at the Phnom Penh market, without any protection, March 2008 (photograph BUCHY P.).



pour l'alimentation et pour l'équilibre économique des familles les moins aisées, qui sont les plus nombreuses.

L'approvisionnement des marchés se fait à partir des fermes par transport artisanal de volailles vivantes en camions ou à motocyclette (photo 2). Les conditions de vente et d'abattage respectent rarement les recommandations des autorités sanitaires pour la prophylaxie de la transmission de la grippe aviaire (photo 3).

La transmission du virus A/H5N1 entre oiseaux sauvages et domestiques, entre différents élevages de volaille et des volailles à l'homme est partout possible. De plus, en l'absence de compensations financières, les paysans tendent à dissimuler les événements de surmortalité qui affectent leurs basses-cours.

À la différence de son voisin vietnamien, le Cambodge n'a pas eu recours à la vaccination de masse des élevages aviaires contre l'hémagglutinine H5, intervention coûteuse, exigeant une organisation très rigoureuse et la mise en oeuvre de mesures lourdes et contraignantes, mais n'évitant pas toujours une circulation occulte du virus dans les élevages (15). Le Ministère de l'agriculture a opté pour une politique d'abattage sélectif des élevages contaminés et des élevages situés en périphérie. Afin de détecter précocement les foyers de grippe aviaire, les services vétérinaires cambodgiens ont instauré une surveillance active des grands marchés, complétée par une analyse virologique systématique des échantillons biologiques collectés. Des agents de santé animale ont été recrutés et affectés dans les régions les plus sensibles. Un « numéro vert » est accessible aux paysans désirant déclarer une mortalité aviaire anormale ou s'informer.

Le Ministère de la santé a mis en place un système de surveillance de la grippe reposant sur la déclaration systématique des pneumopathies suspectes par les médecins des dispensaires et des hôpitaux auprès du département des maladies transmissibles. Ici aussi, un « numéro vert » peut être utilisé par toute personne souhaitant s'informer ou signaler un cas suspect dans son entourage. Un réseau de surveillance hospitalière des infections grippales a été institué, constitué d'hôpitaux sentinelles et du Centre national de référence de la grippe implanté à l'Institut Pasteur du Cambodge (IPC).

Les services de santé de chaque province ont bénéficié d'une formation pour la prise en charge immédiate des cas de grippe

aviaire et ont été dotés en kits de prélèvements. Tout cas suspect est prélevé. Les échantillons biologiques (sérum, écouvillons naso-pharyngés et rectaux) sont acheminés en double emballage isotherme à 4 °C dans l'unité de virologie de l'IPC. Suivant les recommandations de l'Organisation mondiale de la santé (OMS), le diagnostic repose sur des techniques rapides de biologie moléculaire : réaction de polymérisation en chaîne après transcription inverse (RT-PCR) en temps réel pour la détection et la quantification des gènes H5, M et N1 (2, 14). En cas de résultat positif, une enquête épidémiologique est diligentée par le Ministère de la santé avec l'OMS et l'IPC pour rechercher des cas connexes, analyser les facteurs d'exposition et détecter le virus chez les sujets contacts. Ainsi, une enquête séro-épidémiologique a été réalisée en 2005 sur 351 habitants d'un village affecté par la grippe aviaire et où un patient venait de décéder; l'absence de séroconversion anti-H5N1 a confirmé la faible transmissibilité du virus à l'homme (17). D'autres enquêtes, réalisées en 2006 et 2007 selon une méthodologie similaire, mais à l'aide d'outils diagnostiques novateurs, ont montré que le virus A/H5N1 pouvait parfois infecter l'homme sans occasionner de symptôme majeur, mais ont confirmé que sa transmissibilité interhumaine demeurait très faible (résultats soumis pour publication).

L'attitude des autorités sanitaires du Cambodge face à la menace que représente la grippe aviaire peut être considérée comme exemplaire. Un comité intersectoriel, réunissant chaque semaine les principaux acteurs de la santé humaine et animale, a pu organiser un partage immédiat des informations et la prise de décisions pertinentes et efficaces pour limiter l'extension des foyers épizootiques. La création d'un réseau de surveillance de la grippe permet de décrire une épidémiologie jusqu'à présent inconnue dans la région. Ainsi a été mise en évidence une co-circulation du virus A/H5N1 et des virus de la grippe saisonnière pendant la saison sèche (de janvier à avril) qui se prolonge pendant la mousson (mai à octobre). Dans ce contexte, la probabilité de co-infections génératrices de recombinaisons génétiques doit être prise en considération avec le risque d'émergence d'un virus pandémique.

Conclusion

Comme ses voisins asiatiques, le Cambodge prend une part active, malgré des ressources humaines et financières limitées, à un effort sans précédent de lutte contre une pandémie annoncée, contribuant probablement à en différer la survenue, sinon à l'éviter.

Références bibliographiques

1. APISARNTHANARAK A, KITPHATI R, THONGPHUBETH K, PATOUMANUNT P, ANTHANONT P *et al.* – Atypical avian influenza (H5N1). *Emerg Infect Dis*, 2004, **10**, 1321-1324.
2. BUCHY P, MARDY S, VONG S, TOYODA T, AUBIN JT *et al.* – Influenza A/H5N1 virus infection in humans in Cambodia. *J Clin Virol*, 2007, **39**, 164-168.
3. CENTRE FOR HEALTH PROTECTION – Global statistics of Avian Influenza 2006 (Centre for Health Protection, Department of Health, Hong Kong SAR, China), disponible à www.info.gov.hk/info/flu/eng/global.htm (consulté le 2 décembre 2006).
4. CHEN H, SMITH GJD, LI KS, WANG J, FAN XH *et al.* – Establishment of multiple sublineages of H5N1 influenza virus in Asia: implications for pandemic control. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2006, **103**, 2845-2850.
5. CHEN H, SMITH GJD, ZHANG SY, QIN K, WANG J *et al.* – Avian flu: H5N1 virus outbreak in migratory waterfowl. *Nature*, 2005, **436**, 191-192.

6. CHEUNG C-L, RAYNER JM, SMITH GJD, WANG P, NAIPOSSOS TSP *et al.* – Distribution of amantadine-resistant H5N1 avian influenza variants in Asia. *J Infect Dis*, 2006, **193**, 1626-1629.
7. CHUTINIMITKUL S, BHATTARAKOSOL P, SRISURATANON S, EIAMUDOMKAN A, KONGSOMBOON K *et al.* – H5N1 influenza A virus and infected human plasma. *Emerg Infect Dis*, 2006, **12**, 1041-1043.
8. FEARE CJ – The Role of Wild Birds in the Spread of HPAI H5N1. *Avian Dis*, 2007, **51**, 440-447.
9. HIEN TT, LIEM NT, DUNG NT, SAN LT, MAI PP *et al.* – Avian influenza A (H5N1) in 10 patients in Vietnam. *N Engl J Med*, 2004, **350**, 1179-1188.
10. DE JONG MD, BACH VC, PHAN TQ, VO MH, TRAN TT *et al.* – Fatal avian influenza A (H5N1) in a child presenting with diarrhea followed by coma. *N Engl J Med*, 2005, **352**, 686-691.
11. DE JONG MD, SIMMONS CP, THANH TT, HIEN VM, SMITH GJD *et al.* – Fatal outcome of human influenza A (H5N1) is associated with a high viral load and hypercytokinemia. *Nat Med*, 2006, **12**, 1203-1207.
12. KUNG NY, GUAN Y, PERKINS NR, BISSET L, ELLIS T *et al.* – The impact of a monthly rest day on avian influenza virus isolation rates in retail live poultry markets in Hong Kong. *Avian Dis*, 2003, **47**, 1037-1041.
13. LI Y, LIN Z, SHI J, QI Q, DENG G *et al.* – Detection of Hong Kong 97-like H5N1 influenza viruses from eggs of Vietnamese waterfowl. *Arch Virol*, 2006, **151**, 1615-1624.
14. ORG MOND SANTÉ – Recommendations and laboratory procedures for detection of avian influenza A(H5N1) virus in specimens from suspected human cases. 2007. http://www.who.int/csr/disease/avian_influenza/guidelines/labtests/en/index.html
15. SAVILL NJ, ST ROSE SG, KEELING MJ & WOOLHOUSE MEJ – Silent spread of H5N1 in a vaccinated poultry. *Nature*, 2006, **442**, 757.
16. UNGCHUSAK K, AUEWARAKUL P, DOWELL SF, KITPHATI R, AUWANIT W *et al.* – Probable person-to-person transmission of avian influenza A (H5N1). *N Engl J Med*, 2005, **352**, 333-340.
17. VONG S, COGLAN B, MARDY S, HOLL D, SENG H *et al.* – Low frequency of poultry-to-human H5N1 virus transmission, Southern Cambodia, 2005. *Emerg Infect Dis*, 2006, **10**, 1542-1547.
18. WEBSTER RG & GOVORKOVA EA – H5N1 influenza – continuing evolution and spread. *N Engl J Med*, 2006, **355**, 2174-2177.
19. WORLD HEALTH ORGANIZATION GLOBAL INFLUENZA PROGRAM SURVEILLANCE NETWORK – Evolution of H5N1 avian influenza viruses in Asia. *Emerg Infect Dis*, 2005, **10**, 1515-1521.
20. WHO – Epidemiology of WHO-confirmed human cases of avian influenza A(H5N1) infection. *WER*, 2006, **81**, 249-257.
21. WRITING COMMITTEE OF THE SECOND WORLD HEALTH ORGANIZATION CONSULTATION ON CLINICAL ASPECTS OF HUMAN INFECTION WITH AVIAN INFLUENZA A(H5N1) – Update on Avian Influenza A (H5N1) Virus Infection in Humans. *N Engl J Med*, 2008, **358**, 261-273.
22. YANG Y, HALLORAN EM, SUGIMOTO JD & LONGINI IM – Detecting Human-to-Human Transmission of Avian Influenza A (H5N1). *Emerg Infect Dis*, 2007, **13**, 1348-1353.
23. ZAMBON MC – The pathogenesis of influenza in humans. *Rev Med Virol*, 2006, **11**, 227-241.