

Orthomyxoviridae : Les Virus de la Grippe

1. Introduction- Historique :

La grippe : Maladie infectieuse virale à tropisme respiratoire, très contagieuse

- «grippe» ←← «greifen» = saisir
- «Influenza di freddo»: maladie sous l'influence du froid

03 pandémies mondiales :

- Grippe espagnole A (H1N1) de 1918
- Grippe asiatique A(H2N2) de 1957
- Grippe de Hong Kong A(H3N2) de 1968
- Grippe A(H1N1)v de 2009 : pandémie ou épidémie ??

2. Classification :

Famille : **Orthomyxoviridae**

Genres : **Influenzavirus A, Influenzavirus B, Influenzavirus C**

Trois types de virus grippaux : A, B et C selon la **nucléoprotéine**

Un grand nombre de **sous-types viraux (et de variants)** du virus de type A

• **Type A :**

- chez l'homme et d'autres espèces animales
- oiseaux: réservoir naturel du virus
- épidémies et pandémies
- atteint tous les groupes d'âges

• **Type B :**

- uniquement chez l'homme
- épidémique
- affecte essentiellement les enfants

• **Type C :**

- Rarement observé
- non épidémique

3. Structure du virus :

Virus enveloppés de forme sphérique de 80-120 nm de diamètre portant deux types de spicules formés par des glycoprotéines virales membranaires :

l'hémagglutinine et la neuraminidase qui sont présentes à la surface des virus

de type A ou B alors que les virus grippaux de type C n'en comportent que l'hémagglutinine estérase.

Les antigènes de surface hémagglutinine et neuraminidase déterminent le sous type viral.

Hémagglutinine HA : 16 types antigéniques décrits (H1 à H16) : rôle dans :

- Attachement au récepteur cellulaire (acide sialique)
- Activité fusogène
- Potentiel d'hémagglutination (diagnostic)
- Liaison à la mucine (tractus respiratoire)
- Induction d'anticorps neutralisants et protecteurs

Neuraminidase NA : 09 types antigéniques décrits : N1 à N9 : rôle dans :

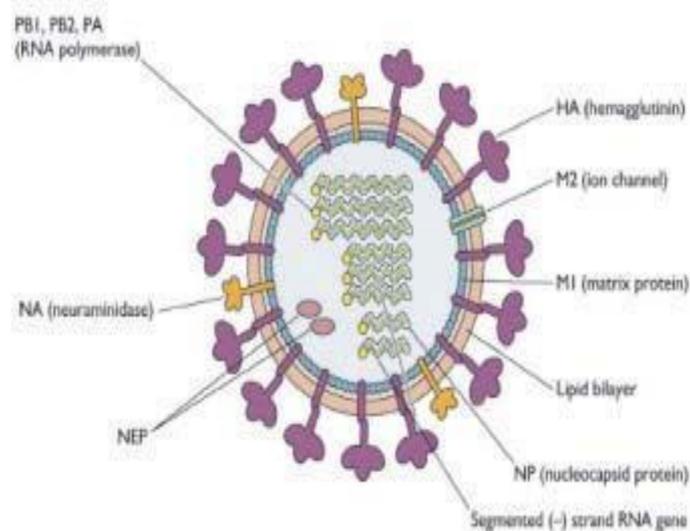
- Destruction du récepteur cellulaire
- Hydrolyse de l'acide sialique et de la mucine
- Aide à la libération des virions nouvellement formés
- Induction d'une immunité partielle

L'enveloppe virale comporte également **une protéine** intégrée dans la membrane **M2** pour le type A ou NB ou CM2 pour les types B et C respectivement.

La capside est tubulaire à **symétrie hélicoïdale**.

Le génome est une **ARN simple brin de polarité négative segmenté**. On dénombre 08 segments pour les virus de type A et B et 07 segments pour les virus de type C. Les segments d'ARN sont associés aux nucléoprotéines (NP) et au complexe de transcription réplication du virus formé des protéines PB1, PB2 et PA (ou P3 pour les virus de type C).

Structure du virus de la grippe de type A



4. Nomenclature des virus grippaux :

Type / (Origine) / Localisation / N°isolat / Année d'isolement / Sous-type HA et NA

Exemple: **A/California/7/2009/ (H1N1)**

5. Multiplication du virus :

Les virus grippaux infectent de **nombreuses espèces animales** : les oiseaux +++, les mammifères terrestres (porc, cheval) et marins (baleine, phoque). Mais aussi l'homme.

Culture cellulaire :

Principalement deux systèmes d'isolement de virus grippaux :

- + La lignée continue MDCK : cellules épithéliales de rein de chien
- + Œufs de poule embryonné (11 jours) par voie amniotique ou allantoïque : c'est le système de choix pour l'isolement **des virus grippaux aviaires**. Les vaccins antigrippaux humains actuels sont produits sur œufs de poule embryonnés.

D'autres lignées cellulaires (Vero, SK) ou des lignées primaires (fibroblastes embryonnaires de poulet, cellules épithéliales de rein de singe) sont aussi permissives.

Cycle répliatif :

Les étapes de la multiplication virale :

- Adsorption du virus à la surface de la cellule par interaction de l'HA avec son récepteur **l'acide N-acétylneuraminique ou acide sialique**. Selon les virus on observe une préférence pour les acides sialiques liés à du galactose de type NeuAa2,3Gal (virus aviaires, équins) ou de type NeuAa 2,6Gal (virus humains)
- Pénétration du virus par endocytose
- Abaissement du Ph dans les endosomes et changement conformationnel de l'HA qui conduit à la fusion entre l'enveloppe virale et la membrane de l'endosome et la libération des ribonucléoprotéines dans le cytoplasme avec dissociation de la protéine M1 des RNP
- Migration des ribonucléoprotéines vers le noyau
- Transcription et répliation du génome viral dans le noyau : intervention des trois sous unités du complexe polymérase (PB1,PB2 et PA)
- Les RNP néoformés sont exportés vers le cytoplasme : les protéines NS2 et M1 favorisent le passage des RNP hors du noyau

- Synthèse des protéines d'enveloppe au niveau du réticulum endoplasmique et modification post traductionnelles (clivage, glycosylation et oligomérisation) après passage par l'appareil eGOlgi
- insertion des protéines virales dans la membrane plasmique à la face apicale des cellules polarisées
- assemblage des RNP et des protéines d'enveloppe et sortie des virions par bourgeonnement
- libération des virions néoformés sous l'action de la neuraminidase par son activité sialidase

6. Epidémiologie :

Les virus grippaux se transmettent efficacement par voie respiratoire.

La transmission est **aérienne directe** lors de toux ou d'éternuement.

Mais une **transmission indirecte** par voie manuportée ou par le biais d'objets contaminés est également possible.

Dans les pays tempérés, la grippe survient sous forme d'épidémies annuelles entre la mi-automne et la mi-printemps alors que dans certains pays tropicaux la grippe peut sévir toute l'année.

La grippe évolue sous forme d'**épidémies annuelles** ou sous forme de **pandémies**.

Les épidémies annuelles peuvent être le fait de la circulation exclusive ou prédominante d'un seul type ou sous type viral ou à la circulation concomitante de virus A (H1N1) et A (H3N2) voire de virus A et B.

Les pandémies sont le fait exclusif de virus de type A et il est impossible à l'heure actuelle de prédire la fréquence de leur survenue.

Variabilité génétique des virus grippaux :

L'enchaînement des cycles épidémiques et la survenue des pandémies grippales sont liées à la **variabilité génétique des virus grippaux**.

Cette variabilité génétique leur permet d'échapper à la réponse immunitaire de l'hôte suite à des variations antigéniques des glycoprotéines de surface.

Deux types de variations antigéniques ont été décrits :

❖ Le glissement antigénique ou dérive antigénique ou drift :

C'est un phénomène constant qui résulte de l'accumulation de mutations ponctuelles du génome viral et qui affecte les virus de type A et B. Le glissement antigénique est à l'origine de l'apparition de nouveaux variants (sans changements de sous types viraux déjà existants) et est à la base de la reformulation annuelle du vaccin antigrippal.

❖ La cassure antigénique ou shift :

Ne s'observe que pour les virus de type A. C'est le résultat de l'échange de segments de gènes entre sous types de virus de type A. Elle conduit à **l'émergence d'un nouveau sous type viral** vis-à-vis duquel la population humaine

n'est pas immunisée (absence de vaccin disponible du moment que la souche n'a pas encore été caractérisée). Les cassures antigéniques ont été à l'origine des **pandémies grippales** (grippe espagnole en 1918-1919, grippe asiatique en 1957, grippe de Hong Kong en 1968 avec l'émergence des sous types A(H1N1), A(H2N2) et A(H3N2) respectivement).

Les réassortiments génétiques des virus grippaux :

Echanges génétiques de segments entre virus affectant des espèces différentes avec **recombinaison génétique** et émergence de nouveaux virus portant les gènes des espèces d'origine.

Réassortiment virus porcins-humains

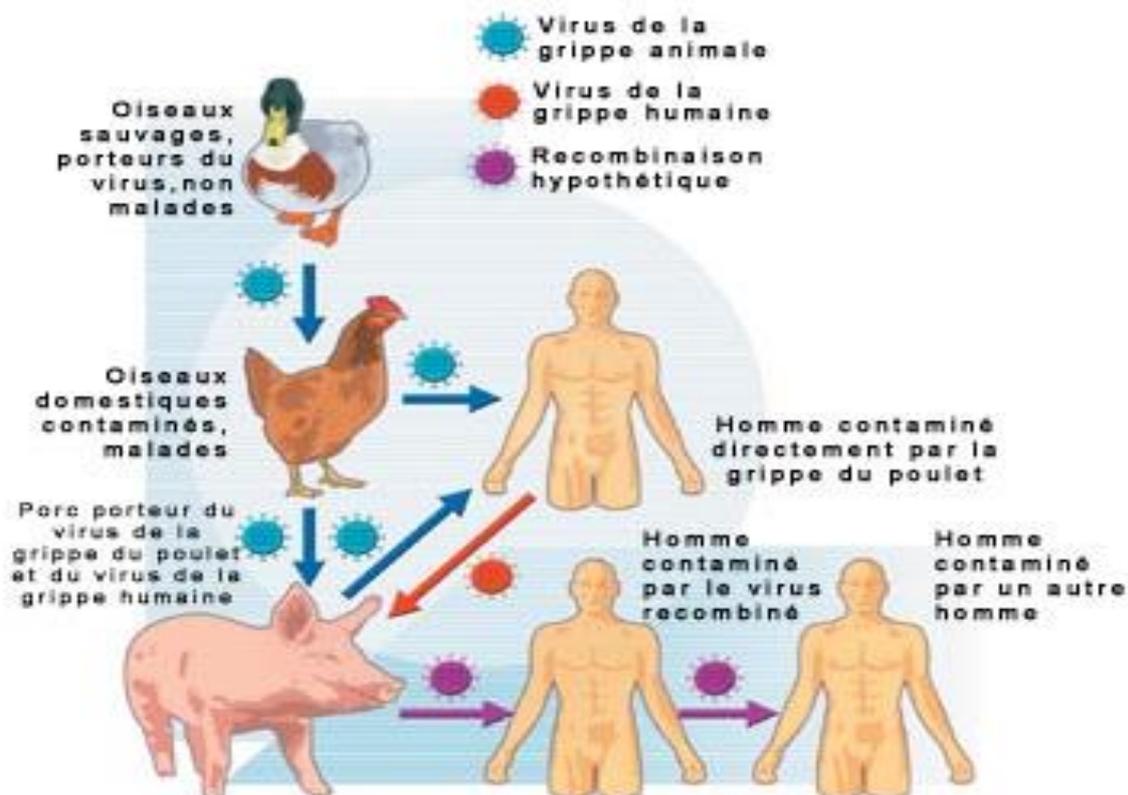
Réassortiment virus aviaires-humains

Réassortiment virus aviaires-porcins-humains

Le virus de la grippe A(H1N1)v de 2009 : épidémie ou pandémie :

- Nouveau virus A/California/7/2009 (H1N1)
- 1^e apparition: 18 Avril 2009 au Mexique
- Extension : USA, reste du monde
- **11 juin 2009 : la pandémie est reconnue par l'OMS**
- **résultat d'une triple combinaison: aviaire, humaine et porcine**

Cycle de transmission animal-homme



7. Virus de la grippe aviaire chez l'homme :

De nombreux virus de grippe aviaire ont réussi à franchir la barrière d'espèce et provoquer des infections grippales sévères chez l'homme notamment les sous-type : H5N1, H7N7.

8. Surveillance épidémiologique de la grippe :

En raison de la remarquable variabilité génétique des virus grippaux, une **surveillance mondiale constante** des souches circulant dans la population humaine mais également chez les espèces animales susceptibles de transmettre de nouveaux virus à l'homme s'impose.

Le réseau mondial de surveillance épidémiologique de l'OMS a comme objectif :

- La surveillance de l'apparition de nouveaux virus et la caractérisation moléculaire des virus en circulation
- La collecte des informations concernant le trajet des épidémies
- La reformulation annuelle de la composition des nouveaux vaccins.

Sa mission s'articule autour de l'activité de **quatre centres mondiaux de référence (Atlanta, Londres, Melbourne, Tokyo)** ainsi que l'activité des **GROG** (groupes régionaux d'observation de la grippe) qui existent dans de nombreux pays (centres nationaux de référence).

9. Pouvoir pathogène :

Chez l'homme l'infection par le virus de la grippe peut être asymptomatique ou donner des **symptômes plus ou moins graves**. L'aspect clinique dépend des caractéristiques intrinsèques du virus, de l'âge du patient, de son statut immunitaire, la présence d'une maladie cardiaque ou respiratoire chronique, la grossesse.

Chez l'adulte l'infection par le virus grippal de type A se manifeste brutalement après une période d'incubation de 2-3 jours : maux de tête, frissons, toux sèche et fièvre élevée (38-41°C) pendant les premiers jours souvent accompagnés de, myalgie, arthralgies, nausées et anorexie. **Les symptômes respiratoires** prédominent devant la régression des signes généraux au cours de l'évolution de l'infection.

Les formes sévères peuvent être à l'origine d'une détresse respiratoire aiguë.

Chez l'enfant les symptômes gastro-intestinaux, l'épistaxis, et la somnolence sont plus fréquents que chez l'adulte et la fièvre généralement plus élevée.

L'évolution est en général très favorable (asthénie, hyperréactivité bronchique) **mais des décès peuvent survenir chez les sujets affaiblis** : personnes âgées,

immunodéprimés ou souffrant d'affections chroniques : maladies cardiovasculaires, respiratoires, asthme, insuffisance rénale, diabète.

Les complications respiratoires : la pneumonie virale ou bactérienne constitue la principale complication, la bronchiolite, exacerbation des maladies respiratoires chroniques (asthme, mucoviscidose), emphysème, empyème, pneumothorax.

Les complications non respiratoires : syndrome de Reye (principalement chez des enfants), un syndrome de choc toxique ou une encéphalopathie.

La contagiosité a lieu 24 à 48h avant l'apparition des symptômes; jusqu'à 7j (adulte) ou 10j après (enfants) leur apparition.

10. Diagnostic au laboratoire :

Indications:

- **Surveillance épidémiologique**
- **Atteintes respiratoires sévères ou compliquées en milieu hospitalier**

10.1. Diagnostic virologique direct :

Prélèvement :

Doit être précoce (phase aiguë, riche en virus). Les prélèvements à effectuer sont :

- **Aspiration nasopharyngée +++**
- **Ecouvillonnage nasal ou nasopharyngé**
- **Aspirations trachéale ou bronchique.**
- **Lavage broncho-alvéolaire LBA**

Milieu de transport virus

✓ Transport rapide au laboratoire (<3h) sinon conserver à +4 (maximum 3j)

Qui prélever?

Le prélèvement naso-pharyngé en vue de la réalisation d'un diagnostic virologique de confirmation doit être restreint :

- ✓ aux patients présentant des signes de gravité
 - ✓ aux patients traités et présentant une aggravation clinique
 - ✓ à trois patients au moins au sein d'un foyer de cas groupés
 - ✓ **aux nourrissons et aux femmes enceintes**
- aux soignants en contact avec des sujets à risque**

Techniques :

❖ Détection des antigènes viraux:

Typage des virus grippaux par détection des antigènes conservés tels que la NP ou la M1 à l'aide d'anticorps monoclonaux :

- ✓ Immunofluorescence (IF): 2-3H
- ✓ Immunoenzymatique (EIA): 1-4H.
- ✓ **Immuno chromatographie (TDR):** résultat en 30 minutes, détection de *influenza A et B virus*, VPP est de 100%
- ✓

❖ **Détection du génome viral par RT-PCR:**

Intérêt : typage, sous typage, identification des variants (RFLP).

RT-PCR : typage avec des amorces ciblant des segments génomiques conservés (NP, M, NS) et le sous type A (segments de l'HA ou de la NA).

PCR multiplex : détection de plusieurs virus respiratoires

❖ **Isolement du virus sur culture cellulaire: méthode de référence:**

Systèmes d'isolement :

- Lignée cellulaire MDCK
- Œufs de poule embryonnés

Intérêt :

Typage et sous typage (IHA)

Obtention de la souche : caractérisation moléculaire, production de vaccin

inconvénient majeur :

délai de rendu du résultat trop long : 2 à 10 jours

La multiplication virale est détectée par un test **d'hémagglutination** avec des globules rouges de différentes espèces (coq, dinde, cobaye, homme).

L'identification est faite par inhibition de l'hémagglutination (IHA) à l'aide d'une batterie de sérums de référence spécifiques des différents types, sous types et variants. Des sérums de lapin, mouton ou poulet peuvent être utilisés mais les sérums post-infectieux de furet sont les plus discriminants pour apprécier la dérive antigénique.

10.1. Diagnostic virologique indirect : la sérologie :

Les examens sérologiques n'ont qu'un intérêt rétrospectif et n'ont aucun intérêt dans le diagnostic de l'infection aigue.

Les différentes techniques utilisées :

- **Inhibition de l'hémagglutination ou séroneutralisation :** techniques de référence pour la recherche des anticorps spécifiques de type, sous types et variants.
- **L'hémolyse radiale simple :** technique réservée à la détection et la quantification des anticorps spécifiques de l'hémagglutinine.
- **Les techniques immuno-enzymatiques**
- **La réaction de fixation du complément.**

11. Traitement :

1. Amantadine et rimantadine : ces molécules ont pour cible la protéine M2 des virus grippaux de type A et agissent lors de la phase précoce de la multiplication virale. Elles **inhibent l'activité canal à protons** de la protéine M2 empêchant ainsi l'acidification de l'intérieur de la particule virale et la décapsidation virale.

Amantadine et rimantadine sont inactives sur les virus de type B.

2. Inhibiteurs de la neuraminidase :

A. Oseltamivir : Tamiflu ®

Prescrit dans les 48h qui suivent le début des signes cliniques

Traitement curatif:

- **Adultes et enfants de plus d'un an :**

Syndrome respiratoire (toux ou dyspnée) + fièvre $\geq 39^{\circ}\text{C}$

+ facteurs de risque de complications

+ forme clinique grave d'emblée ou compliquée (après avoir éliminé une surinfection bactérienne)

+ femmes enceintes quelque soit le trimestre de la grossesse

- **Nourrissons de moins d'un an**

Fièvre $\geq 39^{\circ}\text{C}$ associée ou non à

- syndrome respiratoire (voies aériennes supérieures ou inférieures)

- troubles digestifs; convulsions

❖ Traitement si < 6 mois

❖ Pas de traitement si ≥ 6 mois sans facteur de risque de grippe grave

Traitement prophylactique post exposition par Oseltamivir

- **Adulte et enfant de plus d'un an**

Contacts étroits de cas suspects de grippe

- si sujets contacts présentant des facteurs de risque de grippe grave

- contextes particuliers : entourage familial d'une personne présentant un facteur de risque ou collectivités

- femmes enceintes quelque soit le trimestre de grossesse et la présence ou non de facteurs de risque

- **Nourrissons de moins d'un an non malade**

Traitement si facteurs de risque ou si < 6 mois

B. Zanamivir Relenza ®

Indiqué pour le traitement curatif ou prophylactique sous forme d'inhalation ou administration en IV

C. Peramivir

12. Prévention :

En dehors de l'administration **d'antiviraux à titre prophylactique**, la prévention de la grippe repose exclusivement sur **la vaccination**.

Vaccination contre la grippe :

Le vaccin antigrippal est un vaccin trivalent à **virus entier inactivé** ou à **antigènes de surface** préparé sur œufs de poule embryonné à partir de **02 souches de type A (H1N1 et H3N2) et d'une souche de type B** sélectionnées chaque année en fonction des épidémies attendues (**reformulation annuelle du vaccin en fonction des choix transmis par l'OMS**).

La stratégie vaccinale consiste à vacciner **les personnes à risque** : personnes âgées de plus de 65 ans, personnes atteintes de maladies cardiaques et respiratoires chroniques, d'insuffisance rénale, de diabète, d'immunodépression, les familles et contacts des sujets à risque ainsi que le personnel de certaines administrations ou entreprises notamment le personnel de santé.