

23^{es} Rencontres du Groupe d'expertise et d'information sur la grippe (GEIG, www.grippe-geig.com)

Élisabeth Nicand¹
Michelle Aymard²
Claude Hannoun³
Yazdan Yazdanpanah⁴
Bruno Lina⁵

¹ Hôpital Val-de-Grâce, fédération de biologie, 75230 Paris Cedex 05, France
<en.biol-vdg@filcom.com>

² Conseil scientifique du GEIG

³ Institut Pasteur, Paris, France

⁴ Service de maladies infectieuses, Tourcoing, France

⁵ Centre de référence de la grippe, France Sud, Lyon-Bron, France

Après la première vague de la pandémie grippale A H1N1 2009, les 23^{es} Rencontres du GEIG, qui se sont déroulées les 25 et 26 novembre 2010 à Paris, ont permis de présenter les différents retours d'expériences sur cette pandémie.

Impact de la pandémie dans le monde

Parmi les 193 pays membres de l'Organisation mondiale de la santé (OMS), 100 n'avaient pas ou peu de surveillance virologique de la pandémie. En dépit de cette hétérogénéité des réseaux de surveillance de circulation des virus grippaux suivant les pays, le virus pandémique A H1N1 2009 a diffusé en moins de neuf semaines à tous les continents selon l'OMS. Lors de la précédente pandémie A H3N2 en 1968, la diffusion à l'échelle de la planète avait été observée en 15 semaines.

En termes de morbidité et létalité, bien que les infections aient été majoritairement asymptomatiques, 18 000 décès ont été rapportés dans le monde et la grippe a concerné 10 à 20 % des enfants hospitalisés en unités de soins intensifs. Des signes gastro-intestinaux ont été observés dans 10-50 % des cas.

Évolution des virus grippaux dans le contexte de la grippe A H1N1 2009 pandémique

Selon Alan Hay (National Institute for Medical Research, Londres), en ce qui concerne les sous-types de virus grippaux A humains responsables des précédentes pandémies, les changements génomiques ont porté sur les segments PB1, HA et NA et ont été obtenus par réassortiments entre souches aviaires et humaines, les porcs représentant des hôtes intermédiaires.

Très rapidement après l'émergence du virus A H1N1 2009 chez l'homme, sa carte génétique a été disponible et a mis en évidence des réassortiments multiples entre les segments : d'origine porcine nord américaine pour les segments codant l'hémagglutinine (HA), NP et NS ; d'origine porcine eurasiennne pour les segments codant la neuraminidase (NA), M ; d'origine aviaire pour les segments PB2 et PA, et d'origine humaine à partir de virus grippaux H3N2 pour le segment PB1. Les conditions de ce réassortiment n'ont pas encore été clarifiées, plus de 18 mois après son émergence, alors que ce virus n'avait pas été détecté antérieurement chez les porcs et qu'il est plus proche génétiquement de la souche A/PR/8/34 (A/H1/New Jersey/76) que des virus identifiés lors des saisons grippales immédiatement antérieures à la pandémie.

Tirés à part : É. Nicand

La capacité de large diffusion de ce virus A H1N1 2009 à différentes espèces de mammifères a été étudiée avec la recherche de changements génétiques responsables de l'augmentation de la transmissibilité, en particulier inter-humaine :

- l'HA exprime majoritairement une spécificité de récepteurs de type Sa $\alpha 2,6$ pour l'entrée du virus dans les cellules du tractus respiratoire. Les mutations des résidus D186/D222 qui contrôlent la spécificité d'attachement de type Sa- $\alpha 2,6$ -Gal ou Sa- $\alpha 2,3$ -Gal sont de type *human like* ;
- l'augmentation de l'affinité de liaison de l'HA au récepteur n'a pas été montrée ;
- au niveau des gènes internes du complexe polymérase (PA,PB1,PB2), on n'a pas observé de mutation restrictive d'hôte : les deux mutations E627K et D701N du segment PB2 qui permettent à un virus aviaire de se répliquer efficacement dans une cellule de mammifère sont complétées par la mutation R591 ;
- il n'y a pas de mutation particulière du gène de la NA, dont la mutation H275Y qui avait conféré la résistance des virus saisonniers H1 à l'oseltamivir, ni d'augmentation de la complémentarité avec l'HA.

La comparaison phylogénétique des virus grippaux A H1N1 pandémiques d'origine humaine, porcine et aviaire isolés en 2009 montre une faible dynamique d'évolution génétique. Au niveau des gènes de l'HA, les souches A H1N1 2009 pandémiques forment un groupe homogène proche des souches porcines nord américaines lesquelles présentent une diversité due à l'introduction répétée, *via* le porc nord américain, de souches humaines et aviaires.

Au Canada, le taux de substitution des variants H1 humains 2009 a été évalué à $7,8 \times 10^{-4}$ par site nucléotidique et $9,0 \times 10^{-4}$ par site acide aminé pour la totalité des génomes étudiés. Cependant, la dérive nucléotidique et antigénique était plus importante pour les segments codant l'HA (taux de substitution par site de $1,56 \times 10^{-3}$ /nucléotide et $1,98 \times 10^{-3}$ /acide aminé) et les gènes PB1 (taux de substitution par site de $1,64 \times 10^{-3}$ /nucléotide et $1,47 \times 10^{-3}$ /acide aminé), surtout au niveau du site de liaison de l'ARN (acides aminés : 493-757) (Graham *et al.*, *PLoS One*, janvier 2011).

Par ailleurs, ces souches A H1N1 pandémiques sont très éloignées à la fois des souches porcines eurasiennes, des souches américaines aviaires, des souches humaines A H1N1 saisonnières et des souches européennes porcines A H1N2.

Le séquençage des huit segments de 458 virus grippaux isolés chez les porcs aux États-Unis de 2008 à 2009 a montré une grande diversité génétique, en particulier au niveau du gène de l'HA. La caractérisation de *clusters* distincts entre la lignée porcine américaine et les virus grippaux A H1N1 pandémiques, suggère la circulation récente de

ces derniers chez les porcs (Lorusso *et al.*, *J Gen Virol*, décembre 2010).

Virulence de la souche pandémique A H1N1 2009

Les manifestations cliniques rapportées ont été de bénignes à modérées, équivalentes à celles d'une grippe saisonnière avec une estimation de 2 % de formes sévères et 18 000 décès confirmés (total mondial).

Comparée à celle des virus grippaux A H1N1 saisonniers, la multiplication du virus A H1N1 2009 dans les cellules pulmonaires humaines était plus efficace. Chez le furet, la maladie à virus A H1N1 2009 était plus sévère que la grippe à virus A H1N1 saisonnier, associée à une perte de poids plus importante, une réplication accrue dans le tractus respiratoire supérieur et inférieur, et une augmentation de l'excrétion virale. Les réassortants obtenus avec les souches vaccinales A/PR/8/34 étaient moins virulents. Chez la souris et les primates, l'efficacité de la réplication et la fréquence des pathologies pulmonaires sévères ont été plus élevées avec A H1N1 2009 qu'avec les souches A H1N1 saisonnières. Chez le porc, la maladie était comparable à celle provoquée par les souches porcines antérieures. Sur le plan pathogénique, il n'a pas été montré de corrélation entre la mutation D222G (qui a été retrouvée sporadiquement) et la sévérité de la maladie. Cependant, cette substitution augmente la liaison de l'HA aux récepteurs Sa- $\alpha 2,3$ -Gal. Or ces récepteurs sont plus nombreux dans les cellules ciliées du tractus respiratoire inférieur.

Émergence de la résistance aux antiviraux

La résistance à l'amantadine par changement S31N de la protéine M2 était de faible incidence (environ 1 %) avant 1980 parmi les virus grippaux. Dans les années 1980, les souches porcines européennes étaient résistantes ainsi que quelques rares souches humaines. Depuis 2000, cette résistance à l'amantadine a été décelée dans diverses souches aviaires (H5N1, H9N2, H5N3, H7N2), dans les souches humaines H3N2, H1N1 et dans les souches H1N1 2009 pandémiques.

Vis-à-vis des inhibiteurs de neuraminidase, l'émergence de la résistance à l'oseltamivir observée pour les souches de virus A H1N1 saisonnier, fin 2007 a été surveillée avec acuité. Plusieurs mutations ont été caractérisées pour ces virus : H275Y qui induit un changement d'acide aminé au niveau du site catalytique de la NA et est responsable de la

retour de congrès

résistance à l'oseltamivir, D344G qui augmente l'activité de la NA, R222Q et V234 M qui favorisent l'expression de la NA à la surface de la cellule infectée. Parmi les virus A H1N1 pandémiques, la résistance à l'oseltamivir a été sporadique. Les variants résistants ont été isolés chez les immunodéprimés (28 %), associés au traitement antiviral (35 %), à la prophylaxie post-exposition (6 %). Dans 9 % des cas, les souches résistantes ont été isolées indépendamment de toute pression antivirale.

Variations antigéniques et vaccins

Antigéniquement, la souche A H1N1 2009 était différente de la souche A H1N1 saisonnière et proche des souches porcines triplement réassortantes. D'où la nécessité de préparer un vaccin spécifique.

Au cours de la pandémie, peu de dérives antigéniques ont été observées au niveau du segment HA. Cela est en accord avec le fait que les souches A H1N1 présentent, sur une période de 30 ans, moins de variations antigéniques de l'HA que les souches A H3N2 et B. D'où des changements moins fréquents des souches vaccinales A H1N1. Actuellement, il n'est donc pas nécessaire de mettre à jour le vaccin A H1N1 pandémique.

Mais l'évolution de la pandémie, due à un nouveau virus réassortant apparu après recirculation de plusieurs sous types ayant des réarrangements génétiques différents, n'est pas connue.

Leçons à tirer de la grippe A H1 pandémique pour la surveillance animale

Ilaria Capua (National Reference Laboratory for Avian Influenza, Italie) a souligné le fait que l'émergence et la diffusion du virus A H1N1 2009 pandémique à partir du réservoir animal ont soulevé des interrogations quant aux modalités de la surveillance des infections grippales. En effet, les composants du génome des virus grippaux sont essentiellement d'origine animale et les virus pandémiques circulent chez les animaux domestiques. Les virus grippaux A sont transmis sporadiquement de l'animal à l'homme. Ils subissent mutations et adaptations, et peuvent ainsi émerger comme des souches pandémiques, puis saisonnières avec une transmission interhumaine qui entraîne pandémie et endémie.

L'effort principal de surveillance a porté sur les sous-types de virus grippaux aviaires, en particulier ceux porteurs de H5, H7 et, à un degré moindre, H9 car ils ont été hautement pathogènes chez les volailles et ont pu à un moment donné franchir la barrière d'espèce, infectant l'homme.

Cependant, malgré l'absence d'immunité préalable, ces virus n'ont pas été capables de se transmettre efficacement d'homme à homme. Par ailleurs, le potentiel pandémique des autres virus grippaux A, en particulier ceux porteurs de H1, H3 et, à un degré moindre, H2, a été sous-estimé. La raison principale de ce relatif désintérêt est que l'immunité vis-à-vis des souches saisonnières apporterait une protection croisée vis-à-vis des souches de même sous-type émergeant d'un réservoir animal.

Si l'on considère l'histoire de la pandémie A H1N1 2009 du point de vue vétérinaire, le phénomène inédit a été le réarrangement entre les virus de deux lignages de gènes (porc américain et porc eurasiens) alors que les virus grippaux pandémiques avaient émergé d'un seul lignage lors des pandémies précédentes. Après la déclaration du premier cas humain, en février 2009 au Mexique, le virus mit deux mois pour s'adapter à l'homme et se transmettre de manière efficace. Par ailleurs, ce virus a été isolé de nombreuses espèces animales en dehors du porc : chats, chiens, dindes, furets, tigres.

Mais en termes de surveillance et de contexte de grippe, les aspects sont très différents en santé animale et en santé publique humaine, que ce soit par les aspects de dynamique des réassortants génomiques ou par les questions des ressources alimentaires. Aussi l'OMS et l'OIE ont encouragé les experts dès mai 2009, à renforcer leurs collaborations, que ce soit par analyse génétique des isolats, la surveillance mondiale de la grippe, l'amélioration des connaissances sur le réservoir animal en ce qui concerne sa capacité à générer des souches pandémiques, l'identification de déterminants de virulence et de transmission des animaux à l'homme. Mais la perspective de survenue de nouveaux variants ne peut être prédite.

Situation actuelle du virus influenza H5N1

Il s'agit du premier virus grippal aviaire hautement pathogène. Il a sévi plus de 13 ans, a diffusé à travers trois continents (Asie, Europe, Afrique) et reste actuellement endémique dans au moins cinq pays. Il a infecté environ 50 espèces aviaires et dix espèces de mammifères (humains inclus) avec un taux de létalité de 50 %. Cependant, la transmission interhumaine reste rare alors que les humains sont immunologiquement naïfs. Il a été à l'origine de sévères problèmes de sécurité alimentaire dans les pays en voie de développement car le porc et les volailles sont les viandes les moins chères et les problèmes sécuritaires se sont généralisés à tous les continents compte tenu de l'extension du commerce des aliments.

Cependant, la lutte contre la grippe A H5N1, par la mobilisation d'un grand nombre de laboratoires participant à la

surveillance de la grippe vétérinaire et humaine, a déjà permis d'obtenir un nombre sans précédent d'isolats contenant des informations génétiques fiables.

Aspects cliniques de la grippe A H1N1 2009

Les formes graves

L'incidence des gripes saisonnières graves est difficile à connaître avec précision. La grippe saisonnière est responsable, en France, d'environ 30 000 hospitalisations par an, mais le nombre d'admissions en réanimation est inconnu (O. Leroy, Tourcoing). De son côté, l'épidémie de grippe A H1N1 2009 a été responsable en 2009-2010 de 1 332 admissions en réanimation en France, soit 22 admissions par million d'habitants. Les formes graves de grippe se sont caractérisées essentiellement par le survenue de complications respiratoires, soit une pneumonie virale isolée, soit une pneumonie bactérienne par surinfection, voire une exacerbation d'une pathologie respiratoire sous-jacente (broncho-pneumopathie chronique obstructive, asthme). Les complications extra-respiratoires ont été plus rares : cardiaques (myocardite, péricardite), musculaires (myosite et rhabdomyolyse) ou neurologiques (encéphalite, méningite, syndrome de Guillain Barré). Au cours de l'épidémie de grippe A H1N1 2009, une proportion non négligeable des patients a présenté des défaillances multiviscérales avec syndrome de détresse respiratoire aiguë, état de choc, insuffisance rénale aiguë et ces complications sont survenues même chez les patients jeunes sans co-morbidités.

Le traitement des gripes graves en réanimation a comporté au moins trois volets : un traitement antiviral, une antibiothérapie antibactérienne et un traitement symptomatique des défaillances viscérales. Tous ces patients ont reçu un traitement par les inhibiteurs de neuraminidase, le plus souvent par l'oseltamivir administré par voie orale à raison de 75 mg, voire de 150 mg, toutes les 12 heures et cela pendant cinq à dix jours. En cas d'échec, le zanamivir par voie intraveineuse a été utilisé dans des formes graves, notamment chez les patients obèses, avec des résultats satisfaisants même si l'évaluation de son efficacité n'avait pas été aisée compte tenu des schémas d'étude utilisés (réservé à un usage compassionnel). Même si la preuve d'une surinfection bactérienne n'était pas prouvée, la plupart des équipes ont prescrit une antibiothérapie antibactérienne en présence d'une détresse respiratoire menaçant le pronostic vital. À noter qu'une étude réalisée auprès de 113 patients avec une surinfection bactérienne en réanimation a montré que 55 % des infections étaient liées à *Streptococcus pneumoniae* et 8 % à *Staphylococcus aureus*. À noter que, dans les formes graves, une corticothérapie a été prescrite même si le niveau

de preuve pour l'utilisation des corticoïdes dans cette indication était faible. Les défaillances viscérales ont été prises en charge de façon usuelle. Le traitement de l'hypoxémie réfractaire a fait l'objet de protocoles spécifiques.

La mortalité des formes graves de grippe saisonnière est inconnue. Celle des formes graves de grippe A H1N1 2009 hospitalisés en réanimation était de 15 à 40 % dans les pays disposant des techniques modernes de réanimation.

Traitement de l'hypoxémie réfractaire

Les réanimateurs ont essayé d'améliorer les méthodes de ventilation des patients présentant un syndrome de détresse respiratoire aiguë. Il a été proposé une ventilation invasive à faible volume courant (6 mL/kg du poids idéal) avec un ajustement du niveau de PEP et de FiO₂ permettant une saturation artérielle en oxygène supérieure à 90 % et des pressions de plateau inférieures à 30-35 cm H₂O. En cas d'hypoxie réfractaire, les cliniciens peuvent avoir recours au décubitus ventral ou au NO inhalé. En cas d'échec, une oxygénation extra corporelle (ECMO) a été mise en place. Les cas les plus graves de syndrome de détresse respiratoire aiguë ont ainsi bénéficié, avec un taux de succès appréciable, d'ECMO, dernier recours quand les poumons sont devenus inefficaces du fait d'une agression virale massive accompagnée d'œdème et d'hémorragies alvéolaires. Une étude réalisée en Australie et Nouvelle-Zélande rapporte le devenir de 61 patients hospitalisés en réanimation pour une grippe A H1N1 2009 confirmée ayant bénéficié d'une ECMO. Parmi ces patients, 48 sont toujours vivants. Bien s'il s'agit d'une étude de cohorte, et que l'évaluation de l'efficacité de l'ECMO à partir de cette étude soit difficile, on peut penser que, compte tenu de la sévérité des lésions, en absence de l'ECMO, la plupart de ces patients seraient décédés. Les séquelles respiratoires chez les patients ayant bénéficié de l'ECMO n'ont pas été évaluées.

Prise en charge de la grippe A H1 chez la femme enceinte

D'après Bénédicte Lesieur (Hôpital Tenon, Paris), chez les femmes enceintes, la grippe A H1N1 2009 a multiplié par huit la mortalité par rapport à une population de même âge, avec une incidence et une gravité augmentant avec le terme de la grossesse. En France, au cours de l'épidémie de la grippe A H1N1 2009, 70 % des femmes hospitalisées en réanimation étaient au troisième trimestre de la grossesse. Les femmes enceintes qui présentaient des co-morbidités, notamment respiratoires ou cardiovasculaires, étaient cinq fois plus à risque d'hospitalisation en réanimation. Un début

de traitement tardif par les inhibiteurs de neuraminidase était également un facteur de risque d'hospitalisation en réanimation.

Par ailleurs, il ne faut pas oublier que la grippe, y compris saisonnière, augmente de manière globale le taux de complications obstétricales. La grippe augmente le risque des fausses couches en début de grossesse et le risque d'accouchement prématuré au troisième trimestre de grossesse (une augmentation par quatre du risque d'accouchement prématuré). Un tiers des femmes enceintes, infectées par le virus A H1N1 2009 et hospitalisées en réanimation, ont accouché prématurément et 45 % de ces enfants ont dû bénéficier d'une réanimation néonatale. Une étude américaine est venue conforter la recommandation de la vaccination antigrippale des femmes enceintes en confirmant son excellente tolérance dans cette population. En effet, aucune différence significative n'a été mise en évidence au regard des effets indésirables par rapport aux femmes non vaccinées. La vaccination grippale de la femme enceinte diminue par ailleurs le risque d'hospitalisation du nouveau-né.

Susceptibilité génétique aux infections virales

Peu de données concernent les facteurs génétiques impliqués dans les formes sévères de grippe. Cependant, hors du domaine de la grippe, il existe plusieurs exemples de polymorphismes génétiques impliqués dans la susceptibilité/résistance soit à l'infection par certains virus, comme le virus de l'immunodéficience humaine (délétion dans le gène *CCR5*) ou les norovirus (mutation dans le gène *FUT2*); soit au développement d'une maladie clinique après infection, comme l'épidermodysplasie verruciforme due aux papillomavirus ou le syndrome *X-linked lymphoproliferative* (XLP) dû au virus Epstein-Barr.

Laurent Abel (Laboratoire de génétique humaine des maladies infectieuses, Paris) a décrit certaines prédispositions de type mendéliennes aux infections virales. Ces exemples ainsi que les résultats obtenus sur des infections bactériennes ont conduit à formuler l'hypothèse que des

infections virales particulièrement graves survenant chez des enfants par ailleurs bien portants pourraient relever d'un déficit immunitaire spécifique vis-à-vis d'un certain virus. Il est maintenant clairement établi que la réponse à un agent infectieux chez l'homme dépend en grande partie du patrimoine génétique de l'individu infecté. Le mode d'action de ces facteurs génétiques peut relever d'un déterminisme allant d'une prédisposition monogénique (mendélienne), mettant en cause un seul variant génétique avec un effet individuel très fort, à une prédisposition plus complexe pouvant impliquer plusieurs variants ayant chacun des effets individuels assez modestes. L'encéphalite herpétique (EH) est une complication extrêmement rare mais particulièrement sévère d'une infection très commune par le virus herpes simplex (HSV), et sa pathogénie est totalement mystérieuse. Dans des familles très exposées à la survenue de cette maladie, une enquête familiale a permis de montrer un fort taux de consanguinité (14 %) ainsi qu'une fréquence élevée d'infections herpétiques graves, en particulier oculaires (3 %), chez les apparentés des patients. On a observé chez deux enfants issus de familles consanguines, un défaut de production des interférons de type I en réponse à des infections virales ou un défaut d'activation des *Toll-like* récepteurs (TLR) 3, 7, 8 et 9. On a identifié la mutation dans le gène codant pour *UNC93B*, de fonction inconnue chez les mammifères mais situé dans la voie de signalisation de ces TLRs. Chez deux autres patients, le second gène responsable d'EH était le gène *TLR3* lui-même dont l'allèle délétère est dominant négatif. Enfin une troisième étiologie génétique a été récemment identifiée qui est due à des mutations dominantes dans le gène *TRAF3*. Ces défauts génétiques entraînent tous un défaut de production des interférons de type I et III, et démontrent le rôle essentiel du circuit TLR3-IFN dans l'immunité protectrice du système nerveux central contre les infections par le HSV.

Au plan immunologique, ces travaux révèlent que certaines voies de signalisation sont nécessaires à la défense de l'hôte vis-à-vis d'un petit nombre de pathogènes, voire même parfois d'un seul virus. Au plan clinique, ces travaux offrent à ces familles un diagnostic moléculaire et un conseil génétique, et ouvrent de nouvelles voies thérapeutiques fondées sur la restauration d'une réponse immunitaire défaillante.