

10

# **ORTHOMYXOVIRUS VIRUS DE LA GRIPPE**

**DR BECHIR**

**2012-2013**

## A-INTRODUCTION

La grippe saisonnière est une infection virale aiguë provoquée par un virus grippal.

- Il existe trois types de grippe saisonnière – A, B et C.
- Les virus grippaux de type A se subdivisent en sous-types en fonction des différentes sortes et associations de protéines de surface du virus. Parmi les nombreux sous-types des virus grippaux A, les sous-types A(H1N1) et A(H3N2) circulent actuellement chez l'homme.
- Des virus grippaux circulent dans toutes les régions du monde. Les cas de grippe de type C surviennent beaucoup moins fréquemment que ceux des types A et B. C'est pourquoi seuls les virus grippaux A et B figurent dans la composition des vaccins contre la grippe saisonnière.
- Ils sont principalement caractérisés par leur transmissibilité et leur grande variabilité :
- Leur mode de transmission, par voie aérienne, est très efficace, d'où la grande contagiosité de cette maladie.
- Ils sont extrêmement variables, de par leur structure et leur constitution
- La grippe est une infection virale aiguë qui se propage facilement d'une personne à l'autre.
- La grippe circule dans le monde entier et peut toucher n'importe qui dans n'importe quel groupe d'âge.
- La grippe provoque des épidémies annuelles qui atteignent leur pic pendant l'hiver
- La grippe est un problème de santé publique sérieux qui provoque des maladies graves et des décès dans les populations à plus haut risque.
- La vaccination est le moyen le plus efficace de prévenir l'infection.

## B-Généralités – Historique

Connue depuis l'antiquité, La grippe fut d'abord considérée comme bactérienne,

Puis au cours de la pandémie de 1918-19, la notion de virus a été avancée

- Richard Shope isola le premier virus de grippe chez le porc en 1931
- En 1933 trois chercheurs (W. Smith, C.H. Andrews et P.P. Laidlaw), isolèrent pour la première fois un virus de grippe humaine
- En 1940, la propriété caractéristique de l'hémagglutination a été observée
- Le virus a été cultivé sur les œufs embryonnés d'oiseaux (après adaptation).

## C-Le virus de la grippe :

- ① • Appartient à la famille des Orthomyxoviridae ( : Myxa = mucus : virus ayant une grande affinité pour le mucus )
- ② • Le génome à ARN segmenté
- ③ • Maladie infectieuse, contagieuse
- ④ • Apparaît brutalement en hiver et au printemps
- ⑤ • Responsable d'épidémies chez l'homme
- ⑥ • Touche de nombreuses espèces animales (mammifères et oiseaux)
- ⑦ • Manifestation par un syndrome grippal (maux de gorge, rhume, fièvre, douleurs musculaires) : symptômes communs à d'autres infections respiratoires.

### Les antigènes internes spécifiques de type :

- Trois types A, B et C

### Les antigènes externes spécifiques de s/types et de souches:

- Hémagglutinine (H) et Neuraminidase (N)

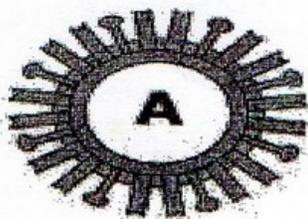
*Neuraminidase (N)*  
*Hémagglutinine (H)*

### Le pouvoir de mutation

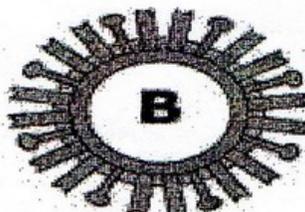
- Plus ou moins important selon le type viral
- Rôle important : déclenchement des épidémies si variations de H et/ou N.

Les épidémies peuvent alors être redoutables

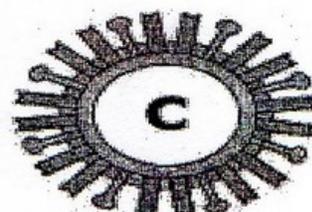
- 1918-19 "grippe espagnole" due à H1N1 : 20 millions de morts
- Phénomènes récurrents à l'origine d'un taux de mortalité toujours élevé
- Création de réseaux de surveillance et la mise au point de tests de dépistages et d'identification du virus
- La découverte du vaccin en 1940



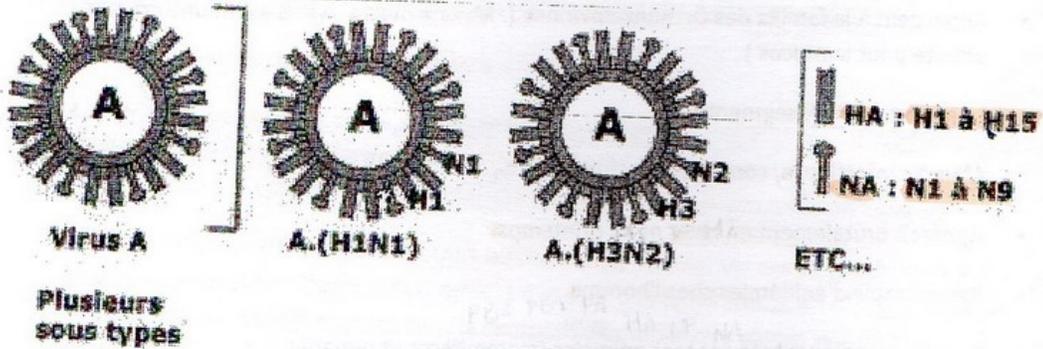
Virus A



Virus B



Virus C



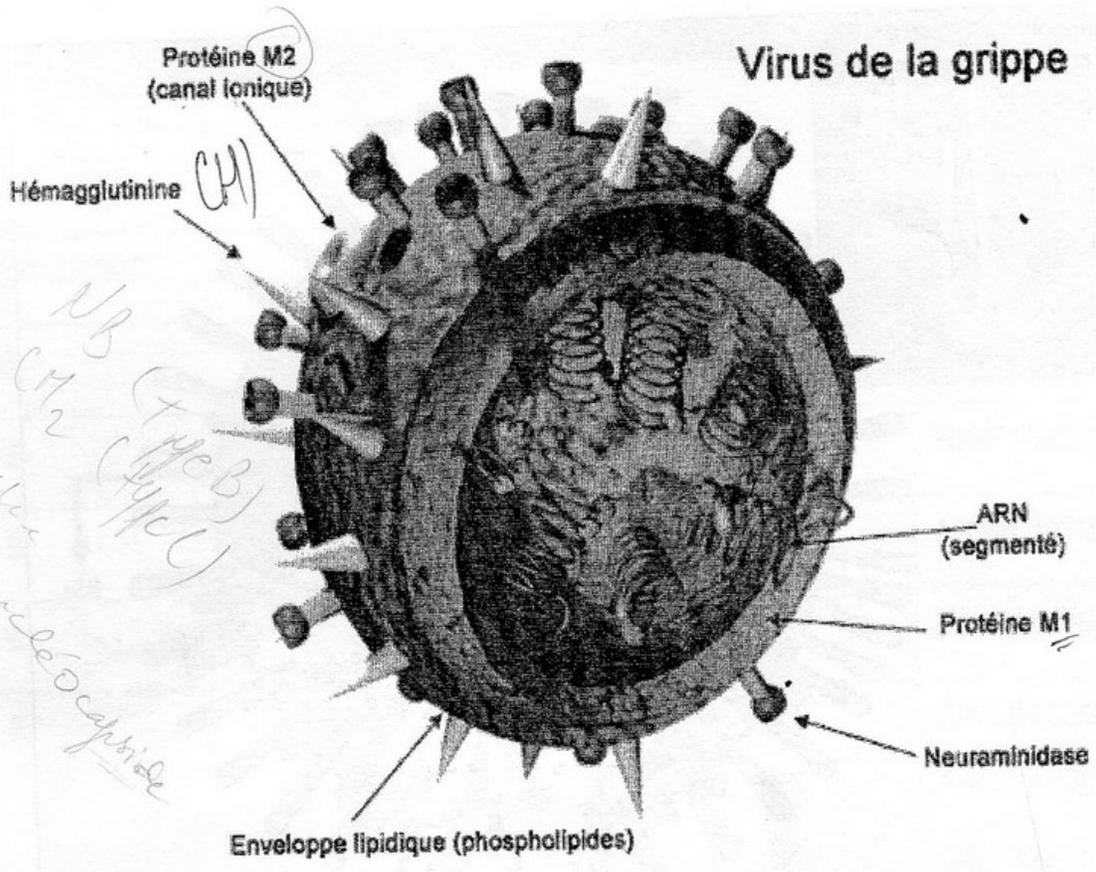
## Structure et biologie des virus grippaux Famille des Orthomyxoviridae

- Genre Influenzavirus • Famille des Orthomyxoviridae.
- Types Influenzavirus A, B et C
- Virus de la grippe humaine et des grippes animales.

### 1-Structure du virus

- Forme sphérique ou ovale de 80 à 120 nm de diamètre
- Génome segmenté composé d'ARNs simples brin de polarité négative (8 segments, 7 pour le type C)
- Une enveloppe externe : bicouche lipidique
  - spicules HA et NA
  - M2 (canal à protons), NB (type B), CM2 (type C)
- Une nucléocapside à symétrie hélicoïdale

# Virus de la grippe



Protéine M2  
(canal ionique)

Hémagglutinine (HA)

NB (4 type B)  
(4 type C)  
une nucléocapside

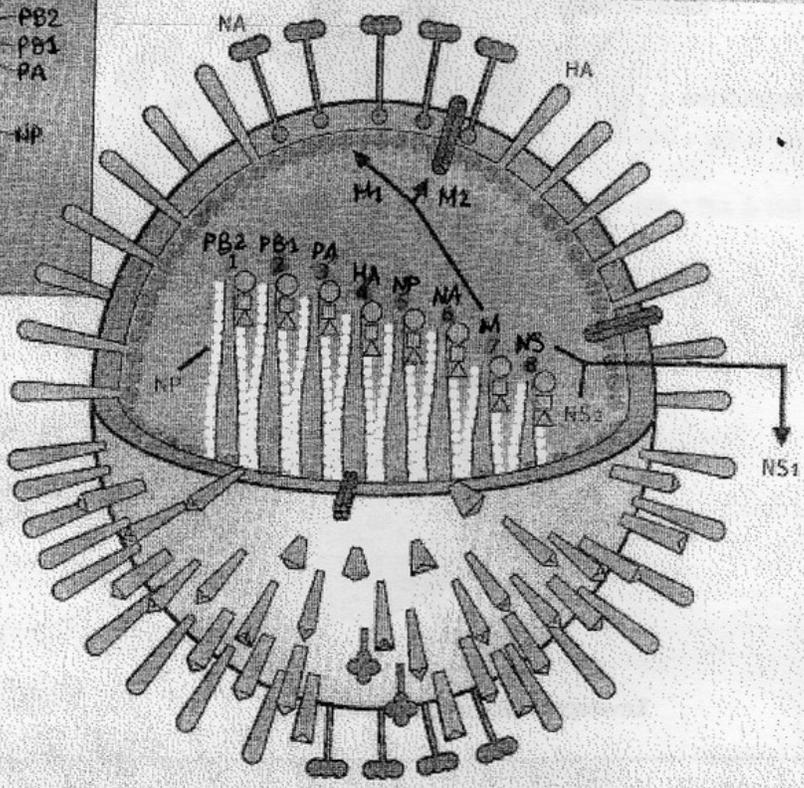
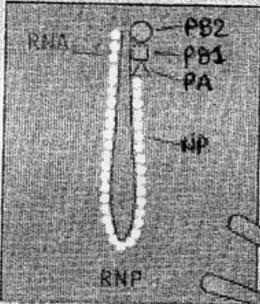
ARN  
(segmenté)

Protéine M1

Neuraminidase (NA)

Enveloppe lipidique (phospholipides)

Influenza A virus



# Protéines virales

S	T (nt)	CP	F (A)
<u>Segment n°</u>	<u>Taille (nt)</u>	<u>Codant polypeptide</u>	<u>Fonction</u>
<u>1</u> 2341 PB2	<u>2341</u>	<u>PB2</u>	<u>Transcriptase: fixation</u>
<u>2</u> 2341 PB1	<u>2341</u>	<u>PB1</u>	<u>Transcriptase: élongation</u>
<u>3</u> 2233 PA	<u>2233</u>	<u>PA</u>	<u>Transcriptase: activité</u>
<u>4</u> 1778 HA	<u>1778</u>	<u>HA</u>	<u>Hémmaglutinine</u>
<u>5</u> 1565 NP	<u>1565</u>	<u>NP</u>	<u>Rôle dans la transcription avec l'ARN. Transport cytoplasme de l'ARN</u>
<u>6</u> 1413 NA(NB)	<u>1413</u>	<u>NA (NB)</u>	<u>Neuraminidase</u>
<u>7</u> 1027 M1 M2 (BM2)	<u>1027</u>	<u>M1</u>	<u>Protéine de matrice</u>
		<u>M2 (BM2)</u>	<u>Protéine de membrane</u>
<u>8</u> 890 NS1 NS2	<u>890</u>	<u>NS1</u>	<u>Protéine non structurale rôle dans le transport l'épissage et la traduction</u>
		<u>NS2</u>	<u>Protéine non structurale (?)</u>

# 11 Structure du virus

## 2-Propriétés antigéniques

### Les antigènes d'enveloppe: (extérieurs)

- L'hémagglutinine

+++ PPA - très immunogène

- élaboration d'Acs inhibant l'hémagglutination (IHA) et neutralisants

- La neuraminidase

HA - moins immunogène que l'HA

- induit des anticorps inhibant la NA

- Acs non neutralisants

→ Acs non Neutralisants

- Un antigène d'hôte

- spécifique est porté par l'enveloppe : essentiellement polysaccharide

- lié par liaison covalente aux sous-unités HA et NA

- provoque l'élaboration d'anticorps fixant le complément

### Les antigènes internes:

• Les virus influenza A : Toutes les souches contiennent les mêmes antigènes internes : la nucléoprotéine et la protéine de matrice

• Les souches de type B ont des antigènes internes différents

• Les anticorps dirigés contre les antigènes internes ne sont pas neutralisants

• Fixent le complément

• Immunodiffusion simple ou double

• Les ARN polymérase ARN dépendantes auraient un déterminant antigénique commun à l'intérieur du type A

• Il semble que la quantité d'anticorps anti-protéine M1 soit en relation avec l'intensité de l'infection.

VIA

C. B. A. P.

Ac → AS I

X Neutralisants

Fixent comp.

Id. s/d

DAC  
type A

soit l'intensité de l'infection

1/ Structure du virus ✓  
2/ Propriétés antigéniques ✓

### 3-Multiplication virale:

#### 1) Attachement

- HA fixe le virus à la surface de la cellule, à l'acide sialique (acide N-acétylneuraminique) terminal des chaînes de glycoprotéines ou glycolipides de la membrane cytoplasmique

#### 2) Entrée par endocytose

- Acidification à l'intérieur de l'endosome (pH 5 à 5,5)
  - activation des canaux ioniques formés par la protéine M2
  - entrée des protons et acidification de l'intérieur de la particule virale
  - dissociation des liaisons entre M1/NP et M1/HA
  - libération des huit nucléocapsides dans le cytoplasme
- HA fixe le virus à la surface de la cellule, à l'acide sialique (acide N-acétylneuraminique) terminal des chaînes de glycoprotéines ou glycolipides de la membrane cytoplasmique
- Les nucléocapsides migrent alors vers le noyau sous l'action de la NP

#### 3) Transcription et réplication

L'ARN négatif associé aux nucléoprotéines (NP) va servir de matrice pour la synthèse de deux sortes d'ARN à polarité positive.

Un ARN complémentaire (ARNc), copie fidèle, non polyadénylé, servira de matrice pour la synthèse de nouveaux ARN négatifs (nouveaux génomes)

#### 4) Traduction

- Les huit ARNm viraux sont traduits dans le cytoplasme

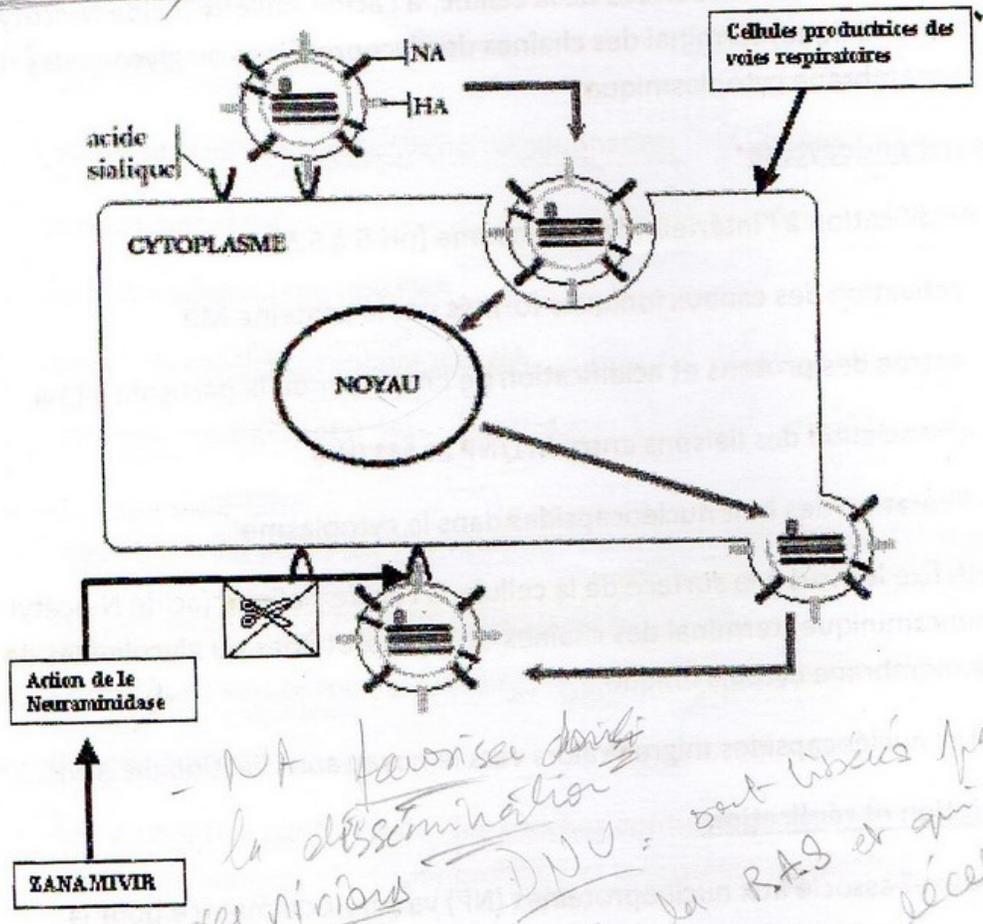
#### 5) Assemblage des protéines virales

- Les protéines HA, NA et M2 subissent des glycosylations et sont véhiculées via le réticulum endoplasmique et l'appareil de Golgi vers la membrane cytoplasmique qu'elles vont traverser.

NP passe ds le noyau et se lie aux N<sup>+</sup> ARN<sup>+</sup>  
 NP → Noyau → sortie + N<sup>(+)</sup> ARN<sup>(-)</sup>

- NP passe dans le noyau et se lie aux nouveaux ARN négatifs.

Quand la nouvelle particule virale est complète, elle sort de la cellule par bourgeoisement viraux.



**⑥ Dissémination des nouveaux virus**

- Ils sont libérés par la neuraminidase qui coupe les résidus d'acide sialique et qui prive ainsi l'hémagglutinine de son récepteur.
- La neuraminidase favorise donc la dissémination des virions

**D-Les mécanismes de variations des virus grippaux:**

Le virus de la grippe : grandes capacités de variations génétiques

- Hémagglutinine (glycoprotéine majoritaire de surface)

B.V.

NA favorise la dissémination des virus en coupant les RAS (résidus d'acide sialique) et qui prive ainsi l'HA de son récepteur.

GENV

- Neuraminidase

Deux grands mécanismes

- Le glissement antigénique ou Drift antigénique
  - mutation
- La cassure antigénique ou Shift antigénique
  - réassortiment génétique
  - virus ségmenté
  - virus grippal A

- Glissements antigéniques → *Modifications progressives du virus au n° de ses*  
Il s'agit de modifications progressives du virus au niveau de ses antigènes : *AG*

***Hémagglutinine, et Neuraminidase dans une moindre mesure.***

Ces modifications (ou « glissements ») sont dues à des mutations des gènes qui codent pour ces protéines.

Comment ces mutations apparaissent-elles ?

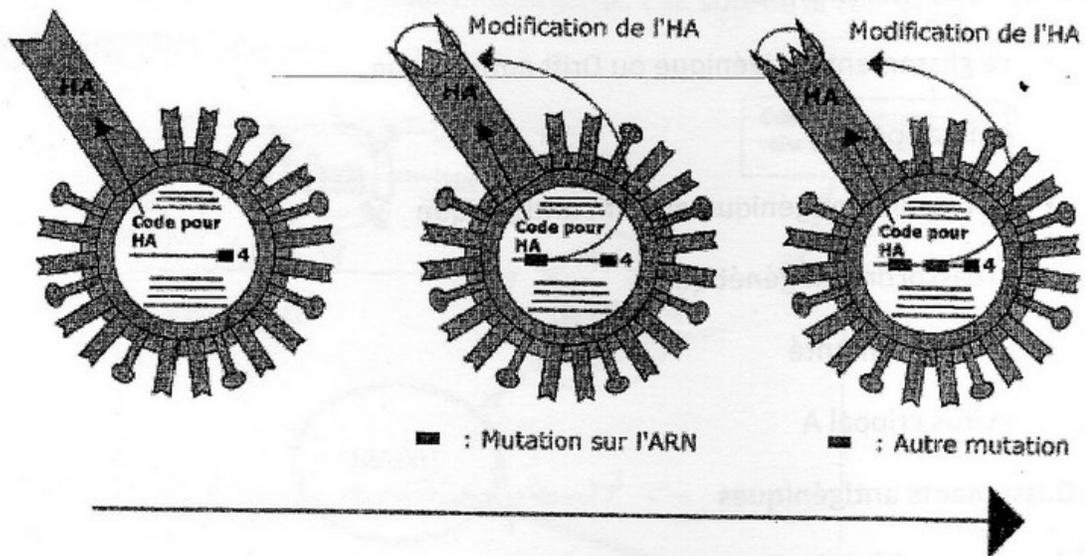
La raison est intrinsèque au virus.

Les mutations apparaissent lors de la fabrication des nouveaux exemplaires de segments d'ARN. Cette fabrication est assurée par un ensemble de protéines (PB2, PB1 et PA). En particulier, la protéine PB2 correspond à une enzyme appelée « ARN polymérase ARN dépendante ».

cette enzyme est très peu fidèle: elle commet de nombreuses erreurs, qui ne sont pas réparées. Ces erreurs sont donc conservées et les nouveaux segments d'ARN présentent des mutations.

A chaque nouvelle infection d'une cellule, cette enzyme fabrique de nouveaux exemplaires des segments d'ARN et peut faire de petites erreurs qui s'accumulent au fur et à mesure. Les modifications sur les gènes se traduisent au final par des modifications sur les protéines pour lesquelles ils codent (l'information génétique n'est plus exactement la même.)

## Glissements antigéniques au cours du temps



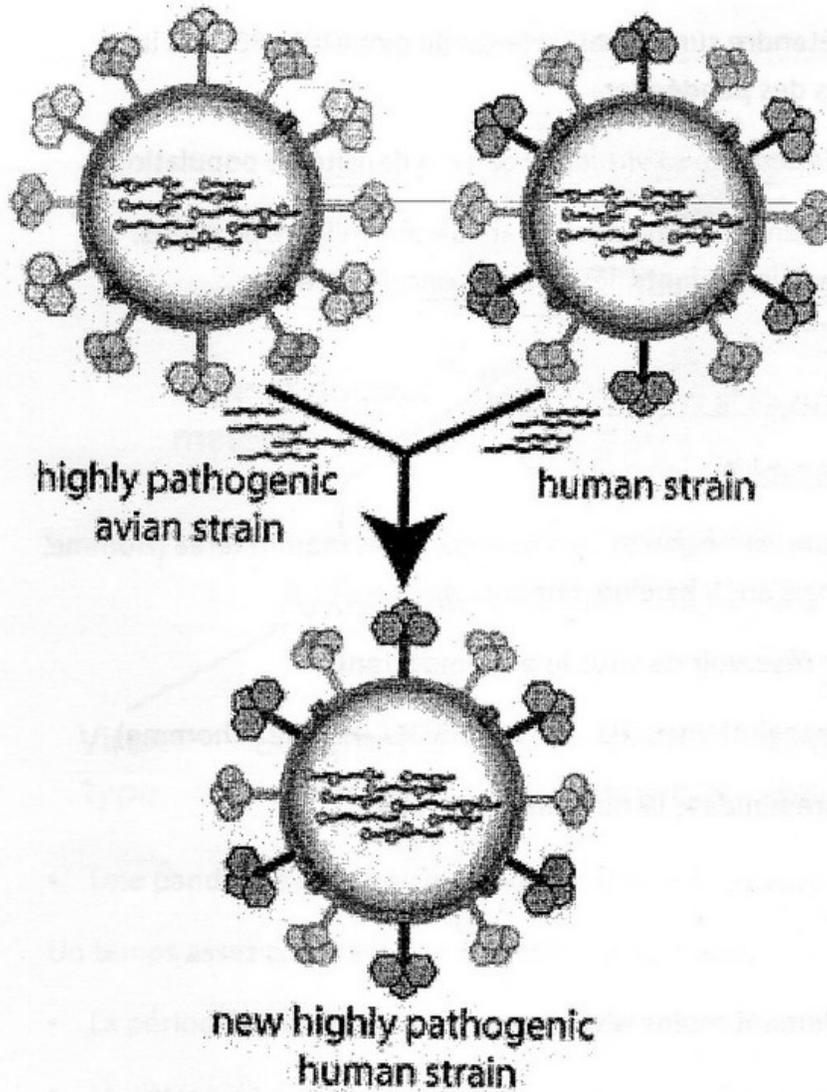
- **Cassures antigéniques:** *Apparition d'un ~~un~~ virus de type A, virulent, pouvant infecter l'homme et inconnu de lui (il n'a pas encore été en contact avec, et n'est donc pas protégé contre ce virus).*

Principalement, une telle cassure peut apparaître si un virus hybride émerge,

Ce phénomène d'hybridation peut se produire par exemple lors d'une coinfection d'un porc avec un virus d'origine aviaire et un virus d'origine humaine.

Un réassortiment peut alors se produire

Remarque : Une cassure pourrait également se produire en cas de réémergence d'un ancien virus ayant circulé chez l'Homme autrefois



### Épidémiologie

- ✓ • Apparition brutale
- ✓ • Brève incubation
- Transmission par voie respiratoire
- Avantages dans les endroits clos
- Propagation du virus se fait rapidement et facilement

5,79

- Capacité de s'étendre sur la quasi totalité du globe > de 80% de la population (cas des pandémies)
- Implantation dépend de sa virulence et de la densité de population.
- La Grippe cause en moyenne chaque année des milliers de morts : personnes âgées, les enfants, les femmes enceintes et les immunodéprimés.

### Les réservoirs des virus de la grippe:

#### -Les virus grippaux de type A

- Infectent nombreuses espèces : les oiseaux et les mammifères (Homme, porc, cheval, mais aussi baleine, phoque...)
  - Les oiseaux : le réservoir de virus le plus important.
- 16 sous types d'hémagglutinines (H1, H2, H3, H5, H7, H9 chez l'homme)
- 9 sous types de neuraminidase (2 humaines N1 et N2)

#### -Le virus de type B

- L'homme
- Grippe généralement moins sévère

#### Le virus de type C

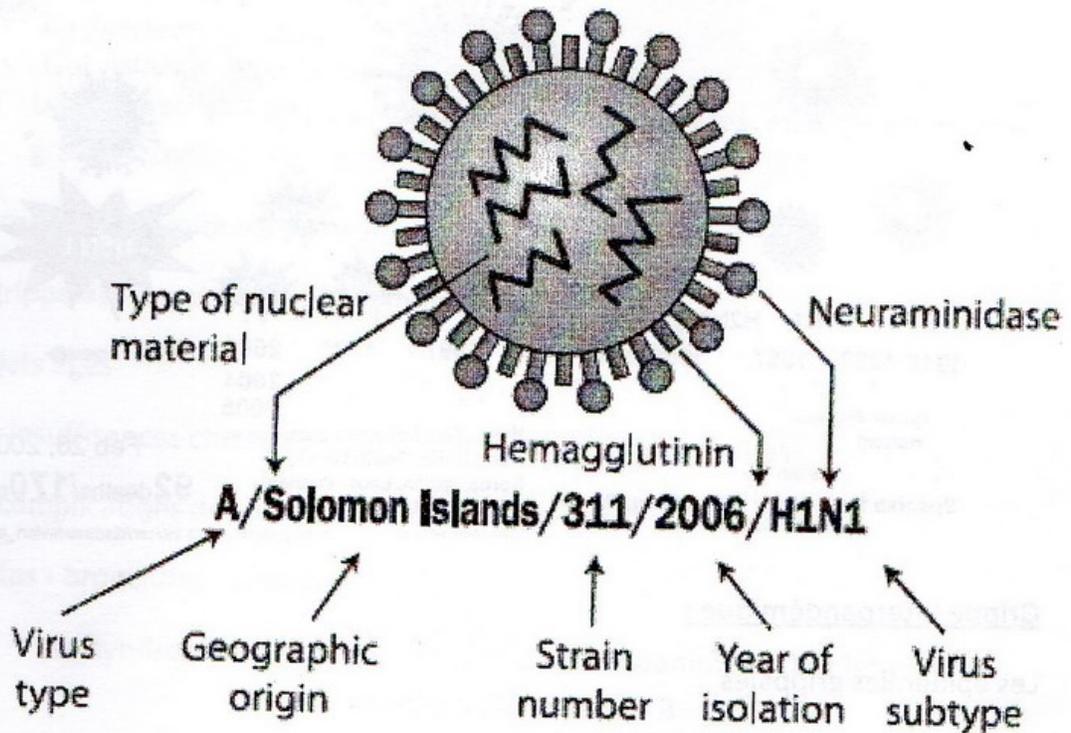
- L'homme seulement
- Sans signes cliniques apparents

**Pandémie** : L'origine d'une pandémie est liée à un réassortiment génétique entre une souche humaine avec une souche animale

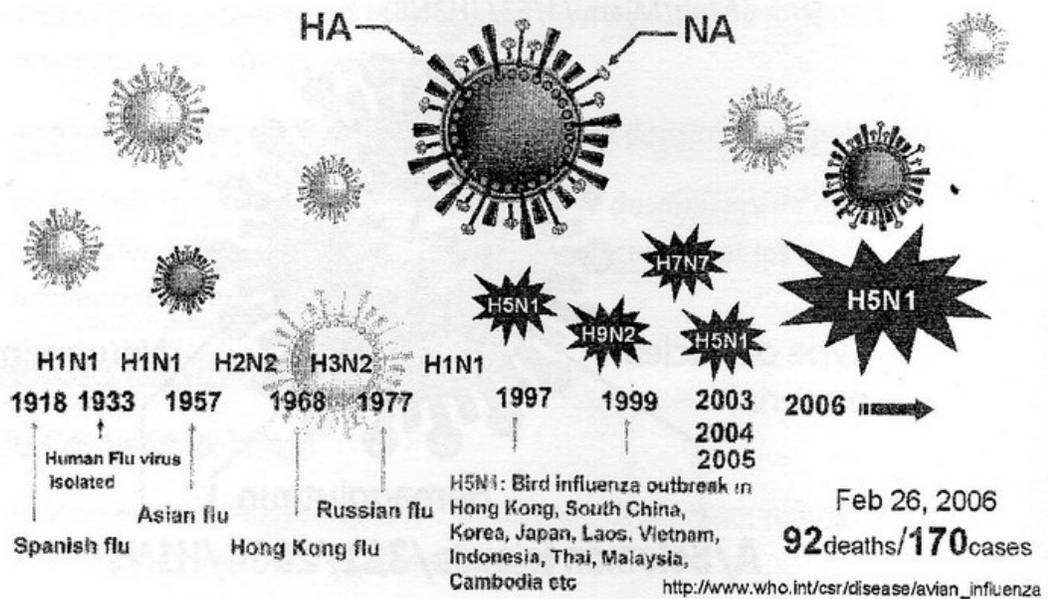
- La désignation officielle, sous forme de formule,

Exemple : A/Hong Kong/1/68 (H3N2)

A/eq/Miami/1/63/ (H3N8)



- Une pandémie est une épidémie qui atteint la totalité du globe en un temps assez court avec un fort taux de mortalité
- La périodicité estimée à 10 ans environ
- La vitesse de dissémination du virus d'un individu à un autre
- La mobilité de la population
- Modifications portent sur ses antigènes glycoprotéiques externes (hémagglutinine et neuraminidase). Ce virus est appelé "nouveau" puisqu'il n'est pas reconnu par les anticorps dirigés contre les antigènes antérieurs.



### Grippe interpandémique :

Les épidémies grippales

Peuvent infecter 5 à 20% de la population

- Le virus A
  - apparaissent en novembre - tous les 2 ou 3 ans
- Le virus B
  - en avril - intervalle de 3 à 6 ans - moins sévères
- Le virus C peu étudié
  - pouvoir de mutation est faible
  - responsable de cas sporadiques
  - séroprévalence est élevée.

### Caractères cliniques:

- Début brutal par des frissons
- Fièvre rapidement très élevée dure 3 à 5 j et les courbes thermiques peut avoir un aspect diphasique
- Des douleurs diffuses
- courbatures - rachialgies - myalgies

- Des signes d'irritation conjonctivale, laryngo-trachéale ou bronchique, le plus souvent sans catarrhe
- La guérison est rapide
- Une asthénie persiste souvent quelques temps
- Les formes compliquées dues au virus sont rares mais peuvent être graves :- œdème aigu du poumon

- formes neurologiques : encéphalite

La grippe est responsable d'une mortalité accrue

- sujets âgés

- les insuffisances chroniques cardiaques, rénales, pulmonaires...

Les complications de surinfection bactérienne sont très fréquentes :

- otites - bronchites - pneumonies

- Le syndrome de Reye surviendrait plus fréquemment chez les enfants au cours d'une grippe B

### **E-Diagnostic virologique :**

#### **1-Les prélèvements**

- Secrétions respiratoires
  - effectués précocement, dès le début clinique
  - une aspiration nasale (sonde nasale)
  - un écouvillonnage nasal
  - les prélèvements de gorge sont moins adaptés
  - les lavages broncho-alvéolaires sont effectués en cas de pneumopathie, notamment chez l'adulte
  - Les sécrétions doivent être placées dans un milieu de transport "virologique", fourni par le laboratoire
- Sang (sérum)

- Sérum précoce dans les 5 jours qui suivent l'apparition des symptômes

- Sérum tardif à la phase de "convalescence" 15 à 20j après le premier

**2-Détection directe du virus** : par une technique immunologique

- Technique d'immunofluorescence (IF) pour les virus A et B

- Méthode immuno-enzymatique (EIA) par immunocapture à l'aide d'un anticorps monoclonal (anti-NP du virus A)

- Méthodes les plus utilisées actuellement pour le diagnostic de la grippe .

**-Isolement du virus** : souvent limité

- La thermolabilité des virus influenza

- La contamination bactérienne des échantillons

- Isolement sur embryon de poulet

- œuf de poule embryonné âgé de 8 à 9 jours

- inoculé dans la cavité amniotique (voie la plus sensible)

- incubation de 3 jours à 33°C

- technique considérée longtemps comme méthode de référence pour

l'isolement des virus A et B. Isolement du virus

**-Culture cellulaire:**

- Les cellules MDCK (Madin-Darby canine kidney)

- ECP apparaît dans les 10 jours

- une hémagglutination est éprouvée sur le milieu de culture cellulaire et sur liquide allantoïque dès le 2ème jour et le 3ème jour respectivement

→ rechercher une éventuelle présence d'hémagglutinine (GR poule, cobaye)

→ Cette fixation sur deux globules rouges voisins entraîne leur agglutination visible macroscopiquement.

### Détection du génome viral

- RT-PCR et Real Time PCR
- Efficace pour l'identification des virus grippaux
- Paires d'amorces spécifiques des gènes codant HA des virus en circulation A/H1, A/H3, A/H5, AH9, A/N1 et B (c)
- Les résultats sont disponibles en quelques heures

### 3-Diagnostic sérologique indirect

- La réaction d'inhibition de l'hémagglutination (IHA)
  - Anticorps anti-HA
  - souches récemment isolées
    - Les anticorps IHA apparaissent 7 à 14 jours après l'infection
    - atteignent leur maximum à 4 semaines
    - persistent ensuite plusieurs semaines au moins à titre élevé et, en général, ne disparaissent pas complètement
- La réaction de fixation du complément (RFC)
  - les anticorps anti-types A ou B
- ELISA :
- Microneutralisation : recommandée pour le virus H5
- **F-TRAITEMENT SYMPTOMATIQUE**
- **repos** (l'arrêt de travail permet de limiter la contagion et les risques de propagation de l'infection)
- antipyrétique ; le paracétamol est utilisé en première intention car il entraîne peu d'effets secondaires. L'aspirine est contre indiquée chez les jeunes enfants, car son administration lors d'une grippe peut entraîner un syndrome de Reye, rare mais potentiellement mortel.
- **antalgique**

- **antitussif**
- **hydratation**, en fonction de la fièvre
- **La vitamine C** peut être indiquée contre l'asthénie passagère due au syndrome grippal
- **Traitement antiviral**
- **Amantadine/Rimantadine (anti-parkinsonien)**
  - peut être utilisée à titre préventif (avant l'apparition de vaccination)
  - à titre curatif, atténuation de l'évolution de la maladie si donnée dans les 48 heures qui suivent l'apparition des premiers symptômes
  - agit au niveau de la protéine M2, inhibant ainsi l'action de la pompe à protons
  - l'absence de protéine M2 sur le virus B explique sa non-activité sur ce virus
  - contre-indications :
    - Hypersensibilité connue à l'Amantadine, Grossesse et allaitement, I Rénale A

#### **Les inhibiteurs de la neuraminidase**

- Actifs à la fois sur le virus A et le virus B
  - Gêne la pénétration du virus
  - Empêche le détachement des virions néo synthétisés de la surface de la cellule.
  - Un traitement précoce durant les 2 premiers jours d'un état grippal permet de raccourcir de 1 à 1,5 jours la durée des symptômes et de reprendre l'activité habituelle 1 à 2 jours plus tôt
  - Le traitement est à poursuivre 7 à 10 jours
- C'est un traitement curatif

Exemple :

Le ZANIMAVIR (Relenza©)

L'OSELTAMIVIR (Tamiflu©)

### **G-La vaccination :**

#### Vaccins inactivés

-Vaccin fragmenté et inactivé : - le formol, la  $\beta$  propiolactone, l'irradiation UV  
- purification partielle qui enlève une partie importante du matériel protéique  
D'œuf responsable de sensibilisation ou de réactions allergiques chez des  
Sujets préalablement sensibilisés à l'œuf

- Vaccin sous unitaire : sous-unités antigéniques HA et NA purifiées
- Vaccins préparés à partir de virus complet multiplié dans la cavité allantoïque des œufs de poules embryonnés
- Ces vaccins sont toujours additionnés d'adjuvants
- Administrés par voie sous-cutanée ou Intramusculaire
- Protection clinique moins bonne que si le primo contact avec un virus vivant

Préparation du vaccin

- Formulé annuellement contre les souches récentes en circulation (OMS)
- Le vaccin est trivalent :
  - une souche de type A : H1N1
  - une souche de type A : H3N2
  - une souche de type B

#### Indications

- Les sujets avec tare.

- - cardiopathies
- - broncho-pneumopathies chroniques
- - néphropathies
- - diabète
- Les femmes enceintes
- Les personnes âgées de plus de 65 ans
- Le personnel considéré comme stratégique
  - - personnel médical
  - - services de transport
- Protocole des vaccinations
- Dans nos régions, réalisées entre septembre et le 15 novembre
- S'il s'agit d'une première vaccination:
  - il est préférable de faire deux injections à 15 ou 30 jours d'intervalle.
- L'immunité :
  - - apparaît (présence d'anticorps IHA et INA circulants à titre suffisant) en 15 jours à 3 semaines après la deuxième injection
    - persiste au moins 6 mois
- Des rappels seront effectués annuellement à la même période.

#### **H-MESURES D'HYGIENE :**

- **se laver les mains**
- **se protéger et protéger les autres des projections ,**
- **rester chez soi si l'on est malade, éviter toute atmosphère confinée.**  
Aérer régulièrement les pièces

