

La lutte contre la grippe

GRAEME LAVER • NORBERT BISCHOFBERGER • ROBERT WEBSTER

Bientôt commercialisés, les nouveaux médicaments antigrippaux empêchent le virus de la grippe de se multiplier dans les tissus humains. Ils devraient également prévenir l'infection.

Régulièrement, une nouvelle souche du virus de la grippe se propage dans les populations humaines. La souche étant nouvelle, personne ou presque n'est immunisé contre elle. Même les personnes vaccinées ne sont pas protégées ; les vaccins protègent seulement contre les souches connues que les biologistes ont utilisées pour mettre au point les préparations vaccinales. Ne rencontrant aucune résistance, la nouvelle souche provoque la maladie, voire la mort, dans le monde entier.

La pire des épidémies – ou pandémie – de grippe que le monde ait connue fut celle de 1918 : elle a tué plus de 20 millions de personnes, parfois en quelques heures seulement. Ce fléau, dû au virus de la grippe espagnole, fut suivi d'épidémies de grippe asiatique en 1957, de grippe de Hongkong en 1968, et de grippe russe en 1977 (ces dénominations indiquent que l'on croyait être l'origine géographique des pandémies, mais on sait aujourd'hui que ces quatre épidémies, et peut-être bien d'autres, venaient de Chine).

Les médecins savent qu'une nouvelle pandémie peut surgir n'importe quand, et être aussi grave que celle de 1918. En 1997, quand un nouveau type de virus de la grippe atteignit 18 personnes à Hongkong, tuant six d'entre elles, les spécialistes craignirent qu'une nouvelle pandémie n'ait commencé. Les autorités locales circonscrivirent rapidement l'épidémie, en identifiant le foyer initial – des poulets, des canards et des oies contaminés –, puis en abattant toutes les volailles de Hongkong.

Aurons-nous autant de chances la prochaine fois ? Si un virus aussi dévastateur que celui de Hongkong avait frappé des régions surpeuplées du monde, 30 pour cent de la population mondiale aurait péri (sous l'action directe du virus ou à la suite d'infections bactériennes secondaires), avant qu'un vaccin ne protège ceux qui auraient échappé à l'infection : on met environ six mois pour produire un vaccin contre un variant particulier de la grippe, pour en tester l'innocuité et pour le distribuer, ce qui est beaucoup trop long pour réagir efficacement contre une pandémie galopante.

Cependant, si la pandémie redoutée ne survient pas avant un an ou davantage, on devrait disposer de traitements pour réduire les symptômes et le nombre des décès : deux médicaments contre la grippe, en cours d'essais cliniques, pourraient recevoir leur autorisation de mise sur le marché avant la fin de l'année. Ces deux substances – le zanamivir et le GS 4104 – semblent prévenir la grippe et réduire la durée et la gravité des symptômes chez les personnes atteintes.

Contrairement aux vaccins (qui préparent le système immunitaire à réagir en cas d'intrusion des virus) et aux remèdes usuels (qui calment les symptômes, mais n'agissent pas sur l'infection elle-même), ces médicaments ont été conçus pour s'attaquer directement au virus de la grippe : ils inhibent une enzyme virale essentielle, la neuraminidase, et réduisent ainsi notablement la prolifération du virus dans l'organisme. D'autres inhibiteurs

de la neuraminidase, qui n'ont pas encore été testés chez l'homme, sont à l'étude.

Deux médicaments contre la grippe, l'amantadine et la rimantadine, sont déjà commercialisés. Ils ont un autre mode d'action, mais ont surtout de graves inconvénients : ils provoquent parfois des confusions mentales et d'autres effets secondaires neurologiques, et ils sont inefficaces contre l'une des deux principales classes de virus humains de la grippe (le type B). De surcroît, les virus de la grippe semblent devenir assez facilement résistants à ces médicaments, de sorte que les personnes traitées au début d'une épidémie risquent de transmettre à d'autres personnes des variants viraux résistants, ce qui est particulièrement grave dans les collectivités, tels les hôpitaux.

Les médicaments les plus récents sont le fruit de la chance et de la logique. Leur mise au point résulte de la découverte, en 1983, de la structure tridimensionnelle de la neuraminidase. Pourtant, c'est une série de découvertes antérieures qui a permis aux biologistes de comprendre que tous les variants de la grippe ont leur talon d'Achille – une faiblesse que les médicaments exploitent.

1. LES NOUVEAUX MÉDICAMENTS (*triangles rouges*) contre la grippe bloquent le site actif d'une enzyme, la neuraminidase, « plantée » à la surface des virus de la grippe. Cette enzyme permet aux particules virales nouvellement formées de se déplacer d'une cellule de l'organisme à une autre. Dès que l'enzyme est inactivée, le virus ne progresse plus.

Anatomie d'un fléau

Parmi ces travaux antérieurs, certains avaient révélé quelques propriétés des virus de la grippe et de leur stratégie de survie. Les virologues savent depuis longtemps que les virus sont des gènes emballés dans des protéines, qui les protègent ou qui favorisent leur prolifération dans les organismes qu'ils infectent. Dans le cas du virus de la grippe et de quelques autres virus, ces divers constituants sont entourés d'une membrane composée de molécules de lipides. Les virus infectent les organismes, parce qu'ils envahissent certaines de leurs cellules, où ils se multiplient, puis ils quittent ces cellules et en infectent d'autres. Certains symptômes surviennent parce que la prolifération virale détruit les cellules infectées, d'autres sont dus aux défenses immunitaires qui provoquent une inflammation locale, des douleurs généralisées et de la fièvre.

Les virus humains de la grippe ont une affinité particulière pour les cellules épithéliales

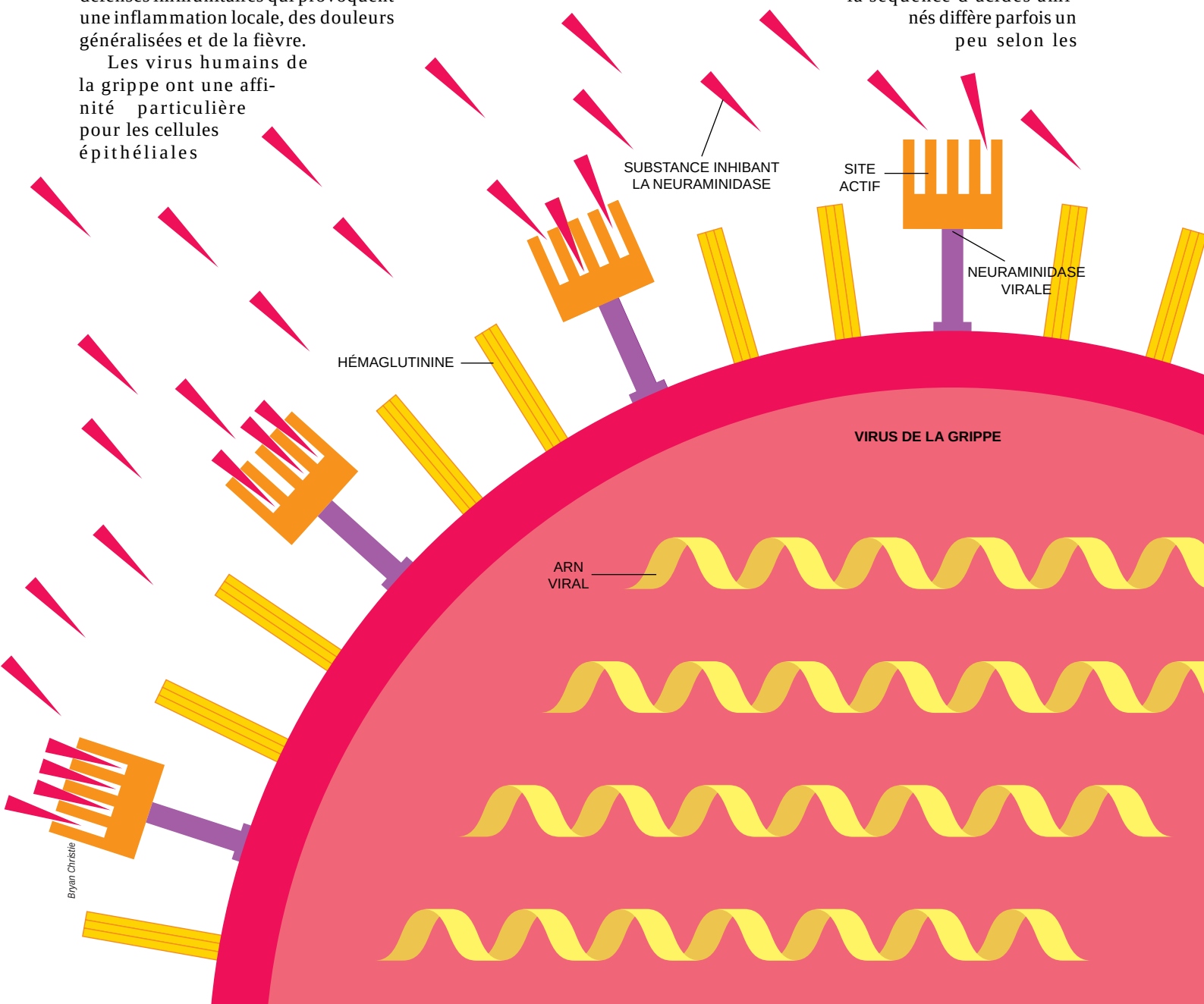
qui recouvrent les voies respiratoires. Un jour ou deux après la contamination, les symptômes classiques apparaissent : le nez coule ou s'obstrue, la toux est irrésistible, le malade a de la fièvre, des douleurs, il frissonne, il est fatigué et il n'a plus d'appétit. D'après les descriptions de tels symptômes, on sait que les populations humaines souffrent de la grippe depuis plus de 2 500 ans.

Le premier virus humain de la grippe a été isolé en 1933. Ces virus se répartissent en deux principales catégories – le type A et le type B –, qui diffèrent par certaines de leurs protéines internes. Une troisième variété (C) ne semble pas être responsable de maladies graves.

Les virologues classent les diverses formes du type A selon les particularités des deux protéines fichées dans la surface virale comme des spicules :

l'hémagglutinine et la neuraminidase (l'enzyme qui est la cible des nouveaux médicaments). Ces protéines, comme toutes les autres, sont des chaînes repliées d'acides aminés. Les diverses molécules d'hémagglutinine ont presque toutes la même structure tridimensionnelle typique, et celles de neuraminidase aussi. Toutefois, à l'intérieur de chaque groupe, les séquences des acides aminés varient notablement selon les protéines. Ainsi, dans les gripes de type A, on a identifié 15 sous-types d'hémagglutinine et 9 sous-types de neuraminidase. Selon les molécules d'hémagglutinine et de neuraminidase qui composent ces types viraux, on nomme ces virus H1N1, H1N2, H2N2, etc.

Les virus de type B forment un groupe plus homogène. Ils portent une seule forme d'hémagglutinine et une seule forme de neuraminidase, bien que la séquence d'acides aminés diffère parfois un peu selon les





Thomas Brock, avec l'autorisation de Michael Madigan

souches de type B. De même, les souches de chaque sous-type de grippe A présentent une légère variabilité.

Les virus de type A et de type B se distinguent aussi par leurs modes d'action. Les virus de type B n'infectent que l'espèce humaine, et ils déclenchent des épidémies locales plutôt que des pandémies. Au contraire, les virus de type A touchent également les porcs, les chevaux, les phoques, les baleines et les oiseaux, bien que toutes les souches n'infectent pas toutes ces espèces (quatre sous-types seulement infectent notre espèce) : ils ont été responsables de toutes les pandémies du XX^e siècle.

Malgré leurs différences, les deux types de virus de la grippe ont le même cycle de vie. Pour qu'une particule virale pénètre dans une cellule humaine, il faut que l'hémagglutinine virale se lie à une molécule d'un sucre, l'acide sialique, située à la surface de la cellule à infecter. Cette liaison déclenche l'absorption du virus, d'abord emprisonné dans une sorte de bulle, une invagination de la membrane cellulaire. Puis les gènes viraux (des brins d'ARN) et les protéines viraux sont libérés dans la cellule et gagnent le noyau.

Les brins d'ARN viral sont répliqués et de l'ARN messager est produit ; puis cette molécule est transcrite en protéines par la machinerie cellulaire.

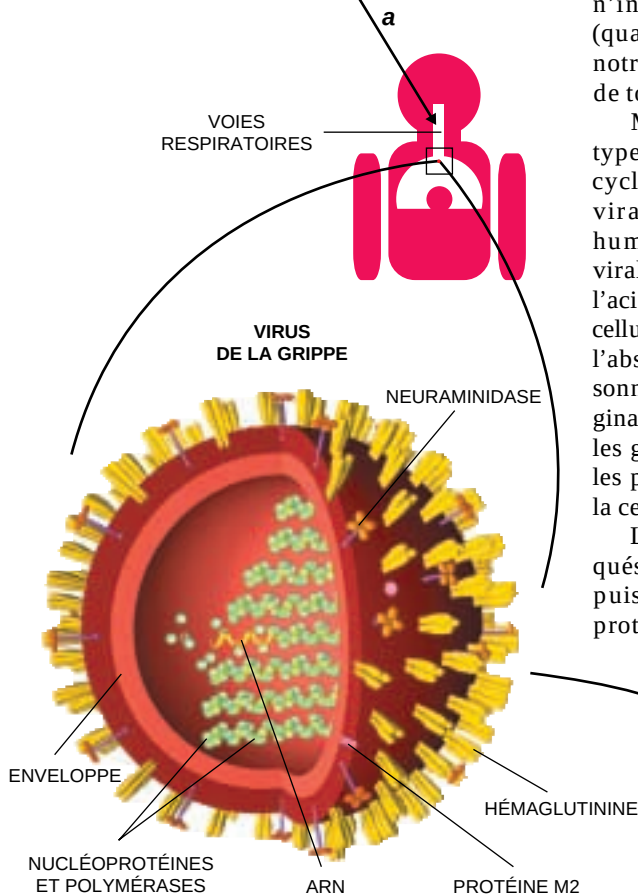
Finalement, les protéines et les gènes viraux produits par la cellule s'assemblent en nouvelles particules virales qui s'échappent de la cellule, en bourgeonnant à sa surface.

Comme ces particules émergentes sont recouvertes de morceaux de la membrane cellulaire, elles portent des molécules d'acide sialique, ce même composé auquel s'accrochent les virus de la grippe quand ils infectent les cellules. Si l'acide sialique restait sur le virus et à la surface des cellules qui libèrent les nouveaux virus, l'hémagglutinine des particules nouvellement formées s'y fixerait, collant les particules virales sur la cellule, comme des insectes sur un papier tue-mouches : les nouvelles particules virales ne pourraient se disperser pour contaminer d'autres cellules.

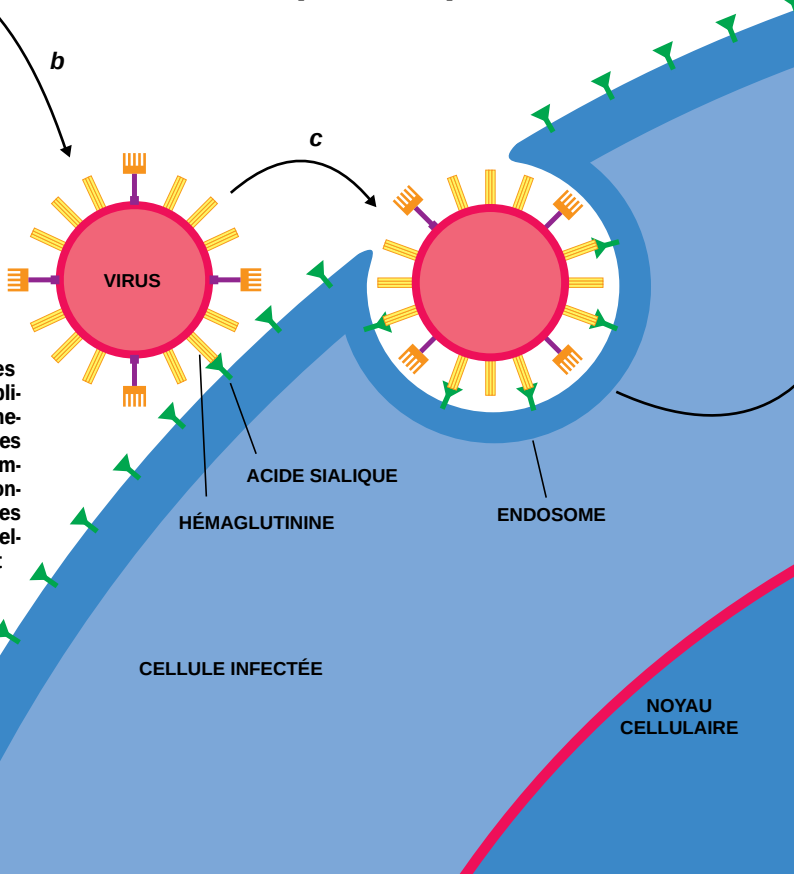
Toutefois le virus a une botte secrète. Les molécules de neuraminidase portées par les nouvelles particules virales arrachent l'acide sialique : elles « dissolvent » la colle que constitue l'acide sialique, ce qui permet aux particules virales de s'échapper. Cette enzyme aide aussi les particules virales à se frayer un chemin dans le mucus où baignent les cellules des voies respiratoires.

Les origines des pandémies

Dès les années 1960, les biologistes ont su qu'un médicament qui bloquerait l'une quelconque des étapes de la réplication empêcherait le virus de



2. LE CYCLE DU VIRUS DE LA GRIPPE commence souvent par la transmission de postillons émis par une personne contaminée qui éternue (a). Les particules virales (le détail ci-dessus) pénètrent dans les cellules des voies respiratoires, parce qu'une molécule du virus, l'hémagglutinine, se lie à de l'acide sialique porté par les cellules (b). Ensuite, les cellules absorbent le virus (c), qui déverse son matériel génétique, constitué d'ARN, et ses protéines vers le noyau (d et e). Certaines de ces protéines servent à la réplication de l'ARN (f) et à produire de l'ARN messager, que la machinerie cellulaire qui produit les protéines utilise pour fabriquer des protéines viraux (g et h). Ensuite les gènes viraux et les protéines s'assemblent pour former de nouvelles particules virales (i) qui bourgeonnent et s'échappent de la cellule. Les particules libérées sont revêtues d'acide sialique. Si cette substance restait sur le virus et sur la cellule, les molécules d'hémagglutinine d'une particule se fixeraient rapidement sur l'acide sialique d'autres particules et de la cellule : les nouvelles particules virales s'aggloméreraient et adhèreraient à la cellule, de sorte que l'infection ne se propagerait pas à d'autres cellules. La neuraminidase présente sur le virus arrache l'acide sialique de la surface des nouvelles particules virales (j), les laissant libres d'envahir d'autres cellules (k).



déclencher une grippe, ou abrégerait une infection déjà présente. Ils prévoyaient que la plupart des molécules efficaces perturberaient aussi les cellules saines, puisque les virus de la grippe se développent à l'intérieur des cellules et se servent de la machinerie cellulaire de fabrication des protéines.

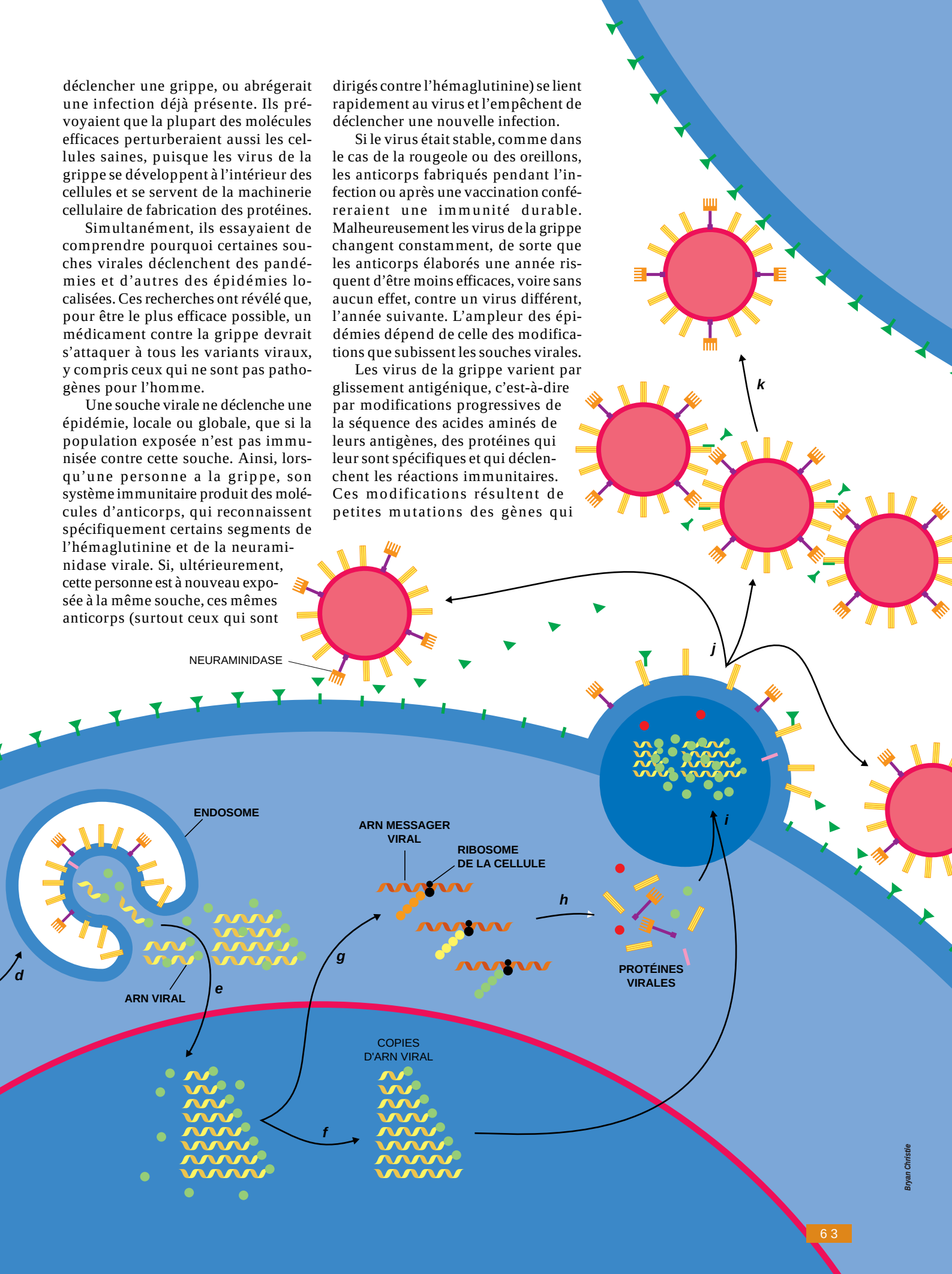
Simultanément, ils essayaient de comprendre pourquoi certaines souches virales déclenchent des pandémies et d'autres des épidémies localisées. Ces recherches ont révélé que, pour être le plus efficace possible, un médicament contre la grippe devrait s'attaquer à tous les variants viraux, y compris ceux qui ne sont pas pathogènes pour l'homme.

Une souche virale ne déclenche une épidémie, locale ou globale, que si la population exposée n'est pas immunisée contre cette souche. Ainsi, lorsqu'une personne a la grippe, son système immunitaire produit des molécules d'anticorps, qui reconnaissent spécifiquement certains segments de l'hémagglutinine et de la neuraminidase virale. Si, ultérieurement, cette personne est à nouveau exposée à la même souche, ces mêmes anticorps (surtout ceux qui sont

dirigés contre l'hémagglutinine) se lient rapidement au virus et l'empêchent de déclencher une nouvelle infection.

Si le virus était stable, comme dans le cas de la rougeole ou des oreillons, les anticorps fabriqués pendant l'infection ou après une vaccination confèreraient une immunité durable. Malheureusement les virus de la grippe changent constamment, de sorte que les anticorps élaborés une année risquent d'être moins efficaces, voire sans aucun effet, contre un virus différent, l'année suivante. L'ampleur des épidémies dépend de celle des modifications que subissent les souches virales.

Les virus de la grippe varient par glissement antigénique, c'est-à-dire par modifications progressives de la séquence des acides aminés de leurs antigènes, des protéines qui leur sont spécifiques et qui déclenchent les réactions immunitaires. Ces modifications résultent de petites mutations des gènes qui





3. CES CRISTAUX DE NEURAMINIDASE ont été obtenus à partir d'un virus de la grippe qui avait infecté des oiseaux sauvages de la Grande Barrière de corail, en Australie. Grâce à ces cristaux de neuraminidase, les biologistes ont déterminé la structure tridimensionnelle de l'enzyme et fabriqué des médicaments qui en bloquent le site actif. Les différentes teintes correspondent à des réflexions de lumières colorées.

codent ces protéines. Certaines mutations ne modifient guère la stabilité des protéines ni leur activité. D'autres modifient tant les protéines produites qu'elles diminuent la viabilité des virus. D'autres encore rendent les virus plus redoutables, par exemple en reconfigurant un site qui était auparavant reconnu et inactivé par un anticorps.

Lorsque les gènes de l'hémagglutinine ou de la neuraminidase sont notablement modifiés, les protéines codées pour ces gènes échappent à la plupart des anticorps d'une population : une nouvelle épidémie se déclenche. Cette épidémie s'arrête lorsqu'elle atteint des groupes dont le système immunitaire a déjà rencontré la plupart de ces antigènes modifiés.

Les virus de type B semblent évoluer uniquement par glissement antigénique, se modifiant progressivement chez les personnes infectées. Au contraire, les virus de type A subissent des modifications plus marquées, des cassures antigéniques, qui, seules, peuvent déclencher des pandémies.

Lors d'une cassure antigénique, les souches portent des molécules d'hémagglutinine et une neuraminidase totalement nouvelles, que presque personne n'a rencontrées. Le virus échappe alors à la panoplie des anticorps portés par toutes les populations du globe et déclenche une pandémie. Aujourd'hui, les avions qui sillonnent le monde pourraient transporter un virus dangereux sur toute la Terre en quelques heures.

Une telle métamorphose ne résulte pas d'une simple mutation génétique. Le mécanisme de cassure antigénique le mieux étudié survient après le mélange de deux souches virales dans une cellule humaine : les gènes rassemblés dans les nouvelles particules virales (et les protéines correspondantes) proviennent en partie de la première des souches et en partie de la seconde. Ce réassortiment peut se produire parce que le génome du virus de la grippe est composé de huit brins d'ARN (chacun des brins codant une ou deux protéines). Ces brins se mélangent facilement et se réassemblent lorsque de nouvelles particules virales de type A se forment dans une cellule infectée par les deux souches virales. Ainsi, certains virus de la grippe infectent à la fois l'homme et le porc. Quand un porc est infecté par un virus humain et par une souche n'infectant généralement que les oiseaux, la souche hybride ressemble aux souches humaines, mais est, par exemple, pourvue aussi d'hémagglutinine d'oiseau.

On a récemment découvert que la cassure antigénique se produit aussi d'une autre façon, de sorte qu'un virus de grippe animal, qui n'avait pas encore réussi à infecter l'homme, devient pathogène. On ignore quelle cassure antigénique a provoqué la pandémie de grippe espagnole de 1918, due au sous-type H1N1 de type A, mais on a montré qu'un réassortiment a été à l'origine de la pandémie de grippe asiatique de

1957 (due à H2N2) et de celle de grippe de Hongkong de 1968 (due à H3N2). Des oiseaux aquatiques auraient apporté des gènes inhabituels, et le mélange des gènes aurait eu lieu dans des porcs infectés. Si les porcs sont effectivement impliqués dans l'apparition de nouvelles souches virales de la grippe, on comprendrait pourquoi les pandémies se déclarent souvent en Chine : des millions d'oiseaux, de porcs et de personnes vivent dans la promiscuité.

Le virus qui a tué six personnes à Hongkong en 1997 (H5N1) n'était pas issu d'un réassortiment. Il est passé directement des oiseaux à l'homme, ce que l'on n'avait jamais observé auparavant. En revanche, il ne se transmettait pas d'homme à homme. S'il avait eu le temps de devenir contagieux par mutation ou par réassortiment, il aurait certainement été responsable d'une grave pandémie.

L'alerte de 1997 a convaincu nombre de spécialistes de la santé publique que les services sanitaires doivent surveiller la grippe non seulement chez l'homme, mais aussi chez les animaux, y compris chez les oiseaux migrateurs : ceux-ci sont probablement des réservoirs de virus de type A, qui sont ensuite transmis aux oiseaux domestiques et à d'autres espèces. L'identification rapide de souches animales potentiellement dangereuses pour l'homme pourrait prévenir une catastrophe sanitaire à grande échelle.

L'incident de Hongkong a confirmé l'urgence des recherches sur ce que l'on nomme la barrière d'espèces, qui empêche de nombreuses souches virales de se transmettre d'une espèce animale à une autre. Si l'on en comprenait mieux la nature, les biologistes pourraient sans doute colmater les brèches qui permettent aujourd'hui à certaines souches animales de franchir cette barrière et d'infecter l'homme.

Une découverte fortuite

Les diverses études de la grippe ont montré, dès la fin des années 1970, qu'un médicament antigrippe ne serait efficace que s'il bloquait l'activité d'une des molécules indispensables à la multiplication du virus ; il devrait agir sur un site conservé de la molécule cible, c'est-à-dire sur un groupe d'acides aminés présents dans tous les types de souches du virus de la grippe. Un médicament qui aurait pour cible une région conservée, présente sur n'importe quel

virus, serait vraisemblablement actif contre tous les virus humains de la grippe, y compris ceux qui passent directement de l'animal à l'homme.

La mise au point des inhibiteurs de neuraminidase se fonde sur une découverte fortuite. Vers la fin des années 1970, l'un de nous (G. Laver) étudiait la molécule N2 du virus qui a provoqué la pandémie de grippe de Hongkong en 1968 (H3N2). Cette neuraminidase provenait-elle de la souche responsable de la pandémie de grippe asiatique de 1957 (H2N2)? Il voulait comparer les séquences d'acides aminés des deux molécules et, d'abord, isoler et concentrer les «têtes» des molécules de neuraminidase présentes à la surface des virus.

Après avoir isolé ces têtes à partir de virus purifiés et après les avoir concentrées par centrifugation, G. Laver constata avec surprise que le précipité obtenu n'était pas amorphe, comme les protéines le sont d'habitude, mais qu'il formait des cristaux. Or, les cristaux, qui sont des réseaux ordonnés de molécules, permettent l'analyse de la structure tridimensionnelle des grosses protéines!

En Australie, Peter Colman et ses collègues effectuèrent cette détermination en 1983 : les spicules des virus de la grippe sont constitués de quatre molécules identiques, ou monomères. Le tétramère résultant ressemble à un groupe de quatre ballons carrés disposés à l'extrémité d'une tige qui est fichée dans la membrane virale. Puis l'équipe de P. Colman découvrit bientôt que chacun des monomères de neuraminidase présente à sa surface un

profond sillon central. De surcroît, malgré les variations des molécules de neuraminidase, la même séquence d'acides aminés tapisse la paroi du sillon de tous les variants viraux connus, qu'il s'agisse des types A ou B.

Quand certaines régions d'une molécule sont ainsi invariantes, elles sont généralement indispensables à la fonction de la molécule. Dans le cas présent, le sillon semblait être le site actif de la neuraminidase, celui où l'acide sialique est clivé, et les acides aminés conservés du sillon paraissaient indispensables à la fonction catalytique. Cette hypothèse fut confirmée par la suite.

Comme les virus de la grippe ne se transmettent pas facilement d'une cellule à l'autre sans la neuraminidase, un médicament capable de bloquer le sillon devrait inhiber la neuraminidase de tous les virus de grippe.

L'obstruction du sillon

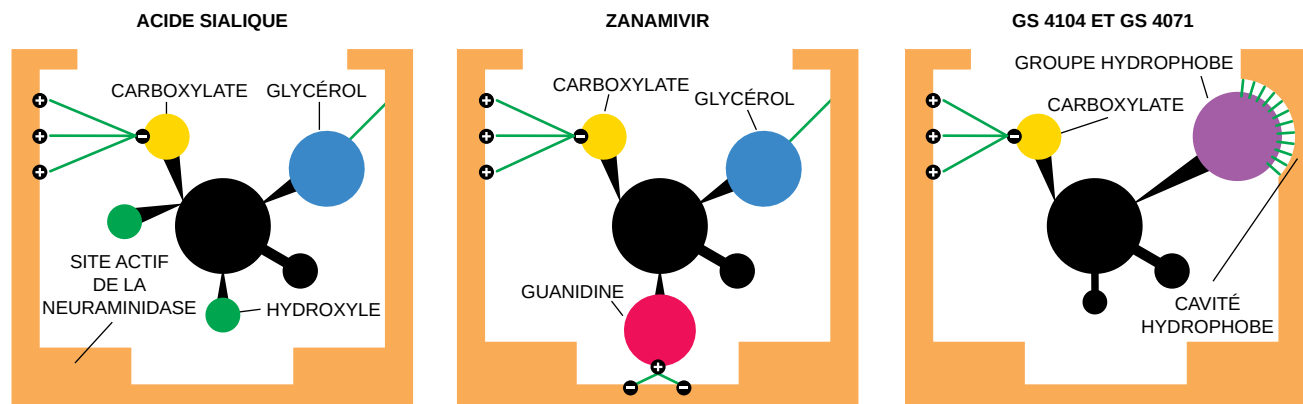
L'équipe de P. Colman identifia alors, dans le site actif, les acides aminés qui clivent l'acide sialique. Elle rechercha également les acides aminés qui, dans le sillon, ne se lient pas à l'acide sialique, mais où pourrait se fixer le futur médicament. Ainsi, ces biologistes identifièrent trois acides aminés chargés positivement, qui se liaient à un groupe chargé négativement (le groupe carboxylate -COO-) de l'acide sialique.

Ils repérèrent aussi, au fond du sillon, une petite cavité où apparaissent deux acides aminés chargés négativement. Ces acides aminés (des groupes glutamate) n'établissaient

aucun contact avec l'acide sialique, mais ils étaient présents dans toutes les molécules de neuraminidase virale. Un groupe hydroxyle (-OH) de l'acide sialique était orienté vers le bas, vers cette cavité, mais ne l'atteignait jamais.

En remplaçant ce groupe hydroxyle par un groupe plus gros et chargé positivement, obtiendrait-on une liaison forte? Un tel groupe positif semblait devoir se localiser dans la petite cavité, au fond du site actif, et s'y immobiliser, en se liant aux molécules de glutamate chargées négativement de la cavité.

En 1993, Mark von Itzstein et ses collègues de l'Université de Melbourne trouvèrent qu'en substituant un groupe guanidine (à la fois volumineux et chargé positivement) au groupe hydroxyle de l'acide sialique, ils obtenaient un puissant inhibiteur de la neuraminidase grippale. Comme cet inhibiteur agissait peu sur les enzymes voisines fabriquées par les bactéries et par les mammifères, on pouvait espérer qu'il ne perturberait pas les cellules humaines. Des études sur des animaux et des essais préliminaires chez l'homme montrèrent alors que la substance – le zanamivir – prévenait l'apparition des symptômes de la grippe chez des personnes infectées après l'administration du zanamivir et qu'elle atténuait les symptômes chez les personnes qui commençaient à se traiter après avoir été infectées. Toutefois, pour être efficace, ce produit ne devait pas être administré par voie buccale ; il devait être inhalé par le



4. DE NOUVEAUX MÉDICAMENTS bloquent le site actif de la neuraminidase en s'y liant plus que l'acide sialique. Quand un virus attaque une cellule, l'acide sialique (à gauche) est maintenu dans le site, un sillon, surtout grâce à ses groupes glycérol et carboxylate, qui forment des liaisons (traits verts) avec les acides aminés du site actif. Le zanamivir (au centre) se lie plus fortement au site actif grâce à d'autres liaisons : le groupe hydroxyle d'un dérivé de l'acide sialique est remplacé par un gros groupe

guanidine chargé positivement, qui se fixe solidement à deux acides aminés chargés négativement situés au fond du sillon. Le GS 4104 est converti en GS 4071 dans l'organisme. La molécule résultante (à droite) conserve les liaisons carboxylate établies par l'acide sialique, mais elle a aussi un groupe hydrophobe qui, dans le sillon de liaison, provoque la formation d'une cavité hydrophobe qui maintient le médicament en place par des forces attractives hydrophobes (les petits traits verts).

Bryan Christie, d'après P. Scott Rowland, Biocyst Pharmaceuticals, Inc.

nez ou aspiré par la bouche, pour agir sur le système respiratoire.

C'est le groupe guanidine qui fait du zanamivir un inhibiteur si efficace, mais c'est aussi lui qui rend le produit sans effet quand il est administré sous forme de comprimés.

Avant d'atteindre les régions de l'organisme où il agit, un médicament ingéré doit traverser les cellules du revêtement intestinal et atteindre le sang. Malheureusement, les molécules chargées traversent difficilement les membranes cellulaires lipidiques,

perméables surtout aux molécules non chargées.

Comme l'inhalation est un moyen commode d'administrer un médicament agissant dans les voies respiratoires, les Laboratoires *Glaxo Wellcome* ont entrepris de nouveaux tests du

Des vaccins plus efficaces

La grippe ne serait-elle pas mieux jugulée par un vaccin «universel», capable de prévenir une infection en stimulant l'organisme pour qu'il prépare une réaction immunitaire qui le protégerait contre n'importe quelle souche de virus de la grippe ? Si, mais un tel vaccin n'existe pas encore.

Aujourd'hui, les immunologistes cherchent à raccourcir les délais de production des vaccins, afin qu'une campagne de vaccination soit rapidement mise en place en cas d'épidémie grave. Ils voudraient mettre au point des vaccins dont l'administration ne nécessiterait plus d'injections, améliorer l'acceptabilité des vaccins et augmenter la couverture vaccinale des enfants. En effet, si les personnes âgées sont le plus malades, ce sont surtout les enfants qui assurent la transmission de la maladie.

Les vaccins contre la grippe se sont généralisés depuis les années 1940. Aujourd'hui, la chaîne de fabrication commence par l'analyse d'échantillons de virus de la grippe collectés par 110 sites de surveillance, répartis dans le monde entier. Chaque année, en février, l'Organisation mondiale de la santé identifie trois souches – deux de type A et une de type B – qui semblent devoir être les principales responsables des gripes de la saison à venir (de novembre à mars dans l'hémisphère Nord) ; ces trois souches entreront dans la composition du vaccin.

Pour fabriquer un vaccin, on pourrait cultiver à grande échelle les souches sélectionnées, les inactiver pour qu'elles ne puissent pas déclencher d'infection, puis les rassembler en une seule préparation. Cependant, les souches sélectionnées se multiplient lentement au laboratoire, ce qui rend la production de masse difficile. Pour tourner cette difficulté, les biologistes insèrent, dans une forme de virus de grippe qui se multiplie rapidement en laboratoire, des protéines stimulant le système immunitaire (l'hémagglutinine et la neuraminidase), lesquelles proviennent de la surface des souches sélectionnées. Ensuite, ils infectent des embryons de poulet avec le virus modifié à croissance rapide et le virus sélectionné. Les particules virales fabriquées par les embryons se multiplient rapidement ; ils portent des spicules d'hémagglutinine et de neuraminidase des souches supposées responsables des épidémies de l'année à venir. Ces virus à croissance rapide sont ensuite isolés, puis confiés aux fabricants de vaccins, qui en assurent la production au moyen d'un grand nombre d'embryons de poulet.

Auparavant, le vaccin était constitué d'un mélange de formes inactivées des trois types de souches sélectionnées. Aujourd'hui,

la plupart des fabricants préparent le vaccin à partir des protéines extraites des virus. Les protéines déclenchent les réactions immunitaires, mais ne sont absolument pas infectieuses. Dans les deux cas, les vaccins stimulent le système immunitaire, lui font fabriquer des anticorps qui se fixent sur les particules virales infectieuses portant ces protéines, lesquelles sont alors éliminées.

D'autres vaccins contiennent des virus vivants atténués, qui ont l'avantage de déclencher la production d'anticorps, mais aussi de globules blancs, nommés lymphocytes T, qui repèrent et éliminent les cellules infectées. Ils ne s'attaquent pas seulement aux seules souches reconnues par les anticorps spécifiques, mais aussi à des souches voisines. Ils resteraient donc efficaces si les molécules de surface d'une souche virale changeaient légèrement.

Un vaccin à base de virus vivant atténué, administré sous forme d'aérosol nasal, a été testé chez l'homme et, notamment, chez les enfants ; il sera probablement commercialisé d'ici un à deux

ans. Malheureusement, on ne sait pas fabriquer rapidement les vaccins à base de virus vivant atténué, de sorte qu'on ne pourrait sans doute pas les utiliser lors d'une pandémie soudaine.

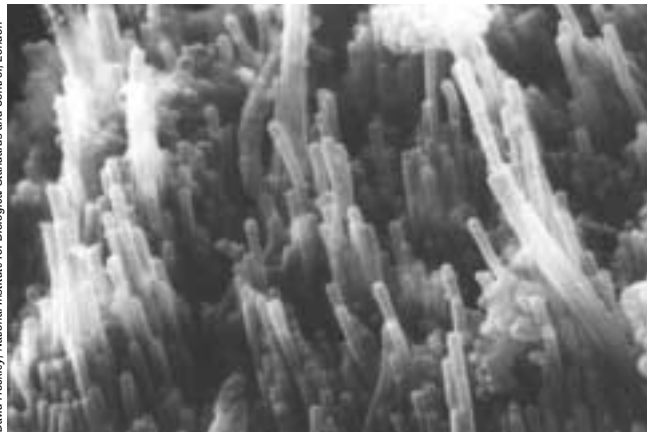
Pour raccourcir la durée de production, on cherche des méthodes qui éviteraient d'avoir recours à tant d'œufs fécondés. On pourrait insérer des gènes d'hémagglutinine et de neuraminidase provenant des souches sélectionnées dans une autre sorte de virus, telle qu'un baculovirus, qui, contrairement aux virus de la grippe, se multiplie très bien en culture. En se mul-

tipliant, les virus génétiquement modifiés fabriqueraient de grandes quantités de protéines de la grippe, qui seraient purifiées et utilisées dans les vaccins. On saurait préparer et distribuer des vaccins recombinants en deux mois (trois mois au plus), mais on doit d'abord en confirmer l'efficacité.

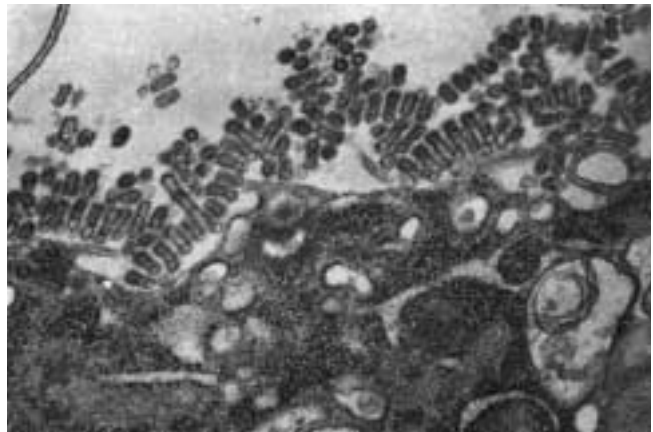
Une stratégie encore plus rapide consisterait à utiliser de l'ADN nu : les gènes de l'hémagglutinine et de la neuraminidase, introduits dans des anneaux d'ADN nommés plasmides, seraient injectés dans la peau ou dans les muscles, et absorbés par les cellules environnantes, lesquelles se mettraient à produire des protéines du virus de la grippe. Ces protéines seraient alors présentées à la surface des cellules qui les fabriquent, où les cellules du système immunitaire les repéreraient. Des anticorps et des lymphocytes T capables de neutraliser les virus libres et d'éradiquer toutes les cellules infectées seraient produits. Les vaccins contre la grippe à ADN nu sont efficaces sur des animaux, mais doivent encore être testés sur l'homme.



UNE VACCINATION ANNUELLE est généralement la meilleure façon d'éviter la grippe. Pour certains, les piqûres seront un jour remplacées par un vaccin administré par un aérosol nasal.



5. DE NOUVELLES PARTICULES VIRALES quittent parfois la cellule infectée sous forme de filaments (à gauche) ; parfois aussi, elles sont sphériques ou de forme intermédiaire. Les particules s'agglutinent sur la



surface de la cellule (les petites tiges et les sphères en haut de la micrographie de droite) quand leurs molécules de neuraminidase sont inactivées ; les particules virales cessent d'infecter d'autres cellules.

zanamivir chez l'homme. Toutefois, certaines personnes préfèrent prendre des comprimés, et les Laboratoires *Gilead Sciences* se sont associés aux Laboratoires *Hoffman-La Roche* pour rechercher un inhibiteur de la neuraminidase administrable par voie orale. De surcroît, un médicament circulant dans le sang combattrait n'importe quel type de virus de la grippe très pathogène infectant des cellules autres que celles des voies respiratoires.

La deuxième voie

Après avoir synthétisé et testé de nombreux composés, les pharmacologues en trouvèrent un qui était aussi puissant que le zanamivir et qu'ils nommèrent GS 4071. Il contient l'un des principaux groupes de liaison de la neuraminidase, également présent dans le zanamivir : un groupe carboxylate chargé négativement et se liant à des acides aminés chargés positivement du site actif de l'enzyme. En outre, l'interaction du GS 4071 et du site actif fait tourner l'un des acides aminés du sillon, ce qui fait apparaître une nouvelle cavité hydrophobe (qui ne se lie pas à l'eau ni aux molécules chargées) : cette dernière devient un site de fixation d'une séquence également hydrophobe (une chaîne de carbone et d'hydrogène) du médicament.

Ce produit donnait de bons résultats *in vitro*, empêchant la multiplication du virus sans endommager les cellules saines. En revanche, chez l'animal, le médicament ne passa pas la barrière intestinale pour atteindre le sang, à cause du groupe carboxylate chargé négativement. Heureusement, une petite retouche (la mise en place d'un masque

sur le groupe chargé négativement) y remédia : la molécule obtenue, nommée GS 4104, traversait la barrière intestinale et passait dans le sang ; puis des enzymes du sang et du foie éliminaient le masque. Revenue à sa forme originale, GS 4071 inhibe la neuraminidase et la dispersion des particules virales dans les voies respiratoires des animaux testés. Comme le zanamivir, il semble bien fonctionner chez l'homme.

Les derniers comptes rendus des essais cliniques du zanamivir et du GS 4104 ont confirmé les résultats préliminaires : quand le traitement commence moins d'un jour et demi après l'apparition des symptômes, le zanamivir inhalé et le GS 4104 administré par voie buccale réduisent d'environ deux à trois jours la durée de la maladie et atténuent la gravité des symptômes. Lors d'un essai avec le GS 4104, par exemple, les symptômes ont été réduits de 25 à 60 pour cent. En outre, ces médicaments diminuent de plus de moitié le risque d'infections bactériennes secondaires et potentiellement mortelles, telles les bronchites. Ces complications sont la principale cause des décès survenant à la suite d'une grippe, chez les personnes âgées ou qui sont déjà malades.

Le zanamivir sous forme injectable semble également efficace et serait aussi un médicament préventif : lors d'un essai avec du zanamivir, deux pour cent des personnes prenant la substance ont eu la grippe, contre six pour cent de ceux qui ne prenaient rien. Des résultats comparables ont été obtenus avec le GS 4104. Aucun de ces produits n'a eu d'effet secondaire grave.

Forts de ces résultats, les Laboratoires *Glaxo Wellcome* ont demandé en

Europe, en Australie, au Canada et aux États-Unis l'autorisation de mise sur le marché de la forme de zanamivir administrée par aérosol, et les mêmes démarches devraient être entreprises prochainement pour le GS 4104. D'autres inhibiteurs de la neuraminidase ont donné de bons résultats sur l'animal ; les Laboratoires *Johnson & Johnson* les étudient aujourd'hui.

Épargner quelques jours de maladie et alléger les symptômes grippaux semblent être des progrès bien minces, mais l'intérêt est pourtant notable. La fatigue et les autres symptômes ressentis au cours des derniers jours d'une grippe sont essentiellement dus à l'activité d'arrière-garde du système immunitaire, lorsque ce dernier a presque complètement éliminé le virus de l'organisme. Les médicaments contre la grippe n'ont pas d'action sur cette activité. En revanche, en inhibant la multiplication virale, ils réduisent la durée et la gravité de la première phase (et aussi la plus pénible) d'une grippe.

Plus le traitement commence rapidement, meilleurs sont les résultats, parce que la quantité de virus dans l'organisme est inférieure, plus facilement maîtrisable, et que les médicaments ne réparent pas les lésions tissulaires causées par le virus avant le début du traitement. Pour utiliser au mieux ces produits, on devrait pratiquer des tests rapides de détection d'une infection, avant même l'apparition des symptômes. On pourrait appliquer chaque matin sur la langue une petite bandelette d'un papier qui détecterait les virus de la grippe. Si la bandelette se colore, c'est la preuve d'une contamination, que l'on combattrait par un médicament

Les causes de la virulence

La grippe tue surtout les personnes dont le système immunitaire est déjà déficient, par exemple des personnes âgées ou déjà malades. Pourtant, elle tue aussi parfois des personnes jeunes et en pleine santé aussi rapidement et aussi implacablement que s'il s'agissait de personnes affaiblies.

Tel fut le cas en 1918 : la pandémie de grippe espagnole fit plus de victimes que la Première Guerre mondiale. Au cours de cette pandémie, même des soldats robustes périrent : pris de malaises dans la matinée, ils s'alitaient dans l'après-midi, et certains mouraient la nuit même. En 1997, à Hongkong, sur les 18 personnes atteintes par un nouveau virus, six périrent ; certaines des victimes étaient jeunes et bien portantes jusqu'alors.

Pourquoi certaines souches sont-elles si virulentes ? Les plus meurtrières semblent capables d'infecter des tissus différents de la cible usuelle des virus de la grippe, c'est-à-dire les voies respiratoires chez les mammifères et le tube digestif chez les oiseaux. Pour élucider les mécanismes de la virulence, les biologistes tentent de comprendre pourquoi certaines souches deviennent pantropiques, c'est-à-dire qu'elles se mettent à attaquer tous les types cellulaires.

En 1983, l'un d'entre nous (R. Webster) et ses collègues de l'hôpital de Memphis ont constaté qu'un virus responsable d'une maladie gastro-intestinale banale chez des poulets, en Pennsylvanie, s'était mis, soudain, à tuer des élevages entiers : un unique acide aminé avait été remplacé par un autre, dans une protéine virale de surface (une hémagglutinine). Grâce à cette infime modification, le virus se répliquait dans tous les organes des oiseaux et y créait des lésions.

Ultérieurement, on a découvert pourquoi ce minuscule changement de structure avait eu un tel effet sur l'activité virale : quand un virus de la grippe pénètre pour la première fois dans une cellule, il y est d'abord séquestré dans une sorte de cage intracellulaire (nommée endosome). Il parvient néanmoins à se multiplier, parce que les molécules d'hémagglutinine de la surface virale favorisent la fusion de la membrane virale et de l'endosome. Au moment de la fusion, les gènes viraux et les protéines s'échappent de l'endosome et se mettent à fabriquer de nouvelles copies du virus en



LA PANDÉMIE DE GRIPPE ESPAGNOLE qui commença en 1918 tua plus de 20 millions de personnes. Une aide alimentaire a été prodiguée aux orphelins dont les parents étaient morts de la grippe, comme ici à Cincinnati.

grande quantité. L'hémagglutinine ne facilite la fusion que si elle a été coupée en deux parties avant que le virus ne pénètre dans la cellule. Ce clivage est réalisé par une famille d'enzymes (les sérine protéases), surtout fabriquées dans le tube digestif des oiseaux et dans les voies respiratoires des mammifères.

La substitution d'un acide aminé, dans le virus d'oiseau devenu mortel, avait modifié le site de clivage de l'hémagglutinine, laquelle était devenue sensible à d'autres enzymes (les protéases de type furine) présentes dans tous les tissus de l'organisme. C'est ce nouveau site de clivage qui a permis au virus d'infecter tous les tissus de l'organisme.

La pandémie humaine de 1918 fut-elle mortelle parce que la souche virale portait une forme mutante d'hémagglutinine, susceptible d'être clivée par des protéases présentes hors du système respiratoire humain ? Pour vérifier cette hypothèse, Jeffery Taubenberger et ses collègues de l'Institut de pathologie de l'armée américaine ont étudié du matériel génétique prélevé sur trois victimes de cette ancienne pandémie : deux soldats (dont des prélèvements de tissus avaient été conservés) et une Inuit dont le corps avait été conservé dans le permafrost, en Alaska, jusqu'en août 1997.

Ils ont alors établi la séquence des acides aminés de l'hémagglutinine virale, et ils achèvent la séquence de la neuraminidase. Toutefois, le site de clivage de la molécule d'hémagglutinine n'avait rien de particulier, et J. Taubenberger n'a pas détecté de mutation de la neuraminidase qui aurait provoqué l'activité virale généralisée. Peut-être une mutation particulière de la neuraminidase permet-elle l'accumulation des sérine protéases qui clivent les molécules d'hémagglutinine de tissus ne fabriquant pas ces enzymes.

Ainsi, les causes de l'extrême virulence de la pandémie de 1918 restent mystérieuses. En revanche, les biologistes ont une hypothèse sur le caractère mortel de la souche virale apparue à Hongkong en 1997 : ce virus, apparu chez des oiseaux, présentait une forme d'hémagglutinine très sensible aux clivages.

Il reste à démontrer que cette forme d'hémagglutinine est responsable de la virulence. C'est en espérant découvrir d'autres explications que les biologistes continuent d'examiner méticuleusement les gènes viraux.



DES POULETS furent livrés à Hongkong en février 1998 pour remplacer une partie des millions d'animaux qui avaient été tués pour enrayer la transmission à l'homme d'un virus de grippe mortel. Le sang de ces oiseaux était testé par des équipes sanitaires officielles.

antigrippal. Certains médecins commencent à utiliser des kits de détection rapide ; les fabricants pourraient en faire des produits grand public.

On devra s'assurer que l'infection contractée est bien une grippe, et non un simple rhume, car les médicaments contre la grippe n'ont aucun effet sur le rhume, dû à d'autres types de virus. Administrés contre un rhume, une allergie ou une infection bactérienne dont les symptômes sont voisins de ceux de la grippe, ils seraient sans effet.

Des interrogations demeurent

Bien que les inhibiteurs de la neuraminidase soient prometteurs, on ignore encore si l'inhibition de la réplication virale et la réduction des complications épargneront réellement des vies.

De surcroît, de nombreux virus et bactéries deviennent résistants à tous les médicaments : les micro-organismes luttent pour leur survie, et ceux qui parviennent à modifier le médicament et à l'inactiver lui échappent et survivent. Plusieurs micro-organismes sont devenus résistants à l'amantadine et à la rimantadine, par exemple. Les nouveaux médicaments contre la grippe échapperont-ils à ce problème ?

Peut-être. Les biologistes qui ont essayé de fabriquer des souches du virus de la grippe résistant au zanamivir et au GS 4104 ont eu bien des difficultés. Quelques souches deviennent résistantes quand les acides aminés du site actif de la neuraminidase sont modifiés, mais ces changements diminuent la stabilité et l'efficacité de l'enzyme, ce qui compromet la survie du virus dans l'organisme.

D'autres souches deviennent résistantes, parce que la composition chimique de leur hémagglutinine est transformée. Nous l'avons vu, la neuraminidase élimine l'acide sialique des nouvelles particules virales, de sorte qu'elles ne s'agglutinent pas sous l'effet de l'hémagglutinine et vont infecter d'autres cellules. Les modifications de la composition de l'hémagglutinine réduisent son affinité pour l'acide sialique, ce qui évite à la neuraminidase d'intervenir. Le second groupe de mutants n'a montré aucune résistance aux médicaments, chez l'animal. La faiblesse de la liaison entre l'hémagglutinine et l'acide sialique réduit vraisemblablement le pouvoir infectieux des souches en réduisant leur ancrage sur les cellules.

Les inhibiteurs de la neuraminidase ne sont pas les seuls médicaments étudiés. Les chimistes essaient depuis longtemps de mettre au point des médicaments dont la cible serait le site de liaison de l'acide sialique sur l'hémagglutinine, mais sans succès. L'amantadine et la rimantadine, déjà sur le marché, se sont révélées efficaces avant que l'on ne découvre leur mécanisme d'action. Aujourd'hui, on sait qu'elles perturbent l'activité d'une protéine virale nommée M2, qui fonctionne comme un canal ionique. Voilà pourquoi ces médicaments sont inefficaces contre les virus de type B : ceux-ci ne portent pas de molécule M2. Parallèlement à la recherche de nouveaux médicaments, l'amélioration des vaccins contre la grippe se poursuit.

Souvent, entre deux pandémies de grippe surviennent des épidémies plus localisées. Chaque année, la grippe touche entre 5 et 15 pour cent de la population française. Durant l'hiver 1989-1990, une épidémie grave a sévi en France, entraînant quelque 20 000 décès dus aux complications. Cette surmortalité atteint 4 000 personnes les années où la maladie n'est pas trop grave.

Ces statistiques devraient s'alléger au cours des prochaines années, lorsque de nouveaux médicaments contre la grippe seront apparus et que les vaccins seront davantage utilisés et produits plus rapidement.

Graeme LAVER est professeur de biochimie et de biologie moléculaire à l'Université de Canberra. Norbert BISCHOFBERGER est vice-président du département de recherche des Laboratoires *Gilead Sciences*. Robert WEBSTER dirige le service de virologie et de biologie moléculaire à l'Hôpital St. Jude Children's, à Memphis.

Richard COLLIER, *The Plague of the Spanish Lady*, Atheneum, 1974.

Alfred W. CROSBY, Jr., *Epidemic and Peace*, 1918, Greenwood Press, 1976.

Edwin D. KILBOURNE, *Influenza*, Plenum Medical Book Company, 1987.

Frederick G. HAYDEN et Peter PALESE, *Influenza Virus*, in *Clinical Virology*, sous la direction de Douglas D. Richman, Richard J. Whitley et Frederick G. Hayden, Churchill Livingstone, 1997.

Textbook of Influenza, sous la direction de Karl G. Nicholson, Robert G. Webster et Alan Hay, Blackwell Science, 1998.
