GRIPPE ESPAGNOLE

Mort et résurrection du virus de la grippe espagnole

Patrick Berche

Professeur émérite de l'Université Paris Descartes

Résumé

Décrypter le génome du virus de la grippe espagnole est un enjeu majeur pour comprendre la gravité de cette pandémie et prédire l'occurrence de nouvelles pandémies. On a pu identifier et ressusciter le virus létal H1N1 de 1918. Ces remarquables progrès posent des problèmes éthiques concernant certaines manipulations génétiques d'agents infectieux avec « gain de fonction ».

Mots-clés : pandémie de grippe de 1918-1919, H1N1, génome viral, histoire du XX^e siècle, Johan Hultin.

Abstract

Death and resurrection of the Spanish flu virus

Deciphering the genome of the Spanish flu virus is a major challenge to understand the severity of this pandemic and predicting the occurrence of new pandemics. The 1918 lethal virus H1N1 has been identified and resurrected. This remarkable progress raises ethical issues with respect to certain genetic manipulations of infectious agents with « gain of function ».

Keywords: influenza pandemic flu 1918-1919, H1N1, viral genome, history, 20th century, Johan Hultin.

Les études historiques montrent que, depuis le XVI^e siècle, on enregistre environ trois pandémies par siècle, dont certaines déciment les populations. Pourquoi ces pandémies et quels sont les mécanismes de leur émergence? Les recherches sur le virus de la grippe espagnole ont fait progresser les connaissances sur ce fléau majeur, qui demeure une menace majeure pour l'avenir¹.

La grippe espagnole, un fléau énigmatique

La grippe espagnole de 1918 fut une terrible pandémie, clôturant la Première Guerre mondiale. Elle aurait fait entre 50 et 100 millions de victimes dans le monde et, en Europe, elle entraîna plus de morts que la Grande Guerre. Les premiers cas de grippe apparurent en mars 1918 dans le comté de Haskell dans le Kansas, aux États-Unis. L'Amérique qui venait d'entrer en guerre en 1917, aux côtés des Alliés, avait organisé un réseau de camps militaires d'entraînement pour accueillir des centaines de milliers de jeunes recrues volontaires, en partance vers la France. La grippe se répandit à travers ce réseau de bases militaires dans tous les États-Unis, puis en Europe et dans l'ensemble du monde, en quelques mois.

La pandémie évolua en deux vagues successives. La première dura de mars à août 1918, et fut relativement bénigne, associée à une mortalité de 0,1 %. La seconde beaucoup plus grave a sévi de septembre 1918 jusqu'au printemps 1919, entraînant 2 à 4 % de mortalité. La mort survenait parfois en deux à trois jours du fait d'une pneumonie virale massive, d'autres fois en dix à douze jours, à cause d'une surinfection pulmonaire bactérienne. Dans les années qui ont suivi, la grippe est devenue saisonnière avec une faible mortalité.

Pendant longtemps, la pandémie de la grippe espagnole qui s'abattit sur des populations épuisées par la guerre, demeura une énigme. Une première question était liée à son épidémiologie. Contrairement à la grippe saisonnière qui frappait les âges extrêmes de la vie, la grippe espagnole toucha avec prédilection les adultes jeunes entre 20 et 40 ans, qui en furent les principales victimes. Cela est probablement dû aux circonstances très particulières de la guerre de 14-18, qui engendrèrent des concentrations de jeunes soldats vivant en grande promiscuité dans les camps et les tranchées. Une autre question fut celle de l'agent responsable. Depuis les années 1890, on croyait – à tort – que la grippe était due au bacille de Pfeiffer, aujourd'hui appelé *Haemophilus influenzae*. Il fallut attendre 1933, pour que Christopher Andrewes, Wilson Smith et Patrick Laidlaw découvrent, à Londres, le virus responsable, en réussissant à l'inoculer au furet, puis en le cultivant sur œuf embryonné. Les deux principaux facteurs de virulence associés à l'enveloppe du virus, l'hémagglutinine et la neuraminidase, ont été découverts respectivement en 1941 et en 1949. On appela désormais ce virus H1N1. Son génome décrypté par séquençage est constitué de 13 500 nucléotides d'ARN. Il est fragmenté en huit segments portant chacun les différents gènes du virus, ce qui lui confère une importante flexibilité génétique. De nombreuses recherches sur le terrain et en

Berche P. Faut-il avoir peur de la grippe ? L'histoire des pandémies. Paris : Odile Jacob, 2012.

laboratoire ont permis de montrer que les virus pandémiques apparaissent par recombinaison de ces segments provenant de différentes souches virales. Cela survient chez les hôtes domestiques intermédiaires infectées par plusieurs virus, tels que le canard et le porc. On s'est aussi aperçu que les oiseaux sauvages formaient le réservoir naturel des virus de la grippe.

Comprendre l'extrême virulence de certains virus pandémiques est un enjeu important pour prévenir les risques futurs associés aux virus de la grippe. Pour cela, il fallait retrouver le virus de la grippe espagnole de 1918.

La recherche du virus de la grippe espagnole dans le permafrost

Au décours de la Seconde Guerre mondiale, l'idée fit son chemin que le virus de la grippe espagnole pourrait survivre dans le corps des victimes inhumées dans le permafrost du Grand Nord arctique. Le fléau avait décimé les populations inuites très sensibles au virus, avec des taux de mortalité avoisinant 90 %. Les restes des nombreuses victimes reposaient dans les cimetières des villages en Alaska. En 1951, Johan Hultin, jeune étudiant suédois travaillant à l'université de l'Iowa aux États-Unis, entreprit ainsi de consacrer sa thèse de recherche à l'isolement du virus disparu, à partir de prélèvements pulmonaires humains effectués sur des patients décédés en 1918 et inhumés en Alaska. Malgré toutes les précautions, il échoua à cultiver le virus. Il ne put soutenir sa thèse et abandonna sa carrière de chercheur.

Quelques décennies plus tard, entrait en scène un médecin militaire, Jeffery Taubenberger, qui avait rejoint un nouveau laboratoire appartenant à l'Armed Forces Institute of Pathology, organisme dépendant du Walter Reed Army Medical Campus, au nord-est de Washington. Son premier travail avait porté sur l'identification de l'agent responsable d'une épidémie mystérieuse chez les dauphins et les phoques. En 1995, utilisant une technique puissante d'amplification de l'ADN, la PCR (Polymerase chain reaction²), il avait réussi à identifier, à partir de cadavres de dauphins en décomposition, deux morbillivirus inconnus, proches du virus de la rougeole. Encouragé par ses résultats et bien que ne connaissant rien du virus de la grippe, Jeffery Taubenberger décida de tenter d'amplifier le génome du virus de la grippe espagnole par amplification génique. Pour cela, il exploita les ressources du repositorium de Forest Glen (Maryland) où sont conservés, depuis la Guerre de Sécession, des millions de prélèvements d'origine humaine. On pouvait y trouver notamment des blocs de paraffine contenant des fragments de tissus pulmonaires, utilisés pour les préparations microscopiques des anatomopathologistes. Jeffery Taubenberger sélectionna plusieurs blocs provenant de soldats morts de la grippe espagnole en septembre et octobre 1918. Après un travail intense, il réussit, le 23 juillet 1996, à amplifier, par RT-PCR³, des fragments d'ARN viral à partir des prélèvements d'un jeune soldat, Roscoe Vaughan, tombé malade le 17 septembre 1918, et décédé le 26 septembre, à 21 ans. Environ 15 % du génome viral furent alors déterminés et les résultats furent publiés le 21 avril 1997 dans Science.

Le génome viral décrypté

À cette époque, Johan Hultin avait 72 ans et passait une retraite paisible à San Francisco. Découvrant l'article de Jeffery Taubenberger, il fut à la fois enthousiaste et bouleversé, se remémorant le travail de la thèse qu'il n'avait jamais pu achever. Il lui écrivit pour lui faire part des

La PCR (*Polymerase Chain Reaction*) est une méthode permettant l'amplification des millions de fois de quantités infimes (picogrammes) d'ADN *in vitro*, en utilisant des amorces spécifiques et une enzyme (Taq polymérase).

³ La RT-PCR (Retro-Transcriptase-polymerase Chain Reaction) consiste à transformer l'ARN en ADN par une rétrotranscriptase, puis à réaliser une amplification par PCR.

recherches qu'il avait menées en 1951, se déclarant prêt à aller effectuer de nouveaux prélèvements, à ses propres frais, en Alaska. Début août 1997, Johan Hultin prit un vol commercial pour Anchorage, suivi d'un autre pour Nome, puis monta à bord d'un petit avion pour rejoindre Brevig, village d'environ 265 âmes. Là, il obtint la permission du Conseil du village pour réaliser des prélèvements au cimetière. Il exhuma la dépouille d'une jeune femme inuite de 18 ans, presque intacte, décédée en novembre 1918. Il la baptisa Lucy, « Lumière », nom du célèbre squelette de 3 millions d'années, découvert en Éthiopie. Les prélèvements furent envoyés à Jeffery Taubenberger qui réussit à amplifier les fragments du virus de 1918. Ainsi, la séquence complète du génome du virus de la grippe espagnole put être déterminée⁴. Finalement, Jeffery Taubenberger réussit à séquencer 5 isolats du virus de la grippe espagnole à partir de Lucy et de quatre patients décédés de septembre 1918 à février 1919 aux États-Unis et en Angleterre. Les cinq séquences étaient strictement identiques, à 3 nucléotides près sur 13 500 nucléotides. Cela confirme l'unicité du virus de la grippe espagnole au cours de la pandémie⁵.

La résurrection du virus de la grippe espagnole

En 2005, plusieurs équipes du *Center for Diseases Control and Prevention* (CDC) et de l'*US Department of Agriculture* (USDA), sous l'égide du microbiologiste Terence Tumpey, ressuscitèrent le virus H1N1 disparu depuis 1918. Les chercheurs ont d'abord reconstitué l'ADN viral synthétisé *in vitro* à partir de la séquence du virus de la grippe espagnole, puis l'ont introduit dans des cellules préalablement infectées par un virus H1N1 inoffensif. L'ADN viral a été transcrit en ARN dans ces cellules, permettant ainsi de fabriquer quelques rares virus très virulents. Ces virus ainsi reconstitués ont été sélectionnés par passages chez la souris, recouvrant ainsi le virus H1N1 de la grippe espagnole⁶. Le virus fut ainsi reconstruit, réassemblé, puis testé dans un laboratoire de haute sécurité du *Southeast Poultry Laboratory Research* (USDA).

En dix ans, le redoutable virus H1N1 a été identifié et ressuscité. Il s'est avéré 40 000 fois plus virulent pour les singes que les virus H1N1 de la grippe saisonnière, confirmant son extrême dangerosité. Il s'agit en réalité de la fabrication d'une arme biologique redoutable, qui est aujourd'hui stockée quelque part dans un congélateur d'un laboratoire militaire de l'*Armed Forces Institute of Pathology*.

Enjeux de sécurité et d'éthique

Les origines du virus de la grippe espagnole demeurent cependant incertaines. Les données de séquence suggèrent qu'il n'est pas directement apparenté à une souche aviaire, mais qu'il aurait probablement transité par un hôte mammifère intermédiaire. En 2009, on a montré à partir des séquences d'un grand nombre de souches H1N1 de diverses origines, que le virus de la grippe espagnole aurait circulé chez le porc et chez l'homme depuis au moins 1911. La souche pandémique proviendrait d'un réassortiment entre une souche humaine circulante et des virus de mammifères (porcs, chevaux...).

⁴ Taubenberger J *et al.* Initial genetic characterization of the 1918 "Spanish" influenza virus. *Science*, 1997, 275:1793-96; Taubenberger J *et al.* Characterization of the 1918 influenza virus polymerase genes. *Nature*, 2005, 437: 889-93.

⁵ Taubenberger J, Reid A, Janczewski T *et al.* Integrating historical, clinical and molecular genetic data in order to explain the origin and virulence of the 1918 Spanish influenza virus. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London*, Series B, 2001, 356: 1829-39.

Tumpey T et al. Characterization of the reconstructed 1918 Spanish influenza pandemic virus. Science, 2005, 310: 77–80.

Reste à comprendre pourquoi le virus est devenu soudainement très virulent en septembre 1918 et cela à peu près partout dans le monde au même moment? Il n'a pas été possible jusqu'ici d'identifier des séquences virales provenant de la première vague de la pandémie, du fait de sa faible mortalité. Il est hautement probable qu'on soit en présence du même virus lors des deux vagues : les soldats infectés lors de la première étaient totalement résistants à l'assaut mortel de la seconde. Il est plausible qu'il s'agisse d'une mutation ponctuelle du virus, comme on l'a observé lors d'épidémies survenues dans des élevages de volailles déclenchées par les virus de la grippe aviaire, au départ peu virulents, puis brutalement létaux du fait de mutations ponctuelles.

Parallèlement, une controverse est apparue récemment à propos de manipulations génétiques sur un virus H5N1 de la grippe aviaire. Ce virus est extrêmement virulent pour l'homme avec un taux de mortalité pouvant atteindre 50 %, mais il n'y a pas de contagiosité interhumaine. En créant certaines mutations du H5N1, il a été possible de le rendre contagieux chez un mammifère, le furet⁷. Malgré les progrès remarquables enregistrés ces dernières années, les travaux sur le virus de la grippe posent d'importants problèmes éthiques et de droit international sur le respect par les signataires des traités d'interdiction des armes biologiques⁸.

L'auteur déclare n'avoir aucun lien d'intérêt.

Imai M, et al., Experimental adaptation of an influenza H5 HA confers respiratory droplet transmission to a reassortant H5 HA/H1N1 virus in ferrets, *Nature*, 2012; 486: 420-428.

⁸ Korn H, Berche P, Binder P, Les menaces biologiques : Biosécurité et responsabilité des scientifiques. Paris, PUF, 2008.