

Grippe et antiviraux

Influenza and antiviral agents

V. Escuret · E. Frobert · B. Lina

Reçu le 15 février 2011 ; accepté le 21 février 2011
© SRLF et Springer-Verlag France 2011

Résumé Les inhibiteurs de la neuraminidase (INA), de l'oseltamivir et du zanamivir sont les antiviraux commercialisés actuellement recommandés dans le traitement de la grippe. Cependant, l'émergence de virus résistants à l'oseltamivir en 2007 et du virus pandémique A(H1N1) en 2009 ont mis l'accent sur le besoin de traitements antiviraux contre la grippe plus efficaces. Dans cette revue, nous repreneons les enseignements tirés au cours de la pandémie pour le traitement des cas de grippe grave, ainsi que les essais en cours sur de nouveaux traitements. Des essais cliniques sont menés pour évaluer l'efficacité antivirale de l'administration d'oseltamivir, de zanamivir ou de peramivir par voie parentérale, d'association d'antiviraux, et d'un nouvel INA à effet prolongé, le laninamivir. Des antiviraux ayant d'autres cibles virales sont également à l'étude. Ainsi, le favipiravir, un inhibiteur de polymérase et le DAS181, une sialidase capable de cliver les acides sialiques à la surface des cellules épithéliales de l'hôte, sont en cours d'essais cliniques. Enfin, des *siRNA* (*small interfering RNAs*) sont capables de bloquer l'expression des ARN viraux (ARNv) *in vitro*, et le nitazoxanide de bloquer *in vitro* la voie finale de glycosylation de l'hémagglutinine. Des pistes de nouveaux traitements contre la grippe sont donc à l'étude et des avancées concrètes sont attendues de ces travaux. **Pour citer cette revue : Réanimation 20 (2011).**

Mots clés Virus influenza · Inhibiteur de neuraminidase · Traitement antiviral

V. Escuret · E. Frobert · B. Lina (✉)
Laboratoire de virologie, bâtiment A3,
centre national de référence des virus influenza (France-Sud),
hospices civils de Lyon, 59, boulevard Pinel,
F-69677 Bron cedex, France
e-mail : bruno.lina@chu-lyon.fr

Service de virologie et de pathologie humaine,
université de Lyon, université Lyon 1, CNRS FRE 3011,
7, rue Guillaume-Paradin,
F-69372 Lyon cedex 08, France

Abstract Neuraminidase inhibitors, including oseltamivir and zanamivir are the recommended licensed anti-influenza drugs. However, the emergence in 2007 of oseltamivir-resistant and in 2009 of pandemic A(H1N1) influenza viruses highlighted the need for more efficient antiviral agents for influenza treatment. In this article, we review the advances in knowledge, based on experience from the last pandemic in particular, for patients admitted to the intensive care unit for severe influenza infection. We also focus on undergoing trials evaluating the efficiency of parenteral administration of oseltamivir, zanamivir or peramivir, the associations of antiviral agents, as well as laninamivir, a new long-acting neuraminidase inhibitor. Favipiravir, a polymerase inhibitor and DAS181, a sialidase removing the sialic acids within the host epithelial respiratory tract, are also undergoing clinical trials. *In vitro* studies showed that small interfering RNAs are able to inhibit the expression of influenza viral RNA and nitazoxanide to block the terminal glycosylation of haemagglutinins. To date, new drugs are being actively developed to improve influenza treatment. **To cite this journal: Réanimation 20 (2011).**

Keywords Influenza virus · Neuraminidase inhibitor · Antiviral treatment

Introduction

Les virus influenza infectent chaque année 5 à 10 % de la population mondiale et sont responsables d'environ 250 000 décès par an dans le monde. La caractéristique principale des virus influenza est leur variabilité liée à leur génome à ARN segmenté et au fait que les virus influenza A sont une épizootie ayant pour réservoir naturel les oiseaux sauvages aquatiques. Chez l'homme, les virus grippaux sont ainsi responsables d'épidémies saisonnières mais aussi de pandémies lorsque les glycoprotéines de surface sont modifiées de façon significative, le plus souvent par réassortiment génétique avec un virus du réservoir aviaire et/ou porcin.

L'émergence du virus pandémique apparenté à la souche de référence A/California/07/2009 (H1N1) en mars 2009 est le reflet de la grande variabilité et de la capacité d'adaptation des virus grippaux.

Le meilleur moyen de prévention de la grippe reste la vaccination mais sa mise à jour est nécessaire chaque année. Les antiviraux sont par conséquent un moyen prometteur complémentaire de lutte contre la grippe, qui peuvent être utilisés efficacement tant que le vaccin spécifique n'est pas disponible (contexte pandémique). Cet espoir dans l'efficacité des antiviraux est cependant nuancé par le faible nombre de molécules actuellement disponibles et par les capacités rapides d'adaptation des virus grippaux qui conduisent à l'émergence de résistance.

Dans cette revue, nous allons présenter les différentes molécules antivirales actuellement disponibles dans le traitement de la grippe. Nous détaillerons les avancées obtenues concernant leur utilisation suite à l'expérience de la pandémie de 2009 et les problèmes de traitement posés chez les cas graves hospitalisés en réanimation. Nous aborderons les essais concernant l'administration des inhibiteurs de la neuraminidase (INA) par voie parentérale, les essais d'associations d'antiviraux, puis les nouvelles molécules antivirales en cours d'essais cliniques ou d'évaluation *in vitro*.

Afin de permettre une meilleure compréhension du mécanisme d'action des molécules abordées dans l'article, la Figure 1 schématise le cycle de multiplication des virus influenza et les cibles d'action des antiviraux actuels ou en cours de développement (Fig. 1) [1–7].

Antiviraux contre la grippe : historique et dernières avancées suite à la pandémie de 2009

Adamantanes (amantadine et rimantadine)

Il s'agit des premiers antiviraux utilisés dans le traitement de la grippe. L'amantadine a été approuvée pour le traitement curatif et préventif de la grippe en 1967, tandis que la rimantadine a été approuvée en 1993 aux États-Unis. Ces molécules, inactives sur les virus de type B, agissent en bloquant le canal à proton M2 des virus influenza de type A (Fig. 1). Le blocage de la pompe à protons inhibe la décapsidation des ribonucléoprotéines virales (vRNP) et leur translocation dans le noyau de la cellule infectée. Lors de leur administration, les adamantanes provoquent la survenue d'effets indésirables fréquents (type vertiges, insomnie, nervosité) ainsi que l'apparition rapide de mutants résistants chez environ un tiers des patients traités [2]. La particularité de ces mutants est qu'ils possèdent un excellent « fitness », ce qui fait qu'ils sont transmissibles. Actuellement, les virus A(H1N1) et A(H3N2) qui circulent sont résistants à l'amantadine [8,9].

Cette résistance naturelle fait que les adamantanes ne font plus partie des molécules recommandées [10].

Ribavirine

La ribavirine (Virazole[®]) est une molécule antivirale à large spectre active contre de nombreux virus à ADN et à ARN. La ribavirine est un analogue de la guanosine qui agit à la fois indirectement en diminuant les taux de GTP disponibles par inhibition de l'IMPDH (inosine 5'-monophosphate déhydrogénase) et directement en interférant dans la réplication et la transcription du génome viral.

Les virus influenza font partie des virus sensibles à la ribavirine *in vitro* [3]. Toutefois, les études cliniques menées dans les années 1970 ont conclu que la ribavirine administrée par voie orale n'était pas efficace contre la grippe clinique [11]. Cela est sans doute dû au fait que les doses utilisées étaient trop faibles et que l'administration de ribavirine par voie orale ne permet pas d'obtenir rapidement des concentrations efficaces contre l'infection. L'administration de ribavirine par voie intraveineuse (IV) permet d'atteindre rapidement des doses plasmatiques théoriquement efficaces. Dans le contexte de la grippe pandémique, la ribavirine inhalée ou IV était disponible dans le cadre d'une autorisation temporaire d'utilisation (ATU) nominative sur le modèle de la prise en charge de l'infection à virus respiratoire syncytial (VRS), pour les patients de moins de six mois [12]. Ce traitement est rarement utilisé d'une manière générale du fait de la toxicité potentielle du produit.

Inhibiteurs de la neuraminidase (INA)

Les INA ont été décrits dans les années 1970, mais leur intérêt dans le traitement de la grippe a débuté à la suite des travaux menés sur le zanamivir en 1993 [13]. Le zanamivir a été commercialisé en 1999 (Relenza[®]) pour administration par voie inhalée, puis l'oseltamivir (Tamiflu[®]) administrable per os obtint l'AMM en 2001. Nous avons écrit récemment une revue sur l'intérêt des INA dans le traitement de la grippe [14]. Des méta-analyses ont repris les résultats des études randomisées réalisées dans des contextes de grippe saisonnière pour évaluer la tolérance et l'efficacité des INA utilisés à titre curatif ou préventif chez les adultes et les enfants. Le zanamivir inhalé est bien toléré, avec la restriction d'utilisation chez les patients asthmatiques qui peuvent développer un bronchospasme, l'oseltamivir a des effets secondaires modérés de type nausées ou vomissements. Ces deux produits, utilisés à titre curatif, permettent de diminuer d'environ un jour la durée du syndrome grippal, chez l'adulte et l'enfant, à condition d'être administrés dans les 48 heures après le début des signes cliniques. Utilisés à titre préventif, les INA ont tendance à réduire l'incidence

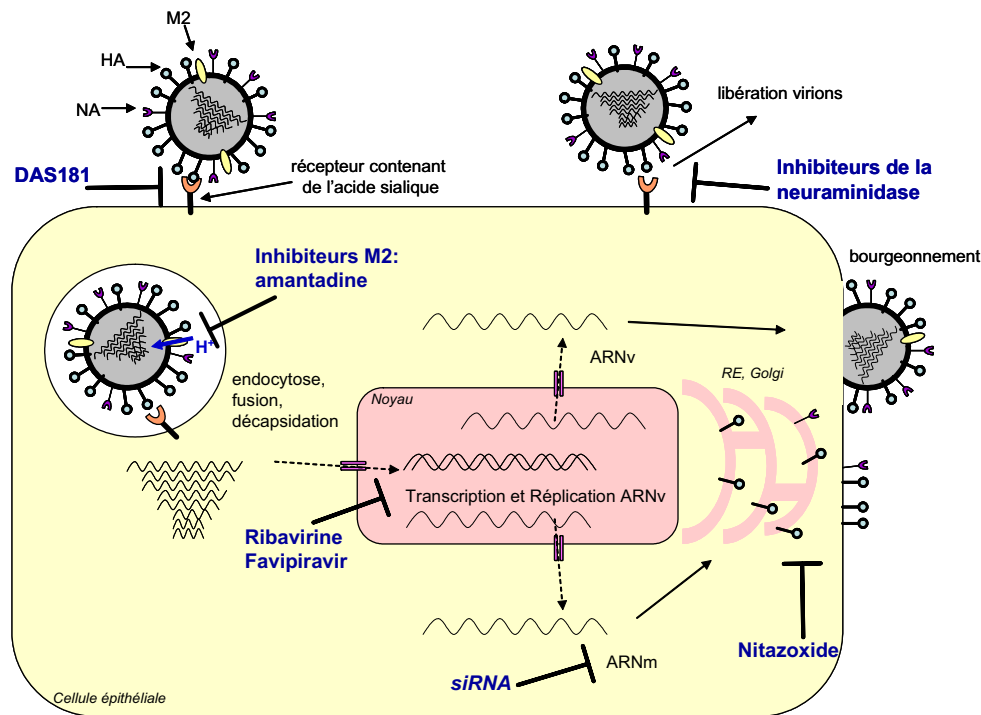


Fig. 1 Cycle schématisé de multiplication du virus grippal et cibles d'action des antiviraux actuels ou en essais cliniques. Les virus grippaux portent à leur surface deux glycoprotéines majeures, l'hémagglutinine (HA) et la neuraminidase (NA). Dans les virus infectieux, l'HA est clivée en HA1 et HA2 par des protéases cellulaires de type trypsine pour les virus grippaux saisonniers. L'HA1 permet la fixation des virus aux acides sialiques présents à la surface des cellules épithéliales de l'arbre respiratoire. Après endocytose de la particule virale, les protons de l'endosome, par l'intermédiaire du canal à protons M2, permettent l'acidification de la particule virale. L'acidité permet la décapsidation (dissociation des interactions entre la protéine de matrice M1 et les ribonucléoprotéines virales [vRNP]) et le changement conformationnel de la région HA2 assurant la fusion entre enveloppes virale et endosomale. Les vRNP sont alors libérées dans le cytoplasme puis transportées vers le noyau où ont lieu la transcription puis la réplication des ARN viraux (ARNv). Les ARN messagers (ARNm) sont exportés vers le cytoplasme et traduits en protéines. Les ARNv sont répliqués grâce au complexe ARN polymérase formé par les polymérase acides et basiques PA, PB1 et PB2. Les vRNP formés au niveau du noyau puis complexés à M1 sont ensuite transportés vers la membrane plasmique au niveau des sites où se sont accumulés HA et NA après glycosylation au niveau du réticulum endoplasmique et de l'appareil de Golgi. Du fait de l'interaction entre M1 et les régions cytoplasmiques d'HA et de NA, les nouveaux virions sont assemblés puis bourgeonnent à la surface de la cellule. La libération finale est possible grâce à l'activité de la NA qui clive le lien entre les résidus d'acide sialique et l'HA qui maintient les virus collés à la surface des cellules. La NA agit aussi en facilitant la pénétration des virus, en fluidifiant le mucus du tractus respiratoire, en clivant les acides sialiques qui le composent [1]. Les différentes étapes du cycle viral sont les cibles d'antiviraux connus ou à l'étude. Les dérivés d'adamantanes (amantadine et rimantadine) agissent en bloquant le canal à protons M2 des virus influenza de type A empêchant ainsi l'acidification, la décapsidation et la suite du cycle viral [2]. Les siRNA (*small interfering RNA*), acides nucléiques de type ARN double brin, sont capables de bloquer spécifiquement des molécules d'ARN et empêchent l'expression d'un gène cible. La ribavirine, analogue de la guanosine, est capable de bloquer la réplication des virus influenza [3]. Une nouvelle molécule, le favipiravir (*T-705*), inhibe aussi la réplication des virus influenza [4]. Concernant les phases plus tardives du cycle viral, le nitazoxanide bloque les étapes de glycosylation de l'HA empêchant le passage de l'HA entre le réticulum endoplasmique et le Golgi et son transport à la surface des cellules [5]. Les INA sont des analogues d'acides sialiques qui bloquent compétitivement l'activité NA, empêchant la fluidification du mucus et agissant tout à la fin du cycle viral en empêchant la propagation des virions nouvellement formés [6]. Des facteurs de l'hôte sont aussi la cible d'antiviraux en cours d'étude. Ainsi, la sialidase *DAS181*, construction correspondant à la fusion entre une sialidase et une protéine d'ancrage dans l'épithélium respiratoire [7], est capable de cliver les acides sialiques des surfaces cellulaires.

de la grippe symptomatique et apportent une protection significative lorsqu'ils sont utilisés en prophylaxie postexposition [15,16]. Les modes d'administration et les doses

usuelles d'oseltamivir et de zanamivir ont été révisées en 2009 au cours de la pandémie par le Comité de lutte contre la grippe (Tableau 1) [12,17,18].

Tableau 1 Modes d'administration et posologies des INA recommandés dans des contextes usuels ou dans les cas graves liés à A (H1N1)2009 [12,17,18]		
	Curatif	Préventif
<i>Contexte usuel avec absence de critères de gravité</i>		
Oseltamivir (voie orale)	Durée du traitement : 5 j Adulte et enfant > 13 ans : 75 mg × 2/j 1–12 ans : > 40 kg : 75 mg × 2/j 23–40 kg : 60 mg × 2/j 15–22 kg : 45 mg × /j ≤ 15 kg : 30 mg × 2/j 6–11 mois : 3 mg/kg × 2/j 0–5 mois : 2 à 3 mg/kg × 2/j	Durée du traitement : 10 j Adulte et enfant > 13 ans : 75 mg × 1/j 1–12 ans : > 40 kg : 75 mg × 1/j 23–40 kg : 60 mg × 1/j 15–22 kg : 45 mg × 1/j ≤ 15 kg : 30 mg × 1/j
Zanamivir (voie inhalée)	Durée du traitement : 5 j Adulte et enfant > 5 ans : (2 × 5 mg) × 2/j	Durée du traitement : 10 j Adulte et enfant > 5 ans : (2 × 5 mg) × 1/j
<i>Contexte de cas grave</i>		
Oseltamivir (voie orale ou sonde nasogastrique) Surveiller les taux plasmatiques	Durée du traitement : 5 à 10 j Adulte et enfant > 13 ans : 150 mg × 2/j	
Oseltamivir (voie IV) ATU possible dans les cas graves	0–12 ans : doublement des doses pédiatriques usuelles (cf. ci-dessus)	
Zanamivir (voie IV) ATU en cas d'absence d'amélioration clinique sous oseltamivir per os à double dose	Durée du traitement : 5 à 10 j Adulte et enfant > 13 ans : 600 mg × 2/j 6 mois–12 ans : dose adaptée au poids Insuffisant rénal : adapter les doses en fonction de la clairance de la créatinine	
Ribavirine (voie inhalée ou IV) ATU chez enfants < 6 mois ne pouvant recevoir de l'oseltamivir per os ni du zanamivir IV	Suivre le schéma posologique recommandé dans le traitement d'infection à virus respiratoire syncytial (VRS)	
ATU : autorisation temporaire d'utilisation ; j: jour ; IV : intraveineuse.		

Traitement des formes graves

L'intérêt d'un traitement précoce par INA a pu être montré dans le cadre du suivi des formes graves par l'Institut national de veille sanitaire (InVS) en France. En comparaison des formes non graves, les patients atteints de formes graves et les patients décédés ont moins souvent bénéficié d'un traitement précoce par l'oseltamivir (48 heures après le début des signes cliniques), que ces patients soient porteurs ou non de facteurs de risque [19]. Ces résultats ont été aussi rapportés par d'autres [20]. L'utilisation des antiviraux dans le cadre de la prise en charge des cas de grippe graves a été formalisée par l'Afssaps (agence française de sécurité sanitaire des produits

de santé) au cours de la pandémie de 2009 (Tableau 1) [12]. Ainsi, l'oseltamivir a été utilisé à double dose et administré par sonde nasogastrique chez les patients en réanimation.

Les patients atteints de grippe grave sont souvent immunodéprimés du fait de l'état de choc septique. Au cours du sepsis, la réponse immunologique est complexe. Initialement, le syndrome inflammatoire domine, puis il est suivi par une phase d'immunodépression. La plupart des traitements du sepsis se sont focalisés sur le blocage de la réponse inflammatoire, au risque d'accentuer le développement de l'immunodépression [21]. Dans ce contexte, les antiviraux seuls ne peuvent vraisemblablement pas affecter de façon significative la mortalité, et il faut essayer de développer

des traitements permettant de restaurer les fonctions immunitaires. Cependant, la mesure des compétences immunitaires de chaque patient permettrait un traitement approprié à son état immunitaire. Des immunomodulateurs capables de diminuer l'inflammation, à savoir des inhibiteurs de la cyclo-oxygénase 2 et des agonistes des récepteurs PPAR (*peroxisome proliferator-activated receptor*), ont augmenté la survie dans des modèles de souris infectées par A(H5N1) ou A(H2N2) [22]. Des agents capables de restaurer l'immunité, en cours d'étude dans le cadre d'immunothérapie au cours de cancers, ont permis d'améliorer la survie dans des modèles animaux de sepsis. Il s'agit d'anticorps anti-PD1 (*programmed death-1*), d'anticorps agonistes de CD40 et d'interleukine 7 [21]. L'utilisation de plasma hyperimmun provenant de patients vaccinés ou convalescents pourrait aussi être un moyen de traitement, des formes graves ayant été associées à des déficits en IgG2 [23].

Virus A(H1N1) résistants à l'oseltamivir

En 2007–2008, l'émergence et la diffusion de virus A(H1N1) apparentés au variant A/Brisbane/59/2007 et naturellement résistants à l'oseltamivir, en raison de la mutation H275Y, ont mis l'accent sur la nécessité de développer de nouveaux antiviraux contre les virus influenza [24,25]. Au cours de la pandémie de 2009, les virus A(H1N1) étaient naturellement sensibles aux INA, et les rares virus résistants qui ont été détectés étaient essentiellement isolés de patients immunodéprimés traités [26]. Chez ces patients, la résistance à l'oseltamivir peut apparaître rapidement [27]. Le plus souvent, les virus résistants à l'oseltamivir sont porteurs de la mutation H275Y qui confère une résistance croisée à l'oseltamivir et au peramivir, la sensibilité au zanamivir étant conservée. Chez certains patients, des virus porteurs de la double mutation H275Y et I223R ont été retrouvés, ces virus doublement mutés présentent en plus une diminution modérée de leur sensibilité au zanamivir [28]. Au cours de l'hiver 2010–2011, il a été observé un accroissement du pourcentage de souches A(H1N1) isolées, résistantes à l'oseltamivir par mutation H275Y en Grande-Bretagne, avec un potentiel de transmission chez les immunodéprimés [29]. Cette tendance n'a pas été confirmée en France ou dans d'autres pays, mais montre que cette résistance peut apparaître chez les virus A(H1N1) et que la surveillance des virus circulants doit aussi suivre l'évolution des souches résistantes.

Molécules en cours d'essais cliniques

Oseltamivir IV

Un essai de phase 2/3 va débiter chez les patients de plus de 13 ans (protocole d'utilisation thérapeutique) pour évaluer

l'efficacité et la tolérance de l'oseltamivir IV. Il sera disponible en ATU pour des patients graves non inclus dans l'essai. Chez les patients de plus de 13 ans, la posologie est de 100 mg IV en perfusion lente de deux heures administrés toutes les 12 heures pendant cinq jours. Dans les autres cas, la posologie doit être adaptée au poids [18].

Zanamivir IV

Au cours de la pandémie de 2009, des patients atteints de grippe grave hospitalisés en réanimation et ne répondant pas au traitement par oseltamivir ont été traités par du zanamivir IV. En effet, chez ces patients se pose la question de la biodisponibilité de l'oseltamivir administré par la sonde nasogastrique ou du zanamivir inhalé, quand cette voie est possible, lorsqu'il y a atelectasie pulmonaire [30]. Le zanamivir IV a été associé à une diminution de la quantité d'ARN viral (ARNv) détecté par RT-PCR, notamment chez des immunodéprimés chez lesquels une souche de virus résistante à l'oseltamivir, mutée H275Y, avait été détectée. Il s'agit cependant de cas isolés, et l'élimination du virus peut être aussi reliée dans ces cas à une amélioration de l'immunité des patients par correction de lymphopénie ou administration de GM-CSF et d'immunoglobulines IV [31,32]. Le traitement a été bien toléré chez ces cas publiés mais des cas de cytolysse hépatique ont été rapportés à l'Affsaps. L'utilisation de zanamivir IV doit donc se faire avec prudence en sachant qu'il fait toujours l'objet d'ATU à ce jour. Enfin, l'administration de zanamivir IV suite à un échec de l'oseltamivir, avec apparition de la mutation H275Y, a été associée à l'apparition de virus mutés seulement en I223R qui présentaient une baisse de leur sensibilité *in vitro* à l'oseltamivir, au zanamivir et au Peramivir [33].

Peramivir IV

Le peramivir (BCX-1812, RWJ 270201) est un INA en cours de développement qui possède une activité antivirale contre les virus grippaux de types A et B comparable, voire un peu supérieure à celle de l'oseltamivir carboxylate et du zanamivir *in vitro* en cellules MDCK [34]. Les premiers essais menés en modèle souris *in vivo* avec administration per os montraient une activité antivirale contre des virus grippaux de types A et B [35]. Cependant, des essais cliniques de phase 3 n'ont pas montré de différence significative dans la rapidité de résolution du syndrome grippal entre les patients traités par oseltamivir per os ou recevant un placebo, résultats probablement liés à la faible biodisponibilité du peramivir administré oralement [22]. Les essais se sont alors orientés vers l'étude de la tolérance et de l'efficacité du peramivir administré par voie parentérale. L'administration d'une dose de peramivir par voie intramusculaire n'a pas montré de bénéfice par rapport au placebo, mais le bilan

des essais réalisés avec le peramivir administré IV, réalisé afin de pouvoir le proposer comme alternative thérapeutique chez des patients atteints gravement au cours de la pandémie de 2009, a montré une efficacité [12,36]. Les essais de phases 2 et 3 réalisés chez des patients atteints de grippe non compliquée et recevant une dose de peramivir IV (300 ou 600 mg) ou un placebo (essai de phase 2), ou de l'oseltamivir à dose usuelle (75 mg deux fois par jour per os pendant cinq jours) ont montré une résolution des symptômes raccourcie d'environ un jour par rapport au placebo et une efficacité comparable à celle de l'oseltamivir. Un essai de phase 2 mené chez des patients atteints de grippe grave et recevant du peramivir à 200 ou 400 mg IV, une fois par jour pendant cinq jours, ou de l'oseltamivir à dose standard n'a pas permis de montrer de bénéfice du peramivir par rapport à l'oseltamivir [36]. Enfin, des essais sont en cours pour analyser l'intérêt potentiel de l'association de peramivir et d'oseltamivir par rapport à l'oseltamivir standard, cette combinaison montrant un effet additif en culture cellulaire et chez la souris [36,37].

L'ensemble de ces données a conduit la Food and Drug Administration (FDA) à délivrer une autorisation d'utilisation dans le cadre de la pandémie de 2009 avec les recommandations suivantes : le peramivir a des effets secondaires essentiellement digestifs de type diarrhée, nausées et vomissements. Il est éliminé essentiellement par voie rénale et peu métabolisé par le foie ; chez un adulte ayant une fonction rénale normale, la dose recommandée est de 600 mg IV une fois par jour pendant cinq à dix jours en cas de grippe sévère [36]. En France, il n'y a pas eu de recommandation particulière sur l'utilisation de peramivir IV. En effet, le peramivir sélectionne *in vitro* la mutation de résistance H275Y et est inactif sur les virus porteurs de la mutation H275Y pouvant être responsable de l'échec d'un premier traitement par oseltamivir [12,22].

Associations d'antiviraux

En théorie, l'association d'antiviraux présente des avantages en permettant une meilleure efficacité antivirale, une diminution de la durée des symptômes et du risque d'émergence de résistance aux antiviraux. Une étude récente a été menée *in vitro* sur le nouveau variant A(H1N1)2009, résistant à l'amantadine mais sensible à l'oseltamivir, au zanamivir et à la ribavirine. L'association de carboxylate d'oseltamivir et d'amantadine était synergique bien que le virus soit résistant à l'amantadine. Par contre, l'association de zanamivir à du carboxylate d'oseltamivir ou du peramivir était additive à antagoniste sur ce virus, tandis que la triple association carboxylate d'oseltamivir, amantadine et ribavirine était synergique [38]. Des études de l'effet antiviral d'associations d'antiviraux ont également été menées *in vivo*. L'étude de la pharmacocinétique de l'amantadine et de l'oseltamivir, administrés seuls ou en association, a montré que leur asso-

ciation n'augmente pas le risque d'effets secondaires et n'a pas de conséquences sur leur pharmacocinétique [39]. Même s'ils agissent au niveau de la même cible qui est la neuraminidase (NA), les voies d'administration différentes, orale pour l'oseltamivir et inhalée pour le zanamivir, peuvent apporter un intérêt pharmacologique *in vivo*. Un essai clinique mené en France en 2008/2009, où des virus A (H3N2) ont majoritairement circulé, a cependant montré que la bithérapie oseltamivir plus zanamivir était antagoniste [40]. Les résultats d'un essai mené à Lyon au cours de la pandémie à A(H1N1) en 2009 (essai Combina), évaluant l'efficacité de l'association d'oseltamivir et de zanamivir ou d'oseltamivir et d'amantadine, sont en cours d'analyse.

INA à effet prolongé : le laninamivir

Un composé multimérique du zanamivir, le laninamivir (CS-8958 ou R-118958, prodrogue du R-125489) est en cours de développement en Australie (Biota Holdings) et au Japon (Sankyo Pharmaceuticals) (Tableau 2) [22,41]. Des essais menés *in vitro* montrent une capacité du R-125489 à inhiber l'activité neuraminidase de NA de types N1 à N9 ainsi que celle de NA résistante à l'oseltamivir — virus de type A(H1N1) portant la mutation H275Y ou A(H3N2) portant la mutation E119V. Dans un modèle de souris infectées par A/PuertoRico/8/34, l'administration intranasale de prodrogues, formes estérifiées du R-125489, a mis en évidence une efficacité maximale pour le laninamivir qui permettait une survie prolongée après une seule administration, même sept jours avant l'infection [42]. Cet effet prolongé est lié à une longue rétention du laninamivir dans le tractus respiratoire de la souris et à sa conversion progressive en R-125489 par des hydrolases [43]. Une seule dose de laninamivir administrée après l'infection virale a une efficacité comparable à supérieure à l'administration répétée d'oseltamivir phosphate ou de zanamivir chez la souris et le furet ; de plus, le laninamivir est efficace *in vivo* chez des souris infectées par du A(H1N1) résistant à l'oseltamivir ainsi que chez des souris infectées par du A(H5N1) [44,45]. Enfin, un essai clinique réalisé chez des enfants de plus de neuf ans infectés par du virus grippal et traités par une seule inhalation de laninamivir à 20 ou 40 mg ou par de l'oseltamivir per os (2 mg/kg deux fois par jour pendant cinq jours) n'a pas mis en évidence de différence significative dans la rapidité de résolution des symptômes entre les groupes, sauf en cas d'infection par virus A(H1N1) résistant à l'oseltamivir, où le laninamivir a permis de réduire significativement la durée des symptômes [46].

Inhibiteur de la polymérase : le favipiravir

En 2002, une nouvelle molécule, le T-705 ou favipiravir a montré une efficacité en culture cellulaire MDCK, contre des

Tableau 2 Stratégies de traitement de la grippe en cours de développement, d'après [18,22,41]				
Agent antiviral	Firme	Voie d'administration	Cible	Phase de développement
Osetamivir	Roche	IV	NA	Essais cliniques (phase 2/3)
Zanamivir	GlaxoSmithKline	IV	NA	Essais cliniques (phase 2)
Peramivir	BioCryst Pharmaceuticals	IV	NA	Essais cliniques (phase 3)
Laninamivir	Sankyo Pharmaceuticals Biota Holdings	Inhalée	NA	Essais cliniques (phase 3)
Favipiravir	Toyama Chemical	Orale	Polymérase virale	Essais cliniques (phase 3)
DAS181	Nexbio	Inhalée	Acides sialiques des cellules hôte (récepteur des HA)	Essais cliniques (phase 2)
Nitazoxide			Glycosylation des HA	Essais in vitro
SiRNA			ARN viraux	Essais in vitro

NA : neuraminidase ; HA : hémagglutinine ; IV : intraveineuse.

virus influenza A, B et C, y compris des virus résistants aux INA ou à l'amantadine, ainsi qu'une efficacité en modèle murin infecté par A/PuertoRico/8/34 [4]. Le favipiravir agirait comme un analogue de nucléoside présentant une faible cytotoxicité et capable d'inhiber spécifiquement la polymérase des virus influenza après conversion en un dérivé ribofuranose puis phosphorylation par des enzymes cellulaires [47].

In vivo, le favipiravir s'est avéré efficace pour protéger des souris infectées par du A(H5N1) hautement pathogène, sensible ou résistant à l'oseltamivir [48,49]. L'association d'oseltamivir et de favipiravir s'est avérée synergique à certaines concentrations chez des souris infectées par des virus influenza de type A [50]. Actuellement, le favipiravir est en cours d'essais cliniques aux États-Unis et au Japon (Tableau 2) [22].

Nouveaux antiviraux en cours d'expérimentation

Sialidase : DAS181

Les sialidases ou NA permettent d'empêcher la fixation des virus sur leurs récepteurs, les acides sialiques des cellules épithéliales de l'hôte et d'empêcher l'infection. La DAS181 est une protéine de fusion recombinante composée d'un domaine catalytique sialidase dérivé d'*Actinomyces viscosus* et d'un domaine d'ancrage dans les cellules de l'épithélium respiratoire. L'administration de DAS181 par voie inhalée permet de cliver les acides sialiques de l'épithélium respiratoire et s'est avérée efficace in vivo dans un modèle souris. DAS181 a présenté une efficacité chez des souris infectées par du virus A(H5N1) aviaire hautement pathogène [51] ainsi que par des virus A(H1N1) saisonniers résistants à

l'oseltamivir ou des virus A(H1N1) apparentés à la souche pandémique 2009 [52]. Les essais de phase 1 ont montré une bonne tolérance de DAS181 et des essais de phase 2 sont actuellement en cours (Tableau 2) [22].

Thiazolides

Les thiazolides, une classe de molécules connues pour leur action antiparasitaire, se sont avérées capables d'inhiber la réplication de virus influenza A. Les thiazolides agissent au niveau post-traductionnel en bloquant la voie finale de glycosylation de l'HA, empêchant son insertion au niveau de la membrane plasmique de la cellule hôte et bloquant ainsi le cycle viral [5]. Ces molécules sont efficaces in vitro, mais leur efficacité in vivo reste à montrer (Tableau 2) [22].

siRNA (*small interfering RNAs*)

Les siRNAs sont de courtes séquences d'ARN double brin (21 à 26 nucléotides) ciblant et inhibant spécifiquement l'expression d'un gène cible. Des siRNAs ciblant des gènes de virus influenza se sont avérés protecteurs in vitro et chez la souris. Des siRNAs ciblant des gènes cellulaires nécessaires à la réplication des virus influenza sont également à l'étude afin de contourner le risque fréquent d'émergence de virus résistants aux siRNAs. Ces molécules n'ont cependant pas encore fait l'objet d'études in vivo dans le traitement de la grippe (Tableau 2) [22].

Approche RNA-omique

De nouvelles stratégies de mise en évidence d'antiviraux sont en cours de développement. Il s'agit des approches

surnommées « omiques » qui analysent la réponse globale de la cellule à l'infection par l'analyse de sa réponse en ARN messenger (ARN-omique) ou en contenu protéique (PROTE-omique) par exemple. Cette stratégie a été récemment utilisée pour identifier de nouvelles molécules antivirales à partir de banques de données existantes. Cette approche novatrice est en plein essor [53,54].

Conclusion

Des efforts sont en cours afin de développer de nouvelles stratégies pour le traitement de la grippe. Un des objectifs est de développer des molécules ayant des propriétés pharmacologiques supérieures aux traitements actuels. Le développement de molécules agissant sur la réplication (favipiravir) ou au niveau de facteur de l'hôte (sialidase DAS181) pourrait constituer une alternative en cas de résistance aux INA actuels. Les améliorations pharmacologiques, comme l'administration d'INA par voie parentérale, pourraient permettre d'améliorer la prise en charge des cas graves, mais les approches capables de réguler la réponse immunitaire de l'hôte sont également fondamentales dans les contextes de grippe grave.

Conflit d'intérêt : Bruno Lina déclare des liens d'intérêts avec Roche, GSK, BMS et BioCryst. Il est également membre du Conseil scientifique du GEIG et du Board of Directors de ESWI.

Références

- Palese PSM (2007) Orthomyxoviridae: the viruses and their replication. In: Knipe DMHP, Griffin DE, Lamb RA, et al (eds) Ed. Fields Virology Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins, pp 1647–89
- Hayden FG, Sperber SJ, Belshe RB, et al (1991) Recovery of drug-resistant influenza A virus during therapeutic use of rimantadine. *Antimicrob Agents Chemother* 35:1741–7
- Togo Y (1973) In vitro effect of Virazole® against influenza viruses. *Antimicrob Agents Chemother* 4:641–2
- Furuta Y, Takahashi K, Fukuda Y, et al (2002) In vitro and in vivo activities of anti-influenza virus compound T-705. *Antimicrob Agents Chemother* 46:977–81
- Rosignol JF, La Frazia S, Chiappa L, et al (2009) Thiazolidines, a new class of anti-influenza molecules targeting viral hemagglutinin at the post-translational level. *J Biol Chem* 284:29798–808
- Moscona A (2005) Neuraminidase inhibitors for influenza. *N Engl J Med* 353:1363–73
- Malakhov MP, Aschenbrenner LM, Smee DF, et al (2006) Sialidase fusion protein as a novel broad-spectrum inhibitor of influenza virus infection. *Antimicrob Agents Chemother* 50:1470–9
- Deyde VM, Xu X, Bright RA, et al (2007) Surveillance of resistance to adamantanes among influenza A(H3N2) and A(H1N1) viruses isolated worldwide. *J Infect Dis* 196:249–57
- CDC (2009) Update: drug susceptibility of swine-origin influenza A(H1N1) viruses, April 2009. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep* 58:433–5
- Hersh AL, Maselli JH, Cabana MD (2009) Changes in prescribing of antiviral medications for influenza associated with new treatment guidelines. *Am J Public Health* 99(Suppl 2):S362–S4
- Smith CB, Charette RP, Fox JP, et al (1980) Lack of effect of oral ribavirin in naturally occurring influenza A virus (H1N1) infection. *J Infect Dis* 141:548–54
- Afssaps (2009) Cas graves de grippe A(H1N1)v point sur l'utilisation des antiviraux 18/11/2009. Available from http://www.afssaps.fr/content/download/22842/289308/version/1/file/Antiviraux-casgraves_A_H1N1.pdf. Accessed January 3, 2011
- von Itzstein M, Wu WY, Kok GB, et al (1993) Rational design of potent sialidase-based inhibitors of influenza virus replication. *Nature* 363:418–23
- Ferraris O, Escuret V, Bouscambert-Duchamp M, et al (2010) Role of neuraminidase inhibitors for the treatment of influenza A virus infections. *Pathol Biol (Paris)* 58:e69–e78
- Jefferson T, Jones M, Doshi P, Del Mar C (2009) Neuraminidase inhibitors for preventing and treating influenza in healthy adults: systematic review and meta-analysis. *BMJ* 339:b5106
- Shun-Shin M, Thompson M, Heneghan C, et al (2009) Neuraminidase inhibitors for treatment and prophylaxis of influenza in children: systematic review and meta-analysis of randomised controlled trials. *BMJ* 339:b3172
- Recommandations du Comité de lutte contre la grippe du 6 août 2009 (2009) Fiche pratique d'utilisation des antiviraux en extrahospitalier et en période pandémique. Available from [http://www.ch-gien.com/plan_h1n1/utilisation_Tamiflu®_s.pdf](http://www.ch-gien.com/plan_h1n1/utilisation_Tamiflu_s.pdf). Accessed January 03, 2011
- Afssaps. Protocole utilisation thérapeutique oseltamivir 100 mg, poudre pour solution pour perfusion IV (31/12/2010) (2010) Available from http://www.afssaps.fr/var/afssaps_site/storage/original/application/ba5256b30b3fd13d02ece03eb6fbc574.pdf. Accessed January 03, 2011.
- INVS (2009) Intérêt d'un traitement précoce par antiviral pour réduire la sévérité et la mortalité par grippe A(H1N1)2009 : données issues de la surveillance des formes graves. Available from http://www.invs.sante.fr/surveillance/grippe_dossier/docs_professionnels/antiviraux_grippe_a_h1n1_211209.pdf. Accessed January 03, 2011
- Bautista E, Chopitayasunondh T, Gao Z, et al (2010) Clinical aspects of pandemic 2009 influenza A(H1N1) virus infection. *N Engl J Med* 362:1708–19
- Hotchkiss RS, Coopersmith CM, McDunn JE, Ferguson TA (2009) The sepsis seesaw: tilting toward immunosuppression. *Nat Med* 15:496–7
- Boltz DA, Aldridge JR Jr, Webster RG, Govorkova EA (2010) Drugs in development for influenza. *Drugs* 70:1349–62
- Moss RB, Davey RT, Steigbigel RT, Fang F (2010) Targeting pandemic influenza: a primer on influenza antivirals and drug resistance. *J Antimicrob Chemother* 65:1086–93
- Lackenby A, Hungnes O, Dudman SG, et al (2008) Emergence of resistance to oseltamivir among influenza A(H1N1) viruses in Europe. *Euro Surveill* 13 pii:8026
- Meijer A, Lackenby A, Hungnes O, et al (2009) Oseltamivir-resistant influenza virus A(H1N1), Europe, 2007–08 season. *Emerg Infect Dis* 15:552–60
- WHO (2010) Weekly update on oseltamivir resistance to influenza H1N1 (2009) viruses. Available from http://www.who.int/csr/disease/influenza/2010_12_29_weekly_web_update_oseltamivir_resistance.pdf. Accessed January 03, 2011
- Sy CL, Lee SS, Liu MT, et al (2010) Rapid emergence of oseltamivir resistance. *Emerg Infect Dis* 16:723–5

28. Nguyen HT, Fry AM, Loveless PA, et al (2010) Recovery of a multidrug-resistant strain of pandemic influenza A 2009 (H1N1) virus carrying a dual H275Y/I223R mutation from a child after prolonged treatment with oseltamivir. *Clin Infect Dis* 51:983–4
29. Moore C, Galiano M, Lackenby A, et al (2011) Evidence of person-to-person transmission of oseltamivir-resistant pandemic influenza A(H1N1)2009 virus in a hematology unit. *J Infect Dis* 203:18–24
30. Kidd IM, Down J, Nastouli E, et al (2009) H1N1 pneumonitis treated with intravenous zanamivir. *Lancet* 374:1036
31. Gaur AH, Bagga B, Barman S, et al (2010) Intravenous zanamivir for oseltamivir-resistant 2009 H1N1 influenza. *N Engl J Med* 362:88–9
32. Dulek DE, Williams JV, Creech CB, et al (2010) Use of intravenous zanamivir after development of oseltamivir resistance in a critically ill immunosuppressed child infected with 2009 pandemic influenza A(H1N1) virus. *Clin Infect Dis* 50:1493–6
33. van der Vries E, Stelma FF, Boucher CA (2010) Emergence of a multidrug-resistant pandemic influenza A(H1N1) virus. *N Engl J Med* 363:1381–2
34. Smee DF, Huffman JH, Morrison AC, et al (2001) Cyclopentane neuraminidase inhibitors with potent in vitro anti-influenza virus activities. *Antimicrob Agents Chemother* 45:743–8
35. Sidwell RW, Smee DF, Huffman JH, et al (2001) In vivo influenza virus-inhibitory effects of the cyclopentane neuraminidase inhibitor RJW-270201. *Antimicrob Agents Chemother* 45:749–57
36. Mancuso CE, Gabay MP, Steinke LM, Vanosdol SJ (2010) Peramivir®: an intravenous neuraminidase inhibitor for the treatment of 2009 H1N1 influenza. *Ann Pharmacother* 44:1240–9
37. Smee DF, Hurst BL, Wong MH, et al (2010) Combinations of oseltamivir and peramivir for the treatment of influenza A (H1N1) virus infections in cell culture and in mice. *Antiviral Res* 88:38–44
38. Nguyen JT, Hoopes JD, Le MH, et al (2010) Triple combination of amantadine, ribavirin, and oseltamivir is highly active and synergistic against drug resistant influenza virus strains in vitro. *PLoS One* 5:e9332
39. Morrison D, Roy S, Rayner C, et al (2007) A randomized, crossover study to evaluate the pharmacokinetics of amantadine and oseltamivir administered alone and in combination. *PLoS One* 2:e1305
40. Duval X, van der Werf S, Blanchon T, et al (2010) Efficacy of oseltamivir-zanamivir combination compared to each monotherapy for seasonal influenza: a randomized placebo-controlled trial. *PLoS Med* 7:e1000362
41. Hayden F (2009) Developing new antiviral agents for influenza treatment: what does the future hold? *Clin Infect Dis* 48(Suppl 1): S3–S13
42. Yamashita M, Tomozawa T, Kakuta M, et al (2009) CS-8958, a prodrug of the new neuraminidase inhibitor R-125489, shows long-acting anti-influenza virus activity. *Antimicrob Agents Chemother* 53:186–92
43. Koyama K, Takahashi M, Oitate M, et al (2009) CS-8958, a prodrug of the novel neuraminidase inhibitor R-125489, demonstrates a favorable long-retention profile in the mouse respiratory tract. *Antimicrob Agents Chemother* 53:4845–51
44. Kubo S, Tomozawa T, Kakuta M, et al (2010) Laninamivir prodrug CS-8958, a long-acting neuraminidase inhibitor, shows superior anti-influenza virus activity after a single administration. *Antimicrob Agents Chemother* 54:1256–64
45. Kiso M, Kubo S, Ozawa M, et al (2010) Efficacy of the new neuraminidase inhibitor CS-8958 against H5N1 influenza viruses. *PLoS Pathog* 6:e1000786
46. Sugaya N, Ohashi Y (2010) Long-acting neuraminidase inhibitor laninamivir octanoate (CS-8958) versus oseltamivir as treatment for children with influenza virus infection. *Antimicrob Agents Chemother* 54:2575–82
47. Furuta Y, Takahashi K, Kuno-Maekawa M, et al (2005) Mechanism of action of T-705 against influenza virus. *Antimicrob Agents Chemother* 49:981–6
48. Sidwell RW, Barnard DL, Day CW, et al (2007) Efficacy of orally administered T-705 on lethal avian influenza A(H5N1) virus infections in mice. *Antimicrob Agents Chemother* 51:845–51
49. Kiso M, Takahashi K, Sakai-Tagawa Y, et al (2010) T-705 (favipiravir) activity against lethal H5N1 influenza A viruses. *Proc Natl Acad Sci USA* 107:882–7
50. Smee DF, Hurst BL, Wong MH, et al (2010) Effects of the combination of favipiravir (T-705) and oseltamivir on influenza A virus infections in mice. *Antimicrob Agents Chemother* 54:126–33
51. Belser JA, Lu X, Szretter KJ, et al (2007) DAS181, a novel sialidase fusion protein, protects mice from lethal avian influenza H5N1 virus infection. *J Infect Dis* 196:1493–9
52. Triana-Baltzer GB, Gubareva LV, Nicholls JM, et al (2009) Novel pandemic influenza A(H1N1) viruses are potently inhibited by DAS181, a sialidase fusion protein. *PLoS One* 4:e7788
53. Josset L, Lina B, Rosa-Calatrava M (2011) Voies métaboliques, interactants cellulaires et virus influenza : le grand détournement. *Virologie* (in press)
54. Josset L, Textoris J, Lloriod B, et al (2010) Gene expression signature-based screening identifies new broadly effective influenza a antivirals. *PLoS One* 5 pii:e13169