



HAL
open science

Virus de l'encéphalite équine : une histoire de moustiques, d'oiseaux, de poneys et d'armes biologiques sans contre-mesures : une émergence rapide ou un lent déclin ?

Clément Wilzius

► To cite this version:

Clément Wilzius. Virus de l'encéphalite équine : une histoire de moustiques, d'oiseaux, de poneys et d'armes biologiques sans contre-mesures : une émergence rapide ou un lent déclin ?. Sciences pharmaceutiques. 2022. hal-04042800

HAL Id: hal-04042800

<https://hal.univ-lorraine.fr/hal-04042800v1>

Submitted on 18 Dec 2023

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.



**UNIVERSITÉ
DE LORRAINE**

**BIBLIOTHÈQUES
UNIVERSITAIRES**

AVERTISSEMENT

Ce document est le fruit d'un long travail approuvé par le jury de soutenance et mis à disposition de l'ensemble de la communauté universitaire élargie.

Il est soumis à la propriété intellectuelle de l'auteur. Ceci implique une obligation de citation et de référencement lors de l'utilisation de ce document.

D'autre part, toute contrefaçon, plagiat, reproduction illicite encourt une poursuite pénale.

Contact bibliothèque : ddoc-thesesexercice-contact@univ-lorraine.fr
(Cette adresse ne permet pas de contacter les auteurs)

LIENS

Code de la Propriété Intellectuelle. articles L 122. 4

Code de la Propriété Intellectuelle. articles L 335.2- L 335.10

http://www.cfcopies.com/V2/leg/leg_droi.php

<http://www.culture.gouv.fr/culture/infos-pratiques/droits/protection.htm>



UNIVERSITÉ
DE LORRAINE



FACULTÉ
DE PHARMACIE

UNIVERSITE DE LORRAINE

2022

FACULTE DE PHARMACIE

T H E S E

Présentée et soutenue publiquement

le 07 octobre 2022 , sur un sujet dédié à :

VIRUS DE L'ENCEPHALITE EQUINE – UNE HISTOIRE
DE MOUSTIQUES, D'OISEAUX, DE PONEYS ET
D'ARMES BIOLOGIQUES SANS CONTRE-MESURES.
UNE EMERGENCE RAPIDE OU UN LENT DECLIN ?

pour obtenir

le Diplôme d'État de Docteur en Pharmacie

par Clément WILZIUS

né le 27 juin 1997

Membres du Jury

Président : Mme Natacha DREUMONT, Maître de conférences

Juges : M Mihayl VARBANOV, Maître de conférences et Pharmacien

Mme Sandrine CAPIZZI, Maître de conférences

Mme Sophie GUIDAT, Pharmacien

UNIVERSITÉ DE LORRAINE
FACULTÉ DE PHARMACIE
Année universitaire 2022-2023

DOYEN

Raphaël DUVAL

Vice-Doyen

Julien PERRIN

Directrice des études

Marie SOCHA

Conseil de la Pédagogie

Président, Luc FERRARI

Vice-Présidence - vacant

Collège d'Enseignement Pharmaceutique Hospitalier

Présidente, Béatrice DEMORE

Commission Prospective Facultaire

Président, Igor CLAROT

Vice-Président, Raphaël DUVAL

Commission de la Recherche

Présidente, Caroline GAUCHER

Chargés de Mission

Aline BONTEMPS

Alexandrine LAMBERT

Virginie PICHON

Marie-Paule SAUDER

Arnaud PALLOTTA

Responsabilités

Caroline PERRIN-SARRADO

Julien GRAVOULET

Isabelle LARTAUD,

Jean-Bernard REGNOUF de VAINS

Béatrice DEMORE

Marie SOCHA

Jean-Bernard REGNOUF de VAINS

Xavier BELLANGER

Igor CLAROT

Luc FERRARI

François DUPUIS

Mihayl VARBANOV

Communication

Innovation pédagogique

Référente ADE

Référente dotation sur projet (DSP)

Référent vie associative

Filière Officine

Filière Industrie

Filière Hôpital

Pharma Plus ENSIC

Pharma Plus ENSAIA

Pharma Plus ENSGSI

Cellule de Formation Continue et Individuelle

Commission d'agrément des maîtres de stage

ERASMUS

DOYENS HONORAIRES

Chantal FINANCE

Francine PAULUS

Claude VIGNERON

PROFESSEURS EMERITES

Pierre LEROY

Philippe MAINCENT

Claude VIGNERON

Patrick MENU

PROFESSEURS HONORAIRES

Jean-Claude BLOCK
 Pierre DIXNEUF
 Chantal FINANCE
 Marie-Madeleine GALTEAU
 Thérèse GIRARD
 Pierre LABRUDE
 Vincent LOPPINET
 Patrick MENU
 Alain NICOLAS
 Janine SCHWARTZBROD
 Louis SCHWARTZBROD

ASSISTANTS HONORAIRES

Marie-Catherine BERTHE
 Annie PAVIS

MAITRES DE CONFERENCES HONORAIRES

Monique ALBERT
 Mariette BEAUD
 Emmanuelle BENOIT
 François BONNEAUX
 Gérald CATAU
 Jean-Claude CHEVIN
 Jocelyne COLLOMB
 Bernard DANGIEN
 Dominique DECOLIN
 Marie-Claude FUZELLIER
 Françoise HINZELIN
 Marie-Hélène LIVERTOUX
 Bernard MIGNOT
 Blandine MOREAU
 Dominique NOTTER
 Francine PAULUS
 Christine PERDICAKIS
 Marie-France POCHON
 Anne ROVEL
 Gabriel TROCKLE
 Maria WELLMAN-ROUSSEAU
 Colette ZINUTTI

ENSEIGNANTS

Section CNU* Discipline d'enseignement

PROFESSEURS DES UNIVERSITES - PRATICIENS HOSPITALIERS

Danièle BENSOUSSAN-LEJZEROWICZ	82	<i>Thérapie cellulaire</i>
Béatrice DEMORE	81	<i>Pharmacie clinique</i>
Alexandre HARLE	82	<i>Biologie cellulaire oncologique</i>
Jean-Louis MERLIN	82	<i>Biologie cellulaire</i>
Jean-Michel SIMON	81	<i>Economie de la santé, Législation pharmaceutique</i>
Nathalie THILLY	81	<i>Santé publique et Epidémiologie</i>

PROFESSEURS DES UNIVERSITES

Ariane BOUDIER	85	<i>Chimie Physique</i>
Christine CAPDEVILLE-ATKINSON	86	<i>Pharmacologie</i>
Igor CLAROT	85	<i>Chimie analytique</i>
Joël DUCOURNEAU	85	<i>Biophysique, Acoustique, Audioprothèse</i>
Raphaël DUVAL	87	<i>Microbiologie clinique</i>
Béatrice FAIVRE	87	<i>Hématologie, Biologie cellulaire</i>
Luc FERRARI	86	<i>Toxicologie</i>
Pascale FRIANT-MICHEL	85	<i>Mathématiques, Physique</i>
Christophe GANTZER	87	<i>Microbiologie</i>
Caroline GAUCHER ^H	86	<i>Chimie physique, Pharmacologie</i>
Frédéric JORAND	87	<i>Eau, Santé, Environnement</i>
Isabelle LARTAUD	86	<i>Pharmacologie</i>
Dominique LAURAIN-MATTAR	86	<i>Pharmacognosie</i>

Brigitte LEININGER-MULLER	87	Biochimie
Jean-Bernard REGNOUF de VAINS	86	Chimie thérapeutique
Anne SAPIN-MINET	85	Pharmacie galénique
Bertrand RIHN	87	Biochimie, Biologie moléculaire

MAITRES DE CONFÉRENCES DES UNIVERSITÉS - PRATICIENS HOSPITALIERS

Pauline GILSON	82	Biologie cellulaire oncologique
Caroline LAROYE	82	Biothérapie
Julien PERRIN ^H	82	Hématologie biologique
Loïc REPPPEL	82	Biothérapie
Marie SOCHA	81	Pharmacie clinique, thérapeutique et biotechnique

MAITRES DE CONFÉRENCES

Xavier BELLANGER ^H	87	Parasitologie, Mycologie médicale
Isabelle BERTRAND ^H	87	Microbiologie
Michel BOISBRUN ^H	86	Chimie thérapeutique
Cédric BOURA ^H	86	Physiologie
Sandrine CAPIZZI	87	Parasitologie
Antoine CAROF	85	Informatique
Frédérique CHANGEY	87	Microbiologie
Sébastien DADE	85	Bio-informatique
Natacha DREUMONT ^H	87	Biochimie générale, Biochimie clinique
Florence DUMARCAÏ ^H	86	Chimie thérapeutique
François DUPUIS ^H	86	Pharmacologie
Reine EL OMAR	86	Physiologie
Adil FAIZ	85	Biophysique, Acoustique
Anthony GANDIN	87	Mycologie, Botanique
Stéphane GIBAUD ^H	86	Pharmacie clinique
Jérémy GOUYON	85	Chimie analytique
Thierry HUMBERT	86	Chimie organique
Olivier JOUBERT ^H	86	Toxicologie, Sécurité sanitaire

ENSEIGNANTS (suite)

Section CNU *

Discipline d'enseignement

Alexandrine LAMBERT	85	Informatique, Biostatistiques
Julie LEONHARD ^H	86/01	Droit en Santé
Balbine MAILLOU	85	Biophysique, Acoustique, Audioprothèse
Christophe MERLIN ^H	87	Microbiologie environnementale
Maxime MOURER ^H	86	Chimie organique
Coumba NDIAYE	86	Epidémiologie et Santé publique
Arnaud PALLOTTA	85	Bioanalyse du médicament
Marianne PARENT	85	Pharmacie galénique
Caroline PERRIN-SARRADO	86	Pharmacologie
Virginie PICHON	85	Biophysique
Sophie PINEL ^H	85	Informatique en Santé (e-santé)
Franceline REYNAUD	85	Pharmacie galénique
Marie-Paule SAUDER	87	Mycologie, Botanique
Guillaume SAUTREY	85	Chimie analytique
Rosella SPINA	86	Pharmacognosie

Sabrina TOUCHET	86	<i>Pharmacochimie</i>
Mihayl VARBANOV	87	<i>Immuno-Virologie</i>
Marie-Noëlle VAULTIER [■]	87	<i>Mycologie, Botanique</i>
Emilie VELOT [■]	86	<i>Physiologie-Physiopathologie humaines</i>
Mohamed ZAIYOU [■]	87	<i>Biochimie et Biologie moléculaire</i>

PROFESSEUR ASSOCIE

Julien GRAVOULET	86	<i>Pharmacie clinique</i>
------------------	----	---------------------------

PROFESSEUR AGREGÉ

Christophe COCHAUD	11	<i>Anglais</i>
--------------------	----	----------------

[■] Maître de conférences titulaire HDR

* Disciplines du Conseil National des Universités :

80 : Personnels enseignants et hospitaliers de pharmacie en sciences physico-chimiques et ingénierie appliquée à la santé

81 : Personnels enseignants et hospitaliers de pharmacie en sciences du médicament et des autres produits de santé

82 : Personnels enseignants et hospitaliers de pharmacie en sciences biologiques, fondamentales et cliniques

85 ; Personnels enseignants-chercheurs de pharmacie en sciences physico-chimiques et ingénierie appliquée à la santé

86 : Personnels enseignants-chercheurs de pharmacie en sciences du médicament et des autres produits de santé

87 : Personnels enseignants-chercheurs de pharmacie en sciences biologiques, fondamentales et cliniques

11 : Professeur agrégé de lettres et sciences humaines en langues et littératures anglaises et anglo-saxonnes

SERMENT DE GALIEN

En présence des Maitres de la Faculté, je fais le serment :

D'honorer ceux qui m'ont instruit(e) dans les préceptes de mon art et de leur témoigner ma reconnaissance en restant fidèle aux principes qui m'ont été enseignés et d'actualiser mes connaissances

D'exercer, dans l'intérêt de la santé publique, ma profession avec conscience et de respecter non seulement la législation en vigueur, mais aussi les règles de Déontologie, de l'honneur, de la probité et du désintéressement ;

De ne jamais oublier ma responsabilité et mes devoirs envers la personne humaine et sa dignité

En aucun cas, je ne consentirai à utiliser mes connaissances et mon état pour corrompre les mœurs et favoriser des actes criminels.

De ne dévoiler à personne les secrets qui m'auraient été confiés ou dont j'aurais eu connaissance dans l'exercice de ma profession

De faire preuve de loyauté et de solidarité envers mes collègues pharmaciens

De coopérer avec les autres professionnels de santé

Que les Hommes m'accordent leur estime si je suis fidèle à mes promesses.

Que je sois couvert(e) d'opprobre et méprisé(e) de mes confrères si j'y manque.

« LA FACULTE N'ENTEND DONNER AUCUNE
APPROBATION, NI IMPROBATION AUX OPINIONS EMISES
DANS LES THESES, CES OPINIONS DOIVENT ETRE
CONSIDEREES COMME PROPRES A LEUR AUTEUR ».

REMERCIEMENTS

A Madame Natacha Dreumont,

Maître de conférences à la Faculté de Pharmacie de l'Université de Lorraine
Qui m'a fait l'honneur d'accepter la présidence de mon jury de thèse
Hommage respectueux

A Monsieur Mihayl Varbanov,

Maître de conférences à la Faculté de Pharmacie de l'Université de Lorraine
Qui m'a fait l'honneur d'accepter de diriger cette thèse et qui m'a accompagné durant les étapes de sa rédaction. Monsieur Varbanov a également été mon coordinateur Erasmus et m'a encouragé à tenter mon incroyable aventure en Bulgarie
Sincères remerciements

A Madame Sandrine Capizzi et Madame Sophie Guidat,

Qui m'ont fait l'honneur d'être membres de mon jury
Sincères remerciements

A mes parents et à ma sœur,

Pour tout leur amour et leur soutien depuis toujours, de m'aider pour tout, depuis que je suis né, jusqu'à ce jour, et d'avoir fait en sorte que je ne manque jamais de rien
Merci pour tout, tout simplement

A mes amis de la Faculté de Pharmacie,

Tout particulièrement Juline, Margaux et Tiffany
Pour tous ces moments intenses, de joie et de fête durant tout notre cursus

A mes amis de longue date et mes acolytes d'Erasmus,

Pour tous nos supers moments passés ensemble, nos confidences et nos voyages

A mes camarades et collègues d'alternance,

Juline, Taslyne, Coco, Meriem, Alex, Carole, Jeremy, Caro, Linda et tous les autres
Pour m'avoir fait passer une merveilleuse année parisienne

A ma grand-mère,

Qui aurait tant aimé me voir soutenir ce travail

SOMMAIRE

INTRODUCTION	1
I. Arbovirus : des agents émergents	2
1. Définition et classification	2
A. Définition.....	2
B. Classification des arbovirus	2
2. Mode de transmission et épidémiologie.....	3
A. Transmission.....	3
B. Épidémiologie et émergence.....	5
a. Infections à arbovirus émergents et ré-émergents.....	5
b. Arbovirus ayant un potentiel émergent	7
II. Virus de l'encéphalite équine.....	9
1. Alphavirus : une structure commune aux différents virus des encéphalites équines.....	9
A. Structure virale.....	9
B. Mécanisme d'infection au niveau protéique.....	10
2. Virus de l'encéphalite équine Vénézuélienne (VEEV)	11
A. Le complexe des encéphalites équines Vénézuéliennes	11
B. Cycle de transmission.....	12
a. Des sérotypes de VEEV différents	12
b. Transmission épizootique (épidémique)	12
c. Transmission enzootique (endémique).....	13
d. Vecteurs épizootiques	15
e. Vecteurs enzootiques	16
C. Pathogénie	17
a. Morbidité à la suite d'une infection par VEEV.....	17
b. Physiopathogénie	18
D. Clinique.....	18
a. Chez l'Homme	18
b. Signes cliniques chez l'équidé	19
3. Virus de l'encéphalite équine de l'Est (EEEV)	19
A. Un virus unique dans son complexe.....	19
B. Cycle de transmission	21

a.	Un cycle enzootique	21
b.	Nécessité d'un moustique jouant un rôle de « pont »	21
C.	Effets d'une infection par EEEV sur l'organisme	23
a.	Chez l'Homme	23
b.	Étude expérimentale chez l'animal	23
c.	Pathophysiologie	23
4.	Virus de l'encéphalite équine de l'Ouest (WEEV).....	24
A.	Cycle de transmission.....	24
B.	Clinique.....	26
a.	Chez l'Homme	26
b.	Chez l'animal	27
C.	Pathophysiologie.....	27
5.	Des virus aux caractéristiques proches ou diverses	28
6.	Utilisation des virus de l'encéphalite équine comme arme biologique	28
A.	Historique d'utilisation d'armes biologiques.....	28
B.	Principe d'action.....	29
a.	Menace biologique : les propriétés	30
b.	Classification des agents viraux présentant une menace biologique.....	31
C.	Prévention face aux menaces virales	32
a.	Mesures à prendre pour se protéger de menaces biologiques.....	32
b.	Évolution des réglementations concernant les armes biologiques.....	33
D.	Cas des virus d'encéphalites équines	35
a.	Le virus de l'encéphalite équine Vénézuélienne	35
b.	L'histoire de VEEV en tant qu'arme biologique.....	36
III.	Évolution épidémiologique de ces virus au cours du temps	37
1.	Virus de l'encéphalite équine Vénézuélienne	37
A.	Découverte de l'agent pathogène responsable de cette maladie.....	37
B.	Historique des cas de VEEV	38
a.	Les premières survenues des cas liés au virus.....	38
b.	Les résurgences de cas plus récents.....	38
2.	Virus de l'encéphalite équine de l'Est	41
3.	Virus de l'encéphalite équine de l'Ouest.....	46
IV.	Facteurs d'émergence ou de déclin viral.....	48
1.	Émergence du virus de l'encéphalite équine Vénézuélienne.....	49
A.	L'amplification du virus chez les équidés	49
B.	Facteurs génétiques	50

a.	D'une forme équine enzootique à épizootique.....	50
b.	Mutation des glycoprotéines de l'enveloppe.....	51
C.	Rôle de l'adaptation à l'hôte et au vecteur.....	54
a.	Adaptation aux moustiques épizootiques.....	54
b.	Adaptation aux équidés par des souches épizootiques.....	56
D.	Proximité avec les vecteurs.....	58
2.	Émergence du virus de l'encéphalite équine de l'Est.....	58
A.	Abondance de <i>Culiseta melanura</i> liée au merle d'Amérique.....	58
B.	Plantations d'arbres et zones humides.....	59
3.	Déclin du virus de l'encéphalite équine de l'Ouest.....	60
A.	Différents facteurs de déclin.....	60
a.	Arrêt de la circulation enzootique.....	60
b.	Mutation génétique.....	60
c.	Facteur climatique.....	61
d.	Facteurs de déclin non élucidés.....	61
B.	Bioterrorisme.....	62
C.	Influence des comportements environnementaux et humains sur l'émergence des arbovirus.....	62
a.	Influence du climat.....	62
b.	Facteurs anthropogènes.....	63
c.	Impact des voyages et des échanges.....	64
D.	Des accidents viraux.....	64
E.	Possibilité d'autres épidémies d'encéphalites équines.....	65
F.	L'introduction des virus d'encéphalites équines est-elle possible en Europe ?.....	66
a.	Introduction par transmission naturelle (non contrôlable).....	66
b.	Par importation d'animaux vivants (contrôlable).....	68
G.	Résumé des facteurs d'émergence des arbovirus.....	68
V.	Mesures pour limiter la propagation virale.....	70
1.	Surveillance.....	70
2.	Vaccination.....	70
A.	Pour WEEV.....	70
a.	Chez les équidés.....	70
b.	Chez l'humain.....	71
B.	Pour EEEV.....	72
a.	Le vaccin PE-EEEV.....	72
b.	Une vaccination vraiment utile ?.....	72

C.	Pour VEEV	73
a.	Un vaccin trivalent en développement	74
b.	Autres vaccins en développement	75
D.	Mesures pour prévenir les infections.....	76
a.	Contrôle vectoriel.....	76
b.	Le guidage génétique	76
c.	Utilisation de Wolbachia	77
d.	Autres mesures.....	78
E.	Vaccination des équidés.....	79
F.	Détection virale	80
a.	Méthode ELISA	80
b.	La méthode ELISA-array	81
c.	Importance du diagnostic.....	82
G.	Peut-on vraiment lutter contre les maladies à arbovirus ?	82
H.	Conclusion	83
	CONCLUSION	85
	BIBLIOGRAPHIE.....	87
	Annexe 1.....	97

LISTE DES TABLEAUX

Tableau I : Classification des principaux arbovirus [6] [7]	3
Tableau II : Espèces virales comprises dans le complexe des encéphalites équine Vénézuéliennes [12]	11
Tableau III : Cycles de transmission des sous-types de VEEV [16]	15
Tableau IV : Exemples de vecteurs épizootiques de VEEV [10]	16
Tableau V : Complexe d'encéphalites équine de l'Est [23].....	19
Tableau VI : Classification, par les CDC, des agents biologiques viraux présentant une menace [40].	31
Tableau VII : Classification française des agents biologiques viraux pathogènes [41].....	32
Tableau VIII : Historique des cas de VEEV en fonction des sérotypes [12].....	41
Tableau IX : Virémie exprimée à la suite à l'infection par le virus de l'encéphalite équine Vénézuélienne [60]	49

LISTE DES FIGURES

Figure 1 : Cycle de transmission des arbovirus [9]	4
Figure 2 : Structure d'un virion de type alphavirus [11]	10
Figure 3 : Cycle de transmission endémique et épidémique de VEEV [17].....	14
Figure 4 : Distribution géographique des souches d'EEEV en Amérique [24]	20
Figure 5 : Cycle de transmission d'EEEV [29]	22
Figure 6 : Cycle de transmission de WEEV [17]	26
Figure 7 : Carte représentant les états membres de la Convention sur l'interdiction des armes biologiques et toxines[43]	34
Figure 8 : Localisation des résurgences de cas de VEEV en Amérique [47]	40
Figure 9 : Évolution des cas humains d'EEE en fonction des années aux Etats-Unis [50]	42
Figure 10 : Nombre de cas d'EEE chez les équidés aux Etats-Unis, de 2006 à 2019 [51].....	43
Figure 11 : Répartition des cas neuro-invasifs humains d'EEE aux Etats-Unis dans les différents états entre 2009 et 2018 [50]	44
Figure 12 : Répartition des cas équins d'EEEV aux Etats-Unis de 2006 à 2019 [51].....	45
Figure 13 : Distribution géographique des virus d'encéphalites équine sur le continent américain. [46]	47
Figure 14: Processus d'émergence des souches de VEEV épidémiques en présence d'une mutation des glycoprotéines de l'enveloppe [64].....	53
Figure 15: Schéma exprimant l'adaptation de VEEV à de nouveaux vecteurs résultant à l'émergence virale [10].....	57
Figure 16: Carte représentant les principaux flux de migration des oiseaux [87]	67
Figure 17 : Méthode Wolbachia [111]	77
Figure 18 : Méthode ELISA [117].....	80

LISTE DES ANNEXES

Annexe 1 : Récapitulatif des cycles des encéphalites équines étudiées

LISTE DES ABREVIATIONS

ARN : Acide ribonucléique

CDC : Centres pour le contrôle et la prévention des maladies (Etats-Unis)

CHIKV : Virus du Chikungunya

DEET : N,N-Diéthyl-3-méthylbenzamide

DENV : Virus de la Dengue

EEEV : Virus de l'encéphalite équine de l'Est

ELISA : *Enzyme Linked ImmunoSorbent Assay*

FDA : *Food and Drug Administration* – Administration américaine des aliments et médicaments

IFN : Interféron

IR3535 : Butylacétylaminopropanoate d'éthyle

JEV : Virus de l'encéphalite Japonaise

MAYV : Virus Mayaro

MVA : *Modified Vaccinia Ankara*

NA : Amérique du Nord

PCR : Amplification en chaîne par polymérase

PRNT : Test de neutralisation par réduction de plaque

SA : Amérique du Sud

URSS : Union des Républiques Socialistes Soviétiques

USAMRIID : Institut de recherche médicale des maladies infectieuses de l'armée des Etats-Unis

VEEV : Virus de l'encéphalite équine Vénézuélienne

WEEV : Virus de l'encéphalite équine de l'Ouest

WNV : Virus du Nil occidental

YFV : Virus de la Fièvre jaune

ZIKV : Virus Zika

INTRODUCTION

Les virus des encéphalites équine sont des arbovirus qui représentent une menace pour la santé mondiale, et notamment les virus des encéphalites équine qui sont des virus zoonotiques présents sur le continent américain. Les virus zoonotiques peuvent affecter les équidés (poneys, chevaux, ânes,...) et sont également des agents pathogènes humains importants pour les humains. En effet, ils peuvent être transmis à l'homme comme les virus des encéphalites équine dont l'encéphalite équine de l'Est (EEEV), l'encéphalite équine de l'Ouest (WEEV) et le virus de l'encéphalite équine Vénézuélienne (VEEV). Ces pathogènes sont très infectieux et facilement disséminés sous forme d'aérosols. Ces maladies virales équine ont un impact important sur la santé des équidés et de l'Homme car elles peuvent se propager en circulant entre oiseaux et moustiques, provoquant alors des maladies chez l'Homme et les équidés.

Curieusement, les virus de l'encéphalite équine se trouvent à la croisée des chemins entre une émergence rapide et un lent déclin. Bien que le virus de l'encéphalite équine de l'Ouest (WEEV), responsable de plusieurs épidémies ayant entraîné la mort de centaines de milliers d'équidés et d'êtres humains au cours du siècle dernier, connaît actuellement un lent déclin inexplicable, car durant les dernières décennies les infections chez l'humain par ce virus ont considérablement diminué.

Au contraire, VEEV – un nouvel alphavirus mondial est un exemple d'un virus zoonotique émergent qui provoque des épidémies périodiques chez les équidés ainsi que chez les humains. Ce virus a été également considéré comme une arme biologique pour des intentions de bioterrorisme. Le virus de l'encéphalite équine de l'Est est également émergent et responsable d'épidémies touchant les humains et les équidés, provoquant des épidémies sur le continent nord-américain notamment.

L'objectif de ce travail est alors de démontrer quels sont les facteurs qui permettent d'expliquer d'une part l'émergence des virus EEEV et VEEV et d'une autre part le déclin observé concernant WEEV. Ces facteurs peuvent être d'origines différentes, pouvant être à la fois des facteurs génétiques, climatiques ou bien anthropogènes. De plus, les modes de transmission ainsi que l'évolution épidémiologique des infections liées à ces virus seront présentés dans ce travail.

Il est également intéressant d'évaluer le risque d'une introduction de ces virus, présents actuellement en Amérique uniquement, sur le continent européen. Également, il est pertinent de passer en revue les différents moyens possibles pour permettre de limiter les infections par les virus des encéphalites équine. Ces contre-mesures à ces infections peuvent être des moyens physiques ou chimiques par exemple par l'utilisation de répulsifs, ou bien des moyens préventifs comme les vaccins destinés notamment aux équidés. Ces mesures servent à limiter la propagation virale et ainsi réduire le risque d'apparition d'autres épidémies.

I. Arbovirus : des agents émergents

1. Définition et classification

A. Définition

Le terme « arbovirus » est une abréviation de « *arthropod-borne virus of vertebrates* » (virus des vertébrés transmis par des arthropodes)[1], et issu du jargon de laboratoire utilisé dans les années 1940, faisant référence à un virus animal transmis à l'hôte vertébré par un vecteur arthropode suceur de sang, ce qui en fait des virus uniques parmi les autres virus animaliers. Un vecteur étant un organisme, incluant un vertébré, qui permet le transport d'un agent infectieux vers un autre organisme. L'Organisation Mondiale de la Santé (OMS) requiert des conditions nécessaires pour les arbovirus incluant une réplication virale dans les classifications génétiques des deux organismes vertébrés (infectieux et infecté) ainsi qu'une transmission virale par un arthropode se nourrissant de sang d'hôtes vertébrés exprimant une virémie, la définition ayant été complétée par la suite incluant la transmission directe comme étant un mode de transmission alternatif [2].

Ils sont responsables de nombreuses maladies humaines et animales, infectant des millions d'individus et représentant un fléau social et économique. Par définition, ces virus requièrent un vecteur arthropode dans le cycle de transmission, dans lequel ils doivent se répliquer avant leur transmission. On estime à plus de 500 espèces de virus inscrits au Catalogue International des arbovirus et ce nombre est en augmentation constante. Cette large variété de virus s'adaptant facilement alimente la possibilité pour de nouveaux pathogènes d'émerger dans le futur [3]. Plusieurs infections dues à des arbovirus chez l'humain sont asymptomatiques ou présentent un pseudo syndrome grippal. Mais certains arbovirus sont devenus d'importants pathogènes pouvant causer des maladies respiratoires, de l'arthrite, un état fébrile, des encéphalites hémorragiques, des chocs voire même la mort [4].

B. Classification des arbovirus

La plupart des arbovirus causant des maladies chez l'humain et l'animal appartiennent à quatre familles virales : *Togaviridae* (genre *Alphavirus*), *Flaviviridae* (genre *Flavivirus*), *Bunyaviridae* (genre *Orthobunyavirus*, *Phlebovirus*, *Hantavirus* et *Nairovirus*), et *Reoviridae* (genre *Colitivirus* et *Orbivirus*) [3]. L'ensemble des arbovirus se définit donc par un critère épidémiologique qui est le mode de transmission, et la majorité de ces virus sont classés parmi ces quatre familles [5].

Tableau I : Classification des principaux arbovirus [6] [7]

Famille	Genre	Espèces de virus
<i>Flaviviridae</i>	<i>Flavivirus</i>	Dengue, Fièvre jaune, Nil Occidental, Encéphalite japonaise, Encéphalites à tiques, Usutu, Wesselbron
<i>Togaviridae</i>	<i>Alphavirus</i>	Chikungunya, Encéphalites équine, Mayaro, Ross River, O’Nyong-nyong, Ockelbo, Pogosta
<i>Bunyaviridae</i>	<i>Orthobunyavirus</i>	Schmallenberg
	<i>Phlebovirus</i>	Fièvre de la vallée du Rift, Toscana
	<i>Nairovirus</i>	Fièvre de Crimée-Congo
<i>Reoviridae</i>	<i>Coltivirus</i>	Fièvre à tiques du Colorado
	<i>Orbivirus</i>	Fièvre catarrhale
	<i>Seadomavirus</i>	Virus Banna

On retrouve dans le *tableau 1* les 4 familles d’arbovirus, avec notamment les virus d’encéphalites équine qui font parties de la famille des *togaviridae* et du genre *alphavirus*.

2. Mode de transmission et épidémiologie

A. Transmission

Ces virus sont généralement transmis par des vecteurs de type arthropodes à leur hôte vertébré et circulent parmi les animaux sauvages. Grâce à la transmission par amplification enzootique (touchant une ou plusieurs espèces d’animaux dans une même région), l’Homme peut être infecté en tant qu’hôte accidentel (hôte final). Mais certains arbovirus subissent un cycle urbain impliquant des humains comme hôtes amplificateurs et provoquant plusieurs épidémies en milieu urbain.

Les arthropodes les plus communs incluent les moustiques, les mouches, et les tiques ainsi que d’autres arthropodes hématophages. Les moustiques de type *Aedes* sont les principaux vecteurs des infections à arbovirus dont les deux types principaux sont *Ae. aegypti* et *Ae. albopictus* permettent la transmission d’importants virus comme le virus du Chikungunya (CHIKV), le virus de la Dengue (DENV), et le virus de la Fièvre jaune (YFV). D’autres vecteurs importants sont les moustiques de type *Culex*, les tiques, les phlébotomes, et les *Culicoides* (une espèce de moucheron) [3]. L’Homme représente un hôte accidentel pour le virus quand il est situé à proximité du réservoir animal qui peut être constitué par des animaux sauvages (primates non humains, oiseaux, ...) ou domestiques (porcs...). Ces arbovirus sont pour la plupart des virus zoonotiques ayant comme réservoir l’animal décrivant un cycle enzootique ou sylvatique (dont l’habitat est la forêt) impliquant l’arthropode vecteur et l’animal. L’Homme peut être un cul-de-sac épidémiologique évolutif pour le virus, ce qui ne permettra pas d’infecter l’insecte vecteur en retour et ainsi le cycle de transmission à partir des individus infectés sera empêché.

Certains arbovirus peuvent se propager à partir de patients infectés quand ils présentent une virémie suffisamment élevée pour infecter le vecteur, dans ce cas, ils décrivent un second cycle urbain ou épidémique quand l'Homme remplace alors le réservoir animal devenant un cycle de transmission avec le vecteur. Ce second cycle provoque des épidémies en zones péri-urbaines et urbaines comme le virus de la Dengue, de la Fièvre jaune et le Chikungunya [8]. La plupart des arbovirus se répandent par transmission sylvatique entre le vecteur invertébré et un réservoir vertébré enzootique dont des rongeurs, oiseaux, et primates non humains. Dans l'hôte vertébré amplificateur, les arbovirus doivent avoir une virémie suffisamment élevée pour qu'un arthropode soit infecté durant un repas sanguin. Dans ce cycle enzootique, la transmission à des hôtes accidentels (humains ou animaux domestiques) peut arriver, elle est ainsi faible ou transitoire, et il y a donc une faible chance que le virus puisse provoquer une infection dans un vecteur arthropode. Mais certains arbovirus comme le virus de l'encéphalite équine Vénézuélienne (VEEV) et de l'encéphalite Japonaise (JEV) ont étendu leur portée en établissant des cycles d'amplification épizootique chez les animaux domestiques comme le poney, le cheval ou le cochon. Dans la plupart des cas, l'Homme sert d'hôte accidentel et ne joue pas un rôle majeur dans le maintien du cycle des arbovirus [4]. Les cycles sont illustrés sur la *figure 1*.

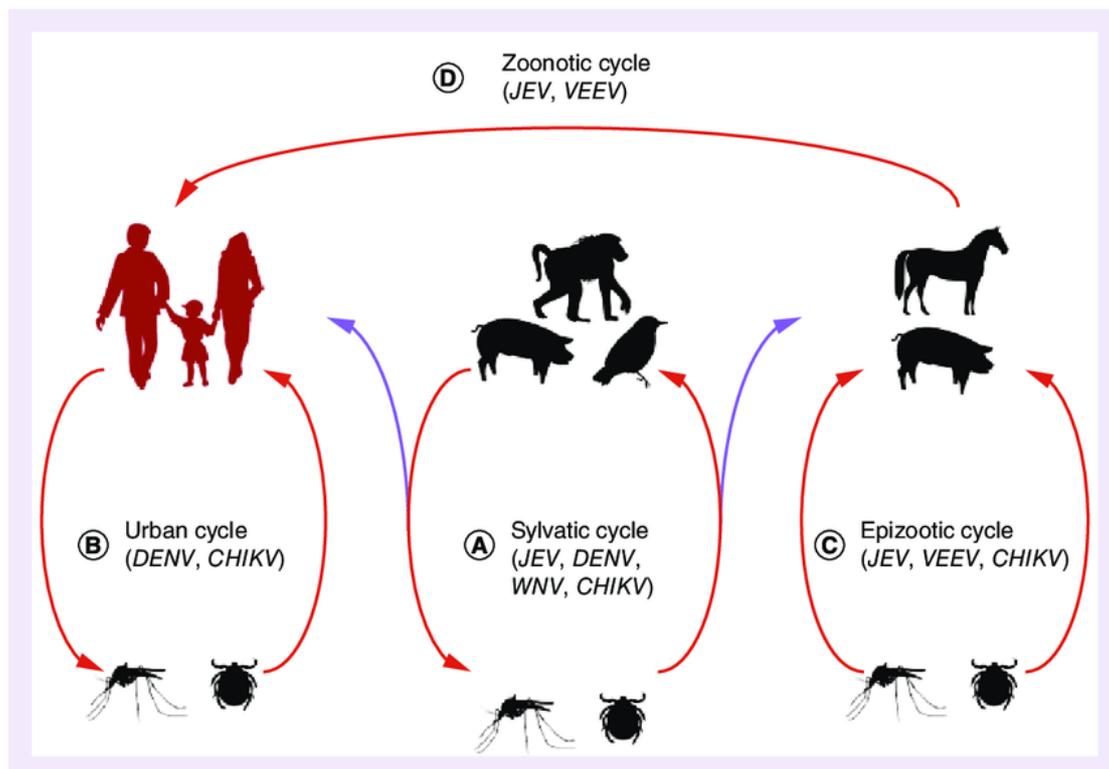


Figure 1 : Cycle de transmission des arbovirus [9]

(Urban cycle : cycle urbain ; Zoonotic : zoonotique ; Sylvatic : sylvatique, Epizootic : épizootique)

Un cycle urbain infecte l'Homme via des arthropodes. Pour le cycle sylvatique, l'arthropode infecte l'animal, mais l'Homme peut être un infecté de manière accidentelle. Un cycle épizootique est un cycle qui infecte uniquement les animaux. Tandis que le cycle zoonotique implique une maladie transmise de l'animal à l'Homme.

B. Épidémiologie et émergence

Les arbovirus ont une histoire bien connue d'émergence et vont continuer d'émerger dans le futur. Il y a de nombreux arbovirus non identifiés qui, dû à leur haut taux de mutation, peuvent émerger en tant que pathogènes même s'ils ne sont pas présents comme souches épidémiques dans l'environnement. Le changement climatique et les changements de comportement humain sont des déterminants importants pour l'émergence des arbovirus. La transmission virale peut se limiter par l'écologie de l'hôte ou du virus lui-même, les arbovirus étant fréquemment persistants à de faibles niveaux jusqu'à ce que des changements dans des facteurs simples ou multiples viennent perturber le cycle de transmission. Ce qui facilite l'amplification rapide et généralisée du virus. Les arbovirus peuvent alors émerger à un niveau épidémique à cause de changements génétiques viraux, dans la composition ou dynamique de l'hôte ou dans la population vectrice. À la suite de leur émergence locale et globale, certains arbovirus ont acquis une grande importance en matière de santé publique et vétérinaire, et la combinaison de facteurs qui a conduit à leur émergence est d'une importance fondamentale pour déterminer le risque associé et connaître les moyens pour endiguer le virus. De plus, beaucoup d'autres arbovirus sont largement ignorés et ce, malgré leur potentiel émergent [3].

a. Infections à arbovirus émergents et ré-émergents

Le virus de la Dengue (DENV), du genre *Flavivirus*, est le seul arbovirus qui a totalement évolué et s'est adapté à l'hôte humain et son environnement, éliminant le besoin d'un autre réservoir animal. Etant uniquement relié aux humains comme réservoir et pour son amplification, la persistance de DENV est basée sur la transmission par un moustique vecteur vivant (principalement par *A.albopictus*) dans un environnement proche de l'Homme. Il s'agit de l'arbovirus le plus largement répandu géographiquement et représente la plus grande menace liée à un arbovirus, montrant des hauts niveaux de transmission endémique en Amérique, Asie du Sud-Est et dans l'ouest du Pacifique avec quatre milliards de personnes à risque. Sa réapparition a été amplifiée par l'accroissement de la population et de sa densité, de l'urbanisation et des voyages internationaux, tout comme les conditions environnementales ainsi que la génétique virale [3].

Le virus du chikungunya (CHIKV) est un *Alphavirus* de la famille des *Togaviridae* et circule dans des cycles enzootiques parmi des primates non humains dont le principal vecteur est un moustique de type *Aedes* avec une prédominance d'*A. Aegypti*. Les symptômes liés à l'infection par ce virus, incluant de la fièvre, des maux de tête, de l'arthralgie, étant ressemblants à ceux de l'infection liée à DENV. Et le fait que CHIKV circule dans les régions endémiques de DENV a causé un sous-diagnostic des infections causées par CHIKV. En Asie du Sud, CHIKV a été considéré comme responsable de maladies épidémiques fébriles dans les années 1950 et continue d'être un important pathogène qui a émergé de nouveau en 2005 dans l'est de l'Afrique et dans les îles du sud de l'Océan Indien. La première explosion de cas majeure est

survenue en 2004 au Kenya puis à l'île de La Réunion en 2005-2006. Entre 2013 et 2014, des cas autochtones de CHIKV sont apparus dans les Caraïbes, puis finalement une souche venant d'Afrique s'est répandue au Brésil en 2014 [3].

Le virus Zika (ZIKV), un *Flavivirus* de la famille des *Flaviviridae* transmis aussi par des moustiques du genre *Aedes* du type *Ae. Aegypti* dans le milieu urbain mais aussi par *Ae. Albopictus*, *Ae. Poliniensis*, et *Ae. Hensili*. ZIKV est associé à des maladies humaines depuis plus de 60 ans dont une augmentation de l'incidence de cas de syndrome de Guillain-Barré et de microcéphalie dans les zones ayant fait face à une épidémie de ZIKV. La première épidémie majeure fut rapportée en Micronésie, suivie d'une épidémie en Polynésie Française en 2013. La plus grande épidémie a démarré au Brésil en 2014 avec 1.3 millions de cas estimés à la fin de 2015, puis en mai 2016 avec 47 pays et territoires en Amérique ayant déclaré des cas autochtones de ZIKV. En 2017, même si le nombre de cas a décliné au Brésil et dans les autres pays d'Amérique, que le virus n'est plus considéré comme une urgence médicale, et constitue une priorité pour la recherche. Le risque d'une autre épidémie majeure est toujours présent et n'est pas prévisible [3].

L'épidémiologie du virus de la fièvre jaune (YFV), un *Flavivirus* de la famille des *Flaviviridae*, inclut en Afrique un cycle sylvaïque et urbain augmentant la force de l'infection pendant les épidémies humaines, et cela est supérieur en Afrique plutôt qu'en Amérique du Sud. Dans les zones endémiques, l'émergence du YFV est due à la déforestation résultant en l'augmentation des morsures d'insectes, mais aussi les perturbations environnementales (augmentation des précipitations et températures) ont engendré la reproduction massive des vecteurs responsables de la circulation du virus de manière épidémique en Afrique et en Amérique du Sud. YFV peut potentiellement émerger et se répandre d'une manière similaire de DENV, CHIKV et ZIKV en Amérique du Sud. Une épidémie récente au Brésil ainsi que de multiples cas recensés en dehors de régions endémiques permet de connaître la possibilité d'une augmentation de fièvre jaune en milieu urbain car de nombreux cas ont été signalés dans des régions considérées comme non touchées par le virus où le vaccin n'est pas effectué. YFV peut devenir le prochain arbovirus à émerger en tant qu'urgence de santé publique. Depuis 2015, des épidémies de fièvre jaune ont été rapportées en Angola, Kenya et en République Démocratique du Congo, puis en 2016 s'est répandu en Chine et devenant le premier cas officiellement rapporté en laboratoire d'Asie. Si l'introduction de YFV se répand dans des zones possédant une grande population d'*Ae. Aegypti* alors la maladie peut potentiellement se répandre en Asie du Sud-est menaçant 2 milliards de personnes [3].

Le virus du Nil Occidental (WNV) appartient au sérocomplexe du virus de l'encéphalite Japonaise (JEV) du genre *Flavivirus* et est distribué largement notamment avec la lignée 1 qui est vastement répandue et hautement invasive tandis que la lignée 2 est surtout restée enzootique en Afrique, les lignées 3 et 4 représentent des cas autochtones en Europe Centrale, tandis que la lignée 5 est présente en Inde. Les changements climatiques aux latitudes tempérées nordiques ont rendu ces zones propices à l'invasion de WNV. Les épidémies de WNV ont été enregistrées dans le bassin méditerranéen, en Europe Centrale et en Russie où *Culex Pipiens* est apparu

comme étant le principal vecteur. WNV a été introduit en Amérique durant l'été 1998, surtout en Amérique du Nord par les oiseaux migrateurs. WNV est alors est actuellement un des arbovirus les plus répandus dans le monde. JEV est la plus fréquente cause d'encéphalite issue de moustiques, et la distribution mondiale de JEV s'est progressivement étendue, représentant un risque pour plus de 3 milliards de personnes en Asie habitant dans des zones à risques avec 50 000 cas symptomatiques et 10 000 morts par an. Ce virus est responsable d'endémies dans des zones d'Asie et du Pacifique, une transmission en Europe étant possible car le vecteur principal qui est le moustique du type *Culex tritaeniorhynchus* a été identifié en Grèce et en Italie. Les cas de JEV ont dépassé les frontières de l'Asie avec des cas autochtones en Angola, et le risque que JEV devienne une grande menace dans le futur est élevée. Le fait que JEV se répande sur le territoire indien ainsi que l'augmentation des échanges commerciaux et touristiques par voie aérienne avec l'Afrique et l'Europe augmentent le risque de transmission dans ces régions [3].

b. Arbovirus ayant un potentiel émergent

Le virus de la fièvre de la Vallée du Rift (RVFV), du genre *Phlebovirus* de la famille des *Bunyaviridae*, circule en Afrique Centrale, de l'Est, et du Sud ainsi que dans la Péninsule Arabique. Dans le passé, ce virus se trouvait en Afrique de l'Est Sub-Saharienne dont la vallée du Rift du Kenya et Tanzanie, et par la suite des épidémies ont été documentées en Afrique du Sud, dans la Vallée du Nil, et dans la Péninsule d'Arabie Saoudite ainsi qu'en Mauritanie montrant la dispersion du virus en Afrique de l'Ouest, démontrant l'habilité du virus d'échapper aux zones enzootiques connues. Les projets d'irrigations ainsi que l'effet de *l'El Nino*, qui est une augmentation anormale de la température des eaux de l'océan Pacifique à l'Est, sont des facteurs pouvant influencer l'épidémiologie de RVFV. Mais comme le virus est transmis par une large variété de moustiques s'adaptant localement en Afrique, et *Ae. Aegypti* n'étant pas reconnu comme vecteur principal, la probabilité d'une expansion au-delà d'Afrique et d'Arabie Saoudite reste faible. Et avec un fort impact potentiel sur la vie sauvage, les animaux domestiques ainsi que sur la santé humaine, si les moyens mis en œuvres sont limités pour empêcher les infections mais avant tout la propagation virale, le virus peut très sérieusement impacter la santé vétérinaire et humaine en Asie, Europe, et Amérique [3].

Le virus Mayaro (MAYV) est un *alphavirus* émergent avec une transmission autochtone en Amérique du Sud et Centrale avec une prévalence plus élevée en Amazonie et a récemment été déclaré comme circulant dans les Caraïbes. Historiquement, les épidémies de MAYV ont été sporadiques mais des débordements sont apparus à la suite de déforestations et d'urbanisation dans les zones endémiques, ce qui a conduit le virus à se rapprocher géographiquement d'un plus grand nombre de personnes ainsi que de leurs vecteurs associés. Puis ayant un patrimoine génétique proche de CHIVK, il est possible que MAYV puisse évoluer afin de devenir plus infectieux pour les humains et moustiques, pouvant devenir un agent pathogène responsable de grandes épidémies [3].

Le virus de l'encéphalite équine Vénézuélienne (VEEV) est un *alphavirus* de la famille des *Togaviridae* largement répandu dans les zones tropicales et subtropicales d'Amérique, où il circule de façon endémique entre les moustiques du genre *Culex* et les rongeurs. Il en existe plusieurs sous-types (I à IV) pouvant être enzootique et épidémique. L'émergence de VEEV est basée sur une combinaison entre facteurs génétique et écologique, et le transport de souches mutantes pour une amplification possible chez le cheval dans des zones avec des espèces cibles et avec des moustiques comme vecteurs permet l'émergence d'épidémies [3].

L'émergence ou la réémergence des arbovirus est corrélée à la plasticité génétique de l'ARN des arbovirus dont les mutations aboutissent à l'adaptation à de nouveaux vecteurs, à l'intensification des voyages internationaux favorisant le déplacement de vecteurs ou d'animaux infectés en dehors de leur habitat habituel, ainsi qu'à l'adaptation des vecteurs à de nouvelles régions géographiques due par exemple au changement climatique [8].

II. Virus de l'encéphalite équine

1. Alphavirus : une structure commune aux différents virus des encéphalites équines

Il existe trois virus de l'encéphalite équine distincts. On retrouve le virus de l'encéphalite équine de l'Est, présent majoritairement aux Etats-Unis et dans d'autres pays d'Amérique. Il y a également le virus de l'encéphalite équine de l'Ouest, présent essentiellement aux Etats-Unis et au Brésil. Puis on retrouve le virus de l'encéphalite Vénézuélienne, présent majoritairement en Amérique du Sud. Ces trois *alphavirus* ont une structure commune mais possèdent des divergences en termes d'épidémiologie et d'émergence. Ces virus sont responsables d'infections chez l'Homme mais également chez les équidés, comprenant notamment les poneys et les chevaux.

A. Structure virale

L'*alphavirus* responsable d'encéphalites équines est un virus sphérique de 70 nanomètres de diamètre et de symétrie icosaédrique. Son génome de type ARN possède approximativement 11,400 nucléotides et son extrémité 5' permet de coder quatre protéines non structurales (nsP1-4) qui participent à la réplication du génome et au traitement des protéines virales dans le cytoplasme. Son extrémité 3' possède un message qui est traduit et qui produit trois protéines structurales qui sont la capsidie et les glycoprotéines de l'enveloppe E1 et E2. La protéine E2 forme des spikes à la surface du virion, qui est une particule virale, et la protéine E1 se situe au niveau de l'enveloppe lipidique dérivée de la cellule hôte. L'enveloppe contient environ 80 spikes et chaque spike est un trimère de protéine E1/E2 [10][11]. La structure virale est imagée sur la *figure 2*.

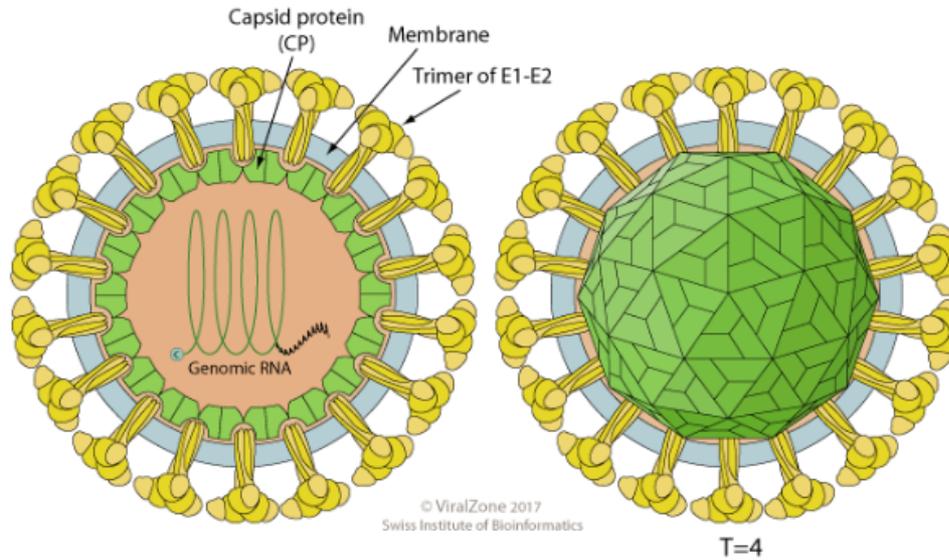


Figure 2 : Structure d'un virion de type alphavirus [11]

(Trimer : trimère ; Protein : protéine ; Capsid : capside)

B. Mécanisme d'infection au niveau protéique

Ce virus peut utiliser la protéine de liaison à la laminine, un constituant protéique majeure de la lame basale, comme récepteur pour entrer dans la cellule par endocytose médiée par ces récepteurs. Après fusion des virions, des particules infectieuses, avec la membrane des endosomes (compartiments membranaires situés à l'intérieur de cellules eucaryotes) à pH faible par une séquence d'acides aminés d'E1, l'ARNm est traduit dans le cytoplasme, passant de la forme ARNm à la forme protéique générant les protéines non structurales. La réplication virale se situe à la surface cytoplasmique des endosomes et va produire des copies de brins à polarité négative qui vont servir de modèles pour les brins à polarité positive. On estime qu'une molécule d'ARN génomique interagit dans le cytoplasme avec 240 copies de la protéine de la capsid pour former une nucléocapside. Les glycoprotéines constituant l'enveloppe sont insérées dans la membrane du réticulum endoplasmique, et à la suite de ce processus par voie sécrétrice, interagissent avec la nucléocapside de la membrane plasmique pour initier la formation des particules virales à la surface des cellules [10].

2. Virus de l'encéphalite équine Vénézuélienne (VEEV)

A. Le complexe des encéphalites équines Vénézuéliennes

Le complexe des encéphalites équines Vénézuéliennes comporte plusieurs espèces de virus enzootiques comme le virus Mosso das Pedras, le virus des Everglades, le virus Mucambo, le virus Tonate, le Pixuna virus, le Cabassou virus, ainsi que le virus Rio Negro (cf *tableau II*). Parmi les virus enzootiques, on retrouve aussi le virus de l'encéphalite équine Vénézuélienne (VEEV), avec les sérotypes ID et IE. Un sérotype permet de déterminer les souches différentes d'un même virus. Le virus de l'encéphalite équine Vénézuélienne est considéré comme épizootique pour les sérotypes IAB et IC. Ces virus font partie de la famille des *Togaviridae* et du genre *Alphavirus* [12].

Tableau II : Espèces virales comprises dans le complexe des encéphalites équines Vénézuéliennes [12]

Subtype	Species	Serotype	Transmission Pattern
I	VEE virus	AB	Epizootic
	VEE virus	C	
	VEE virus	D	
	VEE virus	E	
	Mosso das Pedras virus	F	
II	Everglades virus		Enzootic
III	Mucambo virus	A	
	Tonate virus*	B	
	Mucambo virus	C	
	Mucambo virus	D	
IV	Pixuna		
V	Cabassou virus		
VI	Rio Negro virus		

Source: Weaver et al., 2004

(Subtype : sous-type ; Species : espèces ; Transmission Pattern : modèle de transmission)

On retrouve dans le *tableau II* les différents sous-types et les espèces du complexe VEEV associé, ainsi sur les sérotypes et le mode de transmission. Pour le virus de l'encéphalite équine Vénézuélienne on les sérotypes IAB et IC associés à une transmission épizootique, alors que les sérotypes ID et IE sont associés à une transmission enzootique.

B. Cycle de transmission

Le virus de l'encéphalite équine Vénézuélienne est présent dans deux cycles épidémiologiques qui sont le cycle enzootique sylvatique et le cycle épizootique et/ou épidémique [13]. Une maladie enzootique affecte un faible nombre d'une population animale tandis qu'une maladie épizootique cause des épidémies qui transite de l'animal à l'homme [14]. VEEV est un virus qui est hautement infectieux sous forme d'aérosols [15].

a. Des sérotypes de VEEV différents

Les analyses des sérotypes des souches ID/IAB/IC a permis de mettre en évidence deux lignées, dont une qui circule au Panama principalement et dont l'apparition est estimée à 102 ans.

Le sérotype IC est considéré comme étant le résultat d'un changement d'acide aminé dans la protéine E2 du sous-type enzootique ID.

Les sérotypes IC étant retrouvés dans deux clades différentes dans la phylogénie de VEEV, un clade étant un groupement de plusieurs embranchements d'espèces ayant une organisation et une origine commune, notamment dans la lignée au Venezuela et en Colombie, cependant ce n'est pas le cas au Panama.

Le sérotype IE est concentré en Amérique centrale et Mexique, dont une démarcation est présente entre les sous-types IE et ID à la frontière entre le Panama et le Costa Rica. Ce sous-type IE étant divisé en deux clades dont un qui est largement répandu avec des souches au Guatemala, Honduras, Mexique et Nicaragua, et l'autre groupe avec une dispersion plus limitée surtout au Mexique, il y a donc une petite dispersion de ce sous-type qui se fait entre pays voisins reflétant ainsi la faible mobilité des moustiques et des rongeurs. Puis une étude récente à propos de la circulation de VEEV au Mexique a montré une stabilité géographique indépendamment de l'évolution des lignées dans ce pays [16].

b. Transmission épizootique (épidémique)

Le cycle de transmission épizootique de VEEV a été étudié durant les différentes épidémies et a pu être bien établi. Il est important d'affirmer que les équidés jouent un rôle important en tant qu'hôtes amplificateurs, ce qui est un point commun à toutes les épidémies. Car en regardant toutes les épidémies de VEEV qui sont apparues dans le temps, toutes ont impliqué la présence de cas chez les équidés, tout en sachant que les souches de ce virus sont présentes chez une large gamme d'hôtes incluant les humains, les moutons, les chiens, les chauves-souris, les rongeurs, et certains oiseaux. Le potentiel pour une transmission urbaine impliquant une espèce du type *A.aegypti*, susceptible d'infecter un humain à la suite d'une

morsure et pouvant se nourrir sur de multiples hôtes dont des animaux sauvages vivant près de l'Homme, permettent d'augmenter les capacités du vecteur. Cela doit être considéré sachant que la population humaine continue de croître tandis que celle des équidés est en constante diminution notamment en Amérique latine [10]. Les équidés jouent alors le rôle d'hôte amplificateur pour le virus, et les moustiques répandent le virus entre les hôtes équin et les humains [14]. Les sérotypes impliqués dans cette transmission épizootique/épidémique sont les sérotypes IAB et IC, qui sont associées à des épidémies par amplification périodique équine [16].

c. Transmission enzootique (endémique)

Les rongeurs sylvatiques, dont leur habitat est la forêt, du genre *Sigmodon*, *Oryzomys*, *Zygodontomys*, *Heteromys*, *Peromyscus*, et *Proechimys* sont considérés comme étant les principaux hôtes réservoirs des VEEV enzootiques les plus complexes car ils sont souvent infectés dans la nature, ont une forte immunité, et développent une virémie modérée voire élevée. Les rats épineux (*Proechimys semispinosus*) et les sigmodons (*Sigmodon hispidus*) sont les principaux hôtes réservoirs d'un sous-type enzootique de VEEV, le sérotype ID, au Panama tandis que d'autres rats épineux (*Proechimys chrysaolus*) sont le réservoir principal en Colombie centrale. *S. hispidus* et *Peromyscus gossypinus* sont probablement les hôtes réservoirs les plus importants des virus des Everglades en Floride aux Etats-Unis (cf *figure 3*). Des études comparatives au Venezuela et en Colombie ont démontré une forte corrélation entre les populations de rats épineux et les niveaux de circulation de VEEV. D'autres mammifères sont souvent infectés comme les opossums, et les chauves-souris ainsi que les oiseaux vivants sur les rivages peuvent être impliqués dans la dispersion des virus enzootiques [10]. Les sérotypes ID et IE sont des souches enzootiques/endémiques qui circulent constamment dans les forêts et marais du Nord de l'Amérique du Sud [16] (cf *tableau IV*).

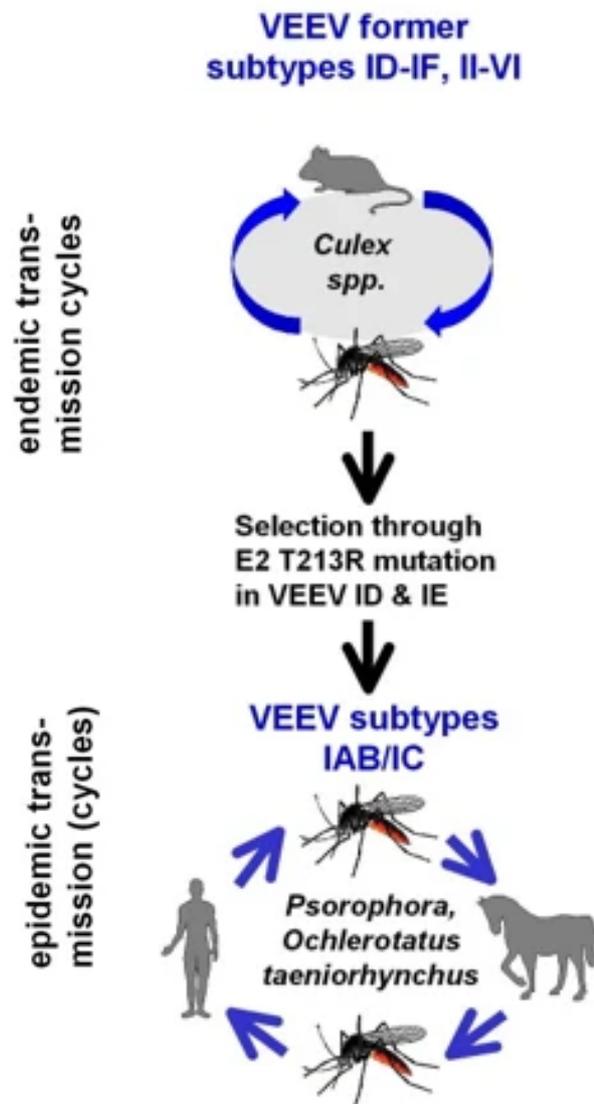


Figure 3 : Cycle de transmission endémique et épidémique de VEEV [17]

La transmission de VEEV (figure 3) est maintenue dans un cycle endémique/enzootique au premier plan avec un vecteur arthropode de type *Culex* spp. qui va se nourrir sur des rongeurs sylvatiques puis va déborder sur un cycle épidémique/épizootique via une mutation. On passe alors de sérotype ID/IE à des sérotypes IAB/IC. Ce second cycle permet une amplification chez les équidés qui va se transmettre à l'homme via des vecteurs de type *Psorophora* spp. et *Ochlerotatus taeniorhynchus*.

Tableau III : Cycles de transmission des sous-types de VEEV [16]

Sous-type	Abréviation	Première isolation	Zone géographique	Hôte vertébré	Vecteur moustique	Pathologie humaine	Endémique/épidémique
IAB	VEEV	Venezuela 1938	Trinidad, Pérou, Colombie, Guatemala, Mexique, Texas	Chevaux Humains	<i>Aedes</i> et <i>Psorophora spp</i>	Oui	Epidémique
IC		Colombia 1962	Colombie, Venezuela, Pérou	Chevaux Humains	<i>Aedes</i> et <i>Psorophora spp</i>		Epidémique
ID		Colombia 1961	Amérique du Sud et Centrale	Rongeurs	<i>Culex</i> (Melanoconion) <i>spp</i>		Endémique
IE		Panama 1961	Amérique Centrale	Rongeurs, chevaux, humains	<i>Culex</i> (Melanoconion) <i>taeniopus</i> and <i>Psorophora</i> and <i>Aedes spp</i>		Epidémique / Endémique

On retrouve en *tableau III* les premières isolations qui ont eu lieu en 1938 pour le sous-type IAB mais plus tard pour les autres sous-types (dans les années 1960). Le sous-types ID par exemple est maintenu dans un cycle endémique/enzootique via des rongeurs uniquement, alors que les autres sous-types incluent des équidés et des humains.

d. Vecteurs épizootiques

Les sérotypes épizootiques de VEEV dont IAB et IAC sont considérés comme opportunistes dans leur utilisation de moustiques vecteurs durant les épidémies. Les études ont montré qu'il n'y a pas seulement qu'une espèce de vecteur principal mais qu'il y en a d'autres impliquées dans la transmission du virus durant une épidémie donnée. Bien que la susceptibilité à des infections est un prérequis pour une transmission biologique et que certaines espèces y sont quasiment réfractaires. Les comportements écologiques et traits comportementaux comme la longévité, la préférence de l'hôte, la survie, et la taille de la population sont probablement plus importants que les différences de susceptibilité dans la capacité des vecteurs. Et certaines espèces qui prétendent être modérément susceptibles aux infections ont été considérées comme d'importants vecteurs durant les précédentes épidémies [10](cf *tableau IV*).

Tableau IV : Exemples de vecteurs épizootiques de VEEV [10]

Vecteurs	Espèces	Historique
Moustiques	<i>P.confinis</i> <i>P.columbiae</i>	Nord d'Amérique du Sud, et en 1971 (épidémie/épizootique) au Mexique et Texas.
	<i>Ochlerotatus sollicitans</i>	Régions côtières du Mexique et au Texas en 1971
	<i>O.taeniorhynchus</i>	Important vecteur épizootique en Amérique du Sud, dont les côtes de la Péninsule de Guajira
	<i>Culex (Deinocerites)</i>	Vecteurs dans les régions côtières
Arthropodes non-moustiques	Simulies	Vecteur mécanique, en 1967, épizootique en Colombie centrale
	Tiques dont <i>Amblyomma cajennense</i> et <i>Hyalomma truncatum</i>	Susceptible aux infections par les souches épizootiques et enzootiques de VEEV
	Mites	Transmission mécanique

On retrouve des vecteurs moustiques (exemple : *Ochlerotatus spp.* ou *Culex spp*) et d'autres arthropodes qui n'en sont pas (dont les tiques par exemple) qui sont sensibles par des souches épizootiques et enzootiques mais leur rôle dans les infections reste à prouver, les moustiques restant le principal vecteur d'infections dans ce cas (cf tableau IV).

e. Vecteurs enzootiques

Les études réalisées sur la transmission enzootique de VEEV ont identifié une principale espèce de moustique dans une région donnée, et toutes ces espèces incluent *Culex portesi*, *Culex cedecei*, *Culex aikenii sensu lato* et *Culex taeniopus*, qui sont tous des membres de la section des *Spissipes* du sous-genre *Melanoconion* et du genre *Culex* [18]. Le sous-genre *Melanoconion* étant divisé en deux sections dont *Melanoconion* et *Spissipes* [10]. Des études sur la transmission enzootique de VEEV dans la région du nord de la Colombie suggèrent que *Cx. Pedroi* peut être le principal vecteur, et *Cx. vomerifer* au Pérou s'est montré sensible aux infections par des souches de VEEV. En Colombie, les sérotypes ID de VEEV semblent utiliser *C. vomerifer* et *C. pedroi* dans la vallée de Magdalena, tandis que *C. adamesi* semble servir comme un vecteur secondaire [18]. L'écologie de la plupart des espèces *Melanoconion* est faiblement comprise due à des raisons de difficultés d'études chez les femelles adultes. Les adultes sont présents principalement dans les forêts tropicales ou dans les marais en association avec des plantes aquatiques du genre *Pistia*. Les femelles adultes de la section des *Spissipes* se nourrissent principalement avec des petits animaux sylvatiques, mais certaines montrent d'autres comportements et mordent directement les êtres humains et les animaux domestiques.

La période pour se nourrir de sang se passe généralement au crépuscule ou la nuit. De plus, la préférence pour des petits animaux qui sont des hôtes réservoirs de nombreux arbovirus peut être un facteur écologique qui prédispose les espèces de moustiques à devenir des vecteurs de VEEV efficaces [10].

C. Pathogénie

a. Morbidité à la suite d'une infection par VEEV

Bien que le VEEV soit classé comme un *alphavirus* causant des encéphalites, les infections qui lui sont liées chez les humains provoquent un syndrome de type grippal pouvant aller jusqu'à une implication lymphatique et réticuloendothéliale [19]. Chez les équidés et chez l'humain, le VEEV cause un large spectre de maladies qui peuvent aller du stade asymptomatique à des encéphalites symptomatiques. Les souches enzootiques de VEEV de sous-types I-E, II, III et IV ne sont pas virulentes pour les équidés et produisent généralement une virémie à faible titre avec peu ou pas de maladie. Cependant, certains virus enzootiques peuvent être pathogènes pour l'humain pouvant même conduire à la mort [10]. La progression vers une maladie neurologique survient chez seulement 4 à 14% des cas symptomatiques chez l'humain, et les décès restent rares [19]. Les études épidémiologiques récentes sur les maladies causant la fièvre chez l'humain au Pérou ont montré que certains VEEV enzootiques peuvent être moins pathogènes que les souches épizootiques. Sur une étude incluant 6600 cas de maladies ressemblant à la dengue, la variante enzootique de VEEV était l'agent étiologique de 166 cas et aucune maladie neurologique ou décès n'ont été rapportés. Cela contraste avec le fait que les virus IAB et IAC peuvent être plus virulents pour les humains et les équidés. La mortalité parmi la population équine durant des périodes épizootiques est estimée entre 19% et 83%, tandis que la mortalité chez l'humain est moins fréquente [10], représentant environ 1% de tous les cas signalés [20].

L'encéphalite équine Vénézuélienne survient chez l'humain à tout âge, sans biais lié au sexe, mais des populations sont plus à risque que d'autres dont les enfants qui demeurent la population la plus susceptible de développer des formes mortelles d'encéphalites ainsi que l'apparition de séquelles neurologiques pour les formes les plus graves. Le VEEV est aussi capable d'infecter le fœtus chez la femme enceinte. Concernant la période d'incubation chez les équidés, elle est d'environ 2 à 5 jours après l'infection par le virus, ce qui correspond à une période identique pour les cas chez l'humain [10].

b. Physiopathogénie

Le VEEV possède un fort tropisme pour les tissus lymphoïdes, et l'infection des cellules dendritiques et des macrophages semble être un mécanisme essentiel pour la pathogénèse de ce virus. Les cellules dendritiques, cellules faisant partie du système immunitaire et phagocytaire, sont infectées au site d'inoculation et sont recrutées par le virus comme moyen pour accéder aux ganglions lymphatiques drainant, qui est le premier site d'amplification du virus et représente la source de virémie sérique primaire. Durant les étapes suivantes dans la séquence pathogénique, les cellules dendritiques sont considérées comme servant de réservoir pour la réplication du virus ainsi que source de réponse pro-inflammatoire non spécifique. Le virus de l'encéphalite équine Vénézuélienne peut désactiver (ou échapper) les composants de la réponse IFN- α/β , IFN étant des interférons qui sont des protéines produites à la suite d'une infection virale et qui entraînent la mise en place d'un état de résistance aux virus, et bien que la réponse IFN- α/β diminue la virulence des VEEV de type sauvage, ralentissant la réplication et la dissémination virale et augmentant la survie des espèces infectées de plusieurs jours, cette réponse ne peut pas suffisamment contrôler l'infection pour conférer une protection totalement efficace [19][21]. Ce virus est aussi considéré comme étant un des *alphavirus* les plus mortels [22].

D. Clinique

a. Chez l'Homme

La plupart des infections sont symptomatiques et les symptômes apparaissent brusquement. Parmi ces symptômes on retrouve les malaises, la fièvre, des frissons, ainsi que des maux de tête. La personne infectée peut aussi souffrir de myalgies surtout au niveau de la cuisse et de la région des lombaires en bas du dos. D'autres signes incluant une leucopénie, tachycardie, et de la fièvre sont souvent accompagnés de nausées, de vomissements et de diarrhées. Le système nerveux central est touché mais moins fréquemment et provoque généralement photophobie, confusion, convulsions et somnolence. La maladie aiguë s'apaise au bout de 4 à 6 jours, mais peut être suivie d'une asthénie durant plusieurs semaines. Dans les cas les plus graves, le patient peut être dans le coma et peut même succomber à l'infection, mais cela représente une faible proportion des patients infectés. Dans le cas d'une infection fatale, le patient présente d'abord une congestion avec œdème, une hémorragie cérébrale, dans le tractus gastrointestinal ainsi que dans les poumons. Chez certains patients on retrouve une méningoencéphalite associée à d'intenses vascularites nécrosantes et des cérébrites [10]. Le virus peut, à long terme, infecter le fœtus chez la femme enceinte et être à l'origine d'anomalies congénitales et de mortalités infantiles [20]. Une déplétion des lymphocytes peut survenir dans les ganglions lymphatiques, la rate, et dans le tractus gastrointestinal [10].

b. Signes cliniques chez l'équidé

L'infection à VEEV chez les équidés peut entraîner de la fièvre, une tachycardie, une dépression, et de l'anorexie. Certains, voire la plupart des équidés développent une encéphalite dans les 5 à 10 jours suivant l'infection avec des signes d'ataxie et d'hyperactivité. La mort ne survient qu'une semaine après l'infection. L'encéphalite et la mort qui peuvent survenir sont corrélées à l'amplitude de la virémie, mais même une souche enzootique non virulente peut produire la mort quand elle est inoculée dans le cerveau, ce qui suggère que la virulence est liée à l'habilité de VEEV de se répliquer extra-cérébralement et se répandre au cerveau plutôt que par la virulence neurologique innée [10].

3. Virus de l'encéphalite équine de l'Est (EEEV)

A. Un virus unique dans son complexe

Le virus de l'encéphalite équine de l'Est est, dans le système de classification, la seule espèce faisant partie du complexe des encéphalites équine de l'Est. En premier lieu, ce virus fut classé en deux parties distinctes dont les variétés du Nord et d'Amérique du Sud basées sur leurs propriétés antigéniques. Mais cette classification a été modifiée et précisée à la suite d'autres analyses antigéniques et phylogénétiques, ce qui a eu pour conséquences l'addition de quatre sous-types correspondant à quatre lignées génétiques majeures [23].

Tableau V : Complexe d'encéphalites équines de l'Est [23]

Sous-types	Souches	Distribution	Lignées
Nord-américain	NA EEEV	Amérique du Nord Caraïbes	I
Sud-américain D'Amérique centrale	SA EEEV	Amérique Centrale Amérique du Sud	II III IV

Dans le *tableau V* on peut constater qu'il existe deux sous-types différents pour EEEV, dont les sous-types nord et sud-américains que l'on retrouve ainsi dans des zones géographiques distinctes avec des lignées différentes associées.

Malgré des différences considérables dans la séquence de nucléotides entre les souches SA EEEV et NA EEEV, ce dernier est hautement conservé, que ce soit temporellement ou géographiquement. La divergence entre les séquences des souches NA EEEV qui ont été isolées entre 1993 et 2007 est de moins de 2%. Tandis que les souches de SA EEEV sont très divergentes parmi les trois sous-types (II, III, et IV) (cf *tableau V*). Les souches de SA EEEV montrent une tendance pointant vers un regroupement géographique plutôt que temporel. Les

différences de conservations génétiques entre NA EEEV et SA EEEV peuvent être le résultat de différences d'adaptation écologiques à différents moustiques et autres hôtes vertébrés. Les souches SA EEEV sont beaucoup moins associées à des maladies humaines, mais sont associées à des maladies chez les équidés. Une hypothèse est émise quant à la cause de divergence génétique ainsi que le regroupement géographique qui semblerait être due à une utilisation de mammifères terrestres participant à une transmission enzootique géographiquement limitée, ces espèces allant moins loin participent à la réduction de distribution de SA EEEV. La conséquence est la diminution de la concurrence entre les souches distantes, ce qui permet le développement des lignées de manières plus indépendantes [23]. La répartition géographique des sous-types est illustrée sur la *figure 4*.

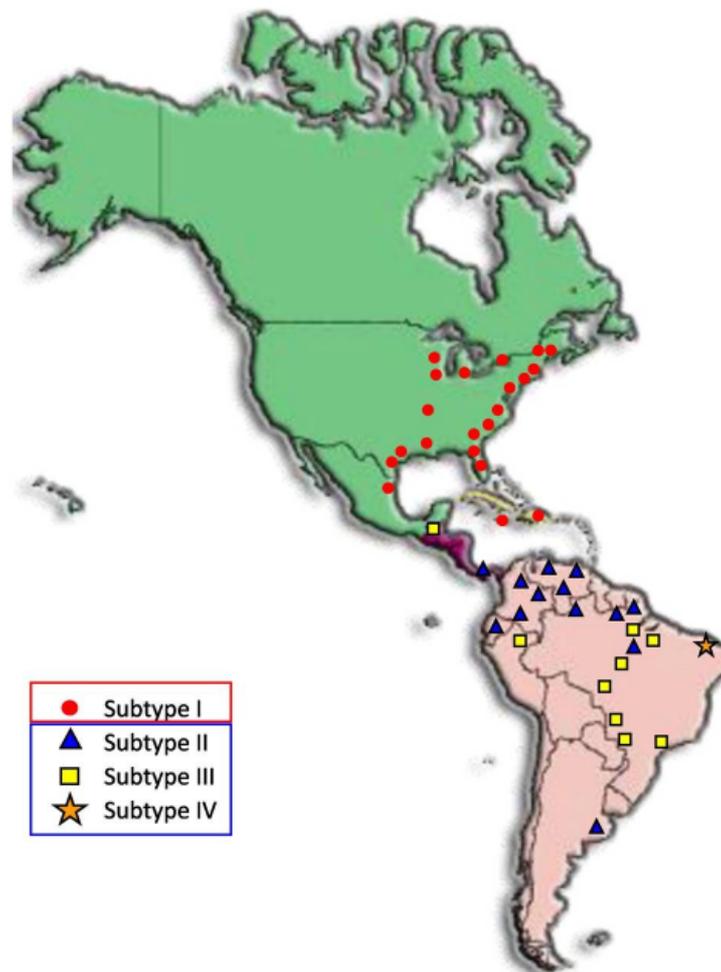


Figure 4 : Distribution géographique des souches d'EEEV en Amérique [24]

(Subtype : sous-type)

On retrouve en *figure 4* la répartition géographique d'EEEV sur le continent américain en fonctions des différents sous-types : on constate bien que la lignée I nord-américaine se trouve au nord du continent alors que les autres lignées sont bien situées dans le sud du continent.

B. Cycle de transmission

a. Un cycle enzootique

Le virus de l'encéphalite équine de l'Est est maintenu dans un cycle enzootique [25], ce cycle primaire de transmission d'EEEV est maintenu entre les moustiques *Culiseta melanura* et les hôtes aviaires (oiseaux) dans les marais d'eau douce. *Culiseta melanura* n'est pas considéré comme étant un important vecteur d'EEEV concernant les infections chez l'humain car ils se nourrissent presque exclusivement sur des oiseaux. La transmission aux humains nécessite donc des espèces de moustiques qui peuvent créer un « pont » entre les oiseaux infectés et les mammifères qui sont non infectés, ces moustiques étant des espèces comme *Aedes*, *Coquillettidia*, et *Culex* [26]. Ils sont ainsi les vecteurs arthropodes principaux pour la transmission d'EEEV aux humains et aux équidés, qui contrairement à *Cs. melanura* se nourrissent grâce aux oiseaux et aux mammifères [27]. Les chevaux sont sujets aux infections causées par EEEV et beaucoup de cas se révèlent fatals. Mais les infections chez le cheval ne présentent pas un gros risque pour l'Homme car les chevaux, comme les humains, sont considérés comme des hôtes accidentels pour le virus, la virémie dans leur circulation sanguine étant généralement insuffisante pour infecter les moustiques [26].

Bien qu'ils soient associés à des maladies infectant les équidés, les souches d'Amérique du Sud d'EEEV ne sont pas spécialement associées à des cas chez les humains. Durant des isolations chez les moustiques *Culex* d'EEEV dans la section des Spissipes (*Culex pedroi* en Amérique du Sud et *Culex taeniopus* en Amérique Centrale), il est probable que ces moustiques soient des vecteurs enzootiques, ainsi que potentiellement épizootiques [23].

b. Nécessité d'un moustique jouant un rôle de « pont »

Les espèces de moustiques se nourrissant de façon opportuniste sur des mammifères sont considérés comme des vecteurs intermédiaires entre les humains et les chevaux. Les cas chez les humains et les équidés surviennent rarement malgré un taux élevé d'infection par EEEV chez *Cs. Melanura* (*Cs.* pour *Culiseta*) pendant l'amplification du virus. Les autres moustiques comme les *Aedes vexans*, *Coquillettidia perturbans*, *Ochlerotarus canadensis*, et *Ochlerotarus sollicitans* sont impliqués comme vecteur intermédiaire épidémique/épizootique entre des oiseaux développant une virémie et les équidés ou humains. Ces espèces sont des vecteurs capables de transmettre EEEV et peuvent contracter une infection virale pendant les augmentations de cas en se nourrissant occasionnellement d'oiseaux, mais les hôtes mammifères sont préférés. Bien que les moustiques *Cs. Melanura* se nourrissent non fréquemment sur des mammifères, leur habilité pour servir de vecteur intermédiaire peut être compensée par une prévalence bien plus élevée d'infection par EEEV chez cette espèce [25].

Les moustiques *Aedes* mordent durant le jour et leur activité est la plus grande tôt le matin et aux heures du soir. Les *Coquillettidia* sont retrouvés dans les zones humides, à basse altitude qui possèdent un été chaud et beaucoup de végétation, et les *Culex* mordent généralement à l'aube et la nuit [28]. Le virus se propage donc entre les vecteurs de type *Culiseta melanura* et les passereaux qui sont retrouvés dans les zones humides. Les petits mammifères, mais aussi les reptiles ou les amphibiens peuvent être aussi impliqués dans cette circulation environnementale [29].

Le virus est capable de déborder de son réservoir naturel et infecter ensuite les hôtes accidentels incluant les équidés, les humains, les porcs, les faisans, ou les oiseaux exotiques. Ces débordements surviennent de manière incontrôlée et à des intervalles hasardeux et sont médiés le plus souvent par ces vecteurs intermédiaires [29].

Il existe cependant des différences en fonction des souches d'EEEV. En effet, les souches de NA EEEV impliquent dans leur cycle de transmission enzootique les vecteurs moustiques de type *Culiseta melanura*, ainsi que les passereaux vivant à proximité des marécages. Tandis que pour les souches de SA EEEV, il est suggéré que les *Culex* dans la section des *Spissipes* soient les vecteurs primaires enzootiques, et potentiellement épizootiques, présents dans les forêts tropicales [30] (cf figure 5).

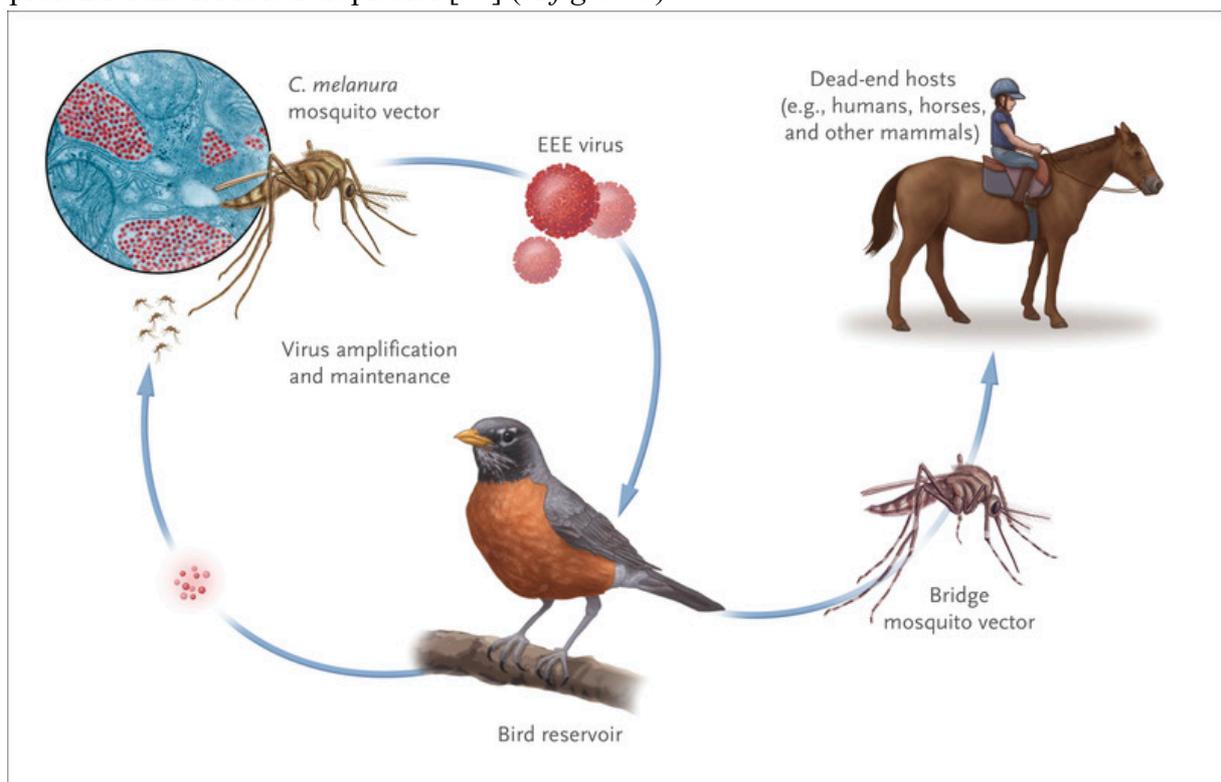


Figure 5 : Cycle de transmission d'EEEV [29]

(Mosquito vector : vecteur moustique ; virus amplification and maintenance : amplification virale et maintenance ; Dead-end hosts : hôte final ; Bridge : vecteur intermédiaire ; Mammals : mammifères)

Sur la *figure 5* est représenté le cycle de transmission d'EEEV. On retrouve un cycle enzootique maintenu entre des moustiques vecteurs qui se nourrissent sur des oiseaux (comme le merle d'Amérique). Ces derniers seront à leur tour le repas d'autres moustiques intermédiaires qui vont alors infecter ensuite des hôtes finaux dont les équidés ou les humains participant au cycle devenant alors épizootique.

C. Effets d'une infection par EEEV sur l'organisme

a. Chez l'Homme

Une infection par EEEV présente des symptômes non spécifiques du type : fièvre, malaise, céphalée intense, douleurs musculaires, ainsi que nausée et vomissement, ce qui est difficilement différenciable d'autres arbovirus ou du virus *influenza* par exemple [29]. Dans de rares cas, l'infection se développe au cerveau et dans la moelle épinière conduisant à de fortes fièvres, torticolis, désorientation, crises voire même au coma [28]. Ce virus est probablement le plus virulent des *alphavirus* provoquant des encéphalites [15].

b. Étude expérimentale chez l'animal

EEEV peut causer une maladie grave chez les animaux durant les épidémies, néanmoins, les chevaux ne sont pas considérés comme les premiers à développer une maladie dans une population naturelle et ainsi sont des indicateurs lors du début d'une épidémie. Les modèles expérimentaux qui ont été utilisés lors d'une étude pour étudier la pathogénie d'EEEV incluent les souris, les hamsters, les cochons d'Inde, et les singes rhésus, ainsi que des équidés et des porcs pour les expérimentations histopathologiques. Une invasion neurologique ainsi qu'une encéphalite sont d'apparition rapide chez les murins et les hamsters, présentant une infection périventriculaire et périvasculaire des cellules neuronales dans l'hippocampe cérébral. EEEV semble atteindre rapidement le cerveau des animaux infectés via le sang. Puis la réponse inflammatoire dans le cerveau est importante dans les cas où les animaux ont survécu durant au moins 5 jours, et cette réponse est produite par les macrophages, les lymphocytes ainsi que les polynucléaires neutrophiles, les premières lignes de défense de notre organisme [27].

c. Pathophysiologie

Le virus doit subir plusieurs réplifications dans l'intestin d'un moustique et dans les glandes salivaires avant d'être biologiquement transmissible à l'hôte vertébré quand le moustique salive pendant son repas sanguin [25]. Après l'inoculation de la salive du moustique infecté par le virus dans le tissu périvasculaire, l'EEEV infecte les cellules de Langerhans et les

cellules dendritiques, qui migrent vers la région du tissu lymphoïde où la réplication virale aboutit à une virémie systémique. La période d'incubation est d'environ une semaine (de 3 à 10 jours). On estime que 96% des personnes infectées par ce virus sont des cas asymptomatiques, mais parmi ceux qui ont les symptômes, 33% ou plus de ces derniers meurent ou présentent des séquelles neurologiques [29]. Parmi ceux qui contractent ce virus, les personnes plutôt âgées (50 ans ou plus) et les jeunes (15 ans ou moins) sont les plus susceptibles de développer une encéphalite [28]. Des études cliniques sur des cas infectés humains ont montré qu'une infection par EEEV provoque des changements dans la membrane basale et le thalamus, suggérant l'apparition d'un œdème cérébral, une ischémie et une hypoperfusion [27].

Le virus circule d'abord dans la circulation sanguine et provoque les premiers symptômes (type syndrome grippal dont fièvre, douleurs musculaires, céphalée sévère) qui empirent suivant la progression de la maladie. A ce stade, des particules virales ont quitté la circulation sanguine pour se loger dans les cellules du cerveau, et comme le système immunitaire vient s'activer à la suite de l'infection, ce dernier va provoquer une inflammation du cerveau, et le tissu cérébral inflammé va gonfler et venir toucher le crâne en appliquant une pression. Et comme différentes parties du cerveau sont touchées, c'est à cette étape que les patients vont développer les vomissements et des difficultés respiratoires, voire même des crises ainsi qu'un coma [22].

Cependant, là aussi il existe des différences entre les souches d'EEEV. Les souches de SA EEEV se répliquent de manière plus efficace dans les tissus lymphoïdes et les autres tissus extra-neuronaux, ce qui diffère des souches de NA EEEV. Ces dernières sont moins sensibles aux interférons et induisent des niveaux d'interférons plus bas. Les souches de NA EEEV vont infecter d'abord le système nerveux central, ce qui provoque des séquelles sévères et prolongées. Les souches de SA EEEV sont moins associées aux cas humains de maladies neurologiques, mais affectent tout de même le système nerveux central des équidés infectés et des animaux étudiés en expérimentation [30].

4. Virus de l'encéphalite équine de l'Ouest (WEEV)

A. Cycle de transmission

Le virus de l'encéphalite équine de l'Ouest est maintenu dans un cycle enzootique entre ses hôtes naturels vertébrés, les passereaux qui sont une espèce d'oiseaux, et son moustique vecteur le plus courant qui est *Culex tarsalis*, associé à l'agriculture avec système d'irrigation et au drainage des cours d'eau notamment dans l'ouest des Etats-Unis [15].

La transmission aux chevaux et aux humains est médiée par un moustique vecteur intermédiaire, comme le virus de l'encéphalite équine de l'Est, incluant *Ochlerotatus melanimon* en Californie, *Aedes dorsalis* dans l'Utah et au Nouveau Mexique, ainsi qu'*Aedes*

Campestris au Nouveau Mexique également [15]. Le cycle de transmission est illustré en *figure 6*.

En fonction du climat, le cycle de transmission naturel peut être maintenu pendant plusieurs années, dans des zones au climat modéré le virus peut hiverner dans des hôtes encore non identifiés, ou peuvent être réintroduits annuellement par des oiseaux migrateurs [15].

Concernant le type de moustiques qui sont responsables de la propagation du WEEV, on a par exemple, dans le Minnesota aux Etats-Unis, environ 50 espèces de moustiques mais tous ne se nourrissent pas sur l'humain. Le vecteur primaire de ce virus étant *Culex tarsalis*, qui est retrouvé dans les grands espaces ouverts comme les prairies et terres agricoles où il est capable d'y installer ses œufs notamment dans l'eau comme dans les marécages ou les canaux d'irrigations. Ce moustique étant un très bon arthropode volant pouvant se déplacer sur des kilomètres à l'aube et au crépuscule, le risque d'une maladie transmise par moustique, notamment dans le Minnesota, s'étend de mi-juin à mi-septembre [31].

L'éruption des cas chez les chevaux, faisans, mulets, ainsi que d'autres oiseaux accompagne souvent les épidémies chez les humains. Les oiseaux servent donc comme hôtes amplificateurs, et aucun cas de transmission par contact direct avec des oiseaux n'a été déclaré, ce qui fait que les des oiseaux sont des réservoirs pour le virus mais ne sont pas des vecteurs pour l'infection. Il n'y a pas de transmission par aérosols [32].

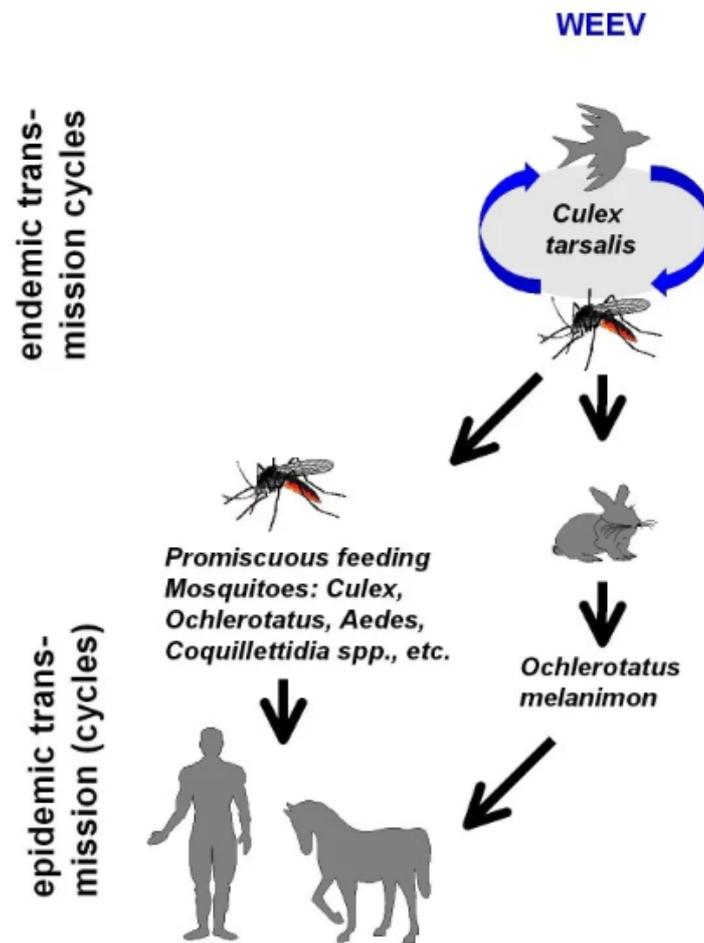


Figure 6 : Cycle de transmission de WEEV [17]

(Promiscuous feeding : nourriture à proximité ; Endemic/Epidemic transmission cycle : cycle de transmission endémique/épidémique)

Pour le cycle de transmission de WEEV (figure 6), on retrouve un cycle enzootique avec des arthropodes moustiques qui se nourrissent sur des oiseaux. Ces oiseaux seront alors piqués par des moustiques intermédiaires qui vont ensuite se nourrir sur des rongeurs ou des équidés/humains participant au cycle alors considéré comme épizootique.

B. Clinique

a. Chez l'Homme

La plupart des personnes infectées par ce virus n'auront pas de symptômes ou alors auront un syndrome grippal. Les symptômes apparaissent généralement dans les 1 à 2 semaines

suivant la morsure par le moustique infecté. Et seulement une faible part des personnes infectées, dont les enfants et les personnes âgées, développeront des encéphalites.

Les cas les plus sévères chez l'humain commencent avec une soudaine fièvre, maux de tête, cou raide, nausées et vomissements, ou bien même de la fatigue. Ensuite, cette maladie peut progresser et provoquer une désorientation, une irritabilité, des crises ainsi qu'un possible coma. Concernant la mortalité, on estime de 5 à 15 % des cas comme pouvant être fatals, et 50 % des enfants de moins de 1 an qui survivent au virus peuvent avoir des séquelles permanentes au cerveau. Tandis que les personnes âgées sont plus susceptibles de mourir à la suite de complications cliniques. L'encéphalite chez les humains due à WEEV est caractérisée par une vascularite et des hémorragies focales dans les noyaux gris centraux et dans le noyau du thalamus. Des petites hémorragies qui sont souvent observées dans la matière grise et blanche peuvent être confondues avec des infarctus résolus chez les personnes plus âgées [31][15].

b. Chez l'animal

Les symptômes qui suivent une infection par WEEV chez le cheval entraînent une dépression et de l'anorexie sans fièvre au début de l'infection. Une fièvre modérée voir élevée peut apparaître ensuite. La perte d'appétit ainsi qu'une asthénie sont d'autres signes cliniques. Mais aussi, des signes neurologiques peuvent survenir et l'installation d'une maladie neurologique se fait soudainement et progressivement, ce qui peut alors provoquer des périodes d'hyperexcitabilité, des fasciculations des muscles de la face et du cou, des convulsions, une paralysie du nerf du crâne entraînant alors une paralysie faciale et une faiblesse de la langue, ce qui apparait assez souvent. Au niveau supérieur, le cheval peut subir une inclinaison de tête ainsi que la lèvre tombante et déviation du museau. La présence de coliques, ainsi que l'incapacité de se lever sont d'autres signes qui peuvent alors provoquer la mort de l'animal [33].

C. Pathophysiologie

Le virus est transmis par le tissu sous-cutané de l'hôte via la morsure d'un moustique infecté. C'est alors que le virus va commencer la réplication et la synthèse d'ARN et de protéines, généralement dans les ganglions lymphatiques. S'ensuit alors une virémie, et si la charge virale est suffisamment élevée, le virus peut alors transloquer dans le système nerveux central à travers la barrière hémato-encéphalique ce qui aboutit alors à une inflammation et nécrose des méninges. La plupart des cas symptomatiques vont guérir spontanément dans les jours suivants sans séquelles [32].

5. Des virus aux caractéristiques proches ou diverses

En comparant alors les cycles de transmission des virus, leur pathogénie et les signes cliniques liés aux infections par les virus des encéphalites équine, les trois virus présentent beaucoup de points communs mais possèdent aussi des divergences qui vont alors influencer leur potentiel d'émergence, ce que nous verrons dans la suite de ce travail.

Concernant les cycles de transmission, l'utilisation de vecteurs est indispensable pour la transmission du virus, et les espèces de moustiques que sont les *Culex* et *Aedes* ont un rôle récurrent dans les différentes infections virales. Mais une grande variété d'autres vecteurs sont aussi considérés comme responsables de la transmission de ces virus. Le virus de l'encéphalite équine Vénézuélienne ne nécessite pas de vecteurs intermédiaires, ce qui est nécessaire pour les virus de l'encéphalite équine de l'Ouest et de l'Est afin de pouvoir infecter les humains ou les équidés. Les différents vecteurs utilisés permettent de constater la grande adaptation de ces *alphavirus* à ces arthropodes.

L'utilisation d'hôtes amplificateurs est aussi nécessaire pour permettre la réplication du virus et ces hôtes sont similaires pour les encéphalites de l'Ouest et de l'Est avec l'utilisation d'oiseaux. Les rongeurs comme hôtes amplificateurs sont nécessaires pour le virus de l'encéphalite de l'Ouest ainsi pour celui du Venezuela dans son cycle enzootique. Le cheval en tant qu'hôte amplificateur est utile pour le cycle épizootique du virus de l'encéphalite équine Vénézuélienne.

6. Utilisation des virus de l'encéphalite équine comme arme biologique

A. Historique d'utilisation d'armes biologiques

Le bioterrorisme est défini comme « *l'utilisation intentionnelle d'un microorganisme, virus, substance infectieuse, ou produit biologique qui peut être développé par biotechnologie, ou tout composant naturel ou issu de la bio-ingénierie venant d'un microorganisme, virus, substance infectieuse ou produit biologique, pour provoquer la mort, la maladie ou tout autre dysfonctionnement biologique chez un humain, un animal, une plante ou un autre organisme vivant afin d'influencer la conduite du gouvernement ou d'intimider ou de contraindre une population civile* »[34].

De nombreux pays dont le Japon, les Etats-Unis, l'Iraq ainsi que l'URSS ont développé des programmes de menace biologique incluant l'utilisation d'armes biologiques. Ces armes peuvent être des bactéries, des virus ou même des toxines, qui ont été conçues pour créer des bombes, des missiles, ou des systèmes de pulvérisations.

Les Etats-Unis ont lancé leur programme d'armes biologiques en 1942 dans le but de se défendre contre l'arme créée par le régime allemand durant la seconde guerre mondiale. Après cette guerre, les Etats-Unis ont conduit des études concernant un programme incluant des agents pathogènes comme armes et des agents utilisés dans le but de nuire à l'être humain ont été créés et ces agents peuvent être des virus zoonotiques comme le virus de l'encéphalite équine Vénézuélienne. Mais ce programme a été clôturé en 1969 sous l'ordre du président américain Richard Nixon.

L'Iraq a débuté son programme d'armes biologiques en 1985 incluant des agents dont l'utilisation de 5 virus, mais ce programme fut stoppé en 1990.

Le programme d'armes biologiques de l'URSS fût le plus long et le plus vieux programme et a été divisé en 2 programmes distincts : un programme de première génération ainsi qu'un programme de seconde génération. Celui de première génération, qui a duré de 1928 à 1971, a notamment employé des virus comme VEEV, ainsi que celui de la variole. Le programme de seconde génération, dont la période s'étend de 1972 à 1992, a eu pour but de développer des armes biologiques utilisant des souches génétiquement modifiées afin de garantir une meilleure efficacité militaire. Ce second programme s'est intéressé à des agents connus comme le VEEV mais d'autres virus ont été étudiés comme les *filovirus*, *Junin* virus et *Machupo* virus. Ces programmes ont été arrêtés en 1992 par le président russe Boris Yeltsin [35][36].

B. Principe d'action

A propos de la probabilité d'une attaque biologique de survenir, le Bureau du directeur des Etats-Unis de l'Intelligence Nationale et du Conseil de l'Intelligence Nationale des Etats-Unis a statué en 2008 que le bioterrorisme est une menace plus forte que le terrorisme nucléaire. Les experts en biosécurité déclarent que la possibilité d'une attaque biologique ne doit pas être ignorée, même si toutefois la possibilité d'une attaque, surtout d'une attaque à grande échelle, est faible. Ces raisons sont qu'il est difficile de cultiver, de transformer un agent en arme, et de déployer des agents biologiques, car dans l'exemple de l'aérosolisation d'un agent pathogène ainsi que sa dispersion de manière précise et globale tout en maintenant une virémie suffisamment élevée représente de réelles difficultés techniques [34].

La taille des particules est importante pour une attaque biologique. Une particule de grande taille sera beaucoup moins efficace. Une particule de petite taille reste dans l'air pendant plus longtemps, mais une fois inhalée, une petite particule est rapidement exhalée et ne reste pas longtemps dans les poumons. Les particules qui sont le plus sujettes à causer un grand nombre d'infections sont celles de taille moyenne, car elles restent dans l'air, s'installent doucement, mais une fois qu'elles sont inhalées elles atteignent les alvéoles pulmonaires et persistent plus longtemps, augmentant alors les probabilités d'infection [37].

Même si les armes biologiques sont plutôt conçues pour être inhalées, les agents peuvent aussi entrer dans l'organisme par contact physique ou ingestion. Cela est possible grâce à des vecteurs naturels par contact avec un animal infecté ou par contact avec de la nourriture ou de l'eau contaminées. Les vecteurs naturels sont surtout des arthropodes incluant, par exemple, les insectes dont les mouches, moustiques, tiques, les crustacées, les arachnides et les myriapodes. Le fait d'utiliser des vecteurs naturels est bénéfique pour ceux utilisant les armes biologiques car permet de faire passer l'attaque biologique pour une infection naturelle, ce qui est surtout utile pour des attaques bioterroristes [37].

La dispersion des agents biologiques est aussi très importante. Quand une arme biologique est libérée par aérosol, un nuage primaire d'aérosols liquides ou solides est créé, il va ensuite sur le sol en étant dépendant des conditions météorologiques et de l'aérosol, des plantes, des équipements, ainsi que du sol. La contamination sur le sol a une durée déterminée, mais peut infecter des personnes par contact secondaire avec un nuage secondaire comportant les agents, et résulte d'un mouvement produit par les personnes ou des véhicules. L'agent provoquant la contamination disparaît quand il est détruit par l'air, les radiations ultraviolettes, ou les conditions météorologiques. Le premier nuage est dépendant des conditions météorologiques locales incluant la direction des vents, les basses températures provoquant la mort des organismes, les précipitations qui lavent les aérosols. Ces conditions tendent à diminuer la probabilité des infections. Les conditions inverses (hautes températures, moins de précipitations, ...) tendent à augmenter l'infectiosité [37].

a. Menace biologique : les propriétés

Les armes biologiques ont été développées dans des guerres et pour des attaques terroristes surtout car elles représentent un coût faible [38]. Mais les armes plus sophistiquées sont plus difficiles à développer et à produire.

Dans le cas des virus, ils nécessitent des caractéristiques spécifiques pour être considérés comme des menaces biologiques. Ils doivent être potentiellement inhalés ou avalés par la population cible, donc doivent être transmis dans l'air, dans la nourriture, dans l'eau. Ils doivent provoquer des dommages incluant une mortalité ou morbidité élevées et être hautement infectieux. Ils doivent alors posséder une dose létale 50% basse, c'est-à-dire que la dose utilisée pour tuer 50% d'une population animale doit être la plus faible possible. De plus, ils doivent être produits et conditionnés à grande échelle, et doivent être protégés pour être libérés de manière optimale sur le lieu voulu de dissémination et pendant la période voulue. Ces virus doivent aussi être adaptés pour une augmentation de leur pathogénicité par modification génétique [39].

b. Classification des agents viraux présentant une menace biologique

Différentes catégories existent pour classier les agents biologiques, variant entre les différents pays. Nous allons nous intéresser ici à la classification des virus comme agents pathogènes.

Parmi les classifications les plus connues il existe celle des Centres pour le contrôle et la prévention des maladies (CDC), qui est une classification des agents biologiques pathogènes des Etats-Unis, et regroupe trois catégories qui sont présentées dans le *tableau VI*.

Tableau VI : Classification, par les CDC, des agents biologiques viraux présentant une menace [40]

Catégorie	Définition	Agents viraux
A	-Facilement disséminés ou transmis de personne à personne - Provoque une mortalité élevée et possède un potentiel pour un fort impact sur la santé publique -Peut causer une panique et disruption sociale -Nécessite une préparation spéciale de santé publique	<i>Filovirus</i> : <ul style="list-style-type: none"> • Ebola • Marburg <i>Arenavirus</i> : <ul style="list-style-type: none"> • Lassa • Machupo
B	-Modérément facile à disséminer -Provoque une morbidité moyenne et une faible mortalité -Nécessite des améliorations spécifiques de la capacité de diagnostic des CDC et une surveillance accrue des maladies	<i>Alphavirus</i> : <ul style="list-style-type: none"> • EEEV • VEEV • WEEV
C	Pathogènes émergents pouvant être conçus pour une dissémination de masse dans le futur car ils sont: <ul style="list-style-type: none"> • disponibles • faciles à produire et à disséminer • potentiels pour une forte morbidité et un impact sur la santé publique majeur 	<i>Nipah virus</i> <i>Hantavirus</i>

Cette classification américaine (tableau VI) permet de montrer que les virus d'encéphalites équine sont considérés comme des pathogènes importants mais ne sont pas les plus dangereux dont théoriquement pas les meilleurs candidats pour le développement d'armes biologiques.

En France, il existe une autre classification des agents biologiques pathogènes, qui sont classés en fonction de l'importance du risque d'infection qu'ils présentent [41]. Cette classification est présentée dans le *tableau VII* (sont volontairement inclus seulement des exemples de virus) :

Tableau VII : Classification française des agents biologiques viraux pathogènes [41]

Groupe	Définition	Agent viraux
1	Agents biologiques non susceptibles de provoquer une maladie chez l'Homme	-
2	Agents biologiques pouvant provoquer une maladie chez l'Homme et constituer un danger pour les travailleurs. Leur propagation dans la collectivité est peu probable. Il existe généralement une prophylaxie ou un traitement efficace	Virus de l'encéphalite de Californie Virus Bunyamwera Fièvre à phlébotomes Cytomégalo virus Virus de l'herpès humaine, types ½ Varicellovirus
3	Agents biologiques pouvant provoquer une maladie grave chez l'Homme et constituer un danger sérieux pour les travailleurs. Leur propagation dans la collectivité est possible, mais il existe généralement une prophylaxie ou un traitement efficace.	West Nile Fièvre jaune Fièvre de la vallée du Rift Coronavirus (SRAS-CoV, MERS-CoV) VEEV EEEV WEEV
4	Agents biologiques qui provoquent des maladies graves chez l'Homme et constituent un danger sérieux pour les travailleurs. Le risque de leur propagation dans la collectivité est élevé. Il n'existe généralement ni prophylaxie ni traitement efficace.	Virus de la variole Virus de la variole blanche Virus Nipah Virus Hendra Virus Ebola Virus de Marbourg

La classification française (tableau VII) classe également les virus d'encéphalites équine comme des agents pathogènes importants mais avec une propagation considérée comme possible, ce qui est considéré comme moins important que la catégorie dans laquelle se situe Ebola par exemple où sa propagation est considérée comme élevée en collectivité.

C. Prévention face aux menaces virales

a. Mesures à prendre pour se protéger de menaces biologiques

Les autorités espèrent que la planification en cas de catastrophe et la mise-au-point de contre-mesures médicales efficaces pour les attaques biologiques permettront à la fois de dissuader ceux qui pourraient envisager une telle attaque et de minimiser l'impact de l'attaque. Si l'attaque pouvait être facilement contenue ou même combattue, cela pourrait avoir un effet dissuasif ce qui conduirait une organisation terroriste ou hostile à être moins incitée à en lancer

une [34]. Concernant la défense biologique, cette dernière doit respecter plusieurs principes qui sont la prévention, la protection, la détection, le traitement, et la décontamination [42].

La prévention peut prendre différentes formes dans le cas de menaces biologiques, les régimes d'inspection ainsi que le désarmement international doivent empêcher la production et la propagation des agents biologiques. Les agents de renseignements peuvent aussi indiquer les menaces potentielles pour permettre de prendre des actions préventives [42].

La protection contre ces menaces est toutefois limitée. Même si l'utilisation de vêtements protecteurs, de masques à gaz et des filtres est possible, ces mesures permettent une protection limitée sur une courte période. La vaccination est une forme de protection qui permet une protection considérable contre des agents naturels, mais souvent les vaccins ne sont pas efficaces ou permettent une courte protection contre les agents génétiquement modifiés pour contrer les effets des vaccins [42].

Concernant la détection des agents biologiques, elle a manqué notamment durant la Guerre du Golfe car les Etats-Unis et leurs alliés n'avaient pas les systèmes de détection adéquats. Mais par la suite, des systèmes de détection ont été développés, que peuvent aller de quelques heures à plusieurs jours pour détecter l'exposition à des armes biologiques [42].

L'utilisation d'un traitement après une infection va dépendre si l'agent infectieux est identifié ou non. S'il n'est pas identifié, des larges doses d'antibiotiques peuvent être données dans l'espoir que cela marche, mais le traitement des victimes de menaces biologiques va dépendre aussi de la mise en place et le maintien d'un bon système de santé. La décontamination est possible, car les agents biologiques peuvent continuer de se multiplier dans le temps, contrairement aux agents chimiques qui se dispersent avec le temps. Mais la décontamination peut concerner surtout les bactéries plutôt que les virus [42].

b. Évolution des réglementations concernant les armes biologiques

L'utilisation des armes biologiques et chimiques a été condamnée par les déclarations et traités internationaux, tout d'abord par la Convention de Hague de 1907 respectant les lois et coutumes de guerre. Le Protocole de Genève de 1925 a durci cette condamnation en interdisant l'utilisation d'agents asphyxiants, venimeux, ou autres gaz généralement référés aux armes chimiques, mais aussi aux armes bactériologiques. Ce protocole n'incluait pas les agents viraux ou les rickettsies car ils n'étaient pas alors connus comme étant employés à des fins d'armes biologiques durant la signature. Cependant, ce protocole n'interdisait pas le développement, la production, et le stockage des armes biologiques et chimiques [42].

L'interdiction complète de ces armes a été soumise à une première tentative dans les années 1930 dans le cadre de la Ligue des Nations, mais cela s'est révélé être un échec. Cette interdiction est apparue lors du Comité des dix-huit nations sur le désarmement de Genève (présentement appelée Conférence sur le désarmement) en 1968. Un an plus tard, les Nations

Unies ont alors publié un rapport sur les problèmes apportés par les agents biologiques (et chimiques) et cette question a reçu une attention particulière à l'Assemblée générale des Nations Unies. Le rapport de l'ONU a conclu que certaines armes chimiques et biologiques ne peuvent pas être confinées dans le temps et dans l'espace, ce qui peut conduire à des conséquences graves et irréversibles sur la population humaine ainsi que sur l'environnement. Ceci s'appliquerait aux nations qui attaquent avec ces armes, mais aussi aux nations qui subissent les effets de ces armes [42].

C'est à la fin des années 1960 que l'intérêt sur ce sujet était au plus fort, et c'est deux ans plus tard, en 1972, que la Convention sur l'interdiction des armes biologiques et toxines a été signée, puis c'est en 1975 qu'elle est entrée en vigueur. Elle a donc été appliquée en mars 1975, 22 ans après qu'elle fut ratifiée par les gouvernements. Elle est le premier traité de désarmement interdisant le développement, la production, le stockage et l'acquisition des agents biologiques ou toxines qui n'ont pas d'intention protectrice, médicale ou de paix, ainsi que toute arme ou tout moyen de livraison pour ces agents et toxines. Ce traité demande aussi que tout matériel soit détruit dans les neuf mois suivant son entrée en vigueur. Cet accord compte aujourd'hui 182 états membres et 5 états signataires. La huitième réunion de cette convention a eu lieu en novembre 2017, et 125 états y ont participé [42].

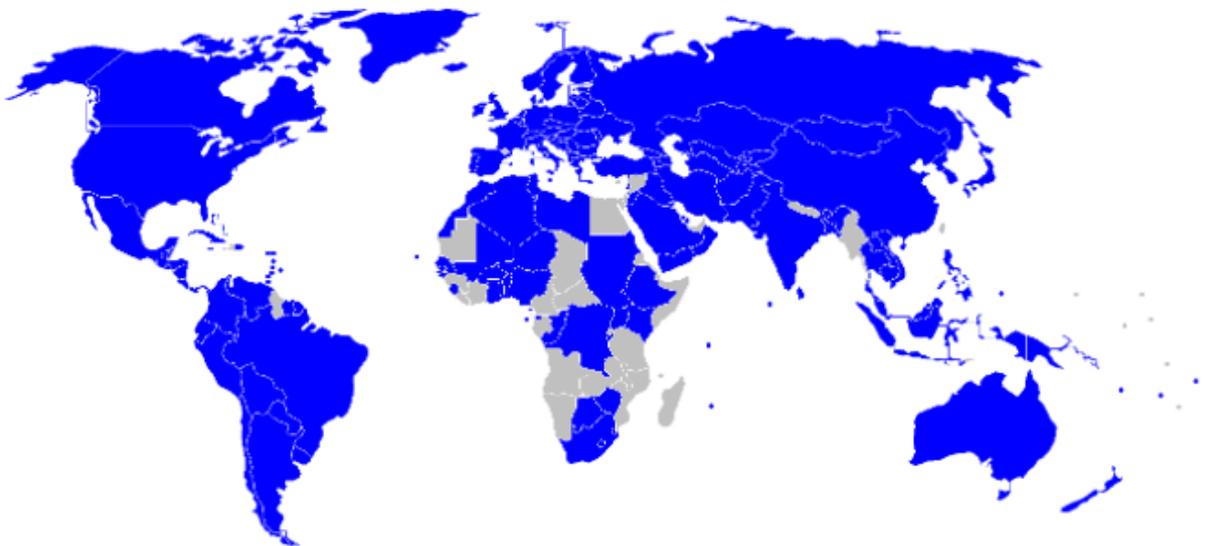


Figure 7 : Carte représentant les états membres de la Convention sur l'interdiction des armes biologiques et toxines[43]

Les pays en bleu sur la carte (figure 7) représentent ceux ayant signé et ratifié la Convention. Les autres pays ne sont pas des états qui ont ratifiés la convention (exemple : Israël, Égypte ou encore Madagascar).

Cinq pays sont des états signataires de la convention, c'est-à-dire des états qui donnent leur signature sous réserve de ratification finale et donc n'établissant pas le consentement à y être lié mais il s'agit d'un moyen d'authentifier le traité et ainsi la volonté de l'état d'exprimer de poursuivre la procédure pour aboutir à la conclusion du traité. Ces 5 états sont l'Égypte,

Haïti, la Somalie et la Tanzanie. Mais aussi, 10 pays n'ont ni signé ni ratifié la convention, qui sont le Tchad, les Comores, Djibouti, l'Érythrée, Israël, Kiribati, la Micronésie, la Namibie, le Soudan du sud, et les Tuvalu. Il est essentiel de signaler qu'un état qui n'a pas ratifié la convention avant son entrée en vigueur peut y adhérer quand il le souhaite [44]. L'ensemble des pays signataires est représenté sur la *figure 7*.

D. Cas des virus d'encéphalites équine

C'est notamment le virus de l'encéphalite Vénézuélienne qui a fait l'objet d'un développement pour devenir une arme biologique. Les autres virus n'ont pas été sélectionnés car ils étaient moins connus durant cette époque.

a. Le virus de l'encéphalite équine Vénézuélienne

Le virus de l'encéphalite équine Vénézuélienne, ainsi que les virus de l'encéphalite équine de l'Est et de l'Ouest sont des virus qui peuvent être facilement produits en grande quantité et en aérosols à des fins d'armes biologiques. Les virus de l'encéphalite Vénézuélienne en tant qu'agents biologiques sont des virus relativement stables, et qui peuvent potentiellement provoquer des dommages chez des milliers de personnes. De plus, ils sont facilement modifiables par manipulation génétique, ce qui permet d'améliorer leur potentiel infectieux et leur virulence dans le but de les utiliser à des fins d'armes biologiques.

Le virus de l'encéphalite équine Vénézuélienne est donc un agent intéressant pour le développement de ces armes due à ses propriétés infectieuses (seulement 10 à 100 pathogènes sont nécessaires pour infecter une personne), et son efficacité comme agent incapacitant (à vocation de blesser, sans spécialement tuer). Les infections par VEEV sont rarement mortelles pour les humains mais causent des symptômes sévères pouvant être difficiles à diagnostiquer. Les fièvres encéphaliques provoquent l'inflammation du cerveau et des effets secondaires à long terme comme des séquelles du système nerveux. Une attaque potentielle utilisant VEEV se fera sous forme d'aérosols, mais sera plus efficace durant les périodes où les moustiques seront les plus actifs. Ce virus possède une caractéristique avantageuse lui permettant d'être disséminé dans un liquide stable ou sous forme sèche [14].

Ce virus étant considéré comme un des plus mortels parmi les *alphavirus* chez l'animal, il est aussi un très bon candidat pour l'utilisation en tant qu'arme biologique car il est capable d'être transmis par aérosols [22], bien qu'EEEV est aussi capable d'être transmis sous forme d'aérosols mais semblait moins infectieux pendant les recherches sur les armes biologiques [29]. Il est ainsi facilement dispersible et capable d'infecter un nombre important de personne et ainsi peut causer une vaste panique dans n'importe quelle population infectée. De plus, une

infection par VEEV chez la femme enceinte est souvent mortelle pour le fœtus [22]. Ce virus est donc inclus dans la catégorie B des CDC parmi la classification des agents biologiques.

Il y a plusieurs raisons pour expliquer pourquoi VEEV a été sujet au développement d'armes biologiques plutôt que WEEV et EEEV. Tout d'abord la dose infectant l'humain est estimée de 10 à 100 organismes, ce qui en fait la raison principale. Une autre raison est notée par différents gouvernements car la densité de la population de moustiques infectés ainsi que la concentration de particules virales dans les aérosols doivent être élevées pour permettre la transmission de VEEV durant une attaque. Mais cet agent présente des limites : les particules virales de VEEV ne sont pas considérées comme stables dans l'environnement, et sont moins persistantes que certaines bactéries. Mais aussi, la chaleur et les désinfectants peuvent facilement tuer le virus. Mais le VEEV est tout de même mieux connu et compris qu'EEEV et WEEV car il a fait preuve d'une recherche aléatoire par les Etats-Unis pour leur programme d'armes biologiques dans les années 1950 et 1960 [45].

b. L'histoire de VEEV en tant qu'arme biologique

Les Etats-Unis ont développé le virus de l'encéphalite équine Vénézuélienne comme un agent offensif incapacitant avant la fin de son programme d'armes biologiques. L'Union Soviétique l'a aussi utilisé. D'après Ken Alibek, l'ancien député chef du programme d'armes biologiques, les scientifiques soviétiques ont expérimenté l'épissage du génome de VEEV, c'est-à-dire que les séquences non-codantes de l'ARN pour donner un ARN messager, puis recombinaison avec le virus de la variole, ce qui a permis l'obtention d'un virus chimérique recombinaison variole-VEEV qui ressemblait au virus de la variole au microscope mais produisant différents symptômes chez les hôtes. En 1959, un tube lyophilisé qui contenait le VEEV a été accidentellement largué par le personnel médical soviétique dans une cage d'escalier, ce qui a eu pour conséquence l'infection de 20 employés de laboratoire. Cet accident de laboratoire permet notamment de démontrer l'infectiosité des virus de l'encéphalite quand ils sont sous forme d'aérosols [14].

III. Évolution épidémiologique de ces virus au cours du temps

C'est dans les années 1930 que des virus inconnus ont été isolés à la suite de maladies touchant les chevaux en Californie, en Virginie et au New Jersey aux Etats-Unis, ainsi qu'à partir d'enfants infectés au Venezuela. Ils ont été nommés par la suite Virus de l'encéphalite équine de l'Ouest, virus de l'encéphalite équine de l'Est et virus de l'encéphalite équine Vénézuélienne. Depuis, ces virus furent isolés à partir de moustiques infectés, de chevaux, d'humains, ainsi que d'autres vertébrés, notamment des oiseaux et des rongeurs [15].

On s'intéresse alors à l'évolution des résurgences ou des possibles disparitions des virus ayant provoqué des infections au fil du temps, en fonction des différents sérotypes viraux, ainsi que la répartition géographique des cas chez les humains et les équidés, en accordant une importance aux premières isolations de ces trois différents virus pour retracer l'historique et l'évolution de ces agents infectieux.

1. Virus de l'encéphalite équine Vénézuélienne

A. Découverte de l'agent pathogène responsable de cette maladie

Concernant l'isolation du virus chez l'animal, le virus de l'encéphalite équine Vénézuélienne a été isolé pour la première fois en 1938 à partir du cerveau d'un animal infecté [14], des équidés ayant succombé à la maladie, dans l'état de Yaracuy. Puis c'est à partir de cette année et jusqu'en 1956 que seulement des cas épizootiques de VEEV ont été isolés au nord de l'Amérique du Sud. Ils furent ensuite classés comme étant des sous-types antigéniques de type IAB. C'est ensuite dans les années 1950 que les souches de VEEV et les sérocomplexes de VEE ont été isolés en Amérique Central, Amérique du Sud, au Mexique, et en Floride aux Etats-Unis, à partir d'un habitat sylvatique et marécageux et ce, en l'absence de présence d'équidés. Bien que ces virus utilisent des vecteurs de types moustiques, tout comme les souches de VEEV de type épizootique, ils infectent en premier lieu des petits hôtes réservoirs de type mammifères et ne sont pas corrélés avec des maladies chez les équidés [10].

L'isolation du virus chez l'humain a permis de déterminer qu'il est un hôte susceptible d'être infecté par ces souches aux sous-types enzootiques de VEEV et des souches venant du complexe de VEE. Des études qui ont été réalisées ensuite ont permis de montrer que les virus enzootiques, ainsi que les souches épizootiques, comprennent un sérocomplexe d'*alphavirus* apparentés. Ces isolations et découvertes ont permis d'établir que le complexe des encéphalites équines Vénézuéliennes inclut 14 sous-types et 7 espèces de virus différentes (VEEV, Virus des Everglades, Mucambo virus, et Pixuna virus en sont des exemples) [10].

B. Historique des cas de VEEV

a. Les premières survenues des cas liés au virus

La première grande résurgence de VEE connue est apparue en Colombie durant l'année 1935, même si des données épidémiologiques suggèrent que les apparitions des premiers cas proviendraient des années 1920. C'est en 1936 qu'une apparition de cas est survenue dans la péninsule de Guajira au nord de la Colombie et du Venezuela. Cette région est un désert où il y a une grande population de moustiques suivant des précipitations rares. Mais cette région possède aussi de nombreux poneys pouvant servir d'hôtes amplificateurs, jouant un rôle dans la survenue des cas de virus. C'est à partir de la même année et jusqu'en 1938 que l'infection s'est propagée au nord du Venezuela pour atteindre, en 1943, les îles de Trinité-et-Tobago. Les experts estiment alors que les infections durant ces explosions de cas ont sûrement infecté les humains [10]. C'est en 1943 que la première description d'une infection chez l'humain par VEEV fut enregistrée [14]. C'est seulement dans les années 1950-60 que le lien entre les infections chez les équidés et les humains fut établie [10]. En 1952, le premier cas naturel d'une infection par VEEV chez l'humain a été rapporté en Colombie. Le premier cas chez l'humain aux Etats-Unis date de 1968. En octobre 1962, une éruption de cas a commencé avec un cas clinique de VEE documenté dans l'état de Zulia au Venezuela, près du lac Maracaibo. Cette épidémie s'est propagée de l'est vers l'ouest, et c'est à la fin de 1963 que 14 000 cas sont documentés au Venezuela et en Colombie, pays se situant à côté. Des cas humains ont continué d'apparaître jusqu'en 1966 [14].

Une autre épidémie de VEE est survenue entre 1969 et 1972, ce qui a eu pour conséquences l'infection de centaines de milliers de chevaux et des dizaines de milliers d'humains. Le virus s'est propagé d'Amérique Centrale vers le Mexique et jusqu'à la partie sud des Etats-Unis. Le dernier cas fût identifié dans la Péninsule de Guajira au Venezuela en 1973. Les experts ont par la suite spéculé sur le fait que la maladie était éteinte [14].

b. Les résurgences de cas plus récents

Mais entre décembre 1992 et décembre 1993, soit de nombreuses années plus tard, 26 cas d'infections par VEEV furent rapportés au Venezuela, permettant de réfuter les hypothèses sur une possible disparition de la maladie. De nombreux humains dans cette zone ont développé un syndrome pseudo-grippal, et quand ils ont été testés, des anticorps de VEE ont été trouvés dans leur échantillon de sang [14]. En effet, c'est en 1992 qu'au Venezuela, dans l'état de Trujillo, qu'a commencé une explosion de cas, 24 équidés et 4 humains ont été infectés, même si une estimation d'un nombre de cas bien supérieure est très probable. Puis durant la période d'été en 1993, une petite résurgence de cas chez des équidés a été rapporté au Sud du Mexique,

dans l'état de Chiapas sur les côtes de l'Océan Pacifique. Cette période recense 125 cas chez les équidés dont 63 en sont morts [10].

En 1995, une autre explosion de cas de VEE a frappé l'ouest du Venezuela et dans l'est de la Colombie, et elle est considérée comme étant la plus grosse épidémie de VEE des deux dernières décennies durant cette période. Le virus s'est propagé vers l'ouest en direction de l'état de Falcon jusqu'à l'état de Zulia. Entre août et octobre, plus de 10 000 cas suspects de VEE ont été enregistrés avec 11 décès dans l'état de Zulia. Puis en septembre et octobre 1995, un grand nombre de cas humains ont été signalés dans le département colombien de la Guajira. Et tout au long de l'année 1995, environ 75 000 cas humains ont été signalés et les décès ont dépassé les 300 [14]. Un an plus tard, en 1996, de juin à juillet, les cas de VEEV épizootiques sont apparus dans l'état d'Oxaca au Mexique, tuant 12 chevaux sur 32 infectés. Dans ces cas, les humains ne sont pas apparus comme ayant été infectés, et des éléments dont l'isolation du virus a permis de déterminer que les souches infectant les humains dans ces régions sont endémiques. Et depuis 1996, des cas irréguliers de VEE sont apparus en Amérique Centrale et au Mexique, mais n'ont pas été totalement confirmée par l'isolation virale.[10]

L'épidémie la plus récente recensé en Colombie dans l'état de Choco s'est étalé de février à mars 2008, et 13% des habitants de la région ont eu des symptômes fiévreux ressemblants à ceux provoqués par VEE, mais le virus n'a pas pu être isolé parmi les 2 personnes décédées. En 2011, en Colombie, plusieurs foyers d'encéphalites chez les chevaux ont été identifiés, dont trois foyers d'encéphalite équine Vénézuélienne dans la zone de Cordoue et de Magdalena. Un autre cas de VEEV a été recensé à la frontière du Venezuela, dans la municipalité de Barrancabermeja.

Le comportement du virus montre qu'il a des périodes d'apparitions distinctes, il comporte une persistance épidémiologique mais possède des périodes silencieuses. En effet, le pic épidémique apparu en 1995 a fait suite à une réduction significative de cas chez les humains, et les cas chez les animaux sont survenus aléatoirement. Dans le cas de la Colombie, il y a eu une réduction significative des foyers responsables des encéphalites équine Vénézuéliennes durant les deux dernières décennies. Mais la tendance s'inverse de nouveau à partir de 2010 où une augmentation de cas est recensée [46]. La synthèse de l'explosion des cas est illustrée en *figure 8*.



Nature Reviews | Microbiology

Figure 8 : Localisation des résurgences de cas de VEEV en Amérique [47]

(Enzootic viruses (subtypes) : virus enzootiques (sous-types))

(Les symboles représentent l'endroit où les différentes souches du complexe d'encéphalites équine Vénézuélienne ont été isolées.)

On peut constater sur la *figure 8* que les sous-types d'intérêt dont ID et IE sont responsable de nombreuses infections notamment en Amérique Centrale et latine (notamment Mexique, Venezuela, ...) allant de 1925 à 1975.

Tableau VIII : Historique des cas de VEEV en fonction des sérotypes [12]

Date	Location	Subtype
1925–1938	Colombia, Venezuela	IAB
1925–1946	Ecuador, Peru	IAB
1941–1943	Colombia, Venezuela	IAB
1942–1946	Peru	IAB
1949	Colombia, Venezuela	IAB
1950	Ecuador, Peru	IAB
1952	Colombia, Venezuela	IAB
1958	Ecuador, Peru	IAB
1959	Colombia, Venezuela	IAB
1962–1964	Colombia, Venezuela	IC
1967–1969	Colombia, Venezuela	IAB
1969	Ecuador, Peru	IAB
1969–1972	El Salvador, Guatemala, Honduras, Nicaragua	IAB
1971	Mexico, United States	IAB
1973	Colombia, Venezuela, Ecuador, Peru	IAB
1992–1993	Colombia, Venezuela	IC
1993	Mexico	IE
1995	Colombia, Venezuela	IC
1996	Mexico	IE

Source: Weaver et al., 2004

(Ecuador : Equateur ; Peru : Pérou ; Colombia : Colombie ; Location : localisation ; Subtype : sous-type)

Le tableau VIII nous permet de constater qu’il y a une évolution des sous-types au fil du temps. En effet, les sous-types IAB et IC sont progressivement remplacés par des sous-types IE enzootiques au fil du temps durant presque un siècle.

La présence de cas d’encéphalite équine Vénézuélienne en Amérique Centrale, au Mexique et au sud de l’Amérique du Nord, puis leur apparition de manière périodique depuis la moitié du 20^{ème} siècle traduit l’émergence de ce virus. En observant les sérotypes de VEEV responsables des différentes épidémies de VEE, on constate que les sérotypes épizootiques IAB étaient responsables de la plupart des infections, puis l’apparition des sérotypes IC, épizootiques ont fait leur apparition plus tardivement dans les années 1960, avec une alternance de sérotypes IAB et IC jusque dans les années 1990. Les dernières infections répertoriées sont causées par des VEEV de sérotype IE et IC, il y a donc eu l’apparition de sérotypes enzootiques au fil du temps (cf tableau VIII).

2. Virus de l’encéphalite équine de l’Est

Les cas d’encéphalites équine de l’Est sont généralement localisés dans une zone géographique restreinte, et la plupart des cas sont situés aux Etats-Unis, notamment dans les états suivants : Massachusetts, New York, Michigan, Caroline du Nord, et Floride [48].

Dans le cas des Etats-Unis, l'incidence d'EEEV suit un cycle spécifique, et chaque année environ 5 à 7 cas de maladies invasives pour le système nerveux sont rapportés chez les humains dans le pays, mais le nombre de cas annuels double depuis quelques années consécutives, et ce cycle semble se répéter tous les 10 à 20 ans. La dernière augmentation de ce genre s'est passée en 2010-2012, et l'année 2019 possède le nombre record de cas d'infections par EEEV, avec 31 cas recensés le 4 octobre 2019 [48] (cf évolution des cas en *figure 9*). Les infections par EEEV sont considérés comme des maladies rares, car depuis que le virus a été identifié pour la première fois dans le Massachusetts en 1938, seulement 110 cas depuis ont été référencés, et la résurgence de cas la plus récente dans cet état a commencé en 2019 et dénombre 12 cas dont 6 ayant provoqué la mort [49].

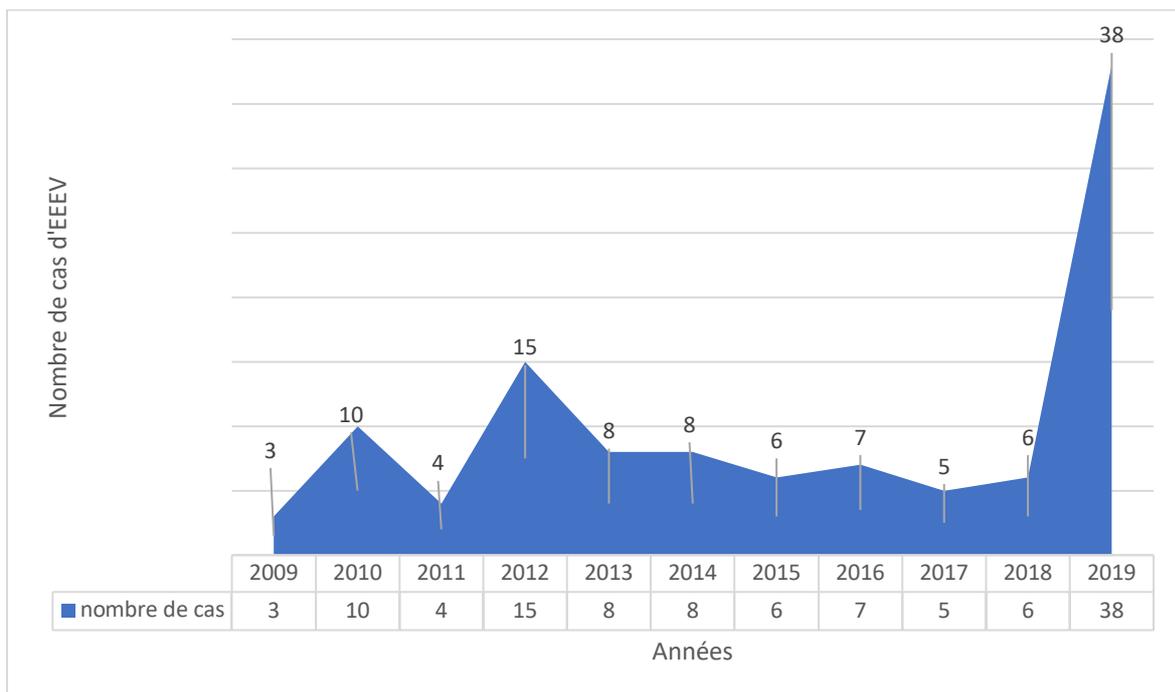


Figure 9 : Évolution des cas humains d'EEE en fonction des années aux Etats-Unis [50]

La figure 9 nous permet de constater qu'il y a une évolution dans le temps du nombre d'infections chez les humains des cas d'EEE, et ce notamment durant les années récentes dont 2019, montrant ainsi l'émergence du virus.

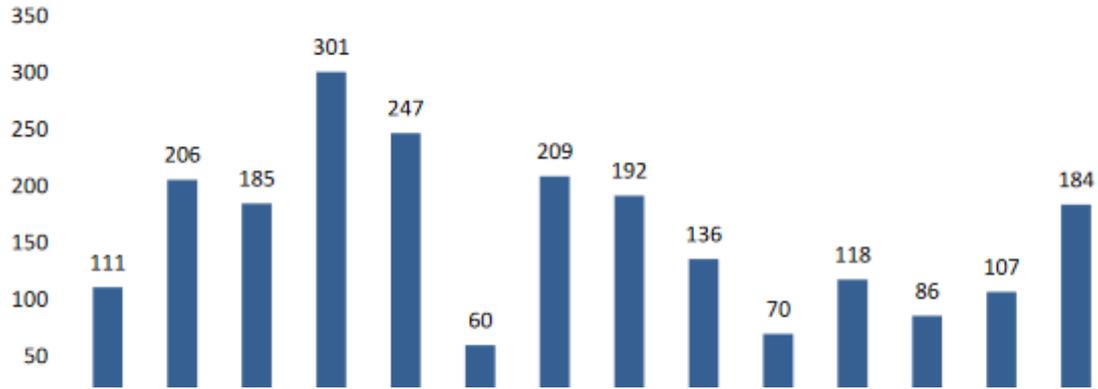


Figure 10 : Nombre de cas d'EEE chez les équidés aux Etats-Unis, de 2006 à 2019 [51]

(Equine cases of EEE : cas équins d'EEE)

Le nombre de cas d'EEE chez les équidés (*figure 10*) quant à lui reste élevé malgré les années et a tendance à réaugmenter dans les récentes années, ce qui est en corrélation avec ce qui est observé en *figure 9* pour les cas chez les humains.

Le virus de l'encéphalite équine de l'Est était probablement déjà présent pendant plusieurs siècles, entre 1831 et 1959 il y a 12 cas d'EEE épizootiques et enzootiques venant des Etats-Unis qui ont été référencés [29], avec l'apparition du virus lors d'une résurgence de cas ayant causé la mort de 75 équidés suite à une maladie encéphalique en 1831, et c'est en 1933 que le virus a été isolé de cerveaux infectés de chevaux [52]. Le premier cas chez l'humain a été documenté en 1938 durant la résurgence de cas dans le sud-est du Massachusetts [54], dont 30 enfants sont morts durant cette année [52]. Les cas chez l'humain sont apparus de manière sporadique et dans des petits clusters, notamment sur les côtes des Etats-Unis et sur les bords de l'Atlantique. La plus grande épidémie s'est produite en 1959 au New Jersey, avec 32 cas chez l'humain confirmés en laboratoire qui s'est étendue sur une période de 8 semaines (cf *figure 11*). Depuis 1997 jusqu'en 2007, une moyenne de 8 cas annuels de maladies neuro-invasives ont été rapportés aux Centres de Contrôle et de Prévention de Maladies (CDC) aux Etats-Unis [53]. Il existe ainsi une corrélation entre les explosions de cas présents chez les équidés et chez les humains, car les cas apparaissent aux mêmes endroits et aux mêmes périodes simultanément [52].

Concernant les cas hors Amérique, le premier cas européen est recensé en 2007 lorsqu'un écossais devient la première victime européenne de cette maladie suite à son infection lorsqu'il était dans l'état du New Hampshire aux Etats-Unis [52]. Le nombre de cas recensés présentant une invasion neurologique aux Etats-Unis par les CDC de 2007 à 2016 est de 68 cas, avec des cas allant de 3 à 15 par an. L'état de Floride est le deuxième état en terme de nombre de cas neuro-invasifs durant cette période, derrière le Massachusetts [54].

En Amérique latine, les infections provoquées par le virus de l'encéphalite équine de l'Est sont courantes chez les équidés, et seulement 3 cas ont été recensés chez les humains,

montrant une différence entre les souches du Nord et du Sud, car bien qu'il y ait plusieurs cas fatals en Amérique du Nord, les cas d'EEE en Amérique latine font référence à 2 cas en Trinité et 1 cas au Brésil. La raison de cette différence de virulence entre le sud et le nord de l'Amérique demeure non élucidée, mais des différences parmi les souches d'EEEV est une hypothèse probable.[55] L'encéphalite équine de l'Est a été ainsi diagnostiquée aux Etats-Unis, au Canada, dans les îles des Caraïbes et au Mexique, ainsi qu'au Brésil où 18 cas dans ont été recensés dans 6 états brésiliens entre 2005 et 2009 [52]. Un historique des cas chez les équidés de 2006 à 2019 est présenté en *figure 10* et la répartition géographique en *figure 12*.

En juillet 2020, aux Etats-Unis, les autorités du Massachussets ont déclaré que l'été 2020 sera aussi une période avec un haut nombre de cas d'EEE. Les chiffres de l'année 2019 finalement dénombrent 38 cas chez l'humain résultant en 15 décès provenant de 10 états dont l'Alabama, le Connecticut, le Géorgie, l'Indiana, le Massachussets, le Michigan, le New Jersey, la Caroline du Nord, Rhode Island, et le Tennessee, alors qu'habituellement il y a environ 7 cas et 3 décès dans tout le pays les autres années [56]. L'année 2019 possède ainsi le plus large nombre de cas dénombrés de cas infectés par EEEV depuis toujours [57], elle est considérée comme le présage d'une nouvelle aire pour l'émergence des arbovirus en observant l'évolution des cas d'EEE qui tendent vers une augmentation [29].



Source: ArboNET, Arboviral Diseases Branch, Centers for Disease Control and Prevention
Figure 11 : Répartition des cas neuro-invasifs humains d'EEE aux Etats-Unis dans les différents états entre 2009 et 2018 [50]

La carte (figure 11) ne montrant que les cas recensés chez l'humain jusqu'en 2018, et comme dit dans la partie ci-dessus, il faut ajouter les nombres de cas largement plus élevés recensés en 2019. On constate également que les cas se situent surtout dans l'Est des Etats-Unis, d'autres cas sont peut-être présents dans d'autres états mais ne sont pas peut-être pas référencés.

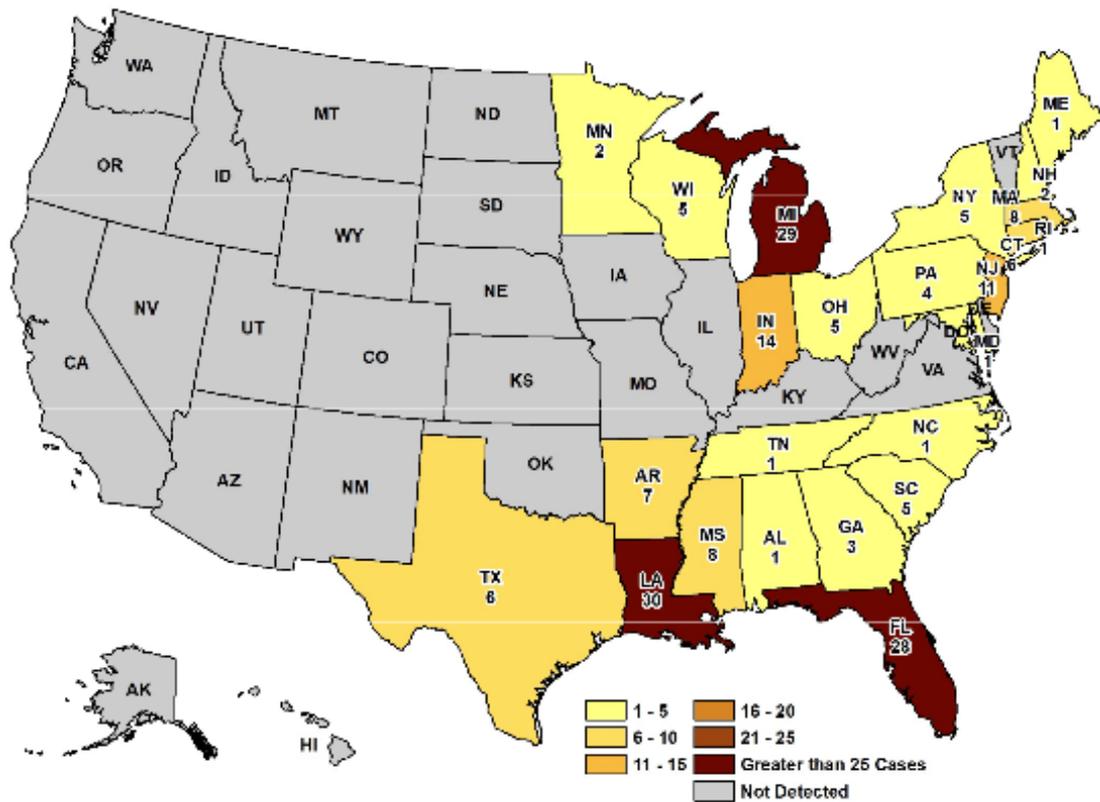


Figure 12 : Répartition des cas équin d'EEEV aux Etats-Unis de 2006 à 2019 [51]

(Greater than : plus élevée que ; Not detected: non détecté)

En comparant avec les cas recensés chez les humains montrés en figure 11, on s'aperçoit dans cette figure 12 que les cas chez les équidés sont géographiquement similaires.

L'analyse des cas d'encéphalites équin de l'Est chez l'humain nous permet de conclure que le virus du même nom est un virus émergent dont les cas ne cessent d'augmenter surtout ceux de l'année 2019. Mais il est intéressant de constater que le nombre de cas chez les équidés se stabilisent et ne suivent pas la tendance du pic de 2019 chez les cas humains. Il reste alors à étudier quels sont les facteurs qui expliquent l'émergence récente de ce virus.

3. Virus de l'encéphalite équine de l'Ouest

Le virus de l'encéphalite équine de l'Ouest était historiquement distribué dans un espace géographique répandu du Cercle Arctique jusqu'en Amérique dont l'Argentine. Ce virus est présent historiquement en Amérique du Nord, à l'ouest du fleuve Mississipi. La circulation enzootique de WEEV a premièrement été détectée annuellement pendant la première partie du 20^{ème} siècle. Cette détection a été réalisée grâce à l'utilisation de différents vecteurs pour étudier les virus [58].

Le nombre de cas de WEE entre les années 1955 à 1984 faisait état d'un nombre de cas moyen d'un peu plus de 30 cas annuels, avec la présence d'épidémies qui se sont passés en 1958 avec 141 cas confirmés humains, en 1965 avec 172 cas, et en 1975 avec 133 cas confirmés.

Le WEEV fut isolé à partir de pools de moustiques, et l'ARN du virus a été détecté parmi 3 pools de moustiques au Nouveau Mexique en 2001. Des pools positifs au WEEV de moustiques ont été référencés en Californie en 2005, 2006 et 2007 (avec en moyenne 10 à 100 pools positifs), mais la tendance ne semble pas continuer car l'analyse des pools entre 2008 et 2013 ne se sont pas montrés positifs dans l'état de Californie. Puis les CDC ont répertorié entre 2008 et 2018 seulement 4 pools positifs au WEEV de moustiques (en 2009, 2010, 2013, et 2017). L'état du Colorado aux Etats-Unis, quant à lui, a connu un nombre important de cas chez l'humain durant la moitié du 20^{ème} siècle, avec le virus isolé des vecteurs *Culex tarsalis*. Des explosions de cas sont apparus dans cet état américain durant les années 1949, 1977, et 1987. A la suite d'une apparition de cas en 1977, 486 pools de moustiques, de *Culex tarsalis*, furent testés et 150 d'entre eux se sont révélés être des pools positifs au WEEV, et durant cette même année, 4 cas chez les humains ont été documentés, puis 10 ans plus tard, en 1987, 29 cas ont été rapportés [58].

Lors de cette année 1987, le CDC a répertorié 132 cas aux Etats-Unis parmi les équidés et 37 chez l'humain, ce qui en fait le plus grand nombre de cas de WEEV depuis 1997 [59]. Au Canada, dans la province de Manitoba, dans 11 états du pays ont été répertoriés des cas équins de WEE. Les premiers cas ont été identifiés aux Etats-Unis dans le sud du Texas en avril, et s'est propagé en juillet dans le sud-ouest du pays au Nouveau Mexique et en Oklahoma. Un mois plus tard, l'épizootique s'est répandue rapidement dans les plaines et régions montagneuses, puis se répandant au nord dans le Dakota du Nord et dans le Minnesota. Le mois d'août de la même année, le Montana et le Manitoba dans le nord-ouest se sont vu atteints par l'infection due au WEEV [59]. A la suite de cette période, le virus de l'encéphalite équine de l'Ouest a été isolé, encore à partir de moustiques *Culex tarsalis*, en 1987 et en 1991.

Mais après 1991, aucun cas de WEE n'a été isolé dans les moustiques présents dans le Colorado alors qu'ils présentaient habituellement une haute prévalence dans cet état. Concernant les cas de WEE chez les équidés, aucun n'a été rapporté chez ces animaux depuis plus d'une dizaine d'années. Ainsi, durant la seconde partie du 20^{ème} siècle, les cas cliniques de

WEEV chez les humains et chez les équidés ont commencé à décliner précipitamment avec une réduction de l'activité de WEEV enzootique. Le dernier cas répertorié chez l'humain date de 1998, situé en Amérique du Nord [58].

C'est au regard des isolations successives du virus de l'encéphalite équine de l'Ouest ainsi que de l'évolution du nombre de cas qu'il est évident que ce virus connaît une diminution de sa circulation enzootique, faits constatables notamment par l'analyse des cas chez les humains et chez les équidés qui n'ont plus été documentés ces dernières années. Une comparaison de la répartition géographique des infections par les trois virus est présentée en *figure 13*. De nombreuses théories peuvent permettre d'expliquer ce qui conduit au déclin de ce virus de nos jours. Il est nécessaire de savoir quels sont les facteurs ayant causé cette réduction de circulation virale.

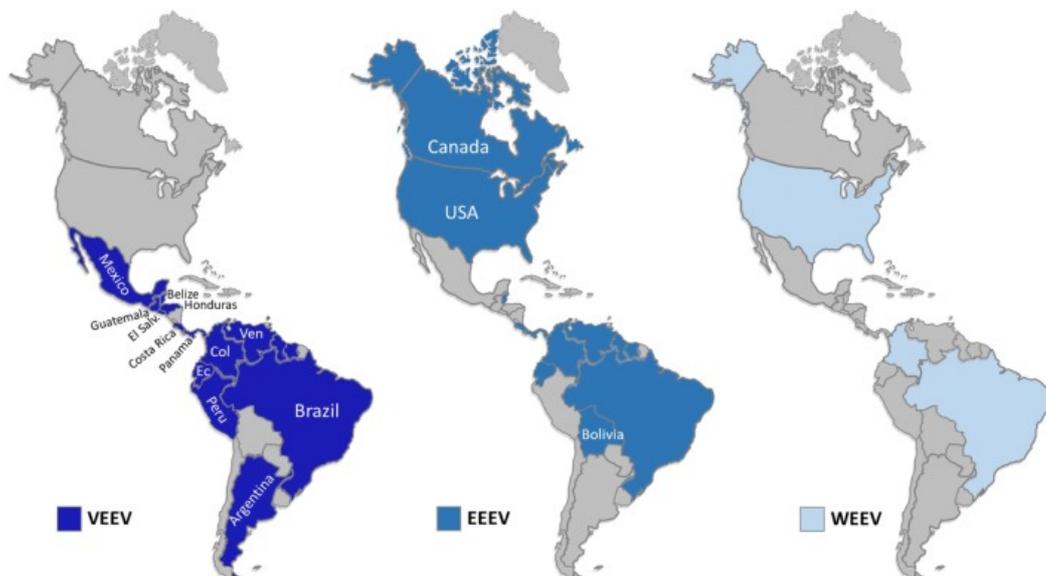


Figure 13 : Distribution géographique des virus d'encéphalites équines sur le continent américain. [46]

La distribution géographique des virus reste américaine pour les trois virus. On s'aperçoit (figure 13) que la distribution géographique de VEEV reste plutôt sud-américaine alors que celle des deux autres virus s'étend plutôt sur l'ensemble du territoire américain tout en restant faible sur le sud du continent ou en Amérique centrale.

L'étude de la distribution géographique et temporelle des virus des encéphalites équines de l'Est, de l'Ouest et Vénézuélienne nous a permis de donner des indications concernant leur évolution dans le monde. Leur profil est différent, l'étude du virus de l'encéphalite équine Vénézuélienne indique une résurgence de cas aujourd'hui sur le territoire principalement sud-américain et d'Amérique Centrale, ce qui se rapproche du virus de l'encéphalite équine de l'Est qui est responsable d'infections en augmentation, ce qui montre que cet agent est un arbovirus émergent. Ces deux virus contrastent avec le virus de l'encéphalite équine de l'Ouest, car ce dernier a tendance à disparaître avec une diminution voire une disparition de cas progressive,

permettant de constater qu'il s'agit d'un agent pathogène en déclin. Il est alors intéressant d'étudier quels sont les facteurs responsables de l'émergence de VEEV et EEEV ainsi que du déclin de WEEV, alors que ces virus sont proches au niveau structurel, pathophysiologique, possédant des similitudes concernant leurs espèces vectrices, ainsi qu'une distribution géographique présentant une similitude à l'échelle continentale.

IV. Facteurs d'émergence ou de déclin viral

Bien que les cycles de transmission ainsi que la diversité des vecteurs participent à la propagation du virus, d'autres facteurs participent à l'émergence des virus, puis d'autres peuvent provoquer un déclin viral.

Les arbovirus sont des virus à ARN qui ne possèdent pas de fonctions de relecture génétique permettant de réparer les mutations génétiques, ce qui a pour conséquences de posséder une fréquence de mutations élevée, et peuvent se répliquer rapidement. La combinaison de ces deux caractères aboutit à une capacité d'adaptation élevée à différents environnements [3].

1. Émergence du virus de l'encéphalite équine Vénézuélienne

A. L'amplification du virus chez les équidés

Tableau IX : Virémie exprimée à la suite à l'infection par le virus de l'encéphalite équine Vénézuélienne [60]

Virus strain(s)	Outbreak(s) (subtype)	Estimated magnitude of outbreak(s) (number of equine or human cases)	Peak mean equine viremia titer(s) (log ₁₀ SMICLD ₅₀ /ml serum or equivalent)**
V-38	1938 Venezuela (IAB)	Unknown, but extensive	6.1
P676	1963 Venezuela (IC)	32,000 human	7.0
MF-8	Honduras 1969 (IAB)	20,000 equine	5.6
GJ9-1BJ	Guatemala 1969 (IAB)	20,000 equine	6.3
MF-8, Sal Pelayo, P-676***	Honduras 1969 (IAB); Colombia, 1963; Venezuela (IC) 1967; (IAB)	20,000 equine; 200,000 equine; 32,000 human, respectively, for each strain	6.1
243937, SH3	1992–93 (IC)	26 equine, 4 human (confirmed cases only)	6.0, 5.1
3908	1995 (IC)	100,000 human	6.7
CPA201, I-290-93, OAX131, OAX142	1993, 1996 Mexico (IE)	125, 32 (equine only)	1.4, <0.6, 2.8, <0.6

(Virus strain : souche virale ; Outbreak subtype : sous-type d'émergence ; Estimated magnitude of outbreak : magnitude estimée de l'émergence ; Peak mean equine viremia : pic moyen de virémie équine ; Number of equine or human cases : nombre de cas équins ou humains ; Unknown : inconnu ; Respectively : respectivement ; For each strain : pour chaque souche)

On s'aperçoit que le nombre de cas estimés (tableau IX) reste élevé durant cette épidémies/épizooties avec plusieurs dizaines de milliers aussi bien équins qu'humains. Cependant le nombre de morts associé reste plutôt faible.

Une raison pouvant permettre l'émergence des infections provoquées par le virus de l'encéphalite équine Vénézuélienne est le rôle que jouent les équidés dans d'amplification du virus. La virémie développée chez ces animaux peut être un élément important dans la transmission ainsi que dans la propagation géographique et temporelle du virus. Une étude a permis d'apprécier le nombre des cas chez les humains et chez les équidés en fonction des différentes résurgences de cas de VEE survenues dans le temps [60].

Les résultats montrés dans le *tableau IX* permettent de voir qu'il existe une corrélation très évidente entre la taille des épizootiques et la magnitude des virémies chez les équidés. En effet, la virémie isolée chez les équidés est élevée quand le nombre de cas est important. Puis quand la virémie isolée chez les équidés est faible alors le nombre des cas sera plus faible, durant les épizootiques de 1993 à 1993 le nombre de cas est faible (125 cas équins en 1993 et 32 cas équins en 1996 au Mexique) pour une virémie faible. Les résultats laissent ainsi présumer que la virémie équine est un facteur d'émergence de l'amplification de VEEV ainsi que de l'importance des épizootiques [60].

B. Facteurs génétiques

a. D'une forme équine enzootique à épizootique

Les sous-types épizootiques IAB et IC générant une virémie élevée chez les équidés, ce qui n'est pas le cas des souches enzootiques, associé au lien entre les cas chez les humains et chez les équidés permet de mettre en évidence l'hypothèse que l'adaptation du virus chez les équidés est nécessaire pour permettre l'émergence pour le virus de l'encéphalite équine Vénézuélienne.

Il existe des hypothèses concernant les facteurs génétiques d'amplification équine du virus grâce à des études phylogénétiques concernant les lignées colombienne et vénézuélienne ainsi que des clades IAB et IC. La virémie qui est produite par les chimères IE/IAB (gène IE non structurel et gène IAB structurel) est plus élevée et possède un temps de survie réduit de deux jours en comparaison avec la chimère possédant un gène IAB non structurel et IE structurel) donnant VE/IAB-IE. Cela indique, qu'en terme de virulence, les protéines structurelles en sont des déterminants importants, ce qui semble ne pas être le cas pour les protéines non structurelles [60].

Il est évident que le virus de l'encéphalite équine Vénézuélienne enzootique de sous-type IE, qui était considéré comme ne possédant pas de virulence pour les équidés, peut posséder un potentiel épidémique dans les protéines structurelles et non structurelles [61].

Les glycoprotéines E2 de l'enveloppe jouent aussi un rôle plus important dans la virulence si l'on compare aux protéines non structurelles, des résultats d'études montrant le rôle d'E2 comme déterminant dans la virulence ont été obtenus avec des souches de sous-types ID et IC de VEEV ainsi que des chimériques comportant des gènes E2. Les individus possédant des mutations chargées positives d'E2 placées dans un squelette au sous-type ID génère l'hypothèse que les mutations au niveau d'E2 sont des déterminants essentiels pour l'acquisition de la virulence et de la capacité du virus chez les équidés à induire une virémie élevée [60]. Si un sous-type viral possède alors un potentiel épidémique, il est alors susceptible de provoquer une émergence virale.

b. Mutation des glycoprotéines de l'enveloppe

Les souches enzootiques de VEEV qui circulent ne sont généralement pas capables d'amplification chez les équidés car ils ne produisent pas une virémie suffisante. Mais certains remplacements d'acide aminés dans les glycoprotéines E2 de l'enveloppe formant les pics à la surface du virus permettent d'améliorer l'amplification équine [13]. Ces remplacements pouvant résulter d'une mutation unique dans le génome viral, et parce que les *alphavirus*, comme les autres virus à ARN, se répliquent avec une fidélité génétique faible propice aux mutations, les mutations compatibles avec l'amplification équine surviennent probablement régulièrement dans les cycles sylvatiques où sont présentes les souches enzootiques du virus [62].

L'hypothèse signifie que les souches épizootiques de VEEV de sérotypes IAB et IC dérivent des souches enzootiques de sous-types ID [63]. L'émergence du virus vers une forme épidémique/épizootique est associée à des mutations qui proviennent des gènes des glycoprotéines E2 de l'enveloppe virale des souches enzootiques de sérotypes IE et ID [16]. Des études ont été réalisées afin de déterminer une éventuelle relation entre les souches de VEEV épizootiques et enzootiques, afin de tester l'hypothèse de l'origine des souches épidémiques en passant par l'analyse des mutations pouvant être responsables du passage de souches enzootiques, qui est un phénotype ne permettant pas une amplification équine, à un phénotype épidémique. Pour cela, des gènes précurseurs des glycoprotéines pE2 de l'enveloppe ont été séquencés pour des souches de VEEV ainsi que des *alphavirus* du complexe VEE. Un arbre phylogénétique a été conçu, et parmi ce dernier les souches IAB sont déterminées comme ayant émergé dans les années 1920 et ayant connu une autre émergence plus tard qui est considérée comme due à l'utilisation de vaccins inactivés. Dans cet arbre, on retrouve les souches de sérotypes IC ayant émergé en 1962 puis en 1995 ; puis une émergence du clade IC dans l'ouest du Venezuela en 1992. Une souche de sérotype ID se rapprochant des souches isolées durant les épidémies de 1992-1993 est n'est pas virulente chez les équidés, tandis que deux souches isolées lors de l'épidémie possèdent un titre élevé de virémie.

L'émergence de 1992-1993 a pu être reproduite de façon hypothétique grâce aux souches épidémiques et enzootiques qui sont étroitement liées. Il a été démontré qu'il existe 15 différences parmi les acides aminés par rapport à la souche de sérotype IC épidémique utilisée, dont deux différences concernent la protéine de l'enveloppe E2 observées en utilisant des souches de VEEV chimériques enzootiques/épidémiques considérées comme étant un facteur d'amplification pour la virulence chez les équidés.

Des analyses phylogénétiques ont permis de déterminer que ces deux différences sont associées à l'épidémie de 1992, mais aussi qu'il y a eu un remplacement des résidus Gly-193 et Thr-213 (des résidus d'acides aminés Glycine et Thréonine) par des résidus d'arginine. Car ces substitutions sont apparues dans une région dite immunodominante. Donc l'hypothèse que ces acides aminés soient impliqués dans le changement du sérotype ID en sérotype IC a été émise. Le résidu Thr-213 est considéré comme ayant été sujet à une sélection positive, ce qui

peut être la preuve d'une adaptation pour la réplication équine (cf *figure 14*). Les acides aminés Gly-193 et Thr-213 n'étant pas chargés et ayant été remplacés par un résidu chargé positivement, les émergences ont donc été accompagnées par une mutation dans les charges associées à leur résidu. Il est donc probable que l'une ou les deux mutations d'E2 étaient responsables de l'épidémie de 1992 [64].

L'hypothèse ici est alors que l'épidémie de VEEV de sérotype IC peut être provoquée par une seule mutation présente au niveau des souches de sérotype ID enzootiques circulant dans l'ouest du Venezuela. La mutation aurait donc transformé les phénotypes enzootiques équins non virulents et ne pouvant pas être amplifié chez les équidés, à un phénotype cette fois-ci épidémique étant capable d'amplification et virulent [64].

Cela peut aussi accroître les infections des vecteurs épidémiques que sont les moustiques de type *Aedes* dont *Ochlerotatus taeniorhynchus*. Plus la virémie sera élevée chez les équidés et plus les risques d'infections chez les moustiques qui ne sont normalement pas impliqués dans une circulation enzootique est élevé. Ce qui provoquera un débordement du virus chez les humains [16].

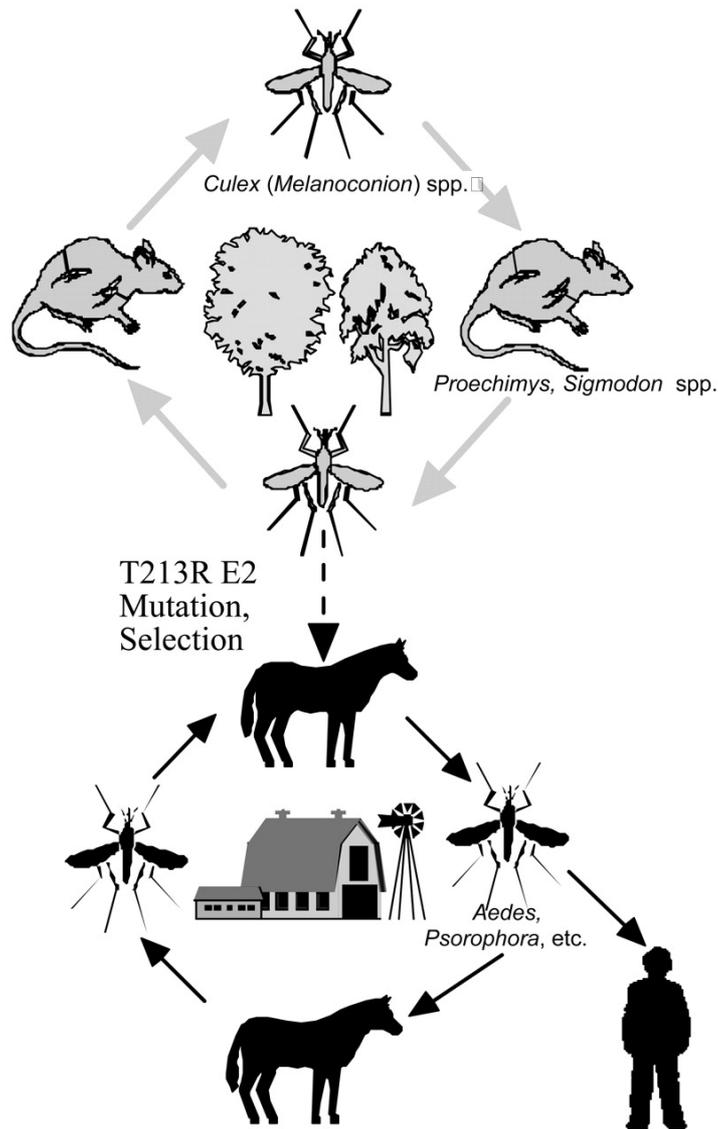


Figure 14: Processus d'émergence des souches de VEEV épidémiques en présence d'une mutation des glycoprotéines de l'enveloppe [64]

(En gris sont représentées les souches de VEEV sylvatiques transmises parmi les vecteurs. En noir sont représentées les souches épidémiques de sous-types IAB et IC transmises par les moustiques. [64])

La mutation présentée en figure 14 concernant les protéines structurales E2 de l'enveloppe virale permet d'illustrer qu'elle a permis au vecteur moustique de s'adapter à l'équidé, participant ainsi au cycle épizootique, avec des vecteurs permettant également d'infecter l'Homme.

La sélection de ces mutations se passe sans aucun doute chez les équidés, bien qu'il soit possible que d'autres hôtes intermédiaires puissent être impliqués dans la sélection de ces souches épidémiques.

C. Rôle de l'adaptation à l'hôte et au vecteur

a. Adaptation aux moustiques épizootiques

D'après *Brault, Power, et Weaver*, des souches de VEEV de sous-types IAB, IC, ID et IE provenant de moustiques ont été testées pour évaluer leur rôle dans leur implication dans les infections, et des virus chimériques générés à partir de souches épizootiques et enzootiques ont été testés pour mesurer l'infectivité chez le moustique. Ils contiennent des régions de gènes structurels épizootiques et plus spécifiquement le gène précurseur d'E2 de la glycoprotéine pE2 de l'enveloppe qui a infecté *Oc. Taeniorhynchus* (un moustique vecteur du virus). Le fait d'introduire un gène de pE2, provenant d'un virus de sous-type ID enzootique, à un squelette épizootique de sous-type IAB ou IC a permis de mettre en évidence une diminution de des infections par rapport à ceux ayant un parent épizootique.

Cela permet d'affirmer que les glycoprotéines E2 de l'enveloppe, un site d'épitopes déterminant les sous-types épizootiques ou enzootiques, codent les facteurs des infections chez le moustique. Par la suite, des études sur des souches de sous-types IE du Guatemala et du Mexique impliquent une mutation unique dans la protéine E2 comme facteur favorisant l'infection chez *Oc. Taeniorhynchus* exposée par des souches isolées pendant les épizootiques [60].

Les sérotypes IC et IE sont les derniers sérotypes identifiés dans les cas d'infections par VEEV. Le sous-type IE est confiné en Amérique Centrale ainsi qu'au Mexique et une démarcation existe entre ce sous-type et le sous-type ID à la frontière entre le Panama et le Costa Rica, mais une surveillance est nécessaire pour déterminer si pour savoir si les souches de sous-type IE sont encore en circulation au Panama [16].

Il y a une faible dispersion du virus possédant ce sous-type car cette dispersion se fait surtout entre pays voisins, cette dispersion pouvant être due à la mobilité limitée des moustiques et des rongeurs vecteurs. Des études récentes ont montré que la circulation de VEEV au Mexique n'est pas dépendante de l'évolution des lignées et qu'il existe une stabilité géographique. Les études phylogénétiques utilisant les séquences génétiques des gènes protéiques ont permis d'observer 63 mutations associées au sous-type IE, dont 39 provenant de gènes non-structurels et 37 de gènes structurels [16].

Il est possible que la prépondérance de mutations substitutives concernant les gènes structurels soit due à l'adaptation du virus à des vecteurs moustiques différents. En effet, les souches de VEEV de sous-type ID sont transportés par les espèces de moustiques de type *Culex Melanoconion*, *Adamesi*, *Vomerifer* et *Pedroi*, tandis que ceux du sous-type IE le sont par des vecteurs plus spécifiques et quasiment exclusivement par *Culex*, *Melanoconion*, *Taeniopus*. Des infections expérimentales avec les sous-types IAB, IC, et ID n'ont pas montré une infectivité élevée, suggérant donc une adaptation du sous-type IE au vecteur. Donc l'évolution des souches de sous-type IE semble être due à une évolution différente du reste du complexe

de VEE, avec une augmentation dans les substitutions parmi les protéines structurales permettant une adaptation vectorielle à son moustique vecteur [16].

Un vecteur épizootique établi, *Oc. Taeniorhynchus*, présente une sensibilité plus élevée aux souches épizootiques (comme le sous-type IAB) qu'aux souches enzootiques (comme le sous-type IE) de VEEV. Des études plus récentes incluant cette espèce de moustique se sont focalisées sur les souches de sous-types ID, sous-type considéré comme étant l'ancêtre de VEEV épizootique. Les souches de sous-types IC se sont révélées plus infectieuses pour *Oc. taeniorhynchus* que les souches de sous-type ID étroitement apparentées. L'hypothèse est alors émise concernant le fait que l'adaptation aux espèces vecteurs épizootiques joue un rôle dans l'émergence du virus de l'encéphalite équine Vénézuélienne [60].

Une autre étude incluant *Oc. taeniorhynchus* a testé la capacité des souches de sous-type IE provenant d'épizooties mexicaines (de 1993 à 1996) et vénézuéliennes (de 1992 à 1993) d'infecter cette espèce de moustique. Il a été vérifié que cette espèce de moustique se nourrit sur des équidés dans les régions mexicaines. Des infections expérimentales d'*Oc. taeniorhynchus* furent réalisées avec des souches provenant du Mexique de sous-type IE, et avec des isolats de sous-types IE non associés à des maladies équinnes, et les infections ont montré une plus grande sensibilité aux souches mexicaines. Il y a confirmation de l'hypothèse selon laquelle les résurgences d'infections mexicaines ont été motivées par la capacité du vecteur, ici d'*Oc. taeniorhynchus*, de transmettre efficacement le virus virulent aux équidés [60].

L'explosion de cas qui a eu lieu au Venezuela entre 1992-1993 avec le sous-type IC s'est passée dans une région dans les terres à l'ouest du pays mais n'ayant pas touché la péninsule de Guajira qui est la zone où sont apparus la plupart des cas d'infections de sous-types IAB ainsi que des cas épizootiques de sous-types IC. Les régions qui ont connu des cas en 1992 et 1993 ne sont pas des lieux généralement habités par *Oc. taeniorhynchus*. Mais deux souches provenant de cette explosion de cas se sont révélées ne plus être infectieuses pour cette espèce de moustique comparées aux souches apparentées du sous-types ID, ce qui permet de dire qu'*Oc. taeniorhynchus* n'a pas été impliqué dans l'émergence du virus en 1992 [60].

Cela permet peut-être d'expliquer la raison de la non-propagation du virus dans les régions côtières comme la péninsule de Guajira en 1992-1993, où de nombreux cas ont été recensés. Un test différent a été réalisé sur *Psammotettix Confinnis*, un autre vecteur de VEEV épizootique qui n'est pas un moustique, afin d'examiner le rôle de l'adaptation de VEEV chez les moustiques. Il a été testé avec des souches enzootiques de sous-type ID et épizootiques IAB et IC. Cette espèce possède la particularité de ne pas posséder de sensibilité spécifique pour les souches épizootiques et enzootiques, comparé à *Oc. taeniorhynchus*. Et *Ae. Albopictus* ainsi qu'*Ae. Aegypti* ont également été testés, ce qui est utile pour évaluer la spécificité de l'adaptation vectorielle notamment des explosions de cas associées aux sous-types IAB (1962-1964) et IC (1995). Ces espèces ont été nourries avec des souches épizootiques et enzootiques (sous-types IC et ID), les résultats ont montré que ces souches sont infectieuses pour les deux espèces sans différences entre les souches de VEEV. Ces études permettent de penser que

l'adaptation des souches épizootiques de sous-type IAB à *Oc.taeniorhynchus*, ainsi qu'à IC, a été un facteur pour la propagation du virus aux zones côtières en Amérique latine. De plus, l'adaptation qui est générée par les mutations présentes dans les glycoprotéines de l'enveloppe E2 est suggérée comme étant spécifique du genre ou de l'espèce et n'inclue pas d'autres vecteurs [60].

Les souches épizootiques de VEEV n'arrivent pas se maintenir dans le cycle de transmission sylvatique, ce qui n'est pas le cas des souches enzootiques. Ceci peut s'expliquer par le fait que l'adaptation aux infections des vecteurs épizootiques conduirait à une diminution de l'adaptation des vecteurs moustiques enzootiques. Les vecteurs enzootiques peuvent dans certains cas être plus susceptibles aux infections par des souches enzootiques sympatriques, c'est-à-dire vivant dans une même zone géographique, que par des souches épizootiques ou allopatrique enzootiques donc vivant dans des zones géographiques distinctes [65]

Le vecteur enzootique du sous-type IE au Guatemala, *C. taeniopus*, est fortement susceptible aux infections par des souches IE enzootiques sympatriques, mais présente un comportement plus réfractaire aux sous-types IAB, IC, ID. Le comportement réfractaire de *C. taeniopus* aux souches épizootiques peut expliquer le fait que le sous-type IAB n'est plus présent au Guatemala. L'hypothèse exprimée est le fait que l'adaptation aux vecteurs épizootiques entraîne une réduction de l'adaptation des souches épizootiques du virus aux vecteurs enzootiques [10].

Donc les souches épidémiques du virus de l'encéphalite équine s'adaptent aux vecteurs intermédiaires parmi les plus importants, dont *Oc. taeniorhynchus*, et se répliquent pour développer une virémie plus élevée dans l'espèce de moustique vectorielle en question que dans les vecteurs enzootiques responsables de transmission enzootique, dont *Melanoconion* [66].

b. Adaptation aux équidés par des souches épizootiques

Les études expérimentales comparant les souches de VEEV épizootiques et enzootiques connues depuis de nombreuses années ont permis d'affirmer que la virémie développée par les équidés est un facteur important pouvant être responsable de la propagation des infections liées au virus.

C'est grâce aux avancées dans les études de génétique virale permettant d'individualiser les gènes et mutations qui peuvent adapter les souches de VEEV enzootiques à une amplification équine (cf *figure 15*), et aux sujets utilisés en laboratoire sujets à des infections expérimentales répondant différemment aux souches enzootiques et épizootiques. Les souris de laboratoires meurent avec quasiment toutes les souches du virus, les cochons d'inde meurent avec les souches épizootiques mais ne meurent qu'avec certaines des souches enzootiques (survivent avec les souches IE). Les virus chimériques composés de protéines structurales d'une souche épizootique IAB et structurales de souches IE (IAB/IE), ou réciproquement IE/IAB, permettent de démontrer que les niveaux de répllication virale et de virulence chez les

cochons d'indes sont à des niveaux intermédiaires comparés avec les souches parentales. Puis on avait affirmé que les protéines structurelles sont d'importants déterminants pour la virulence [10].

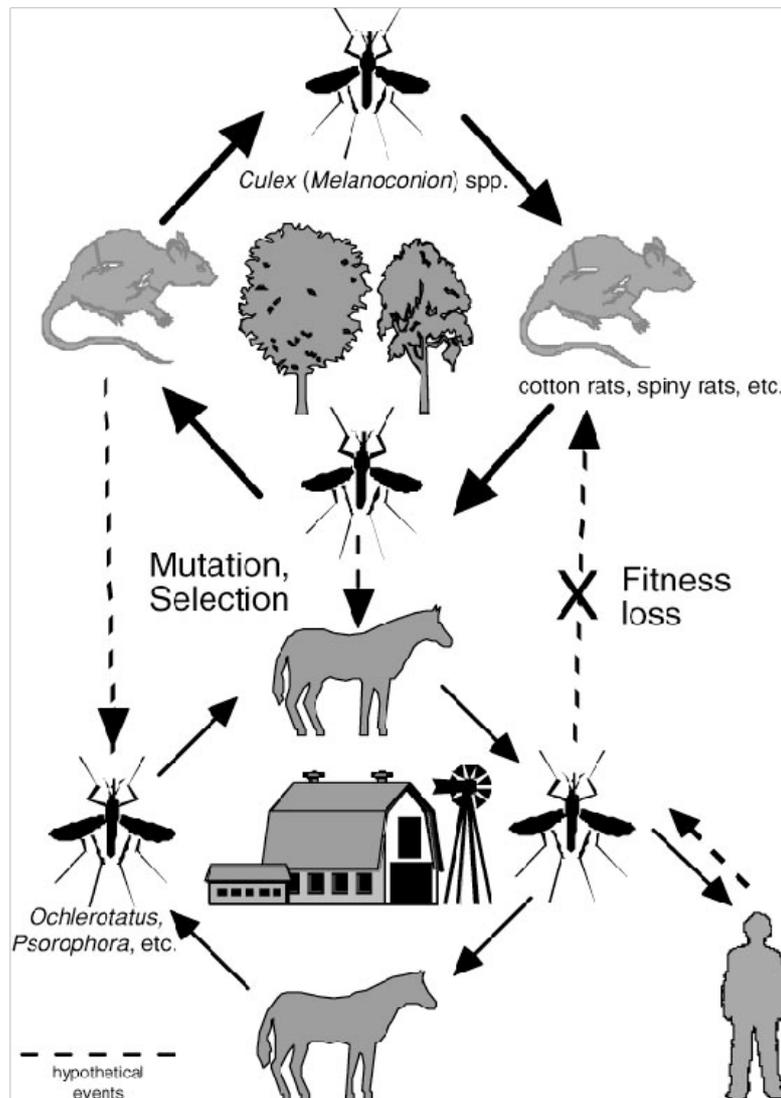


Figure 15: Schéma exprimant l'adaptation de VEEV à de nouveaux vecteurs résultant à l'émergence virale [10]

(Cotton rats : sigmodon ; Siphy rats: rats épineux; Fitness loss: perte de selection)

En figure 15 est montrée la perte d'adaptation des moustiques pour des hôtes enzootiques comme les rongeurs pour favoriser une adaptation à des vecteurs épizootiques comme les chevaux ou les humains.

D. Proximité avec les vecteurs

Les facteurs écologiques et immunologiques sont les principaux facteurs d'émergence de VEEV par rapport aux facteurs génétiques. Les épizooties chez les équidés sont fortement associées à la quantité de moustiques provenant des eaux de crue dans les habitats de type marécageux ou dans les pâturages. Il est évident que la proximité entre l'espèce qui transmet le virus et celle infectée est un paramètre clé dans l'émergence virale, car plus il y a de contacts entre ces espèces, et plus il y a de risques de transmettre des agents pathogènes. Ceci est amplifié si les populations de ces espèces sont denses et nombreuses. Donc il n'est pas étonnant qu'avec les changements récents concernant l'écologie, ainsi qu'avec les déforestations, l'urbanisation, et les mobilités élevées, les maladies infectieuses augmentent et sont censées continuer d'aller dans ce sens [67].

2. **Émergence du virus de l'encéphalite équine de l'Est**

A. Abondance de *Culiseta melanura* liée au merle d'Amérique

Le principal vecteur du virus de l'encéphalite équine de l'Est est *Culiseta melanura*. Il est distribué à travers l'Amérique du Nord et notamment en Floride, aux Etats-Unis [68]. Une étude menée sur cette population de moustiques en 2015 a permis d'analyser la provenance du sang que ces moustiques ont ingéré, et il s'avère que 95.2% du sang analysé provenait d'une origine aviaire, principalement de passereaux et notamment le merle d'Amérique.

Les saisons jouent un rôle important pour la transmission virale car le sang de ce merle a été retrouvé notamment dans les moustiques de mai à août, période à laquelle les infections par EEEV étaient les plus nombreuses. Donc le merle d'Amérique serait le principal réservoir pour l'amplification et le maintien d'EEEV en Amérique. Ces oiseaux sont notamment présents dans les forêts, milieux ruraux, et forêts riveraines [69].

Il s'avère que le territoire de Panhandle en Floride a permis de mettre en lumière le rôle des plantations d'arbres, qui sont abondantes dans cette zone, dans la transmission du virus. En effet, ce territoire semble idéal pour une transmission enzootique car l'habitat pour *Culiseta melanura* et les oiseaux impliqués dans la transmission de ce virus semble optimal pour créer un environnement pour l'évolution du virus. Ce territoire peut être considéré comme jouant un rôle clé pour la propagation du virus dans le reste de l'état de Floride et ainsi pouvoir se propager dans les états plus au Nord d'Amérique [54]. La présence d'un hôte amplificateur est donc un critère indispensable pour la propagation du virus et ainsi participer à l'émergence de ce dernier. La saisonnalité joue un rôle clé pour le développement de ces hôtes amplificateurs, supposant alors l'importance du climat et de la végétation comme participant à ce rôle.

B. Plantations d'arbres et zones humides

Les plantations d'arbres, comme celles existantes en Floride par exemple, sont un facteur écologique dans la transmission du virus de l'encéphalite équine de l'Est. Il s'agit notamment de régénération de forêt et de plantations de conifères [70]. Ces plantations sont en lien avec la transmission enzootique du virus, qui implique le vecteur *Cs. melanura* ainsi que des hôtes aviaires comme le merle d'Amérique par exemple, tandis que le cycle de transmission épizootique implique quant à lui les humains et les équidés ainsi que plusieurs espèces vecteurs intermédiaires. Mais ces forêts ne semblent pas augmenter la transmission épizootique du virus. Les plantations d'arbres possèdent un nombre plus important d'arbres par hectares comparés à des forêts, ce qui attire les oiseaux pour nicher, alors cela augmente l'activité enzootique et épizootique d'EEEV. De plus, la densité d'arbre fournit un habitat convenable pour les moustiques servant de vecteurs. Des champs de culture ainsi que des pâturages sont souvent à proximité de ces plantations d'arbres, ce qui peut augmenter le nombre de vecteurs et d'oiseaux. Cela peut s'expliquer par le fait que les plantations sont souvent effectuées sur des sols qui sont mal drainés, augmentant ainsi les inondations et créant des sols humides à proximité de la présence d'équidés [71]. Les conditions météorologiques dont hydrologiques dues aux variations de température et de précipitations influencent les vecteurs et les hôtes, provoquant une dispersion de ces derniers aux territoires environnants [72].

Il a été prouvé que les infections chez les chevaux étaient plus présentes lorsque ces derniers étaient localisés près des forêts d'arbres feuillus donc des forêts denses et étendues. Donc la présence de ce type de forêts à proximité de zones avec présence de chevaux peut être associée à un risque plus élevé de transmission d'EEEV. Cela suggère que ce type de végétation est un habitat viable pour les vecteurs de ce virus. Bien que ces forêts ne soient pas considérées comme des zones très humides, une certaine humidité y persiste du fait de la canopée dense qui réduit la circulation de l'air et augmente ainsi l'humidité. Le principal vecteur d'EEEV qui est *Cs. melanura* préfère les zones humides, donc il peut avoir dans ces forêts un endroit adéquat pour sa reproduction, ce qui augmenterait la distribution de ce moustique vecteur dans différents habitats [70]. Donc les chevaux vivants à proximité des zones humides et des plantations d'arbres connaissant un nombre de décès liés à EEEV plus important. C'est un point essentiel pour pouvoir notamment cibler des mesures de lutte antivectorielle dans ces zones considérées à haut risque [71].

Concernant les zones humides en lien avec des inondations, lorsque les niveaux d'inondations sont élevés, cela suggère que la disponibilité en larves est augmentée et l'abondance de vecteurs en est le résultat. Les inondations estivales sont corrélées à une abondance de *Cs. melanura*. L'hypothèse est alors émise concernant le fait que les conditions humides pendant l'automne, l'hiver et durant la saison de transmission favorisent l'abondance de nourriture disponible, ainsi que l'expansion des domaines vitaux pour les oiseaux [73]. Ainsi, les conditions humides favorisent le développement des vecteurs et des hôtes amplificateurs, conduisant à une augmentation de la transmission d'EEEV. Le dérèglement climatique pouvant

conduire à des perturbations liées à des précipitations abondantes favorise ainsi l'émergence du virus.

3. Déclin du virus de l'encéphalite équine de l'Ouest

A. Différents facteurs de déclin

Les cas de WEEV sont souvent associés à des zones irriguées, favorables au développement des larves de moustiques [74]. Durant la seconde partie du 20^{ème} siècle, les cas humains de WEEV et chez les équidés ont décliné, avec une réduction notable de l'activité enzootique de WEEV. Le dernier cas humain répertorié en Amérique du Nord datant de 1998. L'ARN de WEEV a été détecté dans trois pools de moustiques au Nouveau Mexique en 2001. Puis, 10 à 100 pools de moustiques se sont révélés être positifs au WEEV en Californie en 2005, 2006 et 2007, mais aucun pool ne l'a été depuis 2008, malgré des milliers de pools de moustiques testés [75].

a. Arrêt de la circulation enzootique

Une des hypothèses expliquant le déclin de WEEV est l'arrêt de la circulation enzootique du virus en Amérique du Nord. Des moustiques *Culex tarsalis* ont été récoltés, durant les saisons où ils sont habituellement en plus grand nombre, grâce à des pièges près d'endroits humides et agricoles, où vivaient à proximité des hôtes intermédiaires. Il a été observé que les moustiques étaient largement présents durant les semaines durant lesquelles les épidémies ont été répertoriées dans les années 1960. La persistance dans l'abondance en fonction des saisons de *Culex tarsalis* suggère que le déclin de WEEV n'est pas associé au changement temporel dans la dynamique de la population de ce moustique [76].

b. Mutation génétique

Une autre hypothèse pour expliquer le déclin de WEEV est qu'une mutation génétique est apparue durant la seconde moitié du 20^{ème} siècle à cause du remplacement des lignées de souches A, B et B2 avec celles des lignées B3, et ainsi WEEV aurait subi une accumulation de mutations conservées [77]. Une perturbation significative de la population de WEEV serait à l'origine de cette accumulation de mutations, ces dernières qui tendent vers une homogénéité dangereuse au sein de la population. Que les mutations soient bénéfiques (sélection positive) ou non, la population virale semble avoir atteint un « point de non-retour » en ce qui concerne sa capacité à rebondir. Les souches de la lignée B3 de WEEV ont émergé à la fin des années 1960 et sont devenues prédominantes à la fin des années 1980. Étant donné que les souches en

circulation de WEEV ont connu une réduction de la diversité génétique qui coïncide avec la circulation des seuls virus de la lignée B3, il est possible que la dérive génétique ait réduit la résistance virale et sa virulence [77]. La période du remplacement de la lignée B2 par B3 est cohérente avec le déclin des épidémies observées. Cependant, la relation causale ne reste qu'hypothétique car il y a peu de données concernant la modification claire de la virulence au fil du temps [78].

c. Facteur climatique

Concernant la transmission des maladies transmises par des vecteurs, il y a une influence sur le déclin possible de maladies liées. C'est notamment le cas du virus de l'encéphalite équine de l'Ouest. En effet, l'effet du changement climatique est bien observé avec un vecteur de WEEV qui est *Culex tarsalis*, notamment présente aux Etats-Unis. Dans les environnements aquatiques les larves du moustique connaissent une diminution de leur survie à des hautes températures, le taux de survie des adultes étant réduit aussi.

Le moustique est capable de limiter le développement du virus à des températures avoisinant 32°C, donc les températures en haute saison estivale en Californie du Sud peuvent limiter la transmission du virus. Dans les régions plus froides, des températures plus élevées peuvent réduire la survie des *Culex tarsalis* adultes et la survie hivernale peut être modifiée car ils rentrent en diapause, donc le vecteur réduit ses activités métaboliques permettant une vie ralentit. Finalement, l'augmentation des températures peut provoquer la propagation des infections liées aux vecteurs présents dans le Nord des Etats-Unis et de diminuer celle liée aux vecteurs présents dans le sud du pays. Cependant, un autre vecteur *C. pipiens*, qui est un vecteur tempéré, n'est pas sensible aux variations provoquées en hiver dans le Sud des Etats-Unis [79].

d. Facteurs de déclin non élucidés

Plusieurs hypothèses sont énoncées pour expliquer le déclin de WEEV. A l'heure actuelle, il n'est pas possible d'affirmer avec certitude ce qui a provoqué ce déclin. Il ne semble pas y avoir de modèles temporels dans la compétence des vecteurs ou des hôtes qui expliquent la diminution de l'amplification enzootique de WEEV et la réduction des cas chez les équidés et les humains [80]. Il semblerait que la diminution des cas chez les humains serait due à des facteurs épidémiologiques comme l'amélioration des habitations humaines permettant moins aux moustiques de rentrer dans les foyers ou encore l'utilisation de l'air conditionné. Tandis que la diminution des cas chez les équidés pourrait être expliquée par l'utilisation intensive d'un vaccin [81].

B. Bioterrorisme

Le bioterrorisme (vu dans la partie II. 6.) constitue un risque possible d'émergence virale notamment du virus de l'encéphalite équine Vénézuélienne. Mais comme l'utilisation d'armes biologiques est maintenant interdite, il est très peu probable qu'une émergence virale par ce mode de transmission soit d'actualité.

C. Influence des comportements environnementaux et humains sur l'émergence des arbovirus

Les changements climatiques ainsi que les comportements humains sont des facteurs jouant un rôle dans l'émergence des arbovirus [3].

a. Influence du climat

Dans le cas du virus de l'encéphalite équine de l'Est, des augmentations de cas sont similaires entre 2004 et 2006, et entre 2010 et 2012. Il est considéré que plusieurs facteurs peuvent contribuer à des cas annuels plus élevés. Ces facteurs sont notamment des changements dans les populations d'oiseaux et de moustiques, ainsi que dans leur immunité. Bien que les comportements humains soient en cause aussi, les changements dans le climat sont un facteur important [82].

Une des plus larges épidémies de VEEV qui est survenue en 1995, et à la mi-juillet de cette année, une épidémie majeure est survenue dans des zones rurales au Venezuela et en Colombie. Cette même année, les précipitations de pluie ont été particulièrement fortes durant les mois de juillet, août, et septembre. Durant cette même période, il a été dénombré un large nombre d'*Ochlerotatus taeniorhynchus*, *Psorophora confinnis*, et d'*Anopheles acquasalis*, qui sont des vecteurs du virus donc augmentant les risques de cas d'infections.[10] Des changements dans les précipitations dans les zones subtropicales et tropicales peut rendre les habitats propices au développement des vecteurs [79].

Le changement climatique peut altérer l'exposition des humains aux maladies transmises par des vecteurs en changeant la distribution géographique des conditions qui sont appréciées par les agents pathogènes et les vecteurs. Lorsque la température du globe augmente, les températures aux latitudes et en altitude augmentent. Les événements climatiques qui sont considérés comme extrêmes impactent de façon majeure sur les taux de transmission des maladies qui se transmettent par des vecteurs, ces événements apparaîtront de manière disproportionnée due aux conséquences du réchauffement climatique. Le changement climatique affectera les vecteurs invertébrés ainsi que le développement des pathogènes dans ces vecteurs, avec augmentation de la durée de prolifération de ces organismes, permettant alors

une augmentation des populations de ces vecteurs dans les zones plus froides. Cela peut être expliqué par le fait que les hivers seront raccourcis et moins sévères, ce qui induira une diminution de la mortalité des vecteurs qui sont limités par des basses températures, mais le contraire est possible aussi car des vecteurs peuvent mourir avant de transmettre des maladies quand les températures sont trop hautes [79].

Il a été montré que durant l'été 2019, certains moustiques sont entrés en hibernation, aussi appelée diapause, ce qui leur permet de survivre durant la période hivernale. Cette diapause est une caractéristique importante dans le cycle de vie de beaucoup de moustiques, ce qui leur offre la possibilité de surmonter les saisons défavorables dans les zones tempérées et tropicales et servant à synchroniser leur développement au sein des populations. Ce qui affecte directement le cycle de la transmission des maladies. Quand le climat reste chaud pour une longue période, les moustiques qui survivent à l'hiver font partie de la même génération mais ils ont plus de temps d'être infectés par le virus et ainsi de le transmettre [82]. Cela est confirmé en prenant l'exemple du Massachusetts aux Etats-Unis concernant les nouveaux cas d'EEEV. Cet état a enregistré des fortes pluies l'année dernière, et des températures précocement élevées, ce qui a provoqué une croissance de la population de moustiques. Et car les moustiques permettent la transmission des virus aux oiseaux et ensuite aux humains, les larges populations de moustiques sont nécessaires pour l'émergence du virus [83].

b. Facteurs anthropogènes

L'émergence des virus peut être influencée par la transformation de grandes forêts tropicales en territoires agricoles, augmentant le risque d'infections chez les équidés parmi leur cycle d'amplification. Les maladies de type zoonoses utilisent les écosystèmes ruraux pour avoir plusieurs vecteurs pour infecter une grande variété d'espèces d'hôtes vertébrés. Les humains qui envahissent les zones rurales sont plus sujets à l'exposition aux virus, ou quand les vecteurs intermédiaires transportent le virus dans des zones proches des humains [3]. Le risque d'émergence d'épidémies est donc augmenté par la conversion de grandes forêts tropicales en zone d'élevage de bétails et d'autres formes d'agricultures, comme en Colombie et au Venezuela pour VEEV [62].

La déforestation, liée à l'urbanisation constante des territoires augmentent le risque de contact entre les vecteurs et les humains, augmentant le risque de transmission virale et d'émergence des arbovirus. L'urbanisation qui progresse constamment provoque une augmentation de la concentration d'hôtes humains qui sont sensibles aux virus, qui vivent dans des conditions socio-économiques favorables à l'augmentation de la population des vecteurs, ce qui provoque une facilitation de la transmission virale donc une augmentation des épidémies. Les arthropodes peuvent s'adapter et faire preuve de domestication grâce au fait d'être exposé aux animaux domestiques, à l'environnement humain et au bétail, ces vecteurs épidémiques étant péridomestiques donc en étroite relation avec les humains. Il existe des programmes de lutte pour limiter les vecteurs mais ils peuvent se révéler comme inefficaces, contribuant à la

transmission des arbovirus [3]. Le remplacement des forêts par de l'agriculture a augmenté le nombre d'habitats pour la reproduction des moustiques, augmentant alors la population de vecteurs pouvant transmettre plus de maladies liées à ces derniers.

Concernant l'urbanisation, l'irrigation ainsi que l'apport en eau sont des causes qui participent à l'augmentation des maladies qui se propagent dans les environnements où vivent les humains. L'accroissement constant de la population ainsi que la pauvreté à certains endroits participent à une augmentation de la concentration de personnes à certains endroits, et associé à la vétusté de certaines infrastructures, ne permettent pas à des populations d'accéder à une eau saine qui soit stockée de manière sécurisée. Des objets peuvent aussi participer à la propagation de maladies à arbovirus. C'est le cas des pneus et des conteneurs qui sont des lieux où il y a une forte reproduction de moustiques vecteurs de ces maladies. Dans les endroits plus riches, les personnes vivant dans les zones résidentielles vont de plus en plus s'installer dans des zones boisées qui sont des lieux où existent des vecteurs de ces maladies ainsi que les hôtes naturels de ces maladies [79].

c. Impact des voyages et des échanges

Dans le monde développé il y a une augmentation des échanges, notamment avec le transport de masse ainsi que le libéralisme dans le transport international. Ceci augmente les quantités de matières ainsi que les nombres de personnes qui se déplacent à travers le monde. On estime à plus d'un million de personnes qui voyagent à l'international chaque jour, dont plus de 700 000 touristes qui transitent chaque année. Ces différents mouvements sont un facteur qui participe à la propagation des maladies pathogènes ainsi que de leurs vecteurs associés. Le commerce international s'est hautement développé entre les années 1980 à 2000 [79].

L'impact des voyages est certain quand on sait que l'introduction du virus du chikungunya s'est produite par un voyageur italien revenant d'Inde [66]. Une personne contaminée par un virus à la suite d'une piqûre de moustique lors d'un séjour en pays infecté peut présenter un risque de transmission pour les souches épizootiques de VEEV, mais aussi pour les souches enzootiques de ce même virus dans des mesures beaucoup plus faibles, ce qui en fait un risque faiblement évaluable [84].

D. Des accidents viraux

Les infections virales qui font suite à des accidents en laboratoire ou à l'hôpital sont des causes possibles d'émergence des virus. Des infections à arbovirus ont été recensées par le passé. En 1935, un employé d'hôpital a été en contact avec un patient atteint du virus de la

Fièvre jaune, cet employé a développé les symptômes de cette maladie puis est mort dans les jours suivants [85].

Le virus de l'encéphalite équine de l'Ouest a aussi provoqué des infections accidentelles. En effet, en 1939 une femme travaillant dans un laboratoire a été infectée par le virus après avoir travaillé dessus puis après avoir eu les symptômes les plus graves incluant le coma, elle est décédée par la suite. En 1940, un chercheur a aussi été infecté lorsqu'il travaillait sur un inoculum d'embryon de poulet qui était très concentré en virus, puis à la suite d'un accident de centrifugation ses muqueuses faciales furent exposées aux aérosols du virus. Un manque de protection est pointé [85].

En 1947, quatre cas d'infections dues au virus de l'encéphalite équine Vénézuélienne ont été rapportées à la suite d'une exposition à des aérosols, se situant près de stocks d'embryons de poulet contenant un titre viral élevé [85].

Des infections due au virus du chikungunya (CHIKV) et du virus Mayaro ont été déclarés. La première infection due à CHIKV s'est produite en 1965 après qu'un chercheur a été victime d'aérosols contenant le virus. Puis le virus Mayaro a provoqué une infection en laboratoire en 1999 aussi par aérosols [85].

E. Possibilité d'autres épidémies d'encéphalites équines

En se basant sur le calendrier des épidémies de VEEV par le passé, d'autres épidémies se reproduiront certainement. D'autres études doivent être réalisées pour connaître en détail l'interaction du virus avec les hôtes, les vecteurs, les hôtes réservoirs et l'aspect phylogénétique.

Différents mécanismes ont été proposés pour expliquer l'émergence de VEEV. Le mécanisme principal est l'évolution périodique des souches IAB et IC du virus qui facilite l'émergence des épidémies. Donc des mutations ponctuelles peuvent provoquer des épidémies. Une virémie élevée chez les équidés est un facteur important pour provoquer des épidémies car il entraîne de nouvelles infections chez les moustiques. Mais aussi, la compétence des vecteurs peut aussi influencer les chances de nouvelles épidémies provoquées par VEEV. Bien que les vecteurs connus sont *Culex*, le principal, pour les infections enzootiques et *Ae. Ochlerotatus taeniorhynchus* pour les cycles épizootiques, d'autres espèces de moustiques peuvent être des vecteurs compétents et peuvent devenir des vecteurs naturels importants quand d'autres mutations adaptatives peuvent apparaître [86].

Les raisons exactes de l'émergence d'EEEV ne sont pas encore totalement élucidées, ce qui peut souligner l'imprévisibilité des épizooties. La fréquence et l'ampleur de ces épidémies sont susceptibles d'être influencées par les conditions météorologiques. En effet, de fortes précipitations en 2019 sont corrélées à une hausse des foyers épizootiques d'EEEV. Et compte tenu de l'urbanisation croissante qui augmente les contacts entre les humains et les vecteurs, ainsi que le commerce et les voyages mondiaux, les changements climatiques et la propagation

des moustiques en dehors de leur zone géographiques initiales sont des raisons qui laissent penser qu'EEEV continuera de menacer l'Homme [86].

Le problème actuellement est que des fortes chaleurs sont recensées durant les mauvaises périodes de l'année, ce qui signifie que les moustiques survivent mieux et continuent leur cycle. L'année 2019 a aussi été plus humide et l'association à ces chaleurs a augmenté encore plus la population de moustiques vecteurs. Cela agit sous forme de cycles, et une fois que ces derniers sont commencés, cela présage une augmentation des cas pour au moins les deux prochaines années [83].

F. L'introduction des virus d'encéphalites équine est-elle possible en Europe ?

L'Europe actuellement n'est pas une zone géographique qui présente des cas d'encéphalites équine sur son territoire provoquées par VEEV, EEEV ou WEEV. Il est alors intéressant de se demander si l'introduction de ces virus sur le continent européen est possible ou pas. Différents facteurs sont pris en compte pour évaluer leur risque d'introduction

a. Introduction par transmission naturelle (non contrôlable)

Le virus de l'encéphalite équine de l'Est ne semble pas présenter un risque important concernant son introduction sur le continent européen. Le risque d'importation du continent américain semble être faible. Mais cela reste possible à cause d'oiseaux infectés, mais aussi par les moustiques ou même par des reptiles (leur implication dans leur rôle d'hôte reste à confirmer) ou amphibiens. Mais leurs migrations respectives entre les deux continents ne sont pas fréquentes. L'introduction semble surtout possible due à l'activité humaine (exemples : échanges, activités touristiques). Les moustiques les plus répandus en Europe sont les espèces *Culex pipens* et *Aedes vexans*, tandis qu'en Amérique du Nord l'espèce la plus répandue est *Culiseta melanura*, cette dernière étant le vecteur principal d'EEEV. L'introduction de ce virus dans les populations d'oiseaux en Europe aboutirait surtout à un taux de mortalité élevé parmi les oiseaux, c'est pourquoi le virus serait vite détecté à la suite de son introduction [66].

L'introduction du virus de l'encéphalite équine du Venezuela en Europe est possible. En effet, la transmission par des rongeurs infectés, mais aussi par des oiseaux, moustiques, chevaux et humains infectés est possible. Mais les études concernant la capacité des moustiques du genre *Culex* et *Aedes* de transmettre VEEV en Europe n'ont pas encore été réalisées [66].

Concernant le virus de l'encéphalite équine de l'Ouest, son introduction est aussi possible en Europe, et ce par différents moyens d'introduction. Il est envisageable qu'une transmission par des rongeurs infectés et des oiseaux infectés puisse se faire, mais rare est la voie de migration entre l'Amérique et l'Europe. Donc la probabilité que l'introduction de ce

virus se fasse de manière naturelle reste peu probable. Mais les espèces d’oiseaux migrateurs peuvent partager des aires de reproduction avec d’autres espèces notamment en Arctique, ce qui augmenterait les chances de pouvoir échanger des arbovirus, mais cela nécessite des espèces de moustiques appropriées comme vecteurs. Une schématisation des flux de migration des oiseaux est présente en *figure 16*. Mais tout comme VEEV, les études concernant les compétences vectorielles des espèces de moustiques en Europe pour la transmission de WEEV ne sont pas encore disponibles. On rappelle que la transmission naturelle de ce virus dépend des passereaux et de petits mammifères sauvages, ces deux groupes d’animaux étant très abondants en Europe, l’hypothèse de l’introduction sur le continent européen de WEEV ne peut être écartée [66].

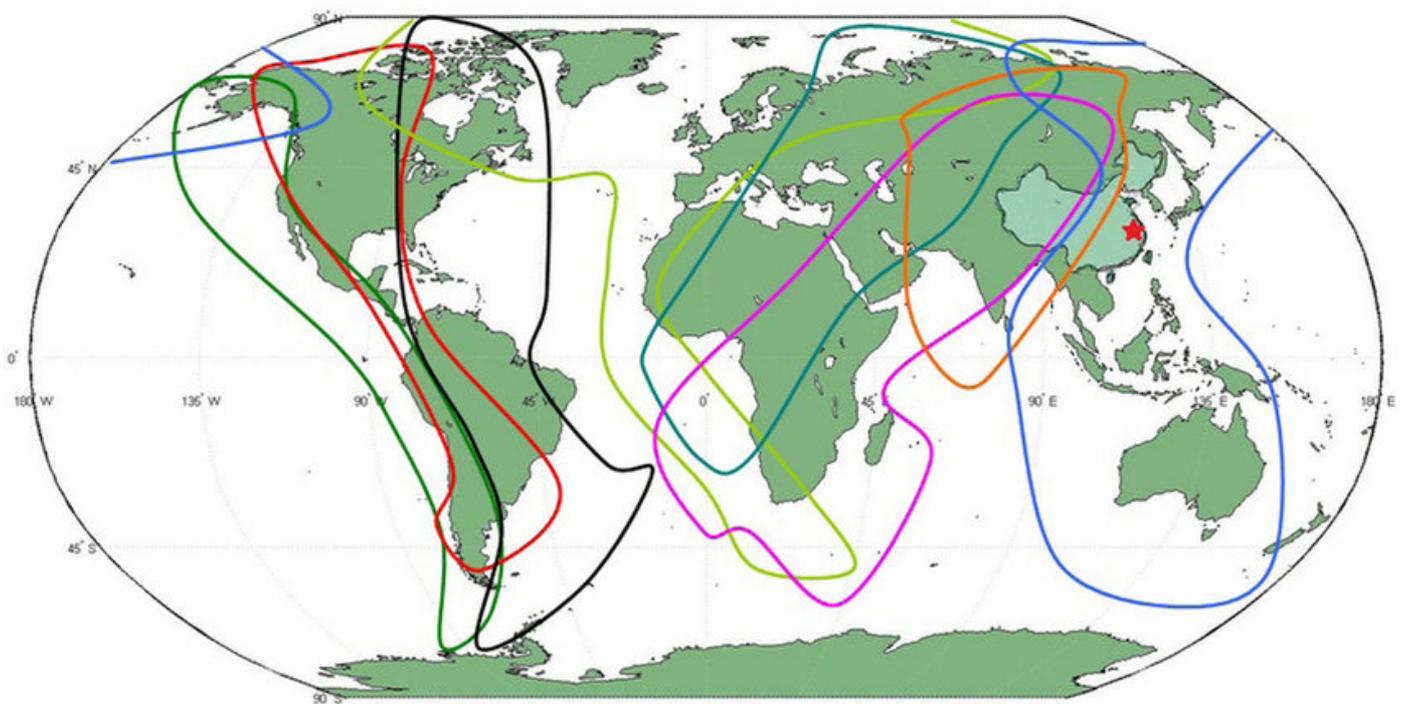


Figure 16: Carte représentant les principaux flux de migration des oiseaux [87]

Cette carte en *figure 16* vient appuyer le fait que la migration des oiseaux entre le continent américain, où circulent les trois virus d’encéphalites équine, et l’Europe est théoriquement faible. Donc l’introduction de WEEV et EEV par les oiseaux reste possible mais serait un événement exceptionnel.

b. Par importation d'animaux vivants (contrôlable)

Le risque d'introduction des virus d'encéphalites équine est possible par l'importation d'animaux sauvages. Le virus de l'encéphalite équine de l'Est semble présenter le risque d'introduction le plus élevé, tandis que WEEV possède un risque trois fois plus faible, alors que VEEV cinq fois plus faible qu'EEEV. Les territoires comme la Belgique, les Pays-Bas, l'Angleterre, le nord de l'Italie semblent être les zones qui présentent le plus grand risque d'introduction virale. Cela peut s'expliquer par leur forte urbanisation, mais aussi un volume important d'animaux exotiques transite dans ces lieux. Les volailles importées en masse aux Pays-Bas et en Belgique sont un facteur supplémentaire pour expliquer ce risque d'introduction. Ces deux pays possèdent sur leur territoire des critères favorables pour héberger des espèces de type *Culex pipiens* (vecteur surtout d'EEEV), la plus présente en Europe et notamment en milieux urbanisés, mais aussi ils possèdent une forte population de chevaux. C'est pourquoi ces zones sont considérées comme à fort risque d'introduction. L'introduction de WEEV et de VEEV est plus faible qu'EEEV car ces deux virus possèdent un problème lié à leurs vecteurs. En effet, les vecteurs moustiques potentiels de WEEV (du genre *Aedes*) sont peu présents sur le territoire européen, tout comme *Ae. albopictus* qui est le principal vecteur de VEEV. La présence d'hôtes amplificateurs tels que les chevaux qui sont présents en Europe ne suffit pas pour permettre une introduction certaine [88].

L'introduction par les petits mammifères terrestres est possible mais nécessite plus d'évaluation. En effet, ces animaux sont importés en grande partie du Japon, du Canada, des Etats-Unis, de la Suisse et de l'Égypte. Donc il existe tout de même un risque pour l'introduction de VEEV venant des Etats-Unis et de WEEV venant du Canada et des Etats-Unis [84].

Donc bien que l'introduction des différents virus d'encéphalites équine sur le territoire européen par les hôtes amplificateurs et réservoirs n'ait pas encore été observée, la transmission du virus d'Amérique à l'Europe de manière naturelle est théoriquement faible mais reste néanmoins possible.

G. Résumé des facteurs d'émergence des arbovirus

Pour que l'amplification des arbovirus progresse de manière à atteindre un niveau épidémique, il est nécessaire que les populations compétentes d'hôtes vertébrés et de vecteurs se croisent à plusieurs reprises dans un environnement qui le permet. Ce foyer de transmission peut être limité dans l'espace et dans le temps par l'écologie du virus ou de l'hôte. Sa complexité peut varier en fonction de l'épidémiologie du virus. Les zoonoses liées aux écosystèmes ruraux ou péri-urbains peuvent avoir de multiples vecteurs et infecter une multitude d'espèces hôtes vertébrés. Les anthroponoses (maladie passant du vertébré à l'humain) utilisant un environnement urbain peuvent nécessiter un vecteur anthropophile ainsi que des hôtes humains

pour l'amplification. L'homme est alors exposé aux arbovirus quand ils envahissent les milieux ruraux ou quand les vecteurs intermédiaires apportent les virus dans les milieux péri-domestiques. Mais pour de nombreuses anthroponoses, les habitations humaines constituent le foyer de transmission. Donc souvent, les arbovirus se maintiennent à des niveaux faibles, jusqu'à ce qu'un changement dans un facteur ou plusieurs facteurs facilite l'amplification rapide et généralisée. Les récents changements climatiques ainsi que les facteurs anthropogènes, d'épidémiologie et de génétique virale ont permis d'établir un début de liste mentionnant le rôle de ces changements dans l'émergence de ces arbovirus.

Les arbovirus qui émergent peuvent s'amplifier jusqu'à atteindre des niveaux épidémiques car les systèmes considérés comme naturels se sont vus perturbés par ces changements dans la génétique des virus, la composition et la dynamique des population de vecteurs et d'hôtes, et changements anthropogènes.

Souvent, les épidémies d'arbovirus émergents peuvent être liées à des changements considérés comme faibles dans la génétique virale ou à l'introduction de nouvelles souches qui ont augmenté la virulence et les niveaux de virémie chez les vertébrés. Cela permet d'élargir la gamme d'hôtes et augmente le potentiel d'amplification. Les changements génétiques peuvent améliorer la compétence des vecteurs et les taux de transmission se verront augmentés. Les modifications dans la composition des espèces d'hôtes vertébrées ou des vecteurs peuvent être liées à des changements liés à l'environnement qui permettent d'étendre d'anciens foyers de transmission ou d'en créer de nouveaux.

Les échanges liés au voyage ou au commerce y ont aussi un rôle. L'extension de l'aire de répartition des vecteurs dans des environnements dits permissifs se voit souvent accompagnée d'invasions des arbovirus qu'ils transmettent. Ces invasions sont facilitées par les voyages, le commerce, notamment concernant les routes les plus empruntées. La sensibilité d'une région donnée propice à l'invasion virale est fortement liée aux conditions environnementales. De nos jours, la durée des saisons et les limites géographiques se sont étendues à cause du réchauffement climatique de la planète. L'urbanisation croissante a entraîné des concentrations beaucoup plus élevées d'hôtes humains sensibles. Ainsi, l'émergence d'un arbovirus peut nécessiter une modification d'un ou plusieurs facteurs mentionnés précédemment.

V. Mesures pour limiter la propagation virale

1. Surveillance

Afin de prédire et de se préparer pour des épidémies futures, il est important de déterminer par exemple, des mutations touchant les vecteurs ainsi que la virémie des hôtes. Ces deux paramètres ont déjà été modifiés par une mutation des glycoprotéines de l'enveloppe. Il serait alors possible d'utiliser ces mutations pour surveiller la population virale et ainsi déterminer si des épizooties sont aptes à se reproduire dans le cas de VEE. Cette surveillance du virus chez les équidés et chez les animaux sauvages peut être un moyen efficace pour prédire l'imminence d'une épidémie.[86]

La surveillance des arbovirus est un outil essentiel à la réduction des épidémies. Car bien que difficile, le diagnostic clinique reste la meilleure approche et la moins coûteuse pour la surveillance des épidémies. Cependant, cette surveillance peut être améliorée en adoptant un système de surveillance syndromique [89], définie comme « *la collecte, l'analyse, l'interprétation et la diffusion de données de santé en temps réel ou proche du réel, dans un objectif d'identification précoce d'un impact (ou d'une absence d'impact) d'une menace potentielle sur la santé humaine ou animale dont la gestion pourrait nécessiter la mise en place d'actions de santé publique* »[90].

2. Vaccination

La mise au point de nouvelles thérapies et de vaccins sûrs et efficaces est une stratégie clé pour se préparer à de futures épidémies et à de nouvelles menaces, ce qui permettrait de se protéger contre une dissémination du virus, qu'elle soit délibérée ou non. La vaccination est une intervention pour combattre des maladies infectieuses, ce que sont les encéphalites équine de l'Est, de l'Ouest et du Venezuela. A l'heure actuelle, il n'existe pas de vaccins humains homologués disponibles pour l'utilisation chez l'humain contre les *alphavirus* encéphaliques.

A. Pour WEEV

a. Chez les équidés

La vaccination chez les équidés est efficace pour prévenir WEEV, même s'il existe des preuves indiquant qu'il existe des fenêtres de susceptibilité après la vaccination [86].

b. Chez l'humain

Le ministère de la Défense américain a mis des moyens dans l'objectif de développer des vaccins contre les *alphavirus* et ce, depuis les années 1940. Et depuis ces années, des vaccins expérimentaux ont été administrés à des travailleurs dans les laboratoires considérés à risque, dans l'Institut de Recherche Médicale des Armées aux États-Unis (USAMRIID). Cela s'est fait au sein du Programme d'Immunisation Spécial (SIP) [91]. Il s'agit du seul programme aux États-Unis qui exploite des vaccins expérimentaux pour les travailleurs dans les laboratoires qui sont exposés à des pathogènes dangereux.

Le vaccin contre WEEV a été testé initialement dans les années 1970 durant un essai clinique. Il a été testé à différentes doses chez des patients volontaires. Une réponse sérologique a été montrée en réponse à deux doses injectées. Depuis 1987, 4 lots ont été administrés lors d'essais, dont 2 en 1981, puis en 1991 et 1992 [92].

A l'heure actuelle, il n'y a pas de vaccins approuvés par la FDA pour un usage chez l'humain. Le vaccin TSI-GSD 210, reste le seul vaccin à usage humain développé et utilisé dans des essais cliniques depuis les années 1970 à l'USAMRIID. Après 50 ans, les défis posés par les vaccins comprenaient notamment la baisse des taux de réponse parmi les lots vieillissants et la détermination de la stratégie vaccinale la plus optimale. Néanmoins, cet ancien produit vaccinal s'est avéré être résistant et générant des niveaux d'immunité assez élevés pour conférer une immunité suffisante. Mais l'immunité diminue trop rapidement, ne permettant pas une protection durant suffisamment longtemps sans nécessiter de nouvelles injections récurrentes [93].

Aujourd'hui, il n'y a plus de fabricant pour ce vaccin. Il ne reste qu'un stock limité de ce vaccin, et la production actuelle de produits supplémentaires est nulle. Cela s'explique par l'interférence immunitaire après des inoculations séquentielles de vaccins contre les *alphavirus*. Une nouvelle stratégie vaccinale tend vers le développement de vaccins de nouvelle génération incluant les vaccins recombinants et expérimentaux trivalents contre les *alphavirus* (WEE, VEE et EEE) qui sont en cours de développement. Plusieurs autres candidats vaccins pour les humains sont en cours de développement chez des primates, cependant aucun essai sur l'homme n'a été publié pour le moment [94].

En résumé, le vaccin s'est avéré sûr et immunogène pendant plus de 50 ans. Il est approprié pour prévenir l'infection chez le personnel de laboratoire à risque. L'utilisation continue du vaccin est justifiée en attendant le développement d'autres alternatives vaccinales cliniquement viables et plus durables dans le temps. L'utilisation de ce vaccin pourrait être envisagée dans un contexte d'urgence uniquement [93].

B. Pour EEEV

a. Le vaccin PE-EEEV

Les vaccins pour prévenir la maladie provoquée par EEEV chez l'Homme sont actuellement indisponibles [86]. En effet, il n'existe pas de vaccins homologués pour lutter contre EEEV. Un vaccin inactivé contre ce virus, le vaccin PE-EEEV, est proposé dans le cadre de protocoles de recherche de nouveaux médicaments à l'Institut de Recherche Médicale sur les maladies infectieuses de l'armée américaine (USAMRIID) depuis 1976 [95]. Le vaccin a été étudié dans le cadre de plusieurs protocoles afin d'évaluer son innocuité et son immunogénicité. Dans tous les protocoles, à 2 ou 3 doses, des doses de rappel du vaccin ont été administrées aux personnes dont le titre post-vaccinal était insuffisant ou dont le titre a diminué jusqu'à un niveau insuffisant lors de l'évaluation annuelle [96]. L'analyse des données d'immunogénicité a montré que le vaccin EEEV a continué de fournir des niveaux d'immunité protecteurs aux travailleurs de laboratoire ayant participé de longue date aux protocoles de vaccination EEEV. Après l'administration de doses de rappel conformément aux protocoles respectifs, plus des trois quarts des titres annuels de suivi ont démontré une réponse immunitaire adéquate chez les participants à long terme. Ces résultats d'un produit vaccinal produit des décennies auparavant, bien plus longtemps que les vaccins sont généralement utilisés, suggèrent une formulation très stable [97].

Il convient de noter qu'au cours de la période de l'étude, il y a eu trois expositions professionnelles documentées à l'EEEV à l'USAMRIID, toutes chez des personnes précédemment vaccinées, et aucune n'a développé de maladie clinique. A l'heure actuelle, il n'y a pas de fabricant pour ce vaccin, le stock étant limité et la vaccination est réservée aux travailleurs de laboratoire. Il n'y a pas non plus de projet qui permettrait d'homologuer de façon commerciale le vaccin de la formulation actuelle du vaccin. D'autres formulations comportant d'autres adjuvants peuvent être fabriquées et étudiées dans l'objectif d'améliorer l'immunogénicité [97].

D'autres vaccins sont actuellement en cours de développement contre EEEV, notamment des vaccins contre l'encéphalite trivalente et des vaccins contre la salive de moustiques ciblés contre plusieurs maladies transmises par ces vecteurs, mais aucun essai humain n'a encore été publié [97].

b. Une vaccination vraiment utile ?

Comme les facteurs à l'origine des épidémies restent mal compris et que la transmission à l'homme est sporadique, l'utilité d'un vaccin homologué pour l'EEE dans la population civile reste indéterminée. Les épidémies continues d'EEE peuvent aider à mieux définir les groupes qui bénéficieraient de la vaccination. Cependant, l'utilité actuelle du vaccin du point de vue de

la santé publique et les stratégies visant à atteindre une absorption élevée parmi les groupes à haut risque nécessitent des éclaircissements supplémentaires [29]. Les campagnes de vaccination humaine pour EEEV seraient idéalement coordonnées avec les programmes de vaccination équine. L'utilisation potentielle de l'EEEV en tant qu'agent pathogène en aérosol pour le bioterrorisme et les opérations militaires reste une préoccupation importante, étant donné le manque de contre-mesures [98]. Pour l'utilisation menacée ou intentionnelle de l'EEEV, une vaccination préalable avec un vaccin efficace et accessible serait essentielle, étant donné l'absence de contre-mesures thérapeutiques et une plus grande virulence anticipée dans une attaque délibérée [95].

D'autres recherches sur un produit vaccinal EEEV inactivé pourraient inclure l'évaluation de l'efficacité de programmes de vaccination limités dans des zones définies de risque d'exposition à l'EEEV dans des situations d'épidémie. Malheureusement, l'absence de facteurs clairs à l'origine d'épidémies périodiques et le faible approvisionnement en vaccins compliquent cette approche. Un futur domaine d'étude potentiel plus important pour ce vaccin serait en tant que comparateur actif avec d'autres produits vaccinaux expérimentaux EEEV actuellement en développement, compte tenu de sa longue histoire d'innocuité et d'immunogénicité [95].

En résumé, le lot actuel de vaccin PE-6 EEEV inactivé à l'étude à l'USAMRIID est resté immunogène plus de 20 ans après sa fabrication initiale chez une majorité de personnes vaccinées après un rappel longitudinal. Le vaccin a un profil d'innocuité bien défini et généralement bénin. Compte tenu des récentes épidémies d'EEEV aux États-Unis et de la menace persistante d'une utilisation délibérée comme arme biologique en l'absence de contre-mesures spécifiques, le développement d'un vaccin EEEV autorisé devrait se poursuivre [57]. Bien que l'utilisation du vaccin actuel comme contre-mesure puisse être poursuivie dans les situations d'urgence, l'offre limitée de produits hérités et l'incapacité de produire facilement de nouveaux lots de vaccins empêchent une utilisation généralisée du vaccin PE-6 EEEV inactivé. La présente étude sert de référence importante pour la sécurité et l'immunogénicité à mesure que de nouvelles contre-mesures sont développées [95].

Il est donc peu probable que le vaccin humain devienne un jour largement disponible. Les vaccins destinés à la consommation humaine doivent passer par des essais rigoureux pour prouver leur innocuité, et le processus pourrait être trop coûteux pour une maladie aussi rare que l'EEE [99].

C. Pour VEEV

Pour VEEV, seuls des vaccins pour les animaux sont disponibles [100]. En effet, il n'existe actuellement aucun vaccin homologué à usage humain contre le VEEV approuvé par la Food and Drug Administration (FDA), l'autorité de santé des États-Unis. Plusieurs vaccins candidats contre le VEEV sont à différents stades de développement. Ces vaccins peuvent être

classés dans les catégories suivantes : virus vivant-atténué, virus inactivé, sous-unité recombinante ou virus chimérique, particules de type viral, ou immunisation passive.

Au cours des 20 dernières années, la compréhension de l'infection par le VEEV a considérablement augmenté. L'intérêt porté au VEEV en raison de son potentiel en tant qu'agent de guerre biologique a accru l'intérêt pour ce virus. Le génome ARN du VEEV est un assemblage simple brin positif de gènes nécessaires à la réplication et à l'assemblage des virions. Les protéines virales interagissent avec les protéines de l'hôte pour initier l'infection, la réplication et le contrôle du processus de traduction de l'hôte. L'efficacité d'une telle interaction détermine probablement la virulence d'une souche par rapport à l'autre. Les études menées sur diverses souches mutantes mettent en évidence l'efficacité du système de réplication du VEEV à subir des mutations ponctuelles adaptatives pour surmonter les déficiences de la réplication, et ainsi évoluer vers des phénotypes efficaces en matière de réplication. Des pressions évolutives, telles que la charge globale des protéines virales ou les changements de conformation qui permettent une meilleure interaction des protéines virales avec les protéines de l'hôte, peuvent être à l'origine des mutations adaptatives. Une compréhension plus approfondie de ces interactions entre les protéines de l'hôte et du virus peut conduire à la découverte de nouvelles cibles thérapeutiques, qui pourront ensuite déboucher sur la mise au point de médicaments contre le VEEV. Il est bien établi que l'inflammation fait partie intégrante de la réponse anti-VEEV, et qu'une inflammation excessive dans le cerveau augmente la pathologie de la maladie. Alors que les approches thérapeutiques actuelles sont centrées sur le traitement de soutien des symptômes de la maladie, les thérapies s'attaquant à l'inflammation excessive pour contrôler l'encéphalite induite par le VEEV pourraient s'avérer plus efficaces.

Plusieurs études indiquent que les glycoprotéines d'enveloppe des souches parentales de type sauvage du VEEV déclenchent la réponse immunitaire protectrice la plus efficace contre le VEEV. Les souches vivantes atténuées dérivées de la souche parentale, du vaccin chimérique ou des réplicons ont une virulence résiduelle et/ou offrent une protection moins que souhaitable contre une provocation infectieuse par le VEEV.

Par conséquent, le candidat idéal pour un vaccin VEEV sera celui qui combine la suprématie antigénique des glycoprotéines d'enveloppe de la souche parentale et la sécurité d'un virus complètement inactivé. Les progrès récents dans l'obtention de ces deux propriétés, soit par inactivation par rayonnement gamma en présence d'un complexe protégeant les protéines, soit par des candidats vaccins chimériques présentant des risques de virulence minimale, sont intéressants et offrent un potentiel prometteur pour le développement de vaccins VEEV sûrs et efficaces avec l'approbation de la FDA [101].

a. Un vaccin trivalent en développement

Un virus vaccinal, le *Modified Vaccinia Ankara* (MVA-BN) est un virus hautement atténué, déficient en réplication chez l'Homme et d'autres mammifères [102], approuvé comme

vaccin antivariolique aux États-Unis, au Canada et dans l'Union Européenne. MVA-BN présente un profil d'innocuité très intéressant car il permet de maintenir des réponses immunitaires cellulaires et humorales durables et fortes, et il permet d'exprimer de nombreux gènes étrangers, ce qui en fait une plateforme vaccinale attractive [103][104]. Cette base MVA a été utilisée pour le développement de candidats vaccins monovalents à base de MVA-BN contre les virus encéphaliques, ce qui donne MVA-VEEV, MVA-WEEV, MVA-EEEV, ainsi qu'un MVA-WEV trivalent (codant les protéines des trois virus encéphaliques dans un seul vecteur). Les essais pré-cliniques réalisés ne montrent pas d'interférences immunitaires en utilisant le vaccin trivalent, il représente ainsi un candidat vaccin prometteur pouvant être capable de protéger contre les trois virus de l'encéphalite équine [105].

b. Autres vaccins en développement

Des vaccins candidats ont été développés utilisant des techniques différentes : les virus vivants atténués, les virus inactivés, l'immunisation passive, les vecteurs viraux, et à ADN.

Les virus vivants atténués sont souvent immunogènes, induisent une réponse humorale, et ne nécessitent pas d'adjuvants pour être efficaces. Cependant, ces vaccins induisent des effets indésirables. La stabilité et la sécurité des vaccins vivants atténués ont été améliorées au fil du temps.

Les vaccins inactivés sont généralement considérés comme étant sûrs, mais l'inconvénient est que l'immunité induite ne dure pas longtemps et nécessite des injections plus fréquentes pour une efficacité sur le long terme.

L'immunisation passive avec des anticorps peut protéger contre des pathologies infectieuses, mais la protection est différente en fonction de l'épitope ciblé [106].

Les vaccins à vecteurs viraux ont l'avantage d'induire une forte réponse cellulaire due à leur habilité d'induire des antigènes cibles à l'intérieur des cellules infectées. Mais ces vaccins ont un plus haut risque d'engendrer des effets indésirables [107].

Les vaccins à plasmides ADN sont généralement sûrs. Ils peuvent rapidement générer des nouvelles séquences virales qui correspondent à des souches virales épidémiques, ce qui représente un avantage. Cette dernière technique est actuellement très intéressante [106].

Les vaccins qui sont en développement présentent une multitude d'effets indésirables et ne proposent pas une protection très efficace. Les vaccins candidats présentent des inconvénients qui nécessitent des travaux supplémentaires notamment pour passer des essais pré-cliniques sur les animaux à des essais chez l'Homme.

Les stratégies de développement de vaccins peuvent donner la priorité à une immunité protectrice qui peut réduire les menaces qui représentent ces maladies pour la santé mondiale, notamment concernant les virus émergents et les zoonoses. En outre, la formulation des vaccins

sont des aspects importants à prendre en compte, car ils influencent la tolérance et la sécurité. Les méthodes de formulation et d'administration à dose unique sont préférables aux vaccins nécessitant des doses multiples.

D. Mesures pour prévenir les infections

a. Contrôle vectoriel

Le contrôle des vecteurs est la première approche accessible pour contrôler plusieurs des maladies vectorielles, y compris le VEEV [108]. La lutte antivectorielle est donc actuellement la seule méthode disponible pour protéger l'Homme. La lutte antivectorielle vise à limiter la transmission des agents pathogènes en réduisant ou en éliminant le contact de l'homme avec les vecteurs.

Il existe une large gamme d'outils de lutte antivectorielle, que l'on peut classer en deux grandes catégories : les outils chimiques et les outils non chimiques. Les moyens visant les vecteurs immatures peuvent agir en détruisant les stades immatures (par exemple, larvicides chimiques ou biologiques et espèces prédatrices) ou en supprimant les habitats aquatiques viables (par exemple, modification ou manipulation de l'habitat). Les moyens orientés vers les vecteurs adultes fonctionnent en détruisant le vecteur (par exemple, pulvérisation résiduelle à l'intérieur [IRS], pulvérisation spatiale) et en réduisant le contact du vecteur (succès de la prise de sang) avec les hôtes réservoirs humains et animaux (par exemple, répulsifs topiques, moustiquaires domestiques, moustiquaires imprégnées d'insecticide, colliers pour chiens imprégnés d'insecticide).

Plusieurs nouveaux outils de lutte contre les vecteurs sont également en cours de développement, par exemple la manipulation génétique des moustiques, l'infection bactérienne des vecteurs (par exemple *Wolbachia*) et les gouttières traitées à l'insecticide. Les nouvelles stratégies les plus importantes, qui n'ont pas encore été mises en œuvre de manière appropriée contre le VEEV, sont le *gene drive*, *Wolbachia*, les répulsifs spatiaux et les tubes d'avant-toit [108].

b. Le guidage génétique

Le guidage génétique est une méthode d'altération génétique qui peut être utilisée pour diffuser des caractéristiques favorables à travers des populations de moustiques transmettant le paludisme qui se croisent, mais qui doit encore être prouvée sur *Culex* [109]. Cette technique peut être utilisée pour le remplacement de populations (réduction de la capacité des moustiques à transmettre un agent pathogène) ou la suppression de populations (réduction de la taille de la population de vecteurs, par exemples en réduisant la fertilité des femelles) [108]. Bien que cette

méthode soit surtout utilisée pour lutter contre le paludisme, cela peut être une méthode utilisable sur des moustiques vecteurs des encéphalites équine, qui sont surtout les *Culex spp.*

c. Utilisation de *Wolbachia*

Wolbachia est un genre de bactérie qui infecte naturellement certaines espèces d'insectes mais qui n'est normalement pas présent chez les moustiques. L'introduction de *Wolbachia* dans les moustiques *Aedes* permet de réduire la transmission de la dengue et d'autres arbovirus à l'homme, en entraînant une diminution des descendants viables (cf *Figure 17*). Les moustiques porteurs de *Wolbachia* sont relâchés par des équipes de terrain et s'accouplent avec la population de moustiques sauvages, et avec le temps le pourcentage de moustiques porteurs de *Wolbachia* augmente [110].

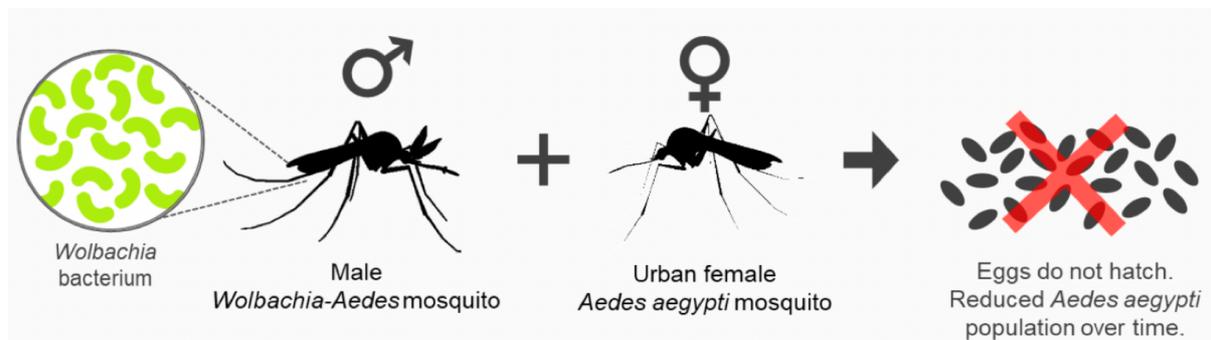


Figure 17 : Méthode *Wolbachia* [111]

(Male: mâle; Mosquito : moustique ; Urban female: femelle urbaine; Eggs do not hatch: oeufs n'éclosent pas; Reduced population over time: population réduite dans le temps)

Concernant la méthode *Wolbachia* présentée en figure 17, le bacterium est introduit dans les hôtes males, qui vont ensuite s'accoupler à une femelle sans *Wolbachia*, produisant ainsi une ponte non viable, réduisant alors la population de moustiques.

Quand *Wolbachia* pénètre dans ces vecteurs de manière non naturelle, cela provoque une diminution de leur espérance de vie, il s'agit donc d'une méthode efficace pour combattre des pathogènes humains. De plus, cette bactérie permet de bloquer l'infection de l'hôte moustique par les différents pathogènes [112]. Cette stratégie fonctionne pour lutter contre le paludisme, et peut être à terme un moyen envisagé pour lutter contre les virus provoquant VEE, EEE et WEE par l'introduction de *Wolbachia* dans les moustiques vecteurs provoquant leur propagation.

d. Autres mesures

Il existe différentes mesures afin de participer à la lutte contre ces maladies encéphaliques qui ne sont pas d'ordre thérapeutique et médicamenteuse. Par exemple, réduire l'exposition aux moustiques est la meilleure défense contre l'infection par le VEE et les autres virus transmis par les moustiques. Il existe plusieurs mesures que les personnes peuvent prendre pour prévenir et contrôler les maladies transmises par les moustiques. Pour cela, il est essentiel de prévenir les piqûres de moustiques, et différentes méthodes sont utiles pour essayer d'y parvenir.

L'utilisation d'un répulsif à moustiques est une méthode simple et efficace. Lorsque la personne est à l'extérieur, elle peut utiliser un insectifuge contenant du DEET (N,N-Diéthyl-3-méthylbenzamide), de la picaridine, de l'IR3535 (butylacétylamino propanoate d'éthyle) ou de l'huile d'eucalyptus citronné sur la peau exposée et/ou les vêtements. Le répulsif/insecticide perméthrine peut être utilisé sur les vêtements pour les protéger pendant plusieurs lavages. Cependant certaines recommandations sont à respecter, les insectifuges ne doivent pas être utilisés sur les enfants de moins de 2 mois et l'huile d'eucalyptus citronnée ne doit pas être utilisée sur les enfants de moins de 3 ans.

Mais aussi, le port de vêtements de protection dont des manches longues et pantalons. L'installation de moustiquaires solides et intactes sur les fenêtres et les portes pour empêcher les moustiques d'entrer est une autre mesure tout comme l'utilisation de la climatisation si possible.

Les moustiques peuvent pondre des œufs même dans de petites quantités d'eau stagnante. Des mesures peuvent être prises pour limiter les moustiques sur les propriétés et les empêcher de pondre chez les habitants. Cela peut consister à vider l'eau stagnante des pots de fleurs, des seaux, des barils et des pneus, à changer l'eau dans les plats des animaux domestiques et remplacer l'eau des bains d'oiseaux chaque semaine. Pour aller plus loin, il est possible de percer des trous dans les balançoires à pneus pour que l'eau s'écoule et de vider les pataugeoires et les brouettes des enfants, de débarrasser les récipients qui retiennent l'eau et qui se sont accumulés sur les propriétés, notamment les pneus usagés. Nettoyer les déchets et les feuilles qui peuvent se trouver autour des maisons ou dans les gouttières au moins une fois par an peut s'avérer utile également ainsi que nettoyer et chlorer les piscines qui ne sont pas utilisées. Les moustiques peuvent même se reproduire dans l'eau qui s'accumule sur les couvertures de piscine [113].

Les répulsifs spatiaux sont des composés qui empêchent les vecteurs de pénétrer dans les espaces occupés par un hôte humain potentiel afin de réduire les rencontres entre le vecteur et l'hôte. Autre stratégie, les tubes d'avant-toit sont de petits tubes en plastique possédant un filet électrostatique chargé d'insecticide qui sont insérés dans le mur de la maison, sous le toit. Les moustiques sont attirés vers la maison par l'hôte à l'extérieur qui émane des tubes d'avant-toit et sont tués après être entrés en contact avec le filet traité à l'insecticide [108].

E. Vaccination des équidés

La vaccination est la seule méthode disponible pour protéger les chevaux contre EEEV maladie. Les vaccinations doivent être administrées par un vétérinaire agréé afin de garantir l'utilisation d'un vaccin viable et l'administration correcte des injections. Les erreurs de protocole de vaccination commises par des propriétaires de chevaux bien intentionnés peuvent se traduire par une protection inefficace chez un animal que l'on croyait sans risque. Trop souvent, les chevaux vaccinés par leur propriétaire développent des cas manifestes indiquant que l'animal n'a pas été correctement vacciné ou qu'il a été vacciné avec un vaccin qui a perdu ses propriétés protectrices.

Les vaccins correctement administrés ne sont efficaces que pendant un an. Les rappels sont donc nécessaires chaque année. Les animaux nouvellement vaccinés doivent recevoir une série de deux injections à 2-4 semaines d'intervalle avant que la protection ne soit garantie. Les poulains doivent être revaccinés pendant l'été pour garantir une protection pendant la première année de leur vie. Il est recommandé, en cas d'épidémie automnale, de rappeler les chevaux vaccinés en mars plus tard dans la saison [114].

La plupart des vaccins contre les encéphalites équine sont fabriqués à partir de virus produits sur culture cellulaire puis inactivés par le formol, les vaccins à virus atténué n'ayant pas donné satisfaction. Il est possible d'effectuer une vaccination des populations susceptibles avec un vaccin monovalent, bivalent ou trivalent (EEEV, WEEV et VEEV). Il existe également aux Etats-Unis des vaccins présentant plusieurs combinaisons avec en plus une protection contre le tétanos, la grippe et/ou la maladie à virus West Nile. Cette vaccination polyvalente a l'avantage de provoquer une augmentation de la production d'anticorps spécifiques contre ces trois virus. Les Alphavirus étant structurellement très proches, un vaccin mono- ou plurivalent procure une protection partielle contre d'autres Alphavirus : c'est le cas des vaccins contre les EEEV et WEEV vis-à-vis du VEEV. Néanmoins, si l'on doit vacciner contre l'encéphalite vénézuélienne, il est plus judicieux d'administrer les trois simultanément du fait de la distribution géographique des virus des encéphalites américaines et de l'encéphalite vénézuélienne. En effet, la réponse au vaccin monovalent contre l'encéphalite vénézuélienne est diminuée chez les chevaux préalablement vaccinés contre les encéphalites équine américaines.

La vaccination doit être terminée à la fin du printemps ou plusieurs mois avant le début de la saison des encéphalites. Le vaccin est cependant très faiblement immunogène. Ainsi, les anticorps ne semblent persister à un titre protecteur que pendant 6 à 8 mois. Dans les lieux où la saison des moustiques est plus longue ou continue, une vaccination biannuelle ou tri-annuelle est donc conseillée. De même la vaccination des populations équine sensibles est recommandée lors d'un début d'épizootie. Les cas de chevaux vaccinés développant la maladie concernent le plus souvent les très jeunes ou les chevaux plus âgés. La vaccination des juments gestantes un mois avant le poulinage permet d'augmenter les concentrations en anticorps dans

le colostrum. Les concentrations en anticorps chez les poulains nouveau-nés, nés de mère immunisée, persistent six à sept mois. La primo-vaccination peut être effectuée à tout âge, mais les poulains vaccinés tôt doivent avoir un rappel à six mois puis à un an afin d'avoir une protection efficace [84].

F. Détection virale

La menace croissante des maladies à transmission vectorielle souligne l'importance des systèmes de surveillance des vecteurs et des tests de diagnostic pour la détection précoce des agents pathogènes. L'identification rapide du virus responsable de l'encéphalite équine améliorera l'efficacité de nombreuses mesures de contrôle de la maladie. Des tests de laboratoire sont généralement nécessaires pour confirmer l'étiologie de la maladie, car pour les encéphalites équines le diagnostic clinique est peu fiable en raison de signes cliniques qui se chevauchent [115].

Les tests de diagnostic des arbovirus équins présentent un certain nombre de limites spécifiques à la maladie. Pour de nombreuses maladies, la détection de l'acide nucléique du virus est désormais préférée à l'isolement traditionnel du virus. Certains arbovirus sont facilement détectés dans le sang à l'aide de techniques basées sur la réaction en chaîne par polymérase (PCR). Par exemple, pour le VEEV, la virémie survient au début de la pyrexie et dure de 5 à 6 jours [116].

a. Méthode ELISA

Chez les patients atteints d'EEE, le diagnostic est généralement établi par la détection d'anticorps IgM contre le virus dans le sérum ou le liquide céphalo-rachidien. Ce test peut être proposé par de nombreux laboratoires, notamment aux Etats-Unis. Un test ELISA de capture des IgM est généralement la première étape du processus de test : s'il est positif, un test de neutralisation par réduction de plaque (PRNT) peut être utilisé pour confirmer la présence d'anticorps neutralisants spécifiques de l'EEEV et pour distinguer les anticorps de l'EEEV des anticorps d'autres *alphavirus* tels que le virus du Chikungunya et le VEEV.

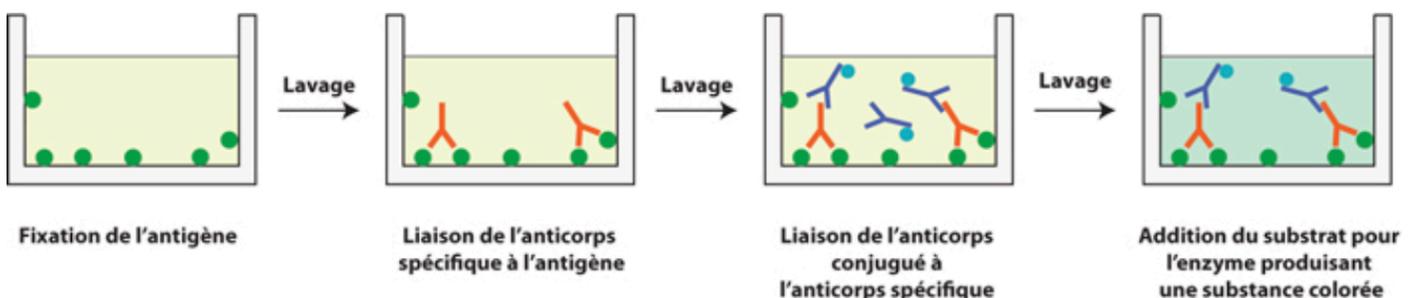


Figure 18 : Méthode ELISA [117]

Concernant la méthode présentée en *figure 18*, un antigène est fixé dans le puit, puis on lie cet antigène à un anticorps qui sera ensuite lié à un complexe anticorps conjugué qui sera alors additionné à un substrat pour permettre de quantifier les anticorps.

Dans le PRNT, le sérum du patient est mélangé à un échantillon du virus à identifier (dans ce cas, l'EEEV). Si des anticorps neutralisants du virus sont présents dans le sérum, ils se lieront au virus et l'inactiveront. L'échantillon est ensuite ajouté à une monocouche de cellules : si le virus a été inactivé par les anticorps présents dans le sérum, il sera empêché d'infecter les cellules de la monocouche et le nombre de "plaques" (zones de cellules infectées) sera réduit. Les CDC propose également des tests post-mortem spécialisés, notamment l'amplification de l'acide nucléique, l'immunohistochimie et la culture virale, pour les cas où un diagnostic suspect d'EEE reste non vérifié au moment du décès [48].

b. La méthode ELISA-array

L'établissement de méthodes précises et faciles pour détecter ces virus est essentiel pour la prévention et le traitement des maladies infectieuses associées. Actuellement, il n'existe pas encore de méthodes de détection d'antigènes multiples disponibles en clinique. Une matrice ELISA, qui détecte de multiples antigènes, est facile à manipuler et peu coûteuse, a un énorme potentiel dans la détection des agents pathogènes. Le test ELISA-array est basé sur un format ELISA "sandwich" et consiste en des anticorps viraux imprimés directement sur des plaques de microtitration à 96 puits, permettant la détection directe de 5 virus. Le test ELISA-array développé s'est avéré avoir une spécificité similaire et une sensibilité supérieure par rapport aux tests ELISA conventionnels. Cette méthode a été validée par différentes cultures virales et trois œufs de poule inoculés avec du sérum de patients infectés. La matrice ELISA développée est sensible et facile à utiliser, ce qui pourrait avoir un potentiel pour une utilisation clinique [118].

Pour être largement utilisé en milieu clinique, le système de détection doit être facile à utiliser et peut être réalisé par un personnel non formé ayant peu d'expérience en laboratoire et en expérimentation. En outre, lorsque le volume des échantillons cliniques est limité et qu'un nombre croissant d'agents pathogènes par échantillon doit être testé, le système de détection doit être à haut débit pour permettre la détection de plusieurs agents pathogènes simultanément. La détection multiple, la facilité d'utilisation et le coût abordable sont des exigences pour les méthodes de détection dans le contexte clinique. Ainsi, une matrice ELISA, qui combine les avantages de l'ELISA et de la matrice de protéines, répond à ces exigences [119][118].

Un ELISA conventionnel est une méthode standard dans de nombreux laboratoires de diagnostic. La comparaison entre le test ELISA-array et un test ELISA conventionnel et confirmé montre que l'avantage du test ELISA-array est évident avec une spécificité comparable et une sensibilité supérieure à celle du test ELISA. Le temps requis pour le test ELISA-array est significativement plus court que pour le test ELISA conventionnel (4 h contre un minimum de 6 h, respectivement). En outre, il faut moins d'IgG pour l'impression que pour

le revêtement des plaques ELISA. L'enrobage d'un seul puits dans une plaque de microtitration nécessite 100 µl d'une solution d'anticorps de 1 µg/ml, ce qui équivaut à 100 ng d'IgG. Pour la matrice ELISA, seulement 30 microlitre d'une solution d'anticorps de 50 µg/ml sont nécessaires pour chaque point, ce qui équivaut à 1,5 ng d'IgG. Grâce à ses caractéristiques de facilité d'utilisation, de sensibilité, de spécificité et de précision, le test ELISA-array serait largement accepté pour une utilisation clinique [118].

c. Importance du diagnostic

Il est pertinent de se demander à quoi sert le test de dépistage de l'EEV alors qu'il n'y a aucun traitement spécifique proposé aux patients. L'identification de l'EEV chez les patients atteints d'encéphalite présente cependant plusieurs avantages importants.

Presque tous les patients hospitalisés pour une méningo-encéphalite aiguë (fièvres, maux de tête, confusion, modifications de l'état mental, convulsions, etc.) aux Etats-Unis par exemple sont soumis à une vaste thérapie antimicrobienne, qui inclut généralement l'acyclovir, un médicament antiviral qui traite le virus de l'herpès simplex, une cause courante d'encéphalite qui est dévastatrice si elle n'est pas traitée. Tous ces antimicrobiens ont des effets secondaires et des risques (l'acyclovir, par exemple, peut être toxique pour les reins), et la thérapie antibactérienne à large spectre contribue au développement de la résistance. Une fois le diagnostic d'EEE posé, ces agents peuvent être arrêtés (à moins que l'on ne s'inquiète d'une infection secondaire), ce qui minimise les toxicités inutiles.

Ensuite, fournir des informations à la famille et aux soignants est une raison importante. L'apparition soudaine d'une EEE neuroinvasive peut être dévastatrice pour les familles et les amis des patients infectés, qui voient leur proche perdre brusquement sa vigilance, sa coordination et sa capacité à communiquer. Compte tenu de son pronostic généralement défavorable chez les adultes, le diagnostic d'EEE n'est pas forcément encourageant pour les familles. Savoir ce qui cause les symptômes d'un proche peut aider les soignants et les membres de la famille à comprendre l'évolution de la maladie, à savoir comment l'infection a été contractée, et à se concentrer sur le soutien du patient et d'eux-mêmes plutôt que d'attendre un diagnostic [48].

G. Peut-on vraiment lutter contre les maladies à arbovirus ?

L'ampleur et la profondeur de la surveillance des arbovirus diffèrent selon les régions, et plusieurs zones sont totalement dépourvues de surveillance. Il existe également un manque d'expertise interdisciplinaire sur les maladies à arbovirus, la compréhension de leurs vecteurs et l'épidémiologie. En outre, seul un petit nombre de maladies à arbovirus peuvent être prévenues à l'aide de vaccins ou de médicaments antiviraux spécifiques, et il existe peu de

réactifs de diagnostic validés, permettant de suivre l'évolution et le contrôle de la maladie. En attendant que de tels réactifs de contrôle des maladies soient disponibles, l'alternative la plus efficace est de se concentrer sur des procédures pratiques pour réduire les risques d'exposition aux arthropodes qui sont les vecteurs de ces maladies [120].

Il est utile de se demander si le fait de développer des vaccins ou des médicaments antiviraux pour prévenir ou traiter les humains contre des infections par des arbovirus pathogènes permettrait-il de résoudre les problèmes liés aux arbovirus émergents. Malheureusement, la solution ne semble pas être aussi simple. Il est à noter qu'à l'avenir, en raison de leur taux de mutation élevé, de nombreux nouveaux arbovirus pathogènes apparaîtront, même s'ils n'existent pas actuellement sous forme de souches épidémiques dans l'environnement sylvatique. Il devient également clair que les moustiques sont porteurs d'un grand nombre de virus connus et inconnus qui infectent les humains, les primates, les mammifères, les oiseaux, les insectes et les plantes [121].

Par conséquent, est-il indispensable d'éradiquer les arthropodes à l'échelle mondiale ? La réponse se verrait être un non catégorique. Cela aurait un impact catastrophique sur la survie de nombreuses espèces sauvages [122]. Cependant, la mise en œuvre de mesures temporaires et localisées de lutte contre les arthropodes pendant les épidémies, par exemple dans les zones urbanisées à forte densité, peut encore jouer un rôle important mais transitoire dans la réduction de l'impact sur les humains et les animaux des arbovirus émergents [120].

H. Conclusion

Plusieurs vaccins contre l'EEV sont en cours de développement. Cependant, la nature de la maladie n'incite pas forcément à passer à un stade avancé de développement et à l'homologation : les épidémies sont rares, brèves et localisées, et elles se produisent sporadiquement dans des endroits imprévisibles, ce qui rend difficile l'identification d'une population cible appropriée pour la vaccination. Ces vaccins pourraient toutefois être utiles pour les personnes à haut risque professionnel, comme les employés de laboratoire, par exemple, comme c'est le cas pour un vaccin expérimental de première génération contre l'EEV, actuellement disponible dans le cadre d'un programme de recherche de nouveaux médicaments de l'armée américaine.

En l'absence de vaccins ou de traitements spécifiques, les services de santé des états américains et des collectivités locales peuvent donner l'alerte en cas d'infection humaine imminente en surveillant les équidés, les oiseaux et les moustiques ; cependant, même ces outils de prévention peu efficaces sont constamment menacés par le sous-financement des efforts de santé publique dans le pays, ce qui n'est pas mieux dans les autres pays du continent.

Malheureusement, la capacité des États-Unis à contrôler les maladies arbovirales n'est pas encore la plus efficace, c'est aussi le cas pour tous les autres qui présentent des cas d'encéphalites équine. De multiples virus potentiellement mortels sont constamment présents

dans des foyers enzootiques aux États-Unis et dans le monde. Les effets du climat et de la météo, tels que les changements de chaleur et de précipitations et leur impact sur les variables associées aux virus, aux vecteurs et aux vertébrés, sont une source d'inquiétude supplémentaire, car ils peuvent affecter les cycles de vie et la distribution géographique des arthropodes vecteurs et les modes de transmission virale. Étant donné la quasi-certitude des émergences futures, les arbovirus constituent un danger réel et actuel. Bien que l'EEE ne soit pas encore une maladie d'importance nationale majeure, les pics de cas de ces dernières années a révélé une préparation inadéquate aux menaces de maladies émergentes.

Bien que la meilleure façon de répondre à ces menaces ne soit pas entièrement claire, il serait irresponsable de les ignorer complètement et de ne rien faire. Le contrôle des épidémies virales futures doit se baser sur l'identification de stratégies appropriées qui sont déjà appliquées pour d'autres épidémies connues.

CONCLUSION

L'émergence des virus de l'encéphalite équine de l'Est (EEEV), avec une distribution nord-américaine, et de l'encéphalite équine du Venezuela (VEEV), avec une distribution en Amérique latine, peut s'expliquer par différents facteurs. Pour VEEV, l'émergence des épidémies par ce virus s'explique en grande partie par des facteurs génétiques. En effet, au fil du temps il a été observé que ce virus est passé d'une forme équine enzootique à une forme épizootique. Des mutations des glycoprotéines de l'enveloppe de ce virus a permis le passage à une forme épidémique plus virulente, par conséquent cela facilite les infections et donc favorise l'apparition d'une épidémie. Une adaptation virale aux vecteurs épizootiques a permis de favoriser également les épidémies. Concernant EEEV, l'abondance des vecteurs qui transmettent la maladie est un des facteurs importants permettant d'expliquer une augmentation des cas d'EEE sur le territoire américain. Également, les plantations d'arbre dans certains états américains et la présence de zones humides favorisent la prolifération des moustiques qui sont les vecteurs du virus.

En revanche, la diminution des cas d'encéphalites causées par WEEV reste difficilement explicable. Certains facteurs peuvent être des pistes pour expliquer ce déclin d'épidémie au fil du temps. Une des causes pouvait être un arrêt de la circulation enzootique des moustiques vecteurs, mais cette hypothèse a été réfutée. Le facteur climatique a aussi été étudié, une augmentation des températures diminuerait le taux de survie des moustiques adultes présents dans le Sud des Etats-Unis et augmenterait la survie des moustiques présents dans les régions plus froides du pays. Cette contradiction ne permet pas alors d'expliquer la diminution des cas. Le facteur le plus probable serait une mutation génétique qui aurait provoqué un changement de lignée virale à la seconde moitié du 20^{ème} siècle qui aurait diminué la virulence et la résistance virale. Cette explication reste cependant hypothétique encore à l'heure actuelle car il existe peu de données à ce sujet. La diminution du virus chez les équidés s'explique par l'utilisation de vaccins. D'autres facteurs peuvent permettre d'expliquer ce déclin comme l'amélioration des structures d'habitations permettant aux moustiques de rentrer plus difficilement dans les foyers ou l'utilisation de l'air conditionné, mais ce qui reste en contradiction avec les moustiques responsables des infections d'EEE et de VEE. D'autres études seront nécessaires pour permettre d'expliquer réellement ce qui cause la diminution des cas de WEE.

Globalement, la possibilité d'autres épidémies liées à ces arbovirus est réelle. Certains facteurs sont favorables à ce cas de figure comme l'influence du climat, les facteurs anthropogènes dont l'urbanisation qui permet aux villes de se rapprocher de zones forestières, par exemple, qui sont des habitats des moustiques vecteurs. L'impact de la mondialisation avec l'augmentation des voyages et des flux de transports sont favorables à une dissémination plus large des maladies vectorielles. De plus, les accidents viraux qui peuvent voir lieu dans les laboratoires peuvent également être une source de transmission de ces maladies. Cependant,

une introduction des encéphalites équine étudiées en Europe reste théoriquement très faible mais est toutefois considérée comme possible par des moyens contrôlables comme l'importation d'animaux, ou par des moyens non contrôlables comme les transmissions naturelles.

Des mesures permettent de contrôler ces épidémies. Une surveillance des cas ainsi que des moyens de détection adéquats sont des éléments qui permettent de comprendre l'évolution des épidémies et permettent de mettre en place des mesures adaptées. Différentes mesures sont testées mais restent théoriques, car testées sur d'autres virus. Des moyens thérapeutiques comme l'utilisation de vaccins fait ses preuves chez la population d'équidés, cependant les vaccins chez les humains ne sont pas encore au point, donc ça ne représente pas un moyen actuel de réellement contrer de futures infections par ces virus. D'autres moyens plus classiques comme l'utilisation de répulsifs ou des méthodes pour empêcher des piqûres de moustiques restent possibles, mais une communication sur le sujet permettrait réellement de sensibiliser les populations à ces sujets.

Il est alors intéressant de s'interroger s'il est vraiment possible de contrer ces encéphalites équine. En effet, même si certains moyens permettent en théorie de contrôler les cas d'épidémies, ils restent utiles sur le court terme uniquement. Des moyens préventifs sur le long terme doivent se développer comme les vaccins à usage humain disponibles pour les populations. A l'heure actuelle, ces encéphalites restent finalement sans contre-mesures véritablement efficaces.

BIBLIOGRAPHIE

- [1] J. CASALS, « CHAPTER 9 - Arboviruses: Incorporation in a General System of Virus Classification », in *Comparative Virology*, Academic Press, 1971, p. 307-333. doi: 10.1016/B978-0-12-470260-8.50014-2.
- [2] G. KUNO et G.-J. J. CHANG, « Biological Transmission of Arboviruses: Reexamination of and New Insights into Components, Mechanisms, and Unique Traits as Well as Their Evolutionary Trends », *Clin. Microbiol. Rev.*, vol. 18, n° 4, p. 608-637, oct. 2005, doi: 10.1128/CMR.18.4.608-637.2005.
- [3] S. MARCHI, C. M. TROMBETTA, et E. MONTOMOLI, « Emerging and Re-emerging Arboviral Diseases as a Global Health Problem », *Public Health - Emerg. Re-Emerg. Issues*, nov. 2018, doi: 10.5772/intechopen.77382.
- [4] B. HOLLIDGE, F. GONZALES-SACARNO, et S. SOLDAN, « Arboviral Encephalites: Transmission, Emergence, and Pathogenesis », *J. Neuroimmune Pharmacol. Off. J. Soc. NeuroImmune Pharmacol.*, vol. 5, p. 428-42, sept. 2010, doi: 10.1007/s11481-010-9234-7.
- [5] E. HANNOUN CLAUDE S, « ARBOVIRUS », *Encyclopædia Universalis*. <https://www.universalis.fr/encyclopedie/arbovirus/> (consulté le 18 juin 2020).
- [6] B. BIARDEAU, « Classification et répartition mondiale des arbovirus - Actualités sur les arboviroses », *Camip.info Revue de la Santé au travail*, 15 mars 2012. <http://www.camip.info/colloques-congres/comptes-rendus/archives/Archives-2012/Actualites-sur-les-arboviroses/Classification-et-repartition> (consulté le 18 juin 2020).
- [7] H. TOLOU, « Arbovirus : classification et répartition mondiale. », Institut de recherche biomédicale des armées, Brétigny sur Orge, Ecole du Val-de-Grâce, 15 mars 2012. [En ligne]. Disponible sur: <http://www.infectiologie.com/UserFiles/File/medias/diaporamas/CEMI/2012/2012-CEMI-tolou.pdf>
- [8] N. LEVEQUE et M. GARCIA, « Arbovirus- référentiel de virologie », décembre 2016, Consulté le: 18 juin 2020. [En ligne]. Disponible sur: https://www.sfm-microbiologie.org/wp-content/uploads/2019/02/VIRUS_ARBOVIRUS.pdf
- [9] R.Y. ONG et F.M. LUM, « Figure 2. Transmission cycles of arboviruses. Pathogenic flavi-and... », *ResearchGate*, mars 2014. https://www.researchgate.net/figure/Transmission-cycles-of-arboviruses-Pathogenic-flavi-and-alpha-viruses-are-usually_fig2_269483574 (consulté le 20 juin 2020).
- [10] S. C. WEAVER, C. FERRO, R. BARRERA, J. BOSHELL, et J.-C. NAVARRO, « Venezuelan Equine Encephalitis », *Annu. Rev. Entomol.*, vol. 49, n° 1, p. 141-174, 2004, doi: 10.1146/annurev.ento.49.061802.123422.
- [11] SWISS INSTITUTE OF BIOINFORMATICS, « Alphavirus, Virion~ ViralZone », *ViralZone*, 2017. https://viralzone.expasy.org/625?outline=all_by_species (consulté le 26 juin 2020).
- [12] USDA - United States Department of Agriculture; Foreign Animal Disease Preparedness & Response Plan, « Venezuelan equine encephalomyelitis standard operating procedures: 1. Overview of etiology and ecology », août 2013, Consulté le: 19 juillet 2020. [En ligne]. Disponible sur: https://www.aphis.usda.gov/animal_health/emergency_management/downloads/sop/sop_vee_e-e.pdf

- [13] A. C. BRAULT, A. M. POWERS, et S. C. WEAVER, « Vector Infection Determinants of Venezuelan Equine Encephalitis Virus Reside within the E2 Envelope Glycoprotein », *J. Virol.*, vol. 76, n° 12, p. 6387-6392, juin 2002, doi: 10.1128/JVI.76.12.6387-6392.2002.
- [14] GLOBAL SECURITY, « VEE virus- Biological Weapons », *GlobalSecurity.org*. https://www.globalsecurity.org/wmd/intro/bio_vee.htm (consulté le 11 juillet 2020).
- [15] M. A. ZACKS et S. PAESSLER, « ENCEPHALITIC ALPHAVIRUSES », *Vet. Microbiol.*, vol. 140, n° 3-4, p. 281, janv. 2010, doi: 10.1016/j.vetmic.2009.08.023.
- [16] N. L. FORRESTER, J. WERTHEIM, V. DUGAN, A. AUGUSTE, L. DAVID, A.P. ADAMS, R. CHEN, R. GORCHAKOV, G. LEAL, J.G. ESTRADA-FRANCO, J. PANDYA, R. HALPIN, K. HARI, R. JAIN, T. STOCKWELL, S. DAS, D. WENTWORTH, M. SMITH, S. KOSAKYOSHKI, S. WEAVER, « Evolution and spread of Venezuelan equine encephalitis complex alphavirus in the Americas », *PLoS Negl. Trop. Dis.*, vol. 11, n° 8, août 2017, doi: 10.1371/journal.pntd.0005693.
- [17] M. PFEFFER et G. DOBLER, « Emergence of zoonotic arboviruses by animal trade and migration », *Parasit. Vectors*, vol. 3, n° 1, Art. n° 1, déc. 2010, doi: 10.1186/1756-3305-3-35.
- [18] C. FERRO, J. BOSHELL, A. MONCAYO, M. GONZALES, M. AHUMADA, W. KANG et S. WEAVER, « Natural Enzootic Vectors of Venezuelan equine encephalitis virus in the Magdalena Valley, Colombia », *Emerg. Infect. Dis.*, vol. 9, n° 1, p. 49, janv. 2003, doi: 10.3201/eid0901.020136.
- [19] C. L. GARDNER, C. W. BURKE, M. Z. TEFAY, P. J. GLASS, W. B. KLIMSTRA, et K. D. RYMAN, « Eastern and Venezuelan Equine Encephalitis Viruses Differ in Their Ability To Infect Dendritic Cells and Macrophages: Impact of Altered Cell Tropism on Pathogenesis », *J. Virol.*, vol. 82, n° 21, p. 10634-10646, nov. 2008, doi: 10.1128/JVI.01323-08.
- [20] AGENCE DE LA SANTE PUBLIQUE DU CANADA, « Fiche Technique Santé-Sécurité : Agents Pathogènes – Virus de l'encéphalite équine du Venezuela », *aem*, 25 septembre 2001. <https://www.canada.ca/fr/sante-publique/services/biosecurite-biosurete-laboratoire/fiches-techniques-sante-securite-agents-pathogenes-evaluation-risques/virus-encephalite-equine-venezuela.html> (consulté le 6 juillet 2020).
- [21] E. SALLAR, « Les interférons de type I et III : des effecteurs de l'immunité innée antivirale », *Planet-Vie*. <https://planet-vie.ens.fr/thematiques/animaux/systeme-immunitaire/les-interferons-de-type-i-et-iii-des-effecteurs-de-l> (consulté le 6 juillet 2020).
- [22] K. Y. JOHNSON et P. M. NOLAN, "*Biological Weapons: Recognizing, Understanding, and Responding to the Threat*". John Wiley & Sons, 2016.
- [23] N. C. ARRIGO, A. P. ADAMS, et S. C. WEAVER, « Evolutionary Patterns of Eastern Equine Encephalitis Virus in North versus South America Suggest Ecological Differences and Taxonomic Revision », *J. Virol.*, vol. 84, n° 2, p. 1014-1025, janv. 2010, doi: 10.1128/JVI.01586-09.
- [24] S. C. WEAVER, R. WINEGAR, I. D. MANGER, et N. L. FORRESTER, « Alphaviruses: Population genetics and determinants of emergence », *Antiviral Res.*, vol. 94, n° 3, p. 242, juin 2012, doi: 10.1016/j.antiviral.2012.04.002.
- [25] P. M. ARMSTRONG et T. G. ANDREADIS, « Eastern Equine Encephalitis Virus in Mosquitoes and Their Role as Bridge Vectors », *Emerg. Infect. Dis.*, vol. 16, n° 12, p. 1869-1874, déc. 2010, doi: 10.3201/eid1612.100640.
- [26] CDC Centers for Disease Control and Prevention), « Transmission | Eastern Equine

Encephalitis | CDC », *Centers for Disease Control and Prevention*, 3 décembre 2019.
<https://www.cdc.gov/easternequineencephalitis/tech/transmission.html> (consulté le 8 juillet 2020).

[27] N. ARECHIGA CEBALLOS et A. AGUILAR SETIEN, « Alphaviral equine encephalomyelitis (Eastern, Western and Venezuelan) », vol. 34, n° 2, p. 491-501, août 2015.

[28] VDCI - VECTOR DISEASE CONTROL INTERNATIONAL, « Eastern Equine Encephalitis Virus: Public Health, Mosquito Management ». <http://www.vdci.net/vector-borne-diseases/eastern-equine-encephalitis-virus-education-and-integrated-mosquito-management-to-protect-public-health> (consulté le 8 juillet 2020).

[29] D. M. MORENS, G. K. FOLKERS, et A. S. FAUCI, « Eastern Equine Encephalitis Virus — Another Emergent Arbovirus in the United States », *N. Engl. J. Med.*, vol. 381, n° 21, p. 1989-1992, nov. 2019, doi: 10.1056/NEJMp1914328.

[30] N. C. ARRIGO. et S. C. WEAVER, « In the genus Alphavirus, create a species named Madariaga virus comprising some of the virus strains currently classified in the species Eastern equine encephalitis virus », ICTV, 2012.007aV. Consulté le: 20 juillet 2020. [En ligne]. Disponible sur: <https://talk.ictvonline.org/ICTV/proposals/2012.007aV.A.v1.Alphavirus-sp.pdf>

[31] MINNESOTA DEPT. OF HEALTH, « Western Equine Encephalitis Fact Sheet ». <https://www.health.state.mn.us/diseases/weencephalitis/wee.html> (consulté le 9 juillet 2020).

[32] L. V. SIMON, M. F. HASHMI, et M. A. FISCHER, « Western Equine Encephalitis », in *StatPearls*, Treasure Island (FL): StatPearls Publishing, 2020. Consulté le: 9 juillet 2020. [En ligne]. Disponible sur: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK470228/>

[33] EDCC (Equine disease communication center), « Western Equine Encephalitis (WEE) », equinediseasecc.org. https://aaep.org/sites/default/files/Documents/Outside%20Linked%20Documents/DiseaseFactsheet_WEE_FINAL.pdf (consulté le 9 juillet 2020).

[34] COLLEGE OF PHYSICIANS, « Biological Weapons, Bioterrorism, and Vaccines | History of Vaccines », *The history of vaccines*, 10 janvier 2018. /content/articles/biological-weapons-bioterrorism-and-vaccines (consulté le 3 juin 2020).

[35] R. A. ZILINSKAS, « A brief history of biological weapons programmes and the use of animal pathogens as biological warfare agents », *Rev. Sci. Tech. Int. Off. Epizoot.*, vol. 36, n° 2, p. 415-422, août 2017, doi: 10.20506/rst.36.2.2662.

[36] S. LOUKATOU, P. FAKOURELIS, L. PAPAGEORGIOU, V. Megalooikonomou, S. Kossida, et D. Vlachakis, « Ebola virus epidemic: a deliberate accident? », *J. Mol. Biochem.*, vol. 3, n° 3, p. 72-76, 2014.

[37] R. E. LANGFORD, « *Introduction to Weapons of Mass Destruction: Radiological, Chemical, and Biological* ». John Wiley & Sons, 2004.

[38] ELECTRONIC JOURNAL OF BIOTECHNOLOGY, « BIOLOGICAL WARFARE, BIOTERRORISM, BIODEFENCE AND THE BIOLOGICAL AND TOXIN WEAPONS CONVENTION », *Electron. J. Biotechnol.*, vol. 2, n° 3, p. 3-4, déc. 1999.

[39] H. J. JANSEN, F. J. BREEVELD, C. STIJNIS, et M. P. GROBUSCH, « Biological warfare, bioterrorism, and biocrime », *Clin. Microbiol. Infect.*, vol. 20, n° 6, p. 488-496, juin 2014, doi: 10.1111/1469-0691.12699.

- [40] CDC (Centers for Disease Control and Prevention), « CDC | Bioterrorism Agents/Diseases (by category) | Emergency Preparedness & Response », *Center for Disease Control and Prevention*, 15 mai 2019. <https://emergency.cdc.gov/agent/agentlist-category.asp> (consulté le 15 avril 2020).
- [41] M-T. GIORGIO, « 4 groupes d'agents biologiques | AtouSante ». <https://www.atousante.com/risques-professionnels/groupe-agents-biologiques/> (consulté le 12 juillet 2020).
- [42] REACHING CRITICAL WILL, « Critical issues - Biological weapons », <https://www.reachingcriticalwill.org/resources/fact-sheets/critical-issues/4579-biological-weapons> (consulté le 12 juillet 2020).
- [43] I. SESMITH, « biological_weapons_convention_2007 », *Mapsof.net*. http://mapsof.net/uploads/static-maps/biological_weapons_convention_2007.png (consulté le 12 juillet 2020).
- [44] K. DAVENPORT, « Biological Weapons Convention Signatories and States-Parties | Arms Control Association », *Arms Control Association*, septembre 2018. <https://www.armscontrol.org/factsheets/bwcsig> (consulté le 12 juillet 2020).
- [45] J.R. CASHMAN, *Emergency Response Handbook for Chemical and Biological Agents and Weapons*. Consulté le: 12 juillet 2020. [En ligne]. Disponible sur: https://books.google.com/books/about/Emergency_Response_Handbook_for_Chemical.html?hl=fr&id=S4PW-5qHUU8C
- [46] C. Guzmán-Terán, A. Calderón-Rangel, A. Rodríguez-Morales, et S. Mattar, « Venezuelan equine encephalitis virus: the problem is not over for tropical America », *Ann. Clin. Microbiol. Antimicrob.*, vol. 19, mai 2020, doi: 10.1186/s12941-020-00360-4.
- [47] NATURE REVIEWS, « Figure 1: Locations of Venezuelan equine encephalitis virus outbreaks in the Americas. | Nature Reviews Microbiology », Consulté le: 16 juillet 2020. [En ligne]. Disponible sur: <https://www.nature.com/articles/nrmicro1006/figures/1?proof=true&platform=oscar&draft=collection>
- [48] T. BRENNAN-KROHN, « Eastern Equine Encephalitis Virus (EEEV): the Role of Diagnostics », *ASM.org*, 7 octobre 2019. <https://asm.org/Articles/2019/October/Eastern-Equine-Encephalitis-Virus-EEEV-the-Role-of> (consulté le 19 juillet 2020).
- [49] MASSACHUSETTS GOVERNMENT, « EEE (Eastern Equine Encephalitis) », *Mass.gov*. <https://www.mass.gov/service-details/eee-eastern-equine-encephalitis> (consulté le 19 juillet 2020).
- [50] CDC (Centers for Disease Control and Prevention), « Statistics & Maps | Eastern Equine Encephalitis | CDC », 3 décembre 2019. <https://www.cdc.gov/easternequineencephalitis/tech/epi.html> (consulté le 19 juillet 2020).
- [51] USDA - United States Department of Agriculture; Foreign Animal Disease Preparedness & Response Plan, « 2019 Summary of Eastern Equine Encephalitis Cases in the United States », Etats-Unis, CEAH Doc# 20-069, mars 2020. Consulté le: 20 juillet 2020. [En ligne]. Disponible sur: https://www.aphis.usda.gov/animal_health/downloads/animal_diseases/2019-eee-report.pdf
- [52] B. KUMAR, A. MANUJA, B. GULATTI, N. VIRMANI, et B. N. TRIPATHI, « Zoonotic Viral Diseases of Equines and Their Impact on Human and Animal Health », *Open Virol. J.*, vol. 12, p. 80-98, août 2018, doi: 10.2174/1874357901812010080.

- [53] N. P. LINDSEY, J. E. STAPLES, et M. FISCHER, « Eastern Equine Encephalitis Virus in the United States, 2003–2016 », *Am. J. Trop. Med. Hyg.*, vol. 98, n° 5, p. 1472-1477, mai 2018, doi: 10.4269/ajtmh.17-0927.
- [54] L. A. HEBERLEIN-LARSON *et al.*, « Complex Epidemiological Dynamics of Eastern Equine Encephalitis Virus in Florida », *Am. J. Trop. Med. Hyg.*, vol. 100, n° 5, p. 1266-1274, 2019, doi: 10.4269/ajtmh.18-0783.
- [55] J.-P. CARRERA, N. FORRESTER, E. WANG, A. VITTOR, A. HADDOW, S. LOPEZ-VERGES, I. ABADIA, E. CASTANO, N. SOSA, C. SAEZ, D. ESTRISPEAUT, Y. DIAZ, D. BELTRAN, J. CISNEROS, H. CEDENO, A. DA ROSA, H. HERNANDEZ, A. MARTINEZ-TORRES, R. TESH, et S. WEAVER, « Eastern Equine Encephalitis in Latin America », *N. Engl. J. Med.*, vol. 369, n° 8, août 2013, doi: 10.1056/NEJMoa1212628.
- [56] THE ASSOCIATED PRESS, « State Bracing For High Number Of Mosquito-Borne EEE Cases », *wbur.org*, 7 juillet 2020. <https://www.wbur.org/commonhealth/2020/07/07/eastern-equine-encephalitis-eee-massachusetts-cases> (consulté le 20 juillet 2020).
- [57] N. P. LINDSEY, « Notes from the Field: Multistate Outbreak of Eastern Equine Encephalitis Virus — United States, 2019 », *MMWR Morb. Mortal. Wkly. Rep.*, vol. 69, 2020, doi: 10.15585/mmwr.mm6902a4.
- [58] L. L. ROBB, D. HARTMANN, L. RICE, J. DEMARIA, N. BERGREN, E. BORLAND, et R. KADING, « Continued Evidence of Decline in the Enzootic Activity of Western Equine Encephalitis Virus in Colorado », *J. Med. Entomol.*, vol. 56, n° 2, p. 584-588, 25 2019, doi: 10.1093/jme/tjy214.
- [59] CDC (Centers for Disease Control and Prevention), « Epidemiologic Notes and Reports Western Equine Encephalitis -- United States and Canada, 1987 », 9 octobre 1987. <https://www.cdc.gov/mmwr/preview/mmwrhtml/00000983.htm> (consulté le 21 juillet 2020).
- [60] S. WEAVER, M. ANISHCHENKO, R. BOWEN, A. BRAULT, J. ESTRADA-FRANCO, Z. FERNANDEZ I. GREENE, D. ORTIZ, S. PAESSLER, et A. POWERS, « Genetic determinants of Venezuelan equine encephalitis emergence », *Arch. Virol. Suppl.*, p. 43-64, févr. 2004, doi: 10.1007/978-3-7091-0572-6_5.
- [61] A. M. POWERS, A. BRAULT, R. M. KINNEY, et S. C. WEAVER, « The Use of Chimeric Venezuelan Equine Encephalitis Viruses as an Approach for the Molecular Identification of Natural Virulence Determinants », *J. Virol.*, vol. 74, n° 9, p. 4258-4263, mai 2000, doi: 10.1128/JVI.74.9.4258-4263.2000.
- [62] S. C. WEAVER et W. K. REISEN, « Present and Future Arboviral Threats », *Antiviral Res.*, vol. 85, n° 2, p. 328, févr. 2010, doi: 10.1016/j.antiviral.2009.10.008.
- [63] I. P. GREENER, S. PAESSLER, L. AUSTGEN, M. ANISHCHENKO, A. BRAULT, R. BOWEN, et S. WEAVER, « Envelope Glycoprotein Mutations Mediate Equine Amplification and Virulence of Epizootic Venezuelan Equine Encephalitis Virus », *J. Virol.*, vol. 79, n° 14, p. 9128-9133, juill. 2005, doi: 10.1128/JVI.79.14.9128-9133.2005.
- [64] M. ANISHCHENKO, R. A. BOWEN, S. PAESSLER, L. AUSTGEN, I. P. GREENE, et S. C. WEAVER, « Venezuelan encephalitis emergence mediated by a phylogenetically predicted viral mutation », *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.*, vol. 103, n° 13, p. 4994-4999, mars 2006, doi: 10.1073/pnas.0509961103.
- [65] OMSA (Organisation Mondiale de la Santé Animale), « Venezuelan Equine Encephalitis », p.

6, janv. 2020.

- [66] M. PFEFFER et G. DOBLER, « Emergence of zoonotic arboviruses by animal trade and migration », *Parasit. Vectors*, vol. 3, n° 1, p. 35, avr. 2010, doi: 10.1186/1756-3305-3-35.
- [67] E. C. HOLMES, « The evolution of viral emergence », *Proc. Natl. Acad. Sci.*, vol. 103, n° 13, p. 4803-4804, mars 2006, doi: 10.1073/pnas.0601166103.
- [68] J. SOGHIGLAN, T. G. ANDREADIS, et G. MOALEI, « Population genomics of *Culiseta melanura*, the principal vector of Eastern equine encephalitis virus in the United States », *PLoS Negl. Trop. Dis.*, vol. 12, n° 8, août 2018, doi: 10.1371/journal.pntd.0006698.
- [69] G. MOALEL, P. M. ARMSTRONG, C. F. ABADAM, K. I. AKARATOVIC, J. P. KISER, et T. G. ANDREADIS, « Vector-Host Interactions of *Culiseta melanura* in a Focus of Eastern Equine Encephalitis Virus Activity in Southeastern Virginia », *PLoS ONE*, vol. 10, n° 9, sept. 2015, doi: 10.1371/journal.pone.0136743.
- [70] P. T. VANDER KELEN, J. DOWNS, N. BURKETT-CADENA, C. OTTENDORFER, K. HILL, S. SICKERMAN, J. HERNANDEZ, J. JINRIGHT, B. HUNT, J. LUSK, V. HOOVER, K. ARMSTRONG, R. UNNASCH, L. STARK, et T. UNNASCH, « Habitat Associations of Eastern Equine Encephalitis Transmission in Walton County Florida », *J. Med. Entomol.*, vol. 49, n° 3, p. 746-756, mai 2012.
- [71] P. T. VANDER KELEN, J. A. DOWNS, L. M. STARK, R. W. LORRAMM, J. H. ANDERSON, et T. R. UNNASCH, « Spatial epidemiology of eastern equine encephalitis in Florida », *Int. J. Health Geogr.*, vol. 11, n° 1, p. 47, nov. 2012, doi: 10.1186/1476-072X-11-47.
- [72] J. SHAMAN, J. F. DAY, M. STIEGLITZ, S. ZEBIAK, et M. CANE, « Seasonal Forecast of St. Louis Encephalitis Virus Transmission, Florida », *Emerg. Infect. Dis.*, vol. 10, n° 5, p. 802-809, mai 2004, doi: 10.3201/eid1005.030246.
- [73] N. K. SKAFF, P. M. ARMSTRONG, T. G. ANDREADIS, et K. S. CHERUWELL, « Wetland characteristics linked to broad-scale patterns in *Culiseta melanura* abundance and eastern equine encephalitis virus infection », *Parasit. Vectors*, vol. 10, n° 1, p. 501, oct. 2017, doi: 10.1186/s13071-017-2482-0.
- [74] C. J. MITCHELL, « Arthropod-borne encephalitis viruses and water resource developments », n° 3, p. 10.
- [75] A. C. BRAULT, Y. FANG, et W. K. REISEN, « Multiplex qRT-PCR for the Detection of Western Equine Encephalomyelitis, St. Louis Encephalitis, and West Nile Viral RNA in Mosquito Pools (Diptera: Culicidae) », *J. Med. Entomol.*, vol. 52, n° 3, p. 491-499, mai 2015, doi: 10.1093/jme/tjv021.
- [76] T. A. COCKBURN, C. A. SOOTER, et A. D. LANGMUIR, « Ecology of western equine and St. Louis encephalitis viruses; a summary of field investigations in Weld County, Colorado, 1949 to 1953 », *Am. J. Hyg.*, vol. 65, n° 2, p. 130-146, mars 1957, doi: 10.1093/oxfordjournals.aje.a119861.
- [77] N. A. Bergren, A. J. Auguste, N. L. Forrester, S. S. Negi, W. A. Braun, et S. C. Weaver, « Western equine encephalitis virus: evolutionary analysis of a declining alphavirus based on complete genome sequences », *J. Virol.*, vol. 88, n° 16, p. 9260-9267, août 2014, doi: 10.1128/JVI.01463-14.
- [78] N. L. FORRESTER, J. L. KENNEY, E. DEARDOFF, E. WANG, et S. C. WEAVER, « Western equine encephalitis submergence: lack of evidence for a decline in virus virulence »,

Virology, vol. 380, n° 2, p. 170-172, oct. 2008, doi: 10.1016/j.virol.2008.08.012.

[79] R. W. SUTHERST, « Global Change and Human Vulnerability to Vector-Borne Diseases », *Clin. Microbiol. Rev.*, vol. 17, n° 1, p. 136-173, janv. 2004, doi: 10.1128/CMR.17.1.136-173.2004.

[80] W. K. REISEN, R. E. CHILES, V. M. MARTINEZ, Y. FANG, et E. N. GREEN, « Experimental Infection of California Birds with Western Equine Encephalomyelitis and St. Louis Encephalitis Viruses », *J. Med. Entomol.*, vol. 40, n° 6, p. 968-982, nov. 2003, doi: 10.1603/0022-2585-40.6.968.

[81] A. C. BRAULT, Y. FANG, et W. K. REISEN, « Limited Interdecadal Variation in Mosquito (Diptera: Culicidae) and Avian Host Competence for Western Equine Encephalomyelitis Virus (Togaviridae: Alphavirus) », *Am. J. Trop. Med. Hyg.*, vol. 78, n° 4, p. 681-686, avr. 2008, doi: 10.4269/ajtmh.2008.78.681.

[82] K. DOWNEY JR et D. DENLINGER, « Climate change a possible factor in last year's increase in EEE », *Annual Review of Entomology*, 29 septembre 2020. Consulté le: 22 novembre 2020. [En ligne]. Disponible sur: <https://www.healio.com/news/primary-care/20200929/climate-change-a-possible-factor-in-last-years-increase-in-eee>

[83] J. HOWARD, « Why did EEE cases spike this year? It's complicated », *CNN*. <https://www.cnn.com/2019/10/03/health/eee-outbreak-2019-cause/index.html> (consulté le 20 juillet 2020).

[84] I. DUMAS, « Risque d'introduction des encéphalites équine "exotiques" (encéphalite japonaise, encéphalite vénézuélienne, encéphalites américaines de l'est et de l'ouest) en France. », Ecole Nationale Vétérinaire d'Alfort, Faculté de médecine, Créteil, 2013. Consulté le: 26 mars 2020. [En ligne]. Disponible sur: <https://respe.net/wp-content/uploads/2018/12/30-Risque-dintroduction-des-encephalites-%C3%A9quines-exotiques.pdf>

[85] P. B. S. PEDROSA et T. A. O. CARDOSO, « Viral infections in workers in hospital and research laboratory settings: a comparative review of infection modes and respective biosafety aspects », *Int. J. Infect. Dis.*, vol. 15, n° 6, p. e366-e376, juin 2011, doi: 10.1016/j.ijid.2011.03.005.

[86] S. R. AZAR, R. K. CAMPOS, N. A. BERGREN, V. N. CAMARGOS, et S. L. ROSSI, « Epidemic Alphaviruses: Ecology, Emergence and Outbreaks », *Microorganisms*, vol. 8, n° 8, Art. n° 8, août 2020, doi: 10.3390/microorganisms8081167.

[87] Z. JIN, « Figure 1: The migration routes of migrant birds in all the world. Determination of Original Infection Source of H7N9 Avian Influenza by Dynamical Model - Scientific », *ResearchGate*, avril 2014. https://www.researchgate.net/figure/The-migration-routes-of-migrant-birds-in-all-the-world-There-are-eight-migratory-routes_fig19_262016876 (consulté le 15 novembre 2020).

[88] B. DURAND, S. LECOLLINET, C. BECK, B. MARTINEZ-LOPEZ, T. BALENGHIEN, et V. CHEVALIER, « Identification de zones à risque d'introduction de quatre arboviroses zoonotiques dans l'Union européenne par le commerce des animaux vivants », p. 6.

[89] C. FAVERJON, G. ANDERSSON, A. DECORS, J. TAPPREST, P. TRITZ; A. SANDOZ, O. KUTASI, C. SALA, et A. LEBLOND, « Evaluation of a Multivariate Syndromic Surveillance System for West Nile Virus », *Vector Borne Zoonotic Dis.*, vol. 16, n° 6, p. 382-390, juin 2016, doi: 10.1089/vbz.2015.1883.

[90] SANTE PUBLIQUE FRANCE « Qu'est-ce que la surveillance syndromique ? », *Santé Publique France*. <https://www.santepubliquefrance.fr/surveillance-syndromique-sursaud-R/qu-est-ce->

que-la-surveillance-syndromique (consulté le 13 janvier 2022).

[91] P. R. PITTMAN et S. A. PLOTKIN, « Biodefense and Special Pathogen Vaccines », *Plotkins Vaccines*, p. 149-160.e7, 2018, doi: 10.1016/B978-0-323-35761-6.00012-2.

[92] J. BOZUE, *Medical Aspects of Biological Warfare*. [En ligne]. Disponible sur: <https://fas.org/irp/threat/cbw/medical.pdf>

[93] M. KESHTAR-JAHROMI, R. REISLER, J. HALLER, D. CLIZBE, R. RIVARD, A. CARDILE, B. PIERSON, S. NORRIS, D. SAUNDERS, et P. PITTMAN, « The Western Equine Encephalitis Lyophilized, Inactivated Vaccine: An Update on Safety and Immunogenicity », *Front. Immunol.*, vol. 11, p. 555464, nov. 2020, doi: 10.3389/fimmu.2020.555464.

[94] D. S. REED P.J. GLASS, R.R. BAKKEN, J.F. BARTH, C.M. LIND, L. DA SILVA, M.K. HART, J. RAYNER, K. ALTERSON, M. CUSTER, J. DUDEK, G. OWENS, K.I. KAMRUD, M.D. PARKER, et J. SMITH, « Combined Alphavirus Replicon Particle Vaccine Induces Durable and Cross-Protective Immune Responses against Equine Encephalitis Viruses », *J. Virol.*, vol. 88, n° 20, p. 12077-12086, oct. 2014, doi: 10.1128/JVI.01406-14.

[95] B. C. PIERSON, A.P. CARDILE, A.C. OKWESILI, I.L. DOWNS, R.B. REISLER, E.F. BOUDREAU, M.G. KORTPETER, C.G.KOCA, M. RANADIVE, P. PETIT, N. KANESA-THASAN, R.G. RIVARD, D.L. LIGGET, J.M. HALLER, S.L. NORRIS, B.K. PURCELL, P.R.PITTMAN, D.L. SAUNDERS, et M. KESHTAHR JAHROMI, « Safety and immunogenicity of an inactivated eastern equine encephalitis virus vaccine », *Vaccine*, vol. 39, n° 20, p. 2780-2790, mai 2021, doi: 10.1016/j.vaccine.2021.03.030.

[96] S. RADOSHITZKY, J. KUHN, P. JAHRLING, et S. BAVARI, « Medical Aspects of Biological Warfare », 2018, p. 517-545.

[97] W.-G. HU, R. STEIGERWALD, M. KALLA, A. VOLKMANN, D. NOLL, et L. P. NAGATA, « Protective efficacy of monovalent and trivalent recombinant MVA-based vaccines against three encephalitic alphaviruses », *Vaccine*, vol. 36, n° 34, p. 5194-5203, août 2018, doi: 10.1016/j.vaccine.2018.06.064.

[98] A. I. PORTER, R. ERWIN-COHEN, N. TWENHAFEL, T. CHANCE, S.B. YEE, S.J. KERN, D. NORWOOD, L.J. HARTMAN, M.D. PARKER, P.J. GLASS, et L.DASILVA, « Characterization and pathogenesis of aerosolized eastern equine encephalitis in the common marmoset (*Callithrix jacchus*) », *Virol. J.*, vol. 14, p. 25, févr. 2017, doi: 10.1186/s12985-017-0687-7.

[99] A. CHEN, « There Is An EEE Vaccine For Humans. You Just Can't Get It », *wbur.org*, 25 septembre 2019. <https://www.wbur.org/news/2019/09/25/eastern-equine-encephalitis-vaccine> (consulté le 14 janvier 2022).

[100] C. GUZMAN-TERAN, A. CALDERON-TANGEL, A. RODRIGUEZ-MORALES, et S. MATTAR, « Venezuelan equine encephalitis virus: the problem is not over for tropical America », *Ann. Clin. Microbiol. Antimicrob.*, vol. 19, n° 1, Art. n° 1, déc. 2020, doi: 10.1186/s12941-020-00360-4.

[101] A. SHARMA et B. KNOLLMAN-RITSCHHELL, « Current Understanding of the Molecular Basis of Venezuelan Equine Encephalitis Virus Pathogenesis and Vaccine Development », *Viruses*, vol. 11, n° 2, févr. 2019, doi: 10.3390/v11020164.

[102] M. SUTER, C. MEISINGER-HENTSCH, M. TZATZARIS, V. HUSELMANN, S. LUKASSEN, N.H. WULFF, J. HAUSMANN, P. HOLEY et P. CHAPLIN, « Modified vaccinia

Ankara strains with identical coding sequences actually represent complex mixtures of viruses that determine the biological properties of each strain », *Vaccine*, vol. 27, n° 52, p. 7442-7450, déc. 2009, doi: 10.1016/j.vaccine.2009.05.095.

[103] S. E. FREY, F.K. NEWMANN, J.S. KENNEDY, V. SOBREK, F.A. ENNIS, H. HILL, L.K. YAN, P. CHAPLIN, J. VOLMAR, B.R. CHAITMAN *et* R.B. BELSHE, « Clinical and Immunologic Responses to Multiple Doses of IMVAMUNE® (Modified Vaccinia Ankara) Followed by Dryvax® Challenge », *Vaccine*, vol. 25, n° 51, p. 8562-8573, déc. 2007, doi: 10.1016/j.vaccine.2007.10.017.

[104] E. T. OVERTON, S.J. LAWRENCE, E. WAGNER, K. NOPORA, S. ROSCH, P. YOUNG, D. SCHMIDT, C. KREUSEL, S. DE CARLI, T.P. MEYER, H. WEIDENTHALER, N. SAMY *et* P. CHAPLIN, « Immunogenicity and safety of three consecutive production lots of the non replicating smallpox vaccine MVA: A randomised, double blind, placebo controlled phase III trial », *PLoS ONE*, vol. 13, n° 4, p. e0195897, avr. 2018, doi: 10.1371/journal.pone.0195897.

[105] L. HENNING, K. ENDT, R. STEIGERWALD, M. ANDERSON *et* A. VOLKMANN, « A Monovalent and Trivalent MVA-Based Vaccine Completely Protects Mice Against Lethal Venezuelan, Western, and Eastern Equine Encephalitis Virus Aerosol Challenge », *Front. Immunol.*, vol. 11, p. 598847, janv. 2021, doi: 10.3389/fimmu.2020.598847.

[106] Z. R. STROMBERG, W. FISCHER, S. B. BRADFUTE, J. Z. KUBICEK-SUTHERLAND *et* P. HRABER, « Vaccine Advances against Venezuelan, Eastern, and Western Equine Encephalitis Viruses », *Vaccines*, vol. 8, n° 2, p. 273, juin 2020, doi: 10.3390/vaccines8020273.

[107] S. RAUCH, E. JASNY, K. E. SCHMIDT, *et* B. PETSCH, « New Vaccine Technologies to Combat Outbreak Situations », *Front. Immunol.*, vol. 9, p. 1963, sept. 2018, doi: 10.3389/fimmu.2018.01963.

[108] A. L. WILSON, O. COUTNENAY, L.A. KELLY-HOPE, T.W. SCOTT, W. TAKKEN, S.J. TORR, *et* S.W. LINDSAY, « The importance of vector control for the control and elimination of vector-borne diseases », *PLoS Negl. Trop. Dis.*, vol. 14, n° 1, p. e0007831, janv. 2020, doi: 10.1371/journal.pntd.0007831.

[109] A. M. HAMMOND *et* R. GALIZI, « Gene drives to fight malaria: current state and future directions », *Pathog. Glob. Health*, vol. 111, n° 8, p. 412-423, déc. 2017, doi: 10.1080/20477724.2018.1438880.

[110] H. A. FLORES *et* S. L. O'NEILL, « Controlling vector-borne diseases by releasing modified mosquitoes », *Nat. Rev. Microbiol.*, vol. 16, n° 8, p. 508-518, août 2018, doi: 10.1038/s41579-018-0025-0.

[111] NATIONAL ENVIRONMENT AGENCY, « The National Environment Agency », *Wolbachia-Aedes Mosquito Suppression Strategy*. <https://www.nea.gov.sg/corporate-functions/resources/research/wolbachia-aedes-mosquito-suppression-strategy/wolbachia-aedes-mosquito-suppression-strategy-how-it-works> (consulté le 2 septembre 2022).

[112] M. NACIRI, « La bactérie Wolbachia bloque l'infection des moustiques par différents pathogènes humains », *médecine/sciences*, vol. 35, n° 6-7, Art. n° 6-7, juin 2019, doi: 10.1051/medsci/2019115.

[113] B. L. STROM, « Taking Action to Prevent Eastern Equine Encephalitis (EEE) | Biomedical and Health Sciences », *RUTGERS Biomedical and Health Sciences*, 23 septembre 2019. <https://academichealth.rutgers.edu/messages/2019-09-23-taking-action-prevent-eastern-equine->

encephalitis-eee (consulté le 14 janvier 2022).

[114] C. WILLIAMS et D. M. FONSECA, « Questions Regarding Eastern Equine Encephalitis and Horses (Rutgers NJAES) », *RUTGERS*. <https://njaes.rutgers.edu/FS737/> (consulté le 14 janvier 2022).

[115] M. BARBA, E. L. FAIRBANKS, et J. M. DALY, « Equine viral encephalitis: prevalence, impact, and management strategies », *Vet. Med. Res. Rep.*, vol. 10, p. 99-110, août 2019, doi: 10.2147/VMRR.S168227.

[116] G. E. CHAPMAN, M. BAYLIS, D. ARCHER, et J. M. DALY, « The challenges posed by equine arboviruses », Consulté le: 13 janvier 2022. [En ligne]. Disponible sur: https://core.ac.uk/reader/162667835?utm_source=linkout

[117] UNIVERSITE DE GENEVE, « Le test ELISA », *BIOUTILS*. <https://www.bioutils.ch/protocoles/14-le-test-elisa> (consulté le 2 septembre 2022).

[118] X. KANG, Y. LI, F. LIN, J. WEI, X. ZHU, Y. HU, J. LI, G. CHANG, Q. ZHU, H. LIU et Y. YANG, « Development of an ELISA-array for simultaneous detection of five encephalitis viruses », *Virol. J.*, vol. 9, p. 56, févr. 2012, doi: 10.1186/1743-422X-9-56.

[119] S. BELAK, P. THOREN, N. LEBLANC, et G. VILJOEN, « Advances in viral disease diagnostic and molecular epidemiological technologies », *Expert Rev. Mol. Diagn.*, vol. 9, n° 4, p. 367-381, janv. 2014, doi: 10.1586/erm.09.19.

[120] G. LIANG, X. GAO, et E. A. GOULD, « Factors responsible for the emergence of arboviruses; strategies, challenges and limitations for their control », *Emerg. Microbes Infect.*, vol. 4, n° 3, p. e18, mars 2015, doi: 10.1038/emi.2015.18.

[121] T. F. F. NG, D.L. WILLNER, Y.W. LIM, R. SCHMIEDER, B. CHAU, C. NILSSON, S. ANTHONY, Y. RUAN, F. ROHWER, et M. BREITBART, « Broad Surveys of DNA Viral Diversity Obtained through Viral Metagenomics of Mosquitoes », *PLoS ONE*, vol. 6, n° 6, p. e20579, juin 2011, doi: 10.1371/journal.pone.0020579.

[122] E. CONIS, « Debating the Health Effects of DDT: Thomas Jukes, Charles Wurster, and the Fate of an Environmental Pollutant », *Public Health Rep.*, vol. 125, n° 2, p. 337-342, 2010.

Annexe 1 : Récapitulatif des cycles des encéphalites équine étudiées [84]

	Réservoir	Transmission		Hôtes			
		Vecteur	Mode / Saison	Amplificateurs	Homme	Cheval	Autres
Encéphalite équine de l'Est	Oiseaux (dont oiseaux migrateurs), (Rongeurs?)	<i>Culiseta melanura</i> (cycle primitif)	Entre oiseaux : arrachage de plumes, cannibalisme	Chevaux en phase aiguë (amplificateurs temporaires), (Reptiles?)	cul-de-sac épidémiologique	cul-de-sac épidémiologique	chiens, reptiles
		<i>Moustiques des genres Culex et Aedes (Aedes coquillettida (perturbans))</i> (transmission avec homme et cheval)					
		<i>Aedes albopictus</i>	Zones humides (marécages, région des grands lacs) ; mi-été jusque mi-automne				
		<i>Dermanyssidae</i> (vecteurs expérimentaux)					
Encéphalite équine de l'Ouest	Oiseaux (dont oiseaux migrateurs), rongeurs	<i>Moustiques des genres Culex et Aedes (principalement Culex tarsalis)</i> (cycle primitif)	Marais frais et cours d'eau Régions d'irrigation	(Reptiles?)	cul-de-sac épidémiologique	cul-de-sac épidémiologique	Reptiles, lièvre à queue noire, lièvre européen, lapins, rongeurs, oiseaux migrateurs
		Transmission à l'homme et au cheval : vecteurs ponts dont <i>Ochlerotatus melanimon</i> , <i>Aedes dorsalis</i> , <i>Aedes campestris</i>					
		suspicion transmission par tiques					
Encéphalite vénézuélienne (cycle enzootique)	Marsupiaux et rongeurs sauvages	<i>Moustiques du genre Culex dont Culex (melanoconion)</i>	Forêts tropicales humides ; marais	(oiseaux, homme, cheval)	considéré comme hôte accidentel mais virémie permettant d'infecter un moustique	considéré hôte accidentel, mais permettant potentiellement la sélection de souches épizootiques	
Encéphalite vénézuélienne (cycle épizootique)	Rongeurs	<i>Moustiques des genres Aedes, Anopheles, Culex, Mansonia, Psorophora et Ochlerotatus taeniorhynchus.</i> (Mouches noires, acariens, tiques)	Entre chevaux : transmission éventuelle par contact direct ou aérosol Accidents de laboratoires (aérosols lors du nettoyages de cages de rongeurs infectés)	hôte inconnu en début d'épizootie, équidés dont cheval, âne et mule (homme, porcs, bovins)	considéré comme hôte accidentel mais virémie permettant d'infecter un moustique	hôte amplificateur	

N° d'identification :12701C

TITRE

VIRUS DE L'ENCEPHALITE EQUINE – UNE HISTOIRE DE MOUSTIQUES, D'OISEAUX, DE PONEYS
ET D'ARMES BIOLOGIQUES SANS CONTRE-MESURES.
UNE EMERGENCE RAPIDE OU UN LENT DECLIN ?

Thèse soutenue le 07 octobre 2022

Par Clément WILZIUS

RESUME :

Il existe des virus zoonotiques qui sont des pathogènes importants pour les équidés notamment mais qui se transmettent également aux humains. Parmi ces agents infectieux on retrouve des virus présents sur le continent américain dont le virus de l'encéphalite équine de l'Est (EEEV), le virus de l'encéphalite équine de l'Ouest (WEEV) ainsi que le virus de l'encéphalite équine Vénézuélienne (VEEV). Bien que les virus de l'encéphalite équine de l'Est et Vénézuélienne connaissent une émergence de nos jours avec une augmentation d'infections répertoriées, ce n'est pas le cas pour le virus de l'encéphalite équine de l'Ouest. En effet, ce virus fut responsable de nombreux cas d'infections il y a plusieurs décennies mais connaît un déclin à l'heure actuelle restant difficilement explicable.

Ce travail a pour objectif d'identifier les différents facteurs qui permettent d'expliquer les raisons du déclin de WEEV et l'émergence de VEEV et EEEV. Il permet également de parcourir les différentes méthodes existantes de détection des virus, ainsi que les méthodes actuelles pour permettre de lutter contre ces infections virales par des moyens préventifs tels que les vaccins ou d'autres moyens plus classiques. Le développement d'armes biologiques à partir de ces virus ainsi que le risque d'introduction de ces encéphalites en Europe sont, entre autres, des points qui seront abordés.

MOTS CLES :

VIRUS / ENCEPHALITE / EQUINE / EMERGENCE / DECLIN

Directeur de thèse	Intitulé du laboratoire	Nature
M. Mihayl VARBANOV	Laboratoire Lorrain de Chimie Moléculaire (L2CM)	Expérimentale <input type="checkbox"/> Bibliographique <input checked="" type="checkbox"/> Thème <input type="checkbox"/>

Thèmes	1 – Sciences fondamentales 3 – Médicament ⑤- Biologie	2 – Hygiène/Environnement 4 – Alimentation – Nutrition 6 – Pratique professionnelle
--------	-------------------------------------------------------------	-------------------------------------------------------------------------------------------

DEMANDE D'IMPRIMATUR

FACULTE DE PHARMACIE

06 OCT. 2022

Date de soutenance : 07 octobre 2022

ARRIVEE

DIPLOME D'ETAT DE DOCTEUR
EN PHARMACIE

présenté par : Clément WILZIUS

Sujet : Virus de l'encéphalite équine – une histoire de moustiques, d'oiseaux, de poneys et d'armes biologiques sans contre-mesures.

Une émergence rapide ou un lent déclin ?

Jury :

Président : Mme Natacha DREUMONT, Maître de conférences HDR

Directeur : M. Mihayl VARBANOV, Maître de conférences et pharmacien

Juges : Mme Sandrine CAPIZZI, Maître de conférences
Mme Sophie GUIDAT, Pharmacien

Vu,

Nancy, le 29/08/2022

Le Président du Jury

Directeur de Thèse

Mme N. Dreumont

M. Varbanov

*N. Dreumont**Mihayl Varbanov*

Vu et approuvé,

Nancy, le 23.09.2022

Doyen de la Faculté de Pharmacie
de l'Université de Lorraine,

Vu,

Nancy, le 3.10.2022

La Présidente de l'Université de Lorraine,



N° d'enregistrement :

12701 C