

Table des matières

<u>TABLE DES MATIERES</u>	11
TABLE DES FIGURES	14
TABLE DES TABLEAUX	16
ABREVIATIONS	17
INTRODUCTION	19
PARTIE 1 : LE CHIKUNGUNYA: UNE MALADIE VECTORIELLE	20
1. L'agent pathogène : le virus du chikungunya	20
1.1. Histoire de la découverte du virus	20
1.2. Un arbovirus	21
1.2.1. classification du chikungunya virus	21
1.2.2. Structure	22
a) Morphologie, composition biochimique du virus	22
b) Organisation de l'ARN viral	23
1.2.3. cycle de réplication du virus	24
a) fonctionnalités des protéines virales	24
b) Etapes de la réplication virale	27
1.2.4. Evolution génétique du chikungunya virus	33
a) Les différents types de génotype	33
b) Risques de mutations	34
2. Un vecteur : le moustique	35
2.1. Présentation et classification des moustiques vecteurs	35
2.1.1. Présentation	35
2.1.2. Classification	36
2.2. Caractéristique et différenciation des moustiques femelles <i>Aedes albopictus</i> et <i>Aedes aegypti</i>	37
2.3. Cycle biologique du moustique	38
2.3.1. Phase terrestre	38
2.3.2. Phase aquatique	41
<u>Sixième étape : l'émergence</u>	42
2.4. Compétence vectorielle	43
2.5. Répartition géographique des moustiques vecteurs	44
2.5.1. Distribution géographique d' <i>Aedes aegypti</i>	44
a) Dans le monde	44
b) En Europe	45
c) En France	45
2.5.2. Distribution géographique <i>Aedes albopictus</i>	46
a) Dans le monde	46
b) En Europe	47
c) En France	48
2.6. Causes de la progression géographique d' <i>Aedes albopictus</i> et <i>Aedes aegypti</i>	49
2.6.1. Une plasticité écologique	49
a) La diapause	49
b) Adaptation au réchauffement climatique	49
2.6.2. La mondialisation	50
3. Des réservoirs difficiles à identifier	51

PARTIE 2 : DE LA TRANSMISSION AU DIAGNOSTIC DU CHIKUNGUNYA VIRUS

.....	53
1. La transmission du chikungunya virus	53
1.1. Le cycle urbain	53
1.2. Le cycle sylvatique	54
2. Contexte épidémiologique	54
2.1. Evolution épidémiologique du chikungunya virus dans le monde	54
2.1.1. Evolution épidémiologique du chikungunya virus de 2000 à 2013	55
a) Situation épidémiologique en Asie et dans l'Océan Indien	55
b) Situation épidémiologique en Afrique.	56
c) Situation épidémiologique en Europe.	57
2.1.2. Situation épidémiologique actuelle.	57
a) Sur le continent américain et dans les Caraïbes.	57
b) En France	59
3. Physiopathologie de l'infection au chikungunya virus	60
3.1. Physiopathologie de la phase aiguë	61
3.1.1. Mécanisme immunitaire	61
a) Mise en place de l'immunité innée	61
b) La mise en place de l'immunité adaptative	63
3.1.2. Mécanisme inflammatoire	64
a) Les cytokines	64
b) Les chimiokines	66
3.2. Physiopathologie de la phase chronique articulaire	67
3.2.1. Mécanisme immunitaire	67
3.2.2. Mécanisme inflammatoire	68
4. La sémiologie clinique du chikungunya virus	70
4.1. Formes typiques	70
4.1.1. Phase aiguë (J1 à J10)	70
4.1.2. Phase subaiguë (J10 à J90)	71
4.1.3. Phase chronique (au-delà de J90)	72
4.2. Formes atypiques	73
4.2.1. Formes neurologiques	73
4.2.2. Formes optiques	74
4.2.3. Formes cardiovasculaires	74
4.2.4. Formes rénales	75
4.2.5. Formes cutanées	75
4.2.6. Autres formes atypiques	76
4.3. Cas particulier	76
4.3.1. Femmes enceintes et allaitement	76
4.3.2. Le Nouveau né	77
5. Diagnostic biologique du chikungunya virus	78
5.1. Stratégie diagnostique	79
5.2. Diagnostic précoce direct	79
5.2.1. Isolation du virus par culture cellulaire	79
5.2.2. Détection de l'ARN viral par RT-PCR	80
5.3. Diagnostic indirect sérologique	81
5.3.1. Détection des IgM spécifiques	82
5.3.2. Détection des IgG spécifiques	82
5.3.3. Autres tests diagnostiques	83

PARTIE 3 : PERSPECTIVES THERAPEUTIQUES ET VACCINALES - ROLE DU PHARMACIEN D'OFFICINE 84

1. Bilan actuel de la recherche sur les différentes perspectives de traitements 84	84
1.1. Perspectives moléculaires médicamenteuses 84	84
1.1.1. Les inhibiteurs de l'endocytose virale 84	84
a) La chloroquine 84	84
b) Arbidol..... 85	85
c) 10H-phénothiazines 86	86
1.1.2. Les inhibiteurs de la traduction virale 87	87
a) Les ARN interférents..... 87	87
b) Harringtonine et homoharringtonine..... 87	87
1.1.3. Inhibiteur de la réplication virale..... 88	88
a) 5,7- dihydroxyflavones et prothipendyl 88	88
b) Les diterpénoïdes : daphnane et jatrophane 89	89
c) Les inhibiteurs de la protéine NSP2. 90	90
d) La ribavirine..... 91	91
e) La 6-azauridine 92	92
f) L'acide mycophénolique..... 93	93
1.1.4. Les modulateurs de la réponse immunitaire 94	94
1.1.5. Inhibiteur de la maturation des glycoprotéines virales..... 94	94
2. Perspectives vaccinales 95	95
2.1. Les vaccins inactivés 95	95
2.2. Vaccin vivant atténué 96	96
2.3. Vaccins recombinants 96	96
2.4. Vaccin à ADN 98	98
2.5. Vaccin Virus Like Particule (VLP) 98	98
2.6. Vaccins chimériques 99	99
3. Rôles du pharmacien d'officine dans la prise en charge du chikungunya .. 100	100
3.1. En dehors d'une période de crise épidémique 100	100
3.1.1. La prévention 100	100
a) Prévention individuelle..... 100	100
b) Prévention collective..... 103	103
3.1.2. Gestion des douleurs chroniques 105	105
3.2. En période de crise épidémique..... 106	106
CONCLUSION 107	107
ANNEXE 108	108
BIBLIOGRAPHIE..... 116	116

Table des figures

Figure 1: Arbre phylogénétique de la classification des alphavirus	21
Figure 2 : Schéma de la structure protéique du chikungunya virus	23
Figure 3 : Organisation du génome du chikungunya virus	24
Figure 4 : Schéma des étapes de réplication du chikungunya virus.....	27
Figure 5 : Schéma de l'association des glycoprotéines E1 sous la forme d'homotrimère.....	31
Figure 6 : Schéma du cycle de transmission du chikungunya virus	35
Figure 7 : Schéma du cycle biologique du moustique	38
Figure 8 : Œufs de moustique du genre <i>Aedes</i>	40
Figure 9 : Larve de moustique du genre <i>Aedes</i>	41
Figure 10 : Nymphe de moustique du genre <i>Aedes</i>	42
Figure 11 : Emergence du moustique adulte genre <i>Aedes</i>	43
Figure 12: Distribution géographique d' <i>Aedes aegypti</i> en Europe	45
Figure 13: Distribution géographique d' <i>Aedes albopictus</i> en Europe	47
Figure 14 : Distribution géographique d' <i>Aedes albopictus</i> en France	48
Figure 15 : La répartition géographique du chikungunya virus en février 2015	55
Figure 16 : Répartition géographique du chikungunya virus aux Etats Unis en 2014.....	58
Figure 17: Répartition des cas autochtones de chikungunya en Amérique et aux Caraïbes.....	59
Figure 18 : Dissémination du chikungunya virus dans les organes cibles.....	61
Figure 19 : Schéma de la mise en place de l'immunité innée	63
Figure 20 : Schéma du mécanisme immunitaire de la phase chronique articulaire.....	68
Figure 21 : Schéma du mécanisme inflammatoire de la phase chronique articulaire	69
Figure 22 : Cinétique du chikungunya virus et des anticorps spécifique lors de l'infection ...	78
Figure 23 : RT-PCR (méthode de Taqman).....	81
Figure 24 : La méthode MAC-ELISA de détection des IgM.....	82
Figure 25 : La méthode ELISA indirect de détection des IgG.....	83
Figure 26 : Structure chimique de la chloroquine.....	85
Figure 27 : Structure chimique de l'arbidol	86
Figure 28 : Structures chimiques de l'harringtonine (A) et de l'homoharringtonine (B)	88

Figure 29 : Structure chimique des diterpènes de jatorphane	90
Figure 30 : Structure chimique de ID1452-2	91
Figure 31 : Structure chimique du composé 1	91
Figure 32 : Structure chimique de la ribavirine.....	92
Figure 33 : Structure chimique de la 6-azauridine	93
Figure 34 : Structure chimique de l'acide mycophénolique	94
Figure 35 : Structure chimique de la décanoyl-RVCR-chlorométhylcétone	95
Figure 36 : Organisation génomique du vaccin recombinant CHIKV/IRES (B)	98

Table des tableaux

Tableau1 : Résultats expérimentaux de l'étude in vitro portant sur la liaison chikungunya virus/cellule.....	28
Tableau 2 : Classification taxonomique du genre <i>Aedes</i>	36
Tableau 3 : Tableau de comparaison entre les femelles <i>Aedes albopictus</i> et <i>Aedes aegypti</i>	37
Tableau 4 : Distribution mondiale du moustique vecteur <i>Aedes aegypti</i>	44
Tableau 5 : Distribution mondiale du moustique vecteur <i>Aedes albopictus</i>	46
Tableau 6 : Principaux signes cliniques survenant lors de la phase subaiguë	71

Abréviations

ARN: Acide Ribonucléique

ORF: Open Reading Frame

NSP: Non Structural Protein

pE2: précurseur de E2

NTPase: Nucléoside Triphosphate Phosphohydrolase

CD : Cluster de Différenciation

GTP : Guanosine TriPhosphate

pH : potentiel Hydrogène

HSP : Heat Shock Protein

Nter : N-terminal

Cter : C-terminal

PFU: Plaque Forming Unit

KIR: Killer Inhibition Receptor

NKG2C: Natural Killer Group 2 C

HLA: Human Leukocyte Antigen

IgG: Immunoglobuline de type G

IFN: InterFeroN

IFN-R: InterFeroN Receptor

IL : InterLeukine

CRP : C-Reactive Protein

TNF: Tumor Necrosis Factor

MCP: Monocyte Chemoattractant Protein

IP: Interferon gamma induced Protein

MIG: Macrophage Induced Gene

RANTES: Regulated on Activation Normal T-cell Expressed and Secreted

MMP2: Matrix Metallopeptidase 2

CCR2: C-C chemokine Receptor 2

HGF: Hepatocyte Growth Factor

GM-CSF: Granulocyte Macrophage Colony Stimulating Factor

NFκB: Nuclear Factor kappa B

ADH: AntiDiuretic Hormone

IgM: Immunoglobuline de type M

OMS: Organisation Mondiale de la Santé

ECDC: European Centre for Disease prevention and Control

HAS: Haute Autorité de Santé

RT-PCR: Real Time-Polymerase Chain Reaction

ADNc : Acide DésoxyriboNucléique Complémentaire

Taq polymerase : *Thermos aquaticus* polymerase

PCR: Polymerase Chain Reaction

ELISA: Enzyme Linked ImmunoSorbent Assay

MAC-ELISA: Immunoglobulin M Antibody Capture Enzyme Linked ImmunoSorbent Assay

PRNT: Plaque Reduction Neutralization Test

VIH: Virus de l'Immunodéficience Humaine

ADN: Acide DésoxyriboNucléique

ADP : Adénosine DiPhosphate

CHIKV : Chikungunya Virus

ARS : Agence Régionale de Santé

Introduction

Le chikungunya est une virose d'origine tropicale appelée arbovirose car étant transmise par un arthropode vecteur hématophage : le moustique. Aujourd'hui, cette maladie après une période d'accalmie est en pleine progression tant sur le plan géographique que sur le plan épidémiologique. Les raisons de cette évolution sont diverses et nombreuses avec notamment des difficultés à contrôler la dissémination du « vecteur » ou encore l'apparition de mutations au sein du virus. A l'heure actuelle, il n'existe pas de traitement ou de vaccin pouvant guérir du chikungunya. En effet, malgré de bonnes évolutions de la recherche dans ce domaine, la stratégie thérapeutique actuelle reste dans un premier temps une prévention individuelle et collective afin d'éviter la transmission du virus et dans un deuxième temps un traitement symptomatique de la maladie en cas de contamination.

L'objectif de cette thèse est de faire un point sur les connaissances de la maladie et sur l'évolution du chikungunya virus depuis sa réémergence tant sur le plan géographique que sur le plan épidémiologique. La progression de la recherche vis-à-vis de la physiopathologie de la maladie, des traitements et de la vaccination sera également abordée ⁽¹⁾ ⁽²⁾.

Au cours de la première partie de cette thèse, seront détaillés les trois acteurs responsables de la classification du chikungunya en maladie vectorielle. Dans une seconde partie, seront évoquées les caractéristiques de la maladie ainsi que les possibilités diagnostiques actuelles. Enfin, la dernière partie abordera les divers moyens thérapeutiques et prophylactiques, en développement ou utilisés, dans le cadre de la prise en charge des patients infectés ou présentant un risque d'infection au chikungunya virus.

PARTIE 1 : LE CHIKUNGUNYA: UNE MALADIE VECTORIELLE

1. L'agent pathogène : le virus du chikungunya

1.1. Histoire de la découverte du virus

Le virus du chikungunya fut découvert et isolé en 1952-1953 par RW Ross lors d'une épidémie de fièvre massive ayant touchée le plateau de Makondé dans la province de Newala au sud de la Tanzanie actuelle. Cette épidémie s'était développée rapidement au cours de la saison des pluies de Juillet à Février de la même année. De par la posture du malade ayant contracté cette maladie, le virus responsable fut nommé « chikungunya » ce qui signifie en swahili « plié en deux » d'où l'autre nom de cette maladie : « maladie de l'Homme courbé ». En 1956, une épidémie moins importante toucha l'Afrique du Sud dans la province du Transvaal. De même, quelques cas furent rapportés au Congo belge (actuelle République démocratique du Congo) la même année. En 1956 et 1958, en Thaïlande, aux Philippines, le chikungunya virus fut identifié à partir de l'étude virologique des cas de fièvre hémorragique du sud-est asiatique. Puis, ce virus fut retrouvé dans les années 60 au Cambodge (1961) et en Inde (1964) ainsi qu'au Vietnam où il aurait été responsable de fièvres contractées par les militaires américains durant la guerre. Avant 1952, des épidémies éventuelles de chikungunya ont pu être mises en évidence par l'étude corrélée des épidémies survenues durant cette période et les connaissances actuelles de la maladie. Ainsi, Carey, a montré que de nombreuses épidémies historiques attribuées au virus de la dengue étaient en fait dues au chikungunya virus. De ce fait, celles survenues au Caire en 1779 et en Inde en 1823, seraient dues à cette arbovirose et auraient été attribuées au virus de la dengue à l'époque, du fait de la grande similitude des symptômes observés lors de la contamination par ces agents pathogènes ^{(3) (4) (5)}.

1.2. Un arbovirus

1.2.1. classification du chikungunya virus

C'est l'évolution de la recherche sur les données de séquençages nucléotidiques et sur la compréhension des mécanismes de réplication des alphavirus et des flavivirus qui a permis de faire évoluer la classification ancienne basée sur des groupes antigéniquement liés : le groupe A et le groupe B . Ainsi, aujourd'hui ces deux genres alphavirus et flavivirus sont séparés dans deux familles virales différentes respectivement nommées *Togaviridae* et *Flaviviridae*. La famille des *Togaviridae* regroupe 29 alphavirus répartis en 8 complexes : western equine encephalitis virus, eastern equine encephalitis virus, vénézuélien equine encephalitis virus, Semliki forest virus, Ndumu virus, salmon pancreas disease virus, Middleburg virus et Trocara virus (**figure 1**). Le chikungunya virus est un alphavirus appartenant à la famille *Togaviridae* et faisant partie du complexe Semliki forest ⁽⁶⁾ .

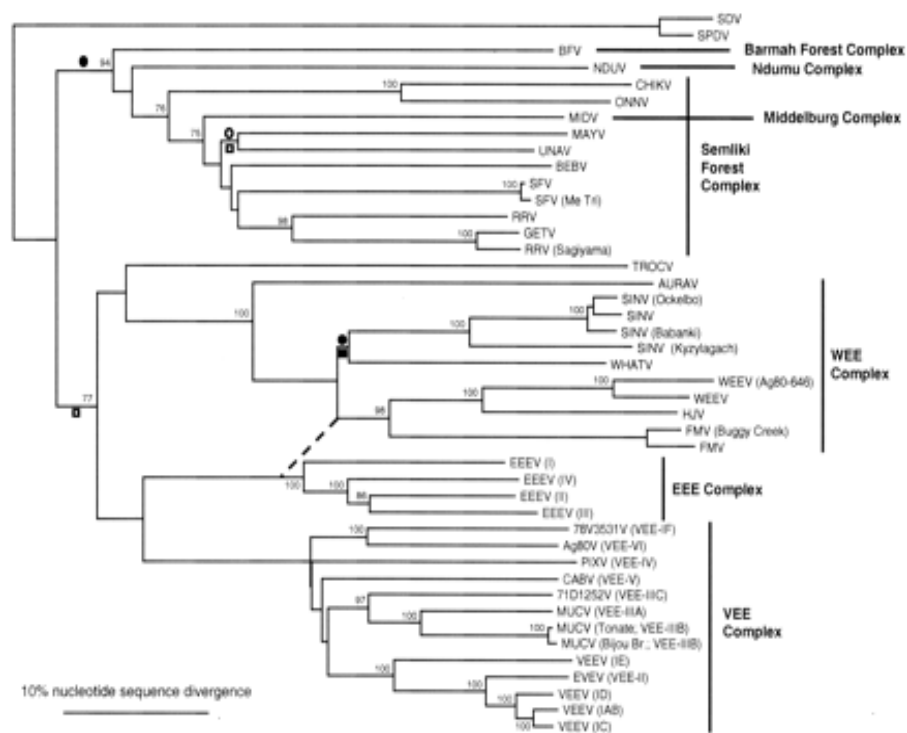


Figure 1: Arbre phylogénétique de la classification des alphavirus ⁽⁷⁾.

1.2.2. Structure

a) Morphologie, composition biochimique du virus

Concernant la structure du virus, les résultats proviennent surtout d'études réalisées sur le virus Sindbis appartenant au même complexe Semliki Forest que le virus du chikungunya ⁽³⁾.

Le virus du chikungunya peut donc être décrit comme un virus enveloppé, sphérique dont le diamètre est compris entre 65 et 70 nm. L'enveloppe du virus se présente sous la forme d'une bicouche lipidique dans laquelle sont enchassées deux types de protéines E1 et E2. Celles-ci présentent une hélice transmembranaire et sont glycosylées. On les retrouve au nombre de 240 exemplaires au sein de la particule virale leur conférant un rôle important dans la rigidité de la structure membranaire. C'est l'ensemble des glycoprotéines composant le virus qui est à l'origine de la formation de la nucléocapside icosédrique protégeant le génome viral. Ce dernier est constitué d'un brin d'ARN de 11,5kb de long, de polarité positive et composé de deux phases de lecture ORF respectivement de 7424 et 3732 nucléotides à l'origine de la synthèse de protéines structurales et non structurales. D'autres protéines appelées 6K, C (capside) ou encore E3 sont retrouvées en quantité variable au sein de la particule virale (**figure 2**). La bicouche lipidique présente quant à elle, un très grand nombre de molécules de cholestérols et de sphingolipides du fait de leur importance dans les étapes d'entrée et de bourgeonnement du cycle de réplication du virus ⁽⁸⁾.

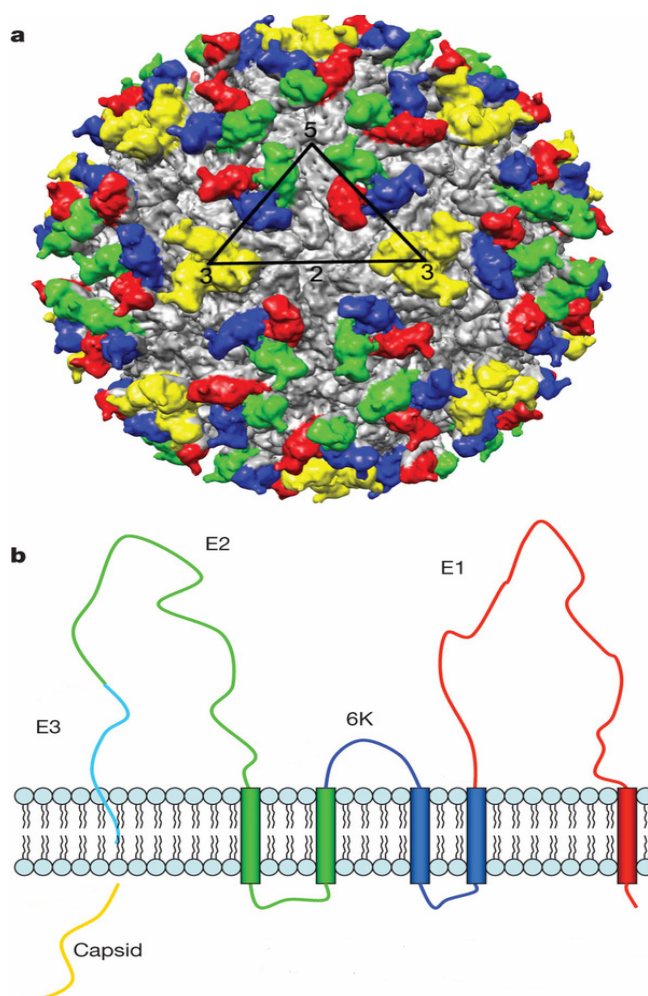


Figure 2 : Schéma de la structure protéique du chikungunya virus ⁽⁹⁾.

b) Organisation de l'ARN viral

L'organisation du génome du chikungunya virus est inversée par rapport à celle des Flavivirus. Ainsi, on retrouve dans l'ordre la coiffe en 5', les gènes codants pour les protéines non structurales du virus NSP1, NSP2, NSP3, NSP4 puis ceux codants pour les protéines structurales C, E3, E2, 6K, E1 et enfin la queue polyadénylée à l'extrémité 3' de l'ARN (**figure 3**). Cette organisation s'apparente à celle des ARNm eucaryotes du fait de la présence d'une coiffe en 5' et d'une queue polyadénylée en 3'. L'étude de la souche S27 du chikungunya virus a mis en évidence la présence en 5' et 3' de régions non codantes respectivement de 76 et de 526 nucléotides ⁽¹⁰⁾. Une étude ayant pour objet la comparaison de la région non codante 3' de 23 alphavirus dont le chikungunya virus a montré une variabilité importante ⁽¹⁰⁾. Cette région étant riche en adénine/thymine la variabilité entre les alphavirus s'expliquerait par l'insertion ou la délétion de séquences

répétées de ces deux nucléotides. Ainsi, il a pu être mis en évidence pour le chikungunya virus et pour l'ensemble des alphavirus, l'importance de ces séquences répétées dans la libération virale. En effet, la délétion de l'une d'entre elles perturberait l'organisation génomique et serait à l'origine d'une réduction et d'un retardement de la libération des virions, prouvant ainsi l'interaction existante entre l'ARN et les protéines cellulaires impliquées dans la production du virus ⁽¹⁰⁾.

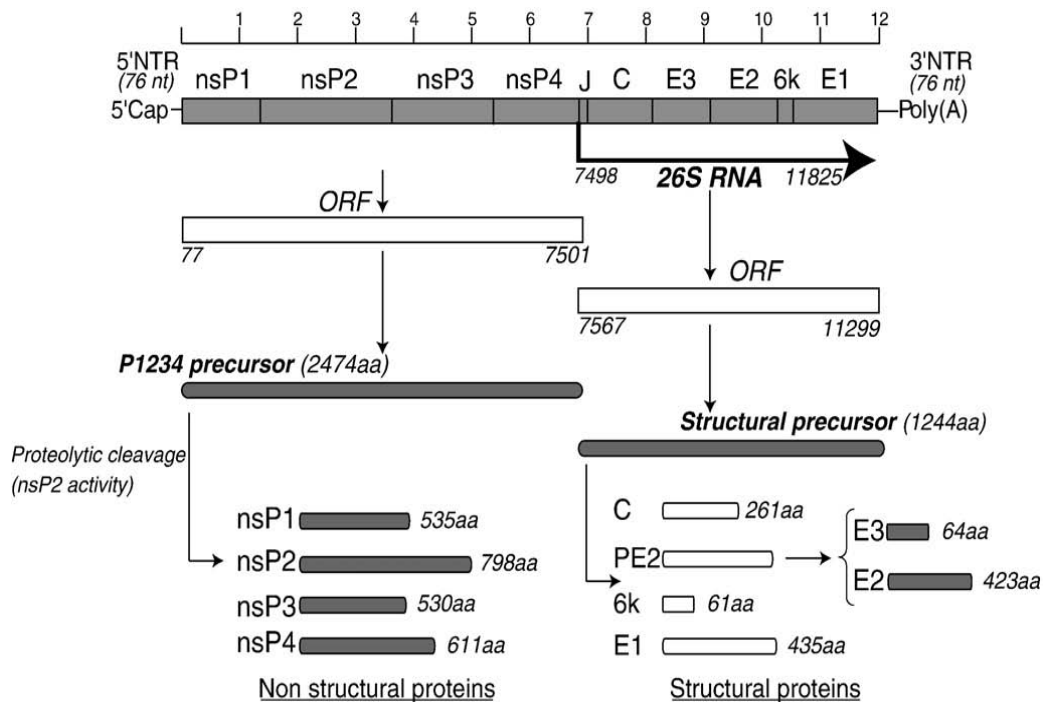


Figure 3 : Organisation du génome du chikungunya virus ⁽¹⁰⁾.

1.2.3. cycle de réplication du virus

a) fonctionnalités des protéines virales

Glycoprotéines pE2/E2, pE2/E3

Les glycoprotéines E2 et E3 proviennent d'un clivage au sein de l'appareil de Golgi d'une furine présente dans la composition chimique de leur précurseur pE2. Puis au sein du réticulum endoplasmique E1 s'associe à E2 pour former des hétérodimères qui se présentent à la surface du virus sous la forme de 80 spicules. La protéine E2 intervient

dans la liaison aux récepteurs cellulaires et dans l'endocytose. La protéine E3 intervient dans la conformation de pE2 à l'origine de la formation du complexe pE2/E1 et a un rôle important de contrôle des fonctions des spicules en interagissant avec la protéine de fusion E1. Enfin, E3 est importante dans le transport des différents composants de la structure virale vers le site de bourgeonnement. Les études utilisant la microscopie cryoélectronique ont émis l'hypothèse d'un rôle enzymatique ou d'un rôle fonctionnel dans l'assemblage du virus de E3 sans qu'aucune preuve n'ait pu être mise en évidence ⁽¹⁰⁾.

Glycoprotéine E1

La glycoprotéine E1 est une protéine présente au sein de la bicouche lipidique issue de la cellule hôte précédemment infectée et participe à la formation de l'enveloppe permettant la protection de la capsidie icosédrique protéique continue ⁽¹⁰⁾. De plus, il a été montré par des analyses électrophysiologiques et des analyses structurales que les glycoprotéines E1 auraient un rôle dans la fusion de l'enveloppe virale avec la membrane endosomale mais aussi qu'elles seraient impliquées dans la formation de pores ioniques au sein de la membrane endosomale en association à d'autres protéines de surfaces virales. De ce fait, les mouvements ioniques seraient modifiés provoquant une acidification du milieu ce qui favoriserait la libération de la particule virale au sein du cytoplasme de la cellule hôte ⁽¹¹⁾.

Protéine 6K

Bien que présentes en petite quantité au sein de la structure virale (7 à 30 exemplaires), elles apparaissent comme indispensables. En effet, des études ont montré qu'une mutation de la protéine 6K diminue considérablement le potentiel infectieux du virus et la rend extrêmement dépendante de la cellule hôte infectée. Cependant, la protéine 6K n'interviendrait pas dans la réplication virale mais plutôt dans le bourgeonnement (en tant que canaux ionique), la formation du virion (en association avec E2), le trafic glycoprotéique, la perméabilité membranaire et l'apoptose ⁽¹⁰⁾.

Les protéines non structurales : NSP1, NSP2, NSP3, NSP4

La protéine NSP1 serait à l'origine de la synthèse de la coiffe en 5' de l'ARNm viral lors de la réplication grâce à ses domaines d'activités enzymatiques guanylyltransférase et méthyltransférase. De plus, elle permettrait l'ancrage du complexe répliatif tardif dans la membrane de la cellule hôte et l'initiation de la synthèse du brin complémentaire du simple brin d'ARN de polarité positive constituant le génome du chikungunya virus. La protéine NSP2 de par ses multiples domaines enzymatiques (NTPase, ARN triphosphatase, hélicase, protéase) est multifonctionnelle. Ainsi, NSP2 participe grâce à ses activités NTPase et ARN triphosphatase à la synthèse de la coiffe avec NSP1. De même, son activité hélicase permet la synthèse des brins intermédiaires d'ARNm viraux et son activité protéase permet la maturation du complexe répliatif précoce en complexe répliatif tardif. NSP3 quant à elle, permet le recrutement de protéines de la cellule hôte impliquées dans la réplication cellulaire au sein du complexe de réplication tardif et est un cofacteur indispensable au fonctionnement de NSP4. En effet, NSP3 est une protéine phosphorylée activant NSP4, cette dernière, ayant le rôle d'ARN polymérase ARN dépendant dans le complexe de réplication ⁽¹²⁾.

b) Etapes de la réplication virale

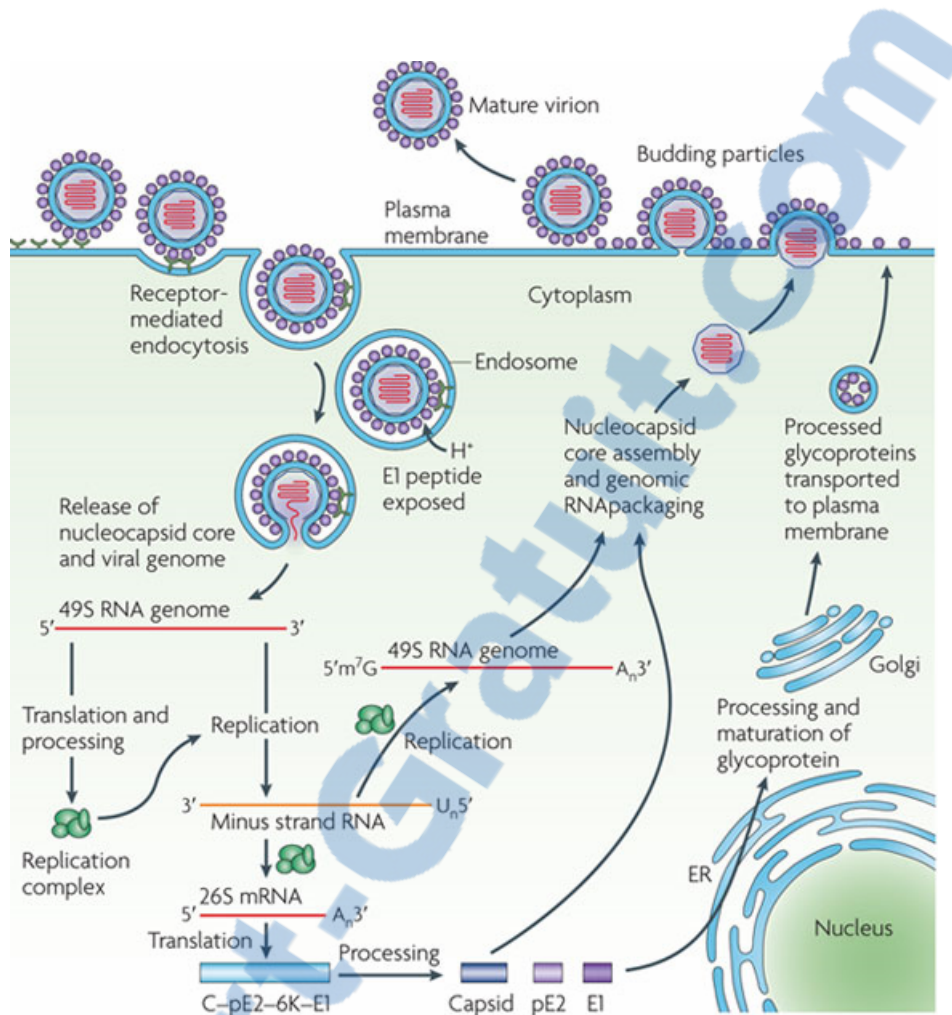


Figure 4 : Schéma des étapes de réplication du chikungunya virus ⁽¹³⁾.

Liaison du virus à la cellule hôte (figure 4)

Le virus du chikungunya pénètre au sein de la cellule hôte par fixation à des récepteurs cellulaires spécifiques *via* les glycoprotéines virales présentes à sa surface. Un de ces récepteurs a été identifié au niveau des cellules de la microglie et porte le nom de prohibitine. Ainsi, ce sont majoritairement les glycoprotéines E2 présentes sous la forme d'hétérodimères E1/E2 au sein de l'enveloppe virale, qui sont responsables de l'interaction avec les récepteurs spécifiques bien qu'il semble que les protéines E1 puissent favoriser celle-ci, mais à un degré moindre. Les récepteurs n'ont pas encore tous été mis en évidence à ce jour hormis la prohibitine. Cependant, il semble indispensable de découvrir et d'identifier ceux-ci, afin de mieux comprendre la physiopathologie du chikungunya. C'est pourquoi, des études ont été effectuées en 2006-2007, afin de mettre en évidence les lignées cellulaires pouvant potentiellement

être ciblées par le chikungunya virus. Ainsi, les résultats montrent que la liaison ne touchent que quelques lignées cellulaires et quelques sous populations de cellules présentant les récepteurs spécifiques à leur surface comme le montre le tableau 1 (10)(14).

Tableau1 : Résultats expérimentaux de l'étude *in vitro* portant sur la liaison chikungunya virus/cellule (10).

	cellules réfractaires à la liaison	cellules favorables à la liaison
Chikungunya virus	<ul style="list-style-type: none"> - lymphocytes T CD4+ - monocytes - cellules dendritiques -lymphocytes B - cellules syncytiotrophoblastiques -cellules épithéliales alvéolaires 	<ul style="list-style-type: none"> -macrophages -plaquettes -lignée cellulaire du carcinome épithéliale cervical (HeLa) -lignée cellulaire épithéliale rénale -lignée cellulaire épithéliale d'hépatocarcinome -lignée cellulaire de neuroblastome -cellules de la peau -cellules endothéliales -cellules pulmonaires MRC-5 -cellules progénitrices du muscle squelettique (mais pas dans les fibres musculaires squelettiques)

Endocytose du chikungunya virus (figure 4)

Suite à la fixation sur le récepteur spécifique de la particule virale survient le phénomène d'endocytose. Il s'agit d'une invagination de la membrane plasmique de la cellule hôte qui aboutit à la formation d'une vésicule libre contenant la particule virale appelée endosome. Cette invagination se produit au niveau de petits domaines sphingolipidiques membranaires dynamiques et riches en cholestérols appelés radeaux lipidiques (10) (15). Il a été montré *in vitro* que l'entrée du virus au sein de la cellule hôte

faisait diminuer la concentration en cholestérol membranaire de façon importante (jusqu'à 65%) mettant ainsi en avant l'importance de cette molécule dans l'endocytose du virus chikungunya. L'invagination et la formation de la vésicule endosomale nécessite aussi la présence de clathrine. La clathrine est une protéine structurale intervenant dans la formation d'enveloppe de certaines vésicules et qui semble indispensable au phénomène d'endocytose du chikungunya virus ⁽⁹⁾. En effet, il a été prouvé que l'ajout expérimental d'anticorps anti-clathrine inhibait la formation de l'endosome diminuant ainsi le potentiel infectieux du virus. Cependant, il a été montré récemment que pour l'infection de certaines cellules comme les cellules mammaires, le mécanisme d'endocytose serait clathrine indépendant ⁽¹⁰⁾. De plus, le passage de l'invagination de la membrane plasmique entourée de clathrine à l'endosome « libre » recouvert de clathrine nécessiterait l'implication d'une protéine appelée dynamine. Cela a été mis en évidence lors de l'utilisation expérimentale de Dynasore (inhibiteur de la dynamine), qui par inhibition de l'activité GTPasique entraîne une diminution significative du potentiel infectieux lié au chikungunya virus ⁽¹⁰⁾. Enfin, il a été montré que la vimentine (protéine du cytosquelette cellulaire) jouerait un rôle elle aussi dans la formation de la vésicule endosomale ⁽¹⁴⁾. En effet, le traitement à l'acrylamide de cellules souches avant ou après l'infection de ces dernières par le chikungunya virus a montré qu'un traitement antérieur à l'infection conduisait à une diminution du potentiel infectieux du virus prouvant l'importance des filaments intermédiaires de vimentine dans l'entrée du virus au sein de la cellule hôte ⁽¹⁴⁾.

Fusion du chikungunya virus avec la membrane endosomale (figure 4)

Pour les virus enveloppés utilisant l'endocytose comme voie d'entrée, le transport de l'endosome le long du cytosquelette est assuré par des protéines de la famille Rab. Ainsi, la protéine Rab5 agit au sein de l'endosome primitif permettant d'une part le recyclage des récepteurs participant à la fixation de la particule virale sur la cellule hôte et d'autre part le transport de l'endosome le long des microtubules du cytosquelette. La protéine Rab7 agit lors de la fusion de l'endosome tardif avec le lysosome de la cellule hôte et assure le tri des endosomes primitifs permettant ou non leur entrée dans la voie tardive de fusion lysosomale. Cependant, il a été montré grâce à des analyses par microscopie confocale et en utilisant des cellules exprimant ou non alternativement Rab5

et Rab7, que le potentiel infectieux du chikungunya virus était fortement modifié en l'absence de Rab5 et très faiblement voir non modifié en l'absence de Rab 7. Ces résultats tendent à mettre en évidence une fusion de la particule virale avec l'endosome avant son entrée dans la voie tardive. Ainsi, cette fusion s'effectuerait rapidement après la formation de l'endosome primitif et nécessiterait de nombreux éléments indispensables à sa réalisation comme la présence de domaines enrichis en cholestérol ⁽¹⁰⁾ ⁽¹⁵⁾. En effet, l'absence de cholestérol diminue de façon importante l'entrée du virus au sein du cytoplasme. Cette étape nécessite une réorganisation conformationnelle des hétérodimères glycoprotéiques E1/E2 situés à la surface de l'enveloppe. La glycoprotéine E1 est organisée en 3 domaines structuraux et possède un peptide de fusion proche d'une valine située en position 226 dans le domaine II, qui suffit à entraîner la fusion mais qui reste inactif tant que E1 et E2 restent associées sous la forme d'hétérodimères. Ainsi, lors de cette étape, E1 se sépare de E2 pour former, en association avec les autres glycoprotéines E1, des homotrimères actifs pour la fusion **(figure 5)** ⁽¹⁴⁾ ⁽¹⁵⁾. Cependant, ce réarrangement se produisant uniquement en milieu acide (pH 6 ou inférieur), il semblerait qu'avant leur association sous la forme d'homotrimère, les glycoprotéines E1 formeraient au préalable des pores ioniques au sein de la membrane endosomale permettant l'entrée de protons à l'intérieur de l'endosome. Ainsi, il y aurait diminution du pH et de ce fait, réarrangement conformationnel. Enfin, cette nouvelle conformation sous la forme d'homotrimère permet l'insertion du peptide de fusion de chaque glycoprotéine E1 dans la membrane cible permettant la réunion de cette dernière avec la membrane virale et donc la fusion membranaire **(figure 5)**. Cependant, il a été montré que toute mutation au sein de la valine en position 226 diminuait la charge virale, du fait d'une augmentation de la dépendance au cholestérol et d'une augmentation de l'acidité du milieu nécessaire à la particule virale pour réaliser la fusion membranaire ⁽¹⁵⁾ ⁽¹⁶⁾.

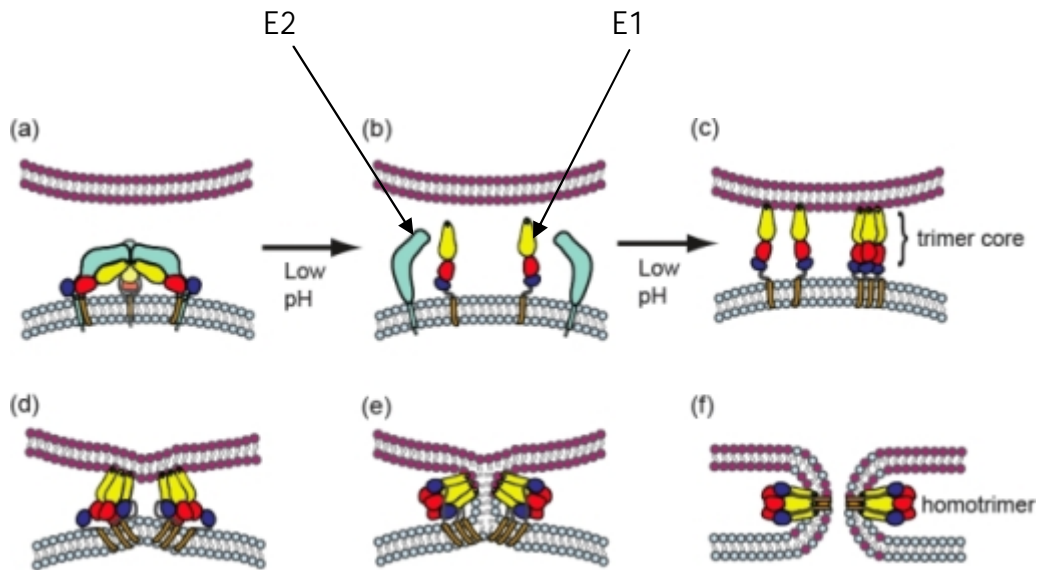


Figure 5 : Schéma de l'association des glycoprotéines E1 sous la forme d'homotrimer⁽¹⁷⁾.

Transcription, traduction et réplication du génome viral (figure 4)

Suite à la fusion membranaire, la nucléocapside se retrouve au sein du cytoplasme. A ce stade de l'infection survient alors l'étape de désassemblage de la nucléocapside appelée étape de décapsidation. Celle-ci se produit suite à l'activation des enzymes cellulaires et permet la libération du génome viral. Ainsi, l'ARN simple brin positif (49S) constituant le génome du chikungunya virus est libre dans le cytoplasme de la cellule hôte. Celui-ci sert alors directement d'ARN messager viral, et est traduit au niveau des ribosomes de la cellule hôte. La traduction aboutit à la synthèse d'un précurseur des protéines non structurales appelé NSP 1234. Le premier clivage de ce précurseur aboutit à la formation de deux protéines : une polyprotéine qui permettra la synthèse de NSP1 NSP2, NSP3 et une protéine non structurale mature NSP4. Ces deux protéines vont se lier et s'associer aux protéines de réplication de la cellule hôte afin de former le complexe de réplication virale (appelé réplicase) précoce qui s'intégrera au sein de la membrane plasmique de la cellule hôte *via* le domaine de fixation de NSP1 situé dans la polyprotéine. Ce complexe ne pourra être formé qu'en présence des protéines HSP 90 dont la sous-unité alpha interagit avec NSP4 pour permettre l'assemblage. En effet, il a été montré sur modèle animal (la souris) que l'inhibition des protéines HSP 90 entraînait une diminution de la virémie et de l'inflammation par inhibition de l'activité de NSP4⁽¹⁸⁾. Ainsi, le complexe de réplication précoce permet la synthèse du brin

complémentaire d'ARN de polarité négative (42S) indispensable à la réplication virale. Ensuite, lorsque la concentration en polyprotéines P123 devient suffisante, survient le clivage de celle-ci pour aboutir à la formation de protéines non structurales matures libres NSP1, NSP2 et NSP3 ⁽¹⁹⁾. Dès lors, se forme le complexe de réplication tardif qui initie la transcription des ARNm viraux (26S) à partir d'une séquence promotrice interne contenue dans l'ARN de polarité négative ainsi que la réplication du génome viral (brin d'ARN de polarité positive). Les ARNm viraux ainsi synthétisés permettent la synthèse de polyprotéines précurseurs (1244 acides aminés) des protéines structurales appelées C-pE2-6K-E1. Ensuite, de par son activité enzymatique autoprotéolytique de type sérine protéase la protéine de la capsid C induit le clivage de ce précurseur aboutissant à la formation de nouvelles polyprotéines pE2-6K-E1 et de protéines de la capsid C matures. Dès lors, les protéines de la capsid mature restent dans le cytoplasme tandis que les polyprotéines pE2-6K-E1, à l'aide d'un site d'attachement formé par une asparagine en position 13 faisant office de signal de translocation, sont reconnues par une protéine signalase de la cellule hôte et se retrouvent au sein du réseau post-traductionnel formé par le réticulum endoplasmique et l'appareil de Golgi. Dans le réticulum endoplasmique, se produit alors le clivage des polyprotéines pE2-6K-E1 en une protéine 6K mature et une polyprotéine pE2-E1. Ces polyprotéines pE2-E1 sont alors transportées dans le trans-golgi après avoir subi des modifications post-traductionnelles telles que la glycosylation où la palmitoylation. Les polyprotéines migrent ensuite vers la surface cellulaire. C'est au niveau de la membrane qu'une furine (protéase à sérine) s'active et clive pE2 en E2 et E3 juste avant leur intégration à la membrane plasmique de la cellule hôte. Aujourd'hui, cette étape du cycle viral fait encore l'objet de recherche comme le prouve la découverte récente d'une protéine spécifiquement humaine interagissant avec NSP2 du complexe tardif et qui semble indispensable à la multiplication cellulaire : la NDP52 ⁽²⁰⁾⁽²¹⁾⁽²²⁾.

Assemblage et bourgeonnement viral (figure 4)

L'assemblage du virion est initié au sein du cytoplasme par l'association entre le génome viral (brin positif d'ARN) et 120 dimères de protéines C de la capsid ⁽¹⁸⁾⁽¹⁹⁾. Ceci est rendu possible par la présence de signal d'encapsidation au sein des protéines de la capsid mais aussi par des interactions électrostatiques non spécifiques entre la

séquence Nter des protéines C de charge positive et le brin d'ARN viral de charge négative. Ces nucléocapsides ainsi formées se déplacent librement au sein du cytoplasme de la cellule hôte et migrent vers la membrane plasmique où s'effectue le bourgeonnement. Celui-ci consiste à recouvrir les nucléocapsides précédemment formées par une bicouche lipidique formant une enveloppe de protection dans lesquelles sont présentes les glycoprotéines E1/E2 associées sous la forme de spicules (environ 80) ainsi que les glycoprotéines E3 et les protéines 6K. Le virion est alors formé ⁽²⁰⁾⁽²¹⁾⁽²²⁾.

1.2.4. Evolution génétique du chikungunya virus

a) Les différents types de génotype

Des études phylogénétiques menées à partir de séquences complètes de génomes ont permis de mettre en évidence trois phylogroupes principaux de chikungunya virus appelés clades : le génotype provenant d'Afrique de l'Ouest (classé dans le groupe I), le génotype provenant d'Asie (classé dans le groupe II) et le génotype provenant d'Afrique de l'Est, d'Afrique centrale, d'Afrique du sud et de l'Océan Indien (classé groupe III). De plus, ces études ont montré que le groupe III peut être subdivisé en trois sous groupes : le IIIa et IIIb correspondant aux génotypes d'Afrique de l'Est, d'Afrique Centrale et d'Afrique du Sud et le groupe IIIc correspondant au génotype de l'Océan Indien. C'est l'observation de différences de longueur entre les génomes mais aussi de substitutions nucléotidiques qui ont été estimées à 4.33×10^{-4} substitutions par site et par année au sein des gènes qui a permis de mettre en évidence ces trois groupes ⁽²³⁾. Cependant, bien que ces divergences soient présentes entre les groupes en fonction de leurs situations géographiques, certaines exceptions sont possibles. Ainsi par exemple, l'épidémie indienne survenue en 2005 serait due à un chikungunya virus dont le génotype serait originaire d'Afrique de l'Est alors que le génotype asiatique serait responsable de la survenue des épidémies indiennes précédentes. De même, l'étude du génotype d'une souche sénégalaise de chikungunya virus a permis de classer celui-ci dans le groupe III alors que la situation géographique du pays le plaçait préférentiellement dans le groupe I ^{(24) (25)}.

b) Risques de mutations

Le génome du chikungunya virus comme tout génome de particule virale peut être la cible de mutation. La plus connue est celle responsable de l'épidémie survenue sur l'île de la Réunion en 2005 : la mutation E1-A226V. Elle correspond à une substitution d'un acide aminé Valine par l'Alanine en position 226 dans la structure de la glycoprotéine E1. Celle-ci a eu pour conséquence d'accroître, dans les régions où la présence du moustique vecteur initial *Aedes aegypti* est rare voire absente, la dissémination de la particule virale par un autre moustique vecteur *Aedes albopictus*. Ainsi, des études ont montré que cette mutation a permis, d'une part de favoriser la diffusion du virus dans les organes primaires (ex : intestin moyen) et secondaires (ex : les glandes salivaires) de ce moustique et, d'autre part, d'augmenter la transmission aux espèces vertébrés ⁽²⁶⁾. Récemment, des chercheurs ont développé une technique pour déterminer les mutations susceptibles de survenir dans le génome du chikungunya virus et qui pourrait le cas échéant entraîner l'apparition d'une épidémie. Celle-ci consiste à réaliser un cycle de transmission en inoculant (1) la souche épidémique du virus présentant la mutation E1-A226V à une première génération de moustiques (moustique 1), puis (2) en infectant un hôte vertébré (une souris) *via* un repas sanguin du moustique 1 et (3) en transmettant le virus toujours *via* un repas sanguin à une deuxième génération de moustiques (moustique 2). Un séquençage du génome de chaque moustique infecté a ensuite été effectué à partir de prélèvements réalisés dans différents sites (les glandes salivaires, l'intestin moyen, les ovaires). Les résultats obtenus lors de la réalisation de cette expérience ont mis en évidence au sein du moustique 1 la présence de deux mutations dans la structure de la glycoprotéine E1 (V80I, A129V), mutations cependant minoritaires. Cependant, après la transmission à la souris puis aux moustiques 2, les souches porteuses des mutations E1-V80I et E1-A129V ont supplanté la souche épidémique de départ. Ainsi, deux nouveaux risques de mutations pouvant survenir au sein du génome du chikungunya virus ont été identifiés, preuve d'une évolution dynamique du génome et de l'émergence possible de nouvelles épidémies dans les années à venir ⁽²⁷⁾.

2. Un vecteur : le moustique

2.1. Présentation et classification des moustiques vecteurs

2.1.1. Présentation

Les moustiques responsables de la transmission du chikungunya virus sont les femelles (seules à piquer) appartenant au genre *Aedes*, avec deux espèces principales responsables essentiellement de la transmission humaine, du fait de leur cycle majoritairement urbain : *Aedes albopictus* (encore appelé moustique tigre ou moustique tigré d'Asie) et *Aedes aegypti* (encore appelé moustique de la fièvre jaune). Au contraire de ces deux espèces, d'autres moustiques du même genre présentant un cycle majoritairement sylvatique sont responsables essentiellement de la transmission animale (préférentiellement les singes) comme par exemple : *Aedes africanus*, *Aedes furcifer*, *Aedes dalzieli*, *Aedes taylori* (**figure 6**). De plus, leur répartition n'est pas homogène. Ainsi, les moustiques vecteurs du cycle urbain se retrouvent sur les cinq continents tandis que ceux à l'origine du cycle sylvatique sont majoritairement présents sur le continent Africain. Dans ce travail, je m'intéresserais principalement aux deux vecteurs responsables de la transmission humaine du chikungunya virus : *Aedes albopictus* et *Aedes aegypti* ^{(28) (29)}.

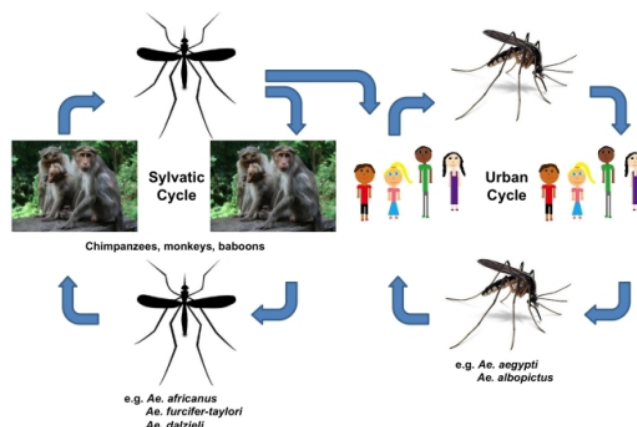


Figure 6 : Schéma du cycle de transmission du chikungunya virus ⁽²⁸⁾.

2.1.2. Classification

La classification taxonomique des moustiques du genre *Aedes* est complexe et repose sur l'ensemble des caractéristiques physiques et biologiques que présente cet insecte comme le montre le tableau 2.



Tableau 2 : Classification taxonomique du genre *Aedes* ⁽³⁰⁾ ⁽³¹⁾ ⁽³²⁾.

Classification	Cause(s)
Domaine : <i>Eucaryota</i>	-Cellules présentant un noyau
Règne : <i>Animalia</i>	-Cellules eucaryotes sans parois et nutrition principalement par ingestion (hétérotrophie)
Sous règne : <i>Métazoaire</i>	-Pluricellulaire
Embranchement : <i>Euarthropoda</i>	-Exosquelette avec appendices articulés -Une paire d'yeux
Sous embranchement : <i>Hexapoda</i>	-Trois paires de pattes
Classe : <i>Insecta</i>	-Corps composé de trois parties tête, thorax, abdomen
Sous classe : <i>Pterygota</i>	-Présence de deux paires d'ailes
Ordre : <i>Diptera</i>	-Une paire d'aile présente et une paire relictuelle
Sous ordre : <i>Nématocéra</i>	-Antennes longues et annelées, palpes sensoriels
Famille : <i>Culicidae</i>	-Pas de suture en V au sein du mésonotum (annexe 1) -Absence de cellules discales sur les ailes -Jusqu'à 11 nervures rejoignant le bord des ailes (annexe 1) -Ailes écailleuses -Absence d'ocelle sur les yeux (incapacité à capter les variations de lumières) -Trompe longue de type piqueuse-suceuse
Sous famille : <i>Culicinae</i>	-Palpes sensoriels courts -Abdomen avec écailles -Position parallèle au sol au repos
Genre : <i>Aedes</i>	-Abdomen pointu -Pattes antérieures de la femelle dentées

2.2. Caractéristique et différenciation des moustiques femelles *Aedes albopictus* et *Aedes aegypti*

Dans un pays à risque il convient de pouvoir identifier et différencier ces deux types d'espèces comme le montre le tableau 3.

Tableau 3 : Tableau de comparaison entre les femelles *Aedes albopictus* et *Aedes aegypti* ⁽³³⁾ ⁽³⁴⁾ ⁽³⁵⁾ ⁽³⁶⁾.

Critères comparatifs	<p style="text-align: center;"><i>Aedes aegypti</i></p>  <p style="text-align: center;"><i>Aedes aegypti</i> ⁽³²⁾.</p>	<p style="text-align: center;"><i>Aedes albopictus</i></p>  <p style="text-align: center;"><i>Aedes albopictus</i> ⁽³³⁾.</p>
Morphologie	<ul style="list-style-type: none"> - petite taille : 7 mm -Tâche blanc argent sur fond noir clair ou marron - écailles argentées en forme de lyre sur fond noir au niveau de la partie dorsale du thorax 	<ul style="list-style-type: none"> -Petite taille 5 mm -Tâche blanc argent sur fond noir foncé -écailles argentées prenant la forme d'une ligne médiale au niveau de la partie dorsale du thorax
Hôte préférentiel	-Homme principalement	-Homme et animal (sauvage ou domestique)
Lieu de piqûre	-Piqûre principalement à l'intérieur des habitations	-Piqûre à l'extérieur et à l'intérieur des habitations
Comportement	<ul style="list-style-type: none"> -Piqûre silencieuse -Actif majoritairement au lever du soleil, avant le coucher du soleil et la nuit dans les lieux bien éclairés 	<ul style="list-style-type: none"> -Piqûre agressive et rapide -Actif majoritairement au lever du soleil et en fin d'après midi
Lieu de piqure	-Cheville et coude	-Toute surface de peau exposée
Lieu de ponte	-A l'ombre sur des supports humides retrouvés en milieu naturel (trou d'arbre ...), ou domestique (vase, pneus usés...)	-A l'ombre sur des supports humides retrouvés en milieu naturel (trou d'arbre ...), ou domestique (vase, pneus usés...)

2.3. Cycle biologique du moustique

Le cycle biologique du moustique est relativement semblable d'une espèce à une autre. Cependant, la ponte et l'éclosion des œufs peuvent parfois être différentes en fonction des conditions en présence et du type d'espèce. Ainsi, le cycle de vie commun à tous les moustiques comporte six étapes (**figure 7**) dans lesquelles on retrouve quatre stades d'évolution morphologique, ainsi que deux phases : une terrestre et une aquatique.

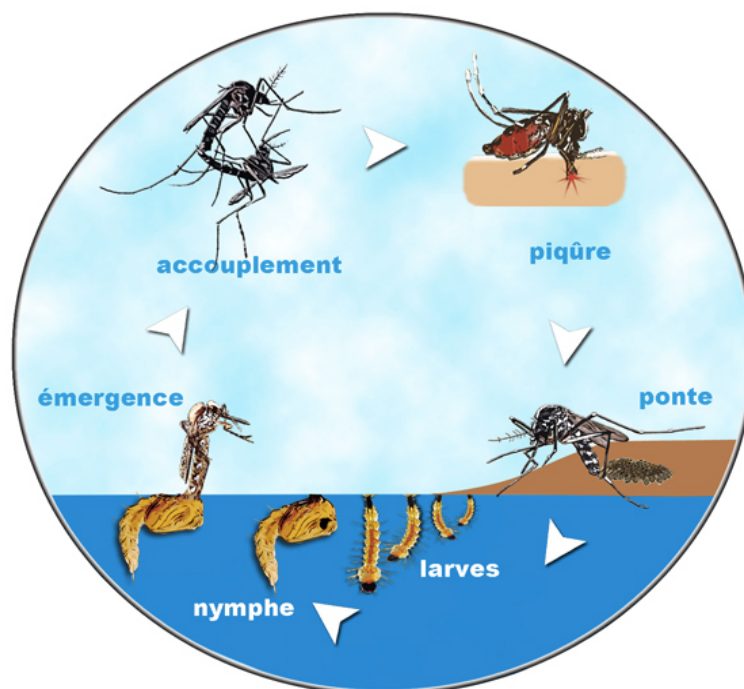


Figure 7 : Schéma du cycle biologique du moustique ⁽³⁷⁾.

2.3.1. Phase terrestre

Première étape : la reproduction

Cette étape consiste en l'accouplement d'un moustique mâle avec un moustique femelle. Ce sont les vibrations de la femelle en vol qui attirent le mâle. L'accouplement peut avoir lieu aussi bien en vol que sur un support ⁽³⁸⁾. Il ne faut pas confondre cette étape avec la fécondation qui n'aura lieu qu'au moment de la ponte des œufs. L'accouplement ne se produit qu'une fois lors de la vie du moustique, le sperme étant stocké dans les spermathèques femelles jusqu'à la mort de l'insecte ^{(37) (39)}.

Deuxième étape : la piqûre

A l'âge adulte, les moustiques se nourrissent essentiellement de nectar de plante. Cependant, celui-ci ayant une composition extrêmement faible en acides aminés et les femelles moustiques ayant un besoin important en protéine pour la maturation de leurs œufs celles-ci utilisent l'Homme comme « source » d'acides aminés *via* le sang. Celui-ci est donc ingéré par le moustique femelle *via* la piqûre ⁽³⁷⁾. Parfois, certaines espèces de moustiques dites autogènes n'ont pas besoin de repas sanguin pour effectuer la première ponte. En effet, ayant accumulé de grandes réserves énergétiques durant la phase larvaire la femelle possède toutes les ressources nécessaires à la maturation de ses œufs ⁽⁴⁰⁾. Les moustiques du genre *Aedes* ne sont pas autogènes. C'est la trompe du moustique femelle aussi appelée proboscis qui permet la piqûre et le repas sanguin. Celle-ci présente une anatomie complexe avec plusieurs stylets (un labre, deux maxilles, deux mandibules, un hypopharynx) contenus dans un labium souple ⁽³⁸⁾. La piqûre du moustique se déroule en trois étapes :

- Détection de l'odeur du sang et orientation du moustique femelle vers la cible *via* les antennes et les palpes sensoriels.
- Fixation à la peau *via* ses pattes dentées
- Introduction des stylets dans l'épiderme après repli du labium jusqu'aux capillaires sanguins. Les mandibules et maxilles permettent de maintenir dans la même position le labre (canal alimentaire par lequel passe le sang) et l'hypopharynx durant le repas sanguin. L'hypopharynx contient le canal salivaire permettant lors de la piqûre une injection de salive possédant des propriétés anesthésiantes (piqûre moins douloureuse), anticoagulantes (pas d'obstruction du canal alimentaire) et vasodilatatrices (quantité de sang plus importante au sein du capillaire) ⁽³⁸⁾.

Troisième étape : la ponte

Suite au repas sanguin, la femelle « gorgée » de sang cherche un lieu pour s'abriter et se protéger de tous prédateurs jusqu'à la maturation de ses œufs. Une fois ceux-ci développés survient alors l'étape de la ponte. Celle-ci se produit dans des lieux qui varient selon les espèces (pneu, flaque...) et s'effectue toujours à la surface de l'eau ou sur un support humide susceptible d'être inondé ⁽³⁷⁾. Le nombre d'œufs dépendra de l'espèce en présence et du volume de sang ingéré par la femelle. Pour *Aedes albopictus* et *Aedes aegypti* la quantité d'œuf produite est d'environ cent œufs par ponte ⁽³⁹⁾. Fusiforme et mesurant environ un millimètre de long ces œufs de couleur blanche au départ s'assombrissent au bout de quelques heures (**figure 8**). Lors de la ponte, ces œufs peuvent se présenter soit associés sous la forme de nacelle, soit isolés les uns par rapport aux autres (par exemple chez les moustiques du genre *Aedes*) ⁽³⁹⁾ ⁽⁴⁰⁾.



Figure 8 : Œufs de moustique du genre *Aedes* ⁽³⁹⁾.

Ils se maintiennent pour la plupart en surface *via* des flotteurs, collerettes ou par leur forme de nacelle. Ainsi, lorsque les conditions favorables sont réunies et que l'embryon est totalement développé survient l'éclosion en deux à cinq jours. Cependant, il existe une exception, les œufs des moustiques du genre *Aedes* qui sont déposés à la surface d'un support humide (le plus souvent de la vase) nécessitent une submersion par l'eau afin d'éclore. Ces œufs sont en phase de quiescence et peuvent rester viables plusieurs années. Leur éclosion se produira *via* un bouton dit « d'éclosion » situé sur la tête embryonnaire permettant la découpe de la coquille ou cuticule ⁽³⁷⁾.

2.3.2. Phase aquatique

Quatrième étape : le stade larvaire

L'éclosion des œufs donne naissance à une larve, qui évoluera suivant quatre stades dit larvaires, toujours aquatiques quelle que soit l'espèce ⁽³⁷⁾. Cette maturation sera marquée par quatre mues successives (à la fin de chaque stade) et permettra à celle-ci, de passer de deux millimètres à douze millimètres ⁽³⁷⁾ ⁽³⁸⁾. Les larves se nourrissent essentiellement de microorganismes (bactéries, plancton) et sont très mobiles (se déplacent par saccades) ce qui leur permet de plonger si une menace extérieure se présente ou si la recherche de nourriture le nécessite. La respiration de celles-ci s'effectue à la surface de l'eau, soit directement, soit à l'aide d'un siphon respiratoire retrouvé sur la partie distale de l'abdomen (c'est le cas des larves de moustiques du genre *Aedes*) **(figure 9)**. En fonction de la température, le développement de la larve sera plus ou moins long ⁽³⁷⁾. Ainsi, en hiver il pourra être de plusieurs mois contre quelques jours en été ⁽³⁷⁾ ⁽³⁹⁾ ⁽⁴⁰⁾.

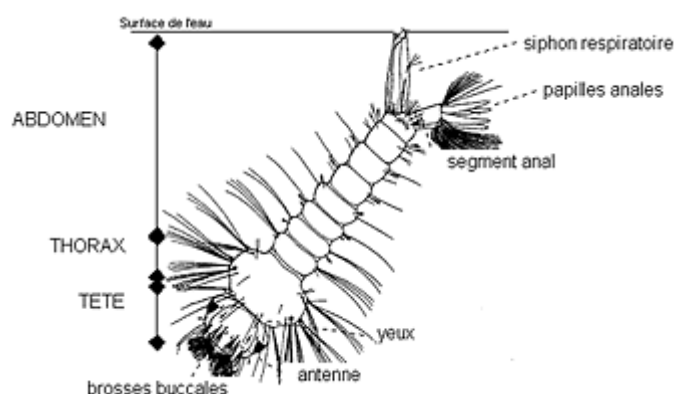


Figure 9 : Larve de moustique du genre *Aedes* ⁽⁴¹⁾.

Cinquième étape : la nymphe

La fin du stade larvaire se caractérise par une dernière mue de la larve qui aboutit à l'apparition de la nymphe. D'une durée courte (24 à 48h), cette étape constitue la première étape du passage du moustique d'un milieu aquatique à un milieu terrestre. Aussi appelée pupa, la nymphe est présente à la surface de l'eau sous la forme d'une virgule et respire via deux « trompettes » localisées au niveau du céphalothorax **(figure 10)**. Elle est mobile grâce à la présence de deux palettes natatoires situées sur

l'abdomen. Ainsi, cette particularité lui permet de plonger lorsqu'elle se sent menacée par des mouvements de déploiement et repliement de l'abdomen. Durant cette étape, la nymphe ne se nourrit pas et puise dans ses réserves énergétiques acquises au cours du stade larvaire ^{(37) (39)}.

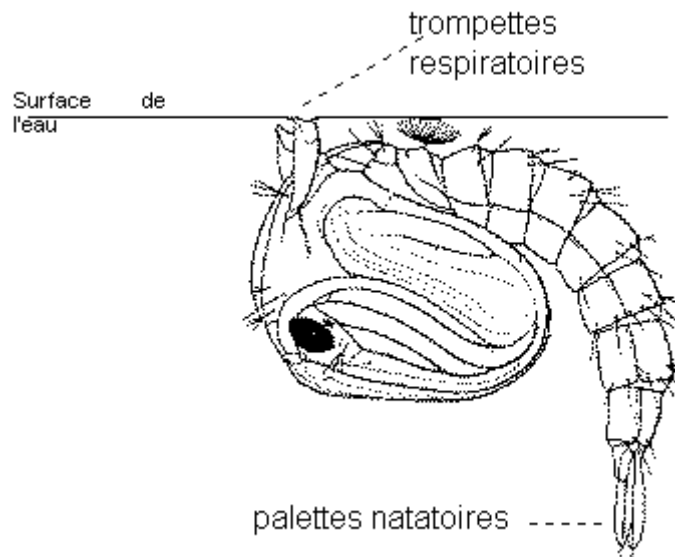


Figure 10 : Nymphe de moustique du genre *Aedes* ⁽⁴¹⁾.

Sixième étape : l'émergence

La fin du stade nymphal se caractérise par l'apparition du moustique adulte *via* une étape appelée l'émergence (**figure 11**). Durant celle-ci, la cuticule de la nymphe en fin de maturation se fend en suivant une ligne longitudinale. Le moustique adulte se gonfle alors d'air lui permettant de dégager d'abord son thorax puis sa tête et enfin ses pattes et son abdomen. Cette étape dure une quinzaine de minutes environ et expose le moustique « naissant » aux prédateurs. C'est pourquoi, durant cette phase la mortalité est extrêmement élevée ^{(37) (39)}.



Figure 11 : Emergence du moustique adulte genre *Aedes* ⁽³⁸⁾.

2.4. Compétence vectorielle

Dans le cas du chikungunya virus, déterminer la compétence vectorielle, d'*Aedes aegypti* et d'*Aedes albopictus* est fondamentale afin de pouvoir évaluer la « menace » de propagation et de transmission de cet arbovirus. Elle correspond à la capacité du moustique vecteur à contracter le pathogène et à le transmettre à un autre hôte susceptible de développer à son tour la maladie. Ainsi, une étude menée sur le continent américain a permis de mettre en évidence que pour *Aedes aegypti* et *Aedes albopictus* le taux de dissémination viral était élevé quel que soit le génotype de chikungunya virus. Cependant, une différence de compétence vectorielle était observable au niveau de la transmission du virus. En effet, bien que la capacité à transmettre les trois génotypes de chikungunya virus soit identique pour ces deux espèces de moustiques, l'efficacité de transmission était différente suggérant la fonction importante jouée par les glandes salivaires dans la sélection de la souche virale. Ainsi, il a été montré que le chikungunya virus appartenant au génotype d'Afrique de l'est, Afrique du Sud et Afrique Centrale (E1-226A) et au génotype asiatique (responsable notamment de l'épidémie survenue aux Antilles) était plus efficacement transmis par *Aedes aegypti* tandis que celui provenant du génotype de l'Océan Indien responsable de l'épidémie survenue à l'île la Réunion en 2005 (E1-226V) et provenant d'une mutation du génotype d'Afrique de l'est, Afrique du Sud et Afrique Centrale (remplacement d'une Alanine par une Valine) était quant à lui plus efficacement transmis par *Aedes albopictus*. Des études plus approfondies réalisées sur la souche virale E1-226V ont en effet permis de montrer que la différence de compétence vectorielle entre ces deux espèces de moustiques étaient aussi due au nombre élevé de particules virales retrouvées dans les glandes salivaires d'*Aedes albopictus* par rapport à *Aedes aegypti*. Le taux d'efficacité de

transmission pouvait atteindre jusqu'à 83,3% pour *Aedes aegypti* et 96,7% pour *Aedes albopictus*. De plus, pour que la transmission du virus soit effective au sein du moustique, un titre de 10⁴ PFU/ml dans le sang de l'hôte était nécessaire ^{(42) (43) (44)}.

2.5. Répartition géographique des moustiques vecteurs

2.5.1. Distribution géographique d'*Aedes aegypti*

a) Dans le monde

Durant les 25 dernières années, la répartition du moustique *Aedes aegypti* a évolué de façon importante. C'est pourquoi, aujourd'hui, ce moustique originaire d'Afrique présente une distribution mondiale comme le montre le tableau 4.

Tableau 4 : Distribution mondiale du moustique vecteur *Aedes aegypti* ^{(28) (34)}.

Continent où la présence d' <i>Aedes aegypti</i> a été établie	Pays ou région de localisation
Afrique	- Afrique tropicale et subtropicale (Ouest, Nord-est et Sud de l'Afrique) - Afrique du Nord (Algérie, Egypte, Lybie, Maroc, Tunisie)
Asie	-Asie du Sud Est (Thaïlande, Vietnam, Malaisie, Laos...) -Inde et îles indiennes - Moyen orient (Syrie, Israël ...)
Amérique	- Sud Est des Etats-Unis (Floride) -Caraïbes -Amérique Centrale (Mexique, Panama) -Amérique du Sud (Brésil, Argentine, Vénézuéla, Pérou...)
Océanie	- Nord de l'Australie
Europe	- Îles françaises (Martinique, Guadeloupe) -Portugal (Madère) -Pays Bas -Europe de l'Est (Géorgie, Sud Ouest de la Russie)

b) En Europe

Après avoir colonisé en 1919 le Royaume-Uni et la France (Brest), *Aedes aegypti* a été signalé en Espagne en 1953, au Portugal en 1956, à Madère en 1977-1979 et de façon épisodique en Turquie, Russie, Ukraine, Croatie, Italie, France et Malte avant de disparaître pour des raisons encore inconnues aujourd'hui. Ce n'est qu'en 2004-2005, que sa présence a de nouveau été confirmée aux îles Madères. Dès lors, le risque d'exportation du moustique vers le reste de l'Europe est réel. En effet, en 2010, il aurait été observé au Pays Bas et se serait clairement établi en Géorgie et dans le sud Ouest de la Russie (figure 12) ⁽³⁴⁾.



Figure 12: Distribution géographique d'*Aedes aegypti* en Europe ⁽⁴⁵⁾.

c) En France

On le retrouve principalement dans les Département d'Outre mer français : La Réunion, Martinique, Guadeloupe, Guyane et Mayotte. Il est notamment responsable de l'épidémie de chikungunya de 2014 dans les Antilles françaises ⁽³⁴⁾.

2.5.2. Distribution géographique *Aedes albopictus*

a) Dans le monde

Aedes albopictus, considéré comme l'espèce de moustique la plus invasive pour l'être humain, présente une distribution géographique mondiale qui ne cesse de s'étendre au fil des années. En effet, « le moustique tigre » provenant d'Asie du Sud Est présente une très grande plasticité écologique, lui permettant de s'adapter au milieu en présence, ce qui explique son implantation dans les pays tropicaux dont il est originaire et dans les pays non tropicaux comme le montre le tableau 5 ⁽³³⁾.

Tableau 5 : Distribution mondiale du moustique vecteur *Aedes albopictus* ⁽³³⁾.

Continent où la présence d' <i>Aedes albopictus</i> a été établie	Pays de localisation
Afrique	-Nigeria, Madagascar, Gabon, Guinée équatoriale, Cameroun, Afrique du Sud
Asie	- Japon et Sud de l'Asie (Inde, Thaïlande, Vietnam, Laos...) -Proche Orient : Israël, Syrie, Liban
Amérique	-Amérique du Nord et Centrale : Etats-Unis, Mexique, Guatemala, Panama, Nicaragua, Honduras, Costa-Rica, El Salvador -Caraïbes : Cuba, République Dominicaine, Trinidad et Tobago, îles Caïman, la Barbade, Jamaïque -Amérique du Sud : Colombie, Brésil, Bolivie, Argentine, Venezuela, Paraguay, Uruguay
Océanie	Nouvelle-Zélande
Europe	Espagne, France (incluant la Corse), Italie (incluant Sardaigne et Sicile), Grèce, Albanie, Bosnie Herzégovine, Croatie, Slovénie, Malte, Bulgarie, Monténégro, Slovaquie, Suisse, Serbie, Turquie, Saint marin, Vatican

b) En Europe

La première implantation du « moustique tigre » en Europe eut lieu en Albanie durant l'année 1979. Ce n'est que dans les années 1990 que sa présence fut confirmée en Italie dans la ville de Gênes. L'Italie est aujourd'hui considérée comme le pays abritant la plus forte population d'*Aedes albopictus* d'Europe avec 22 provinces colonisées. Ce n'est qu'en 1999 que « le moustique tigre » est détecté en France en Normandie. Depuis 2000, la propagation de ce moustique atteint un grand nombre de pays en Europe. Ainsi, il se serait établi en Espagne (Barcelone 2004), Grèce, Malte et dans les pays Balkans et aurait été signalé sporadiquement en Suisse (région de Tessin en 2003), Pays Bas (2005, 2006, 2007) (figure 13) ⁽³³⁾.

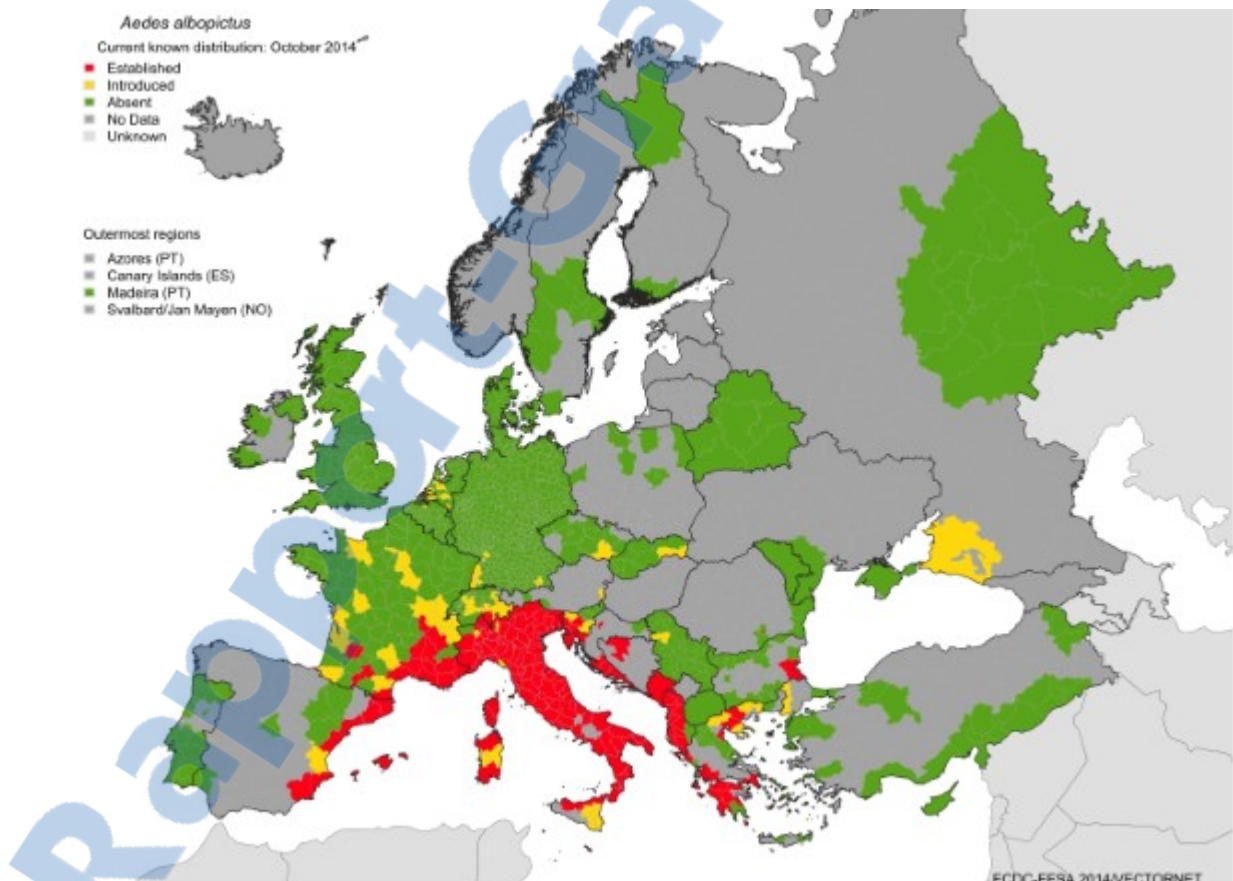


Figure 13: Distribution géographique d'*Aedes albopictus* en Europe ⁽⁴⁵⁾.

c) En France

Bien que signalé en France en Normandie durant l'année 1999, le « moustique tigre » ne s'y est pas établi durablement. Ce n'est qu'en 2004, que celui-ci s'est installé définitivement à Menton dans les Alpes-Maritimes. Depuis, son implantation dans les régions françaises ne cesse de croître. Ainsi, aujourd'hui on considère qu'il est présent durablement en Corse (Haute Corse en 2006, Corse du Sud en 2007), sur le littoral méditerranéen (les Alpes Maritimes en 2004, le Var en 2007, Bouches du Rhône en 2010, le Gard et l'Hérault en 2011, Pyrénées Orientales et Aude en 2012), dans le Sud de la France (les Alpes de Hautes Provence en 2010, l'Ardèche, Lot et Garonne, Gironde, la Drôme, l'Isère, le Rhône, la Haute Garonne en 2012) et dans certains département d'outre mer (La Réunion, Mayotte). Dans ces régions françaises, son pic d'activité s'étend du mois de mai au moi de novembre. De plus, il est retrouvé sporadiquement dans certains départements, la Savoie, l'Ain, les Hautes Alpes, Saône et Loire, Côte d'or, l'Yonne, Charente maritime et Pyrénées atlantiques (**figure 14**) ⁽⁴⁶⁾.

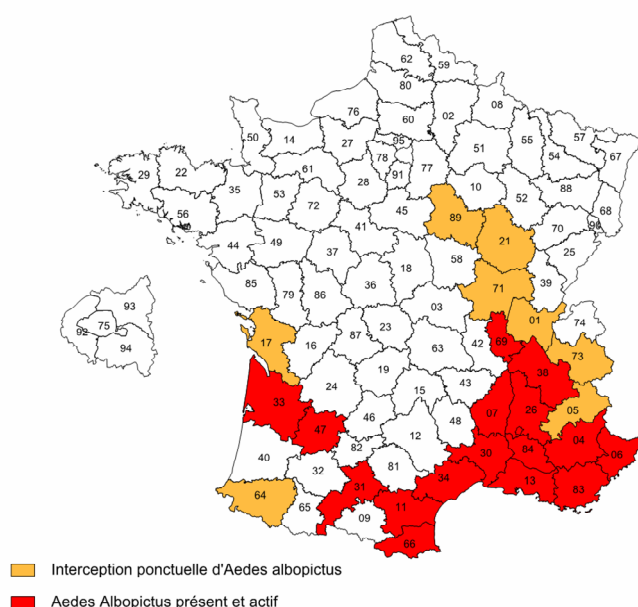


Figure 14 : Distribution géographique d'*Aedes albopictus* en France ⁽⁴⁷⁾.

2.6. Causes de la progression géographique d'*Aedes albopictus* et *Aedes aegypti*

2.6.1. Une plasticité écologique

a) La diapause

Pour survivre dans les régions climatiques tempérées certaines espèces de moustique présentent une capacité d'adaptation touchant leurs œufs appelée diapause. Cependant, des deux espèces de moustiques vectrices du chikungunya virus, seule *Aedes albopictus* est concernée par ce processus ⁽³⁴⁾. La diapause est un phénomène complexe, qui correspond au ralentissement du métabolisme avec mise en dormance de ces derniers leur permettant de survivre lorsque les conditions de développement ne sont plus optimales ⁽⁴⁸⁾. C'est pourquoi, celle-ci s'observe notamment lors de la période hivernale, où la diminution de la période diurne (photopériodisme) la déclenche. D'autres facteurs sont susceptibles de participer à son initiation mais à un degré moindre comme par exemple : la diminution des températures, la densité de la population et la qualité de la nourriture. Une fois initiée, la diapause est sous contrôle hormonal dont la principale hormone est la diapause hormone (neuropeptide). Celle-ci permet l'activation de nombreux mécanismes physiologiques permettant d'une part, l'augmentation d'hydrocarbure au sein de la cuticule protégeant l'œuf contre la dessiccation, d'autre part l'augmentation du stock de lipides et la diminution du métabolisme permettant à l'œuf de survivre sur une longue période ainsi que la production de polyols et de protéine HSP permettant la survie de celui-ci à basse température. Cependant, bien que permettant à l'œuf de se protéger contre ces différents facteurs, la diapause pourra être levée si sa durée excède les six mois. Le développement de l'œuf reprendra lorsque la température ambiante et l'humidité du milieu seront suffisantes. Ainsi, la diapause explique la progression actuelle du moustique tigre en Europe alors qu'il est présent à l'origine dans les régions tropicales ^{(49) (50)}.

b) Adaptation au réchauffement climatique

La progression géographique des moustiques *Aedes albopictus* et *Aedes aegypti* dans le monde pourrait aussi être due aux modifications climatiques observées ces dernières années. En effet, il a été observé une concordance temporelle entre le réchauffement

climatique et la progression des arboviroses, ce qui viendrait étayer cette hypothèse. Ainsi, l'augmentation récente des températures, facteur climatique censé limiter la distribution géographique des moustiques, est à l'origine de l'observation, par exemple au Mexique, de moustique du genre *Aedes aegypti* à des altitudes élevées supérieures à celles habituelles. De même, l'augmentation des précipitations et de l'humidité joue un rôle dans cette progression puisqu'elle favorise le développement et donc la prolifération des moustiques vecteurs. Ainsi, par exemple l'éclosion des œufs et la maturation des larves d'*Aedes aegypti* et d' *Aedes albopictus* est favorisée par l'apparition de cavités remplies d'eau retrouvées dans les troncs d'arbre ou les nœuds de bambous. Le vent joue lui aussi un rôle puisqu'il a été montré que des vents de force faible voire modérée pouvaient favoriser la dispersion des vecteurs arthropodes sur parfois plusieurs centaines de kilomètres ⁽³³⁾ ⁽³⁴⁾. Il existe d'autres facteurs climatiques ou humains agissant sur cette progression. Ainsi, les catastrophes naturelles comme l'ouragan Mitch qui s'est accompagné de fortes précipitations a favorisé le développement des moustiques, les guerres ont favorisé le déplacement massif des populations ainsi que la formation de camps de réfugiés dont les conditions sanitaires favorisent la reproduction vectorielle. L'urbanisation des pays en voie de développement dont les réseaux de distribution et d'évacuation de l'eau sont inexistantes impliquent la constitution de réserves d'eau facilement accessibles pour les moustiques et jouent aussi un rôle dans la progression territoriale des deux vecteurs principaux du chikungunya *Aedes aegypti* et *Aedes albopictus* ⁽⁵¹⁾.

2.6.2. La mondialisation

La mondialisation des échanges joue un rôle dans la progression géographique des arthropodes vecteurs du chikungunya virus. En effet, le commerce international de pneus usagés en Europe et les échanges de marchandises avec le Sud de la Chine tel que la canne chinoise appelée aussi « lucky bambou », constituent à eux seuls des gîtes larvaires pour ces moustiques permettant leurs transports d'un pays à l'autre et l'apparition de nouvelles espèces vecteurs dans des zones géographiques, auparavant dépourvues de celles-ci ⁽³³⁾ ⁽⁵²⁾. *Aedes albopictus* aurait ainsi été introduit en Europe *via* les navires provenant d'Asie et transportant ces deux types de marchandises ⁽³³⁾. De la même façon, très récemment, *Aedes aegypti* aurait été introduit au Pays bas par le commerce de pneumatiques *via* des navires provenant de Floride ⁽³⁴⁾. Une autre conséquence de la mondialisation est celui de

l'augmentation des transports individuels et collectifs (bus, habitacle de voiture, train) qui jouent eux aussi un rôle dans la progression géographique des moustiques sur de courtes distances. En effet, les moustiques femelles recherchant le repas sanguin nécessaire à la ponte suivent parfois l'Homme et peuvent donc entrer dans les véhicules ; les arrêts de ceux-ci permettant en fonction des conditions (présence d'un gîte larvaire ou non) leur possible prolifération dans des zones indemnes. C'est vraisemblablement de cette façon qu'*Aedes albopictus* a été introduit dans les Alpes Maritimes depuis l'Italie ⁽⁵³⁾.

3. Des réservoirs difficiles à identifier

Dans le cas d'une arbovirose, on appelle réservoir un être vivant susceptible d'héberger et de permettre la survie de l'agent infectieux avant une possible transmission à l'Homme. Dès lors, la connaissance de ces « espèces réservoirs » est importante car elle permet un meilleur contrôle des maladies. Cependant, les études menées sur la recherche de ces espèces sont peu nombreuses concernant le chikungunya virus. De plus, la plupart d'entre elles ont été réalisées lorsque l'épidémie était déjà effective et les potentiels réservoirs déjà séroconvertis. Cela n'a pas permis de déterminer si les animaux en présence avaient joué un rôle quelconque dans l'apparition de la maladie. De plus, les résultats obtenus ont montré que l'implication de ces animaux variait en fonction de la zone géographique d'étude. C'est pourquoi, il est admis que lors d'une épidémie, l'être humain constitue le seul réservoir de la maladie. Malgré ces constatations, l'hypothèse selon laquelle les animaux peuvent aussi jouer ce rôle reste plausible. En effet, la présence du chikungunya virus a été retrouvé au sein de plusieurs espèces animales notamment le singe comme par exemple le macaque *Macaca fascicularis* (Philippines, Malaisie), le vervet *Cercopithecus Aethiops Pygerythrus* (Afrique du Sud) ou encore les orangs-outans sur l'île de Bornéo en Malaisie. Cependant, malgré les « traces » du virus chez les différentes espèces de singes provenant d'Asie, aucun cycle sylvatique n'a été mis en évidence. En outre, d'autres espèces sont suspectées d'être de possibles réservoirs, sans que leur implication soit clairement établie. C'est le cas de certains oiseaux tels que l'hirondelle *Hirundo Rustica*, le moineau *Passer domesticus* ou encore les oiseaux migrateurs (*Sterna Hirundo*, *Streptopelia Turtus*, *Ardea cinerea*, *Ardeola ralloide...*) et de certains animaux domestiques ou sauvages : rongeurs, reptiles, chevaux. Une autre hypothèse mise en avant serait de considérer certains animaux comme des

impasses épidémiologiques, ce qui expliquerait par exemple, l'arrêt de la transmission du chikungunya virus à l'île de la Réunion en 2007. Ainsi, le rôle des animaux dans la propagation du virus chikungunya reste à définir ⁽⁵⁴⁾ ⁽⁵⁵⁾.

PARTIE 2 : DE LA TRANSMISSION AU DIAGNOSTIC DU CHIKUNGUNYA VIRUS

1. La transmission du chikungunya virus

1.1. Le cycle urbain

La transmission du chikungunya virus à l'Homme s'effectue *via* un cycle dit urbain. Il est ainsi nommé du fait de la capacité de survie des espèces vectrices en ville à proximité de la population. Dans ce cycle, chaque rôle est défini. *Aedes albopictus* et *Aedes aegypti* jouent le rôle de vecteurs entre les individus et l'Homme joue le rôle de réservoir permettant l'amplification et la survie du pathogène. Le déroulement du cycle nécessite tout d'abord la piqûre par le moustique femelle d'un individu déjà infecté avec ingestion du sang contenant un taux élevé de charges virales. Ensuite, le virus passe alors dans le tube digestif du moustique par capillarité, atteignant tout d'abord l'œsophage puis l'estomac et enfin l'intestin. Le chikungunya virus pénètre alors grâce à des récepteurs situés au sein de la bordure en brosse intestinale au sein des cellules de l'intestin ⁽⁵⁶⁾. C'est à ce niveau que commence sa multiplication puis sa dissémination dans l'hémocèle (système lymphatique de l'insecte) et dans d'autres organes dont les glandes salivaires. Pour infecter ces dernières, les particules virales passent dans un premier temps la membrane basale externe, sur laquelle repose les cellules glandulaires acineuses salivaires, puis dans un deuxième temps pénètrent dans le cytoplasme où elles subissent une nouvelle phase de réplication. Le délai estimé entre l'ingestion du virus et son apparition dans les glandes salivaires est d'environ deux jours. Le temps d'incubation au sein du moustique, quant à lui, est d'environ 8 à 10 jours. Enfin, les femelles *Aedes albopictus* et *Aedes aegypti*, présentant la capacité de transmettre les particules virales tout au long de leur vie, pourront une fois infectées, lors de leur prochain repas sanguin, inoculer le virus à un individu sain *via* l'injection de salive lors de la piqûre. L'Homme devenu ainsi contaminant, pourra alors de nouveau transmettre le chikungunya virus à un autre moustique ^{(43) (57)}. En outre, il faut savoir que de nombreuses études ont montré l'existence d'une transmission verticale de celui-ci, du fait de la

dissémination du virus dans tous les organes et notamment les ovaires. Cependant, cette transmission verticale ne s'observe qu'une fois le cycle de réplication du virus au sein du moustique terminé. C'est pourquoi, elle ne sera effective qu'à la deuxième ponte et non au cours de la première survenant directement après le repas sanguin responsable de l'infection (58) (59).

1.2. Le cycle sylvatique

Le cycle sylvatique est un cycle de transmission du chikungunya virus distinct du cycle urbain. Son nom fait référence à l'environnement dans lequel il se déroule : la forêt. De la même façon que pour le cycle urbain, chaque « statut » est défini. Les moustiques arboricoles tels que *Aedes furcifer*, *Aedes africanus*, et *Aedes taylori* sont les vecteurs et les primates constituent l'espèce réservoir. L'Homme quant à lui, joue le rôle d'hôte accidentel du virus. Les moustiques du cycle sylvatique peuvent parfois être impliqués dans la transmission interhumaine. C'est le cas d'*Aedes furcifer*, connu pour entrer dans les villages en bordure des forêts, et vraisemblablement à l'origine d'une transmission du singe à l'Homme, le relai étant ensuite assuré par *Aedes albopictus* et *Aedes aegypti*. Le cycle sylvatique a essentiellement été décrit en Afrique mais des études menées sur les primates asiatiques suggèrent la possibilité d'un cycle en Asie (5).

2. Contexte épidémiologique

2.1. Evolution épidémiologique du chikungunya virus dans le monde

A l'heure actuelle, le chikungunya virus est considéré comme en réémergence par les différentes institutions de veille sanitaire mondiale. En effet, suite à sa découverte en Tanzanie, le virus du chikungunya a notamment été responsable de nombreuses épidémies en Asie, Afrique, dans l'Océan Indien ainsi que depuis décembre 2013 dans les Caraïbes (figure 15). De plus, des cas autochtones ont notamment été observés en 2014 sur le continent américain, zone n'ayant jamais été touchée jusque-là. Cependant, la dissémination

du chikungunya virus n'ayant lieu qu'au cours de la période d'activité des moustiques du genre *Aedes* s'étendant du 1^{er} mai au 30 novembre, le risque de survenue d'une infection reste faible en dehors de celle-ci dans les zones tempérées. Le chikungunya virus continue donc son évolution à l'échelle mondiale depuis les années 2000, en alternant les périodes d'émergences marquées par de nombreuses épidémies et les périodes « silencieuses » notamment entre 2010 et 2013 ⁽⁶⁰⁾.

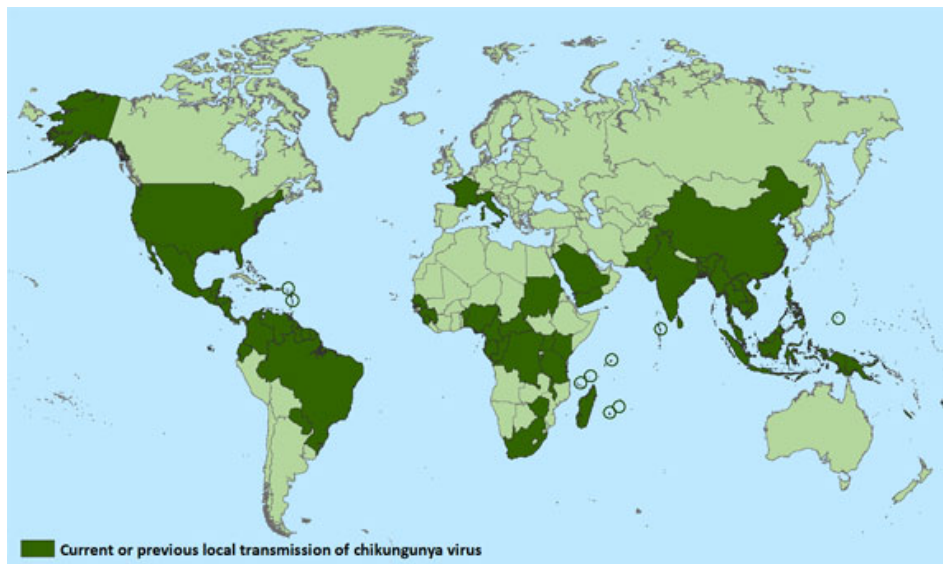


Figure 15 : La répartition géographique du chikungunya virus en février 2015 ⁽⁶¹⁾.

2.1.1. Evolution épidémiologique du chikungunya virus de 2000 à 2013

a) Situation épidémiologique en Asie et dans l'Océan Indien

C'est au cours des années 2005-2006, que la dissémination du chikungunya virus a été importante notamment dans l'Océan Indien. Ainsi, en 2004 une première épidémie touche le Kenya et est à l'origine de la diffusion de cette arbovirose aux Comores en janvier 2005 (215000 cas) et à l'île de la Réunion en mars 2005 (270000 cas). En parallèle, en avril 2005 l'île Maurice, Mayotte et les Seychelles sont touchés, avec notamment 9000 cas recensés aux Seychelles. En outre courant 2006, la propagation du chikungunya virus a touché Madagascar, le Sri Lanka, le Pakistan et la Malaisie sans que l'on ne connaisse le nombre exact de cas confirmés, du fait des inégalités entre les systèmes de surveillance sanitaire. De même, une épidémie importante a eu lieu aux Maldives au cours de la même période, avec notamment 12000 cas recensés. Toutefois, en 2006 le pays le plus touché était l'Inde, où la

dissémination virale a été majeure avec un nombre de cas dépassant selon des estimations les 1,4 millions de personnes infectées. Depuis, de nombreuses épidémies sont observées régulièrement en Asie du sud-est, comme en Malaisie en 2008 (4000 cas environ) et 2009 (5000 cas environ), au Sri Lanka et aux Maldives courant 2008 (respectivement 17000 cas confirmés et 600 cas confirmés), en Birmanie en 2009 (nombre de cas non connus), en Thaïlande durant la période 2008-2009 (42000 cas recensés) et dans le Sud de Sumatra en Indonésie en 2009-2010 (12000 cas confirmés). De plus, d'autres épidémies ont été observées dans différentes régions de l'Inde après celle de 2006, sans pour autant que celles-ci ne soient d'intensités égales ou supérieures à cette dernière. Cette constatation pourrait trouver une explication dans l'immunité acquise et durable retrouvée chez les personnes infectées lors de l'épidémie de 2006. La Chine quant à elle fut touchée pour la première fois en 2010, notamment à Guangdong (province du sud de la Chine) où 200 cas ont été rapportés. Au cours de la même année, l'île de la Réunion et Madagascar furent la cible d'un nouvel épisode viral mais de moindre ampleur, avec respectivement 2680 cas suspects et 112 cas confirmés ^{(60) (62) (63)}.

b) Situation épidémiologique en Afrique.

En Afrique, le chikungunya virus fut à l'origine de nombreuses épidémies survenues dans plusieurs pays comme par exemple au Kenya en 2004 où 13500 cas ont été confirmés à Lamu et Mombasa ⁽⁶³⁾. Cependant une des épidémies les plus intenses fut observée notamment en République Démocratique du Congo de 1999 à 2000 où plus de 50000 cas ont été recensés. La dernière épidémie importante survenue sur le continent africain a touché le Gabon en 2007 et notamment la ville de Libreville. Durant celle-ci, 17618 cas ont été rapportés ayant entraînés au total 808 hospitalisations. De même en 2010, dans le Sud Ouest de ce pays une épidémie de plus faible ampleur a eu lieu mais le nombre de cas a été difficile à déterminer du fait d'une épidémie simultanée de dengue dans la même région ⁽⁶⁰⁾. En 2011, 11320 cas ont été répertoriés pour la première fois au Congo notamment à Brazzaville ⁽⁶³⁾. L'Afrique de l'Ouest quant à elle, semble peu touchée depuis les années 2000 par le chikungunya virus. Une des dernières épidémies recensée est survenue au Sénégal en 1996-1997. De plus, bien que reconnue comme étant une des cibles principales du

chikungunya virus, l'Afrique reste à ce jour le continent où la surveillance sanitaire est la plus mal documentée ⁽⁶⁰⁾ ⁽⁶³⁾.

c) Situation épidémiologique en Europe.

La première épidémie apparue en Europe fut celle de 2007 observée en Italie dans les provinces majoritairement rurales de Ravenne et de Forlì Cesena, au Nord Est du pays ⁽²⁸⁾, suite au retour d'une personne infectée d'une province de l'Inde (Kerala). Durant 4 mois, 292 cas supposés ont été répertoriés par les institutions de veille sanitaire locales. La majorité des cas ont été confirmés par des tests diagnostiques en laboratoire. En France, les deux premiers cas autochtones ont été observés dans le Var à Fréjus en septembre 2010. Ainsi, un plan anti-dissémination de ce moustique a été proposé et durant la période d'activité du moustique *Aedes albopictus*, un système de surveillance est mis en place chaque année ⁽⁶⁰⁾. De plus, la France déjà touchée par l'épidémie survenue à l'Île de la Réunion en 2006, a de nouveau été la cible du chikungunya virus en Nouvelle Calédonie en 2011. Durant cette épidémie, 33 cas ont été répertoriés majoritairement dans la ville de Nouméa. La souche circulante était issue du génotype asiatique et était donc différente de celle observée lors de l'épidémie de 2006 survenue à l'Île de la Réunion ⁽⁶³⁾.

2.1.2. Situation épidémiologique actuelle.

Depuis 2013, les épidémies dues au chikungunya virus touchent principalement les Caraïbes et le continent américain qui semblaient jusque là épargnés par cette arbovirose. La situation épidémiologique réelle dans ces zones est potentiellement sous estimées à l'heure actuelle du fait des importantes inégalités entre les différents moyens de surveillance.

a) Sur le continent américain et dans les Caraïbes.

En Février 2015, les pays les plus touchés par le chikungunya virus se trouvaient notamment des pays d'Amérique du Nord, tel que les Bermudes où 3 cas autochtones ont

été confirmés et les Etats Unis où 11 cas autochtones ont été confirmés en Floride (figure 16) ⁽⁶⁴⁾.

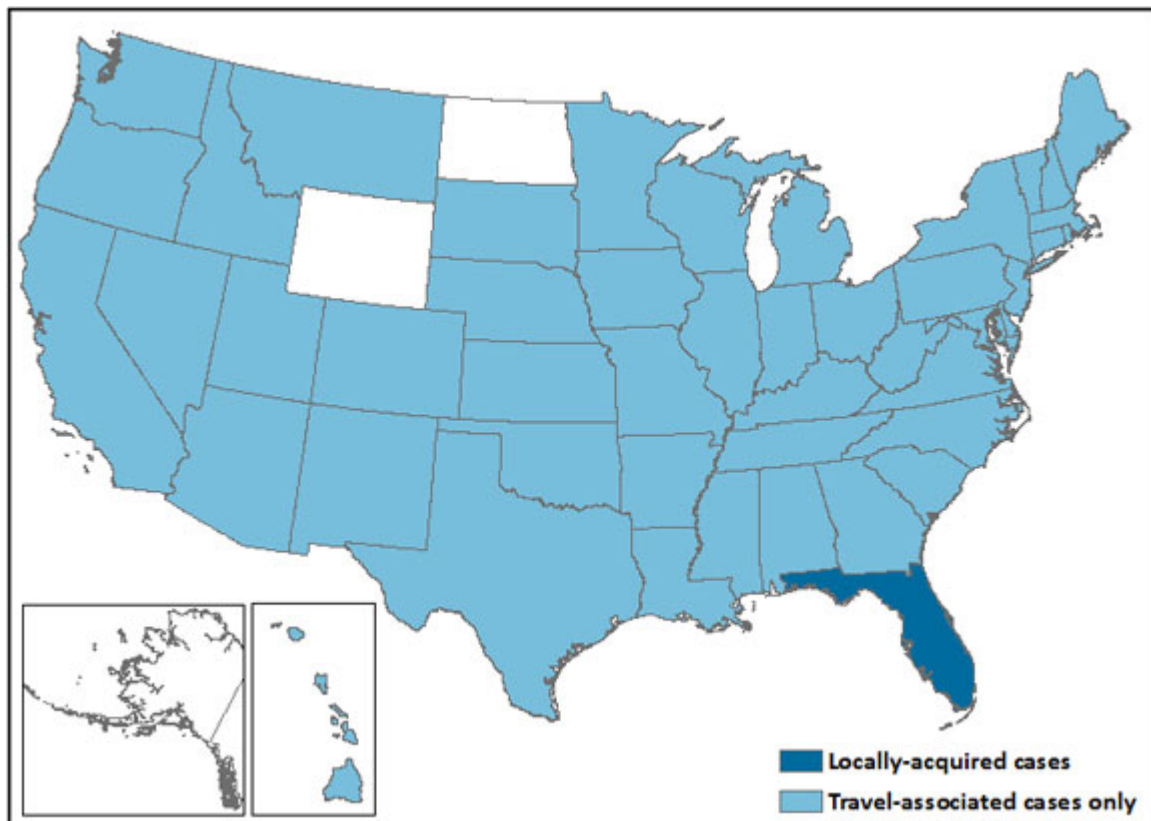


Figure 16 : Répartition géographique du chikungunya virus aux Etats Unis en 2014 ⁽⁶⁵⁾.

De même, en Amérique centrale de nombreux cas confirmés ont été répertoriés comme au Mexique (206 cas), au Salvador (157 cas), au Nicaragua (1918 cas), au Guatemala (198 cas) et au Costa Rica (121 cas). En Amérique du Sud les pays les plus touchés sont quant à eux : la Colombie (1236 cas confirmés), le Venezuela (2303 cas confirmés) et le Brésil (2776 cas confirmés). Dans les Caraïbes, Porto Rico est le pays présentant le plus de cas confirmés avec 4308 cas d'infection au chikungunya virus suivi de l'île de Curaçao (835 cas confirmés) et de la partie allemande de l'île Saint Martin (470 cas confirmés). La répartition géographique du chikungunya virus continue d'évoluer au sein de ces régions (figure 17). De même, de nombreux autres pays sont touchés mais à un degré moindre, comme par exemple la Bolivie dont les 3 premiers cas autochtones sont apparus en février 2015. Ainsi, ces pays où le chikungunya virus progresse de manière plus lente présentent eux aussi des possibilités de survenue d'épidémies (annexe 2) ⁽⁶⁴⁾.



Figure 17: Répartition des cas autochtones de chikungunya en Amérique et aux Caraïbes ⁽⁶⁰⁾.

b) En France

Durant la période de surveillance renforcée s'étendant du 30 mai au 1^{er} novembre 2014 en France métropolitaine, 11 cas autochtones ont été répertoriés dans l'Hérault à Montpellier. Ceux-ci provenaient d'un même quartier où 5 cas ont été mis en évidence, avant que les explorations épidémiologiques ne permettent l'identification de 6 autres cas. De plus, au cours de la même période 443 cas importés ont été répertoriés, notamment en Provence-Alpes-Côte d'Azur (148 cas), Rhône Alpes (101 cas) et dans le Languedoc Roussillon (77 cas). Dans le reste des régions, des signalements ont été observés en Aquitaine (64 cas), Midi Pyrénées (48 cas) et en Corse (5 cas) ⁽⁶⁶⁾. En outre, dans les Iles du Nord (Antilles françaises) la situation épidémiologique début 2015 montre une décroissance de l'épidémie survenue en décembre 2013. Ainsi, sur l'île de Saint Martin, 5280 cas cliniques ont été répertoriés depuis le début de l'épidémie. De même, sur l'île de Saint Barthélémy 1690 cas

évoqueurs ont été mis en évidence ainsi que 12308 cas en Guyane française. Les épidémies survenues en Guadeloupe et en Martinique quant à elles sont aujourd'hui considérées comme terminées, après qu'elles aient affectées respectivement 81200 et 72200 personnes ⁽⁶⁴⁾ ⁽⁶⁷⁾. Enfin, les îles du Pacifique sont aussi touchées par cette arbovirose avec environ 60000 cas observés en Polynésie française. Au 31 janvier 2015, l'épidémie était en décroissance dans toutes les îles de l'archipel sauf dans les îles australes, où le nombre de cas hebdomadaires a atteint son plus haut niveau ⁽⁶⁷⁾.

3. Physiopathologie de l'infection au chikungunya virus

Tout d'abord, pour mieux comprendre la complexité des mécanismes immunitaires mis en jeu, il convient de comprendre comment le chikungunya virus se dissémine dans l'organisme. Dans un premier temps, lors du repas sanguin, les particules virales sont transmises *via* le moustique femelle dans le tissu cutané où il infecte certaines cellules immunitaires (macrophages) ou non (cellules endothéliales, fibroblastes...). A ce stade, la multiplication virale est rapide mais reste faible. La petite quantité de particules virales produites est transportée vers les organes *via* la circulation sanguine ou vers le ganglion lymphatique drainant la zone d'inoculation. Le transport de celles-ci dans le système circulatoire s'effectue soit sous formes libres, soit sous formes de monocytes infectés. Il permet aux particules virales d'atteindre différents organes tels que le foie, les muscles, les articulations ou encore les organes lymphoïdes centraux ou périphériques (**figure 18**). Dans ces organes, l'infection se traduit par une contamination des cellules mononuclées notamment les macrophages. Ainsi, l'infection des tissus cibles sera à l'origine des manifestations cliniques observées chez le patient lors d'une infection au chikungunya virus ⁽⁶⁸⁾.

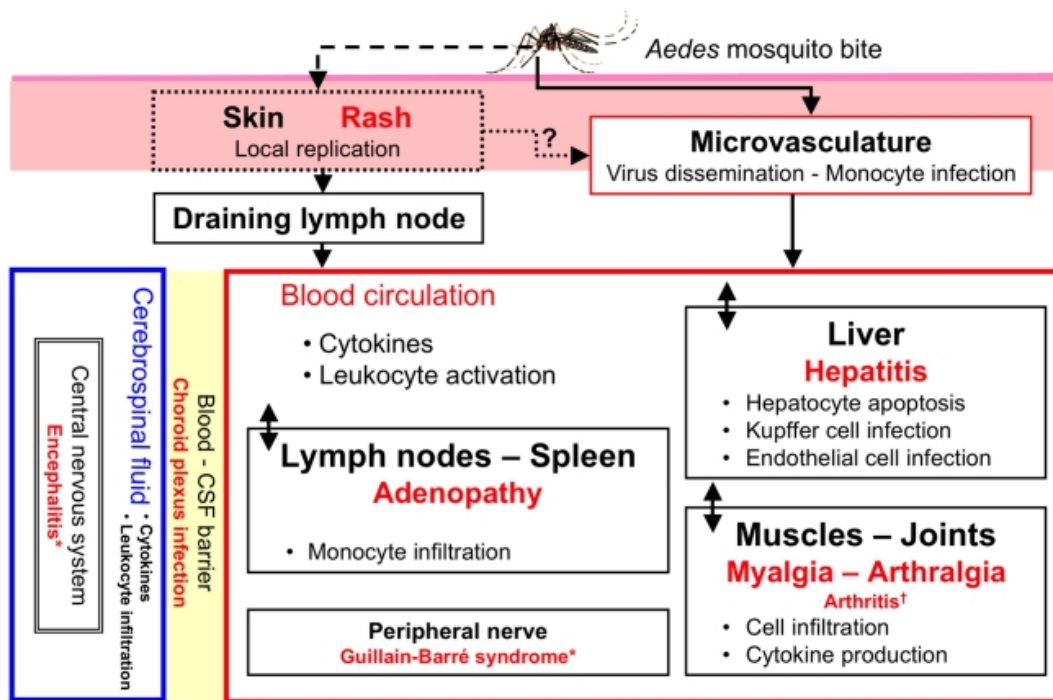


Figure 18 : Dissémination du chikungunya virus dans les organes cibles ⁽⁶⁸⁾.

3.1. Physiopathologie de la phase aiguë

Bien que, les études réalisées sur la physiopathologie du chikungunya virus n'aient pas permis d'établir un modèle précis des mécanismes immunitaires et inflammatoires mis en jeu, les résultats obtenus au cours de celle-ci, parfois contradictoires, ont permis de mieux comprendre la pathogénèse de la maladie.

3.1.1. Mécanisme immunitaire

a) Mise en place de l'immunité innée

Les investigations menées sur les caractéristiques cliniques de la phase aiguë ont mis en évidence la présence d'une virémie élevée associée à une inflammation aiguë marquée. Ces constatations sont à mettre en corrélation avec les mécanismes immunitaires et inflammatoires mis en jeu par l'organisme pour combattre l'infection ^{(69) (70)}. En effet durant cette phase, c'est l'immunité innée qui intervient de façon précoce contre la propagation et la dissémination du chikungunya virus. Elle agit de manière à défendre l'organisme de façon

immédiate, en amont des cellules de l'immunité adaptative, dont l'activation permettra d'établir une protection efficace et durable. Les différentes études réalisées ont montré l'activation de 4 types de cellules au cours de la phase aiguë: les cellules Natural Killer, les monocytes, les macrophages et les cellules dendritiques. Au cours d'une infection au chikungunya virus, la cellule Natural Killer exprime un récepteur CD94/NKG2C habituellement absent chez les hôtes sains et qui potentialise leur action cytotoxique. Celui-ci est notamment observable lors d'infection à d'autres virus tels que le cytomegalovirus ou le virus de l'immunodéficience humaine. En outre, un autre récepteur appartenant à la famille des KIRs (killer cell immunoglobulin-like receptors) appelé KIR2DL1, serait à l'origine d'une augmentation de la sensibilité au chikungunya virus en association au ligand HLA-C2, exprimé par la cellule infectée (**Figure 19**). De même, l'activation simultanée de ces deux types de récepteurs entraînerait la production de cytokines identiques à celles émises par les lymphocytes T helpers 1 permettant le recrutement des lymphocytes T CD8+ ⁽⁷¹⁾. Concernant les autres cellules de l'immunité innée, les macrophages, les monocytes et les cellules dendritiques non infectés activés permettent l'activation de l'immunité adaptative par présentation des antigènes viraux. On parle de cellules présentatrices d'antigènes. Cependant, les investigations réalisées montrent que les monocytes et les macrophages semblent être les principales cibles du chikungunya virus. De par cette caractéristique, les macrophages et monocytes infectés joueraient le rôle de réservoir des particules virales et n'interviendraient pas dans l'activation de l'immunité adaptative. En effet, les études ont mis en évidence que la présence des antigènes du virion était beaucoup plus marquée dans ce type de cellule, bien qu'elle ait aussi été répertoriée mais en quantité beaucoup plus faible, dans les cellules dendritiques et les lymphocytes B immatures ⁽⁷²⁾. En outre, l'importance de l'infection des monocytes et des macrophages était dépendante de la charge virale. En effet, plus celle-ci était élevée et plus le nombre de monocytes et de macrophages infectés étaient importants. C'est pourquoi, l'infection de ces cellules dépendrait de l'étape de réplication du chikungunya virus. Celle-ci surviendrait postérieurement à l'infection des diverses cellules de l'organisme, et ferait paradoxalement intervenir le système immunitaire en plus des autres cellules cibles (endothéliales, épithéliales, hépatiques...). Les investigations réalisées sur la réplication virale chez les macaques ont montré que celle-ci s'effectuerait majoritairement au sein des organes lymphoïdes primaires. Ces résultats sont en accord avec ceux obtenus chez l'homme, qui montrent une réplication initiale furtive et faible en périphérie ⁽⁷²⁾.

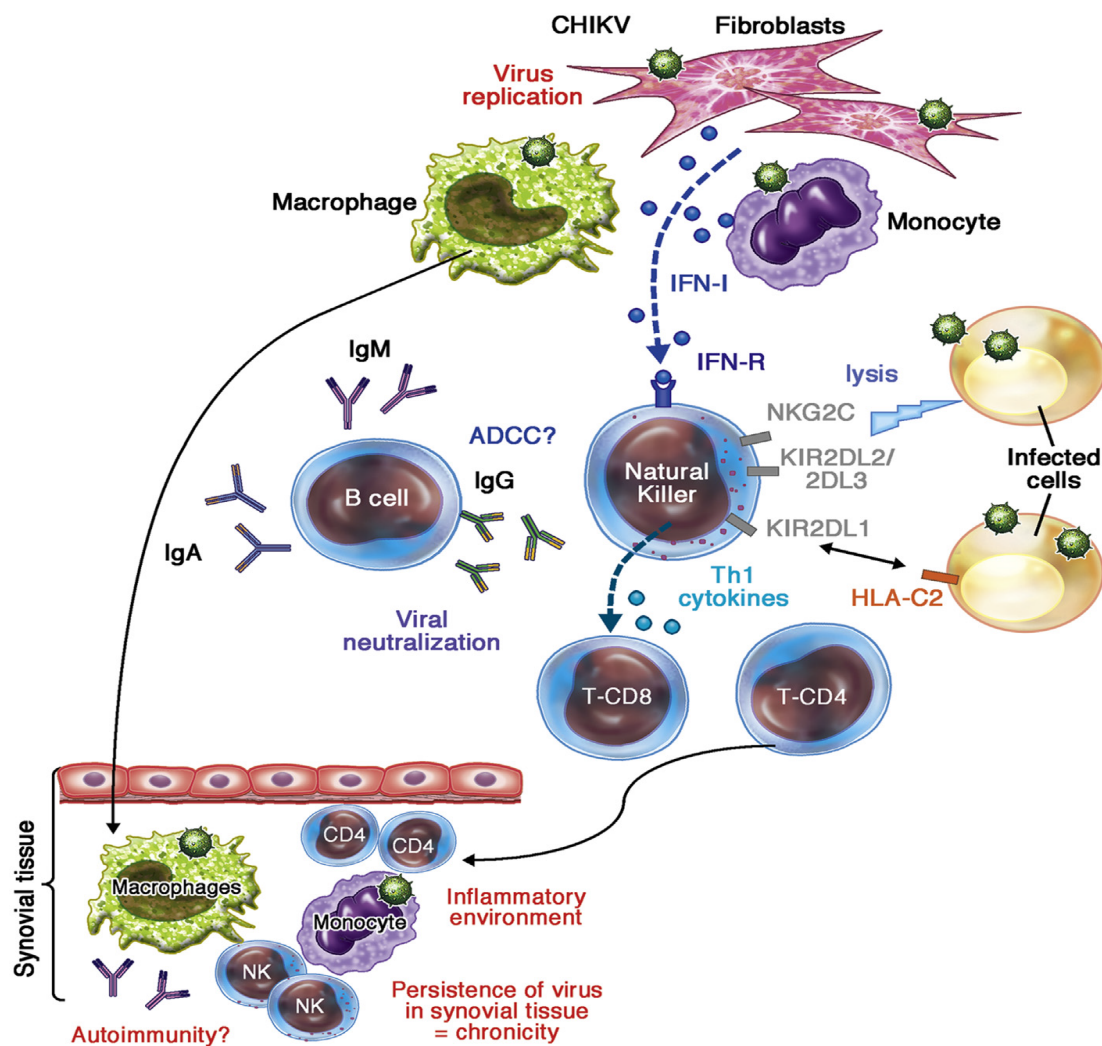


Figure 19 : Schéma de la mise en place de l'immunité innée ⁽⁷¹⁾.

b) La mise en place de l'immunité adaptative

Lors d'une infection au chikungunya virus, c'est principalement la présentation des antigènes par les macrophages et les monocytes mais aussi à un degré moindre par les cellules dendritiques qui est à l'origine de la mise en place de l'immunité adaptative. Ainsi, elles stimuleraient l'activation des lymphocytes B. Cependant, la faible quantité d'antigènes viraux observée à la surface de ceux-ci au cours de la phase aiguë pourrait être expliquée, par le potentiel effet cytotoxique du chikungunya virus vis-à-vis de ces dernières. En effet, les différentes études mettent en évidence une baisse brutale et rapide de leurs concentrations sanguines suite à une infection au chikungunya virus. Toutefois la production d'IgM par les lymphocytes B immatures resterait suffisamment importante au cours de la phase aiguë permettant notamment le diagnostic de la maladie ⁽⁷²⁾ ⁽⁷³⁾. De même, suite à la présentation des antigènes, les lymphocytes T sont eux aussi activés. Cependant, bien que

les lymphocytes T CD4+ helpers de type 1 et 2 aient une activité antivirale plus importante que les lymphocytes T CD8+ cytotoxiques au cours de l'infection, une activation majoritaire en première intention de ces derniers a été constatée. Cela serait notamment dû à une période d'apoptose précoce au sein des lymphocytes T CD4+, dont l'origine est encore inconnue à ce jour mais qui pourrait faire intervenir le chikungunya virus. En outre, les constatations effectuées au cours des diverses investigations menées sur la relation entre les lymphocytes T et la maladie a permis de mettre en évidence une relation étroite entre leur concentration au sein des articulations et la gravité de la maladie arthritique. Ainsi, lors d'une infection au chikungunya virus, ces cellules sembleraient constituer le facteur prédictif de l'atteinte articulaire contrairement aux conclusions initiales qui impliquaient le niveau de virémie ⁽⁷¹⁾. Enfin, durant cette phase l'activation des lymphocytes B en plasmocytes par les lymphocytes T CD4+ helpers aboutirait à la synthèse d'IgG spécifiques du virus facilitant la destruction des cellules infectées ^{(71) (72)}.

3.1.2. Mécanisme inflammatoire

Durant la phase aiguë, de nombreuses cytokines et chimiokines sont synthétisées rapidement après l'infection. Elles jouent le rôle de médiateur de l'immunité innée lors de l'infection au chikungunya virus et participent à l'établissement et au contrôle de la phase inflammatoire.

a) Les cytokines

Les études menées sur ces molécules lors d'une infection au chikungunya virus, ont permis de mettre en évidence une production précoce et importante d'interférons de type 1. Ainsi, il est observé principalement durant la phase aiguë de l'infection, une synthèse rapide et accrue de l'interféron alpha (IFN α) ^{(68) (73)}. Celui-ci joue un rôle important dans le contrôle de la réplication virale et dans l'activation des cellules Natural Killer de l'immunité par fixation sur le récepteur IFN-R ⁽⁷¹⁾. Ces diverses propriétés lui confèrent une activité antivirale marquée. Il serait notamment à l'origine de la multiplication périphérique peu importante du chikungunya virus ^{(71) (72)}. Cependant, alors que physiologiquement la sécrétion d'IFN α lors d'une infection virale se fait majoritairement par les leucocytes, il

semblerait que lors d'une contamination au chikungunya virus les fibroblastes soient les « cellules sources » principales de la synthèse des interférons de type 1 ⁽⁷¹⁾. De même, bien que les résultats obtenus soient contradictoires, lors de la phase aiguë tardive, la synthèse de l'interféron de type 2 (IFN γ) semble s'accroître ⁽⁶⁸⁾. Il s'agit d'une cytokine synthétisée majoritairement par les lymphocytes T CD4+ helpers de type 1, mais aussi à moindre degré par les lymphocytes T cytotoxiques et les cellules Natural Killer. Son rôle est d'activer notamment les cellules de l'immunité adaptative et de l'immunité innée. En outre, au cours de la phase aiguë précoce de l'infection au chikungunya virus, les interleukines IL-4, IL-5, IL-6 et IL-8 seront sécrétées de façon importante en association à l'INF α . Toutefois, l'IL-6 constitue l'élévation de concentration la plus significative ⁽⁶⁹⁾. Synthétisée par les macrophages et les lymphocytes T helpers de type 2, l'IL-4 intervient en favorisant la maturation des lymphocytes T helpers en lymphocytes T helpers de type 2 et leur croissance. L'IL-5 quant à elle, est produite par le même type de cellules que l'IL-4 et participe à la croissance et à la différenciation des lymphocytes B en plasmocytes, et des polynucléaires éosinophiles immatures en polynucléaires éosinophiles matures. L'IL-6 est une interleukine pro-inflammatoire synthétisée par un grand nombre de cellules immunitaires ou non (lymphocytes, monocytes, fibroblastes...) dont le rôle est d'agir sur la synthèse protéique inflammatoire au niveau des hépatocytes (CRP, fibrinogène) et sur l'activation des lymphocytes B en plasmocytes. Les différentes investigations menées sur cette dernière, semblent montrer une corrélation importante entre sa concentration et l'importance de la charge virale lors de la phase aiguë. Enfin, l'IL-8 est produite par de nombreuses cellules immunitaires ou non (macrophages, endothéliales...) et active les polynucléaires neutrophiles de l'immunité innée ^{(69) (70)}. En outre, les autres interleukines IL-2, IL-10, IL-12, IL-17 ne montreraient pas d'augmentations significatives de leurs concentrations lors de la phase aiguë ⁽⁶⁹⁾. Cependant, les différents résultats obtenus sur ces dernières au cours des différentes études réalisées sont contradictoires, et ne permettent pas de conclure définitivement quant à leurs rôles au cours de cette phase. De même, il semblerait qu'une autre interleukine pro-inflammatoire, l'IL-18 présenterait une concentration décroissante au sein de l'organisme au cours de l'infection et ne jouerait pas un rôle prépondérant dans l'inflammation. Enfin, les différentes études menées sur la phase aiguë tardive, montrent une synthèse accrue d'un antagoniste de l'IL1, IL-1RA. Cette observation est intéressante car à l'état physiologique la balance entre IL-1 et IL-1RA est à l'équilibre et tout déséquilibre de celle-ci influence l'apparition notamment d'une pathologie particulière : la polyarthrite

rhumatoïde ⁽⁷²⁾. Cela serait donc une des explications possibles à l'apparition de symptômes articulaires lors de l'infection au chikungunya virus. Étonnamment, deux des principales cytokines inflammatoires IL-1 α/β et TNF- α ne semblent pas être synthétisées au cours de cette phase aiguë malgré leurs implications dans de nombreuses pathologies articulaires ⁽⁷²⁾. Ainsi, bien que parfois contradictoires, les résultats obtenus sur les cytokines montrent une implication majeure de celles-ci, lors de la phase aiguë d'une infection au chikungunya virus. De nombreuses hypothèses potentiellement explicatives des contradictions observées mettent en avant, les différents génotypes de chikungunya virus existants ainsi que les différents matériels et procédés utilisés lors de la réalisation des diverses études ⁽⁶⁸⁾.

b) Les chimiokines

Synthétisées par de nombreuses cellules immunitaires ou non, elles permettent de recruter les leucocytes au niveau des sites infectieux et ont un rôle dans l'orientation des lymphocytes vers les tissus cibles ⁽⁷⁰⁾. Cependant, leurs fonctions précises au cours de l'infection au chikungunya virus n'ont pas proprement été déterminées et font l'objet d'étude en cours de réalisation ⁽⁷³⁾. Les différentes études réalisées sur le sujet ont montré une augmentation significative des chimiokines MCP-1 α/β , IP-10, MIG ainsi qu'une diminution du taux de RANTES. Le taux de MCP-1 α/β est directement corrélé à l'importance de la charge virale. Elles joueraient le rôle de chimiokines attractives pour les monocytes et les macrophages lors de l'infection au chikungunya virus et seraient avec IP-10 responsables de la migration de ces derniers vers les ganglions lymphatiques. En outre, par le fait que les chimiokines stimulent en permanence les cellules de l'immunité à l'origine de l'apparition des symptômes chroniques, MIG peut être utilisée en tant que biomarqueur afin de déterminer l'état de sévérité de l'infection. Enfin, le taux de RANTES diminue au cours d'une infection reflétant la sévérité de cette dernière. Toutefois, cette diminution n'ayant pas été observée au cours de l'ensemble des études réalisées, une hypothèse potentiellement explicative de cette baisse du taux de RANTES est peut être à rechercher dans les caractéristiques régionales des cohortes utilisées. En effet, la majorité des patients présentant cette caractéristique était originaire d'Inde ⁽⁶⁹⁾.

3.2. Physiopathologie de la phase chronique articulaire

Les réponses inflammatoires et immunitaires de l'organisme aboutissent le plus souvent à la fin de la phase aiguë. Elles permettent, par l'élimination des particules virales, la guérison clinique du patient. Cependant, chez certains d'entre eux, on observe une persistance à des niveaux variables de certains symptômes tels que des myalgies ou une arthrite. C'est l'établissement de la phase chronique. Lors de celle-ci, de nombreuses cellules immunitaires, cytokines et chimiokines sont mises en jeu et contribuent à la persistance des symptômes observés lors de la phase aiguë.

3.2.1. Mécanisme immunitaire

L'établissement de la phase chronique articulaire survenant des mois après la phase aiguë est dû à la présence virale persistante au sein de l'articulation. En effet, suite à la phase subaiguë survient le recrutement dans la cavité synoviale de l'articulation, de monocytes, macrophages, cellules Natural killer et lymphocytes T CD4+ helpers 1 et 2. Les différentes études menées montrent que ce phénomène serait notamment dû à la sécrétion des chimiokines attractives MCP-1, IP-10 et de l'interleukine IL-8. Dans la cavité synoviale, le macrophage entre alors en contact avec le virus présent issu majoritairement de la destruction des fibroblastes mais aussi des autres cellules à un degré moindre. Il est alors activé sous l'action concomitante de MIP-1, IL6, IL8 et IFN α ⁽⁷²⁾ ⁽⁷⁴⁾. Il entraîne alors l'activation des cellules Natural Killer et les lymphocytes T CD4+ helpers notamment de type 1. Ces derniers sont à l'origine d'une majoration de la sécrétion de l'interféron IFN α et d'une collagénase MMP2 intervenant dans la décomposition de la matrice extracellulaire. Ces deux molécules constituent un signal pro-apoptotique pour les fibroblastes infectés entraînant leurs lyses et la destruction du tissu articulaire à l'origine d'arthralgie. Les corps apoptotiques infectés formés sont ensuite phagocytés par les macrophages actifs. La persistance virale à l'origine de la chronicité serait donc due à la présence de macrophages infectés issue de la phase aiguë, mais aussi à la phagocytose de cellules infectées par les macrophages sains (**figure 20**). Cette constatation expliquerait le maintien dans certains cas des douleurs articulaires chroniques. De ce fait, le macrophage jouerait un rôle central dans l'établissement de la phase chronique suite à une infection au chikungunya virus. Enfin, les

différentes études réalisées montrent une absence au sein de la cavité synoviale des lymphocytes T CD8+ cytotoxiques ce qui pourrait aussi expliquer la chronicité de l'infection (68).

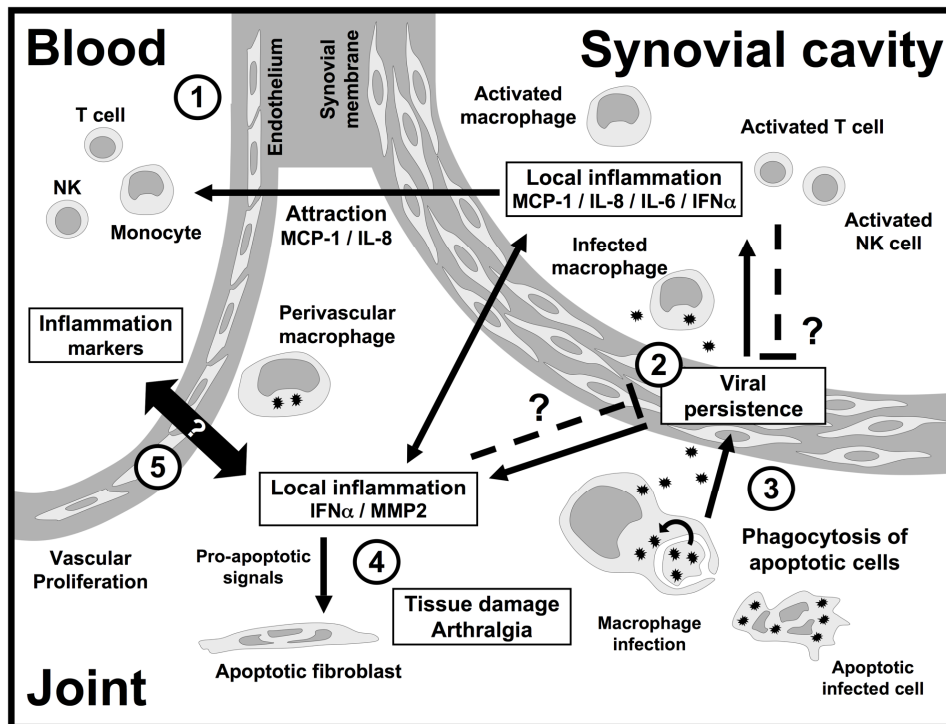


Figure 20 : Schéma du mécanisme immunitaire de la phase chronique articulaire (68).

3.2.2. Mécanisme inflammatoire

Lors de la phase subaiguë est observée une augmentation de la sécrétion d'un facteur de croissance HGF et d'une chimiokine, l'éotaxine (75). Les différentes études menées ont montré l'importance de ces deux molécules dans la guérison clinique de la maladie. En effet, chez les patients guéris, une augmentation de leurs concentrations est observée tout au long de la phase subaiguë appelée aussi phase de convalescence. Pour favoriser la guérison, l'éotaxine produite par les lymphocytes T CD4+ helpers de type 2 agit comme un antagoniste des récepteurs CCR2 de la chimiokine MCP-1 empêchant notamment l'activation des macrophages. De la même façon, l'augmentation de la concentration en HGF entraîne une diminution de la synthèse de MCP-1 par inhibition de TNFα. En outre, HGF agit sur la balance IL-6/IL-10 en faveur de l'interleukine IL-10 par inhibition des protéines NFκB modulatrices de la transcription et intervenant dans l'activation des cellules phagocytaires. Cette interleukine

inhibitrice oriente alors la réponse immunitaire vers les lymphocytes T CD4+ helpers de type 2, favorisant la synthèse de l'éotaxine. Ces différentes constatations expliquent les faibles concentrations en IL-6 observées chez les patients guéris. Cependant, à la différence de la guérison clinique, lors de l'établissement de la phase chronique, une sécrétion importante d'un autre facteur de croissance, GM-CSF, médiateur pro-inflammatoire est observée ^{(72) (75)}. Il est retrouvé dans de nombreuses pathologies articulaires et notamment la polyarthrite rhumatoïde. Celui-ci permet l'activation des monocytes en macrophages. De la même façon, il est observé, au cours de la phase chronique, une augmentation de la synthèse de l'IL-6 ^{(71) (76)}. Celle-ci permet l'activation des lymphocytes T CD4+ helpers de type 1 et donc celle des macrophages à l'origine de la persistance virale. La sécrétion de HGF est quant à elle diminuée. Ainsi, le macrophage jouerait une fois activé, un rôle de régulation positive de l'inflammation en agissant sur la balance Lymphocyte T CD4+ helpers de type 1 / Lymphocyte T CD4+ helpers de type 2. En effet, au cours de la phase chronique le GM-CSF entrainerait une activation du macrophage par la voie M1, à l'origine d'un déséquilibre de la balance en faveur du lymphocyte T CD4+ helpers de type 1 (**figure 21**). C'est pourquoi, la production d'éotaxine serait diminuée entraînant la persistance de la phase chronique. Simultanément à l'augmentation d' IL6 surviendrait l'augmentation de la synthèse d'autres facteurs tels que IFN α , MIG, IP-10, IL-1-RA, IL-12, MCP-1, MIP-1 α/β , MMP-2, IL-8 et IL-17 qui favoriseraient la mise en place et le contrôle de l'inflammation. La sécrétion de TNF α et d'IL-1 β ne serait pas modifiée ⁽⁷¹⁾.

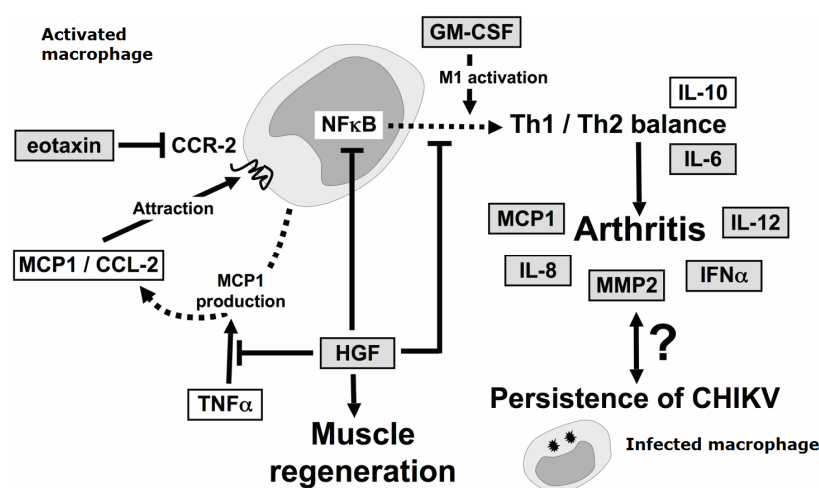


Figure 21 : Schéma du mécanisme inflammatoire de la phase chronique articulaire ⁽⁶⁸⁾.

4. La sémiologie clinique du chikungunya virus

4.1. Formes typiques

Les symptômes observés lors d'une contamination classique par le chikungunya virus sont diverses. Les formes asymptomatiques sont rares (13% des cas lors de l'épidémie survenue à l'île de la Réunion) et l'évolution d'une phase aiguë peut parfois aboutir à une chronicité vis-à-vis de la maladie. De même, dans certains cas, la phase aiguë pourra être suivie de périodes de récurrences plus ou moins longues et séparées de façon irrégulières dans le temps par des phases asymptomatiques. Enfin, le schéma du déroulement d'une infection au chikungunya virus chez l'Homme comporte trois phases de durée variable : la phase aiguë, la phase subaiguë et la phase chronique. Cependant, bien que non négligeable les deux dernières phases ne seront pas observables chez tous les patients ^{(77) (78)}.

4.1.1. Phase aiguë (J1 à J10)

Le chikungunya est une maladie touchant toutes les personnes quel que soit l'âge ou le sexe. La période d'incubation du virus est en moyenne de 4 à 7 jours mais peut s'étendre sur une période allant de 1 à 12 jours avant l'apparition des premiers symptômes. La phase aiguë persiste durant 5 à 10 jours et est assimilée à la phase virémique de la maladie. C'est durant cette phase, que l'Homme est considéré comme potentiellement infectieux et peut entretenir *via* le repas sanguin du moustique le cycle de transmission du virus ^{(79) (80)}. Lors de l'infection, la phase aiguë se caractérise par l'apparition brutale d'une fièvre élevée (supérieure à 38,5°C), associée à des tenosynovites très caractéristiques et des douleurs articulaires parfois intenses, entraînant un gonflement plus ou moins important des articulations ^{(80) (81)}. Ces douleurs seront notamment exacerbées le matin et lors d'exercices physiques violents, sollicitant de façon importante les zones articulaires ⁽⁸²⁾. De plus, celles-ci sont localisées principalement au niveau des petites articulations tels que la cheville, le poignet et les phalanges mais peuvent s'étendre parfois, mais moins fréquemment à des articulations plus importantes comme l'épaule, les genoux ou la colonne vertébrale. En outre, d'autres symptômes peuvent communément apparaître : douleurs musculaires, maux de tête ou encore éruption cutanée. Cette dernière se présente principalement sous la forme d'un

exanthème maculo-papuleux prurigineux ou non qui se retrouvera notamment sur la paume des mains ou sur la plante des pieds. Parfois, il sera aussi observé mais à un degré moindre des symptômes digestifs de type nausée, diarrhée. Des hémorragies bénignes (gingivorragie, épistaxis) ont aussi été répertoriées majoritairement chez l'enfant ^{(80) (81)}.

4.1.2. Phase subaiguë (J10 à J90)

Plus de la moitié des patients ayant été infectés par le chikungunya virus sont concernés par cette phase. De plus, il semblerait que l'âge constitue un facteur prédictif à sa survenue puisque les études réalisées montrent que son incidence augmente après 40 ans ^{(69) (70) (73)}. S'étendant sur plusieurs semaines, la phase subaiguë intervient soit dans la continuité de l'apparition des symptômes initiaux, soit par poussées ou rechutes entrecoupées par des phases asymptomatiques. Les symptômes exprimés durant cette phase sont divers et principalement inflammatoires (tableau 6) ⁽⁷⁸⁾.

Tableau 6 : Principaux signes cliniques survenant lors de la phase subaiguë ⁽⁷⁸⁾.

Atteinte inflammatoire intra-articulaire	Atteinte inflammatoire péri-articulaire	Complications liées à l'inflammation	Complication post-infectieuse
<ul style="list-style-type: none"> -Inflammation de la membrane synoviale -Arthrite -Arthralgies diverses 	<ul style="list-style-type: none"> -Tenosynovite -Tendinites -Enthésites -Bursites -Capsulites -Péri-ostites 	<ul style="list-style-type: none"> -Réveil douloureux au niveau des zones inflammées -Raideurs articulaires -Oedèmes des extrémités -Syndrome canalaire -Neuropathie -Atteintes vasculaires périphériques : <ul style="list-style-type: none"> ➤ Syndrome de Raynaud ➤ Erythermalgie 	<ul style="list-style-type: none"> -Asthénie -Atteinte cutanée (dychromie, xérose) -Chute de cheveux -Dépression -Troubles de la concentration -Troubles de la mémoire -Décompensations : <ul style="list-style-type: none"> ➤ métabolique ➤ endocrinienne ➤ de maladie chronique

4.1.3. Phase chronique (au-delà de J90)

Succédant parfois à la phase subaiguë, la phase chronique se caractérise par une absence de guérison plus de trois mois après le début d'apparition des premiers symptômes. Les signes cliniques observés durant celle-ci, sont sensiblement les mêmes que ceux observés durant la phase subaiguë. Cependant, dans de rares cas, des rhumatismes inflammatoires articulaires chroniques post-chikungunya comme la polyarthrite rhumatoïde, des spondylarthropathies ou des polyarthrites indifférenciées pourront être exprimées par le patient. En effet, la présence de signes inflammatoires touchant plus de 4 articulations peut être observée à l'auscultation chez certains patients orientant le diagnostic vers ces atteintes articulaires chroniques. Ainsi, un patient en phase chronique peut présenter une incapacité partielle plus ou moins longue pouvant dépasser 12 mois ⁽⁷⁸⁾ ⁽⁸¹⁾. Les études réalisées sur les facteurs prédisposant à la phase chronique d'une infection au chikungunya virus, montrent que l'âge joue un rôle important, puisque celle-ci s'observe en moyenne principalement chez les personnes dépassant les 45 ans ⁽⁷⁷⁾. De même, la présence antérieure de co-morbidités articulaires et la sévérité de l'épisode initial (échelle de la douleur, dosage de CRP et charge virale initiale) prédispose à la survenue de cette phase. L'établissement de cette chronicité post-chikungunya chez le patient est fréquent. En effet, une étude réalisée sur l'île de la Réunion auprès de 176 patients par l'Institut National de Veille Sanitaire, durant l'année 2006-2007, montre que 75% d'entre eux ont présenté des arthralgies 12 mois après l'apparition des premiers symptômes ⁽⁷⁷⁾. Une autre étude menée par le même organisme au sein de la clientèle d'un cabinet de médecine générale, a révélé la persistance pour un tiers des patients, des douleurs articulaires 9 mois après la phase aiguë. L'importance de l'âge dans l'établissement de la phase chronique est également rapportée, puisque 70% des personnes parmi les 50 ans ont présenté des arthralgies chroniques contre 6% chez les moins de 16 ans ⁽⁷⁷⁾.

4.2. Formes atypiques

Bien qu'une infection au chikungunya virus, se présente majoritairement sous une forme classique non mortelle, des études majoritairement menées à l'île de la Réunion ont permis de mettre en évidence des manifestations cliniques atypiques. Celles-ci sont notamment observables en période épidémique, et touchent principalement des sujets vulnérables tels que les patients présentant une pathologie chronique, un alcoolisme chronique ou encore les patients des âges extrêmes de la vie. Ainsi, les formes atypiques rencontrées lors des études diverses ont été classées en fonction de l'organe atteint. On retrouve donc des atteintes neurologiques, cardiovasculaires, rénales, oculaires, cutanées, hépatiques ainsi que d'autres manifestations cliniques beaucoup plus rares ⁽⁸³⁾.

4.2.1. Formes neurologiques

Elles se caractérisent chez l'adulte par l'apparition de neuropathie, myélopathie et méningo-encéphalite ⁽⁸²⁾ ⁽⁸³⁾. Une étude menée sur l'île de la Réunion durant la période épidémique, a montré que sur 610 patients hospitalisés, 147 présentaient des manifestations neurologiques soit 24,1%. Les formes observées étaient des encéphalites (11%), des méningo-encéphalites, des crises d'épilepsie (2%), des syndromes de Guillain Barré (4.1%), des syndromes cérébelleux (moins de 1%), des accidents vasculaires cérébraux (moins de 1%), des myélo-méningo-encéphalites (moins de 1%). De plus, une autre étude a montré la présence, dans le liquide cérébro-spinal de patients présentant ce type de signes atypiques (sauf pour le syndrome de Guillain Barré), d'un taux élevé de protéines CSF et de leucocytes mettant en évidence l'atteinte neurologique ⁽⁸⁴⁾ ⁽⁸⁵⁾. Une autre étude menée en Inde et regroupant 60 patients de 12 à 84 ans a mis en évidence dans 1/3 des cas, des atteintes neurologiques équivalentes à celles observées lors de l'étude effectuée à l'île de la Réunion. Seuls deux patients ont exprimé une atteinte non décrite au cours de l'infection au chikungunya virus : la névrite optique ⁽⁸⁵⁾ ⁽⁸⁶⁾. Toutes les personnes atteintes ont présenté des signes de confusion et de délires. Enfin, les différentes études menées chez l'enfant ont montré que les manifestations neurologiques atypiques pouvaient être exprimées par ceux-ci suite à une infection ⁽⁸⁶⁾.

4.2.2. Formes optiques

L'infection du patient par le virus du chikungunya peut entraîner des atteintes oculaires et des altérations de la vision par le biais de l'atteinte neurologique. En effet, une étude réalisée en Inde regroupant 14 patients atteints par le chikungunya virus a permis de mettre en évidence, pour un total de 19 yeux atteints 8 yeux atteints de papillite, 4 yeux atteints d'une névrite rétrobulbaire, 4 yeux présentant une atteinte des voies optiques ainsi que 3 yeux atteints d'une neuro-rétinite. Ces manifestations cliniques étaient associées à une vision floue, une baisse de l'acuité visuelle ainsi qu'à une altération du champ de vision et de la distinction des couleurs. Une autre étude menée en Inde, à partir de neufs patients présentant des signes cliniques oculaires atypiques a permis de mettre en évidence une iridocyclite (5 patients), une rétinite (3 patients), une épisclérite nodulaire (1 patient). Bien que décrites, ces manifestations neuro-ophtalmiques restent rares. Beaucoup plus fréquemment peuvent être observées diverses atteintes conjonctivales (hémorragies, hyperhémies) précoces qui régressent rapidement. Cependant, ces études étant réalisées sur une faible cohorte de patients, la fréquence des atteintes optiques ne peut être déterminée à l'échelle d'une population. Dès lors, de nouvelles investigations sur des cohortes de patients plus importante devront être réalisées pour la déterminer ^{(85) (86)}.

4.2.3. Formes cardiovasculaires

Bien que citées dans la littérature comme manifestations cliniques atypiques du chikungunya, il reste difficile de déterminer l'incidence réelle du chikungunya virus dans les atteintes cardiaques et vasculaires. En effet, les études menées sur les formes cardiovasculaires observées suites à une infection par ce virus, montrent que dans la majorité des cas les patients présentent initialement une pathologie cardiaque ou vasculaire sous-jacente. Ainsi par exemple, une étude réalisée à l'île de la Réunion durant l'épidémie de 2005 a montré que 84 patients sur 610 présentant une forme atypique, ont présenté une insuffisance cardiaque au cours de la phase aiguë ⁽⁸⁵⁾. Cependant, 59 de ces patients présentaient déjà initialement une atteinte cardiaque sous-jacente. De plus au cours de la même étude, 44 cas d'arythmies cardiaques ont été mis en évidence ^{(83) (85) (87)}. Parmi eux, 16 patients exprimaient comme précédemment une pathologie cardiaque sous-jacente et 4 patients ont subi un infarctus du myocarde dont 2 présentaient initialement des atteintes

coronariennes ⁽⁸⁵⁾. Ainsi, comme le montre cette étude, il est difficile de déterminer si les symptômes cardiaques observés des suites d'une infection au chikungunya virus, sont dus uniquement à celui-ci ou à son association aux facteurs cardiaques préexistants. Enfin, des cas de myocardites et de péricardites ont aussi été répertoriés durant une étude menée en 2005 sur l'île de la Réunion chez des patients sans atteintes cardiaques initiales connues ⁽⁸³⁾ ⁽⁸⁵⁾ ⁽⁸⁷⁾.

4.2.4. Formes rénales

Des cas d'atteintes rénales ont été répertoriés au cours d'une étude durant l'épidémie survenue sur l'île de la Réunion en 2005. Ainsi, sur 610 patients, 120 ont présenté une atteinte rénale de cause fonctionnelle durant la phase aiguë de l'infection. De plus, parmi ces patients atteints, 41 ont exprimé cette forme atypique suite à une exacerbation d'une pathologie rénale initiale. En effet, 36 d'entre eux avaient une insuffisance rénale chronique, 2 une néphropathie et 3 avaient eu une transplantation rénale. De même, un cas de syndrome néphrotique chez un patient de seize ans a été décrit durant l'épidémie de Delhi en Inde ⁽⁸⁵⁾ ⁽⁸⁶⁾ ⁽⁸⁷⁾.

4.2.5. Formes cutanées

Les formes cutanées peuvent être observées au décours d'une infection au chikungunya virus et sont particulièrement nombreuses. La plus communément décrite est l'éruption maculo-papuleuse observable initialement sur le visage et le cou avant de s'étendre. Une étude menée en Inde rapporte une modification fréquente de la coloration pigmentaire cutanée (42% des cas), suivie d'une éruption maculo-papuleuse (33% des cas) et de l'aphtose buccale (21,37% des cas) ⁽⁸⁵⁾ ⁽⁸⁷⁾. Les éruptions vésiculobulleuses quant à elles sont rares (2,75%) et sont observées majoritairement chez l'enfant. Des ulcérations scrotales et à la base du pénis ou sur les grandes lèvres ont été observées chez une vingtaine d'enfant durant l'épidémie de 2008 en Inde ⁽⁸⁵⁾ ⁽⁸⁶⁾. Enfin, ont été répertoriés au cours des différentes études, des macules hyperpigmentées sur le nez et les joues, des érythèmes polymorphes et noueux, des urticaires généralisés ainsi que des poussées de psoriasis ou de lichen plan et des démangeaisons. Dans la plupart des cas, ces

manifestations atypiques cutanées ont été rapidement résolues par un traitement symptomatique adapté ⁽⁸⁵⁾ ⁽⁸⁷⁾.

4.2.6. Autres formes atypiques

D'autres formes atypiques ont été décrites au cours de différentes études. Ainsi, des atteintes d'organes diverses mais à un degré moindre ont été observées telles que des pneumonies, des insuffisances respiratoires, des insuffisances hépatiques, des hépatites, pancréatite, rhabdomyolyse voire des atteintes multiviscérales diverses. Des décompensations endocrinologiques ont été répertoriées très rarement telles que des hypersécrétions d'hormone antidiurétique (ADH) ou des hyposécrétions d'adrénaline ⁽⁸⁵⁾ ⁽⁸⁶⁾. De plus, bien qu'une infection au chikungunya virus soit dans la majorité des cas non létale, certains cas de décès sont survenus sur l'île de la Réunion durant l'épidémie de 2005 imputables au virus et aux complications qu'il a pu entraîner. En effet, une étude menée durant l'épidémie et regroupant 610 patients présentant des signes cliniques atypiques a répertorié 65 décès dus à ce virus soit un taux de mortalité de 10,6%. Les causes des décès observées ont été multiples : insuffisance cardiaque, défaillance viscérale multiple, hépatite, myocardite, péricardite, dermatose bulleuse, méningo-encéphalite, encéphalite ⁽⁸⁷⁾. Selon cette étude, les décès survenaient majoritairement chez les patients âgés (plus de 85 ans) et chez les éthyliques chroniques. De même, une étude portant uniquement sur la mortalité et réalisée en Inde à partir de 60 777 cas suspectés de chikungunya virus, a montré pendant l'épidémie une surmortalité (2944 personnes), sans qu'elle ne soit pour autant imputable au virus ⁽⁸⁵⁾.

4.3. Cas particulier

4.3.1. Femmes enceintes et allaitement

Les différentes études menées sur la possibilité d'une transmission materno-fœtale du chikungunya virus se sont révélées positives mais uniquement dans certains cas ⁽⁸⁸⁾ ⁽⁸⁹⁾. En effet, la mise en évidence systématique du virus au niveau placentaire montre que celle-ci est réelle. Le virion passerait par la voie transplacentaire durant le pré-partum ⁽⁹⁰⁾. La transmission materno-foetale n'est observable que lorsque la phase virémique survient

proche du terme de la grossesse. Dans ce contexte, elle serait effective dans un cas sur deux lors de l'accouchement ⁽⁸⁸⁾. De plus, celle-ci est possible uniquement dans les 5 jours suivants les premières manifestations cliniques de la mère. Cette observation s'explique par l'absence de protection efficace du nouveau né vis-à-vis du chikungunya virus durant les premiers jours suivant l'infection. En effet, les IgM apparaissent dans les 4 à 5 jours suivant la contamination et ne permettent pas d'assurer une protection efficace car elles ne traversent pas la barrière placentaire. Bien que cela reste hypothétique, cette réponse immunitaire serait en outre, à l'origine de la mise en travail plus rapide de ces dernières, et jouerait un rôle encore mal défini dans la transmission placentaire des particules virales ⁽⁹⁰⁾ ⁽⁸²⁾. De plus, les études montrent que le taux de césarienne est plus élevé chez les mères des enfants étant infectés par le virus du fait d'une souffrance fœtale accrue. Toutefois cet acte chirurgical ne protège pas le nouveau né vis-à-vis de l'infection ⁽⁸⁹⁾ ⁽⁹⁰⁾. Cependant, l'infection virale au cours de la grossesse n'entraîne pas de mort fœtale *in utero*, de risque accru de fausse couche ou de retard de croissance du fœtus. Concernant l'allaitement il reste possible puisqu'à ce jour aucune particule virale n'a été mise en évidence dans le lait maternel. Toutefois suite à une infection au chikungunya virus, les nouveaux nés infectés présentent régulièrement des problèmes de succion ce qui amène souvent la mère à utiliser un tire-lait ⁽⁹¹⁾.

4.3.2. Le Nouveau né

L'infection néonatale par le chikungunya virus reste rare. Il peut être transmis au nouveau né soit par la mère (transmission materno-fœtale), soit par le moustique *via* la piqûre. Les symptômes exprimés par le nouveau né sont constants avec une triade symptomatique caractéristique marquée par des difficultés de succion, des algies à l'origine de pleurs incessants et une fièvre importante. D'autres manifestations cliniques ont été observées mais à un degré moindre, comme des œdèmes au niveau des extrémités, des pétéchies ou encore des exanthèmes rubéoliformes ou roséoliformes. L'incubation du virus est en moyenne de 4 jours mais peut s'étendre sur une période plus ou moins longue allant de 3 à 7 jours. De plus, durant l'infection, les analyses biologiques montrent le plus souvent une diminution de la concentration des plaquettes associée à une diminution du nombre de lymphocytes et à une élévation des transaminases hépatiques ⁽⁸⁹⁾ ⁽⁹¹⁾. En outre, des formes graves chez le nouveau né ont été observées mais de façon moins fréquentes. L'infection se

traduit alors par le développement d'encéphalopathies associées à un œdème cérébral et dans certains cas par un trouble hémodynamique à l'origine d'un tableau clinique de sepsis sévère. Une coagulation intravasculaire ou des pathologies du myocarde peuvent parfois aussi être répertoriées ⁽⁹¹⁾.

5. Diagnostic biologique du chikungunya virus

Lors d'une infection au chikungunya virus, le contexte de survenue joue un rôle prépondérant dans la méthode diagnostique qui va être utilisée afin de confirmer ou d'infirmer la présence du virus. En effet, celle-ci sera déterminée principalement par rapport au temps écoulé depuis l'apparition des premiers symptômes mais aussi par rapport à la situation épidémiologique et au volume d'échantillon disponible pour les analyses. Ainsi, on distinguera des méthodes diagnostiques permettant la détection du virus, la détection de l'ARN viral ou encore la détection des anticorps spécifiques qui seront utilisées en fonction de la chronologie de l'infection. C'est pourquoi, la cinétique du virus et des anticorps IgG et IgM (**figure 22**) est importante à connaître afin de permettre le choix le plus judicieux qui permettra d'établir le diagnostic de l'infection ⁽⁹²⁾ ⁽⁹³⁾.

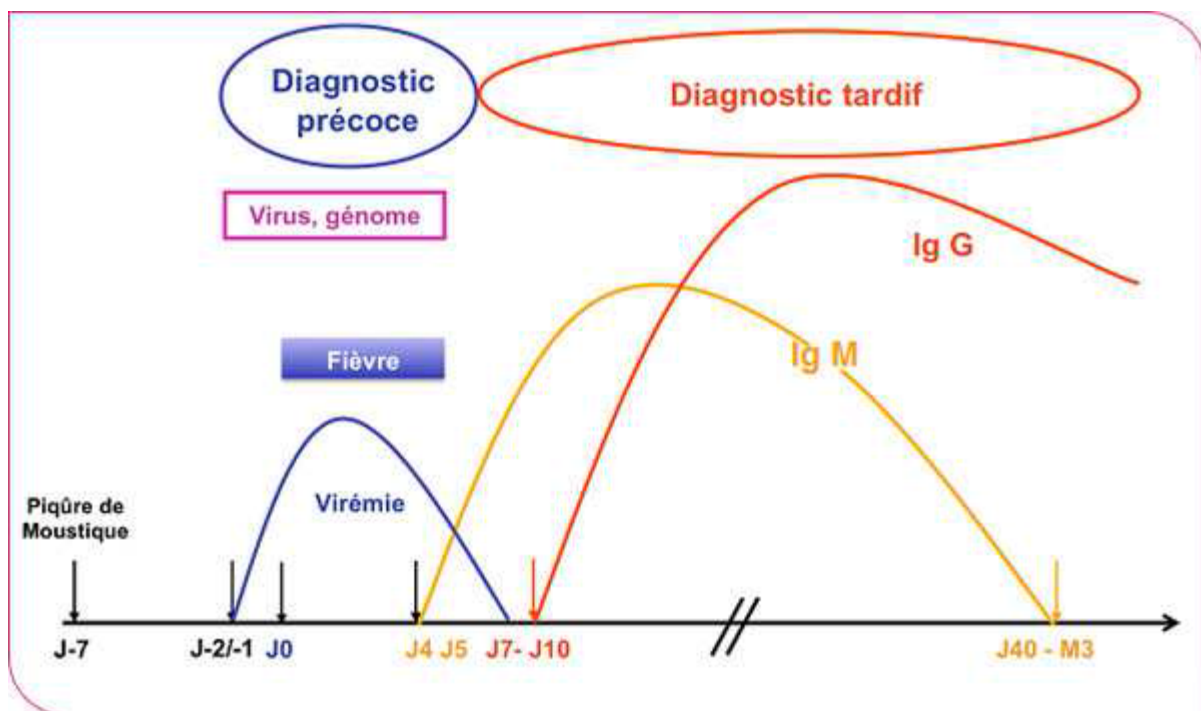


Figure 22 : Cinétique du chikungunya virus et des anticorps spécifiques lors de l'infection ⁽⁹²⁾.

5.1. Stratégie diagnostique

Selon les différentes instances nationales ou internationales (OMS, ECDC, HAS) tout patient présentant un des trois signes cliniques principaux de l'infection au chikungunya virus doit être considéré comme potentiellement contaminé. Ces signes sont : l'apparition brutale de fièvre, les douleurs articulaires et les atteintes cutanées. De plus, la découverte de ce symptôme doit être associée à un contexte épidémiologique tel que résider dans une zone d'épidémie ou avoir voyagé dans une zone à risque. Dès lors, tout patient ayant présenté une piqûre de moustique 15 jours avant l'établissement des signes cliniques, et présentant ces deux critères doit être considéré comme probablement infecté, et doit faire l'objet d'un diagnostic de certitude permettant d'obtenir la confirmation de l'infection. Celui-ci reposera sur le caractère positif d'un des tests biologiques permettant de mettre en évidence l'infection tels que l'isolement du virus par culture cellulaire, la reconnaissance de l'ARN viral par la RT-PCR ou encore la mise en évidence de l'augmentation importante des anticorps spécifiques IgG et IgM ⁽⁹²⁾.

5.2. Diagnostic précoce direct

Il constitue le diagnostic de référence jusqu'à 7 jours après l'apparition des premiers signes cliniques.

5.2.1. Isolation du virus par culture cellulaire

L'isolation du virus par culture cellulaire, doit être effectuée dans des laboratoires de niveau 3 spécialisés pour les arboviroses. Ce test peut être réalisé entre le 1^{er} et le 7^{ème} jour suivant l'apparition des premiers signes clinique. Il constitue le test de référence selon l'OMS ⁽⁹²⁾. Cette isolation nécessite la réalisation d'un prélèvement biologique le plus souvent sanguin (parfois articulaire) de la personne infectée. Puis, la détection du virus sera effectuée soit *in vivo* par inoculation du prélèvement à l'animal (souris) ou à un insecte (moustique), soit *in vitro* par inoculation du prélèvement sur cellules issues de lignées continues telles que les cellules C6/36, HeLa, VERO et BHK-21 ^{(94) (95)}. Une étude menée à l'île Maurice durant l'épidémie survenue à l'île de la Réunion en 2006, a montré que les cellules HEL issues de

poumons embryonnaires humains pouvaient être elles aussi utilisées dans l'isolement du chikungunya virus et présentaient une sensibilité à ce dernier supérieure aux cellules VERO ⁽⁹⁶⁾. Les cultures cellulaires sont observées régulièrement au microscope optique inversé, afin de mettre en évidence toutes modifications morphologiques dues à l'effet cytopathogène du virus: un gonflement cellulaire, une augmentation de la réfringence cellulaire et une forme arrondie et granuleuse des cellules ^{(94) (95)}.

5.2.2. Détection de l'ARN viral par RT-PCR

Ce test peut être réalisé dans les 7 jours suivants l'apparition des premiers symptômes. Cependant, les études ont montré qu'au-delà du 5^{ème} jour, les résultats obtenus par RT-PCR devaient être confirmés par une sérologie, pour une meilleure efficacité diagnostique ⁽⁹²⁾. En effet, la virémie commence à décliner à partir du 6^{ème} jour. Lors d'une infection au chikungunya virus, cette technique permet de détecter la présence dans le sang du génome du virus constitué d'un simple brin d'ARN positif ^{(92) (93)}. Elle se caractérise dans un premier temps, par la réalisation d'un prélèvement sanguin chez le patient suspecté. Dans un deuxième temps, survient l'extraction de l'ARN génomique du chikungunya virus. Cette étape se traduit par une lyse cellulaire et une inhibition des nucléases par l'intermédiaire de diverses techniques afin d'obtenir un ARN purifié intact. Dans un troisième temps, le génome du chikungunya virus ainsi obtenu est ensuite transcrit en ADN complémentaire (ADNc) par une reverse transcriptase, en utilisant des amorces oligonucléotidiques complémentaires d'une séquence nucléotidique constitutive d'un ou de plusieurs gènes viraux (le plus souvent ceux de la glycoprotéine E1 et/ou de NSP1). Enfin, dans un quatrième temps survient l'amplification du génome viral par PCR comprenant les étapes suivantes: une dénaturation permettant la séparation des deux brins d'ADNc, une hybridation des amorces sur chaque brin d'ADNc et une phase d'élongation grâce à une Taq polymérase (ADN polymérase) ^{(97) (98)}. Parfois, une deuxième amplification (PCR nichée) est nécessaire. Elle permet d'augmenter la sensibilité et la spécificité de l'amplification du génome viral. De plus, la détection du génome du chikungunya virus au cours de la PCR peut être suivie en temps réel en utilisant une sonde marquée (par exemple la sonde TaqMan présentant un fluochrome inhibé par la proximité d'un suppresseur). Ainsi, lorsque la Taq polymérase hydrolyse la sonde lors de la phase d'élongation, le fluochrome émet une fluorescence (**figure 23**) ^{(98) (99)}.

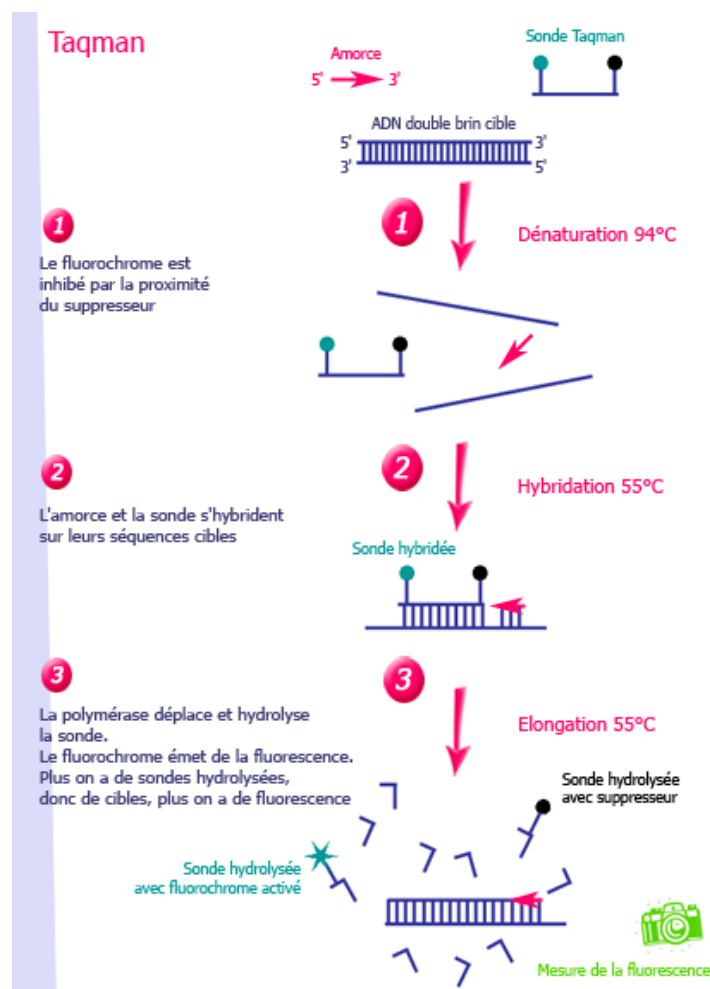


Figure 23 : RT-PCR (méthode de Taqman) ⁽⁹⁹⁾.

5.3. Diagnostic indirect sérologique

Ce diagnostic repose sur la détection par la technique ELISA des IgM et IgG spécifiques de l'infection au chikungunya virus. La présence de ces immunoglobulines respectivement à J5 et entre J7 et J10 font de ce test l'examen de référence à partir du 7^{ème} jour après l'apparition des premiers symptômes ⁽⁹²⁾. Inscrit dans les recommandations de l'OMS, le diagnostic sérologique doit être effectué sur deux échantillons prélevés à deux semaines d'intervalles (généralement un durant la phase aiguë et l'autre 10 à 14 jours après). En effet, l'étude de l'évolution du taux d'immunoglobulines est importante puisque par exemple un taux d'IgG quatre fois supérieur à celui retrouvé dans le premier échantillon serait pathognomonique de la maladie.

5.3.1. Détection des IgM spécifiques

Ce sont des immunoglobulines pouvant être retrouvées dans l'organisme jusqu'à plusieurs mois après l'apparition des premiers signes cliniques. Lors d'une infection au chikungunya virus, leur détection est possible par plusieurs technique ELISA dont la plus sensible et spécifique est la technique d'immunocapture MAC-ELISA (**Figure 24**) ⁽⁹²⁾. Cependant, des réactions croisées peuvent être observées comme par exemple avec le virus Sindbis ⁽⁹³⁾.

- **IgM antibody capture ELISA**

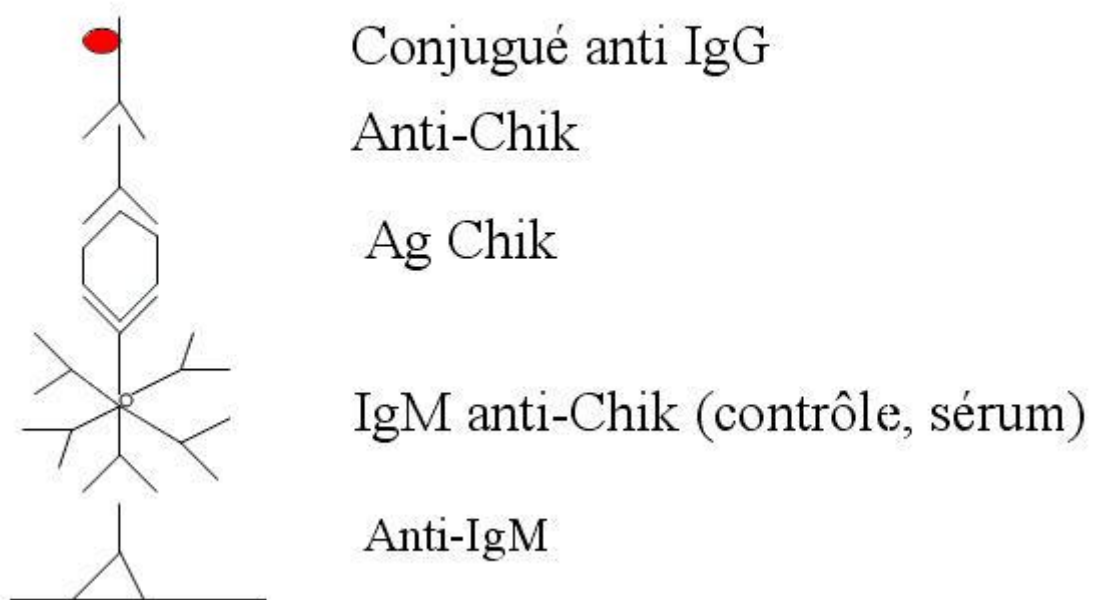


Figure 24 : La méthode MAC-ELISA de détection des IgM ⁽¹⁰⁰⁾.

5.3.2. Détection des IgG spécifiques

La présence d'IgG dans le sérum d'un patient peut être due à une exposition présente ou passée au chikungunya virus. En effet, les IgG peuvent être présentes dans l'organisme pendant plusieurs années suite à une infection. Leurs détections sont effectuées par une méthode ELISA indirecte quantitative (**figure 25**) ⁽¹⁰¹⁾ ⁽¹⁰²⁾.

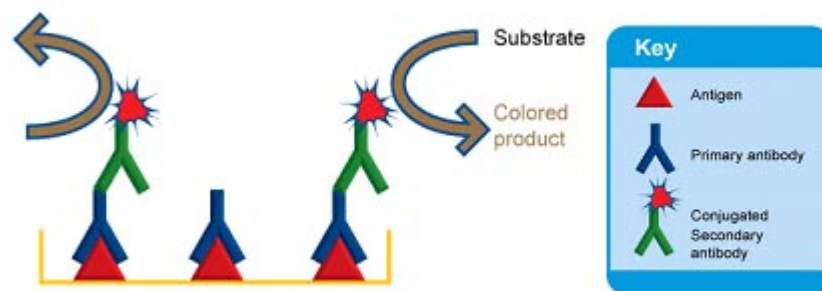


Figure 25 : La méthode ELISA indirect de détection des IgG ⁽¹⁰²⁾.

5.3.3. Autres tests diagnostiques

Absents des recommandations diagnostiques de l’OMS, d’autres tests peuvent être utilisés pour le diagnostic d’une infection au chikungunya virus. Ainsi, les tests d’immunofluorescence directe ou indirecte présentant une sensibilité et une spécificité suffisante peuvent être utilisés. Le test PRNT (Plaque Reduction Neutralization Test) est intéressant du fait de sa sensibilité vis-à-vis des alphavirus. Il permet de quantifier le titre d’anticorps neutralisants contre le chikungunya virus. Le sérum du patient, dilué est mis en présence du chikungunya virus, puis le mélange est réparti sur une culture de cellules hôtes du virus. La surface du tapis cellulaire est couverte par une couche d’agarose, ce qui empêche le virus de se répandre dans la culture cellulaire. Des plaques qui correspondent aux régions où les cellules sont infectées vont alors se former. La concentration du virus en unité formant plaque (UFP) est estimée par le nombre de plaques quelques jours après l’infection. Ce test est parfois utilisé pour confirmer les tests sérologiques. Cependant, l’inconvénient majeur de ce test l’utilisation de virus vivants et il ne peut donc être réalisé que dans les laboratoires de niveau de biosécurité 3. Enfin, le test d’inhibition de l’hémagglutination peut aussi être utilisé pour le diagnostic. Le virus est mis en présence d’anticorps spécifiques qui reconnaissent les hémagglutinines virales et la réaction d’hémagglutination est alors inhibée après addition d’hématies. La sensibilité de cette technique reste inférieure à la méthode ELISA et est donc peu utilisée pour le diagnostic ^{(93) (103)}.

Partie 3 : Perspectives thérapeutiques et vaccinales - Rôle du pharmacien d'officine

1. Bilan actuel de la recherche sur les différentes perspectives de traitements

A l'heure actuelle, il n'existe pas de traitement spécifique à prescrire lors d'une infection au chikungunya virus. Dès lors, le traitement symptomatologique prédomine avec une prise en charge thérapeutique basée sur les antalgiques et les anti-inflammatoires en phase aiguë et en phase chronique. Dans certains cas, une corticothérapie pourra être nécessaire notamment dans les formes sévères de l'infection. Cependant, malgré cette stratégie thérapeutique, les médicaments utilisés n'auront aucun effet préventif sur l'établissement de la forme chronique de l'infection. C'est pourquoi, les laboratoires de recherche travaillent aujourd'hui sur de nombreuses molécules potentiellement médicamenteuses, ainsi que sur des vaccins susceptibles de pouvoir être utilisés en curatif (phase aiguë et chronique) et en préventif de façon à endiguer la progression du chikungunya virus ⁽²⁸⁾.

1.1. Perspectives moléculaires médicamenteuses

1.1.1. Les inhibiteurs de l'endocytose virale

a) La chloroquine

Traditionnellement utilisé dans le cadre de la prise en charge des patients atteints de paludisme, la chloroquine (**figure 26**) a démontré une action antivirale sur plusieurs autres virus (VIH, coronavirus et alphavirus). Ainsi, les études menées sur le chikungunya virus ont montrés *in vitro*, que cette molécule pouvait empêcher la réplication virale aux différents stades de l'infection. Son mécanisme d'action interviendrait au stade de la fusion endosomale et reposerait sur l'inhibition de l'acidification de l'endosome nécessaire à la formation des homotrimères de fusion, empêchant ainsi l'internalisation du virus. Cependant, malgré des

résultats prometteurs, une étude précédente réalisée sur l'île de la Réunion à partir de 54 patients présentant une infection au chikungunya virus et étant soignés soit par un placebo, soit par la chloroquine n'a révélé aucune différence concernant la durée de la phase fébrile ou arthralgique. De même, la diminution de la charge virale n'était pas significative dans un groupe ou dans l'autre. Toutefois cet essai clinique ayant été mené sur une petite cohorte, les résultats obtenus ne permettent pas de conclure sur l'efficacité éventuelle de la chloroquine lors de la phase aiguë d'une infection au chikungunya virus ⁽¹⁰⁴⁾ ⁽¹⁰⁵⁾. En revanche, un essai de phase IV mené en Inde, sur une cohorte de 193 personnes a montré une efficacité de la chloroquine pour la majorité d'entre eux. C'est pourquoi, d'autres études doivent être mises en place afin de déterminer l'efficacité de la chloroquine au cours de la phase aiguë de l'infection ⁽¹⁰⁶⁾.

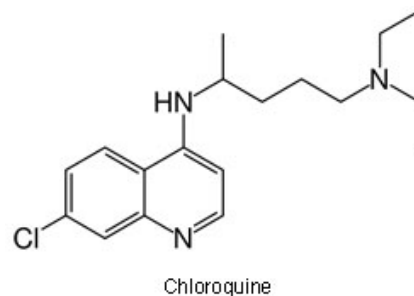


Figure 26 : Structure chimique de la chloroquine ⁽¹⁰⁴⁾.

b) Arbidol

L'arbidol (**figure 27**) est une molécule antivirale à large spectre et ayant été développée à l'Institut de Recherche Chimique et Pharmaceutique de Russie. Sa principale utilisation s'applique aux infections respiratoires aiguës incluant notamment la grippe. En outre, de par son activité antivirale importante vis-à-vis de nombreux virus à ARN ou ADN enveloppés ou non, de nombreuses études ont été menées dans le but de déterminer l'efficacité de l'arbidol pour traiter une infection au chikungunya virus. Ainsi, l'exploitation des résultats obtenus lors des différentes investigations menées ont montré que cette molécule agirait en inhibant la fixation du chikungunya virus et par conséquent son endocytose au sein de la cellule saine. En effet, l'arbidol agirait sur les glycoprotéines E2 de l'enveloppe virale, empêchant son interaction avec le récepteur cellulaire. De plus, son utilisation en clinique depuis plus de 15 ans en Russie a permis de montrer que cette molécule ne présente que

très peu d'effets indésirables. C'est pourquoi, l'arbidol constitue une solution intéressante dans le traitement d'une infection au chikungunya virus ^{(104) (105) (107)}.

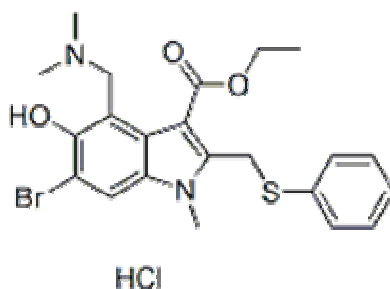


Figure 27 : Structure chimique de l'arbidol ⁽¹⁰⁴⁾.

c) 10H-phénothiazines

Six composés testés et porteurs d'un noyau 10H-phénothiazine ont montré au cours de certaines études une activité antivirale vis-à-vis du chikungunya virus. Parmi eux, on retrouve : la chlorpromazine, la thioridazine, la perphénazine, la thiéthylpérazine, la methdilazine et l'éthopropazine (**annexe 3**) ^{(104) (105)}. Ces molécules interviendraient en empêchant l'entrée du virus par désassemblage de l'enveloppe des clathrines indispensable à la formation de l'endosome. Dès lors, elles inhiberaient l'endocytose virale au sein de la cellule cible ⁽¹⁰⁸⁾. De plus, ces phénothiazines traditionnellement utilisées comme antipsychotiques présentent la particularité de pouvoir traverser la barrière hémato-encéphalique, ce qui serait intéressant dans le cadre du traitement des formes sévères atypiques neurologiques liées à une infection au chikungunya virus. Cependant, la pertinence de ce dernier aspect fait encore débat aujourd'hui. Ainsi, les phénothiazines pourraient inhiber l'entrée du chikungunya virus au sein de la cellule cible comme elles l'ont déjà montré avec le Semliki Forest Virus, mais l'étude de leurs potentielles cibles spécifiques doit encore faire l'objet de recherches approfondies ^{(104) (105)}.

1.1.2. Les inhibiteurs de la traduction virale

a) Les ARN interférents

Cette interférence appelée aussi ARNi repose sur l'inhibition de la traduction des ARN messagers viraux. Ce mécanisme conduit à l'arrêt de l'expression protéique et donc à l'inhibition de la réplication virale. Cette technique repose sur deux types d'ARN dit « interférents » : les petits ARN interférents (siRNA) et les ARN en épingle à cheveux (shRNA). Les siRNA sont synthétisés lors du clivage par une ARN polymérase III d'un ARN double brin (dsRNA) introduit au début du processus d'inhibition post-transcriptionnel. Les shRNA sont des ARN ayant une structure en tige et boucle qui sont incorporés au sein de plasmides ou de vecteurs viraux ou bactériens et exprimés *in vitro* par les cellules après transfection. Ainsi, les différentes investigations menées sur les siRNA dans le cadre d'une inhibition de la réplication du chikungunya virus, montrent que ceux-ci interviendraient au niveau des gènes codants les protéines NSP3 et E1. Cependant, les résultats ont montré que cette inhibition n'était que transitoire sans doute en raison de la multiplication extrêmement rapide du chikungunya virus et de la sensibilité des siARN à la dégradation intracellulaire. Les shRNA quant à eux, interviendraient au niveau des gènes codants pour E1, E2 et NSP1 inhibant ainsi leurs productions. Dès lors, les résultats obtenus suggèrent une efficacité potentielle de cette approche technique vis-à-vis du chikungunya virus qui pourrait, après de nouvelles études complémentaires, constituer une stratégie antivirale de choix ^{(104) (105)}.

b) Harringtonine et homoharringtonine

Ces molécules sont des alcaloïdes, dérivées des céphalotoxines et provenant de *Cephalototaxus harringtonia* autrement appelé pin japonais queue de vache. Elles interviendraient dans l'inhibition du chikungunya virus avec une cytotoxicité minimale. Ainsi, leurs mécanismes d'actions résulteraient d'une diminution de la fixation des aminoacyl-ARNt au niveau du site A de la sous unité 60S du ribosome, empêchant ainsi la phase d'élongation de la traduction de l'ARNm viral. Les différentes investigations montrent que ces molécules inhiberaient majoritairement la production des protéines NSP3 et E2. L'homoharringtonine, différente de l'harringtonine, par la présence d'un groupement méthyle supplémentaire semblerait plus puissante (**figure 28**). En effet, elle persisterait plus longtemps au niveau

des zones cibles. De plus, les différentes études ont mis en évidence une caractéristique très intéressante de ces deux molécules, puisqu'elles auraient une action beaucoup plus puissante et efficace sur la souche virale E1-A226V, responsable de l'épidémie survenue sur l'île de la Réunion en 2006. Utilisées actuellement dans le cadre de la prise en charge des leucémies, harringtonine et homoharringtonine nécessitent la réalisation d'études supplémentaires *in vivo*, afin de déterminer laquelle de ces deux molécules serait la plus appropriée dans la prise en charge d'un patient infecté par le chikungunya virus ^{(104) (105)}.

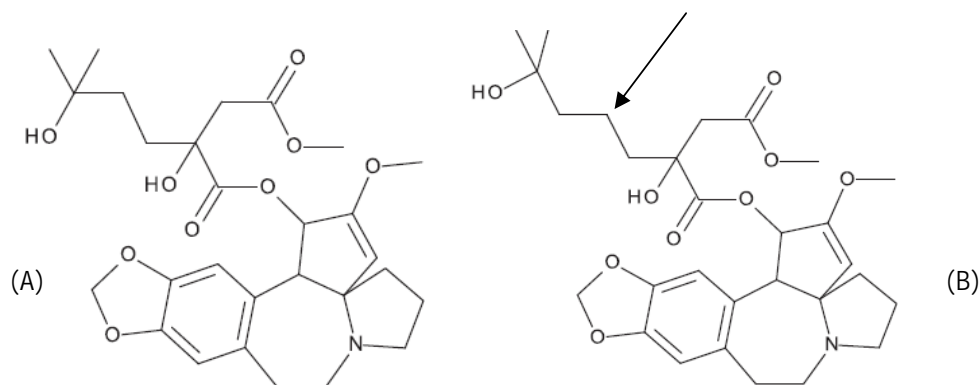


Figure 28 : Structures chimiques de l'harringtonine (A) et de l'homoharringtonine (B) ⁽¹⁰⁴⁾.

1.1.3. Inhibiteur de la réplication virale

a) 5,7- dihydroxyflavones et prothipendyl

Bien que les études menées sur ces molécules restent à ce jour en nombre réduit, les résultats ont montré une efficacité de celles-ci par inhibition de la réplication du chikungunya virus au sein des cellules cibles. Ainsi, 4 composés naturels dit flavonoïques du fait de la présence dans la structure d'une 5,7- dihydroxyflavones et une phénothiazine présenteraient cette caractéristique. Il s'agit respectivement de molécules présentant des propriétés anticancéreuses connues que sont l'apigénine, la chrysin, la naringénine et la silybine et d'une molécule présentant des propriétés antipsychotiques, le prothipendyl (**annexe 4**). Cette propriété vis-à-vis de la réplication du chikungunya virus provient de résultats obtenus au cours de différentes études. En effet, au cours de celles-ci, ces 5 molécules ont diminué la charge virale. Cependant, une inefficacité apparente vis-à-vis de l'entrée au sein de la cellule saine d'un autre virus du même complexe le Semiliki Forest Virus a été constatée. Dès lors, de nouvelles investigations sur le mécanisme d'action et sur la relation structure-activité de

ces molécules devront être réalisées afin de déterminer leur efficacité réelle vis-à-vis du chikungunya virus ⁽¹⁰⁴⁾ ⁽¹⁰⁵⁾.

b) Les diterpénoïdes : daphnane et jatrophane

Ces diterpénoïdes sont des composés naturels extraits à partir de plantes de la famille des Euphorbiacées provenant de Nouvelle Zélande (daphnane) ou de Corse (jatrophane). Les différentes investigations menées sur les diterpènes daphnanes trigocherrins A, B, F et trigocherriolides A, B, C montrent un effet de suppression de l'effet cytopathique du chikungunya virus (**annexe 5**). Leur mécanisme d'action reposerait sur l'inhibition de la réplicase virale et nécessite la réalisation d'études supplémentaires afin de le déterminer avec précision ⁽¹⁰⁴⁾ ⁽¹⁰⁹⁾. De plus, les résultats ont montré que les trigocherrins sont des inhibiteurs plus puissants de ce virus que les trigocherriolides, sans que l'atome de chlore ne joue un rôle important dans cette activité ⁽¹⁰⁹⁾. Les diterpènes jatrophanes (**figure 29**) quant à eux, ont été mis en évidence au cours d'une étude menée en Corse, dans laquelle 12 diterpènes jatrophanes avaient été placés dans deux groupes A et B, afin d'étudier méthodiquement la relation structure activité de ces molécules vis-à-vis du chikungunya virus. Ainsi, dans le groupe A regroupant 7 composants, il a été montré qu'un groupement acétyle placé sur le carbone 2 entraînait une diminution de l'activité de la molécule vis-à-vis du chikungunya virus. De même, la substitution sur le carbone 8 semble importante dans l'efficacité d'action de la molécule contre ce virus avec : tigloxy > benzoxy > acétyloxy et isobutyryloxy. Dans le groupe B, l'activité vis-à-vis du chikungunya virus était importante lorsque un groupement acétyle ou isobutyryle substituait le carbone 8. Cependant, la présence sur le carbone 2 d'un groupement méthylbutyryl diminuait l'activité antivirale. Enfin, les différentes investigations menées sur les diterpènes jatrophanes auraient permis d'établir une hypothèse selon laquelle, ceux-ci inhiberaient la réplication du chikungunya virus *via* un mécanisme utilisant la protéine kinase C. Dès lors, de nouvelles études doivent être menées afin de confirmer cette hypothèse ⁽¹¹⁰⁾.

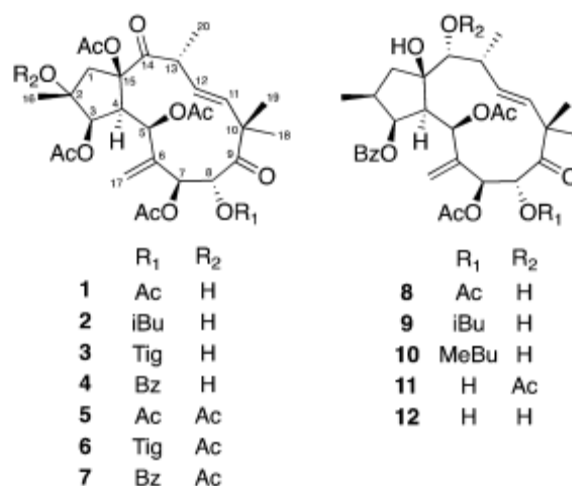


Figure 29 : Structure chimique des diterpènes de jatropane ⁽¹¹⁰⁾.

c) Les inhibiteurs de la protéine NSP2.

Porteuse de nombreuses fonctions enzymatiques nécessaires à la réplication du chikungunya virus la protéine NSP2 semble être une cible de choix dans l'établissement d'un traitement antiviral spécifique. En effet, une étude a montré qu'une simple mutation de la protéine NSP2 (glycine en position 718 remplacée par une proline) bloquait la réplication du virus. Ainsi, un dérivé de composé naturel ID1452-2 (**figure 30**) aurait montré une efficacité d'action *in vitro* vis-à-vis de la protéine NSP2. Par inhibition de NSP2, cette molécule entraînerait une inhibition de la réplication virale. Cependant, d'autres composés présentant une structure similaire n'ont pas présenté cette propriété. Dès lors, la réalisation d'autres études semble nécessaire, afin de déterminer la relation structure-activité existant entre ID1452-2 et la protéine NSP2 du chikungunya virus. En outre, une autre étude ayant testé de nombreux composés a mis en évidence pour l'un d'entre eux appelé composé 1 (**figure 31**), une inhibition de l'effet cytopathique induit par le virus en se liant à la partie centrale de la protéine NSP2. Consécutivement à ces résultats, l'étude menée sur la relation structure-activité de la molécule a révélé la présence de deux groupements indispensables à son activité: le cyclopropyle et l'hydrazone ^{(104) (105)}.

ID1452-2

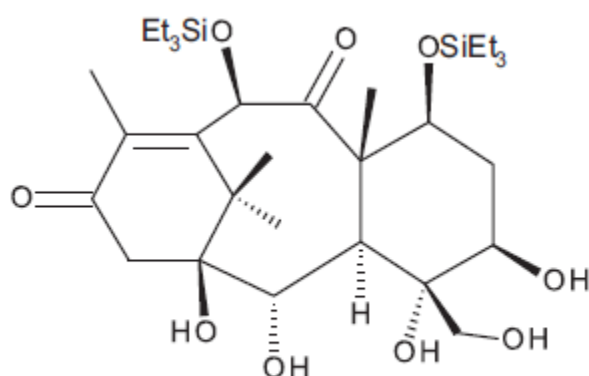


Figure 30 : Structure chimique de ID1452-2 ⁽¹⁰⁴⁾.

Compound 1

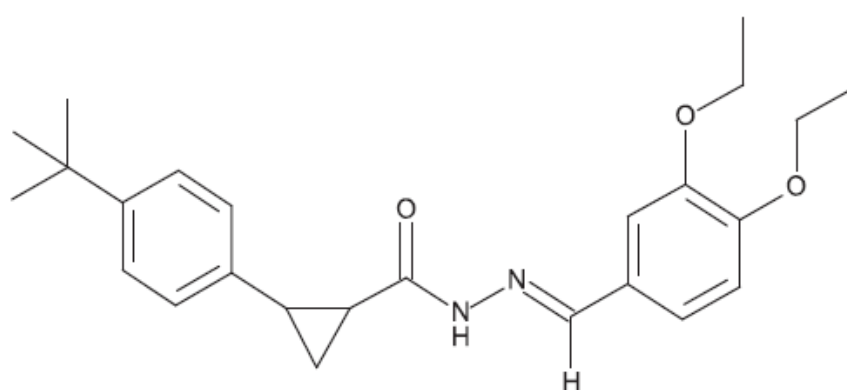


Figure 31 : Structure chimique du composé 1 ⁽¹⁰⁴⁾.

d) La ribavirine

Présentant une structure nucléosidique analogue à la guanosine, la ribavirine (**figure 32**) est un antiviral à large spectre utilisé pendant plusieurs années dans le traitement de l'hépatite C associé à l'interféron pégylé INF α mais qui a aussi une activité sur le virus respiratoire syncytial ou d'autres virus à ARN ou ADN ⁽¹⁰⁴⁾ ⁽¹⁰⁵⁾. La ribavirine aurait un rôle dans l'inhibition de la réplication du chikungunya virus au sein de la cellule cible. En effet, il a été montré que celle-ci entraînerait une diminution du gonflement des tissus mous et de l'intensité des arthralgies. Cependant, l'étude ayant permis d'établir cette constatation se base sur les résultats d'une cohorte de patient très faible (10 patients) ; les résultats obtenus bien que prometteurs ne permettent pas de conclure sur l'efficacité réelle de la ribavirine ⁽¹¹¹⁾. Son mécanisme d'action quant à lui, reposerait sur l'inhibition par

compétition d'une enzyme cellulaire l'inosine monophosphate déshydrogénase. L'inactivation de cette enzyme, impliquée physiologiquement dans la synthèse de guanosine triphosphate entraînerait successivement un appauvrissement du pool de cette dernière et une destruction de l'ARN viral. Une étude menée à partir d'un autre alphavirus, le Sindbis virus, a permis de mettre en évidence une mutation possible du gène codant NSP1, à l'origine d'une augmentation de l'affinité de l'ARN guanylyltransférase pour la guanosine triphosphate (GTP), permettant ainsi la réplication virale malgré la faiblesse du pool de GTP due à l'action de la ribavirine. D'autres études doivent être réalisées afin de confirmer le mode d'action de la ribavirine sur la réplication du chikungunya virus et la résistance de ce dernier à la ribavirine ^{(104) (105)}.

Ribavirin

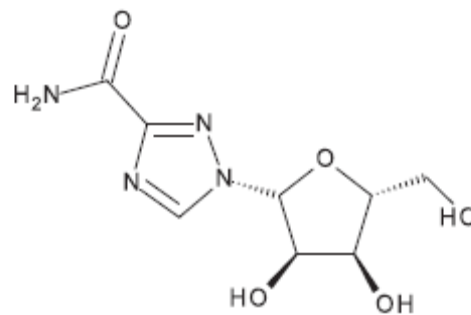


Figure 32 : Structure chimique de la ribavirine ⁽¹⁰⁴⁾.

e) La 6-azauridine

Présentant une structure nucléosidique analogue à l'uridine, la 6-azauridine (**figure 33**) est classiquement utilisée dans le traitement de psoriasis sévère. Molécule à large spectre antiviral, elle interviendrait dans l'inhibition de la réplication virale du chikungunya virus. En effet, différentes études menées *in vitro* ont montré que cette dernière présentait une activité antivirale importante supérieure à celle de la ribavirine. En outre, son mécanisme d'action reposerait sur l'inhibition d'une enzyme, l'orotidine monophosphate decarboxylase, à l'origine d'une diminution de la synthèse des pyrimidines et donc de l'ARN viral. La posologie utilisée dans le cadre d'une infection au chikungunya virus semble être inférieure à celle utilisée dans le traitement du psoriasis, l'inhibition des alphavirus ne nécessitant pas de concentrations plasmatiques élevées de la molécule. Cependant, malgré

des résultats prometteurs, l'activité antivirale de la 6-azauridine vis-à-vis du chikungunya virus est difficile à démontrer *in vivo*. C'est pourquoi, de nouvelles études doivent être réalisées afin de mettre en évidence l'efficacité de cette molécule ⁽¹⁰⁴⁾ ⁽¹⁰⁵⁾.

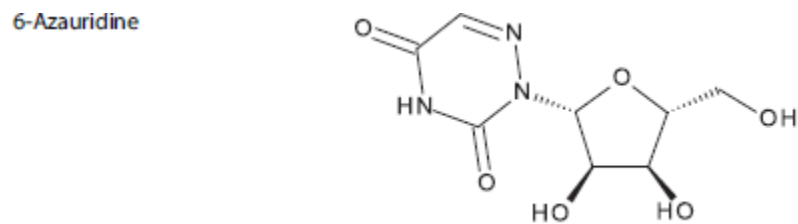


Figure 33 : Structure chimique de la 6-azauridine ⁽¹⁰⁴⁾.

f) L'acide mycophénolique.

Acide organique faible caractérisé par ses propriétés immunosuppressives, l'acide mycophénolique est une molécule (**figure 34**) dont l'efficacité vis-à-vis de nombreux virus est à ce jour reconnue. Dès lors de nombreuses études ont été réalisées, afin de déterminer l'activité antivirale de celle-ci envers le chikungunya virus. Les résultats obtenus ont montré une action de l'acide mycophénolique par inhibition non compétitive de l'inosine monophosphate deshydrogénase. Cela entraînerait une diminution de la synthèse de xanthine à partir de l'inosine, à l'origine d'un abaissement du pool de guanosine triphosphate. En conséquence, l'action de l'ARN polymérase décroîtrait empêchant la réplication de l'ARN viral ⁽¹⁰⁴⁾ ⁽¹⁰⁵⁾. De plus, l'acide mycophénolique inhiberait le clivage de la protéine poly ADP ribose polymérase et l'action de la capsase-3, toutes deux médiateurs de l'apoptose cellulaire. En outre, son action diminuerait la régulation négative d'une protéine anti apoptotique Bcl-2 (B-cell lymphoma 2). Ainsi, selon les résultats obtenus au cours des différentes investigations menées sur le chikungunya virus, l'acide mycophénolique empêcherait la réplication et la dissémination par destruction cellulaire. Cependant, ces constatations ont été obtenues à l'issue d'études menées *in vitro*. Elles ne permettent pas de conclure définitivement sur l'efficacité de cette molécule chez les patients infectés par le chikungunya virus tant que ces résultats ne seront pas démontrés par des études *in vivo* ⁽¹¹²⁾.

Mycophenolic acid

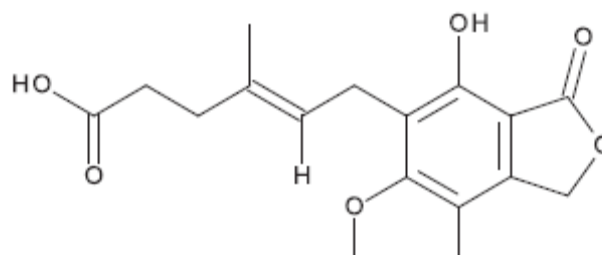


Figure 34 : Structure chimique de l'acide mycophénolique ⁽⁹⁷⁾.

1.1.4. Les modulateurs de la réponse immunitaire

Dans le cas d'une infection au chikungunya virus, deux modulateurs de la réponse immunitaire présentent une activité antivirale marquée : l'IFN α et l'acide polyinosinique. Comme pour la plupart des virus, l'IFN α joue un rôle central dans la guérison clinique. C'est la fixation de l'ARN viral sur un récepteur Toll like ou Rig like qui déclenche sa synthèse ⁽¹⁰⁵⁾. Il agit de manière à stimuler la transcription du gène RSDA2 permettant notamment une production importante de viperine. Celle-ci ainsi synthétisée et majoritairement présente au sein des monocytes inhibe alors la réplication virale du chikungunya virus ⁽¹⁰⁴⁾. De plus, l'IFN α présenterait une caractéristique particulière puisque comme l'harringtonine, il agirait de façon plus sensible sur le virus muté E1-A226V que sur le génotype sauvage. L'acide polyinosinique, analogue synthétique de l'ARN double brin joue un rôle antiviral, après fixation sur le récepteur Toll like. Celui-ci se caractérise par une augmentation de la production des interférons de type 1 qui seront à l'origine d'une diminution de la charge virale. Toutefois, ces modulateurs de la réponse immunitaire nécessitent la réalisation d'études supplémentaires pour déterminer leur efficacité « réelle » vis-à-vis du chikungunya virus ⁽¹⁰⁵⁾.

1.1.5. Inhibiteur de la maturation des glycoprotéines virales

Lors du cycle de réplication du chikungunya virus, le précurseur pE2 est clivé par une furine, permettant ainsi la synthèse des glycoprotéines de l'enveloppe matures E2 et E3 ⁽¹⁰⁴⁾. De nombreuses études menées sur les molécules potentiellement inhibitrices de la maturation de ces glycoprotéines ont permis de mettre en évidence, l'efficacité de l'une d'entre elles : la décanoyl-RVCR-chlorométhylcétone (**figure 35**) ^{(104) (105) (113)}. Le mécanisme d'action décrit repose sur l'inhibition de la furine, responsable de la maturation

des protéines d'enveloppe ⁽¹⁰⁴⁾. Dès lors, une diminution de la synthèse des protéines matures E2 et E3 ainsi qu'une accumulation de pE2 sont observées. Cela conduit à la formation de particules virales immatures. Ainsi, une inhibition de la propagation du chikungunya virus vers les cellules saines et une inhibition significative du titre viral sont observées ⁽¹⁰⁴⁾ ⁽¹¹³⁾. Cela permet d'établir une hypothèse quant à un autre aspect du mécanisme d'action de la décanoyl-RVCR-chlorométhylcétone, celle de l'inhibition de certaines étapes de la réplication virale. Cependant, des études supplémentaires doivent être effectuées afin de confirmer celle-ci et de préciser la cible de cette molécule au cours de la réplication ⁽¹¹³⁾.

Decanoyl-RVCR-
chloromethyl ketone

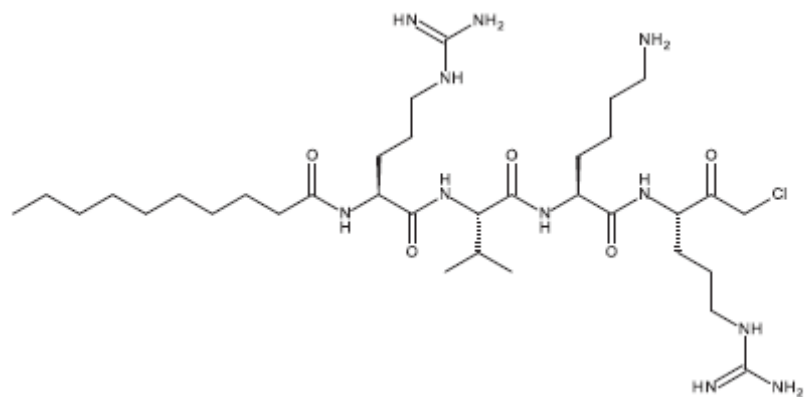


Figure 35 : Structure chimique de la décanoyl-RVCR-chlorométhylcétone ⁽¹⁰⁴⁾.

2. Perspectives vaccinales

2.1. Les vaccins inactivés

Un des premiers vaccins financé et réalisé par les chercheurs de l'armée américaine en 1967 fut un vaccin inactivé au formol ⁽¹⁰⁵⁾. Son développement était dû à l'envoi de nombreux soldats en Asie du Sud-Est et à la possible guerre biologique avec l'Armée Rouge ⁽¹¹⁴⁾. Préparé à partir d'une souche issue du Tanganika (Afrique), nommée souche 168, ce vaccin a montré une immunogénicité et une innocuité chez l'Homme et la souris lorsqu'il était cultivé sur cellules rénales de singe vert. Cependant, une stimulation immunitaire plus importante a été observée chez la souris lorsque la souche était inactivée par un mélange tween80/éther ou par lumière ultraviolette. Des effets secondaires similaires ont été

constatés avec les deux types de vaccins ⁽¹⁰⁵⁾. Ce dernier vaccin dont le coût reste élevé est encore à l'heure actuelle en phase pré-clinique ⁽⁵⁾.

2.2. Vaccin vivant atténué

Un vaccin candidat au traitement préventif du chikungunya virus a été développé par l'US Medical Research Institute of Infectious Diseases en 1986 ⁽⁵⁾. Il est basé sur une souche atténuée appelée souche 181/25. Celle-ci a été obtenue à partir d'une souche provenant du Sud-Est asiatique (Thaïlande) appelée souche 15561, dont les passages successifs sur des cultures de cellules rénales de singe vert et sur des cultures de cellules pulmonaires humaines a permis son atténuation ⁽¹¹⁴⁾. Les études réalisées ont montré une diminution de la virémie chez l'animal (singe, souris) lors de son utilisation. Le vaccin a été testé en phase 1 démontrant une sûreté d'utilisation et une immunogénicité de ce dernier chez l'Homme. Lors de la phase 2 réalisée en double aveugle entre un groupe recevant un placebo et un autre recevant le vaccin en une seule injection sous cutanée, les résultats obtenus chez les patients ayant reçu le vaccin ont confirmé le fait que ce vaccin était sûr et immunogène. Cependant, des effets indésirables de faible gravité ont été observés, tels que des arthralgies douces transitoires dans les 14 jours suivant la vaccination, laissant craindre une résurgence de sa virulence. Bien que se présentant comme un vaccin prometteur, l'essai clinique a été arrêté ne permettant pas de poursuivre le développement de la souche pour des raisons inconnues ⁽⁵⁾.

2.3. Vaccins recombinants

Un vaccin vivant atténué obtenu par recombinaison génétique a fait l'objet d'une autre étude aux Etats-Unis en 2010. Il associe une souche de chikungunya virus atténuée à une séquence permettant la traduction des ARNm de manière interne appelée IRES (Internal Ribosome Entry Sequence) issue du virus de l'encéphalomyocardite (EMCV). Cette dernière insérée en amont des séquences codantes pour les protéines structurales du chikungunya virus permet leurs traductions préférentielles (**Figure 36**). Sa conception repose sur l'amplification des ARNm viraux et de la séquence IRES à l'origine de la synthèse de clones

d'ADNc, qui une fois associés et incorporés au sein d'un plasmide permettent la synthèse d'ARNm puis d'ADNc de CHIKV/IRES. L'injection du vaccin chez la souris et chez le moustique a notamment permis de conclure sur le caractère immunogène et efficace de ce dernier, ainsi que sur l'absence de réplication chez le moustique ⁽¹¹⁵⁾. En effet, ces derniers ne possèdent pas le « matériel cellulaire » permettant de reconnaître la séquence IRES empêchant ainsi la traduction des séquences en aval. Dès lors, toute propagation du virus est impossible. Malgré des résultats prometteurs, ce vaccin est toujours aujourd'hui en phase préclinique et nécessite la réalisation d'autres études afin de pouvoir être testé chez l'Homme ⁽⁵⁾. De même, très récemment un vaccin vivant atténué obtenu par recombinaison génétique a été développé et étudié par la société Themis Bioscience. Il correspond à une association entre le vaccin vivant atténué issue de la souche Schwarz (rougeole) et une séquence synthétisée chimiquement codante pour les protéines structurales C, E1, E2, E3 et 6K du chikungunya virus. C'est l'incorporation des ADNc au sein d'un plasmide qui permet sa synthèse et sa croissance au sein des cellules Vero. Le vecteur vivant obtenu présente un grand nombre d'antigènes exprimés par le chikungunya virus, ainsi qu'une morphologie typique d'alphavirus. Au cours de la phase préclinique réalisée chez la souris, une bonne immunogénicité a été observée ainsi qu'une protection efficace en cas d'injection de doses létales de chikungunya virus. De plus, une immunité préalable au vaccin de la rougeole ne diminue pas la capacité protectrice du vaccin ⁽¹¹⁶⁾. L'étude en phase clinique 1 s'est elle aussi avérée concluante et a placé ce vaccin en tant que « candidat prometteur » dans le traitement préventif. Réalisée sur un ensemble de 42 individus sains volontaires (18-45 ans) répartis en 4 groupes et recevant soit des doses faibles, moyennes ou fortes du vaccin test, soit une injection de Priorix[®] (groupe témoin), cette phase a eu pour objectif de vérifier les conclusions observées en phase préclinique chez la souris. Les résultats obtenus ont révélé une bonne immunogénicité des trois groupes soumis au vaccin indépendamment de la dose injectée. En effet, environ 90% des individus ayant reçus une dose moyenne ou forte ont séroconvertis contre environ 44% pour ceux ayant reçus une dose faible. Un rappel effectué à 1 ou 3 mois entraîne une séroconversion de 100% chez tous les patients et ceci indépendamment de la dose administrée. Enfin, aucun effet indésirable grave n'a été recensé au cours de cette étude et l'innocuité du vaccin était bonne. Cependant, une augmentation du nombre d'effets indésirables est à noter lorsque la dose ou le volume vaccinal augmente ⁽¹¹⁷⁾.

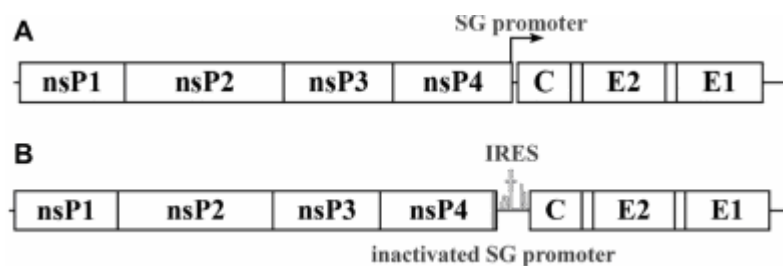


Figure 36 : Organisation génomique du vaccin recombinant CHIKV/IRES (B) à partir du génome de la souche sauvage (A) ⁽¹¹⁵⁾.

2.4. Vaccin à ADN

Ce vaccin a été conçu à partir de séquences génétiques codant pour les glycoprotéines E1, E2 et E3 de l'enveloppe du chikungunya virus. Introduites sous forme d'une cassette au sein d'un plasmide, elles sont adaptées pour permettre leur expression au sein des cellules de mammifères. Ces séquences sont liées entre elles par des sites de clivages sensibles à la furine. Après la traduction, la polyprotéine produite est clivée pour permettre l'expression des antigènes constitutifs. Au cours d'une étude, le vaccin ainsi constitué a été injecté en intramusculaire chez la souris et le primate. Une électroporation *in vivo* a immédiatement suivi l'injection permettant l'entrée du plasmide au sein de la cellule. Trois injections ont été réalisées avec un intervalle de deux semaines entre chacune d'entre elles ^{(5) (118)}. Les résultats obtenus chez la souris et le primate ont montré une immunogénicité à la fois humorale et cellulaire (lymphocyte CD8+), associée à une bonne tolérance au vaccin. Ce vaccin est à l'heure actuelle en phase préclinique et nécessite la réalisation d'autres études afin de déterminer son efficacité vis-à-vis du chikungunya virus ⁽¹¹⁸⁾.

2.5. Vaccin Virus Like Particule (VLP)

Récemment, un vaccin VLP a fait l'objet d'une étude aux Etats-Unis. Sa conception fut assez complexe. En effet, après introduction des gènes codant pour les protéines de l'enveloppe et de la capsid E1, E2, E3 et 6K au sein d'un vecteur lentiviral, une transfection au sein de cellules épithéliales rénales humaines a été réalisée pour permettre la formation de pseudo-virions dépourvus de génome ⁽¹¹⁹⁾. Après purification et injection chez le primate, un titre élevé d'anticorps ainsi qu'une bonne tolérance au vaccin ont été observés. De même

après injection, une nouvelle exposition au chikungunya virus a montré une réponse humorale importante du primate démontrant l'efficacité de la protection induite par le vaccin. Suite à cette phase préclinique ce vaccin a récemment fait l'objet d'une phase clinique 1 en 2014 ⁽⁵⁾. Réalisée sur une cohorte de 25 patients répartis en 3 groupes recevant 3 injections à des doses différentes, celle-ci a permis de conclure à une bonne tolérance et une immunogénicité élevée (supérieure à celle du vaccin à ADN) de ce vaccin notamment après la troisième injection ⁽¹²⁰⁾.

2.6. Vaccins chimériques

Trois vaccins chimériques ont fait l'objet d'une étude aux Etats-Unis en 2008. Les alphavirus utilisés dans la conception de ceux-ci étaient: le virus de l'Encéphalite Equine de l'Est (VEEE), le virus de l'Encéphalite Equine Vénézuélienne (VEEV) et le Sindbis virus (VSIN). Chacun d'entre eux a été associé à une souche du chikungunya virus. Leur conception repose sur la production d'un plasmide associant des séquences codantes pour les protéines non structurales des alphavirus et des séquences codantes pour les protéines structurales du chikungunya virus. Une fois produit, celui-ci est introduit en culture au sein de cellules BHK-21 (cellules de hamster) par électroporation *in vitro*, afin de produire les virus chimériques atténués. Lors de la vaccination animale (souris), aucun effet indésirable n'a été exprimé quel que soit le vaccin utilisé. De plus, une bonne immunogénicité a été observée notamment au sein des vaccins VEEE/CHIKV et VEEV/CHIKV. En outre, ne présentant ni la possibilité de muter ou de retrouver leur virulence, ces vaccins présentent une plus grande sécurité d'utilisation que le vaccin vivant atténué produit à partir de la souche 181/25. Toujours en phase préclinique, ces vaccins chimériques nécessitent d'autres études afin de déterminer leurs efficacités chez l'Homme ⁽¹²¹⁾.

3. Rôles du pharmacien d'officine dans la prise en charge du chikungunya

Le pharmacien d'officine a un rôle de conseiller vis-à-vis de maladies vectorielles auprès de tout patient résidant en zone d'endémie ou d'un voyageur se rendant ou revenant d'une zone d'endémie. C'est un acteur de santé essentiel, relai de l'information. En effet, c'est l'adaptation du comportement de chacun qui permettra de mieux contrôler l'évolution géographique et épidémiologique des vecteurs et de la transmission du chikungunya. Le pharmacien d'officine a aussi un rôle dans la gestion des patients présentant des douleurs chroniques suites à une infection ancienne au chikungunya virus ⁽¹²²⁾. En période de crise épidémique, le pharmacien d'officine aura en plus de son rôle de conseiller, un rôle déterminant dans la fluidité de la distribution des produits pharmaceutiques et dans la coordination des soins ⁽¹²³⁾.

3.1. En dehors d'une période de crise épidémique

3.1.1. La prévention

a) Prévention individuelle

La prévention individuelle permettant de réduire le risque de survenue d'infection repose essentiellement sur la protection de l'individu vis-à-vis des piqûres de moustiques ⁽¹²²⁾. En effet, la maladie se transmettant d'un Homme à l'autre *via* la piqûre du moustique, éviter celle-ci permet de préserver notre santé et celle de notre entourage ⁽¹²⁴⁾. De nombreux conseils doivent être délivrés par le pharmacien d'officine ^{(122) (124) (125)} :

Vêtements et moustiquaires imprégnés

- Utiliser de préférence des vêtements imprégnés (perméthrine) car les insecticides confèrent une protection accrue. En effet au sein des tissus, l'insecticide s'évapore lentement conférant une protection sur le long terme de l'individu. De plus, la réduction du contact avec la peau diminue le risque de toxicité du produit (**annexe 6**).

- Favoriser l'imprégnation industrielle des vêtements. En effet, l'imprégnation manuelle nécessite une ré-imprégnation à intervalles réguliers (environ tous les 4 lavages).
- Utiliser des moustiquaires pré-imprégnées industriellement au niveau des lits ou des berceaux de façon à assurer une protection diurne (**annexe 7**).

Répulsifs cutanés

- Appliquer des répulsifs cutanés sur toutes les parties du corps visage compris. Cependant, utiliser les mains pour l'application sur ce dernier en évitant les zones péri-muqueuses et oculaires. La durée de protection allant de 6 à 12h, l'application devra être renouvelée à intervalle de temps régulier notamment en cas de transpiration accrue, bain ou douche. Le nombre d'application quotidienne sera cependant restreint en fonction de l'âge de l'individu et si la femme est enceinte. De plus, en cas d'application de produit solaire, le répulsif devra être vaporisé 20 minutes après celui-ci (**annexe 8**). En effet, une application simultanée diminue l'indice spf (sunburn protection factor) de la crème solaire mais pas l'efficacité du répulsif.

- Rincer la peau avant le sommeil afin de diminuer le risque de macération et d'irritation au niveau des plis cutané.

- Eviter l'application de répulsifs sur les mains et les pieds des nourrissons et jeunes enfants qui ont tendances à mettre les mains voire les pieds à la bouche. Faire appliquer par un adulte ou préférer une moustiquaire (enfant de moins de six mois).

- L'utilisation de moustiquaires imprégnées est recommandée chez la femme enceinte. En cas de risque élevé de maladie vectorielle potentiellement grave, un répulsif cutané peut être utilisé mais à la concentration minimale efficace.

- L'utilisation d'un répulsif cutané est recommandée chez la femme allaitante tout en veillant à éviter son application au niveau du sein. Veiller à se laver les mains avant la mise au sein.

- Chez les patients présentant des pathologies pulmonaires, l'utilisation de vêtements et de moustiquaires pré-imprégnés est recommandée.

-Eviter l'utilisation des huiles essentielles comme répulsif cutané du fait des risques allergisant et photosensibilisant connus. De même, leur utilisation chez la femme enceinte, chez l'enfant (moins de trois ans) ou en leur présence est contre indiqué.

Méthode physique

- Porter des vêtements longs de façon à couvrir et protéger les pieds et les chevilles lieux de piqûres préférentiels des moustiques du genre *Aedes*.

- Eviter de porter des vêtements colorés ou foncés qui attirent les moustiques.

-Eviter d'utiliser les bracelets anti-insectes ne garantissant pas une protection efficace contre le moustique.

- Protéger les fenêtres et portes du domicile par l'intermédiaire de rideaux et grillages imprégnés (pyréthrineoïde).

-Protéger l'habitat par l'intermédiaire d'insecticide à l'aide d'un diffuseur électrique à l'intérieur ou de tortillons fumigènes à l'extérieur. Eviter de placer un nourrisson auprès d'un diffuseur d'insecticide.

- Utiliser la climatisation ou la ventilation ayant un effet limitant sur l'entrée des moustiques. Dès lors, une bonne étanchéité du domicile est nécessaire.

- Eviter de laisser allumer la lumière le soir, celle-ci attirant les moustiques.

-Limiter les activités extérieures en début de matinée et en fin d'après midi qui correspondent au pic d'activité du moustique. Toutes sorties de nuit, même pour un court instant ne doivent pas se faire sans protection anti-moustique.

Dès lors, pour éviter tout risque d'infection au chikungunya virus, le pharmacien d'officine devra utiliser des messages simples qui permettront une meilleure acceptation et observance du patient (**annexe 9**).

b) Prévention collective

Basée sur la surveillance épidémiologique et sur la lutte antivectorielle, la prévention collective est un objectif de santé publique pour tous les acteurs du système de santé. En effet, c'est l'association des mesures de prévention collective et individuelle qui permet d'obtenir une bonne efficacité vis-à-vis d'une dissémination du chikungunya virus. Dès lors, le pharmacien d'officine a un rôle important dans l'éducation du patient et dans le dispositif de signalement d'un cas probable d'infection au chikungunya virus.

La surveillance épidémiologique

Le chikungunya virus est une maladie à déclaration obligatoire depuis 2006. Dès lors, toute personne à risque présentant un tableau clinique doit faire l'objet d'une déclaration par un médecin à l'Agence Régionale de Santé, afin de prévenir tout risque de transmission locale. C'est pourquoi, le pharmacien, souvent sollicité dans un premier temps, a un rôle de détection et d'orientation des patients vers le médecin en cas de suspicion importante. Le cas échéant il pourra avertir ce dernier par téléphone ⁽¹²⁶⁾.

La lutte antivectorielle

Elle est un moyen de lutte majeur contre la transmission du chikungunya virus en association à la surveillance entomologique. Dès lors, dans le cadre d'une épidémie ou pour éviter la survenue de celle-ci, le pharmacien a un rôle dans le rappel des recommandations nécessaires à la suppression des gîtes larvaires, zones de pontes des moustiques ⁽¹²⁴⁾. Ainsi plusieurs conseils doivent être donnés afin de supprimer les eaux stagnantes ^{(126) (127)} :

- Changer l'eau des vases régulièrement ou les vider. Idéalement la remplacer par du sable humide.

- Vider tous les récipients pouvant contenir de petite quantité d'eau dans les jardins (pneus usagés, bouteille vide mobilier de jardin ...).
- Rendre les réserves d'eau inaccessibles aux moustiques en les recouvrant d'un tissu ou d'une moustiquaire.
- Mettre à l'abri tous les accessoires de jardinage pouvant contenir de l'eau (seau, arrosoir...)
- Vider tous les gîtes naturels comme les creux d'arbres ou les tiges de bambous cassées.
- Faire attention aux déchets verts pouvant parfois abriter des eaux stagnantes et effectuer si possible un ramassage.
- Vérifier les gouttières afin de s'assurer de la bonne évacuation des eaux de pluie et que cette dernière n'y stagne pas.
- Entretien des bassins et y introduire des poissons prédateurs vis-à-vis des larves.

De même, des conseils pourront être donnés quant à la suppression des lieux de repos du moustique :

- Entretien du jardin : débroussaillage, taille des haies, élagage des arbres.
- Ramassage des fruits tombés et débris végétaux (feuilles, branches...).
- Diminuer l'arrosage du jardin pour réduire l'humidité.

Enfin, le pharmacien pourra rappeler la possibilité de signaler toute présence éventuelle d'un moustique tigre dans sa commune afin de mieux connaître sa répartition sur le territoire français. Cela peut être fait par toute personne soit sur le portail dédié www.signalement-moustique.fr, soit en utilisant l'application mobile IMoustique.

3.1.2. Gestion des douleurs chroniques

Lors d'une infection au chikungunya virus, les douleurs peuvent devenir chroniques au-delà de trois mois. Dès lors, la prise en charge de celles-ci devient un enjeu majeur. Cependant, cette prise en charge doit être effectuée par l'ensemble du réseau de soin. Or, le pharmacien d'officine fait partie intégrante de ce dernier. Dès lors, celui-ci a plusieurs rôles importants au cours de la prise en charge. Tout d'abord, un rôle d'information vis-à-vis du patient. En effet, le pharmacien d'officine est souvent le premier interlocuteur d'un patient demandant des conseils suite à des douleurs chroniques. Les questions peuvent porter par exemple sur les méthodes de soulagement de la douleur ou sur les centres de traitement de la douleur. Dès lors, il est de la responsabilité du pharmacien d'officine de s'informer sur le fonctionnement de ces centres ou sur les douleurs chroniques pouvant être engendrées par une infection au chikungunya virus. La proposition éventuelle d'une prise en charge par un centre de traitement de la douleur doit se faire en association avec le médecin généraliste. Ensuite, un rôle de conseiller vis-à-vis des prescriptions présentées est de la responsabilité du pharmacien d'officine quelle que soit la phase de l'infection. Celui-ci doit informer sur l'existence d'éventuels effets secondaires en les dédramatisant, sur les moyens thérapeutiques pouvant les amoindrir et sur les éventuels antagonismes de prescription **(annexe 10)**. De plus, des rappels sur la régularité de la prise et sur les posologies prescrites des traitements antalgiques devront être délivrés au cours de la dispensation. En outre, le pharmacien d'officine devra rappeler au patient l'importance de l'observance et prévenir ce dernier des conséquences d'une éventuelle automédication. Toute mauvaise observance ou automédication devra éventuellement faire l'objet d'un appel téléphonique au médecin. Le pharmacien aura également un rôle dans la diminution de l'anxiété du patient vis-à-vis de certains antalgiques comme par exemple la morphine. Enfin, l'utilisation de techniques spécifiques dans la prise en charge de la douleur comme par exemple la neurostimulation transcutanée devra être proposée, expliquée voire adaptée par le pharmacien d'officine qui aura un devoir d'information par rapport à celle-ci ⁽¹²⁸⁾.

3.2. En période de crise épidémique

Tous les rôles du pharmacien d'officine décrits précédemment en dehors de toute période épidémique sont applicables en cas d'épidémie. En effet, ce rôle de conseiller est central dans ce métier et s'applique en permanence tout au long de l'année, quel que soit le contexte. En période de crise, un rôle supplémentaire dans la fluidité de distribution du médicament incombe au pharmacien. L'épidémie de 2006 survenue sur l'île de la Réunion a notamment permis la mise en place d'un Plan Santé Chikungunya, suite aux constatations effectuées montrant des défaillances multiples dans toutes les branches du système de soin. Le système déterminant les pharmacies de garde était visé. En effet, ce dernier a totalement été dépassé au moment du pic épidémique. Dès lors, le nouveau plan prévoit une augmentation de la permanence de soins des pharmaciens mais aussi des médecins libéraux. Ainsi, différentes mesures ont été prises afin d'aider le pharmacien d'officine dans son rôle de fluidification de la distribution du médicament :

- Intégration au sein des Maisons Médicales de Garde proches des urgences et prenant alors le nom de Maisons de Garde Santé.
- Gestion des stocks de produits pharmaceutiques au sein des Maisons de Garde Santé à la charge du pharmacien. La liste étant au préalable établie par l'intersyndicale en accord avec l'ARS.
- Assurance de la permanence de soins par les pharmaciens de garde dans tous les secteurs dépourvus de Maison de Garde Santé.

De même, cette intégration du pharmacien d'officine au sein des Maisons de Garde Santé lui confère un autre rôle, celui de la participation à la prise en charge multidisciplinaire des patients en association aux médecins généralistes en cas de crise ⁽¹²³⁾.

Conclusion

Aujourd'hui, le chikungunya virus est une arbovirose en réémergence dans le monde. Des zones non touchées jusque là sont actuellement la cible d'épidémies de grandes ampleurs. Les mutations possibles du virus, les différents génotypes, les changements climatiques, le contexte politique (guerre, mondialisation...) et les réservoirs du virus difficiles à identifier sont autant de facteurs rendant le contrôle de la dissémination virale très compliqué.

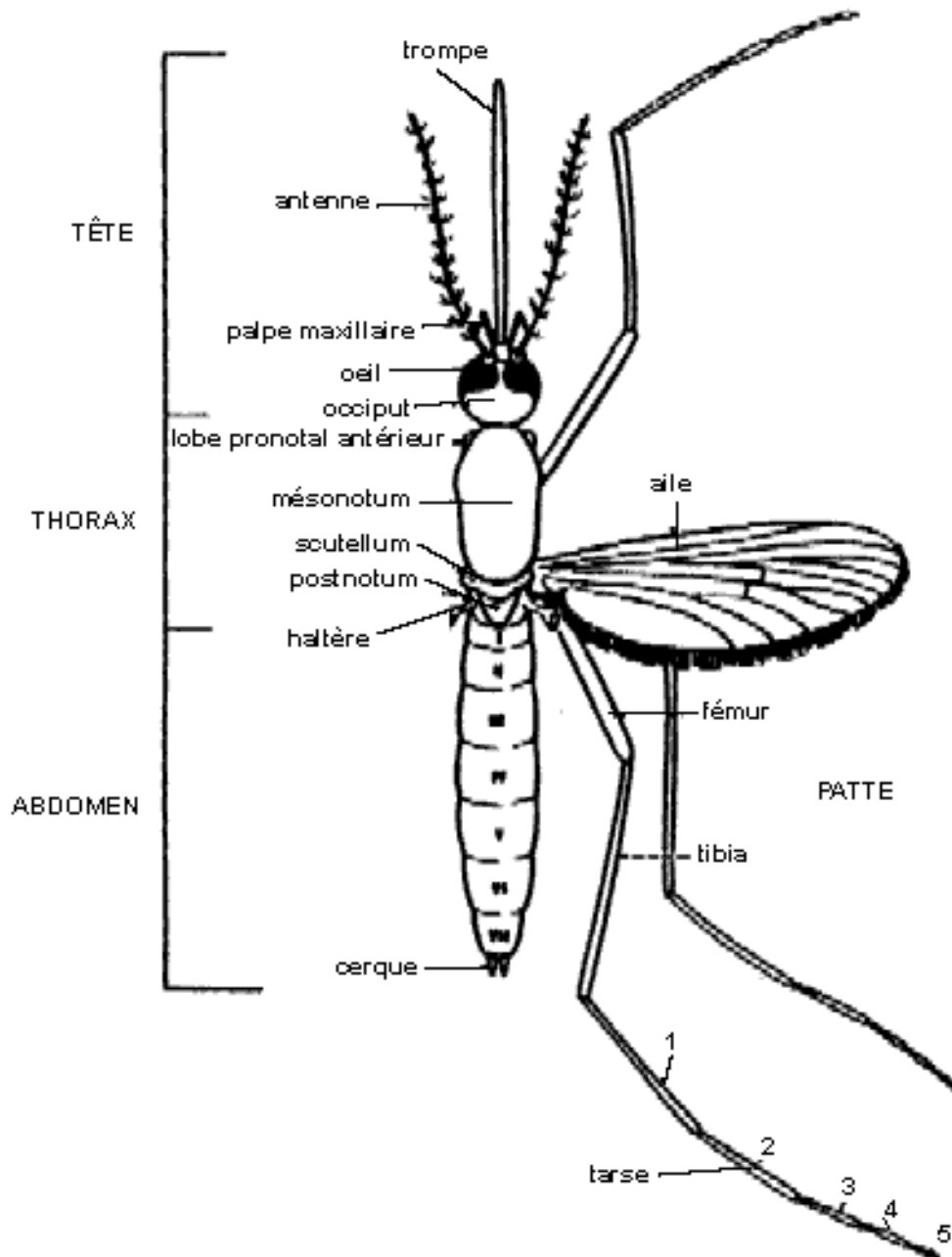
Paradoxalement à cette évolution, le chikungunya est une maladie de mieux en mieux comprise au gré des diverses études réalisées. Les différentes étapes du cycle de réplication, les différentes phases cliniques ainsi que leurs symptômes principalement associés sont aujourd'hui identifiées et les outils de diagnostic bien que parfois coûteux sont fiables. Cependant, les formes atypiques restent encore mal définies et nécessitent la réalisation de nouvelles études.

Comme nous l'avons vu, actuellement, la prévention individuelle et collective reste le principal moyen de lutte contre la dissémination du virus. En effet, malgré les nombreuses études réalisées dans le but de trouver une solution thérapeutique, aucun traitement curatif ou préventif n'a encore aujourd'hui été mis au point. Dès lors, la lutte antivectorielle constitue le principal atout permettant de mieux contrôler la propagation du virus. Elle doit faire partie intégrante de la prise en charge préventive du patient par les différents acteurs du système de santé. C'est pourquoi, le pharmacien d'officine étant souvent le premier interlocuteur a un rôle important à jouer dans ce cadre, notamment chez les personnes âgées, les nouveaux nés et les femmes enceintes, chez qui les conséquences d'une infection peuvent être graves. De ce fait, le suivi de formations adéquates et une bonne coordination des différents acteurs du système de santé seront nécessaires afin d'assurer une prise en charge efficace du patient.

Annexe

Annexe 1 :

Schéma de l'anatomie du moustique ⁽¹²⁹⁾.



Annexe 2 :

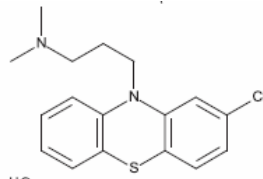
Tableau présentant le nombre de cas répertoriés d'atteinte au chikungunya virus sur le continent américain en février 2015 ⁽⁶⁴⁾.

Country/Territory	Week ^a	Autochthonous transmission cases ^b		Imported cases	Incidence Rate ^c	Deaths	Population ^d X 1000
		Suspected	Confirmed				
North America							
Bermuda	Week 3		0	10	0.0	0	69
Canada	Week 4		0	320	0.0	0	35,182
Mexico	Week 5		206	18	0.2	0	118,129
United States of America ^e	Week 6		11	2,358	0.0	0	320,051
Subtotal		0	217	2,706	0.0	0	473,431
Central American Isthmus							
Belize	Week 44		3		0.9	0	332
Costa Rica	Week 4		121	89	2.5	0	4,872
El Salvador	Week 5	138,617	157		2,188.9	0	6,340
Guatemala ^f	Week 53	27,343	198		178.1	0	15,468
Honduras	Week 53	5,338	9	5	66.0	0	8,098
Nicaragua ^g	Week 2	2,727	1,918	40	76.4	0	6,080
Panama	Week 48		22	32	0.6	0	3,864
Subtotal		174,025	2,428	166	391.8	0	45,054
Latin Caribbean							
Cuba	Week 42			20	0.0	0	11,266
Dominican Republic	Week 53	539,099	84		5,182.5	6	10,404
French Guiana	Week 6	12,308	6,191		7,429.3	1	249
Guadeloupe	Week 50	81,200	430		17,517.2	67	466
Haiti	Week 28	64,695	14		627.2	0	10,317
Martinique	Week 50	72,200	1,515		18,246.3	83	404
Puerto Rico ^h	Week 4	24,281	4,308	31	775.2	14	3,688
Saint Barthelemy	Week 6	1,690	142		20,584.3	0	9
Saint Martin (French part)	Week 6	5,280	793		17,016.0	3	36
Subtotal		800,753	13,477	51	2,210.3	174	38,839
Andean Area							
Bolivia	Week 6		13	4	0	0	10,671
Colombia	Week 3	142,196	1,236	26	297	3	48,321
Ecuador	Week 5		66	19		0	15,738
Peru	Week 6		0	34	0	0	30,376
Venezuela	Week 51	34,642	2,303	70	122	0	30,405
Subtotal		176,838	3,618	153	133	3	135,511
Southern Cone							
Argentina	Week 4			50	0.0	0	41,446
Brazil	Week 4	710	2,776	94	1.7	0	200,362
Chile	Week 53		0	19	0.0	0	17,620
Paraguay	Week 5		9	7	0.1	0	6,802
Subtotal		710	2,785	170	2	0	266,230
Non-Latin Caribbean							
Anguilla	Week 4	64	52	2	725.0	0	16
Antigua and Barbuda	Week 6	1,440	18		1,620.0	0	90
Aruba	Week 2	718	277	12	912.8	0	109
Bahamas	Week 1		95	5	25.2	0	377
Barbados	Week 5	1,742	121	8	644.6	2	289
Cayman Islands	Week 3	173	44	3	401.9	0	54
Curacao	Week 44	1,838	835	7	1,818.4	0	147
Dominica	Week 52	3,590	173		5,154.8	0	73
Grenada	Week 46	3,070	26		2,814.5	0	110
Guyana	Week 2	5,310	105		676.9	0	800
Jamaica	Week 5	1,643	87	2	62.1	0	2,784
Montserrat	Week 4	117	14		2,620.0	0	5
Saint Kitts and Nevis	Week 53	627	28		1,284.3	0	51
Saint Lucia	Week 52	645	238		541.7	0	163
Saint Vincent and the Grenadines	Week 2	1,245	173		1,376.7	0	103
Sint Maarten (Dutch part) ⁱ	Week 52		470		1,175.0	0	40
Suriname ^j	Week 43		1,210	14	224.5	1	539
Trinidad and Tobago	Week 3		303	3	22.6	0	1,341
Turks and Caicos Islands	Week 44		19	7	39.6	0	48
Virgin Islands (UK)	Week 47	347	47		1,231.3	0	32
Virgin Islands (US)	Week 53	1,321	276	8	1,521.0	2	105
Subtotal		23,690	4,611	71	391.7	5	7,276
TOTAL		1,176,216	27,136	3,317	124.8	182	964,341

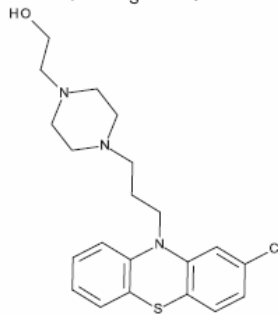
Annexe 3 :

Structure chimique des phénothiazines (104).

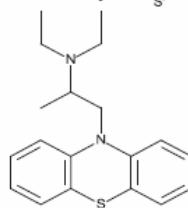
Chlorpromazine



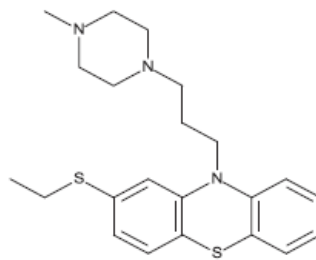
Perphenazine



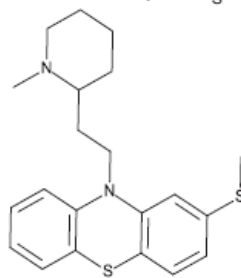
Ethopropazine



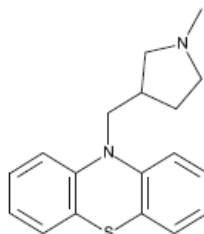
Thiethylperazine



Thioridazine



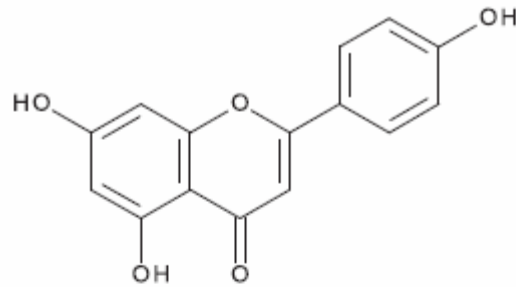
Methdilazine



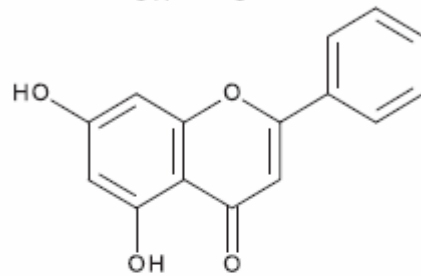
Annexe 4 :

Structure chimique des 5,7- dihydroxyflavones et du prothipendyl ⁽¹⁰⁴⁾.

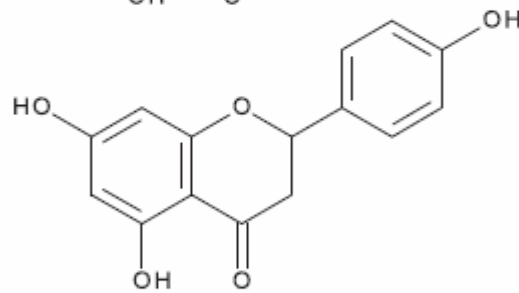
Apigenin



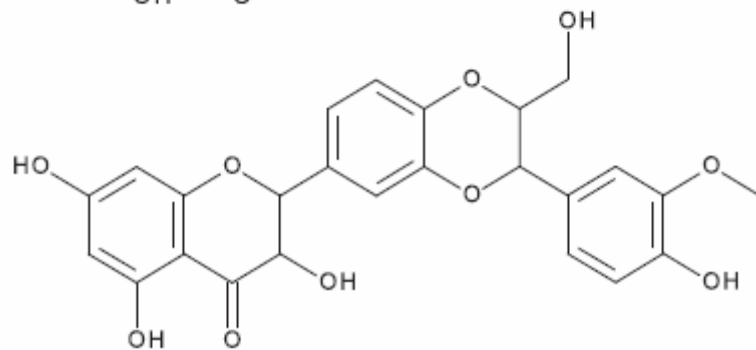
Chrysin



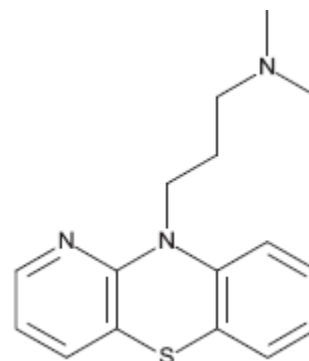
Naringenin



Silybin



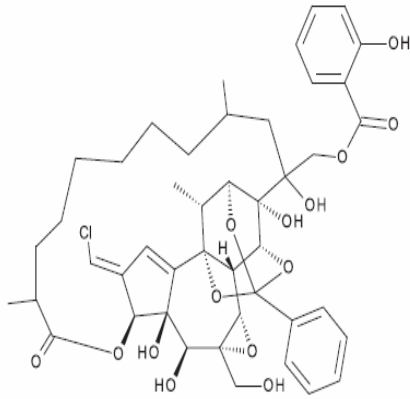
Prothipendyl



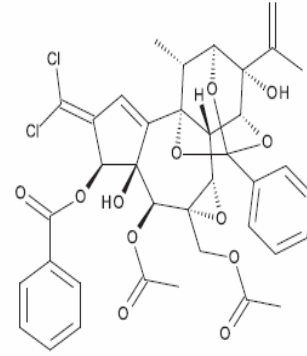
Annexe 5 :

Structure chimique des diterpènes daphnanes (104).

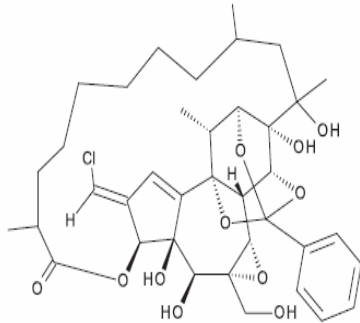
Trigocherrilide A



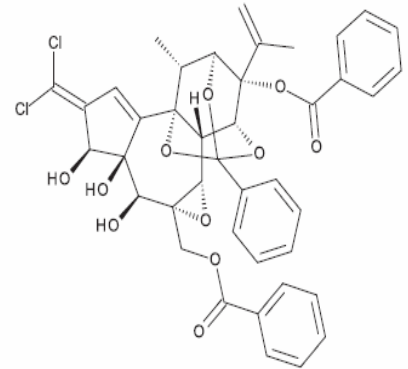
Trigocherrin A



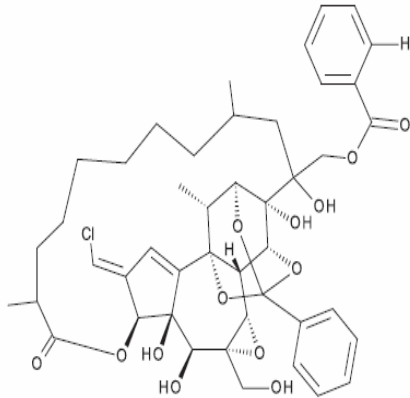
Trigocherrilide B



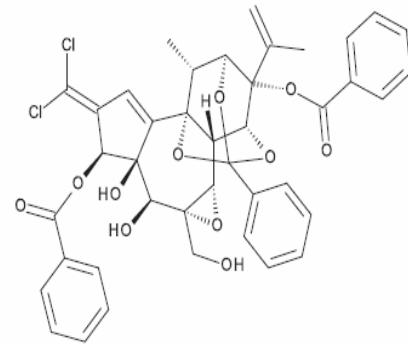
Trigocherrin B



Trigocherrilide C



Trigocherrin F



Annexe 6 :

Liste des produits insecticides permettant l'imprégnation des vêtements ou moustiquaires (130).

Substance active	Nom commercial	Présentation	Indications
Perméthrine	Biovectrol®, Tissus	vaporisateur	vêtements, tissus, moustiquaires
	Cinq sur Cinq Tropic®, spray Vêtements	vaporisateur	vêtements
	Insect Ecran®, Vêtements spray	vaporisateur	vêtements
	Insect Ecran® concentré insecticide, Trempage tissus	solution à diluer	vêtements, tissus, moustiquaires
	Lotion anti-moustiques, vêtements/tissus Manouka®	vaporisateur	vêtements, tissus
	Lotion insecticide anti-insectes, vêtements-tissus, Steripan®	vaporisateur	vêtements, tissus
	Moskito Guard® spray vêtements	vaporisateur	vêtements, tissus, moustiquaires
	Mousti 6 semaines, Tracy®	vaporisateur	vêtements, tissus, moustiquaires
	Mousticologne® spray tissus	vaporisateur	vêtements, tissus, moustiquaires
	Moustifluid®, Lotion tissus et vêtements	vaporisateur	vêtements, tissus, moustiquaires
	Parazeet® Spécial Tissus	vaporisateur	vêtements, tissus, moustiquaires
	Repel Insect, vaporisateur vêtements	vaporisateur	vêtements
	Repel Insect®, Spécial trempage vêtements et voilages	solution à diluer	vêtements, tissus, moustiquaires
	Skitostop® spray Anti-insectes pour tissus	vaporisateur	vêtements, tissus, moustiquaires
W2000® Barrage aux insectes	vaporisateur	vêtements, tissus, moustiquaires	
Deltaméthrine	Cinq sur Cinq Tropic®, Kit d'imprégnation pour moustiquaire	solution à diluer	moustiquaires

Annexe 7 :

Liste des moustiquaires pré-imprégnées (130).

Substance active	Nom commercial
Deltaméthrine	Mosquito-Nilo-Vital-Net®
	Cinq sur Cinq Tropic®, moustiquaire imprégnée
	Treck® Moustiquaire imprégnée longue durée
	Totem® Moustiquaire imprégnée longue durée
	Cabin® Moustiquaire imprégnée longue durée
	Permanet®
Perméthrine	Moskitul ®
	Moustiquaire Hamaca®
	Moustiquaire Bangla® imprégnée

Annexe 8

Répulsifs recommandés pour la protection contre les piqûres de moustiques ⁽¹³⁰⁾.

Substance active et concentration	Nom commercial et présentation (liste non exhaustive, donnée à titre indicatif)	Nombre maximal d'application(s) quotidienne(s)				
		A partir de 6 mois et tant que l'enfant ne marche pas	Dès que l'enfant marche et jusqu'à 24 mois	> 24 mois à 12 ans	> 12 ans	Femmes enceintes
DEET ^{1,2} (N,N-diéthyl-m-toluamide)	20% Ultrathon [®] lotion (spray)	1	2	2	3	3
	25% Insect Ecran [®] famille (spray)	1	2	2	3	3
	30% Moustidose [®] lotion répulsive zones infestées (lotion), Moustifluid [®] zones à hauts risques (spray), Préboutix [®] lotion répulsive zone tropicale (lotion)	1	2	2	3	3
	34% Ultrathon [®] crème (crème)	X	X	X	3	X
	50% Insect Ecran [®] zones infestées adultes (spray)	X	X	X	3	X
IR3535 ³ (N-acétyl-N-butyl-β-alaninate d'éthyle)	20% Biovectrol [®] famille (lotion), Moustifluid [®] zones tempérées (spray), Moustifluid [®] jeunes enfants (lotion), Moustikologne [®] haute tolérance (lotion), Picso [®] anti-moustiques (spray), Les botaniques insectes [®] (spray), Vendome [®] adultes (spray)	1	2	2	3	3
	25% Cinq sur Cinq [®] Tropic enfants (lotion), Préboutix [®] lotion répulsive zone Europe (spray, roll-on), Moustifluid [®] zones tropicales (spray)	X	X	2	3	X
	30% Bouclier insect [®] spray	X	X	2	3	X
	35% Cinq sur Cinq [®] Tropic (lotion)	X	X	2	3	X
KBR3023 ⁴ (Carboxylate de Sec-butyl 2-(2-hydroxyéthyl) piperidine-1 / Icaridine)	20% Centaura [®] (spray), Insect Ecran [®] zones infestées enfants (spray), Mosquito guard [®] (spray), Répuls Total [®] (émulsion)	X	X	2	3	3
	25% Insect Ecran [®] spécial tropiques (spray), Moustidose [®] lait répulsif famille (lait), Moustikologne [®] protection extrême (lotion)	X	X	2	3	X
PMDRBO ⁴ (mélange de cis- et trans-p-menthane-3,8 diol)	25% Mousticare [®] (spray), Biovectrol nature [®] (spray), Mosi-guard [®] (spray) et Mosi-guard [®] (stick)	1	2	2	3	X

Annexe 9

Arbre décisionnel pour le chikungunya virus ⁽¹²⁵⁾.

Séjour court ou itinérant	Séjour long et fixe (résident, expatrié)
Moustiquaire* de berceau, de poussette, pour un enfant avant l'âge de la marche (++++)	Moustiquaire* de berceau, de poussette, pour un enfant avant l'âge de la marche (++++)
Vêtements longs imprégnés** (++)	Moustiquaire de fenêtres et de portes (++)
Répulsifs cutanés*** (+++)	Diffuseur électrique d'insecticide (intérieur) (++)
Diffuseur électrique d'insecticide (intérieur) (++)	Lutte péri-domiciliaire contre les gîtes larvaires (++)
Moustiquaires de fenêtres et de portes (++)	Vêtements imprégnés (++)
Climatisation/ ventilation (+) OU moustiquaire imprégnée* (+) notamment en situation épidémique (++)	Moustiquaire imprégnée* (+) Climatisation/ ventilation (+)
	Répulsifs cutanés (+++)
Serpentins fumigènes*** (extérieur) (+)	Serpentins fumigènes*** (extérieur) (+)

++++ : essentiel, +++ : très important, ++ : important, + : complémentaire

* En cas d'absence de moustiquaire imprégnée, utiliser une moustiquaire non imprégnée.

** À privilégier pour les maladies transmises par les tiques.

*** En dehors d'un contexte épidémique de lutte contre les moustiques vecteurs de maladies, le recours à des moyens de protection autres que les serpentins fumigènes doit être préféré, notamment chez les enfants, les personnes âgées, les asthmatiques et autres personnes souffrant de troubles respiratoires chez qui l'utilisation de serpentins fumigènes est déconseillée.

Annexe 10

Principaux traitements prescrits au cours d'une infection au chikungunya virus ⁽⁷⁰⁾.

		Phase aiguë	Phase subaiguë	Phase chronique
Antalgiques	Paracétamol	+	+	+
	Antalgiques palier II	+	+	+
	Antalgiques contre douleurs neurogènes	+	+	+
	Antalgiques palier III (Avis spécialisé d'un algologue)	+	+	+
Anti-inflammatoires	AINS	-	+	+
	Corticothérapie (<i>per os</i>)	-	± ¹	+ ¹
	Corticothérapie (infiltration)	-	+	+
Traitement de fond (après avis spécialisé)	Méthotrexate	-	-	+
	Hydroxychloroquine	-	-	+
Traitements physiques		+	+	+

1- En cas d'échec des AINS, surtout si persistance de synovites, ténosynovites actives (guidé par l'échographie articulaire)

Bibliographie

- (1) Piroth L, Pulcini C, Rapp C. *Maladies infectieuses et tropicales*. 24^{ème} édition. Paris : Edition ALINEA Plus, 2014. chap.99. *Arboviroses*. p. 425-428.
- (2) Dufraisse A and Dreyfuss G. Chikungunya le risque existe aussi en métropole. *Actualité Pharmaceutique*, 2012, 513, 32-35.
- (3) Ripert C. *Epidémiologie des maladies parasitaires : Affections provoquées ou transmises par les arthropodes*. 1^{ère} édition, Lassay-les-Chateaux : Edition Médicales internationales, 2007. chap.5. *Infection à virus chikungunya* .p. 506-528.
- (4) Beran GW. *Handbook of zoonoses*. 2nd edition, Floride: CRC Press, 1994. Chap.1. *Bacterial zoonoses*. p. 101-106.
- (5) Weaver SC, Osorio JE, Livengood JA *et al*. Chikungunya virus and prospects for a vaccine. *Expert Review Vaccines*, 2013, vol.11. 1087-1101.
- (6) Arie J. *Principles and Practice of Clinical Virology*. Sixth editions, Chichester: John Wiley and Sons Ltd, 2009. chap. 27. *Alphaviruses*. p. 643-645.
- (7) Powers AM, Brault AC, Shirako Y *et al*. Evolutionary Relationships and Systematics of the Alphaviruses. *Journal of Virology*, 2001, vol.75. 10118-10131.
- (8) Jose J, Snyder EJ, Kuhn JR. A structural and functional perspective of alphavirus replication and assembly. *Future Microbiology*, 2009, vol.4, 837-856.
- (9) Li L, Jose J, Kuhn JR *et al*. Structural changes of envelope proteins during alphavirus fusion. *Nature*, 2010, vol.468, 705-708.

- (10) Solignat M, Gay B, Higgs S *et al.* Replication cycle of chikungunya: A re-emerging arbovirus. *Virology*, 2009, vol.393, 183-197.
- (11) Gerd W, Koschinski A, Wengler G *et al.* Entry of alphaviruses at the plasma membrane converts the viral surface proteins into an ion-permeable pore that can be detected by electrophysiological analyses of whole-cell membrane currents. *Journal of General Virology*, 2003, vol.84, 173-181.
- (12) Bourai M, Lucas-Hourani M, Drosten C. Mapping of Chikungunya Virus Interactions with Host Proteins Identified nsP2 as a Highly Connected Viral Component. *Journal of Virology*, 2012, vol.86, 3121-3134.
- (13) Schwartz O and Albert ML. Biology and pathogenesis of chikungunya virus. *Review microbiology*, 2010, vol.8, 491-500.
- (14) Too Horng Khit I, Eng Lee T, Jang Hann Chu J. Proteomic profiling of chikungunya virus-infected human muscle cells: Reveal the role of cytoskeleton network in CHIKV replication. *Journal of Proteomics*. 2014, vol.108, 445-464.
- (15) Yat-Sing Leung J, Mah-Lee M, Jang Hann Chu J. Replication of Alphaviruses: A Review on the Entry Process of Alphaviruses into Cells. *Advances in Virology*, 2011, vol.2011, 1-9.
- (16) Springer Open. Cell-based analysis of Chikungunya virus E1 protein in membrane fusion, [en ligne], <http://www.jbiomedsci.com/content/19/1/44>, consulté le 24/10/2014.
- (17) Pubmed. Alphavirus Entry and Membrane Fusion, [en ligne], http://openi.nlm.nih.gov/detailedresult.php?img=3086016_viruses-02-00796f2&req=4, consulté le 24/10/2014.

- (18) Rathore A, Haystead T, Das P *et al.* Chikungunya virus nsP3 & nsP4 interacts with HSP-90 to promote virus replication: HSP-90 inhibitors reduce CHIKV infection and inflammation *in vivo*. *Antiviral Research*, 2014, vol.103, 7-16.
- (19) Sunit Kumar S and Salini Krishnan U. Chikungunya virus: host pathogen interaction. *Review in medical virology*, 2011, vol.21, 78-88.
- (20) Schwartz O and Albert ML. Biology and pathogenesis of chikungunya virus. *Review microbiology*, 2010, vol.8, 491-500.
- (21) Rana J and Rajasekharan S. Network mapping among the functional domains of Chikungunya virus nonstructural proteins. *Proteins: Structure, Function and Bioinformatics*, 2014, vol.82, 2403-2411.
- (22) Bisen PS and Raghuvanshi R. *Emerging Epidemics: Management and Control*. 1ère édition, Hoboken: John Wiley and Sons, 2013. chap. 10. *Chikungunya Fever*. p. 510-520.
- (23) Volk SM, Rubing C, Tsetsarkin KA *et al.* Genome-Scale Phylogenetic Analyses of Chikungunya Virus Reveal Independent Emergences of Recent Epidemics and Various Evolutionary Rates. *Journal of Virology*, 2010, vol.84, 6497-6504.
- (24) Cui J, Gao M, Ren X. Phylogeny and homologous recombination in Chikungunya viruses. *Infection, Genetics and Evolution*, 2011, vol.11, 1957-1963.
- (25) Rubing C, Tsetsarkin KA, Sherman MB *et al.* Chikungunya virus: Evolution and genetics determinant of emergence, *Current opinion in Virology*. 2011, vol.1, 310-317.
- (26) PMC. A single mutation in chikungunya virus affects vector specificity and epidemic potential, [en ligne], <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2134949/>, consulté le 30/11/2014.

- (27) Institut Pasteur. Prédire les mutations à l'origine des épidémies, [en ligne], <http://www.pasteur.fr/fr/institut-pasteur/presse/documents-presse/predire-les-mutations-l-origine-epidemies>, consulté le 30/11/2014.
- (28) Institut Pasteur. Chikungunya, [en ligne], <http://www.pasteur.fr/ip/easysite/pasteur/fr/presse-old/fiches-sur-les-maladies-infectieuses/chikungunya>, consulté le 04/12/2014.
- (29) Open i. Chikungunya: A Potentially Emerging Epidemic?, [en ligne], http://openi.nlm.nih.gov/detailedresult.php?img=2860491_pntd.0000623.q001&req=4, consulté le 04/12/2014.
- (30) Mosquito Taxonomic Inventory. *Culicidae*, [en ligne], <http://mosquito-taxonomic-inventory.info/simpletaxonomy/term/6060>, consulté le 05/12/2014.
- (31) SANDRE. Jeux de données de référence : Arbre taxonomique du SANDRE, [en ligne], http://195.220.97.117/treetax/tree.php?selected_taxon=798, consulté le 05/12/2014.
- (32) Reinert JF, Harbach RE, Kitching IJ. Phylogeny and classification of tribe *Aedini* (Diptera: Culicidae). *Zoological journal of the Linnean Society*, 2009, vol.157, 700-794.
- (33) ECDC. *Aedes albopictus*, [en ligne], <http://www.ecdc.europa.eu/en/healthtopics/vectors/mosquitoes/Pages/aedes-albopictus.aspx>, consulté le 07/12/2014.
- (34) ECDC. *Aedes aegypti*, [en ligne], <http://www.ecdc.europa.eu/en/healthtopics/vectors/mosquitoes/Pages/aedes-aegypti.aspx>, consulté le 07/12/2014.

- (35) CDC. Dengue and the *Aedes aegypti* mosquito, [en ligne], <http://www.cdc.gov/dengue/resources/30Jan2012/aegyptifactsheet.pdf>, consulté le 07/12/2014.
- (36) CDC. Dengue and the *Aedes albopictus* mosquito, [en ligne], <http://www.cdc.gov/dengue/resources/30Jan2012/albopictusfactsheet.pdf>, consulté le 07/12/2014.
- (37) EID Méditerranée. Le cycle biologique du moustique, [en ligne], <http://www.eid-med.org/page/biologie-ecologie>, consulté le 16/12/2014.
- (38) Frimat P and Cleenewerk MB. *Progrès en dermato allergologie*. 1^{ère} édition, Lille : John Libbey eurotext, 2004. Chap. 7. *Peau et moustique*. p. 91-105.
- (39) CDC. Mosquito life cycle, [en ligne], <http://www.cdc.gov/dengue/resources/factSheets/MosquitoLifecycleFINAL.pdf>, consulté le 16/12/2014.
- (40) Dégallier N, Hervé JP, Travassos da rosa A. *Aedes aegypti* (L.) : importance de sa bioécologie dans la transmission de la dengue et des autres arbovirus. *Bulletin of the Exotic Pathology Society*, 1988, vol.81, 97-110.
- (41) EID. La vie du moustique, [en ligne], <http://www.eid-rhonealpes.com/cycle.htm>, consulté le 16/12/2014.
- (42) Vega-Rua A, Zouache K, Girod R *et al.* High Level of Vector Competence of *Aedes aegypti* and *Aedes albopictus* from Ten American Countries as a Crucial Factor in the Spread of Chikungunya Virus. *Journal of Virology*, 2014, vol.88, 6294-6306.
- (43) PMC. Chikungunya virus and *Aedes* mosquito, [en ligne], <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2690823/>, consulté le 31/12/2014.

- (44) Institut Pasteur. Chikungunya : une situation inquiétante sur le continent américain, [en ligne], <http://www.pasteur.fr/fr/institut-pasteur/presse/documents-presse/chikungunya-une-situation-inquietante-sur-le-continent-americain>, consulté le 02/01/2015.
- (45) ECDC. Mosquito maps, [en ligne], http://www.ecdc.europa.eu/en/healthtopics/vectors/vector-maps/Pages/VBORNET_maps.aspx, consulté le 03/01/2015.
- (46) Vigilance moustiques. Carte de France 2013 du moustique *Aedes albopictus* (moustique tigre), du chikungunya et de la dengue, [en ligne], <http://vigilance-moustiques.com/moustiques-en-france/moustiques-dangereux-en-france/carte-de-france-2013-du-moustique-aedes-albopictus-moustique-tigre-du-chikungunya-et-de-la-dengue/>, consulté le 03/01/2015.
- (47) ARS Poitou-Charentes. Moustique tigre : *Aedes albopictus*, [en ligne], <http://www.ars.poitou-charentes.sante.fr/Moustique-tigre-Aedes-albopi.132522.0.html>, consulté le 04/01/2015.
- (48) Mauchamp B. La diapause ou comment passer l'hiver quand on est un insecte. *Insecte*, 1988, vol.69, 2-6.
- (49) PLOS one. Winter Refuge for *Aedes aegypti* and *Ae. albopictus* Mosquitoes in Hanoi during Winter, [en ligne], <http://www.plosone.org/article/info%3Adoi%2F10.1371%2Fjournal.pone.0095606>, consulté le 04/01/2015.
- (50) Denlinger DL, Yocum GD, Rinehart JP. *Insect endocrinology*. 1^{ère} édition, London: Academic press, 2011. Chap.10. *Hormonal Control of Diapause*. p. 430-463.
- (51) Toussaint JF, Kerkhofs P, De Clercq K. Influence des changements climatiques globaux sur la progression des arboviroses. *Annales de médecine vétérinaire*, 2006, vol.150, 56-63.

- (52) EID atlantique. Les moustiques importés, [en ligne], <http://www.eidatlantique.eu/page.php?P=147>, consulté le 06/01/2015.
- (53) EID méditerranée. Sa vie, son œuvre, [en ligne], <http://www.albopictus.eid-med.org/index.php/aedes-albopictus/origine>, consulté le 06/01/2015.
- (54) Esculape. Infection à virus chikungunya, [en ligne], http://www.esculape.com/infectio/chikungunya_2007_run.html, consulté le 06/01/2015.
- (55) Vourc'h G, Halos L, Desvars A. Des animaux, des arbovirus et des hommes. *Virologie*, 2009, vol.13, 67-72.
- (56) Agence de la santé publique du Canada. Existe-t-il un risque de transmission du virus du chikungunya au Canada, [en ligne], <http://www.phac-aspc.gc.ca/publicat/ccdr-rmtc/15vol41/dr-rm41-01/comment-fra.php>, consulté le 10/01/2015.
- (57) Chikungunya Virus net. Chikungunya virus transmission, [en ligne], <http://www.chikungunyavirusnet.com/transmission.html>, consulté le 10/01/2015.
- (58) Agarwal A, Kumar Dash P, Kumar Singh A *et al.* Evidence of Experimental Vertical Transmission of Emerging Novel ECSA Genotype of Chikungunya Virus in *Aedes aegypti*. *PLOS Neglected Tropical Diseases*, 2014, vol.8, 1-6.
- (59) Vazeille M, Mousson L, Failloux AB. Failure to demonstrate experimental vertical transmission of the epidemic strain of Chikungunya virus in *Aedes albopictus* from La Réunion Island, Indian Ocean. *Memorias do Instituto Oswaldo Cruz*, 2009, vol.104, 632-635.

- (60) INVS. Chikungunya : Situation internationale et grandes tendances, [en ligne], <http://www.invs.sante.fr/Dossiers-thematiques/Maladies-infectieuses/Maladies-a-transmission-vectorielle/Chikungunya/Donnees-epidemiologiques/Monde>, consulté le 14/02/2015.
- (61) CDC. Geographic distribution, [en ligne], <http://www.cdc.gov/chikungunya/geo/index.html>, consulté le 14/02/2015.
- (62) Chikungunya virus net. Chikungunya epidemiology, [en ligne], <http://www.chikungunyavirusnet.com/epidemiology.html>, consulté le 15/02/2015.
- (63) INVS. Bilan épidémiologique chikungunya monde, [en ligne], www.invs.sante.fr/content/.../1/.../note_chikungunya_monde_2012.pdf, consulté le 15/02/2015.
- (64) Paho. Number of reported cases of chikungunya fever in the Americas, by country or territory 2013-2015, [en ligne], <http://www.paho.org/hq/index.php?Itemid=40931>, consulté le 16/02/2015.
- (65) CDC. Chikungunya virus in the United States: 2014 data, [en ligne], <http://www.cdc.gov/chikungunya/geo/united-states-2014.html>, consulté le 16/02/2015.
- (66) INVS. Chikungunya et dengue, donnée de la surveillance renforcée en France métropolitaine en 2014, [en ligne], <http://www.invs.sante.fr/Dossiers-thematiques/Maladies-infectieuses/Maladies-a-transmission-vectorielle/Chikungunya/Donnees-epidemiologiques/France-metropolitaine/Chikungunya-et-dengue-Donnees-de-la-surveillance-renforcee-en-France-metropolitaine-en-2014>, consulté le 16/02/2015.

- (67) INVS. Le chikungunya dans les Iles du Nord, [en ligne], <http://www.invs.sante.fr/Publications-et-outils/Points-epidemiologiques/Tous-les-numeros/Antilles-Guyane/2015/Situation-epidemiologique-du-chikungunya-dans-les-Iles-du-Nord.-Point-au-2-fevrier-2015>, consulté le 16/02/2015.
- (68) Dupuis-Maguiraga L, Noret M, Brun S *et al.* Chikungunya Disease: Infection-Associated Markers from the Acute to the Chronic Phase of Arbovirus-Induced Arthralgia. *PLOS Neglected Tropical Diseases*, 2012, vol.6, 1-10.
- (69) Reddy V, Subramaniam Mani R, Desai A *et al.* Correlation of plasma viral loads and presence of chikungunya IgM Antibodies with cytokine/chemokine levels during acute chikungunya virus infection. *Journal of medical virology*, 2014, vol.86, 1393-1401.
- (70) Microbiologie et immunologie. Immunologie-chapitre 13 cytokines et immunorégulation, [en ligne], <http://www.microbiologybook.org/French-immuno/immchapter13.htm>, consulté le 01/02/2015.
- (71) Petitdemange C, Wauquier N, Vieillard V. Control of immunopathology during chikungunya virus infection, *Journal of allergy and clinical immunology*. 2015, vol.135, 845-855.
- (72) Her Z, Malleret B, Chan M *et al.* Active Infection of Human Blood Monocytes by Chikungunya Virus Triggers an Innate Immune Response. *The Journal of Immunology*, 2010, vol.184, 5903-5913.
- (73) Schilte C, Couderc T, Chrétien F *et al.* Type I IFN controls chikungunya virus *via* its action on nonhematopoietic cells, *The Journal of Experimental Medicine*. 2010, vol.207, 429-442.

- (74) Chow A, Her Z, Ong EK *et al.* Persistent Arthralgia Induced by Chikungunya Virus Infection is Associated with Interleukin-6 and Granulocyte Macrophage Colony-Stimulating Factor. *Oxford Journals*, 2011, vol.203, 149-157.
- (75) Roques P, Gras G. Chikungunya Fever: Focus on Peripheral Markers of Pathogenesis. *Oxford Journals*, 2011, vol.203, 141-143.
- (76) Hoarau JJ, Jaffar Bandjee MC, Totot Krejbich P *et al.* Persistent Chronic Inflammation and Infection by Chikungunya Arthritogenic Alphavirus in Spite of a Robust Host Immune Response. *The journal of immunology*, 2010, vol.184, 5914-5927.
- (77) Sissoko D, Malvy D, Ezzedine K *et al.* Post-epidemic Chikungunya disease on Reunion Island: course of rheumatic manifestations and associated factors over a 15 month period. *PLOS Neglected Tropical Diseases*, 2009, vol.3, 1-6.
- (78) ARS Martinique. Prise en charge du chikungunya subaigu et chronique, [en ligne], http://www.ars.martinique.sante.fr/fileadmin/MARTINIQUE/Actualites/Autres_actu/2014/2014-10-17_Chikungunya_-_Reco_PEC_formes_persistantes_fiche_synthese_Martinique.pdf, consulté le 10/01/2015.
- (79) INVS. Colloque : « chikungunya et autres arboviroses émergentes en milieu tropical », [en ligne], http://www.invs.sante.fr/presse/2007/communiqués/chikungunya_0312007/DPcolloqueCHIK.pdf, consulté le 10/01/2015.
- (80) ARS Martinique. Chikungunya : point sur les connaissances et la conduite à tenir en Martinique, [en ligne], http://www.ars.martinique.sante.fr/fileadmin/MARTINIQUE/Votre_Sante/Veille_sanitaire/Les_champs_de_competences/Chikungunya/Telecharger/Chik_Fiche_info_medecin_-_V1_Dec_2013.pdf, consulté le 11/01/2015.

- (81) Journée nationale d'infectiologie. Les aspects chroniques du chikungunya, [en ligne], http://www.infectiologie.com/site/medias/JNI/JNI10/CT/JNI2010-Chikungunya_Simon.pdf, consulté 10/01/2015.
- (82) Société des pathologies infectieuses. Recommandations nationales sur la prise en charge du chikungunya (formes aiguës, formes persistantes), [en ligne], <http://www.infectiologie.com/site/medias/Recos/2014-Chikungunya-recommandations.pdf>, consulté le 12/01/2015.
- (83) Dominguez M, Economopoulou A, Sissoko D *et al.* Formes atypiques de chikungunya en période épidémique, La Réunion, France, 2005-2006. *Bulletin Epidémiologique Hebdomadaire*, 2008, vol. 38-39-40, 349-352.
- (84) Jaffar-Bandjee MC, Ramful D, Gauzere BA *et al.* Emergence and Clinical Insights into the Pathology of Chikungunya Virus Infection. *Expert review of anti-infective therapy*, 2010, vol.8, 987-996.
- (85) Rajapaksea S, Rodrigob C, Rajapakse A. Atypical manifestations of chikungunya infection. *Oxford Journals*, 2010, vol.104, 89-96.
- (86) CDC. Chikungunya atypical and severe disease manifestations, [en ligne], http://www.cdc.gov/chikungunya/pdfs/Chikungunya-atypical-severe-disease_Healthcare-provider-factsheet-10-07-2014.pdf, consulté le 12/01/2015.
- (87) Economopoulou A, Dominguez M, Helynck B. Atypical Chikungunya virus infections: clinical manifestations, mortality and risk factors for severe disease during the 2005-2006 outbreak on Réunion. *Cambridge Journals*, 2009, vol.137, 534-541.

- (88) Institut Pasteur. Chikungunya: la transmission mère enfant établie, [en ligne], <http://www.pasteur.fr/fr/institut-pasteur/presse/documents-presse/chikungunya-la-transmission-mere-enfant-etablie>, consulté le 12/01/2015.
- (89) Haas H, Robin S, Ramful D *et al.* Infections à virus chikungunya chez l'enfant. *Archives de pédiatrie*, 2009, vol.16, 72-79.
- (90) Lenglet Y, Barau G, Robillard PY *et al.* Infection à Chikungunya chez la femme enceinte et risque de transmission materno-fœtale. *Journal de gynécologie obstétrique et biologie de la reproduction*, 2006, vol.35, 578-583.
- (91) INPES. Dossier spécial chikungunya : point sur les connaissances et la conduite à tenir, [en ligne], <http://www.inpes.sante.fr/CFESBases/catalogue/pdf/1085.pdf>, consulté le 12/01/2015.
- (92) HAS. Diagnostic biologique direct précoce du Chikungunya par détection génomique du virus avec RT-PCR (transcription inverse et amplification génique par réaction de polymérisation en chaîne), [en ligne], http://www.has-sante.fr/portail/jcms/c_1253648/fr/diagnostic-biologique-direct-precoce-du-chikungunya-par-detection-genomique-du-virus-avec-rt-pcr-transcription-inverse-et-amplification-genique-par-reaction-de-polymerisation-en-chaîne, consulté le 12/02/2015.
- (93) Chikungunya Virus Net. Diagnosis of chikungunya, [en ligne], <http://www.chikungunyavirusnet.com/diagnosis.html>, consulté le 12/02/2015.
- (94) Nakouné E, Finance C, Le Faou A *et al.* Le virus chikungunya. *Annales de biologie clinique*, 2007, vol.65, 349-356.

- (95) Naresh Kumar CVM and Sai Gopal DVR. Isolation and diagnosis of chikungunya virus causing outbreaks in Andhra Pradesh, India. *The Journal of Clinical and Scientific Research*, 2013, vol.2, 2-7.
- (96) Pyndiah MN, Pursem V, Meetoo G *et al.* Chikungunya virus isolation using simplified cell culture technique in Mauritius. *Médecine tropicale*, 2012, vol.72, 63-65.
- (97) Pongsiri P, Praianantathavorn K, Theamboonlers A *et al.* Multiplex Real-Time RT-PCR for detecting chikungunya virus and dengue virus. *Asian Pacific Journal of Tropical Medicine*, 2012, vol.5, 342-346.
- (98) Pastorino B, Bessaud M, Grandadam JM *et al.* Development of a Taqman[®] RT-PCR assay without RNA extraction step for the detection and quantification of African Chikungunya viruses. *Journal of Virological Methods*, 2005, vol.124, 65-71.
- (99) ILM. PCR en temps réel, [en ligne], <http://www.ilm.pf/PCRtempsreel>, consulté le 12/02/2015.
- (100) Site d'observation et de collecte d'information sur le virus du chikungunya à l'île de la Réunion. Diagnostic biologique du chikungunya, [en ligne], http://www.chikungunya.fr/article.php?id_article=22, consulté le 12/02/2015.
- (101) Dongyou L. *Molecular detection of human pathogen*. 1^{ère} édition, Boca raton: CRC press, 2012. Chap.29. *Chikungunya virus*. p. 323-335.
- (102) Abcam. Indirect Elisa protocol summary, [en ligne], <http://www.abcam.com/index.html?pageconfig=resource&rid=12065>, consulté le 12/02/2015.

- (103) Microbiologie et immunologie. Immunologie-chapitre 7 immunoglobulines : réactions antigène-anticorps et tests expérimentaux pour la détection de ces réactions, [en ligne], <http://www.microbiologybook.org/French-immuno/immchapter7.htm>, consulté le 12/02/2015.
- (104) Kaur P and Jang Hann Chu J. Chikungunya virus: an update on antiviral development and challenges. *Drug discovery today*, 2013, vol.18, 969-983.
- (105) Parashar D and Cherian S. Antiviral Perspectives for chikungunya virus. *BioMed Research International*, 2014, vol.2014, 1-11.
- (106) Renapurkar Kumar D. Efficacy of chloroquine in management of chikungunya: a phase IV clinical trial. *International Journal of Pharma and Bio Sciences*, 2011, vol.2, 407-412.
- (107) Delogu I, Pastorino B, Baronti C *et al.* In vitro antiviral activity of arbidol against Chikungunya virus and characteristics of a selected resistant mutant. *Antiviral Research*, 2011, vol.90, 99-107.
- (108) Pohjala L, Utt A, Varjak M *et al.* Inhibitors of Alphavirus Entry and Replication Identified with a Stable Chikungunya Replicon Cell Line and Virus-Based Assays. *Plos One*, 2011, vol.6, 1-13.
- (109) Bourjot M, Leyssen P, Neyts J *et al.* Trigocherrierin A, a potent inhibitor of chikungunya virus replication. *Molécules*, 2014, vol.19, 3617-3627.
- (110) Nothias-Scaglia LF, Retailleau P, Paolini J *et al.* Jatrophone diterpenes as inhibitors of chikungunya virus replication: structure-activity relationship and discovery of a Potent Lead. *Journal of natural products*, 2014, vol.77, 1505-1512.
- (111) Ravichandran R and Manian M. Ribavirin therapy for chikungunya arthritis. *Journal Infect Developing Countries*, 2008, vol.2, 140-142.

- (112) Khan M, Dhanwani R, Patro I *et al.* Cellular IMPDH enzyme activity is a potential target for the inhibition of Chikungunya virus replication and virus induced apoptosis in cultured mammalian cells. *Antiviral Research*, 2011, vol.89, 1-8.
- (113) Ozden S, Lucas-Hourani M, Ceccaldi PE *et al.* Inhibition of Chikungunya Virus Infection in Cultured Human Muscle Cells by Furin Inhibitors. *The journal of biological chemistry*, 2008, vol.283, 21899- 21908.
- (114) Ecole du Val de Grâce. La vaccination du chikungunya : histoire et actualité, [en ligne], http://www.u-bordeaux2-medtrop.org/doc/Soutenances/CIFV/Archives/CIFV2008_Queriaux_Memoire.pdf, consulté le 23/03/2015.
- (115) Plante K, Wang E, Partidos C *et al.* Novel Chikungunya Vaccine Candidate with an IRES-Based Attenuation and Host Range Alteration Mechanism. *Plos pathogen*, 2011, vol.7, 1-11.
- (116) Brandler S, Ruffié C, Combredet C *et al.* A recombinant measles vaccine expressing chikungunya virus-like particles is strongly immunogenic and protects mice from lethal challenge with chikungunya virus. *Vaccine*, 2013, vol.31, 3718-3725.
- (117) The lancet infectious diseases. Immunogenicity, safety, and tolerability of a recombinant measles-virus-based chikungunya vaccine: a randomised, double-blind, placebo-controlled, active-comparator, first-in-man trial, [en ligne], [http://www.thelancet.com/journals/laninf/article/PIIS1473-3099\(15\)70043-5/abstract](http://www.thelancet.com/journals/laninf/article/PIIS1473-3099(15)70043-5/abstract), consulté le 23/03/2015.
- (118) Muthumani K, Lankaraman K, Laddy D *et al.* Immunogenicity of novel consensus-based DNA vaccines against chikungunya virus. *Vaccine*, 2008, vol.26, 5128-5134.

- (119) Akahata W, Yang Z, Andersen H *et al.* A VLP vaccine for epidemic chikungunya virus protects non-human primates against infection. *Nature Medicine*, 2010, vol.16, 334-338.
- (120) Chang LJ, Dowd K, Mendoza F *et al.* Safety and tolerability of chikungunya virus-like particle vaccine in healthy adults: a phase 1 dose-escalation trial. *The Lancet*, 2014, vol.384, 2046-2052.
- (121) Wang E, Volkova E, Adams AP *et al.* Chimeric alphavirus vaccine candidates for chikungunya. *Vaccine*, 2008, vol.26, 5030-5039.
- (122) Ministère des Affaires sociales, de la Santé et des Droits des femmes. Chikungunya aux Antilles et en Guyane- Recommandations aux voyageurs, [en ligne], <http://www.sante.gouv.fr/chikungunya-aux-antilles-et-en-guyane-recommandations-aux-voyageurs.html>, consulté le 27/03/2015.
- (123) Ministère de la Santé et des solidarités. Chikungunya : gestion d'une crise longue, [en ligne], http://www.sante.gouv.fr/IMG/pdf/Chikungunya_-_gestion_d_une_crise_longue_-_Rapport_de_mission_enseignements_et_propositions.pdf, consulté le 27/03/2015.
- (124) Ministère des Affaires sociales et de la Santé. Dossier de presse chikungunya 2013, [en ligne], http://www.sante.gouv.fr/IMG/pdf/Dossier_de_presse_Chikungunya_2013.pdf, consulté le 27/03/2015.
- (125) Duvallet G and De Gentile L, Protection personnelle antivectorielle, 1^{ère} édition. Marseille : IRD Editions, 2012, 352 p.

- (126) INPES. Prévention de la dengue et du chikungunya en France métropolitaine, [en ligne], <http://www.inpes.sante.fr/CFESBases/catalogue/pdf/1462.pdf>, consulté le 27/03/2015.
- (127) ARS Paca. Réduire et détruire les gîtes larvaires : la lutte contre sa prolifération est l'affaire de tous, [en ligne], http://www.ars.paca.sante.fr/fileadmin/PACA/Site_Ars_Paca/services/presse/fiches_presse/FICHE_REPERES_GITES_LARVAIRES.pdf, consulté le 01/04/2015.
- (128) CNRD. Le pharmacien et le centre anti-douleur, [en ligne], http://www.cnrdr.fr/IMG/pdf/Ginies_1.9.pdf, consulté le 01/04/2015.
- (129) Geocities. Le moustique, [en ligne], <http://www.geocities.ws/chantignole401/moust2.html>, consulté le 01/04/2015.
- (130) Ministère des Affaires sociales, de la Santé et des Droits des femmes, [en ligne], <http://www.sante.gouv.fr/recommandations-d-utilisation-des-repulsifs-et-biocides-contre-les-moustiques.html>, consulté le 01/04/2015.

POMPON Vincent

Le chikungunya : une arbovirose ré-émergente

RÉSUMÉ

Actuellement en réémergence dans le monde, le chikungunya virus est un arbovirus à l'origine de la survenue d'épidémie dans des pays jusque là non touchés. Transmise principalement à l'Homme par les moustiques *Aedes albopictus* et *Aedes aegypti* cette arbovirose inquiète de par son évolution. Les mutations possibles du virus, les différents génotypes, les changements climatiques, le contexte politique (guerre, mondialisation...) et les réservoirs du virus difficiles à identifier sont autant de facteurs rendant le contrôle de la dissémination virale très compliqué.

Paradoxalement à cette évolution, malgré l'absence de traitement et de vaccin, le chikungunya est une maladie de mieux en mieux comprise. Ce progrès global des connaissances constitue un facteur d'optimisme pour l'avenir. Cependant actuellement, la prévention individuelle et collective reste le moyen de lutte le plus efficace contre la dissémination du virus. C'est pourquoi, la lutte antivectorielle constitue l'atout majeur de cette prise en charge préventive. En tant que premier interlocuteur le pharmacien d'officine a un rôle majeur à jouer dans cette prévention.

mots-clés : Chikungunya virus - réémergence - vecteur - prévention - moustique

Chikungunya: a re-emerging arbovirus

ABSTRACT

Currently reemergence in the world, chikungunya virus is an arbovirus causing the occurrence of epidemics in countries not previously affected. Mainly transmitted to humans by mosquitoes *Aedes albopictus* and *Aedes aegypti* this arbovirus concerned by its development. The possible mutations of the virus, different genotypes, climate change, the political context (war, globalization ...) and reservoirs of viruses difficult to identify are all factors making the control very complicated of viral dissemination.

Paradoxically this development, despite the lack of treatment and vaccine, chikungunya disease is becoming better understood. This overall progress of knowledge is one of optimism for the future. However currently, individual and collective prevention remains the most effective way to fight against the spread of the virus. Therefore, vector control is the major asset of this taken into preventive care. As the first contact the pharmacist has a major role to play in prevention.

keywords : Chikungunya virus - reemergence - vector - prevention - mosquito