

ECOLE NATIONALE VETERINAIRE DE LYON

Année 2006 - Thèse n°5

LA FIEVRE DU NIL OCCIDENTAL : EPIDEMIOSURVEILLANCE CHEZ LES OISEAUX DANS LES DEPARTEMENTS FRANÇAIS DU POURTOUR MEDITERRANEEN : EXTENSION DU PROTOCOLE ET RESULTATS EXPERIMENTAUX

THESE

Présentée à l'UNIVERSITE CLAUDE-BERNARD - LYON I
(Médecine - Pharmacie)
et soutenue publiquement le 10 janvier 2006
pour obtenir le grade de Docteur Vétérinaire

par

Marion MORTAMAS
Née le 28 juin 1978
à Annemasse (74)



DEPARTEMENTS ET CORPS ENSEIGNANT DE L'ECOLE NATIONALE VETERINAIRE DE LYON

Directeur : Stéphane MARTINOT

DEPARTEMENT	PREMIER ADJOINT	DEUXIEME ADJOINT	TROISIEME ADJOINT	CORPS ENSEIGNANT	COORDONATEUR	ADJOINT	ADJOINT
DEPART SANTE PUBLIQUE VETERINAIRE Microbiologie, Immunologie, Pathologie Générale	Y. RICHARD			V. GUERIN-FAUBLEE 90 % A. KODJO D. GREZEL			
Pathologie infectieuse			A. LACHERETZ M. ARTOIS	J. VIALARD			
Parasitologie & Maladies parasitaires	MC. CHAUVÉ	G. BOURDOISEAU		MP. CALLAIT CARDINAL L. ZENNER			
Qualité et Sécurité des Aliments		G. CHANTEGRELET	P. DEMONT C. VERNZOZY	A. GONTHIER	S. COLARDELLE	ISPV	
Législation & Jurisprudence			A. LACHERETZ				
Bio-Mathématiques				P. SABATIER M.L. DELIGNETTE 80 % K. CHALVET-MONFRAY			
DEPART DES ANIMAUX DE COMPAGNIE							
Anatomie		E. CHATELAIN	T. ROGER	S. SAWAYA	R. DA ROCHA CARARO	MCC	
Chirurgie et Anesthésiologie		J.P. GENEVOIS	D. FAU E. VIGUIER D. REMY		G. CHANOIT S. JUNOT K. PORTIER C. DECOSNE-JUNOT	MCC MCC MCC MCC	C. CAROZZO BENREDOUANE K. N. GAY I. GOUJON
Anatomie-pathologique/Dermatologie-Cancérologie/ Hématologie		J.P. MAGNOL C. FOURNEL	C. FLEURY	T. MARCHAL	D. WATRELOT-VIRIEUX P. BELLI D. PIN	MCC MCA MCA	I. BUBLOT C. GALET C. ESCRIOU
Médecine interne		J.L. CADORE		L. CHABANNE F. PONCE	M. HUGONNARD	MCC	
Imagerie médicale				E. CAUVIN	J. SONET	MCC	F. DURIEUX
DEPART DES PRODUCTIONS ANIMALES							
Zootéchnie, Ethologie & Economie rurale		M. FRANCK		P. LETERME			L. MOUNIER
Nutrition et Alimentation				D. GRANCHER L. ALVES de OLIVEIRA G. EGRON-MORAND S. BUFF P. GUERIN			
Biol & Patho de la Reproduction		F. BADINAND	M. RACHAIL-BRETIN				
Patho Animaux de Production		P. BEZILE	T. ALOGNINOUIWA	R. FRIKHA M.A. ARCANGIOLI D. LE GRAND	D. LAURENT	MCA	N. GRAUD P. DEBARNOT D. LAURENT
DEPART SCIENCES BIOLOGIQUES							
Physiologie /thérapeutique	R. BOIVIN			J.J. THIEBAULT J.M. BONNET-GARIN 90 % T. BURONFOSSE V. LAMBERT			
Biophysique /Biochimie Génétique et Biologie moléculaire		F. GARNIER	E. BENOIT F. GRAIN				
Pharmacie / Toxicologie Législation du Médicament		G. KECK	P. JAUSSAUD P. BERNY				
Langues					C. FARMER R. SULLIVAN	IPAC IPAC	
DEPART HIPPIQUE							
Pathologie équine Clinique équine		JL. CADORE O. LEPAGE		A. LEBLOND A. BENAMOU-SMITH			
Expertise nécropsique			C. FLEURY				

REMERCIEMENTS

A Monsieur le Professeur Christian CHIDIAC,

Nous le remercions d'avoir accepté la présidence de notre jury, nous lui faisons part de notre profond respect.

A Monsieur le Professeur Antoine LACHERETZ,

Nous le remercions de nous avoir guidée dans ce travail avec patience.
Qu'il trouve ici le témoignage de notre gratitude.

A Madame le Professeur Véronique GUERIN-FAUBLEE,

Nous la remercions d'avoir accepté de siéger au jury de cette thèse.

A Jean HARS,

Nous le remercions de nous avoir donné l'opportunité de réaliser ce travail.
Pour sa disponibilité et ses conseils, qu'il trouve ici le témoignage de notre profonde gratitude.

Aux agents techniques de l'environnement de l'ONCFS et en particulier à Philippe AUGÉ,
pour leur accueil et leur bonne humeur.

A Arnaud...

A mes 3 petites sœurs, Julie, Charlotte et Sophie... Vous comptez énormément pour moi...

A ma mère, pour son soutien de tous les jours et sa présence infailible en cas de besoin...

A mon père, pour avoir su éveiller ma curiosité sur le monde qui nous entoure...

A mes amis présents, perdus de vue ou à venir...

A la clinique vétérinaire de la route de Beaucaire...

SOMMAIRE

SOMMAIRE

GLOSSAIRE

INTRODUCTION

PREMIERE PARTIE

**MISE EN PLACE ET DESCRIPTION DU RESEAU DE SURVEILLANCE DU VIRUS
DU NIL OCCIDENTAL DANS L'AVIFAUNE DES DEPARTEMENTS
MEDITERRANEENS**

I- LA FIEVRE DU NIL OCCIDENTAL : CONTEXTE EPIDEMIOLOGIQUE

1. Etiologie du virus du Nil Occidental

2. Cycle épidémiologique

2.1. Les vecteurs

2.2. Les oiseaux, hôtes amplificateurs

2.3. Les hommes et les chevaux, hôtes accidentels

2.4. Schéma de transmission viral

2.5. Période d'activité du virus et persistance du virus

2.6. Transmission virale en l'absence de vecteurs

3. Répartition mondiale du virus du Nil Occidental : sa progression de 1937 à nos jours

3.1. Dans l'Ancien Monde

3.1.1. Des années 40 aux années 90

3.1.2. Des années 90 à nos jours

3.1.3 Situation en France

3.2. Dans le Nouveau Monde

3.2.1. Aux Etats-Unis

3.2.2. Au sud des Etats-Unis

3.2.3. Au nord des Etats-Unis : situation au Canada

4. Discussion

4.1. Modes de propagation possibles du virus à partir des foyers historiques

4.2. Evolution de la gravité des épidémies depuis les années 90

II- LA SURVEILLANCE DE LA FIEVRE DU NIL OCCIDENTAL EN FRANCE DE 2000 A 2004

1. Année 2000 : les investigations préliminaires à la mise en place du réseau en Camargue

- 1.1 Etude de l'infection de l'avifaune camarguaise par le virus
- 1.2 Recherche des vecteurs incriminés
- 1.3 Etude de l'impact de la circulation du virus sur les hôtes accidentels

2. Protocole de surveillance de la circulation du virus du Nil Occidental dans l'avifaune en 2001, 2002, 2003

- 2.1. Zone de la surveillance
- 2.2. Durée de la surveillance
- 2.3. Partenaires du réseau de surveillance
- 2.4. Surveillance passive : surveillance de la mortalité aviaire
- 2.5. Surveillance active
 - 2.5.1. Suivi sérologique d'oiseaux sentinelles
 - 2.5.2. Contrôle sérologique d'oiseaux sauvages capturés

3. Autres volets de la surveillance

4. Protocole de surveillance de la circulation du virus du Nil Occidental dans l'avifaune en 2004 : extension du réseau de surveillance

- 4.1. Réalisation de l'extension du réseau
- 4.2. Surveillance passive
 - 4.2.1. Sur l'ensemble du territoire français
 - 4.2.2. Surveillance de la mortalité des oiseaux sauvages dans les départements méditerranéens (66, 11, 34, 30, 13, 84, 83, 06, 2A, 2B)
- 4.3. Surveillance active

DEUXIEME PARTIE

RESULTATS DE LA SURVEILLANCE DE LA CIRCULATION DU VIRUS DU NIL OCCIDENTAL DANS L'AVIFAUNE DES DEPARTEMENTS MEDITERRANEENS

I- BILAN GLOBAL DE LA SURVEILLANCE DE 2001 à 2004

1. Surveillance active

1.1. Sites et oiseaux suivis

1.2. Bilan des séroconversions sur les 4 années de surveillance

2. Surveillance passive

II- ANALYSE DES RESULTATS

1. Incidence

1.1. Evolution de l'incidence sur les 4 années de surveillance

1.2. Incidence par périodes

1.2.1. Sur les 4 années de surveillance

1.2.2. Année 2004

1.3. Incidence par zone

1.3.1. Sur les 4 années de surveillance

1.3.2. Année 2004

2. Prévalence

2.1. 2001

2.2. 2002, 2003, 2004

2.3. Cas particulier du Var en 2004

3. Discussion

TROISIEME PARTIE

LES MOYENS DE LUTTE CONTRE LE VIRUS DU NIL OCCIDENTAL

I. LES MESURES PROPHYLACTIQUES A ENVISAGER

1. Mesures de protection individuelle contre les vecteurs

- 1.1. La réduction des piqûres d'insectes
- 1.2. la lutte contre la prolifération des gîtes larvaires domiciliaires et péri-domiciliaires

2. Lutte antivectorielle

- 2.1. Lutte antivectorielle préventive
- 2.2. Lutte antivectorielle curative

3. Mesures vis-à-vis des produits de santé d'origine humaine

- 3.1. Les produits sanguins
- 3.2. Les greffons

4. Les mesures médicales

- 4.1. Vaccin équin aux Etats-Unis
- 4.2. Perspective d'un vaccin humain

II. EVALUATION DU RISQUE

III. STRATEGIE D'INTERVENTION EN FONCTION DU RISQUE

1. En cas de risque de niveau 1

- 1.1. Niveau 1a
- 1.2. Niveau 1b

2. En cas de risque de niveau 2

3. En cas de risque de niveau 3

QUATRIEME PARTIE

EVALUATION DU SYSTEME DE SURVEILLANCE

- I- EVALUATION DES ACTIONS MENEES PAR LE RESEAU POUR LA REALISATION DES OBJECTIFS EN 2004**
- 1. Evaluation de la capacité du réseau à détecter les séroconversions en 2004**
 - 1.1. sites et fréquence des prélèvements
 - 1.2. Qualité des prélèvements
 - 2. Evaluation de la capacité du réseau à alerter de façon précoce les autorités sanitaires en 2004**
 - 3. Evaluation des capacités du réseau à surveiller les mortalités aviaires en 2004**
- II- EVALUATION DU PROTOCOLE DE LA SURVEILLANCE ACTIVE**
- 1. Eléments qualitatifs : choix des sentinelles, choix des sites**
 - 2. Eléments quantitatifs : plan d'échantillonnage**
 - 2.1. Nombre d'oiseaux prélevés : taille de l'échantillon en 2004
 - 2.2. Périodicité des prélèvements

CONCLUSION

ANNEXES

BIBLIOGRAPHIE

GLOSSAIRE

AFSSA : Agence Française de Sécurité des Aliments

AFSSaPS : Agence Française de sécurité sanitaire des produits de santé

CDC : Center for Disease Control

CIRE : Cellule Inter-Régionale d'Epidémiologie

CIRAD : Centre de Coopération Internationale en Recherche Agronomique pour le Développement

CNR des Arbovirus : Centre National de Référence des Arbovirus

DGAL : Direction Générale de l'Alimentation

DGS : Direction Générale de la Santé

DDSV : Direction Départementale des Services Vétérinaires

DIREN : Direction Régionale de l'Environnement

DDAF : Direction Départementale de l'Agriculture et des Forêts

DNP : Direction de la Nature et des Paysages

EFS : Etablissements Français du Sang

EFG : Etablissements Français des Greffes

EID méditerranée : Entente Interdépartementale de Démoustication du littoral méditerranéen

ENVL : Ecole Nationale Vétérinaire de Lyon

FDC : Fédération Départemental des Chasseurs

IMTSSA : Institut de Médecine Tropicale du service de Santé des Armées

LDAV : Laboratoire Départemental d'Analyses Vétérinaires

ONCFS : Office National de la Chasse et de la Faune Sauvage

SAGIR : réseau de surveillance sanitaire du gibier

USF de l'ONCFS : Unité Sanitaire de la Faune de l'ONCFS

INTRODUCTION

L'épidémie de fièvre du Nil Occidental, encore appelée fièvre de West Nile, que connaît les Etats-Unis depuis 1999, l'épizootie de 2000 en Camargue ainsi que l'ensemble du contexte mondial ont conduit les autorités françaises à entreprendre une surveillance de cette pathologie dès l'année 2001, afin d'évaluer le risque existant et de mettre en place une prévention adaptée chez l'homme et le cheval.

Cette surveillance s'étend sur différents domaines mais nous nous intéresserons, dans cette étude, au cas particulier de l'avifaune qui présente l'intérêt de participer directement au cycle biologique du virus.

Après une description des objectifs et du fonctionnement du réseau de surveillance de la circulation du virus dans l'avifaune des départements méditerranéens, nous exposerons les résultats obtenus durant les années 2001, 2002, 2003 et 2004.

Une quatrième partie tentera d'évaluer l'efficacité de cette surveillance.

PREMIERE PARTIE

MISE EN PLACE ET DESCRIPTION DU RESEAU DE SURVEILLANCE DU VIRUS DU NIL OCCIDENTAL DANS L'AVIFAUNE DES DEPARTEMENTS MEDITERRANEENS

Afin de comprendre l'intérêt de la mise en place d'une surveillance de la fièvre du Nil Occidental en France, il est nécessaire d'appréhender le risque que représente cette zoonose en termes de santé publique humaine et animale.

I- LA FIEVRE DU NIL OCCIDENTAL : CONTEXTE EPIDEMIOLOGIQUE

1. Etiologie : le virus du Nil Occidental

L'agent pathogène responsable de la fièvre du Nil Occidental est un virus de la famille des Flaviviridae, genre Flavivirus. Il appartient au sérocomplexe de l'Encéphalite Japonaise, dont tous les membres connus (Encéphalite de Saint-Louis, Kunjin, Encéphalite de Murray Valley, Usutu, Encéphalite japonaise. *Annexe 1*) sont transmis par des moustiques (arbovirus) dans un cycle où les oiseaux jouent le rôle d'hôtes amplificateurs.

Le virus du Nil Occidental est un virus enveloppé à ARN de polarité positive. Son enveloppe lui confère une faible résistance dans le milieu extérieur. Il a été isolé pour la première fois en 1937 en Ouganda dans le district de l'Ouest du Nil (West Nile), dans le sang d'une patiente souffrant d'un syndrome fébrile bénin.

2. Cycle épidémiologique

2.1. Les vecteurs

Les **moustiques** ornithophiles, et particulièrement ceux du genre **Culex**, sont les principaux vecteurs biologiques connus dans le cycle de transmission du virus du Nil Occidental.

Le virus a été isolé dans un grand nombre d'espèces de moustiques (*Annexe 2*). Cependant, un moustique ne peut être considéré comme vecteur, c'est-à-dire capable de transmettre le virus lors d'une piqûre, qu'à la condition de répliquer l'agent pathogène et d'assurer son transport jusqu'aux glandes salivaires via l'hémolymphe (Zeller et al, 2004).

En Europe, les moustiques incriminés semblent être *Culex pipiens* et *Culex modestus*.

Le virus du Nil Occidental a également été isolé chez d'autres arthropodes hématophages comme les tiques (*Annexe 2*). Une étude récente a même démontré la compétence vectorielle que possédait la tique *Ornithodoros moubata* appartenant à la famille des Argasidae (Lawrie et al.2004).

S'il est probable que les tiques ne sont pas des vecteurs fondamentaux, il serait intéressant de connaître de manière plus précise leur rôle dans le cycle épidémiologique du virus du Nil Occidental.

2.2. Les oiseaux, hôtes amplificateurs

Un grand nombre d'espèces d'oiseaux, suite à la piqûre d'un moustique infecté, vont développer une virémie intense et durable. Durant cette phase virémique, tout moustique prenant son repas sanguin est susceptible de s'infecter, puis d'aller contaminer d'autres oiseaux sains à l'occasion d'un repas ultérieur.

Ces oiseaux, capables de répliquer le virus, sont considérés comme des hôtes amplificateurs.

Dans la grande majorité des cas, le virus du Nil Occidental ne semble pas être pathogène pour les oiseaux, et si certains ne présentent pas une virémie assez élevée pour être infectants (Langevin et *al.* 2001), tous ceux chez qui le virus a été isolé développent une immunité pérenne.

Au-delà de leur rôle d'amplificateurs de virus, les oiseaux, en raison de leurs mouvements migratoires, sont certainement à l'origine de la progression géographique du virus à travers le monde.

Aujourd'hui, il est difficile de préciser quelles sont les espèces précises d'oiseaux qui pourraient être incriminées dans la dissémination du virus ainsi que dans son amplification.

D'autres espèces animales sont soupçonnées d'être de potentiels réservoirs de virus (reptiles, amphibiens et rongeurs) même si aucune donnée scientifique ne permet aujourd'hui de confirmer ces hypothèses.

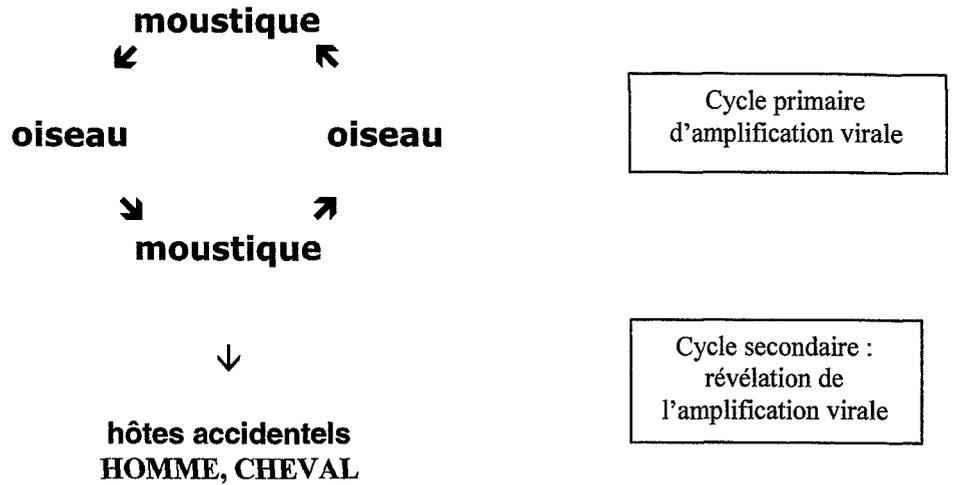
2.3. Les hommes et les chevaux, hôtes accidentels

Un grand nombre de mammifères (Hubálek et *al.*1999) sont considérés comme des culs de sac épidémiologiques : la virémie développée après une piqûre de moustique infectante est trop faible et trop courte chez ces espèces pour pouvoir contaminer d'autres moustiques.

S'ils ne participent pas au cycle de transmission virale, l'homme et le cheval sont en revanche sensibles à l'infection :

- Dans 80% des cas, la maladie est inapparente ;
- Dans 20% des cas, syndrome grippal ;
- Dans de rares cas, méningo-encéphalite pouvant être mortelle.

L'atteinte de ces hôtes secondaires est révélatrice de l'amplification virale.

2.4. Schéma de transmission virale**Figure 1 : Cycle schématique de transmission du virus du Nil Occidental**

Le cycle primaire d'amplification virale s'effectue essentiellement en zones humides, milieux propices à la prolifération des vecteurs et où de fortes densités aviaires sont souvent observées.

2.5. Période d'activité des vecteurs et persistance du virus

La période d'activité des moustiques vecteurs, été et début d'automne dans les zones tempérées, conditionne le cycle de transmission du virus, qui revêt ainsi un **caractère saisonnier**.

Pourtant, dans les zones endémiques, la maladie réapparaît à chaque printemps, attestant de la persistance du virus durant la mauvaise saison. La ré-initiation du cycle à la sortie de l'hiver serait due à :

- La diapause des moustiques infectés, toujours contaminants à la fin de leur hibernation (Nasci et *al.*2001). En outre, la transmission verticale du virus étant possible (Miller et *al.*2000, Dohm et *al.*2002), ces moustiques peuvent donner naissance à de nouveaux vecteurs compétents très tôt dans la saison.
- Un maintien du cycle de transmission à bas bruit pendant l'hiver. Il a en effet été observé que le cycle pouvait perdurer tout au long de l'année (Tesh et *al.*2004).

En revanche, il semble admis qu'une réintroduction annuelle régulière du virus par les oiseaux migrateurs permet l'entretien de la maladie dans les zones à risque.

2.6. Transmissions virales en l'absence de vecteurs

Des cas de contamination par transfusion sanguine ou greffe d'organe provenant de donneurs infectés ont été observés chez l'homme (Anonymous. *MMWR*, 2002. Investigations of West Nile Virus among recipients of organ transplantation and blood transfusion), ainsi qu'un cas de transmission materno-fœtale (Anonymous. *MMWR*, 2002. Intrauterine West Nile Virus Infection-New York).

Dans des conditions expérimentales, la transmission du virus par contact a été observée chez des oiseaux (Anonymous. *MMWR*, 2002. Laboratory-Acquired West Nile Virus Infections-United States).

De par la diversité de ses acteurs dont la biologie est variée, le cycle de transmission du virus du Nil Occidental revêt un caractère complexe et nombreux de ses aspects restent encore méconnus.

3. Répartition mondiale du virus du Nil Occidental : sa progression de 1937 à 2003

Après sa découverte en 1937, le virus du Nil Occidental fut rapidement reconnu comme le plus largement répandu des flavivirus (*Annexe 1*).

Pendant longtemps, il n'a pas été considéré comme un agent pathogène inquiétant, la majorité des infections étant asymptomatiques ou se limitant à un syndrome fébrile bénin chez une population essentiellement rurale.

Les épidémies de cette fin de siècle, par leur diversité géographique et leur gravité, ont considérablement changé le regard que l'on pouvait porter sur ce virus.

3.1. Dans l'Ancien Monde

3.1.1. Des années 40 aux années 90

Depuis les années 50, la maladie est établie de manière endémique en Inde, Israël, Egypte et dans de nombreux états du Moyen Orient. Une souche voisine circule de manière endémique en Océanie et Australie : le sous-type Kunjin.

Dans les années 60 (1962-1965), plusieurs centaines de cas cliniques équins apparaissent pour la première fois en Camargue, en France. Treize cas humains leur sont associés sans qu'aucune mortalité ne soit reportée (Hannoun et *al.* 1964, Panthier et *al.* 1966) Aucun signe de la maladie ne fut décelé dans les années qui suivirent.

3.1.2. Des années 90 à nos jours

Après un silence épidémiologique de plus de 30 ans, le virus du Nil Occidental provoque dans le bassin méditerranéen et le Sud de l'Europe d'importantes épidémies durant lesquelles des cas d'encéphalites fatales sont observées parmi les populations équine et humaine (principalement chez les personnes âgées).

Tableau 1 : bilan des épidémies de 1990 à 2003 dans l'Ancien Monde

Année	Pays	Lieu	Cas Humains		Cas équins		Mortalité aviaire	Références
			total	décès	total	décès		
1994	Algérie	Sahara	50	2	-	-	-	
1996	Maroc	Littoral Atlantique	1	1	94	42	-	El Harrack et al.1997
1996	Roumanie	Bucarest :zone urbaine,proximité zone humide (delta du Danube)	393	17	-	-	-	Cernescu et al.2000, han et al.2001
1997	Tunisie	Région côtière	173	8	-	-	-	
1997-2000	Israël	Région centre : zone urbaine (très peuplée)	419	39	18	-	Oies, cigognes	Weinberger et al.2001, Giladi et al.2001
1998	Italie	Toscane : vallée de Valdnievole. Zone humide	-	-	14	6	-	Autorino et al.2002
1999-2000	Russie	Volgograd et Volzskii : zones urbaines, proximité zone humide (Volga)	480	40	-	-	-	Platonov et al.2001
2000	France	Camargue : zone rurale et humide	-	-	76	21	-	Durand et al.
2003		Var	6	-	4	-	-	Mailles et al.2003

Dans la majorité des cas, les épidémies restent localisées géographiquement et temporellement.

Pour la première fois, la maladie se manifeste dans les zones urbaines (Roumanie, Russie, Israël). D'ailleurs, le vecteur incriminé durant l'épidémie de Bucarest semble être *Culex pipiens*, moustique vivant dans les agglomérations.

En Europe de l'Est, les villes concernées se trouvent à proximité de zones humides où sont présentes de nombreuses espèces d'oiseaux.

Les cas équins ne sont pas obligatoirement accompagnés de cas humains et inversement. Plusieurs hypothèses peuvent être émises pour tenter d'expliquer ce phénomène :

- Absence de diagnostic de la maladie dans la population équine ou humaine ;
- Une variabilité de la pathogénicité de la souche virale en cause suivant les espèces ;
- La répartition des deux populations : les équins sont plus représentés en zone rurale tandis que la densité humaine est plus importante en zone urbaine ;
- Le contact avec les vecteurs : l'animal qui vit à l'extérieur est plus exposé aux piqûres d'insectes.

Les cas humains et équins apparaissent aussi bien dans des zones endémiques comme Israël que dans les régions où le virus n'avait jamais, ou très rarement, été observé (Russie, Roumanie, Italie).

En Israël, la maladie développe un caractère inhabituel en provoquant une morbidité et une mortalité sur des cigognes provenant d'Europe en 1997 et dans des élevages d'oies en 1999.

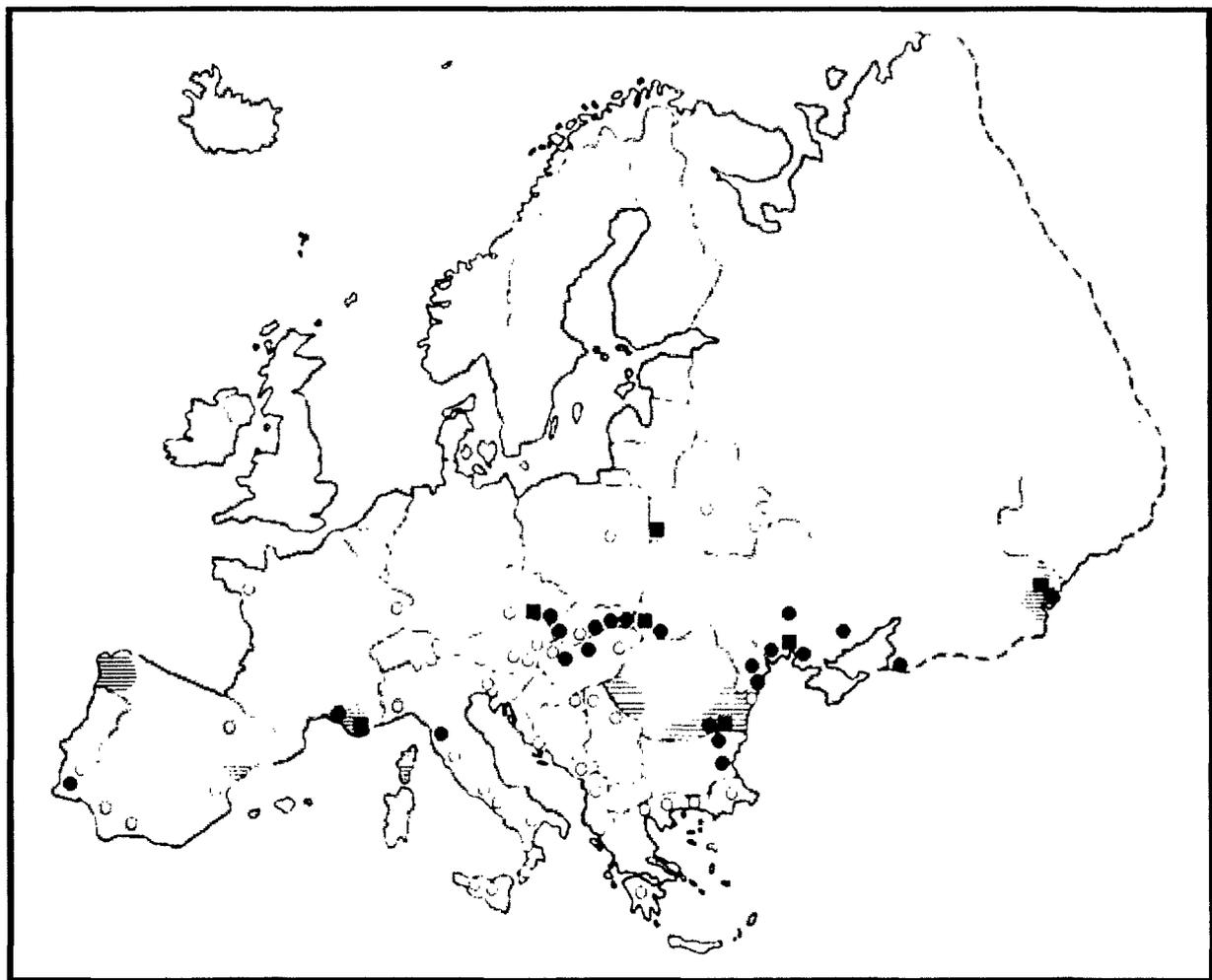


Figure 2 : distribution du virus du Nil Occidental en Europe, à partir de son identification sur des moustiques ou des vertébrés. Humains : cercles noirs ; cas humains et équins confirmés par le laboratoire : carrés noirs ; présence d'anticorps chez des vertébrés : cercles et zones hachurées (Hubálek et al.1999).

3.1.3. Situation en France

La maladie apparaît pour la première fois en France en 1962 dans la Petite Camargue, aire géographique caractérisée par plusieurs larges marais, de nombreuses colonies d'oiseaux migrateurs et/ou sédentaires et une densité de moustiques importante.

Durant l'été, ont été recensés chez les chevaux 50 cas cliniques associés à une symptomatologie neurologique appelée localement « lourdigé » avec un taux de mortalité de l'ordre de 25 à 30%.

Chez les humains, 13 cas ont été confirmés entre 1962 et 1964.

Le virus est isolé en 1964 chez un moustique (*Culex modestus*) ainsi que chez deux entomologistes (Hannoun et al.1964).

En 1965, 3 nouveaux cas neurologiques équins ont été observé.

Aucun signe de la maladie ne fut décelé dans les années qui suivirent. Une étude sérologique, conduite en Camargue entre 1975 et 1979, révéla un faible taux de prévalence chez les chevaux (11%, n=99. Rollin et al. 1982) et hommes testés (4.7%, n=235. Rollin et al.1982).

Après 35 ans de silence, 2 chevaux situés sur la commune de Lansargues (Hérault) présentent des troubles nerveux en août 2000: le diagnostic de fièvre du Nil Occidental sera confirmé par le laboratoire.

De fin août à fin novembre 2000, 76 cas équins seront confirmés sur 131 suspicions cliniques.

La communauté européenne imposera des mesures de restriction de mouvements des équidés dans un rayon de 25 Km autour des cas confirmés, annulant ainsi grand nombre de manifestations équines (Murgue et al.2001).

L'épidémie se cantonne à l'ouest de la Camargue où il existe deux biotopes différents : l'un humide (côte, marais, mares et champs de riz) et l'autre sec plus au nord (vignes, végétation méditerranéenne). Alors que la densité équine est équivalente dans les deux zones, la plupart des cas équins s'observent dans le biotope sec ce qui laisse à penser qu'une amplification virale importante dans les zones humides peut conduire à l'extension de la circulation du virus dans les zones sèches (Durand et al.2002).

Alors que le vecteur incriminé en 1962 était *Culex modestus*, la zone d'épidémie de 2000 est située sur un biotope favorable à *Culex pipiens* (Chevalier et al.2002).

En 2001 et 2002, aucun cas humain ni équin n'est observé.

Le 6 octobre 2003, la fièvre du Nil Occidental est confirmée par le CNR des Arbovirus chez un patient de 41 ans résidant dans le département du Var et souffrant d'une méningo-encéphalite.

Le 9 octobre, l'Afssa reporte l'infection d'un cheval situé à 20 Km du cas humain. Au 31 octobre 2003, 4 cas équins sont confirmés au total dans le département du Var.

3.2. Dans le Nouveau Monde

Le virus du Nil Occidental est apparu pour la première fois sur la côte est des Etats-Unis en 1999. Il a ensuite progressé d'est en ouest pour finalement être présent en 2002 dans la plupart des états, qui connaissent alors de nombreux cas humains et équins ainsi qu'une mortalité d'oiseaux sauvages importante.

Deux à trois ans après son introduction, le virus a commencé à s'étendre au reste du continent américain.

3.2.1 Aux Etats-Unis

A la fin de l'été 1999, les premiers cas humains de fièvre du Nil Occidental ont été observés à New York. Le virus a tué simultanément des milliers d'oiseaux, en particulier des Corvidés, dont les cadavres ont été retrouvés dans les rues de la ville.

Depuis, l'épidémie/épizootie n'a cessé de progresser tant en nombre de victimes (humaines, équine et aviaires) qu'en nombre d'états touchés jusqu'en 2003.

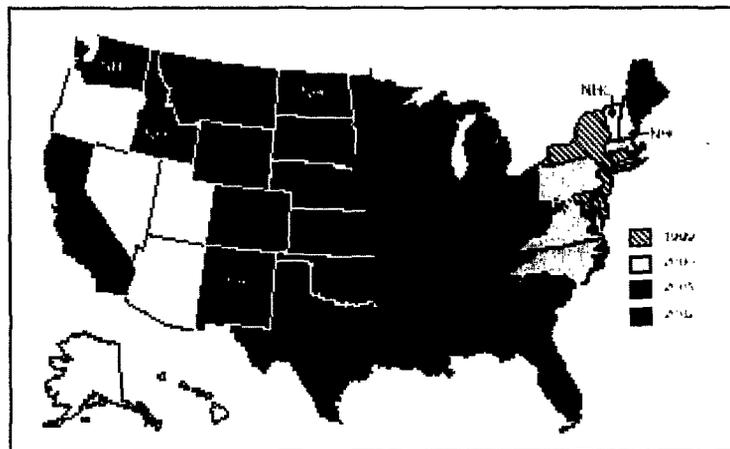
Tableau 2 : bilan de l'épidémie/épizootie aux Etats-Unis, 1999 - septembre 2004

année	Progression de la maladie	Cas humains		Cas équins	Mortalité aviaire	références
		total	décès			
1999	Dans un rayon de 200Km autour de New York. (4 états)	62	7	31	Milliers La mortalité touche en majorité les Corvidés	MMWR, cdc
2000	13 états	21	2	65	4139 La mortalité touche en majorité les Corvidés.	MMWR,cdc
2001	27 états	66	9	733	5154 corbeaux, corneilles 966 geais bleus 1213 oiseaux de 71 autres espèces	MMWR, cdc
2002	45 états	4156	284	9144	7719 corbeaux, corneilles 4948 geais bleus 1455 oiseaux d'autres espèces	MMWR,cdc
2003	47 états	9862	264	4146	11350	MMWR,cdc
2004	40	1508	45	Cas observés dans 34 états	3946 corvidés 868 autres oiseaux	MMWR, cdc

Cette épidémie/épizootie se caractérise par :

- l'importante mortalité aviaire. En effet, les Etats-Unis sont le seul pays, avec Israël en 1998-2000, où un phénomène de mortalité aviaire est observé ;
- le nombre de cas humains et le taux de mortalité observés (majoritairement chez les plus de 50 ans) ;
- le nombre de cas équins ;
- la progression géographique du virus, qui semble ainsi capable de s'adapter à des biotopes variés ;
- l'épisode de 2002, reconnu comme la plus grande épidémie de méningo-encéphalite à virus du Nil Occidental jamais observée (figure 3).

FIGURE 1. West Nile virus activity, by state — United States, 1999–2002



* No human cases.

Figure 3: progression géographique du virus de 1999 à 2002 (Anonymous. MMWR, 2002. Provisional Summary of the West Nile Virus Epidemic-United States, January-November 2002)

Un réseau de surveillance de la circulation du virus fut mis en place dès 2000 afin de pouvoir prévenir les cas humains (CDC : guidelines for surveillance) :

- surveillance de la mortalité aviaire (pilier de la surveillance aux Etats-Unis) ;
- surveillance active sur sentinelles (oiseaux et chevaux sur lesquels on effectue des prélèvements sanguins réguliers afin d'observer d'éventuelles séroconversions) ;
- surveillance passive des cas cliniques équins ;
- surveillance entomologique ;
- surveillance passive des cas cliniques humains (seulement utile dans les zones où le virus circule très peu).

En général, les épisodes de mortalité aviaire précèdent les cas équins et humains (*MMWR*). En effet, une mortalité aviaire précoce dans la saison révèle la persistance de la circulation du virus à bas bruit pendant l'hiver, et présage ainsi d'une importante reprise du cycle de transmission du virus au printemps (Guptill et *al.*2003, cdc : guidelines for surveillance, Tesh et *al.*2004) et donc d'apparition de cas humains et équins.

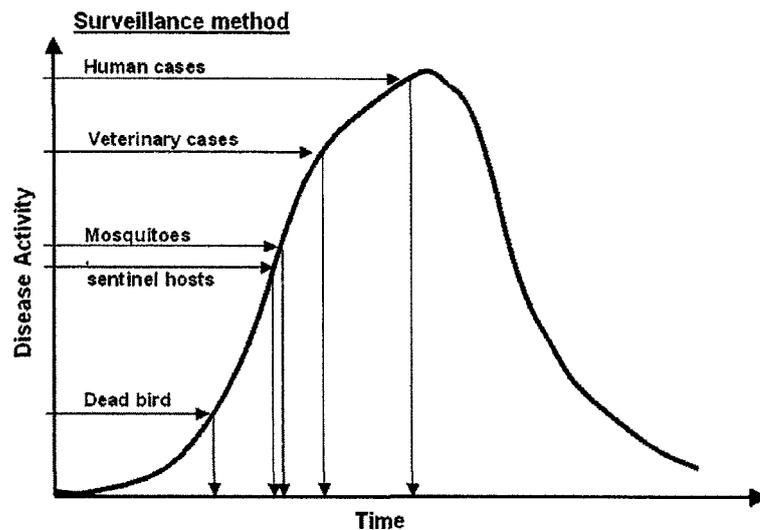


Figure 4: Sensibilité estimée des méthodes de surveillance de l'infection à virus du Nil Occidental dans le contexte américain où des mortalités d'oiseaux sont observées (source CDC)

3.2.2. Au sud des Etats-Unis

En **2001**, une encéphalite à virus du Nil Occidental est diagnostiquée chez un patient aux **îles Caïmans** (*MMWR*. 2002).

Au printemps **2002**, une étude sérologique est menée sur des oiseaux en **Jamaïque**. Des anticorps anti-virus du Nil Occidental sont retrouvés chez 11 espèces sédentaires (Dupuis et *al.*2003).

En **Guadeloupe**, une enquête de prévalence exhaustive menée sur les chevaux de l'île en juillet **2002** révéla quelques séropositifs (12, n=360). Une deuxième série de prélèvements, effectuée en décembre 2002, permis d'observer un taux de séroconversion d'environ 50% (Quirin et *al.*2004).

Suite à l'apparition de cas cliniques équins durant l'été **2002**, le **Mexique** a mené également une étude sérologique dont les résultats indiquent une prévalence de 22% dans la population équine.

En outre, le virus du Nil Occidental fut isolé sur un Grand Corbeau (*Corvus corax*). Les études phylogénétiques ont révélé que ce virus avait probablement été introduit à partir du centre des Etats-Unis, certainement par des oiseaux migrateurs. Cependant, le niveau de divergence génétique suggère que cette souche mexicaine a évolué indépendamment pendant quelques temps (Estada-franco et *al.*2003)

En **République Dominicaine**, 5 oiseaux sédentaires se sont révélés être séropositifs en novembre **2002**. Parmi ces oiseaux, figurait un jeune âgé de moins de 4 mois, ce qui suggère une infection récente (Komar et *al.* 2003).

L'ensemble de ces études démontre l'existence d'une activité virale au Mexique et dans les Antilles, activité qui semble avoir débuté en 2001-2002.

Le virus du Nil Occidental a pu trouver, dans cette région, tous les éléments dont il a besoin pour se maintenir à l'état enzootique : température élevée, population aviaire dense et un grand nombre de moustiques.

A la différence des Etats-Unis, aucune mortalité aviaire n'a été observée jusqu'à présent.

3.2.3 Au nord des Etats-Unis : situation au Canada

La présence du virus du Nil Occidental a été signalée à partir de 2001 sur des oiseaux morts dans le sud de l'Ontario, province limitrophe des Etats-Unis (sans qu'il soit précisé que le virus soit la cause de cette mortalité). En 2003, la circulation virale a été reportée dans 13 provinces canadiennes avec des cas cliniques humains et équins.

Depuis sa découverte à New York en 1999, le virus a donc progressé géographiquement de façon centrifuge d'est en ouest, vers le Nord et vers le Sud.

Le virus, émergent sur le continent, a pu trouver les conditions nécessaires à sa propagation. Tandis que l'épidémie sévissant aux Etats-Unis se caractérise par une mortalité humaine et équine importante, l'Amérique centrale et les Antilles ne semblent pas être affectées par des cas graves de fièvre du Nil Occidental jusqu'à présent.

4. Discussion

4.1. Modes de propagation possibles du virus à partir des foyers historiques

Les oiseaux migrateurs semblent être les acteurs principaux de la propagation du virus à travers le monde. La présence d'anticorps chez un grand nombre d'entre eux ainsi que leur capacité à répliquer le virus (réplication certainement exacerbée par le stress engendrée par la migration) en font effectivement les suspects les plus probables (Rappole et *al.*2000)

En outre, un tel mode de propagation a déjà été démontré pour d'autres arboviroses.

D'autres voies d'introduction sont envisageables comme le commerce légal ou illégal d'oiseaux exotiques ou encore le transport par avion de moustiques infectés à partir de zones endémiques.

Ces hypothèses ont été évoquées pour expliquer l'émergence du virus du Nil Occidental aux Etats-Unis car la souche virale d'origine israélienne n'a pas pu y être transportée par des oiseaux migrateurs.

4.2. Evolution de la gravité des épidémies depuis les années 90

Dans l'hémisphère Nord, la multiplication des épidémies mais surtout leur gravité (fréquence des infections neurologiques chez l'homme et le cheval, mortalité humaine, équine et aviaire) laisse soupçonner l'émergence de virus fortement pathogènes dans les années 90.

Des analyses phylogénétiques (Burt et *al.*2002) menées sur le gène codant la glycoprotéine E (protéine de l'enveloppe, cible des cellules du système immunitaire) ont confirmé l'existence de différentes souches de virus.

Les arbres phylogénétiques obtenus montrent deux lignées majeures qui divergent l'une de l'autre par environ 30% (*figure 5*) :

- **Lignée 1** : virus isolés en Afrique sub-équatoriale, Moyen Orient, Europe, Asie, Amérique du nord, Australie (le virus Kunjin est un sous-type de ce lignage)
- **Lignée 2** : virus isolés en Afrique (surtout sous-équatoriale), Madagascar

Tandis que les virus de la lignée 2 sont associés à des zones d'endémies de faible virulence en Afrique, la lignée 1 regroupe tous les virus incriminés dans les épidémies des dix dernières années. Cependant, aucune distinction génétique n'a été trouvée entre les souches impliquées dans des cycles endémiques et celles des récentes épidémies au sein de cette lignée 1.

Les relations entre les souches virales provenant de différents pays et de différents continents sont compatibles avec l'hypothèse de dispersion du virus par les oiseaux migrateurs.

Chez l'homme, les victimes du virus du Nil Occidental depuis les années 90 sont essentiellement des personnes âgées ou immunodéprimées. Or, dans les zones d'endémies, c'est généralement le jeune qui est affecté par la maladie lors de son premier contact avec l'agent pathogène, tandis qu'il existe une prévalence importante chez l'adulte qui lui ne manifeste aucun signe clinique puisqu'il est déjà immunisé (Solomon et *al.*2002).

Ainsi, la virulence perçue dans les récentes épidémies est certainement la conséquence de l'**émergence** (Nouveau Monde) ou de la **ré-émergence** (Ancien Monde) de souches chez des populations n'étant pas ou plus immunisées.

A l'échelle individuelle, les composants génétiques de chaque hôte peuvent éventuellement expliquer les disparités des manifestations cliniques suivant l'infection (80% de cas asymptomatiques, 20% de syndromes fébriles et de rares cas de méningo-encéphalites).

Des études sur modèle murin ont montré que le phénotype résistance/sensibilité est déterminé par le gène codant pour les 2'-5' oligoadenylate synthétases (2'-5'OAS). Les souris sensibles présentent effectivement une mutation non-sens sur ce gène (Mashimo et *al.*2002, Lucas et *al.*2003).

Des études approfondies seraient intéressantes afin de savoir si le modèle murin s'applique au modèle humain.

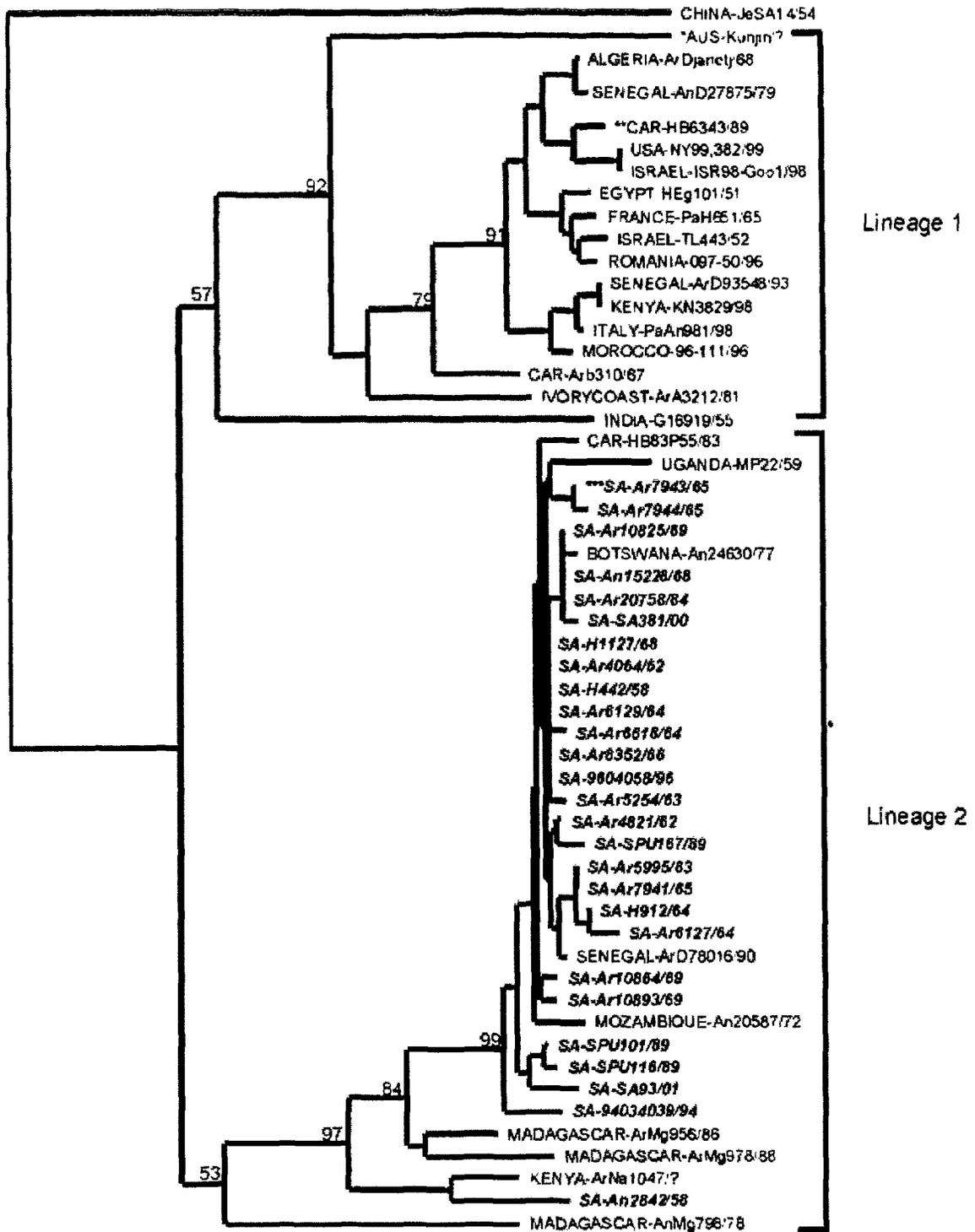


Figure 5 : Arbre phylogénétique représentant diverses souches de virus du Nil Occidental (Burt et al. 2002)

Aujourd'hui, il est reconnu que les activités toujours croissantes de l'homme ont un réel impact sur la nature. Les modifications du climat observées, comme le réchauffement de la planète, entraînent des changements sur l'environnement qui influent sur les populations de vecteurs et d'hôtes (prolifération des moustiques, perturbation des trajets migratoires des oiseaux...).

Ainsi, les risques de passage du virus à des hôtes accidentels, tels que l'homme et le cheval qui n'entrent pas dans le cycle primaire, se sont trouvés considérablement augmentés depuis quelques dizaines d'années, avec pour conséquences les phénomènes d'**épidémisation** observés dans l'Ancien et le Nouveau Monde. Si le virus trouve dans ces nouveaux milieux les conditions nécessaires et suffisantes à son maintien permanent, comme cela semble être le cas aux Etats-Unis, on parle alors d'**endémisation**.

.

Le virus du Nil Occidental est un virus ubiquiste, de répartition mondiale au cycle complexe et encore relativement méconnu. La maladie semble pouvoir se manifester n'importe où, même dans les zones où le biotope ne semble pas s'y prêter.

II. LA SURVEILLANCE DE LA FIEVRE DU NIL OCCIDENTAL EN FRANCE DE 2000 A 2004, EN PARTICULIER DANS L'AVIFAUNE

L'apparition de la fièvre du Nil Occidental chez des chevaux de Camargue en 2000 ainsi que les nombreux épisodes de la maladie observés à travers le monde durant les années 90 ont décidé le Ministère de la Santé et le Ministère de l'Agriculture à mettre en place un réseau de surveillance en Camargue dès septembre 2000.

L'épidémiosurveillance permet de récolter un certain nombre de données rendant compte de la situation épidémiologique : elle fournit les informations sanitaires nécessaires à la mise en oeuvre d'une prophylaxie adéquate.

La lutte contre la maladie exige en effet, pour être efficace, une bonne connaissance de sa fréquence et de sa répartition géographique.

Dans le cas de la fièvre du Nil Occidental, la surveillance est susceptible de reposer sur les populations animales suivantes : les équidés, les oiseaux et les moustiques :

- Oiseaux et moustiques sont directement impliqués dans le cycle biologique du virus : ils sont donc plus particulièrement adaptés à la détection précoce de l'établissement d'un cycle primaire d'amplification virale ;
- Les équidés ont, à priori, une sensibilité à l'infection proche de celle de l'homme, et, de par leurs conditions d'élevage, ont un niveau d'exposition aux piqûres d'insectes vecteur analogue ou supérieur à celui de l'homme : ils sont donc plus particulièrement adaptés à la détection de l'amplification d'un cycle dans une zone à risque, avec apparition d'un niveau d'exposition important.

Les investigations chez les oiseaux et les vecteurs ont pour objectif de suivre la probabilité d'émission du virus, tandis que la surveillance chez le cheval correspond au suivi de la probabilité d'exposition au virus.

1. Année 2000 : Les investigations préliminaires à la mise en place du réseau de surveillance en Camargue

Afin de mettre en place un réseau de surveillance pertinent, il convenait de faire le bilan de l'épizootie de 2000 et de tenter de mettre en évidence les vecteurs potentiels ainsi que les espèces d'oiseaux susceptibles d'amplifier le virus pour cibler les objets de la surveillance.

1.1. Etude de l'infection de l'avifaune camarguaise par le virus du Nil Occidental

En septembre 2000, l'ONCFS a été missionné par la DGAL pour mener une étude préliminaire sur l'infection de l'avifaune camarguaise en 2000.

Les objectifs de cette étude étaient :

- de confirmer l'absence de mortalité aviaire durant l'automne ;

- d'évaluer l'intensité de la circulation virale dans l'avifaune ;
- de tenter d'identifier la ou les espèces amplificatrices du virus ;
- de mettre au point et roder des outils techniques et scientifiques nécessaires à la surveillance de la circulation du virus dès 2001.

La surveillance de la mortalité aviaire s'est effectuée dans les 3 départements camarguais (Hérault, Gard, Bouches-du-Rhône). Elle n'a pas mis en évidence de mortalité anormale durant l'automne 2000.

Afin d'évaluer l'intensité de la circulation virale dans l'avifaune, une enquête sérologique a été menée sur des oiseaux sauvages de la Camargue héraultaise du 27 octobre au 20 décembre 2000. Des prélèvements sanguins ont été réalisés sur des moineaux (*Passer domesticus*), goélands leucophées (*Larus michahellis*), mouettes rieuses (*Larus ridibundus*), pies bavardes (*Pica pica*) ainsi que sur des canards colverts (*Anas platyrhynchos*) appelants, oiseaux élevés par des chasseurs pour la chasse de nuit au gabion.

Les séroprévalences observées ont été globalement faibles (canards colverts : 8%, n=100, pies : 22%, n=18. Hars et al, 2001. Rapport ONCFS/DGAL).

Les sérums ont été traités par la méthode ELISA IgG, avec des anticorps spécifiques de canard et les positifs confirmés par séroneutralisation, technique de référence.

Ce double contrôle a révélé l'impossibilité d'utiliser la technique ELISA avec des anticorps spécifiques de canard pour les mouettes, moineaux et goélands. Les sérums de ces espèces nécessiteraient la mise en œuvre systématique de la séroneutralisation, technique longue et coûteuse.

Ainsi, seuls les pies et les canards appelants ont été retenus pour un dépistage rapide de la circulation du virus par la méthode ELISA pour la saison 2001 (Hars et al, 2001. Rapport ONCFS/DGAL).

Une seule enquête sérologique menée dans un contexte d'urgence pendant 2 mois sur un nombre limité d'espèces d'oiseaux n'a pas permis d'identifier les espèces amplificatrices du virus du Nil Occidental. En revanche, elle a permis de roder les outils et les équipes de surveillance.

1.2. Recherche des vecteurs incriminés

L'EID-Méditerranée a été mandatée par la DGS afin d'identifier les vecteurs potentiels de l'épizootie de 2000.

Les piégeages de moustiques au CO₂ autour des foyers n'ont pas permis de récolter un nombre important de spécimens en raison de l'avancée de la saison. Des pools monospécifiques ont été constitués puis envoyés au CNR pour un diagnostic viral.

La recherche du virus s'est révélée négative dans tous les lots testés.

La recherche du virus chez l'insecte vecteur est particulièrement délicate et aléatoire notamment en cas de circulation virale à bas bruit. Elle nécessite la mise en place d'un réseau de capture important sur un large territoire, ainsi que la capture et l'analyse d'un très grand nombre de spécimens.

La surveillance entomologique représente ainsi peu d'intérêts dans le contexte français actuel. En revanche, il apparaît primordial de réaliser des investigations dans les populations de vecteur dans le cas avéré d'épizootie et/ou épidémie, à des fins de recherche.

1.2. Etude de l'impact de la circulation du virus sur les hôtes accidentels

➤ Enquête de séroprévalence chez les équidés

Une enquête de prévalence exhaustive a été réalisée dans un rayon de 10 Km autour des cas équins confirmés.

Les 5107 sérums récoltés ont révélé une séroprévalence de 8.5 % en IgG et de 4.8% en IgM, témoins d'une infection récente. Toutes les classes d'âge sont représentées (Durand et al.2002).

➤ Chez l'homme

Aucune investigation particulière n'a été menée dans la population humaine. Seuls les cas cliniques suspects ont été déclarés et aucun n'a été confirmé.

Une enquête sérologique effectuée sur des professionnels a révélé la présence d'anticorps chez deux agents techniques de l'environnement de l'ONCFS, dont un avec des IgM. Le virus a donc circulé dans la population humaine. Cependant, en l'absence d'une étude de prévalence dans la zone des foyers, il est difficile d'évaluer le niveau d'infection chez l'homme (Murgue et al.2001).

A l'issue de ces investigations, il a été décidé de mettre en place un réseau de surveillance de la circulation du virus dans l'avifaune et une surveillance clinique des équidés.

2. Protocole de surveillance de la circulation du virus du Nil Occidental dans l'avifaune en 2001, 2002, 2003

Les faibles séroprévalences observées sur les équidés et les oiseaux en 2000 amènent à penser que la Camargue n'est pas une zone endémique.

Cependant, l'hypothèse de l'existence d'un cycle primaire d'amplification virale dans les zones vraiment humides n'est pas à écarter.

Dans ce contexte, le but de la surveillance est de détecter précocement toute circulation du virus, que celui-ci ait persisté durant la mauvaise saison ou ait été réintroduit, afin d'alerter les vétérinaires praticiens et les médecins.

Ainsi, il s'agit plutôt d'épidémiologie que d'épidémiologie.

Le réseau mis en place comporte deux volets bien distincts :

- Une surveillance de la mortalité, dite passive car elle repose sur la déclaration spontanée des cas ;
- Un suivi sérologique d'oiseaux sentinelles, surveillance dite active puisqu'il s'agit d'actions programmées à l'avance et élaborées par les acteurs du réseau.

2.1. Zone de la surveillance

L'aire géographique couverte par le réseau entre 2001 et 2003 s'est limitée à la Camargue, c'est-à-dire aux trois départements suivants : Bouches-du-Rhône (13), Gard (30) et Hérault (34).

2.2. Durée de la surveillance

La période de la surveillance coïncide avec celle d'activité des vecteurs, de début mai à fin octobre.

2.3. Partenaires du réseau de surveillance

La Direction Générale de l'Alimentation (DGAL) est le maître d'ouvrage du programme d'étude.

L'Office National de la Chasse et de la Faune sauvage (ONCFS) est le maître d'œuvre.

L'unité sanitaire de la faune (USF/Direction des études et de la recherche) de l'ONCFS assure l'élaboration du protocole de surveillance et la coordination du programme.

L'Institut Pasteur (CNR des arbovirus) effectue les analyses sérologiques et virologiques (et laboratoire associé : IMTSSA de Marseille).

Le Centre de Coopération Internationale en Recherche Agronomique pour le Développement (CIRAD - Programmes écosystèmes naturels et pastoraux et Programme santé Animale) apporte un appui scientifique, participe à la saisie et à l'analyse des données, et à la mise en place du système de surveillance des mortalités d'oiseaux.

Les Directions Départementales des Services Vétérinaires (DDSV) des départements 13, 30 et 34 coordonnent la récolte des prélèvements sur les oiseaux domestiques.

Les Laboratoires départementaux d'Analyses Vétérinaires (LDAV) des départements 13, 30 et 34, partenaires du réseau SAGIR, sont chargés du conditionnement des prélèvements de sang des oiseaux sentinelles.

Les Fédérations départementales des Chasseurs des départements 13, 30 et 34 interviennent dans le cadre du réseau SAGIR. Certains adhérents mettent à disposition de la surveillance leurs canards appelants.

La Station biologique de la Tour du Valat met à disposition son expertise scientifique ainsi que des oiseaux sentinelles sur le site de la station.

L'AFSSA Nancy saisit dans la base de données SAGIR les informations concernant les analyses virologiques sur cadavres d'oiseaux.

2.4. Surveillance passive : surveillance de la mortalité aviaire

Objectifs :

- Détection d'une éventuelle mortalité aviaire anormale liée au virus du Nil Occidental en période de circulation virale potentielle (mai à novembre) ;
- Identification des souches virales isolées sur des cadavres d'oiseaux.

Même si aucune mortalité aviaire imputable au virus n'avait été observée durant l'épisode de 2000 en Camargue, il était important de continuer à surveiller tout phénomène de ce type. En effet, même si le contexte épidémiologique se révèle être différent en France, la surveillance de la mortalité aviaire est l'outil le plus efficace et le plus précoce dans la détection de la circulation du virus aux Etats-Unis.

En outre, la mise en place de la surveillance a pu s'intégrer à un réseau déjà existant : le réseau SAGIR dont le premier objectif est la mise en évidence des principales causes de la mortalité de la faune sauvage (surveillance sanitaire (SA) du gibier (GIR)). Ce réseau est basé sur un partenariat entre l'ONCFS, l'AFSSA-Nancy, le laboratoire de toxicologie de l'ENVL, d'autres laboratoires spécialisés, les LDA/LVD, la DGAL, les DDSV et les Fédérations Départementales des chasseurs (FDC). Dans chaque département, deux interlocuteurs SAGIR (un membre de la FDC et un membre de l'ONCFS) sont chargés d'organiser la collecte des cadavres d'animaux sauvages ainsi que leur acheminement au LDA/LVD où la cause de la mort sera recherchée. (Gaillet, 2002).

Les LDAV traitent donc les cadavres d'oiseaux suivant le protocole habituel SAGIR.

Un carottage de cerveau est transmis au CNR des Arboviroses (Institut Pasteur Lyon) dans les conditions suivantes :

- Si la **mortalité est anormale**, n'excluant pas plusieurs cas de mortalité isolés mais géographiquement diffus sur une ou plusieurs espèces, et **inexpliquée**, c'est à dire pour laquelle la cause n'a pas été établie (botulisme, intoxications, traumatismes, maladies infectieuses ou parasitaires classiques comme pasteurellose, salmonellose, etc.) ;
- Pour toute espèce d'oiseau, sans exclusion ;
- Si le cadavre est **en bon état de conservation**, non congelé (mise en glacière acceptée) ;
- En cas de mortalité massive ou récurrente inexpliquée sur une ou plusieurs espèces, la recherche du virus du Nil Occidental sera entreprise sur **3 oiseaux au maximum par espèce**.

Au CNR des Arboviroses, les analyses sont faites par détection de l'ARN viral par RT-PCR et par isolement viral sur cultures cellulaires.

En cas d'abondance de prélèvements, les analyses virologiques sont faites avec l'aide de l'Institut de médecine tropicale du service de santé des armées (IMTSSA) de Marseille.

A partir de 2001, le réseau SAGIR a été activé grâce à une campagne d'information grand public : plusieurs centaines d'affiches éditées par le CIRAD ont été envoyées à divers organismes répartis dans 131 communes camarguaises.

- mairies
- offices du tourisme
- centres équestres, manades...
- parcs zoologiques
- associations de protection de la nature
- cabinets vétérinaires
- réserves naturelles
- associations écologiques
- muséum d'histoire naturelle
- pompiers
- sociétés de chasse
- SPA
- Laboratoires vétérinaires
- Préfectures et sous-préfectures
- DDASS
- Association de randonneurs



Fièvre de WEST NILE

Cette maladie transmise par des moustiques, a touché plusieurs dizaines de chevaux en Camargue durant l'année 2000. Elle peut également tuer des oiseaux sauvages.



Aidez-nous à surveiller et à mieux connaître cette maladie.

Si vous trouvez un ou des oiseaux morts, appelez le Numéro Vert (appel gratuit)

0800 257 058



Le numéro vert renvoyait les interlocuteurs sur un répondeur –enregistreur basé au CIRAD. Ce répondeur permettait un tri des informations, qui lorsqu'elles étaient intéressantes, étaient communiquées aux interlocuteurs SAGIR qui se déplaçaient alors sur le lieu de découverte du cadavre pour effectuer les prélèvements nécessaires (Hars et al, 2002, 2003 et 2004. Rapports ONCFS/DGAL).

Les prélèvements étaient ensuite acheminés au Laboratoire Départemental d'Analyses Vétérinaires pour y être traités suivant le protocole habituel SAGIR décrit précédemment. Si aucune cause de mortalité n'était établie à l'autopsie, la tête de l'oiseau était transmise au CNR Arboviroses pour la recherche du virus du Nil Occidental (méthodes RT-PCR et isolement viral sur cultures cellulaires).

2.5. Surveillance active

2.5.1. Suivi sérologique d'oiseaux sentinelles

➤ *objectifs*

- détection précoce de toute circulation virale ;
- alerte précoce des médecins et des vétérinaires (protection de l'homme et du cheval).

➤ *principe : détection de séroconversion.*

Un certain nombre d'oiseaux a fait l'objet de prélèvements sanguins répétés tous les mois, de juin à novembre. L'objectif était de déceler tout changement de statut sérologique (passage du statut séronégatif au statut séropositif) qui est révélateur d'un contact récent avec le virus. Il est indispensable de choisir en début de campagne des oiseaux séronégatifs et de les identifier afin de pouvoir les suivre individuellement. Ces animaux sont des sentinelles, témoins de la circulation virale à un moment donné sur un site donné.

Pour remplir ce rôle, les oiseaux ne doivent pas se déplacer et être facilement capturables.

➤ *espèces prélevées: canards appelants et volailles domestiques*

Ainsi, la surveillance a été menée sur des volailles domestiques (poules, coqs et canards de barbarie) et sur des canards appelants.

Les canards appelants, généralement des canards colverts, sont élevés par des chasseurs dans des poulaillers et sont sélectionnés pour leur chant. En effet, ils sont sortis la nuit sur les points d'eau durant la saison de chasse, et munis d'un fil plombé à la patte afin qu'il ne s'échappent pas, ils « appellent » les canards sauvages.

Les canards appelants ont été prélevés par les agents techniques de l'environnement de l'ONCFS tandis que les volailles domestiques ont été suivies par des vétérinaires sanitaires.

➤ *Répartition des oiseaux prélevés*

Plusieurs sites ont été répartis géographiquement sur les trois départements concernés par la surveillance. Une fiche commémorative a été établie pour chaque site en début de saison (*annexe 4*)

Sur chaque site, douze oiseaux ont été testés lors du premier prélèvement de la saison afin de connaître leur statut sérologique. Sur ces douze oiseaux, dix séronégatifs ont ensuite été prélevés tous les mois.

Tableau 3 : nombre de sites et d'oiseaux suivis

Année	Sites par départements			Nombre total de sites	Nombre d'oiseaux suivis
	13	30	34		
2001	11	6	11	28	260
2002	9	7	9	25	232
2003	7	4	5	16	185

➤ *Système d'identification des oiseaux*

Lors du premier prélèvement, les oiseaux ont été identifiés à l'aide de bagues de couleurs placées sur une des pattes.

Les couleurs disponibles étaient : bleu (B), rouge (R), vert (V), blanc (W pour white).

Tableau 4 : codes couleurs de baguage

Bagues doubles	R (rouge)	V (vert)	B (bleu)	J (jaune)	W (white)
R	RR	RV	RB	RJ	RW
V		VV	VB	VJ	VW
B			BB	BJ	BW
J				JJ	JW
W					WW

Bague simple	R	V	B	J	W
--------------	---	---	---	---	---

A ce code couleur s'ajoutait le code du site. Par exemple, l'oiseau 1301VJ est un canard appelant prélevé par l'ONCFS dans les Bouches-du-Rhône tandis que l'oiseau 3412BR est une volaille prélevée par un vétérinaire sanitaire dans l'Hérault.

Une fiche commémorative a été établie pour chaque animal en début de saison (*annexe 4*)

➤ *méthode de prélèvement*

Le sang a été prélevé dans la veine alaire à l'aide d'une aiguille 25/0.6 (aiguille bleue) et d'une seringue de 5ml. Le sang a ensuite été transvasé dans un tube sec de 5ml.

Un minimum de 1ml de sang est nécessaire pour les analyses.

Photo 1 : veine alaire d'un canard colvert



Photo 2 : prélèvement de sang dans la veine alaire



➤ **identification des prélèvements**

Le système d'identification des tubes de sang a été le même que celui utilisé dans la surveillance de la brucellose ovine et caprine, c'est-à-dire à l'aide de fiches CRES (*annexe 5*).

➤ **traitement des prélèvements**

Les prélèvements ont été acheminés dans les 24h au Laboratoire Départemental d'Analyses Vétérinaires, chargé de centrifuger les sangs. Les sérums obtenus ont été envoyés au CNR des Arbovirus (Institut Pasteur) à Lyon où ils sont traités en ELISA IgG. Les sérums positifs à ce test ont été confirmés par séroneutralisation.

➤ **Centralisation des données et diffusion des résultats**

A partir de 2001, le CIRAD-EMVT a élaboré une base de données regroupant les commémoratifs concernant les différents sites et les différents oiseaux. Cette base de données, à accès protégé sur le net, était mise à jour lors des prélèvements mensuels par les LDAV qui devaient alors saisir les numéros de fiches CRES et les codes des oiseaux (*annexe 6*) afin que le CNR puisse ensuite rentrer les résultats correspondants dans cette même base (*annexe 7*).

Les résultats de la surveillance sont accessibles sur le site <http://west-nile.cirad.fr> pour les acteurs du réseau ainsi que pour le grand public (*annexes 8 et 9*).

2.5.2. Contrôle sérologique d'oiseaux sauvages capturés

En 2001, la surveillance sur oiseaux sentinelles a été complétée par le contrôle sérologique sur des pies (*Pica pica*) et des flamants roses (*Phoenicopterus ruber*).

28 pies ont été capturées en Petite Camargue héraultaise. Les prélèvements de sang ont été effectués à l'aide de tubes capillaires dans la veine sous alaïre.

109 flamands roses ont pu être prélevés à l'occasion de l'opération de capture-baguage menée chaque année en juillet par la Station biologique de la tour du Valat en grande Camargue (Hars et *al*, 2002. Rapport ONCFS/DGAL).

A partir de 2002, le suivi sérologique de pies bavardes capturées à la cage a été abandonné car sa mise en œuvre technique s'est avérée trop lourde pour le rendement obtenu. De même le contrôle sérologique de flamants roses capturés dans le cadre des programmes de recherche de la Station biologique de la Tour du Valat n'a pas été reconduit car le principe d'une analyse sérologique unique sans suivi ne répond pas aux objectifs de la surveillance (détection rapide de la circulation virale grâce à des séroconversions apparaissant sur les oiseaux initialement séronégatifs. Hars et *al*, 2003. Rapport ONCFS/DGAL).

3. Autres volets de la surveillance

Outre ce réseau concernant l'avifaune, des actions de surveillance ont également été menées :

- dans le domaine du cheval
 - surveillance passive des cas cliniques dont la déclaration est imposée par le statut réglementaire de l'infection à virus du Nil Occidental (maladie réputée contagieuse sous sa forme clinique) ;
 - surveillance active qui a reposé sur le suivi sérologique d'une cohorte d'une centaine de chevaux prélevés dans les trois départements camarguais (action inscrite dans le cadre d'une étude, à visée de recherche, financée par l'établissement public des haras nationaux. Ce projet associe différents partenaires (ENVL, CIRAD-EMVT, DDSV du Gard, Institut Pasteur), IMTSSA, AFSSA).

- Dans le domaine entomologique
 - Surveillance entomologique réalisée par l'EID en 2001 en Camargue gardoise et en grande Camargue. Un total de 14 355 moustiques appartenant à 14 espèces ont été capturés entre avril et octobre. La recherche du génome viral par RT-PCR à partir de 997 pools de moustiques analysés s'est révélée négative ;
 - Enquête entomologique dans le Var en 2003 afin de tenter d'identifier la ou les espèces vectrices et d'évaluer le risque de persistance ou d'extension de l'épisode. La recherche du virus du Nil Occidental sur les moustiques capturés est restée négative. Seule l'espèce *Culex pipiens* peut être soupçonnée d'avoir assuré la transmission du virus.

4. Protocole de surveillance de la circulation du virus du Nil Occidental dans l'avifaune en 2004 : extension du réseau de surveillance

Jusqu'en été 2003, la zone qui était considérée "à risque" se limitait à la petite et la Grande Camargue.

L'épisode du var en automne 2003 a démontré que le virus pouvait circuler dans un biotope complètement différent de celui de la Camargue.

Il a donc été décidé d'élargir la zone de surveillance à l'ensemble des départements méditerranéens pour le suivi sérologique des oiseaux sentinelles, et à l'ensemble du territoire français pour la surveillance de la mortalité.

4.1. Réalisation de l'extension du réseau

A partir de janvier 2004, les services départementaux de l'ONCFS ainsi que les DDSV des départements du Var (83), des Alpes Maritimes (06), des Pyrénées Orientales (64) et de l'Aude (11) ont été sollicités afin d'établir une liste de 5 sites de prélèvements potentiels sur des oiseaux sentinelles pour la saison 2004.

La mise en place de la surveillance active s'est avérée être possible dans tous les départements, excepté celui des Alpes Maritimes où les agents techniques de l'environnement de l'ONCFS étaient en effectif réduit et néanmoins très sollicités pour tous les problèmes concernant le loup dans le département.

Les partenaires, la durée et les objectifs du réseau sont restés les mêmes ; seule la zone surveillée a été modifiée en 2004.

4.2. Surveillance passive

4.2.1. Sur l'ensemble du territoire français

L'ensemble du territoire français a été concerné par la surveillance de la mortalité de l'avifaune en 2004.

Dans les départements non méditerranéens, la surveillance de la mortalité a été fondée sur le fonctionnement normal du réseau SAGIR.

Aucune campagne de sensibilisation n'a été effectuée auprès du grand public ni de publics spécialisés ou professionnels. La décision de recherche du virus du Nil Occidental incombait totalement au LDAV et à la DDSV concernés.

4.2.2. Surveillance de la mortalité des oiseaux sauvages dans les départements méditerranéens (66, 11, 34, 30, 13, 84, 83, 06, 2A, 2B)

En 2004, la surveillance de la mortalité de l'avifaune a été renforcée (activation de SAGIR) dans les départements méditerranéens, considérés comme zone à risque, grâce à une campagne de sensibilisation auprès d'un public spécialisé.

Une plaquette d'information (*annexe 10*) et de "marche à suivre" (comprenant entre autres les coordonnées des interlocuteurs techniques (ONCFS et FDC) SAGIR des dix départements) élaborée et éditée par le CIRAD, en collaboration avec l'ONCFS, a en effet été distribuée en juin 2004 dans les institutions suivantes :

- 2 plaquettes par DDSV
- 1 plaquette par LDAV
- 10 plaquettes par Service départemental de l'ONCFS
- 20 plaquettes par Fédération Départementale de Chasseurs
- 224 plaquettes envoyées dans les associations ornithologiques et/ou de protection de la nature, les Réserves et Parcs Naturels, les parcs zoologiques et les centres de soins de la Faune Sauvage identifiés dans les 10 départements méditerranéens
- 15 plaquettes pour l'Office National des Forêts
- 20 plaquettes pour l'EID-méditerranée
- 70 plaquettes pour le Conservatoire Espace du Littoral
- 5 plaquettes pour la Délégation régionale PACA-Corse
- 5 plaquettes pour la Délégation Régionale Languedoc-Roussillon
- 10 plaquettes pour l'USF de l'ONCFS

Une commande de 200 exemplaires supplémentaires a été demandée par le Groupe Ornithologique du Roussillon.

Au total, 879 plaquettes ont circulé dans les départements méditerranéens pendant la saison de surveillance 2004.

Cette plaquette a remplacé l'affiche et le numéro vert qui étaient précédemment utilisés pour le grand public.

4.3. Surveillance active

Un total de 31 sites a été mis en place sur les départements méditerranéens concernés par la surveillance active : plus de 300 oiseaux, répartis dans 5 sites par département à raison de 10 à 12 oiseaux par site (*annexes 11 et 12*), ont ainsi été suivis sérologiquement selon le calendrier suivant :

- 1er prélèvement: **entre le 1er et le 15 juin**
- 2ème prélèvement: **entre le 1er et le 15 juillet**
- 3ème prélèvement: **entre le 1er et le 15 août**
- 4ème prélèvement: **entre le 1er et le 15 septembre**
- 5ème prélèvement: **entre le 1er et le 15 octobre**

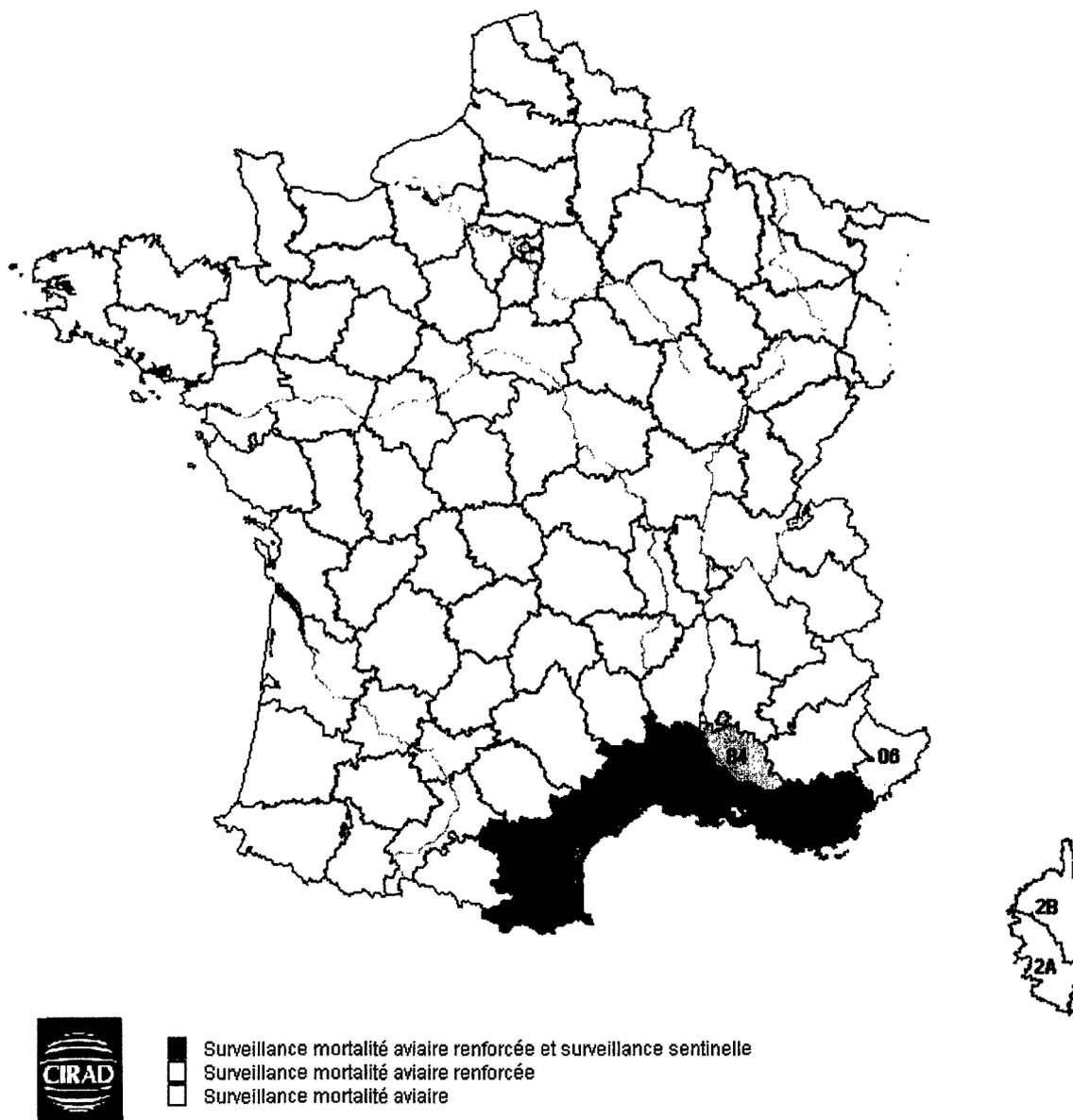


Figure 6 : surveillance du virus du Nil Occidental dans l'avifaune en 2004

DEUXIEME PARTIE

**RESULTATS DE LA
SURVEILLANCE DE LA
CIRCULATION DU VIRUS DU
NIL OCCIDENTAL DANS
L'AVIFAUNE DES
DEPARTEMENTS
MEDITERRANEENS**

Les données récoltées par tout réseau d'épidémiologie sont essentiellement descriptives, généralement peu nombreuses et simples à analyser afin de diffuser rapidement et régulièrement les informations nécessaires à la mise en place des mesures de lutte.

Cependant, les résultats peuvent susciter des hypothèses explicatives, qui pourront faire l'objet d'enquêtes analytiques ultérieures.

I- BILAN GLOBAL DE LA SURVEILLANCE DEPUIS 2001

1. Surveillance active

Le suivi sérologique des oiseaux sentinelles s'est déroulé selon le protocole énoncé précédemment pendant les 4 années de surveillance.

Le calendrier des prélèvements a été globalement respecté ainsi que les délais d'acheminement et d'analyse des échantillons.

1.1. Sites et oiseaux suivis

Tableau 5 : sites et oiseaux suivis durant les 4 années de surveillance

année	Nombre de sites	Départements concernés	Nombre d'oiseaux suivis	Nombre de sérums analysés
2001	28	Bouches-du-Rhône (13), Gard (30), Hérault (34)	260	1011
2002	25	Bouches-du-Rhône (13), Gard (30), Hérault (34)	232	896
2003	16	Bouches-du-Rhône (13), Gard (30), Hérault (34)	185	730
2004	30	Bouches-du-Rhône (13), Gard (30), Hérault (34), Var (83), Aude (11), Pyrénées orientales (66)	299	1538

Un bilan détaillé des sites et du rythme des prélèvements est présenté dans le tableau de l'annexe 12.

1.2. Bilan des séroconversions sur les 4 années de surveillance

Le suivi des oiseaux sentinelles pendant ces 4 années de surveillance a permis de mettre en évidence 15 séroconversions :

Tableau 6 : bilan des séroconversions sur les 4 années de surveillance

année	Nombre de séroconversions
2001	1
2002	1
2003	0
2004	13
total	15

La première séroconversion fut observée en 2001, sur un canard du site de « la Tour de Vazel » en Grande Camargue (commune d'Arles, Bouches-du-Rhône).

En 2002, c'est le département du Gard qui connaît une séroconversion chez une poule élevée sur la commune de Gallargues.

En 2003 aucune séroconversion n'est détectée.

En 2004, 13 séroconversions sont observées, mais aucune dans les départements nouvellement intégrés au programme de surveillance (Pyrénées Orientales, Aude, Var).

Le détail des dates et des lieux de séroconversions est présenté dans le tableau 7.

Tableau 7 : Dates et lieux des séroconversions sur les 4 années de surveillance

date	nombre	lieu
Entre le 20/09/01 et le 09/10/01	1 canard	Tour du Vazel (commune d'Arles, site 1302)
Entre le 04/07/02 et le 10/08/02	1 volaille	Gallargues (site 3014)
Entre le 04/06/04 et le 20/07/04	1 poule	Stes Maries de la Mer (site 1321)
Entre le 09/07/04 et le 16/08/04	1 canard	St Just (site 3405)
Entre le 20/07/04 et le 10/08/04	1 poule	Stes Maries de la Mer (site 1321)
Entre le 10/08/04 et le 09/09/04	6 poules	Stes Maries de la Mer (site 1321)
Entre le 06/09/04 et le 11/10/04	1 canard	St Laurent d'Aigouze (site 3001)
Entre le 09/09/04 et le 07/10/04	1 poule	Stes Maries de la Mer (site 1321)
Entre le 21/09/04 et le 08/10/04	1 canard	Tour du Valat (site 1301)
Entre le 08/10/04 et le 19/10/04	1 canard	Tour du Valat (site 1301)

2. Surveillance passive

Au regard des différentes campagnes de sensibilisation entreprises (affiche et numéro vert en 2001, 2002 et 2003, plaquette informative en 2004), le nombre d'oiseaux ayant fait l'objet d'une recherche virale (77 animaux) sur l'ensemble des 4 années de surveillance est inférieur à celui auquel on pouvait s'attendre.

Les espèces d'oiseaux analysés ainsi que leur date et lieu de découverte sont détaillés dans le tableau 8.

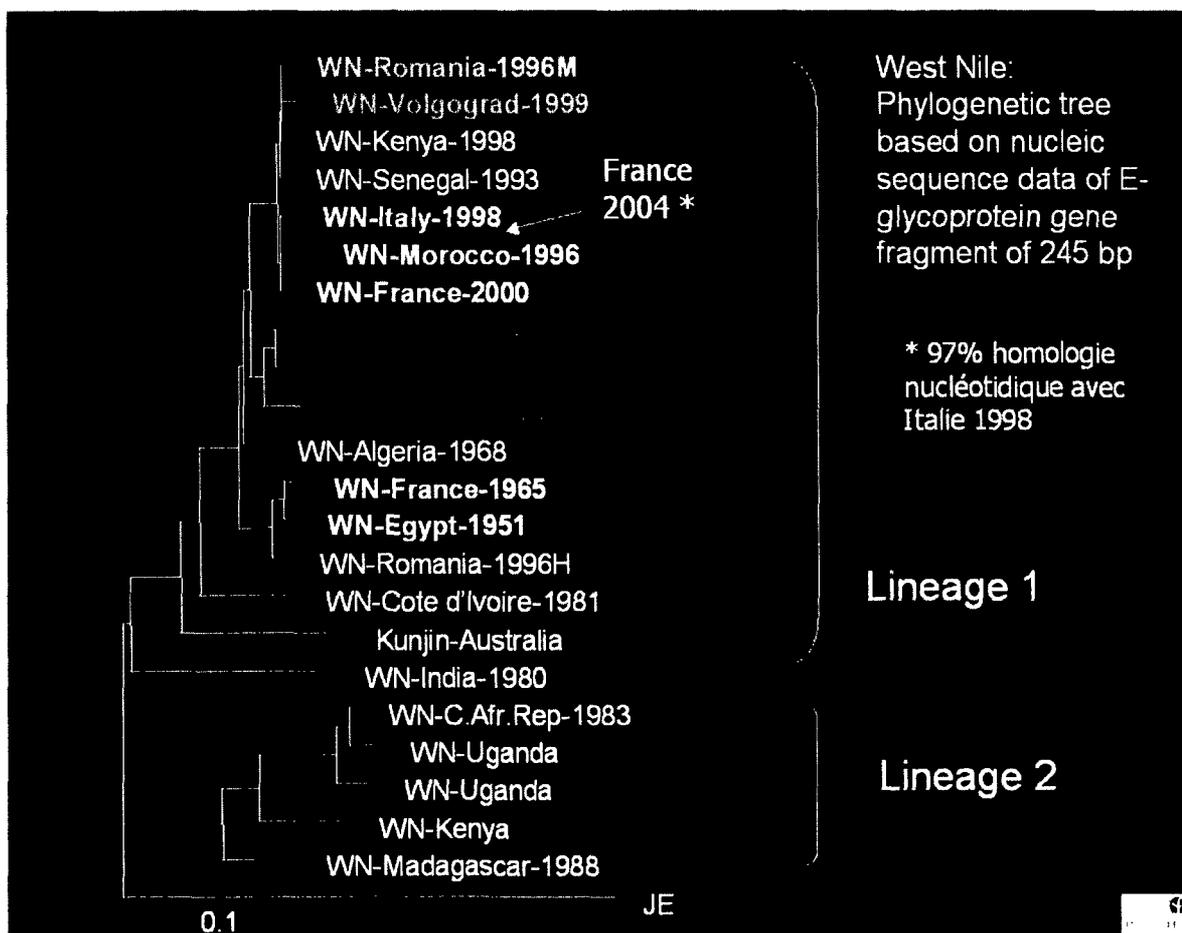
Tableau 8 : Bilan de la mortalité aviaire sur les 4 années de surveillance

année	Date de découverte	Lieu de découverte	Espèce et nombre d'oiseaux	Résultat RT-PCR
2004	Juin 2004	Nîmes (30)	6, perdreaux, 2 tourterelles, 1 faisan, 3 canards	négatif
	03/08/04	Tours (37)	3 mouettes, 1 canard	négatif
	10/08/04	Montpellier (34)	1 échasse	négatif
	11 /08/04	Montpellier (34)	1 tadorne, 1 mouette, 1 chevalier	négatif
	16/08/04	Draguignan (83)	3 poules sentinelles	négatif
	08/09/04	Carcassone (11)	1 pigeon	négatif
	14/09/04	Perpignan (66)	1 pigeon ramier	négatif
	07/10/04	Perpignan (66)	2 canards	négatif
	Octobre 2004	Stes Maries de la Mer (13)	1 pie*	POSITIF
	Octobre 2004	Tour du Valat (13)	1 moineau domestique*	POSITIF
Nombre d'oiseaux ayant fait l'objet d'une recherche du virus : 29 27 sont négatifs et 2 sont positifs				
2003	04/08/03	Sérignan (34)	3 canards colverts	négatif
	06/08/03	Villeneuve-les-Maguelones (34)	1 canard sentinelle	négatif
	06/08/03	Montpellier (34)	1 moineau domestique	négatif
	08/08/03	Nîmes (30)	2 canards	négatif
	18/08/03	Carcassone (11)	1 canard sauvage	négatif
	19/08/03	Nîmes (30)	1 pigeon	négatif
	20/08/03	Ouveillan (11)	1 canard colvert	négatif
	27/08/03	Vauvert (30)	1 canard barbarie	négatif
	15/09/03	Le Caylar (30)	1 canard	négatif
	16/09/03	Martigues (13)	2 tourterelles	négatif
	29/09/03	Carcassone (11)	7 tourterelles turques	négatif
	03/10/03	Argelès sur Mer (66)	5 canards, 4 poules	négatif
	17/11/03	Draguignan (83)	1 pigeon	négatif
Nombre d'oiseaux ayant fait l'objet d'une recherche du virus :31.				

2002	Nombre d'oiseaux ayant fait l'objet d'une recherche du virus : 17. Tous les résultats sont négatifs
2001	Aucun oiseau n'a fait l'objet d'une recherche du virus

Le virus a été isolé sur seulement deux oiseaux en 2004, ce qui constitue une première en Europe de l'Ouest. Cette identification s'est faite **chez 2 espèces intéressantes : chez un passériforme (moineau), et chez un corvidé (pie), espèce qui avait été déjà trouvée porteuse d'anticorps spécifiques Nil Occidental lors de l'épisode 2000**. La collecte de ces oiseaux est intervenue dans le cadre des travaux de recherche sur la fièvre du Nil Occidental entrepris par les équipes de l'ENVL et de la Tour du Valat en collaboration avec le CNR (Hars et *al*, 2005. Rapport ONCFS/DGAL).

Par ailleurs, cet isolement a permis de situer le virus dans l'arbre phylogénétique, très proche des virus ayant sévi précédemment au Maroc en 1996, en Italie en 1998 (97% d'homologie nucléotidique avec cette souche) et en France en 2000 (Figure 7).



**Figure 7 : Arbre phylogénétique des virus du Nil Occidental
(D'après Hervé Zeller, CNR des Arbovirus, Institut Pasteur, Lyon)**

II- ANALYSE DES RESULTATS

1. Incidence

L'incidence est le nombre de cas apparus dans une population donnée pour une période donnée. Elle fournit une information dynamique: elle permet de juger de l'activité de la maladie (Toma et al, 2003).

Dans notre étude, le nombre de cas correspond au nombre de séroconversions, la population à l'ensemble des oiseaux suivis et la période est la saison de surveillance (c'est-à-dire du mois de juin au mois d'octobre pour chaque année de 2001 à 2004).

1.1. évolution de l'incidence sur les 4 années de surveillance

Pour chaque année, le calcul s'effectue de la manière suivante : le nombre de séroconversions est divisé par le nombre d'oiseaux suivis.

En 2004, le nombre d'oiseaux suivis utilisé dans le calcul (152) correspond à l'ensemble des oiseaux prélevés en Camargue seulement. En effet, afin de pouvoir comparer les incidences entre elles, les oiseaux des autres départements (Pyrénées Orientales, Aude, Var) ne sont pas pris en compte. En outre, les séroconversions ont eu lieu exclusivement dans les trois départements de Camargue (Hérault, Gard, Bouches-du-Rhône).

Tableau 9 : Pourcentages d'incidence observés sur les 4 années de surveillance

	2001	2002	2003	2004
Pourcentage d'incidence	1/260 = 0.0038 soit 0.38%	1/232 = 0.0043 soit 0.43%	0	13/152 = 0.085 soit 8.5%
Intervalle de confiance (voir <i>annexe 13</i>)	Non calculable	Non calculable	-	[4%-13%]

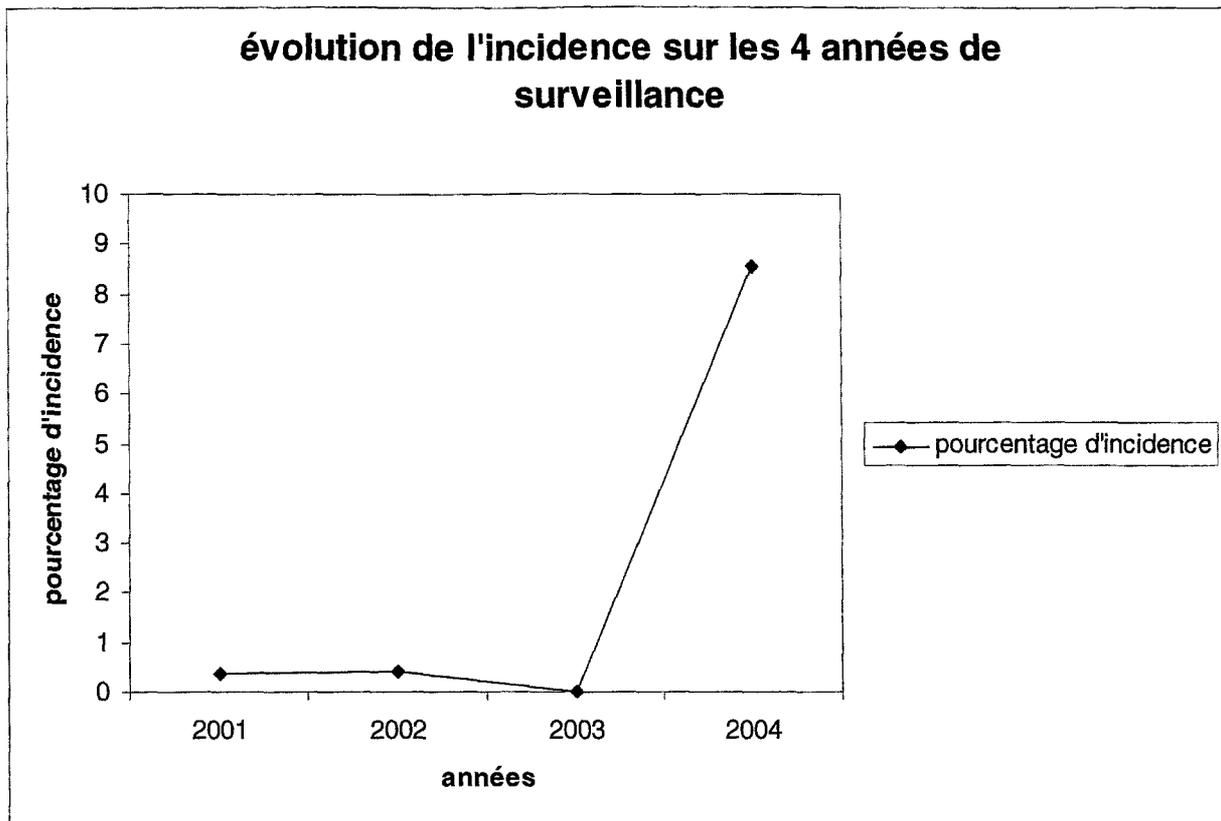


Figure 8 : Evolution de l'incidence sur les 4 années de surveillance

L'année **2004** se différencie par le **nombre élevé de séroconversions** observé (8.5%), et ce sur les 3 départements camarguais. Ce phénomène de séroconversions aviaires est **accompagné d'une épizootie équine significative** (32 cas cliniques équins confirmés par le laboratoire) **et de l'isolement du virus sur des cadavres d'oiseaux** pour la première fois en Europe de l'ouest.

Cet épisode rappelle le contexte de l'année 2000, année durant laquelle 76 cas équins et un taux de prévalence de 8% chez les canards avaient été observé.

Tableau 10 : Bilan des séroconversions aviaires, des isolements viraux aviaires, des cas équins et humains de 2001 à 2004

	Séroconversions aviaires	Mortalité aviaire imputable au virus	Cas équins	Cas humains
2001	1	-	-	-
2002	1	-	-	-
2003	-	-	7 (dans le Var : hors zone de surveillance aviaire)	7 (dans le Var : hors zone de surveillance aviaire)
2004	13	2	32	-

1.2. Incidence par période

1.2.1. Sur les 4 années de surveillance

Selon le calendrier de prélèvement prévu par le protocole de surveillance active, quatre périodes de séroconversions sont possibles :

- Du 15/06 au 15/07
- Du 15/07 au 15/08
- Du 15/08 au 15/09
- Du 15/09 au 15/10

Même si tous les prélèvements n'ont pu être réalisés aux dates fixées, nous répartirons les différentes séroconversions observées en 2001, 2002 et 2004 parmi ces quatre périodes.

Tableau 11 : Pourcentage d'incidence moyen par période sur les 4 années de surveillance

Dates réelles des séroconversions	Périodes	Nombre de séroconversions	Pourcentage d'incidence moyen
Entre le 04/06/04 et le 20/07/04	15/06 au 15/07	1	0,16% $((0/260+0/232+0/185+1/152)*100)/4$
04/07/02 – 10/08/02 ; 09/07/04 – 16/08/04 ; 20/07/04 – 10/08/04	15/07 au 15/08	3	0,44% $((0/260+1/232+0/185+2/151)*100)/4$
10/08/04 – 09/09/04	15/08 au 15/09	6	1% $((0/260+0/231+0/185+6/149)*100)/4$
20/09/01 – 09/10/01 ; 06/09/04 – 11/10/04 ; 09/09/04 – 07/10/04 ; 21/09/04 – 08/10/04 ; 08/10/04 – 19/10/04	15/09 au 15/10	5	0,79% $((1/260+0/231+0/185+4/143)*100)/4$

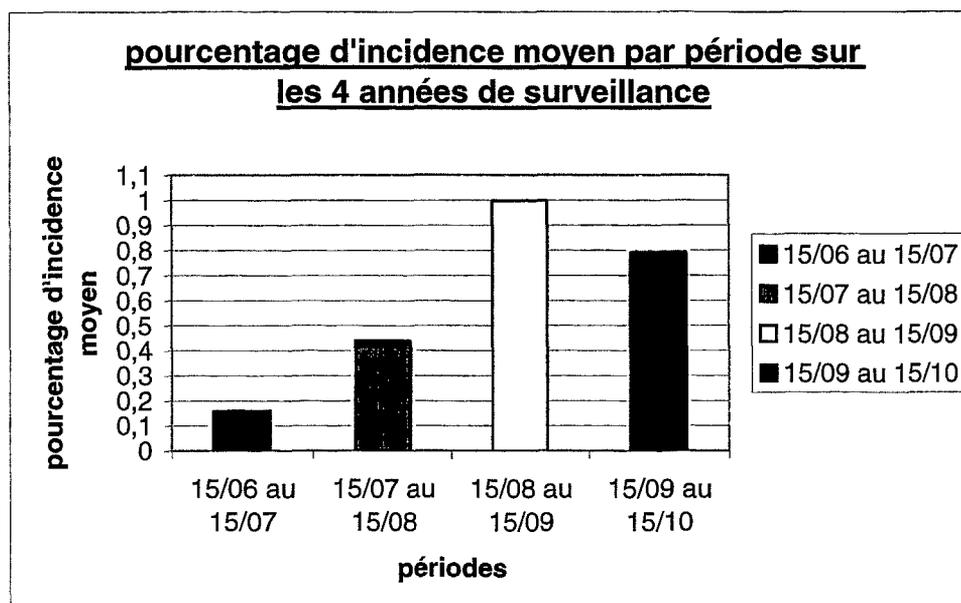


Figure 9 : Pourcentage d'incidence moyen par période sur les 4 années de surveillance

1.2.2. Année 2004

Tableau 12 : nombre de séroconversions aviaires et de cas équins par période en 2004

périodes	Nombre de séroconversions aviaires	Nombre de cas équins (date prise en compte : début des signes cliniques)
Période 1 15/06/04 au 15/07/04	1	0
Période 2 15/07/04 au 15/08/04	2	2
Période 3 15/08/04 au 15/09/04	6	10
Période 4 15/09/04 au 15/10/04	4	20

Même si le nombre de séroconversions aviaires (observées sur un échantillon) et le nombre équins (observés sur l'ensemble de la population équine de Camargue. Voir *annexe 14*) ne sont pas comparables, la figure 10 permet d'avoir un aperçu de leur tendance d'apparition suivant la période.

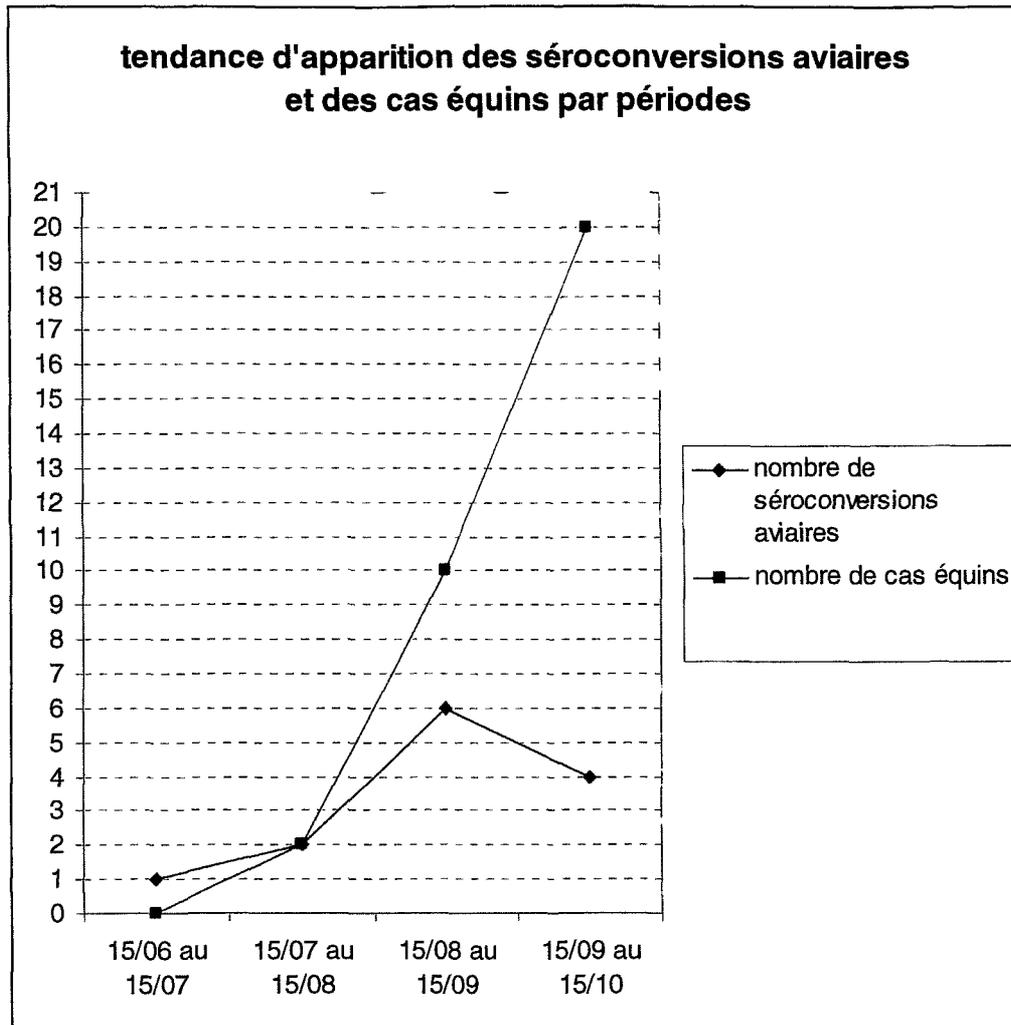


Figure 10 : Tendence d'apparition des séroconversions aviaires et des cas équins par période en 2004

Les séroconversions aviaires semblent apparaître de façon plus précoce que les cas équins. En effet, la première séroconversion a été observée entre le 15/06/04 et le 15/07/04 tandis que les premiers signes cliniques sont apparus chez un cheval des Saintes Maries de la Mer le 05/08/04 (confirmation par l'AFSSA le 13/09/04). Ce constat rejoint les données de la figure 4 (première partie) « sensibilité estimée des méthodes de surveillance de l'infection à virus du Nil Occidental dans le contexte américain où des mortalités d'oiseaux sont observées »

Les pourcentages d'incidence dans l'avifaune des périodes 3 et 4 ne sont pas significativement différents. En revanche, on peut affirmer que les séroconversions aviaires sont plus nombreuses entre le 15/08/04 et le 15/10/04 qu'entre le 15/06/04 et le 15/08/04 (annexe 13). Ces résultats sont à mettre en parallèle avec la répartition des cas équins : l'apparition des premiers signes cliniques est observé dans 6.25% des cas entre le 15/06/04 et le 15/08/04 contre 93.75% entre le 15/08/04 et le 15/10/04.

Ainsi, le virus semble avoir circulé de façon plus intense entre le 15 août et le 15 octobre 2004.

Une prolifération des vecteurs due aux pluies de fin d'été et début d'automne pourrait être à l'origine de ce phénomène. En effet, l'eau est indispensable à l'éclosion des larves de

moustiques et à leur développement.

(<http://www.eidmed.org/ft:moustique:moustiqBiologieCentre.htm>)

Il est à noter que le nombre de cas équins a connu une recrudescence entre le 15 septembre et le 15 octobre (20 cas sur 32 au total) ce qui souligne la révélation de l'amplification du cycle virale et/ou une vigilance accrue des propriétaires de chevaux et des vétérinaires sanitaires sensibilisés par les cas précédents.

1.3. Incidence par zone

1.3.1 Sur les 4 années de surveillance

Si l'on tente de répartir géographiquement les différentes séroconversions aviaires observées durant les 4 années de surveillance, deux zones se distinguent (*voir annexe 15 pour les cartes des sites*) :

- La grande Camargue (aire comprise entre le Petit et le Grand Rhône)
- L'ouest du Petit Rhône

Tableau 13 : Nombre de séroconversions par zone sur les 4 années de surveillance

année	Grande Camargue		Ouest du Petit Rhône	
	Nombre de séroconversions	Nombre de sites	Nombre de séroconversions	Nombre de sites
2001	1	11	-	17
2002	-	9	1	16
2003	-	7	-	9
2004	11	4	2	11
total	12	31	3	53

Pour l'année 2004, on ne considère que les sites et les oiseaux des départements de l'Hérault, du Gard et des Bouches-du-Rhône.

Le nombre de séroconversions est significativement plus important en Grande Camargue qu'à l'Ouest du Petit Rhône (*annexe 13*).

Le facteur « résidence en Grande Camargue » représente un risque d'exposition au virus : en effet, les oiseaux résidant dans cette zone ont 7 fois plus de chance de séroconvertir que les oiseaux à l'ouest du Petit Rhône (*annexe 13*).

1.3.2. Année 2004

En se limitant aux départements de l'Hérault, du Gard et des Bouches-du-Rhône, on comptabilise 4 sites en Grande Camargue et 11 sites à l'ouest du Petit Rhône.

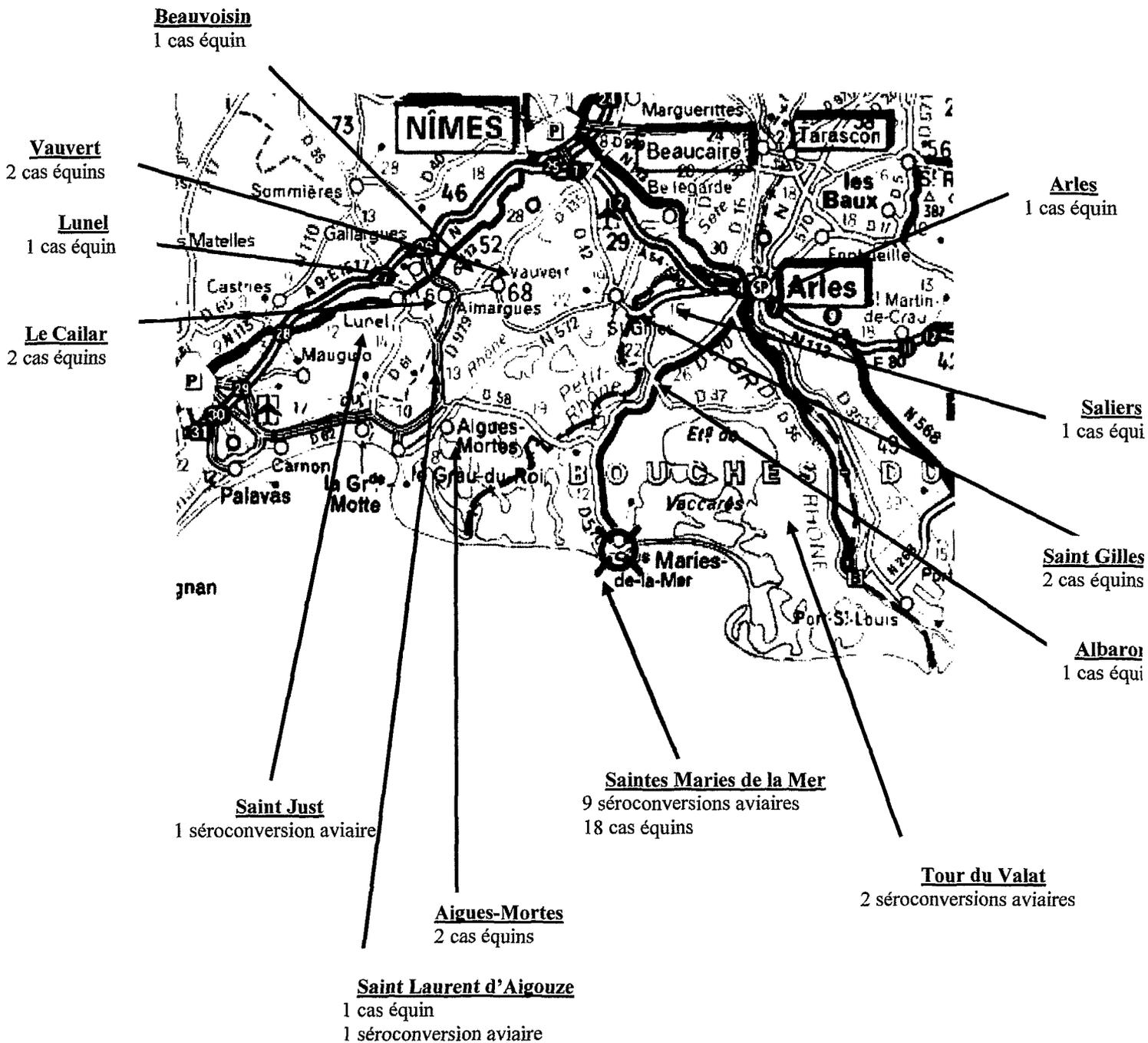
Tableau 14 : Nombre de séroconversions par zone en 2004

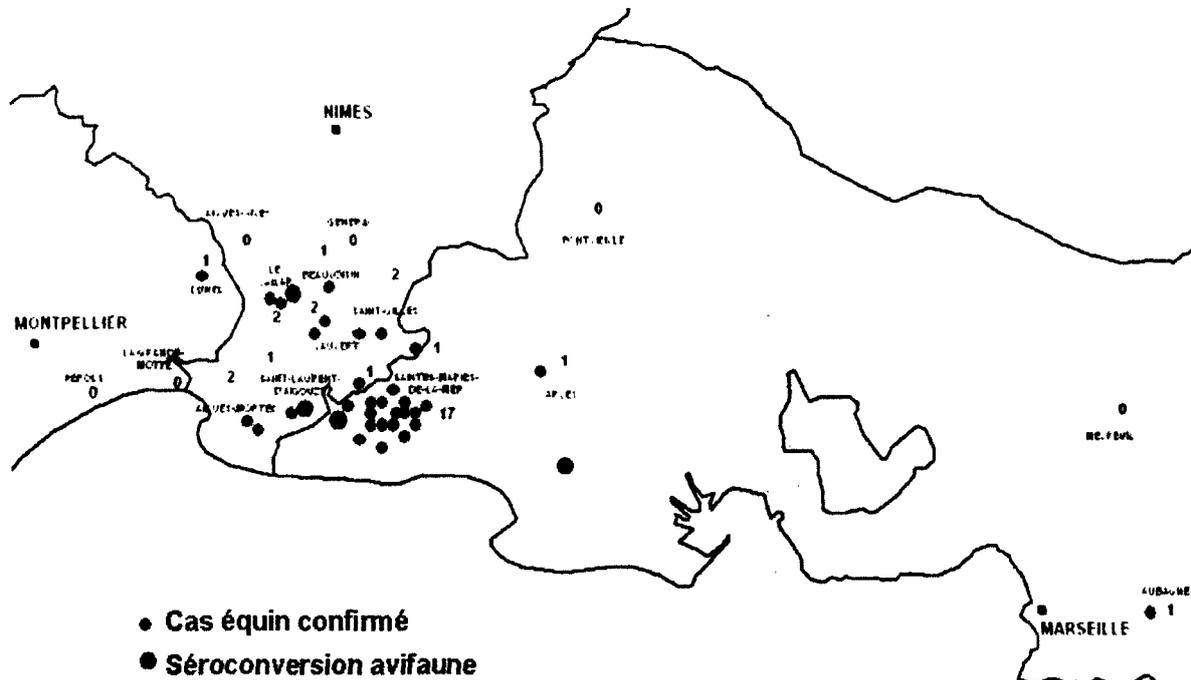
	séroconversion		Total des oiseaux suivis (à raison de 10 par sites)
	oui	non	
Oiseaux de Grande Camargue	11	29	40
Oiseaux à l'ouest du Petit Rhône	2	108	110
Total	13	137	150

En 2004, les séroconversions sont également significativement plus importantes en Grande Camargue qu'à l'ouest du petit Rhône.

Cependant, le risque d'exposition au virus devient 15 fois plus important pour les oiseaux de la première zone. (annexe13)

Il est à noter que 23 des 32 cas équin, soit près de 72%, se situent en Grande Camargue.





Figures 11 et 12 : localisation des séroconversions aviaires et des cas équins de 2004 (source : DAGL)

Dans cette zone, 18 cas équins sur 23 (soit environ 78%) et 9 séroconversions aviaires sur 11 (soit environ 82%) ont été observés aux Saintes Maries de la Mer.

En outre, c'est cette même commune qui a connu les premières séroconversions et les premiers cas équins de l'été 2004.

Ainsi, il semblerait que les Saintes Maries de la Mer ait été l'épicentre de l'épizootie de l'année 2004

En 2000, l'activité virale a principalement été détectée à l'ouest du Petit Rhône, dans une zone relativement sèche (Durand et *al.*2002).

Il semble donc difficile de prévoir la zone d'apparition d'une épizootie, mais la Camargue reste une zone à risque.

Ainsi, la question de la pertinence de garder des sites d'oiseaux sentinelles dans les départements des Pyrénées orientales, de l'Aude et du Var se pose.

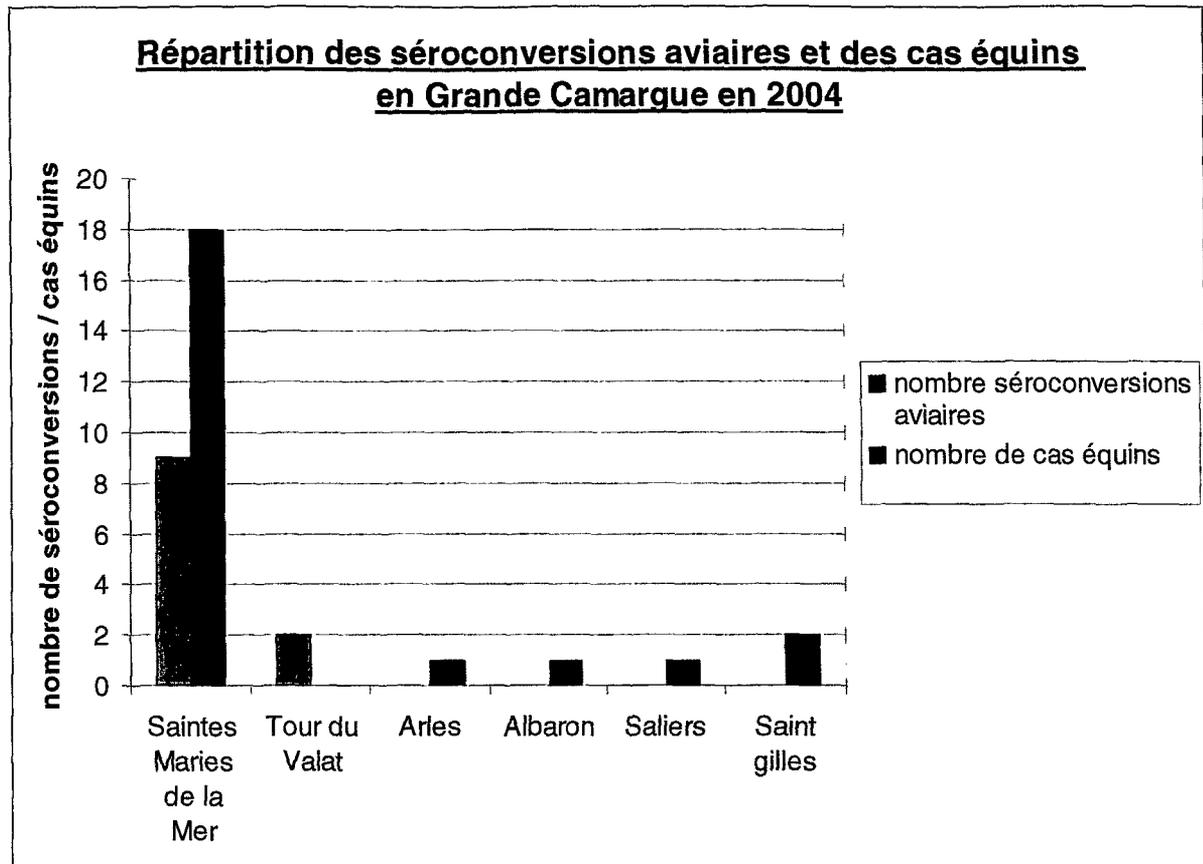


Figure 13 : Répartition des séroconversions aviaires et des cas équins en Grande Camargue en 2004

2. Prévalence

La prévalence est le nombre total de cas d'une maladie, dans une population déterminée, au cours d'une période donnée ou à un instant donné.

Elle renseigne sur la situation de la maladie à une date donnée. Elle correspond à une information statique, et non pas dynamique (Toma et *al*, 2003).

Dans notre étude, le nombre de cas correspond au nombre d'oiseaux testés positifs lors du premier contrôle du mois de juin et la population à l'ensemble des oiseaux prélevés à cette date.

2.1. En 2001

En 2001, le nombre d'oiseaux porteurs d'anticorps lors du premier contrôle était de 25 (14 canards appelants et 11 volailles domestiques) sur un total de 307 animaux prélevés au mois de juin (Hars et *al*, 2002. Rapport ONCFS/DGAL).

Tous ces oiseaux étaient adultes. Ils ont été remplacés pour les contrôles suivants. Ces oiseaux avaient donc acquis leur anticorps durant l'épisode 2000.

Ainsi, en 2001, la séroprévalence chez les oiseaux sentinelles s'estime à environ 8,1% (intervalle de confiance : 5% - 11.2%).

Tous les oiseaux séropositifs, excepté un canard des Bouches-du-Rhône, sont situés dans l'épicentre du foyer 2000, c'est à dire dans l'Hérault. L'activité virale qui a dominé dans cette région en 2000 est donc bien confirmée.

2.2. En 2002, 2003, 2004

D'une année sur l'autre, certains sites ont été conservés. Les oiseaux de ces sites ont donc été contrôlés en début de saison plusieurs années de suite. Or ces animaux ne gardent pas leur bagues d'identification durant la mauvaise saison : il est donc impossible d'interpréter les résultats des sérologies des mois de juin au risque de comptabiliser plusieurs fois un même cas.

2.3. Cas particulier du Var en 2004

Le contrôle du statut sérologique au mois de juin a révélé plusieurs oiseaux positifs dans deux sites différents :

- 4 poules positives sur 13 testées à Vidauban (site 8304) ;
- 6 poules positives sur 14 testées à Gonfaron (site 8311).

Pour la création de 2 des 5 sites des départements du Var, de jeunes canards nés dans l'année 2004 et provenant de Gallician (Gard) ont été acheminés sur place (sites 8301 et 8302).

Les oiseaux des 3 autres sites sont tous des adultes de plus de 1 an ayant toujours résidé sur le département.

Ainsi, sur les 63 animaux testés en début de saison, seulement 39 (12 pour le site 8313, 13 pour le site 8304 et 14 pour le site 8311) pouvaient éventuellement être positifs (les 24 oiseaux des sites 8301 et 8302 étaient forcément séronégatifs puisqu'ils n'avaient jamais pu entrer en contact avec le virus du Nil Occidental avant le début de la saison de surveillance).

La prévalence chez ces 39 individus est donc d'environ 25.6% (intervalle de confiance : 11,6% - 39.6%).

Ces séropositivités en début de campagne correspondent à des contacts viraux datant de 2003 et confirment que le virus a bien circulé intensément dans le Var en été 2003 (il est à rappeler que 6 cas humains et 4 cas équins ont été observés durant l'été 2003 dans le Var).

3. Discussion

Le réseau de surveillance de l'avifaune a permis de détecter les prémices de l'épizootie camarguaise en 2004 et a mis en évidence la circulation à bas bruit du virus en 2001 et 2002. L'objectif d'alerte précoce a donc été atteint.

L'étude des résultats obtenus au cours de la surveillance 2004 a permis de mettre en évidence que l'activité virale était plus intense en fin d'été /début d'automne (du 15 août au 15 octobre) et localisée en particulier en Grande Camargue avec un épicode situé aux Saintes Maries de la Mer.

Il paraît envisageable d'extrapoler ces résultats aux autres années : le peu de données obtenues rend en effet difficile toute tentative d'analyse pour les années 2001, 2002 et 2003.

A l'issue de la saison de surveillance 2004, on peut affirmer que la Camargue reste la zone de prédilection du virus du Nil Occidental (épisodes de 1962-1965, 2000, 2004).

En dehors de cette région, seul le Var a connu une épidémie/épizootie en 2003.

Il semble donc judicieux de continuer à surveiller la circulation du virus en Camargue et dans le Var et d'abandonner celle mise en place dans les départements des Pyrénées Orientales et de l'Aude, où le risque d'apparition de la maladie ne semble pas justifier le coût engendré.

TROISIEME PARTIE

LES MOYENS DE LUTTE CONTRE LE VIRUS DU NIL OCCIDENTAL

L'épidémiosurveillance est toujours menée dans un objectif de lutte. Sa finalité est la production d'informations sanitaires utilisables pour mettre en place des mesures prophylactiques adéquates.

Un guide des procédures de lutte contre la circulation du virus du Nil Occidental en France métropolitaine a été établi par la DGS en collaboration avec la DGAL et la DNP pour la saison de surveillance 2004.

I- LES MESURES PROPHYLACTIQUES A ENVISAGER

Les mesures de lutte disponibles contre les maladies se divisent en deux catégories (Toma et al. 2003):

- Les mesures sanitaires, qui correspondent à toute une série de précautions visant à éviter la contamination des individus sains ;
- Les mesures médicales, qui consistent en la mise en œuvre de la thérapeutique ou de la prophylaxie médicale (vaccin par exemple).

Aucun traitement spécifique de la fièvre du Nil Occidental n'étant connu à ce jour ni aucun vaccin utilisé en Europe, les mesures prophylactiques décrites dans les paragraphes suivants sont exclusivement sanitaires.

1. Mesures de protection individuelle contre les vecteurs

Les mesures de protection individuelles sont les plus simples à mettre en place et réduisent de façon considérable le risque de transmission du virus du Nil Occidental.

1.1. La réduction des piqûres d'insectes

- Le port de vêtements amples couvrant bras et jambes ;
- L'application d'un produit répulsif sur les zones de peau découverte ou encore l'imprégnation des vêtements avec un produit insecticide spécial pour tissu dans les zones particulièrement riches en moustiques ou pour les personnes pour lesquelles les répulsifs cutanés sont contre-indiqués ;
- L'utilisation de diffuseurs insecticides ou le recours à des moustiquaires dans les zones particulièrement riche en moustiques.

Ces mesures sont plus particulièrement à mettre en œuvre du coucher au lever du soleil, période où le risque de piqûres est le plus important.

L'emploi de répulsif nécessite une certaine prudence notamment vis-à-vis des jeunes enfants et des femmes enceintes. L'utilisation de répulsifs cutanés contenant du DEET (Diethyltoluamide) est en effet contre-indiquée chez les enfants de moins de 10 ans ; il convient également d'éviter d'appliquer tout produit répulsif sur les mains des jeunes enfants, ces produits étant irritants pour les yeux et la bouche. Chez les femmes enceintes, les répulsifs cutanés sont également contre-indiqués.

Un certain nombre d'insecticides destinés à combattre les moustiques adultes généralement conditionnés en spray, diffuseurs ou prises sont mis à la disposition du public dans les grandes surfaces, les magasins spécialisés (droguerie, jardinerie). Ces produits sont en vente libre mais il est recommandé d'être attentif aux précautions d'emploi figurant sur les emballages.

1.2. La lutte contre la prolifération des gîtes larvaires domiciliaires et péri-domiciliaires

Cette lutte est basée sur le contrôle par chaque individu des gîtes larvaires potentiels autour de sa résidence en éliminant les sources d'eau stagnante favorables à la ponte des moustiques.

Elle consiste à enlever régulièrement l'eau accumulée dans ou sur les objets ou articles extérieurs (soucoupe sous les pots de fleurs, les poubelles, couverture de piscine...), à éliminer autant que possible les récipients extérieurs, les pneus usagés, les couvertures des citernes pluviales et à nettoyer régulièrement les gouttières.

2. Lutte antivectorielle

En agissant sur la population des vecteurs, cette lutte permet de réduire le risque de piqûre, sans pour autant le supprimer totalement, et ainsi de minimiser l'impact du virus du Nil Occidental sur les populations humaines et équine.

Il est important de rappeler que l'utilisation des insecticides doit se faire avec discernement car ils représentent un risque non négligeable pour l'environnement et pour l'homme.

A la suppression des gîtes larvaires anthropiques à proximité des habitations évoquée précédemment, s'ajoutent les luttes antivectorielles à visée préventive et à visée curative.

2.1. Lutte antivectorielle préventive

Elle est basée sur l'application de traitements larvicides, plus efficaces et mieux ciblés que les traitements adulticides. Elle permet de limiter l'émergence des adultes dont la dispersion est susceptible de couvrir un territoire plus ou moins vaste selon les capacités de vol des individus.

Cette méthode est utilisée dans les programmes de contrôle intégré des moustiques, hors contexte de circulation du virus du Nil Occidental.

Dans un but prophylactique, cette stratégie impliquerait un repérage des gîtes larvaires sur l'ensemble du pourtour méditerranéen et leur suivi dans la saison pour détecter les développements larvaires justifiant les traitements, qui seraient alors de grande ampleur du fait du territoire à couvrir et de l'impossibilité de cibler précisément les espèces supposées vectrices.

Certains pays comme le Québec et certains états des Etats-Unis ont opté pour une stratégie préventive avec application de traitements dès le printemps dans les zones de circulation virale identifiées les années précédentes. L'efficacité de ces mesures n'est pas démontrée.

Dans ce contexte, la situation au plan national telle qu'elle a pu être observée au cours des dernières années, ne justifie pas à ce jour la mise en œuvre de ces traitements préventifs à grande échelle à la fois coûteux et dommageables pour l'environnement.

Il est à noter qu'en septembre 2000, sur la demande de l'état, l'EID méditerranée a appliqué un traitement anti-larvaire sur 220 hectares dans l'Hérault et sur 320 hectares dans le Gard.

2.2. Lutte antivectorielle curative

Elle consiste en l'utilisation de traitements adulticides qui permettent de réduire rapidement et localement la densité de moustiques.

La non sélectivité et l'impact sanitaire et écologique de ces traitements font que leur utilisation, quel que soit le niveau de risque observé, doit s'effectuer de manière raisonnée après connaissance du risque vectoriel qui s'évalue selon les critères suivants :

- la présence et la densité de la faune culicidienne anthropophile ;
- le potentiel de développement des populations de moustiques en fonction des surfaces et de la proximité de gîtes larvaires potentiels et de l'avancement de la saison ;
- la présence d'habitations humaines ou de sites d'activité humaine et de la densité des populations présentes.

En outre, le périmètre d'intervention doit être défini en théorie en fonction de :

- La capacité de dispersion des espèces soupçonnées de jouer un rôle vectoriel (*Culex* : 2-3 km ; *Anopheles* : 5-8 km ; *Ochlerotatus/Aedes* : 20-30 km pour certaines espèces) ;
- La présence d'habitations ou de sites d'activités et la densité du tissu urbain.

Dans tous les cas, le périmètre d'intervention sera centré autour du foyer plus ou moins défini. Cette approche donne ainsi la priorité aux opérations perifocales, avec un élargissement possible en présence d'un risque élevé pour l'homme. Si des opérations sont envisagées sur des territoires naturels protégés, l'avis de la DIREN, de la DDAF et des organismes gestionnaires de ces milieux sera sollicité.

3. Mesures vis-à-vis des produits de santé d'origine humaine

Ces mesures concernent les produits sanguins et les greffons.

3.1. Les produits sanguins

La virémie étant de courte durée chez l'homme (quelques jours seulement), le risque de transmission transfusionnelle du virus est limité au risque de prélever un donneur pendant cette brève période alors qu'il ne présente aucun signe clinique d'infection.

Pour limiter ce mode de contamination, plusieurs mesures peuvent être mise en place :

- Sensibilisation des médecins de collecte, sur les critères de sélection clinique, et des donneurs, sur la nécessité d'informer le centre de collecte en cas d'épisode fébrile ou de signes neurologiques survenant après le don, dans une zone de circulation virale active ;
- Renforcement de la sélection clinique intégrant une mesure spécifique d'exclusion temporaire des donneurs présentant des signes cliniques évocateurs d'une infection par le virus du Nil Occidental (de 14 jours après la résolution des symptômes ou de 28 jours après le contact) alors qu'ils résident où ont séjourné récemment dans la zone méditerranéenne (mesure mise en place du 1^{er} juin au 31 octobre) ;
- Suspension de la collecte dans la zone de circulation virale et, pour tous les donneurs ayant séjourné récemment dans cette zone, renforcement de la sélection clinique intégrant une mesure spécifique d'exclusion temporaire ;
- Mise en place d'une qualification biologique des dons par PCR virus du Nil Occidental de l'ensemble des donneurs résidant ou ayant séjourné récemment dans une zone de circulation virale active.

3.2. Les greffons

Des cas de contamination par la greffe d'organe ont été décrits aux USA. Les banques de tissus et les équipes de prélèvements et de greffe ont été avertis de ce risque.

Des mesures spécifiques de sélection des donneurs d'organes restent difficiles à mettre en œuvre chez les sujets décédés.

Pour les donneurs vivants, les mesures sont à adapter en fonction du type de greffon (organes, tissus ou cellules souches hématopoïétiques), et du rapport bénéfice / risque pour le receveur.

4. Les mesures médicales

4.1. Vaccin équin aux Etats-Unis

Aux Etats-Unis, deux types de vaccins équins sont disponibles (*West Nile Virus vaccination Guidelines, developed by the American Association of Equine Practitioners. Disponible en ligne http://www.aaep.org/pdf/AAEP_WNV_guidelines_2005.pdf*) :

- West Nile Innovator™ du laboratoire Fort Dodge Animal, vaccin inactivé monovalent ou plurivalent (les autres valences étant celles des Encéphalomyélites Equines de l'Est et de l'Ouest, EEE et WEE) ;
- Recombitek® du laboratoire Merial, vaccin vivant atténué monovalent.

Une primovaccination consistant en 2 injections à un mois d'intervalle ainsi qu'un rappel annuel sont nécessaires.

Dans les zones à risque, il est même recommandé de faire un rappel au printemps puis un second à la fin de l'été / début d'automne.

Il a été démontré expérimentalement que ces vaccins diminuaient l'amplitude de la virémie. Ils réduisent le risque d'infection par le virus du Nil Occidental mais ne préviennent pas complètement l'apparition de cas cliniques.

Ces vaccins ne sont pas utilisés en France.

4.2. Perspective d'un vaccin humain

Des chercheurs de l'Institut Pasteur viennent de démontrer l'efficacité chez l'animal d'un candidat-vaccin contre la fièvre du Nil Occidental.

Ils ont mis au point un candidat-vaccin contre l'infection par le virus du Nil Occidental en utilisant une souche vaccinale recombinante du virus de la rougeole : l'antigène protecteur du virus du Nil Occidental est en effet produit par la souche vaccinale Schwarz du virus de la rougeole, qui est le vaccin vivant pédiatrique contre la rougeole le plus communément utilisé dans le monde et dont l'efficacité et l'innocuité sont prouvées depuis des décennies.

Dans un modèle d'infection expérimentale par le virus du Nil Occidental, les animaux vaccinés par ce vaccin "mixte" rougeole/Nil Occidental sont totalement protégés contre une dose mortelle du virus du Nil Occidental. A l'inverse, tous les animaux témoins décèdent rapidement d'une encéphalite virale (*communiqué de presse de l'Institut Pasteur du 6 janvier 2005*).

En France, où les cas humains et équins restent sporadiques, une vaccination systématique des individus du pourtour méditerranéen semblerait abusive. En revanche, la connaissance de ces vaccins pourrait s'avérer utile en cas de forte épidémie et/ou épizootie.

II- EVALUATION DU RISQUE

Afin de protéger les personnes et de limiter la circulation du virus, il convient d'adapter la prophylaxie en fonction du risque.

Les degrés de risques sont identifiés grâce aux données de la surveillance épidémiologique du virus dans l'avifaune mais également dans la population équine (surveillance clinique nationale des équidés, inscrite dans le cadre réglementaire de déclaration obligatoire des encéphalites équines), la population humaine (surveillance clinique dans les départements méditerranéens).

- Niveau 1 : Activité virale présente chez les oiseaux
 - Niveau 1a : séroconversion isolée
 - Niveau 1b : séroconversions multiples ou mortalité aviaire due au virus du Nil Occidental
- Niveau 2 : Cas équins
- Niveau 3 : Cas humains

Pour les niveaux 2 et 3 il s'agit de cas autochtones, excluant les cas infectés dans des zones de circulation du virus (USA par exemple).

III- STRATEGIE D'INTERVENTION EN FONCTION DU RISQUE

En fonction du niveau de risque observé, la surveillance est renforcée, afin de mieux apprécier l'étendue et l'importance de la circulation virale, et les mesures prophylactiques adaptées sont mises en œuvre.

1. En cas de risque de niveau 1

1.1. Niveau 1a

➤ **Renforcement de la surveillance de l'avifaune**

Lors d'une séroconversion isolée d'un oiseau sentinelle, une nouvelle série de prélèvements des oiseaux localisés dans le secteur concerné est prévue afin de confirmer la séroconversion ou de détecter d'autres séroconversions.

1.2. Niveau 1b

➤ **Renforcement de la surveillance de l'avifaune**

Lors d'une séroconversion isolée d'un oiseau sentinelle, une nouvelle série de prélèvements des oiseaux localisés dans le secteur concerné est prévue afin de confirmer la séroconversion ou de détecter d'autres séroconversions.

➤ **Renforcement de la surveillance équine**

Les DDSV concernées sont tenues d'informer les vétérinaires sanitaires de la zone à risque, afin de les inviter à une vigilance particulière de la détection des cas équins.

➤ **Renforcement de la surveillance humaine**

Appel à la vigilance des établissements de soins de la zone à risque.

➤ **Contrôle des vecteurs**

Faire un diagnostic du risque pour l'homme afin de définir les opérations préventives adéquates et le périmètre d'intervention (périfocal).

➤ **Protection individuelle et réduction de sources domestiques**

Rappel des mesures de protection individuelle par communication locale.

➤ **Sécurisation des dons de sang et dons d'organes**

Information simple de l'AFSSaPS, EFS et EFG.

2. En cas de risque de niveau 2

➤ **Renforcement de la surveillance de l'avifaune**

Ce renforcement sera axé sur la surveillance de la mortalité aviaire : mise en alerte des réseaux SAGIR, des organisations impliquées dans la gestion ou l'étude de la faune sauvage ou des milieux naturels protégés de la zone par l'intermédiaire de l'ONCFS en collaboration avec les DDSV concernées, les DIREN et les DDAF.

➤ **Renforcement de la surveillance équine et investigations autour des cas**

La survenue de cas équins conduira à une mise en alerte des vétérinaires de la zone à risque, élargie aux secteurs limitrophes.

Des enquêtes de séroprévalence chez les chevaux pourront être réalisées par les DDSV autour des cas pour mieux caractériser l'intensité de l'activité virale mais aussi pour confirmer le caractère autochtone des cas et apprécier le caractère récent ou ancien des contaminations.

➤ **Renforcement de la surveillance humaine**

Appel à la vigilance des établissements de soins de la zone à risque.
Information et sensibilisation des établissements au niveau national.

➤ **Contrôle des vecteurs**

Faire un diagnostic du risque pour l'homme afin de définir les opérations préventives adéquates et le périmètre d'intervention (périfocal).

➤ **Protection individuelle et réduction de sources domestiques**

Communication locale et nationale en cas de cas groupés.
Diffusion d'une brochure d'information.

➤ **Sécurisation des dons de sang et dons d'organes**

Mise en alerte de AFSSaPS, EFS et EFG.

3. En cas de risque de niveau 3

➤ **Renforcement de la surveillance de l'avifaune**

Ce renforcement sera axé sur la surveillance de la mortalité aviaire : mise en alerte des réseaux SAGIR, des organisations impliquées dans la gestion ou l'étude de la faune sauvage ou des milieux naturels protégés de la zone par l'intermédiaire de l'ONCFS en collaboration avec les DDSV concernées, les DIREN et les DDAF.

➤ **Renforcement de la surveillance équine et investigations autour des cas**

La survenue de cas équins conduira à une mise en alerte des vétérinaires de la zone à risque, élargie aux secteurs limitrophes.

Des enquêtes de séroprévalence chez les chevaux pourront être réalisées par les DDSV autour des cas humains.

➤ **Renforcement de la surveillance humaine et investigations autour des cas**

Appel à la vigilance des établissements de soins de la zone à risque.

Information et sensibilisation des établissements au niveau national.

Investigation épidémiologique adaptée à la situation.

➤ **Contrôle des vecteurs**

Faire un diagnostic du risque pour l'homme afin de définir les opérations préventives adéquates et le périmètre d'intervention (périfocal).

➤ **Protection individuelle et réduction de sources domestiques**

Communication locale et nationale en cas de cas groupés.

Diffusion d'une brochure d'information.

➤ **Sécurisation des dons de sang et dons d'organes**

Mise en alerte de AFSSaPS, EFS et EFG.

QUATRIEME PARTIE
EVALUATION DU SYSTEME
DE SURVEILLANCE

Afin de porter un regard éclairé sur les résultats obtenus, il est primordial d'évaluer le système de surveillance.

En outre, cette analyse permettra, si besoin est, de proposer des améliorations tant sur le protocole de surveillance que sur l'organisation.

Dans la première partie, nous nous intéresserons à la « forme », tandis que la deuxième partie portera sur le « fond ».

I- EVALUATION DES ACTIONS MENEES PAR LE RESEAU POUR LA REALISATION DES OBJECTIFS EN 2004

Il convient ici de rappeler l'objectif du réseau de surveillance de la circulation du virus du Nil Occidental dans l'avifaune des départements méditerranéens : détection précoce de toute circulation virale afin d'alerter de façon précoce les professionnels de santé (vétérinaire et humaine) de l'activité virale.

1. Evaluation de la capacité du réseau à détecter les séroconversions en 2004

1.1. Sites et fréquence des prélèvements

Sur les 31 sites prévus initialement par le protocole, 30 sites ont été visités régulièrement pendant la saison de surveillance 2004.

Un site dans le département de l'Aude a été abandonné en tout début de campagne (seuls les prélèvements du mois de juin ont pu être effectués) ; le propriétaire du site 1111 s'est en effet désisté.

Tableau 15 : Nombre de sites prévus par le protocole et nombre de sites réellement suivis en 2004

Départements	Nombre de sites prévus initialement dans le protocole 2004	Nombre de sites réellement visités régulièrement durant la saison de surveillance 2004
Pyrénées Orientales	5	5
Aude	6	5
Hérault	5	5
Gard	4	4
Bouches-du-Rhône	6	6
Var	5	5
total	31	30

Les 150 séries de prélèvements (30 sites et 5 visites par site) ainsi prévues ont été réalisées dans leur totalité.

Seulement 16 d'entre elles ont été effectuées en dehors des dates décrites dans le protocole.

Ainsi, les acteurs du réseau (ici les agents techniques de l'ONCFS et les vétérinaires sanitaires) ont respecté dans 89% des cas le calendrier des prélèvements.

1.2. Qualité des prélèvements

La qualité des prélèvements a été excellente puisque 99% environ des échantillons sanguins reçus au CNR des Arbovirus ont pu être analysés.

Tableau 16 : Qualité des prélèvements en 2004

Qualité des prélèvements à leur arrivée au CNR des Arbovirus		
Prélèvements analysés	Satisfaisante : 1407	1516
	Recevable : 39	
	Quantité faible : 10	
Prélèvements non analysés	Quantité insuffisante : 5	19
	Tube cassé : 1	
	Tube vide : 2	
	Autres raisons : 11	

2. Evaluation de la capacité du réseau à alerter de façon précoce les autorités sanitaires en 2004

Le délai moyen entre la date des prélèvements et l'obtention des résultats a été d'une dizaine de jours, ce qui est satisfaisant dans un but d'alerte précoce.

Il est intéressant de rappeler ici que la première séroconversion aviaire a été observée entre le 15 juin et le 20 juillet tandis que les manifestations cliniques chez les équins ont commencé le 5 août (la période d'incubation est de 3 à 15 jours chez le cheval. *West Nile Virus vaccination Guidelines, developed by the American Association of Equine Practitioners. Disponible en ligne http://www.aaep.org/pdf/AAEP_WNV_guidelines_2005.pdf*).

En revanche, pour certains échantillons, 75 jours ont été nécessaires avant d'obtenir les résultats d'analyse, délai trop important pour prévenir les vétérinaires sanitaires et les centres hospitaliers de la présence du virus en cas de séroconversion.

Pour réduire le délai entre les prélèvements et les résultats, il pourrait être envisagé de supprimer l'étape de centrifugation des échantillons sanguins dans les LDAV.

Ceci impliquerait que les prélèvements arriveraient à l'Institut Pasteur sous forme de sang total et non plus sous forme de sérum.

L'hémolyse des échantillons étant trop importante au bout de 48h pour pouvoir procéder aux analyses (*H. Zeller, communication personnelle*), les prélèvements devraient être impérativement envoyés le jour même de la collecte.

Tableau 17 : Délai entre les différentes étapes des prélèvements aux résultats

	Echantillons pris en compte	minimum	maximum	moyenne	
		En jour			
Délai entre les prélèvements et leur dépôt aux LDAV	1084	0	6	0.35	>1 jr : 74
Délai entre le dépôt des prélèvements aux LDAV et leur envoi à l'Institut Pasteur	504	1	69	5	1-3 jrs : 356 6-7 jrs : 45 12-20 jrs : 101 >20 jrs : 2
Délai entre l'envoi des prélèvements et leur arrivée à l'Institut Pasteur	785	0	16	2	>5 jrs : 12
Délai entre l'arrivée des prélèvements à l'Institut Pasteur et les résultats	1532	0	39	3	
Délai entre les prélèvements et les résultats	1536	2	75	10	

On peut considérer que le programme de surveillance 2004 a globalement bien fonctionné grâce à une implication efficace de tous les acteurs du réseau et de l'expérience acquise depuis 2000.

3. Evaluation des capacités du réseau à surveiller les mortalités aviaires

L'estimation du nombre d'oiseaux morts qui feraient l'objet d'une recherche du virus WN en 2004 dans toute la France était de 500 à 1000 individus.

Très peu de cadavres (29 au total) ont été transmis au CNR en regard des efforts d'information et de sensibilisation entrepris.

Afin de s'assurer que ce faible rendement est imputable à une faible mortalité aviaire due au virus, il serait intéressant d'avoir connaissance du nombre d'appels des professionnels de la faune sauvage vers les interlocuteurs SAGIR en cas de découverte d'un cadavre d'oiseau afin de le comparer au nombre d'animaux analysés. Ceci permettrait effectivement de vérifier le bon fonctionnement du réseau SAGIR.

Tableau 18 : Hypothèses de dysfonctionnement du réseau SAGIR et propositions d'amélioration

<u>Hypothèses de dysfonctionnement du réseau SAGIR</u>	<u>Propositions</u>
- Interlocuteurs SAGIR : absence de déplacement suite à un appel	Consignation de tous les appels (date, motif, nombre d'oiseaux, espèce, lieu de découverte) durant toute la période de surveillance et restitution de ces enregistrements à l'USF de l'ONCFS en novembre.
- LDAV : décision de ne pas entreprendre de recherche virale alors que le cadavre est un cas potentiel	Consignation de tous les oiseaux reçus (date, nombre d'oiseaux, espèce, lieu de découverte, cause de la mortalité, envoi ou non à l'Institut Pasteur) durant toute la période de surveillance et restitution de ces enregistrements à l'USF de l'ONCFS en novembre.

Cependant, si le nombre d'oiseaux analysés est très inférieur à celui estimé, il a suffi à mettre en évidence le virus chez deux animaux.

II- EVALUATION DU PROTOCOLE DE LA SURVEILLANCE ACTIVE

1. Eléments qualitatifs : choix des sentinelles, choix des sites

Le choix des oiseaux sentinelles en terme d'espèce se fait prioritairement selon les critères suivants (Anonymous. 2003. Guidelines for Surveillance) :

- Espèce sensible à l'infection ;
- Taux de survie à l'infection de 100% et développement d'anticorps facilement détectables ;
- Ne présentant pas de risque d'infection pour les préleveurs ;
- Ne développant pas de virémie assez importante pour infecter les vecteurs.

En l'absence de la connaissance d'espèces d'oiseaux particulièrement impliquées dans le cycle biologique du virus, l'utilisation de canards appelants et de volailles domestiques comme sentinelles paraît satisfaisante (Langevin et al. 2001). En outre, ils présentent l'intérêt d'être facilement capturables et manipulables puisque captifs.

Afin d'optimiser la probabilité de détecter la présence du virus, ces sentinelles doivent être placées dans des zones stratégiques, c'est-à-dire écologiquement favorable au cycle d'amplification virale :

- zone de passage et /ou de nidification d'oiseaux migrateurs, susceptibles d'introduire le virus et d'entretenir une circulation virale à bas bruit ;
- zone où la densité de vecteurs est importante.

Le choix des sites s'est surtout fait sur des critères pratiques et sur la bonne volonté des chasseurs et des éleveurs qui ont bien voulu mettre à disposition leurs animaux.

A l'avenir, et dans la mesure du possible, il serait intéressant de sélectionner les sites après consultation des cartes des gîtes larvaires établies par l'EID méditerranée.

2. Eléments quantitatifs : plan d'échantillonnage

Dans le cadre d'une surveillance active, le plan d'échantillonnage est conditionné par 3 paramètres (Zientara et al, 2004. Rapport AFSSA):

- L'aire de la zone considérée, qui conditionne la taille de la population surveillée ;
- La valeur seuil du taux de séroconversion que l'on souhaite pouvoir détecter ;
- La périodicité des prélèvements.

2.1. Nombre d'oiseaux prélevés : taille de l'échantillon en 2004

On fait l'hypothèse qu'au sein de la zone géographique de surveillance (Pyrénées Orientales, Aude, Hérault, Gard, Bouches-du-Rhône, Var) la répartition spatiale des oiseaux est uniforme et qu'en cas d'épizootie la probabilité de séroconversion est également uniforme.

Ces hypothèses permettent de ramener le calcul de la taille de l'échantillon nécessaire à celui de la détection de la présence d'une maladie dans une population de taille finie. La taille de l'échantillon est obtenue par (Martin et al.1987) :

$$n = (1 - \alpha^{1/Np}) \left[N - \frac{(Np - 1)}{2} \right]$$

- n est la taille de l'échantillon ;
- N la taille de la population : le nombre d'oiseaux vivant dans la zone ;
- α est le risque de première espèce (par exemple 5%) ;
- p est la proportion de séroconversions que le dispositif doit permettre de détecter (avec une probabilité de $1-\alpha$).

Les investigations suite à l'épizootie de 2000 ont mis en évidence une prévalence de 8% chez les canards appelants (en IgG) et de 4.8% chez les chevaux (en IgM).

Ainsi, dans un but d'alerte précoce, il semble important de pouvoir détecter un taux de séroconversion inférieur ou égal à 5% :

Tableau 19 : Tailles des échantillons d'oiseaux sentinelles nécessaires pour la surveillance active de l'infection à virus du Nil Occidental dans les départements méditerranéens

Départements	Surface (en Km ²)	Population totale d'oiseaux (source : Agreste 2000)	Nombre d'oiseaux à prélever selon le taux de séroconversion à détecter				Nombre d'oiseaux réellement prélevés
			1%	2%	3%	5%	
Aude	6 370	1 057 455	1896	944	626	372	50
Bouches-du- Rhône	5 077	282 041	1508	751	499	296	62
Gard	5 824	1 366 149	1735	863	573	340	40
Hérault	6 202	365 418	1841	918	609	362	50
Pyrénées Orientales	4 134	99 531	1223	611	405	241	50
Var	6 073	370 601	1804	899	597	355	47
Total	33680	3 541 195	10 007	4 986	3 309	1 966	299

D'après cette méthode de calcul de la taille de l'échantillon, le nombre d'oiseaux à surveiller sur la zone considérée est de 1966 pour détecter un taux de séroconversion de 5%.

Durant la saison 2004, six à sept fois moins d'oiseaux (299 au total) ont été suivis sérologiquement sur les six départements.

Tableau 19 bis :

Départements	Nombre de sites	Nombre d'oiseaux à prélever par site pour détecter un taux de séroconversion de 5%	Nombre d'oiseaux réellement prélevés par site	Nombre de sites nécessaire pour détecter un taux de séroconversion de 5% si 10 oiseaux par site
Aude	5	75	10	37
Bouches-du-Rhône	6	50	10	30
Gard	4	85	10	34
Hérault	5	73	10	36
Pyrénées orientales	5	49	10	24
Var	5	71	10	36
Total	30	-	-	197

Le choix du nombre de 4 à 5 sites par département et du nombre de 10 oiseaux par site est arbitraire.

Si l'on veut augmenter le nombre d'oiseaux par site, la répartition géographique des 4 à 5 sites par département doit être stratégique.

En revanche, la création de nouveaux sites, tout en conservant le principe de 10 oiseaux par site, présente l'intérêt d'un meilleur recouvrement de la zone à surveiller.

La précision des résultats étant définie par la taille de l'échantillon, on peut affirmer que le protocole de surveillance active manque de sensibilité.

En effet, pour la détection du même taux de séroconversion de 5%, le suivi d'environ 2000 oiseaux permet d'obtenir une précision relative de 20% contre une précision relative de 50% pour 300 oiseaux (voir tableau 20).

Pour le même degré de précision, le protocole prévu ne permet que de détecter un taux de séroconversion de 25%.

Tableau 20 : Table de détermination du nombre de sujets nécessaires en fonction de la prévalence attendue et de la précision relative souhaitée, dans une population « infinie »(taux de sondage<10%). (Toma et al.2003)

Précision relative	Prévalence attendue (p. cent)													
	1	2	3	4	5	10	15	20	25	30	35	40	45	50
10 p. cent	3 8032	18 824	12 422	9 220	7 300	3 458	2 177	1 537	1 153	897	714	577	470	385
20 p. cent	9 508	4 706	3 106	2 305	1 825	865	545	385	289	225	179	145	118	97
30 p. cent	4 226	2 092	1 381	1 025	812	385	242	171	129	100	80	65	53	43
40 p. cent	2 377	1 177	777	577	457	217	137	97	73	57	45	37	30	25
50 p. cent	1 522	753	497	369	292	139	88	62	47	36	29	24	19	16
60 p. cent	1 057	523	346	257	203	97	61	43	33	25	20	17	14	11
70 p. cent	777	385	254	189	149	71	45	32	24	19	15	13	11	10
80 p. cent	595	295	195	145	115	55	35	25	20	17	14	13	11	10
90 p. cent	500	250	167	125	100	50	33	25	20	17	14	13	11	10
100 p. cent	500	250	167	125	100	50	33	25	20	17	14	13	11	10

2.2. Périodicité des prélèvements

On ne dispose pas des données nécessaires sur la dynamique des épidémies dues au virus du Nil Occidental pour fixer objectivement la valeur de la périodicité des prélèvements.

Il semble envisageable d'estimer qu'un prélèvement mensuel confère une réactivité acceptable au réseau de surveillance.

Malgré un manque certain de sensibilité, ce système de surveillance a tout de même permis de détecter un taux de séroconversion de 8.5% en Camargue.

Si ce réseau peu sensible a révélé en premier la circulation virale, c'est qu'elle était forte. Or il faut justement que cette circulation soit forte pour voir apparaître des cas humains et équins. Pour détecter le démarrage d'une épizootie/épidémie, un tel système semble donc suffisant.

CONCLUSION

CONCLUSION

Depuis 1999, l'épidémie / épizootie qui sévit aux Etats-Unis a engendré une reconsidération du danger que représente le virus West Nile pour la santé publique. Le virus West Nile a su montrer ses capacités à se propager rapidement sur de vastes territoires jusque là indemnes.

Même si le contexte épidémiologique français est beaucoup plus rassurant que le contexte du continent nord américain, les trois épisodes d'épizootie (1962-1965, 2000 et 2004) en Camargue et les 7 cas humains dans le département du Var en 2003 ont souligné la nécessité de disposer de systèmes de surveillance qui permettent d'évaluer le risque de transmission du virus aux populations équines et humaines.

Cependant, en cas de circulation virale avérée, les moyens de lutte restent limités à une vigilance des autorités sanitaires et à une réduction de la densité des vecteurs.

Un suivi de la situation épidémiologique par les réseaux de surveillance trouverait un surplus d'intérêt si des mesures préventives plus percutantes voyaient le jour (création d'un vaccin humain par exemple).

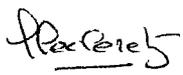
Le réseau de surveillance de la circulation du virus dans l'avifaune, même s'il manque de sensibilité, a su prédire l'épizootie observée en 2004 en Camargue et a donc rempli son objectif d'alerte précoce.

En revanche, pour la saison 2005, les départements des Pyrénées Orientales et de l'Aude ne feront plus partie du programme de surveillance.

A l'heure où la planète craint une pandémie de grippe aviaire (60 morts humaines en Asie en 2 ans), il est important de rappeler que la fièvre de West Nile, zoonose émergente, est à l'origine de plus de 500 morts aux Etats-Unis en 5 ans et d'une centaine dans l'Ancien Monde de 1994 à nos jours.

L'influence des médias ne doit pas faire perdre de vue aux autorités la nécessité de poursuivre les actions de surveillance et de recherche pour répondre aux questions que suscitent l'épidémiologie complexe de cette arbovirose.

**Le Professeur responsable
de l'Ecole Nationale Vétérinaire de Lyon
Lyon**

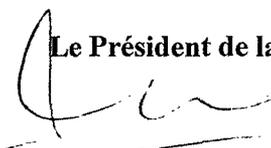

Pr. A. LAUERER

**Vu : Le Directeur
de l'Ecole Nationale Vétérinaire de
LE DIRECTEUR**


Stéphane MARTINOT



Le Président de la thèse




Vu et permis d'imprimer

Lyon, le


Pour le Président de l'Université,
Le Président du Comité de Coordination des Etudes Médicales,
Professeur D. VITAL-DURAND



ANNEXES

ANNEXE 1 : les Flavivirus du sérocomplexe de l'Encéphalite Japonaise à travers le Monde (d'après Solomon et al.2004.)

	<u>Encéphalite japonaise</u>	<u>Encéphalite de west nile</u>	<u>Encéphalite de Saint-louis</u>	<u>Encéphalite de la vallée de Murray</u>
Aire géographique	Asie du Sud, Asie du Sud Est, Chine, Australie du Nord, îles du Pacifique.	Afrique, Moyen Orient, Asie du Sud, Malaysia, Australie (Kunjin), sud de l'Europe, Amérique du Nord	Amérique du Nord, Amérique centrale, Amérique du Sud	Australie, Nouvelle-Guinée.
Vecteurs principaux	<i>Culex tritaeniorhyncus</i> , <i>C.vishmii</i> , <i>C.gelidus</i> , <i>C. pipiens</i>	<i>C.pipiens</i> , <i>C.restuans</i> , <i>C.quinquefasciatus</i> , <i>C.tarsalis</i>	<i>C.pipiens</i> , <i>C.tarsalis</i> , <i>C.quinquefasciatus</i>	<i>C.annulirostris</i> , <i>C.quinquefasciatus</i> , <i>Aedes normanensis</i>
Hôtes principaux	Oiseaux migrateurs, volailles domestiques, porcs.	Oiseaux de la famille des Corvidés (corneilles, geais bleus) et autres passereaux.	Pigeons, geais bleus, moineaux	Oiseaux
Population à risque	Enfants et adultes non immunisés dans les zones endémiques.	Personnes âgées et/ou immunodéprimées	Personnes âgées	Enfants et adultes non immunisés
Incidence approximative	30 000 à 50 000 cas annuels en Asie.	Cas sporadiques en Afrique. 300 à 3000 cas au Moyen Orient et en Amérique du Nord	35 cas annuels en moyenne.	40 cas en 25 ans.

**ANNEXE 2 : Espèces d'arthropodes hématophages chez lesquelles le virus
du Nil Occidental a été isolé en Europe et en Amérique**

(Source : Hubálek et al.1999, cdc)

Espèces	Pays
MOUSTIQUES	
Culex modestus	France, Russie
Culex pipiens	Roumanie, République tchèque, Bulgarie, Etats-Unis
Culex quinquefasciatus	Etats-Unis
Culex restuans	Etats-Unis
Culex salinarius	Etats-Unis
Culex tarsalis	Etats-Unis
Culex nigripalpus	Etats-Unis
Coquilletidia richiardi	Sud Russie, Bulgarie
Aedes albopictus	Etats-Unis
Aedes caspius	Ukraine
Aedes cantans	Slovaquie, Ukraine, Bulgarie
Aedes vexans	Russie, Etats-Unis
Anopheles macilipennis	Portugal, Ukraine
Ochlerotatus triseriatus	Etats-Unis
TIQUES MOLLES	
Ornithodoros capensis*	Azerbaïdjan
TIQUES DURES	
Hyalomma marginatum	Azerbaïdjan
Hyalomma detritum	Turkménistan
Rhipicephalus turanicus	Azerbaïdjan
Dermacentor marginatus*	Moldavie

*transmission expérimentale du virus prouvé

ANNEXE 3 : Biologie de *Culex pipiens* et *Culex modestus* (EID)

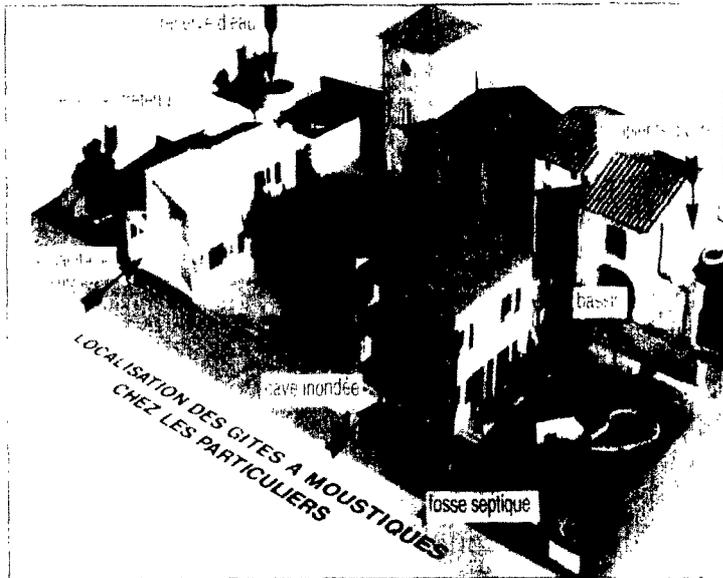
culex pipiens

le moustique des eaux urbaines

MESURES PREVENTIVES

Plusieurs espèces de moustiques qui se développent à la campagne (zones humides à submersion temporaire, cultures irriguées...) peuvent envahir périodiquement les agglomérations. Cette nuisance est généralement contrôlée avec succès par les services de l'EID Méditerranée.

Une espèce, *Culex pipiens*, se reproduit dans les eaux résiduaires urbaines au sein des habitations et dans leur environnement immédiat. La mauvaise gestion des eaux domestiques favorise sa prolifération. Des moyens simples, conformes à la législation en vigueur, permettent, le plus souvent, l'élimination radicale de ces sources de nuisance.



LA REGLEMENTATION

Les mesures préconisées font référence aux prescriptions fixées par :

- les arrêtés préfectoraux découlant de la loi du 16 décembre 1964 relative à la lutte contre les moustiques et du décret du 1er décembre 1965.
- les règlements sanitaires départementaux.



UNE PRESENCE EXCLUSIVEMENT LIFE AUX EAUX STAGNANTES

Culex pipiens pond environ 200 oeufs à la surface de l'eau. Larves et nymphes ont une vie aquatique d'une à trois semaines. Les adultes peuvent vivre un mois (photos : Patrick Lorne, Gilbert Sinègre).

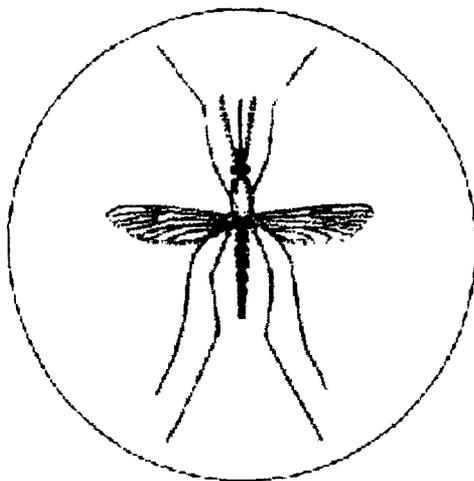
Les femelles sont à même de voler sur deux kilomètres environ, pour aller piquer, surtout de nuit, à l'intérieur des habitations. Leur agressivité augmente avec la chaleur et la quantité de matière organique présente dans l'eau.

EID MEDITERRANÉE

FICHE ESPECE MOUSTIQUE

CULEX MODESTUS

- *Culex (Barraudius) modestus* FICALBI, 1889 -



Adulte femelle :

Petit moustique sombre à l'abdomen tronqué. Palpes plus courts que la trompe. Premier segment des tarsez postérieurs plus court que le tibia.

Cycle biologique :

- Ponte : oeufs déposés sur l'eau, agglomérés en nacelle. L'éclosion suit rapidement la ponte.
- Développement aquatique : 10 à 15 jours.
- Période d'activité : d'avril à octobre. Hibernation à l'état adulte.

Habitat larvaire :

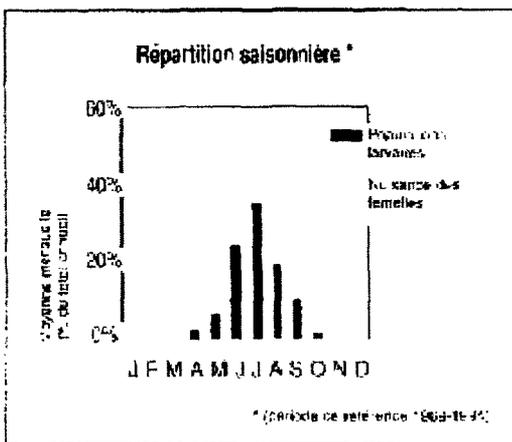
- Rizières, où se trouvent le maximum de gîtes larvaires et les densités maximum.
- Milieux naturels : en général, roselières d'eau claire à submersion permanente ou semi-permanente. Végétation dense à roseau commun et massettes dominants, salinité inférieure à 2g/l. Plus rarement, scirpales halophiles à scirpe maritime, jonc maritime, renoncule de Baudot et jonc en alène.

Nuisance des femelles :

- Dispersion : inférieure à 1 km. Dans le cas général, les femelles restent cantonnées sur le gîte larvaire.
- Agressivité : extrêmement forte mais limitée à la proximité et surtout au sein des roselières où les femelles piquent toute la journée. Ailleurs, nuisance crépusculaire et surtout nocturne.

Gestion :

Lutte anti-larvaire limitée aux gîtes situés à proximité immédiate des agglomérations à protéger. A ce titre, cette espèce n'est pratiquement pas prise en compte dans le programme de contrôle de nuisances.



Roselière



Rizière



ANNEXE 4
Surveillance du Nil Occidental - Dossier commémoratif

Fiche du site
(exemplaire à remettre avec le premier prélèvement)

<u>Nom du site</u>	<u>Propriétaire</u>
<u>Adresse</u>	
<u>Coordonnées GPS</u> X Y	<u>Système de mesure GPS utilisé</u>
<u>Environnement écologique</u>	<u>Commentaires</u>

Fiche oiseau
(exemplaire à remettre avec le premier prélèvement)

<u>Code d'identification :</u>	<i>Code du site</i>	-	<i>Code couleur</i>
		-	
<p style="text-align: center;"><i>Le code d'identification de l'oiseau se compose de la manière suivante :</i> <i>Code su site – Couleur1Couleur2</i> <i>Par exemple l'oiseau situé sur le site 1305 et bague Rouge Vert sera identifié :</i> <i>1305-RV</i></p>			
<u>Espèce</u>	<u>Sexe :</u> <input type="checkbox"/> Femelle		
Age	<input type="checkbox"/> Mâle		
<u>Commentaires</u>			

ANNEXE 6 : saisie des prélèvements par les LDAV

Volet Aviaire de la surveillance

Dans le cas de la surveillance sentinelle, veuillez ne saisir que les informations pour lesquelles les cellules sont colorées.

[Retour au menu de la surveillance](#)

Enregistrement d'un nouveau prélèvement

Connexion pour : ONCFS

Auteur de la fiche :

Date du prélèvement (aaaa-mm-jj)

Code du Prélèvement :

Code de l'oiseau :

Code du lot :

Lieu

Site :

Commune :

Propriétaire :

Oiseau

Espèce :

Age :

Sexe :

Femelle Mâle

Indéterminé

Nb. Oiseaux sensibles :

Nb. Oiseaux morts :

Date de la première mortalité : (aaaa-mm-jj)

Description des symptômes

Encéphalite

Autre

Statut :

Trouvé mort Malade

Description :

Prélèvement

Sérum Sang EDTA

Tête Corps

Autre :

Mode de conservation

Congélateur (-20°C)

Glacière / Frigo (+4°C)

Température ambiante

Date de remise au laboratoire (aaaa-mm-jj)

Enregistrer ce prélèvement

ANNEXE 8 : suivi des résultats pour les acteurs du réseau

Volet Aviaire de la surveillance

[Revenir au menu de la surveillance](#)
 [Modifier / Consulter](#) un prélèvement existant en cliquant sur son identifiant dans le tableau
 Connexion pour : ONCFS

Sélectionner un lot dans la liste : Sélectionner

Lot sélectionné : **003386**

| Code Prélèvement | Date Prélèvement | Localité | Objet | Espèce | Statut | Conclusion finale |
|---------------------------|------------------|------------|--------|--------|--------------------------|--------------------------|--------------------------|--------------------------|--------------------------|--------------------------|--------------------------|-----------------------|
| 003386/1 | 2004-08-10 | weingarten | 1321B | POULE | <input type="checkbox"/> | negatif |
| 003386/2 | 2004-08-10 | weingarten | 1321BB | POULE | <input type="checkbox"/> | negatif |
| 003386/3 | 2004-08-10 | weingarten | 1321RB | POULE | <input type="checkbox"/> | negatif |
| 003386/4 | 2004-08-10 | weingarten | 1321RV | POULE | <input type="checkbox"/> | negatif |
| 003386/5 | 2004-08-10 | weingarten | 1321JJ | POULE | <input type="checkbox"/> | negatif |
| 003386/6 | 2004-08-10 | weingarten | 1321RR | POULE | <input type="checkbox"/> | negatif |
| 003386/7 | 2004-08-10 | weingarten | 1321R | POULE | <input type="checkbox"/> | negatif |
| 003386/8 | 2020-00-04 | weingarten | 1321VB | POULE | <input type="checkbox"/> | negatif |
| 003386/9 | 2004-08-10 | weingarten | 1321J | POULE | <input type="checkbox"/> | positif |
| 003386/10 | 2020-00-04 | weingarten | 1321VV | POULE | <input type="checkbox"/> | negatif |
| 003386/11 | 2020-00-04 | weingarten | 1321VJ | POULE | <input type="checkbox"/> | douteux; à reconrôler |
| 003386/12 | 2020-00-04 | weingarten | 1321RJ | POULE | <input type="checkbox"/> | negatif |

ANNEXE 9 : page d'accueil du site <http://west-nile.cirad.fr>

Surveillance de la fièvre de West Nile en France

A
P
H
D
P
L
P
S
B
R

*Une infection des oiseaux
ne peut affecter
l'homme*



Surveillance des oiseaux

Bienvenue

Bienvenue sur le site consacré à la surveillance de la fièvre de West Nile en France.

Ce site a été créé dans le cadre du réseau d'épidémiosurveillance mis en place sur le pourtour méditerranéen français.

Son but est d'informer la population sur cette maladie et de mettre en place un carrefour de l'information entre les différents partenaires.

Dépêches :

Un peu d'histoire du virus West Nile

17
septembre
2004

Publiée dans la revue :
Virologie, mai-juin
2004. Volume 8,
Numéro 3

Au choix : le résumé
ou l'article complet
en anglais

Point sur les
suspensions. Cas
humains : 6 confirmés
et un cas probable.

31 octobre
2003

Cas équins: 3
confirmés et un cas
équin probable dans
l'Ouest du Var
(détails). La circulation
virale dans le Var
semble avoir été
limitée à août et
septembre 2003.

La fièvre de West Nile (fièvre du Nil occidental)

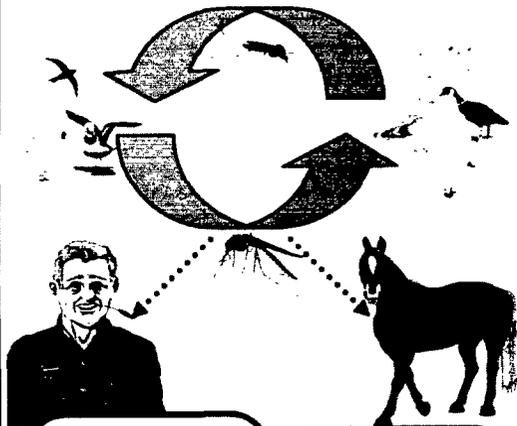
Édition 2004

QU'EST-CE QUE LA FIÈVRE DE WEST NILE ?

C'est une maladie due à un **virus** transmis par certains moustiques aux oiseaux et accidentellement aux chevaux et à l'homme.

En France, ce virus est isolé pour la première fois en 1964 en **Camargue** où il a été à nouveau détecté en 2000 et dans le Var en 2003.

Épidémies humaines ou équine récentes dues à ce virus : Roumanie, Russie, Israël, Etats - Unis, Afrique du Nord.



Chez l'homme

Le plus souvent, maladie inapparente. Dans 20% des cas, syndrome grippal. Très rarement, méningo-encéphalite (4 cas dans le Var en août 2003)

Chez le cheval

Le plus souvent, maladie inapparente. Parfois, troubles nerveux pouvant conduire à la mort (21 morts en Camargue en 2000)

Le littoral méditerranéen est considéré comme la zone la plus à risque en France. La maladie apparaît généralement lorsque les moustiques sont très actifs, d'août à octobre.

LE VIRUS WEST NILE ET LES OISEAUX...

Le virus est introduit par les oiseaux **migrateurs**.



De nombreuses espèces d'oiseaux sont considérées comme les **réservoirs** du virus.



Jusqu'à présent en France, les oiseaux semblent héberger le virus **sans présenter de symptômes**.



En revanche, les Etats - Unis connaissent de fortes **mortalités aviaires** (en particulier, les corneilles et les geais). Ces mortalités aviaires anormales précèdent généralement les **cas humains et équine**.



SURVEILLER LA MALADIE...

Détecter précocement toute mortalité anormale des oiseaux, c'est protéger l'homme et le cheval

En cas de découverte d'un cadavre d'oiseau

NE PAS le TOUCHER

MEMORISER
le lieu de la découverte

CONTACTER
l'interlocuteur SAGIR* du département de la découverte (liste au verso)

L'interlocuteur SAGIR viendra chercher l'oiseau pour effectuer un prélèvement qui sera acheminé au LDAV afin d'y être analysé

Les frais d'analyse sont pris en charge par le ministère chargée de l'agriculture.

*SAGIR : Réseau national, animé par l'Office National de la Chasse et de la Faune Sauvage (ONCFS) et les Fédérations Départementales des Chasseurs (FDC) qui étudie les causes de la mortalité de la faune sauvage (maladies, intoxications...)

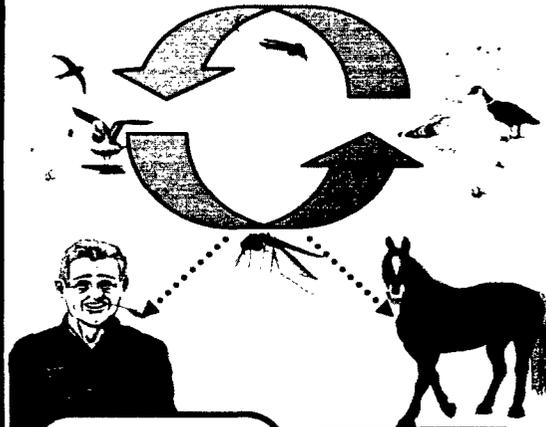
ANNEXE 10 : plaquette informative distribuée en juin 2004

QU'EST - CE QUE LA FIÈVRE DE WEST NILE ?

C'est une maladie due à un **virus** transmis par certains moustiques aux oiseaux et accidentellement aux chevaux et à l'homme.

En France, ce virus est isolé pour la première fois en 1964 en **Camargue** où il a été à nouveau détecté en 2000 et dans le Var en 2003.

Épidémies humaines ou équines récentes dues à ce virus : Roumanie, Russie, Israël, Etats - Unis, Afrique du Nord.



Chez l'homme

Le plus souvent, maladie inapparente. Dans 20% des cas, syndrome grippal. Très rarement méningo-encéphalite (4 cas dans le Var en août 2003)

Chez le cheval

Le plus souvent, maladie inapparente. Parfois, troubles nerveux pouvant conduire à la mort (21 morts en Camargue en 2000)

Le littoral méditerranéen est considéré comme la zone la plus à risque en France. La maladie apparaît généralement lorsque les moustiques sont très actifs, d'août à octobre.

LE VIRUS WEST NILE ET LES OISEAUX...

Le virus est introduit par les oiseaux **migrateurs**.

De nombreuses espèces d'oiseaux sont considérées comme les **réservoirs** du virus.

Jusqu'à présent en France, les oiseaux semblent héberger le virus **sans présenter de symptômes**.

En revanche, les Etats - Unis connaissent de fortes **mortalités aviaires** (en particulier, les corneilles et les geais). Ces mortalités aviaires anormales précèdent généralement les **cas humains et équins**.



SURVEILLER LA MALADIE...

Détecter précocement toute mortalité anormale des oiseaux, c'est protéger l'homme et le cheval

En cas de découverte d'un cadavre d'oiseau

NE PAS le TOUCHER

MEMORISER
le lieu de la découverte

CONTACTER
l'interlocuteur **SAGIR*** du département de la découverte (liste au verso)

L'interlocuteur SAGIR viendra chercher l'oiseau pour effectuer un prélèvement qui sera acheminé au LDAH afin d'y être analysé.

Les frais d'analyse sont pris en charge par le ministère chargé de l'agriculture.

*SAGIR : Réseau national, animé par l'Office National de la Chasse et de la Faune Sauvage (ONCFS) et les Fédérations Départementales des Chasseurs (FDC) qui étudie les causes de la mortalité de la faune sauvage (maladies, intoxications, ...)

ANNEXE 11 : Listing des sites 2004

<u>Code du site</u>	<u>Nom du site</u>	<u>Adresse</u>	<u>Environnement écologique</u>	<u>commentaires</u>
6601	Mas la rigole	66600 SALSES	Plaine, vigne	Canards (en provenance du Gard)
6602	Montesquieu	66740 MONTESQUIEU	Plaine, vigne	Canards (en provenance du Gard) Présence de volailles domestiques, chevaux
6603	Mas Pardals	66300 CASTELNOU	Garrigue	Canards (en provenance du Gard)
6604	Saint Cyprien	66 SAINT CYPRIEN	Prairie	Canards (en provenance du Gard)
6605	Domaine de la flotte	66740 SAINT GENIS LES FONTAINES	Plaine, vigne	Canards (en provenance du Gard) Site au sein d'un élevage de volailles domestiques
1101	Port la Nouvelle	11300 SIGEAN	Garrigue, étangs	Canards
1102	Gruissan	11530 GRUISSAN		Canards Site abandonné fin juin (destruction des oiseaux par un renard) et remplacé par le 1105
1103	Prat de ceste	11100 PRAT DE CESTE	Prairie, pinède	Canards (autochtones)
1104	Ouveillan	11590 OUVEILLAN	Milieu urbain	Canards (autochtones)
1105	Gruissan	11530 GRUISSAN	Plaine côtière	Canards Site remplaçant le 1102
1111	Domaine des salines	11210 PORT LA NOUVELLE	Garrigue, étangs	Site abandonné en juin : désistement du propriétaire
1112	Réserve africaine	11300 SIGEAN	Lagunes, salines	Canards (autochtones)
3401	Villeneuve	34750 VILLENEUVE LES MAGUELONES	Marais	Canards (autochtones)

3402	Les cabanes du salaison	34130 MAUGUIO	Etang	Canards (autochtones) Présence de chevaux
3403	Les cabanes de Lunel	34590 MARSILLARGUES	Bord de roubine	Canards (autochtones) 4 canards morts de botulisme en juin
3404	Mas plagnol	34 SAINT CHRISTOL	Prairie, pinède	Canards (autochtones)
3405	Le village	34400 SAINT JUST	Milieu urbain	Canards (autochtones)
3001	Mas « Saint Jean de la pinède »	30 SAINT LAURENT D'AIGOUZE	Pinède, vignes	Canards (autochtones)
3002	Aimargues	30 Aimargues	Milieu urbain	Canards (autochtones)
3003	Le bourg	30 VAUVERT	Milieu urbain	Canards (autochtones)
3004	Saint Gilles	30800 SAINT GILLES	Arbres fruitiers, vignes	Canards
1301	Tour du Valat	Le Sambuc 13200 ARLES	Camargue (milieu humide)	Canards (autochtones) Présence d'autres canards, poules, chevaux
1302	Basses Méjanès	13200 ARLES	Camargue (milieu humide)	Canards (autochtones)
1303	Aureille	13 AUREILLE	Garrigue (Alpilles, milieu sec)	Canards (en provenance du Gard) Présence de volailles domestiques
1304	Salins de Giraud	13200 ARLES	Camargue (milieu humide)	Canards (autochtones) Présence de volailles domestiques
1305	Les vignettes	13127 VITROLLES	Milieu urbain	Canards (autochtones)
1321	Draille des capellans	13460 Les Saintes Maries de la Mer	Camargue (milieu humide)	Poules (autochtones)
8301	Domaine de sainte Maïsse	83340 LE CANNET DES MAURES	Plaine des Maures	Canards (en provenance du Gard) Site au sein d'un élevage de volailles domestiques

8302	Fréjus	83 FREJUS	Pinède	Canards (en provenance du Gard) Présence de volailles domestiques
8313	La Palanque	83440 TANNERON	Forêt d'eucalyptus	Poules (autochtones)
8304	Chemin de la Rourède	83550 VIDAUBAN	Milieu urbain	Poules (autochtones)
8311	Hameau des ânes	83 GONFARON	Prairie, pinède	Poules (autochtones) Présence de chevaux

ANNEXE 12 : sites, oiseaux suivis et rythme des prélèvements

année	départements	sentinelles	sites	Nombre d'oiseaux suivis	Nombre de visites	Nombre de prélèvements traités par les LDAV
2001	Bouches-du-Rhône	appelants	6 (n°1301 à 1306)		6	15
		volailles	5 (n°1311, 12, 13 et 1321, 22)		3 à 4	146
	Gard	appelants	3 (n°3001, 02 et 04)		4 à 5	457
		volailles	3 (n°3011 à 3013)		2	66
	Hérault	appelants	7 (n°3401 à 3407)		4 à 5	259
		volailles	4 (n°3411 à 3414)		1 à 2	68
total			28	260		1011
2002	Bouches-du-Rhône	appelants	5 (n°1301, 02 et 1304, 05, 06)	54	5 à 6	20
		volailles	4 (n°1311, 1314, 1321, 1322)	34 (le site 1311 a fait l'objet d'un seul prélèvement)	1 à 4	96
	Gard	appelants	3 (n°3001, 02 et 03)	32	5	369
		volailles	4 (n°3011 à 3014)	40	2	92
	Hérault	appelants	6 (n°3401 à 3406)	62	4 à 5	279
		volailles	3 (n°3411, 3421, 3422)	10 (les sites 3411 et 3421 ont fait l'objet d'un seul prélèvement)	1 à 3	40
total			25	232 (84 volailles)		896

				et 148 canards)		
2003	Bouches-du- Rhône	appelants	5 (n°1301 à 1305)	57	2 à 3	
		volailles	2 (n° 1321, 1322)	22	4	78
	Gard	appelants	4 (n°3001 à 3004)	44	5	407
	Hérault	appelants	5 (n°3401 à 3405)	62	4 à 5	245
total			16	185 (22 volailles et 163 canards)		730
2004	Pyrénées Orientales	appelants	5 (6601 à 66 05)	50	5	271
	Aude	appelants	4 (1101, 1103, 1104, 1105)	50	5	278
		Canards de la réserve de Sigean	1 (1112)			
	Hérault	appelants	5 (3401 à 3405)	50	5	231
	Gard	appelants	4 (3001 à 3004)	40	5	199
	Bouches -du- Rhône	appelants	4 (1302, 1303, 1304, 1305)	12 poules et 50 canards	5	313
		Volailles	2 (1321 : poules, 1301 : canards mulards)			
	Var	Canards appelants	2 (8301, 8302)	27 poules et 20 canards	5	246
Volailles domestiques		3 (8304, 8311, 8313)				
total			30		299 (260 canards 39 poules)	1538

ANNEXE 13 : détails calculs statistiques

Intervalles de confiance des incidences

On ne connaît pas la véritable valeur du pourcentage d'incidence dans la population des oiseaux de Camargue et il n'est pas possible de la mesurer car il faudrait étudier la totalité de la population ; on travaille donc sur un échantillon dans cette population et, à partir des observations faites sur cet échantillon, on cherche à tirer des conclusions sur la véritable valeur de la proportion dans la population (*Toma et al*).

C'est en déterminant l'intervalle de confiance que l'on estime le pourcentage d'incidence à l'échelle de la population d'oiseaux.

Intervalle de confiance : $p \pm 2\delta$

Avec $\delta = \sqrt{(pq/n)}$

p=incidence observée

q=1-p

n=taille de l'échantillon

Conditions d'application de la formule : $np > 5$

- 2004

$np > 5$

$\delta = \sqrt{(0.915 \cdot 0.085)/152}$

Intervalle de confiance : 0.085 \pm 0.045, soit [4% - 13%]

- 2001

$np < 5$, l'intervalle de confiance ne peut être calculé

- 2002

$np < 5$, l'intervalle de confiance ne peut être calculé

Incidence par année

- Comparaison incidence 2001/2004 : test X^2

Hypothèse nulle : les incidences de 2001 et 2004 ne sont pas significativement différentes

En noir : effectifs observés (O)

En rouge : effectifs théoriques (C)

	Séroconversions		<u>total</u>
	oui	non	
2001	1	259	260
	6.51	185.58	
2004	13	139	152
	3.83	109.2	
Total	14	399	559

Pour un tableau de contingence à un seul degré de liberté (tableau 2*2), il est possible d'utiliser la correction de Yates lorsqu'un seul des effectifs théoriques est < à 5 (mais > à 3). Elle consiste à retrancher 0.5 à chaque différence absolue « effectif observé-effectif théorique », avant de l'élever au carré (*Toma et al*).

$$X^2_c = \sum (O - C - 0.5)^2 / C$$

$X^2_c = 60.5$ rejet de l'hypothèse nulle ($X^2_c > 3.84$) avec un risque d'erreur de 5%.

Conclusion : la différence entre les pourcentages d'incidence de 2001 et 2004 est significative : il y a plus de séroconversions en 2004 qu'en 2001.

- Comparaison incidence 2002/2004 : test X^2

	Séroconversions		<u>total</u>
	oui	non	
2001	1 6.51	259 185.58	260
2004	13 3.83	139 109.2	152
Total	14	399	559

En noir : effectifs observés (O)

En rouge : effectifs théoriques (C)

$X^2_c = 17.21$ rejet de l'hypothèse nulle au risque d'erreur de 5%

Conclusion : la différence entre les pourcentages d'incidence de 2002 et 2004 est significative : il y a plus de séroconversions en 2004 qu'en 2002.

Incidence par périodes

- Comparaison incidence période du 15/06/04 au 15/08/04 avec la période du 15/08/04 au 15/10/04 : test X^2

	Séroconversions		<u>total</u>
	oui	non	
Période du 15/06/04 au 15/08/04	3 6.565	149 145.565	152
Période du 15/08/04 au 15/10/04	10 6.435	139 142.565	149
Total	13	288	301

En noir : effectifs observés (O)

En rouge : effectifs théoriques (C)

$X^2 = 4.087$ rejet de l'hypothèse nulle au risque d'erreur de 5%

Conclusion : la différence du nombre de séroconversions pendant les périodes du 15/06/04 au 15/08/04 et du 15/08/04 au 15/10/04 est significative. Il y a plus de séroconversions entre le 15/08/04 et le 15/10/04 qu'entre le 15/06/04 et le 15/08/04.

Incidence par zones géographiques

- Comparaison entre les séroconversions observées en Grande Camargue et celles observées à l'ouest du Petit Rhône sur les 4 années de surveillance

	séroconversion		Total des oiseaux sui (à raison de 10 par sit
	oui	non	
En noir : effectifs observés (O)			
Oiseaux de Grande Camargue	12	298	310
	5.536	304.464	
En rouge : effectifs théoriques (C)			
Oiseaux à l'ouest du Petit Rhône	3	527	530
	9.464	520.536	
Total	15	825	840

$X^2 = 12.27$ rejet de l'hypothèse nulle au risque d'erreur de 5%

Calcul du risque relatif RR : $RR = ((12/310)/(3/530)) = 6.84$

Conclusion : la différence du nombre de séroconversions en Grande Camargue et à l'ouest du petit Rhône est significative. Il y a plus de séroconversions dans la première zone.

- Comparaison entre les séroconversions observées en Grande Camargue et celles observées à l'ouest du Petit Rhône en 2004

	séroconversion		Total des oiseaux suivis (à raison de 10 par sites)
	oui	non	
En noir : effectifs observés (O)			
Oiseaux de Grande Camargue	11	29	40
	3.47	36.53	
En rouge : effectifs théoriques (C)			
Oiseaux à l'ouest du Petit Rhône	2	108	110
	9.53	100.47	
Total	13	137	150

$X^2 = 21.27$ rejet de l'hypothèse nulle au risque d'erreur de 5%

Calcul du risque relatif RR : $RR = ((11/40)/(2/110)) = 15.2$

Conclusion : la différence du nombre de séroconversions en Grande Camargue et à l'ouest du petit Rhône est significative. Il y a plus de séroconversions dans la première zone en 2004.

ANNEXE 14 : bilan des cas équins 2004 **(source : DGAL)**

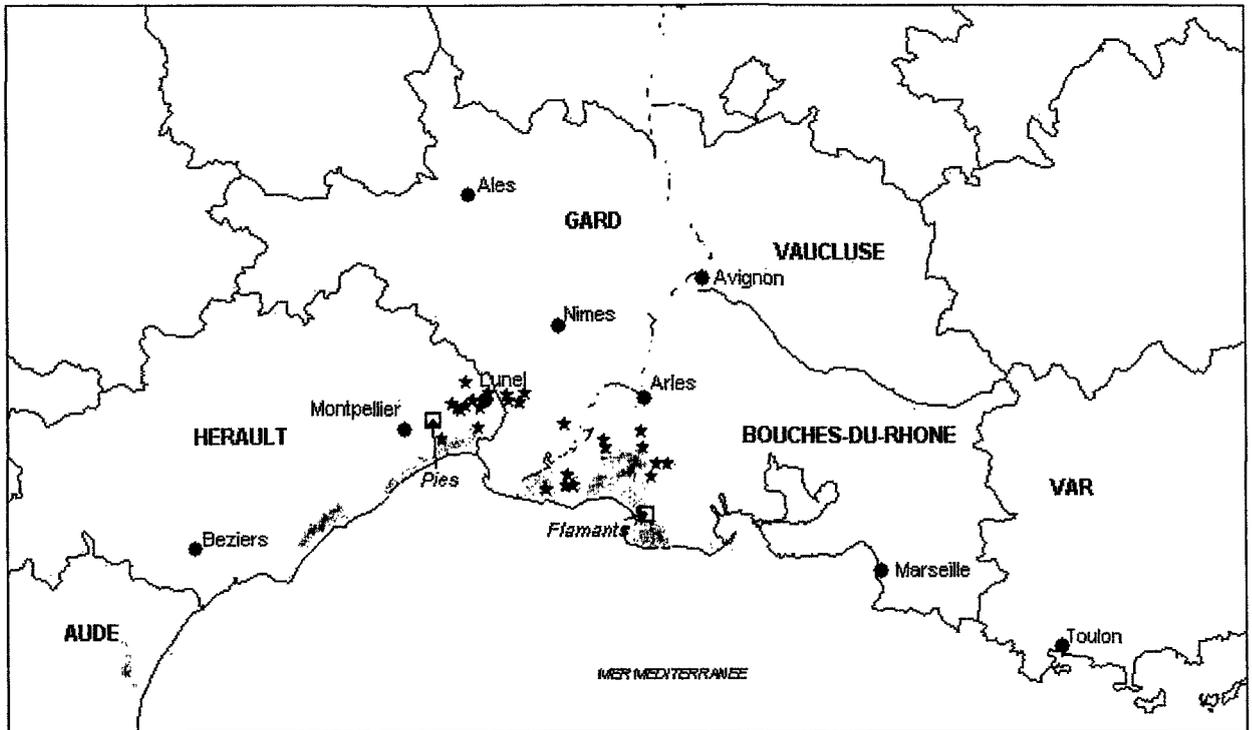
Débuts des signes cliniques	Date de consultation (date de prélèvement)	Commune où réside le cheval	Type de prélèvement	Résultats
05/08/04	06/09/04	Saintes Maries de la mer	sérum	IgM+
14/08/04	27/08/04	Saintes Maries de la mer	sérum	IgG+ et IgM+
26/08/04	02/09/04	Saintes Maries de la mer	sérum	IgG+ et IgM+
27/08/4	27/08/04	Saintes Maries de la mer	sérum	IgG+ et IgM+
02/09/04	09/09/04	Aubagne (séjour aux Saintes du 01/07/04 au 26/08/04)	sérum	IgG+ et IgM+
05/09/04	06/09/04	Saintes Maries de la mer	sérum	IgM+
05/09/04	13/09/04	Saintes Maries de la mer	sérum	IgG+ et IgM+
06/09/04	06/09/04	Saintes Maries de la mer	sérum	IgM+
?	09/09/04	Saintes Maries de la mer	Sérum encéphale	PCR +
11/09/04	13/09/04	Saintes Maries de la mer	Sérum encéphale	PCR +
12/09/04	13/09/04	Saint Gilles	Sérum	IgG+ et IgM+
?	15/09/04	Saintes Maries de la mer	sérum	IgM+
17/09/04	21/09/04	Saint Laurent d'Aigouze	Sérum	IgG+ et IgM+
18/09/04	21/09/04	Saintes Maries de la mer	sérum	IgM+
20/09/04	20/09/04	Le Cailar	sérum	IgM+
20/09/04	22/09/04	Le Cailar	Sérum	IgG+ et IgM+
?	25/09	Beauvoisin	Sérum encéphale	PCR +, IgG+ et IgM+
23/09/04	26/09/04	Albaron	Sérum	IgG+ et IgM+
24/09/04	27/09/04	Saliers	Sérum	IgG+ et IgM+
25 /09/04	02/10/04	Vauvert	Sérum	IgG+ et IgM+
26/09/04	04/10/04	Lunel	Sérum	IgG+ et IgM+
27/09/04	29/09/04	Saintes Maries de la mer	sérum	IgG+ et IgM+
28/09/04	29/09/04	Saintes Maries de la mer	sérum	IgG+ et IgM+

28/09/04	29/09/04	Saintes Maries de la mer	sérum	IgG+ et IgM+
?	28/09/04	Arles	sérum	IgG+ et IgM+
?	28/09/04	Saintes Maries de la mer	sérum	IgG+ et IgM+
30/09/04	30/09/04	Saint Gilles	sérum	IgG+ et IgM+
03/10/04	04/10/04	Vauvert	sérum	IgG+ et IgM+
03/10/4	05/10/04	Saintes Maries de la mer	sérum	IgG+ et IgM+
11/10/04	12/10/04	Aigues-Mortes	sérum	IgG+ et IgM+
12/10/04	12 /1004	Saintes Maries de la mer	sérum	IgG+ et IgM+
14/10/04	14/10/4	Aigues-Mortes	sérum	IgG+ et IgM+

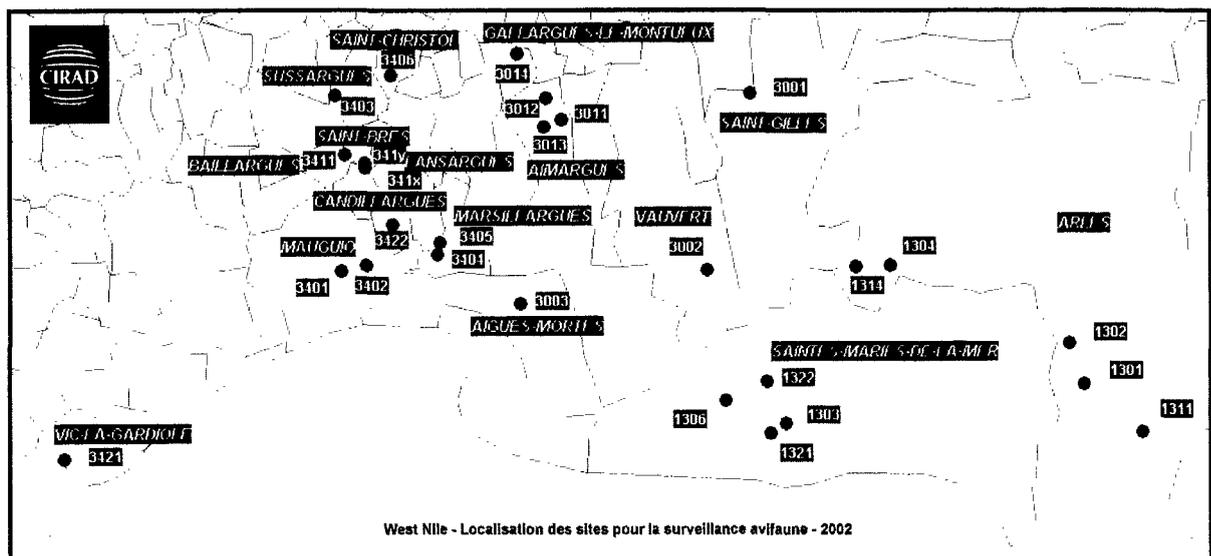
ANNEXE 15

Cartes des sites d'oiseaux sentinelles 2001, 2002, 2003 et 2004 (source :CIRAD)

Sites 2001



Sites 2002



Sites 2003

BIBLIOGRAPHIE

Bibliographie

Rapports

1. Hars J, Auge P, de Visscher M-N, Fruitet L, Keck N, Murgue B, Pourrut X, Zeller H, Zientara S (2001) : Etude préliminaire sur l'infection de l'avifaune du département de l'Hérault par le virus West Nile en 2000. Rapport ONCFS/DGAL. 17p.
2. Hars J, Auge P, Balanca G, de Visscher M-N, Chavernac D, Keck N, Murgue B, Pradel J, Zeller H (2002) : Programme de surveillance de l'infection de l'avifaune par le virus West Nile en 2001 dans la Petite et la Grande Camargue. Rapport ONCFS/DGAL. 21p.
3. Hars J, Auge P, Balanca G, Chavernac D, Keck N, Pradel J, Zeller H (2003) : Programme de surveillance de l'infection de l'avifaune par le virus West Nile en 2002 dans la Petite et la Grande Camargue. Rapport ONCFS/DGAL. 17p.
4. Hars J, Auge P, Chavernac D, Keck N, Gerbier G, Roger F, Gregory M, Pradel J, Zeller H, Schott P (2004) : Programme de surveillance de l'infection de l'avifaune par le virus West Nile en 2003 dans la Petite et la Grande Camargue. Rapport ONCFS/DGAL. 23p.
5. Hars J, Mortamais M, Auge P, Gaudin J.C, Chavernac D, Baldet T, Hendrikx P, Languille J, Scuffenecker I, Zeller H (2005) : Programme de surveillance de l'infection par le virus West Nile en 2004. Rapport ONCFS/DGAL. 24p.
6. Hursault A (2003). Analyse critique des systèmes d'épidémiologie de la Fièvre du Nil Occidental, particulièrement dans la faune sauvage. Rapport ENSV. 65p. **Non publié.**
7. Zientara S, Baldet T, Durand B, Hars J, Lagneau C, de Lamballerie X, Murgue B, Reiter P, Zeller H, Hattenberger A-M, Gauchard F (2004). Rapport sur la surveillance de l'infection à virus West Nile en France. Rapport Afssa. 54 p.
8. Babinot M, Bardin O, Lagneau C, Schaffner F, Sidos N (2003). Compte rendu de l'enquête entomologique réalisée dans le Var (du 13 au 15 octobre 2003, suite à l'épisode de transmission du virus West Nile). Rapport EID Méditerranée. 8 p.

Références bibliographiques

9. Anonyme (2004). Guide de procédures de lutte contre la circulation du virus West Nile en France métropolitaine. Ministère de la Santé et de la Protection Sociale, Ministère de l'Agriculture, de la Pêche et des Affaires rurales, Ministère de l'Ecologie et du Développement Durable. 45 p.
10. Anonymous (1999). Update : West Nile Virus Encephalitis—New York, 1999. *MMWR* 48(41);944-946
11. Anonymous (2000). Update: West Nile Virus Activity—Northeastern United States, 2000. *MMWR* 49(46);1044-1047
12. Anonymous (2000). Guidelines for Surveillance, Prevention, and Control of West Nile Virus Infection-United States. *MMWR* 49:25-28
13. Anonymous (2001). Weekly Update: West Nile Activity—United States, November 2001. *MMWR* 50(47);1061-1062
14. Anonymous (2002). West Nile Virus Activity—United States, 2001. *MMWR* 51(23);497-501
15. Anonymous (2002). Investigations of West Nile Virus among recipients of organ transplantation and blood transfusion. *MMWR* 51:834-836
16. Anonymous (2002). Provisional Summary of the West Nile Virus Epidemic-United States, January-November 2002. *MMWR* 51:1129-1133
17. Anonymous (2002). Laboratory-Acquired West Nile Virus Infections-United States, 2002. *MMWR* 51:1133-1135
18. Anonymous (2002). Intrauterine West Nile Virus Infection-New York, 2002. *MMWR* 51:1135-1136
19. Anonymous (2003). West Nile Virus Activity—United States, November 2003. *MMWR* 52(47);1160-1160
20. Anonymous (2003). Epidemic/epizootic West Nile virus in the United States : Guidelines for Surveillance, Prevention and Control. 3rd revision. Centers for disease Control, 77pp. Disponible en ligne à : <http://www.cdc.gov/ncidod/dvbid/westnile/publications.htm>
21. Anonymous (2004). West Nile Virus Activity—United States, September 2004. *MMWR* 53(36);850-851

-
22. Austgen LE, Bowen R, Bunning ML, Davis BS, Mitchell CJ, and Chang GJ (2004). Experimental Infection of Cats and Dogs with West Nile Virus. *Emerging Infectious Disease* 10:82-85
23. Autorino GL, Battisti A, Deubel V, Ferrari G, Forletta R, Giovanni A, Ielli R, Murri S, Scicluna MT (2002). West Nile virus epidemic in horses, Tuscany region, Italy. *Emerging Infectious Diseases* 12:1372-1378
24. Buckley A, Dawson A, Moss SR, Hinsley SA, Bellamy PE and Gould EA (2003). Serological evidence of *West Nile virus*, *Usutu virus* and *Sindbis virus* infection of birds in the UK. *Journal of General Virology* 84:2807-2817
25. Burt FJ, Grobelaar AA, Leman PA, Anthony FS, Gibson GVF, Swanepoel R (2002). Phylogenetic relationships of Southern African West Nile virus isolates. *Emerging Infectious Diseases* 8(8):820-826
26. Centre canadien de coopération de la santé de la faune
West Nile fever : Reporting and submitting dead birds.
Wildlife.usask.ca
27. Cernescu C, Nedelcu NI, Tardei G, Ruta S, Tsai TF (2000). Continued transmission of West Nile virus to humans in Southeastern Romania, 1997-1998. *Journal of Infectious Diseases* 181:710-712
28. Charles PE, Zeller H, Bonnotte B, Decasimacker AL, Bour JB, Chavanet, Lorcerie (2003). Imported West Nile Virus infection in Europe. *Emerging Infectious Diseases* 9(6).
29. Chevalier V, Durand B, Gerbier G, Babinot M, Michel JF, Toure I et Zientara S (2002). Analyse spatiale de l'épizootie d'infection à virus West Nile chez les chevaux de Camargue en 2000 : résultats et perspectives. *Epidémiologie et Santé Animale* (42) 123-131
30. Docherty DE, Long RR, Griffin KM and Saito EK (2004). *Corvidae* Feather Pulp and West Nile Virus Detection. *Emerging Infectious Disease* 10:907-909
31. Dohm DJ, Sardelis MR, Turell MJ (2002). Experimental vertical transmission of West Nile virus by *Culex pipiens* (Diptera: Culicidae). *J Med Entomol* 39:640-644
32. Dupuis AP, Marra PP, Kramer LD (2003). Serologic Evidence of West Nile Virus Transmission, Jamaica, West Indies. *Emerging Infectious Diseases* 9(7):860-863.
33. Durand B, Chevalier V, Pouillot R, Labie J, Marendat I, Murgue B, Zeller H, Zientara S (2002). West Nile Virus Outbreak in Horses, Southern France, 2000: Results of a Serosurvey. *Emerging Infectious Diseases* 8(8):777-782
34. Komar O, Robbin MB, Klenk K, Blitvich BJ, Marlenee NL, Burkhalter KL, Gubler DJ, González G, Peña CJ, Townsend Peterson A, Komar N (2003). West Nile Virus Transmission in Resident Birds, Dominican Republic. *Emerging Infectious Diseases* 9(10):1299-1302

35. Ebel GD, Dupuis AP, Nicholas D, Young D, Maffei J, Kramer LD (2002). Detection by Enzyme-Linked Immunosorbent Assay of Antibodies to *West Nile virus* in Birds. *Emerging Infectious Diseases* 8(9):979-982
36. El Harrack M, Le Guenno B, Gounou P (1997). Isolement du virus West Nile au Maroc. *Virologie* 1(3) :248-249
37. Estada-franco JG, Navarro-Lopez R, Beasley DW.C, Coffey L, Carrara A-S, Travassos da Rosa A, Clements T, Wang E, Ludwig GV, Campomanes Cortes A, Paz ramirez P, Tesh RB, Baret A, Weaver SC (2003). West Nile Virus in Mexico: Evidence of Widespread Circulation Since July 2002. *Emerging Infectious Diseases* 9(12):1604-1607
38. Gaillet JR (2002). Présentation du réseau SAGIR. *Bull Epid 05 sept 02*.
39. Garmendia AE, Van Kruiningen HJ, French RA, Anderson JF, Andreadis TG, Kumar A, West AB (2000). Recovery and identification of West Nile virus from a Hawk in Winter. *Journal of Clinical Microbiology* 38(8):3110-3111
40. Giladi M, Metzker-Cotter E, Martin DA, Siegman-Igra Y, Korczyn AD, Rosso R, Berger SA, Campbell GL, Lanciotti RS (2001). West Nile encephalitis in Israël, 1999: the New York connection. *Emerging Infectious Diseases* 7:654-658
41. Guptill SC, Julian KG, Campbell GL, Price SD and Marfin AA (2003). Early-Season Avian Deaths from West Nile Virus as Warnings Human Infection. *Emerging Infectious Disease* 9:483-484
42. Han LL, Popovici F, Alexander Jr Jp, Laurentia V, Tengelsen LA, Cernescu C et al (1999). Risk factors for West Nile virus Infection and Meningoencephalitis, Romania 1996. *Journal of Infectious Diseases* 179:230-233
43. Hannoun C, Panthier R, Mouchet J, Eouzan JP (1964). Isolement en France du virus West Nile à partir de malades et du vecteur *Culex modestus Ficalbi*. *C R Acad Sc Paris* 259 :4170-4172
44. Hubàlek Z and Halouzka J (1999). West nile Fever-a Reemerging Mosquito-Borne Viral Disease in Europe. *Emerging Infectious Disease* 5:643-650
45. Komar N (2000). West Nile viral encephalitis. *Rev Sci tech Off int Epiz* 19(1), 166-76
46. Komar N, Panella NA, Burns JE, Dusza SW, Mascarenhas TM, Talbot TO (2001). Serologic Evidence for West Nile Infection in Birds in the New York City Vicinity During an Outbreak in 1999. *Emerging Infectious Diseases* 7(4).
47. Komar O, Robbin MB, Klenk K, Blitvich BJ, Marlenee NL, Burkhalter KL, Gubler DJ, González G, Peña CJ, Townsend Peterson A, Komar N (2003). West Nile Virus Transmission in Resident Birds, Dominican republic. *Emerging Infectious Diseases* 9(10):1299-1302
48. Langevin SA, Bunning M, Davis B, Komar N (2001). Experimental Infection of Chickens as candidate sentinels for West Nile Virus. *Emerging Infectious Diseases* 7(4):726-729

49. Lawrie CH, Uzcátegui NY, Gould EA, Nuttall PA (2004). Ixodid and Argasid Tick species and West Nile virus. *Emerging Infectious Diseases* 10(4):653-657.
50. Lucas M, Mashimo T, Frenkiel MP, Simon-Chazottes D, Montaguelli X, Ceccaldi PE, Guenet JL, Despres P (2003). Infection of mouse neurons by West Nile virus is modulated by the interferon-inducible 2'-5' oligoadenylate synthetase 1b protein. *Immunol Cell Biol* 81:230-236
51. Mailles A, Dellamonica P, Zeller H, Durand JP, Zientara S, Goffette R, Gloaguen C, Armengaud A, Schaffner F, Hars J, Chodorge E, Barbat J (2003). Human and equine West Nile virus infections in France, August-September 2003. *Eurosurv Wkly*, vol.7, issue 43 (23/10/2003)
52. Martin SW, Meek AH, Willeberg P (1987). *Veterinary Epidemiology, principles and methods*. Iowa state university press, Ames, USA, 343 p
53. Mashimo T, Lucas M, Simon-Chazottes D, Montaguelli X, Ceccaldi PE, Deubel V, Guenet JL, Despres P (2002). A nonsense mutation in the gene encoding 2'-5'-oligoadenylate synthetase/L1 isoform is associated with West Nile virus susceptibility in laboratory mice. *Proc Natl Acad Sci USA* 99:11311-11316
54. Mengin D (1980). Zoonoses bactériennes et virales en Camargue. Thèse pour l'obtention du grade de docteur en médecine. Université de Montpellier, faculté de médecine.
55. Miller Br, Nasci RS, Godsey MS, Savage HM, Lutwama JJ, Lanciotti RS, Peters CJ (2000). First field evidence for natural vertical transmission of West Nile virus in *Culex univittatus* complex mosquitoes from Rift valley province, Kenya. *Am J Trop Med Hyg* 48:757-762
56. Mondet B (2000). Le virus West Nile, un arbovirus ré-émergent. Texte du cycle de conférences « Savoirs partagés », Montpellier, Agropolis Muséum, 22 novembre 2000.
57. Mostashari F, Kulldorf M, Hartman JJ, Miller JR and Kulasekera V (2003). Dead Bird Clusters as an Early Warning System for West Nile Virus Activity. *Emerging Infectious Disease* 9:641-646
58. Murgue B, Murri S, Zientara S, Durand B, Durand JP, Zeller H (2001). West Nile Outbreak in Horses in France, 2000: The Return after 35 Years. *Emerging Infectious Diseases* 7(4):692-696
59. Nasci RS, savage HM, White DJ, Miller JR, Cropp BC, Godsey MS, Kerst AJ, Benett P, Gottfried K, Lanciotti RS (2001). *Emerging Infectious Diseases* 7(4)
60. Panthier R, Hannoun C, oudar J, Beytout D, Corniou B, Joubert L, Guillon JC, Mouchet J (1966). Isolement du virus West Nile chez un cheval de Camargue atteint d'encéphalomyélite. *C R Acad Sc Paris* 262 :1308-1310
61. Platonov AE, shipulin GA, Shipulina OY, Tyutyunnik EN, Frolochkina TI, Lanciotti RS, Yazyshina S, Platonova OV, Obukhov IL, Zhukov AN, Vengerov YY, Pokrovskii VI (2001).

Outbreak of west Nile Virus Infection, Volgograd region, russia, 1999. *Emerging Infectious Diseases* 7(1):128-130

62. Quirin R, Salas M, Zientara S, Zeller H, Labie J, Murri S, Lefrançois T, Petitclerc M, Martinez D (2004). West Nile Virus, Guadeloupe. *Emerging Infectious Diseases* 10(4):706-708

63. Rappole JH, Derrickson SR, Hubálek Z (2000). Migratory Birds and spread of west Nile Virus in the Western Hemisphere. *Emerging Infectious Diseases* 6(4):319-328

64. Rollin PE, Rollin D, Martin P, baylet R, Rhodain F, Hannoun C. Résultats d'enquêtes séroépidémiologiques récentes sur les arboviroses en Camargue: populations humaines, équines, bovines et aviaires. *Médecine et maladies Infectieuses* 1982 ;12 :77-80.

65. Solomon T, M.D., Ph.D. Flavivirus Encephalitis. *N Engl J Med* 2004 ;351 :370-8

66. Tesh RB, Parsons R, Siirin M, Randle Y, Sargent C, Guzman H, Wuithiranyagoo L, Higgs S, Vanlandingham DL, Baler AA, Haas K, Zerinque B (2004). *Emerging Infectious Diseases* 10(9):

67. Toma B, Dufour B, Sanaa M, Bénét JJ, Shaw A, Moutou F, Louza A (2003). *Epidémiologie appliquée à la lutte contre les maladies animales transmissibles majeures*. 2^{ème} édition. 696p.

68. Toussaint Y (2003). Espèces d'oiseaux potentiellement impliquées dans l'écologie du virus West Nile en Camargue. Thèse de doctorat vétérinaire, présentée à l'Université Claude-Bernard Lyon 1 et soutenue publiquement le 27 juin 2003. 198 p.

69. Zlotnik PM de A, Goud EA, Gao GF, Harvey PH, Holmes EC. Population dynamics of flaviviruses revealed by molecular phylogenies. *Proc Natl Acad Sci USA* 1996;93:548-553

70. Zeller H, Schuffenecker I (2004). West Nile Virus: An overview of Its Spread in Europe and the Mediterranean Basin in Contrast to Its Spread in the Americas. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 23:147-156

71. Weinberger M, Pitlik SD, Gandacu D, Lang R, Nassar F, Ben David D, Rubinstein E, Izthaki A, Mishal J, Kitzes R, Siegman-Igra Y, Giladi M, Pick N, Mendelson E, Bin H, Shohat T, Chowers MY (2001). West Nile Fever Outbreak, Israël, 2000: Epidemiologic Aspects. *Emerging Infectious Diseases* 7(4):686-689

MORTAMAI MARION

**LA FIEVRE DU NIL OCCIDENTAL : EPIDEMIOSURVEILLANCE
CHEZ LES OISEAUX DANS LES DEPARTEMENTS FRANÇAIS DU
POURTOUR MEDITERRANEEN : EXTENSION DU PROTOCOLE
ET RESULTATS EXPERIMENTAUX**

Thèse Vétérinaire : Lyon , le 10 janvier 2006

RESUME : La fièvre du Nil Occidental est une arbovirose au cycle épidémiologique complexe dans lequel les oiseaux jouent le rôle d'hôtes amplificateurs. Chez l'homme et le cheval, hôtes accidentels, le virus du Nil Occidental peut provoquer des méningo-encéphalites parfois mortelles. Découvert en 1937 sur le continent africain, le virus du Nil Occidental s'est ensuite rapidement propagé aux continents américain et européen en quelques dizaines d'années. Si l'épidémie la plus importante reste celle qui sévit aux Etats-Unis depuis 1999, la France a connu une épizootie en Camargue en 2000.

Un système de surveillance de l'infection de l'avifaune par le virus du Nil Occidental a été mis en place dès 2001 en Camargue ; ses objectifs sont la détection précoce de toute circulation virale (détection de séroconversions sur des oiseaux sentinelles) et la détection de mortalité aviaire imputable au virus du Nil Occidental.

A la suite de l'épisode de fièvre du Nil Occidental dans le département du Var en 2003 (7 cas humains et 4 cas équins), la zone géographique de surveillance pour la saison 2004 a été élargie aux départements des Pyrénées orientales, de l'Aude et du Var.

Alors que le virus semble avoir circulé à bas bruit durant les années 2001, 2002 et 2003, l'année 2004 a été témoin d'une activité virale importante (13 séroconversions aviaires, 32 cas équins). Cette activité semble s'être limitée géographiquement à la Camargue et en particulier à la commune des Saintes Maries de la Mer (Bouches-du-Rhône).

Si le système de surveillance de l'infection à virus du Nil Occidental des oiseaux des départements français du pourtour méditerranéen manque de sensibilité, il a tout de même révélé en premier la circulation du virus du Nil Occidental en 2004 et a donc rempli ses objectifs.

MOTS CLES :

- Nil Occidental (West Nile)
- Avifaune
- Epidémiologie

JURY :

Président : Monsieur le Professeur Christian CHIDIAC
1er Assesseur : Monsieur le Professeur Antoine LACHERETZ.
2ème Assesseur : Madame le Professeur Véronique GUERIN-FAUBLEE
Membre invité : Docteur Jean HARS

DATE DE SOUTENANCE : 10 janvier 2006

ADRESSE DE L'AUTEUR :

Daüs
07 200 AILHON