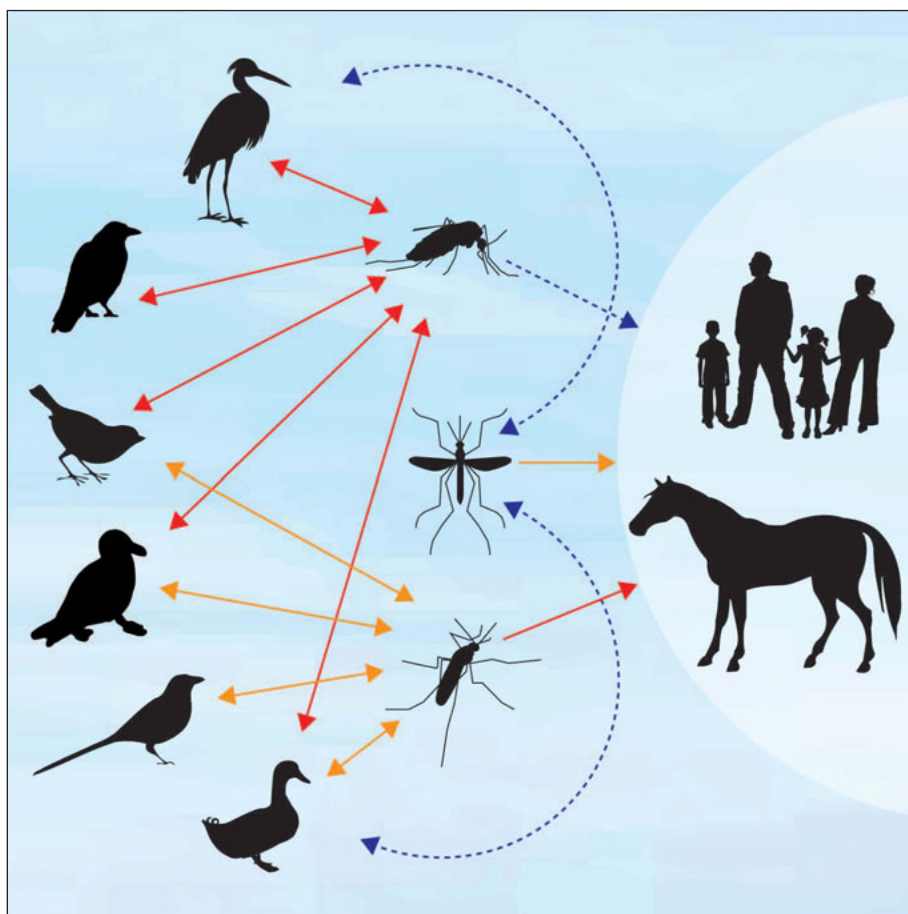


Le virus du Nil occidental

Dominique J. Bicout, coordinateur



Le virus du Nil occidental

Le virus du Nil occidental

Dominique J. Bicout, coordinateur
avec la collaboration de Thomas Balenghien

Éditions Quae
RD10, 78026 Versailles Cedex

Collection Synthèses

Les milieux rupicoles

Les enjeux de la conservation des sols rocheux

Pierre Pech

2013, 168 p.

Flores protectrices pour la conservation des aliments

Monique Zagorec, Souad Christeians

2013, 160 p.

Agricultures à l'épreuve de la modernisation

Estelle Deléage

2013, 104 p.

Cultiver la biodiversité pour transformer l'agriculture

Étienne Hainzelin

2013, 264 p.

Organisations et sociétés paysannes

Une lecture par la réciprocité

Éric Sabourin

2012, 282 p.

Apprendre à innover dans un monde incertain

Concevoir les futurs de l'agriculture et de l'alimentation

Émilie Coudel, Hubert Devautour, Christophe-Toussaint Soulard, Guy Faure, Bernard

Hubert, coordinateurs

2012, 248 p.

© Éditions Quæ, 2013

ISBN : 978-2-7592-1969-8

ISSN : 1777-4624

Le code de la propriété intellectuelle interdit la photocopie à usage collectif sans autorisation des ayants droit. Le non-respect de cette disposition met en danger l'édition, notamment scientifique, et est sanctionné pénalement. Toute reproduction, même partielle, du présent ouvrage est interdite sans autorisation du Centre français d'exploitation du droit de copie (CFC), 20 rue des Grands-Augustins, Paris 6^e.

Préface

La fièvre du Nil occidental, ou fièvre *West Nile*, est une infection virale qui fut identifiée dans la province West Nile en Ouganda en 1937 avec l'isolement du virus à partir du sang d'une patiente fébrile. Les études éco-épidémiologiques réalisées en Égypte en 1952-1954 ont permis de déterminer le cycle de transmission du virus avec implications des moustiques notamment les *Culex* comme vecteurs, des oiseaux comme hôtes amplificateurs et disséminateurs, et de l'homme et des chevaux comme des hôtes sensibles. Peu après furent décrits les premiers cas d'encéphalites chez l'homme en Israël démontrant l'importance de cette arbovirose considérée initialement comme mineure. Le virus fut ensuite retrouvé en Europe, en Afrique et en Asie. En France, la présence du virus s'est manifestée en Camargue en 1962-1963 affectant à la fois l'homme et les chevaux. Après une phase d'éclipse d'une trentaine d'années, plusieurs épidémies humaines ont été signalées en Europe du Sud et dans le bassin méditerranéen avec des cas mortels d'encéphalite survenant principalement chez les personnes âgées en Roumanie, Tunisie, Russie, Israël et des épizooties équine en Italie, Maroc, et France. Entre-temps, plusieurs études sérologiques ont montré que le virus *West Nile* avait circulé de manière silencieuse dans plusieurs régions d'Europe.

D'autres faits marquants furent l'apparition d'une souche virale induisant une mortalité inhabituelle chez diverses espèces d'oiseaux dont des migrateurs en 1997-1998 en Israël et l'émergence d'un virus très similaire dans l'est des États-Unis en 1999 et sa propagation rapide à travers le continent américain. En Europe, une circulation accrue de différentes souches de virus *West Nile* est observée depuis ces dernières années avec un nombre de pays croissants rapportant des cas humains et/ou équine. En conséquence de ces foyers multiples, plusieurs programmes multidisciplinaires de surveillance et de recherche sur la fièvre *West Nile* ont été lancés en Europe, et plus particulièrement en France.

Cinquante ans après l'émergence du virus *West Nile* en France, le présent ouvrage fait l'état des avancées des connaissances notamment sur le rôle des oiseaux migrateurs et résidents dans la dissémination et la persistance du virus, les interactions des vecteurs dans le cycle et le passage à l'homme ou aux chevaux, les caractéristiques phylogéniques des virus isolés et relations avec la pathogénie, l'organisation de la surveillance *West Nile*, et les approches en matière de modélisation afin d'identifier des marqueurs environnementaux prédictifs de risque de transmission. Néanmoins de nombreuses interrogations demeurent. L'ouvrage reflète l'approche multisectorielle indispensable pour mieux connaître le virus *West Nile* afin de prévenir les infections chez l'homme et les équidés en optimisant la surveillance avec des activités de contrôle adaptées.

Hervé Zeller

Coordinateur du programme Emerging and vector-borne diseases
de l'European Centre for Disease Prevention and Control, anciennement responsable
du Centre national de référence des arbovirus et fièvres hémorragiques

Remerciements

Nous souhaitons remercier tous les auteurs pour leur confiance et pour avoir répondu présent dès le début de ce projet jusqu'à sa réalisation finale. Merci pour la profondeur et la qualité scientifique et pédagogique de leurs contributions. Nous remercions la direction générale de l'Alimentation du ministère en charge de l'Agriculture, la direction générale de la Santé du ministère en charge de la Santé pour leur soutien financier dans la réalisation de cet ouvrage. Nous remercions aussi Renaud Lancelot, coordinateur du projet EDENext (EU grant FP7-261504 EDENext), qui a soutenu financièrement ce projet. Ce livre est catalogué par le Steering Committee d'EDENext avec le numéro EDENext118 (<http://www.edenext.eu>). Le contenu de ce livre est de la seule responsabilité de ses auteurs et ne reflètent pas nécessairement l'opinion de la Commission européenne. Enfin, nos remerciements vont aussi à l'équipe éditoriale des éditions Quae, en particulier Claire Jourdan-Ruf et Caroline Dandurand, pour leur aide et assistance pendant la réalisation de cet ouvrage.

Table des matières

Préface	V
Remerciements	VI
Avant-propos	3
Chapitre 1. Histoire et épidémiologie de la fièvre <i>West Nile</i>	7
<i>T. Balenghien, P. Sabatier, D.J. Bicout</i>	
Histoire d'un virus globe-trotter	8
Les cycles de transmission	16
Chapitre 2. Description du virus	25
<i>M. Grandadam et C. Renaudat</i>	
Classification du virus	27
Protéines virales	29
Diversité génétique	30
Épidémiologie moléculaire	34
Polymorphisme génétique et pouvoir pathogène	37
Variabilité intra-isolats (quasi-espèces)	39
Variabilité génétique et perspectives prophylactiques et thérapeutiques ..	40
Conclusion	41
Chapitre 3. Les oiseaux, hôtes naturels du virus	43
<i>E. Jourdain, M. Gauthier-Clerc, P. Sabatier</i>	
Implication des oiseaux dans la transmission	43
Rôles des oiseaux dans l'épidémiologie de la fièvre <i>West Nile</i>	53
Conclusion	63
Chapitre 4. Les moustiques, vecteurs du virus	65
<i>T. Balenghien, G. L'Ambert, F. Fouque</i>	
Diversité des moustiques sur le littoral méditerranéen	66
Quelles sont les espèces vectrices du virus ?	71
Les vecteurs du virus sur le littoral méditerranéen	77
Conclusion	86
Chapitre 5. Les mammifères, des hôtes accidentels du virus	87
<i>A. Leblond et S. Pradier</i>	
La fièvre <i>West Nile</i> chez l'homme	88

La fièvre <i>West Nile</i> chez le cheval	94
Pathogénie de l'encéphalite à virus <i>West Nile</i>	96
Les autres mammifères	99
Conclusion	103
Chapitre 6. Diagnostic de l'infection	105
<i>M. Grandadam et C. Renaudat</i>	
Rappels taxinomiques	106
Diagnostic clinique	106
Cinétique des marqueurs virologiques au cours de l'infection	108
Diagnostic biologique	110
Domaines d'application du diagnostic de l'infection	115
Conclusion – Perspectives	116
Chapitre 7. La surveillance du virus en France	119
<i>S. Lecollinet, J. Hars, A. Armengaud, I. Capek, A. Leblond, F. Schaffner, S. Zientara</i>	
Organisation et méthodes de surveillance de l'infection	120
Surveillance passive de l'infection de 2000 à 2008	132
Surveillance active de l'infection de 2000 à 2008	139
Bilan des actions de surveillance	146
Besoins en recherche pour mieux identifier les sites de surveillance	154
Chapitre 8. Facteurs de risques environnementaux pour la circulation du virus	157
<i>B. Durand, A. Tran, A. Leblond, A. Sandoz, D.J. Bicot</i>	
Analyse des épidémies passées en France par approches de modélisation statistique	157
Intérêt de la télédétection et des systèmes d'information géographique dans l'étude et la modélisation du risque de circulation	165
Autres facteurs de risque	168
Conclusion	174
Chapitre 9. Apport de la modélisation à la compréhension de l'épidémiologie du virus	177
<i>D.J. Bicot</i>	
Cinétique des anticorps IgG chez les chevaux	177
Modélisation de l'épidémie de 2000 en Camargue : rôles des vecteurs ..	180
Environnement et interactions oiseaux/vecteurs	190
Conclusion	192
Conclusion générale	195
Annexe I	199
Références bibliographiques	209
Liste des auteurs	237

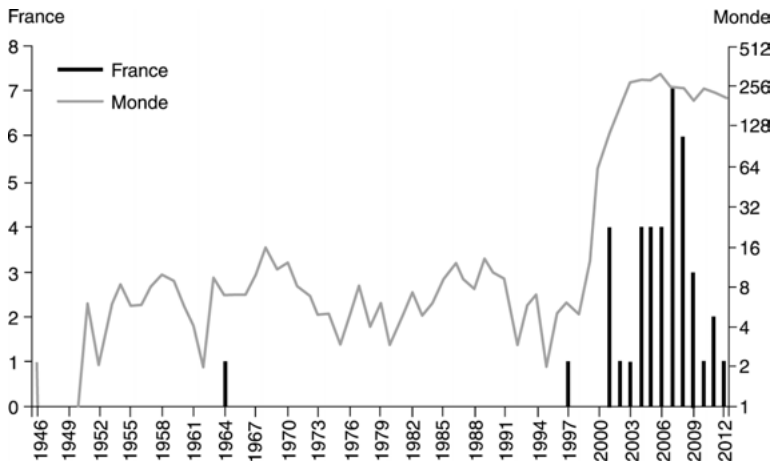
Avant-propos

Que savons-nous de la fièvre *West Nile*, si ce n'est qu'il s'agit d'une maladie transmise par des moustiques, devenue un problème majeur de santé publique aux États-Unis et sur le continent américain depuis son apparition à New York en 1999 ? Il paraît même que Alexandre le Grand, élève d'Aristote, en serait mort à son retour à Babylone en 323 avant J.C. après son périple asiatique. Qu'en est-il de la France ? Y a-t-il des cas en France et comment cette maladie s'y exprime-t-elle ? Quel est l'état de la recherche et des systèmes de surveillance dans un contexte où les peurs et angoisses du passé sont réveillées par la crainte d'une pandémie de grippe aviaire ? Et en fait, de quoi s'agit-il ?

Toutes ces questions font écho à l'actualité dans un contexte où tous les spécialistes s'accordent à dire qu'on assiste depuis une vingtaine d'années, partout dans le monde, à une recrudescence des zoonoses, ces infections transmises chez les animaux et capables de contaminer des populations humaines de plus en plus nombreuses. Comme exemple d'arboviroses émergentes, la fièvre du Nil occidental (fièvre *West Nile*) fait partie de ces zoonoses en pleine expansion qui conquiert de nouveaux territoires. En effet, depuis la première épidémie de fièvre *West Nile* aux États-Unis en 1999, ce virus est devenu un problème de santé publique en Amérique du Nord. En Europe, le virus *West Nile* a été identifié dans de nombreux pays tels que la France, l'Espagne, le Portugal, la Russie, la République tchèque, la Roumanie et l'Italie... Il a été ainsi noté une augmentation de la fréquence et de la gravité des épizooties de fièvre *West Nile* depuis les années 1990.

Comme l'illustre la figure p. 4, l'évolution de l'intérêt pour la fièvre *West Nile* s'est faite par vagues successives d'intensité croissante. Depuis sa découverte en 1937 en Ouganda, les premières publications répertoriées dans la base de données Pubmed apparaissent en 1946 suivies de trois bouffées d'études avec des pics en 1958, 1968 et 1989, et d'une nette et forte augmentation à partir des années 2000 juste après l'introduction du virus *West Nile* aux États-Unis en 1999. Quant aux publications sur la France, la première date de 1964, suivie d'un silence jusqu'en 1997, et ensuite d'une nette augmentation à partir de 2001 avec un profil similaire à celui observé sur le plan mondial. Cette évolution des publications est en fait le reflet des épisodes de transmission du virus *West Nile* en France notamment l'apparition des premiers cas humains et épizooties équine dans les années 1960 et la réapparition en 2000 et 2004 en Camargue, en 2003 dans le Var et en 2006 dans les Pyrénées-Orientales.

La grande majorité de ce que nous savons sur le virus *West Nile* en France nous vient des travaux réalisés suite aux épisodes de transmission des années 1960 et en 2000. Dans les deux cas, les acteurs qui avaient été à l'œuvre pour mener des études



Nombre de publications sur le *West Nile* par année (courbe continue « Monde ») répertoriées dans Pubmed. L'histogramme « France » représente les publications mentionnant le mot « France » dans le titre et/ou résumé. Extraction mise à jour le 4 janvier 2013 de Pubmed (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed>), et utilisant les phrases : « ("west nile"[Title] NOT "district"[Title]) AND "année/01/01"[EDAT] : "année/12/31"[EDAT] » pour le « Monde » et « ("west nile"[Title] NOT "district"[Title] AND "france"[Title/Abstract]) AND "année/01/01"[EDAT] : "année/12/31"[EDAT] » pour la « France », avec l'« année » allant de 1946 à 2012.

de terrains et en laboratoires étaient issus de l'Institut Pasteur de Paris, de l'École nationale vétérinaire de Lyon (maintenant, VetAgro Sup Lyon), de l'Entente inter-départementale pour la démoustication du littoral méditerranéen, et de la fondation Sansouire de la Tour du Valat. Depuis lors, d'autres organismes sont également entrés dans la bataille : l'Anses (anciennement l'Afssa), le Cirad, l'Inra, l'ONCFS... La liste des contributeurs à cet ouvrage en est le témoignage.

Le virus *West Nile* est un *Flavivirus* du complexe de l'encéphalite japonaise et de l'encéphalite de Saint-Louis. Son cycle de transmission principal se déroule entre des oiseaux, réservoirs ou hôtes amplificateurs, et des moustiques, vecteurs. Occasionnellement, le virus peut être transmis aux mammifères, dont le cheval et l'homme. Le cheval est particulièrement sensible à l'infection et est considéré comme un révélateur de la circulation du virus dans une région donnée. Dans la plupart des cas, l'infection par le virus *West Nile* est asymptomatique, mais dans certains cas, elle peut provoquer une encéphalomyélite parfois mortelle. Les questions qui se posaient sur l'écologie du virus *West Nile* en France dans les années 1960 sont les mêmes que celles qui se sont posées en 2000 et sont toujours les mêmes aujourd'hui. Ces questions tournent généralement autour des connaissances sur le virus, les vecteurs et hôtes associés et de leurs rôles respectifs.

Il m'a donc semblé opportun de faire maintenant l'état des lieux de nos connaissances sur cette zoonose en France. J'ai choisi, avec mes collègues, de faire simple et, serai donc sûrement injuste à l'égard d'autres travaux développés dans ce domaine. L'objectif de cet ouvrage est de fournir des éléments de réponse aux questions évoquées précédemment et permettre ainsi d'inspirer et susciter des pistes de réflexion et

d'investigation pour l'amélioration de notre compréhension de l'écologie de cette maladie.

Nous avons choisi de partir de la découverte du virus *West Nile* et de sa répartition géographique, en passant par les cycles épidémiologiques fondamentaux jusqu'à la surveillance et aux balbutiements de l'évaluation du risque de transmission. Une description des principaux protagonistes — *i.e.*, virus, hôtes réservoirs et amplificateurs, vecteurs et hôtes accidentels — est présentée, suivie des méthodes de diagnostic et du programme de surveillance de cette arbovirose en France. L'évaluation du risque de transmission est abordée sous l'angle de la modélisation dans une perspective de recherche.

Le chapitre 1 présente l'historique du virus *West Nile* dans le monde, sa découverte, les études égyptiennes avec l'établissement et la description des cycles épidémiologiques ainsi que les épidémies et épizooties dans le bassin méditerranéen, ainsi que l'introduction et la dispersion aux Amériques. Ensuite, l'historique de la fièvre *West Nile* en France est présenté avec la description du cycle épidémiologique et des zones de transmission (Camargue et, plus globalement, le littoral méditerranéen).

La nature et les caractéristiques phylogéniques du virus *West Nile* sont traitées dans le chapitre 2 de manière générale, puis en comparaison avec les différentes souches et variants isolés en France. L'analyse de la variabilité génétique et de la distribution géographique de ces virus sera également abordée.

Le chapitre 3 commence par un rappel historique du rôle clé joué par des oiseaux dans l'épidémiologie du virus *West Nile*. Sont successivement discutés, la notion de « compétence » d'hôte et son évaluation en laboratoire, les interactions oiseaux/vecteurs et les études de terrain associées, et les différents rôles (introduction, amplification, dispersion, réservoir, victime, sentinelle) envisageables pour les oiseaux dans la circulation du virus *West Nile*.

Une synthèse des connaissances sur les vecteurs du virus *West Nile* à travers le monde est présentée dans le chapitre 4. Ce chapitre aborde les questions des préférences trophiques comme paramètre clé de la transmission et de l'implication possible des vecteurs dans la persistance du virus au cours de l'hiver. Ensuite, ce chapitre décrit les connaissances actuelles sur *Culex modestus* et *Culex pipiens* considérés comme les principaux vecteurs en France, discute de l'implication d'autres espèces de moustiques et aborde les questions encore à résoudre.

Le chapitre 5 s'intéresse aux hôtes dits accidentels que représentent les mammifères, notamment le cheval et l'homme. Les principales caractéristiques de l'infection chez ces hôtes sont décrites. Bien que des vaccins aient rapidement été développés et commercialisés pour le cheval aux États-Unis, la vaccination n'est pas autorisée en France pour des raisons essentiellement économiques.

La fièvre *West Nile* étant une maladie à déclaration obligatoire en France, le chapitre 6 est consacré aux différents aspects du diagnostic de cette infection. Les méthodes de diagnostic, utilisant différents tests, sont établies par les Centres nationaux de référence.

Mis en place après l'épizootie de 2000, la France disposait d'un programme de surveillance de la circulation du virus *West Nile* dans l'avifaune. De même, la

surveillance de *West Nile* chez l'homme et le cheval est une activité qui existe en France. Comment ça marche ? Avec quels moyens ? Quels sont les acteurs et partenaires, ou encore les limites de telles entreprises ? Ces questions seront considérées dans le chapitre 7.

Le chapitre 8 est consacré à une introduction aux approches par la modélisation statistique et méthodes de la géomatique pour l'analyse des facteurs environnementaux associés au risque de circulation du virus *West Nile*.

Le chapitre 9 aurait pu servir d'introduction à la problématique de la circulation du virus *West Nile* dans le sud de la France. En effet, partant de l'épizootie de *West Nile* en 2000 en Camargue, ce chapitre présente trois exemples de modélisation (séroprévalence chez les chevaux, rôles des vecteurs, notamment vecteurs ponts et interactions oiseaux/vecteurs) qui ont contribué à l'organisation de la réflexion sur la compréhension de l'épidémiologie du virus *West Nile* en Camargue. Ces modélisations et résultats ont été à l'origine de plusieurs travaux développés dans ce domaine avec des encadrements de masters et de thèses qui font l'objet de certains chapitres de ce livre, notamment ceux sur les hôtes réservoirs, les vecteurs, et les hôtes tangentiels ou accidentels.

Une conclusion proposant d'autres pistes de recherche clôture l'ouvrage.

Chapitre 1

Histoire et épidémiologie de la fièvre *West Nile*

Thomas BALENGHIEN, Philippe SABATIER,
Dominique J. BICOUT

Objectif : présenter un aperçu de l'histoire du virus *West Nile* dans le monde pour en dégager les connaissances actuelles et les voies encore à explorer

Quand a été découvert le virus *West Nile* ?

Où et quand a été transmis le virus *West Nile* ?

Que sait-on des cycles de transmission et que reste-t-il à découvrir ?

L'introduction du virus *West Nile* aux États-Unis en 1999 est un des exemples de la capacité d'émergence des maladies vectorielles hors de leurs zones de distribution. Cet épisode a considérablement relancé l'intérêt porté à ce virus. Pourtant, sa découverte remonte à presque 70 ans. Ses cycles de transmission ont été étudiés en détail dès le début des années 1950 en Égypte. En 1960, on le savait déjà largement réparti dans l'Ancien Monde. En France, sa présence n'est pas nouvelle, non plus. Après des épidémiologies associées à des cas humains en 1962, l'écologie du virus est étudiée en Camargue dans les années 1960. Après 35 ans de silence, le virus ré-émergera dans cette zone en 2000. Ainsi, l'histoire du virus *West Nile* c'est l'histoire d'un virus connu depuis longtemps, largement réparti, que l'on considérait peu pathogène et qui refait parler de lui dans les années 1990 dans le bassin méditerranéen, mais surtout en ce début de *xxi*^e siècle dans le Nouveau Monde.

Cette histoire en deux temps explique que, comme bien souvent, les études modernes redécouvrent ce qui était largement connu un temps, puis par la suite oublié. Le virus *West Nile* est transmis au sein des populations d'oiseaux, ses hôtes naturels, par la piqûre de moustiques ornithophiles, ses principaux vecteurs. Il peut aussi être transmis par des moustiques infectant aux hommes et aux chevaux, ses principales victimes. Les études modernes n'ont pas démenti ces faits. Elles s'interrogent sur les mêmes questions qu'auparavant : Quel est le rôle des mammifères dans les cycles de transmission ? Existe-t-il d'autres vecteurs que les moustiques ? Comment le virus se maintient-il dans une zone tempérée au cours de l'hiver ? Aujourd'hui, bien des pistes de recherche restent ouvertes.

► Histoire d'un virus globe-trotter

Découverte d'un virus supposé peu pathogène

Il s'avançait vers Babylone [...]. Arrivé près des murs de la ville, il voit plusieurs corbeaux qui se disputaient et se frappaient les uns les autres : il en tomba même quelques-uns à ses pieds. [...] Dieu, s'écria le roi, quel horrible présage !

Plutarque, *Vies parallèles I – Vie d'Alexandre*, vers l'an 100 après J.C.

Après son périple asiatique, Alexandre le Grand retourne à Babylone. Peu de temps après son arrivée, il y meurt au terme de 10 jours de fièvre. Plutarque rapporte différents présages annonciateurs de cette maladie, dont la mort brutale de corbeaux. Certains auteurs ont cru reconnaître dans ces lignes et dans les symptômes d'Alexandre le Grand la première description de l'activité du virus *West Nile* en 323 avant J.C. près de l'actuelle Bagdad (Marr *et al.*, 2003). Le débat autour de cette hypothèse (Cunha, 2004b ; Oldach *et al.*, 2004) illustre l'intérêt que suscite toujours la mort des « grands hommes », mais aussi l'intérêt scientifique et médiatique actuel pour la fièvre *West Nile*, qui n'est en fait que très récent.

L'histoire officielle du virus *West Nile* commence en 1937 en Ouganda, avec les enquêtes épidémiologiques de la fondation Rockefeller sur la répartition de la fièvre jaune en Afrique centrale. Durant ces enquêtes, un virus est isolé du sang d'une femme venant du *West Nile District*. Ce virus provoque chez le singe une encéphalite mortelle après inoculation intracérébrale, un syndrome fébrile et neurologique réversible après inoculation intranasale et une maladie fébrile bénigne par inoculation intraveineuse. Par similitude aux virus des encéphalites japonaise et de Saint-Louis, il rejoint le genre *Flavivirus* et le « complexe de la japonaise¹ ». Au début des années 1940, on connaît la large répartition du virus *West Nile* en Afrique centrale grâce à des enquêtes sérologiques et la capacité des moustiques à le transmettre expérimentalement (Philip *et al.*, 1943).

Les cycles de transmission découverts en Égypte

Treize ans après sa découverte, le virus *West Nile* est isolé chez l'homme en Égypte, dans un village où il circule intensément (70 % de séroprévalence²) (Melnick *et al.*, 1951). L'équipe de Richard Taylor a dirigé dans ce pays les premières études écologiques sur le virus *West Nile*. Elles sont remarquables dans la mesure où elles ont permis d'identifier les points clefs de l'épidémiologie du virus. Nous reprenons brièvement le cheminement qui a abouti à l'établissement des cycles de transmission du virus *West Nile*.

Pour établir l'importance du virus chez l'homme, de vastes enquêtes sérologiques sont menées le long du Nil. Les hommes sont particulièrement exposés au virus de

1. Ce complexe comporte 10 espèces selon le Comité international de taxonomie des virus, parmi lesquels on peut citer les virus des encéphalites japonaise, de la Murray Vallée, de Saint-Louis et les virus Usutu et Kunjin (<http://www.virustaxonomyonline.com>).

2. Les tests sérologiques (dans la partie : études *West Nile* en Égypte) consistent à rechercher des anticorps neutralisants (Taylor *et al.*, 1956).

l'Égypte au Soudan (séroprévalence moyenne de 60 % et jusqu'à 84 % au Caire et dans le nord du delta du Nil) (Smithburn *et al.*, 1954 ; Taylor *et al.*, 1956). La séroprévalence augmente avec l'âge, ce qui est le signe d'une situation endémique (Taylor *et al.*, 1956). En recherchant régulièrement le virus pendant les années 1952 et 1954, cette équipe établit le caractère saisonnier de la maladie, avec des isollements de virus uniquement entre juin et septembre (Taylor *et al.*, 1956).

Pour rechercher l'existence d'un réservoir animal, des enquêtes sérologiques sont réalisées chez les mammifères domestiques et les oiseaux. Le virus circule intensément chez ces populations (par exemple, 86 % chez les chevaux et 65 % chez les corneilles) (Taylor *et al.*, 1956). Mais le virus n'est isolé qu'à partir d'oiseaux³, à savoir une corneille mantelée⁴, *Corvus (corone) cornix*, et deux pigeons Biset d'élevage, *Columba livia*, dont l'un présente des signes de maladie (Work *et al.*, 1953). Cela laisse supposer l'importance du rôle des oiseaux dans les cycles de transmission, notamment dans la dispersion du virus : Work *et al.* (1953) évoquent un mécanisme possible pour la dissémination du virus par les mouvements locaux des pigeons.

Pour mettre en évidence un éventuel vecteur, la présence du virus est recherchée chez près de 80 000 arthropodes (puces, mouches, acariens, poux, moustiques et tiques). Des isollements viraux sont réalisés uniquement à partir de moustiques, à savoir *Culex univittatus* Theobald et *Culex antennatus* (Becker), les *Culex* les plus abondants dans la zone (Taylor *et al.*, 1956). Parmi les arthropodes, ce sont les moustiques qui montrent la plus grande aptitude à multiplier le virus (Hurlbut, 1956). *Culex univittatus*, *Cx. antennatus* et *Culex pipiens* Linnaeus peuvent transmettre le virus par piqûre après infection sur un animal virémique (Taylor *et al.*, 1953 ; 1956). Le rôle des moustiques comme vecteurs principaux de la fièvre *West Nile* devient alors évident.

L'implication des oiseaux comme hôtes amplificateurs principaux est confirmée par des infections expérimentales. Après piqûre par un moustique infecté, différentes espèces d'oiseaux développent des virémies importantes et de longue durée, notamment la corneille mantelée et le moineau domestique *Passer domesticus* (avec des virémies⁵ entre $10^{3,5}$ et $10^{8,0}$ DL₅₀ pendant six jours) (Work *et al.*, 1955). Les cycles de transmission entre oiseaux et moustiques sont facilement reproduits. À cette époque, le rôle potentiellement pathogène du virus *West Nile* chez des oiseaux est observé en conditions naturelles et expérimentales (Work *et al.*, 1953 ; 1955).

La capacité du virus *West Nile* à provoquer des encéphalites mortelles est mise en évidence chez les chevaux en conditions naturelles et expérimentales (Schmidt *et al.*, 1963). La virémie des chevaux est supposée trop faible pour infecter des vecteurs (Schmidt *et al.*, 1963). En revanche, et contrairement au cheval, l'homme présente, selon ces études, des virémies suffisantes pour infecter des vecteurs très compétents

3. Les noms d'oiseaux utilisés (noms vernaculaires et scientifiques) sont ceux adoptés par la Commission internationale des noms français des oiseaux.

4. Appelée dans l'étude *Hooded crow*, *Corvus corone sardonicus*.

5. Les titres sont obtenus en effectuant des séries de dilution de l'échantillon à tester et en inoculant en intracérébral des souris de 3 semaines avec 0,03 ml de chaque dilution et en calculant la dose létale pour 50 % des souris (DL₅₀). Ce titre n'est pas exprimé rapporté à un volume donné, il est donc difficilement comparable avec les études d'autres auteurs, mais peut servir de comparaison entre les différents articles de la période égyptienne.

comme *Cx. antennatus* ou *Cx. univittatus* (Hurlbut, 1956 ; Melnick *et al.*, 1951 ; Taylor *et al.*, 1956). Aujourd'hui, on considère plutôt que les hommes sont des culs-de-sac épidémiologiques. Concernant le rôle pathogène du virus *West Nile* chez l'homme, l'infection est rarement rattachée à un syndrome clinique, sauf dans certains cas de contamination accidentelle en laboratoire (Hamilton *et al.*, 1954).

Un virus non pathogène ?

Le virus *West Nile* a longtemps été décrit comme un virus non pathogène. Pourtant, très tôt, des preuves de sa pathogénie chez l'homme existent. La première preuve de sa capacité à provoquer des épidémies remonte à 1951, où 40 % des 300 habitants d'un campement agricole de la plaine côtière d'Israël présentent de la fièvre, avec un exanthème et éventuellement un sévère mal de tête (Bernkopf *et al.*, 1953). La maladie touche principalement les jeunes enfants, qui guérissent plus rapidement que les adultes atteints. Cet épisode est aussi la première description du virus *West Nile* hors d'Afrique. Dans les années suivantes, plusieurs épidémies et des cas d'encéphalites sont décrits (Goldblum *et al.*, 1954 ; Nisenbaum et Wallis, 1965). C'est *Cx. pipiens*⁶ qui est considéré comme le principal vecteur en Israël (Bernkopf *et al.*, 1953 ; Tahori *et al.*, 1955). C'est ensuite en France, en Camargue et dans le Bas-Languedoc, que le virus *West Nile* provoque des affections bénignes à graves chez l'homme (d'une fièvre d'été à une encéphalite grave) et des épizooties d'encéphalites chez le cheval (Hannoun *et al.*, 1964b).

À la même époque, le rôle pathogène du virus *West Nile* chez l'homme est confirmé expérimentalement. En effet, certains virus ayant montré des effets antinéoplasiques sur modèles animaux, on envisage de les utiliser comme traitement expérimental chez des patients en phase terminale de cancer. La souche égyptienne du virus *West Nile*, considérée comme non pathogène, est inoculée en intramusculaire à 95 patients (Southam et Moore, 1954). Dans 89 % des cas, l'infection entraîne uniquement une hyperthermie, mais provoque des encéphalites diffuses pour le reste des individus (Southam et Moore, 1954). La phase fébrile est longue (6 jours pour 73 % des patients) et accompagnée d'une virémie élevée (atteignant 10^2 à 10^5 DL₅₀)⁷ (Southam et Moore, 1954).

Du Caire au Cap, de l'Atlantique à l'océan Indien

Le virus *West Nile* est largement réparti dans l'Ancien Monde, sa distribution étant connue au fur et à mesure des enquêtes sérologiques ou des épisodes de circulation. Sa limite orientale est l'Inde, où il est mis en évidence dès 1952. Dans ce pays, le virus a été isolé chez des espèces du complexe *Culex vishnui* Theobald et chez *Culex quinquefasciatus* Say⁸ (Pavri et Singh, 1965 ; Work, 1971). Son rôle pathogène réel en Inde n'est reconnu qu'au début des années 1980 (George *et al.*, 1984). Sa limite sud est constituée par les hauts plateaux d'Afrique du Sud, où des cas de fièvre

6. Nommé dans l'étude *Culex molestus*.

7. Là encore, le titre n'est pas exprimé rapporté à un volume. Il est estimé par inoculation intracérébrale à des souris.

8. Nommé *Culex fatigans* dans l'étude.

estivale sont rapportés dans les années 1950 et, rétrospectivement, attribués aux virus Sindbis et *West Nile* (McIntosh *et al.*, 1967). Sa circulation dans le bassin de la Volga en 1963 montre sa présence en Asie centrale (Bashkirtsev *et al.*, 1969).

Dans l'océan Indien, il est présent à Madagascar, où il est isolé pour la première fois en 1978 (Fontenille *et al.*, 1985). Il est vraisemblablement l'arbovirus le plus fréquent de l'île rouge (Fontenille *et al.*, 1989), avec un taux de séroconversion de 14,7 % en une saison (de décembre 1988 à juillet 1989) dans les environs d'Antananarivo (Morvan *et al.*, 1990) et une séroprévalence de 10,6 % à Mahajanga en 1999 (Lonchampt *et al.*, 2003).

Par la suite, les preuves sérologiques ou virales de circulation du virus *West Nile* à travers l'Ancien Monde se sont accumulées. Nous n'essayerons pas d'en faire la liste exhaustive. Différentes revues ont repris avec détails les isollements du virus *West Nile* chez les arthropodes (Hubalek et Halouzka, 1999a), les différentes preuves de circulation du virus en Afrique, Asie, Europe de l'Ouest (Murgue *et al.*, 2002) et Europe de l'Est (Hubalek, 2000 ; Hubalek et Halouzka, 1999a).

Regain d'activité dans l'Ancien Monde

À partir de 1994, on assiste à la multiplication d'épidémies importantes d'encéphalites à virus *West Nile* dans le bassin méditerranéen et en Europe (Dauphin *et al.*, 2004 ; Murgue *et al.*, 2001a). Son statut de virus peu pathogène est remis en question.

Des épidémies de plusieurs dizaines à centaines de cas sont recensées en Algérie en 1994 (Le Guenno *et al.*, 1996), en Roumanie en 1996 (Anonyme 1996a, b), en Tunisie en 1997 (Triki *et al.*, 2001), en Russie en 1999 (Platonov *et al.*, 2001) et en Israël en 2000 (Weinberger *et al.*, 2001). De plus, des cas sporadiques sont recensés en Roumanie en 1997 et 1998 (Cernescu *et al.*, 2000), en République tchèque en 1997 (Hubalek *et al.*, 1999) et en France en 2003 (Del Giudice *et al.*, 2004). En parallèle, la circulation du virus *West Nile* dans le bassin méditerranéen est marquée par des épizooties équine : au Maroc en 1996 et 2003 (Schuffenecker *et al.*, 2005 ; Tber Abdelhaq, 1996), en Italie en 1998 (Autorino *et al.*, 2002) et en France en 2000, 2003, 2004 et 2006 (Durand *et al.*, 2005a ; Murgue *et al.*, 2001b ; Zeller et Schuffenecker, 2004). En 2004, une circulation virale est mise en évidence en Espagne (preuves sérologiques avec vraisemblablement quelques cas humains) (Bofill *et al.*, 2006) et au Portugal (lots de moustiques positifs) (Esteves *et al.*, 2005). Des preuves sérologiques de circulation du virus *West Nile* auraient été aussi mises en évidence au Royaume-Uni, mais les méthodes utilisées dans ces études restent contestées (Buckley *et al.*, 2003 ; 2006).

Le virus *West Nile* reste d'actualité en Europe, puisque l'année 2008 a été le témoin de cas humains (de quelques-uns à une dizaine) en Hongrie, Italie et Roumanie, accompagnés en Hongrie et Italie d'une vingtaine de cas équine. À la même période, le virus *West Nile* était isolé pour la première fois en Autriche, près de Vienne, chez 3 oiseaux retrouvés morts. En 2009, 16 cas humains ont été décrits en Italie (Rizzo *et al.*, 2009). En 2010, des cas humains sont détectés dans le sud de l'Espagne, dans le nord de l'Italie, en Hongrie, en Roumanie, en Grèce en Turquie, en Israël et en Russie. Enfin, l'année 2011 a connu des cas humains d'infection à virus *West Nile* en Italie, Roumanie, Macédoine, Albanie, Grèce, Turquie, Israël et Russie.

Le cas de la France : une histoire en deux temps

La première description du virus *West Nile* en France date du début des années 1960. Néanmoins, selon les auteurs de l'époque, ce virus était présent dans le sud de la France depuis bien longtemps. En effet, les « cliniciens de la région de Montpellier ont observé, dès 1935 et jusqu'en 1942, plusieurs types de syndromes grippaux estivaux d'évolution courte et bénigne qui laissaient après eux une asthénie profonde pouvant durer plusieurs semaines. De véritables épisodes épidémiques ont été observés à plusieurs reprises dans la région de Mauguio-Lunel. Il s'agissait essentiellement d'affections fébriles d'apparition brutale et persistant trois à quatre jours avec des céphalées, des courbatures, une injection conjonctivale et un léger état méningé » (Panthier *et al.*, 1968). « On observe aussi des cas d'encéphalites sévères ne relevant pas des étiologies bactériennes ou virales habituelles. Enfin, on parle souvent dans la région de *fièvres d'été*, de *grippes d'été*, de *fièvres des marais*, de *fièvres d'acclimatation* » (Hannoun *et al.*, 1964b). « En Camargue et dans les régions voisines de l'Hérault et du Gard persiste, depuis longtemps, l'énigme étiologique d'un *syndrome parésique postérieur du cheval*, baptisé «lourdigé» en dialecte provençal local, pour évoquer la démarche ébrieuse, «lourde», de l'animal atteint. [Ce syndrome était] déjà décrit dans les textes anciens du *xix^e* siècle retraçant l'histoire culturelle et pathologique de la Camargue » (Joubert et Oudar, 1970).

Les années 1960, description et premières études

Au cours de l'été 1962, de nombreux cas d'encéphalites graves sont constatés en Camargue et dans la partie orientale du Bas-Languedoc, aussi bien chez l'homme que chez le cheval (Panthier, 1968). L'analyse des sérums de malades prélevés montre la circulation d'un arbovirus du groupe B⁹ (Panthier, 1968). Un « groupe de recherche sur les arbovirus en France » est alors constitué pour enquêter de manière rétrospective. Quelques cas humains de méningite ou d'encéphalite, apparus entre fin juin et fin septembre, sont répertoriés, les cas les plus graves semblant apparaître chez les adultes les plus âgés (Panthier *et al.*, 1968). Une trentaine de cas équins en Camargue et une cinquantaine dans la région de Beaucaire sont recensés (Joubert *et al.*, 1970). La maladie est apparue au début de l'été, avec le maximum de cas entre le 15 août et le 15 septembre. Elle a touché un dixième des 500 chevaux de la zone et a tué 25 à 30 % des chevaux malades (Joubert *et al.*, 1970). Il apparaît suite aux examens sérologiques qu'un virus apparenté au sous-groupe encéphalite japonaise/*West Nile*/encéphalite de la *Murray Valley* circule dans la région, au côté du virus Tahyna et du virus de la fièvre à phlébotomes type Sicile (Hannoun *et al.*, 1964b). Le virus *West Nile* est fortement suspecté.

En 1964, trois missions successives sont organisées en juin, septembre et novembre, afin d'isoler le virus circulant (Hannoun *et al.*, 1964b). Des prélèvements sanguins sont

9. Ce groupe contenait alors les virus suivants (dans la nomenclature de la référence citée) : fièvre jaune, encéphalite japonaise, encéphalite Saint-Louis, encéphalite Murray Valley, dengue, encéphalites à tiques Europe et Extrême-Orient, fièvre hémorragique d'Omsk, Louping-ill, N'taya, Wesselsbron, *West Nile*, virus de chauves-souris (Joubert et Oudar, 1969).

effectués sur des hommes, des chevaux, des mammifères domestiques, des rongeurs, des lagomorphes, des oiseaux de basse-cour et sauvages et sur des animaux sentinelles. L'ensemble des espèces prélevées présentent des anticorps (Hannoun *et al.*, 1966). En septembre 1964, 900 *Culex modestus* Ficalbi, 50 *Aedes caspius* (Pallas) et 12 *Anopheles hyrcanus* (Pallas) *sensu lato* sont collectés sur la digue au Rhône aux alentours du Sambuc. Le virus *West Nile* est isolé d'un des lots de *Cx. modestus* et du sang de deux entomologistes qui ont présenté une brusque fièvre de trois jours avec frissons et céphalées (Hannoun *et al.*, 1964a). Ce virus est de nouveau isolé en 1965 de lots de *Cx. modestus* capturés à la Capelière et du cerveau d'un poulain atteint d'encéphalite (Panthier *et al.*, 1966). Par la suite, des enquêtes sérologiques chez l'homme ont permis d'identifier deux foyers principaux sur le littoral méditerranéen (figure 1, planche I) : le foyer camarguais s'étendant à l'ouest jusqu'à Agde et Montpellier, limité au nord par Nîmes et Beaucaire et débordant légèrement le grand Rhône à l'est et le foyer de la Côte d'Azur, englobant Cannes et Menton (Joubert, 1975). Des preuves sérologiques¹⁰ sont également mises en évidence en Corse (Joubert, 1975).

La Camargue est une zone écologique particulière (Hoffmann *et al.*, 1968). La diversité de ses habitats en fait une terre d'accueil pour de nombreux oiseaux résidents ou migrateurs venus nicher ou hiverner. On peut estimer à près de 300 le nombre d'espèces d'oiseaux régulièrement présentes (Jourdain *et al.*, 2007c). Les groupes systématiques les plus représentés comprennent des espèces adaptées aux zones humides dans le sens le plus large, à savoir les anatidés (canards, oies), les laridés (mouettes, goélands...), les limicoles (chevaliers, pluviers...), les ardéidés (hérons), les rallidés (foulques, poules d'eau...), les phoenicotéridés (flamands roses) et certains passereaux (Hoffmann *et al.*, 1968). De plus, une vingtaine d'espèces de moustiques sont recensées en Camargue, dont *Cx. modestus*, qui est considéré comme une espèce en pleine expansion à cause du développement de la riziculture (Rageau et Mouchet, 1967 ; Rioux et Arnold, 1955). Les densités importantes d'oiseaux et de moustiques font sans doute de la Camargue un milieu privilégié pour la transmission du virus *West Nile*, tout comme les autres zones deltaïques du bassin méditerranéen ou de l'Europe : les deltas du Nil, du Danube, de la Volga... Le virus *West Nile* est alors considéré comme enzootique en Camargue (Hoffmann *et al.*, 1968).

À partir de 1966, la maladie semble disparaître : aucun cas humain ou équin n'est rapporté. Une enquête sérologique, réalisée en Camargue de 1975 à 1979, donne une séroprévalence de 4,9 % chez l'homme (n = 242) et de 2 % chez le cheval (n = 99) et la séroconversion de lapins sentinelles montre une circulation du virus *West Nile* en 1978 (Rollin *et al.*, 1982). Entre 1982 et 1983, aucun des 54 petits mammifères prélevés en Corse ne présentent d'anticorps contre le virus *West Nile* (Chastel *et al.*, 1986). Entre 1986 et 1987, sur 61 lapins de garenne (*Oryctolagus cuniculus*) prélevés dans les environs du Sambuc, un seul présentait une réaction sérologique au virus *West Nile*, soit une prévalence de 1,6 % (Le Lay-Rogues *et al.*, 1990).

10. Pour l'anecdote, lors d'une conférence en 1965, le professeur Joubert « évoque le cas d'un chevreuil tué en Alsace à l'automne dernier et dont le sérum se révélera très positif à l'antigène *West Nile* » (Joubert et Oudar, 1965).

Le retour après 35 ans de silence

Le 6 septembre 2000, l'infection par le virus *West Nile* de deux chevaux atteints d'encéphalite est confirmée par analyse sérologique et isolement viral (Murgue *et al.*, 2001b). Ces chevaux proviennent de Lansargues, une commune située à une dizaine de kilomètres des limites de la Camargue gardoise. Entre début septembre et fin octobre, 58 cas équins confirmés et 18 probables sont recensés, avec environ 30 % de létalité (Murgue *et al.*, 2001b). Une enquête sérologique menée dans un rayon de 10 kilomètres autour de chaque cas confirmé donne une séroprévalence¹¹ de 8,5 % sur les 5 107 équins prélevés (Durand *et al.*, 2002). L'analyse de la distribution géographique des chevaux séropositifs situe l'épicentre sur les communes Lansargues/Lunel (Durand *et al.*, 2002), c'est-à-dire en zone de Costière, dominée par la vigne et la culture, en dehors des zones humides du delta. La séroprévalence est constante quel que soit l'âge (Durand *et al.*, 2002), suggérant une épizootie en zone naïve. Il est vraisemblable que la zone d'enzootie ait été centrée sur les zones humides du delta camarguais et que le virus ait été dispersé, sans doute par des mouvements d'oiseaux ou de vecteurs, vers les zones sèches voisines (Jourdain *et al.*, 2007c).

Un système de surveillance de l'activité du virus *West Nile* (chapitre 7) est mis en place suite à cet épisode, comprenant un volet aviaire de surveillance active (Hars *et al.*, 2002) et un volet équin de surveillance active et passive (Zientara *et al.*, 2004b). Par ce biais, des séroconversions sont mises en évidence chez les oiseaux en 2001 et 2002 (Zeller *et al.*, 2004) et chez des équidés (Zientara *et al.*, 2002), mais sans apparition de la maladie. Le système de surveillance ne concerne alors que la zone camarguaise. En septembre 2003, un habitant de Fréjus (Var), présentant des signes de méningo-encéphalite, est confirmé infecté par le virus *West Nile* (Del Giudice *et al.*, 2004). Au total, 7 cas humains sont décrits dans le Var, associés à 4 cas équins, dont un fatal. En octobre, une enquête sérologique est effectuée dans un rayon de 30 kilomètres autour du cas équin mortel, et concerne au total 906 équidés. La séroprévalence en IgG varie de 3 à 95 % parmi les écuries positives (80 % du total des écuries) et est en moyenne de 33,7 % (Durand *et al.*, 2005a). La circulation du virus *West Nile* pourrait être régulière dans certaines zones du Var, notamment dans la vallée de l'Argens, à proximité de ZICO (zones importantes pour la conservation des oiseaux) (Durand *et al.*, 2005a).

L'année suivante, c'est de nouveau en Camargue, plus précisément autour des Saintes-Maries-de-la-Mer que le virus *West Nile* circule. Une quarantaine de cas équins (avec environ 10 morts) est rapportée essentiellement durant le mois de septembre 2004, après que des séroconversions aviaires ont été signalées par le système de surveillance pendant le mois d'août (Zeller *et al.*, 2004). Les cas sont concentrés autour de la jonction de la Grande Camargue, de la Petite Camargue et de la Camargue gardoise, mais une partie est recensée à l'ouest de la Camargue gardoise, dans la zone sèche (Zeller *et al.*, 2004). L'isolement du virus chez un moineau domestique et une pie européenne moribonds montre que les deux souches sont très proches de celle isolée en 2000 (Jourdain *et al.*, 2007b). Cette

11. Il s'agit ici de la séroprévalence en immunoglobulines G (IgG). Ces anticorps persistent longtemps et donc la distinction entre une infection ancienne ou récente n'est pas possible.

souche identifiée en 2000 aurait pu se maintenir localement et circuler à bas bruit (entraînant uniquement des séroconversions) entre 2001 et 2003 pour finalement se manifester de nouveau en 2004. Aucune circulation virale n'a été détectée par le réseau de surveillance en 2005 (Hars *et al.*, 2006). Le 29 septembre 2006, un cas équin est confirmé à Argelès-sur-Mer, dans les Pyrénées-Orientales. Cinq cas équins *West Nile* sont confirmés, les symptômes étant apparus chez ces chevaux entre les 16 et 25 septembre 2006¹².

Le passage dans le Nouveau Monde

En 1998, se produit un épisode assez particulier. En août, un groupe d'un millier de cigognes blanches (*Ciconia ciconia*) effectue une migration d'automne de l'Europe du Nord vers l'Afrique. Des vents particulièrement violents le forcent à interrompre sa route et à atterrir dans le sud d'Israël. Le virus *West Nile* est isolé à partir de certaines cigognes retrouvées mortes (Malkinson *et al.*, 2002). Les mois suivants, des élevages d'oies en Israël connaissent de la mortalité (jusqu'à 40 %) associée au virus *West Nile* (Malkinson *et al.*, 2002). Cet épisode montre le rôle potentiel des oiseaux migrateurs dans l'introduction du virus *West Nile*. Il s'agit, de plus, de la première description de mortalité aviaire importante associée au virus *West Nile* en conditions naturelles. Cet épisode va avoir des conséquences importantes.

Fin août 1999, des cas d'encéphalites virales (61 cas avec 7 décès) sont rapportés à New York (Garmendia *et al.*, 2001). Le virus *West Nile*, jamais décrit dans le Nouveau Monde, n'est pas immédiatement identifié (Asnis *et al.*, 1999 ; Briesse *et al.*, 1999). Ces cas sont accompagnés d'encéphalites équines et de la mort de plusieurs centaines d'oiseaux sauvages, essentiellement des corneilles d'Amérique (*Corvus brachyrhynchos*) et des oiseaux exotiques du zoo du Bronx (Garmendia *et al.*, 2001). Le virus *West Nile* est isolé de corneilles, d'un épervier de Cooper (*Accipiter cooperii*) et de lots de *Cx. pipiens* et d'*Aedes vexans* (Meigen) (Anderson *et al.*, 1999). Cette souche du virus *West Nile*, très similaire de la souche israélienne isolée en 1998, a très certainement été introduite aux États-Unis à partir du Proche-Orient (Lanciotti *et al.*, 1999). On pourrait dire que l'introduction du virus *West Nile* aux États-Unis, événement qui a le plus participé au changement de statut de ce virus, est la conséquence indirecte de quelques jours de vents violents au large d'Israël en août 1998.

Plus que cet épisode, c'est la naturalisation du virus *West Nile*, sa rapide extension à l'ensemble des États-Unis (en 4 ans) et ses conséquences sanitaires qui vont considérablement augmenter l'intérêt de la communauté scientifique et des sociétés civiles pour ce virus¹³. Au total, entre 1999 et 2009, environ 30 000 cas et plus de 1 100 décès sont répertoriés (statistiques du Center for disease control and prevention, CDC¹⁴). Il s'agit de la plus grande épidémie d'encéphalites à virus *West Nile* jamais décrite.

12. Communiqué de presse de l'Institut de veille sanitaire du 4 octobre 2006 (<http://www.invs.sante.fr>).

13. Le nombre d'articles référencés dans PubMed qui comprennent « West Nile » dans leur titre est d'en moyenne 7,5 par an entre 1950 et 1998 et passe de 6 en 1998, à 18 en 1999, 75 en 2000, 144 en 2001, 145 en 2002, 279 en 2003, 299 en 2004, 277 en 2005, 314 en 2006, puis décroît 268 en 2007 et 241 en 2008.

14. <http://www.cdc.gov/ncidod/dvbid/westnile/>.

Par la suite, le virus *West Nile* va gagner une grande partie du continent américain, atteignant vers le nord le Canada en 2002 (Gancz *et al.*, 2004) et, vers le sud, les îles Caïman et la Jamaïque en 2001, le Mexique, la République dominicaine et la Guadeloupe en 2002, le Salvador, le Guatemala, les Bahamas et Cuba en 2003, Porto Rico, Trinidad et la Colombie en 2004, l'Argentine en 2006 (Cruz *et al.*, 2005 ; Dupuis *et al.*, 2003 ; Estrada-Franco *et al.*, 2003 ; Komar et Clark, 2006 ; Komar *et al.*, 2003b ; Lefrancois *et al.*, 2005 ; Mattar *et al.*, 2005 ; Morales-Betoulle *et al.*, 2006 ; Morales *et al.*, 2006 ; Pradel, 2006 ; Pupo *et al.*, 2006 ; Quirin *et al.*, 2004).

► Les cycles de transmission

Les oiseaux, hôtes naturels du virus

Les oiseaux sont considérés comme les hôtes naturels du virus *West Nile* (chapitre 3) depuis les études égyptiennes (Taylor *et al.*, 1956). Cette hypothèse s'appuie sur l'isolement régulier du virus *West Nile* chez des oiseaux à travers le monde (Bashkirtsev *et al.*, 1969 ; Berezin, 1971 ; Nir *et al.*, 1972 ; Work *et al.*, 1953). De plus, les clusters de mortalité aviaire sont associés à une intense transmission à l'homme et au cheval aux États-Unis (Eidson *et al.*, 2005 ; Guptill *et al.*, 2003 ; Mostashari *et al.*, 2003 ; Reisen *et al.*, 2006b ; Roberts et Foppa, 2006). Enfin, après inoculation¹⁵ avec le virus *West Nile*, certains oiseaux, notamment passériformes, développent des virémies longues et intenses (Komar *et al.*, 2003a ; Langevin *et al.*, 2001 ; Reisen *et al.*, 2005 ; Work *et al.*, 1955).

Les moustiques, vecteurs du virus

La transmission expérimentale du virus *West Nile* par des moustiques (chapitre 4) a été réalisée dès 1943 (Philip et Smadel, 1943) et le rôle des moustiques comme principaux vecteurs est accepté depuis les années 1950 (Taylor *et al.*, 1956).

Les principales espèces impliquées dans la transmission du virus *West Nile* appartiennent au genre et au sous-genre *Culex* (à l'exception de *Cx. modestus*). Il s'agit de *Cx. univittatus*, *Cx. antennatus* et *Cx. pipiens* en Égypte (Taylor *et al.*, 1956), de *Cx. pipiens* et *Cx. univittatus* en Israël (Nir *et al.*, 1972), de *Cx. univittatus* et *Culex theileri* Theobald en Afrique du Sud (McIntosh *et al.*, 1967), de *Cx. modestus* et *Cx. pipiens* en Europe et Russie (Berezin, 1971 ; Mouchet *et al.*, 1970 ; Savage *et al.*, 1999) et de *Culex tritaeniorhynchus* Giles et *Cx. quinquefasciatus* en Inde et au Pakistan (Akhter *et al.*, 1982 ; Pavri et Singh, 1965). Aux États-Unis, on soupçonne dans le nord-est *Cx. pipiens*, *Culex restuans* Theobald et *Culex salinarius* Coquillett (Andreadis *et al.*, 2004 ; Lukacik *et al.*, 2006), et au sud *Cx. quinquefasciatus* associé à *Culex nigripalpus* Theobald à l'est et *Cx. tarsalis* à l'ouest (Hayes *et al.*, 2005a ; Reisen *et al.*, 2004). Dans de nombreuses régions, les *Culex* sont ornithophiles, c'est-à-dire qu'ils

15. Suivant les études, l'infection expérimentale des oiseaux ou des mammifères est réalisée par piqûre de moustiques ou par injection (le plus souvent sous-cutanée). Ces deux méthodes sont équivalentes en terme de durée et de niveau de la virémie, la dose injectée n'ayant pas de conséquence (Tahori *et al.*, 1955 ; Reisen *et al.*, 2005 ; Sbrana *et al.*, 2005 ; Tiawsirisup *et al.*, 2005).

se gorgent principalement sur des oiseaux. Les mécanismes par lesquels ces moustiques sont amenés à piquer les mammifères, et donc à pouvoir transmettre le virus à l'homme et aux chevaux, reste l'un des principaux points d'étude et de controverse dans la transmission du virus *West Nile*.

Le rôle éventuel des mammifères dans les cycles de transmission

The apparent insignificant role of wild mammals in the ecology of WN virus may be from lack of scrutiny rather than from lack of importance

McLean *et al.*, 2002

De nombreux mammifères sauvages et domestiques peuvent être infectés par le virus *West Nile* (McLean *et al.*, 2002). Il est classiquement admis que les mammifères n'interviennent pas en tant que source de virus pour les moustiques (Hayes *et al.*, 2005b). Nous discutons ici de cette supposition.

Les équidés

Ce sont les équidés qui sont les mammifères les plus sensibles à l'infection par le virus *West Nile* (chapitre 5), avec de véritables épizooties d'encéphalites et une létalité d'environ 40 % (Dauphin *et al.*, 2004 ; Ostlund *et al.*, 2001). Les premières infections expérimentales d'équidés leur attribuent une virémie insuffisante pour infecter des moustiques (Schmidt et El Mansoury, 1963 ; Taylor *et al.*, 1956). Plus récemment, la virémie¹⁶ de chevaux inoculés (inférieure à $10^{2.7}$ PFU/ml) s'est révélée insuffisante pour infecter *Ae. albopictus* (Bunning *et al.*, 2002). Néanmoins, toutes ces expériences ont été réalisées avec des chevaux adultes. En France, des infections expérimentales ont été menées avec des équidés de différents âges (Guillon *et al.*, 1968 ; Lapras *et al.*, 1968 ; Oudar *et al.*, 1971). Les auteurs décrivent une virémie des poulains plus élevée que celle des adultes, en particulier pour des poulains en mauvais état général (parasitisme) (Joubert *et al.*, 1971). Ils considèrent que la virémie des poulains est suffisante pour infecter des vecteurs. Cet effet de l'âge a été mis en évidence pour d'autres espèces : poulets, souris ou porc (les animaux développent une virémie d'autant plus intense qu'ils sont jeunes) (Hurlbut, 1956 ; Taylor *et al.*, 1956 ; Teehee *et al.*, 2005). Les poulains pourraient alors servir de source de virus. Ce phénomène ne doit cependant pas être quantitativement important, si ce n'est lors d'épizooties intenses.

Les autres mammifères

Des infections expérimentales ont été menées chez différentes espèces de mammifères (van der Meulen *et al.*, 2005). La plupart développent des virémies de courte durée et de faible intensité : le macaque rhésus (Ratterree *et al.*, 2004), le mouton (Oudar *et al.*, 1972 ; Taylor *et al.*, 1956), le chien (Austgen *et al.*, 2004) et le porc adulte (Oudar *et al.*, 1972 ; Teehee *et al.*, 2005). Néanmoins, pour certains, la virémie semble suffisante pour l'infection de moustiques, comme le chat, chez qui la virémie dure 3 à 5 jours (Austgen *et al.*, 2004). Les lémuriens (*Lemur fulvus*) présentent quant à eux des

16. Titrage par inoculation à des tapis cellulaires de cellules Vero et comptage du nombre de plages de lyse induite par le virus. Le titre est estimé en *Plaque-Forming Units* par millilitre.

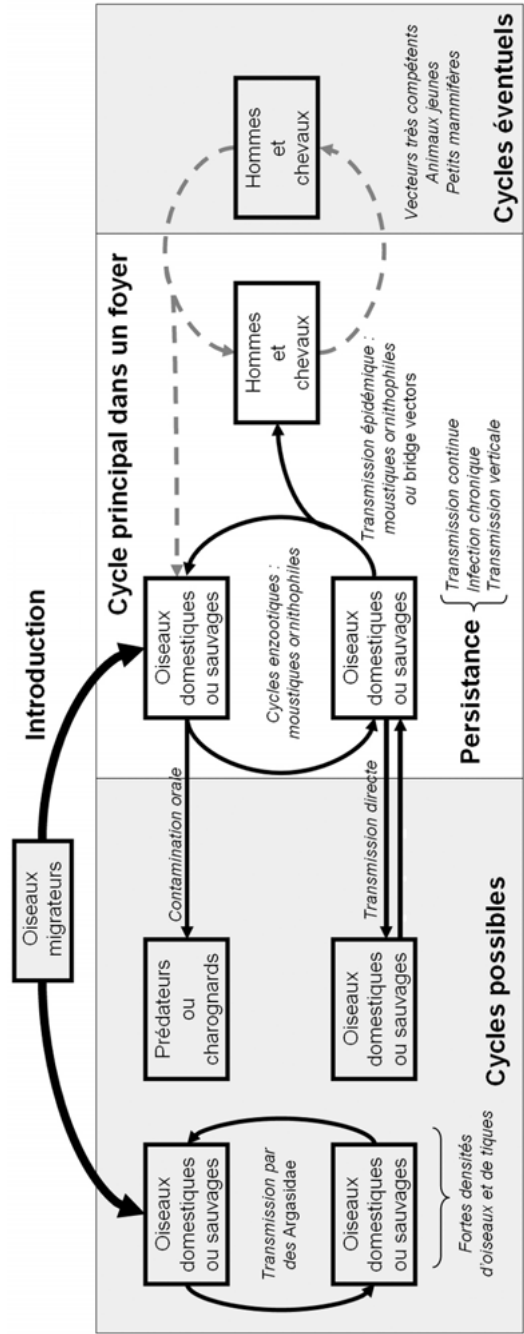


Figure 1.1. Schéma général de l'épidémiologie de la fièvre West Nile.

virémies pendant 5 à 6 jours qui permettent d'infecter à maintes reprises des femelles d'*Ae. aegypti* (Rodhain *et al.*, 1985). Pour les petits mammifères, la situation semble différente, puisque des cycles de transmission entre moustiques et souris ou hamsters sont possibles en conditions de laboratoire (Davies et Yoshpe-Purer, 1954 ; Philip et Smadel, 1943 ; Vermeil *et al.*, 1960), et que le lapin à queue blanche (*Sylvilagus floridanus*) présente une virémie suffisante pour infecter *Cx. pipiens*, *Cx. salinarius*, *Ae. albopictus* et *Ae. aegypti* (Tiawsirisup *et al.*, 2005b) et l'écureuil fauve (*Sciurus niger*) *Cx. pipiens* et *Ae. triseriatus* (Platt *et al.*, 2008). Ainsi, le rôle de la plupart des mammifères en tant que source du virus *West Nile* pour les vecteurs est sans doute anecdotique. Mais cette règle admet des exceptions ; c'est pourquoi les mammifères ne devraient pas être exclus *a priori* de l'étude des cycles de transmission (figure 1.1).

D'autres cycles de transmission du virus ?

Les cycles de transmission du virus *West Nile* sont classiquement décrits avec les oiseaux comme hôtes amplificateurs, les moustiques du genre *Culex* comme vecteurs et les hommes et chevaux comme hôtes tangentiels, victimes et culs-de-sac épidémiologiques (Zeller et Schuffenecker, 2004). D'autres cycles et voies de transmission sont néanmoins possibles.

D'autres hôtes amplificateurs ?

Au Tadjikistan, des cycles de transmission du virus *West Nile* existeraient entre des grenouilles (grenouille rieuse, *Rana ridibunda*) et les moustiques (Kostyukov *et al.*, 1985)¹⁷. Ainsi, la question du rôle des amphibiens ou des reptiles comme hôtes amplificateurs peut se poser. D'autant plus que la proportion de repas des *Culex*, en particulier *Cx. pipiens*, sur amphibien ou reptile peut être importante (Apperson *et al.*, 2004). Chez quasiment tous les amphibiens ou reptiles inoculés avec le virus *West Nile* aux États-Unis, la virémie est faible ou indétectable (Klenk et Komar, 2003). En revanche, les alligators juvéniles (*Alligator mississippiensis*) développent des virémies élevées ($10^{5.8}$ PFU/ml) et de longues durées (10 à 14 jours) (Klenk *et al.*, 2004), et peuvent être considérés comme des hôtes amplificateurs, par exemple dans les fermes d'alligators (Floride).

Une transmission non virémique

L'infection de moustiques se gorgeant sur un hôte sain à côté d'un moustique infectant est possible en laboratoire (Higgs *et al.*, 2005). Ce phénomène a été bien documenté chez les tiques (Randolph *et al.*, 1996) et décrit aussi chez les simulies (Mead *et al.*, 2000), mais n'avait jamais été envisagé chez les moustiques¹⁸. Les taux

17. Un cycle de transmission *Rana ridibunda* et *Cx. pipiens* aurait été reproduit expérimentalement, mais la publication originale n'a pas été retrouvée : Kostyukov *et al.*, 1986. *Med. Parazitol. (Mosk)*, 6, 76-78.

18. Les tiques et les simulies, telmophages (se nourrissant dans un lac sanguin créé par la dilacération des tissus), sont capables de prélever un agent pathogène hors circulation sanguine, dans le derme. La transmission non systémique d'un agent pathogène entre vecteurs se nourrissant sur le même hôte (*co-feeding*) est compréhensible. Elle est moins intuitive pour les moustiques, solénophages, cathétérisant les capillaires veineux. Ainsi, un moustique serait capable d'absorber du virus circulant à des doses non détectables.

d'infection sont faibles. Seulement 2,3 % (n = 87) des *Cx. quinquefasciatus* qui se gorgent sur la même souris qu'un seul moustique infectant s'infectent (Higgs *et al.*, 2005). Ce phénomène a ensuite été reproduit avec des individus *Cx. tarsalis* infectants se gorgeant sur des rosélins (*Carpodacus mexicanus*) en même temps que des *Cx. tarsalis* et *Cx. quinquefasciatus* naïfs (Reisen *et al.*, 2007a). L'infection des deux espèces est possible, avec des taux d'infection très faibles. Néanmoins, contrairement à Higgs *et al.* (2005), Reisen *et al.* (2007) considèrent que la transmission est liée aux particules virales précocement mises en circulation dans le sang des oiseaux, chez qui une virémie est détectée 30 à 45 minutes après le repas infectant. L'importance de ce phénomène en conditions naturelles ou avec des hôtes de taille plus importante (cheval) reste à déterminer.

Une transmission non vectorielle

Des contaminations accidentelles de laboratoire montrent la possible contamination directe du virus *West Nile*, vraisemblablement par aérosol (Nir, 1959). La voie conjonctivale pourrait aussi être infectieuse (Fonseca *et al.*, 2005 ; Hannoun *et al.*, 1967). Il est important de savoir dans quelle mesure une telle transmission peut se produire dans les populations d'hôtes, notamment d'oiseaux. Chez différentes espèces, un oiseau sain peut s'infecter s'il est présent dans la même cage qu'un groupe d'oiseaux inoculés (Komar *et al.*, 2003a ; Langevin *et al.*, 2001 ; Swayne *et al.*, 2001), alors qu'il reste indemne dans une cage adjacente (Banet-Noach *et al.*, 2003 ; McLean *et al.*, 2001). Une transmission directe est donc possible chez les oiseaux ; le mode de transmission précis n'est pas expliqué, mais nécessite *a priori* un contact étroit. Le virus présent dans les fèces chez la plupart des espèces d'oiseaux (Banet-Noach *et al.*, 2003 ; Komar *et al.*, 2003a) est une source possible pour une contamination oro-fécale ou par aérosol. Ce mode de transmission pourrait prendre de l'importance chez les espèces d'oiseaux coloniaux (Jourdain *et al.*, 2007c). Lors d'épizooties assez importantes (10 % de mortalité) dans les fermes d'élevage d'alligators, la transmission directe semble jouer le rôle principal (Klenk *et al.*, 2004 ; Miller *et al.*, 2003).

Une contamination orale est suspectée depuis qu'une buse a été retrouvée infectée en février 2000, *a priori* hors période d'activité des moustiques (Garmendia *et al.*, 2000). Cette voie de contamination a été confirmée expérimentalement chez différentes espèces d'oiseaux ingérant une souris, une carcasse ou un moustique infecté (Komar *et al.*, 2003a). Les alligators, chats et hamsters peuvent aussi s'infecter par ingestion (Austgen *et al.*, 2004 ; Klenk *et al.*, 2004 ; Sbrana *et al.*, 2005).

Aux États-Unis, la transmission du virus *West Nile* par transfusion est connue depuis 2002 et un dépistage des donneurs effectué depuis 2003. Malgré cette précaution, environ une dizaine de cas depuis 2002 sont rapportés. Plus anecdotiques, quelques cas de transmission intra-utérine ou par allaitement sont suspectés (Hayes *et al.*, 2005a).

D'autres vecteurs ?

La mise en évidence du virus *West Nile* chez d'autres arthropodes que les moustiques peut poser la question de l'existence d'autres vecteurs. Pour les *Hippoboscidae* ou les

Culicoides, le nombre réduit de détections (ou la présence d'individus gorgés dans les lots testés) ne permet pas de conclure à un rôle de ces arthropodes dans la transmission du virus *West Nile* (Farajollahi *et al.*, 2005a ; Gancz *et al.*, 2004 ; Sabio *et al.*, 2006). En revanche, le virus *West Nile* a été isolé de différentes espèces¹⁹ d'*Argasidae* (tiques molles) et d'*Ixodidae* (tiques dures) à travers l'Afrique et l'Eurasie, posant la question de leur implication, notamment dans des mécanismes de persistance (Schmidt et Said, 1964). Les infections expérimentales répondent en partie à cette question.

Jamais au cours de différentes expériences les *Ixodidae* ne se sont révélées capables de transmettre le virus *West Nile*. Après inoculation, les tiques dures²⁰ sont moins aptes que les moustiques à amplifier le virus *West Nile* (Hurlbut, 1956). Le taux d'infection de larves, nymphes ou adultes, fixés sur des animaux virémiques, est faible (10 à 40 %) pour *Dermacentor variabilis* (Say), *Ixodes scapularis* Say, *Dermacentor andersoni* Stiles, *Amblyomma americanum* (Linnaeus) et *Ixodes pacificus* Cooley & Kohls (Anderson *et al.*, 2003 ; Reisen *et al.*, 2007b ; Whitman *et al.*, 1960) ou nul pour *Ixodes ricinus* (Linnaeus) (Lawrie *et al.*, 2004). Pour les individus infectés, le virus peut être maintenu par transmission transstadiale jusqu'à l'adulte, mais n'est pas transmis à la descendance (Anderson *et al.*, 2003 ; Whitman et Aitken, 1960). Aussi, les tiques dures ne semblent-elles jouer aucun rôle dans la transmission.

La situation est différente pour les *Argasidae*. Certaines espèces sont réfractaires à l'infection et se montrent incapables de transmettre le virus *West Nile* : *Ornithodoros savignyi* (Audouin), *Argas persicus* (Oken) et *A. hermanni* (Abbassy *et al.*, 1993 ; Hurlbut, 1956). Au contraire, d'autres s'infectent sur animaux virémiques (taux inférieur à 50 %) et sont capables de transmettre le virus jusqu'à plusieurs centaines de jours après l'exposition, par exemple après 10 mois pour *Carios coniceps* (Canestrini)²¹, 45 jours pour *Ornithodoros erraticus*²² (Lucas) (Vermeil *et al.*, 1958 ; 1960), 57 à 224 jours pour *Ornithodoros moubata* (Murray) (Lawrie *et al.*, 2004 ; Whitman et Aitken, 1960), 418 jours pour *Argas reflexus* (Fabricius)²³ (Hannoun et Rau, 1970), 20 jours pour *Argas arboreus* Kaiser, Hoogstraal et Kohls (Abbassy *et al.*, 1993) et 35 jours pour *Carios capensis* (Neumann) (Hutcheson *et al.*, 2005). La conservation du virus *West Nile* dans les tiques molles est imparfaite. En effet, le titre viral ou le nombre d'individus infectés décroît avec le temps (Hutcheson *et al.*, 2005 ; Whitman *et al.*, 1960). La transmission n'est obtenue souvent que par le biais d'une infestation massive (Whitman et Aitken, 1960), sauf chez certaines espèces : *C. coniceps* ou *A. reflexus* (Hannoun et Rau, 1970 ; Vermeil *et al.*, 1960). Une transmission verticale n'est mise en évidence que chez *A. arboreus* (Abbassy *et al.*, 1993).

Il est donc possible que certaines espèces d'*Argasidae* puissent jouer le rôle de vecteurs du virus *West Nile* dans des situations particulières de densités importantes d'oiseaux et de tiques. Un tel cycle oiseaux-tiques est proposé pour expliquer l'infection par le virus *West Nile* des populations de goélands argentés (*Larus*

19. Pour une revue de ces différentes espèces, voir Mumcuoglu *et al.* (2005).

20. Les noms des tiques employés sont ceux recensés dans la dernière revue connue (Horak *et al.*, 2003).

21. Nommée *Ornithodoros coniceps* (Canestrini) dans l'étude.

22. La compétence de *C. coniceps* est jugée « bien supérieure » à celle d'*O. erraticus* (Vermeil *et al.*, 1960).

23. Nommée *Argas reflexus reflexus* dans l'étude.

argentatus) infestés par *C. capensis*²⁴ dans des îles de la mer Caspienne en l'absence de moustiques (Lvov, 1987). Un cycle oiseaux-tiques est aussi suspecté en Israël dans des colonies de hérons garde-bœufs (37,8 % de séroprévalence), où le virus *West Nile* est mis en évidence par RT-PCR chez *A. arboreus* (taux d'infection minimal 16/1000) (Mumcuoglu *et al.*, 2005). La longue vie des tiques molles, 10 à 20 ans selon les espèces (Rodhain et Perez, 1985), pourrait permettre une persistance du virus *West Nile* de façon localisée dans certains foyers (figure 1.1).

La circulation du virus dans le monde

Le virus *West Nile* est largement répandu et endémique en Afrique tropicale. Il circule ensuite dans d'autres zones du monde, souvent dans des foyers (zones humides, deltas) où son endémie est moins certaine.

Le transport du virus

Les oiseaux migrateurs ont depuis longtemps été suspectés d'être à l'origine de l'introduction du virus *West Nile* dans de nouvelles zones (Zeller et Murghe, 2001). L'introduction du virus en Israël en 1998 en est l'exemple le plus démonstratif (Malkinson *et al.*, 2002). *A priori*, un oiseau en migration ne peut introduire le virus que si sa durée de virémie (de l'ordre de quelques jours) est plus longue que celle de la migration. La détermination des durées de virémie et de migration peut théoriquement permettre d'identifier les espèces potentiellement introductrices. Néanmoins, il est aussi possible que le stress physiologique de la migration puisse entraîner une immunodépression rendant la virémie plus longue et plus intense ou réactiver le virus maintenu en infection chronique dans le corps de l'oiseau (Zeller et Murghe, 2001). Certains ont ajouté comme hypothèse le transport par les oiseaux migrateurs de tiques infectées fixées qui serviraient de point de départ à un nouveau cycle de transmission. Cependant, le repas sanguin ne dure plusieurs jours que chez les *Ixodidae* (à tous les stades) contre quelques minutes pour les nymphes et les adultes des *Argasidae*²⁵ (Rodhain et Perez, 1985). Ainsi, seules les premières sont susceptibles d'être transportées lors des migrations (Hoogstraal *et al.*, 1961 ; 1963)²⁶. Les *Ixodidae* n'ayant jamais été trouvées compétentes pour le virus *West Nile*, leur rôle dans l'initialisation d'un cycle de transmission doit être quasi nul²⁷. Pour les États-Unis, les voies de migration depuis l'Ancien vers le Nouveau Monde étant rares (Rappole *et al.*, 2000), les hypothèses les plus probables sont l'introduction commerciale (légal ou non) d'un ou plusieurs oiseaux virémiques, et non l'introduction par des oiseaux migrateurs (Weaver et Barrett, 2004). En revanche, les mouvements migratoires ont sans doute permis au virus de passer du nord-est des

24. Nommé *Ornithodoros capensis* dans l'étude.

25. Le repas des larves dure plusieurs jours, mais les espèces du genre *Ornithodoros* ne se gorgent pas au stade larvaire.

26. Parmi les oiseaux en migration examinés en Égypte, les oiseaux allant de l'Europe ou l'Asie vers l'Afrique ne transportaient que des *Ixodidae* (30 000 individus examinées, 1 000 infestés avec 1 700 tiques) et, sur le chemin inverse, seules 2 larves d'*Argasidae* sont collectées (340 oiseaux infestés par 1 025 tiques).

27. La probabilité qu'un oiseau transporte une tique infectée, qui, ensuite ingérée par un oiseau résident, initialise un cycle de transmission est sans doute très faible.

États-Unis à la Floride (Peterson *et al.*, 2003) et à la Caraïbe (Rappole et Hubalek, 2003), et l'extension de la fièvre *West Nile* d'est en ouest semble liée à des mouvements d'oiseaux résidents assurant la propagation de proche en proche (Rappole *et al.*, 2006).

L'analyse phylogénétique des isolements viraux réalisés permet de tracer de grandes zones géographiques à l'intérieur desquelles les souches de virus *West Nile* circulent vraisemblablement par le biais des oiseaux migrateurs (chapitre 2). Les souches de virus *West Nile* sont séparées en différents lignages²⁸ (Zeller et Schuffenecker, 2004). Le lignage 1 comprend des souches isolées en Afrique, Europe, Asie et Amérique, et le lignage 2 la souche initiale d'Ouganda et des souches isolées uniquement en Afrique subsaharienne et à Madagascar. Néanmoins, une souche de lignée 2 a été isolée en 2004 en Hongrie (Bakonyi *et al.*, 2006) et deux souches isolées à partir de lots de *Cx. pipiens* en 1997 et 1999 en République tchèque (Hubalek *et al.*, 1998 ; 2000) appartiendraient à une nouvelle lignée ou un nouveau *Flavivirus* (Bakonyi *et al.*, 2005).

Parmi les souches du lignage 1 (chapitre 2), on peut distinguer plusieurs clusters (Schuffenecker *et al.*, 2005). Un cluster américain/israélien, comprenant les souches américaines et des souches israéliennes de 1998 et 2000, plus une souche qui a provoqué la mort d'oies en Hongrie en 2003 (Bakonyi *et al.*, 2006). Un cluster regroupe des souches européennes, méditerranéennes et africaines (Zeller *et al.*, 2004), séparées en deux groupes : les souches isolées à Volgograd (1999 et 2000) et en Roumanie (1996) associées à une souche kenyane et à des épidémies humaines ; les souches Maroc 1996 et 2003, Italie 1998 et France 2000 et 2004, associées à des épizooties équine (Jourdain *et al.*, 2007b). Ainsi, il est certain que le virus *West Nile* peut être transporté par les oiseaux migrateurs de l'Afrique vers l'Europe, ou inversement, mais les modalités de persistance du virus pendant la migration restent inconnues.

Le maintien du virus dans une zone donnée

On sait que le virus *West Nile* peut se maintenir dans une zone donnée plusieurs années successives et en particulier passer l'hiver des pays tempérés. En effet, après les épidémies ou épizooties de fièvre *West Nile* en Israël en 1951 (Goldblum *et al.*, 1954), en France en 1962 (Joubert *et al.*, 1970 ; Panthier *et al.*, 1968) ou en Roumanie en 1996 (Cernescu *et al.*, 2000), la circulation du virus a persisté les années suivantes. Les souches isolées dans le même foyer avec quelques années d'écart sont souvent très proches comme en Israël en 1998 et 2000, à Volgograd en 1999 et 2000 ou en France en 2000 et 2004 (Jourdain *et al.*, 2007b ; Schuffenecker *et al.*, 2005), ce qui suggère la persistance de la souche localement. De même, le virus *West Nile* s'est maintenu dans le nord-est des États-Unis pendant les hivers suivant son introduction pour y réapparaître les années suivantes.

Si l'existence de ce phénomène est connue, ses mécanismes ne le sont pas encore. Les différentes hypothèses sont : i) le maintien d'une transmission à bas bruit pendant l'hiver, ii) une infection chronique chez les oiseaux ou iii) une persistance chez le

28. Le virus Kunjin précédemment décrit en Australie a été rattaché au virus *West Nile*.

vecteur. En Californie, la persistance d'une transmission à bas bruit n'a pas été mise en évidence pendant l'hiver, moins rude que dans le sud européen : aucune séro-conversion de sentinelles (190 poulets) (Reisen *et al.*, 2006a). En revanche, le virus peut se maintenir chroniquement dans les organes des oiseaux pendant au moins 6 semaines après infection expérimentale (Reisen *et al.*, 2006a), mais les conditions d'initialisation d'un nouveau cycle restent à élucider (relargage du virus dans le sang, contamination par voie orale). La possible persistance du virus chez le vecteur a été mise en évidence en conditions naturelles, par la présence du virus *West Nile* (isolement ou RT-PCR) chez des femelles *Cx. pipiens* en diapause hivernale dans le nord-est des États-Unis (Bugbee et Forte, 2004 ; Farajollahi *et al.*, 2005b ; Nasci *et al.*, 2001). En effet, ce sont les femelles qui passent l'hiver chez les *Culex* et les *Anopheles*, alors que, chez les *Aedes*, le stade quiescent est l'œuf (Mitchell, 1988). Ainsi, des femelles *Culex* infectées à la fin de la saison pourraient maintenir le virus jusqu'au printemps suivant (chapitre 4).

Ainsi, il est certain que le virus *West Nile* peut se maintenir dans ses foyers des zones tempérées d'une année sur l'autre en survivant à l'hiver. Si les hypothèses concernant les modalités de son maintien sont posées, l'importance relative de chacun des phénomènes est encore à évaluer (figure 1.1).

Chapitre 2

Description du virus

Marc GRANDADAM et Charlotte RENAUDAT

Objectif : réaliser la synthèse des connaissances actuelles sur le virus *West Nile*

Quelles sont les caractéristiques générales et la classification du virus *West Nile* ?

Quels sont le polymorphisme génétique, le pouvoir pathogène et les mécanismes de dispersion du virus *West Nile* ?

Quelles sont les perspectives prophylactiques et thérapeutiques ?

L'émergence du virus *West Nile* aux États-Unis en 1999 suivie de celle de l'un de ses proches parents en Autriche en 2001, ou encore l'identification de nouveaux variants en Europe de l'Est et en Russie, ont relancé les études génétiques sur ce virus afin de mieux comprendre son épidémiologie, d'adapter les outils de diagnostic et d'optimiser les stratégies vaccinales.

Le virus *West Nile* est classé dans le genre *Flavivirus*, famille des *Flaviviridae*. Du point de vue morphologique (figure 2.1), la visualisation des virions du virus *West Nile* en microscopie électronique montre une particule enveloppée d'une taille moyenne de 50 nm à la surface de laquelle apparaissent les dimères de la protéine d'enveloppe. La capside est à symétrie cubique. Le génome du virus *West Nile* est composé d'une molécule unique d'ARN monocaténaire de polarité positive, d'une longueur moyenne de 1 000 nucléotides. Des séquences non codantes d'environ 100 et 600 nucléotides sont positionnées respectivement aux extrémités 5' et 3' du génome. Le génome présente une seule phase ouverte de lecture traduite sous forme d'une polyprotéine d'environ 3 430 acides aminés. Les séquences des protéines virales sont agencées dans l'ordre C-prM-E-NS1-NS2-N2A-NS2B-NS3-NS4A-NS4B-NS5 sur le précurseur (figure 2.2). Des clivages post-traductionnels générés par des protéases essentiellement d'origine virale libèrent les trois protéines structurales (C ; prM ; E) et les sept protéines non structurales (NS2 ; N2A ; NS2B ; NS3 ; NS4A ; NS4B ; NS5) (tableau 2.1 ; figure 2.2). La fonction de toutes les protéines du virus *West Nile* n'est pas entièrement élucidée. En plus de leur rôle structural, les protéines E et M jouent un rôle important dans le cycle d'infection des cellules en interagissant avec les récepteurs cellulaires. Les épitopes B et T immunodominants sont également localisés sur ces deux protéines. La réponse neutralisante est ainsi essentiellement dirigée contre ces deux protéines. Les protéines non structurales interviennent dans les phases de réplication de l'ARN génomique, de modifications co- et post-traductionnelles, d'assemblage mais aussi dans la modulation de la réponse de l'hôte (Gubler *et al.*, 2007).

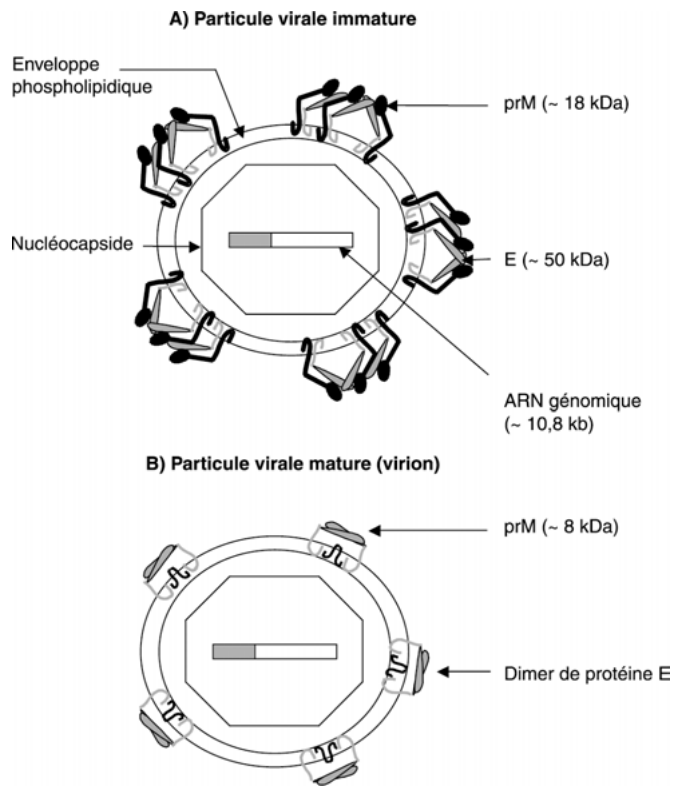


Figure 2.1. Représentation schématique du virus *West Nile*.

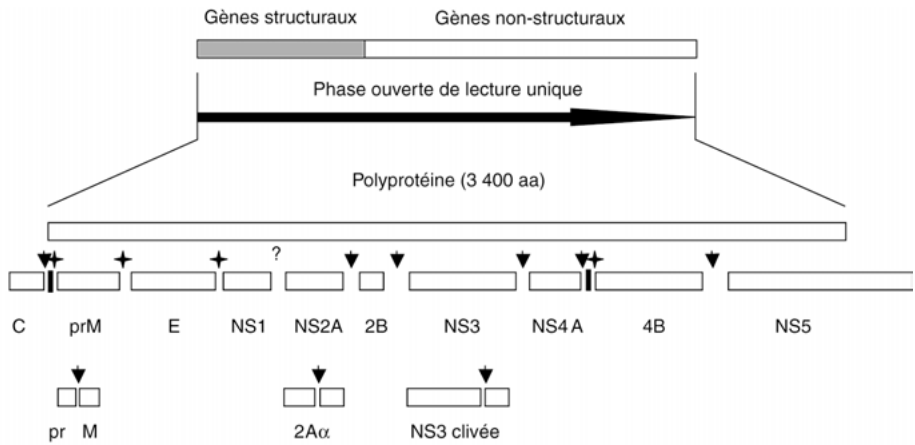


Figure 2.2. Organisation génétique du virus *West Nile*.

Les clivages de la polyprotéine effectués par la protéase virale sont symbolisés par une flèche descendante ; les sites de clivages reconnus par des protéases cellulaires sont identifiés par une étoile. Les sites pour lesquels l'origine de la protéase n'est pas connue sont symbolisés par un point d'interrogation.

Tableau 2.1. Protéines du virus *West Nile* (d'après Koo *et al.*, 2009).

Protéines	Taille (acides aminés)	Fonction	Divergence maximale (%)
C	123	Capside	23
prM	167	Membrane	19
E	497	Enveloppe	12
NS1	352	Participe à la réplication, mécanisme non déterminé	16
NS2a	231	Inhibiteur des voies interferon α - β	20
NS2b	131	Co-facteur de NS3	10
NS3	619	Protéase ARN tri-phosphatase Hélicase	10
NS4a	149	Non déterminée	14
NS4b	256	Non déterminée Interaction avec les voies interféron α - β	8
NS5	905	Méthyl-transférase ARN polymérase (réplicase)	10

► Classification du virus

Parenté antigénique

Le genre *Flavivirus* est subdivisé en complexes antigéniques établis sur des critères de séroneutralisation, d'inhibition d'héماغglutination et de fixation du complément (tableau 2.1) (Casals, 1961). Le complexe antigénique du virus de l'encéphalite japonaise auquel est rattaché le virus *West Nile*, rassemble des *Flavivirus* pour la plupart responsables de syndromes neurologiques : virus de l'encéphalite japonaise ; virus de l'encéphalite de Saint-Louis ; virus de l'encéphalite de Murray Valley (tableau 2.2). L'identification des espèces virales du genre *Flavivirus* sur la base de leurs propriétés antigéniques est difficile en raison de réactions croisées d'une part entre les membres de chaque complexe antigénique mais aussi entre les différents complexes antigéniques (chapitre 6).

La diversité antigénique des *Flavivirus* se limite à la notion de complexes antigéniques à l'exception des virus de la dengue pour lesquels quatre sérotypes ont été identifiés (tableau 2.2). À l'heure actuelle, les variants du virus *West Nile* se répartissent dans huit lignages distincts (Papa *et al.*, 2011). À l'exception des souches du lignage 8 pour lesquelles seuls des fragments de séquence sont disponibles, l'étude

Tableau 2.2. Taxonomie de la famille des *Flaviviridae*.

Genre	Vecteur (réservoir)	Groupe (complexe antigénique)	Exemples
<i>Flavivirus</i>	Tique		Langat Encéphalites à tique Louping ill Fièvre hémorragique d'Omsk Meaban virus Saumarez virus Tyulieniy virus
		Moustique	Groupe du virus Aroa <i>Aroa virus</i> Bussuquara
			Groupe des virus de la dengue Dengue 1, 2, 3, 4
			Groupe de l'encéphalite japonaise Enc. japonaise Enc. de St-Louis Enc. de la vallée de Murray West Nile
			Groupe du virus Kokobera <i>Kokobera virus</i>
	Arthropode non identifié		Groupe du virus Ntaya <i>Ntaya virus</i>
			Groupe du virus Spondweni Spondweni
			Groupe du virus de la fièvre jaune Fièvre jaune Wesselsbron Uganda S
			Groupe du virus Entebbe <i>Entebbe bat virus</i> <i>Sokuluk virus</i>
			Groupe du virus Modoc <i>Modoc virus</i>
			Groupe du virus Rio Bravo <i>Rio bravo virus</i>
			<i>Border disease virus</i> <i>Bovine diarrheal virus 1</i> <i>Classical swine fever</i>
<i>Pestivirus</i>			
<i>Hepacivirus</i>			<i>Hepatitis C virus</i> <i>Hepatitis G virus</i>

de la parenté antigénique des souches des sept autres lignages montre que toutes ces souches appartiennent au même sérotype. Une distinction des souches des deux principaux lignages du virus *West Nile* (lignages 1 et 2) par des tests d'inhibition d'héماغglutination a été décrite dans la littérature (Hammam et Price, 1966). Des travaux plus récents mettent également en évidence des différences antigéniques entre certaines souches indiennes classées dans le lignage 5 et la souche EG-101, prototype du lignage 1a (Bondre *et al.*, 2007).

Position phylogénétique au sein du genre *Flavivirus*

Le genre *Flavivirus* rassemble des virus extrêmement diversifiés du point de vue de leur répartition géographique, de leurs spectres d'hôtes et de leurs cycles

de transmission. La majorité de ces virus sont des arbovirus (virus transmis par un arthropode hématophage). La minorité restante regroupe des virus isolés uniquement d'un vertébré ou d'un arthropode sans qu'une transmission vectorielle ait pu être démontrée. Les comparaisons de séquences, le plus souvent basées sur les gènes *ns5* et *env* mettent en évidence trois groupes de virus distants de 45 à 98 % en acides nucléiques et jusqu'à 60 % en acides aminés (Wallner *et al.*, 1995 ; Kuno *et al.*, 1998). De façon surprenante, cette analyse aboutie à une répartition des virus en groupe selon le type de vecteur impliqué principalement dans leur transmission. Un premier groupe rassemble les *Flavivirus* transmis par des moustiques avec une subdivision en deux sous groupes discriminant les virus transmis par des *Aedes* de ceux transmis par des *Culex*. Le second groupe rassemble les virus transmis par des tiques. Le troisième groupe, groupe NKV (*not known vector*), rassemble les virus dont les arthropodes vecteurs n'ont pour le moment pas été identifiés.

Le complexe de l'encéphalite japonaise, qui rassemble des virus transmis essentiellement par des *Culex*, se distingue clairement des groupes de la dengue et de la fièvre jaune dont les vecteurs sont des *Aedes*, et des groupes des virus des encéphalites à tiques et NKV. Cette classification ne reflète cependant pas tout le potentiel de transmission des arbovirus. En effet, dans des conditions particulières, les arbovirus peuvent être transmis par des vecteurs alternatifs, illustrant le caractère adaptatif de ces virus. La souche de virus *West Nile* LEIV-Krnd88-190 isolée d'une tique ou d'autres souches isolées des diverses espèces d'insectes se retrouvent toutes dans le groupe des virus transmis par les *Culex* (Mumcuoglu *et al.*, 2005). L'interprétation de ces données en matière d'épidémiologie est cependant délicate. En effet, il faut souligner ici que l'isolement d'un virus à partir d'un arthropode hématophage ne signifie pas forcément que ce dernier soit un vecteur de ce virus (capable de le transmettre à un hôte sensible).

► Protéines virales

Les protéines structurales et non structurales du virus sont traduites sous la forme d'une polyprotéine. Une succession de clivages de la polyprotéine, assurés par la protéase du virus (NS2) et par des protéases cellulaires, libèrent les protéines structurales et non structurales. La fonction de toutes les protéines n'est pas clairement identifiée.

La variabilité des souches du virus *West Nile* n'est pas établie de façon équivalente pour les huit lignages identifiés à ce jour principalement en raison de l'hétérogénéité des fréquences d'isolement et des séquences encore incomplètes des souches prototypes de certains d'entre eux. Les principales données portent sur le lignage 1 au sein duquel une grande stabilité des séquences peptidiques est généralement retrouvée (Sotelo *et al.*, 2009).

La plasticité du génome du virus *West Nile* n'est pas homogène sur l'ensemble du génome. La comparaison de génomes complets de souches représentatives des cinq lignages principaux (lignages 1 à 5) isolées sur une période de 70 ans a permis de

cartographier les régions critiques pour le maintien de la réplication et de la structure du virus (Koo *et al.*, 2009). Les séquences peptidiques les plus conservées sont situées dans les gènes des protéines non structurales. Près de 40 % des acides aminés y sont conservés contre seulement 14 % pour les protéines structurales. Cette différence pourrait s’expliquer en partie par le rôle essentiel des protéines non structurales dans la réplication du virus et par la pression de sélection constante exercée sur les protéines structurales par les réponses de l’hôte à l’infection.

► Diversité génétique

Les différents variants du virus *West Nile* connus à ce jour se répartissent en 8 lignages distincts. Cette classification repose principalement sur les données de séquences des gènes des protéines structurales (lignages 1 à 5). Cependant, cette dispersion des souches est retrouvée quel que soit le gène analysé. Ceci permet d’intégrer dans l’analyse des souches pour lesquelles seuls des fragments de séquence du gène de la protéine NS5 sont disponibles à ce jour. C’est en particulier le cas pour les souches du lignage 8 identifiées récemment en Espagne. Les différents niveaux de variabilités définissant le virus *West Nile* en tant qu’espèce et les groupes de variants (lignage) sont indiqués dans le tableau 2.3. Tous les lignages de virus *West Nile* présentent une divergence moyenne de 29 % par rapport au virus de l’encéphalite japonaise qui est le prototype de ce complexe antigénique. Les lignages divergent entre eux de 18 à 22 % alors que la variabilité des souches au sein d’un lignage n’excède pas 5 %.

Tableau 2.3. Pourcentage de diversité entre les différents lignages du virus *West Nile* (d’après Charrel, 2003 et Bondre, 2007).

Lignages (prototypes)	1 (clade 1a)	1 (clade 1b)	2	3	4	5	Encéphalite japonaise
1 (clade 1a)	97						
1 (clade 1b)	89	ND ¹					
2	81	79	94				
3	77	78	76	NA ²			
4	75	73	73	73	NA		
5	78	77	77	75	74	98	
Encéphalite japonaise	68	66	66	67	66	67	-

¹ ND : non déterminé ; ² NA : non applicable (une seule souche identifiée).

Les isolats de virus *West Nile* se répartissent en deux lignages principaux, eux-mêmes subdivisés en plusieurs clusters. Le lignage 1 regroupe les souches d’Europe et d’Eurasie ainsi que les souches nord et sud-américaines. Le lignage 2 rassemble les isolats africains et malgaches ainsi que des isolats européens qui ont émergés et qui circulent dans la zone Europe depuis 2003 (Bakonyi *et al.*, 2006 ; Papa *et al.*, 2011). Les lignages 3 et 4 sont constitués par les seules souches prototypes. Le lignage 5 regroupe des souches indiennes isolées de prélèvements

humains ou de moustiques entre les années 1955 et 1982 (Bondre *et al.*, 2007). Certaines souches de virus *West Nile* ou de virus identifiés comme proche sont en cours de classification. Ainsi, la souche Sarawak du virus Kunjin présente suffisamment de divergence par rapport à son parent du lignage 1b pour constituer le prototype du lignage 6 (Poidinger *et al.*, 1996 ; Papa *et al.*, 2011). Des travaux récents de réanalyse du virus Koutango, isolé au Sénégal en 1968 à partir d'une gerbille (*Tatera kempi*), ont permis de montrer la parenté génétique de ce virus avec les virus *West Nile* dont il pourrait constituer le prototype du lignage 7 (Mackenzie et Williams, 2009 ; Papa *et al.*, 2011). Enfin, des séquences d'un nouveau variant du virus *West Nile* mises en évidence dans des lots de *Culex pipiens* capturés en Espagne en 2006 définissent le lignage 8 (Vazquez *et al.*, 2010 ; Papa *et al.*, 2011).

Évolution de la classification des virus *West Nile*

En l'état actuel de la classification des souches du virus *West Nile*, seul le lignage 1 est subdivisé en deux clades. Le clade 1a rassemble des souches très largement répandues de part le monde (figure 2.3). Le second clade (1b) regroupe les souches Kunjin, actuellement limitées à l'Océanie et à quelques régions d'Inde. La diversité entre les souches des deux clades varie de 10 à 18 % (tableau 2.3).

Le virus Kunjin a été isolé pour la première fois en 1960 à partir d'un broyat de *Culex annulirostris* Skuse capturé sur appât vivant dans la province du Queensland en Australie. Des études de séroneutralisation croisée ont démontré la forte parenté antigénique des virus Kunjin et *West Nile* sans pour autant permettre de les classer formellement dans la même espèce (Westaway, 1965 ; Calisher *et al.*, 1989). Les premières comparaisons de séquences des régions codantes du virus ont établi que les niveaux d'identité nucléotidiques et peptidiques étaient respectivement de 82 % et 93 % entre les deux virus. En revanche, la faible variabilité entre les différentes souches de virus Kunjin (< 2 %) a conduit à considérer que le virus Kunjin constituait un topotype (Flynn *et al.*, 1989). Le virus Kunjin n'est cependant pas limité à l'Australie. Une souche de ce virus a été isolée en 1966 en Malaisie à partir de *Culex pseudovishnui* Colless (Poidinger *et al.*, 1996).

Le virus Rabensburg (souche 97-103) est le prototype du lignage 3. Il a été isolé pour la première fois en 1997 en République tchèque à partir d'un broyat d'un lot de *Culex pipiens* capturés à proximité de la ville frontalière de Rabensburg. Une seconde souche (99-222) a été obtenue de la même façon deux ans plus tard dans la même région. Une comparaison portant sur 1/3 des séquences des génomes a montré que les deux isolats présentaient plus de 99 % d'identité nucléotidique. Les tests de fixation du complément et de séroneutralisation ont permis de rattacher ces deux isolats au virus *West Nile* avec cependant une certaine divergence sur le plan antigénique (chapitre 7). La détermination de la séquence complète de l'isolat 97-103 a permis de confirmer que les souches de type Rabensburg partageaient de 68 à 77 % d'identité avec les génomes complets des virus du complexe de l'encéphalite japonaise, les plus fort taux d'identité apparaissant avec différentes souches de virus *West Nile* (73 à 77 % d'identité en nucléotides et de 87 à 90 % en acides aminés). La concordance des données biologiques et phylogénétiques démontre bien que les

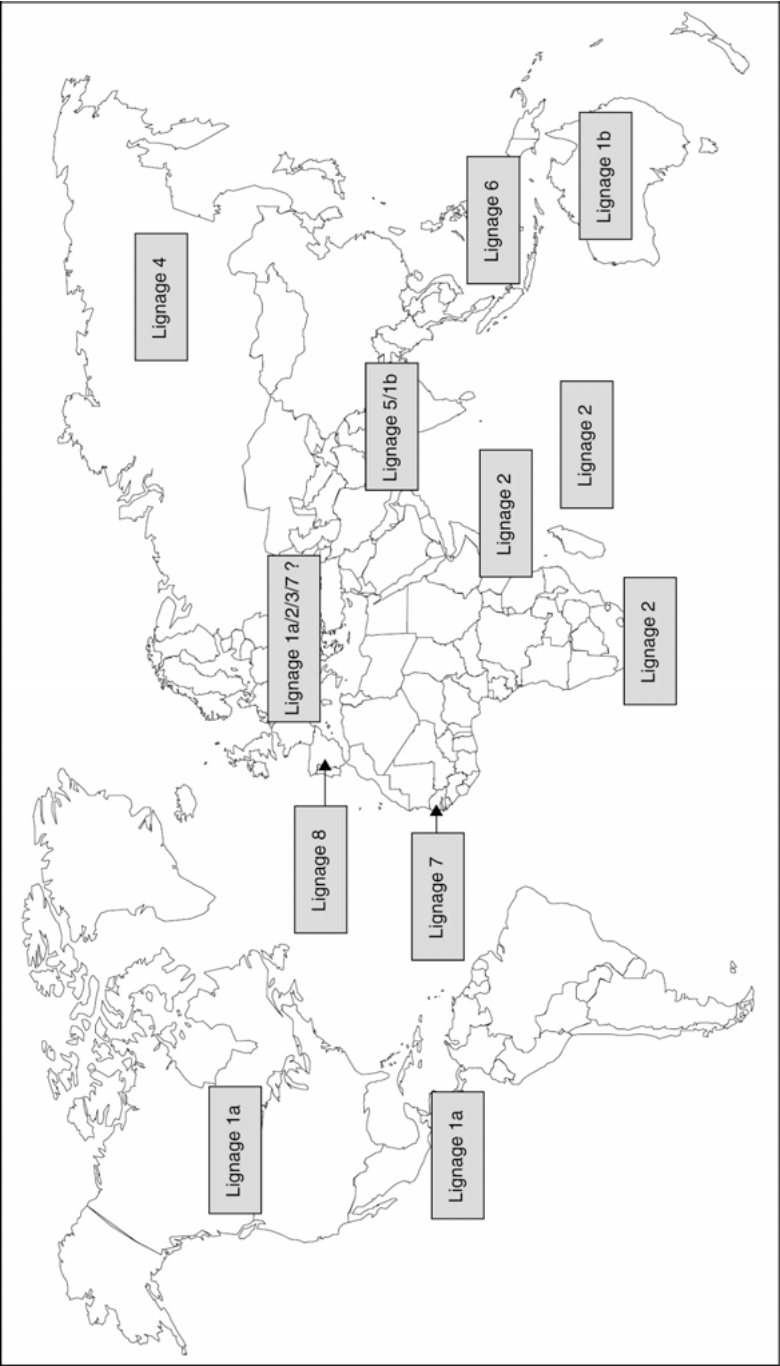


Figure 2.3. Carte de répartition des lignages de virus *West Nile*.

souches de virus Rabensburg constituent un troisième lignage au sein des virus *West Nile* (Bakonyi *et al.*, 2005).

La souche LEIV-Krnd88-190 (Rus98) a été isolée en 1998 à partir d'un broyat de tique (*Dermacantor marginatum*). Sur le plan phylogénétique, elle constitue le prototype du lignage 4 et est actuellement le variant le plus distant au sein des virus du groupe *West Nile* (Lvov *et al.*, 2004).

La détermination de séquences de la région C-prM-E de souches indiennes et leur comparaison avec les séquences de souches appartenant aux autres lignages du virus *West Nile* a suggéré que les isolats indiens pourraient déterminer un cinquième lignage (Bondre *et al.*, 2007). L'analyse d'un génome complet et des études de séroneutralisation tendent à valider cette hypothèse (figure 2.4) (Bondre *et al.*, 2007).

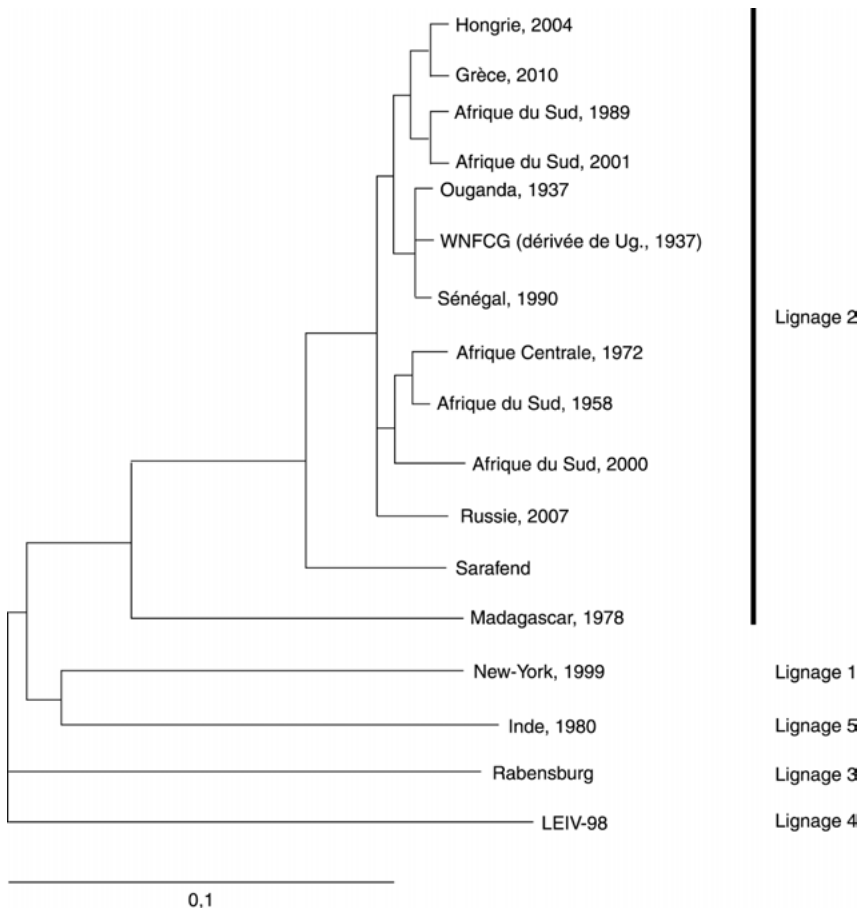


Figure 2.4. Principaux lignages du virus *West Nile* déterminés sur la base de séquences de génomes complets (d'après Papa *et al.*, 2011a). Les séquences complètes n'étant pas disponibles, les lignages 6, 7 et 8, récemment décrits ne figurent pas sur l'arbre. L'échelle représente le pourcentage de diversité nucléotidique.

Flavivirus proches du virus West Nile

La classification de certains *Flavivirus* reste encore incertaine. C'est le cas pour le virus Koutango, isolé d'un rongeur (*Tatera kempi*) au Sénégal en 1968. La séquence complète de ce virus montre une divergence proche de 24 % par rapport aux lignages 1 et 2 de virus *West Nile* et de 27 % par rapport à la souche prototype du virus de l'encéphalite japonaise. Cette position intermédiaire ne permet pas de considérer de façon définitive le virus Koutango comme un variant (lignage 7) du virus *West Nile* (Charrel *et al.*, 2003). Une étude de séroprévalence menée en 2005 dans le nord-est de l'Italie a permis d'établir que 6 % des oiseaux testés avaient des taux significatifs d'anticorps neutralisant le virus Koutango (Rizzoli *et al.*, 2007).

La position du virus Usutu est en revanche tout à fait claire. Les divergences en nucléotides et en acides aminés, respectivement de 68 % et 75 %, en font une espèce virale indépendante au même titre que le virus de l'encéphalite japonaise. Cette différence se reporte également sur les propriétés antigéniques du virus. Bien que des réactions sérologiques croisées existent entre les deux virus, les tests de séro-neutralisation permettent de discriminer clairement les deux virus (Bakonyi *et al.*, 2004). Le virus Usutu était réputé peu pathogène autant pour l'homme que l'animal, en particulier chez l'oiseau, jusqu'à son émergence en Autriche en 2001, où sa circulation a été révélée par un taux de mortalité anormalement élevé dans l'avifaune proche de celle induite par le virus *West Nile* (Weissenböck *et al.*, 2002 ; 2003). Des études de séroprévalence ont permis de mettre en évidence d'autres foyers aviaires d'infection à virus Usutu en Angleterre et en Italie (Buckley *et al.*, 2003 ; Rizzoli *et al.*, 2007). Dans une étude récente en Italie, 10 % (2/20) des volailles sentinelles utilisées ont séroconverties pour le virus Usutu et 6 % des chevaux testés avaient un titre d'anticorps neutralisants significatif contre le virus Usutu (Lelli *et al.*, 2008). L'année 2009 a marqué un nouveau tournant dans l'épidémiologie de ce virus avec la description de deux formes neuroinvasives chez deux sujets, transfusé pour l'un et transplanté de foie pour le second (Pecorari *et al.*, 2009 ; Cavrini *et al.*, 2009).

La circulation de ces deux virus doit être prise en considération. En effet, les taux de séroprévalence non négligeables et les séroconversions observées au cours des campagnes de surveillance démontrent la circulation active de ces virus dans certains pays européens. De plus, les formes neuroinvasives dues au virus Usutu posent la question de la prise en considération de ce virus dans les dispositifs de criblages pré-dons tant en transfusion qu'en transplantation.

Les parentés antigéniques et génétiques des virus Koutango et Usutu avec le virus *West Nile* posent la question de l'intégration de ces virus dans les stratégies de diagnostic différentiel par des approches sérologique et moléculaire.

► Épidémiologie moléculaire

L'étude du polymorphisme génétique du virus *West Nile* permet de mieux comprendre les mécanismes de dispersion du virus (figure 2.3). Cependant, malgré les progrès technologiques dont a bénéficié l'épidémiologie moléculaire de ce virus, certaines questions restent encore sans réponse.

L'émergence du virus *West Nile* aux États-Unis a fait l'objet de nombreuses spéculations quant à l'origine de la souche et les modalités de son introduction. La comparaison des séquences de la souche avec les bases de données a permis de montrer que la souche américaine partageait 99,5 % d'identité avec les souches de l'épidémie israélienne de 1998 (Charrel *et al.*, 2003). Des travaux complémentaires ont démontré un lien entre ces souches et la souche tunisienne de 1997. La somme de ces données a permis de retracer le parcours possible de la souche ; elle aurait pour ancêtre une souche d'Afrique du Sud ou d'Afrique centrale qui aurait transité par la Tunisie puis Israël. Le haut degré d'identité entre la souche prototype américaine NY-99 et la souche israélienne est en faveur d'une importation directe depuis Israël.

L'épidémie américaine a mis en lumière de nouveaux modes de transmission du virus *West Nile*. Dès 2002, des cas suspects de transmission du virus par transfusion et par transplantation d'organes ont mobilisé l'attention de la communauté scientifique (Pealer *et al.*, 2003 ; Iwamoto *et al.*, 2003). Depuis son émergence sur la côte est des États-Unis en 1999, le virus *West Nile* a rapidement disséminé en quatre ans à l'ensemble des états (excepté l'Alaska). Les comparaisons de séquences d'isolats collectés ont mis en évidence des modifications dans les séquences des génomes des isolats. En particulier, l'accélération de la transmission observée au cours de l'année 2000 a pu être corrélée à une plus grande diversité des isolats (Ebel *et al.*, 2004). Cette divergence, bien que modérée (0,5 %), fait clairement apparaître un groupe de souches distincts de la souche américaine originale NY-99 (Ebel *et al.*, 2004). Ces travaux montrent par ailleurs une évolution dans la proportion d'isolats appartenant à ce nouveau groupe de souches. En 2002, 55 % des isolats de virus *West Nile* appartenaient à ce sous groupe contre 85 % en 2003. Cette évolution rapide conduit à une supplantation progressive de la souche NY-99 (Herring *et al.*, 2007 ; Davis *et al.*, 2005).

Le virus *West Nile* s'est rapidement étendu aux régions limitrophes des États-Unis. Dès 2001, le virus a été détecté en Jamaïque et dans les îles Caïman pour atteindre pratiquement toute la région Caraïbe et l'Amérique centrale et quelques pays du nord de l'Amérique Latine entre 2001 et 2004 (Komar et Clark, 2006). Peu d'isolats de ces régions ont pu être étudié. Les séquences partielles de quelques isolats du Mexique montrent un lien avec les souches du Texas de 2002 (Estrada-Franco *et al.*, 2003).

En Europe, de nombreux arguments suggèrent une circulation active du virus *West Nile* avec des pics d'activité relevés pendant la saison estivale. Il n'est pas encore établi de façon formelle si le virus est présent à l'état endémique ou au contraire s'il réapparaît occasionnellement à la faveur d'une réintroduction efficace à partir d'une zone d'endémie. La surveillance intégrée en place en France depuis l'an 2000 n'a pas permis de mettre en évidence de transmission endémique du virus. Une enquête de séroprévalence chez les donneurs de sang a montré que moins de 1 % des donneurs prélevés en zone d'endémie étaient positifs en IgG spécifiques. Compte tenu de la proportion importante de formes asymptomatiques autant chez l'homme que chez le cheval, peu d'isolats ont pu faire l'objet d'une caractérisation génétique. Les isolats obtenus avant 2004 appartiennent tous au lignage 1a. L'intégration des souches les plus récentes permet de préciser la répartition des souches européennes dans différents clusters au sein du lignage 1a. Les souches actuelles dérivent essentiellement

de la souche Maroc 1996, elle-même dérivée de la souche Kenya 1998. Les souches italiennes de 2008 et 2009 présentent de forts degrés d'identité avec les souches d'oiseaux isolées en France en 2004 alors que l'isolat italien de 1998 est en fin de compte plus proche des souches espagnoles d'oiseaux de 2007. Ces données sont incomplètes, toutes les souches isolées n'ayant pas été séquencées. En particulier, la position de la souche roumaine de 2008 n'est pas connue (Popovici *et al.*, 2008). De même, la séquence de l'isolat hongrois de 2008 n'est pas encore établie (Krisztalovics *et al.*, 2008). Cette souche est d'autant plus intéressante que la dernière souche hongroise connue, isolée en 2003, est plus proche de la souche Tunisie 1997 (Barzon *et al.*, 2009b). L'hypothèse d'une souche de lignage 2 ne peut par ailleurs être formellement exclue, la Hongrie a également connue l'émergence d'une souche de lignage 2 isolée d'un rapace (*Accipiter gentilis*) en 2004 (Bakonyi *et al.*, 2006).

Le virus *West Nile* a été isolé pour la première fois en Italie en 1998. Aucune activité du virus n'a été mise en évidence jusqu'en 2005 où sa présence a été identifiée grâce à un dispositif de volailles sentinelles (Rizzoli *et al.*, 2007). Au cours de l'été 2008, dans la région Emilie-Romagne, le virus a été à l'origine de cas équins, humains et aviaires (Barzon *et al.*, 2009a). Un second pic d'activité, affectant l'homme et le cheval, a été mis en évidence au cours de l'été 2009. Des isolats d'équidés et d'oiseaux de 2008 et du premier cas humain identifié en 2009 ont été séquencés (Savini *et al.*, 2008 ; Barzon *et al.*, 2009b). Ces souches récentes appartiennent toutes au lignage 1a et présentent de fortes homologies nucléotidiques et en acides aminés avec la souche équine de 1998. Il est cependant intéressant de relever que, par rapport à la souche italienne de 1998, la souche humaine de 2009 présente un degré de divergence supérieur comparée à celle des souches de 2008. Les divergences moyennes des souches de 2008 en nucléotides et en acides aminés sont respectivement de 0,14 et 0,07 %, et de 1,62 et 0,25 % pour la souche de 2009 (Barzon *et al.*, 2009b). Cette variabilité importante (1,48 % en nucléotide ; 0,18 % en acides aminés) pose la question du lien entre les souches de 2008 et 2009. En effet, l'accumulation d'un nombre important de mutations en un laps de temps très court n'est pas en faveur d'un phénomène d'évolution continu. L'hypothèse la plus probable serait que les souches de 2008 et 2009 aient subi des processus d'évolution indépendant et donc probablement dans des régions géographiques différentes, ce qui n'est pas en faveur d'une endémie de virus *West Nile* en Italie, au moins avant 2009.

Entre 2008 et 2011, 43 cas autochtones d'infection à virus *West Nile* ont été rapportés en Italie avec une extension de la zone de circulation bien au-delà des provinces du nord de l'Italie. L'un des derniers foyers décrit en 2011 était en effet situé en Sardaigne (Rizzo *et al.*, 2012).

Une situation parallèle est observée pour les souches de lignage 2 qui circulent actuellement en Europe. Depuis leur première identification en Hongrie en 2004, leur circulation restait discrète. Une épidémie majeure liée à ce lignage a été identifiée en 2010 en Grèce. L'analyse du génome complet a permis de montrer la proche parenté des souches grecques (2010) et hongroise (2004). Les deux souches présentent une signature moléculaire commune dans la protéine NS3 (H249P), marqueur non retrouvé chez les autres souches du lignage 2 (Papa *et al.*, 2011). Cette caractéristique supporte donc l'hypothèse d'une diffusion de la souche hongroise vers la Grèce. Un premier cas autochtone d'infection par une souche de lignage 2 a été

décrit en Italie dans la province des Marches. La séquence complète de cet isolat n'est pas encore disponible mais les premiers éléments de comparaison basés sur le gène NS5 ont montré une forte identité (100 %) avec la souche grecque de 2010 et les autres souches européennes du lignage 2 (Bagnarelli *et al.*, 2011). Les facteurs ayant favorisé cette progression des souches de lignage 2 en Europe ne sont pas connus.

► Polymorphisme génétique et pouvoir pathogène

Le polymorphisme génétique du virus *West Nile* est la conséquence de différents mécanismes, le principal étant les erreurs d'incorporation de nucléotides par la protéine NS5 dépourvue d'activité de correction. Pour certaines souches, les comparaisons de séquences ont permis de mettre en évidence des délétions principalement dans les régions non codantes du génome. Aucune souche recombinante, intra ou inter-typique n'a été identifiée à ce jour pour le virus *West Nile*.

Les souches de lignage 1 étaient considérées comme plus neuroinvasives que celles de lignage 2. Des observations cliniques et des études sur modèles murins suggèrent que le neurotropisme serait équivalent entre les deux principaux lignages, les différences relevées initialement étant probablement liées à la répartition géographique des deux lignages et aux systèmes de surveillance (Beasley *et al.*, 2002 ; Venter *et al.*, 2005). Des marqueurs associés à une moindre neurovirulence ont été identifiés dans le gène *env* et dans les gènes des protéines non structurales d'une souche mexicaine de lignage 1 (Beasley *et al.*, 2005). Une mutation non synonyme affectant un site de glycosylation de la protéine E était associée à une faible croissance de la souche en culture de cellule et une dose létale faible après injection intracrânienne chez la souris Swiss (Beasley *et al.*, 2005 ; Yamshchikov *et al.*, 2004). La protéine NS4B interviendrait dans la réplication du virus et dans les mécanismes d'échappement du virus à la réponse immunitaire innée de l'hôte (Wicker *et al.*, 2006 ; Fernandez-Garcia *et al.*, 2009). Une substitution en position 102 de la protéine (Cys102Ser) entraînerait une perte de la thermorésistance et une réduction de la neurovirulence des mutants chez la souris. Une autre mutation (E249G) a été associée à une diminution de la production d'ARN viral dans les cellules infectées (Puig-Basagoiti *et al.*, 2007). La comparaison des capacités de réplifications de deux souches de lignage 1 présentant des différences de pouvoir pathogène chez le corbeau a montré des différences de réplication en culture à 44 °C (Kinney *et al.*, 2006).

La comparaison des séquences de génomes complets de souches de lignage 2 caractérisées sur le plan clinique et pour leur neurovirulence chez la souris a permis de mettre en évidence une délétion de 76 nucléotides dans la région 3' non codante (Botha *et al.*, 2008). Comparée à la souche parentale, la dose létale 50 % de la souche délétée mesurée chez la souris était significativement supérieure, suggérant que cette région intervenait dans les propriétés neuroinvasives des souches. Chez les *Flavivirus*, la structure secondaire de la partie 3' non codante participerait à la fixation du complexe de réplication. La modification de la structure de la région 3' non codante aurait une influence directe sur l'efficacité de réplication de la souche.

Ces données expérimentales sont difficilement extrapolables à la pathogenèse des souches chez l'homme et l'animal. Elles permettent cependant de cibler des régions

du génome candidates pour le déterminisme de la neurovirulence des souches. Il en ressort que la neurovirulence d'une souche de virus *West Nile* serait en partie régie par sa vitesse de réplication (*fitness*), celle-ci étant elle-même dépendante de la thermosensibilité du virus. Au cours de son cycle de transmission, le virus *West Nile* infecte des espèces animales différentes. Ce franchissement continu de la barrière d'espèce expose le virus à des changements brusques de température (27 °C pour le moustique ; 42 °C chez l'oiseau ; 37 °C chez les mammifères).

Depuis la découverte du virus *West Nile* en 1937, plusieurs modifications sont survenues dans son épidémiologie. Le virus *West Nile* était initialement associé à des syndromes pseudo-grippaux bénins en Afrique, au Moyen-Orient, en Asie et en Australie. Au cours des années 1990, une augmentation de la fréquence de la mortalité et de la morbidité des formes neurologiques a été décrite au cours d'épidémies en Europe de l'Est (Gubler *et al.*, 2007). Plus récemment, l'émergence du virus sur le continent nord-américain s'est traduite par une augmentation de l'incidence des formes graves et de la mortalité tant chez l'homme que chez l'animal, et en particulier chez certaines espèces d'oiseaux. Un an après cette émergence aux États-Unis, le virus *West Nile* est réapparu en France après 38 ans de silence épidémiologique. Aux États-Unis, le virus *West Nile* s'est propagé rapidement et de façon continue à la quasi-totalité des États avec un taux d'attaque très élevé. À l'inverse, en France, les cas confirmés chez l'animal (équins ; avifaune sauvage) ou chez l'homme sont en nombre anecdotique, difficilement détectables en dépit d'un système de surveillance étendu, et irréguliers dans le temps avec pour certaines années une absence complète. L'argument le plus souvent évoqué pour expliquer cette différence est la naïveté de la population américaine vis-à-vis de l'infection à virus *West Nile*, ce qui sous entend qu'en France par exemple, une séroprévalence élevée dans la population permettrait de contenir l'infection. Une étude de séroprévalence chez les donneurs de sang français des départements les plus à risque pour l'infection à virus *West Nile* tend à réfuter cette hypothèse. En effet, les taux de séroprévalence relevés étaient de 1,4 % en Camargue contre 0,8 % chez les donneurs vivant dans une zone avec un potentiel écologique faible pour la transmission du virus (Charrel *et al.*, 2001). Le niveau d'immunisation de base des populations ne suffit pas à lui seul à justifier cette différence.

Les oiseaux sauvages ou domestiques sont utilisés comme sentinelle dans la plupart des pays qui mettent en œuvre une surveillance spécifique. Aux États-Unis, les corneilles (*Corvus brachyrhynchos*) ont fait l'objet d'études spécifiques compte tenu de leur importante sensibilité à l'infection au virus *West Nile* (Steele *et al.*, 2000). Une corrélation a été établie entre la densité de la mortalité dans cette espèce et la survenue de formes neurologiques chez l'homme (Weiss *et al.*, 2000). Des essais d'infections expérimentales de corneilles américaines ont montré que la sensibilité de cette espèce variait en fonction de la souche de virus inoculée. Dans ces différents travaux, le taux de mortalité des souches de l'ancien monde et du pacifique sud (Égypte 1951 ; Kunjin 1960 ; Chine 2001) était inférieur à celui obtenu avec la souche américaine NY-99 (Brault *et al.*, 2004). La comparaison des séquences des différentes souches utilisées pour ces infections expérimentales a révélé la présence d'une substitution de l'acide aminé 249 (T249P) de la protéine NS3 de la souche NY-99 (Brault *et al.*, 2007). L'utilisation d'un modèle mathématique, basé sur le calcul du rapport des substitutions synonymes et non-synonymes sur les différents

loci variables, a permis d'associer cette mutation particulière à un phénomène de pression de sélection positive. L'introduction d'une proline par mutagenèse dirigée dans les clones infectieux des souches de l'Ancien Monde a entraîné une augmentation significative de la virulence de ces souches pour la corneille. Les virémies mesurées chez des corneilles infectées par les variants NS3-P249 atteignaient des valeurs compatibles avec une infection de la plupart des vecteurs nord-américains du virus *West Nile* (Reisen *et al.*, 2005). La comparaison des génomes complets d'un plus grand nombre de souches a permis de montrer une corrélation entre les lignages et les cinq groupes de souches définis suivant l'acide aminé présent en position 249 (Brault *et al.*, 2007). Les souches Italie-98 et France-2000 appartiennent au génotype NS3-T249 associé à un phénotype avirulent pour la corneille américaine ce qui pourrait être corrélé à la faible mortalité aviaire observée jusqu'en 2008 dans ces deux pays. Il est cependant difficile d'extrapoler ces données expérimentales aux observations de terrain en raison des différences écologiques et de l'absence de données expérimentales sur la sensibilité des espèces européennes d'oiseaux aux différents variants du virus *West Nile*. Depuis 2008, une recrudescence des cas d'infection à virus *West Nile* a été observée dans le centre de l'Italie (régions Vénétie et Emilie-Romagne provinces de Rovigo et Ferrara) (Barzon *et al.*, 2009a). Différentes souches virales ont pu être isolées à partir de formes neuroinvasives survenues chez l'homme ou le cheval ou encore chez des donneurs de sang asymptomatiques (Savini *et al.*, 2008 ; Gobbi *et al.*, 2009). Le séquençage complet des premières souches équine et humaine montre que ces différentes souches sont rattachées au groupe Italie-98. Cependant, une modification est apparue avec une prédominance de la mutation NS3-T249P chez les souches isolées en 2008 et 2009 (Barzon *et al.*, 2009b).

La présence d'une proline en position 249 de la protéine NS3 n'est pas systématiquement associée à une hyper-virulence chez l'oiseau. Deux isolements de virus *West Nile* ont été réalisés à partir d'aigles capturés ou trouvés morts dans le centre de l'Espagne. Alors que ces deux souches portaient le marqueur NS3 T249P, leur inoculation intrapéritonéale à des souris Swiss HSD ICR(CD1) n'a pas entraîné de mortalité significativement supérieure par rapport à d'autres souches de virus *West Nile* non mutée ou présentant une autre substitution en position 249 (Sotelo *et al.*, 2009). La simple présence de ce marqueur ne suffit pas à expliquer le pouvoir pathogène de tous les isolats de virus *West Nile*. Comme pour d'autre virus ou arbovirus, l'expression du pouvoir pathogène du virus *West Nile* dépend très probablement à la fois de propriétés intrinsèques des souches et de facteurs liés à l'hôte.

► Variabilité intra-isolats (quasi-espèces)

Il est maintenant établi que les isolats de la plupart des virus à ARN sont constitués d'un mélange de variants génétiques ou « quasi-espèces » (Sobrino *et al.*, 1983). Pour un virus donné, la diversité des quasi-espèces dépend de deux facteurs principaux, le taux d'erreur de sa polymérase et de la pression de sélection de l'hôte dans lequel le virus se multiplie (Schneider et Roossinck, 2001). La réplication du génome des *Flavivirus* est assurée par une ARN polymérase ARN dépendant (réplique). Le taux d'erreur d'incorporation de nucléotides, pour cette famille d'enzyme

dénuee d'activité de correction, varie de 10^{-3} à 10^{-5} par nucléotide copié (Domingo *et al.*, 1983). Par ailleurs, dans le cas des arbovirus, la pression de sélection induite par l'hôte est d'autant plus forte que les cycles de transmission impliquent un changement continu d'espèces.

Récemment, ce type de sous populations a été mis en évidence chez différents arbovirus parmi lesquels figurent la dengue et le virus *West Nile* (Jerzak *et al.*, 2005 ; Aaskov *et al.*, 2006 ; Ciota *et al.*, 2007). Les premières données obtenues sur des moustiques et des oiseaux naturellement infectés ont montré que 20 % des génomes séquencés (78 sur 400) divergeaient de la séquence consensus (Jerzak *et al.*, 2008). Dans cette étude, 31 % des substitutions nucléotidiques entraînaient un changement d'acide aminé. La variabilité comparée entre une protéine structurale (E) et non structurale (ns1) a montré que le taux de mutation silencieuse était légèrement supérieur sur ns1 par rapport à E. Le nombre maximum de variants génétiques observés était respectivement de 6 dans les tissus d'oiseaux et de 10 pour les moustiques. Pour les auteurs, la variabilité apparaît supérieure dans les lots de moustiques étudiés par rapport à celle observée dans les tissus d'oiseaux (Jerzak *et al.*, 2008). Cette différence pourrait s'expliquer en partie par les caractéristiques de l'infection selon l'hôte considéré : chronique chez le moustique et aiguë et associée à une forte pression immunologique chez l'oiseau. Une corrélation entre la diversité des quasi-espèces et la capacité de réplication *in vitro* des isolats de virus *West Nile* a été démontrée (Ciota *et al.*, 2007). Ces deux aspects ont pu être reproduits dans un modèle d'infection expérimentale. Des passages successifs d'un clone infectieux de virus *West Nile* ont été effectués parallèlement sur moustiques et sur de jeunes poulets (Jerzak *et al.*, 2008). Chez le poulet, le maximum de clones divergents (20 %) de la séquence initiale était obtenu au 10^e passage puis diminuait entre le 10^e et le 20^e passage. L'évolution chez le moustique était significativement différente avec une augmentation progressive du nombre de clones divergents pour atteindre 50 % au 20^e passage. Le pouvoir pathogène de clones obtenus au 20^e passage sur les deux hôtes a été comparé à celui du clone infectieux par inoculation périphérique à des souris C3H. Le pourcentage de souris survivantes était toujours supérieur pour les clones dérivés par passage par rapport au clone infectieux initial. S'il est difficile d'établir un lien entre les mutations observées et le pouvoir pathogène, ces résultats suggèrent que la complexité des quasi-espèces participerait plus à l'adaptation du virus à un hôte donné qu'à son pouvoir pathogène.

L'une des limites à l'interprétation de l'impact de la variabilité génétique sur le phénotype, y compris le pouvoir pathogène, des isolats de virus *West Nile* vient en partie du fait que le rôle de certaines protéines virales (ns4) n'est pas encore entièrement élucidé.

► Variabilité génétique et perspectives prophylactiques et thérapeutiques

Il n'existe pas de traitement antiviral spécifique pour l'infection à virus *West Nile*. Quelques pistes thérapeutiques ont été explorées avec des molécules présentant

une activité antivirale à large spectre comme la Ribavirin, l'interféron- α ou l'acide myco-phénolique sans aboutir à des résultats probants (pour une revue complète voir Diamond, 2009). Les recherches d'inhibiteurs spécifiques sont néanmoins en cours. Le complexe protéasique NS2B-NS3 est une cible privilégiée pour les *Flavivirus* en raison de son haut degré de conservation (Bessaud *et al.*, 2006). Des molécules candidates ont été identifiées par des approches de criblage à haut débit (Mueller *et al.*, 2009). Dès lors que des molécules antivirales sont utilisées en thérapeutique, des mutants résistants peuvent émerger. La connaissance approfondie de la plasticité génétique du virus *West Nile* est donc fondamentale pour déterminer, d'une part les cibles thérapeutiques et d'autre part, pour tenter d'appréhender les mécanismes de résistance aux antiviraux.

L'utilisation d'anticorps pour le traitement de certaines arboviroses a été envisagée. À l'heure actuelle, cette stratégie n'est utilisée qu'en prophylaxie des infections par les virus des encéphalites à tiques. Des anticorps ciblant principalement les épitopes neutralisant majeurs situés dans les protéines d'enveloppe ont été développés. Des sites alternatifs localisés dans les protéines prM et NS1 ont plus récemment été décrits (Vazquez *et al.*, 2002 ; Chang *et al.*, 2009). La variabilité du virus *West Nile* doit être prise en compte dans le développement de ces stratégies afin de s'assurer que l'ensemble des variants connus ou en cours d'émergence seront potentiellement neutralisés par ces anticorps.

Un processus intracellulaire de dégradation des ARN (ARN interférence) a été identifié et pourrait être exploité, entre autres pour le contrôle des infections virales (Waterhouse *et al.*, 2001). Le mécanisme de ce processus de dégradation d'ARN simple brin est basé sur une interaction de type séquence spécifique avec des complexes d'ARN bicaténaires cytoplasmiques. *In vitro*, cette stratégie s'est montrée efficace contre le virus *West Nile* à condition que les complexes soient introduits dans les cellules infectées au cours des six premières heures suivant l'infection (Kumar *et al.*, 2006). Outre le fait que cette approche est à l'heure actuelle limitée, en particulier en raison des fortes interactions entre le génome des *Flavivirus* et les membranes cellulaires, le choix de la séquence d'interaction est crucial ce qui nécessite une mise à jour régulière des données de séquences.

Les perspectives de disposer d'inhibiteurs spécifiques du virus *West Nile* s'inscrivent encore sur le long terme. Les approches vaccinales restent, dans le domaine prophylactique, les éléments de lutte les plus avancées tant en termes de disponibilité que d'études d'évaluation d'efficacité (Dauphin et Zientara, 2007). Ces travaux ne portent cependant que sur l'efficacité des préparations vaccinales dérivées de certaines souches du lignage 1a en système homologue ce qui soulève la question de l'immunité vaccinale croisée avec les autres variants et *a fortiori* avec les souches des autres lignages.

► Conclusion

Le virus *West Nile* a été isolé pour la première fois en 1937 mais les connaissances sur ce virus restent cependant parcellaires dans des domaines aussi diversifiés que

son pouvoir pathogène, son épidémiologie et sa diversité génétique. L'émergence du virus aux États-Unis a démontré que dans certaines conditions environnementales la transmission de ce virus et son impact, tant en santé humaine qu'animale, pouvaient prendre des proportions inattendues. La transmission aux États-Unis est toujours efficace et l'incidence des formes graves chez l'homme et les animaux reste significativement plus élevée par rapport à d'autres pays où circulent pourtant des souches génétiquement très proches. La virulence des souches n'est donc probablement pas uniquement régie par les seuls déterminants génétiques des souches. À ce jour, huit lignages du virus *West Nile* ont été décrits parmi lesquels quatre rassemblent des souches associées à des épidémies ou des épizooties. L'incidence chez l'homme et l'animal des lignages 3, 4, 7 et 8 n'est pas connue. La classification génétique des souches de virus *West Nile* est en constante évolution. Le typage des souches améliore la compréhension de l'épidémiologie de cette maladie en permettant de déterminer les voies de circulation des souches. Ces données participent également aux progrès réalisés dans le développement des tests de diagnostic, en particulier pour ce qui concerne les techniques moléculaires, le développement d'antiviraux et la détermination des compositions vaccinales. Les connaissances sont cependant hétérogènes et directement liées à l'impact épidémiologique du virus. Des pays comme Israël et les États-Unis fournissent des données importantes mais limitées à un cluster restreint de souches au sein du lignage 1a. Plusieurs pays européens, parmi lesquels la France, l'Italie et l'Espagne, ont investi dans une surveillance saisonnière de l'activité du virus *West Nile*. Le virus a émergé de façon spectaculaire dans plusieurs pays d'Europe méridionale en 2010, avec une reprise d'une circulation du virus dans plusieurs pays en 2011 (Grèce, Italie, ...). Bien que le nombre d'isolats caractérisés soit modeste en comparaison des États-Unis, il rappelle, par la coexistence de multiples lignages, la nécessité d'entretenir les études génétiques sur ce virus pour mieux contrôler son expansion.



Figure 1. Zones de circulation du virus *West Nile* en France.

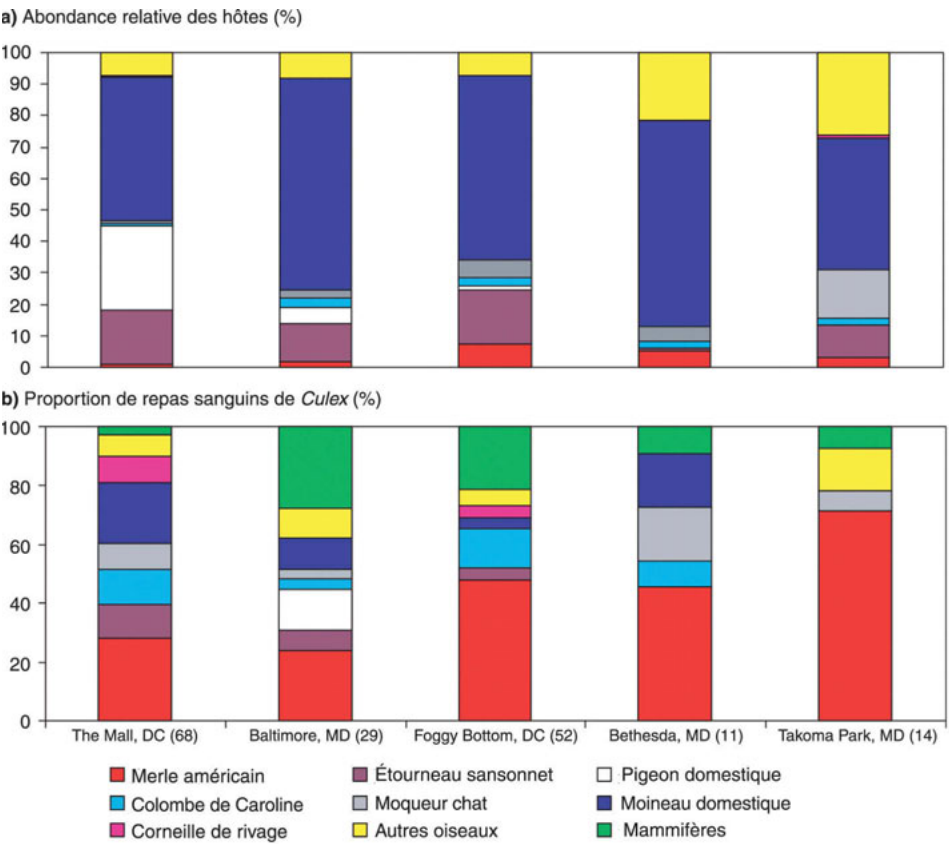


Figure 2. Abondance relative des hôtes présents dans cinq sites d'étude aux États-Unis (a) et proportion de repas sanguins de moustiques *Cx. pipiens* pour chaque espèce d'hôte (b) (la taille de l'échantillon de moustique en chaque site est précisée entre parenthèses). D'après Kilpatrick *et al.*, 2006.

Planche II



Figure 3. Prise de sang à la veine alaire sur moineau domestique (*Passer domesticus*) pour recherche d'anticorps spécifiques du virus *West Nile* (a). © Patrice Noble.

Prise de sang à la veine jugulaire sur poussin de pie bavarde (*Pica pica*) pour recherche d'anticorps spécifiques du virus *West Nile* (b). © Sabine Atger.

Filet utilisé pour la capture des petits passereaux (c). © Elsa Jourdain.

Oiseau migrateur (Pouillot fitis, *Phylloscopus trochilus*) capturé au filet pour recherche d'anticorps spécifiques du virus *West Nile* (d). © Elsa Jourdain.

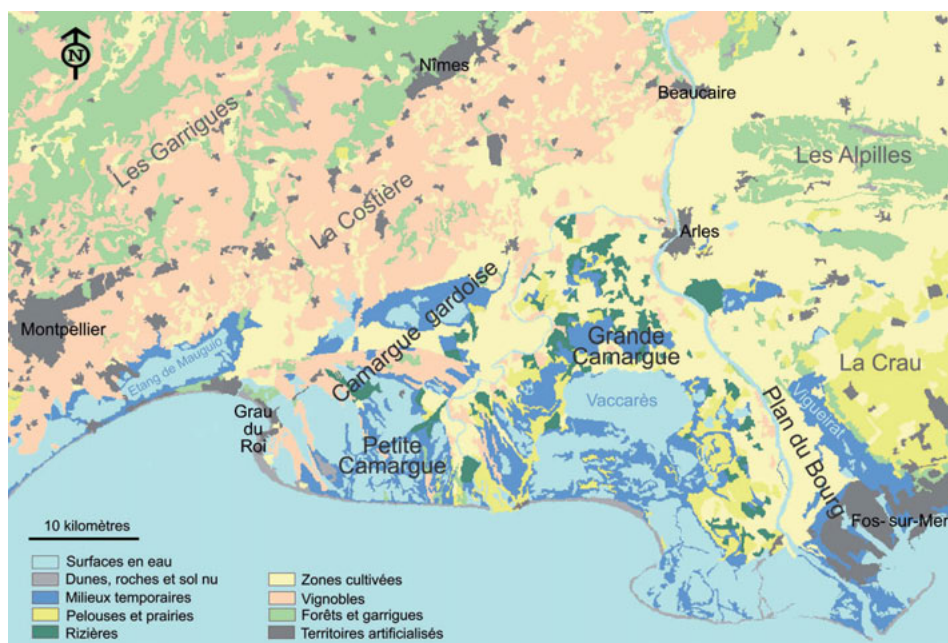


Figure 4. Carte d'occupation du sol de la zone camarguaise (fond de carte *Corine Land Cover*, <http://www.ifen.fr>).

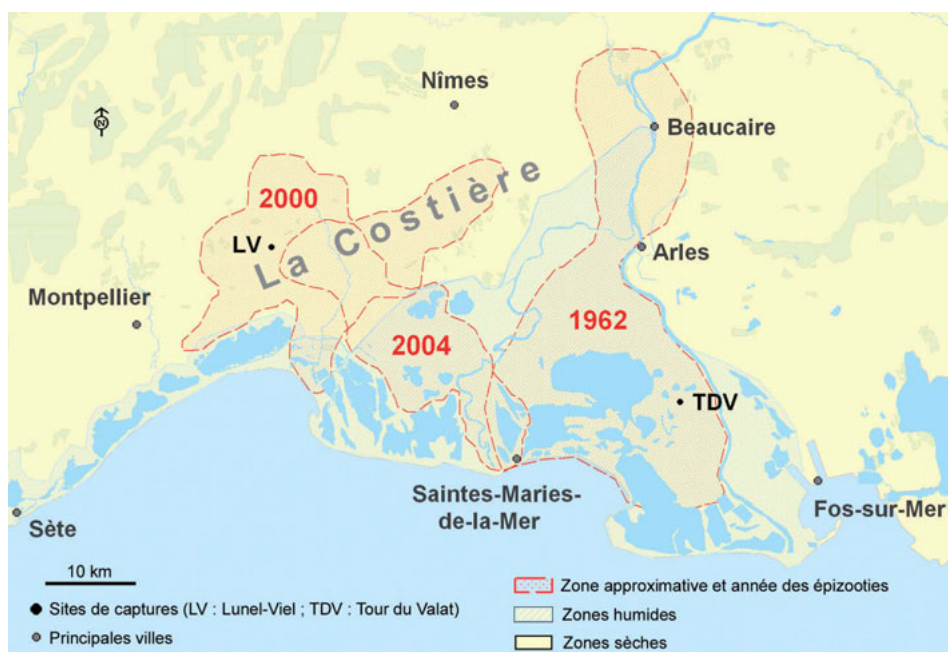


Figure 5. Situation écologique simplifiée de la zone camarguaise et localisation des principales épizooties équine.



Figure 6. À gauche, cheval présentant des signes d'atteinte du système nerveux central : abattement, voire stupeur, tête et encolure déviées sur le côté ; la présence d'escarres au-dessus de l'œil indique l'existence de chutes (© A. Leblond). À droite, cheval présentant une paralysie de la langue ; l'atteinte peut être centrale (encéphalomyélite virale, botulisme,...) ou périphérique (atteinte du nerf hypoglosse) (© A. Leblond).

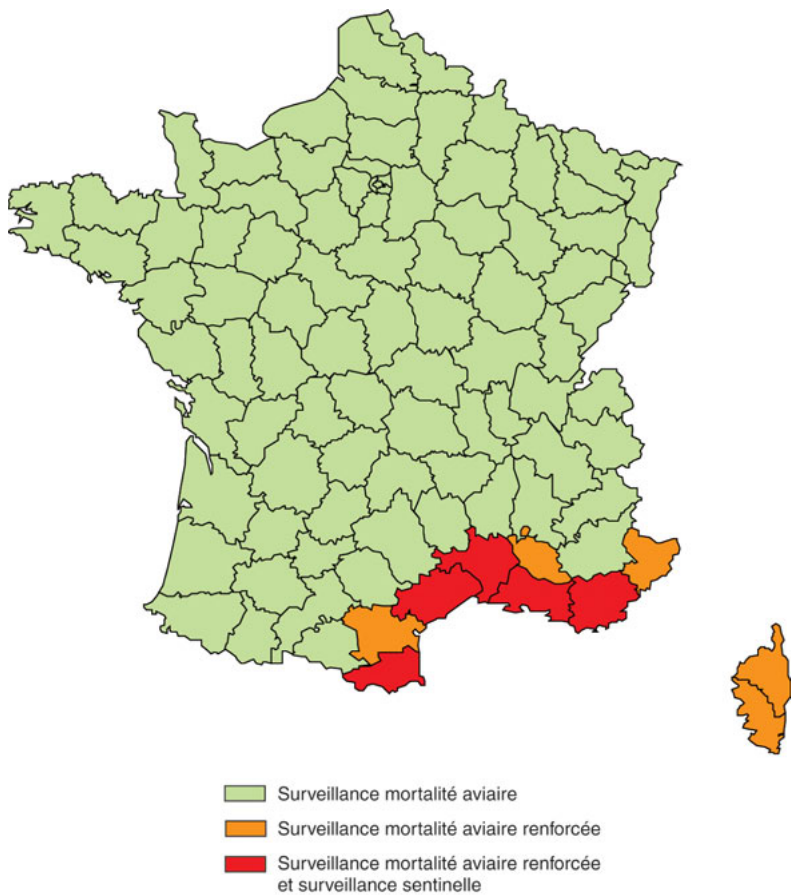


Figure 7. Zones de surveillance de l'infection à virus *West Nile* en 2007 pour le volet aviaire.

Figure 8. Volière de canards colverts appelants élevés en Camargue.



Figure 9. Prélèvement sanguin à la veine sous-alaire.



Figure 10. Carte de répartition des sites d'oiseaux sentinelles suivis en 2004 dans les départements de l'Aude, des Bouches-du-Rhône, du Gard, de l'Hérault, des Pyrénées-Orientales et du Var.

Planche VI

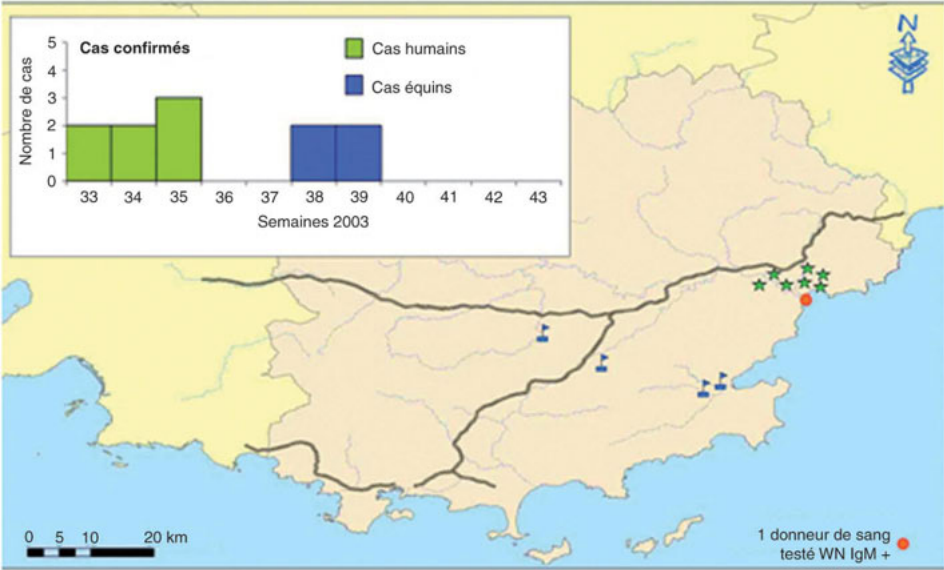


Figure 11. Répartition par semaine de début des signes et localisation géographique des cas humains et équins confirmés d'infection à virus *West Nile*. Cas groupés d'infections à virus *West Nile*, Var, 2003.

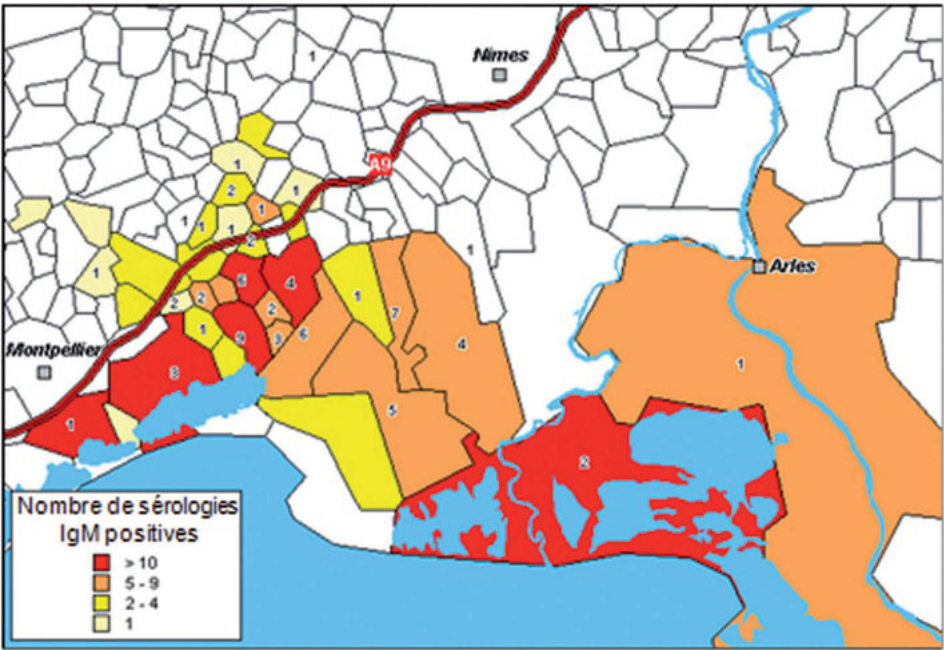
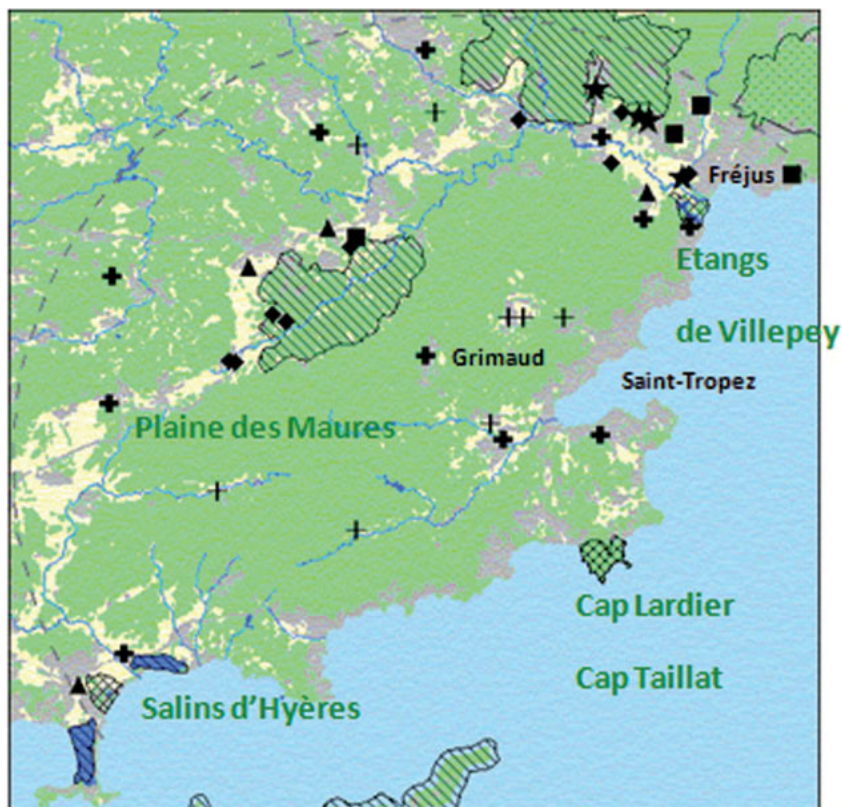


Figure 12. Localisation des chevaux ayant présenté des anticorps IgM dirigés contre le virus *West Nile* au cours de l'enquête sérologique réalisée en 2000 dans les départements du Gard, de l'Hérault et des Bouches-du-Rhône (B. Durand).



+ Aucune sérologie positive + Une seule sérologie positive ▲ Séro-prévalence $\leq 30\%$
 ◆ $30\% < \text{séro-prévalence} \leq 60\%$ ■ $60\% < \text{séro-prévalence} < 80\%$ ★ Séro-prévalence $> 80\%$

Figure 13. Répartition des écuries dans lesquelles des chevaux ont présenté une sérologie IgG positive au cours de l'enquête sérologique réalisée en 2003 dans le département du Var (Durand *et al.*, 2005). Les écuries pour lesquelles des chevaux positifs en IgG anti-*West Nile* ont été identifiés sont localisées à proximité des zones d'importance pour la conservation des oiseaux (ZICO, zones hachurées).

Planche VIII

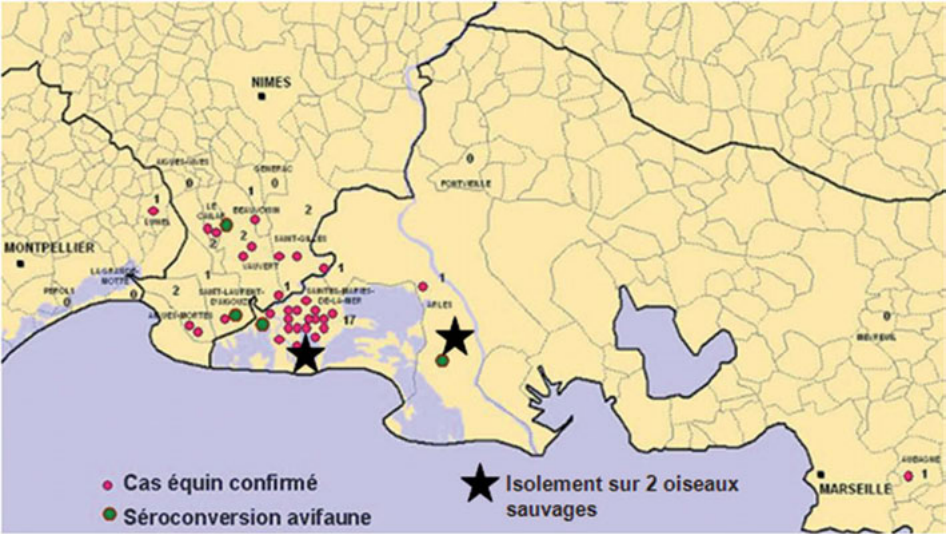


Figure 14. Localisation des cas équins, des séroconversions aviaires et du lieu de prélèvement des oiseaux ayant permis l'isolement du virus *West Nile* en 2004. Les étoiles représentent l'isolement sur deux oiseaux sauvages.



Figure 15. Piégeage à appât CO₂ dans un centre équestre du Var, 2004.

Planche X

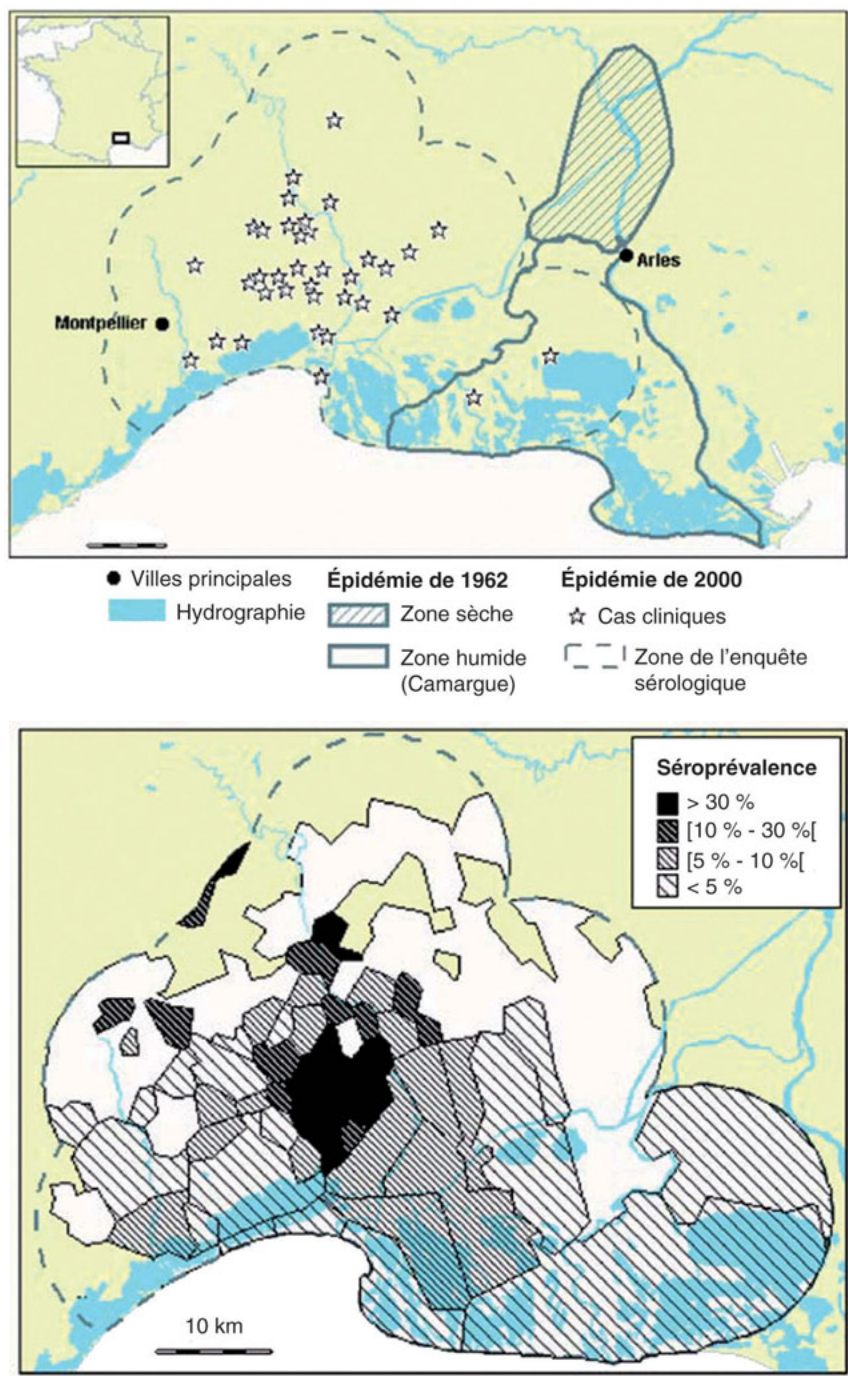


Figure 17. Localisation des cas cliniques équins de fièvre *West Nile* (en haut) signalés en Camargue lors des épizooties de 1962 et de 2000 (cas confirmés et probables localisés sur les centroïdes des communes concernées), et séroprévalence IgG anti-virus *West Nile* par commune en Camargue en 2000 (en bas) (Durand *et al.*, 2002).

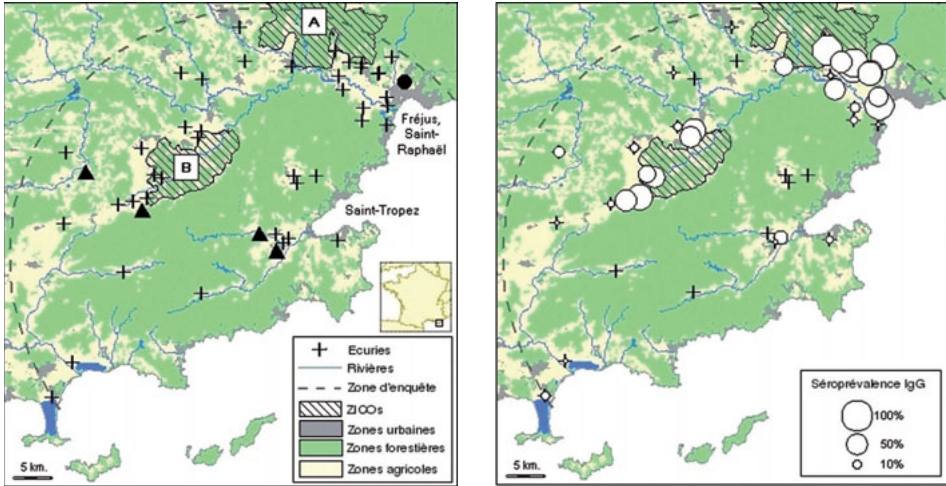


Figure 18. Localisation des cas cliniques de fièvre *West Nile* (à gauche) équins (triangles) et du cas humain (cercle) lors de l'épisode varois de 2003, et séroprévalence IgG anti-virus *West Nile* (à droite) dans les écuries enquêtées. Aires hachurées A et B : zones classifiées comme « zones importantes pour la conservation des oiseaux » (Durand *et al.*, 2005b).

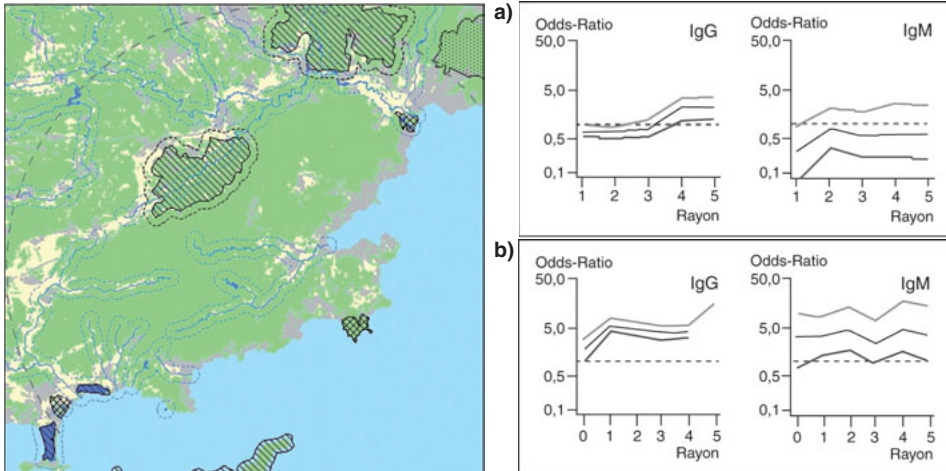


Figure 19. Illustration de l'analyse par tampons. Réseau hydrographique (a), zones importantes pour la conservation des oiseaux (b).

Planche XII

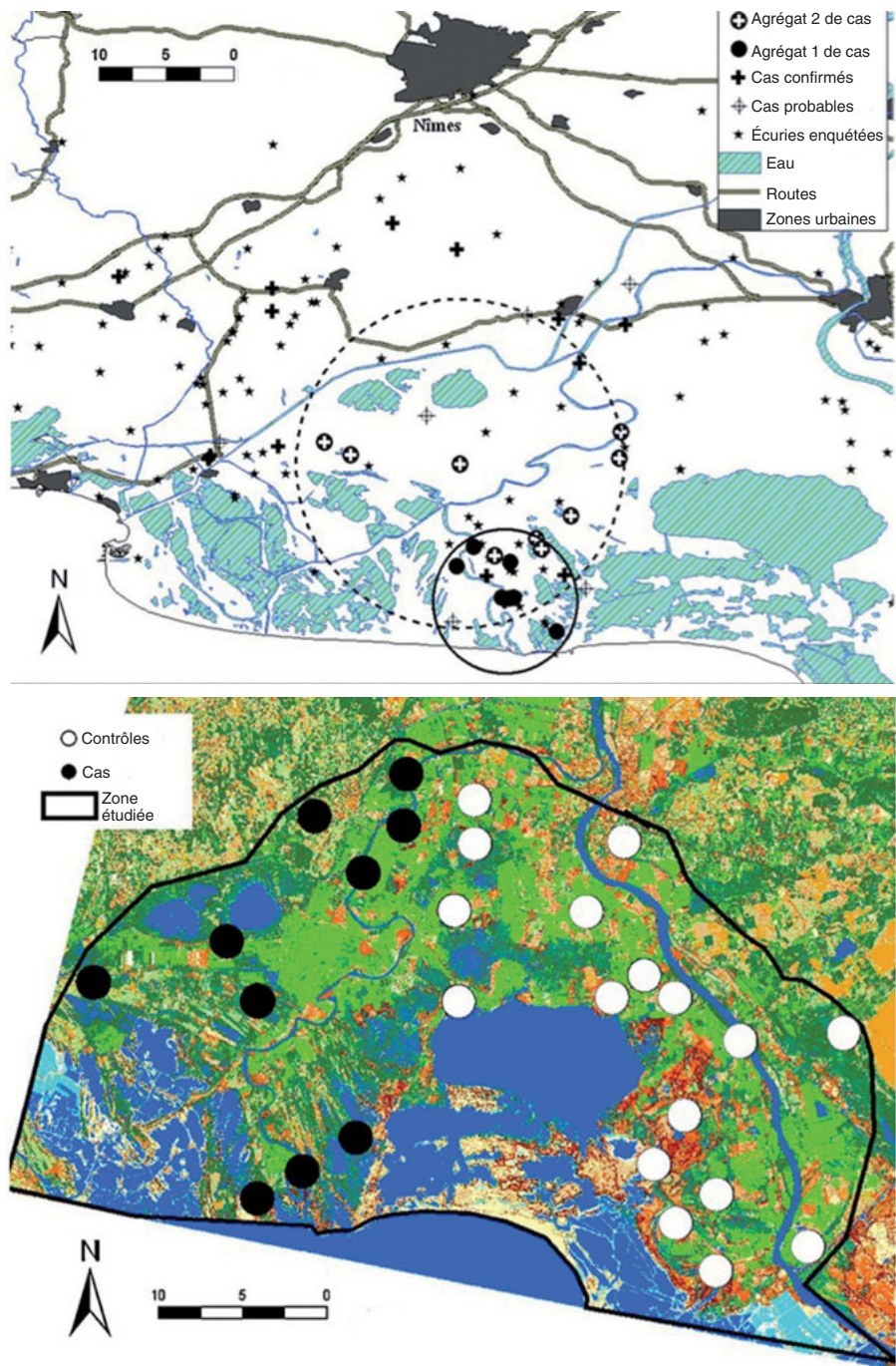


Figure 20. Épidémiologie de 2004 en Camargue. Localisation des foyers spatio-temporels de fièvre *West Nile* chez les chevaux, identifiés par la procédure SaTScan (en haut) et délimitation de la zone humide de Camargue dans laquelle l'analyse des facteurs de risque environnementaux a été effectuée (en bas), à l'aide d'une image SPOT-4 (Leblond *et al.*, 2007).

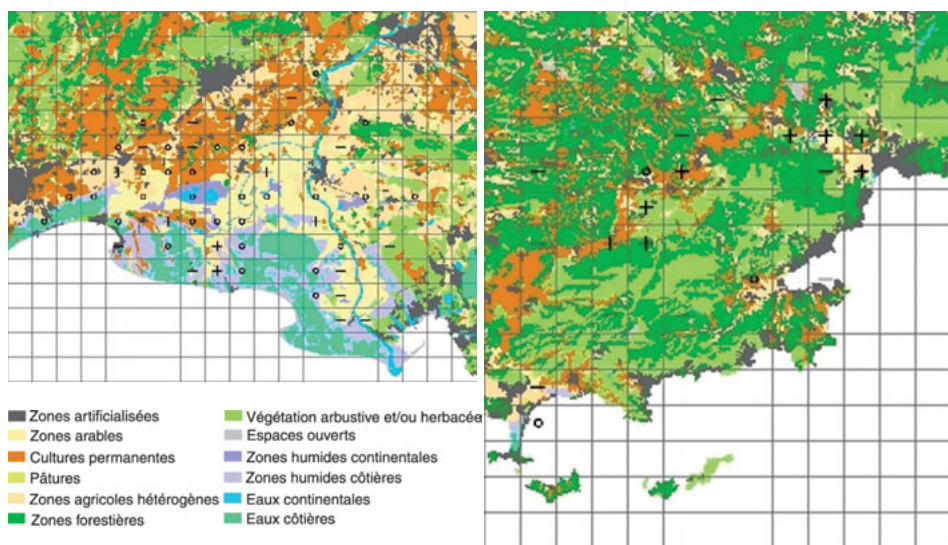


Figure 21. Occupation des sols en Camargue (à gauche) et dans le Var (à droite), et statut des cellules vis à vis de la circulation du virus *West Nile* (+ : cellules à forte circulation virale ; - : cellules à faible circulation virale ; cercles : autres cellules où des chevaux ont été testés ; pas de symbole : cellules sans animaux testés) (Pradier *et al.*, 2008).

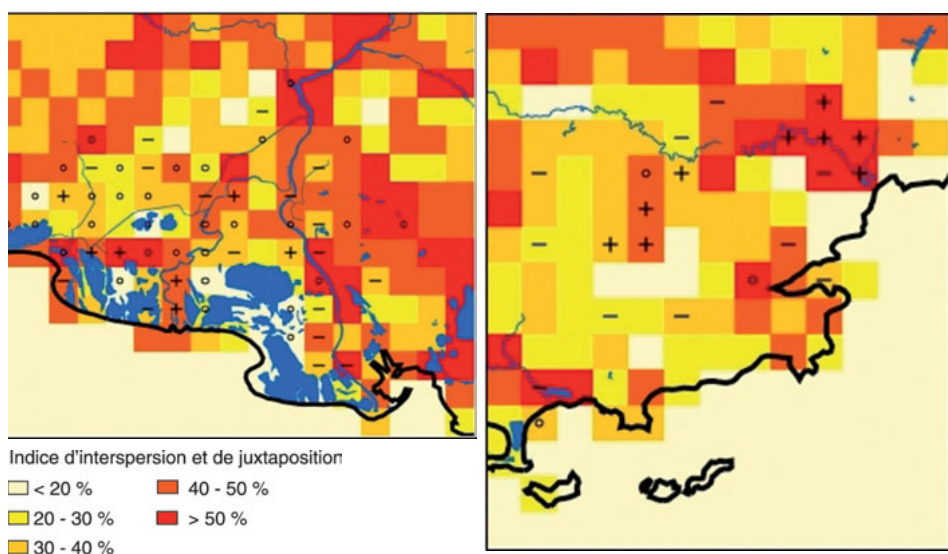


Figure 22. Valeur de l'indice d'imbrication et de juxtaposition dans les cellules de Camargue (à gauche) et du Var (à droite) (les classes correspondent aux 20^e, 40^e, 60^e et 80^e percentiles de la distribution), et statut des cellules vis-à-vis de la circulation du virus *West Nile* (+ : cellules à forte circulation virale ; - : cellules à faible circulation virale ; cercles : autres cellules où des chevaux ont été testés ; pas de symbole : cellules sans animaux testés) (Pradier *et al.*, 2008).

Planche XIV

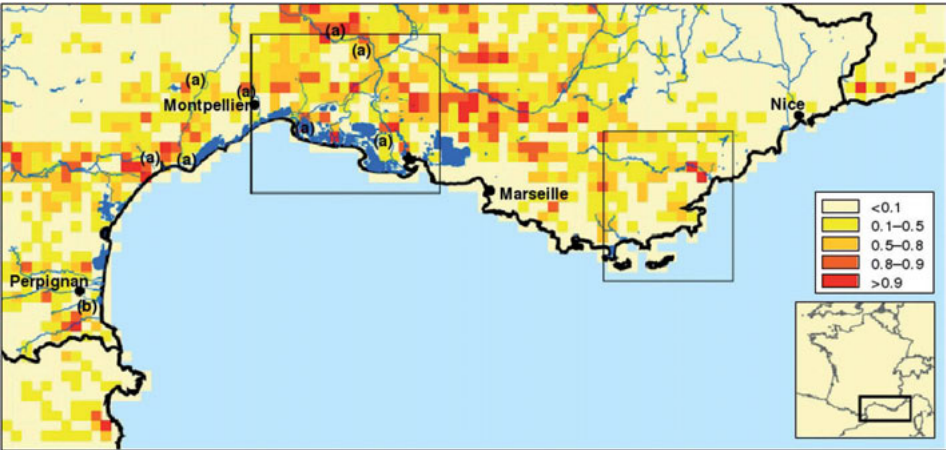


Figure 23. Variations géographiques de la probabilité prédite qu’une cellule ait le statut de « forte circulation virale » sur la côte méditerranéenne française et localisation approximative des cas humains décrits dans les années 1960 (a) (Panthier et al., 1968) et des cas équins signalés en 2006 (b). Rectangles : les deux zones d’étude (Pradier et al., 2008).

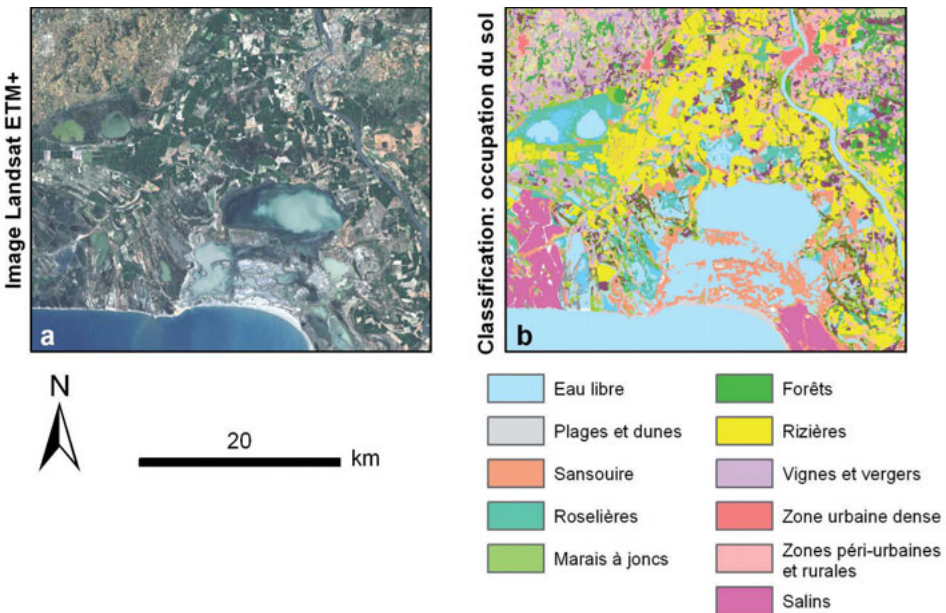


Figure 24. Exemple de traitement d’image avec l’image satellite Landsat ETM+ (à gauche) (© Eurimage) et la carte d’occupation des sols obtenue par classification de l’image (à droite).

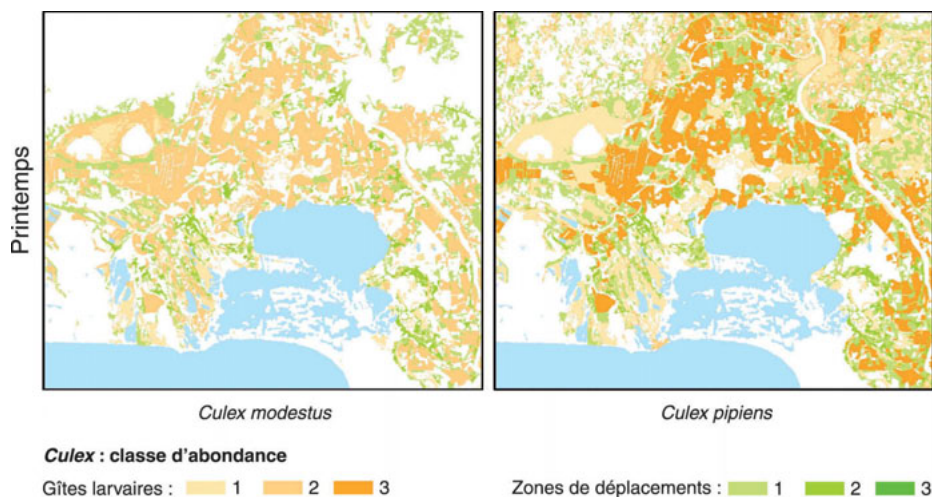


Figure 25. Exemple de cartes de distributions des espèces de moustiques vectrices du virus *West Nile* en Camargue, obtenues à partir de la carte d'occupation du sol.

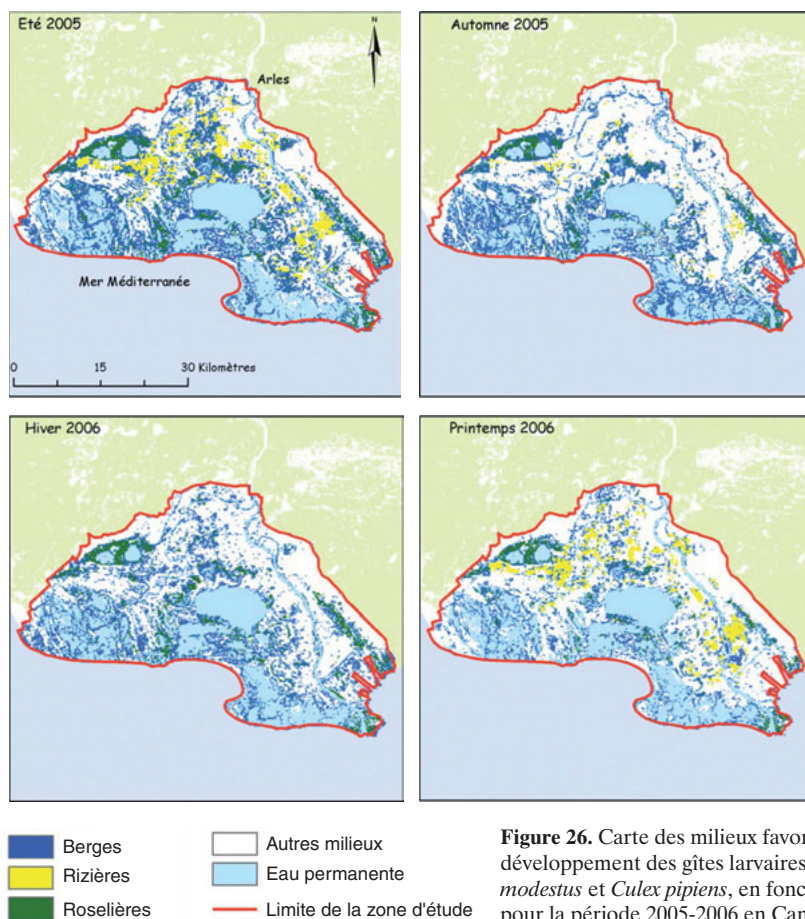


Figure 26. Carte des milieux favorables au développement des gîtes larvaires de *Culex modestus* et *Culex pipiens*, en fonction des saisons pour la période 2005-2006 en Camargue.

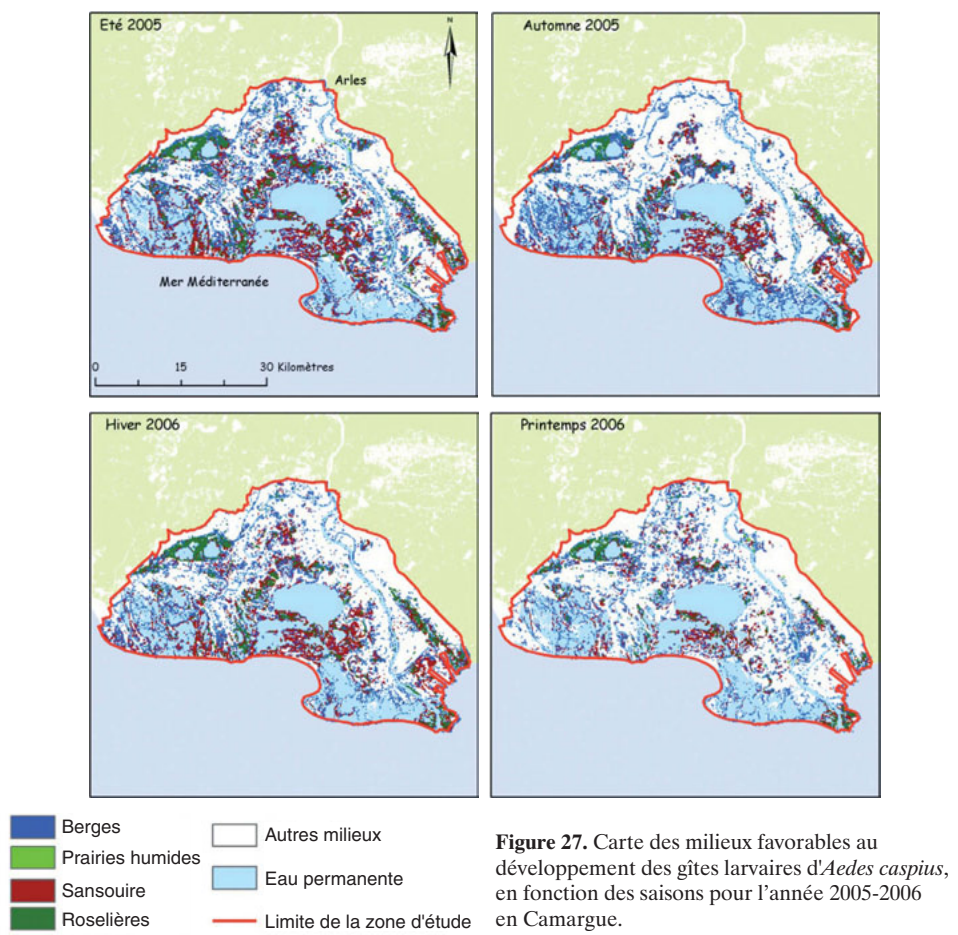


Figure 27. Carte des milieux favorables au développement des gîtes larvaires d'*Aedes caspius*, en fonction des saisons pour l'année 2005-2006 en Camargue.

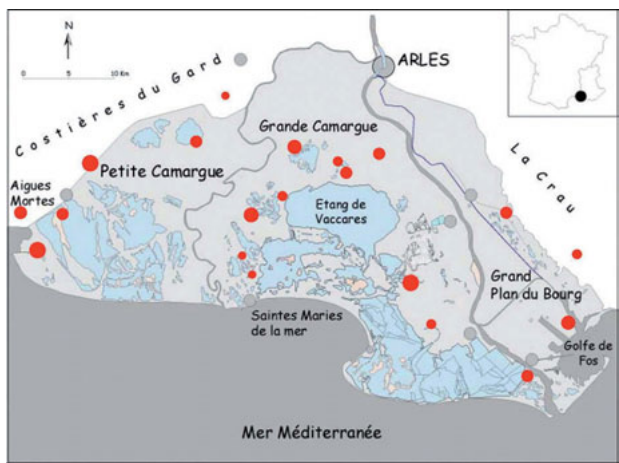


Figure 28. Distribution des colonies de Héron garde-bœufs en Camargue, en juin 2002 (Doctrinal *et al.*, 2005).

Chapitre 3

Les oiseaux, hôtes naturels du virus

Elsa JOURDAIN, Michel GAUTHIER-CLERC, Philippe SABATIER

Objectif : présenter les hôtes vertébrés naturels du virus *West Nile*

Comment identifier les espèces d'oiseaux les plus à même de transmettre le virus *West Nile* et d'être impliquées dans les cycles épidémiologiques ? Deux notions sont considérées : la compétence d'hôte et la capacité d'hôte.

Quels sont les différents rôles joués par les oiseaux dans l'épidémiologie de la fièvre *West Nile* ? Sont abordés les rôles de réservoir, introducteur, amplificateur, dispersion et sentinelle.

Les premières recherches démontrant le rôle des oiseaux dans l'écologie du virus *West Nile* ont été réalisées pendant les années 1950 en Égypte (Taylor *et al.*, 1956 ; Work *et al.*, 1955). Ces travaux s'appuyaient sur la recherche de virus et d'anticorps neutralisants chez les mammifères et les oiseaux les plus abondants du delta du Nil et sur l'inoculation expérimentale des espèces positives en sérologie. Des anticorps furent trouvés chez de nombreuses espèces de mammifères et d'oiseaux avec parfois une séroprévalence élevée¹ mais le virus *West Nile* ne fut isolé qu'à partir du sang d'une corneille sarde (*Corvus corone sardonius*) et de deux pigeons domestiques (*Columba livia domesticus*). Les infections expérimentales réalisées sur les espèces séropositives montrèrent que la quantité de virus présent dans le sang (virémie²) était suffisante pour infecter efficacement des moustiques vecteurs quand l'hôte était un oiseau³ mais pas quand il était un mammifère. L'existence d'un cycle primaire de transmission impliquant les moustiques et les oiseaux fut ainsi démontrée.

» Implication des oiseaux dans la transmission

Plusieurs conditions doivent être réunies pour qu'une espèce d'oiseau soit significativement impliquée dans la transmission du virus *West Nile*.

1. Par exemple, la séroprévalence était de 86 % chez les chevaux et 65 % chez les corneilles sardes (*Corvus corone sardonius*).

2. Titrage par inoculation à des tapis cellulaires de cellules VERO (lignée épithéliale de rein de singe vert *Chlorocebus aethiops*) et comptage du nombre de plages de lyse induites par le virus. Le titre est exprimé en Unités Formant Plages (UFP) par millilitre.

3. Le nombre de moustiques contaminés était particulièrement élevé pour le moineau domestique (*Passer domesticus*) et la corneille sarde (*Corvus corone sardonius*).

D'une part, il faut que le virus, après avoir été inoculé à l'oiseau par un moustique vecteur, soit capable de se multiplier chez cet oiseau et se retrouve présent dans le sang périphérique en quantité suffisante pour contaminer de nouveaux moustiques vecteurs. Si cette condition est vérifiée, l'hôte est dit « compétent » pour la transmission du virus *West Nile*. En pratique, la compétence d'hôte s'évalue expérimentalement au laboratoire.

D'autre part, il faut que les vecteurs infectés et les oiseaux compétents au laboratoire se rencontrent effectivement et régulièrement en milieu naturel. Si cette condition est vérifiée, par analogie avec la terminologie utilisée pour les vecteurs, on peut parler d'hôte « capable » de transmettre le virus *West Nile* dans un foyer de transmission donné. Chaque foyer de transmission ayant des caractéristiques écologiques propres, la capacité d'hôte s'évalue sur le terrain.

Notion de compétence d'hôte

La compétence d'hôte correspond à la capacité d'une espèce à être infectée et à présenter l'agent infectieux à des vecteurs (Komar *et al.*, 1999). Elle est évaluée pour chaque espèce d'hôte en exposant des individus naïfs à des moustiques infectés et en suivant au cours du temps la quantité de virus présent dans le sang de ces individus nouvellement infectés (figure 3.1a). Le nombre de moustiques vecteurs susceptibles de s'infecter sur l'hôte est ensuite estimé en fonction du temps⁴ (figure 3.1b). En pratique, il existe une relation étroite entre l'amplitude et la durée de la virémie d'une part et la pathogénicité du virus pour l'hôte d'autre part car la charge virale est souvent maximale peu avant la mort des individus (figure 3.1c).

Indices de compétence d'hôte

Des indices de compétence d'hôte ont été proposés aux États-Unis pour 49 espèces d'oiseaux expérimentalement infectées avec la souche virale introduite sur le continent américain (Kilpatrick *et al.*, 2007b) (figure 3.2). Ces indices de compétence indiquent la proportion de moustiques infectés obtenus après repas sanguin sur des oiseaux expérimentalement infectés et dont la virémie est suivie au cours du temps (figure 3.3). Pour chaque espèce d'hôte h , un indice de compétence C_h peut être calculé à partir des données d'infection expérimentale selon la formule proposée par Komar *et al.* (2003a) : $C_h = s_h \times i_h \times d_h$ (encadré 3.1). Des variantes ont ensuite été suggérées pour améliorer ce calcul (Kilpatrick *et al.*, 2007b) mais le principe reste similaire. Les valeurs obtenues par Komar *et al.* (2003a) pour 25 espèces de 10 ordres différents sont présentées dans le tableau 3.1.

4. En terme probabiliste, un vecteur peut se contaminer sur un hôte infecté quelle que soit l'amplitude de la virémie mais cette probabilité tend vers 0 pour les virémies faibles (beaucoup de repas sanguins ne contiendront pas de virions en dessous d'une virémie de 10^3 UFP/ml) et vers 1 pour les virémies fortes.

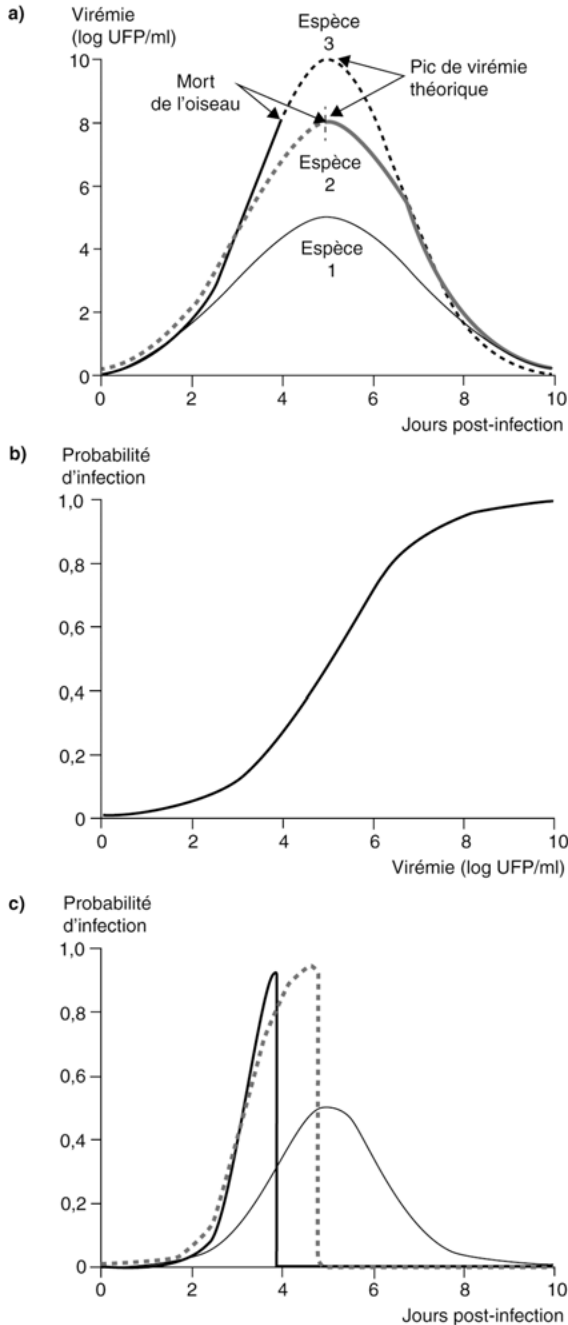


Figure 3.1. Modèle probabiliste montrant la relation entre la virémie au cours du temps chez un oiseau et la probabilité d'infection de moustiques vecteurs (trois profils possibles sont représentés : espèces 1, 2 et 3). (a) Virémie en fonction du temps. (b) Probabilité d'infection des vecteurs pour des virémies différentes. (c) Probabilité d'infection des moustiques en fonction de l'évolution au cours du temps de la virémie. D'après Lord, 2006.



Figure 3.2. Indices de compétence d'hôte pour diverses espèces d'oiseaux (noms en gras), mammifères, reptiles et amphibiens calculées à partir de données d'infections expérimentales utilisant la souche virale introduite sur le continent américain. Les valeurs indiquées correspondent à la somme des probabilités moyennes journalières d'infecter des moustiques *Cx. pipiens*. Les espèces présentes en France sont indiquées par un astérisque. D'après Kilpatrick *et al.*, 2007b.

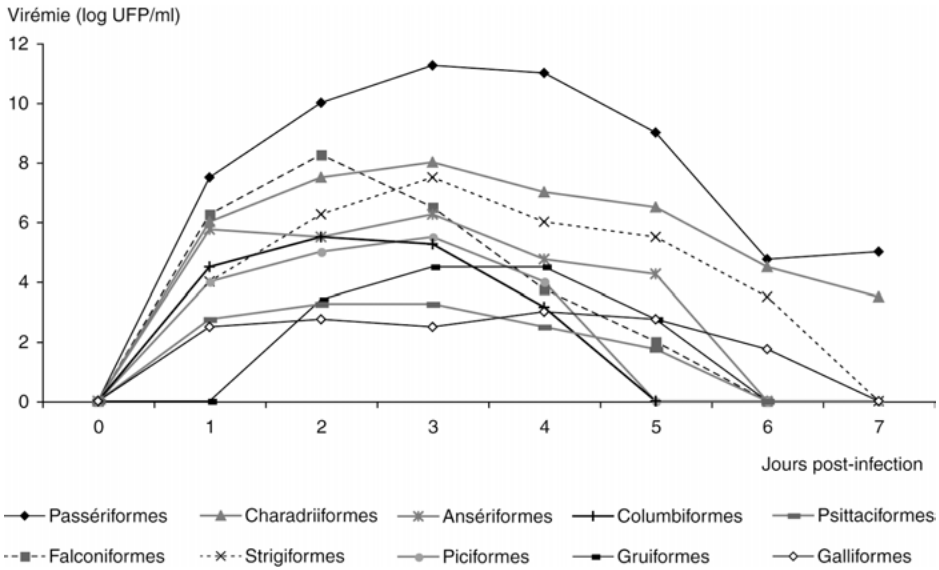


Figure 3.3. Profils de virémie obtenus par infection expérimentale avec la souche NY99 d'oiseaux appartenant à 10 ordres différents. D'après Komar *et al.*, 2003a.

Encadré 3.1. Indice de compétence d'hôte C_h

$$C_h = s_h \times i_h \times d_h$$

Proportion de vecteurs infectants obtenus après repas sanguin sur un hôte h expérimentalement infecté par le virus *West Nile* (sans unité).

- s_h : susceptibilité. Proportion d'individus qui deviennent infectés après piqure par des vecteurs infectants (sans unité).

- i_h : infectivité journalière moyenne. Proportion de vecteurs exposés qui, chaque jour, deviennent infectants après repas sanguin sur un individu infecté (en jours⁻¹).

- d_h : durée d'infectivité. Nombre de jours pendant lesquels un individu infecté présente une virémie infectieuse (en jours).

Les indices de compétence d'hôte sont spécifiques d'une espèce d'hôte mais aussi d'une espèce de vecteur et d'une souche virale données.

Des indices de compétence d'hôte ont été calculés pour certaines espèces d'oiseaux fréquentes en France⁵. Cependant, l'extrapolation de ces valeurs à la situation française doit rester prudente car la souche virale utilisée pour estimer ces indices est différente des souches isolées jusqu'à présent dans le bassin méditerranéen occidental. La virémie provoquée par des souches virales autres que la souche introduite sur le continent américain⁶ a, par ailleurs, été étudiée pour quatre espèces d'oiseaux

5. Espèces dont la compétence d'hôte a été évaluée aux États-Unis et qui sont également présentes en France. C'est le cas en particulier du moineau domestique (*Passer domesticus*), de l'étourneau sansonnet (*Sturnus vulgaris*) ou du canard colvert (*Anas platyrhynchos*).

6. Isolées au Kenya (KN-3829), en Égypte (Ar-248 et An-1230) et en Afrique du Sud (H442).

Tableau 3.1. Valeurs d'indice de compétence suggérées pour 25 espèces d'oiseaux infectées expérimentalement avec la souche NY99. Les espèces présentes en France sont marquées d'un astérisque. D'après Komar *et al.*, 2003a.

Ordre	Nom français	Nom latin	Susceptibilité moyenne ^a	Infectivité journalière moyenne ^b	Durée moyenne d'infectivité ^c	Indice de compétence ^d $C_h = s_h \times i_h \times d_h$
Passériformes	Geai bleu américain	<i>Cyanocitta cristata</i>	1,0	0,68	3,75	2,55
Passériformes	Mainate bronzé	<i>Quiscalus quiscula</i>	1,0	0,68	3,00	2,04
Passériformes	Roselin familier*	<i>Carpodacus mexicanus</i>	1,0	0,32	5,50	1,76
Passériformes	Cornelle américaine	<i>Corvus brachyrhynchos</i>	1,0	0,50	3,25	1,62
Passériformes	Moineau domestique*	<i>Passer domesticus</i>	1,0	0,53	3,00	1,59
Charadriiformes	Goéland à bec cerclé	<i>Larus delawarensis</i>	1,0	0,28	4,50	1,26
Passériformes	Pie d'Amérique	<i>Pica hudsonia</i>	1,0	0,36	3,00	1,08
Passériformes	Merle d'Amérique	<i>Turdus migratorius</i>	1,0	0,36	3,00	1,08
Passériformes	Carouge à épaulettes	<i>Agelaius phoeniceus</i>	1,0	0,33	3,00	0,99
Falconiformes	Crécerelle américaine	<i>Falco sparverius</i>	1,0	0,31	3,00	0,93
Strigiformes	Grand-duc d'Amérique	<i>Bubo virginianus</i>	1,0	0,22	4,00	0,88
Charadriiformes	Gravelot kildir	<i>Charadrius vociferus</i>	1,0	0,29	3,00	0,87
Passériformes	Cornelle de rivage	<i>Corvus ossifragus</i>	1,0	0,26	2,80	0,73
Anseriformes	Canard colvert*	<i>Anas platyrhynchos</i>	1,0	0,16	3,00	0,48
Passériformes	Étourneau d'Europe*	<i>Sturnus vulgaris</i>	1,0	0,12	1,80	0,22
Columbiformes	Colombe de Caroline	<i>Zenaida macroura</i>	1,0	0,11	1,70	0,19
Piciformes	Pic doré	<i>Colaptes auratus</i>	1,0	0,06	1,00	0,06
Anseriformes	Bernache du Canada*	<i>Anas canadensis</i>	1,0	0,10	0,30	0,03

Ordre	Nom français	Nom latin	Susceptibilité moyenne ^a	Infectivité journalière moyenne ^b	Durée moyenne d'infectivité ^c	Indice de compétence ^d $C_h = s_h \times i_h \times d_h$
Columbiformes	Pigeon biset	<i>Columba livia</i>	1,0	0	0	0
Gruiformes	Foulque américaine	<i>Fulica americana</i>	1,0	0	0	0
Galliformes	Caille japonaise	<i>Coturnix japonica</i>	1,0	0	0	0
Galliformes	Colin de Virginie	<i>Colinus virginianus</i>	1,0	0	0	0
Galliformes	Faisan de Colchide*	<i>Phasianus colchicus</i>	1,0	0	0	0
Psittaciformes	Conure veuve	<i>Myiopsitta monachus</i>	1,0	0	0	0
Psittaciformes	Perruche ondulée	<i>Melopsittacus undulatus</i>	0,7	0	0	0

^a Proportion d'oiseaux infectés après exposition à des moustiques *Cx. tritaeniorhynchus* infectants.

^b Proportion de vecteurs exposés qui deviennent chaque jour infectants après repas sanguin sur l'oiseau étudié. Ces valeurs ont été extrapolées à partir de données d'infection expérimentale obtenues pour différents niveaux de virémie chez le poulet et avec pour vecteur *Cx. pipiens* (Turell *et al.*, 2000) en considérant que seule une virémie supérieure ou égale à $\geq 10^5$ UFP/ml est infectieuse.

^c Nombre de jours pendant lesquels l'oiseau étudié présente une virémie $\geq 10^5$ UFP/ml.

^d Produit de la susceptibilité (s), l'infectivité journalière moyenne (i) et la durée d'infectivité (d), $C_h = s_h \times i_h \times d_h$ (sans unité).

sauvages fréquentes en France⁷ mais sans qu'une estimation chiffrée de la compétence d'hôte soit suggérée (Langevin *et al.*, 2005 ; McIntosh *et al.*, 1969 ; Work *et al.*, 1955).

Variabilité de la compétence d'hôte

Bien que la compétence d'hôte soit évaluée globalement pour une espèce donnée, elle peut en fait varier selon les individus en fonction de leur âge, leur statut immunitaire, mais aussi d'autres facteurs tels que des facteurs individuels sans doute génétiques ou l'état physiologique (Ostfeld *et al.*, 2000 ; Scott *et al.*, 1991 ; van der Meulen *et al.*, 2005).

En fonction de l'âge, par exemple, on constate de très grandes différences de sensibilité et d'amplitude de virémie. Ainsi, les poulets (*Gallus gallus domesticus*) de plus de trois semaines présentent une virémie faible (de l'ordre de 10^3 UFP/ml) alors que les poussins âgés de 1 à 11 jours sont sensibles à l'infection et développent une virémie suffisante pour infecter de nombreux moustiques vecteurs (Taylor *et al.*, 1956 ; van der Meulen *et al.*, 2005). De même, chez les oies (*Anser anser domesticus*), les jeunes individus peuvent être sensibles au virus alors que ceux de plus de 12 semaines survivent à l'infection (Austin *et al.*, 2004 ; Guy *et al.*, 2003).

Chez les poussins, la sensibilité au virus pourrait de plus être modifiée par la présence dans le sang d'immunoglobulines d'origine maternelle (Guy *et al.*, 2003 ; Hahn *et al.*, 2006). De façon plus générale, une exposition préalable au virus *West Nile* (ou à un virus génétiquement proche) peut moduler la compétence d'hôte (Fang *et al.*, 2006).

Notion de capacité d'hôte

Pour que les oiseaux compétents au laboratoire soient impliqués dans la transmission du virus *West Nile* en milieu naturel, il faut qu'ils soient présents en nombre suffisamment grand dans un foyer de transmission et qu'ils soient effectivement piqués par des moustiques ornithophiles (se nourrissant préférentiellement sur oiseaux) ou opportunistes (se nourrissant sur une large gamme d'hôtes) compétents pour le virus *West Nile*.

Pour une espèce dont la compétence d'hôte est connue, la capacité d'hôte indique la probabilité pour que cette espèce transmette le virus à un moustique vecteur en milieu naturel. Elle dépend de la compétence d'hôte, de la préférence d'hôte des vecteurs et de l'abondance relative de l'espèce hôte considérée. Évaluée en partie sur le terrain, la capacité d'hôte est spécifique d'un foyer de transmission donné.

Indices de capacité d'hôte

Aucune évaluation de capacité d'hôte n'a été effectuée en France ou en Europe à ce jour. Aux États-Unis, en revanche, des estimations de capacité d'hôte ont été réalisées dans plusieurs sites d'études (Hamer *et al.*, 2009 ; Kilpatrick *et al.*, 2006b, 2007b).

7. Le moineau domestique (*Passer domesticus*), le pigeon domestique (*Columba livia domesticus*), le héron garde-bœufs (*Bubulcus ibis*) et le faucon crécerelle (*Falco tinnunculus*).

Comme pour la compétence d'hôte, la méthode de calcul varie légèrement selon les auteurs. Nous retiendrons la formule utilisée par Hamer *et al.* (2009) selon laquelle la capacité d'hôte (F_h pour « fraction d'amplification ») est égale à la compétence d'hôte multipliée par deux indices évalués sur le terrain : f_h qui correspond à la part relative représentée par les différentes espèces d'oiseaux dans les repas sanguins des vecteurs et a_h qui tient compte de la composition relative de la communauté d'hôtes. Au final on a donc $F_h = f_h \times P_h \times C_h$ (encadré 3.2).

Encadré 3.2. Indice de capacité d'hôte ou fraction d'amplification F_h

$$F_h = f_h \times P_h \times C_h$$

Proportion de vecteurs infectants obtenus après repas sanguin sur un hôte h dans un environnement donné (sans unité)

- f_h : fraction de repas sanguins. Proportion de repas sanguins pris sur l'espèce h (sans unité).

- P_h : indice de préférence d'hôte. Mesure de la sélection d'hôte obtenue en rapportant la fraction de repas sanguins pris sur l'espèce h à la densité relative de l'espèce h .

$$P_h = f_h / a_h \text{ (sans unité) où } a_h = [\text{densité de l'espèce } h] / [\text{densité aviaire totale}]$$

- C_h : indice de compétence d'hôte. Évalué au laboratoire (sans unité).

Les indices de capacité d'hôte sont spécifiques d'une espèce d'hôte mais aussi d'une espèce de vecteur, d'une souche virale et d'un environnement donné.

Pour évaluer la part relative des différentes espèces d'oiseaux dans les repas sanguins des vecteurs, il faut capturer dans l'environnement des vecteurs récemment gorgés et déterminer sur quels hôtes ils ont pris leur repas grâce à des techniques de biologie moléculaire⁸ (Hamer *et al.*, 2009 ; Kilpatrick *et al.*, 2006b ; Lee *et al.*, 2002 ; Molaei *et al.*, 2006). Pour que l'étude soit valide, les échantillons de moustiques doivent être représentatifs c'est-à-dire de grande taille et non biaisés par la technique ou le site de piégeage (Eldridge, 2000). Par ailleurs, la composition de la communauté d'hôtes peut être estimée par des méthodes de comptage et par la capture des espèces présentes sur la zone d'étude (Ezenwa *et al.*, 2006 ; Hamer *et al.*, 2009 ; Kilpatrick *et al.*, 2006b). L'abondance relative des différentes espèces d'oiseaux peut ainsi être comparée à la part relative de ces espèces dans les repas sanguins des vecteurs (figure 2, planche I). L'importance d'une espèce dans la transmission du virus peut être évaluée en calculant la variation de compétence réservoir de la communauté d'hôtes (somme des différents F_h) quand l'espèce est retirée (Kilpatrick *et al.*, 2006b). Aux États-Unis, ce type d'étude a permis de montrer que certaines espèces, telles que le Merle d'Amérique (*Turdus migratorius*), peuvent avoir un rôle majeur dans la transmission du virus *West Nile* bien que leur compétence d'hôte soit modérée par rapport à d'autres oiseaux (Kilpatrick *et al.*, 2006b).

À défaut de ce type d'approche, il est possible de rechercher des anticorps spécifiques du virus *West Nile* chez les oiseaux pour identifier les espèces en contact avec le virus. Cependant, cette méthode présente des inconvénients car la sensibilité au virus et la durée ou l'intensité de la réponse immunitaire peuvent varier selon les espèces, et les tests de laboratoires ne sont parfois pas adaptés pour certaines espèces. De plus,

8. En amplifiant des fragments de génome caractéristiques des différentes espèces de vertébrés (cytochrome b ou ADN mitochondrial).

certaines espèces d'oiseaux étant plus faciles à capturer que d'autres, cette méthode n'est pas exhaustive.

Variabilité de la capacité d'hôte

La probabilité pour que les oiseaux soient exposés aux piqûres de moustiques vecteurs dépend des moments de la journée et de la saison où ils fréquentent les biotopes occupés par les vecteurs. Elle dépend aussi de la nature et de l'abondance des autres espèces de vertébrés (oiseaux, mammifères ou reptiles) susceptibles de servir d'hôtes aux moustiques vecteurs (effet de dilution). Enfin, elle dépend de la capacité des oiseaux à se défendre contre la piqûre des moustiques vecteurs.

Préférences écologiques et cycles d'activité

Un cycle d'amplification ne peut exister que si les hôtes et les vecteurs partagent, à une même période, la même niche écologique. Leur probabilité de rencontre dépend de leur répartition réciproque dans l'espace et dans le temps, à l'échelle de la saison mais aussi celle du nyctémère.

Pour les oiseaux diurnes, la période principale d'exposition aux piqûres de moustiques est la nuit, quand ils sont inactifs et immobiles. Or, c'est justement à la tombée du jour et pendant la nuit que la plupart des moustiques ornithophiles partent en quête d'hôte et prennent leur repas de sang. À l'échelle de la saison, on peut s'attendre à ce que les interactions entre oiseaux et vecteurs soient différentes selon que le pic d'abondance des vecteurs survient pendant la migration de printemps (nombreux oiseaux de passage), la nidification (nombreux poussins immobiles et sans plumage protecteur), ou la migration d'automne (nombreux jeunes de l'année et oiseaux de passage).

La rencontre entre les oiseaux et les moustiques est également conditionnée par leur répartition verticale dans l'espace car certains moustiques sont préférentiellement en quête d'hôte au niveau de la canopée et d'autres au niveau du sol. En fonction de la hauteur à laquelle ils se trouvent pendant la nuit, les oiseaux seront donc plus ou moins exposés aux vecteurs. Un critère utilisable pour évaluer cette exposition est la hauteur des nids (Emord et Morris, 1984).

Densité et diversité des oiseaux

La dynamique de transmission du virus *West Nile* au sein d'une population d'oiseaux est corrélée de façon complexe à la taille de cette population, la nature des espèces présentes et l'abondance relative de chaque espèce.

Si une augmentation de la densité d'oiseaux concerne des espèces fortement compétentes (C_h fort) et fréquemment piquées par les vecteurs (P_h fort), l'acquisition du virus par la population de vecteurs est favorisée. Cela correspond à la situation épidémiologique observée en Californie où le niveau d'infection des populations de vecteurs par le virus *West Nile* est particulièrement élevé dans les zones à forte densité de corvidés (Reisen *et al.*, 2006b). En revanche, si l'augmentation de densité d'oiseaux concerne des espèces faiblement compétentes (C_h faible) mais fortement piquées par les vecteurs (P_h fort), il se produit un effet de dilution car le

virus est moins présent chez les espèces d'oiseaux infectantes pour les vecteurs et le cycle d'amplification est ralenti (Dobson *et al.*, 2001 ; Schmidt et Ostfeld, 2000).

Selon les caractéristiques des espèces présentes (forte capacité vectorielle ou non), la densité et la diversité pourront donc avoir des effets contraires sur l'amplification du virus *West Nile* au sein de l'avifaune. C'est pourquoi, selon les hypothèses de transmission choisies, les modèles épidémiologiques relatifs au virus *West Nile* peuvent aboutir à des prédictions très différentes (Wonham *et al.*, 2006).

Comportement de défense des oiseaux

Chez les oiseaux adultes, les zones attaquées par les moustiques sont les parties sans plumes telles que le contour de l'œil, la base du bec ou les pattes. Deux attitudes de protection sont décrites : une protection passive qui consiste à minimiser la surface exposée aux piqûres⁹ et une protection active qui consiste à effectuer des mouvements dissuasifs pour empêcher les moustiques de se poser¹⁰ ou à tenter d'attraper les moustiques en vol (Edman et Kale, 1970 ; Scott et Edman, 1991).

Les modalités de défense des oiseaux sont variables même entre espèces très proches phylogénétiquement (Edman *et al.*, 1972). Cependant, les espèces de grande taille, par exemple de la famille des ardéidés ou des anatidés, apparaissent globalement plus tolérantes aux piqûres de moustiques que les petits passereaux (Scott et Edman, 1991). Bien qu'ils ne soient pas protégés par des plumes et n'aient pas de comportement de défense¹¹, les jeunes poussins au nid semblent exercer une attraction moins forte sur les moustiques que les oiseaux adultes (Griffing *et al.*, 2007 ; Scott *et al.*, 1990). Cependant, si l'adulte couve les poussins, les moustiques sont attirés par l'adulte et peuvent piquer les poussins dont le corps n'est pas suffisamment protégé par celui de l'adulte (Scott *et al.*, 1990).

L'état physiologique agit aussi sur le comportement de défense des oiseaux, un individu léthargique étant peu réactif aux piqûres (Scott et Edman, 1991). Cette situation est observée, peu avant leur mort, chez les corneilles d'Amérique *Corvus brachyrhynchos* infectées par le virus *West Nile* (Reisen *et al.*, 2005 ; Yaremych *et al.*, 2004), ce qui favorise la transmission du virus à de nouveaux vecteurs.

► Rôles des oiseaux dans l'épidémiologie de la fièvre *West Nile*

Étant impliqués dans le cycle de transmission du virus, les oiseaux jouent différents rôles dans l'épidémiologie de la fièvre *West Nile* (figure 3.4). Tout d'abord, si elles sont suffisamment abondantes et attractives pour les vecteurs locaux, les espèces d'oiseaux compétentes pour la transmission du virus *West Nile* jouent un rôle essentiel dans l'amplification du virus au sein d'un foyer de transmission. Étant mobiles, les oiseaux amplificateurs dans une zone où la circulation virale

9. Protection de la tête par les ailes et des pattes par les plumes abdominales.

10. Par exemple, en secouant la tête, en tapant du pied, en donnant des coups de becs sur les pattes.

11. Sauf chez les Gallinacés.

est enzootique ou épizootique peuvent transporter le virus sur des distances plus ou moins grandes et l'introduire dans des régions préalablement indemnes de maladie. De même, les oiseaux amplificateurs participent à la dispersion du virus au sein d'un foyer local de transmission. Puisqu'ils servent d'hôtes au virus, les oiseaux pourraient jouer un rôle de réservoir quand les conditions sont défavorables à l'activité des vecteurs, soit en hébergeant le virus pendant une longue période, soit en le transmettant directement entre individus sans nécessiter de vecteurs. Étant exposés au virus *West Nile* avant que celui-ci ne soit transmis aux mammifères sensibles (homme et cheval), les oiseaux peuvent servir de sentinelle permettant de détecter la présence de virus avant l'apparition de cas cliniques. Enfin, certains oiseaux sont eux-mêmes sensibles à l'infection par le virus *West Nile*.

Dans la partie qui suit, nous verrons quelles méthodes sont utilisées pour identifier les espèces impliquées dans ces différents rôles et nous dresserons le bilan des connaissances actuelles pour les oiseaux présents en France. Enfin, nous verrons quels travaux complémentaires sont nécessaires pour mieux comprendre l'implication respective des diverses espèces d'oiseaux dans ces différents rôles.

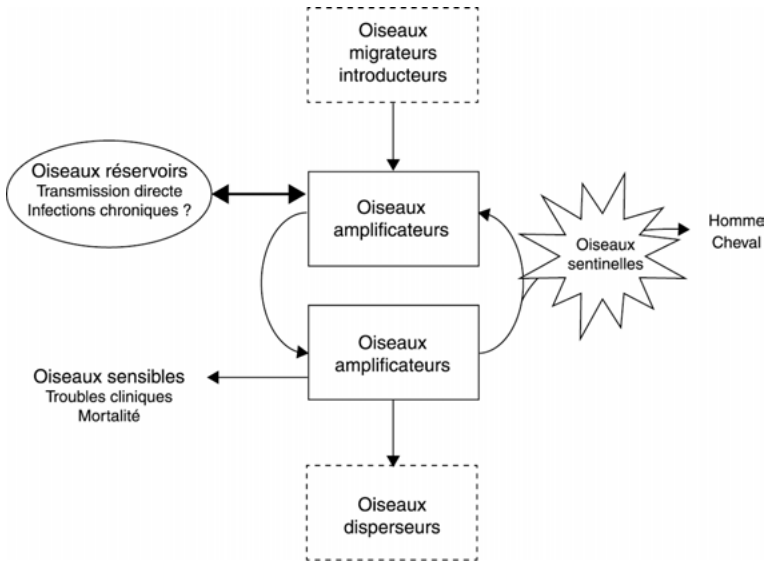


Figure 3.4. Les différents rôles joués par les oiseaux dans l'épidémiologie de la fièvre *West Nile*.

Rôle d'amplification du virus

Le terme d'amplification du virus *West Nile* est utilisé en référence à l'augmentation au cours du temps du nombre de vecteurs et d'hôtes infectés. L'amplification ne peut se produire que si un certain nombre de conditions relatives aux hôtes, aux vecteurs et à l'environnement sont rassemblées.

Propriétés d'un bon amplificateur de virus

Pour être de bons amplificateurs, les oiseaux d'une espèce donnée doivent avoir une forte capacité d'hôte. Ils doivent donc être abondants et accessibles aux vecteurs à la fois dans le temps (saison et nycthémère) et dans l'espace (partage des mêmes micro-habitats). Ils doivent être attractifs (préférence trophique du vecteur) et tolérants pour les vecteurs (absence de comportement de défense). Ils doivent répondre à l'infection avec une virémie d'amplitude et de durée suffisante pour infecter une grande quantité de nouveaux vecteurs (forte compétence d'hôte). Enfin, la dynamique de population de l'espèce doit être telle que des individus susceptibles (naïfs sur le plan immunologique) entrent régulièrement dans la population.

À la recherche des oiseaux amplificateurs

Une liste d'espèces potentiellement impliquées dans l'amplification du virus *West Nile* a été proposée en Camargue (Jourdain *et al.*, 2007c) (annexe I). Cette liste, volontairement peu discriminante, s'appuie sur la période de présence des différentes espèces aviaires de Camargue, leur type d'habitat et leur abondance. L'intérêt de cette approche est d'aider à sélectionner des espèces pertinentes pour effectuer des investigations de terrain et de servir de référence au fur et à mesure de l'avancement des investigations. En effet, le choix des espèces étudiées sur le terrain est souvent biaisé en faveur d'espèces faciles à capturer, à manipuler et à prélever (figure 3c, planche II). Il est donc important de pouvoir s'assurer *a posteriori* que d'autres espèces potentiellement impliquées dans le cycle de transmission n'ont pas été négligées.

Le moineau domestique

Les investigations de terrain menées en Camargue de 2004 à 2007 ont montré que le virus *West Nile* circule chez le moineau domestique (*Passer domesticus*) (figure 3a, planche II)¹² (Balança *et al.*, 2009 ; Jourdain *et al.*, 2007b). Cette espèce est abondante en Camargue (Blondel *et al.*, 1981) et, d'après les infections expérimentales effectuées avec la souche kenyane KN-3829¹³, elle répond à l'infection avec une virémie d'amplitude et de durée suffisante pour infecter une grande quantité de nouveaux vecteurs (Langevin *et al.*, 2005). Ces résultats sont concordants avec ceux décrits par Work *et al.* (1955) avec la souche égyptienne Ar-248. Toutefois, avant de conclure que le moineau domestique est un hôte amplificateur important pour le virus *West Nile* en Camargue, il reste à évaluer sa capacité d'hôte sur le terrain, c'est-à-dire à montrer que les moustiques vecteurs prennent fréquemment leur repas sur cette espèce.

La pie bavarde

Les études effectuées sur la pie bavarde (*Pica pica*) en 2000 (Hars *et al.*, 2004) et de 2004 à 2007 (Balança *et al.*, 2009 ; Jourdain *et al.*, 2007b, 2008a) montrent que

12. Isolement du virus à partir d'un moineau domestique moribond et détection d'anticorps spécifiques chez des moineaux domestiques sains testés en sérologie.

13. Qui appartient au même cluster que la souche isolée en Camargue en 2004.

les oiseaux de cette espèce présentent fréquemment des anticorps vis-à-vis du virus *West Nile* (figure 3b, planche II). En outre, le virus a pu être isolé à partir du cerveau d'un individu moribond capturé à proximité d'une écurie infectée (Jourdain *et al.*, 2007b). Les pies bavardes sont fréquentes dans les différents habitats de Camargue (Blondel *et al.*, 1981) et possèdent probablement une forte compétence d'hôte car elles appartiennent à la famille des corvidés suspectée d'être particulièrement impliquée dans la transmission du virus *West Nile* aussi bien dans l'Ancien (Work *et al.*, 1955) que dans le Nouveau Monde (Komar *et al.*, 2003a ; Reisen *et al.*, 2006b). L'infection expérimentale avec la souche NY99 d'une espèce proche, la pie à bec noir d'Amérique (*Pica hudsonia*), a montré que la virémie développée pouvait atteindre de fortes valeurs (Komar *et al.*, 2003a). Pour évaluer leur rôle dans l'amplification du virus *West Nile* en Camargue, il est nécessaire d'étudier quelle proportion de moustiques vecteurs effectue leur repas sanguin sur les pies bavardes. L'existence d'une contamination par voie orale est aussi probable chez cette espèce fréquemment charognarde même si son alimentation est essentiellement constituée d'invertébrés (Bigot, 1966). Une transmission d'individu à individu, à partir de fientes infectées,

Tableau 3.2. Espèces d'oiseaux chez lesquelles des anticorps spécifiques du virus *West Nile* ont été détectés en France. Le statut migrateur de chaque espèce est précisé (S : sédentaire, M : migrateur au long court, m : migrateurs courte distance). Les espèces pour lesquelles un isolement (*) ou la détection d'ARN viral (#) ont été effectués sont précisées. D'après Balança *et al.*, 2009 ; Hars *et al.*, 2004 ; Jourdain *et al.*, 2007b, 2008b.

Ordre	Nom français	Nom latin	Statut migrateur	Isolement ou ARN viral
Ciconiiformes	Héron garde-bœufs	<i>Bubulcus ibis</i>	m	
Ansériformes	Canard colvert	<i>Anas platyrhynchos</i>	m	
Charadriiformes	Goéland leucopnée	<i>Larus michahellis</i>	S	
Strigiformes	Petit-duc scops	<i>Otus scops</i>	M	
Upupiformes	Huppe fasciée	<i>Upupa epops</i>	M	
Passériformes	Rossignol	<i>Luscinia</i>	M	
	philomèle	<i>megarhynchos</i>		
	Rougequeue à front blanc	<i>Phoenicurus phoenicurus</i>	M	
	Fauvette grisette	<i>Sylvia communis</i>	M	
	Fauvette à tête noire	<i>Sylvia atricapilla</i>	M	
	Pouillot fitis	<i>Phylloscopus trochilus</i>	M	
	Gobemouche noir	<i>Ficedula hypoleuca</i>	M	
	Pie-grièche à tête rousse	<i>Lanius senator</i>	M	
	Moineau domestique	<i>Passer domesticus</i>	S	Cerveau*
	Pie bavarde	<i>Pica pica</i>	S	Cerveau* Fiente#

devrait également être étudiée, en particulier pendant les périodes où les pies se regroupent pour dormir en dortoir.

Le héron garde-bœufs

Les colonies, qui concentrent en un même lieu de nombreux poussins et adultes nicheurs, apparaissent idéales pour l'entretien d'un cycle d'amplification virale (Marra *et al.*, 2004 ; Reisen *et al.*, 2009) notamment en Camargue où des études entomologiques réalisées dans les années 1960 ont montré que l'espèce de moustique *Cx. modestus* est abondante dans les colonies d'aigrettes (Mouchet *et al.*, 1970). Les investigations menées sur les poussins de héron garde-bœufs (*Bubulcus ibis*) peu avant l'épizootie équine camarguaise de 2004 ne semblent toutefois pas en faveur d'un rôle majeur de ces oiseaux dans l'amplification du virus *West Nile* (Jourdain *et al.*, 2008b).

En résumé

Il s'avère difficile d'identifier les espèces amplificatrices du virus *West Nile* dans le sud de la France du fait de la diversité de l'avifaune. Les investigations sérologiques et virologiques menées sur quelques espèces permettent de montrer que celles-ci sont en contact avec le virus et jouent potentiellement un rôle d'amplification (tableau 3.2). Des investigations complémentaires sont nécessaires pour identifier les espèces les plus fréquemment piquées par les moustiques vecteurs grâce à l'identification de l'origine des repas de sang de moustiques.

Rôle de transport du virus

Les oiseaux jouent très probablement un rôle majeur dans la dissémination du virus *West Nile* à partir des foyers primaires d'amplification. L'isolement de souches phylogénétiquement proches dans des localisations géographiques très éloignées montre qu'il existe une circulation virale entre continents (Charrel *et al.*, 2003) et laisse penser que les oiseaux ont probablement un rôle de transport non seulement à une échelle locale mais également, du fait leurs mouvements migratoires, à une échelle continentale (Jourdain *et al.*, 2007a ; Rappole et Hubalek, 2003).

Propriétés d'un bon transporteur de virus

Introduction dans une zone indemne

Les oiseaux sauvages peuvent *a priori* importer le virus *West Nile* dans une zone préalablement indemne s'ils parviennent dans cette zone avec du virus dans leur sang (virémiques), dans leurs organes (infection chronique) ou dans les ectoparasites qu'ils transportent.

D'après les modèles d'infection expérimentale (Komar *et al.*, 2003a ; McIntosh *et al.*, 1969 ; Owen *et al.*, 2006 ; Work *et al.*, 1955), la virémie ne dure pas plus d'une semaine, ce qui implique que seuls les oiseaux qui voyagent en quelques jours depuis une zone infectée peuvent introduire le virus dans une nouvelle région. Le virus *West Nile* étant reconnu endémique en Afrique sub-saharienne, sur le pourtour du bassin

méditerranéen et en Europe de l'Est, un tel scénario d'introduction en France par les oiseaux migrateurs est tout à fait plausible, en particulier pour les espèces capables de voler sans repos durant plusieurs jours et nuits successifs (Jourdain *et al.*, 2007a). Pour qu'un cycle d'amplification s'installe, il faut ensuite que ces oiseaux soient piqués par des vecteurs locaux compétents pour la transmission du virus *West Nile*.

Un portage chronique du virus *West Nile* a été observé dans plusieurs modèles animaux (Kuno, 2001a ; Monath *et al.*, 1996) et chez l'homme (Murray *et al.*, 2010). Une diminution des défenses immunitaires pouvant se produire sous l'effet d'un stress, un retour à une phase virémique peut ensuite se produire (Monath *et al.*, 1996 ; Reisen, 1990). Chez les oiseaux sauvages, la mue, la défense du territoire, l'ovulation, la migration ou l'infection concomitante par un autre pathogène sont autant de facteurs de stress susceptibles de favoriser le retour à une phase virémique. Ce scénario reste toutefois hypothétique car les premières investigations réalisées en laboratoire avec des arbovirus proches du virus *West Nile* n'ont pas permis de démontrer ce phénomène de recrudescence (Reisen *et al.*, 2003).

Les oiseaux migrateurs peuvent aussi passivement transporter des ectoparasites infectés par le virus *West Nile*, en particulier des larves ou nymphes de tiques dures (Ixodidés) qui se détachent ensuite de leur hôte. Étant donné que certaines tiques peuvent être infectées par le virus *West Nile* (Lawrie *et al.*, 2004), on peut penser que le virus pourrait être introduit par ces ectoparasites. En conditions naturelles, les oiseaux les plus fréquemment parasités par les tiques sont ceux qui fouissent le sol pour rechercher leur nourriture, notamment les turdidés comme le merle noir (*Turdus merula*) ou le rouge-gorge (*Erithacus rubecula*) (Comstedt *et al.*, 2006 ; Kaiser *et al.*, 1974).

Dispersion locale

Les oiseaux amplificateurs capables de parcourir des distances importantes au cours d'une journée sont considérés comme de bons candidats à la dissémination du virus *West Nile* (Ward, 2006 ; Yaremych *et al.*, 2004). C'est le cas en particulier des oiseaux juvéniles qui forment en fin d'été des groupes de grande taille se déplaçant fréquemment (Reisen *et al.*, 2004).

À la recherche des oiseaux transporteurs

Oiseaux migrateurs introducteurs

Une liste d'oiseaux candidats à l'introduction du virus *West Nile* en Camargue, à partir d'Afrique et d'Europe de l'Est, a été proposée (annexe I). Cette liste de 122 espèces est très large car elle s'appuie uniquement sur des critères peu discriminants tels que le type d'habitat (zone humide), le statut migrateur, la zone de provenance et la période de présence en Camargue. Elle a servi de base pour identifier les espèces d'oiseaux intéressantes à étudier sur le terrain.

Les études de séroprévalence menées en Camargue de 2004 à 2007 ont permis de détecter des anticorps spécifiques du virus *West Nile* chez neuf espèces migratrices au long court hivernant au sud du Sahara (figure 3d, planche II, tableau 3.2). Cependant, les anticorps pouvant rester détectables longtemps dans le sang (Gibbs *et al.*, 2005 ; Nemeth *et al.*, 2009), il n'est pas possible de savoir où et quand ces oiseaux

ont été exposés au virus *West Nile*. Seule la mise en évidence directe du virus chez un oiseau arrivant de migration permettrait de confirmer un rôle d'introduction.

Oiseaux localement disperseurs

Lors de l'épizootie de 2000 qui a surtout atteint des chevaux présents en zone sèche au nord-ouest de la Camargue, un transport du virus depuis la zone humide a été suspecté (Durand *et al.*, 2002). Dix-huit espèces d'oiseaux potentiellement impliquées dans ce transport ont été identifiées (annexe I). On retrouve dans cette liste les moineaux domestiques et les pies bavardes trouvés positifs en sérologie et pour lesquels les mouvements de dispersion des juvéniles en fin d'été pourraient s'accompagner d'une dispersion du virus *West Nile*.

En résumé

Le rôle des oiseaux sauvages dans l'introduction et la dissémination du virus *West Nile* à partir d'un foyer primaire d'amplification reste mal connu. Des études de terrain visant à rechercher directement la présence du virus chez les oiseaux seraient utiles pour mieux évaluer les probabilités d'introduction ou de dissémination. Par ailleurs, une meilleure connaissance des distances parcourues par les oiseaux aiderait à quantifier les risques de dispersion (Ward, 2006 ; Yaremych *et al.*, 2004).

Rôle de réservoir du virus

Pour les arbovirus, le maintien d'un cycle primaire de transmission, d'une année à l'autre, peut être expliqué par trois scénarios : soit le virus est réintroduit chaque année, soit il existe un site protégé où le cycle de transmission se poursuit pendant la période hivernale, soit il existe un réservoir assurant la pérennité du virus pendant la saison défavorable à la transmission vectorielle puis sa remise en circulation au printemps suivant (Rodhain et Perez, 1985).

Propriétés d'un bon réservoir de virus

Les oiseaux constituent un réservoir pour le virus *West Nile* s'ils sont capables d'assurer la pérennité du virus, en particulier durant la période hivernale quand la température est insuffisante au maintien du cycle vectoriel de transmission (Ashford, 1997 ; Haydon *et al.*, 2002 ; Rodhain et Perez, 1985).

Cette pérennité pourrait par exemple être assurée par des oiseaux infectés chroniquement chez lesquels le virus serait réactivé après une période de latence sous l'effet d'un stress (Kuno, 2001a ; Reisen, 1990). Cependant, comme nous l'avons discuté précédemment, un tel phénomène de recrudescence n'a pour le moment jamais été observé chez les oiseaux infectés par le virus *West Nile*.

L'existence d'une transmission directe entre les oiseaux, à partir de fientes infectées, pourrait permettre au virus de persister durant l'hiver (Banet-Noach *et al.*, 2003 ; Kipp *et al.*, 2006 ; Kuno, 2001b). Cette hypothèse de transmission est particulièrement pertinente pour les espèces d'oiseaux qui vivent en groupe pendant la saison hivernale (Marra *et al.*, 2004).

À la recherche des oiseaux réservoirs

Aucune recherche directe de virus n'a été effectuée en période hivernale sur les oiseaux sédentaires et les migrateurs hivernants en France. La mise en évidence du virus *West Nile* dans le cerveau d'une pie bavarde à l'automne 2004 et dans les fientes d'une autre pie en août 2005 suggère toutefois que cette espèce, qui se regroupe en dortoir durant l'hiver, pourrait servir de réservoir (Jourdain *et al.*, 2008a).

En résumé

Des recherches complémentaires sont indispensables pour évaluer si les oiseaux ont un rôle dans la pérennité hivernale du virus *West Nile* en France. Ces recherches pourront s'appuyer à la fois sur des infections expérimentales visant à déterminer si le virus entraîne des infections chroniques pouvant se réactiver, et sur des investigations de terrain visant à rechercher la présence du virus chez les oiseaux en période hivernale. Cette recherche directe de virus devra s'appuyer sur des techniques capables de détecter les souches virales appartenant au lignage 1 (classiquement observée en Europe) mais aussi au lignage 2 (historiquement isolée uniquement en Afrique) dont la présence en Europe a récemment été révélée (Bakonyi *et al.*, 2006).

Rôle de sentinelle

On appelle « sentinelles » des espèces qui servent d'indicateurs biologiques, signalant aux épidémiologistes les périodes d'activité du virus avant que la phase d'émergence ne soit atteinte (Rodhain, 1998).

Propriétés d'une bonne sentinelle

Les qualités requises pour qu'une espèce soit qualifiée de sentinelle idéale sont nombreuses (Komar, 2001 ; Reisen *et al.*, 1992). L'espèce doit être facile à échantillonner, présenter une attractivité et une tolérance fortes vis-à-vis des moustiques vecteurs, être susceptible à l'infection sans grande variation individuelle et développer rapidement une réponse sérologique détectable avant que les symptômes n'apparaissent dans la population à protéger (hommes et chevaux). On distingue les sentinelles captives, maintenues en un même endroit et prélevées régulièrement pour mettre en évidence une séroconversion, et les sentinelles non captives qui sont en fait des oiseaux sauvages capturés dans l'environnement (Komar, 2001).

Les sentinelles captives doivent appartenir à des espèces fréquemment piquées par les moustiques vecteurs mais peu compétentes pour la transmission du virus afin de ne pas contribuer au cycle local de transmission. Pour le virus *West Nile*, des poules ou canards adultes sont utilisés (chapitre 7). L'attractivité vis-à-vis des moustiques étant un critère important pour qu'une espèce constitue une bonne sentinelle épidémiologique, certaines espèces sauvages plus attractives pour les moustiques vecteurs que les poules ou les canards pourraient avoir une meilleure aptitude à révéler l'existence d'une circulation virale.

Les oiseaux sauvages utilisés comme sentinelles doivent être sédentaires et largement distribués dans des zones écologiques distinctes. Ils doivent présenter des marqueurs d'infection¹⁴ détectables par les techniques de laboratoire utilisées en routine et être faciles à capturer et prélever (Artois *et al.*, 2003 ; Peterson *et al.*, 2004). L'idéal est une espèce nuisible ou chassable pour laquelle l'obtention de prélèvements nécessite peu d'investissements. L'intérêt majeur que présente l'utilisation d'oiseaux sentinelles sauvages est leur mobilité, ce qui augmente leur probabilité d'être présents, à un moment ou un autre de la saison, dans un foyer de transmission du virus (Komar, 2001). Cette notion de mobilité est toutefois très variable selon les espèces d'oiseaux et peut s'avérer un inconvénient car la localisation précise du foyer de transmission virale reste inconnue.

Le principal problème associé à l'utilisation des oiseaux sauvages en tant que sentinelles est la nécessité de capturer de nouveau les individus pour mettre en évidence une séroconversion. Ce problème peut être évité si seuls les individus âgés de moins d'un an sont inclus dans la population d'étude mais il faut alors tenir compte du fait que des anticorps d'origine maternelle peuvent être présents au cours des premières semaines. Il est aussi possible de rechercher directement la présence de virus sur des prélèvements issus d'oiseaux capturés vivants ou trouvés morts. Aux États-Unis, où l'infection par le virus *West Nile* se traduit par une forte mortalité chez certaines espèces, le système de surveillance s'est essentiellement basé sur la mise en évidence du virus dans des prélèvements issus d'oiseaux morts (Docherty *et al.*, 2004 ; Eidson *et al.*, 2001).

À la recherche d'oiseaux sentinelles

En France, le moineau domestique et la pie bavarde pourraient constituer de bonnes sentinelles car ils sont fréquents et largement distribués, leur capture et leur manipulation sont aisées, ils sont en contact avec le virus puisque des sérologies positives ont été mises en évidence à plusieurs reprises, et leur sérum peut être analysé par des tests sérologiques simples. Il est d'ailleurs intéressant de noter que le moineau domestique est utilisé comme sentinelle aux États-Unis pour révéler la circulation d'un autre arbovirus de la famille des *Flaviviridae*, le virus de l'encéphalite de Saint-Louis (McLean *et al.*, 1983). La détection du génome viral dans les fientes de pies bavardes pourrait également s'avérer pertinente pour détecter l'existence d'un cycle de transmission (Jourdain *et al.*, 2008a ; Kipp *et al.*, 2006).

En résumé

Les sentinelles sauvages présentent un certain nombre d'avantages par rapport aux sentinelles captives. Cependant, en l'absence de mortalité importante permettant d'obtenir facilement des échantillons, les contraintes de capture sont importantes si bien que l'utilisation des sentinelles captives a, jusqu'à présent, été préférée en France. En dépit d'une couverture géographique limitée avec seulement cinq sites d'oiseaux sentinelles captifs par département, ce système s'est avéré relativement

14. En général des anticorps mais il peut s'agir aussi de méthodes mettant directement en évidence la présence du virus.

sensible puisqu'il a permis de détecter la circulation du virus *West Nile* en Camargue en 2001 et 2002, en l'absence de toute autre manifestation du virus, et en 2004 bien avant l'apparition des premiers signes cliniques chez les chevaux (chapitre 7).

Rôle d'hôte sensible

Le terme d'hôte sensible est utilisé ici en référence aux oiseaux pour lesquels l'infection par le virus *West Nile* s'accompagne de l'apparition de signes cliniques et peut même être létale.

Propriétés d'un hôte sensible

Bien que les premières études d'infection expérimentale aient montré un rôle pathogène possible du virus *West Nile* chez les oiseaux (Taylor *et al.*, 1956 ; Work *et al.*, 1955), une mortalité aviaire associée au virus *West Nile* n'a été rapportée que très exceptionnellement dans l'Ancien Monde (Bakonyi *et al.*, 2006 ; Jourdain *et al.*, 2007b ; Lvov *et al.*, 2004 ; Malkinson *et al.*, 2002). En revanche, une forte mortalité a été observée chez les oiseaux nord-américains suite à l'introduction du virus à proximité de New York en 1999, faisant même redouter l'extinction de certaines espèces (Naugle *et al.*, 2004 ; Peterson *et al.*, 2004). Les études comparatives effectuées par infection expérimentale de rongeurs (Beasley *et al.*, 2002) et d'oiseaux (Brault *et al.*, 2004) ont montré que la souche introduite sur le continent américain est parmi les plus virulentes du lignage 1 (chapitre 2). Par ailleurs, la forte sensibilité observée chez les oiseaux nord-américains est probablement associée au fait que ces oiseaux n'ont pas d'histoire coévolutive avec le virus *West Nile*. Pour de nombreux virus en effet, plus la relation avec les hôtes est ancienne plus la probabilité pour que le virus entraîne une infection subclinique est forte. Au contraire, si la relation est récente, la probabilité pour que le virus provoque une maladie sévère est élevée (Clayton *et al.*, 1997 ; Ritchie, 1995).

À la recherche des oiseaux sensibles

En France, le réseau SAGIR n'a révélé aucune mortalité anormale associée au virus *West Nile* (chapitre 7). L'isolement du virus n'a été effectué qu'à partir de deux oiseaux moribonds¹⁵ échantillonnés dans le cadre d'un programme de recherche pendant l'épizootie équine camarguaise de 2004 (Jourdain *et al.*, 2007b). Aucun examen anatomopathologique n'a été effectué sur ces deux oiseaux mais le fort titre viral observé dans les échantillons de cerveau suggère que le virus *West Nile* est probablement à l'origine de leur mort. Il est donc possible qu'une mortalité modérée associée au virus *West Nile* existe dans la population d'oiseaux sauvages de l'Ancien Monde mais passe inaperçue car la probabilité de détection des oiseaux morts dans l'environnement est très faible, en particulier pour les espèces de petite taille (Philibert *et al.*, 1993 ; Wobeser *et al.*, 1992).

15. Un moineau domestique (*Passer domesticus*) et une pie bavarde (*Pica pica*).

En résumé

En France, le virus *West Nile* n'entraîne pas d'effets cliniques ni de mortalité apparente chez les oiseaux sauvages. Cependant, une mortalité occasionnelle non détectée par le réseau national de surveillance (SAGIR) existe probablement.

►► Conclusion

La contribution respective des différentes espèces d'oiseaux à la circulation du virus *West Nile* est difficile à analyser en raison de la complexité du cycle de transmission. De nombreuses recherches sont encore nécessaires pour parvenir à comprendre les interactions mises en jeu dans l'introduction, la transmission et la pérennisation du virus en France.

Les connaissances relatives à l'avifaune de Camargue ont permis d'établir des listes d'espèces jouant potentiellement un rôle dans l'épidémiologie de la fièvre *West Nile* et les investigations sérologiques et virologiques menées en période épizootique ou inter-épizootique ont permis d'identifier des espèces aviaires effectivement en contact avec le virus. Par contre, la compétence d'hôte de la majorité des espèces d'oiseaux présentes en France est inconnue et la préférence d'hôte des vecteurs actifs dans les foyers de transmission reste à déterminer. Ces données sont nécessaires pour évaluer correctement la capacité d'hôte respective des espèces présentes sur le terrain.

Chapitre 4

Les moustiques, vecteurs du virus

Thomas BALENGHIEN, Grégory L'AMBERT,
Florence FOUQUE

Objectif : présenter le rôle des moustiques, vecteurs naturels du virus *West Nile*

Quelles sont les espèces de moustiques présentes sur le littoral méditerranéen et quel est leur comportement ?

Quelles sont les espèces du virus *West Nile* en Camargue et sur le littoral méditerranéen ?

Quel est le rôle des espèces vectrices dans la transmission et le maintien du virus ?

Quels sont les facteurs environnementaux capables de modifier les abondances de ces espèces en Camargue ?

Les moustiques sont les principaux vecteurs du virus *West Nile*. Leur capacité à transmettre expérimentalement ce virus a été établie dès le début des années 1940, et leur implication dans les cycles de transmission est confirmée quelques années plus tard. Par la suite, les espèces responsables de la transmission ont été identifiées à travers le monde. Des captures listent les espèces les plus abondantes dans les zones de transmission, à la période où le virus circule. Parfois, le virus est mis en évidence chez certains des individus capturés, permettant de suspecter une ou plusieurs espèces. Enfin des infections expérimentales évaluent la compétence vectorielle de ces espèces de manière à confirmer leur rôle. C'est cette démarche qui a permis d'identifier les deux principales espèces vectrices du virus *West Nile* en France : *Cx. modestus* et *Cx. pipiens*. Identifier les espèces responsables de la transmission est primordial pour toute action de surveillance ou de lutte à cause de la très grande diversité des comportements entre espèces.

De part le monde, les principales espèces vectrices du virus *West Nile* appartiennent toutes au genre et sous-genre *Culex* (à l'exception de *Cx. modestus*). Il apparaît logique que les espèces de *Culex*, souvent principalement ornithophiles, soient vectrices d'un virus dont les hôtes amplificateurs sont des oiseaux. Néanmoins, établir les déterminismes des préférences trophiques de ces moustiques reste aujourd'hui un des défis majeurs pour comprendre dans quelles conditions un moustique ornithophile va piquer un hôte mammifère et donc lui transmettre le virus. De même, si le virus peut être retrouvé chez des femelles de *Culex* hivernantes, les mécanismes exacts d'une persistance potentielle du virus chez le vecteur pendant l'hiver restent à éclaircir.

► Diversité des moustiques sur le littoral méditerranéen

Description du littoral méditerranéen

En France continentale, les grandes épizooties équine de fièvre *West Nile* se sont déroulées dans une zone triangulaire définie par Montpellier, Beaucaire et Fos-sur-Mer, mais des cas humains ou équine ont également été reportés dans la vallée de l'Argens (Var) ou aux alentours de Perpignan (Pyrénées-Orientales). Ainsi, il est probable que l'ensemble du littoral méditerranéen est propice à la circulation du virus *West Nile*.

Le littoral méditerranéen présente deux zones bien distinctes, la côte d'Azur à l'est et le golfe du Lion à l'ouest, séparées approximativement par le Rhône. À l'est, le littoral, rocheux et découpé, est contigu à des massifs montagneux de formation géologique ancienne (les Maures, l'Estérel...) ou récente (les Alpes) fragmentés en un système complexe de basses montagnes et cuvettes réduites. À l'ouest, la côte régulière est une édification marine qui a gagné une dizaine de kilomètres sur les rivages anciens. En bordure du golfe du Lion, on trouve une succession de grands étangs, alimentés en eau douce par un fleuve et communiquant avec la mer par un grau. Autour de ce golfe, en partant de la mer vers l'intérieur des terres, se succèdent une bande d'étangs saumâtres, la zone de Costière plus ou moins large et le pays des garrigues bordé au nord d'abord par les Causses puis par les sommets cévenols de l'Aigoual et du Mont Lozère pour l'Hérault et le Gard.

La végétation du littoral méditerranéen est caractérisée par le chêne vert (*Quercus ilex*), dominant dans la partie occidentale et dominé par le pin d'Alep (*Pinus halepensis*) dans sa partie orientale. Elle est interrompue à l'ouest et au nord par la végétation de l'Europe tempérée, c'est-à-dire par le chêne pubescent (*Quercus pubescens*) et le châtaigner (*Castanea sativa*) dans les basses vallées puis le hêtre (*Fagus sylvatica*) dans l'étage montagnard. De plus, les fleuves et rivières traversant la zone méditerranéenne apportent avec eux une flore d'Europe tempérée, dominée par les peupliers (*Populus alba*) et les saules (*Salix alba*). Enfin, au sud, la végétation méditerranéenne est bordée par la zone des halophiles ; large de quelques kilomètres sur le littoral (zone des étangs), elle atteint son plein développement dans le sud du delta rhodanien. L'hiver est relativement doux et l'été chaud et sec. Sous l'action conjuguée du vent et de l'ensoleillement, le déficit hydrique est important, notamment en été (figure 4.1). La végétation méditerranéenne est composée de plantes adaptées à cette sécheresse.

Dans la partie orientale du golfe du Lion, deux zones deltaïques se distinguent (figure 4, planche III). L'ancien delta de la Durance a façonné la Crau : triangle calcaire, essentiellement constitué de galets et cailloutis des Alpes et de la Provence, limité au nord par les Alpilles. Aujourd'hui la Durance se jette dans le Rhône qui a comblé la majorité du golfe Sète-Avignon-Fos en charriant graviers et limons. Un des anciens bras du Rhône a formé la Costière, zone de transition entre la partie sablonneuse des étangs et la partie calcaire des garrigues. La Costière est dominée par l'agriculture, essentiellement viticole. La Camargue constitue l'actuel delta du Rhône, qui se sépare au nord d'Arles en un grand et un petit Rhône. Entre les deux, se situe l'île deltaïque du Rhône : la Grande Camargue. Les bras du fleuve n'ont pas

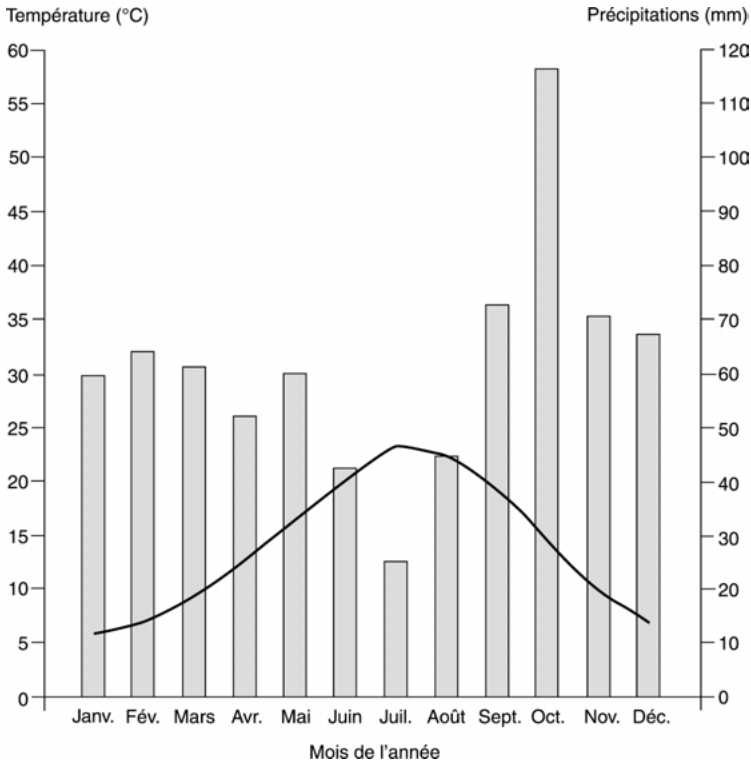


Figure 4.1. Diagramme ombrothermique de la ville de Nîmes, illustrant la période de sécheresse pendant l'été lorsque la courbe des températures moyennes dépasse l'histogramme du cumul des précipitations (données moyennes des années 1988 à 2008, source : <http://www.tutiempo.net/>).

toujours suivi ce cours et une zone plus vaste que l'île deltaïque peut être englobée dans le terme de Camargue, tant l'environnement est similaire. Il s'agit à l'est du Grand Rhône, du Plan du Bourg et, à l'ouest du Petit Rhône, de la Petite Camargue (entre l'ancien Rhône Vif et le Petit Rhône) et de la Camargue gardoise¹ (entre le Petit Rhône et le canal du Rhône à Sète). La Camargue, contrastant avec la sécheresse des garrigues languedociennes, est une mosaïque écologique, née de la lutte du Rhône et de la mer et dessinée par l'eau, le sel et le vent. L'eau provient pour sa partie douce des pluies irrégulières, de l'irrigation et des débordements du Rhône (pour les zones hors digue) et pour sa partie saumâtre des entrées maritimes. La teneur en sel est influencée par des facteurs climatiques (évapotranspiration, vent, pluie), par le substrat (pédologie et topographie), par l'hydrogéologie (profondeur et salinité de la nappe phréatique, drainage de l'eau), par la couverture végétale et par l'action de l'homme et des animaux (Corre, 1975). Le principal vent de Camargue est le mistral, vent sec de secteur ouest à nord « qui souffle sans relâche, sans obstacle,

1. Dans la suite du chapitre, en l'absence d'indication contraire, le terme Camargue sera à prendre dans sa définition large qui inclut la Grande Camargue, la Petite Camargue, la Camargue gardoise et le Plan du Bourg.

et qui, de son haleine puissante, semble aplanir, agrandir le paysage. Tout se courbe devant lui. Les moindres arbustes gardent l'empreinte de son passage, en restent tordus, couchés vers le sud dans l'attitude d'une fuite perpétuelle... » (Alphonse Daudet, *Lettres de mon moulin*, 1869). Aujourd'hui, la Camargue est devenue un espace artificiel, endigué et contrôlé par l'irrigation pour la culture, la chasse ou la pêche. Dans le sud du delta, les dunes s'opposent aux assauts de la mer, délimitant la zone des étangs et lagunes entourés par les sansouires dans un univers dominé par le sel. Les marais moins soumis à l'influence du sel sont envahis soit par de vastes roselières soit par un mélange de différents joncs, suivant l'influence de l'eau, du sel ou du pâturage. La culture est devenue omniprésente en Camargue, diminuant la surface des pâturages disponibles pour les taureaux et les chevaux. Elle est dominée par le riz dans le delta et par la vigne en Petite Camargue et Camargue gardoise.

Les paysages variés du littoral méditerranéen, et en particulier ceux de Camargue, permettent le développement d'une grande diversité de moustiques, puisqu'on y recense les deux tiers des espèces de moustiques décrites en France (Rageau *et al.*, 1970 ; Rioux, 1958 ; Schaffner *et al.*, 2001).

Diversité des moustiques et de leurs comportements

Les moustiques sont des diptères nématocères de la famille des Culicidae, qui comporte environ 3 500 espèces rigoureusement décrites réparties en deux sous-familles (*Anophelinae* et *Culicinae*) (Harbach, 2007). En France, on recense environ 50 espèces appartenant principalement aux genres *Aedes*, *Anopheles*, *Culex*, *Coquillettidia* et *Culiseta*. Les différences entre les espèces sont importantes d'un point de vue morphologique, mais aussi biologique, notamment dans les périodes d'activité (dans la saison ou le nyctémère), le choix des hôtes piqués (mammifères, oiseaux, batraciens ou reptiles), et la sélection des gîtes de ponte (Clements, 1992, 1999).

Les moustiques sont des insectes à métamorphose complète. Les adultes sont aériens et les larves et nymphes aquatiques. Les œufs sont pondus en nacelle chez les *Culex* ou individuellement chez les *Anopheles* et les *Aedes*, sur l'eau libre chez les *Culex* et *Anopheles* et sur supports humides pour les *Aedes*. L'éclosion libère des larves, qui après quatre mues successives, deviennent des nymphes. Ce dernier stade ne se nourrit pas. Bien qu'aquatiques, les larves et nymphes ont une respiration aérienne, l'air étant aspiré par le biais d'un siphon (larves) ou de trompettes (nymphes). Les larves d'*Anopheles* n'ont pas de siphon et restent donc quasiment en permanence à la surface de l'eau. Les larves de *Coquillettidia* ont un siphon court et conique leur permettant de se fixer aux racines des plantes aquatiques et de puiser l'oxygène nécessaire dans leurs vaisseaux aérifères. De la nymphe émerge l'adulte. L'accouplement a lieu rapidement après l'émergence. Si les mâles et les femelles se nourrissent de jus sucré, seules les femelles de la majorité des espèces sont hématophages car elles ont besoin d'apport en acides animés pour la maturation des œufs (Briegel, 2003). Après l'accouplement, les femelles rentrent dans une phase de recherche d'hôte, puis de maturation des œufs, et enfin de recherche d'un gîte de ponte. Après la ponte, un nouveau cycle, nommé trophogonique, recommence. Les mâles ont habituellement une vie plus courte que les femelles, qui vivent de quelques jours à plusieurs semaines. Chez les *Culex* et les *Anopheles*, les femelles

peuvent entrer en diapause pour passer l'hiver, alors que le stade hivernant est l'œuf chez les *Aedes* et la larve chez les *Coquillettidia*.

Une trentaine d'espèces du genre *Aedes*² sont présentes en France (Rioux, 1958 ; Schaffner *et al.*, 2001). Les habitats larvaires peuvent être très divers, mais toujours temporaires. En effet, les espèces de ce genre ont la particularité de pondre, non pas directement à la surface de l'eau, mais sur un substrat humide qui ne sera mis en eau qu'ultérieurement — les œufs étant capables de résister à une certaine dessiccation. Ainsi, on retrouve les larves des principales espèces méditerranéennes dans des trous de rochers de bord de mer pour *Aedes (Ochlerotatus) mariae* (Sergent et Sergent, 1903) et de bord de rivière pour *Aedes (Fredwardsius) vittatus* (Bigot, 1861), dans des trous d'arbres pour *Aedes (Finlaya) geniculatus* (Olivier, 1791), dans des prairies inondées pour *Aedes (Aedimorphus) vexans* (Meigen, 1830), dans les sansouires à salicornes pour *Aedes (Ochlerotatus) detritus* Haliday, 1833 ou dans les jonchaies semi-halophiles pour *Aedes (Ochlerotatus) caspius* (Pallas, 1771). Toutes ces espèces piquent plutôt les mammifères dont l'homme, pour qui elles peuvent représenter des nuisances importantes à proximité des gîtes de pontes ou sur un large territoire selon qu'elles se dispersent peu (*Ae. mariae*, *Ae. geniculatus* et *Ae. vittatus*) ou largement (*Ae. caspius*, *Ae. detritus* et *Ae. vexans*). Cette résistance des œufs à la dessiccation entraîne une dynamique de population particulière, rythmée par les mises en eau des gîtes de ponte. Ainsi, en Camargue, l'inondation des gîtes de ponte d'*Ae. caspius* par les pluies de printemps permet l'éclosion des œufs et l'émergence des premières générations par vagues successives. Au cours de l'été, les mises en eau sont plus rares, et les œufs s'accumulent. À la fin de l'été, l'action combinée des pluies souvent abondantes, des entrées maritimes et des mises en eau artificielles (par exemple des marais de chasse) provoque des émergences massives. Ce moustique est alors responsable de nuisances exceptionnelles, à cause de sa capacité à se disperser (rayon de vol d'environ 20 km) et de sa grande agressivité en particulier envers l'homme. En septembre 2005, la nuisance a été telle que les écoles ont été fermées et les activités de plein air annulées. Le développement touristique du littoral ouest méditerranéen n'a été possible qu'après la mise en place d'une agence de démoustication (l'Entente interdépartementale pour la démoustication du littoral méditerranéen, EID-Méditerranée) menant des traitements anti-larvaires réguliers dans toutes les zones humides à l'ouest de la Camargue³.

Environ dix espèces du genre *Anopheles* sont décrites en France (Rioux, 1958 ; Schaffner *et al.*, 2001). On retrouve les larves des principales espèces méditerranéennes dans les trous d'arbre pour *Anopheles (Anopheles) plumbeus* Stephens, 1828 et des collections d'eau permanentes souvent envahies ou couvertes de végétation pour les autres, c'est-à-dire *Anopheles (Anopheles) algeriensis* Theobald, 1903, *Anopheles (Anopheles) claviger* (Meigen, 1804), que l'on retrouve aussi dans les trous de rochers dans l'étage montagnard, *Anopheles (Anopheles) hyrcanus* (Pallas, 1771), dont l'habitat larvaire optimal est la rizière et les espèces du complexe *Maculipennis*. Ces espèces piquent principalement les mammifères ; certaines pouvant s'attaquer

2. Dans tout le document, nous garderons *Aedes* comme genre et considérerons *Stegomyia* et *Ochlerotatus* comme des sous-genres d'*Aedes* (Savage, 2005).

3. La petite Camargue est concernée par ces actions. De plus, certaines zones de la grande Camargue commencent à être démoustiquées.

à l'homme. Par exemple, parmi les espèces du complexe *Maculipennis*, *Anopheles* (*Anopheles*) *melanoon* Hackett, 1934 pique rarement l'homme contrairement à *Anopheles* (*Anopheles*) *atroparvus* Van Thiel, 1927. Cette dernière est considérée comme un vecteur efficace des parasites du paludisme. Cette maladie, ayant donné au Midi méditerranéen sa réputation de pays à fièvres, s'y fait discrète en entrant dans le xx^e siècle. Les dernières épidémies sont décrites en France continentale dans les années 1939-1940, vraisemblablement à la suite de l'arrivée massive de réfugiés espagnols dans les camps des Pyrénées-Orientales, et en Corse dans les années 1966 à 1972 (Rioux, 1958). Cette maladie a disparu de France comme du reste de l'Europe grâce à l'amélioration des conditions de vie, à l'accessibilité de la quinine (anti-paludéen), aux travaux d'assainissement des marais et dans certaines zones à l'emploi massif d'insecticides.

Moins de 10 espèces de *Culex* sont répertoriées en France (Rioux, 1958 ; Schaffner *et al.*, 2001). Leurs larves se trouvent dans des habitats très variés : ruisseaux et rivières, fossés et canaux d'irrigation, mares, marais ou rizières, flaques résiduelles ou citernes. Les *Culex* montrent une certaine ubiquité dans le choix des gîtes de ponte, puisque parmi tous ces habitats, *Culex* (*Neoculex*) *impudicus* Ficalbi, 1890 sélectionnent ceux dont l'eau est claire, fraîche et ombragée, *Culex* (*Barraudius*) *modestus* Ficalbi, 1889 ceux dont l'eau est très ensoleillée et envahie par la végétation, et *Culex* (*Culex*) *theileri* Theobald, 1903 ne semble pas montrer de préférence, pouvant tolérer des eaux douces à légèrement salée, propres à polluées, et colonisées ou non par la végétation. Mais c'est surtout *Culex* (*Culex*) *pipiens* Linnaeus, 1758 qui est l'espèce la plus ubiquiste, colonisant des gîtes naturels ou anthropiques (bords de ruisseau ou vide sanitaire inondé), de toutes les tailles (du récipient abandonné rempli d'eau à la rizière), contenant de l'eau non polluée ou fortement chargée en matière organique (de l'eau de pluie à celle des fossés de drainage des eaux usées) (Vinogradova, 2000). Sa très grande plasticité associée à des variations morphologiques et éthologiques importantes font de ce taxon une énigme pour bien des systématiciens (Harbach *et al.*, 1985). En effet, chez cette espèce, présente partout en zone tempérée, il existe deux formes qui peuvent cohabiter (Harbach *et al.*, 1985) : une forme *pipiens* réputée anautogène, eurygame et ornithophile, et une forme *molestus*, considérée comme autogène, sténogame et anthropophile (Vinogradova, 2000), responsable de nuisances parfois très importantes en zone urbaine. Chez les autres espèces de *Culex*, *Cx. impudicus* semble principalement batracophile, *Cx. theileri* s'attaque aux différents mammifères, alors que *Cx. modestus* semble opportuniste se gorgeant sur des oiseaux ou des mammifères, y compris l'homme chez qui il peut être responsable de nuisances importantes.

Les genres *Coquillettidia* et *Culiseta* sont peu diversifiés en France, avec deux espèces de *Coquillettidia* et huit espèces de *Culiseta* décrites. Les larves de *Coquillettidia* (*Coquillettidia*) *richiardii* (Ficalbi, 1889) se retrouvent dans les plans d'eau permanents envahis par la végétation, en particulier roseaux ou massettes. Les larves de *Culiseta* peuvent être retrouvées dans des gîtes très variés : les marais littoraux envahis par de la végétation pour *Culiseta* (*Culicella*) *litorea* (Shute, 1928) dont les larves résistent à la salinité, des fossés de bord de route ou mares envahies par la végétation pour *Culiseta* (*Culiseta*) *subochrea* (Edwards, 1921) et des habitats très variés, naturels (mare riche en matière organique, fossé, prairie inondée,

bord de rivière, rizière, trous de rocher) ou artificiels (bassin pollué, puits abandonné, citerne, pneu) pour *Culiseta (Culiseta) annulata* (Schränk, 1776) ou *Culiseta (Allotheobaldia) longiareolata* (Macquart, 1938). Les espèces de *Culiseta* sont réputées plutôt ornithophiles, à l'exception de *Cs. subochrea* qui piquerait hommes et animaux domestiques.

» Quelles sont les espèces vectrices du virus ?

La fièvre *West Nile* est une maladie vectorielle dont le virus est transmis biologiquement d'un vertébré à un autre par le biais d'un moustique hématophage. Les moustiques vecteurs se gorgeant sur un vertébré en phase de virémie ingèrent un mélange sang/virus. Dans le cas d'une espèce compétente, le virus va, chez certains individus, se multiplier et disséminer dans le corps du moustique jusqu'à coloniser les glandes salivaires. Cette étape de multiplication/dissémination dure plusieurs jours après lesquels le moustique peut contaminer un autre vertébré lors d'un nouveau repas sanguin.

Le succès de la transmission d'un agent pathogène est la résultante de la rencontre et de la compatibilité entre les différents acteurs du cycle vectoriel : population de vecteurs, d'agents pathogènes et de vertébrés (Combes, 2001) ; on parle de système vectoriel. D'une part, la rencontre entre ces trois acteurs ne peut se faire que dans un écosystème donné : la transmission ne peut avoir lieu que dans l'aire de distribution du vecteur, qui dépend de composantes biotiques et abiotiques, et elle dépend du comportement de chacun des acteurs, qui n'est pas fixe à l'intérieur d'une espèce, mais est en général caractéristique d'une population. D'autre part, la compatibilité est un mécanisme complexe. En général, chez une espèce vectrice, seule une partie des femelles exposées au virus sera capable de transmettre le virus ; cette aptitude est appelée compétence vectorielle (encadré 4.1). Cette dernière dépend, entre autres, de la co-adaptation évolutive du couple vecteur/pathogène. La complexité de ces systèmes implique que la transmission ne peut apparaître, le plus souvent, que dans le cas d'une co-adaptation entre des populations de pathogènes, de vecteurs et de vertébrés et, généralement, une seule espèce (ou un petit nombre d'espèces) est responsable de la transmission d'un virus dans une zone donnée.

Étant donnée la diversité de la biologie des différentes espèces de moustiques, déterminer quelle(s) espèce(s) transmette(nt) le virus *West Nile* en conditions naturelles est un pré-requis indispensable pour toute action de prévention et de lutte. L'identification d'une espèce comme vecteur repose sur l'étude de la bio-écologie des espèces et de leurs interactions avec le virus (WHO, 1961). En effet, pour qu'une espèce transmette le virus, il faut qu'elle soit suffisamment abondante dans les zones et à la période où le virus est transmis et qu'elle y pique les hôtes amplificateurs ou accidentels (la transmission étant réalisée à l'occasion d'un repas sanguin), c'est-à-dire dans le cas du virus *West Nile*, les oiseaux, les hommes et les chevaux (filtre de rencontre ouvert ; Combes, 2001). La mise en évidence du virus chez des individus capturés sur le terrain, permet de suspecter certaines espèces. Il faut alors démontrer au laboratoire leur aptitude à multiplier et transmettre le virus (filtre de compatibilité ouvert ; Combes, 2001).

Encadré 4.1. Compétence vectorielle (CV)

Ce terme (qui peut s'exprimer par une probabilité) désigne l'aptitude d'un vecteur à multiplier, disséminer et transmettre un pathogène donné, ici un virus. La CV est caractéristique d'une association population de vecteurs/souche virale, car elle est le résultat de la coévolution du système vecteur/pathogène. Chez une espèce compétente, le vecteur sain ne devient infectant (capable de transmettre le pathogène) qu'après une période d'incubation extrinsèque au cours de laquelle les particules virales, fraîchement ingérées suite au repas sanguin, pénètrent les cellules intestinales, s'y multiplient, disséminent dans l'hémolymph, infectant des organes secondaires dont les glandes salivaires, où ces particules vont encore se multiplier, puis se retrouver dans la salive. La CV dépend de facteurs extrinsèques, essentiellement la dose virale initialement ingérée et la température. Deux obstacles peuvent s'opposer à cette progression virale : la barrière intestinale et la barrière salivaire.

En laboratoire, deux quantités sont souvent utilisées comme estimateur de la CV :

- le taux d'infection disséminée (nombre de femelles avec du virus dans un organe secondaire/nombre total de femelles oralement exposées au virus) qui évalue l'efficacité de la barrière intestinale ;
- le taux de transmission (nombre de femelles avec du virus dans la salive/nombre total de femelles oralement exposées au virus) qui évalue la compétence dans son ensemble (*i.e.*, franchissement à la fois des barrières intestinale et salivaire). Dans le cas du virus *West Nile*, c'est la barrière intestinale qui est déterminante ; le taux d'infection disséminée étant proche du taux de transmission (Balenghien *et al.*, 2007a).

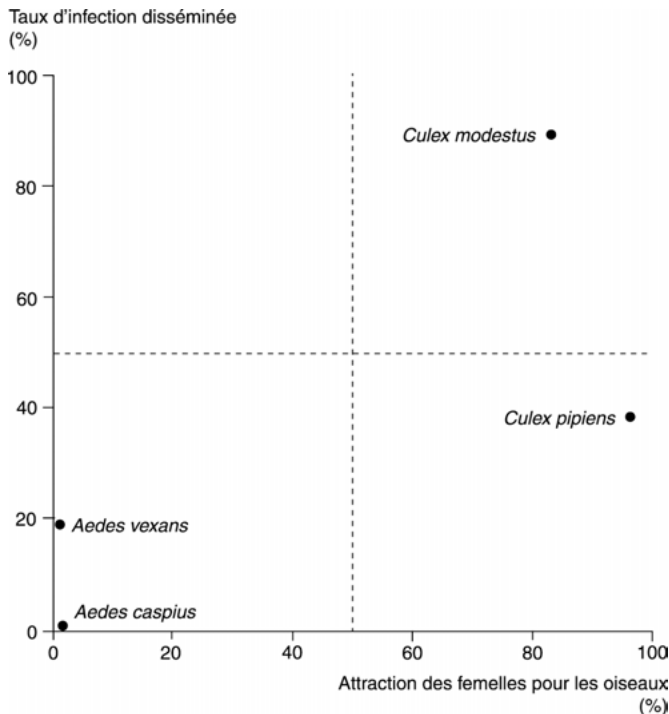


Figure 4.2. Classement des vecteurs potentiels en fonction de leur attraction pour les oiseaux (reflet de la probabilité d'infection) et de leur aptitude à multiplier et disséminer le virus *West Nile*. D'après Balenghien *et al.*, 2007a.

...

La CV peut être considérée comme un rendement, c'est-à-dire l'efficacité du mécanisme triphasique de la transmission vectorielle pour une souche virale/population de vecteurs, et peut être caractérisé par le produit de trois probabilités : $CV = c \times \phi \times b$, où « c » représente la probabilité pour les vecteurs de s'infecter suite au contact avec les pathogènes (à l'occasion du repas sanguin), « ϕ » est la probabilité que l'arthropode fraîchement infecté survive la durée de l'incubation extrinsèque, et « b » la probabilité que l'arthropode vecteur devenu infectieux soit capable de transmettre les agents pathogènes. La CV permet ainsi de comparer l'efficacité de deux espèces de vecteurs à transmettre une même souche virale, l'aptitude d'une même population de vecteurs à transmettre deux souches virales ou deux virus différents, ou encore celle de différentes populations d'une même espèce vectrice (évolution des populations dans le temps ou dans des localisations différentes) à transmettre une même souche virale (Bicout, 2006).

Dis-moi qui tu piques, je te dirai ce que tu peux transmettre

Lorsqu'on cherche à identifier les espèces vectrices d'un virus dans une zone donnée, on commence par réaliser la liste des espèces suspectes, c'est-à-dire recenser les espèces piquant les hôtes du cycle de transmission (oiseau, homme et cheval). En effet, si une espèce pique principalement les oiseaux c'est un vecteur potentiel du virus dans les populations d'oiseaux (vecteur enzootique) et si une espèce pique les oiseaux et les mammifères c'est un vecteur potentiel du virus des oiseaux vers l'homme et le cheval (vecteur épidémique). Pour cela, on réalise des captures sur appât. La diversité des espèces, voire leur comportement, pouvant varier en fonction des zones, il est nécessaire de réaliser ces captures sur plusieurs sites, au moins un site par unité écologique de la zone d'intérêt.

Une telle étude a été conduite de mai à octobre 2004 sur deux sites de la région Camargue (Balenghien *et al.*, 2006), c'est-à-dire dans la zone où se sont déroulées des épidémiologies équine dans les années 1960 (accompagnées de cas humains) et 2000 (figure 5, planche III). Les sites choisis étaient le site de la Tour du Valat, situé dans la Grande Camargue et caractéristique des zones humides, et celui de Lunel-Viel dans la zone de Costière et caractéristique des zones sèches.

Chaque semaine et sur chaque site, un cheval et deux canards ont été maintenus dans des pièges appâts (tente ou cage moustiquaires) pendant 24 heures consécutives. Sur ces pièges, des dispositifs permettaient l'entrée des moustiques, mais pas leur sortie. Toutes les 4 heures, les moustiques retenus dans les pièges ont été récoltés. Des captures sur appât humain ont également été réalisées : pendant 15 minutes toutes les quatre heures, deux personnes capturaient les moustiques se posant sur leurs mollets exposés⁴. Les moustiques ainsi capturés ont été identifiés, triés par espèce et comptés (figure 4.3).

4. Le comité d'éthique de l'École nationale vétérinaire de Lyon a approuvé ce protocole (décision 04/14 du 9 avril 2004). Les captures sur appât humain sont, par ailleurs, préconisées pour la surveillance du virus West Nile en France : *Guide de procédures de lutte contre la circulation du virus West Nile en France métropolitaine*, Ministère de la Santé et des Solidarités (http://www.sante.gouv.fr/html/pointsur/zoönose/guide_WestNil_0507.pdf).

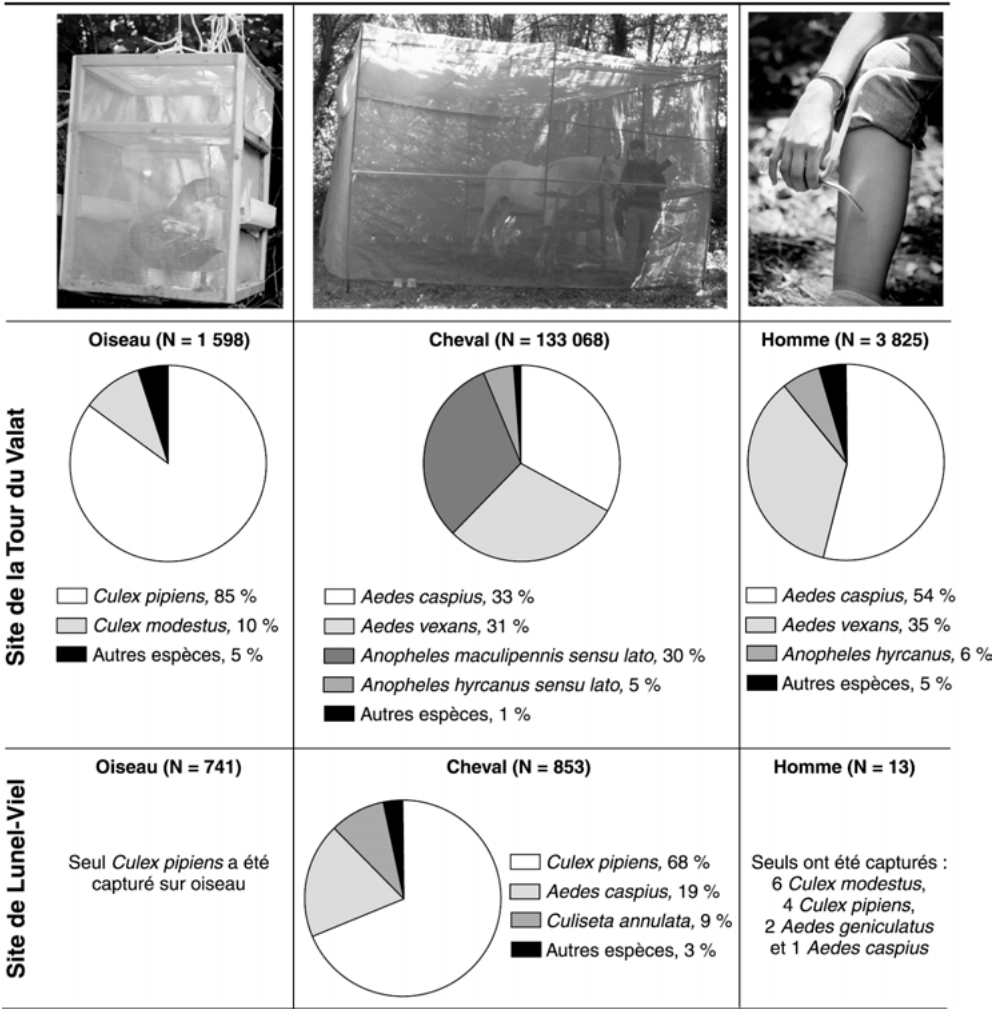


Figure 4.3. Diversité des espèces de moustiques capturés en fonction de l’hôte et du site d’étude et illustrations des techniques de capture (tente et cage moustiquaires pour le cheval et les oiseaux et capture sur appât humain).

Ces captures ont permis d’identifier quatre espèces potentiellement impliquées dans la transmission en zone humide : *Cx. pipiens* et *Cx. modestus*, capturés principalement sur oiseaux, mais aussi sur homme (5 *Cx. pipiens* et 75 *Cx. modestus*) et cheval (170 *Cx. pipiens* et 396 *Cx. modestus*), et *Aedes caspius* et *Aedes vexans*, espèces dominantes sur homme et cheval, mais aussi capables de se gorger sur oiseau (34 *Ae. caspius* et 31 *Ae. vexans*). Au contraire, en zone sèche seul *Cx. pipiens* pique à la fois les oiseaux et les mammifères. Ainsi, *Cx. pipiens* et *Cx. modestus* sont des candidats à la transmission du virus au sein des populations d’oiseaux en zone humide, alors qu’en zone sèche, seul *Cx. pipiens* semble pouvoir jouer ce rôle. Ces deux espèces de *Culex*, *Ae. caspius* et *Ae. vexans* sont des candidats à la transmission du virus des oiseaux à l’homme et au cheval en zone humide, alors qu’en zone sèche, *Cx. pipiens* est le principal candidat.

Une espèce trouvée infectée sur le terrain est-elle vectrice ?

De nombreuses espèces de moustiques (de genres différents) ont été trouvées naturellement infectées par le virus *West Nile* (Hubalek *et al.*, 1999), ce qui pousse certains à considérer que de nombreuses espèces de moustiques sont capables de transmettre le virus *West Nile*. Il faut cependant garder à l'esprit qu'identifier du virus *West Nile* chez des individus capturés sur le terrain ne suffit pas à prouver que l'espèce en question est vectrice. Les erreurs d'interprétation peuvent provenir : i) de faux positifs (erreurs de manipulation ou contamination croisée) (Turell *et al.*, 2002) ; ii) de la détection d'un matériel viral non infectieux (par *Reverse Transcriptase Polymerase Chain Reaction*, RT-PCR) (White *et al.*, 2001) ; iii) de la présence de femelles fraîchement gorgées sur un animal virémique (Woodall *et al.*, 1961) ; ou iv) de la mise en évidence de moustiques infectés mais non infectants. Au final, lorsque peu d'isolements sont obtenus, il est difficile de discriminer les espèces impliquées dans la transmission de celles infectées accidentellement (Godsey *et al.*, 2005 ; Hribar *et al.*, 2004). Néanmoins, l'isolement d'un virus de façon répétée chez une même espèce atteste que celle-ci rencontre le virus en conditions naturelles. Par exemple, entre 2001 et 2004, la surveillance entomologique aux États-Unis a mis en évidence la présence de virus *West Nile* chez 27 à 41 espèces selon les années, mais seules 4 à 5 espèces de *Culex* suffisent à expliquer 85 à 90 % des identifications de virus (Hayes *et al.*, 2005a).

En France, tous les essais récents pour isoler du virus chez des moustiques capturés sur le terrain lors d'épisodes de transmission se sont révélés infructueux (Balenghien, 2006) (chapitre 7).

Les seuls isolements du virus *West Nile* chez une espèce de moustique en France datent des années 1960 (Hannoun *et al.*, 1964a). Suite aux cas humains et équins recensés en Camargue au début des années 1960, une équipe de six entomologistes s'installent le 9 septembre 1964 de 15 à 18 h sur la digue au Rhône aux alentours du Sambuc. Pendant cette prospection, 900 *Cx. modestus*, 50 *Ae. caspius* et 12 *An. hyrcanus* sont collectés. Le 12 et le 13 septembre, deux des entomologistes présentent une brusque fièvre de trois jours avec frissons et céphalées. Le virus *West Nile* est isolé du sang de chacun des deux entomologistes et d'un des lots de *Cx. modestus* (Hannoun *et al.*, 1964a). Le virus est de nouveau isolé en 1965 de lots de *Cx. modestus* capturés à la Capelière (Panthier *et al.*, 1966). Plus récemment, cette espèce a été trouvée naturellement infectée en Russie (Fyodorova *et al.*, 2006).

D'autre part, *Cx. pipiens* a été souvent retrouvé infecté par le virus *West Nile* à travers le monde, et en particulier en Europe en République tchèque (Hubalek *et al.*, 1998), au Portugal (Esteves *et al.*, 2005), en Roumanie (Savage *et al.*, 1999), et en Russie (Fyodorova *et al.*, 2006).

Parmi les autres espèces de moustiques présentes en Camargue, *Cx. theileri* a été trouvé infecté en Afrique du Sud (McIntosh *et al.*, 1967), *Ae. vexans* régulièrement aux États-Unis (Bernard *et al.*, 2001 ; Hayes *et al.*, 2005a). De plus, il est reporté que le virus *West Nile* a été isolé de *Cq. richiardii* en Russie (Berezin, 1971), mais la publication originale ne donne pas de détail, et qu'*Ae. caspius* a été retrouvé infecté en Ukraine (Hubalek *et al.*, 1999), mais la publication originale n'est pas accessible.

Enfin, le virus *West Nile* a été isolé de lots d'individus du complexe *Maculipennis* au Portugal (Filipe, 1972), mais ces lots comportaient des femelles gorgées.

Comment évaluer le niveau de compétence d'une espèce ?

Lorsqu'une espèce de moustique pique abondamment les hôtes d'intérêt et qu'on la trouve régulièrement infectée dans les zones de transmission, elle devient un vecteur potentiel. Il faut alors confirmer qu'elle est un vecteur expérimental efficace, c'est-à-dire évaluer sa compétence vectorielle.

Cette dernière peut être définie par l'aptitude d'un insecte à s'infecter, amplifier et transmettre le virus en conditions de laboratoire (Rodhain et Perez, 1985). Pour démontrer la capacité d'une espèce à transmettre un virus, il faut reproduire expérimentalement le cycle de transmission, c'est-à-dire réaliser le gorgement des moustiques sur un hôte virémique, puis des tests de transmission à un hôte naïf. Pour éviter l'utilisation d'animaux comme hôtes donneurs ou receveurs, on considère que le cycle peut être reproduit par des méthodes artificielles permettant d'exposer *oralement* les moustiques au virus et d'*isoler* ce dernier de la salive.

La dissémination du virus *West Nile* dans les différents organes a été bien décrite chez *Culex quinquefasciatus* Say, 1823 (Girard *et al.*, 2004). Le virus infecte d'abord les cellules du tube digestif. Après invasion des cellules intestinales, le virus gagne l'hémocoèle. Le terme de « barrière intestinale » regroupe l'ensemble des filtres possibles (membranes intestinales) associés à ces étapes. À partir de l'hémocoèle, le virus se dissémine vers d'autres organes, en particulier le système salivaire, pour gagner la salive. Le terme de « barrière salivaire » correspond aux éléments qui s'opposent à ce passage et donc à la transmission du virus. Le temps nécessaire à un moustique pour devenir infectant (*i.e.* présence de virus dans la salive) suite au repas infectieux est appelé durée d'incubation extrinsèque. Cette dernière est fortement dépendante de la température et de la dose virale, qui permet de déterminer le seuil d'infectivité, c'est-à-dire la dose virale en dessous de laquelle un vecteur, même compétent, ne s'infectera pas.

Le niveau de compétence vectorielle dépend du seuil d'infectivité et de l'efficacité des deux types de barrières (intestinale et salivaire). Le taux d'infection⁵ permet de mesurer le seuil d'infectivité, le taux d'infection disséminée⁶ l'effet global de la barrière intestinale et le taux de transmission disséminée⁷ l'effet de la barrière salivaire (Turell *et al.*, 2000). C'est la barrière intestinale qui est déterminante dans la compétence vectorielle des moustiques pour le virus *West Nile*. En effet, le taux de transmission disséminée est toujours très élevé quelle que soit l'espèce (Turell *et al.*, 2005). De plus, la transmission du virus *West Nile* par des femelles inoculées par voie intrathoracique (évitement de la barrière intestinale) est possible quelle que soit l'espèce de moustique. Le taux de transmission (nombre de femelles transmettant le

5. Femelles infectées (multiplication du virus dans le tube digestif)/femelles exposées, *i.e.* gorgées.

6. Femelles avec une infection disséminée (multiplication du virus dans les pattes ou ailes)/femelles exposées.

7. Femelles transmettant le virus par piqure/femelles avec une infection disséminée.

virus par piqûre divisé par le nombre de femelles exposées oralement) permet donc une mesure globale de la compétence vectorielle.

Parmi les espèces de la faune française, des populations d'Alsace d'*Ae. geniculatus*, *Aedes punctor* (Kirby, 1837) et *An. plumbeus* ont été montrées capables de transmettre le virus *West Nile* dès la fin des années 1950 (Vermeil *et al.*, 1960), mais leur compétence vectorielle n'a pas été quantitativement mesurée. Les populations sud-africaines de *Cx. theileri* sont capables de transmettre le virus *West Nile*, avec un taux de transmission relativement modéré (environ 25 % après 20 jours à 25 °C) (Jupp, 1976 ; Jupp *et al.*, 1966, 1972). Plus récemment, des populations camarguaises de *Cx. modestus* ont été montrées capables de transmettre le virus *West Nile* (Balenghien *et al.*, 2007b), avec des taux de dissémination très élevés (environ 90 %) et de transmission moyens (environ 55 % après 14 jours à 26 °C) (Balenghien *et al.*, 2008). Des populations camarguaises de *Cx. pipiens* ont montré des taux de dissémination moyens (environ 40 %) et de transmission modérés (environ 15 % après 14 jours à 26 °C) (Balenghien *et al.*, 2008). La capacité de cette espèce à transmettre le virus *West Nile* a été souvent démontré à travers le monde (Goddard *et al.*, 2002 ; Hurlbut, 1956 ; Tahori *et al.*, 1955 ; Tiawsirisup *et al.*, 2005a ; Turell *et al.*, 2000). Des populations camarguaises d'*Ae. caspius* ont montré un taux de dissémination très faible (moins de 1 % après 14 jours à 26 °C) (Balenghien *et al.*, 2008). Des populations indiennes d'*Ae. caspius* ont été capables de transmettre le virus après inoculation intra-thoracique (Akhter *et al.*, 1982). Enfin, des populations américaines d'*Ae. vexans* sont capables de transmettre le virus, mais les taux de transmission restent faibles (environ 10 % après 14 jours à 26 °C) (Goddard *et al.*, 2002 ; Turell *et al.*, 2000, 2005).

Ainsi, relativement peu de données sont disponibles pour quantifier la compétence vectorielle des espèces de moustiques françaises pour le virus *West Nile*. Parmi les espèces de *Culex* présentes en Camargue, *Cx. modestus* semble un vecteur expérimental très compétent, *Cx. pipiens* un vecteur expérimental moyen (comme cela est classiquement décrit pour cette espèce à travers le monde) et *Cx. theileri* un vecteur expérimental moyen (mais aucune population de Camargue de cette espèce n'a jamais été testée). Les espèces d'*Aedes*, et en particulier *Ae. caspius* et *Ae. vexans*, semblent de mauvais vecteurs expérimentaux du virus *West Nile*. Depuis l'expérimentation de Vermeil *et al.* (1960), la transmission expérimentale du virus *West Nile* par des espèces d'*Anopheles* n'a pas été étudiée.

► Les vecteurs du virus sur le littoral méditerranéen

Les espèces et leurs rôles probables

Dans les zones humides, les espèces ornithophiles les plus abondantes sont *Cx. modestus* et *Cx. pipiens*, alors que dans les zones sèches seul *Cx. pipiens* domine.

Culex modestus est un moustique sombre, de petite taille (de taille modeste, d'où son nom). C'est une espèce paléarctique, répartie de l'Europe à la Chine, principalement dans les zones deltaïques et les zones humides ; ses gîtes de développement larvaires sont constitués des roselières (phragmitaie et scirpaie) et des rizières

(Callot *et al.*, 1942, 1944-1945 ; Mouchet *et al.*, 1970 ; Rioux, 1958). Le virus *West Nile* a déjà été isolé chez cette espèce dans les années 1960 en Camargue (Hannoun *et al.*, 1964a ; Panthier *et al.*, 1966). De plus, les populations de *Cx. modestus* de Camargue semblent très compétentes pour le virus *West Nile* au laboratoire (Balenghien *et al.*, 2007b, 2008). Ainsi, cette espèce pourrait être considérée comme le vecteur naturel du virus *West Nile* en Camargue. Dans cette région, les femelles sont en diapause de mi-octobre à mi-février, dans la végétation serrée des roselières (Mouchet *et al.*, 1969), puis recommencent à piquer et à pondre. En mars/avril, le premier développement larvaire de l'année est long (car les températures sont basses), et les femelles hivernantes disparaissent en avril avant que les nouveaux adultes n'émergent. À partir de mai, les densités augmentent progressivement et fin juin, la végétation du riz couvre la surface des rizières, qui deviennent des gîtes colonisables et très productifs. Les populations de *Cx. modestus* atteignent alors des densités importantes en août/début septembre, avant de disparaître en octobre (Mouchet *et al.*, 1970). Les gîtes de repos des femelles sont constitués des roselières, des haies et de la ripisylve (Mouchet *et al.*, 1970). Dans ces gîtes, cette espèce pourrait établir des cycles enzootiques très efficaces avec les oiseaux de ces formations végétales. *Culex modestus*, qui n'a qu'une très faible capacité de vol en milieu découvert, pique agressivement une grande variété d'hôtes y compris des mammifères (homme, cheval, taureau, lapin, mouton...) lorsqu'ils pénètrent dans son écosystème (Balenghien *et al.*, 2006 ; Mouchet *et al.*, 1970). *Culex modestus* pourrait ainsi transmettre le virus *West Nile* aux hommes et aux chevaux dans ses gîtes de repos. Néanmoins, les densités humaines et équinnes sont souvent faibles dans ces zones humides rurales et le risque d'infection pourrait être limité aux individus exposés : chasseurs, pêcheurs, etc., et chevaux élevés dans les marais. De plus, il a été montré que *Cx. modestus* est capable de se disperser pendant l'été le long de la végétation des rivières à travers les zones sèches, inaptées *a priori* au développement et au déplacement de *Cx. modestus*, et pourrait ainsi être responsable de cas sporadiques humains ou équins en bordure des zones humides (Balenghien, 2006). En revanche, les enquêtes entomologiques menées dans le Var durant l'année 2004 et dans les Pyrénées-Orientales début octobre 2006 n'ont pas détecté la présence de *Cx. modestus* (chapitre 7), ce qui permet de conclure que *Cx. modestus* n'est pas responsable de la transmission du virus *West Nile* en zone sèche dès lors que l'on s'éloigne des zones humides.

Culex pipiens est un moustique de taille moyenne, de couleur globalement brun clair, avec des bandes antérieures claires sur les tergites abdominaux. C'est un moustique extrêmement commun, réparti dans l'ensemble des zones tempérées d'Europe, d'Afrique, d'Asie, d'Amérique du Nord et du Sud, et de l'Australie. Il est très ubiquiste, colonisant des gîtes larvaires très variés et notamment anthropiques (vide sanitaire, petit bassin, container abandonné, fossé, rizières, marais...). L'espèce a une remarquable adaptabilité à des environnements très différents, qui se traduit par des variations biologiques importantes. À l'exception des femelles de zones urbaines potentiellement actives toute l'année, les femelles présentent une diapause de mi-octobre à mi-février, se réfugiant dans les grottes, granges ou tronc d'arbres creux... La dynamique saisonnière est semblable à celle de *Cx. modestus*. *Culex pipiens* a été impliqué dans la transmission du virus *West Nile* en Europe et aux États-Unis notamment lors des épidémies humaines (Hayes *et al.*, 2005a ; Savage *et al.*, 1999). En effet, le virus *West Nile* a souvent été isolé chez des individus de *Cx. pipiens*

capturés sur le terrain en Europe, dans le bassin méditerranéen et aux États-Unis (Esteves *et al.*, 2005 ; Fyodorova *et al.*, 2006 ; Hayes *et al.*, 2005a ; Hubalek *et al.*, 1998 ; Savage *et al.*, 1999). Les populations de *Cx. pipiens* de Camargue semblent modérément compétentes pour le virus *West Nile*. *Culex pipiens* étant essentiellement ornithophile, il pourrait, dans les zones humides rurales, transmettre le virus au sein des populations d'oiseaux, mais à un niveau certainement moindre que *Cx. modestus*. Dans ces zones, la transmission par *Cx. pipiens* du virus *West Nile* aux hommes et aux chevaux doit être exceptionnelle, dans la mesure où cette espèce y pique rarement les mammifères. En revanche, contrairement à *Cx. modestus*, *Cx. pipiens* est présent sur l'ensemble du littoral méditerranéen en zone sèche, partout où l'homme lui offre des gîtes artificiels. Là où les densités d'oiseaux sont suffisantes, cette espèce doit pouvoir maintenir le virus dans les populations aviaires. De plus, son ornithophilie n'étant pas stricte, cette espèce est capable de transmettre le virus aux mammifères. Prenons le cas d'un centre équestre implanté en zone sèche. Des gîtes très productifs en *Cx. pipiens* peuvent y être présents : fossé d'évacuation de l'eau du fumier, abreuvoir automatique, récipients divers abandonnés... Des densités très élevées de *Cx. pipiens* peuvent alors s'y développer et les nombreux chevaux présents sont souvent piqués. Si le virus est introduit dans ce système par l'arrivée d'oiseaux infectés (pies, moineaux...), des cas cliniques peuvent alors apparaître. Ainsi, *Cx. pipiens* est très probablement responsable de l'apparition des cas équins ou humains sur le littoral méditerranéen et dans les zones sèches de Camargue, là où *Cx. modestus* est absent.

Parmi les autres espèces de *Culex* présentes en France, *Cx. theileri* est une espèce impliquée dans la transmission du virus *West Nile* en Afrique du Sud. Son rôle en France doit être très limité étant donnée sa répartition localisée à certaines stations du littoral méditerranéen (Rioux, 1958).

Parmi les espèces d'*Aedes* du littoral méditerranéen, *Ae. caspius* est sans aucun doute l'espèce la plus abondante et la plus agressive pour l'homme dans les zones humides. Pendant l'été, lorsqu'un vacancier, venu admirer les innombrables oiseaux de Camargue, s'arrête au bord de la route pour se reposer à l'ombre d'un bosquet d'arbres, le plus souvent, il ne tarde pas à être assailli par des dizaines de moustiques de cette espèce. Bien que cette espèce soit capable de se gorger sur oiseau, *Ae. caspius* est quasi exclusivement mammophile. La probabilité qu'une femelle se gorge sur un oiseau virémique est donc extrêmement faible. S'il est rapporté qu'*Ae. caspius* a été retrouvé infecté en Ukraine (Hubalek *et al.*, 1999), la publication originale n'est pas accessible. De plus, les populations d'*Ae. caspius* de Camargue, exposées au virus *West Nile* en laboratoire, assurent une multiplication et une dissémination virales à un niveau extrêmement faible. Étant données ses préférences trophiques et sa compétence vectorielle, cette espèce ne joue donc vraisemblablement aucun rôle dans la transmission du virus *West Nile* dans le sud de la France. En revanche, le rôle potentiel d'*Ae. vexans* mérite d'être discuté en regard de l'expérience américaine. En effet, cette espèce y a été régulièrement trouvée infectée (Bernard *et al.*, 2001 ; Hayes *et al.*, 2005a) et est expérimentalement capable de transmettre le virus *West Nile*, même si sa compétence vectorielle est faible (Goddard *et al.*, 2002 ; Turell *et al.*, 2000, 2005). Sur le littoral méditerranéen, *Ae. vexans* est absent de la zone de la Costière, mais peut être très abondant dans certaines zones du delta camarguais ou

de la plaine de la Crau. Néanmoins, ses préférences trophiques limitent fortement le rôle potentiel d'*Ae. vexans* dans la transmission du virus *West Nile*, même si sa mammophilie semble moins stricte que celle d'*Ae. caspius*.

Enfin, le rôle de *Cq. richiardii* mériterait d'être exploré, dans la mesure où cette espèce aurait été retrouvée infectée naturellement en Russie (Berezin, 1971) — la publication originale ne donne pas de détail. Sa compétence vectorielle n'a jamais été évaluée à cause notamment de la difficulté d'élever cette espèce (ses larves vivent fixées aux plantes aquatiques).

Les préférences trophiques, un paramètre clé de la transmission

Ainsi en France, comme partout dans le monde, ce sont des espèces de *Culex*, à savoir *Cx. modestus* et *Cx. pipiens*, qui sont vraisemblablement les vecteurs du virus *West Nile*. Les oiseaux étant les hôtes naturels du virus *West Nile*, il apparaît logique que la coadaptation entre ce virus et des populations de moustiques soit survenue chez des espèces de *Culex* principalement ornithophiles.

Mais, si les vecteurs sont ornithophiles, alors comment peuvent-ils transmettre ce virus à l'homme et au cheval ? Cet apparent paradoxe a poussé certains auteurs à envisager l'existence de *bridge vectors*⁸, c'est-à-dire des moustiques opportunistes ou non strictement mammophiles, suffisamment compétents pour le virus *West Nile* (Turell *et al.*, 2002, 2005). L'existence de « vecteurs ponts » est suspectée à cause de l'isolement répété du virus *West Nile* chez des espèces mammophiles, comme *Ae. vexans* aux États-Unis (Andreadis *et al.*, 2004). De même, *Aedes albopictus* (Skuse, 1894) est souvent suspecté de jouer ce rôle, car il est compétent pour le virus *West Nile* et présente des préférences trophiques opportunistes (Turell *et al.*, 2005). L'absence de détection virale répétée chez cette espèce peut s'expliquer par sa sous-représentation⁹ dans les populations capturées par piège CO₂ (Gingrich *et al.*, 2005). Néanmoins, étant donnée la faible probabilité pour ces espèces d'*Aedes* de se gorger sur un oiseau virémique et leur compétence vectorielle souvent médiocre (à quelques exception près comme *Ae. albopictus*), il apparaît moins probable que ces espèces jouent un rôle dans la transmission du virus aux hôtes accidentels que des espèces de *Culex* jamais strictement ornithophiles (Kilpatrick *et al.*, 2005).

Il est classiquement décrit que *Cx. modestus* est opportuniste et pique volontiers les mammifères entrant dans ses gîtes de repos. La transmission du virus aux mammifères par cette espèce peut sans problème s'envisager. Il en va différemment de *Cx. pipiens* qui, en fonction des études de repas de sang, est considéré soit comme très ornithophile (Apperson *et al.*, 2002 ; Molaei *et al.*, 2006), soit comme opportuniste (Andreadis *et al.*, 2004 ; Gingrich *et al.*, 2005). Il est important de comprendre le déterminisme des préférences trophiques de cette espèce pour définir dans quelles conditions elle est capable de transmettre le virus aux mammifères. Les préférences trophiques pourraient être liées à un déterminisme génétique ; les deux formes de

8. La traduction littérale de ce terme, *vecteur pont*, n'est pas très heureuse, mais sera conservée dans un souci de clarté.

9. Un ratio de 28 est trouvé entre le nombre d'*Ae. albopictus* capturés sur appât humain et par piège CO₂.

Cx. pipiens sont décrites avec des différences marquées de préférences trophiques, à savoir ornithophile pour la forme *pipiens* anautogène et eurygame, et mammophile pour la forme *molestus* autogène et sténogame (Harbach *et al.*, 1985 ; Vinogradova, 2000). Les différences de biologie entre ces deux formes seraient liées à une adaptation écologique rapide à des gîtes épigés pour la forme *pipiens* et hypogés pour la forme *molestus* (Barr, 1981 ; Harbach *et al.*, 1985). Si, dans le nord de l'Europe, les deux formes sont bien différenciées et éventuellement en voie de spéciation (Rioux *et al.*, 1965), dans le sud de l'Europe, les populations restent en interconnexion (Bourguet *et al.*, 1998 ; Chevillon *et al.*, 1998 ; Pasteur *et al.*, 1981 ; Rioux *et al.*, 1965). Ainsi, des formes de gîtes épigés sténogames et anautogènes ont été décrites dans le sud de la France avec des préférences trophiques soit anthropophiles, soit ornithophiles (Pasteur *et al.*, 1977 ; Rioux *et al.*, 1965). D'autres auteurs estiment que ces deux formes sont en réalité deux espèces distinctes à travers le monde, et que la présence aux États-Unis d'hybrides entre ces deux espèces y expliquerait la transmission intense du virus *West Nile* (Kilpatrick *et al.*, 2007a). Dans ce cas, les hybrides piqueraient de façon indifférenciée les oiseaux et les hommes, ce qui n'est pas toujours confirmé par les études de préférences trophiques (Spielman *et al.*, 2004). Les préférences trophiques peuvent aussi varier en fonction d'un déterminisme environnemental. Une variation des préférences trophiques (d'ornithophiles à mammophiles) au cours de la saison a déjà été décrite pour *Cx. pipiens* au Colorado (Tempelis *et al.*, 1967) ou pour *Culex nigripalpus* Theobald, 1901 en Floride (Edman *et al.*, 1968). Il est possible que la température ait une influence sur le comportement trophique ; en effet, des nuisances à *Cx. pipiens* sont constatées en milieu rural et en plein jour pendant des périodes de fortes chaleurs dans le sud de la France (EID-Méditerranée, 2003). D'autres déterminismes sont également envisageables ; dans la même région, la teneur en matière organique des gîtes larvaires de *Cx. pipiens* est positivement corrélée à la mammophilie des adultes issus de ces gîtes (Gabinaud *et al.*, 1985), même si un biais de sélection des formes de *Cx. pipiens* est probable dans cette étude (les gîtes fortement chargés en matière organique ont plus de chance d'être peuplés de la forme *molestus*). Enfin, la variation de la disponibilité en hôte peut modifier le comportement trophique de *Cx. pipiens*. Par exemple, le départ en migration en fin d'été du merle d'Amérique (*Turdus migratorius*), considéré comme le principal hôte de *Cx. pipiens*, expliquerait que *Cx. pipiens* se tourne à ce moment là vers les hommes (Kilpatrick *et al.*, 2006a).

Les préférences trophiques des moustiques sont loin d'être comprises (Scott *et al.*, 1991), or, il s'agit d'un des facteurs clefs pour comprendre les conditions de transmission de la fièvre *West Nile* à l'homme et au cheval.

Le rôle des moustiques dans le maintien du virus

Le virus *West Nile* peut se maintenir en Camargue plusieurs années successives, en passant l'hiver comme le suggère la proximité des souches isolées en Camargue en 2000 et 2004 (Jourdain *et al.*, 2007b ; Schuffenecker *et al.*, 2005). Les différents mécanismes possibles sont discutés dans le chapitre 1. Nous développons ici la possibilité du passage de l'hiver chez les vecteurs. Cette possible persistance du virus chez le vecteur a été mise en évidence en conditions naturelles, par la détection

(par isolement ou RT-PCR) du virus *West Nile* chez des femelles de *Cx. pipiens* en diapause hivernale dans le nord-est des États-Unis (Bugbee *et al.*, 2004 ; Farajollahi *et al.*, 2005b ; Nasci *et al.*, 2001). Ainsi, des femelles de *Culex* infectées à la fin de la saison pourraient maintenir le virus jusqu'au printemps suivant.

Cependant, la question est de savoir comment ces femelles ont pu s'infecter. En effet, les femelles de *Cx. pipiens* ou de *Cx. tarsalis* trouvées dans les sites d'hivernation sont quasiment toutes nullipares, non gorgées, et inséminées (Reisen *et al.*, 1986 ; Vinogradova, 2000). Cela peut signifier que les femelles n'ont pas pris de repas sanguin avant d'entrer en diapause ou qu'il existe un phénomène de discordance trophogonique. Chez certaines espèces d'anophèles, le phénomène de discordance trophogonique est bien décrit : le comportement de recherche de l'hôte n'est pas complètement interrompu par le repos hivernal, les femelles se gorgent, mais le repas n'est pas suivi de la maturation des œufs (Jetten *et al.*, 1994 ; Mitchell, 1988). Au contraire, chez *Cx. pipiens*, la diminution de la photopériode marque l'entrée en des femelles en diapause (Eldridge, 1987 ; Mitchell, 1988) et tout comportement de recherche d'hôte est inhibé (Mitchell, 1983). De plus, 50 % des femelles placées en conditions de diapause survivent 6 mois après une prise unique de jus sucré, contre seulement 20 jours après la prise d'un repas sanguin (Mitchell, 1983). Enfin, les femelles de *Cx. pipiens* en diapause semblent inaptes à prendre des repas sanguins (Mitchell *et al.*, 1989 ; Robich *et al.*, 2005). Il semble donc que les *Cx. pipiens* ne prennent pas de repas de sang pendant la période de diapause. Ainsi, comme les femelles retrouvées pendant l'hiver sont essentiellement nullipares, la majorité des femelles de *Cx. pipiens* destinées à hiverner semblent uniquement se nourrir de jus sucrés pour développer des réserves et gagnent ensuite les gîtes d'hivernation¹⁰ (Vinogradova, 2000). Si on peut extrapoler ces résultats aux autres *Culex*, la persistance du virus chez les *Culex* passe nécessairement par une transmission verticale, c'est-à-dire une transmission du virus de la femelle infectée à sa descendance qui entrera en diapause (Rosen, 1987).

L'existence d'un tel phénomène en conditions naturelles est suggérée par l'isolement du virus *West Nile* chez un mâle *Culex univittatus* Theobald, 1901 au Kenya (même si la transmission sexuelle est aussi possible) (Miller *et al.*, 2000) et démontrée par l'isolement du virus chez des adultes *Cx. quinquefasciatus* issus de larves collectées en Californie (Reisen *et al.*, 2006a). Enfin, la transmission verticale du virus *West Nile* a été reproduite au laboratoire en 1990 pour *Ae. albopictus*, *Aedes aegypti* (Linnaeus, 1762) et *Cx. tritaeniorhynchus* Giles, 1901 (Baqar *et al.*, 1993).

Différents essais expérimentaux ont été réalisés aux États-Unis pour quantifier ce phénomène (Dohm *et al.*, 2002 ; Goddard *et al.*, 2003 ; Reisen *et al.*, 2006a). Des femelles sont inoculées en intrathoracique, sont gorgées 5 à 7 jours postinoculation et la descendance est élevée jusqu'au stade adulte et testée sur cellules Vero¹¹ pour la présence de virus. Une seule étude quantifie la transmission verticale pour des femelles de *Cx. tarsalis* exposées oralement au virus *West Nile* (Reisen *et al.*, 2006a).

10. Dans les zones de transition entre climats tempéré et tropical, il peut exister pour la même espèce un dégradé de comportements entre diapause franche et absence de diapause. Voir les études réalisées sur *Culex tarsalis* Coquillett, 1896 en Californie (Reisen *et al.*, 1986).

11. Lignée de cellules isolées à partir d'épithélium de rein de singe vert (*Chlorocebus aethiops*, Linnaeus, 1758).

Il en ressort que le virus *West Nile* peut être transmis verticalement chez les *Culex* et les *Aedes*, comme c'est le cas pour d'autres *Flavivirus* comme les virus de la dengue et de la fièvre jaune chez *Ae. aegypti* et *Ae. albopictus*, de l'encéphalite de Saint-Louis chez *Cx. tarsalis*, *Cx. pipiens*, *Cx. quinquefasciatus* et *Cx. nigripalpus*, et de l'encéphalite japonaise chez *Cx. tritaeniorhynchus* et *Culex vishnui* Theobald, 1901 (Rosen, 1987). Les taux minimaux d'infections filiales sont faibles et équivalents à ce qui est observé pour les autres *Flavivirus*, à savoir entre 0,1 et 1 % (Rosen, 1987). Pour être plus précis, chez *Cx. tarsalis*, seule une partie des femelles ($\approx 25\%$) transmet le virus *West Nile* à sa descendance, avec un taux moyen de 4,1 % (Reisen *et al.*, 2006a), phénomène déjà observé chez *Cx. tritaeniorhynchus* et le virus de l'encéphalite japonaise (Rosen *et al.*, 1989). La transmission sexuelle du virus *West Nile* est possible, mais les femelles ainsi infectées ne sont pas capables de transmettre le virus à un nouvel hôte (Reisen *et al.*, 2006a), contrairement au virus de La Crosse/*Aedes triseriatus* (Say, 1823) (Thompson *et al.*, 1976).

Ainsi en Camargue et plus largement en Europe, le virus *West Nile* pourrait se maintenir d'une année sur l'autre chez *Cx. pipiens* après transmission verticale ou chez *Cx. modestus* dont les femelles pourraient s'infecter avant l'hiver — la diapause ne semble pas complète chez cette espèce, contrairement à *Cx. pipiens* (Mouchet *et al.*, 1969) — ou après transmission verticale. En France, les tentatives d'isolement viral chez des femelles de *Cx. modestus* hivernantes ont échoué (Mouchet *et al.*, 1969). De plus, les très faibles densités de l'espèce observées d'avril à début mai rendent cette époque de l'année peu propice à l'introduction puis à la circulation du virus. C'est pourtant à cette période que la majorité des oiseaux migrateurs en provenance d'Afrique arrivent (migration de printemps) (Doctrinal, 2004 ; Doctrinal *et al.*, 2005). Si le virus a passé l'hiver chez les femelles hivernantes, il reste donc à éclaircir comment il se maintient au cours de cette période de faibles densités.

Influence des changements du milieu dans la transmission

En Camargue, la fièvre *West Nile* a provoqué des cas humains et des épizooties équine importantes pendant les années 1960 et 2000. L'évolution des populations de *Cx. modestus*, sans doute le principal vecteur naturel du virus *West Nile*, est parfaitement corrélée aux changements survenus dans la riziculture camarguaise ces 70 dernières années (Ponçon *et al.*, 2007), avec deux périodes de forte abondance : les années 1960 et 2000.

La culture du riz, utilisée pour désaler les terres depuis l'endiguement du Rhône, était rare en Camargue avant la seconde guerre mondiale et *Cx. modestus* n'y était que rarement reporté depuis sa première description dans les années 1920 (Rioux, 1958 ; Roman, 1937 ; Séguy, 1925). En 1939, la France fit venir 20 000 travailleurs indochinois de sa lointaine colonie d'Extrême-Orient (Daum, 2009). Recrutés pour la plupart de force, débarqués à la prison des Baumettes à Marseille, ces hommes furent répartis à travers la France. Logés dans des camps à la discipline très sévère, ils devaient remplacer les soldats mobilisés dans les usines de Défense nationale. Après la démobilisation de l'armée française, ils furent loués, pendant plusieurs années, par l'État français à des sociétés publiques ou privées sans qu'aucun réel salaire ne leur soit versé (Daum, 2009). En 1940, environ 500 de ces travailleurs ont

été envoyés dans les mas de Camargue et y ont permis l'implantation et le développement de la riziculture ; la première récolte date de 1942. Le commerce du riz s'est avéré très fructueux pendant la seconde guerre mondiale, notamment sur le marché noir, puis à la fin du conflit en cette période de pénurie alimentaire (Daum, 2009). À partir de ce moment, le développement de la riziculture a continué, soutenu par un prix garanti, les fonds du plan Marshall de 1947 et la coopérative de l'équipement agricole en 1948. La mécanisation a permis d'atteindre environ 30 000 hectares de riz dans les années 1960 (figure 4.4). À cette période *Cx. modestus* était décrit comme largement distribué et très abondant, faisant partie du « triptyque vulnérant » de Camargue (Rioux, 1958). En 1963, le renforcement de la politique agricole commune de l'Union européenne (alors Communauté économique européenne) a défavorisé le riz français par rapport au riz italien plus compétitif. La surface cultivée a alors diminué progressivement, les producteurs se tournant vers le blé dur suite à la diminution du prix du riz (figure 4.4). En 1970, la pyrale du riz (*Chilo suppressalis*) a été introduite en France vraisemblablement avec de jeunes plants importés d'Espagne. À partir de 1972, les producteurs ont commencé à pulvériser les rizières au mois de juillet avec des insecticides (fénitrothion, trichlorfon ou chlorphénamine) pour lutter contre ce ravageur. La compétitivité du riz français diminuant, les surfaces en riz ont atteint un minimum de 4 400 hectares en 1981 (figure 4.4). Les populations de *Cx. modestus* ont décliné fortement en 1972 et 1973 suite à l'implémentation des épandages d'insecticides (Ponçon *et al.*, 2007), qui étaient effectués en juillet lorsque les larves de *Cx. modestus* sont présentes en grand nombre dans les rizières. En 1981, un plan français de soutien a été mis en place pour relancer la riziculture dont les surfaces cultivées ont augmenté à nouveau pour atteindre 20 000 hectares au début des années 1990. Puis ces surfaces ont diminué légèrement de nouveau en 1994 suite aux accords conclus dans le cadre du GATT (*General Agreement on Tariffs and Trade*) limitant les aides aux producteurs. À partir de 1988, a été introduite en Camargue une nouvelle variété de riz, *Ariete*. Elle est devenue la variété dominante entre 1991 et 2000. Très sensible à la pyrale, les épandages d'insecticides (alphaméthrine) sont restés importants, et ont maintenu les populations de *Cx. modestus* à un niveau très bas malgré l'augmentation des surfaces cultivées (Ponçon *et al.*, 2007). Enfin, depuis 2000, les surfaces en riz sont restées approximativement constantes autour de 18 à 20 000 hectares (figure 4.4). La variété *Ariete* a été progressivement remplacée par des variétés moins sensibles à la pyrale, limitant les surfaces traitées (passant de 61 % en 2000 à 51 % en 2003). Les primes n'étant plus indexées sur la productivité en 2004 et la législation européenne sur l'épandage des insecticides s'étant durcie en 2005, l'épandage de deltaméthrine a été abandonné et remplacé par des insecticides lépidoptéro-spécifiques (tebufenozide, *Bacillus thuringiensis kurstaki* 3a/3b). En parallèle, les populations de *Cx. modestus* ont continuellement augmenté depuis 2000 (Ponçon *et al.*, 2007).

Ainsi, depuis plus d'un demi-siècle, le contexte politique, environnemental et social a entraîné de profondes modifications de la riziculture en Camargue, et en même temps des populations de *Cx. modestus*. Les périodes de fortes densités de *Cx. modestus* dans les années 1960 et 2000 correspondent aux épizooties équine de fièvre *West Nile* en Camargue, mais aussi à l'occurrence de cas équine et/ou humains sur le reste du littoral méditerranéen. Même si le lien n'est pas direct — l'épisode de 2000 s'est déroulé en Camargue, alors que les populations de *Cx. modestus*

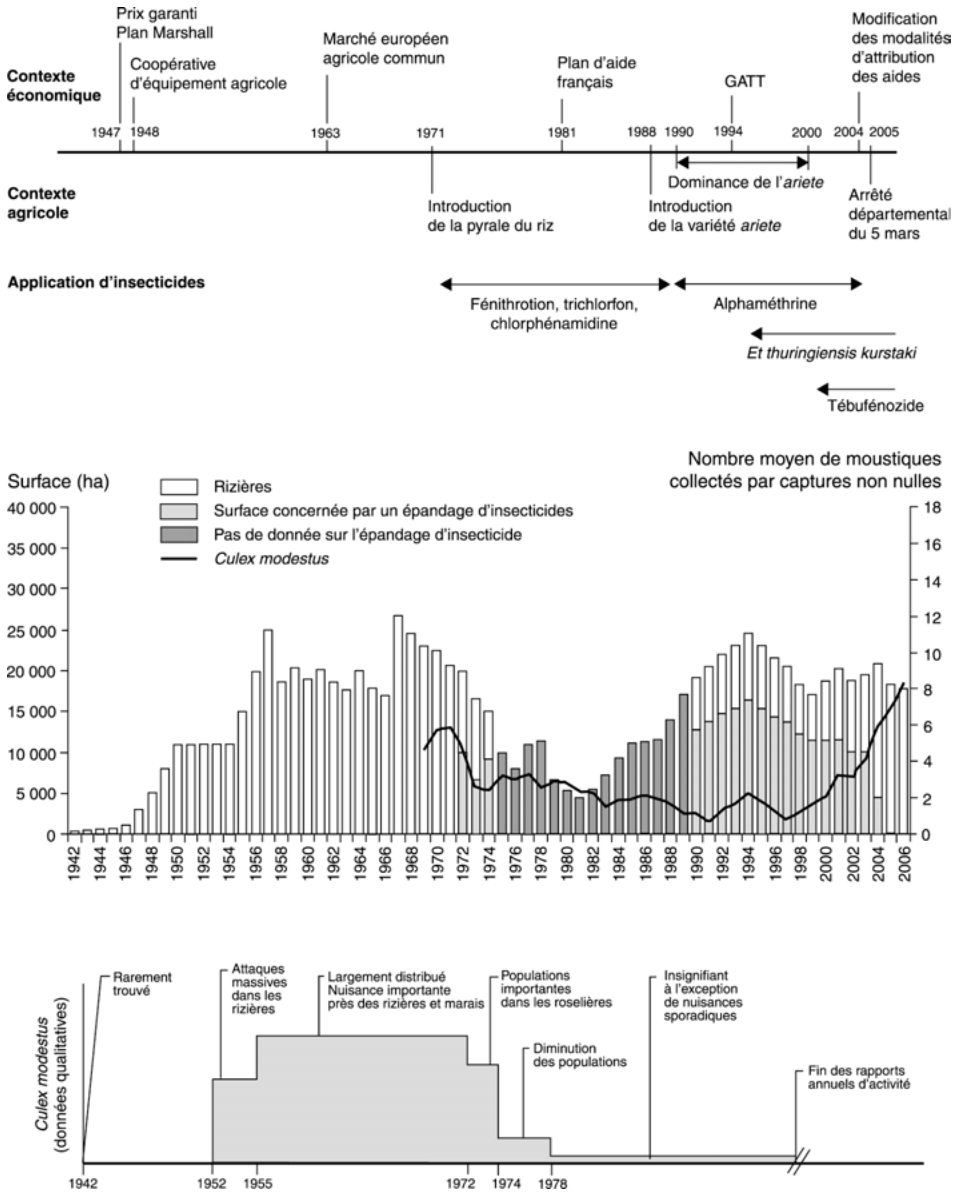


Figure 4.4 Influence des contextes politique, économique et agricole sur la riziculture en Camargue et conséquences sur les populations de *Culex modestus* au cours des dernières décennies d'après Ponçon *et al.* (2007).

commençaient seulement à ré-augmenter — l'abondance de *Cx. modestus* pourrait créer les conditions propices à la circulation du virus *West Nile* en Camargue, mais aussi à son éventuelle dispersion à d'autres endroits du littoral méditerranéen à partir de ce foyer primaire. La survenue réelle d'épizooties ou de cas humains dépend aussi du lieu et de la date d'introduction d'une éventuelle nouvelle souche, des conditions météorologiques de l'année, du niveau d'immunité des populations

animales, etc. Cependant, cette corrélation entre l'évolution des populations de moustiques et de la riziculture en Camargue reste un exemple illustrant la complexité épidémiologique et l'aspect multifactoriel des systèmes vectoriels. Elle montre aussi que l'influence de l'homme sur l'environnement peut être responsable, bien plus souvent que l'augmentation globale des températures, de la recrudescence des maladies vectorielles.

► Conclusion

De nombreuses espèces de moustiques sont présentes sur le littoral méditerranéen, en lien avec la grande richesse écologique de cette zone. La biologie et l'écologie des moustiques diffèrent fortement en fonction des espèces. Les principales espèces de moustiques piquant les oiseaux sont *Cx. pipiens* et *Cx. modestus*. Ces deux espèces sont capables de transmettre le virus *West Nile* en laboratoire, à des niveaux modérés pour *Cx. pipiens* et très élevés pour *Cx. modestus*. Ces deux espèces, retrouvées de plus à différentes reprises infectées naturellement par le virus *West Nile*, sont les principaux vecteurs de ce virus en Camargue.

Culex modestus pourrait être le vecteur naturel du virus *West Nile*, le transmettant intensément dans les roselières qui réunissent des fortes densités de moustiques et d'oiseaux. *Culex pipiens*, dans les zones du littoral où *Cx. modestus* est absent, serait capable de transmettre le virus au sein des populations aviaires, mais aussi aux hommes et aux chevaux dans les environnements où ils sont abondants. Décrypter les déterminants environnementaux des préférences trophiques de *Cx. pipiens* reste l'un des principaux enjeux pour comprendre la transmission du virus *West Nile* des populations d'oiseaux vers les hommes et les chevaux. Enfin, depuis plus d'un demi-siècle, le contexte politique, environnemental et social a entraîné de profondes modifications de la riziculture en Camargue, et en même temps des populations de *Cx. modestus*, ce qui pourrait ne pas avoir été sans conséquence pour la transmission du virus *West Nile* dans cette région.

Chapitre 5

Les mammifères, des hôtes accidentels du virus

Agnès LEBLOND et Sophie PRADIER

Objectif : présenter le rôle des mammifères dans les cycles de transmissions du virus *West Nile*

Quels sont les symptômes de la fièvre *West Nile* chez l'homme et le cheval ?
Quelles sont les caractéristiques de la pathogénie de l'encéphalite à virus *West Nile* ?
Quelles sont les données disponibles sur l'infection par le virus *West Nile* des mammifères autres que l'homme et le cheval ?

De nombreuses arboviroses, maladies virales transmises par des arthropodes, restent apparemment « silencieuses » pendant de longues périodes, c'est-à-dire qu'aucun signe de leur présence ne peut être décelé (Dauphin *et al.*, 2004). C'est seulement par épisodes erratiques, à des intervalles parfois de plusieurs dizaines d'années, qu'une recrudescence soudaine est observée, se manifestant alors par une épidémie ou une épizootie d'allure « explosive ».

Au cours d'épidémies en Afrique, environ 55 % de la population à risque est infectée par le virus *West Nile*. En revanche, les épidémies plus récentes observées en Europe et en Amérique du Nord ont montré un taux d'attaque bien moins important (Dauphin *et al.*, 2004 ; McIntosh *et al.*, 1976). Dans une zone de circulation intense du virus *West Nile* à New York, 2,6 % des habitants ont été infectés, et de faibles taux de prévalence ont également été mesurés dans les autres régions des États-Unis (Mostashari *et al.*, 2001). De même, depuis 1995, les épidémies observées en Europe et au Moyen Orient ont entraîné une infection chez moins de 5 % de la population à risque (Dauphin *et al.*, 2004 ; Savage *et al.*, 1999). Ces taux de prévalence sont faibles et ne peuvent pas entraîner une éventuelle diminution de la fréquence ou de la gravité de futures épidémies grâce à un développement de l'immunité chez les populations.

Le virus *West Nile* continuera probablement à poser un problème de santé publique significatif dans les années futures. Du fait d'une grande adaptabilité à ses hôtes et à ses vecteurs, le virus est maintenant bien établi dans plusieurs pays européens et sur le pourtour méditerranéen et il est peu probable qu'il puisse en être éradiqué. Ces dernières années ont été marquées par l'émergence en Europe d'un virus du lignage 2 alors que la plupart des foyers européens ou les foyers américains avaient été causés par des souches appartenant au lignage 1. Ce lignage 2,

découvert initialement en Hongrie en 2004, semble présenter une virulence accrue chez l'homme, le cheval et l'avifaune européenne, probablement naïve face à ce lignage. Les nombreux cas humains et équins en Grèce en 2010 et Hongrie en 2008, ainsi que la mortalité importante de rapaces en Hongrie, les autours de palombe (*Accipiter gentilis*) en particulier — alors que la mortalité d'oiseaux sauvages des suites d'une infection à virus *West Nile* est un phénomène rare en Europe (au contraire des mortalités massives de passereaux rapportées aux États-Unis) — sont des phénomènes inquiétants.

La transmission est difficile à prédire et encore plus difficile à prévenir et à contrôler. Le cycle de transmission du virus *West Nile* est complexe et n'est pas entièrement connu. De nombreux facteurs interviennent dans la transmission, comme la densité des populations d'oiseaux et de moustiques, l'occupation du sol, les conditions météorologiques, etc.

La capacité de diagnostic, développée par les laboratoires, est un élément critique pour permettre la détection et le contrôle de cette maladie, développer des stratégies de prévention efficaces, et appliquer ces connaissances aux autres arboviroses potentiellement émergentes (Gubler, 2007).

Ce chapitre s'intéresse aux hôtes dits accidentels que représentent le cheval et l'homme. Les principales caractéristiques de l'infection chez ces hôtes sont décrites. Bien que des vaccins aient rapidement été développés et commercialisés pour le cheval aux États-Unis, la vaccination n'a été autorisée qu'en 2009 en France pour des raisons économiques essentiellement. Par ailleurs, l'intérêt du cheval en tant que sentinelle pour fournir une alerte précoce du risque de circulation dans certaines régions endémiques est présenté dans le chapitre traitant de la surveillance (chapitre 7).

► La fièvre *West Nile* chez l'homme

Signes cliniques

La période d'incubation est de 3 à 6 jours.

Symptomatologie

Environ 80 % des infections chez l'homme sont apparemment asymptomatiques. La maladie s'exprime sous la forme d'un syndrome grippal bénin, caractérisé par une fièvre d'apparition brutale, modérée à forte, qui dure 3 à 5 jours (tableau 5.1). La fièvre est parfois bi-phasique et peut être accompagnée de raideurs. Les autres signes pouvant s'exprimer sont des maux de tête, une irritation de la gorge, une myalgie, des arthralgies, de la fatigue, une conjonctivite et/ou une douleur rétrobulbaire (Sampathkumar, 2003). Des éruptions maculo-papulaires ou roséolaires sont visibles dans environ 50 % des cas, partant du tronc vers les extrémités et la tête (Ferguson *et al.*, 2005). Une lymphadénopathie, une anorexie, des nausées, des douleurs abdominales, de la diarrhée, une orchite et des signes respiratoires sont aussi décrits (Smith *et al.*, 2004). Lorsque l'infection par le virus *West Nile* a été décrite pour la première fois en Afrique,

un hépatotropisme a été noté, mais les signes cliniques d'hépatite n'ont pas été observés en Amérique du Nord, sauf lors de défaillance organique généralisée. Des signes d'hépatosplénomégalie, d'hépatite, de pancréatite, de myocardite (Pergam *et al.*, 2006) et des fièvres hémorragiques ont également été rapportés (Paddock *et al.*, 2006). Un dysfonctionnement vésical, allant de la rétention urinaire à l'incontinence, survient chez 3 à 63 % des patients (Leis *et al.*, 2002). Dans un cas, une infection par le virus *West Nile* a été finalement diagnostiquée chez un patient s'étant présenté pour une fièvre d'origine inconnue évoluant depuis 7 semaines (Prince et Zeidman, 2007).

Dans moins de 15 % des cas, une méningite aseptique aiguë ou une encéphalite se développe, associée à de la raideur, des vomissements, une confusion mentale, des anomalies de vigilance, une somnolence, des tremblements des extrémités, des réflexes anormaux, des convulsions, des parésies, voire un coma (Cunha, 2004a ; Roos, 2004).

La paralysie peut s'observer lors d'encéphalite ou de méningite (environ 2/3 des cas n'ont pas d'encéphalite), avec des signes qui évoluent rapidement vers une faiblesse sévère, asymétrique, une paralysie de 1 à 4 membres, généralement sans perte sensorielle. En général, les patients présentent une réponse aux réflexes tendineux profonds diminuée ou absente sur le membre atteint. Les investigations radiologiques, pathologiques et les tests électrodiagnostiques suggèrent une atteinte des cellules des cornes antérieures, comme lors de syndrome de poliomyélite, qui expliquerait la paralysie flasque et asymétrique (Li *et al.*, 2003 ; Sejvar *et al.*, 2005). Quelques rares cas de polyneuropathie axonale avec lésions à la fois des neurones moteurs et sensoriels ont été décrits (Holman *et al.*, 2004).

Un fait remarquable de l'encéphalite à virus *West Nile* est l'observation de mouvements désordonnés, semblables à des anomalies de type Parkinson comme une bradykinésie, une rigidité, une instabilité posturale, et un faciès immobile, faisant ressembler le visage à un masque (Robinson *et al.*, 2003). Les autres anomalies de mouvement rapportées sont des myoclonies, des tremblements intentionnels et un bruxisme (grincements de dents). Les tremblements sont décrits très fréquemment chez les patients séropositifs vis-à-vis du virus *West Nile* (quasiment 80 à 100 %) (Petersen et Marfin, 2002), mais les myoclonies sont moins fréquentes et représentent 1/3 des cas environ. Lorsque des signes de type Parkinson s'expriment, la maladie est en général plus grave et associée à une encéphalite ou une paralysie flasque aiguë (Petersen et Marfin, 2002).

Des complications oculaires consécutives à l'infection par le virus *West Nile* peuvent se manifester. Les signes décrits sont une névrite optique, une chorioretinite, des hémorragies rétinienne et une inflammation du vitrée (Hershberger *et al.*, 2003). Une parésie des muscles extra-oculaires, un nystagmus et un œdème du disque optique ont été rapportés dans un cas (Vaispapir *et al.*, 2002). Les patients qui présentent des complications oculaires consultent pour des anomalies de vision, comme une vision trouble, associées à des signes systémiques comme de la fièvre, de la fatigue, des douleurs musculaires, des maux de tête, une faiblesse, une ataxie et des signes de confusion mentale. Les lésions oculaires peuvent être uni- ou bilatérales et sont en général de la conjonctivite et/ou une uvéite avec présence de lésions non granulomateuses.

Tableau 5.1. Signes cliniques de la fièvre *West Nile* et fréquence d’expression.

> 80 %	Patient adulte Fièvre Maux de tête Douleurs musculo-squelettiques : muscles, os et articulations Myalgies, gonflements musculaires	
20 %- 80 %	Dysfonctionnement gastro-intestinal et abdominal Lésions cutanées et des tissus mous : éruptions, blessures Éruptions diffuses ou multifocales Macules et/ou papules Lymphadénopathie locale ou généralisée Lésions oculaires Conjonctivite Irritation de la gorge, du nez (rhinite), des oreilles (otite), de la bouche Arthralgies Neutrophilie ou neutropénie	
< 20%	Plusieurs cas, épidémie Âge > 60 ans Enfant Enfant < 2 ans Maladie sévère, nécessitant l’hospitalisation Fièvre hémorragique Décès Hôte immunodéprimé, ou complication nosocomiale Infection par le virus du SIDA Alcoolisme Dépendance aux drogues dures Diabète sucré Leucémie ou lymphome Neutropénie d’origine diverse Maladie immunitaire Receveur d’organe transplanté Traitement par des produits cytotoxiques ou des corticostéroïdes Diarrhée Vomissements Hématémèse (vomissements de sang) Sang dans les selles (hématochézie) Douleur abdominale Hépatomégalie Pancréatite Douleurs ou lésions pulmonaire, thoracique, de la plèvre ou cardiaque Toux Myocardite, cardiomégalie	Présence de vésicules ou de bulles Pétéchies Éruptions hémorragiques ou purpura Prurit (démangeaisons) Splénomégalie ou lésion(s) splénique Méningite Encéphalite ou encéphalopathie Coma Convulsions Lésions des nerfs crâniens Paralysie Photophobie Épistaxis (saignements de nez) Dorsalgies Lymphocytose Thrombocytopénie Pléocytose du liquide céphalo-rachidien (LCR) et prédominance de lymphocytes ou de neutrophiles Dysfonctionnement hépatique Dysfonctionnement rénal Protéinurie Proximité d’une zone humide Contact avec des animaux malades, épizootie concomitante Contact avec des oiseaux Contact avec des chevaux Piqûre d’insecte Transfusion sanguine, pose de cathéter, injection, etc.

Données de laboratoire

Les hommes, les chevaux et de nombreuses autres espèces de mammifères sont des hôtes accidentels du virus, décrits comme des culs-de-sac épidémiologiques, ne produisant pas une virémie suffisante pour infecter un moustique et ne participant donc pas au cycle naturel de transmission (Dauphin *et al.*, 2004). Les études de laboratoire ont montré que 74 à 100 % des moustiques de l'espèce *Cx. tarsalis*, consommant un repas sanguin avec une concentration virale de $10^{7.1}$ PFU/ml (*Plaque Forming Unit*) deviennent infectieux, alors que seulement 0 à 36 % deviennent infectieux si la concentration virale est de $10^{4.9}$ PFU/ml (Goddard *et al.*, 2002). Chez l'homme, la concentration en particules virales, observée chez les donneurs de sang testés en 2002, était d'environ $10^{3.2}$ PFU/ml¹. Il semble donc peu probable que l'homme atteigne un degré de virémie suffisant pour infecter des moustiques.

Lors d'infection par le virus *West Nile*, les résultats des examens de laboratoire montrent une légère augmentation de la vitesse de sédimentation et une leucocytose modérée. Au cours des épidémies récemment observées aux États-Unis, le comptage leucocytaire dans le sang périphérique était le plus souvent normal ou élevé, associé à une lymphopénie et une anémie. Parfois, une hyponatrémie est notée, particulièrement chez les patients avec encéphalite.

Lors d'atteinte du système nerveux central, le liquide céphalo-rachidien (LCR) est clair et présente une pléocytose modérée, avec le plus souvent élévation des lymphocytes, et une élévation des protéines. Une plasmocytose peut être présente dans le LCR. La concentration en glucose est dans les valeurs usuelles.

Le virus peut être isolé à partir du sang total jusqu'à 10 jours après infection chez les patients fébriles immunocompétents, et pendant 22 à 28 jours chez les patients immunodéprimés. Le pic de virémie est observé 4 à 8 jours post-infection.

Un examen du cerveau par scanner ne permet généralement pas d'objectiver une atteinte aiguë, mais, chez 1/3 des patients, l'imagerie par résonance magnétique (IRM) montre un hyper signal des leptoméniges et/ou des zones périventriculaires.

Évolution

Des périodes de convalescence prolongées peuvent être observées (jusqu'à 1 an) lors d'encéphalite, et les douleurs musculaires, la photophobie et la confusion mentale peuvent encore persister au-delà de cette période (Haaland *et al.*, 2006). La récupération est complète, moins rapide chez les adultes que chez les enfants, et la persistance de séquelles n'a pas été rapportée. Les douleurs musculaires et la faiblesse peuvent persister longtemps. Une dépression durable peut s'installer chez environ 31 % des cas (Murray *et al.*, 2007). La plupart des décès surviennent chez les patients de plus de 50 ans. Au contraire, les patients qui développent des anomalies de mouvements pendant la maladie ont un meilleur taux de récupération fonctionnelle (Granwehr *et al.*, 2004).

1. S. Stramer, M. Busch, M. Strong, pers. communication.

Pour les quelques cas rapportés et documentés, le pronostic de l'issue d'une paralysie flasque aiguë consécutive à l'infection par le virus *West Nile* est réservé, la récupération fonctionnelle est souvent faible, même après plusieurs mois de suivi (Petersen et Marfin, 2002).

Lors d'atteinte oculaire, des corticostéroïdes ont quelquefois été administrés par voie topique, mais dans quasiment tous les cas, indépendamment du traitement, la récupération de la fonction visuelle permet un retour à l'état antérieur à la maladie. Une fatigue persistante, des maux de tête et une faiblesse générale sont rapportés à des fréquences variables, mais les patients qui ont présenté des signes oculaires n'ont pas présenté de paralysie flasque. Seulement 6 cas d'atteinte oculaire ont été rapportés aux États-Unis, tous étaient âgés de plus de 55 ans et 3 étaient diabétiques. Il est possible que des patients ayant présenté une paralysie aiguë et des complications oculaires n'aient pas été diagnostiqués soit parce qu'il est difficile d'évaluer des patients sévèrement atteints, soit parce que ces lésions restent focales et peu importantes (Hershberger *et al.*, 2003).

En fait, une confusion dans la définition des termes n'a pas permis aux agences de santé publiques des États-Unis (Centers for diseases control, CDC) de classer correctement les cas de méningo-encéphalite, ce qui est pourtant important car le pronostic d'une encéphalite est variable, alors qu'une méningite seule guérit généralement bien. Ainsi, en 2004, les CDC ont proposé un système qui permet de caractériser l'infection par le virus *West Nile* en syndromes tels que : encéphalite (avec méningite), méningite, fièvre, asymptomatique, autre ou paralysie flasque aiguë².

Facteurs de gravité de la maladie

Les personnes de tous âges semblent sensibles à l'infection par le virus *West Nile*. Aux États-Unis, en 2002, sur les 2 942 cas d'atteinte nerveuse, 276 (9 %) ont été mortels. L'incidence de l'atteinte nerveuse et de la mortalité augmente avec l'âge, particulièrement chez les personnes de 60 à 89 ans, et est légèrement supérieure chez les hommes par rapport aux femmes (O'Leary *et al.*, 2004). L'âge médian des personnes atteintes d'affection nerveuse est de 64 ans (de 1 mois à 99 ans), comparé à un âge médian de 49 ans (de 1 à 97 ans) pour les cas de fièvre *West Nile*. Dans une étude effectuée en Californie en 2005, l'hypertension ou le diabète sucré sont d'autres facteurs qui augmentent le risque d'atteinte nerveuse (Jean *et al.*, 2007).

Bien que les cas sévères surviennent principalement chez les adultes, des atteintes nerveuses sont également décrites chez les enfants. De 2002 à 2004, 1 051 cas de fièvre *West Nile* ont été diagnostiqués aux États-Unis chez des enfants de moins de 19 ans ; 317 (30 %) présentaient une atteinte nerveuse et 106 (34 %) d'entre eux avaient moins de 10 ans³. Deux patients sont morts en pédiatrie (0,6 %) : un enfant qui présentait une lissencéphalie concomitante, et un autre qui présentait également un dysfonctionnement immunitaire (Hayes *et al.*, 2005). Sur trois autres cas décrits, deux enfants étaient préalablement sains (Spiegel *et al.*, 2002 ; Weinstein, 2003). La

2. Dan O'Leary, ArboNET Update from 5th National Conference on WNV in the USA, Feb 3-5, 2004, Denver, Colorado, <http://www.cdc.gov/ncidod/dvbid/westnile/conf>.

3. CDC, unpub. data ; June 8, 2005.

poursuite de l'identification des facteurs de risque d'une maladie grave chez l'adulte et chez l'enfant sera essentielle dans le futur pour comprendre les mécanismes de développement de la maladie et développer des thérapeutiques efficaces (Granwehr *et al.*, 2004).

L'hypertension et les affections cérébro-vasculaires augmentent fortement le risque de développement d'une maladie grave, probablement en facilitant l'entrée du virus et sa réplication dans l'endothélium de la barrière hémato-méningée. Dans une étude, la présence d'une hypertension était un facteur de risque significatif pour le développement d'une encéphalite, même après prise en compte de l'âge et du sexe (Lillibridge *et al.*, 2004a). Les patients qui présentent à la fois une hypertension et un diabète ont globalement une morbidité et une mortalité plus élevées, et ces deux facteurs sont des paramètres indépendants qui augmentent la perméabilité de la barrière hémato-méningée. Cependant, les mécanismes exacts qui contribuent au dysfonctionnement endothélial n'ont pas encore été découverts (Khairallah *et al.*, 2007).

L'étude de l'épidémie de New York en 1999 a montré également qu'un âge supérieur à 75 ans et la présence d'un diabète sucré étaient des facteurs de risque significatifs pour les 7 cas de décès observés (Nash *et al.*, 2001). Au contraire, au cours d'une épidémie majeure en Roumanie en 1996, une étude cas/témoin n'a pas mis en évidence une association entre les méningo-encéphalites et l'hypertension ou une autre affection concomitante (Han *et al.*, 1999). Le groupe de témoins était constitué de patients infectés par le virus *West Nile* mais asymptomatiques. Considérant la petite taille des échantillons utilisés pour ces études, il n'est pas possible de généraliser les résultats.

Chez l'homme, le patient âgé et immunodéprimé présente un risque plus important de développer une infection disséminée du virus *West Nile*, cependant les mécanismes immunologiques qui expliqueraient ces observations ne sont pas très clairs. Les lymphocytes B et les immunoglobulines G (les IgG constituent une certaine classe d'anticorps) contribuent à défendre l'organisme contre la dissémination du virus (Diamond *et al.*, 2003). Expérimentalement, les souris qui présentent une déficience en synthèse d'IgM (sIgM), mais capables d'exprimer des IgM de surface et de sécréter d'autres isotypes d'immunoglobulines, décédaient suite à l'infection, même lors d'inoculation de faibles doses de virus *West Nile*. Dans une analyse prospective, un titre faible en anticorps anti-virus *West Nile* au 4^e jour après l'infection, permettait de prédire à coup sûr la mort chez la souris. Ainsi, l'induction d'une réponse précoce, spécifique, liée aux IgM neutralisants, limite la dissémination du virus et protège le système nerveux central et, par conséquent, de la mort. Une étude récente a montré un lien entre le CCR5Delta32 (un allèle mutant commun aux cytokines et au récepteur CCR5 du HIV), et l'infection fatale par le virus *West Nile*, suggérant ainsi une origine génétique à la sensibilité de l'homme vis-à-vis du virus *West Nile* (Diamond et Klein, 2006).

Enfin, l'exposition préalable à la salive de moustique pourrait moduler l'importance de l'expression clinique de la fièvre *West Nile* suite à l'infection. La sensibilisation à la salive de moustique exacerberait l'infection virale (Schneider *et al.*, 2007). Dans une étude, des moustiques ont été nourris sur des souris avant que celles-ci soient infectées. Une aggravation de la maladie a été observée, avec une réplication

plus précoce et plus importante du virus, une augmentation de l'expression de l'interleukine 10, et une augmentation de l'afflux de cellules sensibles au virus *West Nile* au site d'inoculation. La sensibilisation à la salive de moustique pourrait donc aggraver la maladie, au contraire de ce qui a été observé lors d'autres études effectuées avec des parasites et des bactéries (Schneider *et al.*, 2007).

Traitement et prophylaxie

Traitement de la maladie

Le traitement est symptomatique, nécessitant souvent l'hospitalisation, l'administration de fluides intraveineux, un support ventilatoire et respiratoire, et la prévention des infections secondaires pour les patients qui présentent une forme sévère de l'affection.

La ribavirine à doses élevées et l'interféron $\alpha 2\text{-}\beta$ ont démontré des propriétés antivirales contre le virus *West Nile*, mais aucune étude contrôlée n'a été effectuée sur l'utilisation de ces médicaments, ou d'autres tels que les corticostéroïdes, les anti-épileptiques ou les agents osmotiques, pour le traitement des encéphalites à virus *West Nile*.

Prophylaxie : vaccination chez l'homme

Il n'existe pas encore de vaccin commercialisé pour l'homme.

► La fièvre *West Nile* chez le cheval

L'infection par le virus *West Nile* chez le cheval est le plus souvent asymptomatique. Cependant, les émergences récentes de virus *West Nile* ont entraîné une proportion plus importante de cas d'affections nerveuses à la fois chez les hommes et les chevaux (Petersen et Roehrig, 2001). Environ 10 % des chevaux et 1 % des humains infectés par le virus *West Nile* présentent des troubles nerveux. Par exemple, en 2003 dans la province du Saskatchewan, au Canada, le taux de mortalité chez les chevaux malades a été de 44 %. Les études effectuées après la saison de surveillance ont montré que le nombre de cas avait été sous-estimé. Ces observations sont confortées par les résultats des infections expérimentales effectuées chez les chevaux (Bunning *et al.*, 2002). Dans une étude, un seul cheval infecté sur douze a présenté des troubles nerveux.

Mis à part la fièvre, les signes cliniques chez le cheval sont presque toujours des signes d'atteinte du système nerveux central (SNC) (figure 6, planche IV). Les signes les plus fréquents résultent d'une atteinte de la moelle épinière, avec ataxie, parésie, paralysie pouvant atteindre un ou plusieurs membres, les antérieurs ou les postérieurs, et pouvant évoluer jusqu'au décubitus et à la mort. Souvent, ces signes sont accompagnés de fasciculations et de spasmes musculaires. En plus des signes liés à une atteinte de la moelle, les chevaux peuvent présenter une atteinte de l'encéphale,

du tronc cérébral ou du cervelet (Ostlund *et al.*, 2000). Dans ces cas, l'ataxie est accompagnée de dysmétrie, d'un comportement et d'un état de vigilance modifiés, avec somnolence, abattement ou, au contraire, hyperexcitabilité, agressivité ou hyperesthésie. Quelques cas de paralysie du nerf facial (VII) ont été décrits, ainsi que des cas d'atteinte des nerfs vague (IX) et hypoglosse (XII), avec dysphagie ou parésie de la langue. Au cours de l'épizootie de 2004 en Camargue, certains chevaux ont seulement présenté des coliques⁴ ou une boiterie transitoire. Les modifications de comportement peuvent être subtiles et parfois difficiles à distinguer des stéréotypies ou du comportement indésirable chez un cheval mal éduqué.

Parmi les chevaux atteints de fièvre *West Nile*, une certaine proportion meurt spontanément, d'autres sont euthanasiés pour raisons éthiques. Les taux de mortalité chez les chevaux malades ont été de 38 %, 57 % et 42 % respectivement, au cours des épizooties aux États-Unis en 2000, en France en 2000 et en Italie en 1998 (Ostlund *et al.*, 2001). Au contraire de ce qui est observé chez l'homme, l'âge ne semble pas être un facteur de risque de mortalité chez le cheval.

Traitement et prophylaxie

Traitement de la maladie

De nombreux chevaux guérissent spontanément 3 à 5 jours après le début des signes cliniques. Le traitement est essentiellement symptomatique, comme chez l'homme, mais des difficultés supplémentaires sont liées au poids de l'animal et aux complications qui surviennent chez un animal en décubitus. Ces complications doivent être connues du praticien afin de les repérer et de pouvoir les traiter précocement pour un meilleur pronostic.

Un cheval présentant des troubles nerveux peut être dangereux pour lui-même et pour les personnes de son entourage. Le cheval doit être placé dans un box au calme, sans trop de lumière ni de bruit, pour limiter les *stimuli* extérieurs. Le box doit être si possible capitonné, avec une litière abondante qui apporte confort, chaleur et sécurité. Des bandages aux membres limitent la formation d'œdèmes et préviennent les blessures supplémentaires. Un casque en cuir permet de limiter le risque de traumatisme crânien. Des bandages ou un bonnet avec filets peuvent être mis sur la tête pour protéger les yeux et éviter les ulcères cornéens suite au décubitus.

Du fait de l'ataxie et du décubitus, de nombreux chevaux à syndrome neurologique ne sont plus aptes à absorber les quantités d'eau journalières qui leur sont nécessaires. Initialement, les fluides isotoniques polyioniques sont bien adaptés pour répondre aux besoins d'entretien. Cependant, il faut éviter l'hyperhydratation, car elle pourrait potentialiser la formation d'œdème cérébral et provoquer un œdème pulmonaire chez le cheval en décubitus.

Certains chevaux peuvent conserver suffisamment de force et de coordination pour se tenir debout avec l'aide d'un harnais de suspension. L'utilisation d'un harnais

4. Syndrome douloureux chez le cheval, se manifestant par des signes stéréotypés, dépendants de l'intensité mais indépendants du siège et de l'origine de la douleur : est abattu, gratte le sol avec un antérieur, se regarde les flancs, se couche, se roule...

peut être néfaste si le cheval se laisse complètement porter car des difficultés respiratoires peuvent survenir ou bien des zones peuvent être comprimées et entraîner secondairement des lésions (escarres, paralysies nerveuses) (Morresey, 2006).

Prophylaxie : vaccination chez le cheval

En Europe, la vaccination contre l'infection à virus *West Nile* peut être utilisée en tant qu'outil prophylactique dans l'espèce équine depuis juin 2009. Le vaccin inactivé *Duvaxyn WN*, commercialisé par Fort Dodge, a en effet reçu son AMM européenne fin 2008 et peut être utilisé sur la base du volontariat par les éleveurs et propriétaires de chevaux. Le protocole vaccinal prévoit deux injections de primo-vaccination, suivies par un rappel annuel.

►► Pathogénie de l'encéphalite à virus *West Nile*

La pathogénie de l'encéphalite à virus *West Nile* a été étudiée grâce à différents modèles animaux (Diamond *et al.*, 2003). Chez le hamster et la souris, le virus *West Nile* entraîne une méningo-encéphalite avec des caractéristiques de poliomyélite, ressemblant à la forme sévère de la maladie chez l'homme. Après inoculation sous cutanée, le virus se multiplie localement et dans les nœuds lymphatiques régionaux puis est transporté jusqu'à la circulation sanguine par les vaisseaux lymphatiques, produisant une virémie élevée avant d'atteindre le système nerveux central (SNC) (Xiao *et al.*, 2001). Les cellules de Langherans de la peau semblent impliquées dans le transport du virus vers les nœuds lymphatiques chez la souris (Johnston *et al.*, 2000). La présence synchrone du virus dans de nombreux organes, y compris le cerveau et la moelle épinière, suggère que l'entrée dans le SNC se fait par voie hématogène. La réplication virale et la virémie permettent la dispersion du virus dans d'autres tissus que le tissu nerveux et une augmentation de la concentration virale dans le sang qui facilitent peut-être l'invasion du SNC par la suite. Malgré cette dispersion, et de même que chez les humains, peu de lésions sont retrouvées dans les organes autres que nerveux chez les animaux infectés expérimentalement.

Dans les modèles animaux, comme pour l'homme, les neurones sont les principales cellules cibles, avec une atteinte préférentielle des cellules de Purkinje dans le cervelet, des neurones de la corne antérieure de la moelle épinière, du thalamus et des noyaux basaux (Shrestha *et al.*, 2003). Le mécanisme de ce tropisme sélectif au sein des cellules nerveuses n'est pas encore connu. La liaison au récepteur cellulaire pourrait impliquer le domaine III de la glycoprotéine d'enveloppe du virus *West Nile* (Beasley et Barrett, 2002), mais les récepteurs impliqués dans les cellules nerveuses n'ont pas encore été identifiés. La dégénérescence des neurones précède légèrement l'apparition d'un infiltrat inflammatoire lymphocytaire, constitué essentiellement de lymphocytes T CD8+ (Wang *et al.*, 2003).

In vivo, le virus *West Nile* est capable de se multiplier dans des cellules d'organes variés, dépendant de l'espèce hôte (Monath et Heinz, 1996). Ces tissus sont les neurones, les cellules gliales, les cellules de la rate, du foie, du cœur, des nœuds lymphatiques et du poumon (Cantile *et al.*, 2001). La réplication virale se fait dans

la région périnucléaire du réticulum endoplasmique rugueux (RER) et les protéines E, NS1 et prM nouvellement synthétisées sont transportées à l'intérieur du RER où les protéines prM et E subissent une hétérodimérisation (Deubel *et al.*, 2001). Les virions immatures sont transportés par les voies sécrétrices de la cellule jusqu'à la membrane cellulaire où se déroule le clivage final de la protéine prM grâce à l'action de la furine. Enfin, les virions sont libérés par exocytose ou bourgeonnement.

La neurovirulence et l'invasion du tissu nerveux par les flavivirus sont essentiellement associées aux variations d'une séquence de la protéine E, cependant d'autres protéines virales telles que la NS1 et la NS2b peuvent jouer un rôle. Plus récemment, le clivage « virulence » en fonction des lignages est rediscuté du fait de l'isolement de souches virulentes et moins virulentes à la fois dans les lignages 1 et 2.

La voie d'entrée des flavivirus dans le tissu nerveux n'est pas clairement démontrée, mais pourrait se faire soit par diffusion passive à travers l'endothélium capillaire, par réplication virale dans les cellules endothéliales puis bourgeonnement dans le parenchyme du SNC, ou par transport rétro-axonal à partir de l'épithélium olfactif. Le faible titre et la courte durée de la virémie chez le cheval (Bunning *et al.*, 2002), au contraire de ce qui est observé chez les oiseaux, et l'incapacité à détecter le virus *West Nile* dans les cellules endothéliales sont plutôt en faveur du dernier mécanisme (Cantile *et al.*, 2001).

Dans le modèle expérimental de l'infection par le virus *West Nile* chez le hamster, l'antigène viral n'a pas été détecté dans le bulbe olfactif des animaux infectés (Xiao *et al.*, 2001). Récemment, une étude a montré que le virus *West Nile* était capable de se propager par transport axonal à la fois dans le sens rétrograde et antérograde (Samuel *et al.*, 2007). Le transport axonal favorise l'entrée du virus dans le SNC et la paralysie aiguë d'un membre. Les traitements par administration d'anticorps ont pour objectif d'inhiber directement la diffusion transneuronale du virus et de prévenir les paralysies.

Le mécanisme de développement des lésions nerveuses n'est pas complètement élucidé. Une apoptose⁵ neuronale est systématiquement observée dans les infections expérimentales (Xiao *et al.*, 2001). Les données expérimentales suggèrent que l'apoptose induite par le virus est une cause importante de lésion nerveuse, mais il pourrait exister également des phénomènes immunopathologiques associés, dépendants des lymphocytes T CD8⁺ (Shrestha *et al.*, 2003). Cantile *et al.* (2001) ont d'ailleurs suggéré que les lésions nerveuses observées lors de l'infection naturelle chez le cheval comportaient une composante immunopathologique car des modifications de type inflammatoire étaient présentes même si l'antigène viral n'était pas présent en quantité abondante.

Seuls quelques rapports de lésions histologiques du SNC lors d'infection par le virus *West Nile* ont été publiés, et ces publications ne sont représentatives que des cas les plus sévères et mortels (Doron *et al.*, 2003). Les atteintes suraiguës, décrites dans les publications d'Omalu *et al.* (2003), sont caractérisées par un infiltrat mononucléaire périvasculaire (généralement lymphoplasmocytaire), à la fois dans les

5. Mort cellulaire programmée (selon un programme génétique établi). C'est une composante normale du développement d'un organisme multicellulaire, qui aboutit à la mort de cellules particulières, à certains endroits, à un moment précis. L'apoptose sert notamment à éliminer les cellules « usées ».

leptoméninges⁶ et dans le parenchyme du SNC, des nodules dans la microglie⁷, une hypercellularité diffuse due à la présence de lymphocytes, une activation de la microglie et des astrocytes⁸ du parenchyme. D'un point de vue morphologique, les lésions neuronales sont représentées à la fois par une nécrose neuronale aiguë, un indicateur non spécifique d'ischémie et une neuronophagie. Dans ce cas, l'inflammation est plus sévère dans les noyaux profonds (thalamus et noyau caudé) que dans le néocortex, et bien plus sévère dans le tronc cérébral, avec perte neuronale sévère et neuronophagie dans les noyaux des nerfs crâniens et la *substantia nigra*. Dans le cervelet, la couche des cellules de Purkinje⁹ est particulièrement touchée par l'inflammation, la perte neuronale et la gliose de la couche de Bergmann¹⁰. Une perte importante des neurones de la corne antérieure de la moelle, ainsi qu'une neuronophagie sont observées dans la moelle épinière (Granwehr *et al.*, 2004).

Les cas humains d'encéphalite à virus *West Nile* soulignent tous le neurotropisme prédominant, plus important pour les neurones profonds du cerveau et les noyaux du tronc cérébral que pour les neurones de la corticale, et pour les cellules cérébelleuses de Purkinje et les neurones moteurs de la moelle épinière. Cette tendance à attaquer les nerfs moteurs spinaux dans les cas sévères résulte en un syndrome similaire à la poliomyélite, décrit dans les rapports cliniques et épidémiologiques (Solomon *et al.*, 2003). Dans certains cas, la perte des neurones moteurs et des cellules des racines dorsales des ganglions produit une image de dégénérescence axonale dans les nerfs périphériques, sans démyélinisation évidente, ni remyélinisation qui pourrait suggérer un syndrome de Guillain-Barré¹¹.

Les facteurs d'hôte qui permettent au virus de franchir la barrière du SNC ne sont pas bien compris, mais l'immunosuppression ou l'immunosénescence pourraient jouer un rôle en augmentant l'amplitude et la durée de la virémie (Campbell *et al.*, 2002). Chez les animaux et l'homme, l'intégrité de la réponse immunitaire est corrélée à la résistance vis-à-vis de l'infection par le virus *West Nile*. Des études préliminaires ont montré que certains éléments de la réponse immunitaire innée jouaient un rôle protecteur essentiel contre l'infection par le virus *West Nile*, comme l'interféron

6. Membranes correspondant aux méninges molles arachnoïdes et pies-mères autour du cerveau et de la moelle épinière.

7. Ou cellules microgliales, petites cellules ovoïdes possédant des prolongements en contact avec des neurones avoisinants permettant ainsi la surveillance de leur intégrité. Lorsque les microglies détectent une anomalie ou une lésion, elles se rassemblent et migrent dans leur direction. Elles se transforment ensuite en macrophages d'un type particulier et digèrent alors les micro-organismes et les débris de neurones morts.

8. Cellules appartenant à la macroglie (composée de deux variétés de neurones : astrocytes et oligodendrocytes). La macroglie fait partie de la névroglie, qui est la substance réunissant les neurones (cellules nerveuses) et servant de tissu de soutien au système nerveux central.

9. Neurones GABAergiques du cortex cérébelleux, découvertes par Jan Purkinje au cours du XIX^e siècle.

10. Gliose de Bergmann, cellules considérées comme des astrocytes spécialisés caractéristiques du cervelet ; leur prolongement est disposé autour des soma des cellules de Purkinje.

11. Maladie auto-immune inflammatoire du système nerveux périphérique, appelé également polynévropathie aiguë inflammatoire démyélinisante, polyradiculonévrite aiguë idiopathique, polynévrite aiguë idiopathique ou paralysie ascendante de Landry ; maladie rare qui affecte les nerfs périphériques de l'organisme et se caractérise par une faiblesse, voire une paralysie et des sensations anormales.

alpha/bêta (IFN- α/β), l'immunoglobuline M, les cellules T $\gamma\delta$, et le complément¹² (Getts *et al.*, 2007 ; Shrestha *et al.*, 2006). Des expériences récentes chez le souris ont permis d'élucider comment les réponses immunitaires innées et acquises permettaient de protéger contre une dissémination du virus *West Nile* (Bourne *et al.*, 2007 ; Daffis *et al.*, 2007). L'interféron de type I (IFN- α/β) contrôle la phase initiale de l'infection par le virus *West Nile* et restreint le tropisme aux sites extra-neuraux, limitant ainsi la virémie et la dissémination au SNC (Samuel et Diamond, 2005). L'induction d'une immunoglobuline M (IgM) spécifique coïncide avec l'élimination du virus *West Nile* de la circulation sanguine (Diamond *et al.*, 2003), et les IgG spécifiques anti-*West Nile* N limitent la dissémination et aident à l'élimination du virus des cellules infectées. Des modifications de la perméabilité de la barrière hémato-méningée, associées à la production de cytokines et à l'inflammation des sites périphériques facilitent l'entrée du virus *West Nile* dans le SNC. Finalement, les lymphocytes T CD8+ contribuent à l'éradication du virus des cellules infectées, car il a été montré que des souris déficientes en cellules CD8+ ne sont pas capables d'éliminer complètement le virus du SNC, entraînant une morbidité plus élevée et une persistance du virus.

L'issue de l'infection par le virus *West Nile* dépend probablement à la fois de facteurs liés à l'hôte et à la virulence de la souche. Dans un modèle expérimental d'infection de souris par le virus de l'encéphalite de la vallée de Murray, un virus proche du virus *West Nile*, la pathogénicité dépend des réponses immunitaires innées, en particulier de l'interféron de type I (IFN- α/β) (Lobigs *et al.*, 2003). Un déficit dans cette réponse au cours de la phase aiguë d'invasion entraîne une augmentation de la réplication virale dans les tissus autres que nerveux, avec comme conséquence une entrée rapide du virus dans le cerveau.

Des cas d'infections persistantes par les flavivirus, y compris par le virus *West Nile*, ont été documentés *in vitro* et *in vivo* (Lancaster *et al.*, 1998 ; Xiao *et al.*, 2001). Ces infections persistantes ont été associées avec la production de particules infectantes déficientes, de mutants sensibles à la température, et ne formant pas de plaques en culture (Brinton, 1981, 1983 ; Brinton *et al.*, 1982).

► Les autres mammifères

Quelques informations relatives à l'infection par le virus *West Nile* chez les ovins sont disponibles. Des animaux séropositifs sans signes cliniques ont été identifiés (Filipe et Andrade, 1990 ; Juricova *et al.*, 1986 ; Ozkul *et al.*, 2005). Les brebis infectées expérimentalement développent de la fièvre et produisent des anticorps neutralisants protecteurs. Chez la brebis gestante, l'infection peut entraîner un avortement ou de la mortalité néonatale (Barnard et Voges, 1986). Le premier cas de fièvre *West Nile* chez une brebis, suite à une infection naturelle, a été diagnostiqué aux

12. Système du complément : groupe de 35 protéines du sérum travaillant avec les anticorps afin d'éliminer les pathogènes ; le complément est une cascade biochimique complexe du système immunitaire. Il stimule l'inflammation et l'opsonisation, facilite la phagocytose des antigènes, et lyse directement certaines cellules.

États-Unis en 2002 : une brebis a développé un syndrome fébrile rapidement suivi par une atteinte nerveuse avec ataxie et convulsions (Yaeger *et al.*, 2004).

Un autre cas d'une brebis de 4 ans atteinte de fièvre *West Nile* a été récemment décrit en Hongrie (Kecsckeméti *et al.*, 2007). La brebis présentait des signes neurologiques. Aucune autre brebis du troupeau n'était atteinte. La brebis est morte le 4^e jour après l'apparition des signes cliniques. Le virus isolé appartenait au lignage 2 de la phylogénie des virus *West Nile*, et une identité de 99,5 % a été observée avec une souche isolée chez un Autour des palombes (*Accipiter gentilis*) qui était mort en 2004 en Hongrie d'une atteinte neurologique suite à une infection par le virus *West Nile* (Bakonyi *et al.*, 2006). Ces observations montrent qu'une souche africaine de virus *West Nile* a pu se maintenir dans un climat tempéré européen, s'est adaptée à des vecteurs compétents, et a entraîné une encéphalite fatale chez une brebis, qui n'est pas un hôte habituellement sensible. Depuis, cette souche a émergé dans d'autres pays européens, dont la Grèce et l'Italie, et provoqué de nombreux cas humains et équins.

Hôtes potentiels

Selon les données actuelles, seuls les oiseaux permettent une persistance enzootique du virus *West Nile*. Le virus a été détecté chez de nombreuses espèces de mammifères comme les chauves souris, les chats, les chiens, les rats laveurs, les lièvres, les écureuils, les tamias (petits mammifères rongeurs de la famille des écureuils), les chamois, les rennes, les alpagas, les chameaux, et également chez les alligators (Hubalek *et al.*, 1999 ; Lichtensteiger *et al.*, 2003 ; Miller *et al.*, 2003). Bien que le virus ait été isolé chez des rongeurs au Niger et une chauve-souris en Inde, il semble que chez la plupart des mammifères, la virémie n'atteigne pas des taux suffisants pour contribuer au cycle de transmission (Austgen *et al.*, 2004 ; Bunning *et al.*, 2002 ; Ratterree *et al.*, 2004). Cependant, de plus en plus d'observations conduisent à penser que certains mammifères et reptiles pourraient être des hôtes amplificateurs compétents. Les écureuils et lapins à queue blanche (*Sylvilagus floridanus*), par exemple, présentent des virémies suffisantes pour infecter au moins une faible proportion de moustiques (Root *et al.*, 2006 ; Tiawsirisup *et al.*, 2005b).

Expérimentalement, le Tamia rayé (*Tamias striatus*), inoculé par voie intramusculaire avec $10^{1,5}$ à $10^{5,7}$ PFU de virus *West Nile*, développe des titres sériques suffisants pour infecter *Ae. triseriatus*, *Ae. vexans*, et *Cx. pipiens* (Platt *et al.*, 2007). La période de virémie la plus longue a été de 3 à 4 jours. Le virus *West Nile* a également été détecté dans l'intestin de 2 tamias et les reins de 4 autres tamias et dans l'urine, la salive et les fèces de quelques tamias. Ces données suggèrent que les tamias pourraient jouer un rôle dans le cycle enzootique du virus *West Nile* et être un hôte amplificateur suffisamment performant pour infecter des espèces de moustiques susceptibles ensuite de transmettre le virus à l'homme (Platt *et al.*, 2007).

Les reptiles sont également des hôtes amplificateurs potentiels car ils développent une virémie de longue durée et peuvent hiberner (Thomas et Eklund, 1960). Dans une étude, trois espèces de reptiles et une espèce d'amphibiens (le curseur rouge-

oreille, le serpent jarretière, l'iguane vert et la grenouille d'Amérique du Nord) semblaient être des hôtes amplificateurs incompetents pour une souche virale nord-américaine, et aucun signe de maladie n'a été observé chez ces animaux (Klenk et Komar, 2003). Par contre, des titres virémiques suffisants pour infecter des moustiques ont été mesurés chez de jeunes alligators (*Alligator mississippiensis*) infectés expérimentalement (Klenk *et al.*, 2004).

Une morbidité (Jacobson *et al.*, 2005a) et une mortalité (Miller *et al.*, 2003) importantes ont été observées chez des alligators élevés dans des conditions de température élevée et de surpopulation. Suite à une infection expérimentale, les titres de virémie sont élevés, > 105 PFU/ml, et suffisants pour infecter *Cx. quinquefasciatus* (Klenk *et al.*, 2004). Cependant, en condition de surpopulation, le virus pourrait également être transmis entre les animaux par voie directe *via* l'excrétion cloacale. Finalement, la proportion de moustiques infectés par ces hôtes dans les conditions naturelles reste à évaluer (McGee *et al.*, 2007 ; Reisen *et al.*, 2007a). Des études complémentaires sont nécessaires pour comprendre si cet aspect généraliste des vecteurs et du spectre d'hôtes vertébrés, qui semble être une caractéristique du virus *West Nile*, est essentiel pour sa persistance (Kramer *et al.*, 2008).

Autres modes de transmission : transmission non vectorielle

Les observations récentes ont permis de mettre en évidence de nouveaux modes de transmission, comme la transmission directe oiseau-oiseau par voie fécale-orale, et l'infection par voie orale suite à la consommation de carcasses infectées (Hartemink *et al.*, 2007 ; Komar *et al.*, 2003).

Les hypothèses de transmission *per os* chez les oiseaux ont été émises dès l'hiver 2000, lorsqu'une buse à queue rousse est morte d'une infection par le virus à un moment de l'année où les moustiques n'étaient plus actifs (Garmendia *et al.*, 2000). Peu après, McLean *et al.* (2001) ont rapporté une transmission entre corneilles maintenues dans la même cage, en l'absence de moustiques, probablement *via* un contact par la peau ou les sécrétions (McLean *et al.*, 2001). Komar *et al.* (2003) ont également démontré une transmission entre corneilles de la même cage, ainsi qu'une transmission orale (à partir de carcasses infectées). Dans toutes ces expériences, les taux d'infections observés étaient élevés. La transmission directe a également été démontrée chez les oies domestiques (Austin *et al.*, 2004).

Chez l'homme, des cas de transmission transplacentaire, par transfusion sanguine, par l'allaitement, par transplantation d'organe et au laboratoire ont été décrits. Une transmission probable du virus *West Nile* par l'allaitement maternel a été rapportée en 2002 (Hayes et O'Leary, 2004). Une femme de 40 ans a été infectée par le virus *West Nile* par transfusion sanguine peu de temps après qu'elle ait accouché d'un enfant sain. L'ARN du virus a été mis en évidence dans le lait maternel et des IgM ont été détectés chez l'enfant, qui est resté asymptomatique. Du fait de l'absence de signes cliniques chez l'enfant, et des bénéfices prouvés de l'allaitement maternel chez les nouveaux-nés, ce cas unique de transmission par le lait maternel observé dans le Michigan (CDC, 2002b), n'a pas conduit à une modification des recommandations liées à l'allaitement maternel.

En revanche, un cas de transmission intra-utérine du virus a entraîné une chorio-rétinite et des anomalies cérébrales sévères chez un enfant, avec un élargissement des ventricules des lobes temporaux (Alpert *et al.*, 2003). Le premier cas de transmission intra-utérine a été rapporté en 2002, chez une femme de 20 ans ayant contracté l'infection durant la 27^e semaine de gestation (Hayes et O'Leary, 2004). Le réseau de surveillance a permis d'identifier 4 autres mères ayant présenté une fièvre *West Nile* durant leur grossesse, 3 d'entre elles ont accouché d'enfants n'ayant aucun signe d'infection, ces enfants étant normaux à la naissance et à 6 mois. La quatrième mère a accouché prématurément d'un enfant présentant une détresse respiratoire aiguë mais pour lequel les tests vis-à-vis de l'infection par le virus *West Nile* n'ont pas été effectués. En 2003, les CDC ont reçu 74 rapports de mères infectées par le virus *West Nile* durant la gestation, la plupart de ces femmes ont accouché d'un enfant apparemment sain¹³. Bien que le dépistage systématique du virus *West Nile* chez les femmes enceintes asymptomatiques ne soit pas recommandé, une évaluation spécifique doit être effectuée chez l'enfant s'il existe une anamnèse d'infection chez la mère (CDC, 2004a).

Des laborantins ont été infectés sur leur lieu de travail en manipulant le virus *West Nile*, l'un par transmission transcutanée, l'autre probablement par aérosol (CDC, 2002a ; Nir *et al.*, 1965). Aucun de ces cas n'était sévère (CDC, 2002c). Ce mode de transmission inhabituel ne constitue pas un risque pour la santé publique, mais souligne l'importance des mesures sanitaires qui doivent être prises lors de la manipulation de tout prélèvement suspect (Granwehr *et al.*, 2004). Un épisode de fièvre *West Nile* chez des éleveurs de dindons a permis de suggérer à nouveau une possible transmission par aérosol chez l'homme (CDC, 2003) et dans un cas, l'infection a été acquise suite à une dialyse (CDC, 2004b).

Parmi les nouveaux modes de transmission connus, les plus importants à prendre en compte pour la santé publique sont les transmissions qui peuvent survenir suite à une transfusion sanguine ou à une transplantation. La transmission virale suite à transfusion sanguine a été rapportée la première fois pendant l'épidémie de 2002 en Amérique du Nord (Hayes et O'Leary, 2004). La transmission du virus *West Nile* par transplantation d'organe a également été décrite pour la première fois au cours de l'épidémie de 2002 (Hayes et O'Leary, 2004). Dans un cas, un donneur de plusieurs organes, ayant contracté l'infection suite à plusieurs transfusions sanguines effectuées dans le cadre de la réanimation, a, par la suite, transmis le virus à quatre receveurs de ces dons (Iwamoto *et al.*, 2003). En 2002, dans 23 cas, le virus *West Nile* a été transmis par l'intermédiaire de divers produits sanguins et dérivés (Pealer *et al.*, 2003). Les patients receveurs d'organes sont en permanence immunodéprimés et ont donc un risque plus élevé de faire une forme sévère de fièvre *West Nile*, même si la transmission se fait par une piqûre de moustique (Kumar *et al.*, 2004). En 2002, le risque de forme sévère de la maladie chez les receveurs d'organes a été estimé à 40 fois plus important que dans la population générale de Toronto, au Canada. Il n'est pas encore certain que les autres personnes immunodéprimées aient un risque plus élevé de développer une forme sévère de la maladie, mais des formes sévères ont bien été décrites chez des personnes immunodéficientes.

13. CDC, unpub. data.

Ces cas ont conduit à la mise en œuvre de tests de détection par RT-PCR sur les donneurs (CDC, 2004c). Dans les analyses multivariées, la fièvre, l'éruption cutanée et la douleur oculaire étaient les facteurs associés au risque d'infection par le virus *West Nile* chez les donneurs, mais le taux de virémie n'était pas différent entre les donneurs asymptomatiques ou malades (Pealer *et al.*, 2003). Il est important de noter qu'au moment du don, aucun donneur ne présentait d'anticorps vis-à-vis du virus. Après la mise en œuvre du nouveau protocole en 2003, seulement 6 cas d'infection par le virus *West Nile* acquise par transfusion sanguine ont été confirmés aux États-Unis. Chaque cas était associé à un donneur différent, et la plupart avaient un faible taux de virémie. En 2003, la méthode permettant de quantifier le virus chez les donneurs de sang était plus sensible et permettait de détecter 0,06 à 0,50 PFU/ml (l'équivalent de 25–250 copies de génome par ml). Ces accidents de transfusion, survenus malgré la mise en œuvre de tests systématiques, ont conduit à suggérer que dans les zones où l'activité du virus *West Nile* est importante, les donneurs de sang devraient être testés individuellement. Il reste à savoir si ces propositions seront mises en œuvre et si elles permettront effectivement de ne plus observer de transmission par transfusion (Brown *et al.*, 2007).

► Conclusion

La panzootie spectaculaire observée en Amérique du Nord a fortement attiré l'attention de la communauté sur le virus *West Nile*, et l'hypothèse que le même phénomène puisse se produire dans l'Ancien Monde a souvent été évoquée.

Une intensification de la circulation du virus *West Nile* a été rapportée ces dernières années. Le point culminant fut la flambée des cas d'infection dans plusieurs pays d'Europe et du bassin méditerranéen en 2010. De plus, l'émergence et l'augmentation de pathogénicité d'un virus de lignage 2 ont été observées. En 2011, une reprise de la circulation du *West Niles virus* est notée, à la fois dans les régions et au-delà des régions touchées par l'épidémie de 2012.

À ce jour, en l'absence d'une bonne compréhension des mécanismes qui ont conduit à ces recrudescences erratiques de virus *West Nile*, il est difficile de prévoir l'avenir. La température semble être un facteur clé influençant la transmission (Reiter, 2001). L'histoire naturelle de la fièvre jaune, de la dengue, du paludisme, du chikungunya et d'autres maladies en Europe montre que le risque d'introduction et de persistance d'un virus exotique en Europe est souvent le résultat de l'évolution de nos modes de transport et de l'augmentation du trafic international. Les risques induits par la globalisation sur la santé humaine pourraient donc être un défi beaucoup plus difficile à relever que celui du changement climatique.

Chapitre 6

Diagnostic de l'infection

MARC GRANDADAM ET CHARLOTTE RENAUDAT

Objectif : comment diagnostique-t-on l'infection humaine et équine à virus *West Nile* ?

Pour ces deux hôtes du virus que sont l'homme et le cheval, et dont l'épidémiologie et la symptomatologie sont très proches, il s'agit :

- du diagnostic clinique et de l'évolution de la maladie,
- de la cinétique des anticorps (IgM et IgG) utilisés comme marqueurs virologiques de l'infection,
- et des méthodes de diagnostic biologique de mise en évidence de virus *West Nile*.

L'absence de symptômes spécifiques ne permet pas un diagnostic clinique de l'infection à virus *West Nile*. Le diagnostic biologique se heurte à de nombreux écueils liés à la méconnaissance de l'existence de cette arbovirose par les cliniciens et au nombre restreint de laboratoires hospitaliers ou privés proposant le diagnostic biologique de cette infection.

La place du diagnostic biologique de cette virose est pourtant importante à différents titres. Chez l'homme, la recherche des marqueurs du virus *West Nile* fait partie du diagnostic différentiel des cas autochtones de méningites et méningo-encéphalites et des syndromes pseudo-grippaux estivaux. L'infection à virus *West Nile* fait également partie des maladies du voyageur qui ne doit plus être uniquement évoqué au retour d'un séjour en zone inter-tropicale. La mise en évidence de la transmission du virus par transfusion et par transplantation d'organes a ouvert de nouveaux champs pour le diagnostic biologique de cette infection. L'intérêt du diagnostic de l'infection à virus *West Nile* chez le cheval occupe une place similaire à celui conduit pour l'homme, l'épidémiologie et la symptomatologie de l'infection chez ces deux hôtes étant très proches. L'algorithme de diagnostic dans la filière équine est appelé à être révisé en raison de la récente commercialisation de vaccins. Le pouvoir pathogène du virus *West Nile* peut varier entre les espèces aviaires, l'infection pouvant conduire à des formes neuroinvasives ou asymptomatiques. À l'heure actuelle, la recherche de marqueurs d'une infection à virus *West Nile* chez l'oiseau n'est réalisée que dans le cadre de certains programmes de surveillance ou face à une mortalité anormale dans l'avifaune sauvage ou domestique.

Les implications de l'émergence rapide du virus *West Nile* dans plusieurs pays en termes de santé publique soulignent l'importance de poser le diagnostic biologique de l'infection tant à des fins de surveillance épidémiologiques et d'alerte, que pour la mise en place de certaines mesures préventives spécifiques (dépistage des donneurs

de sang et/ou d'organes). Dans ce chapitre, seul le diagnostic chez l'homme et le cheval seront abordés.

► Rappels taxinomiques

Le virus *West Nile* est classé dans le genre *Flavivirus* (*Flaviviridae*) et rattaché sur le plan antigénique au complexe du virus de l'encéphalite japonaise (chapitre 2). La discrimination des genres au sein de la famille des *Flaviviridae* a été établie sur les propriétés antigéniques des virus et les réactivités croisées de sérums immuns. S'il n'existe qu'un seul genre au sein de la famille des *Flaviviridae*, les différences de titres en inhibition d'héماغglutination, en fixation du complément et en séroneutralisation ont permis de distinguer quatre complexes antigéniques (chapitre 2). Le complexe antigénique du virus de l'encéphalite japonaise est le plus diversifié. Les comparaisons des séquences des génomes de flavivirus ont abouti à une classification tout à fait superposable (tableau 2.1, chapitre 2). En l'absence de marqueur direct d'infection (isolement, détection du génome), seules ces techniques (inhibition d'héماغglutination, fixation du complément et séroneutralisation) permettent l'identification formelle d'une espèce virale. En dépit de ses contraintes, la séroneutralisation reste la technique de référence pour l'identification d'espèce lorsque la détermination de séquence nucléotidique et peptidique n'est pas possible.

► Diagnostic clinique

Diagnostic clinique et paraclinique chez l'homme

Différentes formes cliniques

La très grande majorité des infections à virus *West Nile* sont asymptomatiques chez l'homme. Les études menées aux États-Unis depuis l'émergence du virus *West Nile* en 1999 ont permis de mieux préciser les proportions des différentes formes cliniques de l'infection. La recherche de marqueurs directs du virus *West Nile* (par isolement et/ou RT-PCR) chez les donneurs de sang a montré que 80 % des infections à virus *West Nile* étaient asymptomatiques. Parmi les 20 % des formes symptomatiques, plus de 19 % correspondent à des syndromes fébriles pseudo-grippaux accompagnés d'un cortège de symptômes non spécifiques, et moins de 1 % des patients développent des formes neuro-invasives (environ 1 cas sur 150).

Après 3 à 14 jours d'incubation (des périodes d'incubations plus longues ont été rapportées chez des patients immunodéprimés), les patients développent un syndrome fébrile indifférencié, avec fièvre, frissons, céphalées, myalgies, arthralgies, douleurs rétro-orbitaires. D'autres signes généraux non spécifiques, comme une anorexie, des nausées, des vomissements, une diarrhée, une toux, des maux de gorge, une injection conjonctivale et une lymphadénopathie généralisée sont souvent signalés. Une éruption cutanée, maculo-papuleuse ou morbilliforme est rapportée chez environ la moitié des patients, surtout les enfants (Davis *et al.*, 2008). Une

fatigue persistante à l'issue de ces formes non compliquées a été décrite chez près de la moitié des patients atteints par une forme symptomatique, 3 mois après l'épisode aigu. Chez ces patients, des troubles de la mémoire et des douleurs musculaires sont également décrits (Sejvar, 2007).

Parmi les patients développant une forme neurologique, 35 à 40 % développent une méningite, 55 à 60 % une encéphalite et 5 à 10 % une myélite (paralysie flasque) (Sejvar, 2007). D'autres syndromes neurologiques ont été décrits, tels des névrites craniale ou périphériques, ou d'autres neuropathies dont le syndrome de Guillain-Barré.

Examens complémentaires

Les examens complémentaires retrouvent une numération formule sanguine normale, ou une leucocytose modérée. Une hyponatrémie est présente dans un tiers des cas, en rapport avec une sécrétion inappropriée d'hormone antidiurétique, et des perturbations du bilan hépatique dans un quart des cas (Davis *et al.*, 2008). L'examen du liquide céphalo-rachidien retrouve chez 40 % des patients atteints de méningite ou d'encéphalite à virus *West Nile* une pleïocytose à prédominance initialement neutrophile, qui devient ensuite lymphocytaire. Près de la moitié des patients atteints d'encéphalite (47 %) ont une hyperprotéïnorachie (> 100 mg/dl), contrairement aux patients atteints de méningite chez lesquels cette observation est faite bien moins fréquemment (Tyler *et al.*, 2006 ; Davis *et al.*, 2008). Le scanner (TDM) cérébral est habituellement normal, mais l'imagerie par résonance magnétique (IRM) peut retrouver des images anormales non spécifiques, à type d'hyper-sigaux en T2 ou en séquences FLAIR, au niveau des noyaux gris centraux, de la substance blanche, du thalamus, du tronc cérébral, et du cervelet (Ali *et al.*, 2005).

Évolution

La létalité des formes neurologiques est globalement de 10 %. Les méningites ont une évolution plus favorable, avec une létalité de 5 %, que les encéphalites pour lesquelles la mortalité à la phase aiguë a été évaluée à environ 20 % (Sejvar, 2007). Dans ces cas, le décès est souvent lié à une détresse respiratoire aiguë ou des complications cardiaques. La mortalité à un an de la phase aiguë reste également élevée chez les patients ayant présenté une forme encéphalitique, et est comparable à celles de patients présentant une maladie grave et chronique (Sejvar, 2007). Les patients ayant souffert de forme encéphalitique présentent également plus fréquemment des séquelles neurologiques, notamment la persistance de mouvements anormaux, pouvant entraîner une baisse d'autonomie et une nécessité d'hospitalisation en long séjour. Concernant les patients atteints de myélite, qui résulte d'une atteinte virale des motoneurons de la corne antérieure de la moelle épinière, entraînant une paralysie flasque aiguë typiquement observée dans la poliomyélite, l'évolution dépend du territoire atteint, et la mortalité peut atteindre plus de 50 % en cas d'atteinte de l'innervation du diaphragme et des muscles respiratoires intercostaux (Sejvar, 2007). Ces patients peuvent également présenter des séquelles à type de difficultés respiratoires nécessitant le maintien sous oxygène pendant des années suivant l'infection aiguë. Pour les autres formes cliniques, la récupération est variable.

Les facteurs de risque identifiés de développer une atteinte neurologique après une infection par le virus *West Nile* sont l'âge élevé, un antécédent d'hypertension, une maladie cardiovasculaire, un diabète et l'immunosuppression (patients transplantés ou SIDA) (Jean *et al.*, 2007 ; Murray *et al.*, 2009 ; Davis *et al.*, 2008 ; Sejvar, 2007). Le risque de maladie neuroinvasive après une infection par le virus *West Nile* est très élevé chez les personnes transplantées. Il a été estimé à 40 % contre moins de 1 % pour la population générale (Kramer et Shi, 2007).

Les facteurs de risques de décès au cours d'une atteinte neuroinvasive sont l'atteinte encéphalitique, l'antécédent d'accident vasculaire cérébral, la nécessité de recourir à une ventilation mécanique et l'immunosuppression (Bode *et al.*, 2006).

Autres formes cliniques

D'autres formes cliniques, à type de rhabdomyolyses, chorioretinites, myosites, atteintes du système nerveux autonome, ainsi que des atteintes additionnelles aux atteintes neurologiques telles que des hépatites, pancréatites, myocardites, orchites, uvéites et hyalites (atteinte du corps vitré de l'œil) ont été décrites au cours de l'infection par le virus *West Nile* (Kramer et Shi, 2007).

Diagnostic clinique chez le cheval

Comme chez l'homme, l'infection par le virus *West Nile* est le plus souvent asymptomatique chez le cheval (voir également chapitre 5). Après une période d'incubation de 3 à 15 jours, environ 20 % des chevaux infectés présentent un syndrome pseudo-grippal avec hyperthermie et abattement. Le cheval développe plus fréquemment une symptomatologie neurologique que l'homme. Ainsi, 1 à 10 % des chevaux infectés présentent des signes d'atteinte du système nerveux central avec, par ordre de fréquence, ataxie, parésie ou paralysie (touchant le plus souvent les membres postérieurs), modification du comportement, tremblements musculaires, plus rarement déficits des nerfs crâniens. Parfois, la maladie se manifeste par une symptomatologie plus frustre (coliques, boiterie, modification transitoire du comportement). Enfin, quelques rares cas d'hépatites ont été décrits. La phase fébrile dure 3 à 6 jours, et les symptômes neurologiques peuvent persister 5 à 30 jours. La létalité des chevaux présentant une atteinte nerveuse varie de 28 à 45 % selon les épidémies. Des séquelles peuvent persister dans moins de 20 % des cas : perte de poids, perte de condition physique, léthargie, ataxie, trébuchements et déficits des nerfs crâniens (Dauphin et Zientara, 2006 ; Tritz *et al.*, 2009).

► Cinétique des marqueurs virologiques au cours de l'infection

Dans les conditions naturelles, le virus *West Nile* est transmis par un arthropode vecteur. Une phase d'incubation asymptomatique d'une durée moyenne de 12 jours (extrêmes : 3 à 15 jours) suit la piqûre infectante. La virémie est à ce stade positive

(Bunning *et al.*, 2002 ; Busch *et al.*, 2008) avec des titres faibles comparés à d'autres arboviroses (Laurent *et al.*, 2007 ; Bird *et al.*, 2009). Les données obtenues au cours d'études sur les donneurs de sang ou par l'infection expérimentale de chevaux ont permis de démontrer que les titres des virémies sériques ou plasmatiques chez ces deux hôtes dépassaient rarement 10^3 copies de génome par millilitre de sang (Rios *et al.*, 2007). La virémie précède la phase d'état et est généralement négative ou très faible lors de la phase aiguë de la maladie.

Aucune forme chronique n'a été décrite à ce jour. Cependant, des observations chez des hamsters infectés expérimentalement et sur quelques cas humains rapportent la mise en évidence de virus par isolement et RT-PCR dans les urines jusqu'à 8 jours après la phase d'état chez l'homme et jusqu'à plus de 200 jours après l'inoculation expérimentale chez le hamster (Tonry *et al.*, 2005 ; Tesh *et al.*, 2005). Ces données, bien que ponctuelles, mériteraient d'être approfondies afin de déterminer la place que pourrait jouer la recherche d'une virurie dans le diagnostic direct précoce de l'infection à virus *West Nile*.

L'apparition précoce des anticorps participe très certainement au contrôle de la virémie (Bush *et al.*, 2008). La présence des IgM est détectable dès le 3^e jour de la phase d'état (figure 6.1). La mise en évidence d'une synthèse intratéchale d'IgM

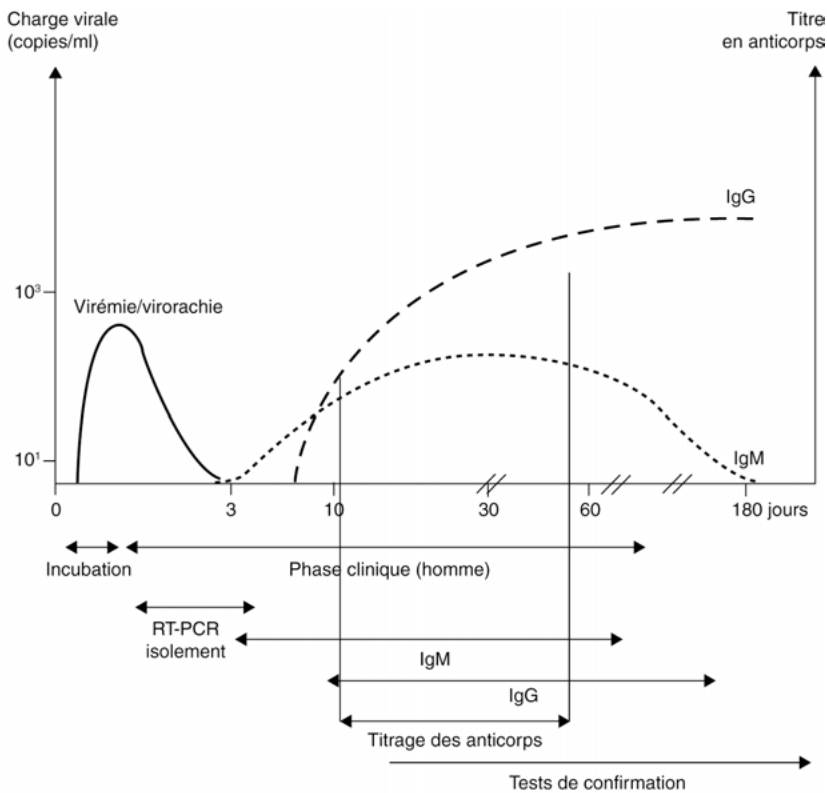


Figure 6.1. Cinétique de marqueurs de l'infection à virus *West Nile* chez l'homme. Cette courbe ne fait pas apparaître la persistance des IgM observées chez certains patients.

constitue un élément majeur du diagnostic des formes neurologiques de l'infection du fait de leur précocité. La mise en évidence des IgM et leur quantification concomitante dans le sérum et le liquide céphalo-rachidien signe de façon indirecte la réplication du virus *West Nile* au niveau du système nerveux central. Les IgG sont détectables dans les 10 jours suivant le début de la phase aiguë avec souvent une séroconversion entre le 5^e et le 7^e jour. La recherche de la séroconversion IgG sur un sérum tardif conforte le diagnostic. Dans de nombreuses régions géographiques cocirculent des flavivirus dont la plupart croisent en sérologie avec le virus *West Nile* : virus *West Nile* et encéphalite de Saint-Louis aux États-Unis, virus *West Nile* et encéphalite à tique en Europe de l'Est et Russie... En l'absence de détection directe du virus *West Nile*, la mise en œuvre de techniques complémentaires est nécessaire pour poser un diagnostic de certitude.

Dans une étude américaine récente portant sur le suivi de cas confirmés de formes neurologiques d'infection à virus *West Nile*, les auteurs ont montré que 50 % des sujets étaient encore positifs en IgM 8 mois après la phase aiguë (Roehrig *et al.*, 2003). Cette « persistance » des IgM pose le problème de la datation des infections. En effet, dans les définitions de cas communément admises, la présence des IgM constitue la signature d'une infection récente qui, dans un contexte de surveillance et d'alerte, déclenche une enquête autour du cas et peut impliquer des mesures de contrôle, de lutte antivectorielle, une éventuelle restriction de collecte de produits dérivés du corps humain (sang, prélèvements d'organes ou de tissus) et des mesures de quarantaine pour certaines espèces animales (chevaux). Plusieurs approches ont été évaluées pour tenter de différencier ces deux situations (voir p. 114). L'infection à virus *West Nile* induit une immunité protectrice à vie dont une composante est neutralisante. Sur le plan génétique, les différents variants du virus *West Nile* actuellement connus se répartissent en huit lignages (chapitre 2). Bien que seules des données de séquence soient disponibles pour certains variants, il semble que tous appartiennent à un même sérotype. La réponse neutralisante générée par un variant pourrait donc conférer une protection croisée contre les différents lignages du virus.

► Diagnostic biologique

Méthodes de diagnostic

Le diagnostic de l'infection à virus *West Nile* est biologique, la symptomatologie chez l'homme et le cheval n'étant qu'évocatrice. Chez l'homme, l'interrogatoire du patient ou de son entourage est primordial afin de rechercher des facteurs d'exposition (séjour en zone d'endémique ; exposition à des vecteurs...), de déterminer la date de début des symptômes afin d'orienter le diagnostic (méthodes directes, indirectes) et la recherche d'étiologies alternatives. Différents systèmes de surveillance d'autres arboviroses (TBE, plans anti-dissémination de la dengue et du Chikungunya) dont certaines sont inscrites sur la liste des maladies à déclaration obligatoire, sont en place en France. Il est donc important de pouvoir disposer d'éléments de diagnostic biologique fiables afin de pouvoir intégrer les données des cas suspects dans les systèmes de surveillance correspondants.

Prélèvements, transport

La recherche de marqueurs d'infection à virus *West Nile* peut être effectuée sur différents types de prélèvements qui seront réalisés en fonction de la forme clinique et du délai par rapport à l'apparition des symptômes. Comme pour toute autre recherche d'étiologie virale, la disponibilité de renseignements cliniques et épidémiologiques, les conditions et délais de transport sont déterminants (tableau 6.1).

Tableau 6.1. Prélèvements et conditions de transport des échantillons.

Prélèvement	Phase de la maladie	Conditions de transport	Techniques de diagnostic			
			Antigène	RT-PCR	Isolement	Sérologie
Sang (EDTA)	Aiguë	0-4 °C → 5 j	1	Oui	Oui	Oui
	Convalescence	0-4 °C	Non	Non	Non	Oui
Sérum/plasma	Aiguë	0-4 °C si < 24 h - 80 °C si > 24 h	1	Oui	Oui	Oui
	Convalescence	0-4 °C	Non	Non	Non	Oui
Liquide céphalo-rachidien*	Aiguë	0-4 °C si < 24 h - 80°C si > 24 h	1	Oui	Oui	Oui
	Convalescence	0-4 °C si < 24 h - 80 °C si > 24 h	Non	Non	Non	Oui
Biopsies	Aiguë	- 80 °C	2	Oui	Oui	Non
	Post-mortem	- 80 °C	2	Oui	Oui	Non

1 : ELISA ; 2 : immunohistochimie ; * tout LCR doit systématiquement être accompagné d'un prélèvement sanguin contemporain de la ponction lombaire.

Diagnostic direct

La faible charge virale chez l'homme et le cheval et la brièveté de la virémie et de la virorachie sont les principales limites au succès d'une mise en évidence directe du virus. En dehors des plans de surveillance, le diagnostic de l'infection à virus *West Nile* est rarement évoqué en première ligne. Les prélèvements précoces sont alors inaccessibles ou leurs conditions de conservation inappropriées réduisent les chances de détection. À l'heure actuelle, aucune méthode d'antigénémie n'a été validée. Le diagnostic direct repose sur l'isolement viral et la recherche de génome viral par RT-PCR.

Isolement du virus

Historiquement, l'isolement des arbovirus, dont le virus *West Nile*, était réalisé par inoculation des prélèvements sur cerveaux de souriceaux nouveau-nés. Bien qu'extrêmement sensible, cette méthode n'est plus utilisée en routine en raison de son coût lié au niveau de confinement (animalerie A3) et de sa lourdeur logistique (maintien de femelles gestantes, disponibilité des souriceaux).

L'isolement du virus en culture de cellules est réalisable à partir de différents types de prélèvements (sang, liquide céphalorachidien, biopsies). De nombreuses lignées de cellules de mammifères (Vero, BHK21) ou de moustiques (C6/36, AP61) sont permissives au virus. En dépit de la sensibilité des cellules, l'isolement initial est souvent long. Une première culture de 5 à 7 jours aboutie le plus souvent à une absence de signal de multiplication virale. Un passage aveugle, consistant à inoculer une partie de la culture initiale (cellules et surnageant) sur des cellules fraîches, augmente la sensibilité de l'isolement. La multiplication du virus *West Nile* peut être mise en évidence par l'apparition d'un effet cytopathique sur certaines lignées de cellules. Des plages de lyse ou une destruction de la nappe cellulaire peuvent être observées sur les cellules de mammifères alors que des polycaryons peuvent apparaître sur les lignées de cellules d'insecte. Cependant, ces effets cytopathiques ne sont pas spécifiques. L'identification formelle du virus fait appel à des techniques complémentaires. Une recherche de génome viral par RT-PCR spécifique ne sera envisagée que dans le cas où la culture est orientée par des arguments forts (étude d'un foyer actif de transmission, mise en évidence d'une séroconversion). En général, l'analyse d'une culture est basée sur la recherche d'antigènes viraux par immunofluorescence indirecte à l'aide d'ascite hyperimmune de souris ou d'anticorps monoclonaux. Hormis pour certains anticorps monoclonaux, les possibles réactions croisées de ces différents types d'anticorps au sein du genre *Flavivirus* ne permettent pas de déterminer formellement l'espèce virale en cause. Un test de séroneutralisation ou un criblage par RT-PCR est alors nécessaire pour confirmer l'espèce virale.

Mise en évidence du génome viral

Outre l'intérêt de cette recherche en diagnostic conventionnel, des efforts particuliers ont été effectués pour la mise en évidence du génome du virus *West Nile* afin de parer au risque de transmission par transfusion et par transplantation (Zhang *et al.*, 2009). De nombreuses méthodes d'amplification de gènes par RT-PCR conventionnelles ou en temps réel ont été décrites et sont appliquées par des laboratoires européens de référence. La mise en évidence de la circulation de souche de lignage 2 en Europe a remis en question l'approche diagnostic de certains laboratoires. Une étude a montré que 40 % des laboratoires ayant participé à un contrôle international de qualité ne détectaient pas les souches de lignage 2 (Niedrig *et al.*, 2006). Parmi les 8 lignages de virus *West Nile* reconnus à ce jour, 5 ont été identifiés en Europe, ce qui souligne la nécessité de disposer d'outils de détection prenant en compte la pleine diversité du virus (Bakonyi *et al.*, 2005 ; Arnez et Avsic-Zupanc, 2009 ; Papa *et al.*, 2011a).

Diagnostic indirect

La phase d'incubation de l'infection à virus *West Nile* est associée à une réplication virale objectivée par une virémie modérée chez l'homme et le cheval. Il en résulte une stimulation intense du système immunitaire qui se traduit par une séroconversion précoce. Les techniques de détection du virus sont souvent prises en défaut même au début de la phase symptomatique (figure 6.1). La recherche des anticorps occupe en conséquence un rôle central dans le diagnostic chez l'homme et le cheval.

Méthodes de détection de routine

La mise en évidence d'anticorps anti-virus *West Nile* reposait initialement sur des techniques de type inhibition d'héماغglutination ou de fixation du complément. Ces méthodes, toujours employées dans certains pays d'Europe et par certains laboratoires de référence à des fins de diagnostic ou de confirmation, ont été supplantées par des techniques de type ELISA. Les méthodes développées en interne par certains laboratoires pour la recherche d'anticorps anti-virus *West Nile* sont basées sur le principe de la capture des IgM et sur des ELISA de type sandwich pour la recherche des IgG. Les antigènes utilisés dans ces tests sont pour la plupart des antigènes natifs inactivés dérivés de culture de cellules. Ces montages complexes permettent de réduire significativement le bruit de fond et augmentent le seuil de spécificité des sérologies en particulier pour les chevaux pour qui le caractère hypergammaglobulinémique favorise les réactions faussement positives. Les trousses commerciales de type ELISA utilisent pour la plupart des montages identiques avec comme source d'antigène des fragments de protéine E recombinantes.

Quelle que soit la nature de l'antigène utilisé, des réactions croisées existent entre les antigènes et les anticorps au sein du genre *Flavivirus*. L'interprétation des sérologies est de ce fait délicate en raison de la co-circulation possible dans une même région d'autres flavivirus appartenant à des complexes antigéniques identiques ou différents. C'est par exemple le cas en Europe où la présence des virus du groupe des encéphalites à tique recouvre les zones d'émergence ou d'endémie du virus *West Nile* (Papa *et al.*, 2011b). Ces réactions croisées sont également à prendre en compte dans le cadre des plans de surveillance du virus *West Nile* où la détection des cas peut déclencher une cascade de mesures préventives (lutte anti-vectorielle, éviction temporaire de donneurs de sang...). Enfin, elles peuvent être la cause d'un retard dans le déclenchement des alertes liées à une émergence comme ce fut le cas aux États-Unis en 1999, les premiers cas d'encéphalite enregistrés à New York ayant été initialement attribués au virus de l'encéphalite de Saint-Louis, autre flavivirus du complexe de l'encéphalite japonaise endémique sur le continent nord-américain.

La mise en évidence de la réactivité d'un prélèvement contre un antigène du virus *West Nile* ne suffit donc pas à poser le diagnostic mais nécessite la mise en œuvre de méthodes de confirmation.

Méthodes de confirmation

La mise en évidence d'un marqueur direct de l'infection à virus *West Nile* est aléatoire. La sérologie constitue un outil fiable mais son interprétation reste délicate en raison de l'existence de réactions croisées au sein du genre *Flavivirus*. Les critères de confirmation sérologiques incluent l'investigation d'un prélèvement tardif visant à mettre en évidence une séroconversion complète (IgM et IgG) sans pour autant permettre une identification formelle des espèces virales. Différentes techniques permettant d'évaluer la spécificité des anticorps ont été utilisées pour discriminer les flavivirus : inhibition d'héماغglutination, fixation du complément, séroneutralisation et western blot. Les deux premières ne sont plus que rarement mises en œuvre en raison des l'instabilité des réactifs (globules rouges) et de la complexité à préparer les antigènes. La séroneutralisation est à l'heure actuelle la technique

de référence mais de nouvelles approches basées sur des techniques d'immuno-empreintes (western blot) permettent de pallier la lourdeur de la séroneutralisation.

Séroneutralisation

La méthode de référence pour contrôler la spécificité des anticorps réactifs contre un antigène du virus *West Nile* est l'épreuve de séroneutralisation. Cette technique requiert des conditions de travail rigoureuses en particulier pour la calibration des stocks de virus. La détermination du titre neutralisant nécessite la réalisation d'une gamme de dilution du sérum à tester. Un sérum est considéré comme positif s'il présente une activité neutralisante de 80 % à la dilution 1/20^e (Cabre *et al.*, 2006). Le seuil est différent en diagnostic vétérinaire. L'Organisation internationale des épizooties (OIE) recommande un seuil fixé à au moins 90 % de neutralisation à la dilution au 1/10^e pour poser une confirmation d'infection à virus *West Nile* chez le cheval. Dans les zones d'émergence, il peut être utile de tester en parallèle un autre flavivirus pour s'assurer de la bonne spécificité en particulier pour les sérums présentant des titres faibles. Cette méthode délicate est contraignante et longue (3 à 5 jours de culture) ce qui encourage le développement de méthodes alternatives.

Test d'immuno-empreinte (western blot)

Différents travaux de mise au point et d'évaluation de test d'immuno-empreinte par rapport à l'épreuve de séroneutralisation ont été publiés (Cabre *et al.*, 2006). Les tests de type « western blot », moins sensibles que les ELISA, sont en revanche d'excellentes techniques de seconde ligne en raison de leur pouvoir discriminant. Le choix des antigènes est, dans le cas des flavivirus, déterminant. En effet, les réactions croisées au sein du genre *Flavivirus* ne se limitent pas aux seules protéines structurales ce qui suppose de pouvoir évaluer la réactivité des sérums contre le profil protéique complet. La possibilité de traiter des échantillons unitaires dans un délai court (24 heures) justifie d'autant plus l'intérêt du western blot dans l'algorithme de confirmation des cas suspect d'infection à virus *West Nile*.

Discrimination des infections récentes et anciennes

La présence d'IgM anti-virus *West Nile* est un critère d'infection récente (moins de six mois). La persistance des IgM anti-virus *West Nile* observée chez certains patients, y compris dans le liquide céphalo-rachidien, pose le problème de l'interprétation des sérologies. Différentes approches, inspirées des problématiques liées aux infections itératives de la dengue, ont été proposées pour tenter de discriminer les infections récentes des cas de persistance. Des techniques basées sur des mesures d'affinité et d'avidité des anticorps ont ainsi été mise au point (Levett *et al.*, 2005). Ce test permet de distinguer trois types de situation : infections récentes, phases de convalescence et phases de rémission avec persistance des IgM (Levett *et al.*, 2005). L'évaluation de l'avidité est basée sur une comparaison des densités optiques (DO) obtenues pour un même sérum incubé en présence d'une forte concentration d'urée (6 M). L'avidité des IgG augmentant avec le temps, plus le rapport DO(sérum + urée)/DO(sérum + PBS) est élevé, plus l'avidité des anticorps est forte. Une valeur supérieure ou égale à 60 pour ce rapport signe une infection ancienne alors qu'un

rapport inférieur ou égal à 40 permet de conclure à une infection récente (Levett *et al.*, 2005).

Une autre approche consiste à calculer le ratio des densités optiques relevées pour un sérum éprouvé contre l'antigène viral et contre un antigène contrôle. Au début de la phase aiguë, les valeurs de ratio élevées en IgM sont associées à des valeurs faibles de ratio en IgG. Dans les 15 jours qui suivent le début de la phase d'état, le ratio en IgG augmente pour atteindre une valeur plateau. Au-delà de 30 jours, les tendances s'inversent et la valeur du ratio en IgG reste stable dans le temps et le ratio en IgM diminue. Dans cette période, le titrage des anticorps neutralisant est pertinent (Roehrig *et al.*, 2003). Une augmentation du titre neutralisant d'un facteur au moins égal à 4 permet de conclure à une infection récente. En pratique, cela suppose de pouvoir disposer de deux sérums prélevés dans un intervalle de 3 semaines.

Chez les sujets atteints de méningite ou d'encéphalite, les valeurs du ratio en IgM atteignent un pic entre J0 et J30 avec des valeurs de l'ordre de 15 puis décroissent. Dans les cas de persistance des IgM, ce ratio a une valeur faible et stable de l'ordre de 3 en moyenne (Roehrig *et al.*, 2003). Les IgM restent détectables au moins jusqu'à 12 mois après le début de la phase aiguë. Chez ces sujets atteints de formes neuro-invasives, la persistance des IgM pourrait être liée à l'âge, 56 % des sujets de plus de 65 ans restant positifs à 9 mois contre 44 % des sujets de moins de 65 ans (Roehrig *et al.*, 2003). Cette persistance est également nettement plus fréquente chez les sujets ayant développé une encéphalite.

La recherche d'un marqueur alternatif a débouché sur la mise en évidence d'IgA anti-virus *West Nile* dans le sang et le liquide céphalo-rachidien des malades (Prince *et al.*, 2005). Une étude de la cinétique des IgA sériques a montré que, tout comme les IgM, les IgA pouvaient persister au-delà de 200 jours après l'infection. Ce marqueur est en revanche précoce et son apparition est concomitante à celle des IgM (Prince *et al.*, 2005). La recherche des IgA dans le liquide céphalo-rachidien à la même valeur prédictive positive que les IgM (Nixon et Prince, 2006). En revanche, ce marqueur ne permet pas de discriminer les infections récentes des infections anciennes avec persistance des IgM.

► Domaines d'application du diagnostic de l'infection

Diagnostic différentiel des méningo-encéphalites virales

En France, quatre arbovirus responsables de syndromes neurologiques ont été identifiés, parmi lesquels trois circulent dans les départements français du pourtour méditerranéen (Tahyna, Toscana, *West Nile*), zone d'endémie du virus *West Nile*. Plus récemment, de nouveaux arbovirus potentiellement neurotropes ont été décrits, leur rôle en pathologie humaine restant encore à démontrer (Charrel *et al.*, 2009 ; Peyrefitte *et al.*, 2013). Pendant la période d'activité des vecteurs (juin – octobre), une surveillance renforcée est mise en place afin d'identifier les arbovirus à l'origine des syndromes méningées. Ce dispositif est basé sur une définition de cas suspect d'infection à virus *West Nile* tant pour les chevaux que pour l'homme.

Surveillance des cas d'importation

Le diagnostic doit être évoqué au retour d'une zone d'endémie ou d'épidémie. L'interrogatoire du malade est encore une fois important afin d'éliminer les autres étiologies possibles, de vérifier la compatibilité de la date du retour de voyage et la durée d'incubation, de mettre en œuvre les techniques de diagnostic direct et/ou indirect et de différenciation des virus apparentés.

Transfusion et transplantation

L'émergence du virus *West Nile* aux États-Unis a fait apparaître de nouveaux modes de transmission de cet arbovirus. Les études sur les donneurs de sang asymptomatiques américains ont montré que les virémies varient de moins de 100 copies à 3 200 copies par ml en fonction des profils sérologiques (Bush *et al.*, 2008). Ces niveaux considérés comme faibles sont cependant suffisants pour provoquer des contaminations transfusionnelles ayant conduit dans 40 % des cas à des formes neurologiques de la maladie (voir p. 106).

L'identification de cas confirmés d'infection à virus *West Nile* dans le Var en 2003 a été à l'origine d'une suspension temporaire des collectes de sang dans les départements de l'arc méditerranéen. Le dépistage génomique viral systématique n'est pas en place en France. Cependant, un plan de surveillance prévoit, en cas de dépassement d'un seuil d'alerte défini par l'identification d'un cas autochtone humain ou équin confirmé, la mise en quarantaine des produits sanguins déjà prélevés et la fourniture en urgence aux antennes de l'établissement français du sang de trousses de dépistage du génome viral.

► Conclusion – Perspectives

Le diagnostic d'infection à virus *West Nile* n'est évoqué de façon systématique que dans un nombre limité de pays où la circulation du virus est permanente (États-Unis) ou fréquente (Israël) et qui disposent de moyens adéquats. En Europe, la recherche du virus *West Nile* est essentiellement saisonnière, pour ce qui concerne la recherche de cas autochtones, et permanente pour les cas d'importation, en particulier lorsqu'il s'agit d'une évaluation de risque dans le cadre d'une transplantation. Cette activité est en revanche hétérogène, chaque pays évaluant son niveau de risque et l'opportunité d'investir dans la surveillance ou le diagnostic prospectif de cette arbovirose. Des trousses sérologiques commerciales sont maintenant disponibles et de plus en plus de laboratoires hospitaliers et privés de biologie médicale sont dotés de plates-formes de diagnostic moléculaire. Potentiellement, le diagnostic pourrait être plus exhaustif mais le nombre de demande d'examen pour une suspicion de cas autochtone reste limité d'autant plus que la plupart des formes cliniques sont bénignes. En France, la zone de surveillance se limite à l'heure actuelle aux départements du littoral méditerranéen. L'intérêt pour ces recherches dépend également pour une grande partie de la sensibilisation et de la mobilisation des cliniciens.

Dans certains pays, l'aire de répartition du virus *West Nile* recoupe celle d'autres arbovirus neurotropes endémiques (TBE) ou émergents (Usutu en Italie) (Lelli *et al.*, 2008 ; Arnez et Avsic-Zupanc, 2009). La prise en compte de ces virus dans la démarche de diagnostic est importante, en particulier pour ce qui concerne les capacités des laboratoires à différencier les espèces virales. Rappelons que l'épidémie de virus *West Nile* au États-Unis a été initialement attribuée au virus de l'encéphalite de Saint-Louis en raison des réactions sérologiques croisées entre les deux virus. Le bénéfice direct pour le patient est limité en raison de l'absence de traitement antiviral spécifique. En revanche, l'intérêt est majeur sur le plan épidémiologique et pour la mise en place de mesures de prévention spécifiques (lutte anti-vectorielle adaptée, gestion du risque transfusionnel...).

Les recherches de nouveaux antigènes plus spécifiques sont menées en particulier sur certaines protéines non structurales du virus. La protéine NS5 a ainsi été évaluée pour son caractère discriminant au sein du genre *Flavivirus* (Wong *et al.*, 2003). Cette caractéristique est déjà exploitée dans certains tests de type immunoempreinte (Cabre *et al.*, 2006). Outre sa capacité à distinguer différentes espèces virales, la différenciation de sujets vaccinés et infectés serait possible. En effet, si les préparations vaccinales sont de type sous-unité ou inactivé, seules les protéines structurales du virus seront présentées au système immunitaire, alors que chez les sujets naturellement infectés, la réactivité portera sur les protéines structurales et non structurales.

En matière de diagnostic, l'infection à virus *West Nile* concerne différents domaines allant du simple diagnostic d'un syndrome fébrile à la gestion de risque sanitaire. L'interprétation des résultats reste délicate en particulier pour les analyses de dossiers insuffisamment renseignés. Les données cliniques et épidémiologiques sont donc indispensables à la conduite d'une bonne investigation virologique tant pour déterminer les techniques à mettre en œuvre que pour la recherche orientée d'étiologies alternatives. Les relations entre cliniciens, les laboratoires de diagnostic et les centres de références sont primordiales aussi bien en médecine vétérinaire qu'en médecine humaine.

Chapitre 7

La surveillance du virus en France

Sylvie LECOLLINET, Jean HARS, Alexis ARMENGAUD,
Isabelle CAPEK, Agnès LEBLOND, Francis SCHAFFNER,
Stéphan ZIENTARA

Objectif : présenter le réseau de surveillance de la circulation du virus *West Nile* en France

Quelles ont été l'organisation (*i.e.*, quels acteurs et comment) et les méthodes mises en œuvre pour la surveillance ?

Quels sont les résultats de la surveillance passive et active entre 2000 et 2008 ?

Quelles sont les limites de la surveillance déployée jusqu'alors et les perspectives de recherche pour améliorer cette surveillance ?

Au cours de l'été 2000, 76 cas équins d'encéphalites liées au virus *West Nile* ont été déclarés en France, sans qu'aucun cas humain symptomatique sévère ne soit rapporté (Murgue *et al.*, 2001).

Suite à cette épizootie, un dispositif de surveillance pluridisciplinaire était mis en place en 2001 en Camargue, sous l'égide du ministère chargé de la Santé, direction générale de la Santé (DGS) et du ministère chargé de l'Agriculture, direction générale de l'Alimentation (DGAl) (Perra *et al.*, 2002). Ce dispositif comprenait quatre volets : humain, équin, avifaune et entomologique. Tous les acteurs du cycle viral (hôtes accidentels, hôtes principaux et vecteurs) étaient donc visés. Cette surveillance était activée pendant la période de transmission potentielle du virus par les moustiques, soit du 1^{er} juin au 31 octobre.

Avec un recul de près de 10 ans, un bilan de la surveillance de l'infection à virus *West Nile* en France, de ses points forts et faiblesses, sera dressé et des axes de réflexion quant à l'adaptation nécessaire des réseaux de surveillance seront proposés.

L'objectif général de la surveillance multi-espèces du virus *West Nile* est de détecter le plus précocement possible une éventuelle circulation virale afin de mettre en œuvre, le cas échéant, des actions de prévention des maladies humaines et équines. Le dispositif global mis en œuvre doit également permettre le recueil d'informations détaillées sur la maladie, le vecteur et les hôtes habituels afin de mieux appréhender cette zoonose imparfaitement connue et de générer de nouvelles hypothèses de recherche.

► Organisation et méthodes de surveillance de l'infection

Depuis 2001, le dispositif français de surveillance du virus *West Nile* implique de nombreux acteurs : la direction générale de l'Alimentation (DGAl), la direction générale de la Santé (DGS), l'Institut de veille sanitaire (InVS), l'Agence française de sécurité sanitaire des aliments (Afssa, devenue Anses) en tant que laboratoire national de référence (LNR), le Centre national de référence (CNR) des arbovirus de l'Institut Pasteur, l'Entente interdépartementale pour la démoustication du littoral méditerranéen (EID-Méditerranée), le Centre de coopération internationale en recherche agronomique pour le développement (Cirad), les laboratoires départementaux d'analyses vétérinaires (LDAV) et l'Office national de la chasse et de la faune sauvage (ONCFS). Il repose sur quatre volets complémentaires mis en œuvre en période d'activité des vecteurs :

- volet humain : une surveillance des cas humains d'infections neuro-invasives, susceptibles d'être causés par le virus *West Nile*, dans les établissements hospitaliers ;
- volet équin : une surveillance clinique des cas d'encéphalites équines, ainsi qu'une surveillance active de la circulation virale chez les équidés ;
- volet aviaire : une surveillance de la circulation du virus *West Nile* dans l'avifaune ;
- volet entomologique : une surveillance entomologique consistant en un inventaire des espèces culicidiennes et une recherche du virus *West Nile* sur des moustiques capturés autour des foyers équins et/ou humains.

Une circulaire DGS/DGAl relative aux mesures visant à limiter la circulation du virus *West Nile* en France métropolitaine précise les modalités de coordination mises en œuvre pour chacun de ces volets de surveillance (Anonyme, 2008). Elle définit deux niveaux d'intervention :

- un premier niveau de surveillance, visant à détecter une éventuelle circulation du virus *West Nile* ;
- un deuxième niveau concernant la gestion des risques lorsqu'une circulation virale est identifiée par un des volets de la surveillance.

Cette organisation est évolutive dans le temps et dans l'espace en fonction des résultats des surveillances des années précédentes et des évaluations réalisées. Ainsi en 2001, le dispositif de surveillance multi-espèces ne concernait que les départements camarguais (Bouches-du-Rhône, Gard et Hérault). En 2002, il est étendu aux deux départements de Corse du fait de l'identification d'animaux séropositifs sur l'île. Suite à la détection de cas humains et équins dans le département du Var en 2003, le dispositif est finalement étendu aux neuf départements du pourtour méditerranéen.

De plus, cette organisation évolue en temps réel en fonction des résultats des volets de la surveillance. Un plan de surveillance et de gestion, officialisé par la circulaire DGS/DGAl, définit plusieurs niveaux : niveau 1 en cas de circulation virale chez des oiseaux sentinelles, niveau 2 en cas de détection de cas équins, et niveau 3 lors de l'identification d'un cas humain. À chaque niveau correspondent des mesures de surveillances, d'informations et de préventions graduées (voir p. 130 et p. 131, tableau 7.2).

Volet humain

Au sein du dispositif général de surveillance, la surveillance humaine vise à identifier les cas sévères d'infection à virus *West Nile* survenant en France. L'identification parmi eux des cas autochtones est primordiale car leur apparition signe une circulation virale dans les lieux que les patients ont fréquentés pendant la période compatible avec la durée d'incubation de la maladie.

Deux types de surveillance sont mis en œuvre au sein du volet humain :

- une surveillance nationale passive reposant sur les CNR qui reçoivent les prélèvements adressés pour confirmation du diagnostic ;
- une surveillance semi active ciblant les zones à risque de circulation du virus *West Nile* et organisée lors de la période d'activité des vecteurs, selon une réactivité hebdomadaire. Cette surveillance renforcée concerne les départements du pourtour méditerranéen où le vecteur est présent et ceux des Antilles où s'ajoutent les risques liés à la proximité avec la zone épidémique nord-américaine et les flux migratoires d'oiseaux sauvages.

Les aspects éthiques ont été envisagés afin d'assurer la confidentialité des données médicales individuelles et le protocole de surveillance a été soumis à l'approbation de la Commission nationale de l'informatique et des libertés.

La surveillance humaine nationale

La surveillance nationale du virus *West Nile* est une surveillance passive reposant sur le Centre national de référence (CNR) des arbovirus et son laboratoire associé (Institut de médecine tropicale du Service de santé des armées, IMTSSA, devenu l'Institut de recherche biomédicale des armées, IRBA) pour la France métropolitaine et sur le CNR des arbovirus de l'Institut Pasteur de Guyane, pour les Antilles-Guyane, seuls laboratoires à effectuer et confirmer le diagnostic des arbovirus en France demandé par les établissements de soins.

Ils participent à la surveillance des infections à virus *West Nile* en signalant à l'InVS tous les patients n'entrant pas dans le cadre de la surveillance renforcée pour lesquels le diagnostic d'infection par virus *West Nile* est retenu, en indiquant s'il s'agit d'un cas autochtone ou d'un cas d'importation et son origine.

La surveillance renforcée sur le pourtour méditerranéen

La surveillance humaine cible les cas sévères d'infection neuro-invasive à virus *West Nile* parmi les personnes ayant été hospitalisées entre le 1^{er} juin et le 31 octobre, dans des zones à risque de circulation du virus *West Nile*. Il s'agit, en 2000, des départements des Bouches-du-Rhône, du Gard et de l'Hérault, auxquels s'ajoutent en 2002, les deux départements de Corse et, en 2003, les Alpes-Maritimes, le Var, l'Aude et les Pyrénées-Orientales, pour couvrir l'ensemble du pourtour méditerranéen.

Chaque année, la mise en œuvre de la surveillance est précédée d'une journée d'information scientifique réunissant tous les partenaires de la surveillance : CNR des arbovirus, IMTSSA/IRBA, partenaires des autres volets de la surveillance, agences

régionales de santé (ARS) avec les biologistes et les cliniciens des établissements de soins.

La surveillance renforcée en Guadeloupe et en Martinique

Depuis 2003, une surveillance renforcée a été mise en place en Guadeloupe et en Martinique. Comme dans le pourtour méditerranéen, elle vise les cas suspects d'encéphalites ou de méningites à virus *West Nile* qui sont signalés par les laboratoires hospitaliers de la Guadeloupe et de la Martinique. La définition des cas est identique mais, compte tenu de la présence de vecteurs toute l'année, la surveillance est permanente.

Méthodes et moyens

Pour répondre aux objectifs, et limiter le recours au CNR des arbovirus, la surveillance humaine mise en œuvre cible les cas sévères (neuro-invasifs) d'infection à virus *West Nile*.

Définition des cas

Un cas suspect d'infection à virus *West Nile* est un patient hospitalisé de plus de 15 ans présentant un liquide céphalo-rachidien (LCR) clair prélevé en raison d'un état fébrile (fièvre $\geq 38,5$ °C) associé à des manifestations neurologiques. Dans le cadre de la surveillance renforcée sur le pourtour méditerranéen, un cas est considéré comme suspect si, en plus des critères énoncés plus haut, il a été hospitalisé entre le 1^{er} juin et le 31 octobre dans l'un des départements à risque de circulation du virus *West Nile*.

Un cas probable est un cas suspect qui remplit au moins un des critères de laboratoire suivants :

- identification d'anticorps IgM anti-*West Nile* dans le sérum par méthode immunoenzymatique (ou EIA, pour *enzyme immunoassay*) ;
- séroconversion ou augmentation de 4 fois du titre des anticorps IgG anti-*West Nile* détectés par EIA sur deux prélèvements consécutifs.

Un cas confirmé est un cas suspect ou probable qui remplit au moins un des critères de laboratoire suivants :

- isolement du virus *West Nile* (par culture) dans le sang ou le LCR ;
- détection d'IgM anti-*West Nile* dans le LCR par EIA en immunocapture ;
- détection de séquences génomiques virales *West Nile* (par PCR puis séquençage) dans le sang ou le LCR ;
- identification de titres élevés d'anticorps IgM et IgG anti-*West Nile* par EIA et confirmés par test de séroneutralisation.

Les résultats sont confrontés aux données cliniques pour l'interprétation définitive des résultats.

Modalités de surveillance humaine

Pour la surveillance nationale, le CNR et son laboratoire associé demandent aux cliniciens de compléter une fiche de renseignements cliniques pour tout patient

biologiquement probable ou confirmé pour le virus *West Nile* et informe l'InVS du cas.

Dans le cadre de la surveillance renforcée, les laboratoires hospitaliers concernés, à la réception d'un échantillon de LCR non purulent, vérifient qu'il correspond à un patient répondant à la définition de cas suspect et signalent immédiatement le cas à la direction départementale des Affaires sanitaires et sociales (Ddass) du département en lui adressant une fiche de signalement de cas suspect. Parallèlement, ils adressent sans délai cette même fiche de signalement au CNR ou au laboratoire associé avec les prélèvements biologiques du patient.

Le suivi épidémiologique des cas (validation, élimination des doublons, saisies des données cliniques et biologique), leur classification et une synthèse hebdomadaire sont réalisés par la Cellule interrégionale d'épidémiologie (Cire) concernée en liaison avec la Ddass et le CNR. Les Cire assurent une rétro-information hebdomadaire et mensuelle aux participants à la surveillance renforcée.

En cas d'identification d'une circulation virale par un ou plusieurs des volets – équin, aviaire, entomologique ou humain – de la surveillance, la surveillance renforcée est stimulée par un message aux Ddass, laboratoires et cliniciens des établissements de soins ainsi qu'aux partenaires des autres volets de la surveillance. Cette réactivation de la surveillance humaine prospective peut être complétée par des recueils rétrospectifs de prélèvements issus de cas suspects humains non signalés sur les zones géographiques où une circulation virale avérée a été mise en évidence par les autres volets de la surveillance.

Lors de l'identification d'un ou plusieurs cas confirmés, afin d'accroître la sensibilité de la surveillance et de délimiter la zone géographique et la période de circulation virale, une investigation autour des cas humains confirmés est réalisée avec une recherche active d'autres cas suspects humains dans la zone de circulation virale présumée et une recherche, dans l'entourage des cas confirmés, de cas d'infection cliniquement moins sévères appelés « cas légers » (formes pseudo-grippales sans ponction lombaire). De plus, une étude de séroprévalence peut être réalisée auprès de donneurs du sang du département concerné par l'établissement français du sang (EFS) et l'IMTSSA. L'ensemble de ces investigations ont été mises en œuvre en 2000 en Camargue et en 2003 dans le Var.

Volet équin

La mise en évidence d'une circulation du virus *West Nile* dans l'espèce équine est révélatrice d'un niveau élevé de circulation et d'amplification du virus *West Nile*, pouvant représenter un danger en terme de santé animale (chez le cheval) et humaine.

La surveillance passive nationale

La surveillance équine repose avant tout sur une surveillance passive des cas neuro-invasifs d'infection à virus *West Nile*. Cette surveillance clinique est assurée sur l'ensemble du territoire français grâce à la déclaration obligatoire des suspicions

d'encéphalites équine par les vétérinaires sanitaires auprès des directions départementales de la Protection des populations (DDPP, intégrant les anciennes DSV, direction des Services vétérinaires) en application de l'arrêté ministériel du 27 juillet 2004. La fièvre *West Nile*, en tant que méningo-encéphalomyélite virale des équidés, est en effet inscrite sur la liste des maladies réputées contagieuses en France dont la liste figure à l'article D. 223-21 du code rural.

Pour être pleinement efficace, la surveillance passive fait appel à une sensibilisation et à une formation des vétérinaires praticiens équins à la sémiologie, au diagnostic et à la surveillance de l'infection à virus *West Nile*. À titre d'exemple, en 2000, les vétérinaires praticiens équins de la zone Camargue ont été sensibilisés au risque d'infection des chevaux par le virus *West Nile* par les DDSV du Gard, de l'Hérault et des Bouches-du-Rhône ; en 2004, suite à la deuxième épizootie équine en Camargue, une plaquette d'information éditée par la DGA et l'Afssa a été distribuée aux vétérinaires sanitaires (cf. www.plateforme-esa.fr).

Cette surveillance est renforcée lorsque des cas équins sont identifiés ou lorsque les autres volets de la surveillance détectent une circulation virale avec des cas humains ou aviaires (Languille *et al.*, 2005 ; Zientara *et al.*, 2004a). Des enquêtes de séroprévalence sont alors menées dans les centres équestres et les élevages à l'intérieur des zones de circulation virale identifiées par la surveillance nationale.

La surveillance des cas cliniques équins, qui repose sur la vigilance des propriétaires équins et des vétérinaires praticiens, présente beaucoup d'intérêt, la population équine étant généralement hautement médicalisée et peu mobile et la réalisation de prélèvements sanguins étant techniquement aisée.

Surveillance active en France métropolitaine

À la suite de l'épisode de 2000 en Petite Camargue, la surveillance passive a été complétée en France métropolitaine d'une surveillance active en 2001, 2002 et 2003. Cette surveillance active s'est appuyée sur le suivi sérologique régulier d'une cohorte d'une centaine de chevaux et s'inscrivait dans le cadre d'un projet de recherche financée par l'établissement public des Haras nationaux et regroupant des équipes de l'École nationale vétérinaire de Lyon (VetAgro Sup, Campus vétérinaire de Lyon), du Cirad, de la DDSV du Gard, de l'Institut Pasteur, de l'Institut de médecine tropicale du Service de santé des armées et de l'Afssa. Cette surveillance n'a pas pu être reconduite par la suite.

Surveillance active en Guadeloupe et Martinique

En raison de la forte extension du virus *West Nile* sur le continent américain à partir de 1999 et des trajets de migration des oiseaux entre le nord et le sud du continent, une surveillance active chez le cheval a été initiée dans les départements français des Antilles (Guadeloupe et Martinique) à partir de 2002 et est toujours maintenue en Guadeloupe. En 2002 et 2003, elle concernait une bonne proportion de la population équine de ces deux îles puisqu'entre 350 et 500 chevaux ont été prélevés. Après la mise en évidence de la circulation du virus *West Nile* en Guadeloupe entre juillet 2002 et janvier 2003, cette surveillance a été reconduite en Guadeloupe selon

un rythme annuel dans des clubs hippiques localisés dans des zones à risque de circulation du virus (Baie-Mahault, Marie-Galante, Petit-Bourg, Sainte-Rose, les Abymes et Sainte-Anne) et concerne un effectif plus réduit d'une soixantaine de chevaux séronégatifs. Des enquêtes annuelles ont également été conduites en Martinique sur 250 chevaux jusqu'en 2005.

Méthodes et moyens

La détection des cas cliniques équins par les vétérinaires sanitaires constitue le point essentiel de la surveillance animale. Les vétérinaires sanitaires, confrontés à une suspicion de méningo-encéphalomyélite virale chez un cheval, doivent notifier cette suspicion clinique auprès de la DDPP du département concerné. Les prélèvements nécessaires à l'établissement du diagnostic d'infection à virus *West Nile* sont rappelés dans une fiche réflexe placée en annexe de la note de service DGA1 sur le programme de surveillance vétérinaire de la fièvre *West Nile*. De plus, le vétérinaire sanitaire accompagnera les prélèvements d'une fiche de prélèvement/signalement.

Dans le cadre de la surveillance de l'infection à virus *West Nile* chez le cheval en France, c'est essentiellement le diagnostic sérologique qui est utilisé. En fonction des données cliniques et sérologiques disponibles, il est possible de classer les cas comme suit.

Définition des cas

Un cas suspect d'infection à virus *West Nile* est un cheval présentant des symptômes nerveux compatibles avec une infection méningée et/ou centrale.

Un cas probable est un cas suspect, pour lequel des IgG anti-*West Nile* sont mis en évidence dans le sérum de l'animal par EIA.

Un cas confirmé est un cas suspect ou probable qui remplit au moins un des critères de laboratoire suivants :

- détection d'IgM anti-*West Nile* dans le sérum par EIA (les IgM sont les marqueurs d'une infection récente ; ils persistent en effet en moyenne 1 à 3 mois chez le cheval) ;
- augmentation du titre des anticorps neutralisants anti-*West Nile* sur 2 prélèvements de sérum espacés de 2 à 3 semaines (test de séroneutralisation) ;
- détection de séquences génomiques virales *West Nile* (par PCR puis séquençage) dans le sang, le LCR ou le système nerveux central ;
- isolement du virus *West Nile* (par culture) dans le sang, le LCR ou le système nerveux central.

Modalités de surveillance

En France métropolitaine, les analyses sérologiques ont été prises en charge par le LNR, l'Afssa, en partenariat avec le CNR des arbovirus jusqu'en 2004, date à laquelle les techniques de détection des IgG anti-*West Nile* ont pu être implantées dans les trois LDAH du Gard, de l'Hérault et des Bouches-du-Rhône. La constitution d'un réseau de LDAH formés à la technique de l'EIA IgG anti-*West Nile* et le protocole de confirmation entre l'Afssa et le CNR des arbovirus a permis d'assurer une bonne rapidité et fiabilité des résultats sérologiques obtenus.

En Guadeloupe et Martinique, un ELISA d'inhibition, développé par le Cirad Guadeloupe pour la détection des anticorps sériques dans l'espèce équine (Blitvich *et al.*, 2003), a été utilisé par le Cirad lors des enquêtes successives réalisées dans ces deux départements à partir de 2002. Les prélèvements trouvés positifs en IgG anti-*West Nile* sont adressés à l'Afssa pour confirmation et recherche des IgM.

Le diagnostic virologique (PCR et isolement) a pu être entrepris, lorsque des prélèvements de tissus nerveux réalisés après la mort de l'animal étaient disponibles, par le CNR des arbovirus ou plus récemment, depuis 2007, par l'Afssa.

Volet aviaire

Le volet aviaire de la surveillance, tel que présenté ci-dessous, a été mis en œuvre durant sept années, de 2001 à 2007. Son protocole a été fondé sur :

- une surveillance des cas de mortalité dans l'avifaune avec dépistage du virus *West Nile*, permettant de révéler rapidement une éventuelle introduction de souches virales associées à une forte pathogénicité aviaire ;
- un suivi sérologique mensuel d'oiseaux sentinelles sauvages captifs ou domestiques, permettant de détecter très précocement la présence du virus *West Nile*.

Seule la surveillance passive des mortalités dans l'avifaune est maintenue depuis 2008.

Le suivi sérologique d'oiseaux sentinelles captifs est basé sur le principe que toute séroconversion apparaissant sur un oiseau initialement indemne d'anticorps atteste qu'il a été en contact avec le virus.

Par rapport au contrôle ponctuel d'oiseaux sauvages capturés dont on ne sait ni où ni quand ils ont acquis des anticorps, il offre plusieurs avantages :

- les oiseaux sentinelles peuvent être considérés comme de bons témoins de la circulation virale dans la mesure où ils sont élevés dans des biotopes riches en moustiques ou dans des sites où le passage viral a été précédemment identifié ;
- leur manipulation est facile et ne nécessite pas de dispositifs de capture lourds à mettre en place ;
- ils sont identifiés individuellement, prélevés une première fois au début de la période de surveillance pour vérifier l'absence d'anticorps *West Nile* puis prélevés à intervalles réguliers, durant toute la période d'activité vectorielle, pour surveiller d'éventuelles séroconversions ;
- ils ne se déplacent pas : ils sont donc les témoins d'une infection à un moment donné, sur un site donné.

Ce suivi a en revanche des inconvénients liés à la lourdeur de sa mise en œuvre et des limites liées à sa sensibilité (voir p. 146).

Méthodes et moyens

Travaux préliminaires à la surveillance

L'étude menée dans l'avifaune sauvage par l'ONCFS en octobre 2000 après l'apparition du foyer équin de Petite Camargue n'avait révélé qu'une séroprévalence apparente de 8 % chez le canard colvert et de 22 % chez la pie bavarde, sans que les espèces réservoirs aient pu être identifiées (Balança et Hars, 2004 ; Hars *et al.*, 2001). En

revanche, cette étude avait permis d'évaluer la qualité des tests diagnostics. En effet, ces deux espèces sont les seules chez lesquelles les résultats des tests de séroneutralisation, technique de référence lourde et coûteuse, concordaient avec les résultats des tests EIA. Ces derniers tests, non adaptés à une utilisation chez des oiseaux sauvages, étaient à l'époque les seuls utilisables en routine pour l'obtention rapide de résultats dans le cadre d'un programme de surveillance. Ces investigations préliminaires ont donc constitué un excellent rodage des outils techniques et des équipes qui allaient ensuite être impliquées dans la surveillance mise en œuvre à partir de 2001.

Zone et période de surveillance

La zone de surveillance a été adaptée à l'évolution de la situation épidémiologique. Limitée aux départements camarguais (Gard, Hérault, Bouches du Rhône) en 2001, 2002 et 2003, la surveillance des mortalités d'oiseaux sauvages a été étendue en 2004 et 2005 à tout le territoire français avec renforcement dans les dix départements du pourtour méditerranéen, suite à l'apparition inattendue de cas cliniques humains et équins dans le Var en 2003. Elle n'a concerné que ces dix départements en 2006 et 2007, en raison des difficultés engendrées par la « crise » de l'influenza aviaire sur tout le territoire. De même, le suivi sérologique d'oiseaux sentinelles, d'abord restreint aux départements camarguais, a été étendu à six départements en 2004 (par l'ajout du Var, de l'Aude et des Pyrénées-Orientales), pour ne plus concerner à partir de 2005 que les départements considérés comme les plus « à risque », c'est-à-dire dans lesquels le virus avait été isolé chez le cheval ou l'homme. À titre d'exemple, la figure 7 planche IV montre la zone surveillée en 2007.

Chaque année, la surveillance a été mise en œuvre entre les mois de juin et d'octobre.

Surveillance des mortalités d'oiseaux sauvages

La surveillance des mortalités d'oiseaux sauvages s'est appuyée sur le fonctionnement du réseau SAGIR, réseau national de surveillance des maladies de la faune sauvage dont l'objectif principal est de diagnostiquer les causes de mortalité des animaux sauvages¹. Les cadavres d'oiseaux sont acheminés dans les laboratoires départementaux d'analyses vétérinaires où ils font l'objet d'un prélèvement d'encéphale qui est transmis au CNR des arbovirus (Institut Pasteur) ou au LNR de l'Afssa pour la détection de l'ARN viral par RT-PCR et pour isolement viral sur cultures cellulaires.

Dans les départements méditerranéens, le réseau SAGIR a été activé au travers d'une campagne de sensibilisation du grand public grâce à des affiches (cf. plateforme ESA) qui ont été apposées dans différents lieux publics et organismes de 121 communes (mairies, offices de tourisme, campings, cabinets vétérinaires...).

À compter de 2004, la sensibilisation a été renforcée auprès des associations et professionnels de la nature grâce à la distribution de plaquettes d'information expliquant plus précisément la marche à suivre en cas de découverte d'oiseaux morts (cf. plateforme ESA). À partir de 2006, la surveillance du virus *West Nile* chez les oiseaux sauvages a été couplée avec celle de l'influenza aviaire².

1. Pour plus d'informations : <http://www.oncfs.gouv.fr/recherche/reseaux/sagir.php>

2. Demande conjointe de recherche de virus influenza et *West Nile* faite par les DDPP des départements du pourtour méditerranéen pour tout oiseau suspect.

Suivi sérologique d'oiseaux sentinelles

Durant les sept années de surveillance 2001/2007, les oiseaux sentinelles étaient majoritairement des canards colverts (*Anas platyrhynchos*) « appelants » qui ont été prélevés par des agents de l'ONCFS. Ces canards sont élevés par les chasseurs locaux dans des volières, au bord des étangs et des roselières, pour la chasse de nuit au gabion (figure 8, planche V). Certains sont élevés en région sèche et sont transportés par leurs propriétaires à l'occasion de l'action de chasse. Les oiseaux sont lâchés la nuit sur les étangs, équipés d'un fil plombé à la patte, afin qu'ils « appellent » les canards sauvages. Ils constituent donc d'excellentes sentinelles épidémiologiques. Le réseau d'appelants a été complété dans certains départements par des volailles domestiques de basse-cour (poules, coqs et canards de Barbarie) qui ont été prélevés par des vétérinaires praticiens.

Dans chaque site, 10 à 12 oiseaux, pour la plupart adultes et bagués individuellement, étaient prélevés à la veine sous-alaire une première fois au mois de juin pour vérifier leur séronégativité, puis mensuellement jusqu'au mois d'octobre (figure 9, planche V).

Le tableau 7.1 présente le nombre de sites et d'oiseaux sentinelles qui ont été suivis entre 2001 et 2007. La répartition des sites, plus dense en 2001 et 2002 dans les départements camarguais qui venaient d'être touchés par la maladie (8 à 10 sites par département), s'est ensuite stabilisée à raison de 5 sites par département, judicieusement répartis dans les zones « à risque » (zones humides ou zones où le virus avait été précédemment isolé sur le cheval ou l'homme). Pour des raisons pratiques et de contraintes organisationnelles, la proportion de sites de canards appelants a régulièrement augmenté au fil des années.

Tableau 7.1. Nombre de sites et d'oiseaux sentinelles suivis entre 2001 et 2007.

Année	Département (nombre)	Sites suivis	Sites de canards appelants	Sites de volailles	Total oiseaux
2001	13, 30, 34 (3)	28	16	12	307
2002	13, 30, 34 (3)	25	14	11	286
2003	13, 30, 34 (3)	16	14	2	185
2004	11, 13, 30, 34, 66, 83 (6)	30	25	5	299
2005	13, 30, 34, 83 (4)	20	16	4	200
2006	13, 30, 34, 83 (4)	20	17	3	200
2007	13, 30, 34, 66, 83 (5)	20	19	1	200

La figure 10 planche V montre la répartition des sites avec leurs identifiants, en 2004, année où la surveillance a eu lieu dans six départements. Les prélèvements de sang d'oiseaux étaient acheminés sous 24 h au LDAV qui transmettait les sérums extraits au CNR où ils étaient traités à l'aide d'un test EIA IgG. Les résultats positifs ont été confirmés par séroneutralisation.

Une base de données a été élaborée par le Cirad en 2001 et améliorée au fil des programmes pour être totalement opérationnelle à partir de 2004. La saisie des données de prélèvements par le LDAV et des résultats d'analyse par le CNR a été

faite directement et immédiatement grâce à un accès à la base de données sur le site : <http://west-nile.cirad.fr> (le site remis à jour est désormais accessible au lien suivant <http://west-nile-travail.cirad.fr/accueil>).

En cas de résultat positif, le CNR alertait directement la DGAI, la DGS et l'ONCFS, afin que l'information des professionnels de la santé humaine et animale soit délivrée au plus vite.

Volet entomologique

Les moustiques constituent un indicateur médiocre de la circulation du virus *West Nile* en termes de probabilité de détection du virus. Considérant le faible rapport bénéfice/coût qui résulte d'une surveillance entomologique spécifique, elle n'est pas conduite en France de façon systématique mais uniquement activée en cas de mise en évidence d'une circulation virale par les autres volets de surveillance. Elle peut toutefois être mise en place dans une zone considérée à risque en raison de l'existence d'un ou de plusieurs épisodes antérieurs.

La surveillance a pour principal objectif d'identifier le ou les vecteurs, de déterminer leur présence et leur abondance, et de détecter la présence du virus chez ces vecteurs. Cette dernière activité est menée, compte tenu de la très faible prévalence observée habituellement sur le terrain, non pas pour servir d'alerte mais pour identifier les insectes porteurs du virus *West Nile*. Les objectifs secondaires visent à identifier et quantifier les populations d'insectes piqueurs présentes, en particulier pour les espèces potentiellement vectrices. Au-delà de cette surveillance, ces données permettent de cibler d'éventuelles actions de contrôle des populations d'insectes si la situation le justifie aux yeux des autorités sanitaires.

La surveillance faunistique est réalisée en métropole par l'Entente interdépartementale pour la démoustication du littoral méditerranéen (EID-Med), mandatée par la DGS. L'information obtenue est diffusée directement à la DGS. Les analyses virologiques sont réalisées par un laboratoire spécialisé : le CNR des arbovirus, Institut Pasteur, en 2000 ; l'Unité des virus émergents de la faculté de médecine de Marseille en 2001 et 2003 ; et depuis 2004 par l'IMTSSA.

Par ailleurs, une surveillance entomologique de routine existe dans les zones dotées d'une EID ou d'un autre établissement public en charge du contrôle des populations de moustiques. Elle consiste en un inventaire de l'entomofaune hématophage, et en particulier des espèces responsables de nuisance.

Méthodes et moyens

Surveillance de routine

Une surveillance entomologique de routine existe dans les zones où un établissement public (EID ou autre) met en œuvre des opérations de contrôle des moustiques vulnérants. Elle comporte le suivi des populations de moustiques par prélèvements larvaires et captures d'adultes et est réalisée, pour ce qui concerne le littoral méditerranéen, par l'EID Méditerranée sur une zone allant de Marseille à la frontière espagnole, ainsi que, depuis 2006, sur la Côte d'Azur. Cette zone inclut donc les

départements des Pyrénées-Orientales, l'Aude, l'Hérault, le Gard, les Bouches-du-Rhône et les Alpes-Maritimes.

Surveillance spécifique

Une surveillance spécifique est réalisée en fonction de contextes particuliers et notamment l'occurrence de cycles de transmission. Elle est en général limitée géographiquement aux secteurs de survenue des cas d'infection à virus *West Nile*. Une telle surveillance a ainsi été réalisée en Camargue lors de l'épizootie de 2000 et pendant toute la saison suivante de 2001 ainsi que pendant l'épisode de 2004, dans le Var lors de l'épidémie de 2003 et pendant la saison suivante de 2004, et enfin dans les Pyrénées-Orientales en 2006. Cette surveillance n'est activée, dans l'ensemble des départements du pourtour méditerranéen, qu'en réponse à la mise en évidence de circulation du virus *West Nile* dans l'avifaune ou de cas équins ou humains, dans les zones concernées et pendant l'épisode de transmission ou pendant une période considérée à risque dans une zone ayant récemment connu un épisode. Elle repose sur :

- un inventaire des espèces culicidiennes : prélèvements et identifications de stades immatures dans les gîtes larvaires potentiels repérés sur le terrain au cours des visites et/ou au préalable sur photo aérienne ; capture d'adultes piqueurs à l'aide de pièges à appât CO₂ et de pièges à femelles gravides permettant de capturer respectivement des imagos piqueurs et des imagos ayant déjà pris au moins un repas sanguin (ce qui augmente la probabilité de récolter des individus infectés mais limite les captures aux espèces du genre *Culex*) ;
- un inventaire des autres insectes hématophages : les techniques mentionnées précédemment permettent d'inventorier dans le même temps d'autres insectes hématophages (cératopogonides, simulies, phlébotomes...), des pièges spécifiques peuvent également être utilisés en cas de besoin (par exemple pièges à lumière ultraviolette pour les cératopogonides ou pièges lumineux classique pour les phlébotomes) ;
- une cartographie des gîtes larvaires potentiels : un relevé des gîtes potentiels à moustiques observés est réalisé et reporté sur une cartographie au 1/25 000°. Cet élément est essentiel pour la mise en œuvre éventuelle de mesures de contrôle des populations ;
- une recherche du virus *West Nile* : tous les moustiques capturés sont identifiés, groupés par lots mono-spécifiques et conservés à - 80 °C, de manière à permettre la recherche du génome du virus *West Nile* par RT-PCR et/ou l'isolement du virus par mise en culture. Les autres insectes hématophages sont traités selon le même processus. L'ensemble de la procédure est planifiée et mise en œuvre de telle sorte que les résultats des analyses parviennent dans le délai le plus court possible.

Traitement des données et mesures prises

Après l'épizootie de 2000 en Camargue et conformément à la circulaire DGS/DGAI relative aux mesures visant à limiter la circulation du virus *West Nile* en France métropolitaine (Zientara, 2000), chaque fois qu'une circulation du virus *West Nile* a été détectée, les différents volets de la surveillance ont été réactivés et renforcés et une information européenne a été effectuée.

Tableau 7.2. Mesures de gestion prises vis-à-vis de la circulation du virus *West Nile* sur le pourtour méditerranéen de 2000 à 2007.

	2000	2001	2002	2003	2004	2005	2006	2007
Détection d'une circulation du virus	oui	faible	faible	oui	oui	non	oui	non
Activation de tous les volets de la surveillance	oui	oui	oui	oui	oui	-	oui	-
Information européenne	oui	-	-	oui	oui	-	oui	-
Mesures de santé publique	oui	-	-	oui	oui	Info absence de risque WN*	oui	-
Mode de transmission	oui	-	-	oui	oui	-	oui	-
Mesures de protection individuelles contre les moustiques	oui	-	-	oui	oui	oui	oui	-
Démoustication ciblée	Autour des centres équestres	-	-	Autour du domicile des cas	Autour des centres équestres	-	Zone déjà démoustiquée	-
Restrictions des dons de sang	non	-	-	oui	oui	non	non	-

* Alerte prolifération de moustiques dans les Bouches du Rhône, mais avec absence de circulation du virus *West Nile* cette année là.

De plus, si une circulation virale est identifiée par un des volets de la surveillance, la DGS et la DGAI activent une cellule nationale d'aide à la décision regroupant l'ensemble des compétences des différents volets de la surveillance autour de l'administration et des agences concernées. Des actions sont mises en œuvre graduellement en fonction des risques.

Ainsi, les séroconversions isolées d'oiseaux sentinelles observées en 2001 et 2002 en Camargue, témoignant d'une très faible circulation du virus *West Nile*, n'ont fait l'objet d'aucune mesure de gestion, mais de simples réactivations des autres volets de la surveillance. À la suite des épisodes de 2003 et de 2004, des informations ciblant le grand public sur les infections à virus *West Nile* et les mesures de protection individuelles contre les piqûres de moustique ont été délivrées par communiqués de presse et par les médias. Des démoustications ciblées, reposant sur des traitements anti-larvaires, ont été réalisées autour des domiciles des cas et des élevages de chevaux concernés. Les traitements anti-adultes sur les pâturages et sur les terrains où sont parqués les chevaux n'ont pas été envisagés, en raison des surfaces considérables concernées et de la présence d'habitations et de cultures (vignes, vergers, jardins).

Par ailleurs, si un cas humain autochtone est identifié, que ce soit dans le cadre de la surveillance nationale ou de la surveillance renforcée, l'InVS informe la DGS et met en place avec la (ou les) Cire concernée(s) une investigation adaptée, place en alerte les établissements de soins au plan local et réalise une information à l'échelon national.

L'InVS informe également les organismes et agences concernées par le risque de transmission par les produits d'origine humaine (sang, organes, tissus, cellules issus de dons) afin qu'une cellule *ad hoc* envisage les mesures à mettre en œuvre pour la sécurisation de ces produits soit par des mesures d'encadrement des dons, soit par la qualification biologique des produits. Des mesures de restriction des dons de sang ont été mises en œuvre dans les zones de circulation importante du virus. Ces restrictions ont touché en 2003 le Var et la Camargue (Mailles *et al.*, 2003) et en 2004 les trois départements camarguais. L'impact en termes d'approvisionnement en produits sanguins labiles a été important pour l'inter-région sud ne couvrant habituellement pas ses besoins. En 2006, dans les Pyrénées-Orientales, la circulation du virus étant limitée et la densité de vecteurs très faible, aucune mesure de restriction n'a été mise en œuvre concernant les dons de sang.

Les différentes mesures prises en France métropolitaine de 2000 à 2007 sont résumées dans le tableau 7.2.

► Surveillance passive de l'infection de 2000 à 2008

La surveillance de l'infection à virus *West Nile* repose *a minima* sur des systèmes de surveillance passive, basés sur le diagnostic clinique d'infections chez l'homme ou les chevaux pendant la période à risque (de juin à octobre en zone tempérée de l'hémisphère nord), ou sur l'investigation des mortalités aviaires.

Surveillance clinique chez l'homme

La surveillance humaine nationale

De 2002 à 2008, le CNR des arbovirus et son laboratoire associé ont identifié neuf cas tous d'importation : 1 en 2002, 4 en 2003, 1 en 2006 (venant des États-Unis), 1 en 2007 (venant d'Égypte) et 2 cas probables (1 venant d'Israël et 1 de Côte d'Ivoire) en 2008.

Aucun cas autochtone n'a été identifié dans les régions qui n'étaient pas concernées par une surveillance renforcée sauf en 2003 dans le Var, département ensuite inclus dans la surveillance renforcée.

La surveillance renforcée sur le pourtour méditerranéen

Investigation épidémiologique de septembre 2000 en Camargue

En septembre 2000, une recherche active de cas suspects humains a été réalisée en Camargue, suite à l'alerte équine et l'importante circulation virale *West Nile* observée chez les chevaux. Cette investigation épidémiologique n'a détecté aucun cas humain d'infection à virus *West Nile* parmi les 70 suspicions cliniques signalées sur cette zone. De même, aucun des 200 prélèvements de liquide céphalorachidien, reçus au CHU de Marseille, n'a été trouvé positif pour le virus *West Nile*.

Les résultats d'une étude de séroprévalence réalisée en septembre 2000 auprès de 2 400 donneurs de sang des Bouches-du-Rhône ont montré une circulation virale *West Nile* récente et ancienne en Camargue. La séroprévalence IgG des 1 200 donneurs résidents de la zone Camargue s'est avérée 10 fois supérieure à celle observée chez les 1 200 donneurs résidents du reste de ce département, témoignant de contaminations antérieures à l'épizootie de 2000.

Surveillance humaine de 2001 à 2007

En 2003, année où la surveillance a été étendue à tous les départements du pourtour méditerranéen, parmi les 109 établissements de santé sollicités pour participer à la surveillance, moins d'un quart ont signalé au moins un cas suspect. Par la suite, seuls les établissements susceptibles de recevoir des cas de méningite ont été

Tableau 7.3. Participation des établissements de soins à la surveillance *West Nile*, de 2000 à 2007, dans les départements du pourtour méditerranéens.

	2000	2001	2002	2003*	2004	2005	2006	2007**
Établissements de soins et laboratoires sollicités	-	60	54	109	82	52	42	52
Établissements ayant signalés au moins 1 cas suspect	-	6	7	24	19	22	18	15
% d'établissement ayant signalé au moins 1 cas suspect	-	10	8	22	23	42	43	29

- Investigation épidémiologique limitée à la camargue (pas de surveillance mise en œuvre).

* Année de l'élargissement de la surveillance à tout le pourtour méditerranéen avec investigation et recherche active de cas humains.

** Enquête nationale « encephalitis ».

sollicités et de 2005 à 2006 des taux de signalement de plus de 40 % ont été atteints. En 2007, la réalisation concomitante d'une étude nationale sur les encéphalites humaines a eu pour conséquence une moindre participation à la surveillance *West Nile* (tableau 7.3).

Le nombre de cas signalés dans les départements du pourtour méditerranéen du 1^{er} juin 2001 au 31 octobre 2007 ainsi que les cas confirmés recensés lors des investigations réalisées dans le département du Var en 2003 sont résumés dans le tableau 7.4. La survenue de cas humains confirmés d'infection à virus *West Nile* en 2003 et l'élargissement de la surveillance à tout le pourtour méditerranéen expliquent l'augmentation des signalements de cas suspects.

Les caractéristiques cliniques des cas suspects sont résumées dans le tableau 7.5. Deux tiers des cas suspects signalés étaient des méningites et un quart des encéphalites.

Tableau 7.4. Cas suspects et cas confirmés d'infection humaine à virus *West Nile* recensés par la surveillance dans les départements du pourtour méditerranéen de 2001 à 2007 et cas légers confirmés investigués dans le département du Var en 2003.

	2000	2001	2002	2003	2004	2005	2006	2007	Total 2001-2007
Cas suspects d'infection*	-	18	16	70	69	120	118	48	459
Cas confirmés d'infection**	0	0	0	3	0	0	0	0	3
Cas « légers » d'infection confirmés***	-	0	0	4	0	0	0	0	4

* Âge > 15 ans, ponction lombaire à liquide céphalorachidien clair, température ≥ 38,5 °C.
** Âge > 15 ans, ponction lombaire à liquide céphalorachidien clair, température ≥ 38,5 °C avec confirmation biologique *West Nile*.
*** recrutés lors de l'investigation : avec une clinique moins sévère (absence de ponction lombaire) et confirmation biologique *West Nile*.

Tableau 7.5. Caractéristiques cliniques des cas suspects d'infection humaine à virus *West Nile* signalés dans les départements du pourtour méditerranéen du 1^{er} juin 2001 au 31 octobre 2007.

	2000	2001	2002	2003	2004	2005	2006	2007	Total 2001-2007	% formes cliniques
Cas renseignés cliniquement	-	18	16	70	69	120	79*	48	420	100 (total 402)
Méningites	-	-	7	41	47	82	57	35	269	67
Encéphalites	-	-	6	22	18	18	12	9	85	21
Autres formes neurologiques*	-	-	3	7	4	20	10	4	48	12

*Données incomplètes CHU Marseille.

Investigation des cas confirmés dans le Var en octobre 2003

Le 6 octobre 2003, la surveillance nationale passive identifiait un cas humain autochtone d'infection à virus *West Nile* dans le département du Var déclenchant

une investigation et l'extension de la surveillance à l'ensemble des départements du pourtour méditerranéen. La coordination avec les autres volets de la surveillance permettait de détecter, le 9 octobre, un cas équin autochtone varois confirmant qu'il s'agissait d'une circulation virale locale. Fin octobre, 7 cas humains d'infection à virus *West Nile* étaient confirmés, 3 formes sévères (méningo-encéphalites avec ponction lombaire), et 4 formes plus légères (formes pseudo-grippales sans ponction lombaire). Ces sept cas, qui ont tous guéris, avaient tous déclaré les premiers signes de la maladie entre le 14 et le 28 août et avaient résidé dans le Var au mois d'août entre Fréjus, Saint-Raphaël et Roquebrune-sur-Argens (figure 11, planche VI). Du fait de l'absence de cas récent et de délais de signalement importants liés aux modalités de la surveillance passive, aucune souche humaine de virus *West Nile* n'a pu être isolée en 2003 (Capek, 2005 ; Del Giudice *et al.*, 2004 ; Mailles *et al.*, 2003).

L'enquête effectuée par l'EFS, sur 2 024 dons de sang prélevés dans le Var entre le 28 août et le 27 septembre 2003, a identifié un donneur porteur d'IgM anti-virus *West Nile* (PCR négative) résidant dans la même zone que les cas (Capek, 2005).

Par la suite, de 2004 à 2007, la surveillance humaine n'a détecté aucun cas d'infection neuro-invasive à virus *West Nile* sur l'ensemble des neuf départements surveillés (Anonyme, 2004, 2005, 2006 ; Armengaud *et al.*, 2007).

La surveillance renforcée en Guadeloupe et en Martinique

Aucun cas humain probable ou confirmé n'a été identifié en Guadeloupe ou en Martinique depuis la mise en œuvre de la surveillance renforcée en 2003.

Surveillance clinique chez le cheval

Quatre épisodes d'infection à virus *West Nile* chez le cheval ont été décrits en France métropolitaine depuis 2000, dont deux en Camargue.

Les foyers camarguais de 2000 et 2004

Un premier foyer d'infection à virus *West Nile* a été déclaré après l'observation de troubles nerveux persistants sur deux chevaux situés dans la commune de Lansargues (Hérault) fin août 2000 et le diagnostic de certitude d'infection à virus *West Nile*, combinant ici la détection d'anticorps IgM dans les sérums de ces deux chevaux et la mise en évidence du génome viral par PCR dans leurs encéphales. Entre septembre et novembre 2000, sur 131 suspicions cliniques, l'Afssa et le CNR ont identifié 58 cas confirmés (anticorps IgM et IgG anti-*West Nile*) et 18 cas probables (uniquement des anticorps IgG anti-*West Nile*). Les cas se répartissaient de la façon suivante : 52 cas dans l'Hérault, 21 dans le Gard et 3 dans les Bouches-du-Rhône. Au total, 21 décès furent recensés, avec un taux de mortalité plus important pendant les mois de septembre et octobre que dans la deuxième moitié de l'épizootie (figure 7.1) (Zientara, 2000).

Le virus avait pu être isolé et caractérisé génétiquement par le CNR, à partir de prélèvements équins : virus *West Nile*-France-2000 (entrée *Genbank* :

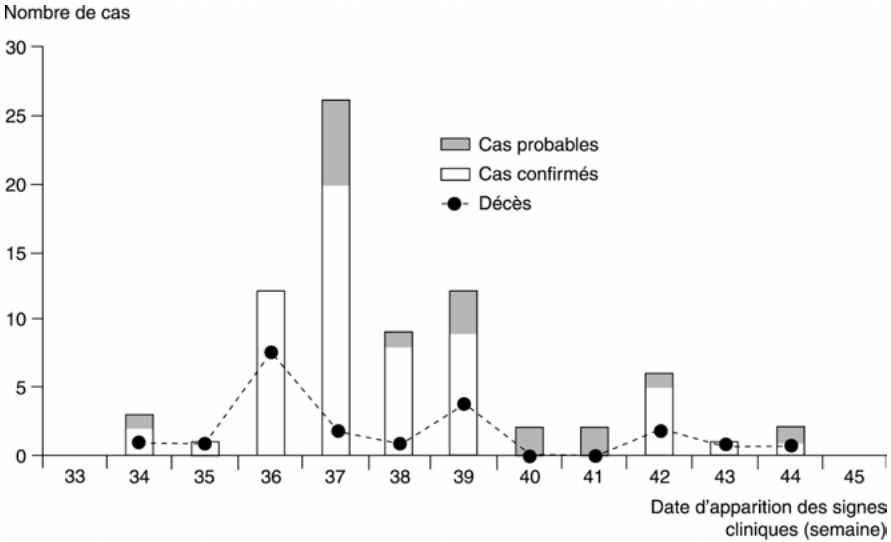


Figure 7.1. Calendrier de la déclaration des cas confirmés et probables d'infection à virus *West Nile*, et de la survenue de décès dans l'espèce équine en 2000. La majorité des infections équines (83 %) ont été identifiées en septembre. D'après Murgue *et al.*, 2001b.

AF418554). Il appartenait au lignage 1 et était proche des virus Maroc-96 et Italie-98 (figure 7.2).

Une importante enquête sérologique a été menée entre septembre et novembre 2000 par l'Afssa en collaboration avec la DGAI et les DDSV des trois départements concernés par l'épizootie sur 5 133 équidés situés dans un rayon de 10 km autour des cas confirmés. Elle a permis de mettre en évidence un taux de séroprévalence IgG de 8,5 % ($n = 428$), près de la moitié (42 %, $n = 248$) des animaux positifs en IgG étant également positifs en IgM (anticorps révélateurs d'une infection récente) (Durand *et al.*, 2002). L'analyse spatiale de l'épizootie, réalisée à la suite de cette enquête, a montré que la quasi-totalité des chevaux infectés étaient situés en zone sèche et sur un territoire écologiquement favorable à la présence de *Culex pipiens* (figure 12, planche VI). Une hypothèse sur l'amplification virale a alors pu être émise : le virus se serait maintenu dans les zones marécageuses grâce à un cycle entre les oiseaux aquatiques et les moustiques des marais (*Culex modestus*), puis des espèces d'oiseaux autochtones auraient pris le relais avec d'autres espèces de moustiques (tel que *Culex pipiens*), permettant ainsi la dissémination du virus vers les zones urbaines et périurbaines situées plus au nord (Chevalier *et al.*, 2002).

La surveillance active réalisée par suivi sérologique d'une cohorte de chevaux en 2001, 2002 et 2003, a démontré la persistance de la circulation virale les années qui ont suivi le foyer camarguais de 2000, sans qu'aucun cas neurologique équin ne soit imputable à une infection à virus *West Nile* durant ces années. Des conversions sérologiques ont pu ainsi être mises en évidence : 7 entre décembre 2000 et décembre 2001 ($n = 149$) et 3 entre décembre 2001 et décembre 2002 ($n = 214$) (Bicout *et al.*, 2003).

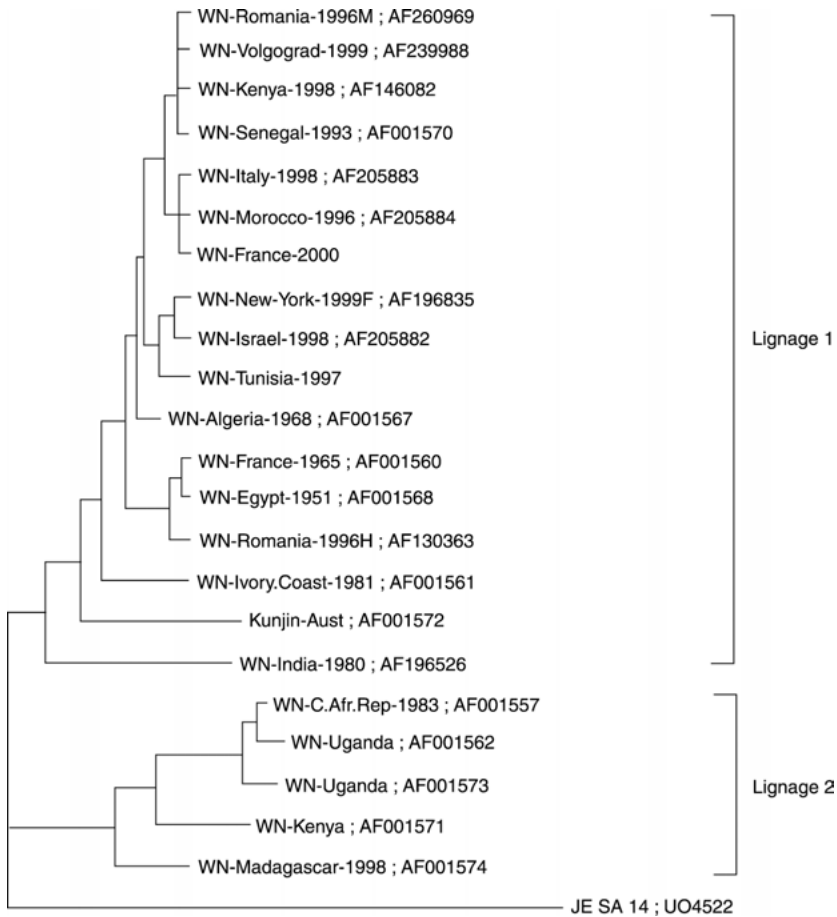


Figure 7.2. Arbre phylogénétique basé sur l'analyse d'une portion du gène d'enveloppe virale. L'identité du virus (WN : *West Nile*, JE : virus de l'encéphalite japonaise), ainsi que les lieux et dates d'isolement des virus et le numéro permettant d'accéder aux séquences génétiques sur *GenBank* sont indiqués. D'après Murgue *et al.*, 2001b.

Entre fin août et novembre 2004, le virus *West Nile* a été à nouveau responsable de cas neurologiques chez les chevaux dans la région de la Grande Camargue (départements du Gard, de l'Hérault et des Bouches-du-Rhône) : 57 suspicions cliniques ont fait l'objet d'investigation et 32 cas ont pu être confirmés, dont 7 décès (Zeller *et al.*, 2004a). Le réseau de surveillance active aviaire a permis, lors de cet épisode équin, la détection de la première séroconversion aviaire un mois avant les suspicions cliniques équines, démontrant l'intérêt de ce système de surveillance en termes de précocité.

En conclusion, la surveillance équine en Camargue a permis de démontrer la présence d'une circulation virale persistante entre 2000 et 2002, avec un nombre non négligeable de cas cliniques équins associés en 2000 et 2004. Les cas équins sont apparus, pour tous ces épisodes, entre août et novembre, avec un pic en août et septembre. Aucun cas humain n'a par contre été détecté en Camargue entre 2000 et 2007.

Les autres foyers de métropole : Var en 2003 et Pyrénées-Orientales en 2006

Début octobre 2003, cette fois dans le département du Var, à la suite de la description d'une infection sévère à virus *West Nile* chez l'homme, la surveillance des méningo-encéphalomyélites équine a permis d'identifier 3 cas équins confirmés et 1 cas équin probable un peu plus à l'ouest et au sud du groupement de cas humains (figure 11, planche VI). Les symptômes de ces chevaux sont survenus au cours du mois de septembre (semaine 38 et 39) (Zientara *et al.*, 2004a). Une étude sérologique, effectuée dans le Var en 2003 par l'Afssa et la DDSV du Var sur 906 équidés présents dans 43 centres équestres dans un rayon de moins de 30 km des cas équins confirmés, a révélé un taux de séroprévalence en IgG important : 34 % (n = 306) (Durand *et al.*, 2005a). Cependant, seuls 7,5 % des animaux positifs en IgG étaient également positifs en IgM (n = 23). Ces chiffres et l'analyse des données d'enquête ont suggéré une circulation ancienne du virus dans le département du Var.

Par ailleurs, l'analyse géographique des données de sérologie a montré une forte corrélation entre le taux de séroprévalence IgG dans les écuries et la proximité de ces écuries avec deux « zones d'importance pour la conservation des oiseaux », sites de passage ou de nidification privilégiés d'oiseaux migrateurs (figure 13, planche VII). Ces résultats suggèrent que de telles zones de surface restreinte (quelques km²) pourraient constituer un réservoir écologique favorable à une circulation localisée du virus *West Nile*.

Le virus *West Nile* semble trouver un écosystème favorable pour son amplification sur une bonne partie du pourtour méditerranéen, puisque entre fin septembre et fin octobre 2006, 5 cas équins confirmés associés à 1 décès ont pu être observés dans le département des Pyrénées-Orientales dans les environs d'Argelès-sur-Mer (Lecollinet *et al.*, 2008).

Surveillance des mortalités d'oiseaux sauvages

Suite à l'alerte équine de 2000, les investigations aviaires ont été réalisées en Camargue avec mise en évidence d'une circulation du virus *West Nile* chez les oiseaux, sans mortalité aviaire.

Durant la période de surveillance 2001-2007, 216 oiseaux morts ont fait l'objet d'une recherche de virus *West Nile* sur encéphale (tableau 7.6) dans les dix départements méditerranéens. Les oiseaux les plus fréquemment représentés étaient des canards et sarcelles (Anatidés), des goélands et des mouettes (Laridés), des pigeons et tourterelles (Colombidés) et des moineaux (Passéridés).

On constate que le nombre de cadavres analysés est resté faible, même s'il a globalement doublé à partir de 2006, bénéficiant d'une collecte d'oiseaux morts plus importante dans le contexte de la surveillance de l'influenza aviaire. Tous les résultats de la surveillance se sont révélés négatifs.

Toutefois, il est important de noter que le virus *West Nile* a été isolé sur deux oiseaux moribonds : une pie bavarde (*Pica pica*) et un moineau domestique (*Passer domesticus*). Ces oiseaux ont été collectés en 2004 dans les Bouches du Rhône (dans l'épicentre du foyer qui est apparu chez le cheval cette année-là), dans le cadre des travaux de recherche sur le virus *West Nile* entrepris par les équipes de l'École

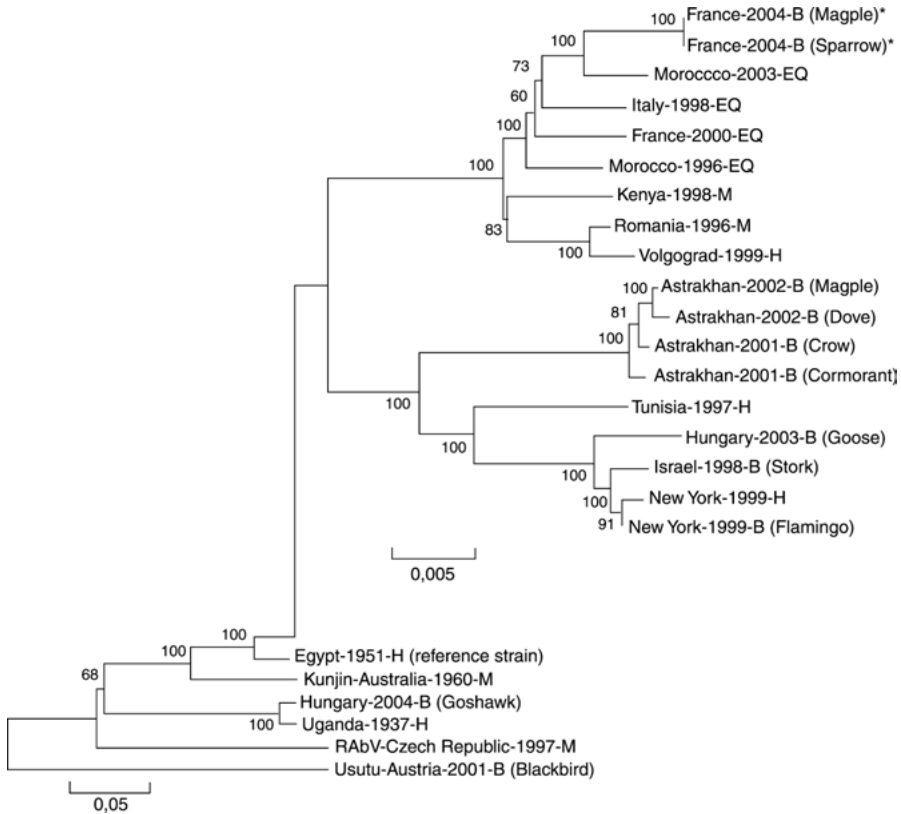


Figure 7.3. Arbre phylogénétique basé sur la séquence complète de différents virus *West Nile*. EQ = souche équine, H = souche humaine, M = souche isolée sur moustique, B = souche isolée sur oiseau. L'espèce d'oiseau correspondante est indiquée en anglais. D'après Jourdain *et al.*, 2007b.

ationale vétérinaire de Lyon et de la Station biologique de la Tour du Valat en collaboration avec le CNR (Jourdain, 2006 ; Jourdain *et al.*, 2007b). Ces découvertes étaient ponctuelles, sans qu'aucune mortalité anormale n'ait été observée dans l'avifaune, mais étaient d'un grand intérêt car il s'est agi de la première identification du virus *West Nile* sur des oiseaux sauvages en Europe occidentale.

Par ailleurs, cet isolement a permis de situer le virus dans l'arbre phylogénétique, très proche des souches ayant sévi précédemment au Maroc en 1996, en Italie en 1998 et en France en 2000 (figure 7.3). Cette souche virale s'exprime apparemment par une forme clinique plus grave chez le cheval que chez les oiseaux et l'homme (Languille *et al.*, 2005 ; Zeller et Schuffenecker, 2004b).

► Surveillance active de l'infection de 2000 à 2008

La surveillance passive peut être renforcée de mesures actives nécessitant le développement de réseaux spécifiques d'épidémiologie-surveillance pour le suivi sérologique

régulier de sentinelles aviaires (oiseaux captifs, volailles domestiques ou oiseaux sauvages identifiés) ou équines. Cette surveillance active, plus coûteuse, est souvent réservée aux régions où des foyers d'infection à virus *West Nile* ont été relevés ou dans des zones présentant un risque de circulation du virus *West Nile* de part leurs caractéristiques géographiques (deltas, zones fréquemment immergées...). Elle a été appliquée dans l'espèce aviaire (canards appelants, volaille domestique) de 2001 à 2007 en France métropolitaine sur certains départements du pourtour méditerranéen. Elle est toujours en place en Guadeloupe, mais seulement pour l'espèce équine.

Surveillance sérologique d'oiseaux sentinelles

Le tableau 7.6 dresse un bilan des séropositivités d'oiseaux sentinelles observées lors du premier contrôle annuel du mois de juin, des séroconversions aviaires détectées et des cas équins et humains observés depuis l'année 2000, avec les localisations départementales respectives.

Tableau 7.6. Bilan de la surveillance aviaire depuis 2001 et nombre de cas cliniques équins et humains observés entre 2000 et 2007 (Hars *et al.*, 2008).

Année	Oiseaux morts testés	Oiseaux séropositifs au premier contrôle (département)	Séro- conversions aviaires (département)	Cas équins (morts)	Département avec cas équins	Cas humains	Département avec cas humains
2000	-	-	-	76 (21)	34, 30, 13 (Petite Camargue)	0	-
2001	5	24 (34) 1 (13)	1 (13)	0	-	0	-
2002	17	4 (13) 2 (30) 1 (34)	1 (30)	0	-	0	-
2003	31	5 (34) 1 (30)	0	4 (1)	83	7	83
2004	32	10 (83)	11 (13) 1 (30) 1 (34)	32 (7)	13, 30, 34 (Grande Camargue)	0	-
2005	21	4 (13)	0	0	-	0	-
2006	56	5 (13) 1 (34)	0	5 (1)	66	0	-
2007	55	2 (30) 1 (13)	0	0	-	0	-
Total	216	61	15	117		7	

En caractère gras : les départements où la majorité ou la totalité des cas a été observée.

On constate que, chaque année, des oiseaux sentinelles sont porteurs d'anticorps en début de période de surveillance. Ce portage concerne toujours des canards ou des volailles adultes et il est la plupart du temps possible de les mettre en relation avec une circulation virale révélée par les foyers équin (et humain) ou des séroconversions les années précédentes. Le phénomène est flagrant pour les 24 oiseaux positifs dans l'Hérault en 2001 situés dans l'épicentre du foyer équin de 2000, de même pour les oiseaux du Var en 2004 et des Bouches du Rhône en 2005/2006. D'autres cas de séropositivité initiale peuvent aussi être imputés à une circulation virale à bas bruit (non révélée chez le cheval ou l'homme) de l'année précédente (par exemple séropositivité d'oiseaux de l'Hérault en 2003 ou du Gard et des Bouches du Rhône en 2007), sans exclure la possibilité que des oiseaux aient pu garder des anticorps acquis plusieurs années avant. Ceci confirme en tout cas que les oiseaux sentinelles sont bien en contact avec les moustiques vecteurs du virus *West Nile* et jouent bien leur rôle de sentinelles. À noter en revanche que la circulation virale observée chez le cheval en 2006 dans les Pyrénées-Orientales n'a sans doute pas été assez intense pour toucher les oiseaux sentinelles qui ont été contrôlés dans le même secteur l'année suivante et se sont avérés négatifs.

Les séroconversions d'octobre 2001 (canard) et d'août 2002 (poule), par leur caractère unique, laissent penser que le virus était présent en Camargue mais que le cycle oiseaux-moustiques n'était pas assez intense pour que les hôtes accidentels, cheval ou homme, soient touchés ou, du moins, que les systèmes de surveillance en place aient pu détecter des cas cliniques.

En 2004, le suivi sérologique d'oiseaux sentinelles a mis en évidence une circulation du virus *West Nile* en Camargue. La première séroconversion a été détectée sur la commune des Saintes-Maries-de-la-Mer (13) en juillet, soit un mois environ avant les premières suspicions équin. La plupart des séroconversions ont ensuite été observées au mois d'août dans cette zone correspondant à l'épicentre du foyer qui se déclarait chez le cheval (figure 14, planche VIII). Au total, sur les 300 oiseaux répartis dans les départements du pourtour méditerranéen, 13 séroconversions ont été confirmées, toutes en Camargue dans les départements du Gard, de l'Hérault et des Bouches-du-Rhône.

Le même parallèle entre foyer équin et séroconversions aviaires n'a pas pu être fait en 2003 dans le Var ni en 2006 dans les Pyrénées-Orientales car le suivi d'oiseaux sentinelles n'y était pas pratiqué.

Surveillance sérologique dans l'espèce équine

Les départements français des Antilles : circulation avérée du virus en 2002/2003 et en 2007/2008 en Guadeloupe

Des études sérologiques menées en juillet 2002, janvier 2003, juillet 2003 et août 2004 par le Cirad Guadeloupe, l'Afssa et le CNR des arbovirus, sur des chevaux résidant en Guadeloupe, ont révélé la présence d'IgG spécifiques du virus *West Nile* chez respectivement 3 % (n = 10/360), 50 % (n = 68/136 dans des clubs ayant eu des chevaux positifs en IgG lors de l'enquête précédente), 21 % (n = 94/487)

et 16 % (n = 70/431) d'entre eux (Quirin *et al.*, 2004). L'augmentation significative du taux de séroprévalence en IgG entre juillet 2002 et janvier 2003 a permis d'objectiver, de façon indirecte, la circulation du virus *West Nile* en Guadeloupe dans cet intervalle de temps. Le système de surveillance active mis en place précocement en Guadeloupe a permis de mettre en lumière une circulation virale de grande ampleur en Guadeloupe, sans qu'aucun cas clinique n'ait pu être attribué à une infection par le virus *West Nile* ni chez les chevaux, ni chez les oiseaux, ni chez l'homme entre 2002 et 2007.

Un nouvel épisode de circulation virale a pu être objectivé entre 2007 et 2008, par le suivi annuel (en juillet 2007 et 2008) de chevaux séronégatifs de 7 clubs considérés à risque (clubs avec plus de 20 % de séroprévalence en 2004). Au total, 13 (sur 58) séroconversions en IgG anti-*West Nile* ont été mises en évidences par le Cirad Guadeloupe et l'Afssa à Marie Galante et Basse-Terre. L'absence d'anticorps IgM chez les chevaux ayant séroconverti indiquait qu'il s'agissait d'une infection ancienne des chevaux, qui a eu lieu *a priori* entre juillet 2007 et mai 2008. Ce nouvel épisode de circulation virale n'a pas non plus été associé à l'apparition d'infections cliniques chez le cheval ou l'homme.

Les départements français des Antilles : absence de circulation du virus en Martinique

En Martinique, une enquête sérologique a été organisée en juin 2003 : sur les 363 sérums analysés, seul un cheval présentait des anticorps IgG dirigés contre le virus *West Nile* en l'absence d'IgM. Ce cheval ayant vécu en Guadeloupe jusqu'en décembre 2002, il est très probable que son infection par le virus *West Nile* ait été contractée en Guadeloupe, avant son arrivée en Martinique. Depuis cette date, aucune preuve de circulation du virus *West Nile* n'a été apportée malgré des enquêtes annuelles jusqu'en 2005. La Martinique semble donc encore épargnée par la dispersion du virus *West Nile* (Dauphin *et al.*, 2004).

Surveillance entomologique

Plusieurs périodes de surveillance spécifique ont été activées au cours des dernières années, soit lors d'un épisode de transmission, soit lors de la saison suivante. Dans le premier cas, la surveillance a été activée dès la mise en évidence de la circulation du virus (séroconversion d'un oiseau sentinelle, cas équin ou humain). Dans le second cas, la surveillance a été programmée sur l'ensemble de la saison. Dans les deux cas, l'objectif était d'évaluer la présence et l'abondance de la faune culicidienne et des vecteurs potentiels en particulier, et de rechercher le virus sur les individus adultes capturés. Pour l'essentiel, les insectes ont été capturés à l'aide de pièges à appât CO₂ (figure 15, planche VIII) et de pièges à femelles gravides, placés dans des sites à proximités d'hôtes (volailles, chevaux) ou les sites de transmission suspectés (par exemple au domicile de cas humains).

Près de 47 300 moustiques de 21 espèces différentes ont été capturés dans les zones surveillées du littoral méditerranéen (tableau 7.7). Parmi ceux-ci, 25 900 individus ont

été analysés pour la recherche de virus, tous négatifs. D'autres insectes hématophages ont également été observés, notamment des *Culicoides* spp. et des *Simuliidae* spp.

La Camargue a présenté la faune la plus diversifiée et la plus abondante, en raison de la diversité des habitats larvaires présents et de leur grande surface (en comparaison avec le Var), mais aussi en raison de l'absence de mesures de démoustication (en comparaison avec les Pyrénées-Orientales) qui ciblent en particulier *Aedes caspius*. La zone surveillée dans le Var est relativement sèche, donc peu propice aux proliférations importantes de moustiques. La région des Pyrénées-Orientales est une zone littorale présentant de grandes surfaces d'habitats larvaires, mais soumises à des mesures de démoustication régulières.

Les surveillances du Var en 2003 et des Pyrénées-Orientales en 2006 (figure 16, planche IX) sont liées à des épisodes de transmission, et ont de fait été mises en œuvre tardivement dans la saison, soit du 13 au 15/10 et du 29/09 au 13/10 respectivement. La densité de moustiques était très faible, avec une moyenne de capture de 10 moustiques par nuit de piégeage pour les Pyrénées-Orientales, ce qui n'est pas surprenant compte tenu de la période de l'année. Les surveillances de Camargue de 2000 et 2004 ont également été développées lors d'un épisode de transmission, du 08/09 au 25/10 et du 31/08 au 20/10 respectivement. Les effectifs de moustiques capturés sont plus importants, principalement en raison de la présence d'*Ae. caspius* (moustiques de marais littoraux saumâtres). Le grand nombre de *Cx. modestus* capturés en 2000 s'explique par le ciblage de cette espèce lors de piégeages réalisés à proximité des habitats larvaires, ce qui n'a pas été le cas lors des autres surveillances (notamment en 2001). Les surveillances Camargue en 2001 et Var en 2004 font suite à un épisode de transmission les années précédentes, et avaient pour objectif principal d'étudier la faune des moustiques et autres insectes hématophages dans les zones de transmission (figure 15, planche VIII). Elles ont été mises en œuvre sur l'ensemble de la saison, soit en Camargue d'avril à octobre, sur la base d'une capture hebdomadaire sur 20 sites, et dans le Var de janvier à octobre pour 7 séances de piégeages sur les anciens foyers et 8 centres équestres (dont 4 positifs et 4 négatifs pour *West Nile* en 2003).

Ces enquêtes donnent des indices pour l'identification des meilleurs vecteurs. Les espèces rares ne peuvent pas être soupçonnées de jouer un rôle significatif dans la transmission (*Ae. annulipes*, *Ae. berlandi*, *Ae. geniculatus*, etc.). Les espèces à dynamique cyclique, liées à des phases d'éclosion massives dans des habitats larvaires de grandes surfaces à submersion temporaire, ne peuvent que jouer un rôle accessoire (*Ae. caspius*, *Ae. detritus*, *Ae. sticticus*, *Ae. vexans*). Les *Culiseta* spp. n'ont jamais été soupçonnés d'être impliqués dans un cycle, même si *Cs. longiareolata*, espèce strictement ornithophile, s'est montré compétent en laboratoire. Restent les *Anopheles* spp. et les *Coquillettidia* spp., dont seuls *An. maculipennis* et *Cq. richiardii* peuvent être soupçonnés de contribuer au cycle de transmission en Camargue, sur la base d'infections observées dans la nature dans d'autres pays européens. Enfin les espèces capables de jouer un rôle prépondérant dans la transmission du virus *West Nile*, compte tenu de leur présence régulière et de leur abondance dans les zones de transmission, de leurs préférences trophiques et de leur compétence en laboratoire (chapitre 4), restent *Cx. modestus* et *Cx. pipiens* en Camargue, et *Cx. pipiens* seul dans le Var et les Pyrénées-Orientales.

Tableau 7.7. Moustiques et autres insectes hématophages capturés lors des surveillances entomologiques spécifiques et recherche de la présence du virus *West Nile* : nombre d'individus analysés (nombre de pools) / nombre total d'individus capturés, par espèce.

Espèces	2000-C	2001-C	2003-V	2004-V	2004-C	2006-PO	Totaux
<i>Aedes annulipes</i>		0/1					0/1
<i>Ae. berlandi</i>				4(3)/4			4/4
<i>Ae. caspius</i>	1 975(14)/3 319	5 640(250)/14 355	11(2)/11	97(11)/97	2 518(77)/2518	11/11	10 252/20 311
<i>Ae. caspius M</i>		3(1)/5		0/1	0/13		3/19
<i>Ae. detritus</i>	181(6)/181	531(57)/576		14(1)/14	187(11)/187	12/12	925/970
<i>Ae. geniculatus</i>		3(2)/5		1(1)/1		9/9	13/15
<i>Ae. pulcritarsis</i>				4(2)/4			4/4
<i>Ae. rusticus</i>		1(1)/1		55(6)/55		2/2	58/58
<i>Ae. sticticus</i>				115(5)/116			115/116
<i>Ae. vexans</i>		658(45)/966		137(11)/139	24(5)/24	4/4	823/1133
<i>Aedes spp.</i>		0/46		9(1)/10	0/2		9/58
<i>Anopheles hyrcanus</i>	36(1)/115	1 256(94)/2 512			122(14)/122	1/1	1415/2 750
<i>An. maculipennis/hyrcanus</i>	456(5)/544						456/544
<i>An. maculipennis s.l.</i>		345(67)/520		8(1)/8	106(10)/106		459/634
<i>Coquillietidia buxtoni</i>		1(1)/2					1/2
<i>Cq. richiardii</i>		418(95)/433			60(6)/60		478/493
<i>Cq. richiardii M</i>		2(1)/2					2/2
<i>Culiseta annulata</i>	1(1)/3	63(40)/64	9(2)/9	34(17)/35	5(5)/5	1/1	113/117
<i>Cs. longiareolata</i>	0/2	1(1)/1		8(5)/8	1(1)/1	16/16	26/28
<i>Cs. subochrea</i>				1(1)/1	1(1)/1		2/2

Espèces	2000-C	2001-C	2003-V	2004-V	2004-C	2006-PO	Totaux
<i>Culex impudicus</i>			1(1)/1	1(1)/1			2/2
<i>Cx. modestus</i>	699(10)/901	257(70)/267			147(8)/147		1 103/1315
<i>Cx. pipiens</i>	507(7)/3 366	7 134(318)/13 133	41(10)/41	935(67)/942	356(43)/357	578/578	9 551/18 417
<i>Cx. pipiens</i> M		17(9)/23	15(1)/15	49(10)/100			81/138
<i>Cx. theileri</i>		1(1)/7					1/7
<i>Culex</i> spp.		0/135					0/135
<i>Uranotaenia unguiculata</i>		0/1			2(1)/2		2/3
Totaux <i>Culicidae</i>	3 855(44)/8 431	16 331(1 053)/33 055	77(16)/77	1 472(143)/1 536	3 529(182)/3 545	634/634	25 899/47 278
<i>Simuliidae</i> spp.	0/17		2(2)/2	134(5)/488			136/507
<i>Culicoides</i> spp.			5(2)/5		600(2)/600		605/605
<i>Phlebotominae</i> spp.				0/15			0/15
<i>Stomoxys calcitrans</i>				0/28			0/28

C : Camargue ; V : Var ; PO : Pyrénées-Orientales ; M : mâles (un faible nombre de mâles a été capturé ; seules sont indiqués les espèces ayant été testées). Les moustiques ont été identifiés et regroupés en lots monospécifiques d'un maximum de 50 individus.

► Bilan des actions de surveillance

Les différents volets de la surveillance *West Nile* ont démontré l'existence d'une circulation faible du virus *West Nile* dans les départements du pourtour méditerranéen, avec une circulation qui a même pu être visualisée en Camargue pendant plusieurs années consécutives (2000 à 2002). Dans les départements français des Antilles, aucun cas clinique équin ou humain n'a été rapporté. Pourtant le virus a bien été présent en Guadeloupe, sa circulation n'ayant pu être objectivée que par l'organisation d'une surveillance active équine et aviaire.

Intérêts et limites de la surveillance mise en place en France

Bonne réactivité du système de surveillance,
assurée par la constitution d'un réseau pluridisciplinaire

Le bon fonctionnement du dispositif de surveillance du virus *West Nile* mis en œuvre entre 2001 et 2008 sur le pourtour méditerranéen montre la faisabilité d'une approche pluridisciplinaire associant les acteurs de la santé humaine et animale. L'apparition du virus *West Nile* et l'intensité de la circulation virale ont pu être décrites à plusieurs reprises par la combinaison des différents volets, humain, équin, aviaire et entomologique, de cette surveillance.

À titre d'exemple, le réseau de surveillance aviaire a globalement très bien fonctionné, grâce à une excellente participation et coordination de tous les acteurs. Une évaluation du système a été faite depuis 2004 à partir de la base de données tenue par le Cirad (Chavernac *et al.*, 2006). Pour le suivi des sentinelles, nous avons constaté en moyenne sur quatre ans :

- pour le rythme des prélèvements, 97 % de conformité avec le protocole établi ;
- pour la qualité des prélèvements, 98 % d'exploitabilité au laboratoire ;
- pour les résultats, un délai de 11 jours entre le prélèvement sanguin et la remise du résultat final par le CNR, ce qui peut être considéré comme excellent.

L'élargissement en fin de saison 2003 de la surveillance multi-espèces à tout le pourtour méditerranéen a permis d'améliorer la réactivité du dispositif en 2004/2006. Lors de chaque alerte coordonnée par la DGS et la DGAI, l'inter-réactivité entre les différents volets humain, équin, aviaire et entomologique, s'est traduite par un renforcement et des réadaptations rapides de la surveillance sur les zones touchées par le virus *West Nile*. Des mesures de protection des populations exposées, avec des démoustications ciblées et des conseils de protection individuelle contre les piqûres de moustiques ont pu être rapidement mises en œuvre.

Cette inter-réactivité et adaptabilité du dispositif sont des caractéristiques importantes à pérenniser, car même si le virus *West Nile* est resté localisé et a semblé ne pas pouvoir diffuser et s'étendre sur le pourtour méditerranéen de métropole, ces épizooties récurrentes conservent un potentiel de risque pour la santé animale et humaine avec des manifestations imprévisibles dépendantes de nombreux facteurs écologiques et climatiques.

Acquisition de connaissances sur l'écologie de cette infection complexe

De nombreux programmes de recherche ont été menés en parallèle des actions de surveillance de l'infection à virus *West Nile* sur le pourtour méditerranéen.

La surveillance active réalisée dans l'espèce équine en Camargue (programme de recherche financé par les Haras nationaux) a permis de démontrer la présence d'une circulation virale persistante entre 2000 et 2002. Les épisodes récents d'infections cliniques à virus *West Nile* en Camargue pourraient alors être liés à une ré-émergence d'un virus ayant circulé à bas bruit dans la région camarguaise. Les facteurs ayant conditionné l'amplification de la circulation virale en 2000 ou 2004 devraient alors être déterminés et les mécanismes ayant participé à la persistance éventuelle durant l'hiver investigués. Le virus a également pu être réintroduit régulièrement en Camargue par des oiseaux migrateurs, puis amplifié au sein d'un réservoir aviaire local, suivi d'un passage à un hôte révélateur, en l'occurrence le cheval en 2000 et 2004.

Le suivi de l'avifaune camarguaise (chapitre 3) a permis de confirmer que des oiseaux migrateurs provenant de zones tropicales où le virus *West Nile* est endémique sont exposés au virus (ou à un autre flavivirus proche) avant leur arrivée en Camargue et que des espèces sédentaires (passereaux, corvidés...) peuvent servir de relais entre les zones humides et les zones d'élevage de chevaux (Jourdain, 2006). À ce titre, la pie bavarde, qui avait montré la plus forte séroprévalence apparente lors de l'enquête sérologique préliminaire faite par l'ONCFS en 2000, semble être un bon indicateur de la présence du virus *West Nile* (Jourdain *et al.*, 2008a).

Surveillance des cas neuro-invasifs chez l'homme et le cheval

Au total, le nombre de cas humains identifiés en France est faible : 9 cas d'importation de 2002 à 2008, 7 cas autochtones dans le Var en 2003 (dont 3 cas avec des symptômes neurologiques), aucun cas en Guadeloupe et Martinique. La surveillance humaine a contribué à la sensibilisation des établissements de soins qui reçoivent les cas suspects d'infection à virus *West Nile*.

En focalisant la surveillance humaine sur la détection des cas sévères, seule une partie de la circulation virale chez l'homme est identifiée. En effet, le ratio infections asymptomatiques et symptomatiques sur formes méningo-encéphalitiques a été estimé à 140 lors d'une enquête de séroprévalence réalisée à New York en 1999 (Mostashari *et al.*, 2001). Ce taux permet d'estimer le nombre total de personnes infectées dans le Var en 2003 pendant l'épidémie autour de 420 cas (45,6 pour 100 000), chiffre du même ordre de grandeur que celui obtenu à partir de l'enquête sur les donneurs de sang pendant la même période dans ce département³. Cette estimation ne modifie pas les mesures de gestion et de prévention puisque, en cas de survenue d'un seul cas humain de forme grave d'infection à virus *West Nile*, des mesures sont mises en œuvre pour renforcer la surveillance animale et la

3. Groupe de travail Afssaps, EFS, INTS, InVS. Estimation quantitative du risque de contamination d'un don de sang par des agents infectieux. InVS 2007.

surveillance entomologique éventuellement accompagnée de mesures de lutte antivectorielle. Mais cette estimation du nombre de personnes infectées est importante pour déterminer le risque de don de sang virémique et ainsi décider des mesures à prendre pour la sécurisation des produits d'origine humaine.

La surveillance clinique équine renforcée dans le sud de la France a permis d'identifier quatre épisodes distincts de circulation du virus *West Nile* : en Camargue, en 2000 et 2004, dans le Var en 2003 ainsi que dans les Pyrénées-Orientales en 2006. Elle paraît suffisamment sensible pour détecter un niveau élevé d'amplification virale pouvant être associé à des cas d'infection *West Nile* chez l'homme, et apparaît donc, dans le contexte français actuel, comme la surveillance la plus efficace. Cependant, elle n'autorisera probablement pas toujours une anticipation suffisante du risque pour l'homme : en effet, les cas cliniques humains dans le Var en 2003 ont été observés de façon concomitante aux cas cliniques équins.

Surveillance passive dans l'avifaune sauvage et absence apparente de surmortalité aviaire

Les souches virales qui circulent dans le sud de la France depuis 2000 ne provoquent manifestement pas de mortalité anormale dans l'avifaune, contrairement à ce qui est observé sur le continent nord-américain depuis 1999 ou depuis 2004 en Hongrie. Il est en revanche possible que des mortalités sporadiques soient dues au virus mais passent inaperçues et ne puissent pas être détectées par le réseau SAGIR malgré les campagnes d'information et de sensibilisation du public qui ont été menées jusqu'en 2005 et l'effet stimulateur « grippe aviaire » intervenu depuis 2006. Cet argument est conforté par la découverte quasi fortuite de deux oiseaux malades et infectés par le virus *West Nile* en 2004 dans le contexte particulier d'activités quotidiennes de terrain menées pour un programme de recherche (Jourdain, 2006).

Le dépistage du virus *West Nile* sur des cadavres d'oiseaux sauvages collectés dans la zone méditerranéenne est maintenu car il peut permettre de détecter l'apparition d'une souche virale induisant une pathogénicité aviaire avec risque de transmission à l'homme ou au cheval.

Surveillance active : intérêts et limites

La surveillance sérologique d'oiseaux sentinelles a montré ses atouts ainsi que ses limites. Elle s'est avérée bien utile dans un contexte où la souche virale circulante présente une très faible pathogénicité aviaire, ceci rendant la surveillance passive insuffisante. Elle permet de maintenir une surveillance tout au long de la période d'activité vectorielle, mais la lourdeur de sa mise en œuvre a imposé de réduire le nombre de sites suivis dans chaque département et de les répartir uniquement dans les zones « les plus à risques », ce qui a eu pour conséquence de manquer une possible détection précoce du virus quand il a émergé dans le Var et les Pyrénées-Orientales. De ce fait, la faible sensibilité du réseau d'oiseaux sentinelles a été discutée lors d'une étude faite par l'Afssa (Zientara *et al.*, 2004a) : celle-ci montrait que pour détecter une prévalence de 5 à 8 % chez les canards colverts sentinelles (prévalence moyenne observée lors de l'enquête sérologique de 2000),

il fallait suivre au moins 300 oiseaux par département et non pas 50, effectif moyen de sentinelles par département depuis 2003. Toutefois, la surveillance des sentinelles, bien que peu sensible, a été capable en 2001 et 2002 de détecter la faible circulation du virus. De plus, en 2004, dans l'épicentre du foyer équin des Saintes-Maries-de-la-Mer, 9 des 12 oiseaux (75 %) suivis ont séroconverti entre juillet et début septembre, et deux d'entre eux l'ont fait plusieurs semaines avant les premiers cas cliniques équins, ce qui a répondu à l'objectif d'alerte précoce du système. Ceci renforce l'idée que, lorsque les conditions nécessaires au développement d'un foyer sont réunies, la circulation virale chez les oiseaux doit être intense, assez en tout cas pour induire des séroprévalences élevées qui puissent être détectées par un réseau de surveillance peu sensible. Une surveillance d'oiseaux sentinelles *a minima* peut donc s'avérer utile pour donner l'alerte avant l'apparition de phénomènes de type épizootique et/ou épidémique (Hars *et al.*, 2004 ; Hars *et al.*, 2008).

La lourdeur du système et une analyse coût/bénéfice amènera le ministère chargé de l'Agriculture à l'abandonner à partir de 2008, tant que la situation épidémiologique et l'impact sur les populations équines et humaines resteront au niveau actuel.

La surveillance entomologique a été mise en œuvre afin d'identifier les principaux vecteurs de *West Nile*. Les premières enquêtes ont mis en évidence l'intérêt limité de la recherche du virus chez les moustiques, du fait d'une recherche particulièrement délicate (procédure à froid à respecter) et aléatoire, surtout en raison du faible taux d'infection généralement observé chez les moustiques. Lors des épisodes de transmission, les captures d'insectes interviennent après la déclaration des cas cliniques ou au mieux après la séroconversion d'un oiseau sentinelle. Dans le contexte français, les alertes sont toujours intervenues en fin de saison, lorsque les populations de moustiques étaient en nette diminution. Dans le même temps, les moustiques ayant participé à la transmission avaient probablement déjà disparu au moment du déclenchement des enquêtes. Les surveillances réalisées après coup, c'est-à-dire lors des saisons suivantes, n'ont pas non plus révélé de moustiques infectés. De fait, aucune circulation de virus n'a été révélée dans les zones d'enquêtes et il est ainsi apparu illusoire de mettre en place une surveillance des moustiques pour une détection précoce de la circulation du virus. Ces surveillances nécessitent la mise en place d'un réseau de capture assez étoffé sur un large territoire, ainsi que la capture et l'analyse d'un très grand nombre de spécimens. Ces différentes opérations mobilisent du personnel, des moyens et du temps pour un résultat parfois peu concluant.

L'intérêt majeur de la démarche a été de tenter d'identifier la ou les espèces qui transmettent le virus, par la récolte sur le terrain d'indices sur les capacités vectorielles des différentes espèces. De cette information dépend toute la stratégie de contrôle pouvant être mise en place, qui peut différer d'une espèce à l'autre. La conduite d'opérations de contrôle anti-larvaire en milieu rural contre des espèces de *Culex* spp. serait en effet bien différente de celles exercées habituellement par l'EID Méditerranée contre les *Aedes* spp.

Ainsi, à des fins de recherche, il apparaît primordial de réaliser des investigations entomologiques au moins dans le cas avéré d'une nouvelle épizootie et/ou épidémie *West Nile*.

Expériences américaine et italienne

Le virus *West Nile* est présent dans de nombreux pays, sur les continents américain, africain, européen, asiatique et en Australie. Ainsi, de nombreux pays ont recours à un programme de surveillance de l'infection à virus *West Nile* ou des arboviroses en général. Cependant, de part le monde, les contextes écologiques et épidémiologiques, et par conséquent les programmes de surveillance de l'infection à virus *West Nile*, diffèrent. Nous nous appuyons ici sur les exemples américain et italien et confronterons les expériences respectives des différents pays.

Aux États-Unis, à la suite de l'introduction du virus *West Nile* en 1999 et à sa progression inattendue les années suivantes, la circulation du virus *West Nile* selon un mode endémique a entraîné plus de 29 000 cas sévères d'infection chez l'homme associés à 1 157 décès, pas moins de 25 000 cas équins et des mortalités importantes chez les oiseaux sauvages (LaDeau *et al.*, 2007). Aux États-Unis, la surveillance passive des méningo-encéphalites humaines et équines, ainsi que la surveillance de la mortalité aviaire sont les outils de base pour la surveillance de l'infection à virus *West Nile*. Ainsi, de janvier à novembre 2002 (l'année où le plus grand nombre de cas équins a été noté), une circulation virale a été détectée dans 2 289 comtés. Dans 95 % des cas ($n = 2\,164$), le premier signe de cette circulation était issu de la surveillance passive (O'Leary *et al.*, 2002). Parmi ces comtés, le premier signe de circulation virale a été :

- la mortalité aviaire dans 66 % des cas ($n = 1\,420$ comtés) ;
- un cas clinique équin dans 30 % des cas ($n = 660$ comtés) ;
- un cas clinique humain dans 4 % des cas ($n = 84$ comtés).

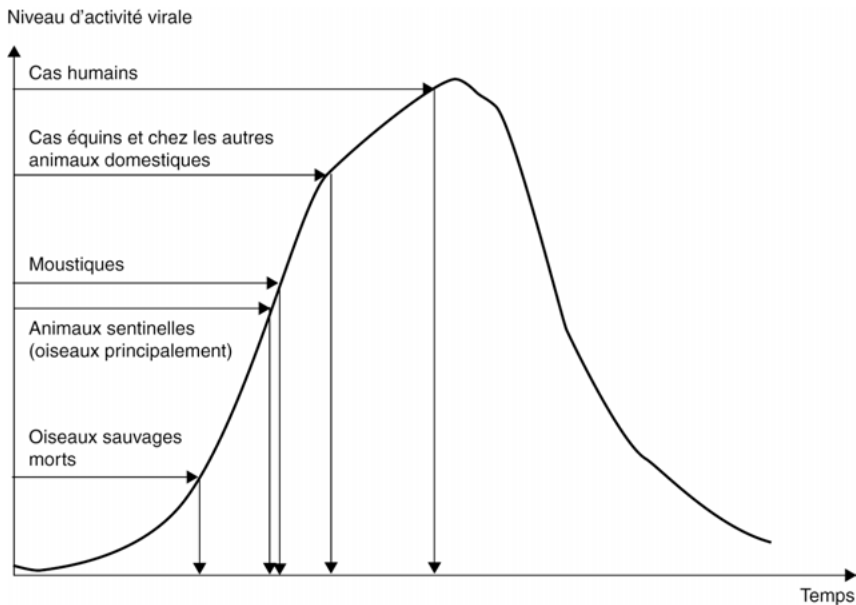


Figure 7.4. Sensibilité estimée des méthodes de surveillance de l'infection à virus *West Nile* dans le contexte américain (forte mortalité d'oiseaux) (CDC, <http://www.cdc.gov/westnile/>).

Dans le contexte nord-américain actuel, la surveillance passive permet donc, dans une grande majorité des cas, de déclencher une alerte précoce, surtout grâce à la surveillance de la mortalité aviaire (figure 7.4). En revanche, la surveillance active et le suivi d'animaux sentinelles semblent assez peu utilisés, ce qui explique qu'en 2002, le premier signe de circulation virale n'ait été issu de la surveillance active que dans 101 comtés (4 %) sur les 2 289 où cette circulation a été détectée :

- dans 18 comtés, il s'agissait de séroconversions d'oiseaux sentinelles ;
- dans 6 comtés, il s'agissait d'un oiseau sauvage capturé séropositif ;
- dans 77 comtés, il s'agissait de la détection de virus à partir de moustiques.

En Amérique centrale et du Sud, où le virus *West Nile* s'est déployé de 2001/2002 (îles Caïman, Caraïbes, Mexique...) à 2006 (Argentine), la maladie reste généralement asymptomatique. Pour révéler une circulation virale, les pays ont donc besoin de se référer à des sentinelles aviaires et/ou équine. Ainsi, au Mexique en 2003, la démonstration d'une infection sur des oiseaux morts n'a pu être apportée que dans quatre cas et la circulation du virus *West Nile* a été mise en évidence par des tests sérologiques positifs chez 117 oiseaux (sur plus de 17 000 testés), à l'image de ce qui a été entrepris en matière de surveillance active en Guadeloupe (Komar et Clark, 2006).

De même, en Europe et plus généralement dans le Vieux Monde, les oiseaux ne présentent *a priori* aucune pathologie, à l'exception d'oies et de cigognes en Israël entre 1997 et 2000 ou de rapaces en Hongrie depuis 2004 (Erdelyi *et al.*, 2007 ; Malkinson et Banet, 2002). En Europe du Sud, la survenue de foyers irréguliers, difficilement prédictibles, l'absence de mortalité aviaire massive et les taux d'infection très faibles des moustiques a poussé les autorités sanitaires à établir des programmes de surveillance multidisciplinaire (France, Italie). En Italie, après 10 ans de silence, le virus *West Nile* a réémergé en août 2008, dans les régions d'Emilie-Romagne, de Vénétie et de Lombardie. 794 cas d'infections équine à virus *West Nile* ont été mis en évidence lors d'une large étude sérologique organisée dans ces trois régions, mais seulement 4 % (32/794) des équidés ont montré une atteinte neurologique (Calistri *et al.*, 2010). Un programme de surveillance est en place depuis 2001 dans 15 zones humides jugées à risque pour la circulation du virus *West Nile* (présence d'oiseaux d'eau, en particulier d'espèces migratrices pouvant représenter un risque d'introduction du virus). Ce programme est essentiellement basé, pour les volets vétérinaires, sur la surveillance des équidés et des oiseaux domestiques et sauvages : surveillance passive des cas cliniques neurologiques chez le cheval et de la surmortalité dans l'avifaune sauvage, suivi d'oiseaux sentinelles (tous les 15 jours de mai à novembre) et de sentinelles équine (450 chevaux testés 2 fois par an, avant — avril-mai — et après — octobre-novembre — la saison de transmission).

Les premiers signes de l'infection ont été repérés le 20 août 2008, soit 1 mois environ avant la survenue des premiers cas humains (16 et 30 septembre), chez un cheval de course vivant dans une étable dans la province de Ferrara, proche du Pô, une des régions à risque sélectionnée dans le cadre du programme italien de surveillance du virus *West Nile*. Les premières séroconversions chez les poulets sentinelles n'ont été enregistrées que plus tardivement, le 26 septembre, dans la province de Ferrara. Ces données soulignent l'intérêt de la surveillance des méningo-encéphalites dans l'espèce équine dans le cadre de la surveillance *West Nile* en Europe.

De plus, des épisodes d'introduction et de circulation locale du virus *West Nile* ont été suspectés les cinq années auparavant dans la même zone de l'Italie du Nord, mais sans la diffusion de 2008-2009, suite à l'observation de sérologies positives chez des poulets sentinelles en 2003, 2005, 2006 et 2007, ainsi que sur des chevaux en 2005 et 2007. Ces différentes données suggèrent une possible endémisation du virus *West Nile* en Italie du Nord, situation qui devra être plus précisément évaluée ces prochaines années.

Axes d'amélioration des protocoles actuels

La surveillance des cas cliniques équins a montré tout son intérêt dans le contexte de l'Europe du Sud (France, Italie). Aux États-Unis, une analyse rétrospective réalisée en 2002 sur les cas d'infection à virus *West Nile* au Texas a permis de montrer que les cas équins étaient signalés significativement plus tôt que les cas humains (2 semaines de décalage, en moyenne 12 jours avant) dans les zones urbaines. En revanche, dans les zones rurales, les cas équins apparaissaient plus tard (en moyenne 9 jours) que les cas humains les plus proches. Surveiller les populations équines susceptibles au virus *West Nile* dans le voisinage proche des populations humaines urbaines peut donc être utile pour prédire le risque de maladie chez l'homme (Ward et Scheurmann, 2008). Avec un délai moyen de 12 jours, et en considérant une période d'incubation moyenne de 3 à 5 jours, la détection de cas cliniques équins laisserait une fenêtre d'une semaine pour mettre en place des mesures de prévention et de contrôle afin de protéger les communautés humaines voisines. Comme mentionné plus haut, la surveillance passive dans l'espèce équine n'autorisera probablement pas toujours une anticipation suffisante du risque pour l'homme.

Il est donc important de proposer des axes d'amélioration des protocoles actuels. Les protocoles de surveillance devront bien évidemment être adaptés aux modifications potentiellement constatées dans la situation épidémiologique d'un pays au regard du risque *West Nile*. En particulier, si le contexte européen changeait — si l'on assistait à une endémisation majeure du virus — une surveillance active pourrait être réactivée en France afin d'augmenter le niveau d'anticipation.

De plus, d'autres facteurs, indépendants de la situation épidémiologique d'un pays, doivent être pris en considération afin de moduler au mieux les modalités de surveillance de l'infection par le virus *West Nile*. La surveillance passive des mortalités aviaires, très utile dans le contexte nord-américain, pourrait perdre en sensibilité, suite à une perte progressive de l'intérêt du public à signaler les oiseaux morts, à une sélection d'oiseaux génétiquement résistants à l'infection ou présentant une immunité (à cause de l'existence de virus proches du virus *West Nile* dans certains états des États-Unis, pouvant conférer une immunité croisée contre le virus *West Nile*) ou à l'apparition de souches moins virulentes pour les oiseaux. La disponibilité d'un vaccin en Europe et en Amérique dans l'espèce équine, protégeant des formes cliniques de la maladie, pourrait influencer la sensibilité de la surveillance clinique équine (en fonction du taux de couverture vaccinale).

Parmi les solutions alternatives envisageables pour maintenir une bonne réactivité du réseau de surveillance en France dans ce contexte de vaccination potentielle des chevaux dans les départements à risque du sud de la France, il est possible de mentionner trois axes.

Surveillance syndromique dans l'espèce équine

La surveillance passive mise en œuvre dans l'espèce équine pourrait être judicieusement complétée par un programme de surveillance syndromique. Cette surveillance syndromique vise à identifier des agrégats de cas d'infection neurologiques avant même de disposer d'une confirmation du diagnostic par le laboratoire (Henning, 2004). L'analyse rétrospective de l'épizootie de 2004 en Camargue a montré que la surveillance syndromique des chevaux aurait permis de fournir une alerte 4 semaines avant le début de la période épizootique, délai suffisant pour autoriser la mise en place de mesures d'information et de contrôle des moustiques vecteurs (Leblond *et al.*, 2007a). Un programme, piloté par A. Leblond, est actuellement en cours d'évaluation en France, et fait appel à un réseau de huit vétérinaires équins formés intervenant dans la région de la Camargue et à un système électronique de recueil des données cliniques des syndromes nerveux (plateforme « Surveillance des syndromes infectieux et alerte précoce », S2IAP).

Surveillance active et ciblée de l'avifaune sauvage sédentaire

Une surveillance active et ciblée de l'avifaune sauvage sédentaire reposerait sur l'évaluation du statut sérologique d'espèces aviaires présentant une forte probabilité de contact avec le virus *West Nile*. Les espèces les plus « prometteuses » sont peut-être les pies bavardes (*Pica pica*) et les moineaux domestiques (*Passer domesticus*), deux espèces sédentaires fréquemment observées dans les milieux occupés par les hommes et les chevaux et à partir desquelles le virus *West Nile* a été isolé au cours de l'épizootie camarguaise de 2004 (Jourdain *et al.*, 2007b, 2008a). Chez ces oiseaux, la mise en évidence d'un épisode récent de circulation virale est possible en recherchant des anticorps chez des individus recapturés (préalablement négatifs) ou en testant les jeunes de l'année. Comme pour le système de surveillance basé sur les oiseaux sentinelles captifs, la principale difficulté pour permettre la détection d'une circulation virale localisée est d'obtenir un échantillon suffisamment grand et représentatif de la zone étudiée pour avoir un niveau suffisant de sensibilité. Dans un objectif de prévention de contaminations humaines ou équines, la lourdeur d'un tel système, déjà évoqué pour le suivi d'oiseaux captifs, limitera son usage à des situations de risque très élevé.

Surveillance d'autres mammifères

La surveillance active d'autres mammifères domestiques que le cheval, connus pour être susceptibles à l'infection par le virus *West Nile*, comme les vaches, moutons, chiens, pourrait s'avérer utile. Très peu d'études comparant les taux de séoprévalence chez plusieurs espèces de mammifères domestiques dans une même région sont disponibles actuellement, ce qui rend difficile l'évaluation de la sensibilité de systèmes de surveillance reposant sur l'utilisation de mammifères domestiques autres que le cheval. Le suivi de bovins asymptomatiques ou de la plupart des mammifères domestiques testés apparaît cependant moins sensible que le suivi de chevaux dans trois études :

– Espagne, marais de Guadalquivir, 2005 : 13/157 (8 %) chevaux et 0/194 bovins présentaient des anticorps neutralisants le virus *West Nile* (Jimenez-Clavero *et al.*, 2007) ;

- Italie, Emilie-Romagne, 2008 : 46 % des chevaux contre 6 % des bovins présentent une sérologie *West Nile* positive, dans la province de Ferrara la plus sévèrement touchée lors de l'épizootie de 2008 (Calistri *et al.*, 2010) ;
- dans 10 provinces de Turquie : 35/259 (14 %) chevaux, 4/100 (4 %) bovins, 1/40 (3 %) mules, 43/114 (38 %) chiens et 1/100 (1 %) mouton présentaient des anticorps dirigés contre le virus *West Nile* (Ozkul *et al.*, 2006).

La surveillance sérologique de chiens apparaît par contre intéressante, comme souligné dans l'étude d'Ozkul (Ozkul *et al.*, 2006) et d'autres études réalisées aux États-Unis. Des niveaux élevés de séroconversion contre le virus *West Nile* dans des foyers de circulation virale intense ont été rapportés dans plusieurs études (Mostashari *et al.*, 2001 : New York, 1999 ; Lillibridge *et al.*, 2004b : Houston, 2002 ; Kile *et al.*, 2005 : Louisiane, 2002). Ainsi, à Houston, en 2005, les premières séroconversions chez des chiots (de plus de 8 semaines pour éviter une possible confusion avec les anticorps maternels) ont été détectées 6 semaines avant le premier cas humain ; 44/246 (18 %) chiots ont été trouvés positifs (Resnick *et al.*, 2008).

Le recours à ces nouvelles modalités de surveillance de l'infection à virus *West Nile* serait envisageable dans le futur, s'il est nécessaire d'ajuster le programme de surveillance français, mais il est avant tout nécessaire de collecter plus de données permettant de comparer les sensibilités et coûts des différents volets de surveillance, en particulier dans le contexte français et européen.

►► Besoins en recherche pour mieux identifier les sites de surveillance

Le bilan de huit années de surveillance équine, aviaire et humaine montre que dans le sud de la France, l'apparition du virus *West Nile* et l'intensification de son cycle de transmission dépendent de la conjonction de nombreux facteurs écologiques et climatiques mal appréciés. Ceci confirme l'hypothèse émise suite aux études menées en 2000 que la Camargue serait une zone favorable au développement d'épizooties où des « poussées virales » ponctuelles (temporellement et/ou géographiquement) peuvent apparaître de façon totalement imprévisible, à la différence des « zones enzootiques » (Israël, Égypte, États-Unis...) où le virus circule largement en induisant la présence d'anticorps sur une grande proportion d'hôtes (oiseau, cheval, homme).

En plus des études sérologiques et cliniques ayant permis l'identification de foyers en région Camargue, des études visant à identifier des facteurs environnementaux susceptibles de favoriser cette ré-émergence ont été entreprises (Chevalier *et al.*, 2002 ; Leblond *et al.*, 2005, 2007b). Outre la composition des biotopes, en particulier de biotopes favorables à la présence d'oiseaux et de moustiques, la structure du paysage semble être un élément déterminant pour l'intensité des contacts hôtes/vecteurs et donc l'existence d'un risque de circulation du virus (Pradier *et al.*, 2008). Une carte de risque de circulation endémique du virus a été publiée récemment et des études complémentaires sont encore nécessaires pour améliorer et valider cette prédiction. À terme, ces travaux devraient permettre d'améliorer l'efficacité de la surveillance.

Les auteurs remercient les infirmiers et médecins inspecteurs de la santé publique des directions départementales des Affaires sanitaires et sociales (Ddass) et les médecins, biologistes et cliniciens des établissements de soins publics et privés de l'inter-région sud, l'unité des virus émergents de la faculté de médecine de Marseille, l'Agence française de sécurité sanitaire des produits de santé (Afssaps), les directions départementales et laboratoires départementaux des Services vétérinaires (DDSV et LDAV), les services départementaux de l'Office national de la chasse et de la faune sauvage (ONCFS), les chasseurs ayant mis à disposition leurs canards appelants pour la surveillance active de l'avifaune ainsi que les détenteurs de volailles sentinelles et leurs vétérinaires, le Centre de coopération internationale en recherche agronomique pour le développement (Cirad), la station biologique de la Tour du Valat, l'entente interdépartementale de la démoustication du littoral méditerranéen (EID) et l'Institut de recherche pour le développement (IRD).

Facteurs de risques environnementaux pour la circulation du virus

Benoît DURAND, Annelise TRAN, Agnès LEBLOND,
Alain SANDOZ, Dominique J. BICOUT

Objectif : présenter des travaux ayant traité de la question des facteurs environnementaux associés au risque de circulation du virus *West Nile*

En utilisant :

- des approches de modélisation statistique (pour l'analyse spatio-temporelle des épidémies de *West Nile* passées, la géolocalisation des foyers de *West Nile* et l'étude des relations entre foyers de *West Nile* et environnement) ;
- les moyens et méthodes de la géomatique (notamment pour la cartographie des gîtes des vecteurs du virus *West Nile*) ;
- ou en considérant d'autres facteurs susceptibles d'influer sur la distribution spatiale et temporelle de la maladie tels les populations d'oiseaux, le climat et les modifications environnementales.

» Analyse des épidémies passées en France par approches de modélisation statistique

En France, l'infection à virus *West Nile* a été décrite pour la première fois entre 1962 et 1965 en Camargue (figure 17, planche X), dans une série d'études menées chez les chevaux, les moustiques et l'homme. Après un silence apparent de 35 ans, le virus a de nouveau fait parler de lui en Camargue en 2000, avec une épidémie de 76 cas chez les équidés (Zientara *et al.*, 2001). Une surveillance a été mise en place les années suivantes chez le cheval et les oiseaux (Zientara *et al.*, 2004b). En 2001 et 2002, la circulation du virus *West Nile* a de nouveau été révélée en Camargue grâce à la séroconversion d'oiseaux sentinelles et de chevaux (Bicout *et al.*, 2003), mais aucun cas clinique n'a été rapporté. En 2003, 1 cas humain et 4 cas équins ont été signalés dans le département du Var. En 2004, c'est à nouveau en Camargue que le virus est réapparu avec 32 cas équins. Enfin, en 2006, 5 cas équins ont été signalés dans les Pyrénées-Orientales.

Les zones et les voies de circulation du virus dans le paléarctique occidental ne sont pas connues avec précision. On considère généralement que les foyers de l'ouest de

l'Europe sont dus à l'introduction du virus par des oiseaux migrateurs en provenance d'Afrique. Cependant, l'existence d'une circulation régulière et/ou permanente du virus dans certaines zones d'Europe occidentale ne peut pas être exclue.

En 2000 et 2003, deux enquêtes de séroprévalence ont été effectuées sur les populations d'équidés vivant dans les zones touchées. C'est l'analyse des données produites par ces deux enquêtes que nous présentons ici, ainsi que les enseignements tirés des contrastes observés entre ces deux situations.

Épidémiologie descriptive : la Camargue en 2000 et le Var en 2003

Cas cliniques

En Camargue, entre le début du mois de septembre et la fin du mois de novembre 2000, 130 cas suspects (128 chevaux et 2 ânes) ont été signalés par les vétérinaires de la zone touchée, située à l'est de Montpellier (Murgue *et al.*, 2001). Un cas suspect était défini comme un équidé présentant une ataxie, une parésie ou une paralysie, avec ou sans fièvre (température supérieure à 38,5 °C). Un peu plus de la moitié de ces cas suspects (75 chevaux et 1 âne) ont été confirmés au laboratoire, et 21 d'entre eux sont morts. Deux types de cas ont été distingués sur la base de critères sérologiques : la présence ou l'absence dans le sérum des animaux d'immuno-globulines (Ig) G ou M dirigées contre le virus. Des travaux expérimentaux ont montré qu'après infection, les IgG et IgM apparaissent à peu près simultanément. Cependant, les IgM ont une demi-vie relativement courte (de quelques semaines, en tout cas inférieure à 2 ou 3 mois) et signent donc une infection récente, alors que les IgG ont une demi-vie beaucoup plus longue (plusieurs années) et peuvent de ce fait correspondre à une infection récente ou ancienne. Un cas suspect était classé comme confirmé si l'animal présentait des IgM (avec ou sans IgG) et comme probable s'il présentait des IgG mais pas d'IgM. Ce sont ainsi 58 équidés (57 chevaux dont 20 sont morts, et 1 âne) qui ont été classés comme cas confirmés, et 18 chevaux (dont 1 est mort) qui ont été classés comme cas probables (figure 17, planche X).

Dans le Var en 2003, un cas humain a été identifié à la fin du mois d'août chez un patient vivant à proximité de Fréjus, qui présentait une méningo-encéphalite (Mailles *et al.*, 2003). Les analyses sérologiques ont confirmé l'infection de ce patient et de son épouse par le virus *West Nile*. Un cas équin a été signalé quelques jours plus tard à proximité de Grimaud et a été classé comme cas confirmé sur la base des mêmes critères qu'en 2000 en Camargue. Une enquête rétrospective a permis d'identifier trois cas équins supplémentaires.

Enquêtes sérologiques

En 2000 en Camargue, une enquête sérologique a été lancée par les autorités sanitaires dès la confirmation des premiers cas suspects. Cette enquête portait sur l'ensemble des équidés vivant à moins de 10 km d'un cas clinique (qu'il soit classé comme confirmé ou comme probable). Les sérums des animaux prélevés étaient d'abord testés pour présence d'IgG, les IgM n'étant ensuite recherchées que dans les sérums positifs en IgG. Sur 5 107 animaux prélevés, 8,5 % ont été trouvés positifs

en IgG, dont 42 % étaient également positifs en IgM (correspondant à 3,5 % des animaux prélevés). Parmi les 1 429 écuries concernées par l'enquête, 19 % hébergeaient au moins un animal séropositif (IgG). Les proportions d'animaux ou d'écuries séropositifs étaient hétérogènes avec des valeurs particulièrement élevées dans une zone sèche aux alentours de Lunel (figure 17, planche X). Enfin, l'analyse des taux de séroprévalence par classe d'âge n'a pas fait apparaître de tendance particulière, ni dans l'ensemble de l'échantillon, ni dans les écuries hébergeant des animaux IgM+ (Durand *et al.*, 2002)¹.

Un protocole proche du précédent a été appliqué dans le Var en 2003 (Durand *et al.*, 2005a, 2005b) : la zone d'enquête couvrait cette fois un rayon de 30 km autour du premier cas clinique équin et seules les écuries ayant une activité commerciale (éleveurs, marchands d'animaux, centres d'entraînement, clubs équestres, clubs de polo, etc.) étaient concernées. Dans chacune de ces écuries, 30 animaux devaient être prélevés, ou tous si moins de 30 équidés étaient présents. Le protocole d'analyses sérologiques était le même qu'en Camargue en 2000. Ce sont cette fois 905 chevaux qui ont été prélevés dans 41 écuries (figure 18, planche XI). Un tiers d'entre eux ont été trouvés positifs en IgG, et 80 % des écuries concernées par l'enquête hébergeaient au moins un animal positif en IgG. Parmi les 305 chevaux présentant des IgG, 7,5 % présentaient également des IgM (correspondant à 2,5 % des animaux prélevés). Comme en 2000 en Camargue, la répartition spatiale des animaux et des écuries séropositives n'était pas homogène puisque deux zones plus particulièrement touchées étaient observées (figure 18, planche XI) : la première autour de Roquebrune-sur-Argens (au nord-est des deux cartes) et l'autre plus en amont de la vallée de l'Argens (au centre des deux cartes). L'analyse des taux de séroprévalence par classe d'âge n'a pas fait apparaître de tendance particulière dans l'ensemble de l'échantillon. Par contre, dans les écuries hébergeant des animaux IgM+, une tendance significative à l'augmentation de la séroprévalence avec l'âge des animaux a été observée.

Bilan

La comparaison des données de 2000 en Camargue avec celles du Var de 2003 fait apparaître des différences importantes (tableau 8.1). Le premier cas évoque une situation épidémique avec un nombre important de cas cliniques et une forte proportion d'animaux IgM+ parmi les chevaux IgG+, signant une récente circulation intense du virus. En revanche, dans le cas du Var, en 2003, le contraste entre le faible nombre de cas cliniques et la forte séroprévalence IgG (quatre fois plus élevée que celle observée en Camargue en 2000) n'évoque pas un phénomène épidémique et suggère plutôt que bon nombre des animaux IgG+ pourraient avoir été infectés au cours des années précédentes. Cette conclusion est confortée par la faible proportion des animaux IgM+ parmi les animaux IgG+ (cinq fois moindre que celle observée en Camargue). On note que dans les deux cas, le niveau général de circulation virale (quantifié par la proportion d'animaux IgM+ parmi les animaux testés) est du même ordre de grandeur (2 à 4 % des animaux testés présentent des IgM et ont donc été infectés peu avant d'être prélevés). L'ensemble de ces arguments, ainsi

1. Ces travaux ont fait l'objet du DEA de Véronique Chevalier (Chevalier, 2001 ; Chevalier *et al.*, 2002).

que l’augmentation du taux de séroprévalence IgG avec l’âge des animaux observée dans les écuries varoises où le virus a circulé en 2003 (comme l’atteste la présence d’animaux IgM+), suggèrent que, dans certaines zones du Var, le virus *West Nile* pourrait circuler régulièrement depuis de nombreuses années.

Tableau 8.1. Comparaison des nombres de cas cliniques de fièvre *West Nile* et de la séroprévalence IgG et IgM observée chez les chevaux lors de l’épizootie de Camargue en 2000 et lors de l’épisode varois de 2003.

	Camargue, 2000	Var, 2003
Nombre de cas cliniques	76	4
Séroprévalence IgG	432 sur 5 107 (8,5 %)	305 sur 906 (33,7 %)
Séroprévalence IgM		
parmi les IgG+	182 sur 432 (42,1 %)	23 sur 305 (7,5 %)
parmi les animaux prélevés	182 sur 5 107 (3,5 %)	24 sur 906 (2,5 %)

Caractérisation de zones à circulation régulière du virus

Hydrographie et zones importantes pour la conservation des oiseaux

Suspecter l’existence de zones où le virus *West Nile* pourrait circuler régulièrement depuis de nombreuses années amène à tenter de caractériser de telles zones par des indicateurs environnementaux. Dans un premier temps, un lien entre la séropositivité observée chez le cheval et la proximité d’indicateurs de présence des vecteurs et des hôtes a été recherché (Durand *et al.*, 2005a, 2005b). Les vecteurs biologiques du virus *West Nile* sont des moustiques, quasi exclusivement du genre *Culex*. La dynamique de population de ces insectes est étroitement liée à l’eau. La proximité du réseau hydrographique a donc été choisie comme indicateur de la présence de vecteurs. Les déterminants environnementaux de l’abondance d’oiseaux sont mal connus et varient selon l’espèce. Plutôt que de rechercher un indicateur de densité de population globale d’oiseaux, un indicateur de la diversité des espèces présentes a été recherché. Les « zones importantes pour la conservation des oiseaux » (ZICO) sont des surfaces qui abritent des effectifs significatifs d’oiseaux, qu’il s’agisse d’espèces de passage en halte migratoire, d’hivernants ou de nicheurs. Ces zones ont été recensées au niveau européen et sont destinées, à terme, à être classées. Deux ZICO étaient présentes dans la zone d’étude, dont l’implantation a pu être obtenue auprès de la direction régionale de l’environnement de Provence-Alpes-Côte d’Azur.

La relation entre séropositivité équine et proximité du réseau hydrographique ou des ZICO a été étudiée grâce à une analyse par tampons. Elle a permis de démontrer l’absence d’association significative entre séropositivité IgG ou IgM et proximité du réseau hydrographique, en effet, il est connu que la principale espèce vectrice dans ces zones doit être *Culex pipiens*, laquelle est tout à fait ubiquiste car capable de coloniser des habitats larvaires d’origine anthropique. En revanche, comme le laisse suspecter la figure 18 (planche XI), une association significative entre séropositivité (IgG et IgM) et proximité des ZICO est observée, avec des valeurs d’*odds ratio* (OR,

cf. encadré 8.1) relativement importantes (de l'ordre de 5). Le même résultat est obtenu pour la séropositivité IgM, avec des valeurs d'OR un peu plus faibles.

Encadré 8.1. Analyse par tampons

L'analyse par tampons consiste à rechercher une association entre séropositivité et proximité d'un danger potentiel, interprétée comme un facteur de risque. Deux de ces facteurs de risque potentiels ont été étudiés. L'un était lié à la biologie des vecteurs : la proximité du réseau hydrographique (en bleu sur la figure 19, planche XI). Le second était lié à la biologie des hôtes : la proximité des zones importantes pour la conservation des oiseaux (ZICO, hachurées sur la carte). Un système d'informations géographiques (SIG) a été utilisé pour calculer le contour de zones tampons de rayon croissant (de 1 à 5 km) autour du réseau hydrographique d'une part et des ZICO d'autre part. Sur la carte sont ainsi figurées des zones tampon de 1 km autour du réseau hydrographique (pointillés bleus) et autour des ZICO (pointillés noirs). Pour chacune de ces zones tampon, le SIG a ensuite permis de dénombrer d'une part le nombre de chevaux séropositifs (a) et séronégatifs (b) à l'intérieur de la zone tampon, et d'autre part le nombre de chevaux séropositifs (c) et séronégatifs (d) à l'extérieur de cette zone tampon. Pour chaque zone tampon, ces quatre nombres ont permis de calculer l'*odds-ratio* (OR) de séropositivité selon qu'un animal est situé à l'intérieur ou à l'extérieur de la zone tampon ($OR = (a/c) / (b/d)$), ainsi que son intervalle de confiance. Une valeur d'OR supérieure à 1 indique un effet aggravant du facteur de risque sur la séropositivité, alors qu'une valeur inférieure à 1 indique un effet protecteur. Lorsque la valeur de 1 n'est pas incluse dans l'intervalle de confiance, l'effet (protecteur ou aggravant) est statistiquement significatif. Une façon commode de représenter les résultats de l'analyse par tampons consiste à tracer les courbes (figure 19a et b, planche XI). Sur chacune d'entre elles, la ligne épaisse, qui correspond à la valeur de l'*odds-ratio*, est enveloppée par deux lignes fines qui correspondent à son intervalle de confiance, pour des tampons de rayon croissant entre 1 km et 5 km. Sur chaque courbe figure également en pointillé le seuil où $OR = 1$. Pour un rayon donné, si l'enveloppe est entièrement au-dessus de la ligne pointillée, la valeur seuil de 1 n'est pas incluse dans l'intervalle de confiance de l'OR mettant donc en évidence un effet aggravant statistiquement significatif. Inversement, si l'enveloppe se situe entièrement au-dessous de 1, un effet protecteur statistiquement significatif est observé. Ces courbes ont été tracées pour analyser l'effet de la proximité du réseau hydrographique (en haut) et des ZICO (en bas) sur la séropositivité en IgG (à gauche) ou IgM (à droite). Les résultats montrent un effet aggravant de la proximité des ZICO sur la séropositivité IgG (en bas à gauche), statistiquement significatif à partir d'un rayon de 2 km. Cet effet aggravant est également observé pour la séropositivité IgM (en bas à droite) mais, en raison du plus faible nombre d'animaux concernés, n'est statistiquement significatif que pour les rayons 2 km et 4 km. Inversement, aucune tendance claire ne se dégage concernant l'effet de la proximité du réseau hydrographique (courbes du haut).

Les écuries dans lesquelles les traces sérologiques suggèrent une circulation fréquente du virus *West Nile* ne sont donc pas réparties de façon aléatoire mais semblent au contraire localisées préférentiellement à proximité des deux ZICO présentes dans la zone d'étude, deux zones définies du fait de la présence régulière d'une avifaune migratrice particulière. Cette relation doit cependant être interprétée de façon prudente. Elle recouvre certainement des processus plus complexes que la

simple présence/absence de populations d'oiseaux migrateurs de certaines espèces. Au-delà de l'avifaune, les ZICO sont en effet protégées en raison d'une biodiversité plus riche qu'ailleurs, et on peut supposer que c'est précisément cette biodiversité plus riche qui permet l'établissement et/ou le maintien du cycle de transmission, plus facilement que dans des écosystèmes plus simples. La biodiversité peut agir comme un facteur limitant la transmission des agents pathogènes par un « effet de dilution » (Dobson *et al.*, 2006).

Occupation des sols et analyse de paysage

Les résultats obtenus ont amené à rechercher un lien entre la séropositivité équine et des indicateurs environnementaux de biodiversité. L'écologie des paysages relie analyse de biotope et biodiversité grâce à l'élaboration et l'utilisation d'indices paysagers pour l'évaluation de la biodiversité. Il est admis que, du fait des effets globaux de la structure des paysages sur le fonctionnement des écosystèmes, les indices paysagers peuvent fournir une quantification de la biodiversité locale (Bailey *et al.*, 2007 ; Schindler *et al.*, 2008). En particulier, la variété spécifique de groupes d'animaux mobiles tels que les oiseaux a été reliée à l'hétérogénéité du paysage (Bailey *et al.*, 2007). Parasites, vecteurs et hôtes participent bien sûr à la biodiversité et les indices paysagers pourraient donc refléter l'intensité locale de la circulation d'un parasite et, de ce fait, un risque d'infection pour une maladie vectorielle. Ainsi, Brownstein *et al.* (2005) ont montré un lien entre la fragmentation du paysage dans les espaces péri-urbains et le risque entomologique de maladie de Lyme (densité de tiques et prévalence de l'infection chez la tique). Jackson *et al.* (2006) ont obtenu des résultats similaires en montrant que l'incidence de la maladie de Lyme était plus élevée dans les zones forestières très fragmentées que dans des paysages plus simples. Cette fragmentation pourrait refléter un taux de contact accru entre les vecteurs infectés dans les cycles de transmission naturels (mammifères/vecteurs) et les hôtes accidentels (ici l'homme).

En reprenant les données sérologiques du Var de 2003, ainsi que des données de surveillance d'écuries sentinelles en Camargue de 2004, un lien entre les caractéristiques du paysage et la séroprévalence équine dans ces deux zones écologiquement très différentes a été recherché (Pradier, 2006 ; Pradier *et al.*, 2008) (encadré 8.2).

Les données paysagères étaient issues de la classification *Corine Land Cover* (CLC). Cette base de données décrit l'occupation des sols de façon normalisée en Europe et sur le pourtour méditerranéen avec une résolution spatiale de 100 m. CLC ne s'intéresse qu'aux structures pérennes du paysage (à l'exclusion par exemple des phénomènes saisonniers tels que crues, feux de forêt, etc.), ce qui était cohérent avec l'objectif de caractériser des zones où le virus *West Nile* circulerait de façon régulière. Les 43 classes de la nomenclature CLC ont été regroupées en 12 classes (qui correspondent au second niveau de cette nomenclature, hiérarchisée en 3 niveaux).

L'analyse a consisté dans un premier temps à découper les deux zones d'étude (Camargue et Var) en cellules carrées de 5 km de côté hébergeant en moyenne une vingtaine de chevaux. La dimension des cellules a été choisie de façon à correspondre à l'aire usuelle de déplacements quotidiens des chevaux. Dans chaque cellule, les données sérologiques ont été agrégées pour répartir les cellules dans deux

Encadré 8.2. Caractéristiques environnementales et risque de circulation du virus *West Nile*

La fièvre *West Nile* est considérée comme une maladie ré-émergente en France, la Camargue et le Var étant clairement identifiés comme deux zones épidémiques/endémiques. Les outils tels que les systèmes d'information géographiques (SIG) et les statistiques spatiales ont été utilisés pour déterminer quelles caractéristiques paysagères étaient associées au risque de circulation du virus dans ces deux régions *a priori* écologiquement différentes. Des données sérologiques et cliniques recueillies sur des chevaux au cours des épizooties dans le Var (2003) et en Camargue (2004) ont été recueillies pour permettre ces études (Durand *et al.*, 2002, 2005a ; Leblond *et al.*, 2005).

Les premiers résultats montraient un faible taux de circulation en Camargue en 2001, avec la présence de deux foyers distincts en zone sèche (Leblond *et al.*, 2005). L'un de ces foyers était situé près d'Arles et avait déjà été identifié en 1962-1964 (Joubert et Oudar, 1965).

L'étude de l'épizootie de 2004, effectuée avec des images du satellite SPOT-4, a permis également d'identifier deux foyers, les deux étant cette fois en zone humide, proches des Saintes-Maries-de-la-Mer (figure 20, planche XII). Le rayon de ces foyers était de 4 à 9 km, ces distances étant compatibles avec une transmission par un vecteur de faible amplitude de vol, tels que les moustiques du genre *Culex* (Leblond *et al.*, 2006). La présence de rizières et de broussailles sèches, la sansouire « humide » et l'eau libre étaient les principales caractéristiques du paysage associées au risque de circulation du virus (Leblond *et al.*, 2006).

Au début du mois d'octobre 2003, des cas humains et équins d'infection par le virus *West Nile* ont été diagnostiqués sur la côte méditerranéenne, dans le Var (Mailles *et al.*, 2003). Les études sérologiques effectuées chez les chevaux ont montré de grandes variations de séroprévalence en fonction de la localisation géographique, avec l'identification de deux foyers. Ces deux foyers étaient situés à proximité de zones classées « Importantes pour la protection de la faune aviaire migratoire » (Durand *et al.*, 2005a). Ces zones, dans lesquelles la biodiversité est importante, pourraient être favorables à la circulation du virus avec la présence d'oiseaux et de moustiques infectés en abondance dans les mêmes sites.

Finalement, les paramètres environnementaux associés à une faible circulation ou à une circulation intense du virus ont été analysés dans les deux régions. La base de données *Corine Land Cover* (Agence européenne pour l'environnement) a été utilisée pour cette étude. Les facteurs positivement associés à un niveau élevé de circulation du virus étaient l'index de juxtaposition et d'interspersion (IJI) et la surface couverte par des zones agricoles hétérogènes. Ces deux variables indiquent la présence de biotopes de configuration spatialement complexe qui pourraient favoriser la co-existence de vecteurs compétents et d'hôtes réservoir. La structure du paysage apparaît donc comme un élément clé de la circulation du virus dans ces zones (Pradier, 2006 ; Pradier *et al.*, 2008).

classes (figure 21, planche XIII). Les cellules sans animal séropositif et celles avec un unique animal séropositif ont été classées « cellules à faible circulation virale », la présence d'un unique animal séropositif pouvant être attribuée à des mouvements de l'animal hors de la cellule plutôt qu'à une circulation virale à l'intérieur de celle-ci. Inversement, les cellules hébergeant au moins 5 chevaux séropositifs ont été classées « cellules à forte circulation virale ». Il apparaît en effet improbable que cinq

animaux puissent tous s'être contaminés hors de la cellule (lors de déplacements) : une circulation réelle du virus dans la cellule apparaît plus plausible. Pour minimiser le risque d'erreur de classification, les cellules restantes (hébergeant entre 2 et 4 animaux séropositifs) ont été exclues de l'étude.

Dans chaque cellule, l'abondance de chacune des 12 classes d'occupation des sols (nombre de pixels) a également été calculée (figure 21, planche XIII), ainsi que cinq indices paysagers : la richesse de patchs (nombre de types de patchs), la densité de patchs (nombre de patchs par 100 ha), la densité de frontières (longueur de frontière entre deux classes pour 100 ha), l'indice de diversité de Shannon (qui quantifie à la fois le nombre de patchs et l'équilibre de leur répartition spatiale), et l'indice d'imbrication et de juxtaposition (un autre indice composite qui prend explicitement en compte la complexité de l'imbrication des patchs entre eux) (figure 22, planche XIII). Un modèle de régression logistique a été construit, la variable à expliquer étant le statut de la cellule (forte ou faible circulation virale). Les variables explicatives correspondaient à l'occupation des sols (abondance des 12 classes) et aux cinq indices paysagers. Une régression pas à pas a été effectuée, afin de minimiser le critère d'information d'*Akaike*. Finalement, une validation interne du modèle ainsi obtenu a été mise en œuvre.

Dans le modèle issu de la procédure de régression pas à pas, deux variables ont un effet significatif sur le statut d'une cellule : la classe d'occupation des sols correspondant aux zones agricoles hétérogènes, ainsi que l'indice d'imbrication et de juxtaposition. Ces deux paramètres apparaissent convergents : les pixels de cette classe d'occupation des sols correspondent à des zones cultivées de faible taille, parfois interrompues par des espaces naturels. De façon similaire, l'indice d'imbrication et de juxtaposition mesure le degré d'entrelacement des différentes classes d'occupation des sols, et est maximal lorsque chaque classe partage une frontière de longueur équivalente avec chacune des autres classes. Ces deux variables sont donc des indicateurs d'une configuration spatiale complexe du paysage qui pourrait indiquer une plus grande biodiversité et/ou favoriser les contacts vecteurs/hôtes, et donc l'établissement du cycle de transmission du virus *West Nile*. Cette hypothèse n'implique cependant pas de façon automatique une augmentation de risque sanitaire pour les hôtes incidents que sont l'homme ou le cheval. En effet, une biodiversité augmentée peut également induire un effet de dilution pour les maladies vectorielles : un vecteur ne prenant qu'un nombre limité de repas au cours de sa vie, si un nombre important de ces repas sont pris sur des hôtes qui ne sont pas compétents pour l'amplification du virus, le risque de transmission s'en trouve réduit (Dobson *et al.*, 2006). Cet effet de dilution semble exister pour plusieurs maladies vectorielles comme le paludisme ou la maladie de Lyme, ainsi que pour la fièvre *West Nile* aux États-Unis (Dobson *et al.*, 2006 ; Ezenwa *et al.*, 2006 ; Ostfeld et Keesing, 2000). Il pourrait par ailleurs expliquer le faible nombre de cas cliniques équins observés dans le Var en 2003 et en Camargue en 2004 en comparaison du niveau de séroprévalence, ainsi que la quasi-absence de cas humains.

Les résultats satisfaisants obtenus lors de la validation interne du modèle ont finalement permis de construire une carte de risque sur la côte méditerranéenne française (figure 23, planche XIV). Les cellules où le risque de « forte circulation virale » prédit par le modèle est élevé sont localisées non seulement dans le Var

et en Camargue, mais également dans une zone intermédiaire (autour d'Aix-en-Provence), où aucune étude sérologique n'a été menée à ce jour. Les cas humains décrits dans les années 1960 (signalés par des (a) sur la figure 23, planche XIV) sont par ailleurs tous localisés dans ou à proximité de cellules où la probabilité de « forte circulation virale » prédite est supérieure à 0,8. Les cas signalés en 2006 près de Perpignan (signalés par des (b) sur la figure 23, planche XIV) sont également apparus à proximité de cellules où le risque prédit de circulation virale était élevé.

► Intérêt de la télédétection et des systèmes d'information géographique dans l'étude et la modélisation du risque de circulation

Les systèmes d'information géographiques (SIG) peuvent être utilisés pour la description et la surveillance de la maladie, ainsi que comme outils de communication. Aux États-Unis, les SIG se sont révélés être un outil efficace pour suivre l'expansion du virus après son introduction en 1999. En liant les bases de données relatives aux infections de l'avifaune, des moustiques, des hommes et des chevaux, des cartes de situation sont réalisées en temps réel et mises en ligne². En France, les résultats de la surveillance de l'avifaune et de l'infection équine ont également été traduits sous forme de cartes qui sont souvent plus « parlantes » qu'un tableau de résultats³.

Dans une étape analytique, des facteurs de risque environnementaux de l'infection du virus *West Nile* peuvent être mis en évidence à l'aide de la télédétection et des SIG (cf. p. 157). Aux États-Unis, de nombreuses études ont mis en évidence des corrélations entre des caractéristiques environnementales dérivées d'images de télédétection (occupation du sol, zones de végétation, zones en eau) et la présence ou l'abondance des espèces de moustiques vecteurs (Brown *et al.* 2008 ; Rochlin *et al.* 2008) ou la diversité de l'avifaune (Ezenwa *et al.* 2007). Dans ces études, les SIG (encadré 8.3) permettent de calculer des paramètres comme la proportion de différents types d'occupation du sol dans un rayon donné autour de sites de piégeages entomologiques ou la distance aux zones en eau.

Cartographie des milieux par télédétection : exemple en Camargue

Choix des données de télédétection, définition de la typologie

De nombreuses images de télédétection (encadré 8.4) sont disponibles pour cartographier les milieux. Le choix de ces données peut être guidé par la superficie de la

2. http://diseasemaps.usgs.gov/wnv_us_human.html

3. <http://west-nile.cirad.fr/>

Encadré 8.3. Qu'est-ce qu'un système d'information géographique ?

Un système d'information géographique (SIG) peut être défini comme un système informatique permettant la collecte, la gestion, l'analyse et l'affichage de données à référence spatiale, c'est-à-dire que l'on sait localiser dans l'espace par leurs coordonnées géographiques. Dans un SIG, la réalité est modélisée à l'aide d'un découpage en différentes couches thématiques regroupant chacune des objets de même nature. Ainsi, différentes couches représentant par exemple les routes, les habitations, le relief, etc., pourront être superposées pour décrire une zone géographique donnée. Deux modes de représentation sont principalement utilisés : le mode vectoriel et le mode matriciel. En mode vectoriel, les objets de chaque couche d'information sont localisés dans l'espace par leurs coordonnées géographiques et sont représentés sous forme de points, de polygones ou de polygones (format « vecteur »). À cette information géographique (localisation et forme) est associée une information attributaire stockée sous forme de table. En mode matriciel (« raster »), l'espace est représenté sous forme d'une grille composée de cellules de même taille (les pixels) présentant des valeurs différentes en fonction de leur nature.

L'intérêt du SIG est qu'il permet ainsi la visualisation, la gestion et l'analyse simple d'objets géographiques d'origines diverses et de natures différentes (données de télédétection, résultats de piégeages entomologiques, localisation d'élevages équin par exemple) ainsi que les attributs associés à ces objets. En particulier, il peut faciliter l'analyse des données à référence spatiale : il permet de répondre aux questions de localisation et d'inventaire (par des requêtes sur les attributs des objets ou sur leurs positions), d'agréger ou interpoler des données. Les requêtes spatiales peuvent porter sur des questions de voisinage, de distance, de trajectoire, de fragmentation, etc., et concerner des objets appartenant à une même couche d'information (analyse « horizontale ») ou à des couches différentes (analyse « verticale »). Pour des analyses plus poussées cependant (analyses statistiques, modélisation dynamique) le logiciel de SIG est généralement couplé à d'autres logiciels : les données à analyser sont extraites du SIG, analysées à l'aide d'autres programmes puis ré-intégrées dans le SIG pour la restitution cartographique des résultats.

zone d'étude, la taille des objets à identifier et/ou leur nature. Pour cela, une concertation entre les différents spécialistes du virus *West Nile*, entomologistes, ornithologistes, écologues d'une part, et géomaticiens d'autre part, est nécessaire.

Ici nous donnerons comme exemple la cartographie de la Camargue effectuée à partir d'une image *Enhanced Thematic Mapper* (ETM+) du satellite *Landsat-7*, choisie pour couvrir en une seule scène l'ensemble de la zone d'étude, et avec une résolution spatiale (taille de pixel : 30 × 30 m) adaptée à la description des principaux habitats des espèces vectrices et hôtes du virus *West Nile* (figure 24, planche XIV). Les unités écologiques pertinentes pour la caractérisation de la distribution des moustiques et des oiseaux ont été définies d'après la bibliographie, des connaissances à dire d'expert et des visites de terrain.

Principes de classification orientée-objet d'une image multi-spectrale

Le capteur ETM+ est un capteur multi-spectral mesurant l'intensité du signal électromagnétique réfléchi ou émis par la surface de la terre dans plusieurs

Encadré 8.4. Qu'est-ce que la télédétection ?

La télédétection est définie comme « l'ensemble des connaissances et techniques utilisées pour déterminer des caractéristiques physiques d'objets par des mesures effectuées à distance, sans contact matériel avec ceux-ci » (Journal Officiel, 1980). En particulier, ce terme désigne l'observation de la Terre, c'est-à-dire la détection et la caractérisation des objets situés à la surface de celle-ci, par l'intermédiaire d'ondes électromagnétiques mesurées à l'aide de capteurs qui peuvent être embarqués à bord de différentes plateformes, aériennes ou satellites. En fonction des propriétés du capteur et de la plateforme, les données de télédétection auront des caractéristiques différentes : résolution spatiale, largeur de fauchée, répétitivité d'observation, domaine spectral (visible, proche infrarouge, infrarouge thermique, hyperfréquences).

L'information ainsi acquise par ces capteurs est généralement organisée sous forme d'image : chaque pixel de l'image, qui correspond à une certaine surface au sol, prend pour valeur celle du rayonnement mesuré. Des traitements successifs (corrections radiométriques et géométriques, classifications, calculs d'indices, interprétation...) sont nécessaires afin de géo-référencer et calibrer les images et de les traduire en caractéristiques de l'environnement, comme l'occupation des sols, la température de surface, etc. Ainsi par exemple, la télédétection permet aujourd'hui la cartographie et la mise à jour de l'occupation du sol sur de grands territoires, comme la base de données géographiques européenne *Corine Land Cover*, produite à partir d'images satellites. Pour la France, cette base a été réalisée par photo interprétation de 45 images *Landsat Enhanced Thematic Mapper* à une résolution spatiale de 100 mètres pour la mise à jour 2000.

bandes spectrales. Cette information spectrale permet de différencier les objets présentant des réponses spectrales différentes, et ainsi de cartographier différents types d'occupation du sol (Bonn et Rochon, 1992).

Dans une première étape, l'image peut être segmentée en différents polygones (objets). Dans une deuxième étape, des parcelles dont on connaît l'occupation du sol (par des relevés de terrain ou définies à partir de cartes existantes de végétation) sont utilisées pour définir des parcelles d'entraînement dans l'image. Dans l'étape suivante, un algorithme de classification supervisée est appliqué : chaque objet de l'image est comparé aux parcelles d'entraînement et assigné à la classe d'occupation du sol dont il est le plus semblable (figure 24, planche XIV). Enfin, la qualité de la classification est évaluée en comparant des données de terrain provenant d'un jeu indépendant d'observations avec la carte d'occupation du sol obtenue.

Exemple d'application : cartographie de la distribution des vecteurs et des hôtes du virus

À partir de la carte d'occupation du sol dérivée d'images de télédétection, des cartes de distribution des vecteurs et des hôtes du virus *West Nile* ont été réalisées en associant les différentes espèces de moustiques et d'hôtes aux différents milieux (figure 25, planche XV). Cette association peut être effectuée par la mise en évidence de corrélations statistiques entre des observations de terrain et les unités écologiques, ou par l'association à dire d'expert de chaque espèce à un milieu (Tran *et al.*, 2007).

Cartes des habitats et gîtes des vecteurs

De la même manière que précédemment, des cartes de milieux favorables au développement des gîtes larvaires pour des vecteurs du virus *West Nile* ont été réalisées en combinant les cartes d'occupation du sol et celles de la dynamique des surfaces inondées en fonction des saisons (Trouillet, 2008). Les figure 26 et 27 (planches XV et XVI) illustrent les résultats de l'exercice de la construction des cartes pour *Cx. modestus*, *Cx. pipiens* et *Ae. Caspius*.

►► Autres facteurs de risque

Facteurs climatiques

La biologie et la physiologie, et donc l'abondance des insectes vecteurs, sont très dépendantes de l'environnement, et en particulier des conditions climatiques. Le climat joue un rôle important dans l'établissement ou la dispersion d'une maladie vectorielle (Rogers et Randolph, 2006). Les arthropodes vecteurs sont extrêmement sensibles à l'humidité et/ou à la température tout au long de leur cycle de vie. Même la compétence vectorielle peut être modifiée par la température (chapitre 4).

Le sens dans lequel le climat fait varier l'intensité de la transmission n'est pas toujours facile à prévoir. Un réchauffement climatique global devrait entraîner une augmentation de la transmission par augmentation de la fréquence des piqûres ou une diminution de la durée d'incubation extrinsèque mais à l'inverse va également entraîner une augmentation de la mortalité chez les insectes (Rogers et Randolph, 2006).

Dès 1999, Epstein a proposé plusieurs hypothèses pour expliquer les relations entre les facteurs climatiques et la fièvre *West Nile* (Epstein, 2001). Il a suggéré qu'un hiver doux, suivi d'un printemps et d'un été sec, avec des vagues de chaleur en juillet et des orages avec de fortes pluies à l'automne, pourraient favoriser l'émergence de cette maladie vectorielle. Par la suite, différentes études ont cherché à établir une corrélation statistique entre les variables climatiques et le nombre de cas de fièvre *West Nile*. Ces études ont surtout été conduites aux États-Unis, où le virus *West Nile* a circulé de manière épidémique entre 1999 et 2004. La sécheresse pourrait entraîner des contacts plus étroits entre les oiseaux hôtes, et les moustiques vecteurs, en particulier autour des points d'eau, facilitant le cycle épizootique et l'amplification des arbovirus dans ces populations (Epstein, 2001). Une sécheresse importante au printemps, suivie par des orages au cours de l'été, aurait augmenté la probabilité d'émergence d'une épidémie de fièvre *West Nile* au sud de la Floride dans les années 2001 à 2003 (Shaman *et al.*, 2005). Une sécheresse importante a sévi au sud de la Floride en 2001, au moment de l'introduction du virus *West Nile*. La variabilité spatio-temporelle des cas humains de fièvre *West Nile* et la transmission du virus aux volailles sentinelles étaient corrélées à la variabilité spatio-temporelle de la sécheresse et des pluies dans cette région (Shaman *et al.*, 2005).

L'épidémie de fièvre *West Nile* de 2000 en Israël a été analysée en tenant compte l'augmentation de la température durant l'été (Paz, 2006). Les auteurs ont montré

que la température minimale était la variable la plus déterminante pour une émergence précoce. L'augmentation du nombre de cas dépend plus d'une température extrême en début d'été que d'un taux d'humidité élevé et ce paramètre pourrait être un bon indicateur de l'augmentation de l'abondance des insectes vecteurs. La courbe épidémique était comparable aux courbes observées en Roumanie en 1996 et à New York en 1999. Chacune de ces épidémies est apparue après une longue période de canicule.

Les données d'une épizootie de fièvre *West Nile* chez des chevaux dans le nord de l'Indiana en 2002 ont permis de mettre en évidence des clusters spatio-temporels (Ward *et al.*, 2005). Un modèle tenant compte des températures journalières maximales mesurées par des stations météorologiques situées à proximité de la zone d'étude a été construit. Ce modèle a permis de prédire la date du déclenchement d'une épidémie en fonction d'une augmentation ou d'une diminution globale des températures. Les cartes de prédiction montraient toujours un risque plus élevé d'encéphalite à virus *West Nile* dans le quadrant nord-est de la zone d'étude (Ward, 2005).

Les conditions climatiques qui auraient favorisé l'épidémie de fièvre *West Nile* dans les régions nord-est des États-Unis en 2002 ont été étudiées afin de fournir aux autorités sanitaires du Québec (Canada) une aide à la décision dans la mise en œuvre de mesures de prévention ou de lutte anti-vectorielles (ElAdlouni *et al.*, 2007). Les conditions climatiques observées en 2002 sont en moyenne observées tous les 40 ans et sont caractérisées par un plus grand nombre de jours avec une température minimale inférieure à - 5 °C en hiver, et un plus grand nombre de jours avec une température supérieure à 25 °C en été. Cet outil est utilisé pour prédire le taux d'infection chez l'homme et chez les oiseaux. Ces taux faibles ont permis de décider de l'arrêt des mesures anti-vectorielles dans la province du Québec en 2006. La seconde partie de cette étude a montré qu'il était très important d'estimer le risque d'observer des valeurs extrêmes au cours de l'hiver et de l'été précédent la circulation du virus (ElAdlouni *et al.*, 2007). Ces modèles fournissent une aide précieuse aux autorités sanitaires plusieurs semaines avant l'apparition du virus et permettent ainsi de mettre en œuvre des mesures efficaces pour prévenir les épidémies chez l'homme (ElAdlouni *et al.*, 2007).

Des précipitations plus élevées que la moyenne peuvent induire des émergences de moustiques adultes, d'autant plus si les habitats larvaires sont peu abondants (Landesman *et al.*, 2007). Par ailleurs, des résultats récents de recherche en écologie suggèrent que les périodes de sécheresse pourraient conduire à des émergences de moustiques l'année suivante du fait de la modification de disponibilité de la nourriture. Ces émergences pourraient contribuer à la survenue de cas humains aux États-Unis ces dernières années. En effet, l'étude des données de précipitation par comté et des données d'incidence des cas humains (2002-2004) ont permis de montrer une forte corrélation entre l'incidence de la fièvre *West Nile* chez l'homme et la quantité de précipitations l'année précédente (Landesman *et al.*, 2007). Les épidémies chez l'homme étaient précédées, pendant l'année antérieure, par une pluviométrie supérieure dans l'est des États-Unis et inférieure aux valeurs usuelles dans l'ouest des États-Unis. Cette étude ne permet pas de comprendre les mécanismes de l'émergence mais permet de supposer que des différences dans l'écologie des moustiques

vecteurs pourraient être à l'origine des effets inverses des précipitations sur l'émergence de cas entre l'est et l'ouest des États-Unis (Landesman *et al.*, 2007).

En 2000, le sud de la France a été témoin d'une épizootie de fièvre *West Nile*, où le vecteur supposé est *Culex modestus*. Les données de taux de piqûre de *Cx. modestus* recueillies en Camargue, dans le sud de la France, en 1966 (Mouchet *et al.*, 1970), ont permis de construire un modèle de prévision de l'agressivité de *Cx. modestus* en fonction de données météorologiques (Ludwig *et al.*, 2005). Le taux de piqûre des moustiques était positivement corrélé à la température, au taux d'humidité couplé à la pluviométrie et à l'ensoleillement. Les années 1999 et 2000 étaient caractérisées par une agressivité 2 à 3 fois supérieure à la moyenne pour cette espèce, et survenant 2 semaines avant la fin de l'été, moment d'apparition des premiers cas chez le cheval.

Facteurs liés aux populations d'oiseaux

Mouvements des oiseaux : migration et dispersion

Les oiseaux sauvages partagent avec l'homme la capacité de se déplacer rapidement sur de longues distances. Lors des mouvements migratoires, les oiseaux sont porteurs d'agents pathogènes qui peuvent être transmis à d'autres espèces sur les sites de repos, de reproduction et d'hivernage, sites favorables au regroupement de nombreuses espèces. Les oiseaux sauvages seraient capables de transporter le virus *West Nile* sur de grandes distances et de l'introduire dans des régions précédemment indemnes. Suite à l'introduction du virus *West Nile* dans le nord de l'Amérique en 1999, une classification des oiseaux en fonction de leurs routes migratoires a été établie dans le but de prédire la progression probable du virus (Rappole *et al.*, 2000).

Le virus *West Nile* s'est dispersé beaucoup plus rapidement que prévu. L'hypothèse selon laquelle les moustiques du genre *Culex* et les oiseaux effectuant des migrations sur de longues distances auraient été responsables de cette dispersion a été étudiée (Peterson *et al.*, 2003). Plusieurs scénarios ont été testés : seuls les moustiques sont responsables de la dispersion, *versus* les moustiques sont responsables de la dispersion locale et les oiseaux transportent le virus sur de longues distances. Les résultats suggèrent que la diffusion observée résulterait plutôt du rôle des oiseaux migrateurs pour transporter le virus sur de longues distances, puis, localement, la transmission serait due aux déplacements des moustiques (Peterson *et al.*, 2003).

Aux États-Unis, l'épidémie de fièvre *West Nile* en Californie a permis d'étudier l'impact des populations de corvidés dans trois biomes différents : le désert du Colorado avec peu de corvidés (vallée de Coachella), la vallée de San Joaquin (Comté du Kern), et la côte maritime froide de Los Angeles comportant beaucoup de corneilles (Reisen *et al.*, 2006b). Un programme de surveillance similaire a été conduit dans les trois sites et a montré que la présence de vecteurs compétents permettait de maintenir un cycle enzootique même si les populations d'hôtes étaient peu abondantes et compétentes. Au contraire, les taux d'infection chez les populations de *Cx. quinquefasciatus* étaient significativement plus élevés dans le Kern et à Los Angeles, sites dans lesquels se trouvent d'importantes populations de corvidés, que dans la vallée de Coachella, comportant peu de corvidés. Les analyses spatiales de corvidés morts ont montré l'existence de clusters significatifs

proches des lieux de rassemblement connus des corneilles, près de Los Angeles, et ces clusters coïncidaient avec les clusters de cas humains. L'incidence de l'infection chez les hommes et chez les moustiques *Cx. quinquefasciatus* était significativement plus élevée dans les zones de regroupement des corneilles que dans les autres zones, montrant leur importance dans la phase d'amplification de la circulation virale et le lien avec l'élévation du risque d'infection chez l'homme (Reisen *et al.*, 2006b).

Le rôle possible des passereaux urbains dans la transmission du virus *West Nile* est documenté par des études sur la compétence de l'hôte, la séroprévalence et l'identification de l'origine des repas sanguins. En revanche, l'impact du comportement des oiseaux sur la dynamique de la transmission est très peu étudié. Les habitudes de nichage ou de perchoir peuvent représenter un facteur critique de régulation de la transmission du virus *West Nile* du fait du comportement des *Culex* qui se nourrissent essentiellement au crépuscule et la nuit. Le comportement des corneilles américaines (*Corvus brachyrhynchos*) et des cardinaux (*Cardinalus cardinalus*) a ainsi été étudié par radio télémétrie (Ward *et al.*, 2006). En tenant compte des mouvements moyens des corneilles — virémiques pendant 5 jours — entre les perchoirs, cette espèce pourrait disperser le virus dans un espace de 20 km², alors que les cardinaux ne pourraient effectuer cette dispersion que sur 0,03 km² en moyenne. Aux États-Unis, les corneilles sont devenues des espèces rares en certains endroits, réduisant ainsi leur rôle potentiel d'oiseaux sentinelles. Ainsi, même si ces oiseaux sont importants dans la dispersion, la diminution importante de leur abondance pourrait conduire à une circulation du virus plus focalisée du fait des différences de comportement de perchoir des corneilles comparé à d'autres oiseaux urbains comme les cardinaux (Ward *et al.*, 2006).

Diversité et hétérogénéité des hôtes

Les facteurs significatifs dans la variation de prévalence du virus *West Nile* sont peu connus, mais des hypothèses récentes suggèrent un lien entre une biodiversité importante des espèces d'oiseaux présentes et une diminution du risque de transmission d'une arbovirose. La compréhension de l'épidémiologie des zoonoses nécessite l'identification de l'espèce qui constitue l'hôte réservoir (Haydon *et al.*, 2002). Ce problème devient complexe lorsque les agents pathogènes peuvent être hébergés par plusieurs hôtes, car certains peuvent transmettre l'agent aux vecteurs et d'autres peuvent être une source de sang pour les vecteurs mais sont rarement infectés. Dans le premier cas, la transmission épidémique est facilitée, alors qu'un effet de dilution est observé dans le second cas, et une épidémie a alors moins de risque d'émerger (LoGiudice *et al.*, 2003). La détermination du degré d'hétérogénéité des hôtes est importante car une petite fraction d'individus infectés peut être responsable de la majorité de la transmission (Lloyd-Smith *et al.*, 2005).

Le rôle de l'hétérogénéité dans la transmission est principalement lié aux variations des taux de contact et d'infectivité des hôtes. Ces deux facteurs sont importants à considérer pour des maladies se transmettant entre plusieurs hôtes car les taux de contact entre hôtes, ou entre hôtes et vecteurs, peuvent beaucoup varier d'une espèce à l'autre (Dobson, 2004), et parce que la réponse immunologique d'une espèce vis-à-vis de l'infection varie significativement entre espèces (Komar, 2003 ; LoGiudice *et al.*, 2003). La composition des communautés d'hôtes et le mode de

nourrissage des vecteurs jouent donc un rôle clé dans l'introduction et la persistance d'un agent pathogène et donc dans l'émergence d'une épidémie.

Ezenwa *et al.* (2006) ont montré que la richesse en espèces autres que passereaux (nombre d'espèces différentes) était corrélée négativement à la fois aux taux d'infection des hommes et des moustiques, alors qu'il n'existait aucune relation entre la richesse en espèces de passereaux et les indicateurs de risque d'infection.

Dans d'autres cas, la présence de seulement quelques individus peut augmenter significativement le nombre d'infections secondaires, ces événements ont été qualifiés de « super dispersion ». Kilpatrick *et al.* (2006b) ont étudié l'origine des repas de sang des moustiques vecteurs du virus *West Nile* dans des zones urbaines et résidentielles afin de déterminer l'espèce hôte réservoir principal et l'impact de l'hétérogénéité sur l'amplification du pathogène. Les résultats montrent que malgré une hétérogénéité importante, une seule espèce d'oiseau, le merle d'Amérique (*Turdus migratorius*), relativement peu nombreuse, était responsable de la majorité des infections de moustiques, et entraînait une amplification extrêmement importante. Cette espèce pouvait être considérée comme « super dispersante ».

À la fois les modèles mathématiques et les publications suggèrent qu'une plus grande diversité devrait avoir plutôt pour effet de diminuer l'intensité de la transmission. Ce schéma est particulièrement valable si la transmission est fréquence-dépendante, et si la transmission est plus importante au sein d'une espèce plutôt qu'entre différentes espèces, d'autant plus si les hôtes compétents sont relativement abondants et dispersés (Keesing *et al.*, 2006). Les axes de recherche à poursuivre dans cette voie seraient (1) de décrire les modalités de modification du risque en fonction des variations de l'hétérogénéité, (2) d'identifier les mécanismes qui modifient le risque en fonction de la diversité, (3) de généraliser ces modèles à d'autres données épidémiologiques et (4) de procéder à des expérimentations qui permettraient de confirmer ces hypothèses sur les mécanismes proposés.

Modifications environnementales, anthropogéniques et socio-économiques

La distribution du virus *West Nile* dépend à la fois de la présence d'hôtes aviaires sensibles et de moustiques vecteurs compétents. Ces deux facteurs peuvent être influencés par des variables géographiques telles l'utilisation/la couverture du sol, l'altitude, la densité de population humaine, la géographie et la température. L'identification de liens entre les paramètres environnementaux et le risque de maladie infectieuse est essentielle pour comprendre comment les modifications de paysage induites par l'homme peuvent affecter la dynamique de maladies infectieuses humaines ou animales. À ce jour, bien que des paramètres environnementaux aient effectivement pu être associés à des variations spatiales du risque de maladie, les mécanismes sous jacents contrôlant ces modifications ne sont pas connus, ce qui limite l'applicabilité des résultats pour le contrôle et la prévention de la maladie.

Dans le nord du Dakota en 2002, plus de 500 chevaux ont été malades au cours de l'épizootie à virus *West Nile*, les cas étaient regroupés dans l'est et le nord-est de l'État (Mongoh *et al.*, 2007). Outre la présence d'oiseaux, de moustiques ou

d'humains infectés, les facteurs environnementaux liés à l'apparition des cas ont été l'altitude, la température et la quantité de précipitations (Mongoh *et al.*, 2007).

Au Nebraska en 2003, la probabilité de mortalité par le virus *West Nile* chez l'homme était associée au taux de pauvreté du comté de résidence de la personne, à la température moyenne et aux fractions de moustiques des espèces *Culex pipiens* et de *Culex restuans* observées parmi l'ensemble des moustiques infectés (Tackett *et al.*, 2006).

Dans le Colorado, en 2003, la présence d'oiseaux infectés a d'abord permis de prédire les infections chez l'homme, puis les lots de moustiques positifs et enfin les cas équins (Patnaik *et al.*, 2007). Les facteurs environnementaux positivement associés à la présence de cas humains étaient une température journalière moyenne plus élevée d'avril à octobre et l'importance des récoltes (Miramontes *et al.*, 2006). Au cours de cette étude, les auteurs ont également montré que le taux d'infection chez les moustiques du genre *Culex* diminuait avec l'augmentation de la couverture en zones humides et que celles-ci n'étaient pas significativement associées à la densité de vecteurs ni à l'abondance d'hôtes amplificateurs (Ezenwa *et al.*, 2007). Par contre, la présence de zones humides influençait fortement la composition de la communauté humaine, et ce facteur pourrait jouer un rôle dans le risque d'infection par le virus en zone humide. Ces résultats suggèrent que la préservation de zones humides et par extension la protection des populations aviaires en zone humide pourraient être une approche valable pour une prévention « écologique » vis-à-vis de l'infection par le virus *West Nile* (Ezenwa *et al.*, 2007).

En Géorgie, les indicateurs environnementaux et sociaux liés à la circulation du virus entre 2002 et 2004 ont été la température, la densité en habitations, un paysage de type urbain/suburbain. Un paysage de type montagneux était au contraire associé à une diminution du nombre de cas (Gibbs *et al.*, 2006).

Dans la région de Chicago, environ 680 cas humains ont été diagnostiqués en 2002, regroupés dans deux foyers clairement distincts. Les facteurs de risque associés à la présence de cas humains ont été la présence de végétation, l'âge, l'origine et la race de la population humaine, l'âge de la maison, la démoustication et la géologie. L'influence des caractéristiques de la population humaine dans cette étude n'est pas clairement expliquée et nécessiterait la réalisation d'études complémentaires (Ruiz *et al.*, 2004). Les facteurs de risque environnementaux ont ensuite été comparés dans les régions de Chicago et de Detroit. Dans ces deux régions, le nombre de cas était plus élevé dans les zones suburbaines, où l'habitat est constitué de maisons datant de 1940-1960, la couverture végétale est modérée et la densité humaine est moyenne (Ruiz *et al.*, 2007). Cette analyse a démontré comment des décisions concernant le tissu urbain et l'utilisation du territoire pouvaient influencer la transmission d'une maladie vectorielle, et a donc contribué à la réflexion sur l'influence de l'environnement urbain sur la santé humaine.

Dans la grande zone métropolitaine d'Albuquerque (comté de Bernalillo, Nouveau Mexique), la surveillance établie en 2003 tenait compte des résultats de captures de moustiques de l'année précédente et était focalisée sur les bosquets de forêts dans la vallée du fleuve Rio Grande (DiMenna *et al.*, 2007). En 2004, la surveillance a ensuite été étendue à des zones proches de la ville d'Albuquerque. Les sites proches du Rio Grande étaient les premiers dans lesquels des moustiques positifs étaient

capturés. Ces zones rurales présentent une biodiversité d'espèces, une abondance de moustiques du genre *Culex*, et une proportion de moustiques positifs plus importante que dans les autres sites. La circulation du virus *West Nile* dans les zones urbaines commençait plus tard et se finissait plus tôt que dans les sites de la vallée du Rio Grande (DiMenna *et al.*, 2007).

Dans le climat modéré de l'ouest de Washington, l'élévation de la température était corrélée à l'abondance des moustiques, alors que ce n'était pas le cas pour les précipitations (Pecoraro *et al.*, 2007). Les vecteurs potentiels du virus *West Nile* étaient abondants dans les sites à la fois urbains et suburbains en 2003 et 2004, incluant des sites proches de zones de nidage des corneilles. Les sites ruraux présentaient une plus grande diversité d'espèces de moustiques, mais *Culex pipiens* était l'espèce la plus abondante dans toute la région.

Dans le Delaware, des études longitudinales ont été effectuées dans des mares et des zones humides en 2004 (Gingrich *et al.*, 2006). Les zones humides étaient riches en moustiques *Aedes vexans*, *Culex pipiens* et *Cx. restuans*. Les mares permanentes produisaient en général les mêmes espèces, sauf que, au contraire des zones humides, *Culex pipiens* était plus abondant que *Cx. restuans*. *Aedes vexans* et *Cx. salinarius* étaient les espèces les plus abondantes dans les mares gérées au sein du programme de conservation et de restauration des mares (Conservation Restoration Enhancement Program). Lors de présence de sable filtrant, seulement *Ae. vexans*, *Cx. restuans*, *Cx. pipiens*, et *Ae. japonicus*, une nouvelle espèce invasive, étaient produits en grand nombre. Les mares temporaires produisent principalement *Ae. vexans*, un vecteur pont occasionnel. Pour toutes ces espèces, la distribution saisonnière était bimodale, avec des pics d'abondance au début et en fin d'été. Les mares avec des rives ombragées produisaient le plus grand nombre d'insectes, même si les prédateurs étaient abondants alors que les mares avec des rives ensoleillées et peu de végétation produisaient le moins de moustiques (Gingrich *et al.*, 2006).

Ces exemples montrent la diversité et la complexité des cycles de transmission du virus en fonction des zones géographiques étudiées. Les conditions environnementales sont déterminantes pour l'abondance des espèces vectrices et des hôtes réservoirs et déterminent également les taux de contact entre vecteur infecté et hôte accidentel, dont l'homme. La compréhension de ces cycles, au cas par cas, peut permettre de mettre en œuvre des systèmes de surveillance et de prévention efficaces.

► Conclusion

Le point de départ des travaux présentés ici est la réapparition du virus *West Nile* en France, après un silence de 35 ans. L'enquête mise en œuvre en 2000 par les autorités sanitaires en Camargue avait pour motivation de décrire et d'analyser un risque potentiel pour la santé publique. Cette enquête a été la première étude sérologique *West Nile* de grande ampleur qui ait été menée dans une population équine. Une seconde enquête sérologique a été menée en 2003 après la réapparition du virus dans le Var. Les résultats de ces enquêtes descriptives (et notamment les contrastes observés) ont amené à formuler une hypothèse : les zones où le virus *West Nile*

circule en France ne sont pas localisées aléatoirement mais il semble au contraire exister des zones de dimensions restreintes où le virus circulerait régulièrement, d'année en année, alors qu'il ne circulerait pas (ou peu) ailleurs.

Formuler cette hypothèse amène à tenter de caractériser ces zones à la fois dans une optique cognitive (mieux comprendre les schémas de circulation du virus en Europe) et dans une optique opérationnelle (mieux gérer le risque de santé publique et de santé animale). Les résultats obtenus sont tout à fait cohérents avec les connaissances actuelles sur l'épidémiologie de l'infection à virus *West Nile*. La carte de risque proposée doit cependant être interprétée avec précaution, en particulier à cause du nombre relativement réduit de cellules incluses dans l'étude, ce qui est une limite structurelle inhérente à ce type de travail.

Chapitre 9

Apport de la modélisation à la compréhension de l'épidémiologie du virus

Dominique J. BICOUT

Objectif : présenter des travaux de modélisation qui ont permis d'organiser les réflexions sur l'épidémiologie du virus *West Nile* après les épizooties des années 2000

Quelle est la cinétique des anticorps IgG chez les chevaux hôtes révélateurs de la circulation du virus ?

Quels sont les rôles des moustiques vecteurs, notamment l'importance des vecteurs « ponts » ?

Quelle est l'importance de l'environnement dans les interactions oiseaux/vecteurs ?

Après 1962, le territoire français a été le siège d'une seconde épizootie du virus *West Nile* en 2000. Trois départements étaient concernés : l'Hérault, le Gard et les Bouches du Rhône. Du 15 août au 5 novembre 2000, une épizootie de fièvre *West Nile* s'est déclarée à environ 35 km de Montpellier, avec 76 cas équins diagnostiqués, dont 21 cas mortels, mais pas de cas humains (Murgue *et al.*, 2001 ; Durand *et al.*, 2002). La figure 9.1 et la figure 17 (planche X) résument les résultats de l'enquête sérologique (Durand *et al.*, 2002). Elles montrent les localisations de la circulation du virus *West Nile* et le déroulement temporel de l'épisode de 2000. Plusieurs questions se sont alors posées parmi lesquelles : quel était le statut immunitaire des chevaux avant et après l'épizootie ? Quels sont les moustiques vecteurs et leurs rôles ? Et, en l'absence de mortalité d'oiseaux, quels sont les oiseaux impliqués et leurs rôles ? Ce chapitre illustre comment la compréhension sur l'épidémiologie du virus *West Nile* en France s'est construite à partir de trois exemples successifs de modélisation développés après l'épizootie de 2000 en Camargue.

» Cinétique des anticorps IgG chez les chevaux

En absence de mortalité d'oiseaux, les hôtes accidentels et particulièrement les chevaux sont considérés comme révélateurs de la circulation du virus *West Nile* dans le sud de la France. Partant de l'hypothèse que le virus *West Nile* n'avait

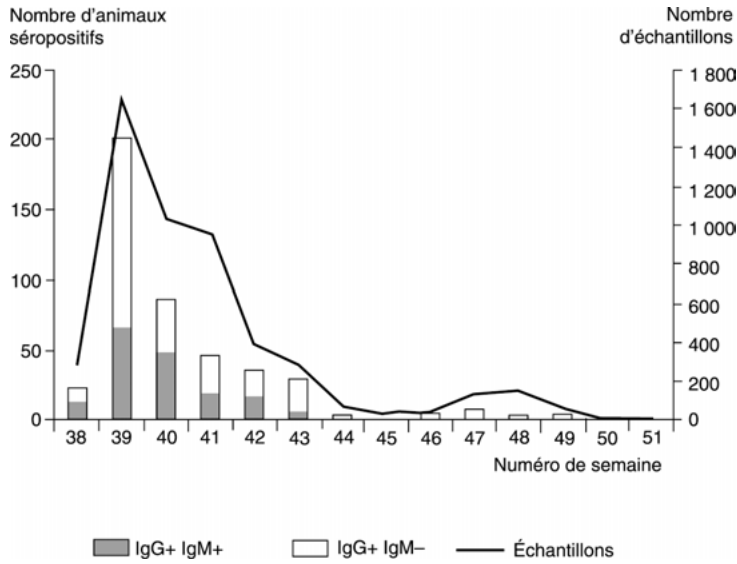


Figure 9.1. Enquête sérologique en 2000 en Camargue, France (d’après Durand *et al.*, 2002).

plus circulé sur le territoire camarguais depuis les années 1960 (sinon peut-être à très bas bruit), on pouvait donc raisonnablement considérer que la population équine qui avait été sujette à l’épisode de 2000 était entièrement naïve sans protection immunitaire. Partant du constat que les anticorps IgM associés à la souche du virus *West Nile* qui circulait en France étaient très fugaces, les anticorps IgG (supposés en plus neutralisants, donc protecteurs) représentent alors un indicateur précieux pour apprécier la situation immunitaire des populations concernées par cette infection. En effet, la littérature indiquait que chez les chevaux les IgM sont détectables 8 à 10 jours après l’infection et persistent moins de 2 à 3 mois alors que les IgG, détectables eux aussi 8 à 10 jours après l’infection, pouvaient persister plusieurs années après l’infection, mais la durée exacte restait à déterminer (Durand *et al.*, 2002 ; Tardei *et al.*, 2000 ; Tsai *et al.*, 1998). L’objectif du travail a donc été de déterminer la durée de persistance des IgG chez les chevaux à partir des données de séroprévalence au cours du temps comme ceux de la figure 9.2.

Pour ce faire, considérons une population de chevaux de taille N soumise à une force d’infection λ constante dans le temps. Dans un modèle à deux états où un cheval peut être soit négatif, « 0 », ou positif, « 1 », en IgG, le taux de transition $0 \rightarrow 1$ est λ , et celui de la transition inverse $1 \rightarrow 0$ est r , où $1/r$ est la durée moyenne de persistance des IgG. Désignons par N_j et N'_j les nombres de chevaux dans l’état « j » (avec $j = 0, 1$) respectivement aux instants t et $t + \Delta t$, tel que, $N'_j = N_{0j} + N_{1j}$, où N_{ij} représente le nombre total de chevaux dans l’état « j » à l’instant $t + \Delta t$ sachant qu’ils étaient dans l’état « i » à l’instant t . La dynamique d’évolution de la prévalence en IgG entre deux instants t et $t + \Delta t$ peut être décrite par la chaîne de Markov à deux états,

$$\begin{bmatrix} N_{00} + N_{01} \\ N_{10} + N_{11} \end{bmatrix} = \begin{bmatrix} 1 - q_{01} & q_{10} \\ q_{01} & 1 - q_{10} \end{bmatrix} \begin{bmatrix} N_0 \\ N_1 \end{bmatrix} \quad (1)$$

où les probabilités q_{ij} de transition $i \rightarrow j$ pendant l'intervalle de temps Δt sont données par (Bicout *et al.*, 2003),

$$\left\{ \begin{array}{l} q_{01} = \frac{N_{01}}{N_{00} + N_{01}} = \frac{\lambda [1 - e^{-(r+\lambda)\Delta t}]}{r + \lambda} \\ q_{10} = \frac{N_{10}}{N_{10} + N_{11}} = \frac{r [1 - e^{-(r+\lambda)\Delta t}]}{r + \lambda} \end{array} \right\} \Rightarrow \left\{ \begin{array}{l} \lambda \Delta t = \frac{-q_{01} \ln[1 - (q_{01} + q_{10})]}{q_{01} + q_{10}} \\ r \Delta t = \frac{-q_{10} \ln[1 - (q_{01} + q_{10})]}{q_{01} + q_{10}} \end{array} \right. \quad (2)$$

Ces relations permettent ainsi de déterminer à la fois la force d'infection et la durée de persistance des IgG. En utilisant cette approche sur une série de données comme celle de la figure 9.2, nous avons obtenu une durée moyenne de persistance des IgG de l'ordre de 3 à 4 ans et une force d'infection moyenne en 2000 de $\lambda \times \Delta t = 0,048$ (Bicout *et al.*, 2003). Pour une épizootie s'étalant sur $\Delta t = 11$ semaines comme en 2000, la force d'infection moyenne aurait été de $\lambda = 0,00436/\text{semaine}$, soit environ 6 nouveaux cas équins par semaine pour une population initiale de 5 107, reproduisant bien la situation de 2000 en Camargue (Durand *et al.*, 2002). Les résultats de cette analyse sont résumés dans la figure 9.2.

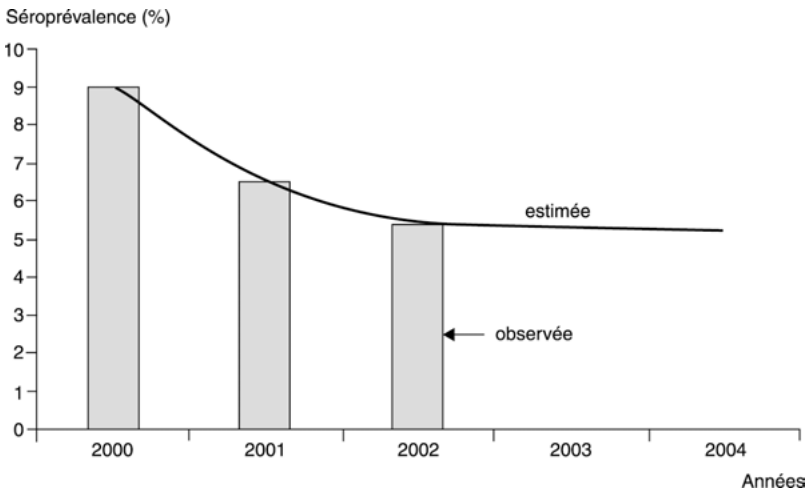


Figure 9.2. Modélisation du cours de la séroprévalence des anticorps IgG chez les chevaux (d'après Bicout *et al.*, 2003).

► Modélisation de l'épizootie de 2000 en Camargue : rôles des vecteurs

Le point de départ de cette analyse a été les résultats de l'enquête sérologique résumé dans la figure 9.1 (Durand *et al.*, 2002). L'objectif premier de cette modélisation était de déterminer la force d'infection exercée sur les chevaux qui pouvait décrire la courbe des cas observés sur cette figure. Pour ce faire, nous avons développé un modèle simple contenant les ingrédients nécessaires pour décrire la dynamique de l'infection par le virus *West Nile*. Le cycle épidémiologique et cinétique de transmission du virus *West Nile* met en scène trois populations (figure 9.3) : les réservoirs (oiseaux), les moustiques vecteurs et les hôtes accidentels (hommes, chevaux). Le cycle d'amplification fait intervenir le système oiseaux/moustiques tandis que la transmission unidirectionnelle est assurée par des vecteurs « ponts » vers les humains et/ou chevaux. Ces vecteurs ponts ne sont pas exclusivement ornithophiles, mais leur préférence trophique les amène à piquer à la fois les oiseaux et les mammifères comme les chevaux par exemple. Quant aux chevaux, ce sont des hôtes accidentels particulièrement sensibles au virus *West Nile* et considérés comme révélateurs de la circulation du virus *West Nile* dans le contexte du sud de la France. À cet égard, nous ne discuterons que l'impact des moustiques vecteurs ponts qui ont un rôle clé dans la propagation du virus *West Nile* des hôtes réservoirs oiseaux vers les chevaux.

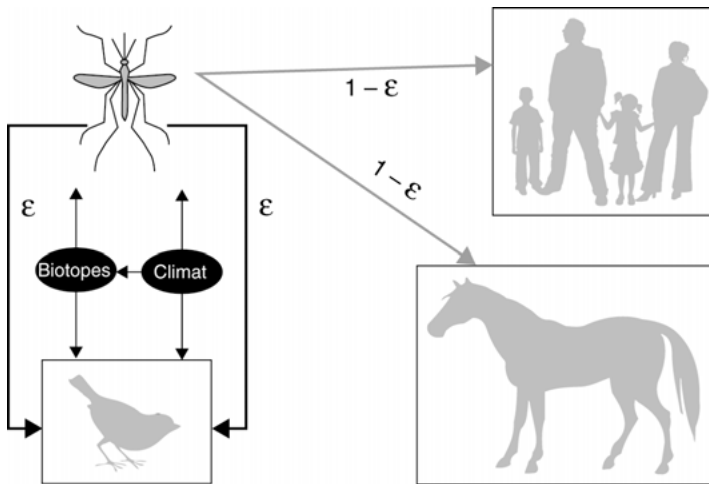


Figure 9.3. Cycle de transmission du virus *West Nile*. La probabilité ε représente la préférence trophique des vecteurs ponts avec $\varepsilon < 0,5$ pour les vecteurs mammophiles et $\varepsilon > 0,5$ pour les vecteurs ornithophiles. Les vecteurs piquant uniquement les oiseaux sont représentés par $\varepsilon = 1$, tandis que ceux piquant uniquement les mammifères par $\varepsilon = 0$.

La seule variable observable dont nous disposons est l'évolution au cours du temps du nombre de cas $I(t)$, résultat de l'enquête sérologique sur la population exposée de 5 107 équidés (figure 9.1). La question est donc de déterminer la force d'infection exercée sur les chevaux permettant de décrire $I(t)$, et donc de déterminer d'autres paramètres importants du problème. La dynamique de transmission du virus *West*

Nile entre les trois populations, oiseaux, vecteurs et chevaux, peut être décrite par la cinétique dans la figure 9.4.

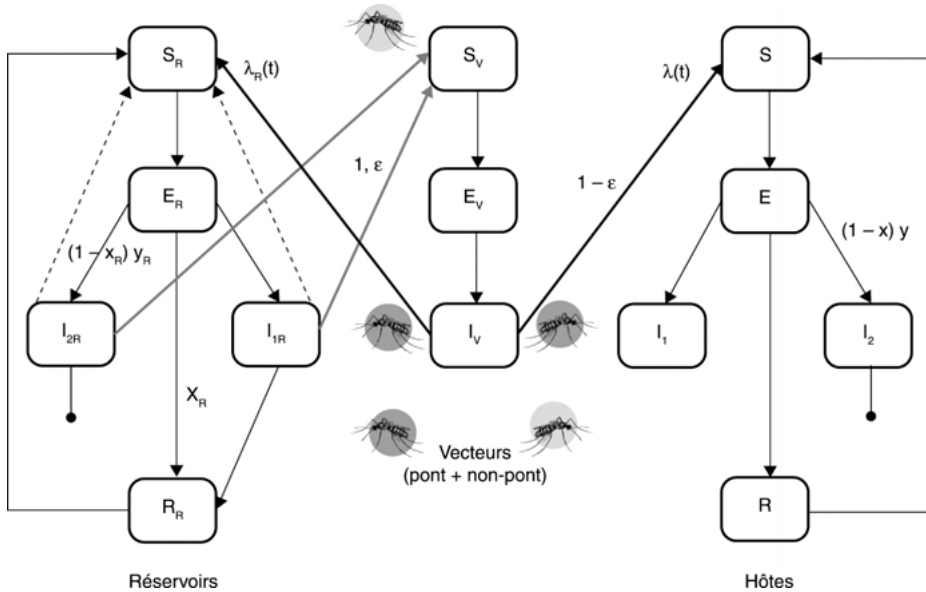


Figure 9.4. Schéma cinétique pour la dynamique de transmission du virus *West Nile* : modèle à trois populations SEIR, SEI et SEIR couplé. La transmission des virus des vecteurs vers les hôtes accidentels se fait *via* les contacts $I_V \leftrightarrow S$ (pour les hôtes humains ou chevaux) et $I_V \leftrightarrow S_R$ (pour les réservoirs oiseaux), et des hôtes réservoirs vers les vecteurs *via* les contacts $(I_{1R} + I_{2R}) \leftrightarrow S_V$ comme indiqué par les flèches allant des vecteurs vers les hôtes et vice versa. Les autres flèches indiquent l'évolution chronologique des flux de populations dans les différents stades sanitaires. La durée de vie des I_2 et I_{2R} est supposée inférieure à la durée de séjour dans le stade infectieux. L'issue de ces stades I_2 et I_{2R} est la mort représentée par le cercle plein. Deux types de vecteurs sont possibles : les vecteurs ornithophiles qui ne piquent que les oiseaux et les vecteurs ponts qui piquent les oiseaux avec une préférence ε et les autres hôtes avec une préférence $1 - \varepsilon$.

En absence de toute information sur les populations des vecteurs, le système couplé SEIR, SEI et SEIR a été réduit à un modèle couplé SEIR sur les oiseaux et les chevaux. Considérons une population d'hôtes réservoirs oiseaux de taille B et une population d'hôtes accidentels (chevaux, humains...) de taille H , en interaction *via* un bain homogène des moustiques vecteurs de deux espèces : vecteurs exclusivement piqueurs d'oiseaux (ornithophiles) et vecteurs ponts piquant à la fois les oiseaux et les hôtes accidentels.

Réservoirs oiseaux

En absence de mortalité des oiseaux induite par l'infection (*i.e.*, B est constant) et dans l'approximation stationnaire pour la densité des moustiques vecteurs, la dynamique de l'infection par le virus *West Nile* au sein de la population réservoir peut être décrite par un modèle SIR classique,

$$\begin{cases} \frac{di_R}{dt} = \alpha_R R_0 i_R (1 - i_R - r_R) - \alpha_R i_R \\ \frac{dr_R}{dt} = \alpha_R i_R \end{cases} \quad (3)$$

où i_R et r_R sont respectivement les proportions d'oiseaux infectieux et ayant récupérés de l'infection (*i.e.*, immunisés). Pour la transmission vectorielle du virus *West Nile*, le nombre de reproduction de base du cycle enzootique résulte de deux contributions,

$$R_0 = R_{01} + R_{02} ; R_{02} = \frac{m_R \kappa^2 a^2 L_R}{\alpha_R \mu} ; \kappa = \frac{\epsilon B}{\epsilon B + (1 - \epsilon)H} \quad (4)$$

où R_{01} et R_{02} représentent respectivement les contributions des systèmes oiseaux/vecteurs ornithophiles et oiseaux/vecteurs ponts, dont l'importance relative, donnée par le rapport $\rho = R_{02}/R_{01}$, mesure l'efficacité à l'amplification entre les deux espèces de vecteurs. Dans le cas mono-spécifique de vecteurs, on a $R_{01} = 0$. En effet, le cas mono-spécifique de vecteurs avec $R_{02} = 0$ ne nous intéresse pas ici puisqu'il correspond à la situation où la circulation des virus serait cantonnée à la population des oiseaux sans transmission vers et sans conséquences pour les hôtes accidentels ; situation presque inobservable dans le contexte du sud de la France puisqu'il n'y a pas de mortalité importante d'oiseaux induite par l'infection au virus *West Nile*.

Dans R_{02} , « a » est la fréquence des piqures des vecteurs ponts, « m_R » le nombre de vecteurs ponts par hôte oiseau (densité de vecteurs ponts), L_R la compétence vectorielle des vecteurs ponts sur les oiseaux, $1/a_R$ la durée moyenne d'infection chez les oiseaux, et $1/\mu$ la longévité des vecteurs ponts. Comme les moustiques vecteurs ponts sont susceptibles de piquer à la fois les oiseaux et les chevaux, la densité de vecteurs effectivement piquant les oiseaux est plutôt, $\kappa^2 m_R$, où le facteur de densité κ est la probabilité effective de contact vecteur/oiseau ou proportion de moustiques piquant les oiseaux. Cette probabilité κ joue un rôle important dans l'estimation de l'intensité de l'amplification et de la transmission du virus *West Nile*, et donc dans la caractérisation du rôle des vecteurs. La population d'oiseaux est soumise à la force de l'infection, $\lambda_R = \alpha_R \times R_0 \times i_R = C \times i_R$ avec C la capacité vectorielle à la fois des vecteurs enzootiques et ponts. Lorsque $R_0 > 1$, chaque oiseau infecté génère en moyenne R_0 nouveaux cas oiseaux et une épizootie peut se produire (avec une probabilité, $1 - 1/R_0$), tandis que lorsque $R_0 < 1$ l'épizootie ne peut se développer.

Hôtes accidentels

Simultanément à l'interaction avec les oiseaux, la même population de moustiques vecteurs ponts interagit avec des hôtes accidentels pour aboutir à la transmission du virus *West Nile* des oiseaux aux chevaux. Lorsque, piqués par des moustiques ponts infectés et infectants, les chevaux naïfs entrent dans la phase de latence asymptomatique et peuvent devenir séropositifs. Au cours du temps, une proportion « x » des

chevaux infectés restent asymptomatiques mais deviennent séropositifs tandis que dans l'autre proportion restante « $1 - x$ » qui montrent des signes cliniques et sont séropositifs, une fraction « y » mourra et l'autre fraction survivante « $1 - y$ » récupérera de la maladie et sera immunisée. Les chevaux immunisés vont perdre leur immunité au cours du temps et devenir de nouveau sérologiquement négatifs et sensibles à l'infection au virus *West Nile*. Soit S , E , I_1 , I_2 et R (tel que $S + E + I_1 + I_2 + R = N$) représentent respectivement le nombre d'individus susceptibles, infectés de manière latente, infectés (pouvant recouvrir de la maladie), infectés (qui meurent de la maladie), récupérés ou immunisés. La dynamique de l'infection dans la population des chevaux peut être décrite par le système d'équations suivant :

$$\left\{ \begin{array}{l} \frac{dS}{dt} = -\lambda S + \left(\gamma + \frac{1}{T_{2G}} \right) R \\ \frac{dE}{dt} = \lambda S - \nu E \\ \frac{dI_1}{dt} = (1 - x)(1 - y)\nu E - \alpha_1 I_1 \\ \frac{dI_2}{dt} = (1 - x)y\nu E - \alpha_2 I_2 \\ \frac{dR}{dt} = x\nu E + \alpha_1 I_1 - \left(\gamma + \frac{1}{T_{2G}} \right) R \end{array} \right. \quad (5)$$

Ici la population des chevaux diminue à cause de la mortalité induite par l'infection au virus *West Nile* comme, $dN/dt = -\alpha_2 I_2$. Rappelons que $N < H$ puisque N représente le nombre total de chevaux pris en compte dans l'étude, tandis que H est le nombre total d'hôtes accidentels dans la zone, y compris d'autres chevaux. De même que pour les oiseaux réservoirs, l'intensité de la transmission directe des virus des vecteurs ponts infectés vers les hôtes accidentels, et donc de la transmission indirecte des virus des réservoirs oiseaux vers les hôtes accidentels, est caractérisé par la force d'infection, $\lambda(t) = C_B \times i_R(t)$, où $i_R(t)$ est la proportion d'oiseaux infectés au temps t définis ci-dessus (dont la dynamique SIR est entièrement caractérisée par deux paramètres, à savoir : le taux de reproduction fondamental R_0 , et la durée moyenne de virémie $1/\alpha_R$ chez les oiseaux) et C_B la capacité vectorielle croisée des vecteurs ponts définie comme le nombre moyen de piqûres potentiellement infectantes délivré par une population de vecteurs ponts infectés (devenus infectés après piqûres d'oiseaux infectés) sur un seul hôte accidentel par unité de temps,

$$C_B = \frac{(1 - \kappa) \kappa m^2 L}{\mu} \quad (6)$$

où « m » le nombre de vecteurs ponts par hôte accidentel et L la compétence vectorielle des vecteurs ponts sur les hôtes accidentels.

Risque d'amplification enzootique et de transmission aux hôtes accidentels

Il est instructif d'analyser les systèmes d'équations ci-dessus pour gagner en compréhension sur les interactions entre les trois populations, réservoirs oiseaux, moustiques vecteurs et hôtes accidentels, dans l'épidémiologie du virus *West Nile*. La figure 9.5 résume ces interactions en quelques nombres.

Comme les hôtes accidentels ne participent pas à l'amplification, il n'y a pas de taux de reproduction pour la transmission des vecteurs ponts vers les humains et/ou chevaux ; il s'agit d'une situation anadémique où R_B indique le nombre moyen de cas générés. En revanche, on peut définir une capacité vectorielle croisée C_B comme le nombre moyen de nouveaux cas d'hôtes accidentels infectés par unité de temps que la population de vecteurs ponts serait capable de générer si toutes les femelles vectrices ayant piqué un hôte réservoir oiseau index infecté devenaient toutes infectantes.

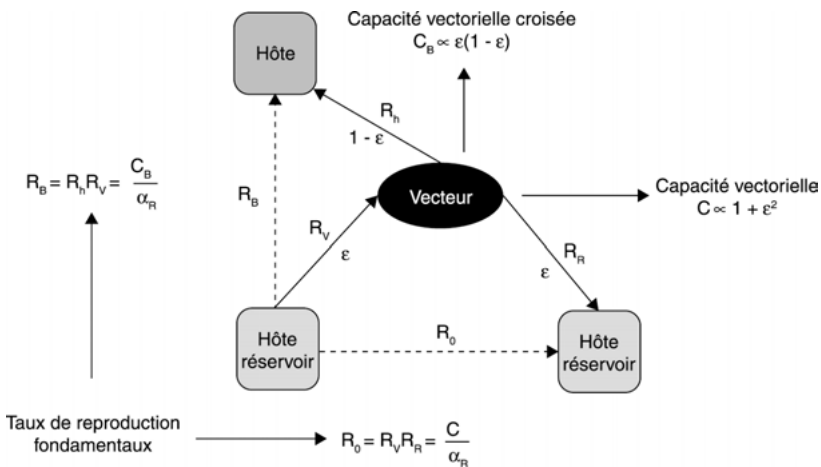


Figure 9.5. Caractéristiques de la transmission du virus *West Nile*. R_v (R_R) représente le nombre moyen de vecteurs (d'oiseaux) infectés à partir d'un seul oiseau (vecteur) infectieux durant toute sa phase infectieuse, et le taux de reproduction fondamental pour le cycle d'amplification est, $R_0 = R_v \times R_R = C/\alpha_R$, avec C la capacité vectorielle et $1/\alpha_R$ la durée moyenne de virémie chez les oiseaux. Pour la transmission aux hommes et/ou chevaux, R_h est le nombre moyen d'hôtes infectés par vecteur pont, et le nombre de nouveaux cas humains et/ou équins à partir d'un seul oiseau infecté est, $R_B = R_v \times R_h = C_B/\alpha_R$, avec C_B la capacité vectorielle croisée.

Pour apprécier en quoi ces nombres sont informatifs, considérons la situation où les populations d'oiseaux de taille B et d'hôtes accidentels de taille H sont en interaction *via* la population de vecteurs. Soient $i_R(t)$ et $i(t)$ les proportions respectives des oiseaux et hôtes accidentels infectés à l'instant t . La cinétique simplifiée à partir des Eqs.(3) et (5) décrivant la dynamique d'infection est donnée par le système d'équations :

$$\begin{cases} \frac{di_R}{dt} = \lambda_R(1 - i_R) - \alpha_R i_R = C(1 - i_R)i_R - \alpha_R i_R \\ \frac{di}{dt} = \lambda(1 - i) - \alpha i = C_B(1 - i)i_R - \alpha i \end{cases} \quad (7)$$

avec, comme défini ci-dessus, $\lambda_R = C \times i_R$ et $\lambda = C_B \times i_R$ les forces d'infections respectivement sur les oiseaux et hôtes accidentels exercées par la population des vecteurs, et C et C_B les capacités vectorielles classique et croisée. La solution de ce système d'équations montrent clairement que lorsque $R_0 > 1$ l'épizootie $i_R(t)$ se développe d'abord dans la population des oiseaux suivit ensuite de l'épidémie $i(t)$ dans la population des hôtes accidentels. L'équilibre endémique du système Eq.(7), $P_R = i_R(t \rightarrow \infty)$ et $P = i(t \rightarrow \infty)$, pour $R_0 \geq 1$ est donné par :

$$P_R = 1 - \frac{1}{R_0} ; P = \frac{1}{1 + \frac{1}{\left(\frac{\alpha_R R_B}{\alpha} \right) P_R}} \quad (8)$$

avec R_0 défini plus haut et $R_B = C_B/\alpha_R$. Dans la limite stationnaire, P_R et P peuvent être interprétés respectivement comme le risque d'amplification du cycle enzootique et le risque de transmission du virus *West Nile* à la population d'hôtes accidentels (humaine ou équine). Il est intéressant de noter que ces risques ne sont non nuls que pour $R_0 > 1$ quelque soit R_B . Par contre lorsque $R_0 > 1$, l'impact relatif, P/P_R , de l'infection dans la population des hôtes accidentels par rapport à celle des oiseaux est contrôlé par le rapport $\alpha_R R_B/\alpha R_0$. Il en vient que $P \leq P_R$ lorsque $\alpha_R R_B \leq \alpha R_0$, et vice versa. Par ailleurs, notons que le rapport du nombre moyen de cas dans la population des hôtes accidentels sur celui des cas chez les oiseaux est donné par,

$$\frac{R_B}{R_0} = \left(\frac{L}{L_R} \right) \left(\frac{1 - \kappa}{\kappa} \right) \left(\frac{\rho}{1 + \rho} \right) \quad (9)$$

où κ (préférence trophique effective) et ρ (égal au rapport entre le R_0 lié aux vecteurs exclusivement ornithophiles et le R_0 lié aux vecteurs ponts dans le cycle enzootique) ont des rôles importants dans l'estimation de l'intensité de l'amplification et de la transmission du virus *West Nile*, et donc dans la caractérisation du rôle des vecteurs. La différence entre R_0 et R_B est d'autant plus grande que serait la différence entre le R_0 lié aux vecteurs exclusivement ornithophiles (*i.e.*, R_{01}) et le R_0 lié aux vecteurs ponts dans le cycle enzootique (*i.e.*, R_{02}). Dans le cas mono-spécifique de vecteurs, *i.e.*, $\rho \rightarrow \infty$, les vecteurs ponts jouent un rôle prépondérant dans le cycle épidémiologique du virus *West Nile*. On peut distinguer et définir la probabilité d'amplification enzootique (*enzootic probability*), $\omega_E = \kappa^2 L_R$, et la probabilité de transmission aux hôtes accidentels (*bridge probability*), $\omega_B = \kappa(1 - \kappa)L$, et construire un diagramme d'état des vecteurs en fonction de la préférence trophique et de l'abondance des hôtes.

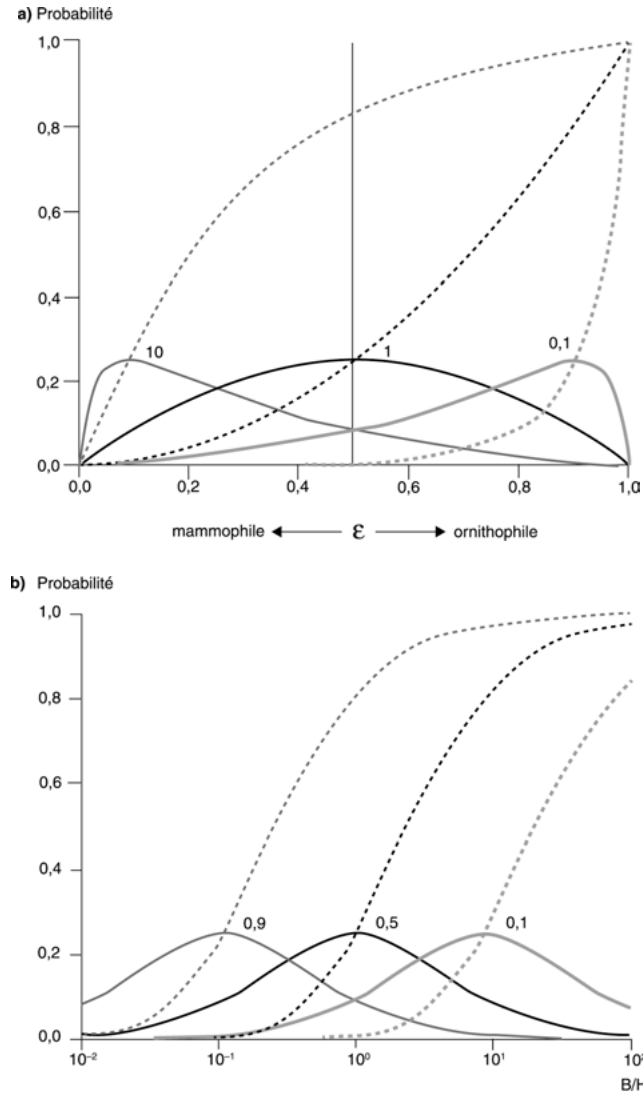


Figure 9.6. a. Probabilités d'amplification enzootique ω_E (lignes en pointillés) et de transmission des virus aux hôtes accidentels ω_B (traits pleins) en fonction de la préférence trophique ϵ des moustiques vecteurs. Les chiffres annotés correspondent au rapport B/H du nombre des hôtes réservoirs (oiseaux) sur celui des hôtes accidentels (chevaux et/ou humains). La ligne verticale en pointillés sépare le comportement mammophile ($\epsilon < 0,5$) du comportement ornithophile ($\epsilon > 0,5$) des vecteurs ponts. Les points d'intersection à $\omega_E = \omega_B = 1/4$ correspondent à la préférence trophique idéale, $\epsilon_{id} = 0,91, 0,5$, et $0,09$ respectivement pour $B/H = 0,1, 1$ et 10 .

b. Probabilités d'amplification enzootique ω_E (lignes en pointillés) et de transmission des virus aux hôtes accidentels ω_B (traits pleins) en fonction du rapport B/H des réservoirs oiseaux sur les hôtes accidentels. Les chiffres annotés correspondent aux moustiques mammophiles ($\epsilon = 0,1$), opportunistes ($\epsilon = 0,5$), et ornithophiles ($\epsilon = 0,9$). Les points d'intersection à $\omega_E = \omega_B = 1/4$ correspondent au rapport idéal $(B/H)_{id} = 9, 1$ et $0,11$ respectivement pour $\epsilon = 0,1, 0,5$, et $0,9$.

La figure 9.6 montre (pour $L_R = L = 1$) que l'importance de l'implication des vecteurs ponts à la fois dans le cycle épidémiologique du virus *West Nile* et dans la transmission de ce virus aux hôtes accidentels dépendent de manière subtile de la combinaison de la préférence trophique et du nombre des hôtes en présence. La probabilité de transmission vers les hôtes accidentels est maximale et coïncide avec la probabilité d'amplification enzootique, $\omega_E = \omega_B = 1/4$, à la préférence trophique idéale, $\varepsilon_{id} = H/(B + H)$ pour un rapport donné B/H , ou à l'inverse, au ratio idéal $(B/H)_{id} = (1 + \varepsilon)/\varepsilon$ pour un ε donné. La ε_{id} donne une limite permettant de classer le comportement des vecteurs comme « plus pont » pour $\varepsilon < \varepsilon_{id}$ et « plus enzootique » pour $\varepsilon > \varepsilon_{id}$, ce qui peut se rencontrer dans la nature étant donné le nombre d'espèces différentes de moustiques susceptibles d'être impliqués dans la transmission du virus *West Nile* (Granwehr *et al.*, 2004). Par ailleurs, il en ressort que la même espèce de vecteurs, avec une préférence trophique ε donnée, peut se trouver soit alternativement, successivement ou simultanément impliqués comme vecteur enzootique et pont, à la suite des variations de B/H dues soit à des localisations spatiales différentes, soit au cours du temps, ou les deux à la fois.

Résultats des simulations numériques

Pour déterminer la force d'infection, $\lambda(t) = C_B \times i_R(t)$, exercée sur les chevaux et décrivant $I(t)$ dans la figure 9.1, et extraire les paramètres importants du problème, deux dynamiques stochastiques ont été exécutées simultanément pour les réservoirs, Eq.(3), et les chevaux, Eq.(5), et en essayant de superposer au mieux les simulations de $I(t)$ avec les observations présentes dans la figure 9.1. Toutes les trajectoires stochastiques ont été exécutées avec les conditions initiales : $i_R = 0,01$, $r_R = 0$ pour les hôtes réservoirs, et $S = 5\,107$ et $E = I_1 = I_2 = R = 0$ pour les chevaux, et en utilisant les paramètres dans le tableau 9.1.

La figure 9.7 montre le résultat du meilleur ajustement entre les données et les simulations obtenu pour α_R , R_0 et C_B donnés dans le tableau 9.1. Il apparaît que le maximum de l'épizootie chez les chevaux a été observé 30 jours environ après le maximum de la force d'infection (*i.e.*, du couple vecteur-hôtes réservoirs). En d'autres termes, la circulation des virus dans la population oiseaux serait intervenue environ 1 mois avant d'observer les effets de la transmission aux chevaux. Cela a une importance dans le cadre de la surveillance, surtout dans le contexte de la Camargue où il ne semble pas y avoir de mortalité d'oiseaux induite de l'infection au virus *West Nile* pour tirer la sonnette d'alarme.

Le nombre $R_B = 0,058$ de cas chevaux par oiseau indique qu'il avait fallu environ 20 oiseaux virémiques pour un cheval infecté. En supposant que $L = L_R$, on obtient de l'Eq.(9),

$$\frac{R_B}{R_0} = \frac{C_B}{C} = 0,0146 \Rightarrow \kappa = \frac{\rho}{0,0146 + 1,0146 \times \rho} \quad (10)$$

Comme $\alpha_R R_B \leq \alpha R_0$ (valeurs dans le tableau 9.1), l'intensité de l'épizootie devrait être plus grande dans la population des oiseaux que dans celle des chevaux. À titre indicatif, en utilisant les valeurs de R_0 et R_B du tableau 9.1 dans l'Eq.(8), on obtient

$P_R = 75 \%$ et $P = 8 \%$ (à comparer à $R_\infty/N \approx 9 \%$ de l'enquête sérologique dans Durand *et al.*, 2002). Plusieurs scénarios d'interprétations sont possibles.

– Dans le cas où on aurait à faire qu'à des vecteurs ponts, *i.e.*, $\rho \rightarrow \infty$, on obtiendrait de l'Eq.(10) une préférence trophique effective ou proportion des moustiques piquant les oiseaux de $\kappa = 0,986$ (de même pour $\rho = 1$ qui donne $\kappa = 0,97$) correspondant à la situation où les chevaux seraient très peu piqués. À partir de l'Eq. (4) on obtient la préférence trophique $\varepsilon = H/(0,031 \times B + H)$. Ainsi, la situation observée serait le résultat des moustiques mammophiles ($\varepsilon < 0,5$) pour des densités d'oiseaux et chevaux en proportion de $B < 32 \times H$, ou encore celui des moustiques ornithophiles ($\varepsilon > 0,5$) pour $B > 32 \times H$. Or, la faible valeur de R_B suggère plutôt que $B \gg H$, plaidant ainsi pour l'hypothèse des moustiques ornithophiles.

Tableau 9.1. Paramètres utilisés dans les simulations¹. Les valeurs de T_{2G} proviennent des simulations sur la persistance des IgG obtenue p. 178, N , I_{tot} , R_∞ et D_∞ de l'enquête sérologique publiée par Murgue *et al.* (2001) et Durand *et al.* (2002), et les autres paramètres de la littérature. α_R , R_0 et C_B sont extraits à partir du meilleur accord entre les simulations et les données observées.

Symbole	Définition	Unité	Valeur
Réservoirs oiseaux			
$1/\alpha_R$	durée moyenne de la virémie	jours	4
R_0	taux de reproduction de base		4
Vecteurs ponts			
C_B	capacité vectorielle croisée	1/semaine	0,102
Hôtes chevaux			
N	population totale		5 107
I_{tot}	nombre total de cas		76
R_∞	nombre total de chevaux positifs en IgG		453
D_∞	nombre total de chevaux morts		21
$x = 1 - I_{tot}/R_\infty$	proportion des infections asymptomatiques	%	83
$y = D_\infty/I_{tot}$	proportion des infectés qui meurent	%	27,6
v	durée moyenne d'incubation	jours	5
$1/\alpha_1$	durée moyenne de la virémie des I_1	jours	8
$1/\alpha_2$	durée moyenne de la virémie des I_2	jours	2,53
γ	taux de renouvellement	1/an	0,115
T_{1M}	laps de temps avant apparition des IgM	jours	8
T_{2M}	durée de persistance des IgM	mois	2,5
T_{1G}	laps de temps avant apparition des IgG	jours	10
T_{2G}	durée de persistance des IgG	ans	3
$R_B = C_B/\alpha_R$	nombre de cas chevaux/oiseaux		0,058

1. Bicout D.J., Leblond A., Sabatier P., 2005. West nile epizooty in France: Mathematical modeling of the potential force of infection. Unpublished.

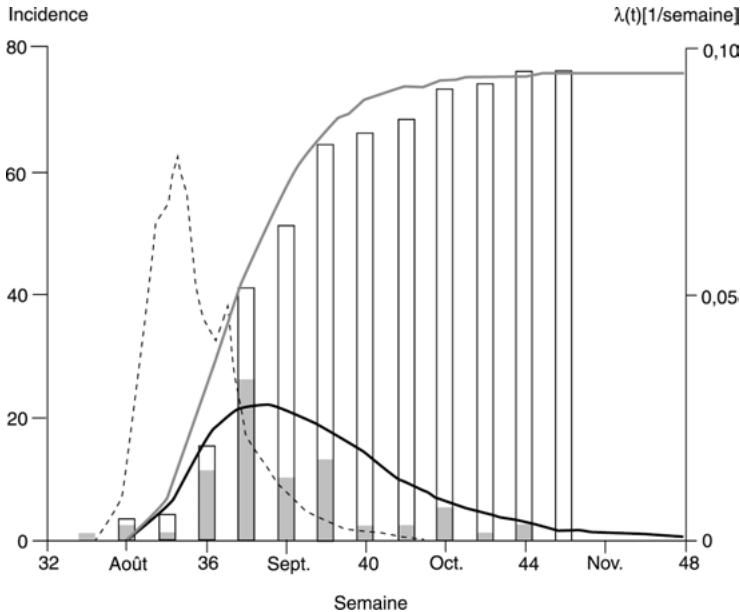


Figure 9.7. Modélisation de l'épizootie de fièvre *West Nile* de 2000 en Camargue.

Les histogrammes correspondent aux données observées et les courbes aux résultats de la simulation (Bicout *et al.*, 2005). La courbe noire et l'histogramme gris représentent l'incidence instantanée, tandis que la courbe grise et l'histogramme blanc l'incidence cumulée. Ces courbes correspondent à $R_0 = 4$ pour la dynamique d'amplification du virus *West Nile* dans le sous-système oiseaux/vecteurs, et une capacité vectorielle croisée de $C_B = 0,102/\text{semaine}$ pour les vecteurs ponts. La force d'infection [$\lambda(t)$ = nombre de nouvelles infections/semaine] subit par les chevaux est représentée en pointillés.

– Le cas contraire où on aurait plutôt à faire aux deux espèces de vecteurs, amplificateurs et ponts, offre une large palette de situations et vecteurs possibles allant de la situation $\kappa < 0,5$ où les mammifères sont les plus piqués pour $\rho < 0,015$ à la situation opposée $\kappa > 0,5$ où ce sont les oiseaux qui sont les plus piqués pour $\rho > 0,015$. La situation $\kappa < 0,5$ serait assurée par des moustiques dont la préférence trophique est $\varepsilon < H/(B + H)$, et vice versa. En d'autres termes, les moustiques mammophiles et ornithophiles peuvent très bien être impliqués dans les deux cas de figure $\kappa < 0,5$ et $\kappa > 0,5$. Noter que $\rho = 0,015$ (*i.e.*, $\kappa = 0,5$ où les oiseaux et les mammifères sont piqués en proportion égale) signifie que la contribution des vecteurs ponts au cycle d'amplification est environ 66 fois plus petite que celle des autres vecteurs amplificateurs.

Rappelons que toute la réflexion qui vient d'être développée suppose que toutes les espèces de vecteurs sont toutes de compétence vectorielle similaire, ce qui n'est pas le cas (chapitre 4). Par ailleurs, les courbes de la figure 9.8 sur les séroprévalences sont très parlantes. Elles indiquent que si, comme supposé, toute la population équine considérée était naïve avant l'épisode de 2000, que les anticorps étaient protecteurs, et qu'il y avait introduction chaque année du virus *West Nile*, on observerait des épizooties avec une période égale environ à la durée de persistance des IgG, et une circulation saisonnière de virus *West Nile* de faible incidence (nombre de cas et % en IgM) pendant les périodes inter-épizootiques.

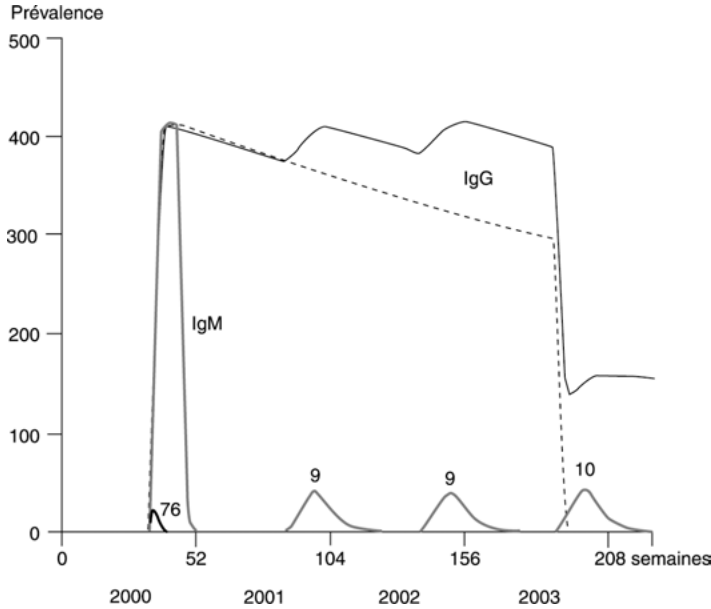


Figure 9.8. Simulation, basée sur le modèle de la figure 9.6, de la prévalence des anticorps IgM et IgG (courbes continues) chez les chevaux pour une force d'infection $\lambda(t)$ correspondant à $R_0 = 4$ en 2000 et à $R_0 = 1,005$ les années suivantes, avec les nombres des cas représentés par les chiffres. La courbe en pointillé correspond au cas où $\lambda(t) = 0$ après 2000.

Pour aller plus loin, ces résultats peuvent être reconsidérés à la lumière des connaissances à la fois sur les densités d'oiseaux impliqués et les vecteurs disponibles en Camargue, leurs localisations et dynamiques, ainsi que sur les densités de chevaux.

► Environnement et interactions oiseaux/vecteurs

À la différence de la circulation du virus *West Nile* à New York aux États-Unis, la circulation du virus en Camargue en 2000, et des autres épisodes qui ont suivi, n'était pas suivie d'une mortalité supplémentaire des oiseaux. Dans ce contexte, il est important de comprendre comment se font les contacts oiseaux/vecteurs et donc identifier les lieux et périodes possibles de la circulation du virus *West Nile*. Pour ce faire, nous avons développé un indice de risque IR de circulation du virus *West Nile* dans une région basé sur la probabilité de rencontre oiseaux/vecteurs dans un environnement donné. À l'image des travaux de Kilpatrick *et al.* (2005), le IR combine un indice de contact oiseaux/vecteurs (Doctrinal *et al.*, 2005) et la probabilité d'occurrence d'une épizootie calculée à partir d'un modèle SEIR dans la population oiseaux.

Soit une région subdivisée en M milieux, biotopes ou habitats ($m = 1, 2, \dots, M$) dans lesquels n_b ($b = 1, 2, \dots, n_b$) espèces oiseaux sont susceptibles d'entrer en contact avec n_v ($v = 1, 2, \dots, n_v$) espèces de moustiques vecteurs. L'indice de risque $IR_m(t)$

de circulation du virus *West Nile* entre oiseaux et vecteurs dans le milieu « m » à la date t est donné par,

$$\mathbf{I} \mathbf{R}_m(t) = \frac{1}{n_b n_v} \sum_{b=1}^{n_b} \sum_{v=1}^{n_v} [\mathbf{B}_b(t) \pi_{bm}(t)] \times [\mathbf{V}_v(t) \mathbf{q}_{vm}(t)] \times \mathbf{P}_{bvm}(t) \quad (11)$$

où $B_b(t)$ et $V_v(t)$ sont respectivement les probabilités de présence dans la région étudiée des oiseaux d'espèce b et des vecteurs d'espèce v , $\pi_{bm}(t)$ et $q_{vm}(t)$ sont respectivement les probabilités de fréquentation du milieu « m » par les oiseaux d'espèce b et les vecteurs d'espèce v , et $P_{bvm}(t)$ la probabilité d'occurrence d'une épizootie dans un système oiseaux d'espèce b et vecteurs d'espèce v .

Dans notre étude, la région considérée est la Camargue, et nous avons choisi comme espèce d'oiseaux le Héron garde-bœufs (*Bubulcus ibis*) (*i.e.*, $n_b = 1$) et comme espèce de moustiques vecteurs *Culex pipiens* et *Culex modestus* tous deux confondus (*i.e.*, $n_v = 1$) car ces deux espèces avaient été retrouvées naturellement infectées par le virus *West Nile* (Mouchet *et al.*, 1970 ; Rodrigues *et al.*, 1981 ; Jamagaonkar *et al.*, 2003). Les résultats de cette analyse pour le calcul des $IR_m(t)$ sont issus de Doctrinal *et al.* (2005). Dans cette analyse, la distribution des colonies des Hérons garde-bœufs en Camargue est montrée sur la figure 28 planche XVI, et la Camargue a été subdivisée en différents milieux comme montrés sur la figure 9.9 à partir d'une image satellite.

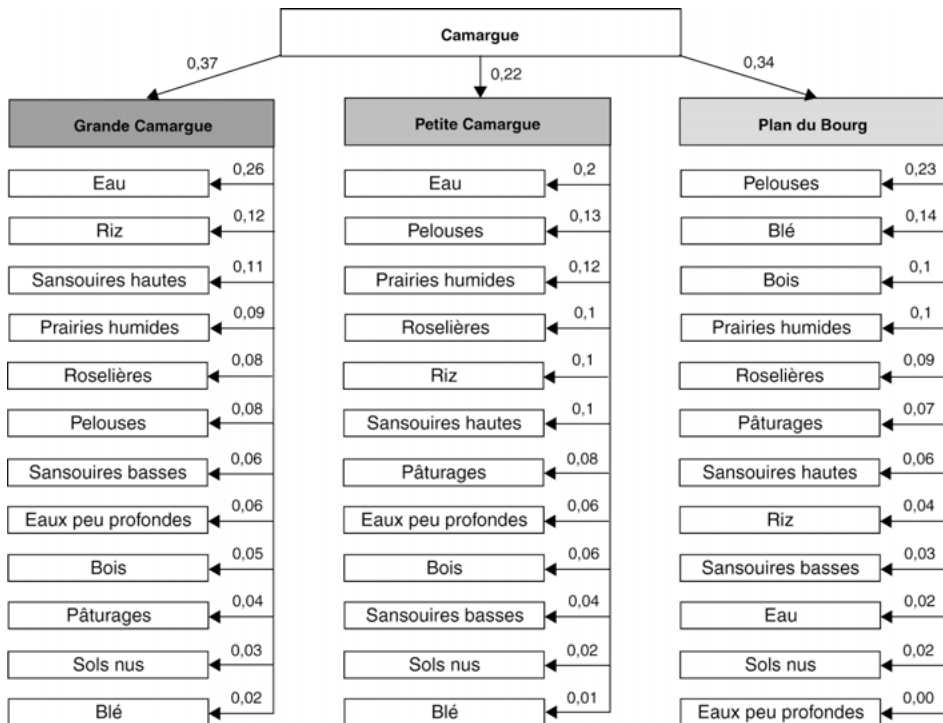


Figure 9.9. Organisation thématique de la Camargue. Les nombres représentent les proportions de surfaces de chaque milieu (Doctrinal *et al.*, 2005).

Deux types d'habitats, roselières/marais et prairies/pelouses/pâturages, ont été considérés en raison de leur fréquentation spécifique par les moustiques *Culex pipiens* et *Culex modestus*. Les IR_m ont été calculés pour ces milieux comme montré sur la figure 9.10. Il apparaît que le risque de circulation du virus *West Nile* chez le Héron garde-bœufs est plus probable en été qu'au printemps et que ce risque est plus élevé dans les roselières/marais que dans les prairies/pelouses/pâturages.

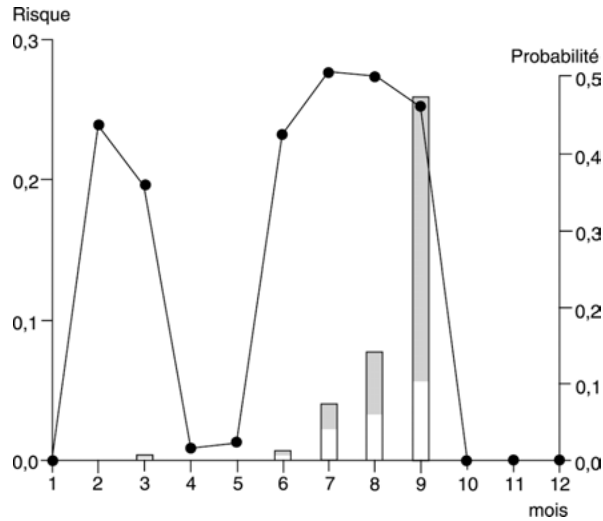


Figure 9.10. Indice de risque (histogrammes) et la probabilité d'occurrence (cercles pleins) d'une épidémie de virus *West Nile* dans une population de Hérons garde-bœufs en Camargue. Les histogrammes foncés correspondent aux habitats roselières/marais et les histogrammes clairs aux prairies inondées/pelouse/pâturage.

Précurseur des analyses spatio-temporelles, cette analyse met l'accent sur l'importance de la composante environnement où les rencontres entre tels types d'oiseaux et tels types de vecteurs sont possibles à une période donnée pour assurer la circulation du virus *West Nile*. À ce titre, la figure 9.11 fournit une vue synthétique du calendrier des différents processus allant de la dynamique de population des oiseaux et vecteurs, en passant par la fréquentation des milieux, jusqu'au risque de circulation du virus *West Nile* dans les biotopes de rencontres.

» Conclusion

L'infection par le virus *West Nile* est un bel exemple de complexité croissante d'une maladie vectorielle émergente, d'autant plus grave qu'elle a actuellement une répartition mondiale. Pour prévenir de l'occurrence de cette infection, il importe de bien comprendre son épidémiologie, notamment les différents rôles (introduction, amplification et de dispersion) joués par les oiseaux et les cycles de transmission vectorielle faisant intervenir différentes espèces de moustiques. Cette compréhension passe aussi par l'étude de l'écologie, des dynamiques de populations et des

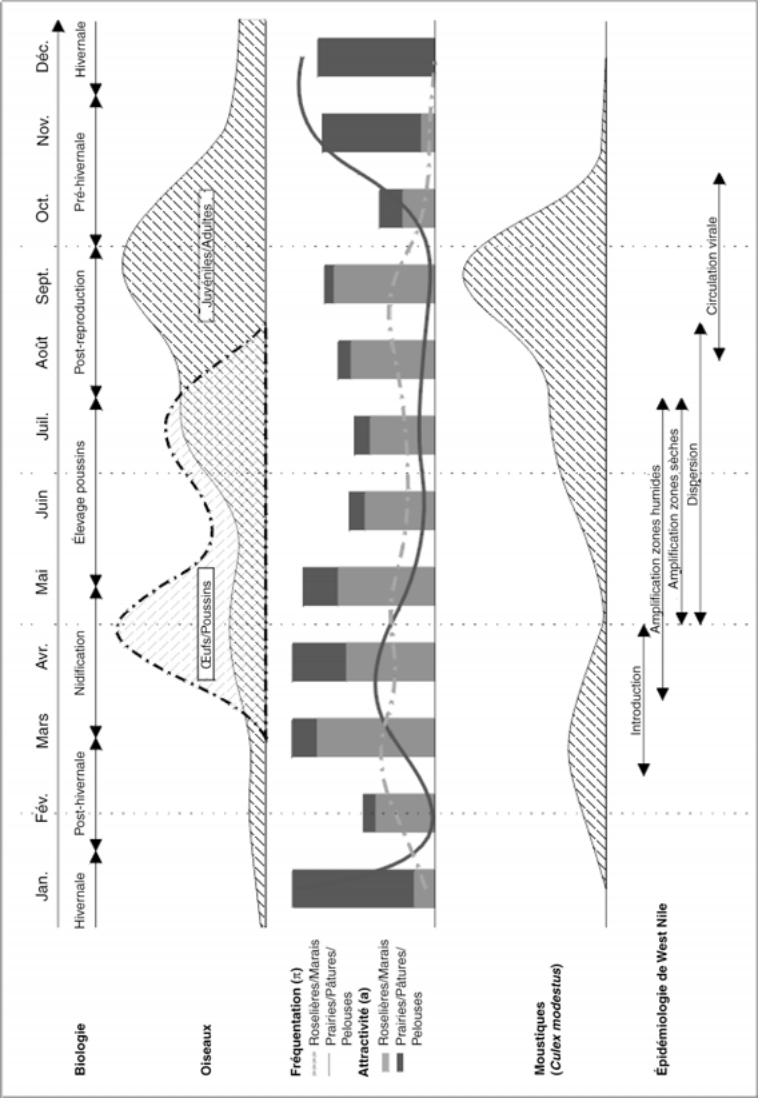


Figure 9.11. Schéma synthétique représentant différents acteurs du cycle épidémiologique du virus *West Nile* en Camargue. Sont représentés les effectifs des réservoirs oiseaux (Hérons garde-boeufs), des moustiques vecteurs (*Culex modestus*) ainsi que les courbes des probabilités de fréquentation par le Héron garde-boeufs et l'histogramme des attractivités pour le Héron garde-boeufs des milieux habitats favorables à *Cx. modestus* : roselières/marais et prairies/pelouses/pâtures (Doctrinal *et al.*, 2005).

potentiels de transmission du virus *West Nile* de l'avifaune et des vecteurs concernés, leur environnement physique avec la météorologie et les hydro-systèmes inclus.

Ce chapitre montre comment les réponses par la modélisation à certaines questions soulevées par les épisodes des années 2000 ont contribué à organiser la réflexion et améliorer la compréhension de l'épidémiologie du virus *West Nile*, comme également indiqué dans les chapitres précédents. Signalons que d'autres modélisations ont été développées par exemple sur la circulation du virus *West Nile* dans le bassin méditerranéen (Roche *et al.*, 2008 ; Durand *et al.*, 2010) ou sur les préférences trophiques de certains vecteurs d'intérêts (Balenghien *et al.*, 2011).

Conclusion générale

Thomas BALENGHIEN et Dominique J. BICOUT

Le virus *West Nile* est maintenant connu depuis trois quarts de siècle. Longtemps il a été présenté comme un virus non ou peu pathogène, alors même qu'il avait été reconnu responsable d'épidémies sur le pourtour méditerranéen dès les années 1950. C'est d'ailleurs dès cette période que les cycles de transmission de ce virus sont décrits, suite aux travaux réalisés en Égypte. Récemment, le virus *West Nile* est devenu l'un des principaux virus d'intérêt en santé publique et vétérinaire, suite à sa recrudescence dans le bassin méditerranéen, en Europe et en Russie (entre les mers Noire et Caspienne) depuis les années 1990, mais surtout suite à son introduction à New York en 1999 et à son expansion fulgurante principalement aux États-Unis, mais aussi dans le reste des Amériques. Depuis, chaque année, les chercheurs américains sont à l'origine de dizaines de publications consacrées à ce virus, comme illustré dans l'avant-propos, et, trop souvent, ils ont cru que l'histoire de ce virus commençait en 1999 à New York, sans se rendre compte que leurs interrogations ou leurs découvertes faisaient écho aux travaux menés par nos anciens il y a des décennies ou concomitamment dans notre « vieille » Europe. Il n'était donc pas inutile de revenir sur les recherches et la surveillance menées ces dernières années en France, et de mettre en perspective des travaux menés historiquement ou actuellement de par le monde.

Nous espérons avoir apporté des éléments de réponse à la question « Que savons-nous de la fièvre *West Nile* ? » tout au long de ce livre. Chaque chapitre — partant de l'historique sur le virus *West Nile*, en passant par la description des protagonistes jusqu'aux différents volets de la surveillance et approches par la modélisation — apporte des informations, délivre des enseignements et fournit des pistes de réflexions pour comprendre le problème *West Nile* et développer des investigations.

Savons-nous maintenant tout de la fièvre *West Nile* ? Certainement pas, et l'ambition de ce livre n'était même pas de faire une présentation exhaustive des travaux déjà réalisés — d'ailleurs, de nombreux travaux continuent d'être menés sur le sujet. Sans vouloir dresser une liste, citons quelques exemples de pistes de recherche.

» Sur le virus

Le virus *West Nile* a subi plusieurs modifications depuis sa découverte en 1937. Initialement associé à des syndromes pseudo-grippaux bénins, on a assisté au cours

des années à une augmentation de la fréquence de la mortalité et de la morbidité des formes neurologiques causée par l'infection au virus *West Nile*. Comme il n'existe pas encore de traitement antiviral spécifique à l'infection au virus *West Nile*, la connaissance de la variabilité et plasticité génétique de ce virus est donc fondamentale pour comprendre l'épidémiologie de ce virus et pour le développement des stratégies prophylactiques et thérapeutiques. D'autant plus que, comme pour la plupart des virus à ARN, le virus *West Nile* a un polymorphisme génétique dont la diversité des variants dépend beaucoup de la pression de sélection des hôtes dans lesquels le virus se multiplie, pression de sélection d'autant plus forte pour ce virus thermosensible dont les cycles de transmission impliquent des passages à des espèces différentes avec des changements brusques de température (27 °C chez le moustique, 42 °C chez l'oiseau et 37 °C chez l'homme).

► Les cycles de transmission

Les cycles de transmission du virus *West Nile* impliquent pour ce faire des interactions moustiques-oiseaux et moustiques-mammifères dans un contexte environnemental donné. Plusieurs facteurs de ces interactions conditionnent le rendement ou l'efficacité de la transmission.

Préférences trophiques des vecteurs

Les préférences trophiques des moustiques, en particulier du genre *Culex*, restent un domaine de recherche prioritaire car élément clé de la transmission du virus. Le choix d'hôtes par un vecteur interroge sur les interactions moustiques-hôtes vertébrés, lesquelles interactions résultent vraisemblablement de la combinaison de facteurs génétiques (préférence innée) et d'apprentissage (histoire des repas sanguins pouvant influencer le choix d'hôte) du moustique, de facteurs individuels (hétérogénéité d'attraction entre hôtes) et comportementaux (réactions de défense de l'hôte) de l'hôte, et de facteurs environnementaux (disponibilité des hôtes, conditions météorologiques) au sein desquels a lieu l'interaction. Cette complexité doit être prise en compte pour comprendre les préférences trophiques des moustiques qui conditionnent la transmission, et en particulier le passage du virus des oiseaux aux hôtes accidentels que sont l'homme et les chevaux. Par ailleurs, la compétence vectorielle des moustiques européens n'a été jusqu'alors que peu étudiée. L'évaluation de la compétence vectorielle chez plusieurs populations de différentes espèces permettrait ainsi de mieux inventorier les vecteurs principaux ou secondaires.

Compétence d'hôte des oiseaux

L'identification des espèces d'oiseaux jouant un rôle dans les cycles d'amplifications du virus *West Nile* se révèle extrêmement difficile dans la mesure où les méthodes classiques, comme les enquêtes de séroprévalence (ou de recherche virale), permettent de quantifier l'exposition des populations au virus, mais pas la

compétence de ces espèces d'oiseaux à amplifier le virus. À l'image des expériences menées chez les moustiques, il faudrait aussi développer des infections expérimentales chez les oiseaux pour évaluer la compétence d'hôtes de ces espèces. Malheureusement, ces méthodes sont lourdes, coûteuses et particulièrement difficiles à mettre en œuvre surtout avec des espèces sauvages. Un enjeu fort serait de trouver des nouveaux modes d'investigation permettant de limiter le recours à de telles méthodes expérimentales.

Facteurs environnementaux et météorologiques

La rencontre entre protagonistes est l'un des préalables d'une interaction. Les rencontres vecteurs-hôtes peuvent se faire et se font dans certains milieux, à certains moments de la journée, de l'année et dans certaines conditions climatiques. Tous ces aspects jouent un rôle important dans l'écologie et épidémiologie de la maladie. Dans cet ouvrage, nous n'avons abordé que certains aspects de cette composante (qui dépend du site d'étude) des interactions vecteurs-hôtes. On trouve déjà des travaux sur ce point mais l'enjeu serait de développer une manière de rationaliser la prise en compte des facteurs environnementaux et météorologiques — voire socio-économiques — dans les cycles de transmission du virus *West Nile*.

» D'autres pistes de recherche

La récurrence des épisodes

Savoir si la récurrence deux années consécutives des épidémies ou épizooties de fièvre *West Nile* dans une région donnée serait due soit à la résurgence du virus suite au passage de l'hiver, soit à la réintroduction du virus à partir d'une ou plusieurs zones sources, voire les deux à la fois, est très important dans le développement de stratégies de contrôle de la maladie. Cette question, à laquelle il est difficile de répondre, nécessite d'avoir une bonne connaissance de l'éco-épidémiologie du virus *West Nile* dans l'écosystème considéré. Il serait très instructif et utile de développer des recherches sur cette question.

La surveillance et les stratégies de lutte

Partant de la conviction partagée que les épidémies/épizooties sont une entité permanente de nos sociétés, il importe donc de bien connaître l'ennemi qu'on désire combattre. Dans cette perspective, cet ouvrage offre des enseignements clés pour apprendre à connaître l'écologie et l'épidémiologie du virus *West Nile*. La France a une expérience de la surveillance de ce virus car il avait été déployé pendant plusieurs années un dispositif de surveillance passive et active du virus *West Nile*. Dans les premières années, le virus a pu se jouer de ce dispositif, apparaissant dans le Var, en dehors des départements surveillés. Par la suite, si la surveillance a bien permis de repérer une circulation virale avant l'apparition des cas équins, le gestionnaire se pose toujours la question de l'apport d'une telle information par rapport au coût de

la surveillance. En effet, bien que la connaissance de la circulation du virus permette de prévenir des transmissions par transfusion en supprimant l'utilisation des poches de sang à risque, elle ne permet nécessairement pas de prévenir les cas humains et équins. Une sensibilisation du public aux méthodes de prévention des piqûres de moustiques peut limiter les cas de transmission. Ces différents aspects de politique de santé publique par rapport au virus *West Nile* ou de stratégies possibles de lutte anti-vectorielle n'ont pas été ou peu discutés dans cet ouvrage et mériteraient un développement particulier.

Au-delà des frontières de la France

Depuis 2004, une souche de virus *West Nile* de lignage 2, jusqu'à présent absente d'Europe, provoque en Hongrie des mortalités aviaires et des cas équins et semble s'être étendue en 2007 à toute la Hongrie, atteignant l'Autriche en 2008. Au cours des trois dernières années, les épidémies, sans doute pour tout ou partie liées à ce lignage 2, se sont multipliées en Italie, Hongrie, Roumanie, Grèce, Balkans, Turquie, Israël, Tunisie et Russie provoquant des centaines de cas en 2010, en 2011 et en 2012. En Europe, c'est la Grèce qui paie le plus lourd tribut. La zone géographique de ces nouvelles épidémies est en train de s'étendre, touchant des voisins directs de la France (l'Italie continentale et la Sardaigne). Ces épisodes viennent rappeler que le virus *West Nile* reste d'actualité en Europe et dans le bassin méditerranéen indiquant ainsi qu'une ré-émergence de ce virus en France est toujours possible. Cet ouvrage, principalement axé sur la France métropolitaine, mériterait d'être étendu à des contributions allant au-delà des frontières françaises vers le bassin méditerranéen voire l'Europe centrale, car les épidémies/épizooties ne connaissent pas les frontières administratives.

Dans une dynamique où nos connaissances sur l'épidémiologie du virus *West Nile* sont continuellement en évolution, nous pouvons sans trop de risque prédire et espérer que cette première ébauche d'ouvrage incitera et donnera lieu à d'autres versions augmentées qui incluront les perspectives esquissées dans cette note de conclusion.

Annexe I

Espèces d'oiseaux de Camargue potentiellement impliquées dans l'introduction, l'amplification ou la dispersion du virus *West Nile*. Cette classification a été obtenue en se basant sur les critères suivants : statut migrateur et aire de provenance, biotopes utilisés, effectifs et périodes de présence en Camargue. En gras sont indiquées les espèces les plus abondantes en Camargue du printemps à l'automne. D'après Jourdain *et al.*, 2007b.

Famille	Espèce (nom français)	Espèce (nom latin)	Anticorps détectés en Europe	Introduction depuis l'Afrique sub-saharienne	Introduction depuis l'Afrique du Nord	Introduction depuis l'Europe de l'Est en septembre ou octobre	Introduction depuis l'Europe de l'Est début août	Amplification en zone humide	Amplification en zone sèche	zones humides sèches
Podicipedidae	Grèbe castagneux	<i>Tachybaptus ruficollis</i>		+	+	+		+		
Podicipedidae	Grèbe huppé	<i>Podiceps cristatus</i>	+		+	+		+		
Podicipedidae	Grèbe à cou noir	<i>Podiceps nigricollis</i>	+		+	+	+			
Phalacrocoracidae	Grand Cormoran	<i>Phalacrocorax carbo</i>	+		+	+				
Ardeidae	Héron bihoreau	<i>Nycticorax nycticorax</i>	+	+		+	+	+		
Ardeidae	Héron garde-boeufs	<i>Bubulcus ibis</i>	+		+			+	+	+
Ardeidae	Aigrette garzette	<i>Egretta garzetta</i>	+	+	+			+		
Ardeidae	Grande Aigrette	<i>Egretta alba</i>			+	+				
Ardeidae	Héron cendré	<i>Ardea cinerea</i>	+	+		+	+	+	+	+
Ardeidae	Héron pourpré	<i>Ardea purpurea</i>	+	+		+	+	+		
Phenicopteridae	Flamant rose	<i>Phoenicopiterus ruber</i>		+	+			+		
Anatidae	Cygne tuberculé	<i>Cygnus olor</i>				+				
Anatidae	Oie cendrée	<i>Anser anser</i>	+			+				
Anatidae	Tadome de Belon	<i>Tadorna tadorna</i>			+	+		+		
Anatidae	Canard siffleur	<i>Anas penelope</i>	+	+	+	+				
Anatidae	Canard chipeau	<i>Anas strepera</i>			+	+				
Anatidae	Sarcelle d'hiver	<i>Anas crecca</i>		+	+	+	+			
Anatidae	Canard colvert	<i>Anas platyrhynchos</i>	+	+	+	+	+	+		
Anatidae	Canard pilet	<i>Anas acuta</i>		+	+	+				
Anatidae	Sarcelle d'été	<i>Anas querquedula</i>	+	+		+	+			

Famille	Espèce (nom français)	Espèce (nom latin)	Anticorps détectés en Europe	Introduction depuis l'Afrique sub-saharienne	Introduction depuis l'Afrique du Nord	Introduction de l'Europe en septembre ou octobre	Introduction depuis l'Europe de l'Est début août	Amplification en zone humide	Amplification en zone sèche	zones humides sèches
Anatidae	Canard souchet	<i>Anas clypeata</i>		+	+	+	+			
Anatidae	Nette rousse	<i>Netta rufina</i>				+	+			
Anatidae	Fuligule milouin	<i>Aythya ferina</i>			+	+				
Anatidae	Fuligule morillon	<i>Aythya fuligula</i>			+					
Accipitridae	Bondrée apivore	<i>Pernis apivorus</i>		+						
Accipitridae	Milan noir	<i>Milvus migrans</i>	+	+		+	+			
Accipitridae	Milan royal	<i>Milvus milvus</i>				+				
Accipitridae	Busard des roseaux	<i>Circus aeruginosus</i>			+	+				
Accipitridae	Busard Saint-Martin	<i>Circus cyaneus</i>			+	+				
Accipitridae	Buse variable	<i>Buteo buteo</i>	+		+	+				
Falconidae	Faucon crécerelle	<i>Falco tinnunculus</i>	+					+	+	
Falconidae	Faucon kobez	<i>Falco vespertinus</i>	+	+						
Falconidae	Faucon émerillon	<i>Falco columbarius</i>			+					
Falconidae	Faucon hobereau	<i>Falco subbuteo</i>				+	+	+		
Phasianidae	Perdrix rouge	<i>Alectoris rufa</i>							+	
Phasianidae	Faisan de Colchide	<i>Phasianus colchicus</i>							+	
Rallidae	Râle d'eau	<i>Rallus aquaticus</i>			+	+		+		
Rallidae	Poule d'eau	<i>Gallinula chloropus</i>	+		+	+		+		
Rallidae	Foulque macroule	<i>Fulica atra</i>	+		+	+		+		
Recurvirostridae	Échasse blanche	<i>Himantopus himantopus</i>	+	+	+			+		
Recurvirostridae	Avocette	<i>Recurvirostra avosetta</i>	+	+	+			+		

Famille	Espèce (nom français)	Espèce (nom latin)	Anticorps détectés en Europe	Introduction depuis l'Afrique sub-saharienne	Introduction depuis l'Afrique du Nord	Introduction depuis l'Europe de l'Est en septembre ou octobre	Introduction depuis l'Europe de l'Est début août	Amplification en zone humide	Amplification en zone sèche	zones humides sèches
Charadriidae	Petit gravelot	<i>Charadrius dubius</i>		+		+				
Charadriidae	Grand gravelot	<i>Charadrius hiaticula</i>		+	+					
Charadriidae	Gravelot à collier interrompu	<i>Charadrius alexandrinus</i>	+	+	+	+	+	+		
Charadriidae	Pluvier doré	<i>Pluvialis apricaria</i>			+					
Charadriidae	Pluvier argenté	<i>Pluvialis squatarola</i>		+	+			+		
Charadriidae	Vanneau huppé	<i>Vanellus vanellus</i>	+	+	+	+				
Scolopacidae	Barge à queue noire	<i>Limosa limosa</i>		+	+	+	+			
Scolopacidae	Bécasseau cocorli	<i>Calidris ferruginea</i>	+	+						
Scolopacidae	Bécasseau minute	<i>Calidris minuta</i>		+	+					
Scolopacidae	Bécasseau sanderling	<i>Calidris alba</i>		+	+			+		
Scolopacidae	Bécasseau variable	<i>Calidris alpina</i>		+	+			+		
Scolopacidae	Bécassine des marais	<i>Gallinago gallinago</i>	+		+	+				
Scolopacidae	Bécassine sourde	<i>Lymnocyrtus minimus</i>		+	+					
Scolopacidae	Chevalier aboyeur	<i>Tringa nebularia</i>		+	+					
Scolopacidae	Chevalier arlequin	<i>Tringa erythropus</i>		+						
Scolopacidae	Chevalier cul-blanc	<i>Tringa ochropus</i>		+	+					
Scolopacidae	Chevalier gambette	<i>Tringa totanus</i>		+	+	+	+	+		
Scolopacidae	Chevalier guignette	<i>Actitis hypoleucos</i>				+	+			
Scolopacidae	Chevalier sylvain	<i>Tringa glareola</i>		+	+					
Scolopacidae	Chevalier combattant	<i>Philomachus pugnax</i>	+	+		+	+			

Famille	Espèce (nom français)	Espèce (nom latin)	Anticorps détectés en Europe	Introduction depuis l'Afrique sub-saharienne	Introduction depuis l'Afrique du Nord	Introduction depuis l'Europe de l'Est en septembre ou octobre	Introduction depuis l'Europe de l'Est début août	Amplification en zone humide	Amplification en zone sèche	zones humides sèches
Scolopacidae	Courlis cendré	<i>Numenius arquata</i>		+	+	+				
Laridae	Goéland leucophée	<i>Larus cachinnans</i>	+		+	+	+	+	+	+
Laridae	Goéland ralleur	<i>Larus genei</i>		+	+			+		
Laridae	Mediterranean Gull	<i>Larus melanocephalus</i>		+	+	+	+	+		+
Laridae	Mouette pygmée	<i>Larus minutus</i>	+	+	+	+	+			
Laridae	Mouette rieuse	<i>Larus ridibundus</i>	+	+	+	+	+	+	+	+
Sternidae	Sterne pierregarin	<i>Sterna hirundo</i>	+	+		+	+	+		
Sternidae	Sterne naine	<i>Sterna albigifrons</i>		+		+	+	+		
Sternidae	Sterne hansel	<i>Gelochelidon nilotica</i>		+			+	+		
Sternidae	Sterne caugek	<i>Sterna sandvicensis</i>		+	+	+	+	+		
Sternidae	Guifette noire	<i>Chlidonias nigra</i>	+	+		+	+			
Sternidae	Guifette moustac	<i>Chlidonias hybridus</i>		+		+	+			
Columbidae	Tourterelle turque	<i>Streptopelia decaocto</i>	+						+	
Columbidae	Tourterelle des Bois	<i>Streptopelia turtur</i>	+	+		+	+	+	+	
Columbidae	Pigeon ramier	<i>Columba palumbus</i>						+		
Columbidae	Pigeon biset domestique	<i>Columba livia</i>	+					+		
Cuculidae	Coucou gris	<i>Cuculus canorus</i>		+		+	+	+		
Apodidae	Martinet noir	<i>Apus apus</i>		+		+	+	+	+	+
Apodidae	Martinet à ventre blanc	<i>Apus melba</i>		+				+		

Famille	Espèce (nom français)	Espèce (nom latin)	Anticorps détectés en Europe	Introduction depuis l'Afrique sub-saharienne	Introduction depuis l'Afrique du Nord	Introduction depuis l'Europe de l'Est en septembre ou octobre	Introduction depuis l'Europe de l'Est début août	Amplification en zone humide	Amplification en zone sèche	zones humides sèches
Alcedinidae	Martin-pêcheur d'Europe	<i>Alcedo atthis</i>				+				
Meropidae	Guépier d'Europe	<i>Merops apiaster</i>		+		+	+			
Upupidae	Huppe fasciée	<i>Upupa epops</i>	+	+					+	
Picidae	Pic vert	<i>Picus viridis</i>	+						+	
Picidae	Pic épeiche	<i>Dendrocopos major</i>							+	
Alaudidae	Alouette des champs	<i>Alauda arvensis</i>			+	+		+		
Hirundinidae	Hirondelle de rivage	<i>Riparia riparia</i>	+	+		+	+			
Hirundinidae	Hirondelle rustique	<i>Hirundo rustica</i>	+	+		+	+	+		+
Hirundinidae	Hirondelle de fenêtre	<i>Delichon urbica</i>	+	+		+	+	+		+
Motacillidae	Pipit spioncelle	<i>Anthus spinoletta</i>				+				
Motacillidae	Pipit rousseline	<i>Anthus campestris</i>				+	+	+		
Motacillidae	Pipit farlouse	<i>Anthus pratensis</i>	+		+	+				
Motacillidae	Pipit des arbres	<i>Anthus trivialis</i>		+		+	+			
Motacillidae	Bergeronnette printanière	<i>Motacilla flava</i>		+	+	+	+	+		+
Motacillidae	Bergeronnette grise	<i>Motacilla alba</i>	+	+	+	+				
Turdidae	Traquet motteux	<i>Oenanthe oenanthe</i>		+		+	+			
Turdidae	Traquet pâle	<i>Saxicola torquata</i>		+	+	+				
Turdidae	Rougequeue noir	<i>Phoenicurus ochruros</i>		+	+				+	
Turdidae	Rougequeue à front blanc	<i>Phoenicurus phoenicurus</i>	+	+	+	+	+			

Famille	Espèce (nom français)	Espèce (nom latin)	Anticorps détectés en Europe	Introduction depuis l'Afrique sub-saharienne	Introduction depuis l'Afrique du Nord	Introduction depuis l'Europe de l'Est en septembre ou octobre	Introduction depuis l'Europe de l'Est début août	Amplification en zone humide	Amplification en zone sèche	zones humides sèches
Turdidae	Rouge-gorge familier	<i>Eriihacus rubecula</i>	+						+	
Turdidae	Rossignol philomèle	<i>Luscinia megarhynchos</i>		+		+	+	+	+	+
Turdidae	Merle bleu	<i>Monticola solitarius</i>							+	
Turdidae	Gorge-bleue à miroir	<i>Luscinia svecica</i>		+	+	+				
Sylviidae	Rousserolle turdoïde	<i>Acrocephalus arundinaceus</i>		+		+	+	+		
Sylviidae	Rousserolle effarvate	<i>Acrocephalus scirpaceus</i>	+	+		+	+	+		
Sylviidae	Pouillot véloce	<i>Phylloscopus collybita</i>		+	+	+	+			
Sylviidae	Pouillot siffleur	<i>Phylloscopus sibilatrix</i>		+		+	+			
Sylviidae	Pouillot fitis	<i>Phylloscopus trochilus</i>		+		+	+			
Sylviidae	Pouillot de Bonelli	<i>Phylloscopus bonelli</i>		+					+	
Sylviidae	Phragmite des jones	<i>Acrocephalus schoenobaenus</i>	+			+				
Sylviidae	Lusciniole à moustaches	<i>Acrocephalus melanopogon</i>						+		
Sylviidae	Locustelle tachetée	<i>Locustella naevia</i>		+	+	+	+			
Sylviidae	Hypolais polyglotte	<i>Hippolais polyglotta</i>		+					+	+
Sylviidae	Hypolais icterine	<i>Hippolais icterina</i>		+		+	+			

Famille	Espèce (nom français)	Espèce (nom latin)	Anticorps détectés en Europe	Introduction depuis l'Afrique sub-saharienne	Introduction depuis l'Afrique du Nord	Introduction depuis l'Europe de l'Est en septembre ou octobre	Introduction depuis l'Europe de l'Est début août	Amplification en zone humide	Amplification en zone sèche	zones humides sèches
Sylviidae	Fauvette pitchou	<i>Sylvia undata</i>							+	
Sylviidae	Fauvette passernette	<i>Sylvia cantillans</i>		+					+	
Sylviidae	Fauvette orphée	<i>Sylvia hortensis</i>		+						
Sylviidae	Fauvette mélanocéphale	<i>Sylvia melanocephala</i>							+	
Sylviidae	Fauvette grisette	<i>Sylvia communis</i>		+						
Sylviidae	Fauvette des jardins	<i>Sylvia borin</i>	+	+		+	+			
Sylviidae	Fauvette à tête noire	<i>Sylvia atricapilla</i>	+	+		+	+		+	+
Sylviidae	Fauvette à lunettes	<i>Sylvia conspicillata</i>			+			+		
Sylviidae	Cisticole des junces	<i>Cisticola juncidis</i>			+			+		
Sylviidae	Bouscarle de Cetti	<i>Cettia cetti</i>			+			+		
Muscicapidae	Gobemouche noir	<i>Ficedula hypoleuca</i>		+		+	+		+	
Muscicapidae	Gobemouche gris	<i>Muscicapa striata</i>		+		+	+		+	
Timaliidae	Mésange à moustaches	<i>Parus biarmicus</i>	+		+			+		
Aegithalidae	Mésange à longue queue	<i>Aegithalos caudatus</i>							+	
Paridae	Mésange charbonnière	<i>Parus major</i>	+						+	
Paridae	Mésange bleue	<i>Parus caeruleus</i>	+						+	
Certhiidae	Grimpereau des jardins	<i>Certhia brachydactyla</i>							+	
Remizidae	Rémiz penduline	<i>Remiz pendulinus</i>	+			+				
Oriolidae	Loriot d'Europe	<i>Oriolus oriolus</i>		+					+	

Famille	Espèce (nom français)	Espèce (nom latin)	Anticorps détectés en Europe	Introduction depuis l'Afrique sub-saharienne	Introduction depuis l'Afrique du Nord	Introduction depuis l'Europe de l'Est en septembre ou octobre	Introduction depuis l'Europe de l'Est début août	Amplification en zone humide	Amplification en zone sèche	zones humides sèches
Laniidae	Pie-grièche écorcheur	<i>Lanius collurio</i>		+		+	+			
Laniidae	Pie-grièche à tête rousse	<i>Lanius senator</i>		+		+	+			
Corvidae	Pie bavarde	<i>Pica pica</i>	+					+	+	+
Corvidae	Geai des chênes	<i>Garrulus glandarius</i>	+					+	+	
Corvidae	Corneille noire	<i>Corvus corone</i>	+		+	+		+	+	+
Corvidae	Choucas des tours	<i>Corvus monedula</i>			+	+		+	+	+
Sturnidae	Étourneau sansonnnet	<i>Sturnus vulgaris</i>	+		+	+	+	+	+	+
Passeridae	Moineau friquet	<i>Passer montanus</i>	+					+	+	+
Passeridae	Moineau domestique	<i>Passer domesticus</i>	+					+	+	+
Fringillidae	Verdier	<i>Carduelis chloris</i>						+	+	
Fringillidae	Serin cini	<i>Serinus serinus</i>							+	
Fringillidae	Pinson des arbres	<i>Fringilla coelebs</i>	+					+	+	
Fringillidae	Linotte mélodieuse	<i>Carduelis cannabina</i>	+					+	+	
Fringillidae	Chardonneret élégant	<i>Carduelis carduelis</i>	+					+	+	
Emberizidae	Bruant zizi	<i>Emberiza citris</i>							+	
Emberizidae	Bruant proyer	<i>Miliaria calandra</i>							+	
Emberizidae	Bruant des roseaux	<i>Emberiza schoeniclus</i>	+		+	+		+	+	

Références bibliographiques

A

Aaskov J., Buzacott K., Thu H.M., Lowry K., Holmes E.C., 2006. Long-term transmission of defective RNA viruses in humans and *Aedes* mosquitoes. *Science*, 311 (5758), 236-238.

Abbassy M.M., Osman M., Marzouk A.S., 1993. West Nile virus (Flaviviridae:Flavivirus) in experimentally infected *Argas* ticks (Acari:Argasidae). *Am. J. Trop. Med. Hyg.*, 48 (5), 726-737.

Akhter R., Hayes C.G., Baqar S., Reisen W.K., 1982. West Nile virus in Pakistan. III. Comparative vector capability of *Culex tritaeniorhynchus* and eight other species of mosquitoes. *Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.*, 76 (4), 449-453.

Ali M., Safriel Y., Sohi Jaideep S., Llave A., Weathers S., 2005. West Nile virus infection: MR Imaging Findings in the Nervous system. *Am. J. Neuroradiol.*, 26 (2), 289-297.

Alpert S., Ferguson J., Noel L., 2003. Intrauterine West Nile virus: ocular and systemic findings. *Am. J. Ophthalmol.*, 136, 733-735.

Anderson J.F., Andreadis T.G., Vossbrinck C.R., Tirrell S., Wakem E.M., French R.A., Garmendia A.E., Van Kruiningen H.J., 1999. Isolation of West Nile virus from mosquitoes, crows, and a Cooper's hawk in Connecticut. *Science*, 286 (5448), 2331-2333.

Anderson J.F., Main A., Andreadis T., Wikel S., Vossbrinck C., 2003. Transstadial transfer of West Nile virus by three species of ixodid ticks (Acari: Ixodidae). *J. Med. Entomol.*, 40, 528-533.

Andreadis T.G., Anderson J.F., Vossbrinck C.R., Main A.J., 2004. Epidemiology of West Nile virus in Connecticut: a five-year analysis of mosquito data 1999-2003. *Vector Borne Zoonotic Dis.*, 4 (4), 360-378.

Anonyme, 1996a. Suspected viral meningitis. *Weekly epidemiological record*, 36, 276.

Anonyme, 1996b. Viral meningitis. *Weekly epidemiological record*, 39, 296.

Anonyme, 2004. InVS et CIRE Sud : Bilan de la surveillance et de l'investigation des infections humaines à virus West Nile sur l'inter région sud en 2004. Rapport d'étude InVS.

Anonyme, 2005. InVS et CIRE Sud : Bilan de la surveillance et de l'investigation des infections humaines à virus West Nile sur l'inter région sud en 2005. Rapport d'étude InVS.

Anonyme, 2006. InVS et CIRE Sud : Bilan de la surveillance et de l'investigation des infections humaines à virus West Nile sur l'inter région sud en 2006. Rapport d'étude InVS.

Anonyme, 2008. Circulaire interministérielle DGS/R11/DNP/DGAI no 2008-253 du 9 juillet 2008 relative aux mesures visant à limiter la circulation du virus West Nile en France métropolitaine. BO Santé, Solidarités n°2008/8 du 15 septembre 2008, pp. 471.

Anyamba A., Chretien J., Small J., Tucker C., Linthicum K., 2006. Developing global climate anomalies suggest potential disease risks for 2006-2007. *Int. J. Health Geographics*, doi:10.1186/1476-072X-5-60.

Apperson C.S., Harrison B.A., Unnasch T.R., Hassan H.K., Irby W.S., Savage H.M., Aspen S.E., Watson D.W., Rueda L.M., Engber B.R., Nasci R.S., 2002. Host-feeding habits of *Culex* and other mosquitoes (Diptera: Culicidae) in the Borough of Queens in New York City, with characters and techniques for identification of *Culex* mosquitoes. *J. Med. Entomol.*, 39 (5), 777-85.

Apperson C.S., Hassan H.K., Harrison B.A., Savage H.M., Aspen S.E., Farajollahi A., Crans W., Daniels T.J., Falco R.C., Benedict M., Anderson M., McMillen L., Unnasch T.R., 2004. Host feeding patterns of established and potential mosquito vectors of West Nile virus in the eastern United States. *Vector Borne Zoonotic Dis.*, 4 (1), 71-82.

Armengaud A., Cicchero V., Capek I., Del Giudice P., Mantey K., Mailles A., Deniau J., Zeller H., Tolou H., Schuffenecker I., Grandadam M., Durand J.P., Cua E., Vaillant V.,

- Gloaguen C., Paty M.C., Franke F., Gourvellec G., Languille J., Zientara S., Hars J., Schaffner F., Lagneau C., L'Ambert G., Gallian P., De Micco P., Malfait P., 2007. Surveillance du virus West Nile en France dans les départements du pourtour méditerranéen, 2003-2006. *Bulletin Epidemiologique Hebdomadaire*, 29-30, 264-267.
- Arnez M., Avsic-Zupanc T., 2009. Tick-borne encephalitis in children: an update on epidemiology and diagnosis. *Expert. Rev. Anti Infect. Ther.*, 7 (10), 1251-1260.
- Artois M., Fromont E., Hars J., 2003. La faune sauvage, indicateur possible du risque de maladie émergente ? *Epidémiologie et Santé Animale*, 44, 21-31.
- Ashford R.W., 1997. What it takes to be a reservoir host. *Belgian Journal of Zoology*, 127, 85-90.
- Asnis D., Conetta R., Waldman G., Teiweira A., McNamara T., Fine A., Layton M., Miller J.R., Cimini D., Camilo Vargas M., Inglesby A., Labowitz A., Bornschlegel K., Maldin B., Samoff E., Haddow D., 1999. Outbreak of West Nile-Like Viral Encephalitis - New York, 1999. *MMWR Morbidity and mortality weekly report*, 48 (38), 845-849.
- Austgen L.E., Bowen R.A., Bunning M.L., Davis B.S., Mitchell C.J., Chang G.J., 2004. Experimental infection of cats and dogs with West Nile virus. *Emerg. Infect. Dis.*, 10 (1), 82-86.
- Austin R.J., Whiting T.L., Anderson R.A., Drobot M.A., 2004. An outbreak of West Nile virus-associated disease in domestic geese (*Anser anser domesticus*) upon initial introduction to a geographic region, with evidence of bird to bird transmission. *Can. Vet. J.*, 45 (2), 117-123.
- Autorino G.L., Battisti A., Deubel V., Ferrari G., Forletta R., Giovannini A., Lelli R., Murri S., Scicluna M.T., 2002. West Nile virus epidemic in horses, Tuscany region, Italy. *Emerg. Infect. Dis.*, 8 (12), 1372-1378.
- B**
- Bagnarelli P., Marinelli K., Trotta D., Monacchetti A., Tavio M., Del Gobbo R., Capobianchi M., Menzo S., Nicoletti L., Magurano F., Valardo P., 2011. Human case of autochthonous West Nile virus lineage 2 infection in Italy, September 2011. *Euro Surveill.*, 16 (43).
- Bailey D., Billeter R., Aviron S., Schweiger O., Herzog F., 2007. The influence of thematic resolution on metric selection for biodiversity monitoring in agricultural landscapes. *Landsc. Ecol.*, 22 (3), 461-473.
- Bakonyi T., Gould E.A., Kolodziejek J., Weissenböck H., Nowotny N., 2004. Complete genome analysis and molecular characterization of Usutu virus that emerged in Austria in 2001: comparison with the South African strain SAAR-1776 and other flaviviruses. *Virology*, 328 (2), 301-310.
- Bakonyi T., Hubálek Z., Rudolf I., Nowotny N., 2005. Novel flavivirus or new lineage of West Nile virus, central Europe. *Emerg. Infect. Dis.*, 11 (2), 225-231.
- Bakonyi T., Ivanics E., Erdélyi K., Ursu K., Ferenczi E., Weissenböck H., Nowotny N., 2006. Lineage 1 and 2 strains of encephalitic West Nile virus, central Europe. *Emerg. Infect. Dis.*, 12 (4), 618-623.
- Balança G., Hars J., 2004. Bird reservoirs and indicators of the West Nile Fever in France. In: *Wildlife: a natural resource, Proceedings of the 6th International Wildlife Ranching Symposium*, 6-9 July 2004, Paris, France. Tome 2. *Game Wildl. Sci.*, 21 (4), pp. 539-551.
- Balança G., Gaidet N., Savini G., Vollot B., Foucart A., Reiter P., Boutonnier A., Lelli R., Monica F., 2009. Low West Nile virus circulation in wild birds in an area of recurring outbreaks in southern France. *Vector Borne Zoonotic Dis.*, DOI: 10.1089=vbz.2008.0147.
- Balenghien T., 2006. De l'identification des vecteurs du virus West Nile à la modélisation du risque d'infection dans le sud de la France, Thèse de Doctorat, Ingénierie pour la Santé, la Cognition et l'Environnement, Université J. Fourier, Grenoble, 223 p.
- Balenghien T., Fouque F., Sabatier P., Bicout D.J., 2006. Horse, bird and human-seeking behavior and seasonal abundance of mosquitoes in a West Nile virus focus of southern France. *J. Med. Entomol.*, 43 (5), 936-946.
- Balenghien T., Fouque F., Sabatier P., Bicout D.J., 2007a. Quels sont les vecteurs du virus de West Nile dans le Sud de la France ? *Environnement, Risque et Santé*, 6 (6), 453-460.
- Balenghien T., Vazeille M., Reiter P., Schaffner F., Zeller H., Bicout D.J., 2007b. Evidence of the Laboratory Vector Competence of *Culex modestus* Ficalbi for West Nile Virus. *J. Am. Mosq. Control Assoc.*, 23 (2), 233-236.
- Balenghien T., Vazeille M., Grandadam M., Schaffner F., Zeller H., Reiter P., Sabatier P., Fouque F., Bicout D.J., 2008. Vector competence of some French *Culex* and *Aedes* mosquitoes for West Nile virus. *Vector Borne Zoonotic Dis.*, 8 (5), 589-595.

- Balenghien T., Fouque F., Sabatier P., Bicout D.J., 2011.** Theoretical formulation for mosquito host-feeding patterns: application to a West Nile virus focus of southern France. *J. Med. Entomol.*, 48 (5), 1076-1090.
- Banet-Noach C., Simanov L., Malkinson M., 2003.** Direct (non-vector) transmission of West Nile virus in geese. *Avian Pathol.*, 32 (5), 489-494.
- Baqar S., Hayes C.G., Murphy J.R., Watts D.M., 1993.** Vertical transmission of West Nile virus by *Culex* and *Aedes* species mosquitoes. *Am. J. Trop. Med. Hyg.*, 48 (6), 757-62.
- Barnard B., Voges S., 1986.** Flaviviruses in South Africa: pathogenicity for sheep. *Onderstepoort J. Vet. Res.*, 53, 235-238.
- Barr A.R., 1981.** The *Culex pipiens* Complex, In: *Cytogenetics and Genetics of Vectors*, Tokyo, Pal R., Kitzmiller J.B., Kanda T., pp. 123-136, Elsevier Biomedical Press.
- Barzon L., Squarzon L., Cattai M., Franchin E., Pagni S., Cusinato R., Palu G., 2009a.** West Nile virus infection in Veneto region, Italy, 2008-2009. *Euro Surveill.*, 14 (31), pii: 19289.a
- Barzon L., Franchin E., Squarzon L., Lavezzo E., Toppo S., Martello T., Bressan S., Pagni S., Cattai M., Piazza A., Pacenti M., Cusinato R., Palu G., 2009b.** Genome sequence analysis of the first human West Nile virus isolated in Italy in 2009. *Euro Surveill.*, 14 (44), pii: 19384.
- Bashkirtsev V.N., Chumakov M.P., Berezin V.V., Butenko A.M., Zavadova T.I., Stolbov D.N., 1969.** Isolation of new strains of West Nile virus in Astrakhan region, In: *V Symposium of the study of role of migrating birds in distribution of arboviruses*, Novosibirsk, URSS, pp. 182.
- Beasley D., 2004.** Genome sequence and attenuating mutations in West Nile virus isolate from Mexico. *Emerg. Infect. Dis.*, 10, 221-2224.
- Beasley D., Barrett A., 2002.** Identification of neutralizing epitopes within structural domain III of the West Nile virus envelope protein. *J. Virol.*, 76, 13097-13100.
- Beasley D.W.C., Li L., Suderman M.T., Barrett A.D.T., 2002.** Mouse neuroinvasive phenotype of West Nile virus strains varies depending upon virus genotype. *Virology*, 296 (1), 17-23.
- Beasley D.W., Whiteman M.C., Zhang S., Huang C.Y., Schneider B.S., Smith D.R., Gromowski G.D., Higgs S., Kinney R.M., Barrett A.D., 2005.** Envelope protein glycosylation status influences mouse neuroinvasion phenotype of genetic lineage 1 West Nile virus strains. *J. Virol.*, 79 (13), 8339-8347.
- Berezin V.V., 1971.** Investigation of the ecology of arboviruses in river deltas of the Caspian and Azov Sea basins, translation from Russian by NAMRU3 - T1160, Unpublished Thesis, Inst Polio Virus Entsef Akad Nauk, Moska, SSRR, 37 p.
- Bernard K., Kramer L., 2001.** West Nile virus activity in the United States, 2001. *Viral Immunol.*, 14, 319-338.
- Bernard K.A., Maffei J.G., Jones S.A., Kauffman E.B., Ebel G., Dupuis A.P., 2nd, Ngo K.A., Nicholas D.C., Young D.M., Shi P.Y., Kulasekera V.L., Eidson M., White D.J., Stone W.B., Kramer L.D., 2001.** West Nile virus infection in birds and mosquitoes, New York State, 2000. *Emerg. Infect. Dis.*, 7 (4), 679-85.
- Bernkopf H., Levine S., Nerson R., 1953.** Isolation of West Nile virus in Israel. *J. Infect. Dis.*, 93 (3), 207-218.
- Bessaud M., Pastorino B.A., Peyrefitte C.N., Rolland D., Grandadam M., Tolou H.J., 2006.** Functional characterization of the NS2B/NS3 protease complex from seven viruses belonging to different groups inside the genus Flavivirus. *Virus Res.*, 120 (1-2):79-90.
- Bicout D.J., 2006.** Modélisation des maladies vectorielles, Mémoire pour l'habilitation à diriger les recherches, Université J. Fourier, Grenoble, 97 p.
- Bicout D., Leblond A., Heng M.A., Durand B., Zientara S., Durand J.P., Sabatier P., 2003.** Analysis of seroprevalence among horses in an endemic area of west nile disease, Camargue, France. In: *Proceedings of the 10th International Society of Veterinary Epidemiology and Economics Meeting*, Vina del Mar, Chile, 2003. Paper #123, CD-ROM.
- Bigot L., 1966.** Le comportement alimentaire et les biotopes d'alimentation de la Pie (*Pica pica*) en Camargue. *Revue d'écologie. La terre et la vie*, 22, 295-315.
- Bird B.H., Ksiazek T.G., Nichol S.T., Maclachlan N.J., 2009.** Rift Valley fever virus. *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, 234 (7), 883-893.
- Blitvich B.J., Marlenee N.L., Hall R.A., Calisher C.H., Bowen R., Roehrig J.T., Komar N., Langevin S.A., Beaty B.J., 2003.** Epitope-blocking enzyme linked immunosorbent assays for the detection of serum antibodies to West Nile virus in multiple avian species. *J. Clin. Microbiol.*, 41, 1041-1047.
- Blondel J., Isenmann P., 1981.** *Guide des oiseaux de Camargue*, Delachaux & Niestlé, Neuchâtel-Paris, 344 p.

- Bode A., Sejvar J., Pape W., Grant L., Marfin A., 2006.** West Nile virus disease: a descriptive study of 228 patients hospitalized in a 4-county region of Colorado in 2003. *Clin. Infect. Dis.*, 42, 1234-1240.
- Bofill D., Domingo C., Cardenosa N., Zaragoza J., de Ory F., Minguell S., Sanchez-Seco M.P., Dominguez A., Tenorio A., 2006.** Human West Nile Virus Infection, Catalonia, Spain. *Emerg. Infect. Dis.*, 12 (7), 1163-1164.
- Bondre V.P., Jadhav R.S., Mishra A.C., Yergolkar P.N., Arankalle V.A., 2007.** West Nile virus isolates from India: evidence for a distinct genetic lineage. *J. Gen. Virol.*, 88, 875-884.
- Bonn F., Rochon G., 1992.** *Précis de télé-détection. Principes et méthodes.* Québec, Presses de l'Université du Québec.
- Botha E.M., Markotter W., Wolfaardt M., Paweska J.T., Swanepoel R., Palacios G., Nel L.H., Venter M., 2008.** Genetic determinants of virulence in pathogenic lineage 2 West Nile virus strains. *Emerg. Infect. Dis.*, 14 (2), 222-230.
- Bourguet D., Fonseca D.M., Vourch G., Dubois M.P., Chandre F., Severini C., Raymond M., 1998.** The acetylcholinesterase gene *ACE*: a diagnostic marker for the *pipiens* and *quinquefasciatus* forms of the *Culex pipiens* complex. *J. Am. Mosq. Control Assoc.*, 14 (4), 390-396.
- Bourne N., Scholle F., Silva M., Rossi S., Dewsbury N., Judy B., DeAguiar J., Leon M., Estes D., Fayzulin R., Mason P., 2007.** Early production of type I interferon during West Nile virus infection: role for lymphoid tissues in IRF3-independent interferon production. *J. Virol.*, 81, 9100-9108.
- Braut A.C., Langevin S.A., Bowen R.A., Panella N.A., Biggerstaff B.J., Miller B.R., Nicholas K., 2004.** Differential virulence of West Nile strains for American crows. *Emerg. Infect. Dis.*, 10 (12), 2161-2168.
- Braut A.C., Huang C.Y., Langevin S.A., Kinney R.M., Bowen R.A., Ramey W.N., Panella N.A., Holmes E.C., Powers A.M., Miller B.R., 2007.** A single positively selected West Nile viral mutation confers increased virogenesis in American crows. *Nat. Genet.*, 39 (9), 1162-1166.
- Briegleb H., 2003.** Physiological bases of mosquito ecology. *Journal of vector ecology: journal of the Society for Vector Ecology*, 28 (1), 1-11.
- Briese T., Jia X.Y., Huang C., Grady L.J., Lipkin W.I., 1999.** Identification of a Kunjin/West Nile-like flavivirus in brains of patients with New York encephalitis. *Lancet*, 354 (9186), 1261-1262.
- Brinton M.A., 1981.** Isolation of a replication-efficient mutant of West Nile virus from a persistently infected genetically resistant mouse cell culture. *J. Virol.*, 39 (2), 413-421.
- Brinton M.A., 1983.** Analysis of extracellular West Nile virus particles produced by cell cultures from genetically resistant and susceptible mice indicates enhanced amplification of defective interfering particles by resistant cultures. *J. Virol.*, 46 (3), 860-870.
- Brinton M.A., Arnharter H., Haller O., 1982.** Interferon independence of genetically controlled resistance to flaviviruses. *Infect. Immun.*, 36 (1), 284-288.
- Brown J., Factor D., Tkachenko N., Templeton S., Crall N., Pape W., Bauer M., Ambruso D., Dickey W., Marfin A., 2007.** West Nile viremic blood donors and risk factors for subsequent West Nile fever. *Vector Borne Zoonotic Dis.*, 7, doi:10.1089/vbz.2006.0611.
- Brown H., Duik-Wasser M., et al., 2008.** Remotely-sensed vegetation indices identify mosquito clusters of West Nile virus vectors in an urban landscape in the northeastern United States. *Vector Borne Zoonotic Dis.*, 8 (2), 197-206.
- Brownstein J.S., Skelly D.K., Holford T.R., Fish D., 2005.** Forest fragmentation predicts local scale heterogeneity of Lyme disease risk. *Oecologia*, 146 (3), 469-75.
- Buckley A., Dawson A., Gould E.A., 2006.** Detection of seroconversion to West Nile virus, Usutu virus and Sindbis virus in UK sentinel chickens. *Virology journal*, 4 (3), 71.
- Buckley A., Dawson A., Moss S.R., Hinsley S.A., Bellamy P.E., Gould E.A., 2003.** Serological evidence of West Nile virus, Usutu virus and Sindbis virus infection of birds in the UK. *J. Gen. Virol.*, 84, 2807-2817.
- Bugbee L.M., Forte L.R., 2004.** The discovery of West Nile virus in overwintering *Culex pipiens* (Diptera: Culicidae) mosquitoes in Lehigh County, Pennsylvania. *J. Am. Mosq. Control Assoc.*, 20 (3), 326-7.
- Bunning M.L., Bowen R.A., Cropp C.B., Sullivan K.G., Davis B.S., Komar N., Godsey M.S., Baker D., Hettler D.L., Holmes D.A., Biggerstaff B.J., Mitchell C.J., 2002.** Experimental infection of horses with West Nile virus. *Emerg. Infect. Dis.*, 8 (4), 380-386.
- Busch M.P., Kleinman S.H., Tobler L.H., Kamel H.T., Norris P.J., Walsh I., Matud J.L., Prince H.E., Lanciotti R.S., Wright D.J., Linnen J.M., Caglioti S., 2008.** Virus and antibody dynamics in acute west nile virus infection. *J. Infect. Dis.*, 198 (7), 984-993.

C

- Cabre O., Grandadam M., Marié J.L., Gravier P., Prangé A., Santinelli Y., Rous V., Bourry O., Durand J.P., Tolou H., Davoust B., 2006.** West Nile Virus in horses, sub-Saharan Africa. *Emerg. Infect. Dis.*, 12 (12), 1958-1960.
- Calisher C.H., Karabatsos N., Dalrymple J.M., Shope R.E., Porterfield J.S., Westaway E.G., Brandt W.E., 1989.** Antigenic relationships between flaviviruses as determined by cross-neutralization tests with polyclonal antisera. *J. Gen. Virol.*, 70, 37-43.
- Calistri P., Giovannini A., Savini G., Monaco F., Bonfanti L., Ceolin C., Terregino C., Tamba M., Cordioli P., Lelli R., 2010.** West Nile Virus Transmission in 2008 in North-Eastern Italy. *Zoonoses Public Health*, 57(3), 211-219.
- Callot J., Ty D.V., 1942.** Localités françaises nouvelles pour *Culex* (*Culex*) *theileri*, *Culex* (*Barraudius*) *modestus* et *Culex* (*Neoculex*) *impudicus*. *Annales de parasitologie humaine et comparée*, 19, 142-150.
- Callot J., Ty D.V., 1944-1945.** Contribution à l'étude des moustiques français culicides de Richelieu (Indre-et-Loire). *Annales de parasitologie humaine et comparée*, 20, 43-66.
- Campbell G.L., Marfin A.A., Lanciotti R.S., Gubler D.J., 2002.** West Nile virus. *Lancet Infect. Dis.*, 2 (9), 519-29.
- Cantile C., Del Piero F., Di Guardo G., Arispici M., 2001.** Pathologic and immunohistochemical findings in naturally occurring West Nile virus infection in horses. *Vet. Pathol.*, 38, 414-421.
- Capek I., 2005.** La surveillance des infections à virus West Nile en France, 2001-2003. Surveillance nationale des maladies infectieuses, 2001-2003. Saint Maurice : Institut de Veille Sanitaire.
- Casals J., 1961.** Procedures for identification of arthropod-borne viruses. *WHO Bull.*, 24 (6), 723-734.
- Cavrini F., Gaibani P., Longo G., Pierro A.M., Rossini G., Bonilauri P., Gerundi G.E., Di Benedetto F., Pasetto A., Girardis M., Dottori M., Landini M.P., Sambri V., 2009.** Usutu virus infection in a patient who underwent orthotopic liver transplantation, Italy, August-September 2009. *Euro Surveill.*, 14 (50), pii: 19448.
- CDC, 2002a.** Centers for Disease Control and Prevention. Laboratory-acquired West Nile virus infections - United States, 2002. *Morb. Mortal Wkly Rep.*, 51, 1133-1135.
- CDC, 2002b.** Centers for Disease Control and Prevention. Possible West Nile virus transmission to an infant through breast-feeding: Michigan, 2002. *Morb. Mortal Wkly Rep.*, 51, 879-880.
- CDC, 2002c.** Centers for Disease Control and Prevention. Investigations of West Nile virus infections in recipients of blood transfusions. *Morb. Mortal Wkly Rep.*, 51, 973-974.
- CDC, 2003.** Centers for Disease Control and Prevention. West Nile virus infection among turkey breeder farm workers - Wisconsin, 2002. *Morb. Mortal Wkly Rep.*, 52, 1017-1019.
- CDC, 2004a.** Centers for Disease Control and Prevention. Interim guidelines for the evaluation of infants born to mothers infected with West Nile virus during pregnancy. *Morb. Mortal Wkly Rep.*, 53, 154-157.
- CDC, 2004b.** Centers for Disease Control and Prevention. Possible dialysis-related West Nile virus transmission - Georgia, 2003. *Morb. Mortal Wkly Rep.*, 53, 738-739.
- CDC, 2004c.** Centers for Disease Control and Prevention. Update: West Nile virus screening of blood donations and transfusion-associated transmission, 2003. *Morb. Mortal Wkly Rep.*, 53, 281-284.
- Cernescu C., Ruta S. M., Tardei G., Grancea C., Moldovan L., Spulbar E., Tsai T.F., 1997.** A high number of severe neurologic clinical forms during an epidemic of West Nile virus infection. *Romanian Journal of Virology*, 48, 13-25.
- Cernescu C., Nedelcu N.I., Tardei G., Ruta S., Tsai T.F., 2000.** Continued transmission of West Nile virus to humans in southeastern Romania, 1997-1998. *J. Infect. Dis.*, 181 (2), 710-712.
- Chang J., Wang L., Ma D., Qu X., Guo H., Xu X., Mason P.M., Bourne N., Moriarty R., Gu B., Guo J.T., Block T.M., 2009.** Novel imino sugar derivatives demonstrate potent antiviral activity against flaviviruses. *Antimicrob. Agents Chemother.*, 53 (4):1501-1508.
- Charrel R.N., de Lamballerie X., Durand J.P., Gallian P., Attoui H., Biagini P., De Micco P., 2001.** Prevalence of antibody against West Nile virus in volunteer blood donors living in southeastern France. *Transfusion*, 41 (10), 1320-1321.
- Charrel R.N., Brault A.C., Gallian P., Lemasson J.J., Murgue B., Murri S., Pastorino B., Zeller H., de Chesse R., de Micco P., de Lamballerie X., 2003.** Evolutionary relationship between Old World West Nile virus strains. Evidence for viral gene flow between Africa, the Middle East, and Europe. *Virology*, 315 (2), 381-388.

- Charrel R.N., Moureau G., Temmam S., Izri A., Marty P., Parola P., da Rosa A.T., Tesh R.B., de Lamballerie X., 2009. Massilia virus, a novel Phlebovirus (Bunyaviridae) isolated from sandflies in the Mediterranean. *Vector Borne Zoonotic Dis.*, 9 (5), 519-530.
- Chastel C., Launay H., Le Lay G., Bailly-Choumara H., Hellal H., Valle M., Bach-Hamba D., Beaucournu J.C., 1986. Petits mammifères sauvages et arbovirus dans la région du bassin méditerranéen occidental. *Cahiers - ORSTOM. Entomologie médicale*, 24 (1), 69-76.
- Chavernac D., Hars J., Mortamais M., Zeller H., Hendriks P., Baldet T., 2006. Web's potential in Arbovirus Surveillance : West Nile on the French Mediterranean Coast. In : *International Symposium on Veterinary Epidemiology and Economics*, Cairns, Australia.
- Chevalier V., 2001. Epizootie de West-Nile en Camargue : analyse des résultats de l'enquête sérologique et étude spatiale dans une zone pilote, Mémoire de DEA "Environnement, Santé, Société", Université de Franche-Comté, 43 p.
- Chevalier V., Durand B., Gerbier G., Babinot M., Michel J.F., Toure I., 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.
- Chevillon C., Rivet Y., Raymond M., Rousset F., Smouse P.E., Pasteur N., 1998. Migration/selection balance and ecotypic differentiation in the mosquito *Culex pipiens*. *Molecular ecology*, 7 (2), 197-208.
- Ciota A.T., Ngo K.A., Lovelace A.O., Payne A.F., Zhou Y., Shi P.Y., Kramer L.D., 2007. Role of the mutant spectrum in adaptation and replication of West Nile virus. *J. Gen. Virol.*, 88:865-874.
- Clayton D.H., Moore J., 1997. *Host-parasite evolution: general principles and avian models*, Oxford University Press, Oxford, 473 p.
- Clements A.N., 1992. *The biology of mosquitoes. Volume 1. Development, nutrition and reproduction*, Volume 1, Chapman & Hall, London, 509 p.
- Clements A.N., 1999. *The biology of mosquitoes. Volume 2. Sensory reception and behaviour*, Volume 2, Chapman & Hall, London, 740 p.
- Combes C., 2001. *L'art d'être parasite*, Flammarion, Paris, 362 p.
- Comstedt P., Bergström S., Olsen B., Garpmo U., Marjavaara L., Mejlon H., Barbour A.G., Bunikis J., 2006. Migratory passerine birds as reservoirs of Lyme borreliosis in Europe. *Emerg. Infect. Dis.*, 12 (7), 1087-1095.
- Cornel A., Jupp P.G., Blackburn N., 1993. Environmental temperature on the vector competence of *Culex univittatus* (Diptera: culicidae) for West Nile virus. *J. Med. Entomol.*, 30, 449-456.
- Corre J.J., 1975. *Etude phyto-écologique des milieux littoraux salés en Languedoc et en Camargue*, Doctorat de science, Université des Sciences et Techniques du Languedoc, Montpellier, 179 p.
- Cruz L., Cardenas V.M., Abarca M., Rodriguez T., Reyna R.F., Serpas M.V., Fontaine R.E., Beasley D.W., Da Rosa A.P., Weaver S.C., Tesh R.B., Powers A.M., Suarez-Rangel G., 2005. Serological evidence of West Nile virus activity in El Salvador. *Am. J. Trop. Med. Hyg.*, 72 (5), 612-615.
- Cunha B., 2004a. Differential diagnosis of West Nile encephalitis. *Curr. Opin. Infect. Dis.*, 17, 413-420.
- Cunha B.A., 2004b. Alexander the Great and West Nile Virus Encephalitis (Reply). *Emerg. Infect. Dis.*, 10 (7), 1328-1329.

D

- Daffis S., Samuel M., Keller B., Gale M., Diamond M., 2007. Cell-specific IRF-3 responses protect against West Nile virus infection by interferon-dependant and -independent mechanisms. *PloS Pathog.*, 3, e106.
- Daum P., 2009. *Immigrés de force. Les travailleurs indochinois en France (1939-1952)* Archives du colonialisme, Actes Sud, Arles, 288 p.
- Dauphin G., Zientara S., 2007. West Nile virus: recent trends in diagnosis and vaccine development. *Vaccine*, 25 (30), 5563-5576.
- Dauphin G., Zientara S., Zeller H., Murgue B., 2004. West Nile: worldwide current situation in animals and humans. *Comp. Immunol. Microbiol. Infect. Dis.*, 27 (5), 343-355.
- Davies A.M., Yoshpe-Purer Y., 1954. Observation on the biology of West Nile virus, with special reference to its behaviour in the mosquito *Aedes aegypti*. *Ann. Trop. Med. Parasitol.*, 48 (1), 46-54.
- Davis C.T., Ebel G.D., Lanciotti R.S., Brault A.C., Guzman H., Siirin M., Lambert A., Parsons R.E., Beasley D.W., Novak R.J., Elizondo-Quiroga D., Green E.N., Young D.S., Stark L.M., Drebot M.A., Artsob H., Tesh R.B., Kramer L.D., Barrett A.D., 2005. Phylogene-

tic analysis of North American West Nile virus isolates, 2001-2004: evidence for the emergence of a dominant genotype. *Virology*, 342 (2), 252-265.

Davis L., Beckham J., Tyler K., 2008. North American encephalitic arboviruses. *Neurologic Clinics*, 26 (3), 727-757.

Del Giudice P., Schuffenecker I., Vandenbos F., Counillon E., Zeller H., 2004. Human West Nile virus, France. *Emerg. Infect. Dis.*, 10 (10), 1885-1886.

Deubel V., Fiette L., Gounon P., Drouet M., Khun H., Huerre M., Banet C., Malkinson M., Despres P., 2001. Variations in biological features of West Nile viruses. *Ann. NY Acad. Sci.*, 951, 195-206.

Diamond M., Klein R., 2006. A genetic basis for human susceptibility to West Nile virus. *Trends Microbiol.*, 14, 287-289.

Diamond M.S., Shrestha B., Mehlhop E., Sitati E., Engle M., 2003. Innate and adaptive immune responses determine protection against disseminated infection by West Nile encephalitis virus. *Viral Immunology*, 16 (3), 259-278.

Diamond M.S., 2009. Progress on the development of therapeutics against West Nile virus. *Antiviral Res.*, 83 (3), 214-227.

DiMenna M., Bueno R., Parmenrter R., Norris D., Sheyka J., Molina J., LaBeau E., Hatton E., Roberts C., Glass G., 2007. Urban habitat evaluation for West Nile virus surveillance in mosquitoes in Albuquerque, New Mexico. *J. Am. Mosq. Control Assoc.*, 23, 153-160.

Diuk-Wasser M.A., Brown H.E., Andreadis T.G., Fish D., 2006. Modeling the spatial distribution of mosquito vectors for West Nile virus in Connecticut, USA. *Vector Borne Zoon. Dis.*, 6, 283-295.

Dobson A., 2004. Population dynamics of pathogens with multiple host species. *Am. Nat.*, 164, S64-S78.

Dobson A., Foutopoulos J., 2001. Emerging infectious pathogens of wildlife. *Philosophical transactions of the Royal Society of London, Series B*, 356 (1411), 1001-1012.

Dobson A., Cattadori I., Holt R.D., Ostfeld R.S., Keesing F., Krichbaum K., Rohr J.R., Perkins S.E., Hudson P.J., 2006. Sacred cows and sympathetic squirrels: the importance of biological diversity to human health. *PLoS Med.*, 3 (6), e231.

Docherty D.E., Long R.R., Griffin K.M., Saito E.K., 2004. Corvidae feather pulp and West

Nile virus detection. *Emerg. Infect. Dis.*, 10 (5), 907-909.

Doctrinal D., 2004. Modélisation de la dynamique de West-Nile dans une population d'oiseaux sentinelles en Camargue : Exemple du Héron Garde-Boeuf, Université J. Fourier, Grenoble, 52 p.

Doctrinal D., Bicout D.J., Gauthier-Clerc M., Artois M., Sandoz A., Sabatier P., 2005. Rôle des oiseaux dans l'écologie de la fièvre du Nil occidental : exemple du Héron gardeboeuf en Camargue. *Environnement, risques & santé*, 4 (2), 101-108.

Dohm D.J., Sardelis M.R., Turell M.J., 2002. Experimental vertical transmission of West Nile virus by *Culex pipiens* (Diptera: Culicidae). *J. Med. Entomol.*, 39 (4), 640-4.

Doron S., Dashe J., Adelman L., Brown W., Werner B., Hadley S., 2003. Histopathologically proven poliomyelitis with quadriplegia and loss of brainstem function due to West Nile virus infection. *Clin. Infect. Dis.*, 37, e74-77.

Dupuis A.P. 2nd, Marra P.P., Kramer L.D., 2003. Serologic evidence of West Nile virus transmission, Jamaica, West Indies. *Emerg. Infect. Dis.*, 9 (7), 860-863.

Durand B., Chevalier V., Pouillot R., Labie J., Marendat I., Murgue B., Zeller H.G., Zientara S., 2002. West Nile outbreak in horses in southern France: results of a serosurvey. *Emerg. Infect. Dis.*, 8 (8), 777-782.

Durand B., Dauphin G., Labie J., Zeller H.G., Zientara S., 2005a. Résultats d'une enquête sérologique sur l'infection à virus West Nile chez les équidés dans le Var en 2003. *Environnement, Risques et Santé*, 4 (2), 114-118.

Durand B., Dauphin G., Zeller H., Labie J., Schuffenecker I., Murri S., Moutou F., Zientara S., 2005b. Serosurvey for West Nile virus in horses in southern France. *Vet. Rec.*, 157, 711-713.

Durand B., Balança G., Baldet T., Chevalier V., 2010. A metapopulation model to simulate West Nile virus circulation in Western Africa, Southern Europe and the Mediterranean basin. *Vet. Res.*, 41 (3), 32.

E

Ebel G.D., Carricaburu J., Young D., Bernard K.A., Kramer L.D., 2004. Genetic and phenotypic variation of West Nile virus in New York, 2000-2003. *Am. J. Trop. Med. Hyg.*, 71 (4), 493-500.

- Edman J.D., Kale H.W. 2nd, 1970.** Host behavior: its influence on the feeding success of mosquitoes. *Annals of the Entomological Society of America*, 64 (2), 513-516.
- Edman J.D., Taylor D.J., 1968.** *Culex nigripalpus*: seasonal shift in the bird-mammal feeding ratio in a mosquito vector of human encephalitis. *Science*, 161 (836), 67-68.
- Edman J.D., Webber L.A., Kale H.W. 2nd, 1972.** Effect of mosquito density on the inter-relationship of host behavior and mosquito feeding success. *Am. J. Trop. Med. Hyg.*, 21 (4), 487-491.
- EID-Méditerranée, 2003.** *Des Culex en milieu naturel*, Montpellier, 6 p.
- Eidson M., Komar N., Sorhage F., Nelson R., Talbot T., Mostashari F., McLean R., 2001.** Crow deaths as a sentinel surveillance system for West Nile virus in the northeastern United States, 1999. *Emerg. Infect. Dis.*, 7 (4), 615-620.
- Eidson M., Schmit K., Hagiwara Y., Anand M., Backenson P.B., Gotham I., Kramer L.D., 2005.** Dead Crow Density and West Nile Virus Monitoring, New York. *Emerg. Infect. Dis.*, 11 (9), 1370-1375.
- ElAdlouni S., Beaulieu C., Ouarda T., Gosselin P., Saint-Hilaire A., 2007.** Effects of climate on West Nile Virus transmission risk used for public health decision-making in Quebec. *Int. J. Health Geographics*, 6, doi:10.1186/1476-072X-6-40.
- Eldridge B.F., 1987.** Diapause and Related Phenomena in *Culex* Mosquitoes: Their Relation to Arbovirus Disease Ecology. In: *Current Topics in Vector Research* (Harris K.F. ed.), 4, Springer-Verlag, New York, pp. 1-28.
- Eldridge B.F., 2000.** The epidemiology of arthropodborne diseases. In: *Medical entomology. A text book on public health and veterinary problems caused by arthropods* (Eldridge B.F., Edman J.D. eds.), Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, pp. 165-185.
- Emord D.E., Morris C.D., 1984.** Epizootiology of eastern equine encephalomyelitis virus in upstate New York, USA. VI. Antibody prevalence in wild birds during an interepizootic period. *J. Med. Entomol.*, 21 (4), 395-404.
- Epstein P.R., 2001.** West Nile virus and the climate. *J. Urban Health*, 78 (2), 367-71.
- Esteves A., Almeida A.P.G., Galão R.P., Parreira R., Piedade J., Rodrigues J.C., Sousa C.A., Novo M.T., 2005.** West Nile Virus in Southern Portugal, 2004. *Vector Borne Zoonotic Dis.*, 5 (4), 410-413.
- Estrada-Franco J.G., Navarro-Lopez R., Beasley D.W., Coffey L., Carrara A.S., Travassos da Rosa A., Clements T., Wang E., Ludwig G.V., Cortes A.C., Ramírez P.P., Tesh R.B., Barrett A.D., Weaver S.C., 2003.** West Nile virus in Mexico: evidence of widespread circulation since July 2002. *Emerg. Infect. Dis.*, 9 (12), 1604-1607.
- Erdelyi K., Ursu K., Ferenczi E., Szeredi L., Ratz F., Skare J., Bakonyi T., 2007.** Clinical and pathologic features of lineage 2 West Nile virus infections in birds of prey in Hungary. *Vector Borne Zoonotic Dis.*, 7 (2), 181-188.
- Ezenwa V.O., Godsey M.S., King R., Guptill S.C., 2006.** Avian diversity and West Nile virus: testing associations between biodiversity and infectious disease risk. *Proc. R. Soc. B: Biol. Sci.*, 273 (1582), 109-117.
- Ezenwa V.O., Milheim L.E., Coffey M.F., Godsey M.S., King R.J., Guptill S.C., 2007.** Land cover variation and West Nile virus prevalence: patterns, processes and implications for disease control. *Vect. Borne Zoon. Dis.*, 7, 173-180.
- ## F
- Fang Y., Reisen W.K., 2006.** Previous infection with West Nile or St. Louis encephalitis viruses provides cross protection during reinfection in house finches. *Am. J. Trop. Med. Hyg.*, 75 (3), 480-485.
- Farajollahi A., Crans W., Nickerson D., Bryant P., Wolf B., 2005.** Detection of West Nile virus RNA from the louse fly *Icosta americana* (Diptera: Hippoboscidae). *J. Am. Mosq. Control. Assoc.*, 21, 474-476.
- Farajollahi A., Crans W.J., Bryant P., Wolf B., Burkhalter K.L., Godsey M.S., Aspen S.E., Nasci R.S., 2005b.** Detection of West Nile Viral RNA from an Overwintering Pool of *Culex pipiens pipiens* (Diptera: Culicidae) in New Jersey, 2003. *J. Med. Entomol.*, 42 (3), 490-494.
- Farajollahi A., Crans W.J., Nickerson D., Bryant P., Wolf B., Glaser A., Andreadis T.G., 2005a.** Detection of West Nile virus RNA from the louse fly *Icosta americana* (Diptera: Hippoboscidae). *J. Am. Mosq. Control Assoc.*, 21 (4), 474-476.
- Ferguson D., Gershman K., LeBailly A., Petersen L., 2005.** Characteristics of the rash associated with West Nile virus fever. *Clin. Infect. Dis.*, 41, 1204-1207.
- Fernandez-Garcia M.D., Mazzon M., Jacobs M., Amara A., 2009.** Pathogenesis of *Flavivirus* infections: using and abusing the host cell. *Cell Host Microbe*, 5 (4), 318-28.

Filipe A., Andrade H., 1990. Arboviruses in the Iberian Peninsula. *Acta Virol.*, 34, 582-591.

Filipe A.R., 1972. Isolation in Portugal of West Nile virus from *Anopheles maculipennis* mosquitoes. *Acta virologica*, 16 (4), 361.

Flynn L.M., Coelen R.J., Mackenzie J.S., 1989. Kunjin virus isolates of Australia are genetically homogeneous. *J. Gen. Virol.*, 70, 2819-2824.

Fonseca D., Keyghobadi N., Malcolm C., Mehmet C., Schaffner F., 2004. Emerging vectors in the *Culex pipiens* complex. *Science*, 303, 1535-1538.

Fonseca K., Prince G.D., Bratvold J., Fox J.D., Pybus M., Preksaitis J.K., Tilley P., 2005. West Nile Virus Infection and Conjunctival Exposure. *Emerg. Infect. Dis.*, 11 (10), 1648-1649.

Fontenille D., Mathiot C., Coulanges P., 1985. Les cycles de arbovirus - vecteurs - vertébrés dans les forêts malgaches. *Archives de l'Institut Pasteur de Madagascar*, 52 (1), 171-180.

Fontenille D., Rodhain F., Digoutte J.P., Mathiot C., Morvan J., Coulanges P., 1989. Les cycles de transmission du virus West-Nile à Madagascar, Océan Indien. *Annales de la Société belge de médecine tropicale*, 69, 233-243.

Fyodorova M., Savage H., Lopatina J., Bulgakova T., Ivanitsky A., Platonova O.V., Platonov A.E., 2006. Evaluation of potential West Nile virus vectors in Volgograd region, Russia, 2003 (Diptera: Culicidae): species composition, bloodmeal host utilization, and virus infection rates of mosquitoes. *J. Med. Entomol.*, 43, 552-563.

G

Gabinaud A., Vigo G., Cousserans J., Roux M., Pasteur N., Croset H., 1985. La mammophilie des populations de *Culex pipiens pipiens* L., 1758 dans le Sud de la France ; variations de ce caractère en fonction des biotopes de développement larvaire, des caractéristiques physico-chimiques de leurs eaux et des saisons. Conséquences pratiques et théoriques. *Cahiers - ORSTOM. Entomologie médicale*, XXIII (2), 123-32.

Gancz A.Y., Barker I.K., Lindsay R., Dibernardo A., McKeever K., Hunter B., 2004. West Nile virus outbreak in North American owls, Ontario, 2002. *Emerg. Infect. Dis.*, 10 (12), 2135-2142.

Garmendia A., Van Kruiningen H., French R., Anderson J., Andreadis T., Kumar A., West A., 2000. Recovery and identification of West Nile

virus from a hawk in winter. *J. Clin. Microbiol.*, 38, 3110-3111.

Garmendia A.E., Van Kruiningen H.J., French R.A., 2001. The West Nile virus: its recent emergence in North America. *Microbes and infection / Institut Pasteur*, 3 (3), 223-229.

George S., Gourie-Devi M., Rao J.A., Prasad S.R., Pavri K.M., 1984. Isolation of West Nile virus from the brains of children who had died of encephalitis. *Bulletin of the World Health Organization*, 62 (6), 879-882.

Getts D., Matsumoto I., Muller M., Gett M., Radford J., Shrestha B., Campbell J., King N., 2007. Role of IFN-gamma in an experimental murine model of West Nile virus-induced seizures. *J. Neurochem.*, 103, 1019-1030.

Gibbs S.E., Hoffman D.M., Stark L.M., Marleene N.L., Blitvich B.J., Beaty B.J., Stallknecht D.E., 2005. Persistence of antibodies to West Nile virus in naturally infected rock pigeons (*Columba livia*). *Clinical and Diagnostic Laboratory Immunology*, 12 (5), 665-667.

Gibbs S.E.J., Winberly M.C., Madden M., Masour J., Yabsley M.J., Stallknecht D.E., 2006. Factors affecting the geographic distribution of West Nile virus in Georgia, USA: 2002-2004. *Vect. Borne Zoon. Dis.*, 6, 73-82.

Gingrich J., Anderson R., Williams G., O'Connor L., Harkins K., 2006. Stormwater ponds, constructed wetlands, and other best management practices as potential breeding sites for West Nile virus vectors in Delaware during 2004. *J. Am. Mosq Control Assoc.*, 22, 282-291.

Gingrich J.B., Williams G.M., 2005. Host-feeding patterns of suspected West Nile virus mosquito vectors in Delaware, 2001-2002. *J. Am. Mosq. Control Assoc.*, 21 (2), 194-200.

Girard Y.A., Klingler K.A., Higgs S., 2004. West Nile virus dissemination and tissue tropisms in orally infected *Culex pipiens quinquefasciatus*. *Vector Borne Zoonotic Dis.*, 4 (2), 109-22.

Gobbi F., Napoletano G., Piovesan C., Russo F., Angheben A., Rossanese A., Cattelan AM, Gallo L., Valsecchi M, Piazza A, Venturi G, Bisoffi Z., 2009. Where is West Nile fever? Lessons learnt from recent human cases in northern Italy. *Euro Surveill.*, 14 (10), pii: 19143.

Goddard L., Roth A., Reisen W., Scott T., 2002. Vector competence of California mosquitoes for West Nile virus. *Emerg. Infect. Dis.*, 8 (12), 1385-1391.

Goddard L.B., Roth A.E., Reisen W.K., Scott T.W., 2003. Vertical transmission of West Nile

Virus by three California *Culex* (Diptera: Culicidae) species. *J. Med. Entomol.*, 40 (6), 743-6.

Godsey M.S., Blackmore M.S., Panella N.A., Burkhalter K., Gottfried K., Halsey L.A., Rutledge R., Langevin S.A., Gates R., Lamonte K.M., Lambert A., Lanciotti R.S., Blackmore C.G., Loyless T., Stark L., Oliveri R., Conti L., Komar N., 2005. West Nile virus epizootiology in the southeastern United States, 2001. *Vector Borne Zoonotic Dis.*, 5 (1), 82-9.

Goldblum N., Sterk V.V., Paderski B., 1954. West Nile fever; the clinical features of the disease and the isolation of West Nile virus from the blood of nine human cases. *Am. J. Hyg.*, 59 (1), 89-103.

Granwehr B., Lillibridge K., Higgs S., Mason P., Aronson J., Campbell G., Barrett A., 2004. West Nile virus: where are we now? *Lancet Infect. Dis.*, 4, 547-556.

Griffing S.M., Kilpatrick A.M., Clark L., Marra P.P., 2007. Mosquito landing rates on nesting American robins (*Turdus migratorius*). *Vector Borne Zoonotic Dis.*, 7 (3), 437-443.

Gubler D., 2007. The continuing spread of West Nile virus in the western hemisphere. *Clin. Infect. Dis.*, 45, 1039-1046.

Gubler D.J., Kuno G., Markokk L., 2007. Flaviviruses, In: *Fields Virology* (D.M. Knipe, P. Howley, eds), 5^e edition, Lippincott, Williams and Wilkins, Philadelphia, pp. 1153-1252.

Guillon J.C., Oudar J., Joubert L., Hannoun C., 1968. Lésions histologiques du système nerveux dans l'infection à virus West Nile chez le cheval. *Annales de l'Institut Pasteur*, 114 (4), 539-550.

Guptill S.C., Julian K.G., Campbell G.L., Price S.D., Marfin A.A., 2003. Early-season avian deaths from West Nile virus as warnings of human infection. *Emerg. Infect. Dis.*, 9 (4), 483-484.

Guy J.S., Malkinson M., 2003. Arbovirus infections. In: *Diseases of poultry* (Saif Y.M., ed.), 11th, Iowa State University Press, Ames, Iowa, pp. 388-98.

H

Haaland K., Sadek J., Pergam S., Echevarria L., Davis L., Goade D., Harnar J., Nofchissey R., Sewel C., Ettestad P., 2006. Mental status after West Nile virus infection. *Emerg. Infect. Dis.*, 12, 1260-1262.

Hadler J., Nelson R., McCarthy T., Andreadis T., Lis M., French R., Beckwith W., Mayo D., Archambault G., Cartter M., 2001. West Nile

virus surveillance in Connecticut in 2000: an intense epizootic without high risk for severe human disease. *Emerg. Infect. Dis.*, 7, 636-642.

Hahn D.C., Nemeth N.M., Edwards E., Bright P.R., Komar N., 2006. Passive West Nile virus antibody transfer from maternal Eastern Screech-Owls (*Megascops asio*) to progeny. *Avian Dis.*, 50 (3), 454-455.

Hamer G.L., Kitron U.D., Goldberg T.L., Brawn J.D., Loss S.R., Ruiz M.O., Hayes D.B., Walker E.D., 2009. Host selection by *Culex pipiens* mosquitoes and West Nile virus amplification. *Am. J. Trop. Med. Hyg.*, 80 (2), 268-278.

Hamilton P.K., Taylor R.M., 1954. Report of clinical case of West Nile virus infection probably acquired in the laboratory. *Am. J. Trop. Med. Hyg.*, 3 (1), 51-53.

Hammam H.M., Price W.H., 1966. Further observations on geographic variation in the antigenic character of West Nile and Japanese B viruses. *Am. J. Epidemiol.*, 83 (1), 113-122.

Han L.L., Popovici F., Alexander J.P., Laurentia V., Tengelsen L.A., Cernescu C., Gary H.E., Ion Nedelcu N., Campbell G.L., Tsai T.F., 1999. Risk factors for West Nile virus infection and meningoencephalitis, Romania, 1996. *J. Infect. Dis.*, 179 (1), 230-233.

Hannoun C., Rau U., 1970. Experimental transmission of certain arboviruses by *Argas reflexus reflexus* (Fabricius, 1794). *Folia parasitologica*, 17, 365-366.

Hannoun C., Panthier R., Mouchet J., Eouzan J.P., 1964a. Isolement en France du virus West-Nile à partir de malades et du vecteur *Culex modestus* Ficalbi. *Comptes rendus hebdomadaires des séances de l'Académie des sciences. Série D: Sciences naturelles*, 259, 4170-4172.

Hannoun C., Beytout D., Joubert L., Mouchet J., Abonnenc E., 1964b. Rapport général sur la deuxième mission d'étude des Arbovirus en Camargue et en Bas-Languedoc, Institut Pasteur, Paris, 32 p.

Hannoun C., Joubert L., Oudar J., 1966. Etude épidémiologique des arboviroses en Camargue. Enquête sérologique chez le cheval. *Bulletin de la Société des sciences vétérinaires de Lyon*, 68, 147-158.

Hannoun C., Corniou B., Causse G., Panthier R., 1967. Evolution des anticorps sériques dans quatre cas d'infections à virus West Nile. *Annales de l'Institut Pasteur*, 113 (1), 29-36.

Hannoun C., Panthier R., Corniou B., 1969. Epidemiology of West Nile infections in the South of France. In: *Arboviruses of the California Complex and the Bunyamwera group*

(Bardos V., ed.), House SAS, Bratislava, pp. 379-387.

Harbach R.E., 2007. The Culicidea (Diptera): a review of taxonomy, classification and phylogeny. *Zootaxa*, 1668, 591-638.

Harbach R.E., Dahl C., White G.B., 1985. *Culex (Culex) pipiens* Linnaeus (Diptera: Culicidae): Concepts, type designations, and description. *Proceedings of the Entomological Society of Washington*, 87 (1), 1-24.

Hars J., Augé 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/DGAI, 17 p.

Hars J., Augé P., Balança 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*, ONCFS/DGAI, 21 p.

Hars J., Augé P., Chavernac D., Balança G., Keck N., Pradel J., Zeller H.G., 2004. Surveillance de l'infection de l'avifaune camarguaise par le virus West Nile. *Faune sauvage*, 261, 54-58.

Hars J., Mortamais M., Augé P., Baldet T., Chavernac D., Gaillet J.R., Gaudin J.C., Languille J., Terrier M.E., Schuffenecker I., Zeller H., 2006. *Programme de surveillance de l'infection de l'avifaune française par le virus West Nile en 2005*, ONCFS/DGAI, 21 p.

Hars J., Mortamais M., Pradel J., Augé P., Jourdain E., Chavernac D., Languille J., Zeller H., 2008. Circulation du virus West Nile dans l'avifaune française. Bilan de sept années de surveillance. *Epidémiol. et Santé Anim.*, 53, 29-41.

Hartemink N., Davis S., Reiter P., Hubalek Z., Heesterbeek J., 2007. Importance of bird-to-bird transmission for the establishment of West Nile Virus. *Vector Borne Zoonotic Dis.*, 7, DOI:10.1089/vbz.2006.0613.

Haydon D.T., Cleaveland S., Taylor L., Laurenson M., 2002. Identifying reservoirs of infection: a conceptual and practical challenge. *Emerg. Infect. Dis.*, 8, 1468-1473.

Haydon D.T., Cleaveland S., Taylor L.H., Laurenson M.K., 2002. Identifying reservoirs of infection: a conceptual and practical challenge. *Emerg. Infect. Dis.*, 8 (12), 1468-1473.

Hayes E., O'Leary D., 2004. West Nile virus infection: a pediatric perspective. *Pediatrics*, 113, 1375-1381.

Hayes E., Komar N., Nasci R., Montgomery S., O'Leary D., Campbell G., 2005. Epidemiology and transmission dynamics of West Nile virus disease. *Emerg. Infect. Dis.*, 11, 1167-1173.

Hayes E.B., Komar N., Nasci R.S., Montgomery S.P., O'Leary D.R., Campbell G.L., 2005a. Epidemiology and transmission dynamics of West Nile virus disease. *Emerg. Infect. Dis.*, 11 (8), 1167-1173.

Hayes E.B., Sejvar J.J., Zaki S.R., Lanciotti R.S., Bode A.V., Campbell G.L., 2005b. Virology, pathology, and clinical manifestations of West Nile virus disease. *Emerg. Infect. Dis.*, 11 (8), 1174-1179.

Henning K.J., 2004. What is syndromic surveillance? *MMWR Morb Mortal Wkly Rep.*, 53 Suppl, 5-11.

Herring B.L., Bernardin F., Caglioti S., Stramer S., Tobler L., Andrews W., Cheng L., Rampersad S., Cameron C., Saldanha J., Busch M.P., Delwart E., 2007. Phylogenetic analysis of WNV in North American blood donors during the 2003-2004 epidemic seasons. *Virology*, 363 (1), 220-228.

Hershberger V., Augsburger J., Hutchins R., Miller S., Horwitz J., Bergmann M., 2003. Chorioretinal lesions in nonfatal cases of West Nile virus infection. *Ophthalmology*, 110, 1732-1736.

Higgs S., Schneider B., Vanlandingham D., Kingler K., Gould E., 2005. Nonviremic transmission of West Nile virus. *Proc. Natl Acad. Sci. USA*, 102, 8871-8874.

Higgs S., Snow K., Gould E.A., 2004. The potential for West Nile virus to establish outside of its natural range: a consideration of potential mosquito vectors in the United Kingdom. *Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.*, 98 (2), 82-87.

Hoffmann L., Mouchet J., Rageau J., Hannoun C., Joubert L., Oudar J., Beytout D., 1968. *Epidémiologie du virus West Nile : étude d'un foyer en Camargue II. Esquisse en milieu physique, biologique et humain. Annales de l'Institut Pasteur*, 114 (4), 521-538.

Holman R., Monserrate N., Czander E., Rushing E., 2004. West Nile poliomyelitis. *Emerg. Infect. Dis.*, 10, 547-548.

Hoogstraal H., Kaiser M.N., Traylor M.A., Gaber S., Guindy E., 1961. Ticks (Ixodidae) on Birds Migrating from Africa to Europe and Asia. *Bulletin of the World Health Organization*, 24, 197-212.

Hoogstraal H., Kaiser M.N., Traylor M.A., Guindy E., Gaber S., 1963. Ticks (Ixodidae) on Birds Migrating from Europe and Asia to

Africa, 1959-1961. *Bulletin of the World Health Organization*, 28, 253-262.

Horak I.G., Camicas J.L., Keirans J.E., 2003. The Argasidae, Ixodidae and Nuttalliellidae (Acari: Ixodida): a world list of valid names. *Experimental and applied acarology*, 28, 27-54.

Hribar L.J., Stark L.M., Stoner R.L., Demay D.J., Nordholt A.L., Hemmen M.J., Vlach J.J., Fussell E.M., 2004. Isolation of West Nile Virus from Mosquitoes (Diptera: Culicidae) in the Florida Keys, Monroe County, Florida. *Caribbean Journal of Science*, 40 (3), 362-367.

Hubalek Z., 2000. European experience with the West Nile virus ecology and epidemiology: could it be relevant for the New World? *Viral immunology*, 13 (4), 415-426.

Hubalek Z., Halouzka J., 1999. West Nile fever-a reemerging mosquito-borne viral disease in Europe. *Emerg. Infect. Dis.*, 5 (5), 643-650.

Hubalek Z., Halouzka J., Juricova Z., 1999. West Nile fever in Czechland. *Emerg. Infect. Dis.*, 5 (4), 594-595.

Hubalek Z., Halouzka J., Juricova Z., Sebesta O., 1998. First isolation of mosquito-borne West Nile Virus in the Czech Republic. *Acta virologica*, 42, 119-120.

Hubalek Z., Savage H.M., Halouzka J., Juricova Z., Sanogo Y.O., Lusk S., 2000. West Nile virus investigations in South Moravia, Czechland. *Viral immunology*, 13 (4), 427-433.

Hurlbut H.S., 1956. West Nile virus infection in arthropods. *Am. J. Trop. Med. Hyg.*, 5 (1), 76-85.

Hutcheson H.J., Gorham C.H., Machain-Williams C., Loroño-Pino M.A., James A.M., Marlenee N.L., Winn B., Beaty B.J., Blair C.D., 2005. Experimental Transmission of West Nile Virus (*Flaviviridae: Flavivirus*) by *Carios capensis* Ticks from North America. *Vector Borne Zoonotic Dis.*, 5 (3), 293-295.

I

Iwamoto M., Jernigan D., Guasch A., 2003. Transmission of West Nile virus from and organ donor to four transplant recipients. *N. Engl. J. Med.*, 348, 2196-2203.

Iwamoto M., Jernigan D.B., Guasch A., Trepka M.J., Blackmore C.G., Hellinger W.C., Pham S.M., Zaki S., Lanciotti R.S., Lance-Parker S.E., DiazGranados C.A., Winquist A.G., Perlino C.A., Wiersma S., Hillyer K.L., Goodman J.L., Marfin A.A., Chamberland M.E., Petersen L.R., West Nile Virus in Transplant Recipients Investigation Team, 2003. Transmission of West Nile virus from an organ donor to four

transplant recipients. *N. Engl. J. Med.*, 348 (22), 2196-2203.

J

Jackson L.E., Hilborn E.D., Thomas J.C., 2006. Towards landscape design guidelines for reducing Lyme disease risk. *Int. J. Epidemiol.*, 35 (2), 315-322.

Jacobson E., Johnson A., Hernandez J., Tucker S., Dupuis A., 2005a. Validation and use of an indirect enzyme-linked immunosorbent assay for detection of antibodies to West Nile virus in American alligators (*Alligator mississippiensis*) in Florida. *J. Wild. Dis.*, 41, 107-114.

Jacobson E., Ginn P., Troutman J., Farina L., Stark L., Klenk K., 2005b. West Nile virus infection in farmed American alligators (*Alligator mississippiensis*) in Florida. *J. Wildl. Dis.*, 41, 96-106.

Jamagaonkar A.V., Yergolkar P.N., et al., 2003. Serological evidence for japanese encephalitis and west nile virus in water frequenting and terrestrial birds in Kalar district. *Acta virologica*, 47, 185-188.

Jean C., Honarmand S., Louie J., Glaser C., 2007. Risk factors for West Nile virus neuroinvasive disease, California, 2005. *Emerg. Infect. Dis.*, 13 (12), 1918-1920.

Jerzak G., Bernard K.A., Kramer L.D., Ebel G.D., 2005. Genetic variation in West Nile virus from naturally infected mosquitoes and birds suggests quasispecies structure and strong purifying selection. *J. Gen. Virol.*, 86, 2175-2183.

Jerzak G.V., Brown I., Shi P.Y., Kramer L.D., Ebel G.D., 2008. Genetic diversity and purifying selection in West Nile virus populations are maintained during host switching. *Virology*, 374 (2), 256-260.

Jetten T.H., Taekken W., 1994. *Anophelism without malaria in Europe: a review of the ecology and distribution of the genus Anopheles in Europe*, Wageningen Agric. Univ. Papers 94-5, Wageningen agricultural university press, Wageningen, 69 p.

Jimenez-Clavero M.A., Tejedor C.G., Rojo G., Soriguer R., Figuerola J., 2007. Serosurvey of West Nile virus in equids and bovids in Spain. *Vet. Rec.*, 161 (6), 212.

Johnston L.J., Halliday G.M., King N.J., 2000. Langerhans cells migrate to local lymph nodes following cutaneous infection with an arbovirus. *Journal of Investigative Dermatology*, 114 (3), 560-568.

- Joubert L., Oudar J., 1965.** Les arboviroses animales zoonoses menaçantes, leur incidence actuelle en France. *Bull. Soc. Sci. Vet. Lyon*, 67, 71-102.
- Joubert L., Oudar J., 1969.** Les zoonoses arbovirales. Leur présence en France. *Rev. Med. Vet.*, 120 (8-9), 737-764.
- Joubert L., Oudar J., 1970.** Les zoonoses arbovirales. Leur présence en France II. La méningo-encéphalomyélite équine West Nile du Midi méditerranéen français. *Rev. Med. Vet.*, 121 (3), 221-246.
- Joubert L., Oudar J., Hannoun C., Beytout D., Corniou B., Guillon J.C., Panthier R., 1970.** Epidémiologie du virus West Nile : étude d'un foyer en Camargue. IV. La méningo-encéphalomyélite du cheval. *Annales de l'Institut Pasteur*, 118 (2), 239-247.
- Joubert L., Oudar J., Hannoun C., Chippaux A., 1971.** Reproduction expérimentale de la méningo-encéphalomyélite du cheval par l'arbovirus West Nile. III. Relations entre la virologie, la sérologie et l'évolution anatomo-clinique. Conséquences épidémiologiques et prophylactiques. *Bulletin de l'Académie vétérinaire de France*, 44, 159-167.
- Joubert M.L., 1975.** L'arbovirose West Nile, zoonose du midi méditerranéen de la France. *Bulletin de l'Académie nationale de médecine*, 159 (4), 499-503.
- Jourdain E., 2006.** Oiseaux sauvages et virus West Nile. Etude éco-épidémiologique. Thèse de troisième cycle, Université Joseph Fourier (Grenoble).
- Jourdain E., Gauthier-Clerc M., Bicout D.J., Sabatier P., 2007a.** Bird migration routes and risk for pathogen dispersion into western mediterranean wetlands. *Emerg. Infect. Dis.*, 13, 365-372.
- Jourdain E., Schuffenecker I., Korimbocus J., Reynard S., Murri S., Kayser Y., Gauthier-Clerc M., Sabatier P., Zeller H.G., 2007b.** West Nile virus in wild resident birds, Southern France, 2004. *Vector Borne Zoonotic Dis.*, 7 (3), 448-452.
- Jourdain E., Toussaint Y., Leblond A., Bicout D.J., Sabatier P., Gauthier-Clerc M., 2007c.** Bird Species Potentially Involved in Introduction, Amplification and Spread of West Nile Virus in a Mediterranean Wetland, the Camargue (Southern France). *Vector Borne Zoonotic Dis.*, 7 (1), 15-33.
- Jourdain E., Gauthier-Clerc M., Sabatier P., Grege O., Greenland T., Leblond A., Lafaye M., Zeller H.G., 2008a.** Magpies as hosts for west nile virus, southern France. *Emerg. Infect. Dis.*, 14 (1), 158-160.
- Jourdain E., Zeller H.G., Sabatier P., Murri S., Kayser Y., Greenland T., Lafaye M., Gauthier-Clerc M., 2008b.** Prevalence of West Nile virus neutralizing antibodies in wild birds from the Camargue Area, southern France. *J. Wildl. Dis.*, 44 (3), 766-771.
- Jupp P.G., 1976.** The susceptibility of four South African species of *Culex* to West Nile and Sindbis viruses by two different infecting methods. *Mosquito news*, 36 (2), 166-173.
- Jupp P.G., McIntosh B.M., Brown R.G., 1966.** Laboratory transmission experiments with West Nile and sindbis viruses and *Culex (Culex) theileri* Theobald. *S. Afr. J. Med. Sci.*, 31 (3), 95-7.
- Jupp P.G., McIntosh B.M., Dickinson D.B., 1972.** Quantitative experiments on the vector capability of *Culex (Culex) theileri* Theobald with West Nile and Sindbis viruses. *J. Med. Entomol.*, 9 (5), 393-395.
- Juricova Z., Mitterpack J., Prokopic J., Hubalek Z., 1986.** Circulation of mosquito-borne viruses in large-scale sheep farms in eastern Slovakia. *Folia Parasitologica*, 33, 285-288.

K

- Kaiser M.N., Hoogstraal H., 1974.** Ticks (Ixodidae) on migrating birds in Cyprus, fall 1967 and spring 1968, and epidemiological considerations. *Bull. Entomol. Res.*, 64, 97-110.
- Kecskeméti S., Bajmocy E., Bacsadi A., Kiss I., Bakonyi, 2007.** Encephalitis due to West Nile virus in a sheep. *Vet. Rec.*, 161, 568-569.
- Keesing F., Holt R., Ostfeld R., 2006.** Effects of species diversity on disease risk. *Ecol. Lett.*, 9, 485-498.
- Khairallah M., Yahia S., Letaief M., Attia S., Kahloun R., Jelliti B., Zaouali S., Messaoud R., 2007.** A prospective evaluation of factors associated with chorioretinitis in patients with West Nile virus infection. *Ocul. Immunol. Inflamm.*, 15, 435-439.
- Kile J.C., Panella N.A., Komar N., Chow C.C., MacNeil A., Robbins B., Bunning M.L., 2005.** Serologic survey of cats and dogs during an epidemic of West Nile virus infection in humans. *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, 226 (8), 1349-1353.
- Kilpatrick A., Kramer L., Campbell G., Alleyne E.D., AP, Daszak P., 2005.** West Nile virus risk assessment and the bridge vector paradigm. *Emerg. Infect. Dis.*, 11 (3), 425-429.

- Kilpatrick A.M., Kramer L.D., Jones M.J., Marra P.P., Daszak P., 2006a. West Nile Virus Epidemics in North America Are Driven by Shifts in Mosquito Feeding Behavior. *PLoS biology*, 4 (4), 1-5.
- Kilpatrick A.M., Daszak P., Jones M.J., Marra P.P., Kramer L.D., 2006b. Host heterogeneity dominates West Nile virus transmission. *Proc. R. Soc. B Biol. Sci.*, 273, 2327-2333.
- Kilpatrick A.M., Kramer L.D., Jones M.J., Marra P.P., Daszak P., Fonseca D.M., 2007a. Genetic influences on mosquito feeding behavior and the emergence of zoonotic pathogens. *Am. J. Trop. Med. Hyg.*, 77 (4), 667-71.
- Kilpatrick A.M., LaDeau S.L., Marra P.P., 2007b. Ecology of west nile virus transmission and its impact on birds in the western hemisphere. *Auk*, 124 (4), 1121-1136.
- Kinney R.M., Huang C.Y., Whiteman M.C., Bowen R.A., Langevin S.A., Miller B.R., Brault A.C., 2006. Avian virulence and thermostable replication of the North American strain of West Nile virus. *J. Gen. Virol.*, 87, 3611-3622.
- Kipp A.M., Lehman J.A., Bowen R.A., Fox P.E., Stephens M.R., Klenk K., Komar N., Bunning M.L., 2006. West Nile virus quantification in feces of experimentally infected American and fish crows. *Am. J. Trop. Med. Hyg.*, 75 (4), 688-690.
- Klenk K., Komar N., 2003. Poor replication of West Nile virus (New York 1999 strain) in three reptilian and one amphibian species. *Am. J. Trop. Med. Hyg.*, 69 (3), 260-262.
- Klenk K., Snow J., Morgan K., Bowen R., Stephens M., 2004. Alligators as West Nile virus amplifiers. *Emerg. Infect. Dis.*, 10, 2150-2155.
- Klenk K., Snow J., Morgan K., Bowen R., Stephens M., Foster F., Gordy P., Beckett S., Komar N., Gubler D., Bunning M., 2004. Alligators as West Nile virus amplifiers. *Emerg. Infect. Dis.*, 10 (12), 2150-2155.
- Komar N., 2000. West Nile viral encephalitis. *Rev. Sci. Tech. OIE*, 19 (1), 166-176.
- Komar N., 2001. West Nile virus surveillance using sentinel birds. *Ann. NY Acad. Sci.*, 951, 58-73.
- Komar N., 2003. West Nile virus: epidemiology and ecology in North America. *Adv. Virus Res.*, 61, 185-234.
- Komar N., Clark G.G., 2006. West Nile virus activity in Latin America and the Caribbean. *Rev. Panam Salud Publica*, 19(2):112-7.
- Komar N., Dohm D.J., Turell M.J., Spielman A., 1999. Eastern equine encephalitis virus in birds: relative competence of European starlings (*Sturnus vulgaris*). *Am. J. Trop. Med. Hyg.*, 60 (3), 387-391.
- Komar N., Langevin S., Hinten S., Nemeth N., Edwards E., Hettler D., Davis B., Bowen R.A., Bunning M.L., 2003a. Experimental Infection of North American Birds with the New York 1999 Strain of West Nile Virus. *Emerg. Infect. Dis.*, 9 (3), 311-322.
- Komar O., Robbins M.B., Klenk K., Blitvich B.J., Marlenee N.L., Burkhalter K.L., Gubler D.J., Gonzalez G., Pena C.J., Peterson A.T., Komar N., 2003b. West Nile virus transmission in resident birds, Dominican Republic. *Emerg. Infect. Dis.*, 9 (10), 1299-302.
- Koo Q.Y., Khan A.M., Jung K.O., Ramdas S., Miotto O., Tan T.W., Brusica V., Salmon J., August J.T., 2009. Conservation and variability of West Nile virus proteins. *PLoS ONE*, 4 (4), e5352.
- Kostyukov M.A., Gordeeva E.E., Bulychiev V.P., Hemova N.V., Daniyarov O.A., Tuktaev T.M., 1985. The lake frog (*Rana ridibunda*) - one of the food hosts of blood-sucking mosquitoes in Tadzhikistan - a reservoir of the West Nile fever virus. *Meditinskaya parazitologiya i parazitarnye bolezni*, 3, 49-50.
- Kramer L., Shi P.Y., 2007. West Nile virus. *Lancet Neurology*, 6 (2), 171-181.
- Kramer L., Styer L., Ebel G., 2008. A Global Perspective on the Epidemiology of West Nile Virus. *Annu. Rev. Entomol.*, 53, 61-81.
- Krisztalovics K., Ferenczi E., Molnar Z., Csohan A., Ban E., Zoldi V., Kaszas K., 2008. West Nile virus infections in Hungary, August-September 2008. *Euro Surveill.*, 13 (45), pii: 19030.
- Kumar D., Prasad G., Zaltzman J., Levy G., Humar A., 2004. Community acquired West Nile virus infection in solid-organ transplant recipients. *Transplantation*, 77, 399-402.
- Kumar P., Lee S.K., Shankar P., Manjunath N., 2006. A single siRNA suppresses fatal encephalitis induced by two different flaviviruses. *PLoS Med.*, 3 (4), e96.
- Kuno G., 2001a. Persistence of arboviruses and antiviral antibodies in vertebrate hosts: its occurrence and impacts. *Reviews in Medical Virology*, 11 (3), 165-190.
- Kuno G., 2001b. Transmission of arboviruses without involvement of arthropod vectors. *Acta Virologica*, 45 (3), 139-150.
- Kuno G., Chang G.J., Tsuchiya K.R., Karabatsos N., Cropp C.B., 1998. Phylogeny of the genus *Flavivirus*. *J. Virol.*, 72 (1), 73-83.

L

- LaDeau S.L., Kilpatrick A.M., Marra P.P., 2007. West Nile virus emergence and large-scale declines of North American bird populations. *Nature*, 447 (7145), 710-713.
- Lancaster M., Hodgetts S., Mackenzie J., Urošević N., 1998. Characterization of defective viral RNA produced during persistent infection of Vero cells with Murray Valley encephalitis virus. *J. Virol.*, 2474-2482.
- Lanciotti R.S., Roehrig J.T., Deubel V., Smith J., Parker M., Steele K., Crise B., Volpe K.E., Crabtree M.B., Scherret J.H., Hall R.A., MacKenzie J.S., Cropp C.B., Panigrahy B., Ostlund E., Schmitt B., Malkinson M., Banet C., Weissman J., Komar N., Savage H.M., Stone W., McNamara T., Gubler D.J., 1999. Origin of the West Nile virus responsible for an outbreak of encephalitis in the northeastern United States. *Science*, 286 (5448), 2333-2337.
- Landesman W.J., Allan B.F., Langerhans R.B., Knight T.M., Chase J.M., 2007. Inter-annual associations between precipitation and human incidence of West Nile virus in the United States. *Vector Borne Zoonotic Dis.*, 7, 337-343.
- Langevin S.A., Brault A.C., Panella N.A., Bowen R.A., Komar N., 2005. Variation in virulence of West Nile virus strains for house sparrows (*Passer domesticus*). *Am. J. Trop. Med. Hyg.*, 72 (1), 99-102.
- Langevin S.A., Bunning M., Davis B., Komar N., 2001. Experimental infection of chickens as candidate sentinels for West Nile virus. *Emerg. Infect. Dis.*, 7 (4), 726-729.
- Languille J., Zientara S., Zeller H., Hendriks P., Armengaud A., Hars J., 2005. Bilan de la surveillance West Nile en France en 2004. Afssa. Bulletin épidémiologique n°17.
- Lapras M., Florio R., Joubert L., Oudar J., Guillon J.C., Hannoun C., 1968. L'électro-encéphalogramme normal du Cheval. Ses variations pathologiques dans la méningo-encéphalo-myéélite virale West-Nile. *Rev. Med. Vet.*, 49 (150), 1423-1441.
- Laurent P., Le Roux K., Grivard P., Bertil G., Naze F., Picard M., Staikowsky F., Barau G., Schuffenecker I., Michault A., 2007. Development of a sensitive real-time reverse transcriptase PCR assay with an internal control to detect and quantify chikungunya virus. *Clin. Chem.*, 53 (8), 1408-1414.
- Lawrie C.H., Uzcategui N.Y., Gould E.A., Nuttall P.A., 2004. Ixodid and argasid tick species and west nile virus. *Emerg. Infect. Dis.*, 10 (4), 653-657.
- Le Guenno B., Bougermouh A., Azzam T., Bouakaz R., 1996. West Nile: a deadly virus? *Lancet*, 348 (9037), 1315.
- Le Lay-Rogues G., Arthur C.P., Vanderwalle P., Hardy E., Chastel C., 1990. Lapin de Garenne, *Oryctolagus cuniculus* L. et arbovirus dans le sud-est de la France. Résultats de deux enquêtes sérologiques. *Bull. Soc. Pathol. Exot.*, 83 (4), 446-457.
- Leblond A., Zientara S., Chadoeuf J., Comby N., Heng M.A., Sabatier P., 2005. Prévalence de l'infection par le virus West Nile chez le cheval en Camargue. *Rev. Med. Vet.*, 156, 77-84.
- Leblond A., Sandoz A., Lacombe V., Sabatier P., 2006. A spatiotemporal study of a West Nile Virus Outbreak in horses in Camargue, France, In: *Society for Veterinary Epidemiology and Preventive Medicine*, Exteter, UK, 29th - 31st March 2006, Mellor D.J., Russell A.M., pp. 41-49.
- Leblond A., Hendriks P., Sabatier P., 2007a. West Nile virus outbreak detection using syndromic monitoring in horses. *Vector Borne Zoonotic Dis.*, 7 (3), 403-410.
- Leblond A., Sandoz A., Lefebvre G., Zeller H., Bicout D.J., 2007b. Remote sensing-based identification of environmental risk factors associated with West Nile disease in horses in Camargue, France. *Prev. Vet. Med.*, 79, 20-31.
- Lecollinet S., Lefrancois T., Durand B., Leblond A., Dauphin G., De Goer J., Zientara S., 2008. Surveillance de l'infection équine à virus West Nile en France. Bilan 2000-2007. *Epidémiol. Santé Anim.*, 54, 69-80.
- Lee J.H., Hassan H., Hill G., Cupp E.W., Higazi T.B., Mitchell C.J., Godsey M.S., Unnasch T.R., 2002. Identification of mosquito avian-derived blood meals by polymerase chain reaction-heteroduplex analysis. *Am. J. Trop. Med. Hyg.*, 66 (5), 599-604.
- Lefrancois T., Blitvich B.J., Pradel J., Molia S., Vachiéry N., Pallavicini G., Marlenee N.L., Zientara S., Petitclerc M., Martinez D., 2005. West Nile Virus Surveillance, Guadeloupe, 2003-2004. *Emerg. Infect. Dis.*, 11 (7), 1100-1103.
- Lehman J., Hinckley A., Kniss K., Nasci R., Smith T., Campbell G., 2007. Effect of hurricane Katrina on arboviral disease transmission. *Emerg. Infect. Dis.*, 13 (8), 1273.
- Leis A., Stokic D., Polk J., Dostrow V., Winkelmann M., 2002. A poliomyelitis-like syndrome

- from West Nile virus infection. *N. Engl. J. Med.*, 347, 1279-1280.
- Lelli R., Savini G., Teodori L., Filipponi G., Di Gennaro A., Leone A., Di Gialleonardo L., Venturi L., Caporale V., 2008.** Serological evidence of Usutu virus occurrence in north-eastern Italy. *Zoonoses Public Health*, 55 (7), 361-367.
- Levett P.N., Sonnenberg K., Sidaway F., Shead S., Niedrig M., Steinhagen K., Horsman G.B., Drebot M.A., 2005.** Use of immunoglobulin G avidity assays for differentiation of primary from previous infections with West Nile virus. *J. Clin. Microbiol.*, 43 (12), 5873-5875.
- Li J., Loeb J., Shy M., Shah A., Tselis A., Kupski W., Lewis R., 2003.** Asymmetric flaccid paralysis: a neuromuscular presentation of West Nile virus infection. *Ann. Neurol.*, 53, 703-710.
- Lichtensteiger C., Heinz-Taheny K., Osborne T., Novak R., Lewis B., Firth M., 2003.** West Nile virus encephalitis and myocarditis in wolf and dog. *Emerg. Infect. Dis.*, 9, 1303-1306.
- Lillibridge K., Baraniuk S., Arafat R., 2004a.** Host risk factors for developing encephalitis from West Nile virus infection, In: *International Conference on Emerg. Infect. Dis.*, Atlanta, GA, March 1, 2004, Washington D.A.S.f.M.
- Lillibridge K.M., Parsons R., Randle Y., Travassos da Rosa A.P., Guzman H., Siirin M., Wuithiranyagool T., Hailey C., Higgs S., Bala A.A., Pascua R., Meyer T., Vanlandingham D.L., Tesh R.B., 2004b.** The 2002 introduction of West Nile virus into Harris County, Texas, an area historically endemic for St. Louis encephalitis. *Am. J. Trop. Med. Hyg.*, 70 (6), 676-681.
- Lloyd-Smith J., Schreiber S., Kopp P., Getz W., 2005.** Superspreading and the impact of individual variation on disease emergence. *Nature*, 438, 355-359.
- Lobigs M., Mullbacher A., Wang Y., Pavy M., Lee E., 2003.** Role of type I and type II interferon responses in recovery from infection with an encephalitic flavivirus. *J. Gen. Virol.*, 84, 567-572.
- LoGiudice K., Ostfeld R.S., Schmidt K.A., Keeling F., 2003.** The ecology of infectious disease: effects of host diversity and community composition on Lyme disease risk. *Proc. Natl Acad. Sci.*, 100, 567-571.
- Lonchamp C., Migliani R., Ratsitorahina M., Rabarijaona L.P., Ramarokoto C.E., Rakoto Andrianarivelo M., Rousset D., 2003.** Persistence d'une circulation endémique du virus West Nile à Madagascar. *Archives de l'Institut Pasteur de Madagascar*, 69 (1&2), 33-36.
- Lord C., Day J., 2001.** Simulation studies of St. Louis encephalitis and West Nile viruses: the impact of bird mortality. *Vector Borne Zoonotic Dis.*, 1, 317-329.
- Ludwig A., Bicout D.J., Chalvet-Monfray K., Sabatier P., 2005.** Modélisation de l'agressivité de *Culex modestus*, vecteur potentiel de West Nile en Camargue, en fonction de données météorologiques. *Environnement, Risques et Santé*, 4 (2), 1-5.
- Lukacik G., Anand M., Shusas E.J., Howard J.J., Oliver J., Chen H., Backenson P.B., Kauffman E.B., Bernard K.A., Kramer L.D., White D.J., 2006.** West Nile virus surveillance in mosquitoes in New York State, 2000-2004. *J. Am. Mosq. Control Assoc.*, 22 (2), 264-271.
- Lvol D.K., 1987.** Natural foci of arboviruses in the USSR. *Soviet review of medical virology*, 1, 153-196.
- Lvov D.K., Butenko A.M., Gromashevsky V.L., Kovtunov A.I., Prilipov A.G., Kinney R., Aristova V.A., Dzharkenov A.F., Samokhvalov E.I., Savage H.M., Shchelkanov M.Y., Galkina I.V., Deryabin P.G., Gubler D.J., Kulikova L.N., Alkhovsky S.K., Moskvina T.M., Zlobina L.V., Sadykova G.K., Shatalov A.G., Lvov D.N., Usachev V.E., Voronina A.G., 2004.** West Nile virus and other zoonotic viruses in Russia: examples of emerging-reemerging situations. *Arch. Virol. Suppl.*, 18, 85-96.

M

- Mackenzie J.S., Williams D.T., 2009.** The zoonotic flaviviruses of southern, south-eastern and eastern Asia, and Australasia: the potential for emergent viruses. *Zoonoses Public Health*, 56 (6-7), 338-356.
- Mailles A., Dellamonica P., Zeller H., Durand J.P., Zientara S., Gofette 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. *Eurosurveillance*, 7 (43), 2312.
- Malkinson M., Banet C., 2002.** The role of birds in the ecology of West Nile virus in Europe and Africa. *Current Topics Microbiol. Immunol.*, 267, 309-322.
- Malkinson M., Banet C., Weisman Y., Pokamunski S., King R., Drouet M.T., Deubel V., 2002.** Introduction of West Nile virus in the Middle East by migrating white storks. *Emerg. Infect. Dis.*, 8 (4), 392-397.
- Marr J.S., Calisher C.H., 2003.** Alexander the Great and West Nile virus encephalitis. *Emerg. Infect. Dis.*, 9 (12), 1599-1603.

- Marra P.P., Griffing S., Caffrey C., Kilpatrick A.M., McLean R., Brand C., Saito E., Dupuis A.P., Kramer L., Novak R., 2004. West Nile virus and wildlife. *BioScience*, 54 (5), 393-402.
- Mattar S., Edwards E., Laguado J., Gonzalez M., Alvarez J., Komar N., 2005. West Nile Virus Antibodies in Colombian Horses. *Emerg. Infect. Dis.*, 11 (9), 1497-1498.
- McGee C., Schneider B., Girard Y., Vanlandingham D., Higgs S., 2007. Nonviremic transmission of West Nile virus: evaluation of the effects of space, time, and mosquito species. *Am. J. Trop. Med. Hyg.*, 76, 424-430.
- McIntosh B.M., Jupp P.G., Dickinson D.B., McGillivray G.M., Sweetnam J., 1967. Ecological studies on Sindbis and West Nile viruses in South Africa. I. Viral activity as revealed by infection of mosquitoes and sentinel fowls. *S. Afr. J. Med. Sci.*, 32 (1), 1-14.
- McIntosh B.M., Dickinson D.B., McGillivray G.M., 1969. Ecological studies on Sindbis and West Nile viruses in South Africa. V. The response of birds to inoculation of virus. *S. Afr. J. Med. Sci.*, 34 (3), 77-82.
- McIntosh B.M., Jupp P.G., Dickinson D.B., McGillivray G.M., Sweetnam J., 1976. Epidemics of West Nile and Sindbis in South Africa with *Culex univittatus theobaldi* as vector. *S. Afr. J. Med. Sci.*, 72, 295-300.
- McLean R.G., Mullenix J., Kerschner J., Hamm J., 1983. The house sparrow (*Passer domesticus*) as a sentinel for St. Louis encephalitis virus. *Am. J. Trop. Med. Hyg.*, 32 (5), 1120-1129.
- McLean R.G., Ubico S.R., Docherty D.E., Hansen W.R., Sileo L., McNamara T.S., 2001. West Nile virus transmission and ecology in birds. *Ann. NY Acad. Sci.*, 951 (1), 54-57.
- McLean R.G., Ubico S.R., Bourne D., Komar N., 2002. West Nile virus in livestock and wildlife. *Curr. Top. Microbiol. Immunol.*, 267, 271-308.
- McMinn P., 1997. The molecular basis of virulence of the encephalitogenic flaviviruses. *J. Gen. Virol.*, 78, 2711-2722.
- Mead D.G., Ramberg F.B., Besselsen D.G., John M.C., 2000. Transmission of vesicular stomatitis virus from infected to noninfected black flies co-feeding on nonviremic deer mice. *Science*, 287 (5452), 485-487.
- Medlock J., Snow K., Leach S., 2005. Potential transmission of West Nile virus in the British Isles: an ecological review of candidate mosquito bridge vectors. *Med. Vet. Entomol.*, 19, 2-21.
- Melnick J.L., Paul J.R., Riordan J.T., Barnett V.H., Goldblum N., Zabin E., 1951. Isolation from human sera in Egypt of a virus apparently identical to West Nile virus. *Proceedings of the Society for Experimental Biology and Medicine. Society for Experimental Biology and Medicine* (New York, N.Y.), 77 (4), 661-665.
- Miller B.R., Nasci R.S., Godsey M.S., Savage H.M., Lutwama J.J., Lanciotti R.S., Peters C.J., 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.*, 62 (2), 240-246.
- Miller D.L., Mauel M.J., Baldwin C., Burtle G., Ingram D., Hines M.E., Frazier K.S., 2003. West Nile virus in farmed alligators. *Emerg. Infect. Dis.*, 9 (7), 794-799.
- Miramontes R., Lafferty W.E., Lind B.K., Oberle M.W., 2006. Is agricultural activity linked to the incidence of human West Nile virus? *Am. J. Prev. Med.*, 30, 160-163.
- Mitchell C.J., 1983. Differentiation of host-seeking behavior from blood-feeding behavior in overwintering *Culex pipiens* (Diptera: Culicidae) and observations on gonotrophic dissimulation. *J. Med. Entomol.*, 20 (2), 157-163.
- Mitchell C.J., 1988. Occurrence, biology, and physiology of diapause in overwintering mosquitoes. In: *The Arboviruses: Epidemiology and Ecology* (Monath T.P., ed.), 1, CRC Press Inc., Atlanta, pp. 191-217.
- Mitchell C.J., Briegel H., 1989. Inability of Diapausing *Culex pipiens* (Diptera: Culicidae) to Use Blood for Producing Lipid Reserves for Overwinter Survival. *J. Med. Entomol.*, 26 (4), 318-326.
- Molaei G., Andreadis T.G., Armstrong P.M., Anderson J.F., Vossbrinck R., 2006. Host Feeding Patterns of *Culex* Mosquitoes and West Nile Virus Transmission, Northeastern United States. *Emerg. Infect. Dis.*, 12 (3), 468-474.
- Monath T.P., Heinz F.X., 1996. Flaviviruses. In: *Fields virology* (Fields B.N., Knipe D.M., Howley P.M., eds.), 3rd edition, Raven Publishers, Philadelphia, pp. 961-1034.
- Mongoh M., Khaitisa M., Dyer N., 2007. Environmental and ecological determinants of West Nile virus occurrence in horses in North Dakota, 2002. *Epidemiol. Infect.*, 135, 57-66.
- Morales M.A., Barrandeguy M., Fabbri C., Garcia J.B., Vissani A., Trono K., Gutierrez R.A., Pigretti S., Menchaca H., Garrido N., Taylor N., Fernandez F., Levis S., Enria D., 2006. West Nile Virus Isolation from Equines

- in Argentina, 2006. *Emerg. Infect. Dis.*, 12 (10), 1559-1561.
- Morales-Betoulle M.E., Morales H., Blitvich B.J., Powers A.M., Davis E.A., Klein R., Cordón-Rosales C., 2006.** West Nile Virus in Horses, Guatemala. *Emerg. Infect. Dis.*, 12 (6), 1038-1039.
- Morresey P., 2006.** Management of the acutely neurologic patient. *Clin. Tech. Equine Pract.*, 5, 104-111.
- Morvan J., Fontenille D., Lepers J.P., Coulanges P., 1990.** Surveillance sérologiques de l'infection à virus West Nile dans un village des Hauts Plateaux à Madagascar. *Annales de la Société belge de médecine tropicale*, 70, 55-63.
- Mostashari F., Bunning M.L., Kitsutani P.T., Singer D.A., Nash D., Cooper M.J., Katz N., Liljebjelke K.A., Biggerstaff B.J., Fine A.D., Layton M.C., Mullin S.M., Johnson A.J., Martin D.A., Hayes E.B., Campbell G.L., 2001.** Epidemic West Nile encephalitis, New York, 1999: results of a household-based seroepidemiological survey. *Lancet*, 358 (9278), 261-264.
- Mostashari F., Kulldorff M., Hartman J.J., Miller J.R., Kulasekera V., 2003.** Dead bird clusters as an early warning system for West Nile virus activity. *Emerg. Infect. Dis.*, 9 (6), 641-646.
- Mouchet J., Rageau J., Chippaux A., 1969.** Hibernation de *Culex modestus* Ficalbi (Diptera, Culicidae) en Camargue. *Cahiers - ORS-TOM. Entomologie médicale*, VII (1), 35-37.
- Mouchet J., Rageau J., Laumond C., Hannoun C., Beytout D., Oudar J., Corniou B., Chippaux A., 1970.** Epidemiology of West Nile virus: study of a focus in Camargue. V. The vector: *Culex modestus* Ficalbi Diptera; Culicidae. *Ann. Inst. Pasteur (Paris)*, 118 (6), 839-855.
- Mueller N.H., Pattabiraman N., Ansarah-Sobrinho C., Viswanathan P., Pierson T.C., Padmanabhan R., 2009.** Identification and biochemical characterization of small-molecule inhibitors of west nile virus serine protease by a high-throughput screen. *Antimicrob. Agents Chemother.*, 52 (9), 3385-3393. Erratum 53 (1), 341.
- Mumcuoglu K., Banet-Noach C., Malkinson M., Shalom U., Galun R., 2005.** Argasid ticks as possible vectors of West Nile virus in Israel. *Vector Borne Zoonotic Dis.*, 5, 65-71.
- Murgue B., Murri S., Triki H., Deubel V., Zeller H.G., 2001a.** West Nile in the Mediterranean basin: 1950-2000. *Ann. NY Acad. Sci.*, 951, 117-126.
- Murgue B., Murri S., Zientara S., Durand B., Durand J.P., Zeller H.G., 2001b.** West Nile outbreak in horses in Southern France, 2000: the return after 35 years. *Emerg. Infect. Dis.*, 7 (4), 692-696.
- Murgue B., Zeller H., Deubel V., 2002.** The ecology and epidemiology of West Nile virus in Africa, Europe and Asia. *Curr. Top. Microbiol. Immunol.*, 267, 195-221.
- Murray K., Koers E., Baranuik S., Herrington E., Carter H., Sierra M., Kilborn C., Arafat R., 2009.** Risk factors for Encephalitis from West Nile virus: a matched case-control study using hospitalized controls. *Zoonoses Public Health*, 56, 370-375.
- Murray K., Resnick M., Miller V., 2007.** Depression after infection with West Nile virus. *Emerg. Infect. Dis.*, 13, 479-481.
- Murray K., Walker C., Herrington E., Lewis J.A., McCormick J., Beasley D.W.C., Tesh R.B., Fisher-Hoch S., 2010.** Persistent infection with West Nile virus years after initial infection. *J. Infect. Dis.*, 201, 2-4.

N

- Nasci R.S., Savage H.M., White D.J., Miller J.R., Cropp B.C., Godsey M.S., Kerst A.J., Bennett P., Gottfried K., Lanciotti R.S., 2001.** West Nile virus in overwintering *Culex* mosquitoes, New York City, 2000. *Emerg. Infect. Dis.*, 7 (4), 742-744.
- Nash D., Mostashari F., Fine A., Miller J., O'Leary D., Murray K., Huang C., Rosenberg A., Greenberg A., Sherman R., Wong S., Layton M., Group. W.N.O.R.W., 2001.** The outbreak of West Nile virus infection in the New York city area in 1999. *N. Engl. J. Med.*, 344, 1858-1859.
- Naugle D.E., Aldridge C.L., Walker B.L., Cornish T.E., Moynahan B.J., Holloran M.J., Brown K., Johnson G.D., Schmidtman E.T., Mayer R.T., Kato C.Y., Matchett M.R., Christiansen T.J., Cook W.E., Creekmore T., Falise R.D., Rinkes E.T., Boyce M.S., 2004.** West Nile virus: pending crisis for greater sage-grouse. *Ecology letters*, 7, 704-713.
- Nemeth N.M., Oesterle P.T., Bowen R.A., 2009.** Humoral Immunity to West Nile Virus Is Long-Lasting and Protective in the House Sparrow (*Passer domesticus*). *Am. J. Trop. Med. Hyg.*, 80 (5), 864-869.
- Niedrig M., Linke S., Zeller H., Drosten C., 2006.** First international proficiency study on West Nile virus molecular detection. *Clin. Chem.*, 52(10), 1851-1854.

Nir Y., Avivi A., Lasovski Y., Margalit J., Goldwasser R., 1972. Arbovirus activity in Israel. *Israel journal of medical sciences*, 8 (10), 1695-1701.

Nir Y., Beemer A., Goldwasser R., 1965. West Nile virus infection in mice following exposure to a viral aerosol. *Br. J. Exp. Pathol.*, 46, 443-449.

Nir Y.D., 1959. Airborne West Nile virus infection. *Am. J. Trop. Med. Hyg.*, 8, 537-539.

Nisenbaum C., Wallis K., 1965. Meningo-encephalitis due to West Nile fever. Reports of 2 cases. *Helvetica Paediatrica Acta*, 20 (4), 392-402.

Nixon M.L., Prince H.E., 2006. West Nile virus immunoglobulin A (WNV IgA) detection in cerebrospinal fluid in relation to WNV IgG and IgM reactivity. *J. Clin. Virol.*, 37 (3), 174-178.

O

Oldach D., Benitez R.M., Mackowiak P.A., 2004. Alexander the Great and West Nile Virus Encephalitis. *Emerg. Infect. Dis.*, 10 (7), 1329-1330.

O'Leary D.R., Nasci R.S., Campbell G.L., Marfin A.A., 2002. West Nile virus activity - United States. *MMWR Morb. Mortal Wkly Rep.*, 51, 497-501.

O'Leary D., Marfin A., Montgomery S., Kipp A., Lehman J., Biggerstaff B., 2004. The epidemic of West Nile virus in the United States, 2002. *Vector Borne Zoonotic Dis.*, 4, 61-70.

Omalu B., Shakir A., Wang G., Lipkin W., Wiley C., 2003. Fatal fulminant pan-meningo-polioencephalitis due to West Nile virus. *Brain Pathol.*, 13, 465-472.

Ostfeld R.S., Keesing F., 2000. The function of biodiversity in the ecology of vector-borne zoonotic diseases. *Can. J. Zool.*, 78, 2061-2078.

Ostlund E.N., Andresen J.E., Andresen M., 2000. West Nile encephalitis. *Vet. Clin. North Am. Equine Pract.*, 16 (3), 427-441.

Ostlund E.N., Crom R.L., Pedersen D.D., Johnson D.J., Williams W.O., Schmitt B.J., 2001. Equine West Nile encephalitis, United States. *Emerg. Infect. Dis.*, 7 (4), 665-669.

Oudar J., Joubert L., Lapras M., Guillon J.C., 1971. Reproduction expérimentale de la méningo-encéphalomyélite du cheval par l'arbovirus West Nile. II. Etude anatomo-clinique. *Bulletin de l'Académie vétérinaire de France*, 44 (3), 147-158.

Oudar J., Joubert L., Lapras M., Hannoun C., Guillon J.C., 1972. Reproduction expérimentale

de la méningo-encéphalomyélite animale par l'arbovirus West-Nile. IV. Recherche des réservoirs de virus. Inoculation au Mouton et au Porc. *Bulletin de l'Académie vétérinaire de France*, 45, 195-206.

Owen J., Moore F., Panella N., Edwards E., Bru R., Hughes M., Komar N., 2006. Migrating birds as dispersal vehicles for West Nile virus. *Eco-Health*, 3 (2), 79-85.

Ozkul A., Yilidirim Y., Pinar D., Akcali A., Yilmaz V., Colak D., 2005. Serological evidence of West Nile virus (WNV) in mammalian species in Turkey. *Epidemiol. Infect.*, 134 (4), 826-829.

P

Paddock C., Nicholson W., Bhatnagar J., Goldsmith C., Greer P., Hayes E., Risko J., Henderson C., Blackmore C., Lanciotti R., Campbell G., Zaki S., 2006. Fatal hemorrhagic fever caused by West Nile virus in the United States. *Clin. Infect. Dis.*, 42, 1527-1535.

Panthier R., 1968. Epidemiology of the West Nile virus: study of an outbreak in Camargue. I. Introduction. *Ann. Inst. Pasteur (Paris)*, 114 (4), 518-20.

Panthier R., Hannoun C., Oudar J., Beytout D., Corniou B., Joubert L., Guillon J.C., Mouchet J., 1966. Isolement du virus West Nile chez un cheval camarguais atteint d'encéphalomyélite. *Comptes rendus hebdomadaires des séances de l'Académie des sciences. Série D: Sciences naturelles*, 262 (11), 1308-1310.

Panthier R., Hannoun C., Beytout D., Mouchet J., 1968. Epidémiologie du virus West Nile : étude d'un foyer en Camargue. III. Les maladies humaines. *Ann. Inst. Pasteur*, 115 (3), 435-445.

Papa A., Bakonyi T., Xanthopoulou K., Vázquez A., Tenorio A., Nowotny N., 2011a. Genetic characterization of West Nile virus lineage 2, Greece, 2010. *Emerg. Infect. Dis.*, 17 (5), 920-922.

Papa A., Karabaxoglou D., Kansouzidou A., 2011b. Acute West Nile virus neuroinvasive infections: cross-reactivity with dengue virus and tick-borne encephalitis virus. *J. Med. Virol.*, 83 (10), 1861-1865.

Pasteur N., Rioux J.A., Guilvard E., Pech-Perieres J., 1977. Nouvelle mention, pour le "Midi" méditerranéen, de populations naturelles anautogènes et sténogames de *Culex pipiens pipiens* L. *Annales de parasitologie humaine et comparée*, 52 (2), 205-10.

- Pasteur N., Sinègre G., Gabinaud A., 1981.** Est-2 and Est-3 polymorphisms in *Culex pipiens* L. from Southern France in relation to organophosphate resistance. *Biochemical genetics*, 19 (5-6), 499-508.
- Patnaik J., Juliusson L., Vogt R., 2007.** Environmental predictors of human West Nile virus infections, Colorado. *Emerg. Infect. Dis.*, 13 (11), 1788-1790.
- Pavri K.M., Singh K.R., 1965.** Isolation of West Nile Virus from *Culex fatigans* Mosquitoes from Western India. *Indian journal of medical research*, 53, 501-505.
- Paz S., 2006.** The West Nile virus outbreak in Israel (2000) from a new perspective: the regional impact of climate change. *Int. J. Environ. Health Res.*, 16, 1-13.
- Pealer L.N., Marfin A.A., Petersen L.R., Lanciotti R.S., Page P.L., Stramer S.L., Stobierski M.G., Signs K., Newman B., Kapoor H., Goodman J.L., Chamberland M.E., West Nile Virus Transmission Investigation Team, 2003.** Transmission of West Nile virus through blood transfusion in the United States in 2002. *N. Engl. J. Med.*, 349 (13), 1236-1245.
- Pecorari M., Longo G., Gennari W., Grottole A., Sabbatini A., Tagliazucchi S., Savini G., Monaco F., Simone M., Lelli R., Rumpianesi F., 2009.** First human case of Usutu virus neuroinvasive infection, Italy, August-September 2009. *Euro Surveill.*, 14 (50), pii: 19446.
- Pecoraro H., Day H., Reineke R., Stevens N., Withey J., Marzluff J., Meschke J., 2007.** Climatic and landscape correlates for potential West Nile virus mosquito vectors in the Seattle region. *J. Vector Ecol.*, 32, 22-28.
- Pergam S., DeLong C., Echevarria L., Scully G., Goade D., 2006.** Myocarditis in West Nile Virus infection. *Am. J. Trop. Med. Hyg.*, 75, 1232-1233.
- Perra A., Zientara S., Murgue B., Zeller H., Hars J., Mathieu B., Lagneau C., Gloaguen C., Thill E., Durand J.P., De Lamballerie X., Charrel R., Armengaud A., Pradel V., Capek I., Dufour B., 2002.** La surveillance du virus West Nile en France en 2001. *BEH*, 33, 161-163.
- Petersen L., Marfin A., 2002.** West Nile virus: a primer for the clinician. *Ann. Intern. Med.*, 137, 173-179.
- Petersen L.R., Roehrig, J.T., 2001.** West Nile virus: a reemerging global pathogen. *Emerg. Infect. Dis.*, 7, 611-614.
- Peterson A.T., Komar N., Komar O., Navarro-Sigüenza A., Robbins M.B., Martinez-Meyer E., 2004.** West nile virus in the New World: potential impacts on bird species. *Bird Conservation International*, 14, 215-232.
- Peterson A.T., Vieglais D.A., Andreasen J.K., 2003.** Migratory birds modeled as critical transport agents for west nile virus in north america. *Vector Borne Zoonotic Dis.*, 3 (1), 27-37.
- Peyrefitte C.N., Grandadam M., Bessaud M., Andry P.-E., Fouque F., Caro V., Diancourt L., Schuffenecker I., Pagès F., Tolou H.J., Zeller H., Depaquit J., 2013.** Diversity of *Phlebotomus perniciosus* in Provence, south-eastern France – Detection of two putative new phleboviruses. *Vector Borne Zoonotic Dis.* (sous presse).
- Philibert H., Wobeser G., Clark R.G., 1993.** Counting dead birds: examination of methods. *J. Wildl. Dis.*, 29 (2), 284-289.
- Philip C.B., Smadel J.E., 1943.** Transmission of West Nile virus by infected *Aedes albopictus*. *Proceedings of the Society for Experimental Biology and Medicine*. Society for Experimental Biology and Medicine (New York), 48, 537-548.
- Planitzer C., Modrof J., Yu M.-Y.W., Kreil T., 2009.** West Nile Virus infection in plasma of blood donors, United States. *Emerg. Infect. Dis.*, 15 (10), 1668-1670.
- Platonov A.E., Shipulin G.A., Shipulina O.Y., Tyutyunnik E.N., Frolochkina T.I., Lanciotti R.S., Yazyshina S., Platonova O.V., Obukhov I.L., Zhukov A.N., Vengerov Y.Y., Pokrovskii V.I., 2001.** Outbreak of West Nile virus infection, Volgograd Region, Russia, 1999. *Emerg. Infect. Dis.*, 7 (1), 128-132.
- Platt K., Tucker B., Halbur P., Tiawsirisup S., Blitvich B., Fabiosa F., Bartholomay L., Rowley W., 2007.** West Nile virus viremia in eastern chipmunks (*Tamias striatus*) sufficient for infecting different mosquitoes. *Emerg. Infect. Dis.*, 13, 831-837.
- Platt K.B., Tucker B.J., Halbur P.G., Blitvich B.J., Fabiosa F.G., Mullin K., Parikh G.R., Kitikoon P., Bartholomay L.C., Rowley W.A., 2008.** Fox squirrels (*Sciurus niger*) develop West Nile virus viremias sufficient for infecting select mosquito species. *Vector Borne Zoonotic Dis.*, 8 (2), 225-233.
- Poidinger M., Hall R.A., Mackenzie J.S., 1996.** Molecular characterization of the Japanese encephalitis serocomplex of the flavivirus genus. *Virology*, 218(2), 417-421.
- Ponçon N., Balenghien T., Toty C., Baptiste Ferre J., Thomas C., Dervieux A., L'Ambert G., Schaffner F., Bardin O., Fontenille D., 2007.** Effects of local anthropogenic changes on potential malaria vector *Anopheles hyrcanus* and West Nile virus vector *Culex modestus*,

Camargue, France. *Emerg. Infect. Dis.*, 13 (12), 1810-5.

Popovici F., Sarbu A., Nicolae O., Pistol A., Cucuiu R., Stolica B., Furtunescu F., Manuc M., Popa M.I., 2008. West Nile fever in a patient in Romania, August 2008: case report. *Euro Surveill.*, 13(39), pii: 18989.

Pradier J., 2006. Mise en place de la surveillance entomologique du virus West Nile en Guadeloupe, en 2004, Thèse de doctorat vétérinaire, Université P. Sabatier, Toulouse, 60 p.

Pradier S., 2006. Facteurs de risque environnementaux de la circulation du virus West Nile: étude des foyers équités du Var et de la Camargue, Master Méthodes et Recherche en Environnement et Santé, Université J. Fourier, Grenoble, 56 p.

Pradier S., Leblond A., Durand B., 2008. Biodiversity landscape metrics and West Nile virus circulation in southern France. *Vector Borne Zoon. Dis.*, 8 (2), 253-263.

Prince H.E., Tobler L.H., Lapé-Nixon M., Foster G.A., Stramer S.L., Busch M.P., 2005. Development and persistence of West Nile virus-specific immunoglobulin M (IgM), IgA, and IgG in viremic blood donors. *J. Clin. Microbiol.*, 43 (9), 4316-4320.

Prince S., Zeidman A., 2007. FUO (fevr of unknown origin) as a presenting sign of West Nile fever. *Harefuah*, 146, 636-638, 644.

Puig-Basagoiti F., Tilgner M., Bennett C.J., Zhou Y., Muñoz-Jordán J.L., García-Sastre A., Bernard K.A., Shi P.Y., 2007. A mouse cell-adapted NS4B mutation attenuates West Nile virus RNA synthesis. *Virology*, 361 (1), 229-241.

Pupo M., Guzman M.G., Fernandez R., Llop A., Dickinson F.O., Perez D., Cruz R., Gonzalez T., Estevez G., Gonzalez H., Santos P., Kouri G., Andonova M., Lindsay R., Artsob H., Drebot M., 2006. West Nile Virus Infection in Humans and Horses, Cuba. *Emerg. Infect. Dis.*, 12 (6), 1022-1024.

Q

Quirin R., Salas M., Zientara S., Zeller H., Labie J., Murri S., Lefrançois T., Petitclerc M., Martínez D., 2004. West Nile virus, Guadeloupe. *Emerg. Infect. Dis.*, 10 (4), 706-708.

R

Rageau J., Mouchet J., 1967. Les arthropodes hématophages de Camargue. *Cahiers - ORS-TOM. Entomologie médicale*, V (4), 263-281.

Rageau J., Mouchet J., Abonnenc E., 1970. Répartition géographique des moustiques (Diptera : Culicidae) en France. *Cahiers - ORS-TOM. Entomologie médicale*, 3 (3), 289-317.

Randolph S.E., Gern L., Nuttall P.A., 1996. Co-feeding Ticks: Epidemiological Significance for Tick-borne Pathogen Transmission. *Parasitology today*, 12 (12), 472-479.

Rappole J.H., Hubalek Z., 2003. Migratory birds and West Nile virus. *J. Applied Microbiol.*, 94 Suppl 1, 47-58.

Rappole J.H., Derrickson S., Hubalek Z., 2000. Migratory birds and spread of West Nile virus in the Western Hemisphere. *Emerg. Infect. Dis.*, 6, 319-328.

Rappole J.H., Compton B.W., Leimgruber P., Robertson J., King D.I., Renner S.C., 2006. Modeling Movement of West Nile Virus in the Western Hemisphere. *Vector Borne Zoonotic Dis.*, 6 (2), 128-139.

Ratterree M.S., Gutierrez R.A., Travassos da Rosa A.P., Dille B.J., Beasley D.W., Bohm R.P., Desai S.M., Didier P.J., Bikenmeyer L.G., Dawson G.J., Leary T.P., Schochetman G., Phillippi-Falkenstein K., Arroyo J., Barrett A.D., Tesh R.B., 2004. Experimental infection of rhesus macaques with West Nile virus: level and duration of viremia and kinetics of the antibody response after infection. *J. Infect. Dis.*, 189 (4), 669-676.

Reisen W.K., 1990. North American mosquito-borne arboviruses: questions of persistence and amplification. *Bulletin of the Society for Vector Ecology*, 15 (1), 11-21.

Reisen W.K., Meyer R.P., Milby M.M., 1986. Overwintering Studies in *Culex tarsalis* (Diptera: Culicidae) in Kern County, California: Temporal Changes in Abundance and Reproductive Status with Comparative Observations on *C. quinquefasciatus* (Diptera: Culicidae). *Annals of the Entomological Society of America*, 79 (4), 677-685.

Reisen W.K., Hardy J.L., Presser S.B., 1992. Evaluation of domestic pigeons as sentinels pigeons as sentinels for detecting arbovirus activity in southern California. *Am. J. Trop. Med. Hyg.*, 46 (1), 69-79.

Reisen W.K., Chiles R.E., Green E.N., Fang Y., Mahmood F., Martinez V.M., Laver T., 2003. Effects of immunosuppression on encephalitis virus infection in the house finch, *Carpodacus mexicanus*. *J. Med. Entomol.*, 40 (2), 206-214.

Reisen W.K., Lothrop H.D., Chiles R.E., Madon M.B., Cossen C., Woods L., Husted S., Kramer V., Edman J.D., 2004. West Nile

- Virus in California. *Emerg. Infect. Dis.*, 10 (8), 1369-1378.
- Reisen W., Wheeler S., Yamamoto S., Fang Y., Garcia S., 2005.** Nesting Ardeid colonies are not a focus of elevated West Nile virus activity in southern California. *Vector Borne Zoonotic Dis.*, 5, 258-266.
- Reisen W.K., Fang Y., Martinez V.M., 2005.** Avian host and mosquito (Diptera: Culicidae) vector competence determine the efficiency of West Nile and St. Louis encephalitis virus transmission. *J. Med. Entomol.*, 42 (3), 367-375.
- Reisen W.K., Fang Y., Lothrop H.D., Martinez V.M., Wilson J., O'Connor P., Carney R., Cahoon-Young B., Shafii M., Brault A.C., 2006a.** Overwintering of West Nile Virus in Southern California. *J. Med. Entomol.*, 43 (2), 344-355.
- Reisen W.K., Barker C.M., Carney R., Lothrop H.D., Wheeler S.S., Wilson J.L., Madon M.B., Takahashi R., Carroll B., Garcia S., Fang Y., Shafii M., Kahl N., Ashtari S., Kramer V., Glaser C., Jean C., 2006b.** Role of Corvids in Epidemiology of West Nile Virus in Southern California. *J. Med. Entomol.*, 43 (2), 356-367.
- Reisen W.K., Fang Y., Martinez V., 2007a.** Is nonviremic transmission of West Nile virus by Culex mosquitoes (Diptera: Culicidae) nonviremic? *J. Med. Entomol.*, 44 (2), 299-302.
- Reisen W.K., Brault A.C., Martinez V.M., Fang Y., Simmons K., Garcia S., Omi-Olsen E., Lane R.S., 2007b.** Ability of transstadially infected Ixodes pacificus (Acari: Ixodidae) to transmit West Nile virus to song sparrows or western fence lizards. *J. Med. Entomol.*, 44 (2), 320-327.
- Reisen W.K., Wheeler S., Armijos M.V., Fang Y., Garcia S., Kelley K., Wright S., 2009.** Role of Communally Nesting Ardeid Birds in the Epidemiology of West Nile Virus Revisited. *Vector Borne Zoonotic Dis.*, 9 (3), 275-280.
- Reiter P., 2001.** Climate change and mosquito-borne disease. *Environ. Health Perspect.*, 109 Suppl 1, 141-161.
- Resnick M.P., Grunenwald P., Blackmar D., Hailey C., Bueno R., Murray K.O., 2008.** Juvenile dogs as potential sentinels for West Nile virus surveillance. *Zoonoses Public Health*, 55 (8-10), 443-447.
- Rios M., Daniel S., Chancey C., Hewlett I.K., Stramer S.L., 2007.** West Nile virus adheres to human red blood cells in whole blood. *Clin. Infect. Dis.*, 45 (2), 181-186.
- Rioux J.A., 1958.** *Les Culicidés du "Midi méditerranéen". Etude systématique et écologique*, Encyclopédie entomologique XXXV, Editions Paul Lechevalier, Paris, 303 p.
- Rioux J.A., Arnold M., 1955.** *Les Culicidés de Camargue (étude systématique et écologique)*, La Terre et la vie. Revue d'histoire naturelle, Société Nationale d'Acclimatation, Paris, 42 p.
- Rioux J.A., Croset H., Gras G., Juminer B., Tesson G., 1965.** Les problèmes théoriques et pratiques posés par la lutte contre *Culex pipiens* L. dans le sud de la France. *Archives de l'Institut Pasteur de Tunis*, 42, 473-500.
- Ritchie B.W., 1995.** *Avian viruses: function and control*, Wingers Publishing, Inc., Lake Worth, Florida, USA, 525 p.
- Rizzo C., Salcuni P., Nicoletti L., Ciufolini M., Russo F., Masala R., Frongia O., Finarelli A., Gramegna M., Gallo L., Pompa M., Rezza G., Salmaso S., Declich S., 2012.** Epidemiological surveillance of West Nile neuroinvasive diseases in Italy, 2008 to 2011. *Euro Surveill.*, 17 (20), pii: 20172.
- Rizzo C., Vescio F., Declich S., Finarelli A.C., Macini P., Mattivi A., Rossini G., Piovesan C., Barzon L., Palu G., Gobbi F., Macchi L., Pavan A., Magurano F., Ciufolini M.G., Nicoletti L., Salmaso S., Rezza G., 2009.** West Nile virus transmission with human cases in Italy, August - September 2009. *European communicable disease bulletin*, 14 (40).
- Rizzoli A., Rosà R., Rosso F., Buckley A., Gould E., 2007.** West Nile virus circulation detected in northern Italy in sentinel chickens. *Vector Borne Zoonotic Dis.*, 7(3), 411-417.
- Roberts R.S., Foppa I.M., 2006.** Prediction of Equine Risk of West Nile Virus Infection Based on Dead Bird Surveillance. *Vector Borne Zoonotic Dis.*, 6 (1), 1-6.
- Robich R.M., Denlinger D.L., 2005.** Diapause in the mosquito *Culex pipiens* evokes a metabolic switch from blood feeding to sugar gluttony. *Proc. Natl Acad. Sci. USA*, 102 (44), 15912-15917.
- Robinson R., Shahida S., Madan N., Rao S., Khardori N., 2003.** Transient parkinsonism in West Nile virus encephalitis. *Am. J. Med.*, 115, 252-253.
- Roche B., Guegan J.-F., Bousquet F., 2008.** Multi-agent systems in epidemiology: a first step for computational biology in the study of vector-borne disease transmission. *BMC Bioinformatics*, 9, 435.
- Rochlin I., Harding K., Ginsberg H.S., Campbell S.R., 2008.** Comparative analysis of distribution and abundance of West Nile and eastern equine encephalomyelitis virus vectors in Suf-

folk County, New York, using human population density and land use/cover data. *J. Med. Entomol.*, 45(3), 563-571.

Rodhain F., 1998. La notion de réservoir naturel en abovirologie. *Bull. Soc. Pathol. Exot.*, 91 (4), 279-282.

Rodhain F., Perez C., 1985. *Précis d'entomologie médicale et vétérinaire*, Maloine éditeur, Paris, 458 p.

Rodhain F., Petter J.J., Albignac R., Coulanges P., Hannoun C., 1985. Arboviruses and Lemurs in Madagascar: experimental infection of *Lemur fulvus* with Yellow fever and West Nile virus. *Am. J. Trop. Med. Hyg.*, 34 (4), 816-822.

Rodrigues F.M., Guttikar S.N., Pinto B.D., 1981. Prevalence of antibodies to Japanese encephalitis and West Nile viruses among wild birds in the Krishna-Godavari Delta, Andhra Pradesh, India. *Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.*, 75 (2), 258-262.

Roehrig J.T., Nash D., Maldin B., Labowitz A., Martin D.A., Lanciotti R.S., Campbell G.L., 2003. Persistence of virus-reactive serum immunoglobulin M antibody in confirmed west nile virus encephalitis cases. *Emerg. Infect. Dis.*, 9 (3), 376-379.

Rogers D., Randolph S., 2006. Climate change and vector-borne diseases. *Adv. Parasitol.*, 62, 346-384.

Rollin P.E., Rollin D., Martin P., Baylet R., Rodhain F., Hannoun C., 1982. Résultats d'enquêtes séroépidémiologiques récentes sur les arboviroses en Camargue : populations humaines, équines, bovines et aviaires. *Médecine et maladies infectieuses*, 12 (2), 77-80.

Roman E., 1937. Sur quelques Arthropodes vulnérants récoltés en Camargue. *Bulletin de la Société entomologique de France*, 42, 131-136.

Roos K., 2004. West Nile encephalitis and myelitis. *Curr. Opin. Neurol.*, 17, 343-346.

Root J., Oesterle P., Nemeth N., Klenk K., Gould D., 2006. Experimental infection of fox squirrels (*Sciurus niger*) with West Nile virus. *Am. J. Trop. Med. Hyg.*, 75, 697-701.

Rosen L., 1987. Overwintering mechanisms of mosquito-borne arboviruses in temperate climates. *Am. J. Trop. Med. Hyg.*, 37 (3), 69S-76S.

Rosen L., Jih-Ching L., Shroyer D.A., Baker R.H., Lu L.-C., 1989. Experimental vertical transmission of Japanese Encephalitis virus by *Culex tritaeniorhynchus* and other mosquitoes. *Am. J. Trop. Med. Hyg.*, 40 (5), 548-556.

Ruiz M., Walker E., Foster E., Haramis L., Kitron U., 2007. Association of West Nile virus

illness and urban landscapes in Chicago and Detroit. *Int. J. Health Geographics*, 6, 10.

Ruiz M.O., Tedesco C., McTighe T.J., Austin C., Kitron U., 2004. Environmental and social determinants of human risk during a West Nile virus outbreak in the greater Chicago area, 2002. *Int. J. Health Geographics*, 3, 8-19.

S

Sabio I.J., Mackay A.J., Roy A., Foil L.D., 2006. Detection of West Nile Virus RNA in Pools of Three Species of Ceratopogonids (Diptera: Ceratopogonidae) Collected in Louisiana. *J. Med. Entomol.*, 43 (5), 1020-1022.

Sampathkumar P., 2003. West Nile virus: epidemiology, clinical presentation, diagnosis, and prevention. *Mayo Clin. Proc.*, 78, 1137-1143.

Samuel M., Diamond M., 2005. Type I IFN protects against lethal West Nile virus infection by restricting cellular tropism and enhancing neuronal survival. *J. Virol.*, 79, 13350-13361.

Samuel M., Wang H., Siddharthan V., Morrey J., Diamond M., 2007. Axonal transport mediates West Nile virus entry into the central nervous system and induces acute flaccid paralysis. *Proc. Natl Acad. Sci.*, 104, doi.10.1073.

Savage H., Ceianu C., Nicolescu G., Karabatsos N., Lanciotti R., 2000. Entomologic and avian investigations of an epidemic of West Nile fever in Romania in 1996, with serologic and molecular characterization of a virus isolate from mosquitoes. *Am. J. Trop. Med. Hyg.*, 61,600-11. Erratum 62, 162.

Savage H.M., 2005. Classification of Mosquitoes in Tribe Aedini (Diptera: Culicidae): Paraphylyphobia, and Classification Versus Cladistic Analysis. *J. Med. Entomol.*, 42 (6), 923-927.

Savage H.M., Ceianu C., Nicolescu G., Karabatsos N., Lanciotti R., Vladimirescu A., Laiv L., Ungureanu A., Romanca C., Tsai T.F., 1999. Entomologic and avian investigations of an epidemic of West Nile fever in Romania in 1996, with serologic and molecular characterization of a virus isolate from mosquitoes. *Am. J. Trop. Med. Hyg.*, 61 (4), 600-611.

Savini G., Monaco F., Calistri P., Lelli R., 2008. Phylogenetic analysis of West Nile virus isolated in Italy in 2008. *Euro Surveill.*, 13(48), pii: 19048.

Sbrana E., Tonry J.H., Xiao S.Y., da Rosa A.P., Higgs S., Tesh R.B., 2005. Oral transmission of West Nile virus in a hamster model. *Am. J. Trop. Med. Hyg.*, 72 (3), 325-329.

- Schaffner F., Angel G., Geoffroy B., Hervy J.P., Rhaïem A., Brunhes J., 2001.** Les moustiques d'Europe : logiciel d'identification et d'enseignement, IRD Editions, Montpellier.
- Schaffner F., Kaufmann C., Hegglin D., Mathis A., 2009.** The invasive mosquito *Aedes japonicus* in Central Europe. *Med. Vet. Entomol.*, 23, 448-451.
- Schindler S., Poirazidis K., Wrška T., 2008.** Toward a core set of landscape metrics for biodiversity assessments: a case study from Dadia national park, Greece. *Ecol. Indic.*, 8 (5), 502-514.
- Schmidt J.R., El Mansoury H.K., 1963.** Natural and experimental infection of Egyptian equines with West Nile virus. *Ann. Trop. Med. Parasitol.*, 57, 415-427.
- Schmidt J.R., Said M.I., 1964.** Isolation of West Nile Virus from the African Bird Argasid, *Argas Reflexus Hermannii*, in Egypt. *J. Med. Entomol.*, 39, 83-86.
- Schmidt K.A., Ostfeld R.S., 2000.** Biodiversity and the dilution effect in disease ecology. *Ecology*, 82 (3), 609-619.
- Schneider B., McGee C., Jordan J., Stevenson H., Soong L., Higgs S., 2007.** Prior exposure to uninfected mosquitoes enhances mortality in naturally-transmitted West Nile virus infection. *PLoS ONE*, 2, e1171.
- Schneider W.L., Roossinck M.J., 2001.** Genetic diversity in RNA virus quasispecies is controlled by host-virus interactions. *J. Virol.*, 75 (14), 6566-6571.
- Schuffenecker I., Peyrefitte C., El Harrak M., Murri S., Leblond A., Zeller H., 2004.** Re-emergence of West Nile virus (WNV) in Morocco in 2003: evidence for genetic stability of the WNV strains involved in equine outbreaks in the Western Mediterranean basin. *Emerg. Infect. Dis.*, 11, 306-309.
- Schuffenecker I., Peyrefitte C.N., El Harrak M., Murri S., Leblond A., Zeller H.G., 2005.** West Nile virus in Morocco, 2003. *Emerg. Infect. Dis.*, 11 (2), 306-309.
- Scott T.W., Edman J.D., 1991.** Effects of avian host age and arbovirus infection on mosquito attraction and blood-feeding success. In: *Bird Parasite Interactions* (Loye J.E., Zuk M., eds.), Oxford University Press, Oxford, pp. 179-204.
- Scott T.W., Lorenz L.H., Edman J.D., 1990.** Effects of house sparrow age and arbovirus infection on attraction of mosquitoes. *J. Med. Entomol.*, 27 (5), 856-863.
- Séguy M.E., 1925.** Notes sur les moustiques de l'Afrique mineure, de l'Égypte et de la Syrie. I. *Encyclopédie entomologique - Série B. Mémoires et notes*. 2. *Diptera*, 2 (1), 13-21.
- Sejvar J., 2007.** The long-term outcomes of human West Nile virus infection. *Clin. Infect. Dis.*, 44 (12), 1617-1624.
- Sejvar J., Bode A., Marfin A., Campbell G., Ewing D., Mazowiecki M., Pavot P., Schmitt J., Pape J., Biggerstaff B., Petersen L., 2005.** West Nile virus-associated flaccid paralysis. *Emerg. Infect. Dis.*, 11, 1021-1027.
- Shaman J., Day J.F., Stieglitz M., 2005.** Drought-induced amplification and epidemic transmission of West Nile virus in southern Florida. *J. Med. Entomol.*, 42, 134-141.
- Shrestha B., Gottlieb D., Diamond M., 2003.** Infection and injury of neurons by West Nile encephalitis virus. *J. Virol.*, 77, 13203-13213.
- Shrestha B., Wang T., Samuel M., Whitby K., Craft J., Fikrig E., Diamond M., 2006.** Gamma interferon plays a crucial early antiviral role in protection against West Nile virus infection. *J. Virol.*, 80, 5338-5348.
- Smith R.D., Konoplev S., DeCourten Myers G., Brown T., 2004.** West Nile virus encephalitis with myositis and orchitis. *Human Pathol.*, 35 (2), 254-8.
- Smithburn K.C., Hughes T.P., Burke A.W., Paul J.H., 1940.** A neurotropic virus isolated from the blood of a native of Uganda. *Am. J. Trop. Med. Hyg.*, 20, 471-492.
- Smithburn K.C., Taylor R.M., Rizk F., Kader A., 1954.** Immunity to certain arthropod-borne viruses among indigenous residents of Egypt. *Am. J. Trop. Med. Hyg.*, 3 (1), 9-18.
- Sobrinho F., Dávila M., Ortín J., Domingo E., 1983.** Multiple genetic variants arise in the course of replication of foot-and-mouth disease virus in cell culture. *Virology*, 128 (2), 310-318.
- Solomon T., Fisher A., Beasley D., 2003.** Natural and nosocomial infection in a patient with West Nile encephalitis and extrapyramidal movement disorders. *Clin. Infect. Dis.*, 36, e140-145.
- Sotelo E., Fernandez-Pinero J., Llorente F., Agüero M., Hoeffle U., Blanco J.M., Jiménez-Clavero M.A., 2009.** Characterization of West Nile virus isolates from Spain: new insights into the distinct West Nile virus eco-epidemiology in the Western Mediterranean. *Virology*, 395 (2), 289-297.
- Southam C.M., Moore A.E., 1954.** Induced virus infections in man by the Egypt isolates of West Nile virus. *Am. J. Trop. Med. Hyg.*, 3 (1), 19-50.

Spiegel R., Miron D., Gavriel H., Horovitz Y., 2002. West Nile virus meningoencephalitis complicated by motor aphasia in Hodgkin's lymphoma. *Arch. Dis. Child.*, 86, 441-442.

Spielman A., Andreadis T.G., Apperson C.S., Cornel A.J., Day J.F., Edman J.D., Fish D., Harrington L.C., Kiszewski A.E., Lampman R., Lanzaro G.C., Matuschka F.R., Munstermann L.E., Nasci R.S., Norris D.E., Novak R.J., Pollock R.J., Reisen W.K., Reiter P., Savage H.M., Tabachnick W.J., Wesson D.M., 2004. Outbreak of West Nile Virus in North America. *Science*, 306, 1473.

Steele K.E., Linn M.J., Schoepp R.J., Komar N., Geisbert T.W., Manduca R.M., Calle P.P., Raphael B.L., Clippinger T.L., Larsen T., Smith J., Lanciotti R.S., Panella N.A., McNamara T.S., 2000. Pathology of fatal West Nile virus infections in native and exotic birds during the 1999 outbreak in New York City, New York. *Vet. Pathol.*, 37 (3), 208-224.

Styer L.M., Bernard K.A., Kramer L.D., 2006. Enhanced early West Nile virus infection in young chickens infected by mosquito bite: effect of viral dose. *Am. J. Trop. Med. Hyg.*, 75 (2), 337-345.

Swayne D.E., Beck J.R., Smith C.S., Shieh W.J., Zaki S.R., 2001. Fatal encephalitis and myocarditis in young domestic geese (*Anser anser domesticus*) caused by West Nile virus. *Emerg. Infect. Dis.*, 7 (4), 751-753.

T

Tackett J., Charnigo R., Caldwell G., 2006. Relating West Nile virus case fatality rates to demographic and surveillance variables. *Public Health Rep.*, 121, 666-673.

Tahori A.S., Sterk V.V., Goldblum N., 1955. Studies on the dynamics of experimental transmission of West Nile virus by *Culex molestus*. *Am. J. Trop. Med. Hyg.*, 4 (6), 1015-1027.

Tardei G., Ruta S., Chitu V., Rossi C., Tsai T.F., Cernescu C., 2000. Evaluation of Immunoglobulin M (IgM) and IgG Enzyme Immunoassays in Serologic Diagnosis of West Nile Virus Infection. *J. Clin. Microbiol.*, 38 (6), 2232-2239.

Taylor D.J., Hurlbut H.S., 1953. Isolation of West Nile Virus from *Culex* Mosquitoes. *Journal of the Egyptian Medical Association*, 36 (3), 199-208.

Taylor R.M., Work T.H., Hurlbut H.S., Rizk F., 1956. A study of the ecology of West Nile virus in Egypt. *Am. J. Trop. Med. Hyg.*, 5 (4), 579-620.

Tber Abdelhaq A., 1996. West Nile fever in horses in Morocco. *Bulletin - OIE*, 11, 867-869.

Teehee M.L., Bunning M.L., Stevens S., Bowen R.A., 2005. Experimental infection of pigs with West Nile virus. *Arch. Virol.*, 150 (6), 1249-1256.

Tempelis C.H., Francy D.B., Hayes R.O., Lofy M.F., 1967. Variations in feeding patterns of seven culicine mosquitoes on vertebrate hosts in Weld and Larimer Counties, Colorado. *Am. J. Trop. Med. Hyg.*, 16 (1), 111-119.

Tesh R.B., Siirin M., Guzman H., Travassos da Rosa A.P., Wu X., Duan T., Lei H., Nunes M.R., Xiao S.Y., 2005. Persistent West Nile virus infection in the golden hamster: studies on its mechanism and possible implications for other flavivirus infections. *J. Infect. Dis.*, 192 (2), 287-295.

Thomas L., Eklund C., 1960. Overwintering of Western equine encephalitis virus in experimentally infected garter snakes and transmission to mosquitoes. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, 105, 52-55.

Thompson W.H., Beaty B.J., 1976. Veneral Transmission of La Crosse (California Encephalitis) Arbovirus in *Aedes triseriatus* Mosquitoes. *Science*, 196 (4289), 530-531.

Tiawsirisup S., Platt K.B., Evans R.B., Rowley W.A., 2005a. A comparison of West Nile virus transmission by *Ochlerotatus trivittatus* (Coq.), *Culex pipiens* (L.), and *Aedes albopictus* (Skuse). *Vector Borne Zoonotic Dis.*, 5 (1), 40-47.

Tiawsirisup S., Platt K.B., Tucker B.J., Rowley W.A., 2005b. Eastern cottontail rabbits (*Sylvilagus floridanus*) develop West Nile viremia sufficient for infecting select mosquito species. *Vector Borne Zoonotic Dis.*, 5 (4), 342-350.

Tonry J.H., Brown C.B., Cropp C.B., Co J.K., Bennett S.N., Nerurkar V.R., Kuberski T., Gubler D.J., 2005. West Nile virus detection in urine. *Emerg. Infect. Dis.*, 11 (8), 1294-1296.

Tran A., Gaidet N., L' Ambert G., Balenghien T., Balança G., Chevalier V., Soti V., Ivanec C., Etter E., Schaffner F., Baldet T., de la Rocque S., 2007. The use of remote sensing for the ecological description of multi-host disease systems: a case study on West Nile virus in southern France. *Veterinaria Italiana* 43 (3), 687-697.

Triki H., Murri S., Le Guenno B., Bahri O., Hili K., Sidhom M., Dellagi K., 2001. Méningo-encéphalite à arbovirus West Nile en Tunisie. *Médecine tropicale : revue du Corps de santé colonial*, 61 (6), 487-490.

Tritz P., Leblond A., Lecollinet A., 2009. Maladie du Nil Occidental ou de West Nile chez

le cheval en 48 questions. *Bulletin du Réseau d'Épidémiologie et de Surveillance en pathologie Équine*, 26.

Trouillet A., 2008. *Développement d'une méthodologie appliquée à la localisation des gîtes de ponte des moustiques, vecteurs du virus West Nile, en Camargue*, Mémoire de Master 2 Pro : Gestion des risques naturels et technologiques, Université de Provence, Aix-Marseille I, 45 p. Direction: A. Sandoz et D.J. Bicout.

Tsai T.F., Popovici F., Cernescu C., Campbell G.L., Nedelcu N.I., 1998. West Nile encephalitis epidemic in southeastern Romania. *Lancet*, 352 (9130), 767-771.

Turell M.J., Dohm D.J., Sardelis M.R., O'Guinn M.L., Andreadis T.G., Blow J.A., 2005. An update on the potential of North American mosquitoes (Diptera: Culicidae) to transmit West Nile Virus. *J. Med. Entomol.*, 42 (1), 57-62.

Turell M.J., O'Guinn M., Oliver J., 2000. Potential for New York mosquitoes to transmit West Nile virus. *Am. J. Trop. Med. Hyg.*, 62 (3), 413-4.

Turell M.J., Sardelis M.R., O'Guinn M.L., Dohm D.J., 2002. Potential vectors of West Nile virus in North America. *Curr. Top. Microbiol. Immunol.*, 267, 241-252.

Tyler K., Pape J., Goody R., Corkill M., Kleinschmidt-DeMasters B., 2006. CSF findings in 250 patients with serologically confirmed West Nile virus meningitides and encephalitis. *Neurology*, 66 (3), 361-365.

V

Vaispapir V., Blum A., Soboh S., Ashkenazi H., 2002. West Nile virus meningoencephalitis with optic neuritis. *Arch. Intern. Med.*, 162, 606-607.

van der Meulen K.M., Pensaert M.B., Nauwynck H.J., 2005. West Nile virus in the vertebrate world. *Arch. Virol.*, 150 (4), 637-657.

Vazquez A., Sanchez-Seco M.P., Ruiz S., Molero F., Hernandez L., Moreno J., Magallanes A., Tejedor C.G., Tenorio A., 2010. Putative new lineage of west nile virus, Spain. *Emerg. Infect. Dis.*, 16(3), 549-552.

Vázquez S., Guzmán M.G., Guillen G., Chinae G., Pérez A.B., Pupo M., Rodríguez R., Reyes O., Garay H.E., Delgado I., García G., Alvarez M., 2002. Immune response to synthetic peptides of dengue prM protein. *Vaccine*, 20(13-14), 1823-1830.

Venter M., Myers T.G., Wilson M.A., Kindt T.J., Paweska J.T., Burt F.J., Leman P.A., Swa-

nepoel R., 2005. Gene expression in mice infected with West Nile virus strains of different neurovirulence. *Virology*, 342(1), 119-140.

Vermeil C., Lavillaureix J., Reeb E., 1958. Infection et transmission expérimentales du virus West Nile par *Ornithodoros coniceps* (Canestrini) de souche tunisienne. *Bull. Soc. Pathol. Exot.*, 51, 489-495.

Vermeil C., Lavillaureix J., Reeb E., 1960. Sur la conservation et la transmission du virus West Nile par des arthropodes. *Bull. Soc. Pathol. Exot.*, 53, 273-9.

Versteirt V., Schaffner F., Garros C., Dekoninck W., Coosemans M., Van Bortel W., 2009. Introduction and establishment of the exotic mosquito species *Aedes japonicus japonicus* (Diptera: Culicidae) in Belgium. *J. Med. Entomol.*, 46, 1464-1467.

Vinogradova E.B., 2000. *Culex pipiens pipiens mosquitoes: taxonomy, distribution, ecology, physiology, genetics, applied importance and control*, Series Parasitologica No 2, PENSOFT Publishers, Sofia-Moscow, 250 p.

W

Wallner G., Mandl C.W., Kunz C., Heinz F.X., 1995. The flavivirus 3'-noncoding region: extensive size heterogeneity independent of evolutionary relationships among strains of tick-borne encephalitis virus. *Virology*, 213 (1), 169-178.

Wang Y., Lobigs M., Lee E., Mullbacher A., 2003. CD8+ T cell mediate recovery and immunopathology in West Nile virus encephalitis. *J. Virol.*, 77, 13323-13334.

Ward M., Raim A., Yaremich-Hamer S., Lampan R., Novak R., 2006. Does the roosting behaviour of birds affect transmission dynamics of West Nile virus? *Am. J. Trop. Med. Hyg.*, 75, 350-355.

Ward M.P., 2005. Epidemic West Nile virus encephalomyelitis: a temperature-dependant, spatial model of disease dynamics. *Prev. Vet. Med.*, 71, 253-264.

Ward M.P., 2006. Spread of equine West Nile virus encephalomyelitis during the 2002 Texas epidemic. *Am. J. Trop. Med. Hyg.*, 74 (6), 1090-1095.

Ward M.P., Scheurmann J.A., 2008. The relationship between equine and human West Nile virus disease occurrence. *Vet. Microbiol.*, 129 (3-4), 378-383.

Ward M.P., Ramsay B.H., Gallo K., 2005. Rural cases of equine West Nile Virus encephalomyelitis and the Normalized Difference

- Vegetation Index. *Vector Borne Zoonotic Dis.*, 5 (2), 181-188.
- Waterhouse P.M., Wang M.B., Lough T., 2001.** Gene silencing as an adaptive defence against viruses. *Nature*, 411(6839), 834-42.
- Weaver S.C., Barrett A.D., 2004.** Transmission cycles, host range, evolution and emergence of arboviral disease. *Nature reviews. Microbiology*, 2, 789-801.
- Weinberger M., Pitlik S.D., 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., 2001.** West Nile fever outbreak, Israel, 2000: epidemiologic aspects. *Emerg. Infect. Dis.*, 7 (4), 686-691.
- Weinstein M., 2003.** Atypical West Nile virus infection in a child. *Pediatr. Infect. Dis. J.*, 22, 842-844.
- Weiss D., Carr D., Kellachan J., Tan C., Phillips M., Bresnitz E., Layton M., West Nile Virus Outbreak Response Working Group, 2000.** Clinical findings of West Nile virus infection in hospitalized patients, New York and New Jersey, 2000. *Emerg. Infect. Dis.*, 7 (4), 654-658.
- Weissenböck H., Kolodziejek J., Fragner K., Kuhn R., Pfeffer M., Nowotny N., 2003.** Usutu virus activity in Austria, 2001-2002. *Microbes Infect.*, 5 (12), 1132-1136.
- Weissenböck H., Kolodziejek J., Url A., Lussy H., Rebel-Bauder B., Nowotny N., 2002.** Emergence of Usutu virus, an African mosquito-borne flavivirus of the Japanese encephalitis virus group, central Europe. *Emerg. Infect. Dis.*, 8 (7), 652-656.
- Westaway E.G., 1965.** The neutralization of arboviruses. II. Neutralization in heterologous virus-serum mixtures with four group B arboviruses. *Virology*, 26 (4), 528-537.
- White D.J., Kramer L.D., Backenson P.B., Lukacik G., Johnson G., Oliver J.A., Howard J.J., Means R.G., Eidson M., Gotham I., Kulasekera V., Campbell S., 2001.** Mosquito surveillance and polymerase chain reaction detection of West Nile virus, New York State. *Emerg. Infect. Dis.*, 7 (4), 643-649.
- Whitman L., Aitken T.H., 1960.** Potentiality of *Ornithodoros moubata* Murray (Acarina, Argasidae) as a reservoir vector of West Nile Virus. *Ann. Trop. Med. Parasitol.*, 54, 192-204.
- WHO, 1961.** *Arthropod-borne viruses: report of a study group*, Geneva, 68 p.
- Wicker J.A., Whiteman M.C., Beasley D.W., Davis C.T., Zhang S., Schneider B.S., Higgs S., Kinney R.M., Barrett A.D., 2006.** A single amino acid substitution in the central portion of the West Nile virus NS4B protein confers a highly attenuated phenotype in mice. *Virology*, 349 (2), 245-253.
- Wobeser G., Wobeser A.G., 1992.** Carcass disappearance and estimation of mortality in a simulated die-off of small birds. *J. Wildl. Dis.*, 28 (4), 548-554.
- Wong S.J., Boyle R.H., Demarest V.L., Woodmansee A.N., Kramer L.D., Li H., Drebot M., Koski R.A., Fikrig E., Martin D.A., Shi P.Y., 2003.** Immunoassay targeting nonstructural protein 5 to differentiate West Nile virus infection from dengue and St. Louis encephalitis virus infections and from flavivirus vaccination. *J. Clin. Microbiol.*, 41 (9), 4217-4223.
- Wonham M.J., Lewis M.A., Renclawowicz J., van den Driessche P., 2006.** Transmission assumptions generate conflicting predictions in host-vector disease models: a case study in West Nile virus. *Ecology letters*, 9, 706-725.
- Woodall J.P., Gillett J.D., Corbet P.S., Weinbren M.P., Williams M.C., 1961.** The isolation of West Nile virus from the bird-biting mosquito *Mansonia metallica* in Uganda. *Ann. Trop. Med. Parasitol.*, 55, 398-402.
- Work T.H., 1971.** On the Japanese B-West Nile virus complex or an arbovirus problem of six continents. *Am. J. Trop. Med. Hyg.*, 20 (2), 169-186.
- Work T.H., Hurlbut H.S., Taylor R.M., 1953.** Isolation of West Nile virus from hooded crow and rock pigeon in the Nile delta. In: *Proceedings of the Society for Experimental Biology and Medicine*. Society for Experimental Biology and Medicine (New York), 84 (3), 719-722.
- Work T.H., Hurlbut H.S., Taylor R.M., 1955.** Indigenous wild birds of the Nile Delta as potential West Nile virus circulating reservoirs. *Am. J. Trop. Med. Hyg.*, 4 (5), 872-888.

X

Xiao S., Guzman H., Zhang H., Travassos da Rosa A., Tesh R., 2001. West Nile virus infection in the golden hamster (*Mesocricetus auratus*): a model for West Nile encephalitis. *Emerg. Infect. Dis.*, 7, 714-721.

Y

Yaeger M., Yoon K., Schwartz K., Berkland L., 2004. West Nile virus meningoencephalitis in a Suri alpaca and Suffolk ewe. *J. Vet. Diagn. Invest.*, 16, 64-66.

Yamshchikov G, Borisevich V, Seregin A, Chaporina E, Mishina M, Mishin V, Kwok C.W., Yamshchikov V., 2004. An attenuated West Nile prototype virus is highly immunogenic and protects against the deadly NY99 strain: a candidate for live WN vaccine development. *Virology*, 330(1), 304-312.

Yaremych S.A., Novak R., Raim A., Mankin P.C., Warner R.E., 2004. Home range and habitat use by American crows in relation to transmission of West Nile virus. *Wilson Bulletin*, 116 (3), 232-239.

Z

Zeller H.G., Murgue B., 2001. Rôle des oiseaux migrateurs dans l'épidémiologie du virus West Nile. *Médecine et maladies infectieuses*, 31 (Suppl 2), 168-174.

Zeller H.G., 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 (3), 147-156.

Zeller H., Zientara S., Hars J., Languille J., Mailles A., Tolou H., Paty M.C., Schaffner F., Armengaud A., Gaillan P., Legras J.F., Hen-

drikx P., 2004. West Nile outbreak in horses in Southern France: September 2004. *EuroSurveillance*, 9, 50-51.

Zhang W., Wu J., Li Y., Li F., Njoo H., 2009. Rapid and accurate in vitro assays for detection of West Nile virus in blood and tissues. *Transfus. Med. Rev.*, 23(2), 146-154.

Zientara S., 2000. Epizootie à virus West Nile en France. *Epidémiol. Santé Anim.*, 37, 121-125.

Zientara S., Leblond A., 2002. Surveillance de la circulation du virus West Nile dans la population équine de la région Camargue 2002, AFSSA/ENVL, 5 p.

Zientara S., Dufour B., Zeller H., Murgue B., Murri S., Labie J., Durand B., 2001. L'encéphalopathie à "West-Nile": le point sur l'épizootie en 2000 dans le sud de la France. *Bulletin des GTV*, 11, 295-298.

Zientara S., Baldet T., Durand B., Hars J., Lagneau C., de Lamballerie X., Murgue B., Reiter P., Zeller H., 2004a. Rapport sur la surveillance de l'infection à virus West Nile en France, AFSSA, 48 p.

Zientara S., Durand B., Mailles A., 2004b. Lutte concertée contre l'infection à virus West Nile. *Epidémiologie et Santé Animale*, 46, 63-66.

Liste des auteurs

Alexis ARMENGAUD

Médecin épidémiologiste

Agence régionale de santé Paca et Institut de veille sanitaire

alexis.armengaud@ars.sante.fr

Thomas BALENGHIEN

Entomologiste médical

UMR CMAEE, Cirad/Inra, 34398 Montpellier

thomas.balenghien@cirad.fr

Dominique J. BICOUT

Physicien, modélisation dans les systèmes complexes et risques sanitaires

Biomathématiques et Epidémiologie, EPSP, TIMC – IMAG

VetAgro Sup Campus vétérinaire de Lyon

dominique.bicout@vetagro-sup.fr

Isabelle CAPEK

Médecin épidémiologiste

Institut de veille sanitaire

isabelle.capek@free.fr

Benoît DURAND

Epidémiologiste

Agence nationale de sécurité sanitaire, Laboratoire de santé animale

benoit.durand@anses.fr

Florence FOUQUE

Entomologiste

Laboratoire d'entomologie médicale

Unité Environnement Santé, Institut Pasteur de Guadeloupe

ffouque@pasteur-guadeloupe.fr

Michel GAUTHIER-CLERC

Écologie de la conservation et de la santé

Fondation Tour du Valat

gauthier-clerc@tourduvalat.org

Marc GRANDADAM

Virologiste médical, ancien adjoint du CNR des arbovirus (Institut Pasteur, Paris)

Laboratoire des arbovirus et maladies virales émergentes

Institut Pasteur du Laos

m.grandadam@pasteur.la

Jean HARS

Inspecteur en chef de la santé publique vétérinaire spécialisé dans l'épidémiologie des maladies de la faune sauvage
Office National de la Chasse et de la Faune Sauvage / Direction Études et Recherche /
Unité sanitaire de la faune
jean.hars@oncfs.gouv.fr

Elsa JOURDAIN

Épidémiologie animale
UR346, Inra, 63122 Saint-Genès-Champanelle
elsa.jourdain@clermont.inra.fr

Grégory L'AMBERT

Entomologiste médical (spécialités : vecteurs du virus *West Nile*, *Aedes albopictus*)
EID Méditerranée, Direction technique
glambert@eid-med.org

Agnès LEBLOND

Vétérinaire, médecine interne des équidés
Inra, UR346 Épidémiologie animale, 63122 Saint-Genès-Champanelle.
Equine Department, Vetagrosup, University of Lyon, 69280 Marcy l'Étoile
agnes.leblond@vetagro-sup.fr

Sylvie LECOLLINET

Virologie
Anses, Laboratoire de Santé Animale, UMR1161 Virologie, Inra,
École nationale vétérinaire Alfort, Maisons-Alfort
slecollinet@vet-alfort.fr

Sophie PRADIER

Maître de conférences en médecine interne des équidés
Inra, UR346 Épidémiologie animale, 63122 Saint-Genès-Champanelle
Equine Department, Vetagrosup, University of Lyon, 69280 Marcy l'Étoile
s.pradier@envt.fr

Charlotte RENAUDAT

Médecin épidémiologiste
Institut Pasteur, Paris
charlotte.renaudat@pasteur.fr

Philippe SABATIER

Agronomie, épidémiologie mathématique
Biomathématiques et Epidémiologie, EPSP, TIMC – IMAG
VetAgro Sup Campus vétérinaire de Lyon
philippe.sabatier@vetagro-sup.fr

Alain SANDOZ

Sciences géographiques et dynamiques paysagères
Centre de recherche pour la conservation des zones humides méditerranéennes,
La Tour du Valat, Le Sambuc, 13200 Arles
sandoz@tourduvalat.org

Francis SCHAFFNER

Entomologiste médical et vétérinaire

Institut de Parasitologie, Université de Zurich, Suisse

Avia-GIS, Agriculture and Veterinary Intelligence and Analysis, Zoersel, Belgique

francis.schaffner@uzh.ch

Annelise TRAN

Télédétection et modélisation spatiale

Cirad, UPR AGIRs (Animal et gestion intégrée des risques), UMR TETIS (Territoires, environnement, télédétection et information spatiale), Montpellier

annelise.tran@cirad.fr

Stéphan ZIENTARA

Virologue

UMR 1161 Anses/Inra/ENVA, 94703 Maisons-Alfort

szientara@vet-alfort.fr



Depuis une trentaine d'années, on constate partout dans le monde une recrudescence des zoonoses, ces infections transmises entre les animaux et capables de contaminer des populations humaines de plus en plus nombreuses.

Dans ce contexte, que savons-nous du virus du Nil occidental (*West Nile virus*) ? Certains aiment à croire que Alexandre le Grand, élève d'Aristote, en serait mort à son retour à Babylone en 323 avant J.-C. après son périple asiatique. De nos jours, ce virus, transmis par des moustiques, est devenu un vrai problème de santé publique sur le continent américain, notamment aux États-Unis depuis son apparition à New York en 1999. Quelle est la situation en France ? Des cas de fièvre *West Nile* ont-ils été identifiés ? Quels sont les systèmes de surveillance et les axes de recherches ?

En France, le virus *West Nile* a été décrit pour la première fois à l'occasion de la découverte de cas humains et d'épizooties équine dans les années 1960. Après presque quarante ans de silence apparent, le virus a réapparu dans le sud du pays (Camargue, Var, Pyrénées-Orientales) au début des années 2000.

Destiné aux spécialistes des zoonoses et aux chercheurs, ainsi qu'aux enseignants et aux étudiants, cet ouvrage fait l'état des lieux de nos connaissances sur ce virus, notamment en France. Il ouvre des pistes de réflexion et d'investigation sur cette maladie. Organisé en neuf chapitres, il est construit à partir des contributions de scientifiques, intégrant des travaux de recherche en master et en thèse, et des acteurs qui étudient les différents aspects de l'éco-épidémiologie du virus *West Nile*.

Dominique J. Bicout, physicien, travaille sur la modélisation des systèmes complexes en biophysique et dans l'évaluation des risques sanitaires, notamment sur les mécanismes et processus de l'émergence des zoonoses et l'exposition aux substances chimiques.



Université
Joseph Fourier
GRENoble



39 €

ISBN : 978-2-7592-1968-1

éditions
Quæ

Éditions Cirad, Ifremer, Inra, Irstea
www.quae.com



ISSN : 1777-4624
Réf. : 02383