

Rapport sur la surveillance de l'infection à virus West Nile en France

■ **Coordonnateurs de rédaction**

Madame Anne-Marie HATTENBERGER

Madame Françoise GAUCHARD

■ **Secrétariat administratif**

Madame Sheila GROS-DESIRS

Composition du groupe de travail sur la surveillance de l'infection à virus West Nile en France

■ Président

M. Stephan ZIENTARA

Unité virologie des équidés et des affections virales émergentes et ré émergentes
Afssa LERPAZ – site de Maisons Alfort

■ Membres du groupe de travail

M. Thierry BALDET

Entomologie/santé environnement
CIRAD-EMVT Montpellier

M. Benoît DURAND

Unité épidémiologie
Afssa LERPAZ – site de Maisons Alfort

M. Jean HARS

Unité sanitaire de la faune
ONCFS Direction des études et de la recherche, Grenoble

M. Christophe LAGNEAU

Entente interdépartementale de démoustication, Montpellier

M. Xavier de LAMBALLERIE

U.F.R. de Médecine, Marseille

Mme Bernadette MURGUE

Institut de recherche pour le développement, Paris

M. Paul REITER

Insectes et Maladies infectieuses
Institut Pasteur, Paris

M. Hervé ZELLER

Responsable du Centre National de Référence des Arbovirus et Fièvres Hémorragiques Virales
Institut Pasteur, Lyon

■ Agence française de sécurité sanitaire des aliments

Mme Anne-Marie HATTENBERGER

Afssa - Chargée de mission auprès du directeur de la santé animale et du bien-être des animaux
Secrétariat scientifique du Comité d'experts spécialisé santé animale

Mme Françoise GAUCHARD

Afssa - Direction de l'évaluation des risques nutritionnels et sanitaires
Unité d'appui épidémiologique à l'analyse de risque

■ Remerciements et excuses

Les auteurs tiennent à remercier **Agnès Hursault** pour son rapport relatif à la surveillance du virus West Nile en France (rapport effectué dans le cadre d'un stage de l'ENSV en juin 2003), **Dominique Martinez** et **Thierry Le François** (CIRAD-EMVT Guadeloupe).

Xavier de Lamballerie et **Paul Reiter**, prévus lors de la décision de création de ce groupe de travail, n'ont pas eu la disponibilité nécessaire pour participer aux réunions du groupe et à la rédaction de ce rapport.

La décision de la création du groupe de travail sur la surveillance de l'infection à virus West Nile en France

AGENCE FRANÇAISE DE SECURITÉ SANITAIRE DES ALIMENTS

Décision n°468 relative au groupe de travail « West Nile »

Le directeur général de l'Agence française de sécurité sanitaire des aliments,
Vu le code de la santé publique, et notamment ses articles L.1323-4 et R.794-23 ;
Vu le décret n°99-242 du 26 mars 1999 relatif à l'organisation et au fonctionnement de l'Agence française de sécurité sanitaire des aliments ;
Vu l'arrêté du 23 août 2000 relatif aux comités d'experts spécialisés placés auprès de l'Agence française de sécurité sanitaire des aliments ;
Vu l'arrêté du 30 août 2000 portant nomination aux comités d'experts spécialisés placés auprès de l'Agence française de sécurité sanitaire des aliments ;
Vu la règlement intérieur de l'Agence française de sécurité sanitaire des aliments.

DECIDE :

Article premier.

Il est créé sur proposition du comité d'experts spécialisé « Santé animale » lors de la réunion du 12 novembre 2003, un groupe de travail dénommé « West Nile », chargé, suite à l'émergence de cas humains concomitants avec des cas équin, d'expertiser les questions suivantes :

1. L'efficacité de la surveillance exercée depuis 2001 sur les chevaux et dans la faune sauvage pour détecter des signaux d'alerte et le suivi de l'évolution :
 - ⇒ validité scientifique : échantillonnage et détectabilité en fonction des taux de prévalence supposés, techniques analytiques et leurs limites, fréquence des prélèvements et zones géographiques surveillées
 - ⇒ lien avec l'épidémiologie humaine (InVS)
 - ⇒ efficacité opérationnelle : structuration du réseau, implication des acteurs
2. Les recommandations d'évolution de la surveillance sur ces différents points, prenant en compte l'éventuelle apparition de nouveaux cas humains et animaux.
3. La problématique spécifique aux Antilles.

Article 2. Le groupe de travail mentionné à l'article premier est composé des membres suivants :

- Membres du comité d'experts spécialisé « Santé animale » :
 - M. **Stéphan Zientara** Afssa Lerpaz, Unité virologie des équidés et des affections virales émergentes et réémergentes
- Autres experts :
 - M. **Thierry Baldet** CIRAD Montpellier, Entomologie/santé environnement
 - M. **Benoit Durand** Afssa Lerpaz, Unité épidémiologie
 - M. **Jean Hars** ONCFS Direction des études et de la recherche, Unité suivi sanitaire de la faune sauvage
 - M. **Christophe Lagneau** Entente interdépartementale de démoustication
 - M. **Xavier de Lamballerie** U.F.R. de Médecine, Marseille
 - M. **Paul Reiter** Institut Pasteur, Insectes et Maladies infectieuses
 - M. **Hervé Zeller** Responsable du Centre National de Recherches des Arbovirus et Fièvres Hémorragiques Virales UBIVE, CRMPL Lyon

Article 3. M. **Stéphan Zientara** est nommé président du groupe de travail mentionné à l'article premier.

Article 4. Les conclusions du groupe de travail seront présentées au comité d'experts spécialisé « Santé animale » dans un délai de trois mois à compter de la date de signature de la décision.

Article 5. Le secrétariat du groupe de travail mentionné à l'article premier est assuré par le secrétariat de comité d'experts spécialisé « Santé animale ».

Fait à Maisons-Alfort, le 17 NOV. 2003

Le Directeur général de l'Agence française de
sécurité sanitaire des aliments


Martin HIRSCH

AGENCE FRANÇAISE DE SECURITE SANITAIRE DES ALIMENTS

**Décision n°2004/01/51
relative au groupe de travail « West Nile »**

Le directeur général de l'Agence française de sécurité sanitaire des aliments,

Vu le code de la santé publique, et notamment ses articles L.1323-4 et R.1323-22 ;

Vu l'arrêté du 23 août 2000 relatif aux comités d'experts spécialisés placés auprès de l'Agence française de sécurité sanitaire des aliments ;

Vu l'arrêté du 4 juillet 2001 portant nomination au comité d'experts spécialisé « encéphalopathies spongiformes subaiguës transmissibles » placé auprès de l'Agence française de sécurité sanitaire des aliments ;

Vu la décision du 17 juillet 2003 établissant une liste d'experts auprès de l'Agence française de sécurité sanitaire des aliments ;

Vu l'arrêté du 3 septembre 2003 portant nomination aux comités d'experts spécialisés placés auprès de l'Agence française de sécurité sanitaire des aliments ;

Vu l'arrêté du 15 octobre 2003 modifiant l'arrêté du 3 septembre 2003 portant nomination aux comités d'experts spécialisés placés auprès de l'Agence française de sécurité sanitaire des aliments ;

Vu le règlement intérieur de l'Agence française de sécurité sanitaire des aliments,

DECIDE :


Article premier. La composition du groupe de travail «West Nile» instituée par la décision n° 468 du 17 novembre 2003 est modifiée en ajoutant parmi ses membres :

- Autre expert :

Mme **Bernadette Murgue** Institut de Recherches pour le Développement,
Département Sociétés et Santé, Paris

Fait à Maisons-Alfort, le **09 FEV. 2004**

Le Directeur général de l'Agence française de
sécurité sanitaire des aliments


Martin HIRSCH

1	Présentation générale de l'encéphalite à virus West Nile	13
1.1	Le virus West Nile	13
1.1.1	Classification.....	14
1.1.2	Cycle de transmission du virus.....	15
1.1.3	Nature et biologie des vecteurs.....	15
1.1.4	Nature des espèces réservoirs.....	16
1.1.5	Révélateurs épidémiologiques	17
1.2	La maladie	17
1.2.1	Tableaux cliniques et évolution de la maladie.....	17
	Les manifestations cliniques chez les oiseaux.....	17
	Les manifestations cliniques chez l'Homme	17
	Les manifestations cliniques chez le cheval	17
1.2.2	Diagnostic de l'infection à virus West Nile.....	18
1.2.3	Traitement et prévention.....	18
1.3	Risques de contamination de l'homme et du cheval par le virus West Nile	18
1.3.1	Identification du danger	19
1.3.2	Emission	19
1.3.3	Exposition	19
1.3.4	Appréciation des conséquences.....	20
1.3.5	Evaluation du risque	20
2	Moyens de surveillance mis en place depuis l'année 2000 en France métropolitaine...21	
2.1	Dans le domaine de l'avifaune.....	21
2.1.1	Historique.....	21
2.1.2	Protocoles de surveillance mis en place en 2001, 2002 et 2003.....	21
2.1.3	Résultats de la surveillance.....	22
2.1.4	Evaluation du système de surveillance	22
	Sur le plan des résultats.....	22
	Sur le plan technique.....	22
2.1.5	Conclusions	23
2.2	Dans le domaine du cheval	23
2.2.1	Point sur l'épizootie 2000	23
2.2.2	Surveillance exercée en 2001, 2002 et 2003 en Camargue.....	23
2.2.3	Surveillance mise en place dans le Var en 2003	24
2.2.4	Analyse de l'efficacité de la surveillance exercée depuis 2001 dans le domaine équin	25
2.2.5	Conclusions	25
2.3	Dans le domaine entomologique	26
2.3.1	Historique Camargue 2000-2001	26
2.3.2	Historique Var 2003.....	26
2.3.3	Conclusion et analyse des actions menées depuis 2001 dans le domaine entomologique ...	26
2.4	Autres aspects	27
2.4.1	Les laboratoires et leurs moyens.....	27
2.4.2	Liens avec le système de surveillance de la maladie chez l'homme	27
3	Moyens de surveillance mis en place dans les Antilles françaises.....28	
3.1	La Guadeloupe	28
3.2	La Martinique	29
4	Perspectives.....30	
4.1	Objectifs de la surveillance	30
4.2	Outils et moyens de surveillance.....	31
4.2.1	Surveillance passive.....	31
4.2.2	Surveillance active.....	32

Eléments qualitatifs	32
Eléments quantitatifs	32
5 Recommandations	36
5.1 Recommandations pour la surveillance de l'infection à virus West Nile en France et dans les Antilles	36
5.1.1 Surveillance passive	36
Oiseaux	36
Equidés	37
Mesures d'information	37
Homme	37
5.1.2 Surveillance active	37
5.2 Recommandations concernant les actions de recherche	37
5.3 Recommandations complémentaires	38
5.3.1 Coordination nationale	38
5.3.2 Développement de la capacité analytique	38
5.3.3 Surveillance au plan européen	38
5.3.4 Prophylaxie médicale	39
5.3.5 Mesures de contrôle aux frontières	39
5.3.6 Destruction des oiseaux	39
5.3.7 Mesures complémentaires en cas de fortes épizooties/épidémies	39
6 Résumé	40
Annexe 1. Lutte antivectorielle	41
Annexe 2. Méthode de calcul des tailles d'échantillon d'animaux sentinelles	43
Bibliographie	45

Liste des figures

Figure 1 : Comparaison des séquences nucléotidiques partielles du gène codant la glycoprotéine E du virus West Nile.	14
Figure 2 : Représentation schématisée du cycle de transmission du virus West Nile.	15
Figure 3 : Sensibilité estimée des méthodes de surveillance de l'infection à virus West Nile dans le contexte américain (mortalité d'oiseaux).	31
Figure 4 : Cycle de développement des moustiques vecteurs et méthodes de lutte et de prévention disponibles contre la transmission de l'encéphalite à virus West Nile.	42

Liste des tableaux

Tableau I : Comparaison de l'incidence annuelle de l'encéphalite à virus West Nile aux Etats-Unis et en France, chez l'homme et chez le cheval, pour la période 1999–2003.	13
Tableau II : Résultats de la surveillance des cas cliniques équins d'encéphalite à virus West Nile dans les départements de l'Hérault, du Gard, des Bouches-du-Rhône (2000, 2001, 2002) et du Var (2003).	25
Tableau III : Tailles des échantillons de chevaux sentinelles nécessaires pour la surveillance active de l'infection à virus West Nile dans les départements méditerranéens.	34
Tableau IV : Tailles des échantillons d'oiseaux sentinelles nécessaires pour la surveillance active de l'infection à virus West Nile dans les départements méditerranéens.	35
Tableau V : Surface de répartition et effectifs d'oiseaux et d'équidés des départements méditerranéens.	43

Afssa :	Agence française de sécurité sanitaire des aliments
Afssaps :	Agence française de sécurité sanitaire des produits de santé
ARN :	Acide ribo-nucléique
CHU :	Centre hospitalo-universitaire
CIRAD-EMVT :	Centre de coopération internationale en recherche agronomique pour le Développement
CIRE :	Cellule inter-régionale d'épidémiologie
CNR :	Centre national de référence
CRBPO :	Centre de recherches sur la biologie des populations d'oiseaux (Muséum National d'Histoire Naturelle, Paris)
DDASS :	Direction départementale d'action sanitaire et sociale
DDSV :	Direction départementale des services vétérinaires
DGAI :	Direction générale de l'alimentation
DGS :	Direction générale de la santé
DNA :	Acide désoxyribo-nucléique
DSDS :	Direction de la santé et du développement social
EFS :	Etablissement français du sang
EID :	Entente interdépartementale pour la démoustication du littoral méditerranéen
ELISA :	Epreuve sérologique d'immunoabsorption à enzymes conjuguées, par extension les anticorps révélés par ce test
ENSV :	Ecole nationale des services vétérinaires
IMTSSA :	Institut de médecine tropicale du service de santé des armées
InVS :	Institut de veille sanitaire
IP :	Institut Pasteur
IRD :	Institut de recherche pour le développement
JE :	Encéphalite japonaise
LCR :	Liquide céphalo-rachidien
LDAV :	Laboratoire départemental d'analyses vétérinaires

LERPAZ :	Laboratoire d'études et de recherches en pathologie animale et Zoonoses
LPO :	Ligue pour la protection des oiseaux
MEDD :	Ministère de l'écologie et du développement durable
ONCFS :	Office national de la chasse et de la faune sauvage
PACA :	Provence-Alpes-Côte d'Azur
PCR :	Polymerase chain reaction
RT-PCR :	Reverse transcriptase polymerase chain reaction
SLE :	Encéphalite de Saint-Louis
WN, WNV :	West Nile, West Nile virus

Suite à l'émergence de cas humains, avec une concomitance temporelle et géographique de cas équins, l'Agence française de sécurité sanitaire des aliments (Afssa) a souhaité que soient expertisées les questions suivantes :

1. Analyse de l'efficacité de la surveillance exercée depuis 2001 sur les chevaux et dans la faune sauvage pour détecter des signaux d'alerte et le suivi de l'évolution :
 - validité scientifique : échantillonnage et détectabilité en fonction des taux de prévalence supposés, techniques analytiques et leurs limites, fréquence des prélèvements et zones géographiques surveillées ...;
 - lien avec l'épidémiologie humaine (InVS) ;
 - efficacité opérationnelle : structuration du réseau, implication des acteurs....
2. Les recommandations d'évolution de la surveillance sur ces différents points, prenant en compte l'éventuelle apparition de nouveaux cas humains et animaux.
3. La problématique spécifique aux Antilles.

Introduction

Un groupe de travail sur la surveillance de l'infection à virus West Nile, officialisé par la décision 2003-468 du Directeur général de l'Afssa, datée du 17 novembre 2003 est à l'origine du présent rapport.

Les experts ont tenté de rassembler, autant que possible, les informations nécessaires à la formulation de réponses argumentées aux questions de cette auto-saisine.

Le rapport comprend une présentation générale de l'infection par le virus West Nile, puis une analyse partielle des risques de l'infection pour l'homme et pour les équidés. Les mesures de surveillance qui ont été mises en oeuvre dans les différents domaines aviaire, entomologique et équin en France et dans les Antilles sont ensuite décrites. Enfin, les perspectives concernant la surveillance de l'infection à virus West Nile et les recommandations du groupe de travail sont présentées à partir des principaux éléments exposés.

Le groupe de travail s'est réuni cinq fois en séance plénière (7 novembre et 9 décembre 2003, 21 janvier, 4 février et 27 mai 2004).

Le rapport du groupe de travail sur la surveillance de l'infection à virus West Nile en France a été présenté au Comité d'experts spécialisé « Santé animale » lors des séances du 6 avril, du 4 mai et du 8 juin 2004 et validé le 8 juin 2004.

1 Présentation générale de l'encéphalite à virus West Nile

1.1 Le virus West Nile

Le virus West Nile est connu, surtout depuis une dizaine d'années, pour provoquer dans le bassin méditerranéen et en Europe du Sud des épidémies de méningo-encéphalites, parfois mortelles, chez l'homme ainsi que des épizooties chez les chevaux (Zientara *et al.* 2001, Murgue *et al.* 2001a). Sur le plan réglementaire, la fièvre du Nil Occidental, en tant que méningo-encéphalo-myélite virale des équidés, est inscrite sur la liste des maladies réputées contagieuses en France en application du Décret du 5 février 1976.

L'émergence de cette infection aux Etats-Unis (9858 cas humains, dont 2866 encéphalites et 264 décès en 2003, CDC Website), alors que ce virus était inconnu sur le continent américain avant 1999, a contribué à mettre cette maladie sur le devant de la scène dans le domaine de la santé publique humaine. Cette arrivée inattendue du virus en Amérique du Nord a apporté une masse considérable d'informations nouvelles sur l'épidémiologie de l'infection. Il semble cependant que la situation américaine soit différente de celle observée dans l'ancien monde (Tableau I).

En Europe, les deux seules épidémies récentes d'ampleur significative qui aient été documentées sont celles de Bucarest (1996) et celle de Volgograd (1999). En Roumanie, 835 cas humains ont été rapportés, dont 17 décès. En Russie, 826 cas ont été rapportés, dont 40 décès. A l'exception de ces deux épidémies, le virus se manifeste en Europe sous la forme d'épidémies/épizooties ponctuelles et de faible ampleur.

Ainsi, en France, la situation est jusqu'à présent bien différente de celle de l'Amérique du Nord : la faible dispersion de l'infection (limitée au sud du territoire) et les faibles taux de morbidité et de mortalité permettent de ne pas considérer l'infection à virus West Nile comme un problème majeur en santé publique humaine. Cependant, les autorités sanitaires y attachent une attention particulière, à juste titre, comme l'illustrent les mesures et recommandations prises dans les domaines des dons de sang et des greffes (David 2003, Anonymous 2003, Brown *et al.* 2003). Ces aspects ne seront pas abordés dans ce document.

Tableau I : Comparaison de l'incidence annuelle de l'encéphalite à virus West-Nile aux Etats-Unis et en France, chez l'homme et chez le cheval, pour la période 1999–2003.

	Cas humains				Cas équins			
	Etats-Unis		France		Etats-Unis		France	
	Cas ¹	Décès	Cas	Décès	Cas	Décès	Cas	Décès
1999	62 (0,27 ²)	7	0	0	25 (5)	9		
2000	21 (0,09)	2	0	0	60 (11)	22	76 (220)	21
2001	56 (0,24)	7	0	0	732 (138)		0	0
2002	4156 (18)	284	0	0	15257 (2879)	4500	0	0
2003	9858 (43)	264	7 (0,11)	0	5181 (978)		7 (20)	1

¹Cas cliniques

²Les chiffres indiqués entre parenthèses correspondent à des taux d'incidences annuels en cas par million, les tailles de populations humaines et équines utilisées pour calculer ces taux étant issues de la base de données FAOStat (disponible en ligne à : <http://faostat.fao.org/>)

Dans le domaine vétérinaire, les conséquences de l'infection sont non négligeables. En France, en 2000, des mesures de restriction inappropriées aux mouvements nationaux d'équidés ont été prises.

En respect d'une clause de sauvegarde, la Commission européenne a exigé l'établissement, autour de chaque foyer, d'une zone de restriction des mouvements des équidés de 50 km de rayon. Tout mouvement d'équidés à partir de cette zone, fut conditionné à l'établissement d'une quarantaine de 21 jours associée à des analyses sérologiques (ELISA, IgG et/ou IgM) avec résultats négatifs.

Ces conditions sanitaires particulièrement sévères ont fortement pénalisé la filière équine pendant l'automne 2000 (annulation de manifestations hippiques, baisse d'activités des centres équestres...).

En 2003, à la lumière des données expérimentales disponibles depuis quelques années et fort de l'expérience américaine et canadienne, les mesures réglementaires furent considérablement allégées dans les foyers (Bunning *et al.* 2002). Par contre, des exigences sanitaires relatives à l'infection à virus West Nile sont apparues ces dernières années, notamment pour les importations ou exportations d'équidés, à titre temporaire ou définitif.

1.1.1 Classification

Le virus West Nile (WN ou virus de la fièvre du Nil occidental) est un virus enveloppé à ARN monobrin à polarité positive. Il fut isolé pour la première fois chez l'homme en 1937 dans la province de West Nile en Ouganda (Smithburn *et al.* 1940). Cet arbovirus de la famille des *Flaviviridae*, genre *Flavivirus*, transmis par des moustiques, est largement répandu en Afrique, Europe du Sud, Russie, Moyen-Orient, Inde, Australie mais aussi depuis 1999 en Amérique du Nord (Anonyme 1999a, Anonyme 1999b, Zeller 1999, Murgue *et al.* 2002). Il appartient au groupe antigénique du virus de l'encéphalite japonaise (JE), groupe qui comprend notamment le virus de l'encéphalite de Saint-Louis (SLE) rencontré en Amérique, le virus de la fièvre « Murray Valley » en Australie, le virus Usutu rencontré en Afrique et plus récemment isolé en Autriche (Weissenböck *et al.* 2003, Weissenböck *et al.* 2002). Le virus West Nile présente une grande variété génétique qui permet de distinguer deux groupes génétiquement différents (lignées) (Figure 1) : la lignée 1 comprenant des souches rencontrées en Afrique, dans le bassin méditerranéen, en Europe du sud, en Inde, en Australie et en Amérique, la lignée 2 associant uniquement des souches identifiées en Afrique subsaharienne et à Madagascar (Berthet *et al.* 1997, Lanciotti *et al.* 2000, Murgue *et al.* 2002, Zeller *et al.* 2001).

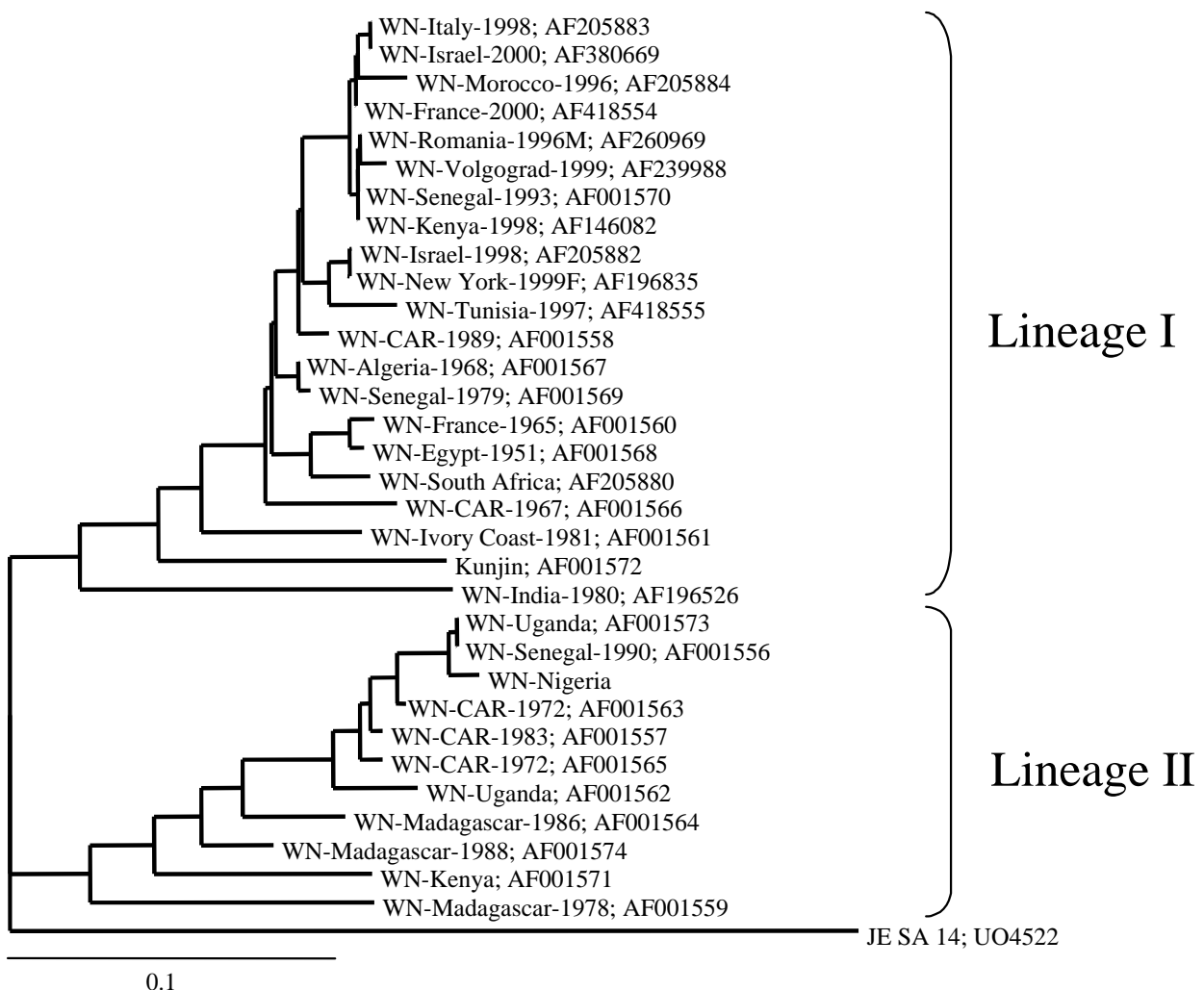


Figure 1 : Comparaison des séquences nucléotidiques partielles du gène codant la glycoprotéine E du virus West Nile.

1.1.2 Cycle de transmission du virus

Le cycle de transmission du virus fait intervenir les moustiques, essentiellement du genre *Culex*, comme vecteurs biologiques et les oiseaux comme hôtes amplificateurs selon un cycle moustiques-oiseaux en zones de marécages mais aussi en zones sèches (Hayes 1989, Taylor *et al.* 1956).

L'homme et les équidés, pouvant être affectés parfois gravement, sont considérés comme des « culs de sacs » épidémiologiques car, chez ces hôtes, la virémie est courte et de faible amplitude ; elle ne permet donc pas d'infecter des moustiques vecteurs potentiels. L'homme et les équidés sont sensibles à l'infection avec une majorité de cas non symptomatiques.

La présence d'anticorps spécifiques chez des vertébrés très variés, incluant des mammifères, des amphibiens et des reptiles, indique que ce virus a la faculté d'infecter de très nombreuses espèces (Taylor *et al.* 1956). L'hypothèse que des mammifères, des amphibiens et des reptiles pourraient jouer le rôle de réservoirs a été émise (Rodhain *et al.* 1985 cités par Hubalek, Hubalek *et al.* 1999). Le rôle des rongeurs a notamment été évoqué. Cependant, même si ce modèle épidémiologique ne doit *a priori* pas être négligé, les données actuelles ne permettent pas de confirmer cette hypothèse.

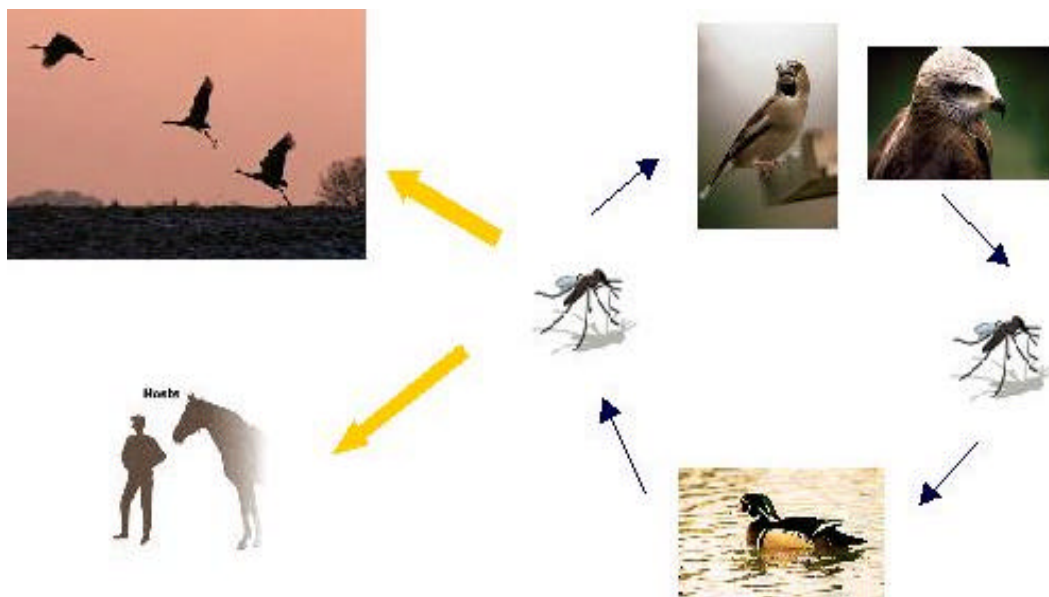


Figure 2 : Représentation schématique du cycle de transmission du virus West Nile (le choix des espèces d'oiseaux représentées n'a pas de signification épidémiologique particulière).

Le cycle biologique (Figure 2) peut donc se diviser en deux étapes :

- un premier cycle moustiques-oiseaux, ces derniers permettant l'amplification de la circulation virale,
- une seconde phase révélatrice de cette amplification et caractérisée par l'atteinte des hôtes secondaires que sont l'homme et les équidés principalement.

L'encéphalite à virus West Nile sévit principalement dans les zones chaudes et humides, de manière sporadique, endémique ou enzootique. Elle s'avère être une maladie saisonnière en zone tempérée où elle apparaît en été et en automne, notamment à la suite d'étés chauds, si l'humidité favorise la multiplication des vecteurs.

1.1.3 Nature et biologie des vecteurs

Les moustiques sont les principaux vecteurs biologiques du virus West Nile. Le virus a été isolé chez plus de 50 espèces de moustiques, en particulier chez celles du genre *Culex* (Hubalek *et al.* 1999, Mashimo *et al.* 2002, Miller *et al.* 2003, Zeller *et al.* 2001). Les vecteurs majeurs sont ornithophiles tels que *Culex* du groupe *pipiens*, *Culex univittatus* en Egypte, en Israël, à Madagascar, en Afrique du Sud et *Culex neavei* en Afrique du sud, à Madagascar et au Sénégal. En Europe, les vecteurs principaux semblent être *Culex pipiens* et *Culex modestus*. La transmission verticale du virus a été démontrée chez certaines espèces

(Baqar *et al.* 1993, Dohm *et al.* 2002). Le virus a été isolé à partir d'autres arthropodes hématophages comme les tiques et la transmission expérimentale a pu être prouvée chez différentes espèces comme chez les *Argas* sp. (Abbassy *et al.* 1993, Hayes 1989, Hubálek 2000).

Les moustiques, vecteurs du virus West Nile, hibernent à l'état adulte. Dès le printemps, les femelles pondent directement sur l'eau des œufs, agglomérés en radeaux, dont l'éclosion a lieu deux à trois jours après la ponte. Si la femelle était infectée, quelques œufs peuvent l'être également.

La présence de *Culex modestus* est limitée aux climats doux à submersion semi-permanente ou permanente (Miller *et al.* 2000). L'agressivité des femelles de *Culex modestus* est permanente pendant la journée mais leur activité reste cantonnée à la proximité immédiate des gîtes de repos. Le soir elle peut se déplacer à environ un kilomètre des zones d'émergence. Au-delà, la dispersion des adultes est certainement possible mais n'est pas perceptible en terme de nuisance.

Culex pipiens peut coloniser presque tous les milieux, quelle que soit la charge en matière organique ou la salinité des eaux. Cette espèce peut ainsi cohabiter avec les *Anopheles* et *Culex modestus* dans les gîtes spécifiques. Elle peut également succéder dans le temps aux *Aedes* dans certains milieux salés littoraux. Les individus de *Culex pipiens* issus de ces biotopes larvaires ne sont pas majoritairement anthropophiles. En ce qui concerne la nuisance, seuls les biotopes larvaires alimentés par les eaux usées urbaines (égouts, vides sanitaires, lagunages, etc.) sont pris en compte pour la protection des agglomérations. L'activité des femelles est limitée à la proximité immédiate des gîtes larvaires urbains. Elles sévissent essentiellement la nuit à l'intérieur des habitations. La dispersion maximale prise en compte en termes de nuisance ne dépasse pas trois kilomètres, mais comme pour *Culex modestus*, des déplacements plus discrets et surtout passifs (transports par véhicules) sont toujours possibles.

Des transmissions en absence de vecteurs ont été observées dans des conditions expérimentales chez des oiseaux en cages avec nécessité d'un contact très rapproché (Banet-Noach *et al.* 2003).

Le rôle mal connu des tiques dans le cycle de maintien et de dissémination du virus pourrait expliquer certaines émergences (Hubalek et Halouzka 1999, Zeller et Murgue 2001).

1.1.4 Nature des espèces réservoirs

En Egypte, dans les années 50, la présence d'anticorps contre le virus West Nile a été détectée chez 40% des 420 oiseaux de différentes espèces étudiées et principalement chez des corvidés ou chez des moineaux. Parfois des manifestations neurologiques ont été observées lors d'infections naturelles chez des pigeons (Lvov *et al.* 2002, Taylor *et al.* 1956).

En Europe, les études réalisées essentiellement dans les années 60 et 70, ont montré la présence d'anticorps chez différentes espèces d'oiseaux sauvages, migrateurs ou non, en Europe du Sud et de l'Est. Des isollements réalisés à partir d'oiseaux sont rapportés chez la tourterelle des bois (*Streptopelia turtur*) ou chez la fauvette épervière (*Sylvia nisoria*), en Slovaquie, à Chypre, ainsi qu'en Russie et en Ukraine. Lors de l'épidémie de West Nile de 1974 en Afrique du Sud, plus de 50% des 322 oiseaux étudiés étaient porteurs d'anticorps, principalement des tourterelles, grives, moineaux et cardinaux (Hubalek 2000, Zeller et Murgue 2001).

En Israël, où le virus est considéré comme enzootique, la découverte en 1998 de cigognes mortes infectées par le virus West Nile est apparue comme inhabituelle (Malkinson et Banet 2002). L'infestation d'élevages d'oies en 1999 avec mortalité entraîna l'abattage de plusieurs milliers de ces oiseaux. Aux Etats-Unis, en 1999, le virus entraîna la mort de divers oiseaux (flamants, faisans, canards, cormorans, chouettes, aigles) des zoos du Bronx et du Queens à New-York ainsi que celle de plusieurs milliers d'oiseaux sauvages, essentiellement des corvidés (Garmendia *et al.* 2000, Steele *et al.* 2000). Aux Etats-Unis, la progression de l'infection à virus West Nile a entraîné la mort de corbeaux ou de geais bleus, alors que les poulets, pigeons et moineaux semblent résistants (Komar *et al.* 2003).

En Camargue plus de 300 espèces d'oiseaux sont observées, dont une majorité liée aux milieux humides : des Anatidés (oies, canards), des Laridés (mouettes, goélands, sternes), des Charadriidés et Scolopacidés (chevaliers, pluviers, bécassines...), des Ardéidés (hérons), des Rallidés (foulques, poules d'eau et râles), des Phoenicoptéridés (flamants roses), des Podicipédidés (grèbes) et des Phalacrocoracidés (cormorans).

L'avifaune de Camargue est, en outre, constituée d'espèces et d'individus avec des statuts très différents. Les oiseaux peuvent se regrouper dans les catégories suivantes :

- sédentaires (nicheurs) : Moineaux, Pies, Corneille, Garde Bœuf... ;

- migrateurs hivernant majoritairement en Afrique parmi lesquels certaines espèces sont uniquement en transit en Camargue (Pouillots fitis, Fauvette des jardins, Martinet alpin...) et d'autres sont des individus nicheurs et de passage (Hirondelles, Rossignols, Rousserolles, Guêpiers, Circaète ...);
- hivernants venus de l'Europe du Nord ou de l'Est parmi lesquels certaines espèces sont des hivernants stricts (Accenteur, Canard Pilet, Sarcelle d'hiver...) tandis que d'autres sont constitués d'une population de nicheurs largement renforcée par des oiseaux venus de toute l'Europe et du bassin méditerranéen en hiver (Rouge Gorge, mouettes et goélands, Buse variable, Busard des marais, Rôle....).

Il est difficile de préciser quelles sont les espèces d'oiseaux qui pourraient être incriminées dans la réintroduction du virus (Hoffmann *et al.* 1968).

Outre les oiseaux, d'autres espèces sont susceptibles d'être des réservoirs. Les reptiles, les amphibiens, les rongeurs constituent quelques unes des espèces dont le rôle de « réservoir » a été évoqué même si aucune donnée scientifique ne permet de confirmer cette hypothèse.

1.1.5 Révélateurs épidémiologiques

L'homme et le cheval sont classiquement décrits comme des révélateurs épidémiologiques de la circulation du virus West Nile dans une région (Anonymous 2003, Murgue *et al.* 2002). En effet, ces deux espèces ne semblent pas intervenir dans le cycle épidémiologique du virus, elles sont plutôt des victimes occasionnelles et jouent le rôle de révélateur de la circulation de l'agent pathogène lors d'infections symptomatiques (Murgue *et al.* 2001b, Tber Abdelhaq 1996). Les données expérimentales et les observations de terrain indiquent que l'homme et le cheval constituent des culs-de-sac épidémiologiques (Bunning *et al.* 2002).

1.2 La maladie

1.2.1 Tableaux cliniques et évolution de la maladie

Les manifestations cliniques chez les oiseaux

Le virus West Nile a été considéré comme non pathogène chez les oiseaux jusqu'en 1998 où, en Israël, certaines espèces d'oiseaux migrateurs, dont des cigognes, mais aussi des oiseaux domestiques (oies) ont présenté des atteintes nerveuses avec mortalité (Lvov *et al.* 2002). Aux Etats-Unis, des mortalités ont été rapportées chez de très nombreuses espèces d'oiseaux résidents, dont principalement les Corvidés (tout particulièrement les geais bleus), mais aussi chez des rapaces (Steele *et al.* 2000).

Les manifestations cliniques chez l'Homme

La plupart des infections par le virus West Nile chez l'homme et le cheval sont inapparentes. Dans 25% des cas, l'infection peut se traduire chez l'homme par une atteinte pseudo-grippale d'évolution bénigne. Dans moins d'1% des cas, des atteintes nerveuses type méningo-encéphalite sont observées, parfois d'issue fatale, principalement chez les sujets âgés. La faiblesse musculaire est particulièrement marquée, rappelant une atteinte de type poliomyélite. De rares cas d'hépatites, de pancréatite et de myocardite ont été aussi décrits (Murgue et Zeller 2001c, Platonov *et al.* 2001, Tsai *et al.* 1998, Weinberger *et al.* 2001).

Les manifestations cliniques chez le cheval

Des manifestations cliniques ne sont observées chez les équidés que dans un faible pourcentage de cas d'infection. Les infections sub-cliniques ou inapparentes sont, de loin, les plus nombreuses ; il semble que de nombreux facteurs conditionnent l'intensité du tableau clinique (âge, mode d'élevage, entretien, virulence de la souche, susceptibilité génétique, infections antérieures par d'autres flavivirus...) (Autorino *et al.* 2002, Martin *et al.* 1987, Steinam *et al.* 2002, Tesh *et al.* 2002).

La liste des paramètres cliniques qui permettent de définir une suspicion d'infection à virus West Nile repose sur les données d'infections expérimentales (très rares) ou, plus rarement, et de façon moins précise, sur les observations de terrain (Bunning *et al.* 2002, Joubert *et al.* 1970, Roehrig *et al.* 2003).

Ainsi, les travaux expérimentaux menés par Oudar *et al.* (1971) permettent de dresser une liste des signes cliniques observés, à forte valeur diagnostique, lors d'une infection d'origine classique :

- phase fébrile initiale (38°5 à 41°C) ;

- tableau clinique de méningo-encéphalomyélite descendante antéropostérieure (associée à des perturbations électroencéphalographiques caractéristiques de ce syndrome) (Cantile *et al.* 2000).
- l'infection peut aussi se traduire par un syndrome parétique postérieur spontané (dénommé "lourdige" en Camargue).
- apparition, quelques jours après l'infection, d'anticorps neutralisants (mise en évidence par techniques immuno-enzymatiques ELISA) (Ebel *et al.* 2002, Joubert *et al.* 1971).

Donc, tout signe d'atonie, de déficience proprioceptive et/ou tout autre symptôme caractéristique de méningo-encéphalomyélite, associé à une hyperthermie (l'évolution diphasique de la température centrale peut obérer ce critère), observé sur un équidé (cheval, âne ou mulet) du sud de la France, pendant la période d'activité des vecteurs, doit conduire le vétérinaire praticien à suspecter une infection par le virus West Nile et à effectuer des investigations complémentaires (Zientara *et al.* 2001).

Lors de l'épizootie en Petite Camargue en 2000, plus de 400 chevaux ont été infectés, sur plus de 5100 chevaux étudiés. Parmi ceux-ci, 76 (19%) ont présenté des signes cliniques, avec décès/euthanasie dans 21 cas, soit 5% des chevaux infectés (Durand *et al.* 2002, Murgue *et al.* 2001b).

1.2.2 Diagnostic de l'infection à virus West Nile

Le diagnostic est posé par la détection des anticorps IgM et/ou IgG dans le sérum ou dans le liquide céphalo-rachidien (LCR), si possible sur deux prélèvements espacés de quelques jours, et confirmé par la détection du virus (isolement ou détection génétique par RT-PCR) à partir du LCR (ou du cerveau, si l'animal est mort) (Murgue *et al.* 2001b, Tardei *et al.* 2000, Tsai *et al.* 1998). La détection d'IgM dans le liquide céphalorachidien semble indiquer une répllication locale intrathécale du virus (Diamond *et al.* 2003). Les réactions croisées IgM, et surtout IgG, au sein des virus du groupe encéphalites (SLE, JE...) sont constantes et peuvent être source d'erreurs d'interprétation (Roehrig *et al.* 2003, Zeller et Schuffenecker 2004). Des tests de confirmation (tests de neutralisation virale) par détection d'anticorps neutralisants sont nécessaires en zones de co-circulation de ces virus.

La détection du virus dans le sang ou le LCR est habituellement négative quand les IgM sont présentes (virémie de faible amplitude et de courte durée débutant avant la phase clinique). Le virus peut être aisément identifié à partir de biopsies cérébrales (Anderson *et al.* 1999, Berthet *et al.* 1997, Komar 2000, Kiupel *et al.* 2003, Lanciotti *et al.* 2000, Lichtensteiger *et al.* 2003, Murgue *et al.* 2001b, Panthier *et al.* 1966). Des techniques de capture d'antigène sont aussi développées. Chez les oiseaux sont aussi décrites des identifications virales à partir de prélèvements de gorge ou de cloaque (Komar *et al.* 2002).

Il semble que le virus ne persiste pas chez l'hôte. Les anticorps IgG peuvent perdurer pendant plusieurs années. Par contre, la demi-vie des anticorps IgM reste imprécise chez le cheval ; ils ont pu être détectés chez l'homme plus d'un an après les signes cliniques (Bunning *et al.* 2002, Murgue *et al.* 2001b, Roehrig *et al.* 2003).

1.2.3 Traitement et prévention

Aucun traitement spécifique de l'infection n'est disponible. Seul un traitement symptomatique est mis en oeuvre.

En ce qui concerne la prévention vaccinale, aucun vaccin n'est disponible chez l'homme actuellement. Chez la souris, l'immunisation hétérologue par certains autres flavivirus induit une certaine protection dont l'absence d'encéphalite mortelle (Tesh *et al.* 2002).

Chez le cheval, un vaccin à virus inactivé est commercialisé aux Etats-Unis. Un deuxième vaccin vectorisé devrait être prochainement disponible dans ce pays. D'autres approches telles que des vaccins chimériques fièvre jaune - West Nile, rougeole - West Nile ou des vaccins à vecteur ADN sont à l'étude (Davis *et al.* 2001, Hall *et al.* 2003, Monath *et al.* 2002, Turell *et al.* 2003).

1.3 **Risques de contamination de l'homme et du cheval par le virus West Nile**

En France, la circulation du virus West Nile a été mise en évidence pour la première fois en Camargue en 1962-1965 par des analyses sérologiques et virologiques chez les chevaux, les moustiques et l'homme. Les études entomologiques dans la zone ont permis d'identifier *Culex modestus* comme un vecteur potentiel du virus West Nile (Hannoun *et al.* 1964). Suite à l'épisode 2000, des études entomologiques ont été entreprises, en vain, pour caractériser le ou les vecteurs potentiels majeurs. Néanmoins, la distribution des cas équin, principalement en zones sèches ainsi qu'en zone urbaine et périurbaine de Petite Camargue, a fait suspecter un autre vecteur comme vecteur potentiel : *Culex pipiens*, moustique

essentiellement rural, mais aussi retrouvé en zones urbaines. En septembre 2003, une infection (humaine) à virus WN a pu être mise en évidence grâce à la demande avisée d'un médecin face à un tableau de méningo-encéphalite d'étiologie virale indéterminée. L'alerte déclenchée a permis de détecter rétrospectivement (au 30 novembre 2003) sept cas humains concomitants fin août 2003 dans la zone de Fréjus, Saint-Raphaël et Roquebrune (Est du département du Var) (Mailles *et al.* 2003). Quatre cas équins ont été aussi rapidement mis en évidence dans la région. L'enquête sérologique initiée sur 906 chevaux a permis de mieux préciser l'extension de la bouffée épidémique par la détection des formes asymptomatiques. De même, des enquêtes rétrospectives et prospectives ont été initiées chez les personnes hospitalisées dans tous les départements du pourtour méditerranéen (66, 11, 34, 13, 83, 06, 2A et 2B), ainsi que chez les donneurs de sang du Var, pour apprécier la séroprévalence et préciser d'éventuels risques de transmission par transfusion sanguine.

1.3.1 Identification du danger

Le virus West Nile appartient à la famille des *Flaviviridae*, genre *Flavivirus*. Il a été isolé en France au début des années soixante, puis en 2000 (lors de l'épizootie camarguaise). Le pouvoir pathogène de ce virus semble différent de celui du virus qui infecte le continent nord-américain (pas de mortalité notable d'oiseaux en Europe, nombre de cas humains et équins plus faible en Europe qu'en Amérique).

1.3.2 Emission

Le virus peut être introduit par le biais d'oiseaux migrateurs infectés, par l'intermédiaire d'importations d'oiseaux, ou par l'introduction de vecteurs infectés (via les ports, les aéroports...). Par ailleurs, aucune donnée scientifique ne permet d'exclure que le virus puisse circuler à bas bruit dans le sud de la France depuis de nombreuses années. Les phénomènes épizootiques, tels que ceux qui ont été observés en 2000 et en 2003, résultent de l'amplification du cycle biologique. Les facteurs qui conditionnent une telle amplification sont à l'heure actuelle inconnus.

La probabilité d'émission est alors corrélée au taux de prévalence de l'infection chez les insectes vecteurs, lui-même sans doute lié au taux de prévalence de l'infection chez les espèces amplificatrices (oiseaux notamment). Les résultats des études visant à détecter le génome du virus par RT-PCR chez les moustiques capturés dans le sud de la France (14 355 moustiques capturés en 2001 et testés par RT-PCR) se sont révélés négatifs. Cependant, l'estimation des taux de prévalence dans les populations d'oiseaux et d'insectes est extrêmement difficile à effectuer. En effet, la faible durée de la virémie chez les oiseaux infectés, les difficultés techniques et logistiques de capture des oiseaux, notamment des migrateurs, le grand nombre d'espèces d'oiseaux susceptibles d'héberger le virus, constituent quelques unes des raisons qui expliquent le peu de données disponibles quant à l'estimation des taux de prévalence de l'infection chez ces espèces. De même, en ce qui concerne les données entomologiques, la faible sensibilité (au sens épidémiologique du terme) des systèmes de capture des moustiques et de diagnostic viral (plusieurs centaines de milliers de lots de moustiques analysés par RT-PCR aux Etats-Unis pour détecter le génome viral dans un ou deux lots, malgré une forte pression d'infection et un contexte épidémiologique permettant de sélectionner les sites de capture) expliquent aussi les difficultés de la mise en place des études de prévalence au sein des espèces vectrices.

1.3.3 Exposition

La contamination de l'homme (et de l'animal) s'effectue par piqûres de moustiques infectés mais aussi par l'intermédiaire du sang (contaminations lors de transfusions sanguines) et des tissus infectés (contaminations lors de greffes rénales, cardiaques, de cornées, ...) (Anonymous 2003, Brown *et al.* 2003). En ce qui concerne le mode de transmission le plus fréquent (la piqûre par insecte vecteur), celui-ci repose sur la présence de moustiques ornithophiles et anthropophiles infectés. Chez ces derniers, les observations effectuées ces dernières années en France métropolitaine semblent indiquer que la prévalence de l'infection est faible, même s'il est difficile de la quantifier. En ce qui concerne le risque d'infection par transfusion sanguine, ces aspects ont été pris en compte par les autorités compétentes (Afssaps, EFS, DGS, InVS, ...).

Tout hôte sensible (homme, cheval, ...) susceptible de pouvoir être piqué par un moustique, que ce soit en zone urbaine ou rurale, dans les régions où le virus est présent, peut être contaminé. Il apparaît donc difficile de dresser une liste des populations humaines et équines potentiellement exposées à une infection sur la base d'une activité conduisant à des contacts fréquents ou importants avec les insectes vecteurs du virus, qui sont quasiment présents dans toutes les régions.

1.3.4 Appréciation des conséquences

La plupart des cas chez l'homme et le cheval sont asymptomatiques ou bénins. Les conséquences d'une contamination doivent donc être considérées comme «faibles» même si certains cas peuvent être graves.

1.3.5 Evaluation du risque

Le risque brut lié au virus West Nile est lié au risque d'introduction ou de circulation à bas bruit du virus dans une région donnée et à la capacité écologique d'établissement d'un cycle biologique pendant une durée suffisante. L'extension inattendue et impressionnante de l'infection sur le continent américain impose une prudence certaine quant à l'étude des facteurs de risque prédictifs permettant l'établissement, ou non, d'un tel cycle biologique.

En première analyse, il semble que la quasi-totalité de l'hexagone serait susceptible de permettre l'amorce, tout au moins, d'un cycle biologique pendant une durée suffisante pour atteindre une pression d'infection compatible avec des risques d'infection humaine et équine.

2 Moyens de surveillance mis en place depuis l'année 2000 en France métropolitaine

2.1 Dans le domaine de l'avifaune

2.1.1 Historique

Depuis le mois de septembre 2000, date à laquelle les premiers cas cliniques équins ont été décelés en Petite Camargue héraultaise, l'Office national de la chasse et de la faune sauvage a été missionné et financé par la DGAI pour assurer la surveillance de la circulation du virus West Nile sur l'avifaune camarguaise.

En 2000, une étude préliminaire a été engagée dès le mois d'octobre dans le but d'évaluer l'intensité de la circulation virale chez les oiseaux sauvages et de tenter d'identifier une ou plusieurs espèces « réservoirs ». Les modalités de cette étude avaient été définies par un groupe de travail très rapidement constitué (première réunion le 21/09/2000 à Montpellier) et réunissant les principales compétences scientifiques, techniques ou opérationnelles.

Ce groupe était composé de représentants :

- de la Direction générale de l'alimentation (Bureau de la santé animale) ;
- de l'Office national de la chasse et de la faune sauvage (ONCFS) ;
- du Centre national de référence (CNR-IP) des Arbovirus et des Fièvres hémorragiques virales, Institut Pasteur Paris ;
- de l'Agence française de sécurité sanitaire des aliments (Afssa) ;
- du Centre de coopération internationale en recherche agronomique pour le développement (CIRAD-EMVT) ;
- de l'Entente interdépartementale pour la démoustication du littoral méditerranéen (EID) ;
- de l'Institut de recherche pour le développement (IRD, équipe maladies émergentes) ;
- du Laboratoire départemental d'analyses vétérinaires de l'Hérault (LDAV 34).

Les conclusions suivantes ont pu être dressées :

- le virus West Nile n'avait pas provoqué de mortalité aviaire visible en 2000 ;
- les séroprévalences observées sur 440 oiseaux sauvages appartenant à cinq espèces (Moineau, Pie bavarde, Goéland leucophée, Mouette rieuse, Canard colvert) étaient globalement faibles ou nulles, ce qui ne semblait pas aller dans le sens d'une circulation virale intense et ancienne ; il faut cependant noter que 4 pies bavardes sur 18 ont présenté des sérologies positives (la faiblesse de l'effectif ne permet pas de tirer de conclusions définitives) ;
- l'étude a initié une collaboration étroite entre les nombreux partenaires concernés par le virus West Nile ;
- elle a constitué un excellent rodage des outils techniques et scientifiques, tant sur le terrain qu'au laboratoire.

2.1.2 Protocoles de surveillance mis en place en 2001, 2002 et 2003

En 2001, le protocole de surveillance de la circulation du virus West Nile dans l'avifaune camarguaise a été élaboré par le groupe de travail formé en 2000 et conforté par des représentants de la Direction générale de la santé (DGS), de l'Institut de veille sanitaire (InVS) et du Ministère chargé de l'environnement (MEDD). Ce groupe s'est réuni à six reprises (trois fois à Paris et trois fois en Camargue).

L'objectif de la surveillance de l'avifaune fut de pouvoir détecter rapidement toute circulation du virus West Nile en Camargue, afin de donner une alerte précoce avant que des signes cliniques n'aient pu être mis en évidence sur les équidés ou les humains, et de prendre les mesures appropriées d'information, de prévention et de lutte.

En 2001, la surveillance a été fondée sur :

- un système « passif » s'appuyant sur une surveillance accrue des cas de mortalité dans l'avifaune et l'analyse virologique de cadavres grâce à l'activation du réseau SAGIR reposant sur une campagne de sensibilisation du public par la diffusion de plus de 400 affiches et la mise à disposition d'un numéro vert ;
- un système « actif » fondé sur le suivi sérologique d'oiseaux sentinelles : 260 canards colverts « appelants » (prélevés par des agents de l'ONCFS) et volailles domestiques (prélevées par des vétérinaires praticiens) contrôlés mensuellement (de juin à novembre) sur 28 sites répartis dans les 3 départements camarguais (34, 30 et 13). Ce suivi d'oiseaux sentinelles a été complété par un contrôle sérologique d'oiseaux sauvages capturés (pies bavardes et flamants roses).

En 2002 et 2003, ce protocole a globalement été reconduit, mais allégé, puisque le contrôle d'oiseaux sauvages capturés a été abandonné (rapport « temps + coût/résultats » peu favorable) et le nombre de sites de sentinelles a progressivement diminué. En 2002, 250 oiseaux sentinelles ont été suivis sur 25 sites et, en 2003, 185 oiseaux sur 16 sites. Par contre, en 2003, la surveillance de la mortalité a été élargie aux régions côtières des départements de l'Aude et des Pyrénées Orientales.

La collecte, le traitement et la circulation des informations émanant de la surveillance de l'avifaune sont fondés sur une base de données élaborée et hébergée par le CIRAD-EMVT. Elle est accessible à tous les partenaires par l'intermédiaire de l'Internet à partir d'un site spécifique à accès protégé : <http://west-nile.cirad.fr>.

2.1.3 Résultats de la surveillance

Depuis 2001, aucune mortalité anormale d'oiseaux imputable au virus West Nile n'a été observée en Camargue.

En 2001, une seule séroconversion (n=260) a été détectée sur un canard appelant des Bouches-du-Rhône. De même, en 2002, une seule séroconversion (n=250) a été détectée sur une volaille du Gard.

Il a été conclu que le virus de West Nile était présent en Camargue en 2001 et 2002, mais que sa circulation était probablement très faible.

En 2003, aucune séroconversion (n=185) n'a été observée. Le système de surveillance n'a donc pas révélé de présence virale en Camargue.

2.1.4 Evaluation du système de surveillance

Sur le plan des résultats

Au vu des observations faites depuis 2000, la surveillance de la mortalité aviaire ne permet pas de « suivre » le virus en France. Toutefois, la nature des interactions hôte-virus-vecteur pouvant varier, il n'est pas possible d'exclure que l'Europe puisse être confrontée un jour à la situation israélienne ou Nord américaine (le virus West Nile a provoqué la mort de milliers de corvidés aux Etats-Unis).

Par contre, le suivi sérologique d'oiseaux sentinelles a été capable de détecter la présence du virus sur un site et à un moment donné.

Sur le plan technique

L'analyse critique du système de surveillance mis en place dans le domaine de l'avifaune a permis d'identifier les forces et les faiblesses suivantes :

Points forts

- la participation des acteurs de terrain (gardes de l'ONCFS, vétérinaires,...) et leur coordination sur le terrain ont été satisfaisantes ;
- la surveillance de la mortalité aviaire s'appuie sur un système déjà en place et bien éprouvé (le réseau SAGIR), mais demandant à être activé spécifiquement pour la surveillance du virus West Nile ;
- les objectifs ont été tenus pour le suivi des canards appelants, grâce à la disponibilité et à l'expérience des agents de l'ONCFS ainsi qu'à la bonne volonté des chasseurs qui mettent à disposition leurs oiseaux ;
- la qualité des prélèvements a été excellente, grâce à la technicité des préleveurs et à un système d'acheminement et de traçabilité bien rodé ;

- les délais de transmission des résultats par le CNR-IP ont été tenus ;
- la base de données conçue et gérée par le CIRAD-EMVT a constitué un outil utile, à la fois pour le respect du protocole, mais aussi pour la diffusion et l'échange des informations.

Points faibles

- le recueil d'un nombre de cadavres d'oiseaux suffisants pour qu'il constitue un échantillon valable nécessite un gros effort de sensibilisation du public et des usagers de la nature (chasseurs, ornithologues...) ;
- les objectifs n'ont pas été tenus pour le suivi des volailles, car il est difficile de maintenir la motivation des vétérinaires praticiens et des éleveurs de volailles dans un contexte épidémiologique calme (pas de cas humains et équins) ;
- le suivi d'oiseaux sentinelles est très lourd à gérer sur le terrain et nécessite impérativement la présence permanente d'un animateur à l'échelle d'une région durant la période de surveillance (difficulté de l'acte de prélèvement chez les oiseaux, alors qu'un grand nombre de prélèvements est nécessaire) ;
- la difficulté liée aux modalités pratiques de réalisation des prélèvements à partir d'oiseaux sentinelles conduit à les effectuer à partir de cohortes de petite taille, ce qui limite beaucoup la sensibilité d'un système de surveillance et d'alerte fondé sur la détection de conversions sérologiques d'oiseaux sentinelles ;
- la base de données n'a été opérationnelle qu'à partir de 2003. Une participation active et une coordination des acteurs à tous les niveaux de la surveillance est nécessaire à son bon fonctionnement.

2.1.5 Conclusions

En ce qui concerne le domaine aviaire, aucune mortalité n'a été observée chez les oiseaux domestiques ou sauvages. Même si l'élevage familial ou industriel de volailles est peu développé dans le sud de la France, les vétérinaires praticiens sont amenés, de façon limitée mais réelle, à entretenir des contacts avec cette production. Depuis 2000, aucune information permettant de suspecter l'amorce d'un phénomène épizootique n'a été rapportée. Même si les systèmes d'épidémiosurveillance des maladies aviaires sont limités dans la région méditerranéenne, il est fort peu probable que des phénomènes de mortalité anormale dans des élevages aient pu se manifester sans qu'aucun acteur des structures sanitaires vétérinaires n'ait été informé. Les populations d'oiseaux sauvages sont surveillées par le biais du réseau SAGIR. Aucune surmortalité n'a été décelée par ce réseau.

2.2 Dans le domaine du cheval

2.2.1 Point sur l'épizootie 2000

Fin août 2000, deux chevaux appartenant à deux propriétaires différents, mais tous les deux situés sur la commune de Lansargues (Hérault), ont présenté des troubles nerveux persistants ayant conduit ultérieurement à leur euthanasie. Les résultats du titrage des IgM sériques anti-West Nile spécifiques, suggérant une infection aiguë, ainsi que la mise en évidence du génome par PCR à partir de biopsies cérébrales, ont permis d'établir le diagnostic de certitude d'infection à virus West Nile.

Mi-décembre 2000, à la fin de la période d'activité des moustiques, l'épizootie a pu être considérée comme terminée. Sur 131 suspicions équine (cas nerveux), 76 cas, définis par la présence de signes cliniques évocateurs associés à une réaction positive en ELISA incluant 18 cas probables (IgM négatifs + IgG positif) et 58 cas confirmés (IgM et IgG positifs), ont été diagnostiqués. Au total, 21 décès furent recensés avec un taux de mortalité plus élevé au début (fin août-début septembre) que dans la seconde moitié de la période épizootique.

Une vaste enquête sérologique a été menée par l'Afssa-LERPAZ en collaboration avec la DGAI et les DDSV de l'Hérault, du Gard et des Bouches-du-Rhône. De septembre à novembre 2000, tous les chevaux (N=5133) situés dans un rayon de dix kilomètres autour des cas confirmés furent prélevés. Sur 428 (8,5%) chevaux présentant une réaction sérologique, 248 (42%) présentaient une réaction positive en IgM.

2.2.2 Surveillance exercée en 2001, 2002 et 2003 en Camargue

Cette surveillance a reposé sur deux volets :

- la surveillance passive des cas cliniques, dont la déclaration est imposée par le statut réglementaire de l'infection à virus West Nile (maladie réputée contagieuse sous sa forme clinique) ;
- la surveillance active, qui a reposé sur le suivi sérologique d'une cohorte d'une centaine de chevaux prélevés dans les 3 départements mentionnés.

Surveillance des cas cliniques

A la suite des cas détectés sur des chevaux en 2000 dans les départements du Gard, de l'Hérault et des Bouches-du-Rhône, un programme de surveillance a été mis en œuvre en 2001 et 2002, à l'instigation de la DGAI, avec une surveillance des suspicions cliniques pour les chevaux présentant des troubles nerveux. En ce qui concerne la surveillance des cas cliniques, les vétérinaires praticiens des trois départements 13, 30 et 34 ont été sensibilisés par les DDSV concernées. Cette participation des vétérinaires s'inscrit dans le cadre des missions du mandat sanitaire dont le respect de son attribution impose la mise en œuvre de mesures particulières (réalisation de prélèvements notamment) en vue du dépistage de l'infection à virus West Nile. Les chevaux malades ont fait l'objet de prélèvements sérologiques en vue du titrage des IgG puis des IgM. La recherche du virus ou de son génome a été effectuée à partir d'encéphales de chevaux morts.

Les résultats de cette surveillance passive, reposant sur la vigilance des propriétaires équins et des vétérinaires praticiens, sont présentés dans le tableau II.

Surveillance sérologique

En ce qui concerne le suivi sérologique d'une cohorte de chevaux, cette action s'inscrit dans le cadre d'une étude, à visée de recherche, financée par l'établissement public des Haras Nationaux. Ce projet associe différents partenaires (ENVL, CIRAD-EMVT, DDSV du Gard, Institut Pasteur, IMTSSA, Afssa) en 2001, 2002 et 2003. En 2002, des raisons climatologiques (inondations dans le département du Gard en septembre) ont modifié le calendrier de travail initialement prévu. Ce suivi sérologique a confirmé la circulation du virus par la mise en évidence de conversions sérologiques, avec sept séro-conversions (n = 149) entre décembre 2000 et décembre 2001, et trois séro-conversions (n = 214) entre décembre 2001 et décembre 2002 (Bicout *et al.* 2003).

2.2.3 Surveillance mise en place dans le Var en 2003

Un cas d'encéphalite à virus West Nile a été signalé le 9 octobre 2003 par l'Agence française de sécurité sanitaire des aliments chez un cheval vivant à Grimaud dans le département du Var. Le Centre National de Référence des Arbovirus a confirmé la spécificité de la réaction sérologique (par neutralisation virale) le 17 octobre 2003.

Au 31 octobre 2003, la surveillance active des manifestations nerveuses (encéphalites, myélite, ...) équines a permis d'identifier au total quatre cas équins confirmés (l'un de ces chevaux a été euthanasié). Les symptômes de ces quatre chevaux sont survenus au cours du mois de septembre.

Une enquête sérologique a été menée par la Direction départementale des services vétérinaires du Var et l'Afssa-LERPAZ 906 sérums de chevaux de 43 centres équestres ont été prélevés. 306 sérums se sont avérés positifs en IgG (34 %), dont 23 également positifs en IgM (7,5 %).

Les premiers résultats de l'analyse de cette enquête sérologique font apparaître les points suivants :

- il semble exister une différence marquée du taux de séroposativité IgG entre les écuries où aucun animal IgM+ n'a été trouvé (moyenne de séroposativité : 12%, n = 32 écuries) et celles où un animal IgM+ (ou plus) a été dépisté (moyenne : 55%, n = 9 écuries) ;
- dans les écuries où au moins un animal IgM+ a été trouvé, le taux de séroprévalence IgG semble augmenter avec la classe d'âge des animaux ;
- les écuries dont les taux de séroprévalence sont élevés sont regroupées dans deux zones (l'une proche de Fréjus, l'autre à 15 km plus au sud-ouest), ces deux zones étant connues pour être des sites de passage et/ou de nidification d'oiseaux migrateurs.

Ces résultats sont préliminaires et doivent encore être affinés grâce à un recueil de données complémentaires actuellement en cours de réalisation. S'ils s'avéraient confirmés, ils pourraient indiquer l'existence de zones où le virus semble circuler de façon pérenne, d'année en année.

Tableau II : Résultats de la surveillance des cas cliniques équins d'encéphalite à virus West Nile dans les départements de l'Hérault, du Gard, des Bouches-du-Rhône (2000, 2001, 2002) et du Var (2003).

Année	Localisation	Nombre de cas suspects	Cas confirmés	Nombre de morts West Nile	Nombre d'isolats
2000	Camargue	131	76	21	1 isolat
2001	Camargue	31	0	0	0
2002	Camargue	19	0	0	0
2003	Var	19	4	1 (euthanasie)	0

2.2.4 Analyse de l'efficacité de la surveillance exercée depuis 2001 dans le domaine équin

En 2001 et 2002, le système de surveillance « cheval » a permis de confirmer la circulation virale dans la zone de la Camargue. La taille de l'effectif (n = 120) et la fréquence des prélèvements ont été déterminées en tenant compte des contraintes techniques (disponibilité des préleveurs, participation des vétérinaires, adhésion des propriétaires, ...).

Points forts

- la participation des acteurs et leur coordination sur le terrain a été bonne : de même que pour les autres volets de la surveillance de l'infection à virus West Nile, les relations entre le CNR-IP, la DGAI, les DDSV, la DGS et l'InVS ont été fréquentes et productives ;
- la qualité des prélèvements a été satisfaisante ;
- les délais de transmission des résultats ont été tenus.

Les qualités des techniques analytiques utilisées (tests ELISA détectant les IgG et IgM) se sont avérées satisfaisantes à la fois en terme de sensibilité (98%) et de spécificité (99%). De plus, la procédure de confirmation mise en œuvre entre l'Afssa-LERPAZ et le CNR-IP a constitué une garantie supplémentaire quant à la fiabilité des résultats sérologiques obtenus.

Points faibles

- le suivi sérologique des chevaux sentinelles en Camargue en 2002 et 2003 ne reposait que sur la bonne volonté des vétérinaires praticiens et sur celles d'étudiants de l'Ecole vétérinaire de Lyon (encadrés par A. Leblond) qui participaient à cette surveillance dans le cadre de la rédaction de leur thèse d'exercice professionnel et dont les motivations et les objectifs s'inscrivaient dans une problématique de recherche et non pas de surveillance ;
- des contraintes climatologiques et logistiques (retard à l'envoi des sérums, inondations et retard à la réalisation des prélèvements) ont modifié le calendrier de travail en 2002 ;
- il n'y a pas eu de financement spécifique de la sérosurveillance « chevaux » en Camargue ;
- les données de la surveillance « cheval » n'ont pas été incluses dans la base de données conçue et gérée par le CIRAD-EMVT.

2.2.5 Conclusions

Dans le sud de la France, mais ceci est extrapolable au reste du territoire national, le suivi médical de l'espèce équine est globalement satisfaisant en ce qui concerne en tout cas la détection de phénomènes épizootiques à l'échelle de ceux qui sont générés lors d'épizooties provoquées par le virus West Nile. En août 2000, c'est un vétérinaire praticien qui a effectué les prélèvements nécessaires et qui a posé un diagnostic de suspicion d'infection à virus West Nile. Dans la filière équine, la majorité des praticiens dispose d'un réel degré de spécialisation en médecine équine. Ainsi que cela a pu être observé en 2001, 2002 et 2003, le maillage vétérinaire et la nature du suivi médical permettent de considérer de façon raisonnable que le réseau vétérinaire est de qualité suffisante pour détecter l'émergence d'un phénomène épizootique. De plus, l'infection à virus West Nile est inscrite sur la liste des maladies réputées contagieuses (dans le cadre des mesures de police sanitaire relatives aux méningoencéphalomyélites des équidés). Ainsi, le vétérinaire praticien peut agir sous couvert de son mandat sanitaire en situation épizootique.

Cependant, la diversité des types d'établissements équestres associée à une forte variabilité du degré de suivi vétérinaire et la forte diversité des degrés de motivation des propriétaires (suite aux conséquences médiatiques qui ont suivi l'épizootie 2000) sont quelques-uns des facteurs dont il faut tenir compte et qui sont susceptibles d'expliquer une sous-déclaration. Comme dans tous les systèmes de surveillance de ce type, la sous-déclaration (difficile à quantifier par définition) s'est sans doute produite, mais son importance a probablement été limitée, en tout cas si l'on se réfère aux résultats d'une étude qualitative de son évaluation (Chevalier *et al.* 2002).

2.3 Dans le domaine entomologique

2.3.1 Historique Camargue 2000-2001

L'EID-Méditerranée a été informée le 06 septembre 2000 par le CNR-IP des Arbovirus à Paris de la présence d'un foyer d'encéphalite à virus West Nile chez des chevaux dans la région de Lansargues-Lunel. Le 08 septembre 2000, la DGS a mandaté l'EID pour (i) l'identification du ou (des) vecteur(s) incriminé(s) dans cette épizootie et (ii) la mise en place de méthodes de lutte antivectorielle et de prévention. En référence au précédent épisode connu dans la région (épizootie de 1964), *Culex modestus* est considéré *a priori* comme un des vecteurs suspects. L'EID a procédé à des enquêtes entomologiques dans la région incriminée et à la constitution de pools monospécifiques de moustiques adressés au CNR-IP pour diagnostic viral.

A la demande expresse de la préfecture de l'Hérault, des traitements antilarvaires ont été réalisés dans les principaux biotopes aquatiques propices à *Culex modestus* répertoriés dans un rayon de 4-5 km autour des foyers de Lansargues-Lunel. Ces traitements ont été effectués par avion le 09 septembre 2000 sur 220 ha. Suite à l'apparition d'un premier cas équin dans le Gard le 11 septembre 2000, des traitements ont été également réalisés le 15 et le 22 septembre 2000 sur 320 ha entre Saint-Laurent d'Aigouze et Aigues-Mortes. 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).

Les piégeages au CO₂ autour de Lansargues-Lunel et des foyers gardois n'ont donné que des effectifs faibles en moustiques, notamment en *Culex modestus*, conformément à l'évolution normale en automne. Tous les lots monospécifiques pour lesquels une recherche du virus West Nile a été réalisée se sont révélés par la suite négatifs.

Suite à l'épizootie de 2000, une surveillance entomologique a été réalisée par l'EID en 2001 en Camargue gardoise et en Grande Camargue. Un total de 14 355 moustiques, appartenant à 14 espèces, ont été capturés en 21 séances réparties d'avril à octobre. La recherche du génome viral par RT-PCR à partir de 997 pools de moustiques analysés s'est révélée négative.

2.3.2 Historique Var 2003

Suite à la mise en évidence d'infections à virus West Nile dans le Var en août-septembre 2003, une enquête entomologique diligentée par la DGS a été réalisée par l'EID en octobre 2003 sur les sites incriminés, afin de tenter d'identifier la ou les espèces vectrices et d'évaluer le risque de persistance ou d'extension de l'épisode. Les zones investiguées sont Roquebrune-sur-Argens, Grimaud et Flassans-sur-Issole.

Un total de 77 imagos de moustiques, 5 culicoides et 2 simuliés ont pu être prélevés dans les deux premières régions. La recherche de virus West Nile sur ces échantillons est restée négative. Dans l'état actuel de nos connaissances, seule l'espèce *Culex pipiens* peut être soupçonnée d'avoir assuré la transmission du virus West Nile. Précisons que l'enquête a été réalisée près de 10 semaines après la période probable de transmission du virus.

2.3.3 Conclusion et analyse des actions menées depuis 2001 dans le domaine entomologique

La surveillance entomologique réalisée en 2001 en Camargue suite à l'épizootie de 2000 n'a plus été renouvelée en 2002 et 2003. En effet, la recherche du virus chez l'insecte vecteur est particulièrement délicate et relativement aléatoire notamment dans un cadre d'une circulation virale à bas bruit. Elle nécessite 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 le ou les espèces qui transmettent le virus.

De cette information dépend effectivement toute la stratégie de contrôle dont la mise en œuvre pourrait éventuellement être décidée et qui diffère d'une espèce à l'autre. La conduite d'opérations de contrôle antilarvaire en milieu rural contre des espèces de *Culex spp.* serait en effet bien différente de celles exercées habituellement par l'EID Méditerranée contre les *Ochlerotatus spp.*

Cependant, 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 (voir l'épisode du Var en septembre-octobre 2003).

Points forts

- bonne réactivité de l'EID Méditerranée, capable d'assurer à la fois l'identification et la caractérisation de la bio-écologie et de la dynamique spatio-temporelle du ou des vecteurs de West Nile en cas d'épizootie et/ou d'épidémie mais également la mise en place de méthodes de lutte et de prévention adaptées ;
- bonne collaboration avec l'ensemble des acteurs du réseau de surveillance West Nile, le volet entomologique étant situé à l'interface des services de santé humaine (DGS, InVS, CIRE, DDASS, laboratoires hospitaliers, CNR-IP, Unité des virus émergents de la Faculté de médecine de Marseille) et vétérinaire (DGAI, Afssa, DDSV, CNR-IP, ONCFS, CIRAD) ;
- bonne collaboration avec l'unité des virus émergents de la Faculté de médecine de Marseille pour le diagnostic viral réalisé sur lots monospécifiques de moustiques.

Points faibles

- surveillance coûteuse en moyens humains, techniques et financiers ;
- diagnostic viral aléatoire notamment en cas de circulation à bas bruit du virus West Nile.

En conclusion, apparaît la nécessité d'une alerte précoce, afin de réaliser par la suite des investigations entomologiques en concordance spatio-temporelle avec les cas sérologiques et/ou cliniques.

2.4 Autres aspects

2.4.1 Les laboratoires et leurs moyens

Deux laboratoires (CNR-IP et Afssa LERPAZ) sont impliqués dans le diagnostic et l'épidémiosurveillance de cette infection. Depuis plusieurs années, des échanges techniques entre ces deux partenaires ont été initiés. Les techniques sérologiques (ELISA pour détection d'IgG et IgM) ou virologiques (isolement viral et RT-PCR) utilisées présentent des propriétés et qualités conformes aux exigences des cahiers des charges édictés par les organismes internationaux.

Par contre, notamment si l'on devait être confronté à une ou des épizooties de grande ampleur, le nombre actuel de laboratoires impliqués dans le diagnostic et l'épidémiosurveillance de cette infection s'avérerait insuffisant.

2.4.2 Liens avec le système de surveillance de la maladie chez l'homme

Compte tenu de l'aspect zoonotique de l'infection, des relations étroites ont été initiées entre les acteurs de l'analyse du risque et les gestionnaires du risque dans les domaines de la santé animale ou humaine. Ainsi, des cellules de crise ont été activées lors des épizooties 2000 et 2003. En période de crise, tous les deux ou trois jours, des réunions téléphoniques ont rassemblé les organismes et directions générales suivantes : DGS, DGAI, InVS, Afssa, CNR-IP, EID, ONCFS, IMSSA, CIRAD-EMVT.

Les résultats des actions entreprises (enquêtes sérologiques, piégeages de moustiques,...) étaient diffusés à l'ensemble des membres du groupe et ont, par la suite, été valorisés sous forme de publications communes. L'échange d'informations s'est effectué par le biais de courriers électroniques ou de réunions. La rétro-information aux acteurs de terrain (vétérinaires, médecins, ...) a été réalisée par le biais des DDSV ou des DDASS ou de la presse professionnelle.

Les réunions de restitution des résultats aux différents acteurs (notamment aux acteurs de terrain) ont constitué indiscutablement un facteur important dans l'implication et la motivation des participants.

3 Moyens de surveillance mis en place dans les Antilles françaises

Deux zones sont à différencier :

- la Guadeloupe où la preuve de la circulation virale a été apportée (Quirin *et al.* 2004) ;
- la Martinique où la vigilance a été activée.

3.1 La Guadeloupe

L'épidémie/épizootie d'encéphalite à virus West Nile, apparue depuis 1999 aux USA, chez les hommes, chevaux et oiseaux, s'est accompagnée de la propagation du virus successivement au Canada, puis en 2001 dans les îles Caïman (O'Leary *et al.* 2002) et en 2002 au Mexique chez des chevaux (Estrada-Franco *et al.* 2003), en République Dominicaine et en Jamaïque (séroconversions d'oiseaux) (Dupuis *et al.* 2003, Komar *et al.* 2003, Lindsay *et al.* 2003). La possibilité d'importation sur le territoire guadeloupéen de cette maladie, via les oiseaux migrateurs, et l'existence de cas d'encéphalite humaine suspects en 2001 en Guadeloupe ont suscité la mise en place d'une surveillance clinique passive chez l'homme et la réalisation par le CIRAD-EMVT d'une première enquête sérologique sur les chevaux en juillet 2002. Un groupe de travail a aussi été créé associant les services de santé humaine et vétérinaire et leurs correspondants.

L'année 2002 a permis d'établir un premier état des lieux de la situation à l'égard de l'infection à virus West Nile en Guadeloupe. En juillet 2002, près de 70% des sérums de chevaux de l'île (360 sur 520) ont été prélevés et testés par l'Afssa, dix séropositivités en IgG ont été décelées (dont deux en IgM, signe d'une infection récente) dans quatre clubs hippiques. Sur les dix sérums positifs en IgG, sept ont été confirmés en virus West Nile et deux en *flavivirus* par séroneutralisation au CNR-IP de Lyon. Dans le même temps, les sérums de trente six canards et quatorze oies domestiques ainsi que de trois mouettes ont été prélevés sur l'île de Saint-Martin (zone de passage privilégiée d'oiseaux migrateurs située à 300 kilomètres au nord de la Guadeloupe) : tous les sérums se sont avérés négatifs (Quirin *et al.* 2004).

Suite au décès en novembre 2002 d'un cheval après une phase clinique d'encéphalite (aucun prélèvement effectué) dans un club hippique, tous les sérums des chevaux de ce club ont été prélevés ainsi que ceux des clubs hippiques possédant des chevaux sérologiquement positifs lors de la campagne de juillet 2002. Sur 136 sérums de chevaux prélevés en décembre 2002, 68 se sont révélés positifs en IgG anti-West Nile (en ELISA) et/ou en IHA (inhibition d'hémagglutination). Parallèlement, sur vingt et un sérums de poulets prélevés dans un élevage à proximité du foyer équin suspect, onze se sont révélés séropositifs (IgG confirmé en séroneutralisation). Ces éléments témoignent d'une circulation virale en Guadeloupe en 2002 (Quirin *et al.* 2004).

L'alerte officielle a été lancée le 3 février 2003 (arrêté préfectoral de mise sous surveillance de l'île) et a conduit au développement de la stratégie de surveillance pluridisciplinaire associant le volet humain (surveillance des cas cliniques dans les hôpitaux, sensibilisation des médecins), équin, aviaire et entomologique. La DDSV Guadeloupe et le CIRAD-EMVT Guadeloupe ont pris en charge la surveillance animale (réalisation des prélèvements chevaux et oiseaux, coordination du groupe de travail et analyse des résultats). La DSDS s'est chargée de la surveillance entomologique avec l'aide du CIRAD-EMVT pour la rédaction des procédures et pour l'analyse. La CIRE, le CHU et la DSDS ont organisé la surveillance humaine. Les analyses sérologiques sur chevaux ont été réalisées, comme en 2002, par l'Afssa, celles sur oiseaux par le CNR-IP de Lyon.

En juillet 2003, une nouvelle enquête sérologique exhaustive diligentée par la DSDS a été conduite sur les chevaux par les vétérinaires sanitaires et le CIRAD-EMVT. Sur les 487 sérums de chevaux prélevés, 101 présentaient des anticorps anti-WNV. La spécificité de la réponse sérologique vis-à-vis du virus West Nile a été confirmée sur quelques prélèvements au CNR-IP par séroneutralisation différentielle West Nile-Encéphalite de St Louis.

La comparaison et l'analyse des résultats des sérologies effectuées en juillet 2002, décembre 2002 et juillet 2003 révèle une forte séroconversion entre juillet 2002 et décembre 2002 et l'absence de séroconversion au moins dans les clubs les plus touchés entre décembre 2002 et juillet 2003.

La répartition géographique des chevaux séropositifs ne semble pas être aléatoire (Quirin *et al.* 2004) mais pourrait être corrélée aux micro-climats et à la végétation (mangrove). Par ailleurs, la surveillance

clinique équine a permis de détecter deux chevaux présentant des troubles nerveux en août 2003. Ces chevaux n'avaient pas d'anticorps anti-virus West Nile. La surveillance clinique avicole a permis de détecter quatre foyers de mortalité aviaire entre juin et septembre 2003. Quinze sérums et dix encéphales ont été analysés. De ces analyses, seul un sérum contenait des anticorps anti-virus West Nile.

Au bilan de la surveillance animale, le système mis en place assez précocement a permis d'observer le début de la circulation virale en Guadeloupe en 2002, puis l'extension du nombre de chevaux présentant des anticorps anti-virus West Nile. Le système de surveillance clinique chez les chevaux a fonctionné mais, jusqu'à présent, aucun cas ne peut être attribué à une infection par le virus West Nile. De même, le bilan de la CIRE quant à la surveillance humaine fait état de l'absence de cas clinique humain en Guadeloupe. Le système mis en place permettra d'étudier l'évolution de la circulation du virus en Guadeloupe chez les chevaux, oiseaux et moustiques.

3.2 La Martinique

Dans le cadre d'un partenariat inter-service équivalent à celui existant en Guadeloupe, la surveillance du virus West Nile a été intégrée aux programmes de surveillance sur l'île. L'ensemble des acteurs de terrain concernés, notamment les vétérinaires praticiens, les acteurs de la filière avicole et ornithologique ainsi que les services médicaux, ont été sensibilisés.

Une enquête a été réalisée en juin-juillet 2003 sur 225 volailles réparties dans 14 élevages de l'île. Aucune sérologie positive n'a été détectée par le CNR-IP.

En ce qui concerne le volet « cheval », 363 sérums de chevaux ont été prélevés et expédiés au laboratoire de l'Afssa LERPAZ le 27/06/03. Seul un cheval s'est avéré être séropositif en IgG mais négatif en IgM. Ce cheval est né en Guadeloupe le 19/03/01 et est arrivé en Martinique en décembre 2002. Il est très probable que ce cheval ait été infecté en Guadeloupe avant sa venue.

4 Perspectives

4.1 Objectifs de la surveillance

On connaît mal les facteurs écologiques qui conditionnent les deux étapes du cycle épidémiologique de l'infection à virus West Nile (Figure 2) :

- l'établissement d'un cycle biologique dans une zone donnée ;
- l'amplification de ce cycle qui est révélé par l'apparition de cas cliniques humains et/ou équins.

Les facteurs qui déterminent le passage de la première à la seconde étape sont inconnus : en termes d'analyse de risque, ceci revient à dire que l'on connaît mal la relation entre la probabilité d'émission et la probabilité d'exposition.

Aussi, il apparaît opportun de distinguer deux objectifs différents pour la surveillance de l'infection à virus West Nile, qui correspondent à ces deux étapes, avec, pour une zone géographique donnée :

- la détection la plus précoce possible de l'établissement d'un cycle biologique oiseaux-moustiques (en termes d'analyse de risque, cela correspond à un suivi de la probabilité d'émission) ;
- l'apparition d'un risque de contamination significatif pour les populations et qui pourrait aboutir à un nombre important de cas cliniques (en termes d'analyse de risque, cela correspond à un suivi de la probabilité d'exposition).

Il faut noter que ces deux objectifs de la surveillance ne s'adressent pas aux mêmes zones géographiques :

- le premier objectif concerne essentiellement les zones propices à l'introduction du virus (zones de passage et/ou de nidification d'oiseaux migrateurs, susceptibles d'entretenir une circulation à bas bruit du virus) : on parlera par la suite de « zones écologiquement favorables » ;
- le second objectif n'a de sens que s'il concerne des zones peuplées, et est d'autant plus pertinent que la densité de peuplement (et les conséquences d'une éventuelle épidémie) est importante : on parlera par la suite de « zones à risque ».

Les deux types de zones « écologiquement favorables » et « à risque » sont susceptibles, selon les régions, d'être différentes ou être partiellement ou totalement communes.

Le système de surveillance, quel qu'il soit, doit permettre d'alerter les autorités sanitaires afin de mettre en place les moyens de communication, de prévention et de gestion d'éventuelles épidémies. Ces moyens doivent être adaptés à l'événement détecté par le système de surveillance :

- la détection de l'établissement d'un cycle dans une zone donnée devrait *a priori* amener à alerter les professionnels susceptibles d'avoir à se rendre dans ces zones, ainsi qu'à accentuer la surveillance de l'amplification du cycle dans les zones adjacentes ;
- la détection de l'amplification du cycle dans une zone à risque devrait *a priori* amener à utiliser des moyens plus lourds (communication auprès de la population exposée sur les moyens de protection, lutte anti-vectorielle, voir annexe 1...).

Hormis le volet « humain », la surveillance est susceptible de reposer sur celle des populations animales suivantes : les équidés, les oiseaux et les moustiques :

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

Il est à noter qu'à l'exception des moustiques, des équidés et des oiseaux dont le rôle « d'espèces sentinelles » a déjà été documenté lors des épidémies américaines, israéliennes, canadiennes, aucune donnée n'est disponible dans la littérature internationale quant à l'implication

d'autres espèces en tant que sentinelles, même si la liste est longue des espèces chez lesquelles des anticorps ont été détectés.

D'autres espèces animales (bovine, ovine...) seraient susceptibles d'être impliquées dans la mise en place d'un système d'alerte et de surveillance de cette arbovirose en France. Cependant, en l'absence de données relatives à la sensibilité et à la réceptivité de ces espèces, seuls les outils d'épidémiosurveillance reposant sur les oiseaux et les équidés seront abordés. Fort de l'expérience acquise depuis 2000 en France, les limites et l'intérêt de chacune de ces cibles, à la fois dans les domaines de la surveillance active ou passive, seront analysés et des recommandations pour la surveillance de l'infection à virus West Nile seront formulées.

4.2 Outils et moyens de surveillance

Aux Etats-Unis, un guide de surveillance a été édité (CDC 2003), analysant toutes les composantes de la surveillance (oiseaux, cheval, homme, moustique), et détaillant leur efficacité, à la lumière de l'expérience Nord-Américaine (Figure 3) (Anonymous 2001).

On analyse ci-dessous la façon selon laquelle les conclusions obtenues dans le contexte nord-américain actuel peuvent être adaptées à la situation française, en distinguant la surveillance passive et la surveillance active. Ces systèmes de surveillance doivent donc être analysés en prenant en compte les caractéristiques du contexte français, bien différent de la situation nord-américaine.

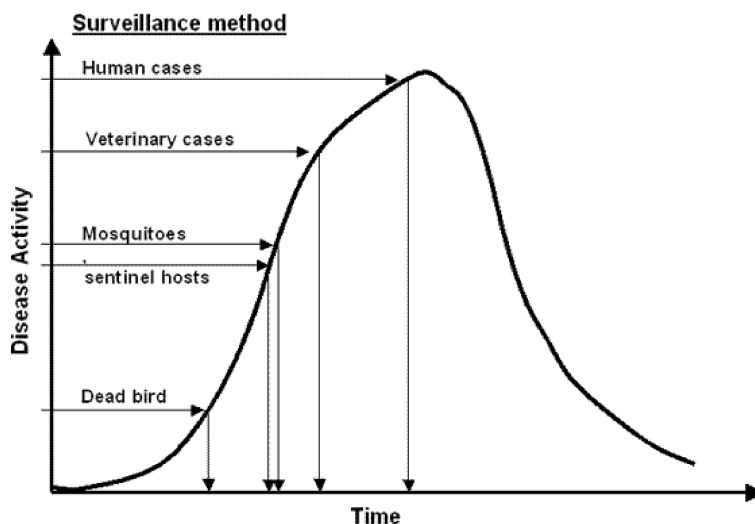


Figure 3 : Sensibilité estimée des méthodes de surveillance de l'infection à virus West Nile dans le contexte américain (mortalité d'oiseaux) (CDC).

« Veterinary cases » : animaux domestiques ; « Dead birds » : oiseaux sauvages.

4.2.1 Surveillance passive

Aux Etats-Unis, la surveillance passive des encéphalites (ou méningo-myélo-encéphalites) humaines et équine, ainsi que la surveillance de la mortalité aviaire sont les outils de base pour la surveillance de l'infection à virus West Nile.

Aux Etats-Unis, de janvier à novembre 2002, la circulation virale a été détectée dans 2289 comtés. Dans 95% des cas (n=2164), le premier signe de cette circulation était issu de la surveillance passive.

Parmi ces comtés, le premier signe de circulation virale a été :

- la mortalité aviaire dans 66% des cas (n=1420 comtés) ;
- un cas clinique équin dans 30% des cas (n=660 comtés) ;
- un cas clinique humain dans 4% des cas (n=84 comtés).

Toujours aux Etats-Unis et pour la même période, des cas cliniques humains ont été déclarés dans 619 comtés (MMWR, déc. 2002). Dans 86% de ces comtés (n=531), la circulation virale avait été détectée plusieurs semaines auparavant (médiane : 33 jours) chez une ou plusieurs espèces animales. Si l'on restreint les cas cliniques humains aux cas de méningo-encéphalite, on obtient une proportion analogue (CDC, 2003), puisque dans 89% (n=527 comtés) des 589 comtés ayant déclaré des cas de méningo-encéphalite humaine, la circulation virale avait été détectée auparavant chez l'animal.

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.

Cependant, 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 (Lvov *et al.* 2002, Malkinson et Banet 2002). De la même façon, il est intéressant de noter qu'au Mexique, en 2003, en dehors de tests sérologiques positifs chez 117 oiseaux (sur plus de 17 000 testés), la démonstration d'une infection sur des oiseaux morts n'a pu être apportée que dans quatre cas.

En France, entre 2000 et 2003, aucune mortalité aviaire anormale n'a été constatée. En 2000, le premier signe de circulation virale a été un cas clinique équin. En 2003, il s'agissait d'un cas clinique humain et d'un cas clinique équin qui ont été rapportés à quelques jours d'intervalle. L'importation des cas humains en provenance d'Amérique du Nord a été rapportée dès 2002, suivie de plusieurs cas entre juillet et septembre 2003 (Charles *et al.* 2003, CNR-IP/IMTSSA données non publiées).

Finalement, il faut noter que la découverte de signes de circulation virale, grâce à la surveillance passive, ne permet pas de prédire l'occurrence de cas cliniques chez l'homme. Aux Etats-Unis en 2002, seuls 619 (27%) des 2289 comtés touchés ont rapporté des cas humains. En France, en 2000, si l'infection a touché assez largement la population équine et si la circulation du virus chez l'homme a pu être démontrée, la maladie n'a frappé que les chevaux, aucun cas humain d'encéphalite n'ayant été rapporté.

4.2.2 Surveillance active

On s'intéresse ici à la surveillance active de la maladie grâce à des animaux sentinelles, en distinguant d'une part les éléments qualitatifs qui, dans la littérature, orientent le choix de l'espèce sentinelle, et d'autre part les éléments quantitatifs qui portent sur le nombre de sujets nécessaires afin d'assurer à un dispositif de surveillance active une sensibilité adéquate.

Eléments qualitatifs

On ne dispose que de peu de données sur la surveillance active de l'infection à virus West Nile. Ce type de surveillance semble assez peu utilisé aux Etats-Unis, 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 2289 où cette circulation a été détectée (MMWR, déc. 2002) :

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

Cette répartition est certainement plus représentative de l'usage des différents moyens de surveillance active que de leur efficacité respective.

La surveillance par utilisation de chevaux sentinelles ne semble être utilisée que de façon marginale aux Etats-Unis. En France, elle a permis de montrer une circulation virale à bas bruit en Camargue en 2001, 2002 et 2003 (Bicout *et al.* 2003).

Selon le guide du CDC, la surveillance par utilisation d'oiseaux sentinelles n'est pas toujours pertinente, au sens où la séroconversion chez ces oiseaux ne précède pas le passage du virus chez les mammifères. Cependant, des études effectuées aux Etats-Unis suggèrent que la façon actuelle d'utiliser les poulets/canards pourrait être largement améliorée en terme de sensibilité par la mise en place de cages dans la canopée. En France, une surveillance en zone humide grâce à des oiseaux sentinelles (canards appelants) a été effectuée en 2001, 2002 et 2003. Elle a permis de démontrer la persistance de la circulation du virus dans les zones d'étude. Cependant, la lourdeur technique, logistique et financière du système ne permet pas son extension géographique à la France entière.

La recherche du virus chez les moustiques constitue, en théorie, la méthode de choix pour la détection précoce de la circulation du virus. Cependant, cette méthode est beaucoup trop lourde en termes de moyens humains et matériels pour être utilisée comme outil de surveillance. Ainsi, en France, la méconnaissance de la nature précise du ou des vecteurs du virus (*Culex modestus* et *Culex pipiens* sont les vecteurs probables, mais non démontrés), la difficulté à mettre en place un système fondé sur la capture d'insectes ainsi que les données bibliographiques (notamment américaines) qui soulignent la faible sensibilité du système « moustiques », constituent quelques arguments qui permettent de ne pas préconiser les vecteurs comme éléments prioritaires de la surveillance en France.

Eléments quantitatifs

Quel que soit l'objectif initialement poursuivi (détection de l'établissement d'un cycle dans une zone écologiquement favorable ou de l'apparition d'un niveau d'exposition élevé dans une zone à risque), la

finalité de la surveillance relève de la santé publique : il s'agit, dans les deux cas, de détecter le plus précocement possible une situation où, dans une zone géographique donnée, le niveau d'exposition de la population humaine dépasserait un seuil critique au-delà duquel on considère qu'une alerte doit être déclenchée afin de mettre en œuvre des mesures de protection.

L'objectif d'un protocole de surveillance active dans une zone géographique donnée va donc être de détecter, dans une cohorte d'animaux qui vivent dans cette zone, l'occurrence de séro-conversions, dès lors que le taux de séro-conversions dépasse une valeur seuil fixée à l'avance. Ce seuil du taux de séro-conversion représente le seuil critique d'exposition des populations humaines au-delà duquel on considère qu'une alerte doit être déclenchée.

En pratique, il s'agit de suivre le statut sérologique d'un échantillon d'animaux d'une espèce donnée qui vivent dans la zone considérée, en les soumettant à des prélèvements réguliers pendant la période d'activité des vecteurs.

Les animaux suivis doivent bien sûr être séro-négatifs au départ, et la périodicité des prélèvements conditionne la réactivité du dispositif de surveillance.

La taille de l'échantillon est calculée de façon à assurer, avec une probabilité de 95% (pour un risque α classique de 5%), que la circulation du virus dans la zone sera découverte (au travers d'au moins une séro-conversion dans l'échantillon), dès lors que cette circulation est suffisamment intense pour que le taux réel de séro-conversion (celui de l'ensemble des animaux qui vivent dans la zone) dépasse la valeur seuil fixée à l'avance.

Le plan d'échantillonnage a donc trois paramètres :

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

Pour proposer un ordre de grandeur des deux premiers paramètres, les seules données disponibles sont celles produites par les enquêtes de séro-prévalence équine conduites en Camargue en 2000 et dans le Var en 2003. Au cours de ces deux enquêtes, les chevaux prélevés ont été testés en IgG, les sérums positifs en IgG étant également testés en IgM. En l'absence de connaissances sur le statut sérologique antérieur de ces animaux, les résultats d'analyse posent des problèmes d'interprétation. On peut, en effet, considérer que le taux de séro-conversion est mieux estimé par la proportion des animaux positifs en IgM que par celle des animaux positifs en IgG (les animaux positifs en IgG et négatifs en IgM correspondant à des animaux ayant été infectés au cours des années précédentes). Alternativement, on peut considérer que le taux de séro-conversion est mieux estimé par la proportion des animaux positifs en IgG que par celle des animaux positifs en IgM (la présence d'animaux positifs en IgG et négatifs en IgM étant due à une demi-vie courte des IgM). Quoiqu'il en soit, ces deux chiffres donnent une fourchette pour le taux de séro-conversion réel :

- la proportion des animaux positifs en IgM en donne une borne inférieure ;
- la proportion des animaux positifs en IgG en donne une borne supérieure.

L'aire de la zone doit être choisie de façon à ce que l'on puisse considérer que la répartition spatiale des sentinelles y est à peu près uniforme, et qu'en cas d'épidémie, la pression d'infection y sera spatialement homogène. En première approximation, et même si ces conditions n'y sont pas vérifiées, on peut proposer de fixer l'aire de la zone à une valeur proche de celle de l'extension géographique d'une épidémie « moyenne ».

En Camargue, en 2000 :

- l'enquête de séro-prévalence avait couvert une surface totale d'environ 2 500 km² ;
- à l'intérieur de cette zone, la surface totale des communes où au moins un cas sérologique (IgG) avait été trouvé était d'environ 1 400 km² ;
- si l'on se restreint aux cas sérologiques IgM (signes d'une infection récente), la surface totale des communes affectées (restreintes à la zone d'enquête) était d'environ 1 300 km².

Dans le Var, en 2003 :

- l'enquête de séro-prévalence a couvert une surface d'environ 1 800 km² ;
- la surface totale des communes au sein desquelles au moins un animal a été trouvé positif en IgG est d'environ 700 km².

On peut donc proposer de s'intéresser à des zones de surveillance active dont l'aire est de l'ordre de 1 000 km², ce qui correspond à des zones carrées d'un peu plus de 30 km de côté.

La valeur seuil du taux de séro-conversion que l'on souhaite pouvoir détecter est difficile à fixer *a priori*. On peut cependant lui donner une borne supérieure, qui correspond aux taux de séro-prévalence équine observés en Camargue et dans le Var :

- dans le premier cas, 8,5% des animaux ont été trouvés positifs en IgG (n=5133), et 42% de ces derniers étaient également positifs en IgM (n=428), soit 3,6% des animaux testés positifs en IgG et en IgM (Durand *et al.* 2002, Zientara *et al.* 2001) ;
- dans le second cas, 34% des animaux testés ont été trouvés positifs en IgG, et 7,5% de ces derniers étaient également positifs en IgM, soit 2,5% des animaux testés positifs en IgG et en IgM.

Dans les deux cas, les animaux ont été prélevés après l'occurrence de cas cliniques équins (en Camargue) et également humains (dans le Var). Pour qu'un protocole de surveillance active ait une utilité, il faut donc qu'il soit conçu pour détecter un taux de séro-conversion inférieur à ces valeurs. Si l'on retient l'estimation basse du taux de séro-conversion, fournie par le taux de séro-positivité en IgM, on est amené à proposer une valeur de l'ordre de 2 à 3% pour la valeur seuil du taux de séro-conversion que l'on souhaite pouvoir détecter.

Finalement, on ne dispose pas des données sur la dynamique d'une épidémie qui seraient nécessaires pour fixer objectivement la valeur de la périodicité des prélèvements. Il semble cependant raisonnable de proposer une borne maximale de 1 mois pour que le dispositif de surveillance conserve une réactivité raisonnable.

A titre d'exemple, le tableau III donne la taille des échantillons qu'il serait nécessaire de suivre dans le cadre de la surveillance active du virus West Nile en utilisant des chevaux sentinelles, dans les départements méditerranéens (hors Corse). On a utilisé dans les calculs les effectifs d'équidés présents dans chacun des départements concernés (source : recensement général agricole 2002) et les valeurs proposées ci-dessus pour les paramètres du plan d'échantillonnage :

- aire d'une zone : 1000 km² ;
- valeurs seuil du taux de séro-conversion que l'on souhaite pouvoir détecter : 1%, 2% , 3% et 5% .

Le détail des calculs est donné dans l'annexe 2.

Tableau III : Tailles des échantillons de chevaux sentinelles nécessaires pour la surveillance active de l'infection à virus West Nile dans les départements méditerranéens.

Taux de séro-conversion ⁽¹⁾	Effectif	Taille d'échantillon par zone				Taille totale de l'échantillon			
		1%	2%	3%	5%	1%	2%	3%	5%
Aude	2 370	195	115	81	53	1 244	733	516	337
Gard	3 589	214	126	89	55	1 243	731	516	323
Hérault	4 560	229	132	88	56	1 418	818	549	346
Lozère	3 150	211	124	87	55	1 091	642	453	283
Pyrénées-Orientales	3 230	243	132	90	55	1 004	546	373	227
Languedoc-Roussillon	16 899					6 001	3 471	2 406	1 516
Alpes de Haute-Provence	1 840	167	103	82	50	1 158	716	567	346
Hautes-Alpes	2 050	189	111	85	51	1 076	634	482	292
Alpes-Maritimes	1 050	154	109	75	49	660	469	323	211
Bouches du Rhône	4 020	246	134	92	56	1 250	680	465	283
Var	2 840	210	120	83	54	1 275	728	506	325
Vaucluse	1 465	182	114	82	53	657	411	297	190
PACA	13 265					6 076	3 639	2 641	1 646
TOTAL	30 164					12 077	7 109	5 047	3 162

⁽¹⁾ Taux de séro-conversion que le protocole doit pouvoir détecter (au seuil α de 5%)

Le tableau IV donne les mêmes informations que le tableau III, mais en s'intéressant cette fois à des oiseaux domestiques sentinelles. Là encore, on a utilisé dans les calculs les effectifs d'oiseaux présents dans chacun des départements concernés (source : Agreste 2000). Lors de l'épizootie camarguaise de 2000, une enquête sérologique a révélé un taux de séroprévalence en IgG de 8% chez les canards (n = 100). Les sérums n'ont pas été testés en IgM. Ce chiffre de 8% étant très proche de celui observé chez les équidés lors de la même épidémie (8,5%), on a repris pour les oiseaux les mêmes valeurs de paramètres que celles utilisées pour les équidés (voir ci-dessus).

Tableau IV : Tailles des échantillons d'oiseaux sentinelles nécessaires pour la surveillance active de l'infection à virus West Nile dans les départements méditerranéens.

Taux de séro-conversion ⁽¹⁾	Effectif	Taille d'échantillon par zone				Taille totale d'échantillon			
		1%	2%	3%	5%	1%	2%	3%	5%
Aude	1 057 455	298	148	98	58	1 896	944	626	372
Gard	1 366 149	298	148	98	58	1 735	863	573	340
Hérault	365 418	297	148	98	58	1 841	918	609	362
Lozère	95 524	295	147	98	58	1 527	763	507	302
Pyrénées-Orientales	99 531	296	148	98	58	1 223	611	405	241
Languedoc-Roussillon	2 984 077					8 222	4 098	2 721	1 617
Alpes de Haute-Provence	361 813	297	148	98	58	2 060	1 027	682	405
Hautes-Alpes	77 701	294	147	98	58	1 672	836	557	332
Alpes-Maritimes	93 183	295	147	98	58	1 265	633	421	250
Bouches du Rhône	282 041	297	148	98	58	1 508	751	499	296
Var	370 601	297	148	98	58	1 804	899	597	355
Vaucluse	633 650	298	148	98	58	1 073	534	354	210
PACA	1 818 989					9 382	4 681	3 110	1 848
TOTAL	4 803 066					17 604 8 780	5 831	3 466	

⁽¹⁾ Taux de séro-conversion que le protocole doit pouvoir détecter (au seuil α de 5%)

On constate que, pour les valeurs intermédiaires du taux de séro-conversion à détecter (2% et 3%), les tailles d'échantillons d'équidés sentinelles qui devraient être suivis dans une zone de 1 000 km² sont de l'ordre de 100 animaux. Du fait d'effectifs plus élevés, les tailles d'échantillons d'oiseaux sentinelles sont un peu supérieures : de l'ordre de 125 oiseaux.

En terme de nombre annuel d'analyses, à l'échelle d'une zone, si l'on suppose que les animaux sont suivis sérologiquement pendant la période d'activité des vecteurs (de mai à novembre), on arrive à 1 400 analyses de sérums équins et 1 750 analyses de sérums d'oiseaux si les animaux sont prélevés tous les quinze jours, et moitié moins (700 analyses pour les équidés, 875 pour les oiseaux) si les animaux sont prélevés une fois par mois.

A l'échelle d'un département, et pour les mêmes valeurs seuil du taux de séro-conversion, on obtient des valeurs de l'ordre de 550 chevaux et de 650 oiseaux sentinelles, soit 7 700 analyses annuelles de sérums équins et 9 100 de sérums d'oiseaux si les animaux sont prélevés tous les quinze jours ; 3 850 analyses annuelles de sérums équins et 4 550 de sérums d'oiseaux si les animaux sont prélevés une fois par mois.

Finalement, si l'on augmente la sensibilité et la réactivité du dispositif de surveillance en fixant le taux de séro-conversion à détecter à 1% et la périodicité des prélèvements à quinze jours, les tailles d'échantillons augmentent très fortement, avec un différentiel plus marqué entre équidés et oiseaux : 200 chevaux et 300 oiseaux sentinelles par zone de 1 000 km², soit, respectivement, 2 800 et 4 200 analyses annuelles. A l'échelle d'un département, on obtient environ 1 000 chevaux et 1 600 oiseaux sentinelles, soit, respectivement, 14 000 et 22 400 analyses annuelles.

L'ensemble de cette approche quantitative de la surveillance active de l'infection à virus de West Nile reste cependant théorique et repose sur des hypothèses qui peuvent être discutées (homogénéité spatiale de la répartition des animaux sentinelles et de la pression d'infection : voir annexe 2). En tout état de cause, sa mise en œuvre pratique nécessiterait de l'adapter aux conditions locales (aire de la zone à surveiller, abondance et répartition spatiale effectives des animaux sentinelles, moyens disponibles etc.). Cette approche a cependant le mérite de fixer des ordres de grandeur quant à la taille des effectifs d'animaux sentinelles (et aux coûts importants associés) nécessaires pour qu'un dispositif de surveillance active soit efficace.

5 Recommandations

Le virus West Nile, arbovirus de la famille des *Flaviviridae*, est transmis à l'homme essentiellement par les piqûres d'insectes infectés. Compte tenu du cycle biologique du virus, la maladie est saisonnière et ne se manifeste cliniquement que pendant l'été et l'automne. Bien que des différences génétiques entre souches aient été mises en évidence, il semble que peu de divergences antigéniques sont décrites et que les souches partagent de nombreux épitopes, quelles que soient les régions du monde où elles sont isolées.

Chez l'homme ou chez l'animal, la majorité des infections sont asymptomatiques. Le pourcentage de formes symptomatiques varie selon les souches et les espèces animales, mais est rarement supérieur à 10 %.

Jusqu'en 1999, les épidémies ou épizooties causées par le virus West Nile semblaient limitées à la fois dans le temps et dans l'espace. Depuis l'apparition du virus West Nile aux Etats-Unis en 1999, force a été de constater que, d'une part, ce virus était capable de se répandre rapidement sur de vastes territoires jusque là indemnes et que, d'autre part, il pouvait constituer un problème de santé publique non négligeable.

En France, la situation est fort différente, puisque le nombre de cas chez l'homme et chez l'animal rapporté ces dernières années est faible, et que l'on ne peut pas exclure l'hypothèse selon laquelle le virus serait présent depuis longtemps dans certaines régions.

Cependant, il est indispensable, et c'est l'objectif de cette auto-saisine, de s'interroger sur la pertinence de systèmes d'alerte et de surveillance adaptés à la situation épidémiologique française.

En première approximation, en période estivale, la quasi-totalité de l'hexagone est susceptible de permettre la circulation virale pendant des périodes plus ou moins longues ; cependant, compte-tenu de l'histoire épidémiologique de ce virus dans le bassin méditerranéen, des conditions climatiques et écologiques, les départements limitrophes de ce bassin peuvent être considérés comme des zones particulièrement à risque de circulation virale.

La mise en évidence de cas humains et équinés en 2003 dans le département du Var a révélé la nécessité de disposer de systèmes de surveillance, afin d'alerter le plus précocement possible les autorités sanitaires compétentes. Compte tenu des caractéristiques particulières de l'infection chez les équidés et les oiseaux domestiques, ces espèces sont des cibles intéressantes pour la mise en place d'un tel système.

La surveillance, dont l'objectif est essentiellement la détection la plus précoce possible de la circulation virale dans une région donnée, peut reposer sur la sensibilité du maillage vétérinaire existant (surveillance passive) ou sur la mise en place de systèmes d'alerte spécifiques visant à mettre en évidence la présence du virus (surveillance active).

Les recommandations de ce rapport porteront sur les actions de surveillance, sur les actions de recherche ainsi que sur des mesures complémentaires.

Il est nécessaire de distinguer l'aspect de surveillance stricte, qui doit être suffisamment sensible et simple pour pouvoir être menée sur le moyen - voire le long terme - et dont l'objectif est la détection précoce des cas, des actions de recherche qui (à moyen ou long terme) doivent permettre d'améliorer la connaissance et les systèmes de surveillance.

5.1 Recommandations pour la surveillance de l'infection à virus West Nile en France et dans les Antilles

5.1.1 Surveillance passive

Oiseaux

Une surveillance passive devrait être fondée sur la détection des cas de surmortalité inexpliquée d'oiseaux sauvages et la recherche du virus West Nile à partir d'encéphales d'un échantillon d'oiseaux morts. Cette surveillance devrait concerner toutes les espèces aviaires collectées dans le cadre du fonctionnement normal du réseau SAGIR.

Elle serait aisée à mettre en œuvre puisqu'elle s'appuierait sur un réseau existant et éprouvé. En cas d'apparition d'un foyer de West Nile dans une région donnée, il pourrait être envisagé de surveiller également les mortalités d'oiseaux domestiques élevés en plein air et les mortalités d'oiseaux sauvages

maintenus en captivité dans les parcs zoologiques et animaliers (avec recherche du virus sur les cadavres).

En 2004, le réseau SAGIR a été activé en région méditerranéenne par une campagne de sensibilisation, qu'il conviendrait de renouveler régulièrement.

Equidés

Cette surveillance devrait reposer sur une sensibilisation particulièrement renforcée des vétérinaires praticiens quant à la nécessité de déclarer à la DDSV concernée les cas plausibles d'infection à virus West Nile.

La sémiologie des maladies neurologiques d'origine centrale ou périphérique chez les équidés est délicate. Des actions de formation des vétérinaires praticiens devraient être mises en place.

Tout symptôme nerveux évocateur de l'infection par le virus West Nile chez les équidés, en période de transmission du virus, devrait faire l'objet d'un prélèvement pour confirmation biologique en laboratoire.

Mesures d'information

Au niveau national, une campagne d'information et de sensibilisation du public pourrait être entreprise. Mais, contrairement à ce qui a été fait jusqu'à présent en Camargue (information tous publics), elle devrait être ciblée uniquement sur les publics spécialisés que sont les associations de chasseurs (fédérations départementales de chasseurs), les associations d'ornithologie et de protection de la nature (LPO), les vétérinaires équins ainsi que les structures et syndicats professionnels.

Homme

En parallèle à la recommandation relative aux équidés, tout symptôme nerveux suspect survenant en période de transmission du virus devrait faire l'objet d'investigations complémentaires spécifiques.

5.1.2 Surveillance active

Concernant la surveillance active, les contraintes, que sa mise en oeuvre générerait pour lui conférer un degré de sensibilité suffisant, n'en font pas un outil de surveillance utilisable régulièrement et extensible à tout le territoire national.

Il semblerait donc raisonnable de la limiter à des zones considérées comme étant à risque ; cependant, en l'état actuel des connaissances, hormis les zones où la circulation du virus a déjà été mise en évidence, il est impossible de déterminer la localisation précise de ces zones à risque.

La surveillance active des oiseaux mise en place depuis 2001 (et reconduite en 2004) a permis, en dépit d'une méconnaissance de sa sensibilité réelle, de mettre en évidence la persistance de la circulation virale en 2001 et 2002 en Camargue suite à l'épizootie de 2000. Néanmoins, compte tenu des moyens à mettre en oeuvre pour la réaliser et de sa faible pertinence en tant que système d'alerte précoce pour limiter le nombre de cas chez l'Homme (les données bibliographiques américaines indiquent que, dans les zones où des cas humains ou équins ont été observés, la séroconversion chez les oiseaux sentinelles ne précède pas nécessairement le passage du virus chez les mammifères), il n'est pas recommandé de pérenniser ce type de surveillance pour les années à venir (sauf à visée de recherche ciblée cf. paragraphe 5.2).

La surveillance active des chevaux se heurte à des difficultés similaires et n'est donc pas non plus recommandée.

La surveillance de l'infection à virus West Nile par la détection du virus chez les moustiques n'est pas justifiée dans un objectif d'alerte précoce, pour les raisons développées précédemment.

5.2 Recommandations concernant les actions de recherche

Il est fondamental de répondre à de nombreuses questions concernant l'épidémiologie complexe de cette arbovirose. Des études devraient être entreprises pour approfondir les points suivants :

- l'absence de souches européennes dans le lignage II ;
- les facteurs de pathogénicité (raisons de la mortalité aviaire en Israël et aux Etats-Unis...) ;
- l'étude de la persistance virale éventuelle chez certains hôtes et chez les vecteurs ;
- les facteurs responsables de l'infection chez les mammifères ;
- l'identité et la bio-écologie de la ou des espèces de moustiques vectrices à l'origine de l'infection des oiseaux et des mammifères ;
- les infections expérimentales sur des espèces de moustiques élevées en *insectarium* afin d'évaluer la compétence vectorielle et la transmission verticale ;

- le rôle des tiques dans la possible dissémination du virus ;
- la détermination des espèces d'oiseaux jouant un rôle dans le cycle épidémiologique ;
- le rôle des oiseaux migrateurs ou résidents (relations entre trajets migratoires et distribution géographique de l'infection et, à plus long terme, conséquences potentielles du réchauffement climatique en termes de modifications éventuelles des trajets migratoires) ;
- ...

En France, il est impératif de continuer à suivre l'évolution de la situation épidémiologique.

Entre 2000 et 2003, la circulation du virus West Nile a été démontrée dans les départements du Gard, de l'Hérault, des Bouches-du-Rhône et du Var. Ceci ne préjuge pas du fait que le virus ait également circulé ou non dans les départements limitrophes. En effet, d'une part, la plupart des infections à virus West Nile sont asymptomatiques ou peu symptomatiques (Tsai *et al.* 1998), d'autre part un grand nombre d'encéphalites et/ou méningo-encéphalites humaine et équine n'a pas de diagnostic étiologique précis. Ceci va dans le sens des résultats de l'enquête de séroprévalence équine menée dans le Var en 2003. Parmi les 906 sérums de chevaux prélevés, 306 avaient des taux d'IgG anti-West Nile significatifs mais seulement 7,5% de ces derniers avaient également des IgM. Ceci suggère une circulation plus ancienne du virus dans ce département, mais passée inaperçue. Il est donc probable que les départements cités plus haut ne sont pas les seules zones à risque et que le virus West Nile a probablement circulé dans les départements limitrophes.

Il serait donc souhaitable, pour mieux préciser l'étendue de la circulation du virus au niveau national, de mettre en oeuvre des enquêtes de séro-prévalence chez les animaux (en particulier les chevaux et les oiseaux) dans d'autres départements.

Un autre intérêt de ces enquêtes de séro-prévalence serait de permettre de disposer de données épidémiologiques susceptibles d'orienter les autres programmes de recherche.

En cas de mise en évidence d'une circulation virale, des enquêtes entomologiques devraient être réalisées afin d'identifier les vecteurs en cause, ce qui pourrait permettre la mise en place des mesures de lutte et de prévention adaptées contre ces vecteurs.

En Guadeloupe, les objectifs des actions actuellement mises en place sont de caractériser le virus et d'étudier les facteurs prédisposant à la circulation virale dans le contexte particulier des Caraïbes.

Le programme mis en place en Guadeloupe prévoit : (i) une nouvelle enquête sérologique chez les chevaux et les oiseaux pendant la saison sèche entre janvier et juin 2004, (ii) une enquête entomologique détaillée, (iii) la mise en place de la surveillance oiseaux sauvages (récolte d'oiseaux morts et captures d'espèces ciblées) et (iv) une analyse spatiale et une analyse de risque.

En Martinique, bien que la circulation virale n'ait pas été encore démontrée, les mêmes actions pourraient être conduites.

5.3 Recommandations complémentaires

5.3.1 Coordination nationale

Au niveau national, il est recommandé de maintenir et de renforcer la collaboration entre les acteurs institutionnels impliqués dans la surveillance de l'infection.

Une banque de données, rassemblant la totalité des informations relatives à la surveillance, devrait être constituée (la base de données élaborée et hébergée par le CIRAD-EMVT ne recueille actuellement que les informations issues de la surveillance aviaire). La collecte, le traitement et la circulation des informations émanant de la surveillance équine, aviaire et humaine pourraient être intégrés à la base de données. Cette base de données devrait être accessible à tous les partenaires par l'intermédiaire de l'Internet. Ce site comporterait en outre une partie accessible à tout public, présentant outre des informations générales sur la maladie (l'épidémiologie, le diagnostic, la prévention, ...), les partenaires impliqués dans la surveillance, les protocoles et les résultats de la surveillance, les informations essentielles sous forme de dépêches.

5.3.2 Développement de la capacité analytique

Il serait nécessaire que soient constitués des réseaux de laboratoires vétérinaires agréés pour le diagnostic biologique de l'infection à virus West Nile. Ces réseaux seraient animés par les centres et laboratoires nationaux de référence, conformément à leurs missions.

5.3.3 Surveillance au plan européen

Il est apparu lors des crises précédentes qu'il était difficile (voire impossible) d'obtenir des informations précises et fiables quant à la nature des systèmes de surveillance mis en place dans les autres pays européens. Il serait utile et nécessaire que les informations relatives à la surveillance de cette arbovirose

dans les différents pays de l'espace européen -a minima- soient diffusées par les autorités sanitaires et aisément disponibles, avec activation des échanges en cas d'alerte.

5.3.4 Prophylaxie médicale

En cas d'extension territoriale de l'infection provoquant un nombre de cas élevés dans la population équine (risque certes négligeable, mais non nul), et compte tenu de la mise sur le marché américain de vaccins, inactivés ou recombinants, chez le cheval, des dispositions devraient être prises pour que ces vaccins puissent être mis à disposition des vétérinaires français. Cependant, la situation épidémiologique actuelle en France ne justifie pas le recours à la mise en oeuvre d'une politique vaccinale chez le cheval.

5.3.5 Mesures de contrôle aux frontières

Compte tenu de la situation épidémiologique française (infection autochtone), de l'absence de mise en évidence de marqueurs de virulence des souches et de l'impact limité de cette infection en terme de santé publique à ce jour, il n'apparaît pas justifié de recommander une intensification des moyens de contrôle (démoustication...) actuellement mis en place dans les aéroports et les ports.

5.3.6 Destruction des oiseaux

Compte-tenu du grand nombre d'espèces d'oiseaux réceptives à l'infection et de la méconnaissance du rôle de ces différentes espèces dans le mécanisme biologique de l'amplification du cycle viral, la destruction des oiseaux, domestiques ou sauvages, ne constitue en aucun cas une mesure utile et justifiée de lutte contre l'infection à virus West Nile.

5.3.7 Mesures complémentaires en cas de fortes épizooties/épidémies

En cas d'apparition d'une situation anormale (mortalités anormales des oiseaux par exemple, ou augmentation brutale du nombre de cas cliniques chez les chevaux ou chez l'homme), la surveillance passive des cas humains et équins devrait être particulièrement renforcée, de manière à la rendre la plus exhaustive possible. L'acquisition de données épidémiologiques relatives à l'évolution de ces épisodes épidémiques ou épizootiques (enquêtes sérologiques...) pourrait être menée.

6 Résumé

L'apparition du virus West Nile sur le continent nord-américain depuis 1999 et son impressionnante dissémination ont suscité beaucoup d'inquiétudes en matière de santé publique.

La situation française est différente de celle observée aux Etats-Unis pour les raisons suivantes :

- l'ampleur des épidémies/épizooties entre la France et les Etats-Unis n'est pas la même (en 2003, plus de 260 décès aux Etats-Unis, aucun en France depuis plus de 30 ans) ;
- le virus n'avait jamais atteint le continent américain, semble-t-il, alors qu'il est présent en Europe depuis de nombreuses années ;
- la mortalité importante observée chez les corvidés aux Etats-Unis n'a pas été rapportée en France.

En Europe, la situation semble actuellement être très différente avec des épidémies :

- géographiquement circonscrites ;
- ne présentant pas de tendance à l'extension ;
- s'éteignant spontanément ;
- d'ampleur en général faible.

En France, deux épidémies/épizooties de faible intensité ont été observées en 2000 et en 2003. Dans les deux cas, une implication précoce et une bonne collaboration des acteurs de la surveillance humaine, vétérinaire et entomologique ont permis une gestion satisfaisante du risque West Nile et la mise en place d'outils de surveillance active et passive.

Fort de cette expérience, deux catégories de recommandations peuvent être formulées pour le futur, selon qu'il s'agit d'actions de surveillance ou de recherche.

Il est apparu que la surveillance passive chez les équidés, fondée sur le maillage national des vétérinaires praticiens pouvait constituer un outil utile et efficace dans la détection des cas cliniques équins, dont il semble qu'ils se manifestent de manière plus ou moins concomitante avec les cas humains. Des actions de sensibilisation et de formation des praticiens spécialisés en médecine équine, ou plus généralistes, seraient ainsi souhaitables afin d'assurer une surveillance d'une sensibilité satisfaisante.

La mise en place d'un réseau de laboratoires agréés, animé par les laboratoires de référence pour effectuer le diagnostic biologique de l'infection devrait être prévue.

En ce qui concerne les oiseaux, l'activation du réseau SAGIR, au niveau national, devrait permettre de révéler une surmortalité liée à l'infection par le virus West Nile.

Un dispositif de surveillance active (chez le cheval et/ou les oiseaux domestiques), qui satisferait à des exigences de sensibilité et de précocité raisonnables, impliquerait des coûts et des moyens humains et logistiques très importants (en particulier s'il était étendu à l'ensemble du territoire national) : coûts sans commune mesure avec les conséquences de l'infection en terme de santé publique.

Comme cela s'est passé depuis 2000, il est indispensable que les informations continuent à être échangées en temps réel entre les différents acteurs de la surveillance : DGS, InVS, DGAI, Afssa, CNR-IP, ONCFS (ainsi que ses partenaires : LPO, CRBPO), EID, CIRAD-EMVT, LVD...

Enfin, en matière d'actions de recherche, et afin de disposer de données qui permettraient de cibler des mesures de sensibilisation et de formation des vétérinaires, il serait souhaitable de mettre en place des enquêtes sérologiques chez les animaux (en particulier les chevaux et les oiseaux) dans les différentes régions françaises et, en premier lieu, dans les départements méditerranéens. Ces enquêtes de séroprévalence pourraient permettre d'orienter d'autres programmes de recherche afin de mieux comprendre les mécanismes d'installation et d'amplification du cycle biologique en vue d'optimiser la lutte.

Annexes

Annexe 1. Lutte antivectorielle

Méthodes

Quels que soient les moyens mis en œuvre, « l'éradication » d'espèces vectrices n'est pas raisonnablement envisageable. En ce sens, les opérations de démoustication sont susceptibles de réduire le risque de piqûre, mais pas de le supprimer et ne constituent qu'un des aspects possibles de la lutte contre la transmission du virus West Nile.

La lutte antilarvaire agit à titre préventif. Elle est parfaitement ciblée dans le temps et l'espace mais nécessite pour cela le suivi permanent des biotopes larvaires potentiels et la connaissance de leur distribution. L'efficacité approche 100% en utilisant le téméphos (Abate® 500 E) et 70% en moyenne en utilisant le *Bacillus thuringiensis ser. israelensis* (Bti, VectoBac® 12AS), tous deux homologués par les autorités compétentes.

La lutte contre les moustiques adultes (adulticide) agit à titre curatif mais les effets indésirables potentiels ne permettent pas de l'étendre sans discernement. Elle peut être mise en œuvre rapidement, avec des résultats toujours très aléatoires si elle est pratiquée isolément. Elle n'a pas été retenue au cours de l'épisode à virus West Nile en automne 2000 dans le Gard et l'Hérault, mais ce serait un complément indispensable à la lutte antilarvaire s'il s'agissait de rechercher l'efficacité maximale notamment en zone urbanisée.

Hypothèses de lutte anti-vectorielle sur la zone d'intervention de l'EID

*** La lutte contre les *Ochlerotatus* et les *Aedes***

Cette lutte exclusivement antilarvaire est déjà effective dans certaines régions de France par les EID (en Languedoc-Roussillon, sur la façade atlantique et en Rhône-Alpes). Si les *Ochlerotatus* étaient déclarés vecteurs du virus et désignés comme cible, le seul problème porterait sur la gestion des *Ochlerotatus* provenant de Grande Camargue, dans la mesure où ce territoire resterait exclu de la démoustication. Délai de mise en œuvre après la commande : immédiat

*** La lutte contre *Culex modestus* et/ou *Culex pipiens*.**

Celle-ci n'a actuellement pratiquement pas cours sur les milieux naturels et les cultures irriguées (zones humides et rizières). Tous ces milieux naturels sont déjà concernés par la lutte contre les *Ochlerotatus* (à des périodes différentes). L'extension à d'autres espèces ne pose pas de problème de faisabilité. Il en est de même pour les rizières où cependant, en phase de pré-récolte et sur les parcelles de cultures biologiques, les traitements ne pourraient être réalisés qu'au *Bti* (moyennant une autorisation provisoire ou une dérogation pour ce faire). Le cumul des éclosions de *Culex* sur les zones humides et les rizières comprises entre le Petit Rhône et Montpellier représente environ 15.000 à 20.000 ha (où les deux espèces sont fréquemment associées). Délai de mise en œuvre après la commande : immédiat sur certains sites, deux à trois semaines pour garantir la totalité des suivis.

La mise en évidence de la capacité vectorielle de *Culex pipiens* pourrait également se traduire par la nécessité de renforcer les contrôles sur les biotopes larvaires urbains et périurbains pour les communes situées sur la zone d'action de l'EID en Petite Camargue et intégrer celles actuellement situées en périphérie (schématiquement au nord d'une ligne Montpellier – Lunel - Saint-Gilles).

Délai de mise en œuvre après la commande : immédiat sur la zone d'action, quatre semaines pour les communes à intégrer.

Hypothèses de lutte antivectorielle hors zone d'intervention de l'EID

L'ensemble des 21.000 ha de zones humides et des 20.000 ha de cultures et friches inondables situées entre le Petit Rhône et la plaine de la Crau sont potentiellement concernés.

*** La lutte contre les *Ochlerotatus* et les *Aedes***

Cette perspective de lutte antilarvaire a déjà fait l'objet de nombreux débats concernant exclusivement la réduction de la nuisance des *Ochlerotatus* en certains points du territoire camarguais et de sa périphérie. Seule l'utilisation du larvicide *Bti* pourrait être envisagée pour ces opérations. Le cumul annuel des éclosions d'*Ochlerotatus* et d'*Aedes* sur l'ensemble de ces milieux représente environ 50.000 ha.

*** La lutte contre *Anopheles*, *Culex modestus* et/ou *Culex pipiens* (hors gîtes urbains) :**

En l'état actuel, compte tenu de la cohabitation fréquente mais non systématique entre ces espèces, il n'est pas possible de différencier avec plus de précision la part que prennent *Culex modestus*, *Culex*

pipiens, *Anopheles maculipennis* et *Anopheles hyrcanus* dans les gîtes concernés. Il s'agit d'espèces qui se déplacent peu et dont le comportement de piqûre permet de délimiter précisément l'espace à prendre en compte, au coup par coup, pour assurer la protection d'un lieu donné. Du mois de mai à la fin de l'été, les biotopes larvaires de *Culex* et d'*Anopheles* sont colonisés progressivement, en fonction de l'hétérogénéité du milieu et de l'évolution des conditions écologiques (couvert végétal, température, exposition au vent, salinité, prédation, traitements phytosanitaires, etc.), qui influent sur le nombre de génération, les densités larvaires, etc.

Globalement, en associant la production des milieux naturels et des rizières, on peut estimer à environ 80.000 ha à 100.000 ha le cumul annuel moyen des éclosions concernant ces deux genres de moustiques sur ces zones non démoustiquées.

Méthodes de protection

Comme pour la plupart des arboviroses, la protection individuelle contre les moustiques est probablement la plus efficace. Elle repose essentiellement sur l'utilisation de répellents (DEET, IR3535) (Koren *et al* 2003) mais également le port de vêtements adaptés et la non fréquentation des sites à risque aux heures auxquelles les vecteurs piquent.

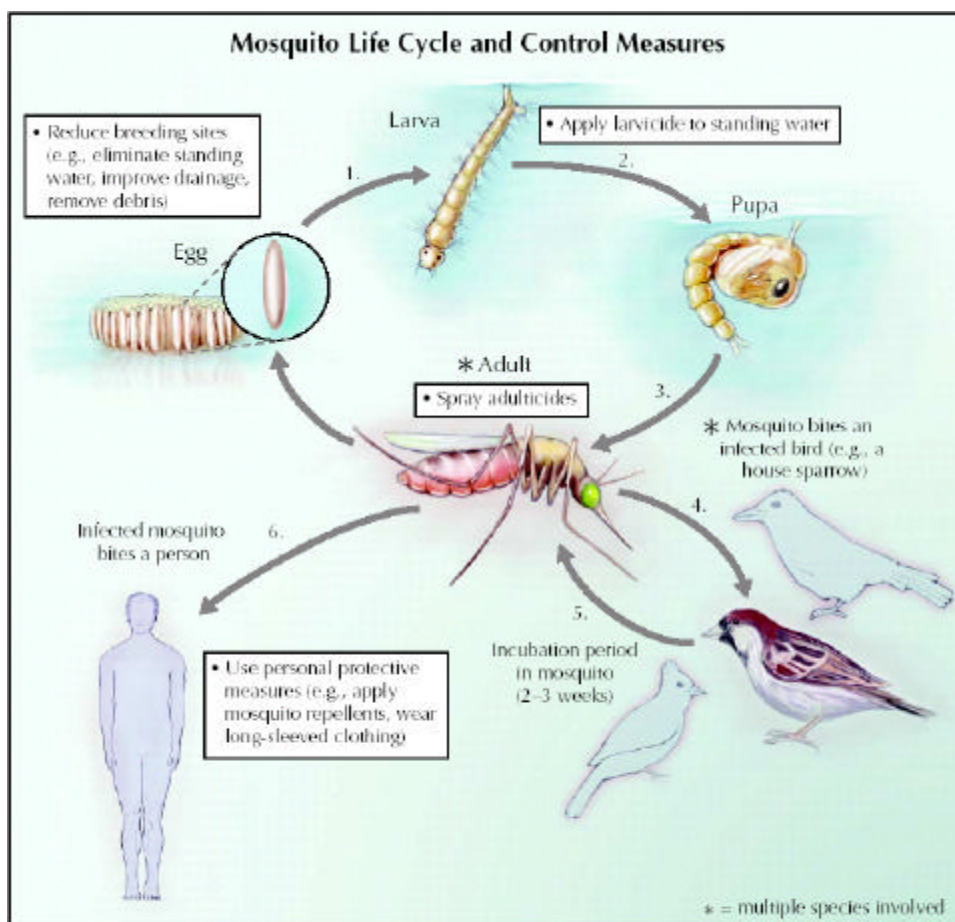


Fig. 1: Schematic of the mosquito life cycle and control measures. The development of immature mosquitoes from eggs to larvae to pupae occurs in standing water. These stages of the mosquito life cycle can be disrupted by eliminating standing water where possible and by applying larvicides to water bodies containing larvae. When the pupae develop into winged adults, mosquitoes acquire West Nile virus by biting infected birds. The incubation period in mosquitoes is about 2-3 weeks. An infected mosquito might then bite a person, passing the virus on. Many bird species act as reservoirs for the virus, and many mosquito species are involved in passing the infection from bird to bird, or from bird to human, or both. Populations of adult mosquitoes can be controlled by spraying adulticides. Individuals can reduce their exposure to mosquitoes by undertaking personal protective measures.

Figure 4 : Cycle de développement des moustiques vecteurs et méthodes de lutte et de prévention disponibles contre la transmission de l'encéphalite à virus West Nile, d'après Shapiro et Micucci, 2003.

Annexe 2. Méthode de calcul des tailles d'échantillon d'animaux sentinelles

On suppose que l'on s'intéresse à une zone géographique au sein de laquelle on fait l'hypothèse que la répartition spatiale des animaux susceptibles d'être choisis comme sentinelles est uniforme et que, en cas d'épidémie de West Nile, la probabilité de séro-conversion est également uniforme.

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

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

où :

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

Pour calculer des tailles d'échantillons pour chacun des départements méditerranéens, il est nécessaire de connaître d'une part la surface de chacun d'entre eux (afin de calculer le nombre de zones dans chaque département), et d'autre part l'effectif d'équidés et d'oiseaux domestiques qui y sont présents. On a utilisé les données présentées dans le tableau ci-dessous :

Tableau V : Surface de répartition et effectifs d'oiseaux et d'équidés des départements méditerranéens.

Département	Surface ⁽¹⁾	Équidés ⁽²⁾	Oiseaux ⁽³⁾
Aude	6 370	2 370	1 057 455
Gard	5 824	3 589	1 366 149
Hérault	6 202	4 560	365 418
Lozère	5 176	3 150	95 524
Pyrénées-Orientales	4 134	3 230	99 531
Languedoc-Roussillon	27 706	16 899	2 984 077
Alpes de Haute-Provence	6 942	1 840	361 813
Hautes-Alpes	5 692	2 050	77 701
Alpes-Maritimes	4 294	1 050	93 183
Bouches-du-Rhône	5 077	4 020	282 041
Var	6 073	2 840	370 601
Vaucluse	3 603	1 465	633 650
PACA	31 681	13 265	1 818 989
TOTAL	59 387	30 164	4 803 066

⁽¹⁾ en km²

⁽²⁾ source : DGAI

⁽³⁾ oiseaux domestiques, source : Agreste 2000

Le nombre de zones dans un département est alors obtenu en divisant la surface du département par la surface d'une zone (1 000 km²). En l'absence de données plus précises sur la distribution spatiale des équidés et des oiseaux domestiques, on suppose que, à l'intérieur de chaque département, ils sont répartis de façon uniforme. Le nombre d'équidés et d'oiseaux vivant dans une zone est alors obtenu en divisant l'effectif départemental par le nombre de zones. Finalement, la taille de l'échantillon est obtenue en utilisant la formule ci-dessus.

Bibliographie

Rapports

- Hars J., Auge P., De Visscher M-N., Fruitet L., Keck N., Murgue B., Pourrut X., Zeller H., Zientara S. (2001) : Etude préliminaire sur l'infection de l'avifaune du département de l'Hérault par le virus West Nile en 2000. Rapport ONCFS/DGAI. 17 p.
- Hars J., Auge P., Balanca G., De Visscher M-N., Chavernac D., Keck N., Murgue B., Pradel J., Zeller H. (2002) : Programme de surveillance de l'infection de l'avifaune par le virus West Nile en 2001 dans la Petite et la Grande Camargue. Rapport ONCFS/DGAI. 21 p.
- Hars J., Auge P., Chavernac D., Balanca G., Keck N., Pradel J., Zeller H. (2003) : Programme de surveillance de l'infection de l'avifaune par le virus West Nile en 2002 dans la Petite et la Grande Camargue. Rapport ONCFS/DGAI. 17 p.
- Hars J., Pradel J., Auge P., Chavernac D., Gerbier G., Roger F., Gregory M., Keck N., Schott P., Zeller H. (2004) : Programme de surveillance de l'infection de l'avifaune par le virus West Nile en 2003 dans la Petite et la Grande Camargue. Rapport ONCFS/DGAI. 23 p.

Références bibliographiques

- Abbassy MM, Osman M, Marzouk AS (1993). West Nile (Flaviviridae: *Flavivirus*) in experimentally infected *Argas* ticks (Acari: Argasidae). *Am J Trop Med Hyg* 48:726-737
- Anderson JF, Andreadis TG, Vossbrink CR, Tirrell S, Wakem EM, French RA, Garmendia AE, Van Kruiningen HJ (1999). Isolation of West Nile virus from mosquitoes, crows, and a Cooper's hawk in Connecticut. *Science* 286:2331-2333
- Anonyme (1999). Office International des Epizooties. *Disease Information* 26 Nov 1999, 12; 45
- Anonyme (1999). Office International des Epizooties. West Nile fever in the United States of America in horses. *Dis Info* 12 (42):150-151
- Anonymous (2000). Update: surveillance for West Nile Virus in overwintering mosquitoes - New York. *MMWR* 49:78-79
- Anonymous (2003). Detection of West Nile virus in blood donations: United States, 2003. *MMWR* 52:769-772
- Anonymous (2001). Serosurveys for West Nile Virus Infection, New York and Connecticut Counties, 2000. *MMWR* 2001, 50(3), 37-39
- Autorino GL, Battisti A, Deubel V, Ferrari G, Forletta R, Giovanni A, Lelli R, Murri S, Scicluna MT (2002). West Nile virus epidemic in horses, Tuscany region, Italy. *Emerg Inf Dis* 12: 1372-1378
- Banet-Noach C, Simanov L, Malkinson M (2003). Direct (non vector) transmission of West Nile virus in geese. *Avian pathology*, 32(5): 489-494.
- Baqar S, Hayes CG, Murphy JR, Watts DM (1993). Vertical transmission of West Nile virus by *Culex* and *Aedes* species mosquitoes. *Am J Trop Med Hyg* 48:757-762
- Beasley DWC, Davis CT, Guzman H, Vanlandingham DL, Travassos da Rosa APA, Parsons RE, Higgs S, Tesh RB, Barrett ADT (2003). Limited evolution of West Nile virus has occurred during its southwesterly spread in the United States. *Virology* 309:190-195
- Beasley DWC, Li L, Suderman MT, Barrett ADT (2002). Mouse neuroinvasive phenotype of West Nile virus strains varies depending upon virus genotype. *Virology* 296:17-23
- Berthet FX, Zeller HG, Drouet MT, Rauzier J, Digoutte JP, Deubel V (1997). Extensive nucleotide changes and deletions within the envelope glycoprotein gene of Euro-African West Nile viruses. *J Gen Virol* 78 :2293-2297
- Bicout D, Leblond A, Heng MA, Durand B, Zientara S, Durand JP, Sabatier P (2003). Analysis of seroprevalence among horses in an endemic area of West Nile disease, Camargue, France. 10th International Symposium for Veterinary Epidemiology and Economics, Vina del Mar, Chile, 10-17 november 2003, 4 p
- Brown R, Crowcroft N, Morgan D (2003). Transfusion associated West Nile virus infection: implications for Europe. *Eurosurveillance Weekly* 7, 3
- Buckley A, Dawson A, Moss SR, Hinsley SA, Bellamy PE, Gould EA (2003). Serological evidence of West Nile virus, Usutu virus and Sindbis virus infection of birds in the UK. *J Gen Virol* 84:2807-2817
- Bunning ML, Bowen RA, Cropp B, Sullivan KG, Davis BS, Komar N, Godsey MS, Baker D, Hettler DL, Holmes DA, Biggerstaff BJ, Mitchell CJ (2002). Experimental infection of horses with West Nile virus. *Emerg Inf Dis* 8:380-386
- Cantile C, Di Guardo G, Eleni C, Arispici M (2000). Clinical and neuropathological features of West Nile virus equine encephalomyelitis in Italy. *Equine Vet J* 32:31-35
- Carnevale P (1998). La protection du voyageur contre les piqûres d'arthropodes vecteurs. *Bull Soc Path Exo* 91 (5): 474-485
- CDC (2003). Epidemic/epizootic West-Nile virus in the United States : Guidelines for Surveillance, Prevention and Control. 3rd revision. Centers for Disease Control, 77 pp. Disponible en ligne à : <http://www.cdc.gov/ncidod/dvbid/westnile/publications.htm>.
- Cernescu C, Ruta SM, Tardei G, Grancea C, Moldoveanu L, Spulbar E, Tsai TF (1997). A high number of severe neurologic clinical forms during an epidemic of West Nile virus infection. *Roman J Virol* 48:13-25
- Charles PE, Zeller HG, Bonnotte B, Decasimacker AL, Bour JB, Chavanet P, Lorcerie B (2003). First reported case of imported West Nile virus infection in Europe. *Emerg Inf Dis* 9:75
- Chevalier V, Durand B, Gerbier G, Babinot M, Michel JF, Toure I, Zientara S (2002). Analyse spatiale de l'infection à virus West Nile chez les chevaux de Camargue en 2002 : résultats et perspectives. *Epidemiologie et Santé Animale* (42) 123-131
- Curtis CF (1992). Personal protection methods against vectors of disease. *Rev Med Vet Entomol* 80: 543-553
- David B (2003). Virus West-Nile et transfusion sanguine. *Vigilance*, Bulletin de l'Afssaps, Décembre 2003 (18), p. 4

- Davis BS, Chang GJJ, Cropp B, Roehrig JT, Martin DA, Mitchell CJ, Bowen R, Bunnings ML (2001). West Nile recombinant DNA vaccine protects mouse and horse from virus challenge and expresses in vitro a non-infectious recombinant antigen that can be used in enzyme-linked immunosorbent assay. *J Virol* 75:4040-4047
- Diamond MS, 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 Immunol* 16 : 259-278
- Dohm DJ, Sardelis MR, Turell MJ (2002). Experimental vertical transmission of West Nile virus by *Culex pipiens* (Diptera: Culicidae) *J Med Entomol* 39:640-644
- Dupuis II AP, Marra PP, Kramer LD (2003). Serologic evidence of West Nile virus transmission, Jamaica, West Indies. *Emerg Inf Dis* 9:860-863
- Durand B, Chevalier V, Pouillot R, Labie J, Marendat I, Murgue B, Zeller H, Zientara S (2002). West Nile outbreak in horses in southern France : results of a serosurvey. *Emerg Inf Dis* 8:777-782
- Ebel GD, Dupuis II AP, Nicholas D, Young D, Maffei J, Kramer LD (2002). Detection by Enzyme-Linked Immunosorbent Assay of antibodies to West Nile virus in birds *Emerg Inf Dis* 8:979-982
- Estrada-Franco J, Navarro-Lopez R, Beasley D, Coffey L, Carrara AS, Travassos da Rosa A, Clements T, Wang E, Ludwig G, Campomanes Cortes A, Paz Ramirez P, Tesh RB, Barrett A, Weaver SC (2003). West Nile Virus in Mexico : Evidence of Widespread Circulation since July 2002. *Emerg Infect Dis* 9(12):1604-1607
- Fradin MS, Day JF (2003). Comparative efficacy of insect repellents against mosquito bites. *N Engl J Med* 34 (1):13-17
- Garmendia AE, Van Kruiningen HJ, French RA, Anderson JF, Andreadis TG, Kumar A, West AB (2000). Recovery and identification of West Nile virus from a hawk in winter. *J Clin Microbiol* 38:3110-3111
- Hall RA, Nisbet DJ, Pham KB, Pyke AT, Smith GA, Khromykh AA (2003). DNA vaccine coding for the full-length infectious Kunjin virus RNA protects mice against the New York strain of West Nile virus, *PNAS* 100:10460-10464
- Hannoun C, Panthier R, Mouchet J, Eouzan JP (1964). Isolement en France du virus West Nile à partir de malades et du vecteur *Culex modestus* Ficalbi. *C R Acad Sc Paris* 259:4170-4172
- Hayes CG (1989). West Nile Fever. In: Monath TP (ed) *The Arboviruses: Epidemiology and Ecology*, CRC Press, Boca Raton, vol V, pp 59-88
- Hoffmann L, Mouchet J, Rageau J, Hannoun C, Joubert L et al. (1968). Epidémiologie du virus West Nile : étude d'un foyer en Camargue. II Esquisse du milieu physique, biologique et humain. *Ann Inst Pasteur* 114:521-38
- Hubálek Z (2000). European experience with the West Nile virus ecology and epidemiology: could it be relevant for the New World. *Viral Immunol* 13:415-426
- Hubálek Z, Halouzka J. (1999). West Nile fever: a reemerging mosquito-borne viral disease in Europe. *Emerg Inf Dis* 5:643-50
- Jamgaonkar AV, Yergolkar PN, Geevarghese G, Joshi GD, Joshi MV, Mishra AC (2003). Serological evidence for Japanese encephalitis and West Nile virus infections in water frequenting and terrestrial wild birds in Kolar district, Karnataka State, India. A retrospective study. *Acta Virol* 47:185-188
- Joubert L, Oudar J, Hannoun C, Beytout D, Corniou B, Guillon JC, Panthier R (1970). Epidémiologie du virus West Nile : étude d'un foyer en Camargue. IV. La méningo-encéphalomyélite du cheval. *Ann Inst Pasteur* 118:239-247
- Joubert L, Oudar J, Hannoun C, Chippaux M (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. *Bull Acad Vet* tome XLIV, 159-167
- 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* 69:260-262
- Kiupel M, Simmons HA, Fitzgerald SD, Wise A, Sikarskie, Cooley TM, Hollamby SR, Maes R (2003). West Nile virus infection in eastern fox squirrels (*Sciurus niger*) *Vet Pathol* 40:703-707
- Komar N, Lanciotti R, Bowen R, Langevin S, Bunning M (2002). Detection of West Nile virus in oral and cloacal swabs collected from bird carcasses. *Emerg Inf Dis* 8:741-742
- Komar N, Langevin S, Hinten S, Nemeth N, Edwards E, Hettler D, Davis B, Bowen R, Bunning M (2003). Experimental infection of North American birds with the New York 1999 strain of West Nile virus. *Emerg Inf Dis* 9:311-322
- Komar N (2000). West Nile viral encephalitis. *Rev Sci tech Off int Epiz* 19(1), 166-76
- Komar O, Robbins MB, Klenk K, Blitvich BJ, Marlenee NL, Burkhalter KL, Gubler DJ, González G, Peña CJ, Peterson AT, Komar N (2003). West Nile virus transmission in resident birds, Dominican Republic. *Emerg Inf Dis* 9:1299-1302
- Koren G, Matsui D, Bailey B (2003). DEET-based insect repellents: safety implications for children and pregnant and lactating women. *CAMJ* 169 (3):209-212
- Lanciotti RS, Kerst AJ, Nasci RS, Godsey MS, Mitchell CJ, Savage HM, Komar N, Panella NA, Allen BC, Volpe KE, Davis BS, Roehrig JT (2000). Rapid detection of West Nile virus from human clinical specimens, field-collected mosquitoes, and avian samples by a TaqMan reverse transcriptase-PCR assay. *J Clin Microbiol* 38:4066-4071
- Lanciotti RS, Roehrig JT, Deubel V, Smith J, Parker M, Steele K, Volpe KE, Crabtree MB, Scherret JH, Hall RA, MacKenzie JS, Cropp CB, Panigrahy B, Ostlund E, Schmitt B, Malkinson M, Banet C, Weissman J, Komar N, Savage HM, Stone W, McNamara T, Gubler DJ (1999). Origin of the West Nile virus responsible for an outbreak of encephalitis in the Northeastern US. *Science* 286:2333-2337
- Lepore, Pollack, Spielman, Reiter (2003). An easy-to-build « Lard Can Trap » for sampling host-seeking mosquitoes. *J Am Control Assoc* (In press)
- Lichtensteiger CA, Heinz-Taheny K, Osborne TS, Novak RJ, Lewis BA, Firth ML (2003). West Nile virus encephalitis and myocarditis in wolf and dog. *Emerg Inf Dis* 9:1303-1306

- Lindsay R, Barker I, Nayar G, Drebot M, Calvin S, Scammell C, Sachvie C, Scammell-La Fleur T, Dibernardo A, Andonova M, Artsob (2003). Rapid antigen-capture assay to detect West Nile virus in dead corvids. *Emerg Inf Dis* 9:1406-1410
- Lorono-Pino MA, Biltvich BJ, Farfan-Ale JA, Puerto FI, Blanco JM, Marlenee NL, Rosado-Paredes EP, Garcia-Rejon JE., Gubler DJ, Calisher CH, Beaty BJ (2003). Serologic evidence of West Nile virus infection in horses, Yucatan state, Mexico. *Emerg Inf Dis* 9:857-859
- Lvov D, Lvov DK, Kovtunov AI, Butenko AM, Zhukov AN *et al* (2002). West Nile fever in Southern Russia - Epidemiological, clinical, genetic peculiarities (1999-01). Proceedings XIIth Int Cong Virology, Paris July 27th- August 1st 2002, p 46
- Malkinson M, Banet C (2002). The role of birds in the ecology of West Nile virus in Europe and Africa. In : Mackenzie JS, Barrett ADT, V Deubel (eds) Japanese Encephalitis and West Nile viruses. Current Topics in Microbiology: West Nile, Springer-Verlag, Berlin, 267, pp 309-322
- Malkinson M, Banet C, Weisman Y, Pokamunski S, King R, Drouet MT, Deubel V (2002). Introduction of West Nile virus in the Middle East by migrating white storks. *Emerg Inf Dis* 8:392-397
- Mailles A, Dellamonica P, Zeller H, Durand JP, Zientara S, Goffette R, Gloaguen C, Armengaud A, Schaffner F, Hars J, Chodorge E, Barbat J (2003). Human and equine West Nile virus infections in France, August - September 2003. *Eurosurveillance Weekly* 7, 4, 23 October 2003
- Martin SW, Meek AH, Willeberg P (1987). Veterinary Epidemiology, principles and methods. Iowa state university press, Ames, USA, 343 p
- Mashimo T, Lucas M, Simon-Chazottes D, Frenkiel MP, Montagutelli X, Ceccaldi PE, Deubel V, Guenet JL, Despres P (2002). A nonsense mutation in the gene encoding 2'-5'-oligoadenylate synthetase/L1 isoform is associated with West Nile virus susceptibility in laboratory mice. *PNAS* 99:11311-11316
- Mc Intosh BM, Jupp PG, Dos Santos, I, Meenehan GM (1976). Epidemics of West Nile and Sindbis viruses in South Africa with *Culex (Cx) univittatus* Theobald as vector. *South Afr J Sci* 72 : 295-300
- Miller DL, Mauel MJ, Baldwin C, Burtle C, Burtle G, Ingram D, Hines II ME, Frazier KS (2003). West Nile virus in farmed alligators. *Emerg Inf Dis* 9:794-799
- Miller BR, Nasci RS, Godsey MS, Savage HM, Lutwama JJ, Lanciotti RS, Peters CJ (2000). First field evidence for natural vertical transmission of West Nile virus in *Culex univittatus* complex mosquitoes from Rift valley province, Kenya. *Am J Trop Med Hyg* 62:240-246
- Monath TP, McCarthy K, Bedford P, Johnson CT, Nichols R, Yoksan S, Marchesani R, Knauber M, Wells KH, Arroyo J, Guirakoo F (2002). Clinical proof of principle for ChimeriVax: recombinant live, attenuated vaccines against flavivirus infections. *Vaccine* 20:1004-1018
- Mouchet J, Rageau J, Laumond C, Hannoun C, Beytout D, Oudar J, Corniou B, Chippaux A (1970). Epidémiologie du virus West Nile : étude d'un foyer en Camargue. V- Le vecteur : *Culex modestus* Ficalbi diptera ; Culicidae. *Ann Inst Pasteur* 118 : 839-55
- Murgue B, Murri S, Triki H, Deubel V, Zeller HG (2001a). West Nile in the Mediterranean basin: 1950 – 2000. *Annals of the New York Academy of Sciences* 951: 117-126
- Murgue B, Murri S, Zientara S, Labie J, Durand B, Durand JP, Zeller HG (2001b). West Nile in France in 2000 : the return 38 years later. *Emerg Inf Dis* 7:692-696
- Murgue B, Zeller H (2001c). Le point sur l'infection par le virus West Nile. *Antibiotiques* 3 :196-200.
- Murgue B, Zeller H, Deubel V (2002). The ecology and epidemiology of West Nile virus in Africa and Europe. In : Mackenzie JS, Barrett ADT, Deubel V (eds) Japanese Encephalitis and West Nile viruses. Current Topics in Microbiology: West Nile, Springer-Verlag, Berlin, 267, pp195-221
- Nasci NS, Gottfried KL, Burkhalter KI, Kulasekera VL, Lambert AJ, Lanciotti RS, Hunt AS, Ryan JR (2002). Comparison of Vero cell plaque assay, TaqMan reverse transcriptase polymerase chain reaction RNA assay, and VecTest antigen assay for detection of west Nile virus in field-collected mosquitoes. *J Am Mosq Control Assoc* 18:294-300
- O'Leary DR, Nasci RS, Campbell GL, Marfin AA (2002). West Nile virus activity – United States *MMWR Morb Mortal Wkly Rep* 51:497–501
- Oudar J, Joubert L, Lapras M, Guillon JC (1971). Reproduction expérimentale de la méningo-encéphalomyélite du cheval par l'arbovirus West Nile. II – Etude anatomoclinique. *Bull Acad Vét* tome XLIV, 147-158
- Panthier R, Hannoun C, Oudar J, Beytout D, Corniou B, Joubert L, Guillon JC, Mouchet J (1966). Isolement du virus West Nile chez un cheval de Camargue atteint d'encéphalomyélite. *C R Acad Sci Paris* 262:308-1310
- Platonov AE, Shipulin GA, Shipulina OY, Tyutyunnik EN, Frolochnikina TI, Lanciotti RS, Yazyshina S, Platonova OV, Obukhov IL, Zhukov AN, Vengerov YY, Pokrovskii VI (2001). Outbreak of West Nile Virus in Russia, *Emerg Inf Dis* 7(1) :128-30
- Quirin R, Salas M, Zientara S, Zeller H, Labie J, Murri S, Lefrançois T, Petitclerc M, Martinez D, (2004). First serological occurrence of West Nile virus in Guadeloupe (French West Indies). *Emerg Inf Dis* 10(4) : 706-708
- Reiter P (1983). A portable battery-powered trap for collecting gravid *Culex* mosquitoes. *Mosquito News* 43:496-498
- Reiter P (1987). A revised version of the CDC gravid mosquito trap. *J Am Mosq Control Assoc* 2:325-327
- Roehrig JT, Nash D, Maldin B, Labowitz A, Martin DA, Lanciotti RS, Campbell GL (2003). Persistence of virus-reactive serum immunoglobulin M antibody in confirmed West Nile virus encephalitis cases. *Emerg Inf Dis* 9:376-379
- Shapiro H, Micucci S (2003). Pesticide use for West Nile virus. *CMAJ* 168 (11):1427-1429
- Smithburn KC, Hughes TP, Burke AW, Paul JH (1940). A neurotropic virus isolated from the blood of a native of Uganda. *Am J Trop Med Hyg* 20:471-92
- Steele KE, Schoepp RJ, Komar N, Geisberts TW, Manduca RM, Calle PP, Raphael BL, Clippinger TL, Larsen T, Smith J, Lanciotti RS, Panella NA, McNamara TS (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* 37:208-224
- Steinman A, Banet C, Sutton GA, Yadin H, Hadar S, Brill A (2002). Clinical signs of West Nile virus during encephalomyelitis in horses during the outbreak in Israel in 2000. *Vet Rec* 13:47-49
- Tardei G, Ruta S, Chitu V, Rossi C, Tsai T, Cernescu C (2000). Evaluation of immunoglobulin M (IgM) and IgG enzyme immunoassays in serologic diagnosis of West Nile infection. *J Clin Microbiol* 38:2232-2239

- Taylor RM, Work TH, Hurlbut HS, Rizk F (1956). A study of the ecology of West Nile virus in Egypt. *Am J Trop Med Hyg* 5:579-620
- Tber Abdelhaq A (1996). West Nile fever in horses in Morocco. *Bull O.I.E* 11:867-869
- Tesh RB, Travassos da Rosa APA, Guzman H, Araujo TP, Xiao SY (2002). Immunization with heterologous flaviviruses protective against fatal West Nile encephalitis *Emerg Inf Dis* 8:245-251
- Tsai TF, Popovici F, Cernescu C, Campbell GL, Nedelcu NI (1998). West Nile encephalitis in southeastern Romania. *The Lancet* 352:767-71
- Turell MJ, Bunning ML, Ludwig GV, Ortman B, Chang J, Speaker T, Spielman A McLean R, Komar N, Gates R, McNamara T, Creekmore T, Farley L, Mitchell CJ (2003). DNA vaccine for West Nile virus infection in fish crows (*Corvus ossifragus*). *Emerg Infect Dis* 9:1077-1081
- Weinberger M, Pitlik SD, Gandacu D, Lang R, Nassar F, ben-David D, Rubinstein E, Izthaki A, Mishal J, Kitzes R, Siegman-Igra Y, Giladi M, Pick N, Mendelson E, Bin H, Shohat T, Chowers MY (2001). West Nile fever outbreak, Israel, 2000 : epidemiologic aspects. *Emerg Inf Dis* 7:679-685
- Weissenböck H, Kolodziejek J, Url A, Fragner K, Kuhn R, Pfeffer M, Nowotny N (2003). Usutu virus activity in Austria 2001-2002. *Microbes Inf* 5:1132-1136
- 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 Inf Dis* 8:652-656
- Work TH, Hurlbut HS, Taylor RM (1953). Isolation of West Nile virus from hooded crow and rock pigeon in the Nile Delta. *Proc Soc Experiment Biol Med* 84 : 719-72
- Zeller HG (1999). West Nile : une arbovirose migrante d'actualité. *Med Trop* 59, 490-494
- Zeller HG, Deubel V, Murgue B (2001). West Nile : un regain de circulation dans le bassin méditerranéen et une émergence inattendue en Amérique du Nord. *Virologie* 5 :409-417
- Zeller HG, Murgue B (2001). Rôle des oiseaux migrateurs dans l'épidémiologie du virus West Nile. *Médecine et Maladies Infectieuses* 2001, 31, suppl 2:168s-174s
- Zeller HG, 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 Inf Dis* (in press)
- Zientara S, Moutou F, Durand B, Dufour B, Plateau E (2001). L'encéphalopathie à virus West Nile : situation et évolution en France 2000-2001. *Bull Société Vétérinaire Pratique de France* 85,1,51-50
- Zientara S, Murgue B, Zeller H, Dufour B, Murri S, Labadie J, Durand B, Hars J (2001). Maladie à virus West Nile en France. *Epidémiol et santé anim* (Revue de l'AEEMA), 39,113-120
- Zientara S, (2002). Infection à virus West Nile. Situation épidémiologique. Risques pour l'homme. Epizootie en France en 2000-2001. *Bulletin de l'Académie Vétérinaire de France*, 155, 67-72