

Surveillance de l'infection de l'avifaune française par le virus West Nile Programme 2004

1- Rappel des résultats de la surveillance 2003

En 2003, la surveillance de la circulation du virus West Nile (WN) dans l'avifaune a été menée dans cinq départements du littoral méditerranéen. Elle était basée sur :

- une surveillance des cas de mortalité d'oiseaux sauvages dans les Bouches du Rhône, le Gard, l'Hérault, l'Aude et les Pyrénées orientales,
- un suivi sérologique d'oiseaux sentinelles en région camarguaise (dépts 13, 30 et 34).

Aucune mortalité anormale d'oiseaux imputable au virus WN n'a été observée.

Aucune séroconversion n'a été observée sur 185 oiseaux (canards appelants et poules) suivis dans 16 sites répartis en Camargue. Parallèlement, aucun cas clinique n'a été constaté chez l'homme et le cheval dans ces cinq départements.

On en a conclu que la circulation du virus WN en Camargue était absente en 2003 ou trop faible pour que les surveillances aviaire, équine et humaine aient pu la détecter.

En revanche, la présence du virus a été révélée dans le Var par l'apparition et la confirmation de sept cas cliniques humains et quatre cas équins en août-septembre 2003. Les résultats des enquêtes sérologiques entreprises semblent indiquer que le virus a probablement circulé plus intensivement chez le cheval (306 positifs en IgG sur 906 testés) que chez l'homme dans le Var (9 positifs sur 2000 donneurs de sang testés). Aucune investigation particulière n'a pu être menée dans l'avifaune dans cette région, mais il semble qu'aucune mortalité anormale n'ait été observée.

2- Objectifs du programme de surveillance de l'avifaune en 2004

L'objectif général de la surveillance de l'avifaune est de détecter rapidement toute circulation du virus WN afin de pouvoir 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.

2.1. Evaluation des moyens disponibles

Dans la figure 1, la sensibilité des différentes méthodes de surveillance employées aux Etats Unis depuis 1999 est estimée. On constate que la surveillance aviaire est une méthode précoce de détection du virus.

La surveillance des cas de mortalité permet de détecter une éventuelle introduction/circulation de souches à pathogénicité aviaire. Dans le contexte français actuel, même si aucune mortalité

anormale pouvant être mise en relation avec le virus WN n'a été répertoriée depuis 2000, cette surveillance reste primordiale.

Le suivi sérologique d'oiseaux sentinelles doit permettre lui aussi de détecter une circulation virale (sous réserve du niveau de sensibilité du réseau mis en place) avant que des cas cliniques n'apparaissent chez le cheval ou l'homme.

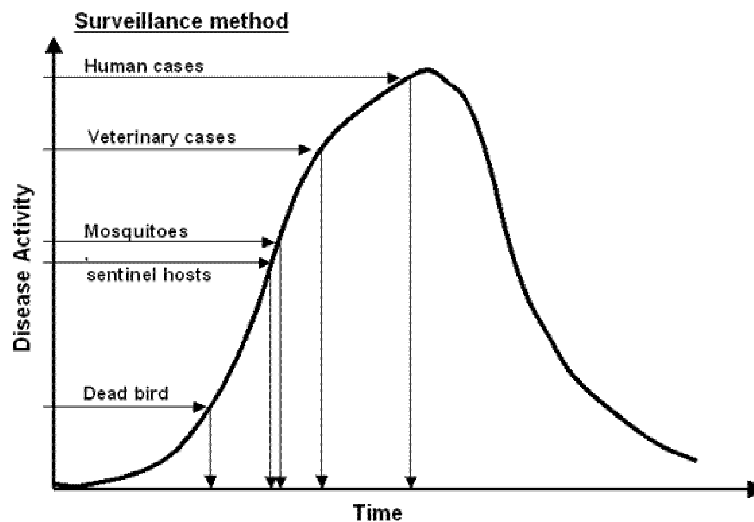


Figure 1 : Sensibilité estimée des méthodes de surveillance de l'infection à virus WN dans le contexte américain où des mortalités d'oiseaux sont observées (source CDC)

2.2. Adaptation de la surveillance aviaire à la situation épidémiologique

Le foyer de WN apparu chez le cheval et l'homme dans le Var durant l'été 2003 montre que la maladie peut émerger dans des régions autres que la Camargue, jusqu'alors non considérées comme des zones prioritairement « à risques ». L'absence d'isolement du virus n'a pas permis de préciser si la souche virale était différente de celle qui a sévi en Camargue en 2000. S'agissait-il une souche "endémique dans la région" et non encore identifiée dans le Var ou bien d'une souche récemment importée par l'avifaune migratrice? La situation en Amérique du Nord montre que le virus WN peut se développer dans des milieux très variés et à toute latitude à condition que des vecteurs compétents soient présents.

L'objectif, en 2004, sera d'élargir la surveillance de l'avifaune à tout le territoire français tout en la renforçant dans les départements du littoral méditerranéen.

3- Protocole

Le protocole sera basé sur :

- un système de surveillance passive des cas de mortalité dans l'avifaune,
- un système de surveillance active fondé sur le suivi sérologique d'oiseaux sentinelles

3.1. Zone de surveillance

La surveillance de la mortalité dans l'avifaune et d'une éventuelle causalité liée au virus WN sera menée sur tout le territoire français et renforcée dans dix départements de la région Languedoc-Roussillon (66, 11, 34 et 30) et de la région PACA (13, 84, 83 et 06, 2A, 2B). Le suivi sérologique d'oiseaux sentinelles sera mis en place dans six départements méditerranéens encore considérés comme les plus « à risque » et où la méthode se révèle techniquement faisable : les départements 66, 11, 34, 30, 13 et 83.

3.2. Durée

La surveillance durera, comme en 2003, du mois de mai au mois de novembre 2004.

3.3. Surveillance des cas de mortalité dans l'avifaune

- sur tout le territoire français

Il s'agit ici d'une surveillance nationale de base qui s'appuiera sur le fonctionnement normal du réseau SAGIR.

Il sera simplement demandé aux Laboratoires départementaux d'analyses vétérinaires (LDAV) de transmettre au CNR arboviroses, pour une recherche du virus WN des têtes d'oiseaux trouvés morts, quelque soit l'espèce, si l'autopsie et les données épidémiologiques ne permettent pas de conclure à une cause évidente de mortalité (botulisme hydrique, intoxication, trichomonose...)

Afin de ne pas saturer le laboratoire de référence (CNR) de prélèvements inutiles, le LDAV limitera le nombre de demandes d'analyses virologiques à 5 oiseaux par épisode de mortalité (en cas de mortalités massives). Par ailleurs, pour ne pas induire un phénomène de psychose inopportun et incontrôlable, aucune campagne d'information et de sensibilisation du grand public ou des publics spécialisés professionnels et associatifs n'est envisagée pour l'instant.

Le coût des analyses virologiques sera imputé sur le budget du programme, suite à une facturation unique du CNR. Il n'incombera donc pas à la Fédération départementale des chasseurs (FDC) qui finance habituellement les autopsies et analyses classiques, faites dans le cadre de SAGIR. La FDC assurera cependant, avec le service départemental (SD) de l'ONCFS, le ramassage des cadavres et leur transport jusqu'au LDAV.

Les frais de conditionnement et d'expédition de têtes au CNR seront facturés par chaque LDAV à la DDSV du département (à imputer au compte 4470)

- Dans les dix départements méditerranéens

Le réseau SAGIR sera activé grâce à une campagne de sensibilisation dont la cible sera limitée aux publics spécialisés constitués par :

- Les services départementaux de l'ONCFS ;
- Les fédérations départementales de chasseurs ;
- Les associations d'ornithologie et de protection de nature (type LPO) ;
- Les centres de sauvegarde de la faune (qui sont appelés à récupérer des oiseaux malades ou morts).

Ces institutions recevront une plaquette d'information et de « marche à suivre » (comprenant entre autres les coordonnées des interlocuteurs techniques (ONCFS et FDC) SAGIR des dix départements) qui sera élaborée, éditée et diffusée par le CIRAD, en collaboration avec l'ONCFS¹.

Dans tous les cas, les LDAV veilleront à ce qu'une fiche de commémoratifs SAGIR accompagne chaque prélèvement et qu'une copie soit transmise pour information à la DDSV.

L'estimation du nombre d'oiseaux morts qui feront l'objet d'une recherche du virus WN en 2004 est de 500 à 1000 individus.

3.4. Suivi sérologique d'oiseaux sentinelles

Dans la mesure où la (ou les) souche virale présente en France depuis 2000 semble ne pas provoquer de mortalités chez les oiseaux sauvages, il sera nécessaire de poursuivre le suivi sérologique d'oiseaux sentinelles qui s'est avéré assez sensible en 2001 et 2002 pour détecter la présence du virus en Camargue.

Afin d'évaluer les possibilités d'extension du réseau de sentinelles au delà des trois départements camarguais, une stagiaire vétérinaire thésarde (Marion Mortamais) a été affectée à l'ONCFS dès le mois de janvier 2004.

3.4.1. nombre d'oiseaux et de sites

Un réseau d'oiseaux sentinelles sera mis en place dans six départements : 66, 11, 34, 30, 13 et 83, à raison de cinq sites en moyenne par département contenant chacun 10 oiseaux prélevés régulièrement

soit un total prévu de 300 oiseaux sentinelles

Ces oiseaux² seront :

- soit des canards appelants qui seront prélevés par les services départementaux de l'ONCFS, en utilisant la technique éprouvée en 2001-2003 (prélèvement sanguin sur tube vacutainer sec, établissement d'une fiche individuelle de commémoratifs éditée par le CIRAD, utilisation d'une fiche CRES par visite et acheminement des sangs au LDAV) ;
- soit des volailles domestiques (poules, canards, pintades, oies, dindes...) qui seront prélevées par des vétérinaires sanitaires praticiens missionnés par la Direction Départementale des Services Vétérinaires qui se chargera de leur fournir le matériel adéquat et les fiches utilisées pour les canards. La DDSV réglera leurs honoraires (visite d'exploitation, déplacement, prélèvements sanguins). En cas de carence en vétérinaires praticiens, les prélèvements devront être faits par des agents de la DDSV.

3.4.2. rythme des contrôles

¹ Cette plaquette remplacera l'affiche diffusée depuis 2001 et l'abonnement au Numéro Vert

² Le suivi sérologique ne peut être fait qu'à l'aide de la technique d'analyse ELISA qui est aisément réalisable sur des canards ou des volailles domestiques (cf rapport de l'enquête épidémiologique préliminaire en Camargue de l'année 2000).

Une première visite destinée à vérifier la séronégativité des oiseaux choisis sera effectuée dans **fin mai 2004**. Les oiseaux séropositifs seront abandonnés et remplacés lors du contrôle de juin, afin de conserver un échantillon de 10 oiseaux par site tout au long de la surveillance.

Chaque site sera ensuite contrôlé quatre fois, soit à intervalles de quatre semaines en moyenne.

Il conviendra de respecter **impérativement** le calendrier suivant :

- **2^{ème} visite : entre le 1^{er} et le 15 juillet 2004**
- **3^{ème} visite : entre le 1^{er} et le 15 août 2004**
- **4^{ème} visite : entre le 1^{er} et le 15 septembre 2004**
- **5^{ème} visite : entre le 1^{er} et le 15 octobre 2004**

Dans le cas où une ou plusieurs séroconversions seraient détectées, la surveillance sera intensifiée, à raison d'un contrôle toutes les deux ou trois semaines sur un territoire et pendant une durée qui dépendront des résultats et du contexte épidémiologique.

3.4.3. Prélèvements, identification, documents

Chaque oiseau fera l'objet d'un prélèvement sanguin dans la veine sous-alaire à l'aide d'une seringue 5 ml et d'une aiguille 25/0,6 (couleur bleue). Le sang sera transféré dans un tube vacutainer sec.

Chaque oiseau sera identifié lors du premier prélèvement grâce à deux bagues colorées posées sur une des pattes. Un code individuel contenant le numéro du site et son code couleur lui sera attribué. Exemples : 3402 RB = canard appelant prélevé par l'ONCFS dans l'Hérault bague Rouge-Bleu ; 1312 VJ = volailles domestique prélevée par un vétérinaire dans les Bouches du Rhône bague Vert-Jaune.

L'ONCFS veillera à fournir pour chaque site des bagues plastiques en nombre suffisant et d'un calibre adapté aux espèces d'oiseaux prélevés.

Lors du premier prélèvement, une fiche individuelle d'identification sera établie pour chaque oiseau. Le LDAV saisira les commémoratifs de l'oiseau dans la base de données à la réception de ce premier prélèvement et transmettra ensuite la fiche au CIRAD qui en assurera l'archivage.

Les 10 prélèvements sanguins recueillis lors de chaque séance seront consignés sur une fiche récapitulative de compte-rendu d'examen sérologique (= CRES, modèle prophylaxie brucellose DDSV à étiquettes autocollantes).

3.6. Protocole de laboratoire

3.6.1. LDAV

➤ virologie

Les LDAV traiteront les cadavres d'oiseaux suivant le protocole habituel SAGIR. La tête de l'oiseau sera transmise au CNR Arboviroses (Institut Pasteur Lyon).

Les échantillons devront dès le départ suivre une chaîne de froid stricte: les cadavres placés rapidement à +4°C puis les têtes congelées à -70°C. Le transfert au laboratoire d'isolement nécessite alors de la carboglace.

La congélation à -20°C tue le virus mais reste compatible avec la détection par PCR.

➤ sérologie

Pour le suivi sérologique des sentinelles, le LDAV 34 sera chargé, comme en 2003, de coordonner la distribution du matériel de prélèvement dans la zone de surveillance (6 départements). Il sera composé de :

- tubes vacutainer secs 5 ml
- seringues 5 ou 10 ml + aiguilles
- gants latex
- sacs plastiques individuels
- fiches de commémoratifs (ces fiches pourront être diffusées également par l'ONCFS et les DDSV)
- alcool
- coton
- poubelles

Chaque LDAV organisera la collecte et réceptionnera les sangs prélevés dans son département, conditionnera les sérums et les transmettra à l'Institut Pasteur, accompagnés d'une copie des fiches de commémoratifs, dans un délai ne dépassant pas 48 heures.

Pour des questions de proximité, une partie des sérums prélevés dans les Bouches du Rhône seront acheminés au LVD 30 (Nîmes).

4.2. CNR Arboviroses

- analyses sérologiques

Les sérums des oiseaux sentinelles seront traités en ELISA IgG.

Une confirmation des résultats positifs sera faite dans un deuxième temps par séroneutralisation.

- analyses virologiques

Elles seront faites sur les encéphales d'oiseaux trouvés morts par détection de l'ARN viral par RT-PCR et par isolement viral sur cultures cellulaires.

Les analyses virologiques seront faites en collaboration avec l'Institut de médecine tropicale du service de santé des armées (IMTSSA) de Marseille.

5- Circulation des informations

5.1. Base de données

La base de données élaborée par le CIRAD est opérationnelle, le protocole de saisie mis au point en 2003 sera suivi en 2004. Cependant des améliorations doivent être apportées rapidement à la base afin de faciliter la saisie des échantillons et de réduire le temps consacré à cette saisie.

➤ pour les sentinelles

Les commémoratifs de chaque oiseau suivi seront saisis par le CIRAD en utilisant les fiches transmises lors du premier prélèvement par les LDAV.

Dès le deuxième prélèvement, les LDAV destinataires des sangs saisiront les données de prélèvements dans la base qui sera accessible en ligne. L'adresse du site est la suivante : [Http://west-nile.cirad.fr](http://west-nile.cirad.fr)

Le CNR des Arbovirus saisira enfin les résultats d'analyses sur le site.

Toutes les données seront ainsi accessibles en continu.

Une séance de formation/perfectionnement à l'utilisation de la base sera organisée par le CIRAD-EMVT (contact téléphonique au CIRAD : David Chavernac : 04 67 59 37 01).

➤ pour le suivi mortalité :

Dans la mesure où chaque prélèvement de tête d'oiseau sera accompagné d'une fiche SAGIR, la base West Nile sera alimentée mensuellement à partir de la base nationale SAGIR (contact AFSSA Nancy : Marie-Eve Terrier)

Dans tous les cas, en cas de résultat positif, le CNR des arbovirus préviendra par fax :

- la DGAI (santé animale) ;
- l'ONCFS Languedoc-Roussillon (Ph Augé) et PACA (JC. Gaudin) ;
- l'ONCFS USSF (J Hars);
- la DGS

5.2. Rapports

Un rapport d'étape de la surveillance sera rédigé en août 2004

Le rapport final sera élaboré comme les années précédentes par l'ONCFS, en collaboration avec le CNR Arboviroses, le CIRAD et les LDAV.

6- Partenaires

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

L'Office national de la chasse et de la faune sauvage (ONCFS) est le maître d'œuvre.

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

L'ONCFS engagera un stagiaire vétérinaire rémunéré pendant une période de quatre mois (juin-septembre) pour assurer la coordination du programme sur le terrain dans les huit départements méditerranéens. Ce stagiaire aura comme interlocuteur-coordonnateur du programme :

- pour la région Languedoc-Roussillon Philippe Augé, chef de la brigade mobile d'intervention,
- pour la région PACA, Jean-Charles Gaudin, responsable de la cellule technique de la délégation régionale PACA-Corse

Les partenaires du programme sont :

- l'**Institut Pasteur** (CNR des Arbovirus), qui effectuera les analyses sérologiques et virologiques, (et laboratoire associé : IMTSSA de Marseille)
- le **Centre de Coopération Internationale en Recherche Agronomique pour le Développement** (CIRAD - Programme écosystèmes naturels et pastoraux et Programme Santé Animale), qui apportera un appui scientifique, participera à la saisie et à l'analyse des données, et à la mise en place du système de surveillance des mortalités d'oiseaux,
- les **Directions départementales des services vétérinaires** des départements 66, 11, 34, 30, 13, 84, 83 et 06 qui coordonneront la récolte des prélèvements sur les oiseaux domestiques,
- les **Laboratoires départementaux d'analyses vétérinaires** (LDAV) partenaires du réseau SAGIR et ceux des départements 66, 11, 34, 30, 13, 83 qui conditionneront les sangs des oiseaux sentinelles,
- Les **Fédérations départementales de chasseurs** qui interviendront dans le cadre du réseau SAGIR et dont certains adhérents mettront à la disposition de la surveillance leurs canards appelants,
- la **Station biologique de la Tour du Valat**, qui mettra à disposition son expertise scientifique ainsi que des oiseaux sentinelles sur le site de la station,
- l'**AFSSA Nancy**, qui saisira dans la base de données SAGIR les informations concernant les analyses virologiques.