

Circulation du virus West Nile dans l'avifaune française. Bilan de sept années de surveillance

Surveillance of West Nile Virus in France. Seven years of monitoring in wild birds

HARS Jean ¹, MORTAMAIS Marion ², PRADEL Jennifer³, AUGE Philippe ⁴, JOURDAIN Elsa ^{3,5,6}, CHAVERNAC David ⁷, LANGUILLE Jérôme ⁸, ZELLER Hervé ⁶

¹. Office National de la Chasse et de la Faune Sauvage (ONCFS), Unité sanitaire de la faune, 5 Allée de Bethléem, 38610, Gières (France)

². 2 bis rue Giuseppe Verdi, 34590 Marsillargues (France)

³. Laboratoire TIMC-EPSP, Unité Biomathématiques et Epidémiologie, ENVL, 1 av Bourgelat, 69280 Marcy l'Etoile (France)

⁴. Office National de la Chasse et de la Faune Sauvage, Brigade mobile d'intervention Languedoc-Roussillon, 95 rue Pierre Flourens, 34098 Montpellier cedex 05 (France)

⁵. Centre de recherche de la Tour du Valat, Le Sambuc, 13200 Arles (France)

⁶. Centre national de référence/Centre Collaborateur OMS des Arbovirus et des Fièvres hémorragiques Virales, Institut Pasteur, 21 avenue Tony Garnier, 69365 Lyon cedex 07 (France)

⁷. Centre de Coopération Internationale en Recherche Agronomique pour le Développement (CIRAD), Département ES, UR22, TA A-22/E, Campus international de Baillarguet, 34398 Montpellier cedex 05 (France)

⁸. Direction générale de l'alimentation, Bureau santé animale, 251 rue de Vaugirard, 75732 Paris cedex 15 (France)

Résumé

La fièvre de West Nile est une arbovirose dont les hôtes amplificateurs sont les oiseaux sauvages, et le cheval et l'homme des hôtes sensibles accidentels. Suite à l'émergence de la maladie, en août 2000, chez le cheval en Petite Camargue, une enquête sérologique conduite par l'Office national de la chasse et de la faune sauvage (ONCFS) sur cinq espèces d'oiseaux sauvages a permis de révéler de faibles séroprévalences chez des canards colverts (8%) et des pies bavardes (22%). Depuis 2001, un programme d'épidémiosurveillance du virus West Nile dans l'avifaune a été mis en œuvre en France. Il est fondée sur la détection, par le réseau SAGIR, de mortalités anormales chez les oiseaux sauvages et sur le suivi sérologique d'oiseaux sentinelles (canards colverts appelants et volailles) répartis sur une trentaine de sites le long de la côte méditerranéenne. Aucune mortalité anormale due au virus West Nile n'a été observée dans l'avifaune française, mais le virus a été isolé ponctuellement, pour la première fois en Europe occidentale, en 2004 en Camargue sur un moineau domestique (*Passer domesticus*) et une pie bavarde (*Pica pica*). Plusieurs séroconversions ont été observées en Camargue particulièrement en 2004 où elles sont apparues avant l'apparition de 32 cas cliniques équins. Ceci a démontré l'intérêt de la surveillance du virus WN chez des oiseaux sentinelles comme système d'alerte précoce.

Mots-clés : virus West Nile , Oiseaux sauvages, épidémiosurveillance, oiseaux sentinelles, France

Summary

West Nile fever is a mosquito-borne viral disease including wild birds as amplifying hosts, and humans and horses as sensitive hosts (accidental victims). West Nile virus (WNV) emerged in southern France (Camargue) in 2000 affecting only horses. Shortly after the outbreak, the French game and wildlife agency (ONCFS) conducted a serological study in 5 bird species and found low seroprevalences in mallards (8%) and magpies (22%). A long-term epidemiosurveillance program, based on the detection of abnormal mortality in wild birds (SAGIR network) and serological monitoring of sentinel birds from

30 sites distributed along the Mediterranean coast, was established in 2001. No abnormal mortality due to WNV was reported in the avifauna but WNV was isolated from a European magpie (*Pica pica*) and a House sparrow (*Passer domesticus*). Seroconversions were detected in sentinel birds in Camargue, particularly in 2004 before the emergence of 32 equine cases. These results outline the importance of monitoring WNV circulation in birds as an early warning system.

Keywords : West Nile virus, wild birds, epidemiosurveillance, sentinels birds, France

I. Introduction

Le virus West Nile (WN) est un arbovirus (ARthropod BORne VIRUS), appartenant à la famille des Flaviviridae, genre *Flavivirus* dont fait partie le virus de la fièvre jaune. Il a été isolé pour la première fois en 1937 en Ouganda, dans la province Ouest du Nil (d'où son nom) dans le sérum d'une jeune femme souffrant d'un syndrome fébrile [Smithburn et al, 1940].

Comme tout arbovirus, le virus WN est transmis par un vecteur arthropode piqueur. Il s'agit le plus souvent d'un moustique du genre *Culex* (*C. pipiens* [Linné] ou *C. modestus* [Ficalbi] en Europe). Les oiseaux, parfois qualifiés de réservoirs, sont des hôtes amplificateurs du cycle viral. De nombreuses espèces sauvages, sédentaires ou migratrices (appartenant aux familles des anatidés, charadriidés, corvidés, passéridés....) et domestiques (dinde, oie, poulet) sont susceptibles d'héberger et/ou de transporter le virus. Ils développent une virémie assez élevée et assez longue pour permettre aux moustiques de s'infecter. Le virus va ensuite se multiplier et se disséminer pour gagner les glandes salivaires chez le vecteur. Lors d'un repas sanguin ultérieur, le moustique sera capable de transmettre le virus à un autre hôte sensible. La période qui sépare l'infection du vecteur par un repas sanguin et l'infection des glandes salivaires est aussi appelé cycle d'incubation extrinsèque. Les conditions météorologiques (en particulier température et humidité) influent sur l'activité des vecteurs et la durée de ce cycle d'incubation extrinsèque. Les oiseaux sont en général « porteurs asymptomatiques », ce qui est le cas le plus fréquent en Europe. Toutefois, des manifestations neurologiques avec de fortes mortalités, dues à des souches plus virulentes, ont été observées en Egypte chez des pigeons, des moineaux et des corvidés [Taylor et al, 1956 ; Work et al, 1953], en Israël chez des cigognes et des oies [Malkinson et al, 2002] et aux Etats-Unis chez de nombreuses espèces [Steele et al, 2000], en particulier chez des corvidés (corneilles et geais bleus) alors que dans le Nouveau Monde, poulets moineaux et pigeons semblent résistants [Komar et al, 2003].

Le cycle d'amplification du virus s'effectue entre les oiseaux et les moustiques ornithophiles ; quand ce cycle est intense, certains vecteurs « ponts » à la fois ornithophiles et mammophiles peuvent, en piquant des chevaux ou des hommes, leur transmettre le virus. Chez le Cheval comme chez l'Homme, la fièvre WN est en général inapparente. Sinon la maladie se manifeste avec une symptomatologie très variable, allant d'un simple syndrome grippal à une encéphalomyélite à fort taux de mortalité principalement chez les sujets âgés. Le Cheval et l'Homme, hôtes accidentels, sont considérés comme des "*culs de sacs épidémiologiques*" : le taux de réplication du virus au niveau du sang est insuffisant pour transmettre la maladie.

Le virus WN a été isolé à maintes reprises depuis les années 50 en Afrique, au Moyen Orient, en Asie, mais aussi en Europe (Portugal, Roumanie,...) y compris en France, en Camargue, dans les années 1962-1965 où 500 cas cliniques équins et 13 cas humains avaient été répertoriés [Hannoun et al, 1964 ; Joubert et al, 1970]. Il est intéressant de noter que, après une phase d'éclipse d'une trentaine d'années, la fièvre de West Nile a ressurgi à la fin des années 1990, notamment dans le pourtour méditerranéen et en Europe [Murgue et al, 2001a et 2001b ; Hubalek & Halouzka, 1999]. Elle s'y manifeste en général sous forme d'épizooties/épidémies ponctuelles et de faible ampleur. Les deux seules épidémies remarquables qui aient été documentées en Europe sont celles de Bucarest (Roumanie, 1996, 835 cas humains dont 17 décès) [Tsai et al, 1998] et de Volgograd (Russie, 1999, 826 cas humains dont 40 décès) [Platonov et al, 2001]. Le virus a été observé pour la première fois sur le continent américain en 1999 dans la région de New York. La souche virale, phylogénétiquement proche d'une souche identifiée en Israël en 1998 à l'origine de morbidité et mortalité aviaire [Lanciotti et al, 1999], s'est répandue en trois années dans tout le continent nord-américain [CDC, 2003]. Les populations aviaires, équines et humaines « naïves », donc sensibles à l'infection, ont été gravement touchées: en 2002 par exemple, 25000 oiseaux morts, 10000 méningo-encéphalites équines dont 3000 mortelles et près de 3000

formes neuroinvasives humaines dont 284 mortelles [CDC, 2004] ont été répertoriées aux USA [Baudet & Sidibé, 2003].

En août 2000, le virus WN est réapparu brutalement en France en Petite Camargue (départements de l'Hérault et du Gard) où il a touché 76 chevaux dont 21 sont morts, sans qu'aucun cas clinique humain ni aviaire n'ait été observé [Murgue *et al*, 2001b]. Dès le mois de septembre 2000, l'ONCFS a engagé une étude dont le but était d'évaluer l'intensité de la circulation virale chez les oiseaux sauvages, d'identifier des éventuelles espèces-réservoirs et de mettre au point les outils techniques et scientifiques nécessaires à la surveillance de la circulation virale qui allait être mise en œuvre à partir de 2001 [Hars *et al*, 2001 & 2004 ; Balanca *et al*, 2004]. Outre le fait qu'aucune mortalité visible n'ait affecté l'avifaune camarguaise en 2000, les analyses sérologiques (tests ELISA IgG et séroneutralisation faits en parallèle) menées sur 440 oiseaux sauvages appartenant à cinq espèces (Moineau domestique, Mouette rieuse, Goéland leucophée, Canard colvert et Pie bavarde) et capturés dans l'épicentre de l'épizootie équine n'ont révélé la présence d'anticorps anti-WN que chez les canards (séroprévalence apparente = 8%) et les pies (séroprévalence apparente = 22%). De plus, ces deux espèces sont les seules chez lesquelles les résultats des tests de séroneutralisation, technique de référence lourde et coûteuse, concordaient avec les résultats des tests ELISA. Ces derniers tests, non spécifiques, sont les seuls utilisables en routine pour l'obtention rapide de résultats dans le cadre du programme de surveillance qui allait être mis en œuvre à partir de 2001.

II. Matériel et méthodes

2.1. Le dispositif général de surveillance du virus WN mis en place en France en 2001

Depuis 2001, le dispositif français de surveillance du virus WN implique de nombreux acteurs : la Direction générale de l'alimentation (DGAI), la Direction générale de la santé (DGS), l'Institut de veille sanitaire (InVS), l'Agence française de sécurité sanitaire des aliments (Afssa), le Centre national de référence (CNR) des Arbovirus de l'Institut Pasteur, l'Entente interdépartementale pour la démoustication du littoral méditerranéen (EID-Méditerranée), le Centre de coopération internationale en recherche agronomique pour le développement (CIRAD), les laboratoires départementaux d'analyses vétérinaires (LDAV) et l'Office national de la chasse et de la faune sauvage (ONCFS). Il repose sur quatre volets complémentaires mis en œuvre en période d'activité vectorielle:

- Volet humain : une surveillance des cas humains d'encéphalites dans les établissements hospitaliers des départements du pourtour méditerranéen,
- Volet équin : une surveillance clinique des cas d'encéphalites équines, grâce à la déclaration obligatoire sur l'ensemble du territoire des suspicions d'encéphalites par les vétérinaires sanitaires auprès des Directions départementales des services vétérinaires (DDSV),
- Volet aviaire : une surveillance de la circulation du virus WN dans l'avifaune,
- Volet entomologique : une surveillance entomologique consistant en un inventaire des espèces culicidiennes et une recherche du virus WN sur des moustiques capturés autour des foyers équins et/ou humains.

2.2 Protocole de surveillance de la circulation du virus West Nile dans l'avifaune

2.2.1. Principe général

Dans la mesure où les oiseaux interviennent, en tant que réservoirs / hôtes amplificateurs dès le démarrage du cycle viral, l'objectif principal 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.

Cette surveillance a été mise en œuvre durant sept années, de 2001 à 2007. Son protocole a été fondé sur :

- une surveillance des cas de mortalité dans l'avifaune avec dépistage du virus WN, permettant de révéler rapidement une éventuelle introduction de souches virales associées à une forte pathogénicité aviaire,

- un suivi sérologique mensuel d'oiseaux sentinelles sauvages captifs ou domestiques, permettant de détecter très précocement la présence du virus WN.

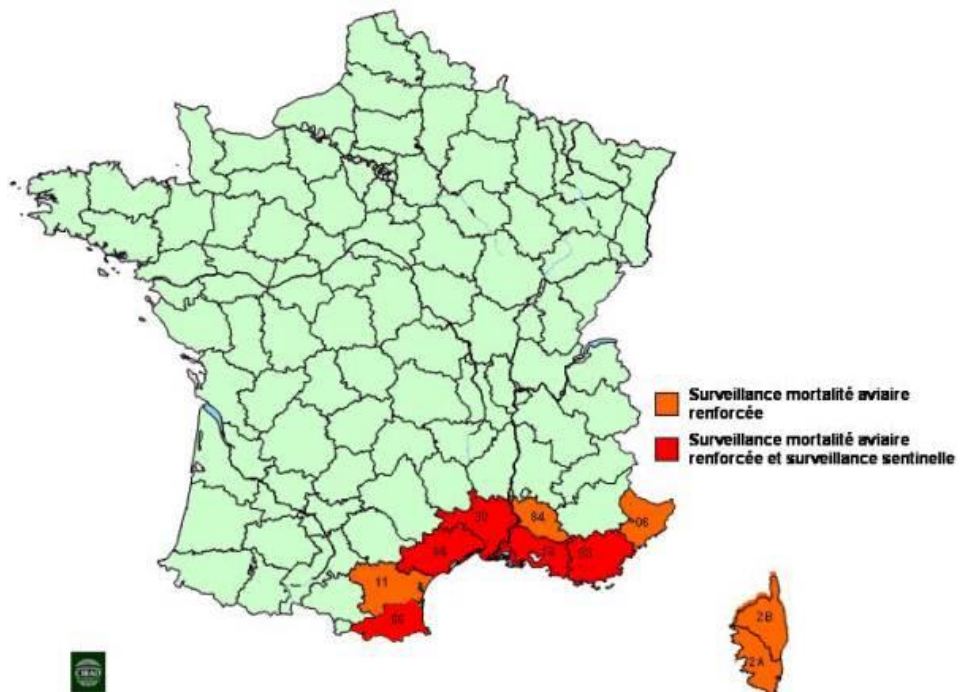
Le suivi sérologique d'oiseaux sentinelles est basé sur le principe que toute séroconversion apparaissant sur un oiseau initialement indemne d'anticorps atteste qu'il a été en contact avec le virus. Par rapport au contrôle ponctuel d'oiseaux sauvages capturés dont on ne sait ni où ni quand ils ont acquis des anticorps, il offre plusieurs avantages :

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

2.2.2. Zone et période de surveillance

La zone de surveillance a été adaptée à l'évolution de la situation épidémiologique. Limitée aux départements camarguais (Gard, Hérault, Bouches du Rhône) en 2001, 2002 et 2003, la surveillance des mortalités d'oiseaux sauvages a été étendue en 2004 et 2005 à tout le territoire français avec renforcement dans les dix départements du pourtour méditerranéen, suite à l'apparition inattendue de cas cliniques humains et équinés dans le Var en 2003. Elle n'a concerné que ces dix départements en 2006 et 2007, en raison des difficultés engendrées par la « crise » de l'influenza aviaire sur tout le territoire. De même, le suivi sérologique d'oiseaux sentinelles, d'abord restreint aux départements camarguais, a été étendu à six départements en 2004 (par l'ajout du Var, de l'Aude et des Pyrénées Orientales), pour ne plus concerner à partir de 2005 que les départements considérés comme les plus « à risque », c'est à dire dans lesquels le virus avait été isolé chez le Cheval ou l'Homme. A titre d'exemple, la figure 1 montre la zone surveillée en 2007.

Figure 1 :
Zones de
surveillance
en 2007



Chaque année, la surveillance a été mise en œuvre entre les mois de juin et d'octobre, qui est la période de plus forte activité vectorielle.

2.2.3. Surveillance des mortalités d'oiseaux sauvages

Elle s'est appuyée sur le fonctionnement du réseau SAGIR, réseau national de surveillance des maladies de la faune sauvage dont l'objectif principal est de diagnostiquer les causes de mortalité des animaux sauvages. Les cadavres d'oiseaux sont acheminés dans les LDAV où ils font l'objet d'un prélèvement d'encéphale qui est transmis au CNR des Arbovirus pour la détection de l'ARN viral par RT-PCR et isolement viral sur cultures cellulaires.

Dans les départements méditerranéens, le réseau SAGIR a été activé grâce à une campagne de sensibilisation du grand public et des professionnels de la nature, par des affiches¹ et des plaquettes d'information expliquant la marche à suivre en cas de découverte d'oiseaux morts.

A partir de 2006, la surveillance du virus WN chez les oiseaux sauvages a été couplée avec celle de l'Influenza aviaire².

2.2.4. Suivi sérologique d'oiseaux sentinelles

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

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

Le tableau 1 présente le nombre de sites et d'oiseaux sentinelles qui ont été suivis entre 2001 et 2007. La répartition des sites, plus dense en 2001 et 2002 dans les départements camarguais qui venaient d'être touchés par la maladie (huit à dix sites par département), s'est ensuite stabilisée à raison de cinq sites par département, judicieusement répartis dans les zones « à risque »³. Pour des raisons pratiques et de contraintes organisationnelles, la proportion de sites de canards appelants a régulièrement augmenté au fil des années.

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

Tableau 1 : Nombre de sites et d'oiseaux sentinelles suivis entre 2001 et 2007

La figure 2 montre la répartition des sites avec leur identifiants, en 2004, année où la surveillance a eu lieu dans six départements.

¹ Ces affiches indiquaient un Numéro Vert à appeler en cas de découverte de cadavres d'oiseaux. Ce numéro donnait accès à un répondeur téléphonique consulté régulièrement par le CIRAD

² demande conjointe d'analyses faite par les DDSV pour tout oiseau suspect

³ zones humides ou zones où le virus avait été précédemment isolé sur le cheval ou l'homme

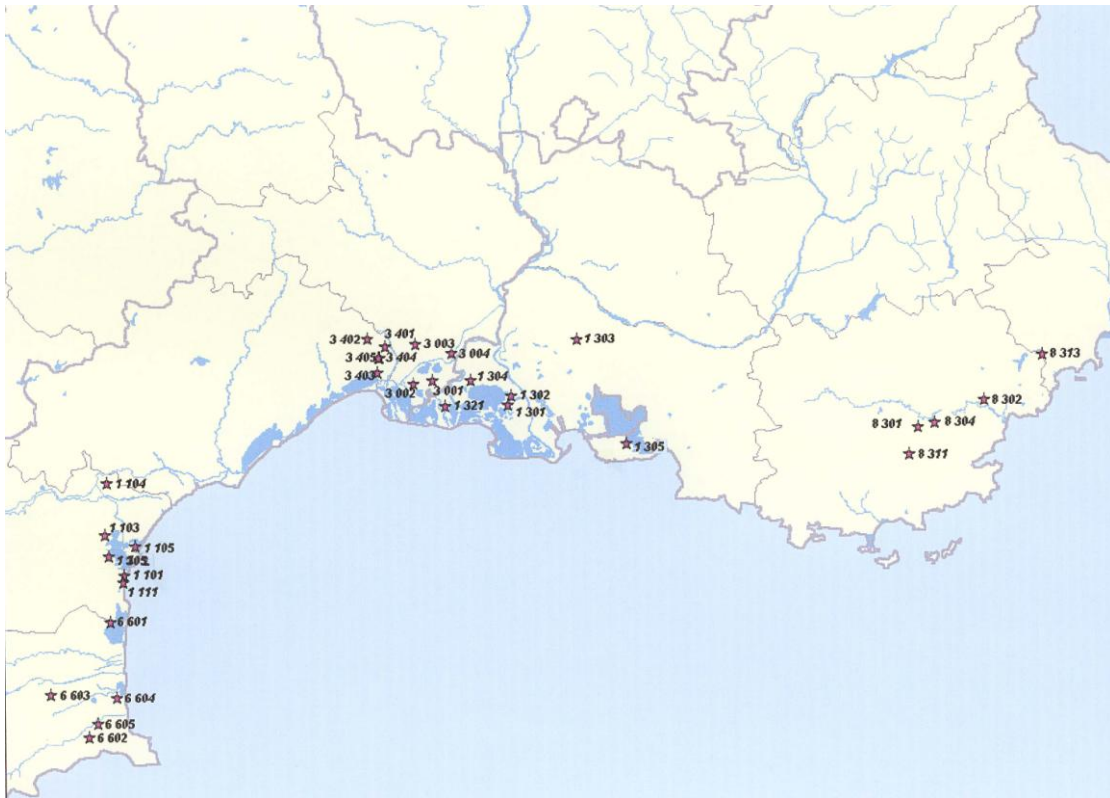


Fig 2 : Carte de répartition des sites d'oiseaux sentinelles suivis en 2004 dans les départements de l'Aude, des Bouches-du-Rhône, du Gard, de l'Hérault, des Pyrénées-Orientales et du Var

Les sangs d'oiseaux étaient acheminés sous 24 h au LDAH qui transmettait les sérums extraits au CNR où ils étaient traités à l'aide d'un test ELISA IgG. Les résultats positifs ont été confirmés par séroneutralisation.

2.2.5 Traitement des données et résultats

Une base de données a été élaborée par le CIRAD-EMVT en 2001 et améliorée au fil des programmes pour être totalement opérationnelle à partir de 2004.

La saisie des données de prélèvements par le LDAH et des résultats d'analyse par le CNR a été faite directement et immédiatement grâce à un accès à la base sur le site : <http://west-nile.cirad.fr> Toutefois, en cas de résultat positif, le CNR alertait directement la DGAI, la DGS et l'ONCFS.

III. Résultats

3.1. Surveillance des mortalités

Durant toute la période de surveillance, 216 oiseaux morts ont fait l'objet d'une recherche de VWN sur l'encéphale (Tableau 2) dans les dix départements méditerranéens.

Les oiseaux les plus fréquemment représentés étaient des canards et sarcelles (Anatidés), des goélands et des mouettes (Laridés), des pigeons et tourterelles (Colombidés), des moineaux (Passéridés).

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

Tous les résultats de la surveillance se sont révélés négatifs.

Toutefois, il est important de noter que le virus WN a été isolé sur deux oiseaux moribonds : une pie bavarde (*Pica pica*) et un moineau domestique (*Passer domesticus*). Ces oiseaux ont été collectés en 2004 dans les Bouches du Rhône (dans l'épicentre du foyer qui est apparu chez le cheval cette année-là), dans le cadre des travaux de recherche sur le virus WN entrepris par les équipes de l'Ecole nationale vétérinaire de Lyon et de la Station biologique de la Tour du Valat en collaboration avec le CNR [Jourdain, 2006 & 2007]. Ces découvertes étaient ponctuelles, sans qu'aucune mortalité anormale n'ait été observée dans l'avifaune, mais étaient d'un grand intérêt car il s'est agi de la première identification du virus WN sur des oiseaux sauvages en Europe occidentale.

Par ailleurs, cet isolement a permis de situer le virus dans l'arbre phylogénétique, très proche des virus ayant sévi précédemment au Maroc en 1996, en Italie en 1998 et en France en 2000 (Figure 3). Cette souche virale s'exprime apparemment par une clinique plus grave chez le cheval que chez les oiseaux et l'homme.

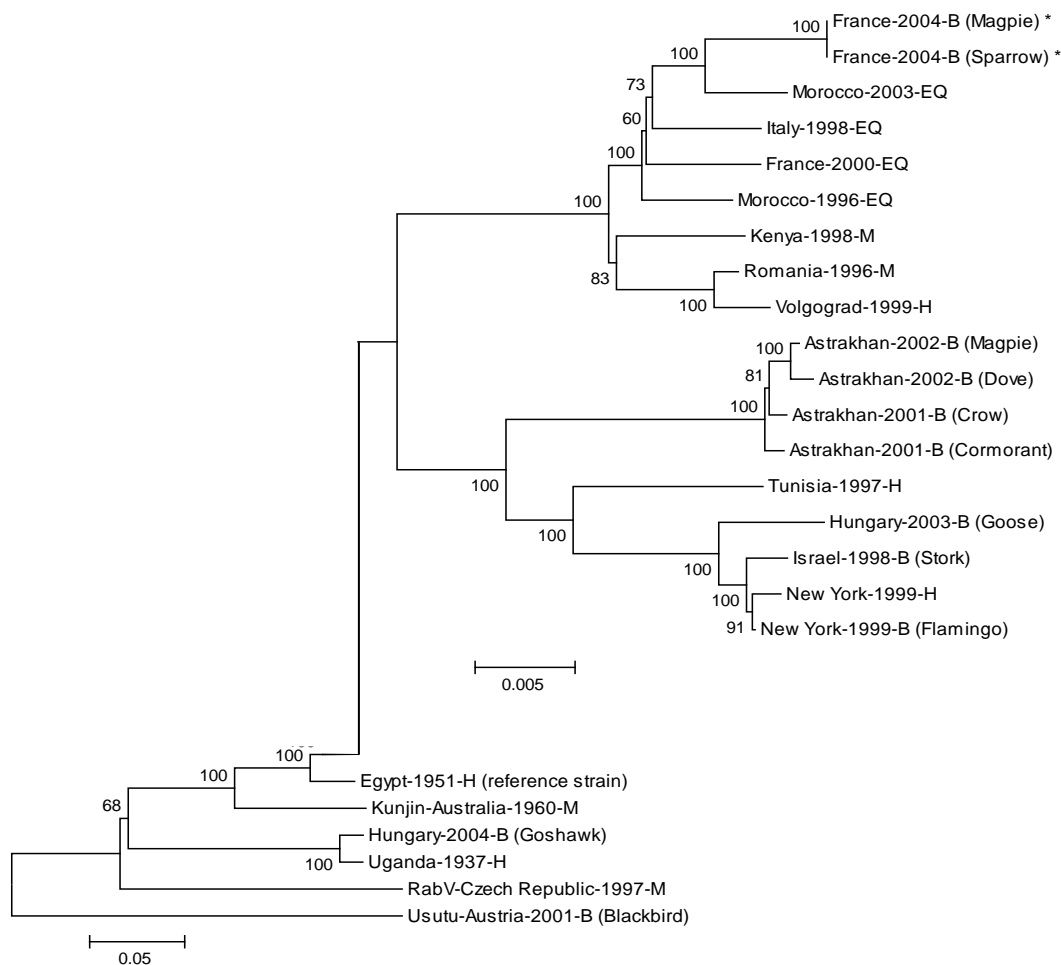


Figure 3 : Arbre phylogénétique basé sur la séquence complète de différents virus West Nile. EQ = souche équine, H = souche humaine, M = souche isolée sur moustique, B = souche isolée sur oiseau (bird). L'espèce d'oiseau correspondante est indiquée en anglais. (d'après Jourdain et al. 2007)

3.2. Surveillance sérologique d'oiseaux sentinelles

Le tableau 2 dresse un bilan des séropositivités d'oiseaux sentinelles observées lors du premier contrôle annuel du mois de juin, des séroconversions détectées et des cas équins et humains observés depuis l'année 2000, avec les localisations départementales respectives.

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

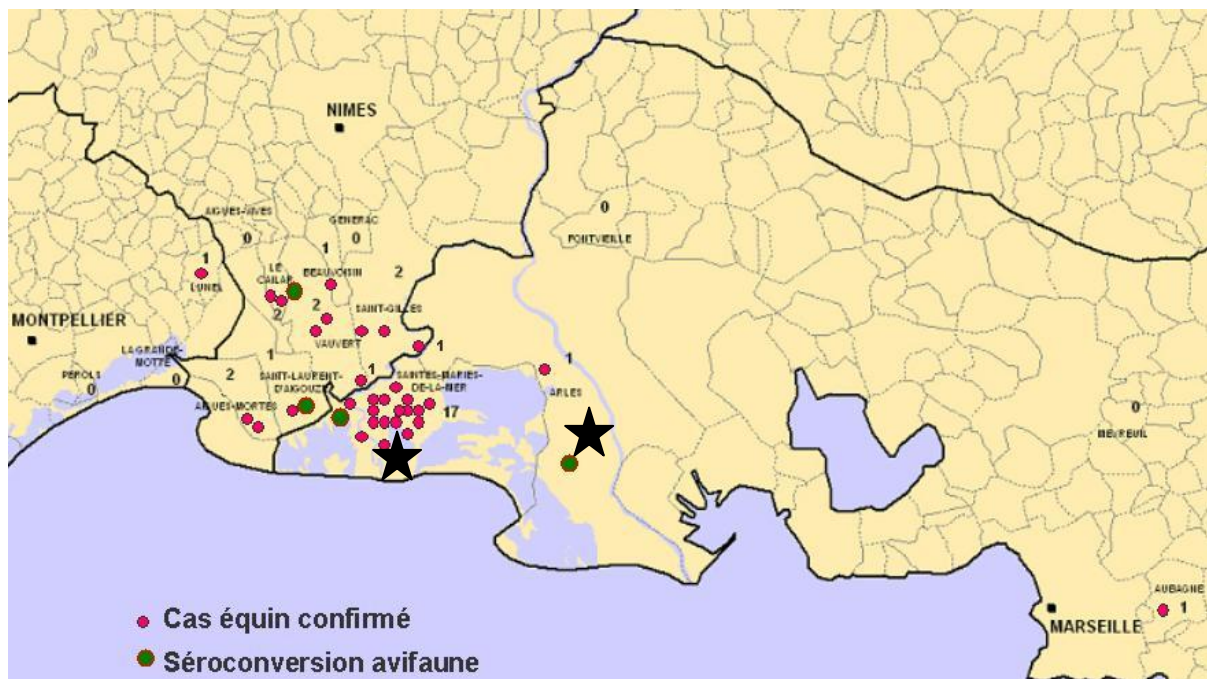
* en caractère gras : les départements où la majorité ou la totalité des cas a été observée

Tableau 2 : Bilan de la surveillance aviaire depuis 2001 et nombre de cas cliniques équins et humains observés entre 2000 et 2007

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

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

En 2004, la première séroconversion a été détectée sur la commune des Saintes-Maries-de-la-Mer (13) en juillet, soit un mois environ avant les premières suspicions équines. La plupart des séroconversions ont ensuite été observées au mois d'août dans cette zone correspondant à l'épicentre du foyer qui se déclarait chez le cheval (Fig 4).



★ Isolement sur deux oiseaux sauvages

Figure 4 : Localisation des cas équin, des séroconversions aviaires et du lieu de prélèvement des oiseaux ayant permis l'isolement du virus WN en 2004

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

IV. Discussion

La souche virale qui circule dans le sud de la France depuis 2000 ne provoque manifestement pas de mortalité anormale dans l'avifaune, contrairement à ce qui est observé sur le continent nord Américain depuis 1999. Il est par contre possible que des mortalités sporadiques soient dues au virus mais passent inaperçues et ne puissent pas être détectées par le réseau SAGIR malgré les campagnes d'information et de sensibilisation du public qui ont été menées jusqu'en 2005 et l'effet stimulateur « grippe aviaire » intervenu depuis 2006. Cet argument est conforté par la découverte quasi fortuite de deux oiseaux malades et infectés par le VWN en 2004 dans le contexte particulier d'activités quotidiennes de terrain menées pour un programme de recherche. Ce programme a par ailleurs permis de confirmer que des oiseaux migrateurs provenant de zones tropicales où le virus WN est endémique sont exposés au virus (ou un autre flavivirus proche) avant leur arrivée en Camargue et que des espèces sédentaires (passereaux, corvidés,...) peuvent servir de relais entre les zones humides et les zones d'élevage de chevaux [Jourdain, 2006]. A ce titre, la pie bavarde, qui avait montré la plus forte séroprévalence apparente lors de l'enquête sérologique préliminaire faite par l'ONCFS en 2000, s'avère être un bon indicateur de la présence du virus WN d'autant plus qu'une excrétion fécale du virus a été démontrée [Jourdain, 2008].

La surveillance sérologique d'oiseaux sentinelles a montré ses atouts ainsi que ses limites. Elle permet de maintenir une surveillance tout au long de la période d'activité vectorielle, mais la lourdeur de sa mise en œuvre nous a imposé de réduire le nombre de sites suivis dans chaque département et de les répartir uniquement dans les zones « les plus à risques », ce qui a eu pour conséquence de manquer une possible détection précoce du virus quand il a émergé dans le Var et les Pyrénées Orientales. De ce fait, la faible sensibilité du réseau d'oiseaux sentinelles a été discutée lors d'une étude faite par l'Afssa [Zientara *et al*, 2004] qui montrait que pour détecter une prévalence de 5 à 8 %

chez les canards colverts sentinelles⁴, il fallait suivre au moins 300 oiseaux par département et non pas 50, qui représente notre effectif moyen de sentinelles par département depuis 2003. Toutefois, la surveillance des sentinelles, bien que peu sensible, a été la seule capable en 2001 et 2002 de détecter la présence du virus qui devait circuler faiblement car il n'a touché ni l'Homme ni le Cheval. De plus, en 2004, dans l'épicentre du foyer équin des Saintes-Maries-de-la-Mer, neuf des douze oiseaux (75%) suivis ont séroconverti entre juillet et début septembre, et deux d'entre eux l'ont fait plusieurs semaines avant les premiers cas cliniques équins, ce qui a répondu à l'objectif d'alerte précoce du système. Ceci renforce l'idée que, lorsque les conditions nécessaires au développement d'un foyer sont réunies, la circulation virale chez les oiseaux doit être intense, assez en tout cas pour induire des séroprévalences élevées qui puissent être détectées par un réseau de surveillance peu sensible, avant de provoquer des manifestations cliniques chez le cheval. Une surveillance d'oiseaux sentinelles *a minima* peut donc s'avérer utile pour donner l'alerte avant apparition de phénomènes de type épizootique et/ou épidémique.

Sur le plan technique, le réseau de surveillance aviaire a globalement très bien fonctionné, grâce à une excellente participation et coordination de tous les acteurs. Une évaluation du système a été faite depuis 2004 à partir de la base de données tenue par le CIRAD-EMVT [Chavernac *et al*, 2006]. Pour le suivi des sentinelles, nous avons constaté en moyenne sur quatre ans : pour le rythme des prélèvements, 97 % de conformité avec le protocole établi ; pour la qualité des prélèvements, 98% d'exploitabilité au laboratoire ; pour les résultats, un délai de 11 jours entre le prélèvement sanguin et la remise du résultat final par le CNR, ce qui peut être considéré comme excellent.

V. Conclusion.

Le bilan de sept années de surveillance équine, aviaire et humaine montre que dans le Sud de la France, l'apparition du virus WN et l'intensification de son cycle de transmission dépend de la conjonction de nombreux facteurs écologiques et climatiques mal appréciés. Ceci confirme l'hypothèse émise suite aux études menées en 2000 que la Camargue serait une zone favorable au développement d'épizooties où des « poussées virales » ponctuelles (temporellement et/ou géographiquement) peuvent apparaître de façon totalement imprévisible car elles dépendent de la conjonction de nombreux facteurs écologiques et climatiques, à la différence des « zones enzootiques » (Israël, Egypte...) où le virus circule largement en induisant la présence d'anticorps sur une grande proportion d'hôtes (oiseaux, cheval, homme).

La surveillance sérologique régulière d'oiseaux sentinelles a été mise en œuvre dès 2001 pour pallier à l'absence apparente de mortalités d'oiseaux sauvages qui permettrait de « pister » efficacement le virus. Elle a démontré, malgré la faible sensibilité du réseau, son aptitude à une détection précoce du virus, mais la lourdeur du système et une analyse coût-bénéfice amènera le Ministère chargé de l'Agriculture à l'abandonner à partir de 2008, tant que la situation épidémiologique et l'impact sur les populations équines et humaines resteront au niveau actuel. La surveillance des cas cliniques équins et humains sera maintenue. Le dépistage du virus WN sur des cadavres d'oiseaux sauvages collectés dans la zone méditerranéenne ne devrait pas être abandonné car il peut permet de détecter la circulation de virus induisant une pathogénicité aviaire avec risque de transmission à l'Homme.

Remerciements : aux chasseurs d'oiseaux d'eau et aux propriétaires de volailles qui ont mis à disposition leurs oiseaux ; aux agents des services départementaux l'ONCFS et aux vétérinaires praticiens qui ont contrôlé mensuellement les oiseaux sentinelles ; à tout le personnel des laboratoires chargés des analyses.

⁴ chiffre observé lors de l'enquête sérologique de 2000

Bibliographie

- Balança G. & Hars J. - Bird reservoirs and indicators of the West Nile Fever in France. *In: Proceedings of the 6th International Wildlife Ranching Symposium: "Wildlife: a natural resource"*, 6-9 July 2004, Paris, France. Tome 2. *Game Wildl. Sci.*, 2004, **21**(4):539 - 551.
- Baubet B. & Sidibé S. - Infection à virus West Nile aux Etats Unis en 1999-2002. *Bull. Epidem. Afssa*, 2003, **9**
- Chavernac D., Hars J., Mortamais M., Zeller H., Hendrikx P., Baldet T. - "Web's Potential in Arbovirus Surveillance: West Nile on the French Mediterranean Coast". *International Symposium on Veterinary Epidemiology and Economics*, Cairns, Australia, 6 – 11 August 2006.
- CDC. - Epidemic/epizootic West-Nile virus in the United States : Guidelines for Surveillance, Prevention and Control. 3rd revision. Centers for Disease Control, 2003, 77 pp. Disponible en ligne à : <http://www.cdc.gov/ncidod/dvbid/westnile/publications.htm>.
- Hannoun C, Panthier R, Mouchet J, Eouzan JP. - Isolement en France du virus West Nile à partir de malades et du vecteur *Culex modestus* Ficalbi. *C R Acad Sc Paris*, 1964, **259**, 4170-4172
- Hars J., Auge P., Chavernac D., Balanca G., Keck N., Pradel J. & Zeller H.- Surveillance de l'infection de l'avifaune camarguaise par le virus West Nile. *Revue ONCFS Faune sauvage*, 2004, **261**, 54-58
- Hars J., Auge P., De Visscher M-N., Fruitet L., Keck N., Murgue B., Pourrut X., Zeller H., Zientara S. - Etude préliminaire sur l'infection de l'avifaune du département de l'Hérault par le virus West Nile en 2000. Rapport ONCFS/DGAI, 2001, 17 p.
- Joubert L, Oudar J, Hannoun C, Beytout D, Corniou B, Guillon JC, Panthier R. - Epidémiologie du virus West Nile : étude d'un foyer en Camargue. IV. La méningo-encéphalomyélite du cheval. *Ann Inst Pasteur*, 1970, **118**, 239-247
- Jourdain E. - Oiseaux sauvages et virus West Nile. Etude éco-épidémiologique. Thèse de troisième cycle, Université Joseph Fourier (Grenoble), 2006. Accessible en ligne : <http://tel.archives-ouvertes.fr/tel-00144110>
- Jourdain E., Schuffenecker I., Korimbocus J., Reynard S., Murri S., Kayser Y., Gauthier-Clerc M., Sabatier P., Zeller H. West Nile virus in wild resident birds, southern France, 2004. *Vector Borne and Zoonotic Diseases*, 2007, **7** (3), 448-452
- Jourdain E., Gauthier-Clerc M., Sabatier P., Grège O. Greenland T., Leblond A., Lafaye M, Zeller H. - Magpies as Hosts for West Nile virus, Southern France. *Emerg. Infect. Dis.*, 2008, **14** (1) , 158-160
- Hubalek Z.& Halouzka J. - West Nile fever : a reemerging mosquito-borne viral disease in Europe. *Emerg. Infect. Dis.*, 1999, **5** , 643-50.
- Komar N, Langevin S, Hinten S, Nemeth N, Edwards E, Hettler D, Davis B, Bowen R, Bunning M. - Experimental infection of North American birds with the New York 1999 strain of West Nile virus. *Emerg. Infect. Dis.* , 2003, **9**, 311-322
- 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. Origin of the West Nile virus responsible for an outbreak of encephalitis in the Northeastern US. *Science*, 199, **286**, 2333-2337
- Murgue B., Murri S., Triki H., Deubel V. And Zeller H. - West Nile in the mediterranean basin : 1950-2000. *Annals of the NY Academy of Sciences*, 2001a, **951**, 117-126

Murgue B., Murri S., Zientara S., Labie J., Durand B., Durand J.P. And Zeller H. - West Nile in France in 2000 : the return 38 years later. *Emerg. Infect. Dis.*, 2001b, **7**, 692-696

Malkinson M, Banet C, Weisman Y, Pokamunski S, King R, Drouet MT, Deubel V - Introduction of West Nile virus in the Middle East by migrating white storks. *Emerg. Infect. Dis.* , 2002, **8**, 392-397

Platonov A.E., Shipulin G.A., Shipulina O.Y., Tyutyunnik E.N., Frolochkina T.I., Lanciotti R.S., Yazyshina S., Platonova O.V., Obukhov I.L., Zhukov A..N., Vengerov Y.Y., Pokrovskii V.I. - Oubreak of West Nile infection, Volgograd region, Russia. *Emerg. Infect. Dis.*, 2001, **7 (1)**, 128-132.

Smithburn KC, Hughes TP, Burke AW, Paul JH - A neurotropic virus isolated from the blood of a native of Uganda. *Am J Trop Med Hyg*, 1940, **20**, 471-92

Steele K.E., Linn M.J., Schoepp R.J., Komar N., Geisbert T.W & Manduca R.M. - Pathology of fatal West Nile virus infections in native and exotic birds during the 1999 outbreak in New York city. *Vet. Pathol.*, 2000, **37**, 208-224.

Taylor R.M., Work T.H., Hurlbut H.S., Rizk F. - A study of the ecology of West Nile virus in Egypt. *Am J Trop Med Hyg.*, 1956, **5** , 579-620.

Tsai TF, Popovici F, Cernescu C, Campbell GL, Nedelcu NI - West Nile encephalitis in southeastern Romania. *The Lancet*, 1998, **352**,767-71

Work T.H., Hurlbut H.S., Taylor R.M. - Isolation of West Nile virus from hooded crow and rock pigeon in the Nile Delta. *Proc Soc Experiment Biol Med.*, 1953, **84** : 719-72.

Zientara S., Baldet T., Durand B., Hars J., Lagneau C., de Lamballerie X., Murgue B., Reiter P., Hattenberger AM., Gauchard F., Zeller H - Rapport sur la surveillance de l'infection à virus West Nile en France. Rapport AFSSA, 2004, 48 p.