ANALYSE SPATIALE DE L'EPIZOOTIE D'INFECTION A VIRUS WEST NILE CHEZ LES CHEVAUX DE CAMARGUE EN 2000 : RESULTATS ET PERSPECTIVES *

Véronique Chevalier ¹, B. Durand ³, G. Gerbier ³, M. Babinot ², J.F. Michel ¹, I. Toure ¹ et S. Zientara ³

RESUME: En août 2000, une enquête sérologique a été engagée dès la confirmation du premier cas équin de fièvre West Nile (FWN) en Camargue. Elle a concerné tous les chevaux présents dans un rayon de 10 Km autour des cas confirmés. Le taux de séroprévalence était de 8,5%.

Les premières observations ont révélé l'existence d'un foyer en zone sèche et ont fait suspecter C. pipiens comme vecteur de la maladie.

Pour étayer cette hypothèse, deux analyses spatiales ont été réalisées. Une première a concerné la répartition des chevaux selon leur statut sérologique sur l'ensemble du territoire touché. La seconde concerne la distribution spatiale des groupes de chevaux en fonction de leur statut sérologique sur une zone pilote. Même si les tentatives d'isolement viral sur les moustiques capturés dans la zone sont restées infructueuses, les premiers résultats laissent suggérer que c'est bien C. pipiens qui a transmis la maladie aux chevaux en 2000.

SUMMARY: In August 2000, a serosurvey was undertaken as soon as the first equine clinical case of West Nile disease was confirmed. All equines located within a 10 km radius of laboratory-confirmed and probable cases were concerned. West Nile IgG antibodies were found in 8.5% of animals.

First observations revealed the existence of a hotspot in a dry area, and suggested that, in 2000, C. pipiens was the main vector of the disease.

To support this hypothesis, two spatial analysis were conducted. First we built an analysis of the spatial distribution of horses according to their serological status. Then we provided a spatial analysis of the distribution of horses groups according to their serological status in a pilot area.

Even if the virus could not be isolated from mosquitoes, first results suggest that C. pipiens has been involved in the transmission of West Nile disease to horses in 2000.



^{*} Texte de la communication affichée lors des Journées AEEMA, 13 et 14 juin 2002

CIRAD-Emvt Campus international de Baillarguet, 34398 Montpellier Cedex 5, France e-mail : verochevalier@sentoo.sn

Entente interdépartementale pour la démoustication du littoral méditerranéen, 165 rue Paul Rimbaud, BP 6036, 34030 Montpellier Cedex 1, France

³ AFSSA, 22 Rue Pierre Curie, BP 67, 94700 Maisons-Alfort Cedex, France

I - INTRODUCTION

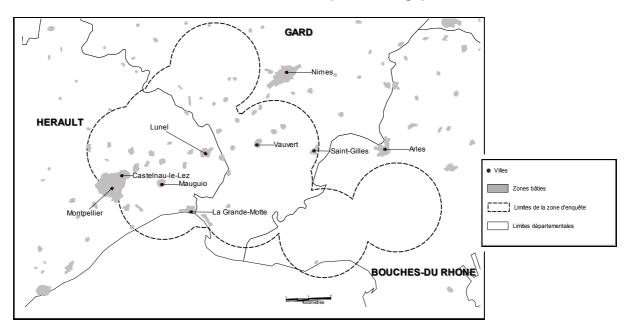
La maladie de West Nile est une arbovirose, zoonose émergente, transmise par des moustiques, principalement du genre *Culex* [Zeller et Murgue, 2001]. Elle est réapparue en Camargue, en août 2000 [Zientara, 2001]. Dès la confirmation du premier cas équin de la maladie, une enquête sérologique a été engagée. Elle a concerné tous les équidés présents dans un rayon de 10 Km autour des cas confirmés (figure1). Ainsi, 5 107 prélèvements sanguins ont été réalisés et testés par la méthode ELISA (IgG). Le taux de

séroprévalence IgG était de 8,5% [Chevalier, 2001; Durand et al., 2002].

En Europe, les deux vecteurs majeurs de la maladie sont *C. pipiens* et *C. modestus* [Hubalek et Halouzka, 1999]. Alors qu'au cours de l'épizootie Camarguaise de 1962-1963, le virus avait été isolé sur *C. modestus* [Hannoun et al., 1964], l'observation des premiers résultats suggérait que *C. pipiens* pouvait être le vecteur responsable de la flambée épizootique en 2000. Pour étayer cette hypothèse, une analyse spatiale de l'épizootie a été réalisée.

FIGURE 1

Localisation de la zone d'enquête sérologique



II - MATERIEL ET METHODE

1. DISTRIBUTION SPATIALE DE L'ENSEMBLE DES CHEVAUX TESTES SELON LEUR STATUT SEROLOGIQUE

Chaque prélèvement était accompagné d'une fiche de commémoratifs où figurait la commune de stationnement du cheval testé. On a ainsi pu calculer le taux de prévalence IgG par commune. Concernant les données environnementales, une extraction de la base de données satellitaires Corin Land Cover a été effectuée. Puis, à partir de la nomenclature Géozoum - outil technique spécialisé sur l'occupation du sol des bassins versants des

zones humides littorales du Languedoc-Roussillon- (tableau I) [Anonyme, 2001] et de l'expertise entomologique de l'EID Méditerranée, la carte de présence potentielle des deux vecteurs principaux de la maladie de West Nile en Europe, *C. pipiens et C. modestus* [Hubalek 1996 ; Hubalek et Halouzka, 1999], a été élaborée, ceci sur une partie seulement de la région touchée (données non disponibles).

Les cartes ont été réalisées grâce au logiciel SIG MapinfoND (version 5.5).

TABLEAU I

Nomenclature de la base de données GEOZOUM (nomenclature européenne « CORINE Land Cover » adaptée au niveau 3, et détaillée au niveau 4 pour certains thèmes)

Niveau 1	Niveau 2	Niveau 3	Niveau 4
<u>'</u>	=	<u> </u>	4
- 1 - TERRITOIRES ARTIFICIALISÉS	1.1 – zones urbanisées	1.1.1 - tissu urbain continu	
	10	1.1.2 - tissu urbain discontinu	
		1.2.1 - zones industrielle ou commerciales 1.2.2 - réseaux routier et ferroviaire, et 1.2.2.1 - réseau autoroutier	
	de commu-nication		
		espaces associés	1.2.2.2 - réseau ferroviaire
		1.2.3 - zones portuaires	
		1.2.4 - aéroports et aérodromes	
	1.3 - zones d'extraction de matériaux, décharges		
	1.4 - espaces verts artificialisés	1.4.1 - zones urbaines végétalisées	
		1.4.2 - équipements sportifs et de loisirs	
- 2 - TERRITOIRES AGRICOLES	2.1 – terres arables	2.1.0 - terres arables diverses	2.1.0.1 - sols nus agricoles
			2.1.0.2 - céréaliculture
			2.1.0.3 - maraîchage
		2.1.3 - rizières	
	2.2 – cultures permanentes 2.2.1 - vignobles		
		2.2.2 - vergers et petits fruits	T
	3.1 - forêts	3.1.1 - forêts de feuillus	3.1.1.0 - forêts de feuillus
			3.1.1.1 - feuillus mésophiles
_			3.1.1.2 - feuillus hygrophiles
- 3 - FORÊTS		3.1.2 - forêts de conifères 3.1.3 - forêts mélangées ou indéterminées	
FORE 15 ET			
MILIEUX	3.2 - milieux à végétatation	3.2.0 - pelouses, pâturages naturels, landes et broussailles	
SEMI-NATURELS	arbustée et/ou herbacée	3.2.3 - garrigues et maquis à sclérophytes	
	3.3 - espaces ouverts, sans, ou	3.3.0 - sols nus ou artificialisés	3.3.0.1 - sols nus
	avec peu de végétation		3.3.0.2 - sols nus artificialisés
		3.3.1 – plages et dunes	3.3.1.1 - plages, dunes, sable
			3.3.1.2 - dunes végétalisées
	4.1 - z.h. intérieures	4.1.1 - marais intérieurs	
- 4 - ZONES HUMIDES	4.2 - zones humides maritimes	4.2.1 – marais maritimes	4.2.1.1 - roselières, scirp., jonç.
			4.2.1.2 - enganes
			4.2.1.3 - prés salés
			4.2.1.4 - vases, sables mouillés
- 5 -	5.1 - eaux continentales (y compris lagunes littorales)		
EAUX	5.2 - mer		

non classé	
hors zone d'étude	

2. ANALYSE SPATIALE DES GROUPES SEROPOSITIFS SUR UNE ZONE PILOTE

Pour analyser le phénomène à une échelle plus fine, une zone d'étude a été choisie sur des critères écologiques. Elle se trouve sur le département l'Hérault et de couvre partiellement ou totalement huit communes; sa surface est d'environ 50 km². La partie Nord est constituée d'une très forte imbrication d'arboriculture, de vignobles, de céréales et de cultures maraîchères sur des parcelles dépassant rarement un ou deux hectares. On y trouve de nombreuses parcelles en friche qui sont utilisées comme pâturage pour les chevaux. Elle est traversée par de nombreux canaux d'irrigation et par les canaux d'épuration des stations environnantes. Le Sud est constitué par des marécages reliés à une

étendue d'eau salée « l'Etang de l'Or ». Cette zone présente donc une forte dichotomie écologique Nord-Sud.

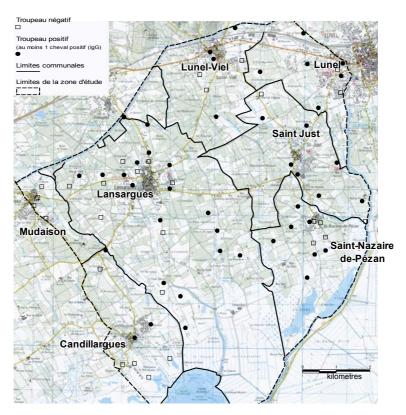
Une enquête exhaustive auprès des propriétaires de chevaux recensés sur les huit communes a permis de recueillir pour chaque groupe de chevaux son lieu de stationnement à la date de l'épizootie. Le report de ces localisations, sous forme de points, sur un fond de carte IGN (1/25 000) scanné et géoréférencé a permis l'obtention des coordonnées géographiques de chacun des points. Soixante dix sept groupes de chevaux (388 individus) ont ainsi été cartographiés.

Les troupeaux situés hors des limites de la zone d'étude ont été exclus des analyses statistiques. On a considéré un groupe séropositif quand au moins un individu de ce groupe était positif en IgG.

Chaque groupe de chevaux a été représenté par un point (figure 2). Par conséquent, l'analyse de leur distribution spatiale en fonction de leur statut sérologique est une analyse de processus ponctuel. Celle-ci a été réalisée grâce à la fonction K de Ripley [Ripley, 1976] et la fonction K bivariée [Cressie, 1993].

FIGURE 2

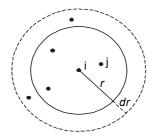
Localisation et statut sérologique des groupes de chevaux dans la zone pilote



Classiquement, un processus ponctuel peut se décrire sous trois motifs : aléatoire, agrégé ou régulier. Le motif aléatoire représente le cas où la densité de points est constante dans toute la zone et où il n'y a pas de relation entre les points (indépendance spatiale). Le principe de la fonction K consiste à compter pour chaque point i le nombre de points j présents dans un cercle de rayon r et de centre i, et de le comparer au nombre de points attendus dans le cas d'un processus aléatoire (figure 3). Dans la pratique, la fonction utilisée est une fonction transformée (notée L(r)) de la fonction de Ripley qui est plus facilement interprétable et

dont l'estimateur a une variance plus stable [Besag, 1977]. La courbe statistique L(r) observée est tracée en fonction du rayon r du cercle et les limites de la fonction pour un processus aléatoire sont déterminées par simulations. Au risque α (1% pour 100 simulations), ces limites sont déterminées par les valeurs au-dessous et au-dessus desquelles on observe $\alpha/2\%$ des valeurs de L(r). Graphiquement, ces limites forment un intervalle de confiance, encore appelé « enveloppe » [Ripley, 1976].

FIGURE 3
Principe de la fonction de Ripley



Si la statistique observée est au-dessus de cette enveloppe, le processus est dit agrégé. Si elle se trouve à l'intérieur de l'enveloppe, le processus est aléatoire. Enfin, si cette statistique se trouve sous l'enveloppe, le processus est dit surdispersé.

De la même manière, la fonction K bivariée analyse les processus ponctuels marqués : une fois la position des évènements ou des points (groupes de chevaux) fixée, une marque, ici le statut sérologique, leur est attribuée au hasard. Après *n* simulations, on compare par un test statistique la distribution observée à celle que l'on obtiendrait s'il n'existait aucun lien entre la position des évènements et leur marque, ici entre le statut sérologique des groupes de chevaux et leur position géographique. Le principe

d'interprétation graphique est le même que précédemment.

3. ANALYSE DE LA PREVALENCE AUTOUR DES ZONES URBAINES

Une zone tampon de 500 m de rayon a été appliquée autour du barycentre de chacune des communes de la zone pilote. Les élevages situés dans un rayon de 500 m autour du centre de la commune ont ainsi été sélectionnés. A partir de ce nouveau fichier ont pu être calculés le nombre de cheptels concernés, le nombre de chevaux totaux (N=53), le nombre de séropositifs et le taux de prévalence en IgG.

III - RESULTATS

La répartition des chevaux selon leur statut sérologique montre l'existence d'un foyer situé en zone sèche, sur un territoire écologiquement propice à la présence de *C. pipiens* (figure 4). Les communes dont le taux de prévalence de l'infection à virus West Nile est supérieur à 30%, ainsi que la plupart des communes à moyenne prévalence (entre 10 et 30%), sont situées dans cette zone, à l'exception de l'extrême Sud de la commune de Lansarques.

L'analyse de la distribution spatiale des groupes indépendamment de leur statut sérologique montre une agrégation de ces groupes car la statistique observée, pour un rayon r de 400 à 1 800 m, est au dessus de l'enveloppe. Ce regroupement se fait apparemment autour des zones urbaines (figure 5, (a)). Par contre, la répartition des groupes positifs est aléatoire (figure 5 (b)) : la

statistique observée reste à l'intérieur de l'enveloppe. Plutôt que regroupés près des gîtes potentiels de *C. modestus*, ces groupes semblent répartis de manière homogène sur l'aire de présence potentielle de *C. pipiens*.

Enfin, les résultats de la fonction K bivariée montrent que le statut sérologique des groupes ne dépend pas de leur localisation géographique et confirment les deux premiers résultats (figure 5, (c)).

En zone urbaine, le taux de prévalence de l'infection par virus West-Nile est de 26,4% (N=53). Nous avons comparé ce pourcentage au taux de prévalence de la zone d'étude (24,1%, N=388). Il n'existe pas de différence significative entre ces deux taux de prévalence. Aucun test statistique n'a pu être effectué au niveau cheptel par manque d'effectifs.

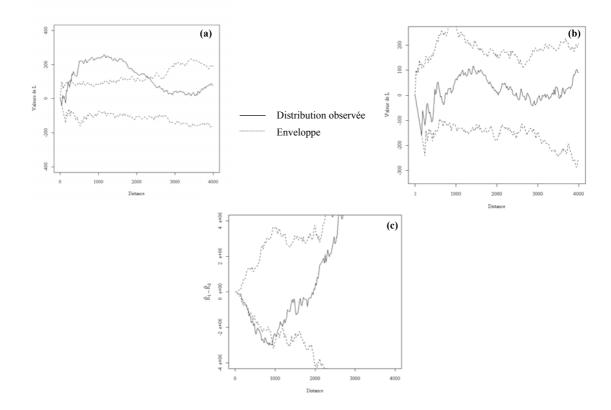
FIGURE 4

Localisation de la zone à forte prévalence (IgG)et des biotopes potentiels à *C. pipiens* et *C. modestus*



FIGURE 5
Résultats de l'analyse spatiale de l'épizootie dans la zone pilote

- (a) Structure spatiale de l'ensemble des troupeaux testés
- (b) Structure spatiale des troupeaux positifs
- (c) Structure spatiale des troupeaux positifs compte tenu de la position des indemnes



IV - DISCUSSION - PERSPECTIVES

C. modestus avait été incriminé lors de l'épizootie camarguaise de 1962-1963 [Hannoun et al., 1964]. Cette étude et la présente étude ont été réalisées à une échelle différente, mais leurs résultats semblent converger: C. pipiens pourrait être responsable de l'infection des chevaux en 2000.

En effet, la quasi totalité de la zone de forte prévalence est située sur un biotope favorable à la présence de *C. pipiens* (figure 4). Cependant, d'autres facteurs doivent être pris en compte : la zone à forte prévalence est aussi une zone à forte densité équine et il est probable que cette densité soit un facteur favorisant la transmission de la maladie. Un modèle linéaire généralisé, dont le taux de prévalence sera la variable expliquée est en cours d'étude. L'influence de la densité équine sur le modèle sera un des paramètres testés.

De plus, l'analyse spatiale de la distribution des groupes de chevaux selon leur statut sérologique sur une zone pilote renforce l'hypothèse de l'implication de C. pipiens : les positive sérologie troupeaux à uniformément répartis sur la zone de présence de C. pipiens et ne s'agrègent pas aux abords des gîtes potentiels à C. modestus. Compte tenu des faibles capacités de dispersion active de C. modestus [Anonyme, 2001], il est fortement probable que les chevaux à sérologie positive dont le lieu de stationnement a été localisé sur un biotope favorable à C.

pipiens aient effectivement été contaminés par celui-ci et non par *C. modestus*. En effet, les biotopes de ces deux vecteurs ne se superposent pas ou très peu.

Cependant, les mouvements des chevaux (pâturage, balades) à l'intérieur de la zone n'ont pas été pris en compte par notre analyse. Il aurait fallu pour cela cartographier les parcours des animaux, ce qui n'était pas envisageable. Représenter les parcs des chevaux par des polygones plutôt que par des points permettrait sans doute de réduire ce biais. Inclure les mouvements sur de plus grandes distances (commerce, exposition) demanderait une étude beaucoup plus longue et plus complexe. Elle n'était pas indiquée compte tenu de nos objectifs.

En outre, la méthodologie appliquée ne tient pas compte de la prévalence intra-troupeau et ne permet donc pas la mise en évidence d'un gradient d'exposition à la maladie, s'il en existe un.

Enfin, *C. pipiens* est un moustique à forte présence urbaine [Anonyme, 2001], alors que *C. modestus* reste cantonné aux zones humides. Or, le taux de prévalence des zones urbaines est pratiquement identique à celui de la zone pilote. Il ne semble donc pas exister d'effet protecteur des zones urbaines, suggérant une fois de plus le rôle probable de *C. pipiens* dans l'épizootie.

V - CONCLUSION

L'existence d'un foyer d'enzootie en zone lacustre entretenu par C. modestus est probable [Durand et al., 2002)]. Un relais de la zone humide vers la zone sèche, établi par C. pipiens et des oiseaux ubiquistes tels que des moineaux (figure 6), pourrait expliquer l'épizootie de 2000. Les résultats de notre corroborent cette hypothèse suggérant que c'est C. pipiens qui a transmis la maladie de West Nile aux chevaux de Camargue en 2000. Seul l'isolement viral sur des moustiques, associé à une étude sérologique sur les chevaux semi-sauvages de la zone lacustre non testés lors de cette enquête, permettrait de la confirmer ou de l'infirmer.

Si le rôle de C. pipiens était avéré, cela aurait des conséquences importantes en terme de surveillance et de prévention car son aire de répartition est large et inclut tant des zones de garrigues très peu peuplées que des zones fortement anthropisées. L'épizootie, devenue enzootie, qui sévit aux Etats-Unis depuis 1999 [Anonyme, 1999; Anonyme, 2000; Anonyme, 2002] montre que l'on doit rester vigilant même si la maladie n'est pas réapparue en France depuis 2000; outre l'existence probable d'une zone d'enzootie lacustre et si l'on admet que le virus peut être introduit chaque année en zone méditerranéenne par les oiseaux migrateurs [Zeller et Murgue, 2001], la Camargue demeure une zone à risque.

Introductions Introduction Zone d'endémie accidentelle régulières (oiseaux lacustres) Zone de Lansargues Conditions écologiques Oiseaux sérologique favorables migrateurs Lesquelles? vecteurs (Culex modestus) Abondance Oiseaux Composition spécifique Facteurs écologiques Mobilité Phryiométric Temps de séjour Température Amplification Réseau hydrigu Occupation des sols Moustiques (Culex Aedes) Analyse spatials Diffusion virale Relais par oiseaux et moustiques Limitée aux zones « sèches » « urbains » Culex pipiens, Aedes Moineaux, pies, choucas, hérons, canards sentinelles...

FIGURE 6
Epizootie d'infection à virus West Nile en Camargue en 2000 : schéma d'hypothèses

BIBLIOGRAPHIE

- Anonyme ~ From the Centers for Disease Control and Prevention. Update: West Nile virus encephalitis--New York, 1999. *Jama*, 1999, **282**(19), 1806-7.
- Anonyme ~ Update: West Nile Virus activity--Eastern United States, 2000 [In Process Citation]. *Morb Mortal Wkly Rep*, 2000, **49**(46), 1044-7.
- Anonyme ~ Nomenclature de la base de données Géozoum, AME DIREN-LR., 2001,
 - http://www.environnement.gouv.fr/Langued ocRoussillon/webdiren/oszh1bzb.htm
- Anonyme ~ West Nile update, International Society for Infectious Diseases, 2002,
 - http://www.promedmail.org
- Anonyme ~ Démoustication en Camargue : préalables techniques. Montpellier, *EID Méditerranée*, 2001, 3-4.

- Besag J.E. ~ Comments on Ripley's paper. Journal of Royal Statistical Society, 1977, B39: 193-195.
- Chevalier V. ~ Epizootie de West Nile en Camargue : analyse des résultats de l'enquête sérologique et étude spatiale dans une zone pilote. Besançon, *Mémoire de DEA* "Environnement, santé, Société", 2001, 30 pp.
- Cressie N. ~ Statistics for spatial data, ed. 2nd. 1993. p 922
- Durand B., Chevalier V, Pouillot R., Labie J., Marendat I., Murgue B. et al. ~ "West Nile Virus Outbreak in Horses, Southern France, 2000: Results of a Serosurvey." *Emerg. Inf. Dis.*, 2002, **8**(8).
- Hannoun C., Panthier R., Mouchet J, Ezouan J.P., (1964). Isolement en France du virus West Nile à partir de malades et du vecteur *Culex modestus* Ficalbi. *Acad. Sci. Paris*, 1964, **259**, 4170-4172.

- Hubalek Z. ~ Arthropod-borne viruses of vertebrates in Europe. *Acta Scientiarum Naturalium*, 1996, **30**(4-5), 10-13.
- Hubalek Z. et Halouzka J. ~ West Nile fever--a reemerging mosquito-borne viral disease in Europe. *Emerg Infect Dis.*, 1999, **5**(5), 643-50.
- Ripley B. D. ~ The second order analysis of stationary point processes. *Journal of Applied Probability*, 1976, **13**, 255-266.
- Zeller H. G.et Murgue B., (2001). Rôle des oiseaux migrateurs dans l'épidémiologie du virus West Nile. *Médecine et maladies infectieuses*, 2001, **31**(Suppl 2), 168s-174s.
- Zientara S. ~ Epizootie à virus West Nile en France. *Epidémiol. et santé anim.*, 2201, **37**, 121-125.



Remerciements

Agence française de sécurité sanitaire des aliments, Unité de virologie (Maisons-Alfort), Entente interdépartementale de la démoustication (Montpellier), Maison de la télédétection (Montpellier).