

INFLUENZA AVIAIRE : MODELISATION DU RISQUE D'INFECTION DES OISEAUX A PARTIR D'ETANGS CONTAMINES*

Magalie René¹ et Dominique Bicot¹

RESUME : De répartition mondiale, l'influenza aviaire est une maladie infectieuse due aux virus Influenza de type A, dont les réservoirs naturels sont des oiseaux sauvages des milieux aquatiques. On distingue les virus Hautement Pathogènes (HP) et Faiblement Pathogènes (FP) en fonction de leur pouvoir pathogène expérimental chez le poulet. L'extension géographique récente du virus Influenza aviaire H5N1 Hautement Pathogène et la répétition de contaminations humaines directes ravivent le spectre des grandes pandémies. Si la transmission oro-fécale des virus Influenza via l'eau des étangs contaminés est un mécanisme désormais reconnu pour la contamination des oiseaux sauvages, la capacité de persistance de ces virus dans ce milieu demeure peu documentée. L'objectif de cette étude est de modéliser le mécanisme d'entretien et de persistance des virus Influenza A FP et HP dans un écosystème constitué de canards sauvages et d'un étang afin d'évaluer le risque d'infection que représente l'eau des étangs contaminés pour les oiseaux sauvages et domestiques. L'amplification virale dans la population d'oiseaux a été étudiée selon un modèle SEIR et la survie des virus dans l'eau par une cinétique de déplétion. Les paramètres du modèle ont été déterminés à partir de la littérature. Appliquées aux conditions environnementales de la région de la Dombes, différentes simulations permettent de conclure à un risque d'infection via l'eau élevé pour des souches FP et à un entretien possible de l'infection dans l'écosystème pour certaines conditions de densité d'oiseaux et de renouvellement de populations sensibles. En ce qui concerne les virus HP, le risque d'infection par l'eau contaminée est faible avec un entretien de l'infection peu probable sauf conditions exceptionnelles. Ces résultats sont toutefois préliminaires du fait de la constante et imprévisible évolution des virus.

Mots-clés : Virus Influenza aviaire, risque d'infection, étang, modélisation.

SUMMARY: Avian influenza is a worldwide distributed infectious disease caused by type A Influenza viruses that involves waterfowls as natural hosts. These viruses are classified as Low Pathogen (LP) and High Pathogen (HP) avian Influenza viruses according to their experimental pathogenicity in chicken. Recent geographical spread of H5N1 HP avian Influenza virus and the repeated bird-to-human direct transmissions rekindle the spectre of great pandemics. Although fecal-oral transmission of avian Influenza viruses via contaminated water is now a recognized mechanism for transmission within the wild waterfowl population, little is known about the persistence of these viruses in such a medium. The purpose of this study is to develop a simulation model of maintenance and persistence mechanisms of Influenza A viruses in an ecosystem consisting of a wild duck population plus a pond in order to assess the risk of contamination that the water of infected ponds represents for wild and domestic birds. Amplification of viruses in the bird population was modelled using a SEIR compartmental model and the survival of viruses in the water using the kinetics of depletion. Parameters of the model were determined based on an exhaustive review of the literature.

* Texte de la communication orale présentée lors de la Journée AEEMA, 1^{er} juin 2007

¹ Unité Biomathématiques et Epidémiologie, Laboratoire EPSP – TIMC, Ecole Nationale Vétérinaire de Lyon, 1 avenue Bourgelat, 69280 Marcy l'Etoile, France ; m.rene.vet@free.fr ; d.bicot@vet-lyon.fr

Results of various simulations applied to the environmental conditions of the Dombes area in Eastern France lead us to conclude that the risk of infection for birds from contaminated water is high for LP avian Influenza viruses, and that the persistence of LP viruses in the ecosystem is highly likely under certain conditions of bird density and renewal rate of susceptible populations. Regarding HP avian Influenza viruses, the risk of infection for birds from contaminated water is rather low and the persistence of viruses is unlikely except under exceptional conditions. However, these results are still preliminary because of constant and unpredictable changes in HP viruses.

Keywords: Avian Influenza viruses, infection risk, pond, simulation model.



I - INTRODUCTION

Depuis 1997, on assiste à la propagation et à l'évolution d'un virus Influenza A Hautement Pathogène: le virus H5N1. Habituellement confiné au sud-est de l'Asie où il est désormais enzootique chez les volailles [Chen *et al.*, 2006b ; Olsen *et al.*, 2006], l'extension brutale de H5N1 en 2005, 2006 et 2007 vers des territoires jusque là indemnes (Russie, Moyen-Orient, Europe et Afrique) relance la question des modalités de son entretien et de sa dissémination. Si certains éléments épidémiologiques dénoncent les pratiques commerciales, d'autres montrent une intervention probable de la faune sauvage migratrice [Chen *et al.*, 2006a ; Gilbert *et al.*, 2006]. Les virus responsables des trois grandes pandémies de grippe du XX^e siècle sont issus de virus Influenza aviaires soit par réassortiment entre des souches humaines et aviaires (1957 et 1968) soit (probablement) par adaptation de souches aviaires à l'homme (« grippe espagnole » de 1918) [De Jong et Hien, 2006]. La répétition de contaminations humaines directes par le virus H5N1 HP au cours des 10 dernières années et les évolutions génétiques successives du virus [Webster *et al.*, 2006] dont certaines le rapprochent des virus pandémiques humains [Chen *et al.*, 2006a], font craindre l'émergence d'une nouvelle souche pandémique. Entre le 13 février 2006 et le 08 avril 2006, le virus H5N1 HP a été isolé en France, dans la région de la Dombes (département de l'Ain) chez plusieurs espèces d'oiseaux sauvages (principalement des Anatidés) et un élevage de Dindes [AFSSA, 2006].

L'influenza aviaire est une maladie infectieuse contagieuse, de répartition mondiale, due à des virus de la famille des *Orthomyxoviridae* : les virus Influenza A. Les oiseaux sauvages

des milieux aquatiques des ordres des Anseriformes et des Charadriiformes constituent un vaste réservoir de virus [Olsen *et al.*, 2006 ; Webster *et al.*, 1992]. On distingue les virus Faiblement Pathogènes (FP) et les virus Hautement Pathogènes (HP) en fonction de leur pouvoir pathogène plus ou moins élevé chez le poulet. La population réservoir entretient un pool génétique de virus Faiblement Pathogènes à partir duquel peut apparaître une souche Hautement Pathogène. Les virus FP se transmettent par voie oro-fécale, transmission dans laquelle les plans d'eau (lacs, étangs) fréquentés par les oiseaux aquatiques semblent jouer un rôle prépondérant [Webster *et al.*, 1978 ; Webster *et al.*, 1992]. Des prélèvements d'eaux non concentrées, réalisés sur des sites de rassemblements de migrateurs, ont en effet, à plusieurs reprises, permis d'isoler des virus infectieux à des titres parfois non négligeables [Hinshaw *et al.*, 1980b ; Ito *et al.*, 1995]. Pour les virus HP, par contre, les modalités de la transmission en population sauvage restent mal définies. Des études expérimentales réalisées chez le colvert semblent montrer que, notamment pour le virus H5N1 HP, les contacts directs ou indirects avec la salive, les sécrétions nasales et trachéales pourraient constituer un mode de transmission efficace [Hulse-Post *et al.*, 2005 ; Sturm-Ramirez *et al.*, 2004 ; 2005].

Si les modalités de la transmission des virus FP entre individus semblent désormais bien documentées, les mécanismes d'entretien des virus au sein des populations d'oiseaux sauvages d'une année sur l'autre, d'une génération sur l'autre sont encore mal connus. Deux hypothèses, éventuellement complémentaires, sont actuellement

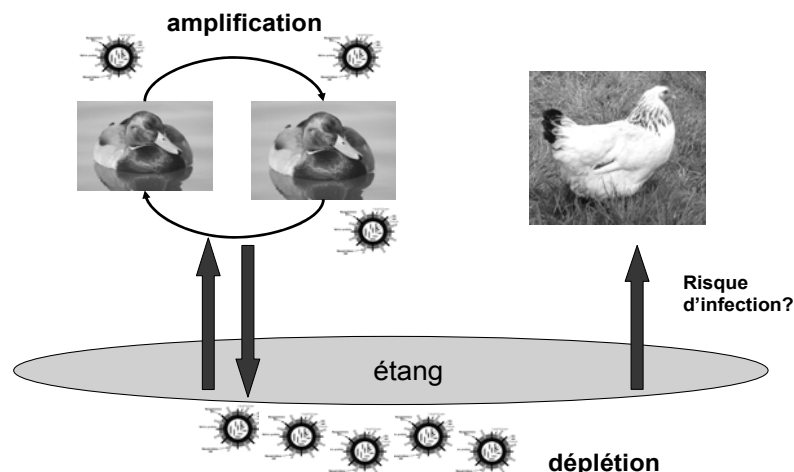
avancées : (1) la circulation continue des virus dans les populations d'oiseaux aquatiques et la contamination des juvéniles pendant les périodes de rassemblement, (2) la persistance des virus dans l'eau ou la glace et l'entretien de l'infection par contamination des oiseaux sensibles via l'eau des étangs [Olsen *et al.*, 2006 ; Webster *et al.*, 1992]. Les connaissances actuelles ne permettent pas encore de privilégier une hypothèse par rapport à une autre. Par exemple, en cas d'isolement de virus Influenza A FP ou HP dans une zone humide comme la Dombes, les questions qu'on peut se poser sont : quel est le risque d'infection que représente l'eau des étangs contaminés pour les oiseaux sauvages et domestiques ? L'infection peut-elle être entretenue dans la population d'oiseaux sauvages fréquentant les étangs ?

Notre objectif dans cette étude est d'étudier le rôle joué par l'eau des étangs dans la transmission des virus Influenza FP et HP et d'estimer le risque d'infection que représente ce milieu pour les oiseaux sauvages et domestiques. Dans cette optique, nous avons considéré un écosystème constitué d'un étang et d'une population d'oiseaux sauvages réservoirs comme illustré sur la figure 1. Dans ce système, l'entretien et la persistance des

virus sont assurés par la circulation des virus à la fois dans la population des canards et dans l'eau de l'étang. Seule l'infection des canards via l'eau de l'étang contaminée par les excréments fécales et trachéales est considérée afin de mieux appréhender le rôle joué par ce milieu (la transmission directe entre canards i.e. infection par contacts, aérosols, nourriture et autres matières n'est pas envisagée). La dynamique de l'infection via l'eau dans la population des canards est décrite par un modèle SEIR et la survie des virus dans l'étang par une cinétique de déplétion. La dynamique d'entretien et de persistance des virus dans l'écosystème est obtenue en couplant ces deux modèles pour la contamination entre canards par transmission indirecte et pour la contamination de l'étang par les canards infectés. C'est à partir de ce modèle couplé que nous étudions le risque d'infection pour les oiseaux susceptibles d'être contaminés à partir de l'eau de l'étang et la durée de persistance des virus dans l'écosystème en fonction de certains paramètres comme la densité d'oiseaux et la température de l'eau.

Figure 1

Représentation schématique de l'écosystème et de la problématique étudiée



II - MATERIEL ET METHODES

1. RISQUE D'INFECTION

Le risque d'infection considéré dans ce travail est défini comme la probabilité qu'a un oiseau de s'infecter à la suite du *contact* (contamination par voie oro-naso-trachéale) avec l'eau d'un étang contaminé,

$$R(t) = 1 - \left(\frac{1}{2}\right)^{C(t)/C_m} \quad (1)$$

Ce risque est exprimé en fonction de la concentration $C(t)$ de virus dans l'étang (ou titre viral par unité de volume) et de la concentration minimale C_m permettant d'infecter 50% des individus d'une espèce cible sensible. C_m dépend de la souche virale et du degré d'adaptation des virus à l'espèce infectée. Les virus ayant un faible degré d'adaptation à l'espèce cible ne se répliquent chez cette espèce qu'en présence d'une dose d'exposition élevée ou lorsque des facteurs secondaires viennent augmenter la sensibilité de l'hôte. Au contraire, en présence d'un fort degré d'adaptation, de faibles doses suffisent à produire l'infection. L'adaptation à l'hôte est maximale pour une seule espèce hôte et, à un moindre degré, pour les espèces proches [Swayne, 2007]. Par exemple, pour des virus H7N3 FP, Spackman *et al.* [2006] ont montré en infection expérimentale qu'une dose de $10^{1.1}$ EID50 de virus permettait d'infecter 50% des individus chez la dinde alors qu'une dose de $10^{6.2}$ EID50 était nécessaire pour obtenir le même taux d'infection chez le poulet. De même, pour un représentant des virus H5N1 HP, Webster *et al.* ont déterminé une BID50% (Bird Infective Dose 50% = Dose minimale permettant d'infecter 50% des oiseaux) de $10^{1.7}$ EID50 chez la caille et de $10^{3.8}$ EID50 chez le poulet [Webster *et al.*, 2002]. Lors de ces infections expérimentales, le volume des inoculats varie de 0,1 à 1 ml [Spackman, *comm. pers.*; Webster *et al.*, 2002]. Le virus H5N1 apparu en Chine en 1996 se distingue des autres virus des sous-types H5 et H7 par sa plus large susceptibilité d'hôte [Swayne, 2007]. La dose minimale permettant l'infection est susceptible de varier également en fonction du statut immunitaire et de l'âge de l'oiseau exposé [Pantin-Jackwood et Swayne, 2007 ; Swayne, 2007]. Dans une démarche d'analyse du risque d'infection, nous avons choisi dans cette étude la valeur de $C_m = 10^{1.1}$ EID50/ml pour toute espèce considérée sensible.

2. CINETIQUE DE LA CONCENTRATION DES VIRUS DANS L'ETANG

L'eau est un milieu particulièrement favorable à la survie des virus Influenza. Cependant, certains paramètres physico-chimiques de l'eau naturelle tels que la température, le pH, la salinité et la concentration en micro-organismes sont susceptibles d'influencer la capacité de survie des virus dans ce milieu [Stallknecht *et al.*, 1990a ; Stallknecht *et al.*, 1990b ; Zarkov, 2006]. Les températures élevées en l'occurrence, ont tendance à diminuer la survie des virus, alors que dans la glace, les virus peuvent conserver leur pouvoir infectieux pendant plusieurs années [Zhang *et al.*, 2006]. Dans l'eau, les virus peuvent être assimilés à des particules colloïdales de charge électrique superficielle négative. Ils ont tendance à s'agréger et à s'adsorber rapidement sur les supports naturels rencontrés dans l'environnement (argile, sable, particules métalliques etc.) [Schwartzbrod, 1991]. La concentration de virus $C(t)$ (i.e., le titre viral par unité de volume) en suspension dans l'étang varie donc au cours du temps selon deux actions : a) – déplétion ou diminution du nombre de particules virales en suspension à la suite de la dégradation et sédimentation, et b) – augmentation de nombre de particules virales à la suite de l'excrétion des canards infectés. Nous supposons que i) – le volume d'excrétât des canards est négligeable de telle sorte que le volume de l'étang demeure inchangé en présence des canards et que ii) – la dilution des virus excrétés dans tout le volume de l'étang est instantanée. Dans ces conditions, soit q la charge virale excrétée par unité de temps par canard, la cinétique de la concentration des virus dans l'étang contenant $I\%$ d'oiseaux infectés dans la phase d'excrétion est régie par l'équation suivante,

$$\frac{dC}{dt} = \frac{qNI}{V} - kC \quad (2)$$

où qNI/V représente la quantité de virus excrétés par unité de temps et de volume par les canards infectés (avec N représentant le nombre total d'individus de la population et I la proportion d'oiseaux infectés) et kC la diminution du nombre de particules virales en suspension suite à la dégradation et la sédimentation avec k représentant la vitesse ou taux de déplétion des virus dans l'eau.

Nous utiliserons dans la suite, $N/V = \sigma/h$, où σ correspond à la densité surfacique effective des oiseaux, i.e. le nombre d'oiseaux par unité de surface, et h la profondeur de l'étang.

2.1.SURVIE DES VIRUS DANS L'EAU DE L'ETANG

En absence de tout apport viral ($qI = 0$), l'équation (2) indique que la concentration des virus décroît exponentiellement au cours du temps avec la constante de vitesse k . A partir des résultats expérimentaux de Stallknecht *et al.* [1990a], nous avons déterminé que k peut être décrite par la relation :

$$k = k_0 e^{a(T-T_0)/T} \tag{3}$$

où T est la température absolue de l'eau en degrés Kelvin et k_0 , en 1/jour, est la vitesse de déplétion des virus à $T_0 = 293K$, soit à 20°C. Pour des virus H6N2 FP en eau naturelle, nous avons déterminé les valeurs suivantes : $a = 25,36$ et $k_0 = 0,415$ par jour [Stallknecht *et al.* 1990b]. En absence de données suffisantes sur la persistance des virus HP dans l'eau, nous avons utilisé pour ces virus la même

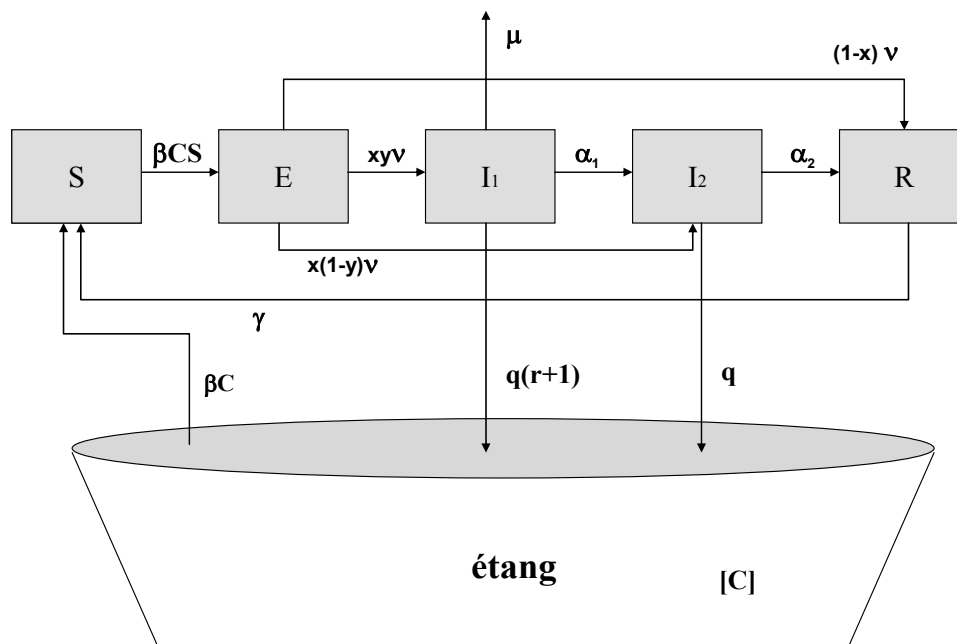
fonction avec les mêmes valeurs que pour les virus FP.

2.2.EXCRETION DES VIRUS DANS L'ETANG ET AMPLIFICATION VIRALE

Nous avons estimé les titres de virus excrétés dans l'eau par les fientes des canards infectés à partir de données bibliographiques en utilisant lorsque cela était nécessaire les extrapolations suivantes : un écouvillon recueilli en moyenne 0,05g de matière [Swayne DE., *comm. pers.*] et un canard est susceptible d'excréter 6,4 g de matière fécale par heure [Webster *et al.*, 1978]. Les titres en virus excrétés dans l'eau par la trachée des canards infectés ont été déterminés à partir des travaux de Sturm-Ramirez *et al.* [2004 ; *comm. pers.*].

L'amplification de la charge virale dans la population de canards dans laquelle circule le virus a été calculée à partir d'un modèle à compartiments à cinq classes tel que représenté sur la figure 2 : S (Susceptibles), E (Exposés dans la phase latente), I_1 (Infectés à double excrétion trachéale et fécale de virus), I_2 (Infectés à excrétion fécale de virus uniquement) et R (Retirés).

Figure 2
Représentation schématique du modèle d'amplification virale



Les conditions initiales utilisées sont : absence de virus dans l'étang ($C(0) = 0$), 99% de la population totale d'oiseaux susceptibles, 1% en phase d'incubation, et zéro dans les autres classes infectées et retirée. Les paramètres du

modèle sont définis dans le tableau 1. Nous considérons dans notre modèle une population constante de canards (pas de naissance ni mortalité naturelle) exposée à un virus vis-à-vis duquel elle est naïve sur le plan immunitaire.

Tableau 1
Paramètres utilisés dans le modèle

Symbole	Définition	Unité	Valeur		Références
			FP	HP ^a	
h	Profondeur effective de l'étang	m	0,7 ^d	0,7 ^d	[Lebreton <i>et al.</i> , 1991]
C_m	Concentration Minimale permettant d'infecter 50% des individus	EID50 ^b /ml	10 ^{1,1}	10 ^{1,1}	
σ	Densité surfacique	1/ha	30 ^d	30 ^d	[Doctrinal <i>et al.</i> , 2006]
k	Constante de déplétion aquatique des virus	1/jour	c	c	
r	Ratio excrétion trachéale / excrétion fécale	–	0	100	[Sturm-Ramirez <i>et al.</i> , 2004]
q	Titre viral d'excrétion fécale / jours	EID50/j	10 ⁹	10 ⁴	FP [Webster <i>et al.</i> , 1978] HP [Sturm-Ramirez <i>et al.</i> , 2005; Swayne D.E <i>comm. pers.</i>]
β	Taux de contamination à partir de l'eau	ml/EID50/j	e	e	
1/v	Durée de la période de latence	jours	1	1	
1/ α_1	Durée de la période infectieuse des I ₁	jours	0	6	[Hulse-Post <i>et al.</i> , 2005 ; Sturm-Ramirez <i>et al.</i> , 2005]
1/ α_2	Durée de la période infectieuse des I ₂	jours	10	5	FP [Hinshaw <i>et al.</i> , 1980a ; Webster <i>et al.</i> , 1978] HP [Hulse-Post <i>et al.</i> , 2005]
x	% de transitions E → (I ₁ + I ₂)	–	0,45	1	FP [van der Goot <i>et al.</i> , 2003] HP [Sturm-Ramirez <i>et al.</i> , 2004, 2005]
y	% de transitions directes E → I ₂	–	1	0	
μ	Taux de Mortalité suite à l'infection	1/jour	0	0,099 _d	[Sturm-Ramirez <i>et al.</i> , 2005]
γ	Taux de renouvellement	1/jour	0,0027 _d	0,0027 _d	
R ₀	Taux de reproduction de base	–	1,8 ^d	1,8 ^d	

a : valeurs déterminées uniquement pour les virus HP également responsables de morbidité et de mortalité chez le canards en infection expérimentale ou en milieu naturel (les virus HP responsables d'une symptomatologie modérée ou absente ne sont pas considérés)

b : Egg Infective Dose 50%: Dose permettant d'infecter 50% d'œufs embryonnés

c : k est une fonction de la température de l'eau comme défini dans l'équation (3)

d : sauf mention contraire

e : fixé par la valeur de R₀

3. APPLICATION A LA DOMBES

Nous avons appliqué notre modèle aux conditions environnementales de la Dombes, notamment aux variations saisonnières de la température moyenne de l'eau des étangs [Goubier-Martin, 1991] et aux densités

surfariques d'Anatidés observables dans la région [Doctrinal *et al.*, 2006 ; Benmergui M., ONCFS *comm. pers.*]. La profondeur moyenne des étangs est estimée à 70 cm [Lebreton *et al.*, 1991].

III - RESULTATS

1. VIRUS FP

1.1. RISQUE D'INFECTION EN FONCTION DE LA DATE D'INTRODUCTION

Pour étudier le risque d'infection tel que nous l'avons défini dans l'équation (1) en fonction de la date d'introduction, nous avons comparé trois dates d'introduction potentiellement significatives sur le plan épidémiologique : i) une entrée en septembre, qui correspond à l'arrivée des premiers migrants, ii) une entrée en décembre, lorsque la température de l'eau atteint les valeurs les plus basses et iii) une entrée en février, correspondant à l'épisode du premier isolement en 2006 du virus H5N1 HP dans la région. Nous avons fixé, pour les virus FP, une valeur du seuil de significativité du risque d'infection à 10^{-2} , soit 1 chance sur 100 d'être infecté. Comme

paramètre de jauge, nous avons utilisé le taux de reproduction de base R_0 qui représente le nombre de cas secondaires générés par un seul individu infecté. Pour une introduction en septembre avec $R_0 = 1,8$, la prévalence de l'infection est de 10% de la population d'Anatidés sauvages. Le risque d'infection par un virus FP en fonction de la date d'introduction est représenté dans la figure 3.

Soit R_{max} le risque d'infection maximal, les résultats obtenus pour un R_0 égal à 1,8 aux trois dates d'introduction considérées sont résumés dans le tableau 2 ci-dessous. Nous trouvons que le risque d'infection via l'eau pour des virus FP est élevé, modéré et faible respectivement pour une introduction en septembre, décembre et février.

Figure 3

Risque d'infection d'une espèce sensible par un virus Influenza FP en fonction de la date d'introduction ($R_0 = 1,8; \gamma = 0$)

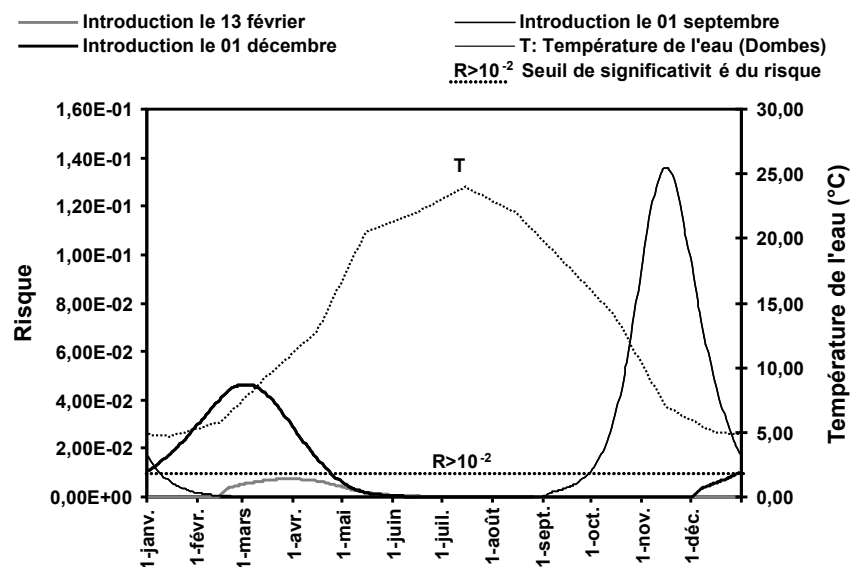


Tableau 2

Valeur du R_{\max} et durée de persistance du risque d'infection supérieur à un seuil pour $R_0 = 1,8$

$R_0 = 1,8$	R_{\max}	$R > 10^{-3}$	$R > 10^{-2}$	$R > 10^{-1}$
Février	0,0074	101 jours	0 jour	0 jour
Septembre	0,136	157 jours	101 jours	28 jours
Décembre	0,0465	171 jours	114 jours	0 jour

Pour un R_0 plus faible, égal à 0,5, la prévalence de l'infection dans la population des réservoirs s'élève à 2% avec des valeurs de risques d'infection comme résumé dans le tableau 3.

On remarque que, pour une prévalence maximale de 2% dans la population d'oiseaux sauvages, le risque d'infection maximal est toujours plus élevé en septembre et reste supérieur à 1% pendant 104 jours. Le risque diminue avec la prévalence de l'infection (donc

avec R_0) mais ne devient pas pour autant négligeable. On peut conclure que dans une région comme la Dombes le risque d'infection via l'eau, dans un écosystème tel que nous l'avons défini et dans lequel sont introduits des individus porteurs de virus FP, est plus élevé pour une introduction à l'automne ou au début de l'hiver. Il apparaît également que la prévalence de l'infection dans la population d'oiseaux n'est pas à elle seule un bon indicateur du risque d'infection.

Tableau 3

Valeur du R_{\max} et durée de persistance du risque d'infection supérieur à un seuil pour $R_0 = 0,5$

$R_0 = 0,5$	R_{\max}	$R > 10^{-3}$	$R > 10^{-2}$	$R > 10^{-1}$
Février	0,0037	40 jours	0 jour	0 jour
Septembre	0,033	263 jours	104 jours	0 jour
Décembre	0,0041	70 jours	0 jour	0 jour

1.2. EFFET DU RENOUVELLEMENT DE LA POPULATION SENSIBLE

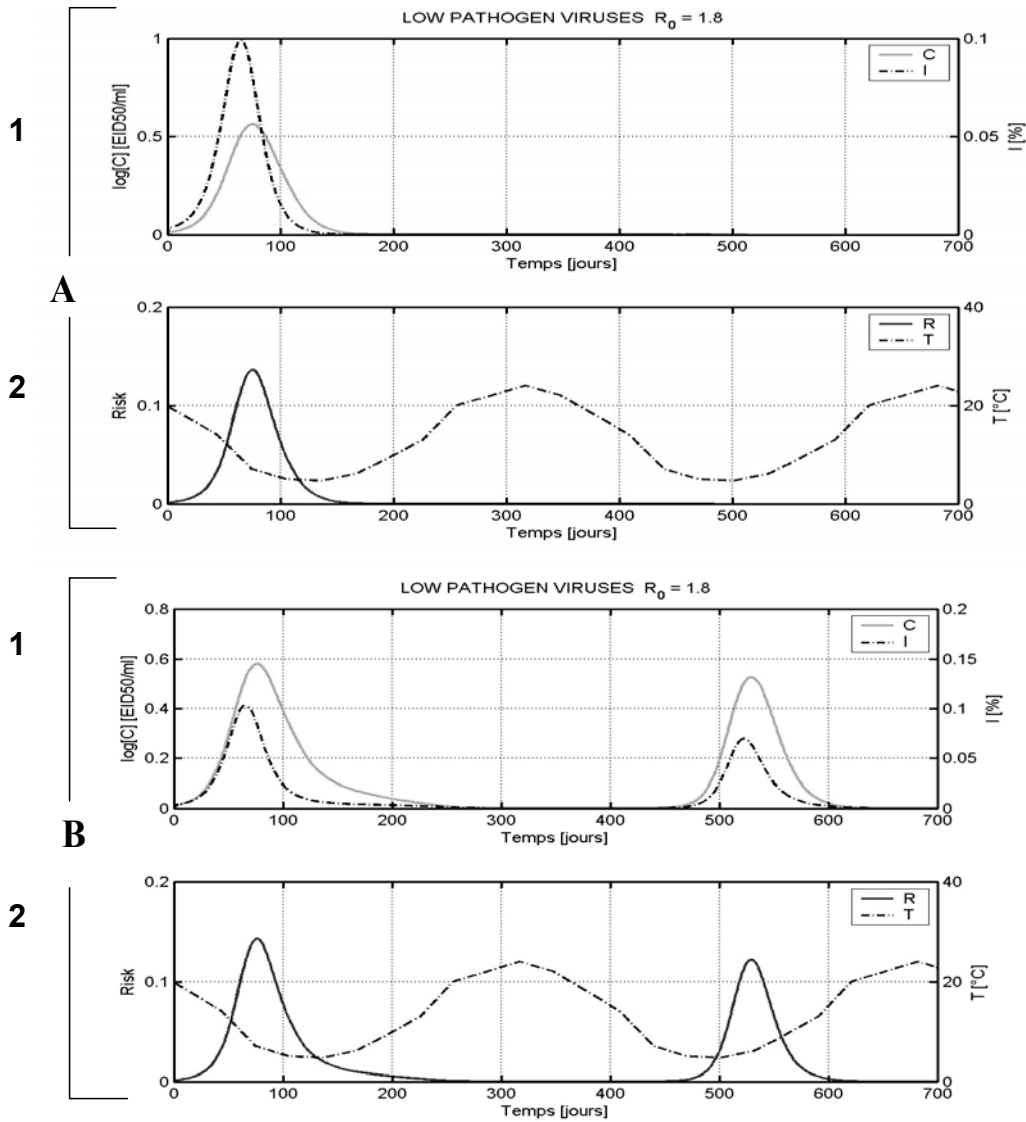
La Dombes, qui compte plus de 1 200 étangs représentant une surface en eau comprise entre 11 000 et 12 000 ha, est l'une des principales zones humides rassemblant des oiseaux aquatiques en France. La population d'oiseaux sauvages résidente est largement dominée par les Anatidés (canards, cygnes) et plus particulièrement par le canard colvert (*Anas platyrhynchos*). Toutefois, depuis la fin des années 70, la population de canards sauvages autochtone est en déclin. Les premières éclosions de poussins de colverts ont lieu fin février début mars. Ces naissances n'ont cependant que peu de répercussions sur la densité d'oiseaux résidents, tout au mieux

en assurent-elles le renouvellement [Lebreton *et al.*, 1991]. C'est en septembre, avec l'arrivée des premiers migrateurs que l'on assiste à une augmentation significative de la population d'Anatidés. Un pic de densité, pouvant atteindre jusqu'à 300 Anatidés/ha sur certains étangs, est observé en février – mars. Il correspond à l'arrivée massive de milouins migrateurs dans la région [Lebreton *et al.*, 1991 ; Benmergui, *comm. pers.*]. A partir de ces éléments, nous avons simulé l'effet du renouvellement (γ) annuel de la population sensible, renouvellement débutant en septembre avec l'arrivée des premiers migrateurs. Les résultats de cette simulation sont montrés dans la figure 4.

Figure 4

Virus FP. A: $\gamma = 0$ B: $\gamma = 0,00274/\text{jour}$.

- 1: concentration de virus dans l'eau (trait plein gris) et prévalence de l'infection (pointillés).
2: risque d'infection (trait plein noir) et température de l'eau (pointillés).



Les simulations montrent, sur une période de deux ans, que l'infection par des virus FP peut persister à bas bruit dans l'écosystème durant l'intersaison et reprendre de l'intensité en hiver lorsque la température de l'eau chute à nouveau. La persistance des virus FP d'une année sur l'autre dans une région comme la Dombes est donc tout à fait possible dans des conditions de densité d'oiseaux et de renouvellement de la population sensible.

2. VIRUS HP

2.1. RISQUE D'INFECTION EN FONCTION DE LA DATE D'INTRODUCTION

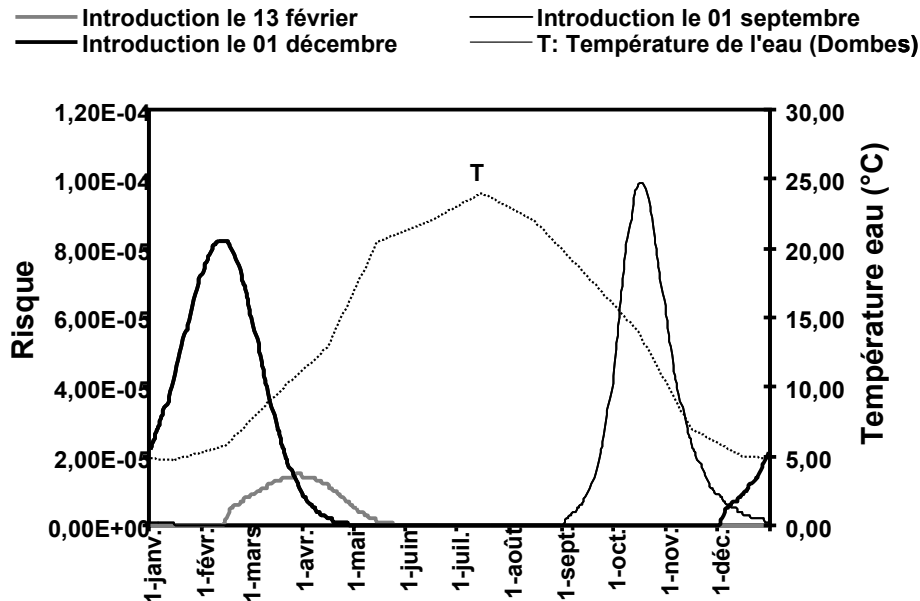
Comme précédemment, nous avons simulé le risque d'infection par des virus HP pour les trois dates d'introduction considérées avec $R_0 = 1,8$. Nous avons fixé, pour les virus HP, une valeur du seuil de significativité du risque d'infection à 10^{-3} , soit 1 chance sur 1 000

d'être infecté. La figure 5 montre que le risque d'infection par des virus HP est toujours inférieur à 10^{-4} pour toutes les dates d'introduction. Le risque maximal R_{\max} est de

$1,5 \cdot 10^{-5}$; $9,9 \cdot 10^{-5}$ et $8,2 \cdot 10^{-5}$, respectivement, pour une introduction en février, septembre et décembre.

Figure 5

Risque d'infection d'une espèce sensible par un virus Influenza HP en fonction de la date d'introduction ($R_0 = 1,8$; $\gamma = 0$; $\mu = 0,099/\text{jour}$)



Des études récentes ont montré un portage asymptomatique possible des virus Influenza HP par des Anatidés sauvages [Chen *et al.*, 2006b ; Hulse-Post *et al.*, 2005 ; Lvov *et al.*, 2006]. Cela se traduit dans nos simulations par une mortalité nulle des oiseaux sauvages infectés par les virus HP. Nous avons donc refait des simulations dans ce contexte avec les trois dates d'introduction et obtenu un R_{\max} de $1,6 \cdot 10^{-5}$, $1,65 \cdot 10^{-4}$ et $1,02 \cdot 10^{-4}$, respectivement, pour une introduction en février, septembre et décembre. L'absence de mortalité ne semble pas avoir d'impact sur le risque d'infection via l'eau des virus HP dans les conditions de nos simulations. De même, nous n'avons trouvé aucun effet notable du renouvellement de la population sensible tant sur l'intensité du risque d'infection que sur la

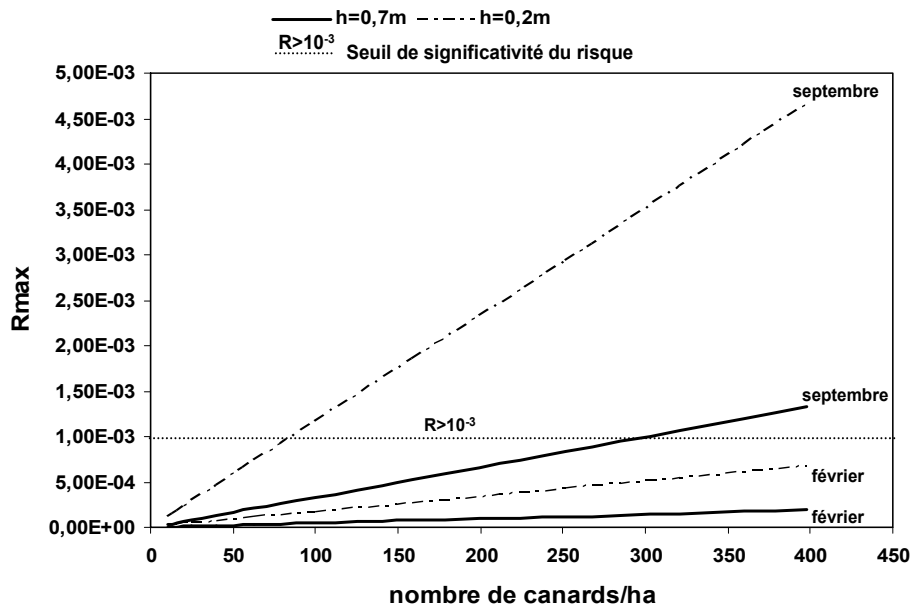
persistance des virus dans l'écosystème. On peut alors conclure à un risque faible d'infection par des virus HP via l'eau des étangs dans une région comme la Dombes.

2.2. RISQUE D'INFECTION EN FONCTION DE LA DENSITE D'ANATIDES ET DE LA PROFONDEUR DE L'ETANG

Le risque d'infection via l'eau dans cette région étant faible pour des virus HP, nous cherchons à déterminer dans quelles conditions ce risque pourrait devenir significatif en étudiant notamment les effets combinés de la densité d'oiseaux sauvages et de la profondeur des étangs pour deux dates d'introduction (février et septembre) (cf. figure 6).

Figure 6

Risque d'infection maximal d'une espèce sensible par des virus Influenza HP pour des introductions en février et en septembre en fonction de la densité d'oiseaux sauvages pour deux profondeurs, $h = 0,2\text{m}$ et $0,7\text{m}$ ($R_0 = 1,8$; $\gamma = 0,00274/\text{jour}$; $\mu = 0,099/\text{jour}$)



On constate de manière générale que le risque d'infection via l'eau augmente avec la densité volumique d'excréteurs, i.e. le nombre total d'oiseaux par unité de volume d'eau de l'étang. Autrement dit, le risque augmente avec la densité surfacique des oiseaux et inversement avec la profondeur de l'étang. Dans les

conditions de nos simulations, nous trouvons que, le risque d'infection via l'eau des étangs reste faible pour une introduction de virus HP en février, même en présence de forte densité de canards sur des étangs de faible profondeur, tandis que le risque devient significatif pour une introduction en septembre.

IV - DISCUSSION

En utilisant le modèle défini dans cette étude, nous évaluons que le risque d'infection des oiseaux à partir d'étangs contaminés par des virus Influenza FP est plus élevé pour une introduction en automne ou au début de l'hiver et qu'il reste significatif pour une introduction en septembre même pour une prévalence faible (donc un R_0 faible) de l'infection dans la population sauvage. L'automne correspond dans la Dombes à l'arrivée des premiers migrateurs, arrivée susceptible de faire augmenter, sur certains étangs, la densité d'Anatidés au delà de la valeur moyenne de 30 anatidés par hectare que nous avons utilisée. Des écouvillonnages réalisés à cette période de l'année dans la région en 2005 sur les canards sauvages avaient donné une prévalence moyenne de l'infection par virus

influenza de 6,5% chez les canards sauvages toutes espèces confondues et de 7,5% chez les colverts en particulier [Durand, 2006]. Dans cette même étude, des canards sentinelles maintenus captifs sur l'eau des étangs ont été contaminés par des virus Influenza A et n'ont pu l'être, vraisemblablement, que par l'environnement [Durand, 2006]. Les conditions climatiques et la prévalence estimée sur le terrain semblent donc, en Dombes, à l'automne, être remplies pour conclure à un risque probable d'infection des oiseaux par des virus Influenza A FP. En appliquant notre modèle à une période de deux ans pour une introduction en septembre et en tenant compte d'un renouvellement annuel de la population sensible, la pérennisation de l'infection d'une année sur l'autre dans notre écosystème

semble possible. Ces résultats confortent la notion désormais reconnue de réservoir sauvage de virus Influenza FP joué par les oiseaux aquatiques de l'ordre des Ansériformes et plus particulièrement ceux appartenant à la famille des Anatidés [Olsen *et al.*, 2006 ; Webster *et al.*, 1992]. Toutefois, nos simulations sont basées sur l'hypothèse d'une population constante de 30 oiseaux par hectare. Si une densité surfacique de 30 Anatidés par hectare n'est pas chose rare en hiver dans la Dombes, cette valeur semble surestimée pour la période estivale (moyenne de quatre Anatidés par hectare sur les sites étudiés par Doctrinal *et al.* [2006]). Il serait donc souhaitable de tenir compte des variations saisonnières de densité d'Anatidés observées dans la région. La réalisation de titrages de virus dans des prélèvements d'eau non concentrée à plusieurs périodes de l'année sur quelques sites clés de La Dombes permettrait également de confirmer nos résultats. Dans nos simulations, nous avons considéré une population immunitairement naïve. S'il est peu probable que les oiseaux arrivant en septembre en Dombes n'aient pas déjà été en contact avec des virus Influenza sur leurs sites de reproduction ou au cours de leur migration, il semblerait que l'immunité acquise par les oiseaux à la suite d'une primo-infection par des virus Influenza soit faible et transitoire et ne soit pas suffisante pour assurer une protection efficace face à des infections hétérologues [Kida *et al.*, 1980 ; Olsen *et al.*, 2006]. Il est toutefois possible que l'exposition antérieure à des souches FP confère aux oiseaux sauvages une immunité partielle contre les virus H5N1 HP [Olsen *et al.*, 2006]. Les différentes études réalisées en faune sauvage montrent également que, sur un même site, sont souvent isolés plusieurs sous-types différents de virus Influenza FP. L'état actuel des connaissances ne permet pas encore d'intégrer simultanément, dans un modèle de ce type, le facteur immunité, le rythme des évolutions génétiques des virus et la variation probable des sous-types représentés sur chaque site étudié.

Le risque d'infection via l'eau comme nous l'avons évalué pour les virus HP reste faible sauf en présence de fortes densités d'oiseaux sur de faibles profondeurs d'étangs. La différence notable entre les résultats que nous obtenons pour les virus FP et HP est liée à deux facteurs principaux : i) l'estimation des titres viraux rejetés dans l'eau par les souches FP et HP, ii) l'hypothèse initiale d'une contamination exclusive des oiseaux à partir de l'eau des étangs contaminés.

Nous avons estimé les titres viraux rejetés dans l'eau par la trachée et les fientes des oiseaux infectés à partir de la bibliographie. Si pour les virus FP, on peut s'attendre, du fait de l'association ancienne et harmonieuse entre les virus et leur réservoir sauvage [Webster *et al.*, 2006] à une certaine homogénéité et à une stabilité dans les modes, voies et quantités d'excrétion, la réalisation d'une revue exhaustive de la bibliographie montre que, pour les souches HP et plus particulièrement pour le virus H5N1 HP, il existe une grande variabilité de ces paramètres rendant la généralisation difficile. Notamment, les récentes évolutions du virus H5N1 HP vers une diminution du pouvoir pathogène pour les Anatidés sauvages [Chen *et al.*, 2006b ; Hulse-Post *et al.*, 2005 ; Lvov *et al.*, 2006] et une augmentation des durées d'excrétion de virus par les oiseaux infectés [Hulse-Post *et al.*, 2005] semblent indiquer une réadaptation de ce virus au réservoir sauvage [Hulse-Post *et al.*, 2005 ; Swayne, 2007] et laissent imaginer la possibilité d'un retour à une excrétion fécale majoritaire et abondante de virus comme pour les souches FP. La prise de conscience de cette grande variabilité et de l'évolution probable des modalités de transmission doit conduire à une réévaluation régulière des paramètres de simulation pour les souches HP.

Notre modèle ne tient compte que de la contamination des oiseaux sauvages via l'eau des étangs. Si pour les virus FP, ce mode de contamination est largement documenté, pour les virus HP l'éventualité d'une contamination des oiseaux par contact direct avec les sécrétions nasales et oro-trachéales ou par aérosol est actuellement envisagée. Si un tel mode de contamination s'avérait particulièrement efficace, la prévalence de l'infection dans la population sauvage pourrait être augmentée de manière non négligeable, augmentant de manière simultanée la contamination de l'eau par les excréments fécaux et trachéales mais également le risque de contamination directe des autres oiseaux sensibles par contact ou par aérosol. La réalisation d'études complémentaires, chez les canards sauvages, dans différentes conditions de détention (avec ou sans accès à un plan d'eau ; avec ou sans contact direct) et la multiplication des écouvillonnages trachéaux et fécaux sur les sites où est isolé le virus H5N1 HP permettraient de mieux caractériser les modalités de transmission de ces virus et d'adapter notre modèle aux différentes modalités envisagées.

La Dombes est caractérisée par un climat assez rude. Certains hivers voient, dès novembre parfois, la prise durable des étangs par le gel [Lebreton *et al.*, 1991]. Le gel partiel ou total des étangs peut avoir des répercussions sur nos résultats à deux niveaux essentiels: i) répercussions sur la densité d'Anatidés ; en cas de gel partiel des étangs, les oiseaux auront tendance à se rassembler sur les zones restant en eau, ii) impact sur la persistance des virus dans le milieu ; en effet, les virus dont ceux de l'Influenza sont fortement préservés dans la glace [Zhang *et al.*, 2006]. Dans ces conditions hivernales particulières mais non exceptionnelles pour la région, le risque d'infection par des virus FP comme HP pourrait être significativement augmenté.

Nous insistons enfin sur le risque que peuvent représenter certaines pratiques d'élevage des volailles observées en Dombes, notamment sur l'existence de parcours extérieurs équipés de petits plans d'eau non protégés susceptibles d'attirer les migrateurs. En cas de densités élevées d'oiseaux sauvages sur ces plans d'eau et en intégrant la possibilité de transmission directe des virus entre les oiseaux, le risque d'infection pour les volailles par ce biais pourrait, au regard de nos résultats, être significatif.

Nous avons développé dans cette étude une méthode d'estimation du risque d'infection des

oiseaux à partir d'étangs contaminés par des virus Influenza FP et HP. Même si les connaissances sur ces virus, notamment pour les souches HP, sont encore incomplètes et évoluent au rythme de leurs remaniements génétiques, cette méthode pourrait trouver dans la pratique de nombreuses applications. Elle pourrait permettre notamment i) de classer les étangs, en Dombes et sur d'autres sites de rassemblements de migrateurs, en fonction du risque qu'ils représentent à partir de mesures rapides de terrain (surface en eau, température de l'eau, profondeur moyenne et données de comptage d'Anatidés sauvages) ii) d'évaluer les titres viraux susceptibles d'être mesurés dans une eau contaminée et d'estimer le risque que représente ce milieu pour d'autres espèces animales dont l'homme (estimation du risque lié à la baignade et à certaines activités professionnelles comme la pisciculture) iii) enfin, adapté aux conditions environnementales de territoires particuliers comme les sites nordiques de reproduction des Anatidés sauvages ou à celles des rizières fréquentées simultanément par des espèces sauvages et domestiques en Asie, notre modèle pourrait amener des éléments de réponse aux nombreuses questions relatives aux possibilités d'entretien et de pérennisation des virus H5N1 HP dans ces régions et aux rôles relatifs joués par les oiseaux sauvages et domestiques dans ce processus.

V - CONCLUSION

Nous proposons dans cette étude une méthode d'estimation du risque d'infection d'une espèce d'oiseau sensible par l'eau d'un étang contaminé par des virus influenza FP et HP. Lors d'application aux conditions environnementales de la région de La Dombes, nous avons montré que, dans un écosystème tel que nous l'avons défini, la contamination des oiseaux sauvages par des virus FP via l'eau des étangs est efficace et que l'entretien et la persistance des virus FP dans cette région est très probable sous certaines conditions de densité et de renouvellement de populations sensibles. A partir des paramètres adaptés aux caractéristiques des virus HP, nous estimons de la même manière que le risque d'infection via l'eau d'un étang contaminé est faible pour les virus HP et que la probabilité de

persistance des virus dans l'écosystème est très faible sauf conditions exceptionnelles. Certaines situations, comme de grands rassemblements d'oiseaux sauvages et une fréquentation simultanée de petits plans d'eau par des oiseaux sauvages et des volailles, doivent toutefois faire l'objet d'une attention particulière. Les résultats obtenus pour les virus influenza HP doivent cependant être considérés comme des résultats préliminaires du fait de l'évolution régulière et imprévisible du virus H5N1 HP. Dans un contexte, comme cela a été le cas en 2006 dans la région étudiée, où l'on serait amené à évaluer dans l'urgence le risque de dangerosité représenté par une zone humide contaminée par un virus influenza HP, le modèle et la méthode développés dans cette étude pourraient s'avérer utiles dans l'aide à la prise de décision.

BIBLIOGRAPHIE

- AFSSA - Saisines n° 2006-SA-0163 et 0167 (28/06/2006) - Avis de l'Agence Française de Sécurité Sanitaire des Aliments sur l'évaluation des facteurs de risque expliquant la persistance de l'infection par le virus influenza aviaire H5N1 HP dans la région de la Dombes et le risque éventuel de dissémination du virus depuis cette région et sur l'évaluation des mesures applicables aux élevages dans le cadre de la dérogation au confinement des élevages d'oiseaux et aux rassemblements, ainsi que le protocole de surveillance renforcée de la faune sauvage dans la région de la Dombes, Saisines n° 2006-SA-0163 et 0167, 28/06/2006, <http://www.afssa.fr/Ftp/Afssa/35862-35863.pdf>
- Chen H., Li Y., Li Z., Shi J., Shinya K., Deng G. *et al.* - Properties and Dissemination of H5N1 Viruses Isolated during an Influenza Outbreak in Migratory Waterfowl in Western China. *J. Virol.*, 2006a, **80**(12), 5976-5983.
- Chen H., Smith G.J.D., Li K.S., Wang J., Fan X.H., Rayner J.M. *et al.* - Establishment of multiple sublineages of H5N1 influenza virus in Asia: Implications for pandemic control. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, 2006b, **103**(8), 2845-2850.
- De Jong J.C., Hien T.T. - Avian influenza A (H5N1). *J. Clin. Virol.*, 2006, **35**, 2-13.
- Doctrinal D., Artois M., Sabatier P. et Bicout D.J. - Modélisation du risque d'exposition de la volaille aux virus influenza aviaire d'origine sauvage. *Epidémiol. et santé anim.*, 2006, **50**, 71-81.
- Durand I.M. - Contribution à l'étude de l'Influenza aviaire en Dombes. Epidémiologie chez les Anatidés sauvages. Thèse pour l'obtention du grade de Docteur-Vétérinaire. Lyon, ENVL - Université Claude-Bernard - Lyon I, 2006.
- Gilbert M., Xiao X., Domenech J., Lubroth J., Martin V., Slingenbergh J. - Anatidae migration in the western Palearctic and spread of highly pathogenic avian influenza H5N1 virus. *Emerg. Infect. Dis.*, 2006, **12**(11), 1650-6.
- Goubier-Martin M. - Climat et aquaculture, application aux étangs de la Dombes. Thèse de Doctorat de Géographie. Lyon, Université Jean Moulin - Lyon III, 1991.
- Hinshaw V.S., Bean W.J., Webster R.G., Sriram G. - Genetic reassortment of influenza A viruses in the intestinal tract of ducks. *Virology*, 1980a, **102**(2), 412-9.
- Hinshaw V.S., Webster R.G., Turner B. - The perpetuation of orthomyxoviruses and paramyxoviruses in Canadian waterfowl. *Can. J. Microbiol.* 1980b, **26**(5), 622-9.
- Hulse-Post D.J., Sturm-Ramirez K.M., Humberd J., Seiler P., Govorkova E.A., Krauss S. *et al.* - Role of domestic ducks in the propagation and biological evolution of highly pathogenic H5N1 influenza viruses in Asia. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, 2005, **102**(30), 10682-7.
- Ito T., Okazaki K., Kawaoka Y., Takada A., Webster R.G., Kida H. - Perpetuation of influenza A viruses in Alaskan waterfowl reservoirs. *Arch. Virol.*, 1995, **140**(7), 1163-72.
- Kida H., Yanagawa R., Matsuoka Y. - Duck influenza lacking evidence of disease signs and immune response. *Infect. Immun.*, 1980, **30**(2), 547-53.
- Lebreton Ph., Bernard A., Dupupet M. - Guide du naturaliste en Dombes, 430 pages, Ed. Delachaux et Niestlé, Paris, 1991.
- Lvov D.K., Shchelkanov M.Y., Deryabin P.G., Grebennikova T.V., Prilipov A.G., Nepoklonov E.A. *et al.* - Isolation of influenza A/H5N1 virus strains from poultry and wild birds in West Siberia during epizooty (July 2005) and their depositing to the state collection of viruses (August 8, 2005) [Russian]. *Vopr. Virusol.*, 2006, **1**, 11-4.
- Olsen B., Munster V.J., Wallensten A., Waldenström J., Osterhaus A.D.M.E., Fouchier R.A.M. - Global patterns of influenza a virus in wild birds. *Science*, 2006, **312**(5772): 384-8.
- Pantin-Jackwood M.J., Swayne D.E. - Pathobiology of Asian highly pathogenic avian influenza H5N1 virus infections in ducks. *Avian Dis.*, 2007, **51**(1 Suppl), 250-9.
- Schwartzbrod Louis (Coord.), préf. Prost A., Gerba C.P. - Virologie des milieux hydriques, 303 pages, Ed. Tec. et Doc. Lavoisier, Paris, 1991.

- Spackman E., McCracken K.G., Winker K., Swayne D.E. - H7N3 avian influenza virus found in a South American wild duck is related to the Chilean 2002 poultry outbreak, contains genes from equine and North American wild bird lineages, and is adapted to domestic turkeys. *J. Virol.*, 2006, **80**(15), 7760-4.
- Stallknecht D.E., Shane S.M., Kearney M.T., Zwank P.J. - Persistence of avian influenza viruses in water. *Avian Dis.*, 1990a, **34**(2), 406-11.
- Stallknecht D.E., Kearney M.T., Shane S.M., Zwank P.J. - Effects of pH, temperature, and salinity on persistence of avian influenza viruses in water. *Avian Dis.*, 1990b, **34**(2), 412-8.
- Sturm-Ramirez K.M., Ellis T., Bousfield B., Bissett L., Dyrting K., Rehg J.E. *et al.* - Reemerging H5N1 influenza viruses in Hong Kong in 2002 are highly pathogenic to ducks. *J. Virol.*, 2004, **78**(9), 4892-901.
- Sturm-Ramirez K.M., Hulse-Post D.J., Govorkova E.A., Humberd J., Seiler P., Puthavathana P. *et al.* - Are Ducks Contributing to the Endemicity of Highly Pathogenic H5N1 Influenza Virus in Asia? *J. Virol.*, 2005, **79**(17), 11269-11279.
- Swayne D.E. - Understanding the complex pathobiology of high pathogenicity avian influenza viruses in birds. *Avian Dis.*, 2007 Mar, **51**(1 Suppl), 242-9.
- Van der Goot J.A., de Jong M.C., Koch G., Van Boven M. - Comparison of the transmission characteristics of low and high pathogenicity avian influenza A virus (H5N2). *Epidemiol. Infect.*, 2003, **131**(2), 1003-13.
- Webster R.G., Bean W.J., Gorman O.T., Chambers T.M., Kawaoka Y. - Evolution and ecology of influenza A viruses. *Microbiol. Rev.*, 1992, **56**(1), 152-79.
- Webster R.G., Guan Y., Peiris M., Walker D., Krauss S., Zhou N.N. *et al.* - Characterization of H5N1 influenza viruses that continue to circulate in geese in southeastern China. *J. Virol.*, 2002, **76**(1), 118-26.
- Webster R. G., Peiris M., Chen H., Guan Y. - H5N1 outbreaks and enzootic influenza. *Emerg. Infect. Dis.*, 2006, **12**(1), 3-8.
- Webster R.G., Yakhno M., Hinshaw V.S., Bean W.J., Murti K.G. - Intestinal influenza: replication and characterization of influenza viruses in ducks. *Virology*, 1978, **84**(2), 268-78.
- Zarkov S.I. - Survival of avian influenza viruses in filtered and natural surface water of different physical and chemical parameters. *Rev. Méd. Vét.*, 2006, **157**(10), 471-476.
- Zhang G., Shoham D., Gilichinsky D., Davydov S., Castello J.D., Rogers S.O. - Evidence of influenza A virus RNA in siberian lake ice. *J. Virol.*, 2006, **80**(24), 12229-35.

