



HAL
open science

Surveillance et évaluation du risque de transmission des maladies vectorielles émergentes : apport de la capacité vectorielle Exemple de la fièvre catarrhale du mouton

Fabienne Biteau-Coroller

► To cite this version:

Fabienne Biteau-Coroller. Surveillance et évaluation du risque de transmission des maladies vectorielles émergentes : apport de la capacité vectorielle Exemple de la fièvre catarrhale du mouton. Autre [q-bio.OT]. Université Montpellier II - Sciences et Techniques du Languedoc, 2006. Français. NNT : . tel-00137450v2

HAL Id: tel-00137450

<https://theses.hal.science/tel-00137450v2>

Submitted on 1 Jun 2007

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.

Année 2006

**UNIVERSITE MONTPELLIER II
SCIENCES ET TECHNIQUES DU LANGUEDOC**

THESE

pour obtenir le grade de

DOCTEUR DE L'UNIVERSITE MONTPELLIER II

Discipline : Épidémiologie

Formation Doctorale : Biologie et Santé

Ecole Doctorale : Sciences chimiques et biologiques

présentée et soutenue publiquement

par

***Fabienne Coroller
Épouse Biteau***

le 12 décembre 2006

**Surveillance et évaluation du risque de transmission
des maladies vectorielles émergentes : apport de la capacité vectorielle
*Exemple de la fièvre catarrhale du mouton***

JURY

M. Emmanuel Camus (directeur de Thèse),	Directeur de département, CIRAD, Montpellier
M. Jean-Claude Delécolle	Ingénieur de recherche, Université Louis Pasteur, Strasbourg
M. Christian Ducrot (rapporteur),	Directeur de recherche, INRA, Theix-Clermont-ferrand
M. Bernard Godelle	Professeur, Université de Montpellier II
M. Bernard Mondet (rapporteur)	Chargé de recherche, Institut français de Pondichéry (Inde)
M. François Roger,	Chef d'unité de recherche, CIRAD, Montpellier

RESUMÉ en français

Les maladies animales vectorielles sont devenues depuis 2000 une préoccupation majeure pour la France et certains pays de l'Union Européenne du fait de l'apparition, la persistance et l'expansion de virus pathogènes en provenance de régions du Sud. La fièvre catarrhale du mouton (FCM) est un bon exemple de la progression en zone tempérée d'arboviroses tropicales sous l'effet, semble-t-il, de l'extension de son vecteur principal sur le littoral méditerranéen européen (Corse, îles Baléares, Catalogne, Italie, Sardaigne, Sicile, Var).

L'objectif de cette thèse est à la fois d'étudier les outils méthodologiques et diagnostiques disponibles pour évaluer les risques liés à la FCM et d'en développer d'autres afin d'améliorer la surveillance de cette maladie en France.

Une première étude a constitué en l'évaluation des performances épidémiologiques du test sérologique (ELISA de compétition) utilisé pour le diagnostic et la surveillance de la FCM en Corse et sur le continent français. Une analyse du plan de surveillance de la circulation virale dans le contexte particulier corse a également été conduite. Elle a permis notamment d'identifier les points critiques de ce dispositif.

Suite à la détection de la présence de *Culicoides imicola*, vecteur biologique impliqué dans la circulation du virus de la FCM (BTV) sur le pourtour méditerranéen, dans la vallée de l'Argens (département du Var), le besoin de développer de nouveaux outils pour surveiller et évaluer le risque de transmission de ce virus dans des zones d'implantation récente est devenu nécessaire. Une étude entomologique a ainsi été mise en place dans la vallée de l'Argens afin i) de confirmer l'installation de *C. imicola* dans cette zone, ii) de suivre la dynamique de cette population sur une saison d'activité, iii) de collecter des données entomologiques pour estimer le potentiel de transmission de cette population de vecteurs. Un modèle stochastique de capacité vectorielle regroupant des données spécifiques des populations locales de *C. imicola* et des données publiées dans la littérature est ainsi proposé. Une étude de la compétence de *C. imicola* vis-à-vis du sérotype 9 de la FCM a, de plus, été initiée.

La discussion générale s'attarde sur les points qui semblent importants pour améliorer le dispositif de surveillance et avancer vers la mise en place d'un système d'alerte précoce. Elle ouvre également de nouvelles perspectives pour prolonger l'approche intégrative proposée en incluant notamment des travaux de géomatique initiés sur *C. imicola*. Elle pose, de plus, la question d'un passage à une échelle d'étude plus large. Les questions de recherche que pose l'épizootie récente de FCM dans le Nord de l'Europe sont finalement examinées.

TITRE en anglais

Surveillance and risk analysis of vector-borne diseases transmission: vectorial capacity benefit - example of the bluetongue disease

RESUMÉ en anglais

Since 2000, vector-borne diseases have become a major threat in France and some European countries because of the emerging, the spreading and the persistence of pathogen virus coming from tropical and sub-tropical areas. Bluetongue is a good example of the progress of tropical arboviroses towards temperate zones under the effect of the expansion of its main vector in the European Mediterranean coastal (Corsica, Balearics Islands, Catalonia, Italy, Sardinia, Sicily, and Var).

The objective of this thesis is to both study methodological and diagnostic tools available for bluetongue risk evaluation and develop others in order to improve the surveillance of this disease in France.

Further the detection of *C. imicola*, the main vector involved in the viral circulation of bluetongue in Mediterranean basin, in the Argens Valley, the development of new tools for bluetongue surveillance and risk evaluation in areas where vectors have recently been established, has become absolutely necessary. An entomological study was carried out in the Argens Valley in order to i) confirm the establishment of *C. imicola* in this area, ii) monitor the dynamics of the vector population during the activity season, iii) collect entomological data to estimate the transmission potential of this established population. A stochastic model of vectorial capacity integrating field data about local *C. imicola* populations and data from literature is proposed. A study on the competence of *C. imicola* against the serotype 9 was also initiated.

The general discussion dwells on the points that seem to be essential to improve the surveillance system and progress towards the setting up of an early warning system. It also opens new perspectives to continue the integrative approach by including remote sensing results. Moreover, it poses the problem of the transition from a fine scale to a larger one. The research questions that raises the recent bluetongue epizootic in the northern Europe are, in the end, reviewed.

DISCIPLINE

Épidémiologie

MOTS-CLES

Capacité vectorielle, *Culicoides*, *Culicoides imicola*, fièvre catarrhale du mouton, surveillance, modèle stochastique, évaluation du risque, France

INTITULE ET ADRESSE DE L'U.F.R. OU DU LABORATOIRE:

CIRAD

Unité d'épidémiologie et d'écologie des maladies animales (UR16)

TA 30 / E

Campus international de Baillarguet

34 398 Montpellier cedex 5

*A Jérôme
Ton souvenir est à jamais gravé dans nos coeurs*

A mes grands-mères, Christiane et Denise

A mon arrière-grand-mère, Lucie

Remerciements

Comme toute entreprise, il y a eu un commencement. D'une envie naissante est apparue une possibilité puis une opportunité et enfin un projet de recherche qui a été accepté. Si la volonté est essentielle pour mener à bien tout projet, il est parfois facilité par des rencontres bienheureuses. Je tiens à remercier les personnes qui ont contribué à ce que cette idée de thèse devienne réalité : Joseph Domenech, Directeur du Cirad (2002), qui m'a donné l'opportunité de présenter ce projet de thèse ; Jean-François Michel qui a facilité mes prises de contact avec les chercheurs du Cirad, Stéphane de la Rocque et Pascal Hendrickx qui m'ont aidé pour le montage de ce projet de thèse. Et également mon chéri qui a laissé quelques temps son travail pour me suivre...

Ce projet n'aura également pas eu lieu si la commission des Formations Complémentaires Par la Recherche (Ministère de l'Agriculture et de la Pêche) n'avait pas manifesté son intérêt vis-à-vis de celui-ci en acceptant mon affectation au Cirad pour quatre ans, afin de réaliser un DEA et une thèse sur la thématique de la surveillance des maladies animales vectorielles émergentes en France.

Citer toutes les personnes ayant participé, de près ou de loin, à l'aboutissement de ce travail n'est pas chose facile et il est bien arbitraire d'essayer de classer le poids de ces contributions qui ont toutes été nécessaires. Je tiens donc à adresser mes sincères remerciements à l'ensemble des personnes que j'ai eu le plaisir de rencontrer et/ou côtoyer durant ces quatre années de recherche au Cirad.

Je remercie particulièrement, François Roger, qui m'a encadré depuis mon arrivée au Cirad fin 2002. Merci de m'avoir fait confiance, de m'avoir guidé et conseillé, tout en me laissant une grande liberté et en me faisant l'honneur de me déléguer plusieurs responsabilités dont j'espère avoir été à la hauteur. Merci pour ta disponibilité et tes qualités humaines qui font qu'il est agréable et stimulant de travailler dans l'UR 16 du Cirad.

Je remercie également chaleureusement Emmanuel Camus qui a accepté d'être le directeur de cette thèse. Merci de vos relectures attentives, vos conseils avisés et d'avoir animé mes comités de thèse.

Mes sincères remerciements à Bernard Mondet, chercheur à l'Institut français de Pondichéry (Inde) et Christian Ducrot, Directeur de Recherche à l'INRA (unité d'Epidémiologie Animale du centre de recherche de Clermont-Ferrand – Theix), qui ont accepté d'être les rapporteurs de cette thèse et pour l'intérêt qu'ils ont porté à mes travaux.

Plus généralement, j'adresse toute ma reconnaissance et mes remerciements à l'ensemble des membres de mon jury de thèse qui ont accepté de juger ce travail, avec une note particulière à :

Bernard Godelle (université de Montpellier II) dont les conseils lors de la dernière ligne droite de la thèse étaient bien à propos et m'ont bien facilité les choses ;

Matthew Baylis (Université de Liverpool, Royaume-Uni) dont les encouragements à poursuivre dans cette approche « capacité vectorielle » et la sympathie ont largement contribué à entretenir ma motivation ; merci également pour l'accueil à l'IAH-P, pour l'entretien de la collaboration transmanche et votre participation à mon comité de thèse ;

Jean-Claude Delécolle (Université Louis Pasteur, Strasbourg) dont la passion pour les *Culicoides* est très communicative. J'ai pris grand plaisir à regarder, des heures durant, ce moucheron très « photogénique » qu'est *C. imicola* ; vos conseils et remarques éclairés sur les aspects de la bioécologie étaient toujours d'un grand secours ; merci de vos réponses passionnées à mes interrogations.

Ce jury pluridisciplinaire est à l'image de cette thèse à l'interface de plusieurs disciplines, approche pluridisciplinaire qui me semble très important à développer pour aborder la question de la surveillance des maladies d'intérêt en santé publique et/ou en santé animale.

Je suis également très reconnaissante auprès des membres de mon comité de thèse : Barbara Dufour (école nationale vétérinaire de Maisons-Alfort), Pierre-Charles Lefèvre (Conseil Général Vétérinaire), Didier Fontenille (Institut de Recherche pour le Développement), Matthew Baylis (Université de Liverpool) et Katharina Stärk (Royal Veterinary College). Ces rendez-vous annuels m'ont permis de garder le cap tout au long de ce travail et de profiter des expériences de chacun, aspect très important pour ce travail à l'interface de différentes disciplines.

Cette thèse n'aurait pas été possible sans la participation très amicale des éleveurs de la vallée de l'Argens. Je remercie plus particulièrement Richard Blanc pour sa sympathie, la justesse de ses réflexions et son accueil lors de mes piégeages ; Michel pour son aide, sa bienveillance et sa sympathie ; Robert Sciaraffa pour son hospitalité et sa bonne humeur ; Nathalie Roux pour son accueil et son aide.

Je remercie également les personnes travaillant pour les services vétérinaires en Corse, dans le Var et à la DGAI pour leur aide à la mise en place de ces études et pour la collecte de données : Jérôme Languille, Laure Alnot, Anne Chemel, Gérard Baudisson, Guy Bousquet, Alexandre Bouchot et Jacques Parodi. Merci Jacques pour tes remarques pertinentes, tes encouragements et ton travail sur le terrain.

Merci pour l'accueil et l'aide apportée par le personnel des laboratoires vétérinaires de Haute Corse et de Corse du Sud lorsque je les ai sollicités au début de mes travaux de recherche.

Toute la partie sur l'étude de la compétence de *C. imicola* n'aurait pas été possible sans la participation de Simon Carpenter qui m'a formé aux techniques d'infection expérimentale et avec qui j'ai pu profiter de l'expérience et du savoir-faire dans ce domaine et, plus généralement, sur l'étude des populations de *Culicoides*. *It was a great experience, thanks a lot for that.* Merci également à Eva Veronesi avec qui j'ai réalisé les premières infections de *C. imicola* à l'IAH-P : *Molte grazie Eva.*

Je remercie Colette Grillet, Catherine Cetre-Sossah et Emmanuel Albina, de l'UR 15 du Cirad, pour leur collaboration, spécialement pour l'évaluation du test de diagnostic de la FCM. J'espère que elles pourront se poursuivre notamment pour étudier la compétence de *C. imicola* (et d'autres *Culicoides*) au Cirad.

Bruno Mathieu a également été d'un grand secours pour toute la partie entomologique de ce travail de thèse. Je le remercie sincèrement, autant pour son aide technique et scientifique d'une grande qualité que pour sa sympathie et son efficacité.

Je salue et remercie très chaleureusement Elvina Viennet qui nous a grandement aidé pour le montage des expérimentations sur le taux de piqûres journaliers de *C. imicola*. Son efficacité, son enthousiasme et sa sympathie nous ont apporté beaucoup. J'espère que tu garderas un bon souvenir de cette expérience.

Merci également à Renaud Lancelot pour sa disponibilité, pour avoir écouté mes demandes en matière de traitement de données et pour ses conseils.

Mes sincères amitiés à toute l'équipe de l'UR 16, pour sa sympathie, son dynamisme et sa bonne humeur. Les discussions y sont toujours fructueuses et enrichissantes. Un merci particulier à David Chavernac, qui a toujours un conseil informatique pour nous simplifier la vie ; à Guillaume Gerbier, nos discussions ont nourri en partie des points soulevés dans cette thèse et tes conseils et remarques m'ont souvent permis de trouver une solution à mes interrogations ; à Hélène Guis, pour ta participation à mes expérimentations de terrain qui ont été un grand moment et le partage d'expériences sur *C. imicola* ; à Thierry Baldet, pour ton aide permanente et tes bons « tuyaux ». Toute mon amitié à Éric avec qui j'ai partagé le bureau quelques temps, et découvert l'analyse quantitative du risque. Merci à Sylvie Besnier pour son appui au quotidien. Merci également à Véronique Chevalier avec qui j'ai partagé les joies et inquiétudes de toute fin de thèse.

Une thèse est aussi une aventure humaine comme tant d'autres. Je remercie tous mes amis pour leurs attentions et encouragements, particulièrement Céline qu'il fait toujours bon de revoir, Vincent et Annaïck grâce à qui notre « délocalisation » sur Montpellier a été drôlement plus agréable, Fred, Christine, Katia, Nicolas, Julien, Franck, ...

Une pensée particulière à Mickaël pour sa relecture attentionnée et ses conseils de style et surtout pour m'avoir suivi dans cette aventure. Merci à toi et à nos tendres enfants pour me faire garder, au quotidien, les deux pieds dans la réalité et ne pas perdre de vue l'essentiel. J'embrasse tendrement toute ma famille, Papa, Maman, Florence, Nathalie, Myriam, Pépère. L'aboutissement d'une thèse est un long chemin qui est largement facilité quand on a une famille aussi aimante et attentionnée, sur qui on peut compter. Merci de toujours avoir été là pour moi et de m'avoir épaulé, lors de la phase de rédaction, pour s'occuper de mes trois marmots. Merci de vous être prêtés au jeu de la relecture de cette thèse, notamment Maman et Florence ! Et donc Papa, la thèse fait 260 pages... il ne te reste qu'à la lire !

Table des matières

Remerciements	vii
Abréviations	xv
Liste des figures.....	xvii
Liste des tableaux.....	xxi
Avant-propos.....	1
I. Contexte général	3
I.1. Situation de la FCM en Europe	4
I.1.1. Émergence de la FCM dans le bassin méditerranéen.....	4
I.1.2. L'expérience française	8
I.2. Histoire naturelle de la FCM	10
I.2.1. La maladie	10
I.2.1.1. Répartition géographique.....	10
I.2.1.2. Le tableau clinique	12
I.2.2. Les acteurs de la maladie.....	13
I.2.2.1. L'agent pathogène	13
I.2.2.2. Les espèces animales sensibles.....	14
I.2.2.3. Les insectes vecteurs.....	14
I.2.2.4. L'environnement.....	17
I.2.3. Le vecteur principal afro-européen : <i>Culicoides imicola</i>	19
I.3. La surveillance épidémiologique : comment l'améliorer ?	21
I.3.1. Généralités	21
I.3.1.1. Le cycle de transmission.....	21
I.3.1.2. Les modes de dissémination.....	22
I.3.2. La surveillance de la FCM	22
I.3.2.1. Les objectifs de la surveillance :	23
<i>i</i> Détection et description du phénomène sanitaire.....	23
<i>ii</i> Intégration d'un système d'alerte précoce dans le réseau de surveillance.....	24
I.3.2.2. Surveillance épidémiologique et surveillance pour la recherche en épidémiologie : deux approches complémentaires mais distinctes	27
I.3.2.3. Les méthodes de surveillance :	28
<i>i</i> La surveillance clinique :	28
<i>ii</i> La surveillance sérologique.....	29
<i>iii</i> La surveillance entomologique.....	30
I.3.2.4. La surveillance de la FCM en France.....	30

i	<i>Des objectifs de la surveillance différents en Corse et sur le pourtour méditerranéen</i>	31
ii	<i>Programme de surveillance de la FCM en Corse</i>	32
iii	<i>Programme de surveillance de la FCM sur le pourtour méditerranéen</i>	33
I.3.3.	L'utilisation de modèles comme outil pour améliorer la surveillance de la FCM	35
I.3.3.1.	Qu'est-ce qu'un modèle, à quoi sert-il et comment le construit-on ?	35
I.3.3.2.	L'analyse de sensibilité des modèles	38
I.3.3.3.	Les modèles climatiques	39
I.3.3.4.	Modèles basés sur les cas cliniques	42
I.3.4.	La capacité vectorielle comme outil pour la surveillance	43
I.3.4.1.	Historique	43
I.3.4.2.	Le modèle mathématique de la capacité vectorielle	43
I.3.4.3.	Intérêts et limites	45

II. Approche évaluative : surveillance sérologique en zone infectée 49

II.1.	Un test de diagnostic sérologique adapté ?	50
	<i>Performance evaluation of a competitive ELISA test used for Bluetongue antibody detection in France, a recently infected area</i>	50
II.2.	Étude du suivi de la séroconversion des bovins sentinelles en Corse : l'expérience de 2002.....	60
II.2.1.	Introduction.....	60
II.2.2.	Matériels et méthodes	62
II.2.3.	Résultats.....	62
II.2.4.	Discussion.....	65

III. Approche entomologique : bioécologie de *Culicoides imicola* dans une zone d'implantation récente 69

III.1.	Introduction	70
III.1.1.	Objectifs de l'étude approfondie à Roquebrune sur Argens.....	70
III.1.2.	La zone d'étude.....	70
III.1.2.1.	Généralités.....	70
III.1.2.2.	Choix des sites	71
III.1.2.3.	Présentation des 4 sites de piégeages.....	72
III.2.	Le suivi longitudinal hebdomadaire de <i>C. imicola</i>	74
	<i>Seasonal abundance and daily survival of a recently established population of Culicoides imicola in France</i>	74
III.2.1.	Introduction.....	74

III.2.2. Materials and methods.....	75
III.2.3. Results	77
III.2.4. Discussion.....	80
III.2.5. Points de discussion complémentaires	83
III.2.5.1. Limites du piégeage hebdomadaire	83
III.2.5.2. Techniques de piégeages	84
III.2.5.3. Différence entre le site 1 et le site 2	85
III.3. Estimation du contact entre <i>C. imicola</i> et les ovins.	86
III.3.1. Matériels et méthodes.....	86
III.3.2. Résultats	88
III.3.3. Discussion.....	90
III.4. Étude préliminaire de l'activité nyctémérale de <i>C. imicola</i>	92
<i>Preliminary observations on the activity rhythms of Culicoides imicola (Diptera:</i> <i>Ceratopogonidae) in France</i>	<i>92</i>
III.4.1. Introduction	93
III.4.2. Materials and methods.....	93
III.4.2.1. Trapping methods	93
III.4.2.2. Study areas	93
III.4.2.3. Meteorological Records and Ephemeris.....	94
III.4.3. Results	94
III.4.4. Discussion.....	97
III.5. Évaluation de la compétence vectorielle de <i>C. imicola</i>	98
III.5.1. Matériels et méthodes.....	99
III.5.1.1. Site d'étude	99
III.5.1.2. Technique d'infection expérimentale.....	100
III.5.1.3. Isolement viral	100
III.5.2. Résultats	101
III.5.3. Discussion.....	101
IV. Approche intégrative : estimation du risque de transmission du BTV dans la vallée de l'Argens	105
IV.1. Introduction.....	106
IV.2. Matériels et méthodes	106
IV.2.1. L'intensité des contacts hôte/vecteurs, <i>ma</i>	107
IV.2.2. La fréquence des repas, <i>a</i>	109

IV.2.2.1. La préférence trophique, h	109
IV.2.2.2. La durée du cycle gonotrophique, μ	110
IV.2.3. Le taux de survie journalier, p	112
IV.2.4. La période d'incubation extrinsèque du virus, n	112
IV.2.5. La compétence vectorielle, V	112
IV.2.6. L'analyse de sensibilité.....	113
IV.3. Résultats	113
IV.3.1. Évolution de C au cours du temps	113
IV.3.2. Évolution de C d'une zone à une autre.....	115
IV.3.3. Analyse de sensibilité	116
IV.4. Discussion	117
V. Discussion générale	121
<hr/>	
V.1. La surveillance des maladies émergentes vectorielles	123
V.1.1. Évaluation du risque d'émergence de certaines maladies	123
V.1.2. Outils méthodologiques et diagnostiques au service de la surveillance	124
V.1.2.1. Les tests de diagnostic.....	124
V.1.2.2. Les méthodes de surveillance.....	127
<i>i Les troupeaux sentinelles.....</i>	<i>127</i>
<i>ii Le protocole d'échantillonnage.....</i>	<i>127</i>
<i>iii Vers un réseau de surveillance</i>	<i>128</i>
V.1.3. Les vecteurs comme outil pour la surveillance.....	128
V.2. Échelle locale : importance et limites	131
V.2.1. Un préalable nécessaire	131
V.2.2. Quelle validation pour le modèle ?.....	132
V.3. Perspectives.....	133
V.3.1. Intégration des différents éléments du système.....	133
V.3.2. De l'échelle locale à une échelle plus large.....	134
V.3.3. Problématique liée au BTV 8	136
Annexes.....	141
Références bibliographiques	213

Abréviations

AFSSA	: Agence Française de Sécurité Sanitaire des Aliments
AHS	African Horse Sickness ou peste équine
BTV	Bluetongue Virus, agent pathogène de la fièvre catarrhale du mouton.
CIRAD	: Centre Internationale de Recherche Agronomique pour le Développement en régions chaudes
DGAI	: Direction Générale de l'Alimentation
EIR	Entomological Inoculation Rate
ESB	Encéphalopathie Spongiforme Bovine
FAO	Food and Agriculture Organization of the United Nations, organisation des Nations Unis pour l'alimentation et l'agriculture.
FCM	: Fièvre catarrhale du Mouton
IAH	Institute of Animal Health
INRA	: Institut National de Recherche Agronomique
OIE	: Office International des Épizooties
OMS	: Organisation Mondiale de la Santé
OVI	: Onderstepoort Veterinary Institute (Afrique du Sud)
SIG	: Système d'Information Géographique
SMA	: Système Multi-Agents

Liste des figures

Figure 1 :	Situation de la fièvre catarrhale du mouton (sérotypes 2 et 9) dans le bassin méditerranéen en 1998 et 1999.....	5
Figure 2 :	Les 2 origines de l'émergence de la fièvre catarrhale du mouton en Europe méridionale et occidentale	5
Figure 3 :	Situation de la fièvre catarrhale du mouton (sérotypes 2, 4, 9) dans le bassin méditerranéen en 2000 et historique des cas de 1998 et 1999.....	6
Figure 4 :	Situation de fièvre catarrhale du mouton (sérotypes 2, 4, 9, 16) dans le bassin méditerranéen en 2001.....	6
Figure 5 :	Carte de répartition de la fièvre catarrhale du mouton avant 1998 et bilan des épizooties observées entre 1998 et 2005 dans le bassin méditerranéen.	7
Figure 6 :	Distribution spatiale des foyers de fièvre catarrhale du mouton déclarés en Corse selon l'année d'apparition et le type de sérotype impliqué (Gerbier <i>et al.</i> , 2006b).....	9
Figure 7 :	Répartition mondiale de la fièvre catarrhale du mouton en 2004.....	11
Figure 8 :	Distribution mondiale des sérotypes du virus de la fièvre catarrhale du mouton et de ses principaux vecteurs (d'après (Tabachnick, 2004))	13
Figure 9 :	Morphologie d'un <i>Culicoides</i>	15
Figure 10 :	Cycle de développement des <i>Culicoides</i> (schéma de J. C. Delécolle).....	15
Figure 11 :	Évolution de l'effectif moyen de femelles de <i>Culicoides</i> piégées par mois sur les 12 sites sentinelles de Corse entre 2002 et 2003 (entre crochets, [effectif de <i>C. imicola</i>], en cercle rouge, la Balagne)	16
Figure 12 :	Les 2 types de pièges UV à succion utilisés pour la capture des <i>Culicoides</i> en France	17
Figure 13 :	Morphologie d'une femelle pare de <i>Culicoides imicola</i> , complexe Avaritia et éléments caractéristiques de l'aile.	19
Figure 14 :	Cycle biologique de <i>C. imicola</i> (d'après (Purse <i>et al.</i> , 2005)).....	20
Figure 15 :	Cycle de transmission du BTV entre une population de vecteurs et les espèces hôtes (sensibles et réservoirs) et facteurs d'influence (en bleu : facteurs liés à l'insecte, en vert : les facteurs liés à l'environnement).	21
Figure 16 :	Critères d'inscription de maladies sur la liste de l'OIE.....	24
Figure 17 :	Étapes majeures d'un système d'alerte précoce	24
Figure 18 :	Précocité d'apparition potentielle de trois composants détectables dans l'évolution de la fièvre catarrhale du mouton et surveillés par le réseau de surveillance mis en place en France (Corse et pourtour méditerranéen).....	26
Figure 19 :	De l'exposition à la maladie clinique : la phase cachée de l'infection.....	29
Figure 20 :	Les deux types de réseaux de surveillance de la fièvre catarrhale du mouton en France métropolitaine	30

Figure 21 :	Les différentes zones à risque d'occurrence de la fièvre catarrhale du mouton en fonction des situations épidémiologiques et entomologiques en juillet 2006	31
Figure 22 :	Localisation des 30 sites de piégeages mensuels des <i>Culicoides</i> sur le littoral méditerranéen fonctionnels depuis 2005	35
Figure 23 :	Le triangle de Levins (Levins, 1966)	36
Figure 24 :	Modèle à compartiment de type « SIR ».....	37
Figure 25 :	Méthodologie de modélisation d'un système et de mise en œuvre du modèle	38
Figure 26 :	Aptitudes de sites situés en Europe à accueillir <i>C. imicola</i> sur la base d'un modèle de régression logistique établi à partir de données météorologiques de la péninsule ibérique (Wittmann et al., 2001).....	40
Figure 27 :	Modélisation des sites potentiels d'implantation de <i>C. imicola</i> à partir de données satellitaires et de données entomologiques (1) uniquement portugaises (Tatem <i>et al.</i> , 2003) ou (2) portugaises et corses (Roger <i>et al.</i> , 2003).	41
Figure 28 :	Schéma de transmission d'un agent pathogène par un vecteur biologique modélisé par la capacité vectorielle	44
Figure 29 :	Schéma illustrant la notion de capacité vectorielle définie par Garrett-Jones (1964).....	45
Figure 30 :	Schéma illustrant les relations existantes entre les facteurs environnementaux et les variables entomologiques de la capacité vectorielle de <i>Culicoides imicola</i> pour le BTV.....	47
Figure 31 :	Evolution of the optimum cELISA cut-off for BT antibodies detection on experimentally vaccinated rams from D0 to D90 post-vaccination	54
Figure 32 :	Results of BT cELISA ROC analysis of 113 sheep sera from the 2001 Corsica outbreak when the RT-PCR test is used to determine the BT status.....	54
Figure 33 :	Distribution of the BT cELISA results of 4593 sera of cattle from a French BT-free area collected between 2001 and 2004.....	55
Figure 34 :	Distribution of the BT cELISA results of 2366 sera of cattle from Corsica, the French bluetongue infected area collected in 2002.....	55
Figure 35 :	a) Distribution de la prévalence intra-troupeau observée en Corse du Sud et en Haute Corse au printemps 2002 et b) répartition géographique des bovins prélevés.....	63
Figure 36 :	a) Répartition, par commune, des bovins adultes ayant produit des anticorps contre le BTV au cours de l'année 2002 et b) provenance géographique des veaux testés à l'abattoir avec, en hachure, les communes d'origine des veaux contrôlés positifs vis-à-vis de la FCM.	65
Figure 37 :	Situation géographique des 4 sites de piégeages dans l'embouchure de l'Argens (Var)	72
Figure 38 :	Localisation of the 4 trapping sites in the Argens valley, France	76
Figure 39:	Daily precipitation, daily minimum, mean and maximum temperature recorded at Fréjus Météo-France station from September 2004 to November 2005.....	77

Figure 40 :	Seasonal abundance and parity rate of females <i>Culicoides imicola</i> from May to November 2005 at three trap sites in Roquebrune-sur-Argens, France.....	78
Figure 41 :	Relation entre le nombre de <i>C. imicola</i> femelles capturés par piège lumineux et par piège à appât, la nuit du 27 au 28 septembre 2005, dans l'élevage ovin de l'Orme.....	89
Figure 42 :	Flight activity of <i>Culicoides imicola</i> in Roquebrune sur Argens (Var - France) in a sheep barn during the night A) of the 1 st to the 2 nd of August 2005 and B) of the 27 th to the 28 th of September 2005.....	95
Figure 43 :	Flight activity of <i>Culicoides imicola</i> in Poggiale (southern Corsica) at a sheepfold during the night of the 6 th to the 7 th of September 2003.....	96
Figure 44 :	Flight activity of <i>Culicoides imicola</i> in Porto-Vecchio (southern Corsica) at a sheepfold during the night of the 11 th to the 12 th of September 2003.....	96
Figure 45 :	Estimation de δ par une loi de Pert (1;2;10).....	109
Figure 46 :	Distribution A) de la densité de probabilité et, B) de la probabilité cumulée de la capacité vectorielle, C , de <i>C. imicola</i> pour la FCM, estimée par 10 000 simulations, dans l'élevage ovin de l'Orme au mois d'août 2005.....	113
Figure 47 :	Distribution A) de la densité de probabilité et, B) de probabilité cumulée de la capacité vectorielle, C , de <i>C. imicola</i> pour la FCM, estimée par 10 000 simulations, dans l'élevage ovin de l'Orme au mois de septembre 2005. Cette distribution est statistiquement proche d'une loi log-normale de moyenne géométrique 14,6 et de déviation standard géométrique de 8,7.....	114
Figure 48 :	Distribution A) de la densité de probabilité et, B) de probabilité cumulée de la capacité vectorielle, C , de <i>C. imicola</i> pour la FCM, estimée par 10 000 simulations, dans l'élevage ovin des Iscles au mois de septembre 2005. Cette distribution est statistiquement proche d'une loi log-normale de moyenne géométrique 0,4 et de déviation standard géométrique de 0,2.....	114
Figure 49 :	Densité de probabilité estimé pour C en 2005, à partir de 10 000 simulations, en fonction du mois, dans l'élevage de l'Orme sur la base du nombre moyen de <i>C. imicola</i> capturé par mois.....	114
Figure 50 :	Probabilité cumulée estimée pour C en 2005, à partir de 10 000 simulations, en fonction du mois, dans l'élevage de l'Orme sur la base du nombre moyen de <i>C. imicola</i> capturé par mois.....	115
Figure 51 :	A) Densité de probabilité et B) Probabilité cumulée estimées pour C en 2005, à partir de 10 000 simulations, dans les élevages de l'Orme et des Iscles sur la base du nombre moyen de <i>C. imicola</i> capturé pendant le mois de Septembre.....	116
Figure 52 :	Diagrammes de Tornado présentant les résultats de l'analyse de sensibilité des <i>inputs</i> pour les mois de juin à octobre 2005 dans l'élevage de l'Orme.....	116
Figure 53 :	Variation observée sur le résultat final déterminée par le 5 ^{ème} et 95 ^{ème} percentile des variables p et ma . Exemple pour l'élevage de l'orme en septembre 2005.....	117

Figure 54 :	Valeur moyenne simulée de la capacité vectorielle C en fonction de la variation, A) en pourcentages, et B) en percentiles, des inputs p et ma . Exemple pour l'élevage de l'orme en septembre 2005.	117
Figure 55 :	Les vecteurs comme outil pour la surveillance de la fièvre catarrhale du mouton.....	129
Figure 56 :	Distribution mensuelle des foyers de FCM dus au BTV8 en Europe du Nord entre le 17 août et le 25 Octobre 2006	136
Figure 57 :	Nombre journalier de foyers dus au BTV8 détectés dans le Nord de l'Europe entre le 17 août et le 1 ^{er} novembre 2006.	137
Figure 58 :	Densité lissée de Kernel du nombre de cas de FCM dus au BTV8, toutes espèces de ruminants confondues.....	137

Liste des tableaux

Tableau I :	Évolution annuelle du nombre de foyers et du nombre de cheptels vaccinés entre 2000 et 2005 en Corse en fonction du sérotype impliqué (Gerbier <i>et al.</i> , 2006b).....	8
Tableau II :	Séroconversions observées dans 4 élevages caprins sentinelles suivis mensuellement entre mai et octobre 2003 en Corse du Sud (Gerbier <i>et al.</i> , 2006b).....	9
Tableau III :	Différences entre un réseau d'épidémiosurveillance et un programme de surveillance pour la recherche en épidémiologie (Dufour & Hendrikx, 2005).....	27
Tableau IV :	Objectifs de la surveillance en fonction de la zone et du statut vis-à-vis du BTV et du vecteur <i>C. imicola</i>	32
Tableau V :	Correspondance entre le nombre d'échantillons demandés dans le cadre de la surveillance sérologique des bovins adultes du pourtour méditerranéen et le nombre d'animaux testés.	34
Tableau VI :	Résultats de l'enquête sérologique vis-à-vis du BTV réalisée en Corse dans 116 élevages bovins prélevés lors de la campagne de prophylaxie 2001-2002.....	62
Tableau VII :	Résultats de l'enquête sérologique vis-à-vis du BTV réalisée en Corse dans 143 élevages bovins prélevés lors de la campagne de prophylaxie 2002-2003.....	63
Tableau VIII :	Synthèse des résultats interprétables du suivi biennuel de bovins adultes en élevage en 2002.....	64
Tableau IX :	Distribution des séroconversions observées en fonction de la prévalence calculée dans les élevages lors de l'enquête du printemps 2002.....	64
Tableau X :	Seasonal distribution of <i>Culicoides imicola</i> adult collected by UV light traps from four sites in Roquebrune-sur-Argens.....	79
Tableau XI :	Monthly number of female midges and parous rates of <i>Culicoides imicola</i> collected from three different sites in Roquebrune sur Argens (France) from May to November 2005.....	80
Tableau XII :	Estimates of daily survival rates for female <i>Culicoides imicola</i> based on observed monthly parity and different gonotrophic cycle durations at three trap locations in Roquebrune sur Argens, France.....	80
Tableau XIII :	Résultats de piégeages réalisés sur deux nuits consécutives sur les sites 1 et 2 en 2005.	84
Tableau XIV :	Résultats obtenus avec le piège sur appât et le piège lumineux lors de la nuit du 1 ^{er} au 2 août 2005 dans l'élevage ovin de l'Orme.....	88
Tableau XV :	Résultats obtenus avec le piège sur appât et le piège lumineux lors de la nuit du 27 au 28 septembre 2005 dans l'élevage ovin de l'Orme.....	89
Tableau XVI :	Résultats du piégeage sur appât posé durant la nuit du 28 au 29 septembre 2005 dans la bergerie de l'élevage de l'Orme.....	90
Tableau XVII :	Nombre moyen et maximal de <i>C. imicola</i> femelles capturées par nuit de piégeage dans deux élevages ovins de Roquebrune sur Argens (Var) entre mai et novembre 2005.....	107

Tableau XVIII : Estimation, en fonction de la température, de la durée moyenne entre un repas de sang et l'oviposition pour <i>C. sonorensis</i> (exprimée en jours).....	110
Tableau XIX : Loi de distribution estimant la durée entre 2 repas de sang, μ , en fonction de la température moyenne du mois.	111
Tableau XX : Durée de l'incubation extrinsèque du virus estimée en jours en conditions de laboratoire pour <i>C. sonorensis</i> et <i>C. imicola</i>	112
Tableau XXI : Valeurs minimales de c telle que la probabilité $P(C < c)$ soit égale à 1 en fonction du mois et du site d'étude.....	115
Tableau XXII : Différences observées entre les caractéristiques de la FCM dans le Nord de l'Europe et sur le pourtour méditerranéen occidental.	138

Avant-propos

Pendant la dernière décennie, l'économie mondiale de l'élevage a connu la croissance la plus rapide de l'ensemble des principaux produits agricoles pour ce qui est de la consommation et des échanges (FAO, 2002). Parmi les facteurs pouvant influencer négativement et de manière très significative ce secteur de l'économie mondiale se trouvent les maladies animales et les préoccupations sanitaires croissantes liées notamment à l'ESB ou à la grippe aviaire. Dans son rapport de 2002, le groupe intergouvernemental sur la viande et les produits laitiers de la FAO précisait que « les problèmes concernant la santé humaine et animale ainsi que la qualité des produits risquent de devenir encore plus complexes au cours des dix prochaines années » (FAO, 2002). En 2003-2004, les politiques nationales relatives à l'élevage ont été dominées par des mesures visant à enrayer et à éradiquer les maladies infectieuses, portant à une augmentation des dépenses des pays en développement et des pays développés pour répondre à ces préoccupations croissantes (FAO, 2005). Si les maladies animales à transmission directe font fréquemment l'objet de mesures de protection sanitaire au niveau international (ESB, fièvre aphteuse, grippe aviaire etc.), les maladies vectorielles occupent depuis peu le devant de la scène européenne suite à l'apparition de foyers de fièvre catarrhale du mouton dans plusieurs pays européens du bassin méditerranéen ou encore l'apparition de cas de West Nile en Camargue en 2000 et 2006.

La fièvre catarrhale du mouton (FCM)¹ est une maladie virale des ruminants domestiques et sauvages, transmise par des moucheron hémato-phages du genre *Culicoides*. Des incursions épisodiques ont déjà été identifiées par le passé en Europe (péninsule ibérique : 1957-1960, Chypre : 1977 et Grèce : 1980) mais n'avaient remis pas en question le caractère « exotique » de cette maladie. L'apparition et la persistance du virus de la FCM dans le sud de l'Europe, notamment en Corse, soulèvent la question des outils et méthodes disponibles pour surveiller efficacement cette maladie et évaluer le risque de transmission. En effet, si l'Europe a expérimenté avec succès la surveillance et la gestion de maladies à transmission directe (Fièvre aphteuse, rage, ESB, etc.), les pays de l'Union Européenne ont peu d'expériences sur les arboviroses² (épizootie de peste équine dans la péninsule ibérique en 1989-1990 (Mellor & Hamblin, 2004)). De plus, l'étude de cette maladie s'inscrit, plus généralement, dans la problématique des maladies émergentes et les questionnements de l'impact du réchauffement climatique sur l'extension géographique de vecteurs d'arboviroses.

La France a la particularité de conjuguer en métropole à la fois une zone où la circulation du virus de la FCM est avérée et perdue depuis 2000 (Corse) et une zone indemne dans laquelle une population du vecteur s'est installée en 2004 (département du Var). Cette diversité de situations épidémiologiques a permis à la fois d'évaluer les tests diagnostiques mobilisables dans le cadre d'un plan de surveillance et/ou de gestion, et de tester la pertinence de l'utilisation de la capacité vectorielle comme outil pour améliorer la surveillance de maladies animales vectorielles telle la FCM. L'objectif commun de ces deux approches complémentaires est de concourir à l'amélioration de la surveillance de la FCM.

¹ Appelée aussi *fièvre catarrhale ovine* (FCO) par l'administration vétérinaire française et *bluetongue* en anglais.

² Maladie liée à un arbovirus. Ces virus sont principalement entretenus dans la nature par transmission biologique entre des hôtes vertébrés par l'intermédiaire d'arthropodes hémato-phages. Ils sont habituellement transmis, par morsure ou par piqûre de l'arthropode infecté, à des vertébrés réceptifs chez lesquels ils provoquent une virémie. Il en découle un cycle plus ou moins complexe à 3 acteurs : le virus, le vertébré et le vecteur. On parle de transmission biologique par opposition à la transmission mécanique (Anémie infectieuse des équidés, myxomatose, leucose enzootique etc.) qui ne nécessite pas une phase de multiplication du pathogène dans le vecteur.

Une récente analyse scientifique du risque se basant sur le calcul de la capacité vectorielle de *Culicoïdes sonorensis* (APFRAN & GARZPA, 2002) a conduit l'Agence canadienne d'inspection des aliments (ACIA) à réviser sa politique d'importation de bovins, ovins et autres ruminants importés des États-Unis. Les mesures de contrôle alors en vigueur ont ainsi été retirées au profit d'une intensification des activités de surveillance et du maintien d'activités de recherche et d'évaluations des risques (ACIA, 2006). Or, si les connaissances sur *C. sonorensis*, vecteur du virus de la FCM en Amérique du Nord, ont permis d'adapter les mesures réglementaires à la réalité du risque, il n'en est pas de même en Europe où le (ou les) vecteur(s) impliqué(s) est(sont) mal connu(s). Le développement des connaissances sur le vecteur principal de la FCM dans le bassin méditerranéen occidental est ainsi un préalable nécessaire pour évaluer les risques de transmission de ce virus dans les zones limitrophes aux zones infectées.

C'est pour initier les recherches dans ce domaine que ma Formation Complémentaire par la Recherche (FCPR) a été proposée et acceptée en 2002 par le ministère de l'Agriculture et de Pêche. Cette formation comprend un DEA et une thèse de doctorat. L'institut de recherche retenu pour réaliser ce projet a été le CIRAD (Centre international de recherche en agronomie tropicale pour le développement), centre de référence français pour les maladies dites exotiques comme la FCM et centre collaborateur de l'OIE pour le diagnostic, l'épidémiologie et le contrôle des maladies animales en régions tropicales.

Maladie nouvelle pour la France, la FCM reste, depuis 2000, une maladie d'actualité en Europe comme l'atteste la toute récente épizootie qui sévissait encore en Novembre 2006 dans le Nord-est de l'Europe (DEFRA, 2006a). Les foyers identifiés au Pays-Bas, en Belgique et en France semblent faire intervenir d'autres *Culicoïdes* que celui étudié dans cette thèse et révèlent un cycle épidémiologique quelque peu différent. Ce nouvel épisode épizootique confirme cependant bien la nécessité de développer des outils adaptés à la surveillance et à la gestion de maladies vectorielles émergentes dans de nouveaux écosystèmes.

Après avoir fait un point général sur la FCM notamment en Europe (point qui n'intègre pas l'épizootie d'août 2006 en Europe du Nord) et son épidémiologie, les besoins en terme de surveillance sont présentés ainsi que le concept de capacité vectorielle.

En zone infectée (Corse), l'évaluation du test de diagnostic utilisé pour la surveillance et le diagnostic de la FCM nous est apparue essentielle pour améliorer la surveillance. Le choix du plan de surveillance est également un point déterminant la capacité d'un réseau de surveillance à détecter et suivre la circulation virale à bas bruit. Une analyse du plan de surveillance mis en place en Corse en 2002 a ainsi été conduite.

En zone indemne où le vecteur s'est installé récemment (vallée de l'Argens), une étude entomologique visant à mieux comprendre la dynamique de l'insecte et à recueillir des données entomologiques et bioécologiques pour alimenter un modèle de transmission du virus de la FCM a été réalisée en 2005.

En vue d'étudier le potentiel de transmission virale des populations de vecteurs installées dans la Vallée de l'Argens, un modèle stochastique intégrant tous les composants entomologiques impliquées dans la transmission vectorielle a été élaboré et utilisé pour simuler le risque de transmission.

Finalement, une discussion générale clôture cette thèse et ouvre des perspectives pour la poursuite des recherches dans ce domaine.



Culicoides imicola

Contexte général

La faiblesse de nombreux systèmes sanitaires, les modifications des pratiques d'élevage, le manque de connaissances relatives à certains cycles épidémiologiques, l'intensification des échanges commerciaux, les changements climatiques et écologiques engendrent un environnement global favorable à l'émergence, au maintien et/ou à l'extension de maladies.

Au cours des dernières décennies et notamment depuis les années 80, les maladies dites émergentes font de manière récurrente l'actualité. Le terme d'*Emerging infectious disease* a été lancé dans les années 90, par J. Lederberg (Prix Nobel de Médecine, 1958). Même si plusieurs définitions plus ou moins précises ont été formulées concernant le terme d'émergence (Woolhouse, 2002; Brown, 2004), on qualifie souvent d'émergente une infection nouvelle ou une infection présentant une augmentation rapide de son incidence ou de son aire de répartition (Morse, 2004). Force est de constater cependant que le terme d'émergence est de venu à la mode et est parfois (souvent ?) utilisé sans que ce soit toujours pleinement justifié. Toma et Thiry (2003) ont ainsi légitimement lancé une discussion autour de la définition de l'émergence et ont proposé une définition prenant en compte la spécificité de la situation épidémiologique de la maladie considérée dans un contexte donné : « maladie dont l'incidence réelle augmente de manière significative dans une population donnée, d'une région donnée et durant une période donnée, par rapport à la situation épidémiologique habituelle de cette maladie » (Toma & Thiry, 2003).

Le cas des maladies émergentes vectorielles appelle un regard tout particulier du fait d'une part de l'implication incontournable d'un vecteur biologique de transmission fortement lié à son environnement et d'autre part du peu d'expériences existantes dans les pays européens pour gérer ce type de maladie, notamment les *vector-borne diseases*, c'est-à-dire les maladies transmises par des insectes. Dans un contexte d'accélération importante des modifications des paramètres environnementaux fondamentaux telles les variables climatologiques, la connaissance des mécanismes gouvernant les cycles de transmission de ces agents est primordiale.

Ce chapitre présente le contexte général ayant motivé les questions de recherche visant à améliorer la surveillance de la fièvre catarrhale du mouton (FCM) en France en présentant :

- (1) comment la FCM est devenue en quelques années un problème incontournable pour un grand nombre de pays de l'Union Européenne,
- (2) les connaissances existantes concernant la FCM et son histoire naturelle,
- (3) les besoins en terme de surveillance et de recherches épidémiologiques,
- (4) le concept de capacité vectorielle et son utilisation possible pour la surveillance.



Remarque : Le choix de présenter d'abord la situation de la Fièvre Catarrhale du Mouton avant de présenter plus en détail la maladie elle-même est volontaire. Il reflète un peu la réalité de ce qui a été vécu lors de l'apparition des premiers cas dans les îles de l'Ouest du bassin méditerranéen. Le lecteur devrait cependant trouver les réponses à l'essentiel de ces questions concernant l'épidémiologie de cette maladie dans le chapitre suivant.

I.1. Situation de la FCM en Europe

La FCM est classée sur la liste des maladies animales à déclaration obligatoire pour les membres de l'OIE. Cette maladie peut en effet causer des épizooties spectaculaires comme à Chypre en 1943 (Gambles, 1949) ou dans la péninsule ibérique en 1956 (Roberts, 1990). Plusieurs raisons expliquent les lourdes conséquences économiques sur la filière ovine de cette maladie. La forte mortalité observée lors des épizooties touchant des populations ovines naïves³, la forte dévalorisation des animaux survivants du fait de la cachexie et de la mauvaise qualité de leur laine sont autant de pertes directes pour la filière. De plus, dans les zones d'endémie, les programmes de vaccination mis en place ont un coût financier récurrent non négligeable. Cependant, les coûts les plus importants reviennent aux pays infectés qui veulent exporter des animaux vivants et certains produits animaux. Des restrictions commerciales sont alors infligées et des tests de diagnostic doivent être réalisés pour attester le statut des animaux déplacés.

Alors que sa répartition habituelle se trouve entre les latitudes 40°N et 35°S soit dans les régions tropicales et sub-tropicales du globe, des incursions épisodiques au-delà de la zone de répartition habituelle des insectes vecteurs de la FCM ont déjà été identifiées dans le passé. Cependant, celles-ci sont restées limitées à la fois dans le temps et dans l'espace. Ainsi, les épizooties répétées auxquelles doivent faire face plusieurs pays du sud de l'Europe depuis 1999 soulèvent de façon récurrente la question de la situation épidémiologique de l'Europe vis-à-vis de la FCM : incursions épisodiques ou endémisation ?

I.1.1. Émergence de la FCM dans le bassin méditerranéen

Selon la définition des maladies émergentes de l'OIE et celle présentée ci-dessus, on peut dire que la fièvre catarrhale du mouton est due à un virus émergent dans le bassin méditerranéen. Pas seulement parce qu'il est apparu dans des régions qui n'avaient encore jamais rapporté sa présence (Algérie, Corse, Bulgarie, Tunisie, Sardaigne, Sicile, Calabre, Macédoine, Yougoslavie et Croatie) mais aussi parce que les sérotypes qui ont été identifiés (sérotypes 2, 4 et 9) dans les foyers étaient considérés comme inactifs.

La réapparition de la FCM au nord de l'aire de répartition habituelle de ses vecteurs a commencé en 1997 quand la FCM a été rapportée à Chypre. Puis, en Décembre 1998, le virus est apparu en Grèce pour la première fois depuis une décennie (dernier foyer en 1989). A partir de juin 1999, il a été mis successivement en évidence en Bulgarie et Tunisie et en juillet 1999, il a été identifié en Turquie pour la première fois depuis 20 ans. De plus, en août 1999, la Grèce a de nouveau fait l'expérience d'une épizootie de FCM qui a persisté jusqu'en décembre. Trois sérotypes ont alors été impliqués, le 9, le 4 et un autre qui s'avérera être le n° 16 (Figure 1).

³ On qualifie de populations « naïves » les populations qui n'ont jamais rencontré l'agent pathogène considéré auparavant.

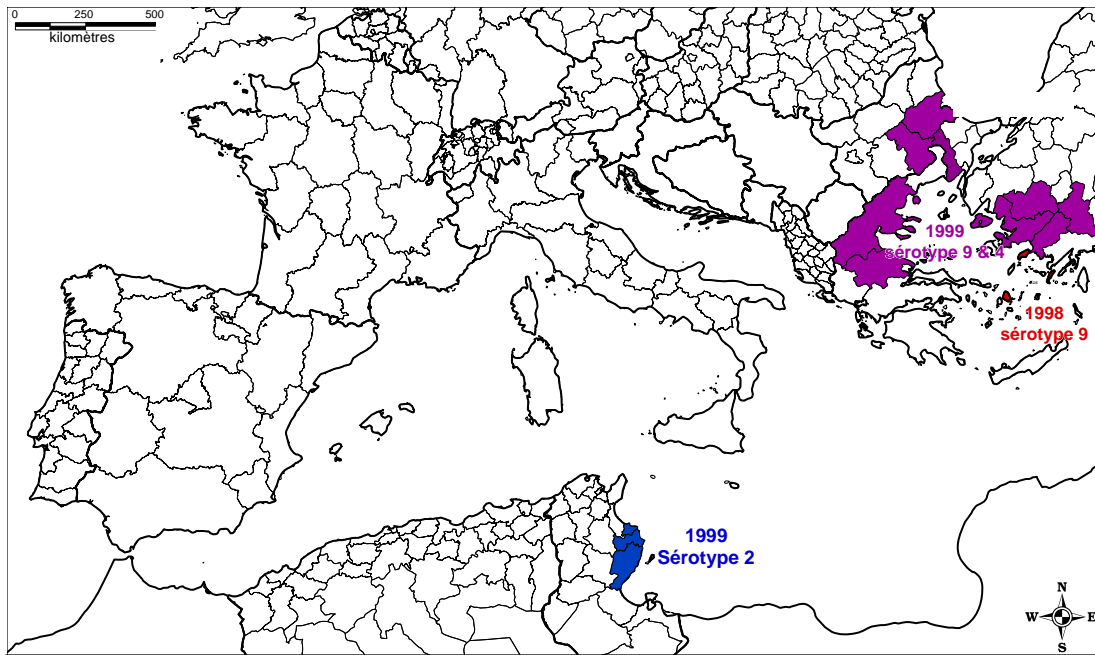


Figure 1 : Situation de la fièvre catarrhale du mouton (sérotypes 2 et 9) dans le bassin méditerranéen en 1998 et 1999.

Ces foyers primaires sont probablement à l'origine de la progression du BTV (BlueTongue Virus) dans l'ouest de l'Europe. La maladie due au sérotype 2 a ainsi été déclarée en Algérie en Juillet 2000 et début Septembre 2000, elle faisait son apparition pour la première fois dans les îles italiennes de Sardaigne (OIE, 2000d) et de Sicile et dans la région de Calabre en Italie continentale. Fin Septembre, les premiers cas cliniques étaient observés sur les îles Baléares (Majorque et Minorque) (OIE, 2000a) et finalement en Corse du Sud le 17 octobre 2000 (OIE, 2000c). Début décembre, de nouveaux foyers se sont produits en Espagne à Majorque et Minorque. Cette même année, des cas ont été de nouveau déclarés en Turquie (Août 2000).



Figure 2 : Les 2 origines de l'émergence de la fièvre catarrhale du mouton en Europe méridionale et occidentale

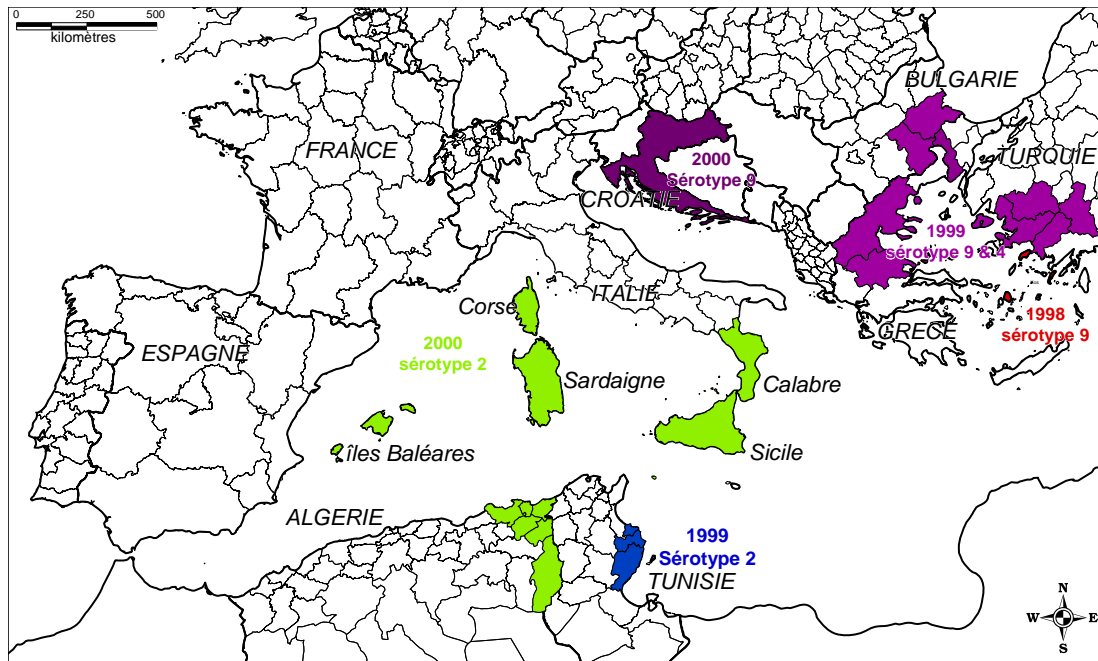


Figure 3 : Situation de la fièvre catarrhale du mouton (sérotypes 2, 4, 9) dans le bassin méditerranéen en 2000 et historique des cas de 1998 et 1999.

Comme les années précédentes, les nouveaux foyers en 2001 ont commencé à la fin de l'été (Figure 4). Le 17 septembre, la Grèce déclarait ses premiers cas sur le continent et estimait que le début de la circulation virale datait de début août. Le 19 septembre, la Bulgarie rapportait des cas dans la partie ouest du pays. Des cas au Kosovo ont été détectés à la mi-October et en Yougoslavie en Novembre. Début décembre, des suspicions cliniques ont été diagnostiquées en Croatie. Ainsi, l'épicentre le plus à l'Est de la maladie évoluait vers le Nord. De la même façon, la FCM progressait depuis la pointe de la botte italienne à la Toscane ce qui eut dès mars 2002 un impact important sur les filières animales de ce pays.

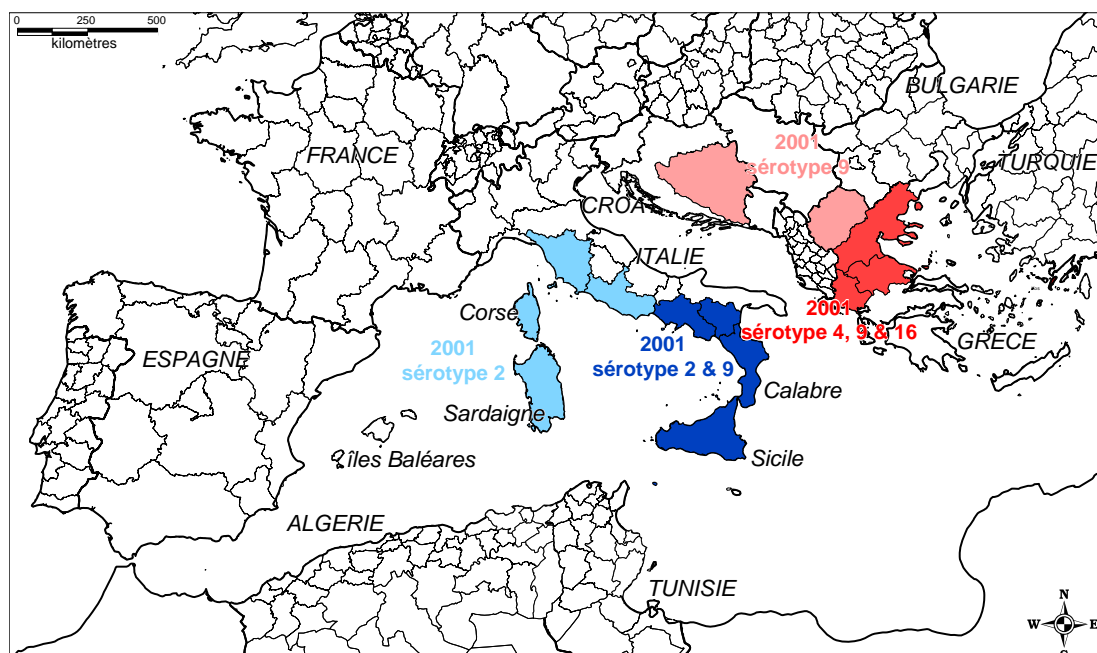


Figure 4 : Situation de fièvre catarrhale du mouton (sérotypes 2, 4, 9, 16) dans le bassin méditerranéen en 2001.

Après un vaste programme de vaccination contre le sérotype 2 en Corse, en Italie et aux îles Baléares, l'Europe occidentale n'a déploré aucun cas clinique de FCM en 2002.

Les foyers épizootiques ont fait leur réapparition en 2003 avec l'incursion d'un sérotype 4 en Sardaigne puis aux îles Baléares et en Corse du Sud. Cette souche s'est révélée être différente de celle isolée en Grèce en 2000 (Potgieter *et al.*, 2005).

L'épizootie de 2004 dans l'ouest méditerranéen a débuté en septembre au Maroc avec la détection de cas cliniques de FCM dû au sérotype 4. Elle a progressé ensuite au sud de l'Espagne et au Portugal. Un nombre limité de foyers dus aux sérotypes 4 et 16 se sont également déclarés en Corse tandis que les circulations virales de ces sérotypes étaient encore d'actualité en Italie.

La circulation virale de sérotypes du BTV a été encore mise en évidence en 2005 et en 2006 dans des pays du sud de l'Europe (Italie, Corse, Espagne etc.) en l'absence de signes cliniques.

Au final, la FCM est apparue entre 1998 et 2005 dans 7 nouveaux pays (Albanie, Bulgarie, Croatie, France, Italie, Macédoine, Yougoslavie). Sa persistance à bas bruit au sein de populations de ruminants non vaccinés mais ne développant pas de signes cliniques suite à une infection, le nombre de régions affectées et l'installation réussie du vecteur principal, *Culicoides imicola* dans différentes zones de la côte méditerranéenne, font de cette incursion massive de différents sérotypes de la FCM dans le bassin méditerranéen un événement sans précédent dans l'histoire de cette maladie. Cet épisode épizootique au cours duquel le virus de la FCM semble progressivement s'endémiser dans différentes zones est très probablement un exemple des conséquences que l'on peut attribuer au phénomène du réchauffement climatique. La FCM qui était jusque là une maladie exotique pour l'ensemble de l'Europe aux incursions rares et limitées dans le temps devient un problème majeur pour l'économie de la filière ovine.

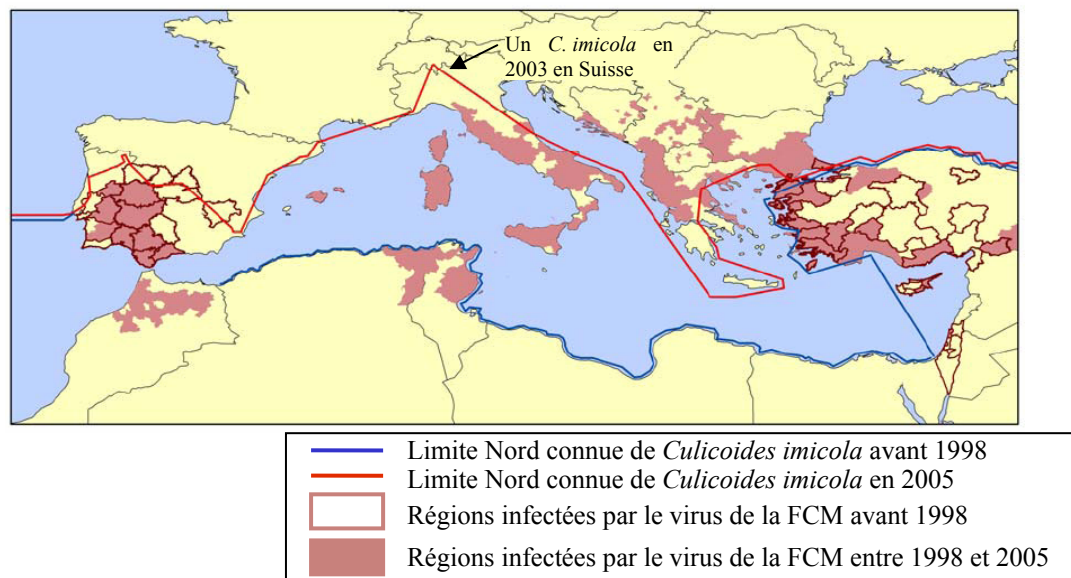


Figure 5 : Carte de répartition de la fièvre catarrhale du mouton avant 1998 et bilan des épizooties observées entre 1998 et 2005 dans le bassin méditerranéen.

Même si la progression de la FCM au nord de sa répartition habituelle a été un phénomène qui s'est étendu à un certain nombre de pays du sud de l'Europe, chaque pays a eu une expérience propre de cette maladie du fait notamment des cycles épidémiologiques de transmission mis en cause (sérotypes, suspicions d'autres vecteurs) et des mesures de gestion mises en place (programme de vaccination et de surveillance). Du point de vue du nombre d'épizooties et des sérotypes impliqués, la France a été particulièrement touchée par ces vagues épizootiques.

I.1.2. L'expérience française

Même si la plupart des pays européens touchés par la FCM fait partie de l'Union Européenne et doit respecter la même législation concernant cette maladie, les états déclinent cette réglementation de différentes manières afin de tenir compte des spécificités des situations sur le terrain.

De 2000 à 2005, la Corse a subi 4 épizooties impliquant différents sérotypes (Tableau I). Un programme de vaccination massive se déroulant durant la période hivernale et utilisant un vaccin atténué contenant la ou les valences des sérotypes mis en évidence lors des épizooties antérieures a été mis en place dès l'hiver 2000-2001 dans les cheptels ovins.

La disparition des foyers cliniques liés au sérotype 2 dès 2002 apparaît comme la preuve de l'efficacité du plan de vaccination.

Année	Nombre de Suspensions	BTV2		BTV4		BTV16	
		Foyers	Troupeaux vaccinés	Foyers	Troupeaux vaccinés	Foyers	Troupeaux vaccinés
2000	78	49	0	0	0	0	0
2001	394	335	80%	0	0	0	0
2002	73	0	91%	0	0	0	0
2003	61	0	528	16	528	0	0
2004	74	0	613	13	613	25	17
2005	50	0	NA	0	NA	0	0

Tableau I : Évolution annuelle du nombre de foyers et du nombre de cheptels vaccinés entre 2000 et 2005 en Corse en fonction du sérotype impliqué (Gerbier *et al.*, 2006b)

Au vu de l'enchaînement des différentes épizooties (Figure 6), on s'aperçoit que l'expérience de 2000 n'a pas permis d'empêcher l'apparition de l'épizootie de 2003 due au sérotype 4. Pourtant, l'analyse temporelle et spatiale rétrospective des foyers a confirmé que les 3 souches virales isolées en Corse (respectivement BTV2 en 2000 et 2001, BTV4 en 2003 et 2004 puis BTV16 en 2004) ont la même origine, c'est-à-dire le Nord de la Sardaigne. En effet, on constate que lors de la première année de déclaration d'un sérotype, la zone la plus affectée est toujours le Sud-Ouest de la Corse et fait toujours suite aux premiers cas déclarés en Sardaigne (Gerbier *et al.*, 2006b). De plus, en 2003, des séroconversions chez des caprins sentinelles ont pu être décelées dès le mois de juillet alors que les premiers foyers cliniques ne sont apparus qu'en septembre. L'hypothèse d'une circulation à bas bruit a ainsi fait l'objet d'une publication acceptée dans *The Veterinary Record* (Annexe A).

On constate en effet que la vaccination n'est actuellement pas utilisée pour la prévention de nouveaux sérotypes dans les zones affectées ni pour la prévention dans les zones dont le risque d'occurrence est imminent et mis en évidence sérologiquement par des animaux sentinelles (foyers en Andalousie et Extremadura, Espagne, en 2004). Les conséquences économiques liées aux restrictions commerciales d'une zone où les animaux sont vaccinés peuvent expliquer cette conduite.

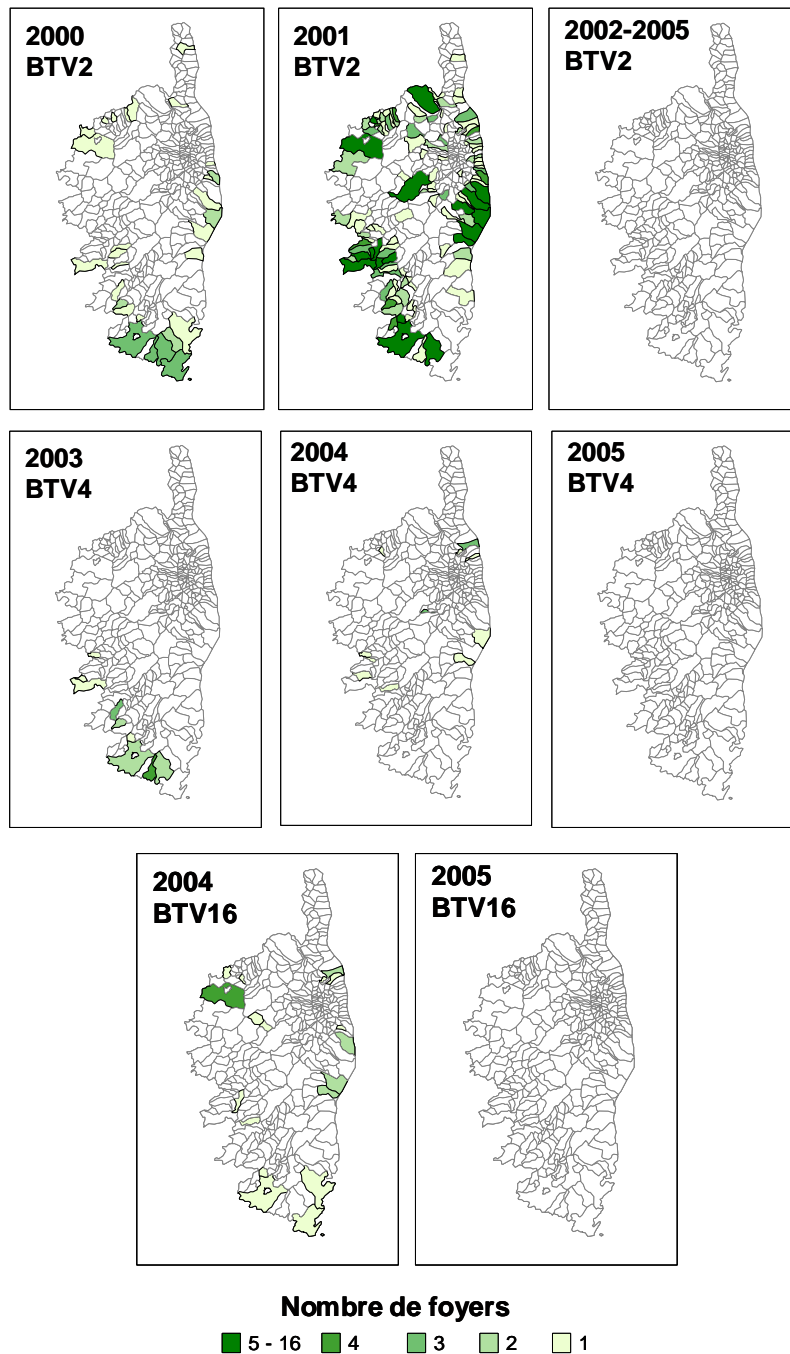


Figure 6 : Distribution spatiale des foyers de fièvre catarrhale du mouton déclarés en Corse selon l'année d'apparition et le type de sérotype impliqué (Gerbier *et al.*, 2006b)

Commune	Nombre d'animaux	Séroconversion (%)	Date de détection du BTV4
Quenza	96	32 %	17/07/03
Sartène	53	0 %	-
Bonifacio	150	6 %	16/05/03*
Sant'andrea	220	8 %	29/07/03

Tableau II : Séroconversions observées dans 4 élevages caprins sentinelles suivis mensuellement entre mai et octobre 2003 en Corse du Sud (Gerbier *et al.*, 2006b)

Si la source d'infection en France semble toujours provenir de la Sardaigne, selon le sérotype mis en cause, le profil de l'épizootie a été différent comme le décrit l'article en cours de publication figurant en annexe B : « Bluetongue in Corsica 2000-2005: 3 serotypes, 3 different behaviours ».

La Corse se trouve ainsi depuis l'an 2000 restreinte dans ses échanges de ruminants vivants et de leurs spermatozoïdes, ovules et embryons. L'assouplissement de la législation européenne en 2003 (Anonymous, 2003b) qui permet désormais, sous certaines conditions, de déplacer des animaux de zones réglementées vers des zones indemnes de FCM, a permis d'organiser ponctuellement le déplacement de bovins depuis la Corse vers des abattoirs du continent. Les lourdes contraintes et les coûts liés à de tels déplacements limitent cependant leur mise en place. Cette situation a incité à développer la capacité d'abattage des animaux en Corse avec l'ouverture notamment d'un abattoir pour bovins dans la plaine orientale (Migliacciaru) en septembre 2003 et de 2 abattoirs multi-espèces, un à Sartène en juillet 2003 et un à Ponte Leccia en août 2005 (abattoir ayant un agrément communautaire).

Le retour d'expérience sur une maladie émergente et, qui plus est, vectorielle, est un point essentiel pour concourir à l'amélioration de sa surveillance. La communication entre les pays concernés et ce d'autant plus s'ils sont limitrophes apparaît essentielle pour progresser rapidement dans la connaissance de l'épidémiologie de la FCM et adapter les mesures de lutte pour les rendre optimales.

Afin d'aborder les questions d'épidémiologie soulevées par l'émergence de la FCM en Europe, il est nécessaire de faire le point sur les caractéristiques biologiques, pathologiques et épidémiologiques de la FCM.

I.2. Histoire naturelle de la FCM

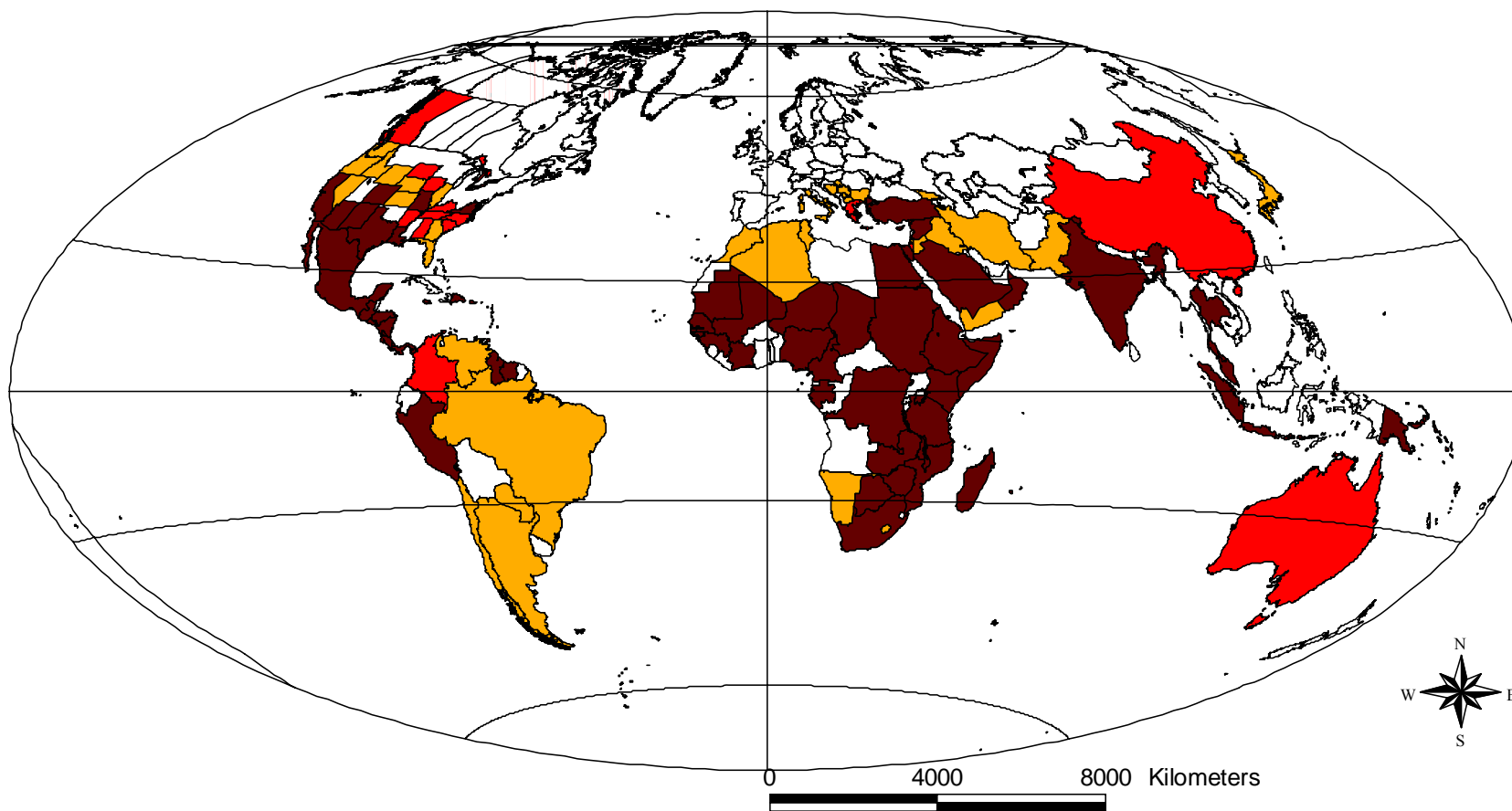
La fièvre catarrhale du mouton est une maladie infectieuse virale, non contagieuse, transmises par des insectes diptères de la famille des Ceratopogonidae et du genre *Culicoides*. Elle affecte cliniquement les ovins et, très rarement, les caprins et les bovins. Les infections inapparentes sont, en revanche, fréquentes chez de nombreuses espèces de ruminants domestiques ou sauvages (Delécolle & Schaffner, 2003).

Après avoir présenté les éléments de la FCM en tant que maladie, nous détaillerons les composantes du cycle de transmission en nous attachant plus particulièrement sur son vecteur biologique principal en Afrique, *Culicoides imicola*.

I.2.1. La maladie

I.2.1.1. Répartition géographique

La fièvre catarrhale du mouton a été décrite pour la première fois en Afrique du Sud (Hutcheon, 1880). Les aires d'endémie pour la FCM sont largement définies par des facteurs climatiques appropriés lesquels se situent principalement confinés aux régions tropicales et sub-tropicales (Verwoerd & Erasmus, 1994), c'est-à-dire environ entre les latitudes 35°S-40°N. En marge de cette zone d'endémie, la maladie évolue soit sous forme épidémique (Afrique sub-saharienne ou Amérique du Nord), soit sous forme d'incursions périodiques (Maghreb ou péninsule ibérique par exemple) (Gibbs & Greiner, 1994; Delécolle & Schaffner, 2003). La distribution de l'infection se superpose ainsi à la répartition spatiale et temporelle de ses vecteurs du genre *Culicoides* (Figure 7).



Situation épidémiologique vis-à-vis de la FCM

- Présence épisodique sous forme épizootique
- Infection localisée
- Infection largement répandue

Figure 7 : Répartition mondiale de la fièvre catarrhale du mouton en 2004

1.2.1.2. Le tableau clinique

L'incidence des signes cliniques de l'infection est très variable et est influencée par de nombreux facteurs comme la localisation géographique, l'espèce et la race, le climat, l'historique vaccinal des animaux (Gibbs & Greiner, 1994) et le sérotype viral impliqué (Delécolle & Schaffner, 2003). La maladie est très inhabituelle chez les races locales en zone d'endémie. L'infection inapparente se révèle souvent par l'introduction d'animaux naïfs comme sur l'île de la Réunion en 1979 et 2005 (Barré *et al.*, 1985; Bréard *et al.*, 2005).

L'extrême variabilité des manifestations cliniques non seulement entre les différentes espèces de ruminants mais également entre les différentes races de moutons est une des caractéristiques de cette maladie. Elle peut évoluer sous forme suraiguë, aiguë ou chronique et le tableau clinique est difficilement reproductible en conditions de laboratoire du fait notamment de l'influence des conditions environnementales sur le développement des symptômes (rayons UV, exposition au soleil) (Eramus, 1990; Verwoerd & Erasmus, 1994).

Le premier signe clinique est une forte élévation de la température (jusqu'à 42°C). Cette hyperthermie qui peut durer 4 à 8 jours est associée à de l'anorexie et de l'abattement. 24 à 48 heures après cette phase fébrile, des phénomènes congestifs, oedémateux et hémorragiques apparaissent. Une congestion des muqueuses buccales et nasales se développe en premier. Elle peut rapidement être accompagnée par une hypersalivation, un larmolement et un jetage nasal important (Delécolle & Schaffner, 2003). Un œdème de la langue et des lèvres peut s'étendre à



Edème sous maxillaire

l'ensemble de la tête (oreilles, paupières). Un œdème sous-maxillaire (« signe de l'auge ») marqué peut être également observé (Verwoerd & Erasmus, 1994). Dans les cas sévères, les lésions progressent jusqu'à l'ulcération des gencives, des lèvres, du museau et de l'ensemble de la cavité buccale. La cyanose de la langue qui a donné le nom anglais de la maladie (bluetongue) est alors habituelle mais inconstante. A ce stade, l'anorexie est fréquente. D'autres symptômes peuvent accompagner ce tableau clinique en fonction de la localisation des lésions : (i) locomoteurs avec des difficultés de déplacement et des boiteries, (ii) de posture avec des torticolis, des raideurs, un dos voussé etc., (iii) des atteintes pulmonaires et/ou digestives.

Dans la forme aiguë, la mort survient au bout d'une semaine. Les animaux survivants n'ont plus de valeur économique. Dans les formes frustes, les animaux se remettent totalement de l'infection.

Les signes cliniques et les lésions chez les bovins sont rares (Hourrigan & Klingsporn, 1975). Dans certains cas, des symptômes liés à une réaction d'hypersensibilité peuvent être observés (Delécolle & Schaffner, 2003). En Afrique du Sud, lors d'une année exceptionnellement humide, la FCM a été diagnostiquée sur des bovins dans différents endroits du pays (Barnard *et al.*, 1998). La morbidité et la mortalité étaient faibles. Les sérotypes 2, 3, 6 et 8 ont été impliqués dans cette épizootie (Gerdes, 2004).

L'apparition de la maladie clinique est liée à un déséquilibre dans le système virus/hôtes/vecteurs/environnement. Ainsi, afin d'entrevoir les interrelations existantes au sein du système et de mieux comprendre les mécanismes de transmission du virus, il est nécessaire de faire le point sur les connaissances acquises sur les différents acteurs de cette maladie.



Jetage nasal bilatéral, érosion du nez, hypersalivation



Érosion des lèvres, pétéchies

I.2.2. Les acteurs de la maladie

Comme la plupart des maladies transmises par des vecteurs, le cycle de transmission de la FCM serait complexe si on prenait en compte toutes les espèces vertébrées sensibles. Cependant, le virus étant essentiellement pathogène pour les ovins et la transmission étant le plus souvent limitée à une seule espèce principale de *Culicoides* dans une zone géographique donnée, le schéma de transmission de ce virus est finalement relativement simple en comparaison aux virus West Nile et de la fièvre de la vallée du Rift.

On peut distinguer deux compartiments d'évolution pour le BTV : (1) l'insecte vecteur et (2) les hôtes vertébrés capables de multiplier le virus, ces 2 compartiments étant inclus dans un environnement donné aux caractéristiques propres. Ainsi, le système de transmission du virus BT est influencé par 4 entités que nous allons détailler successivement : le virus, agent pathogène de la maladie, le(s) espèce(s) vectrice(s) du virus, les hôtes vertébrés et l'environnement.

I.2.2.1. L'agent pathogène

Le BTV est un virus à ARN double brin appartenant au genre Orbivirus au sein de la famille des Reoviridae (Verwoerd *et al.*, 1972). Vingt-quatre sérotypes (Figure 8) présentant des relations antigéniques plus ou moins étroites (Mellor, 2001) ont été identifiés par des tests de séroneutralisation et d'inhibition à travers le monde (Gorman, 1990).

Ces différents sérotypes ne permettent pas, le plus souvent, de protections croisées. Cependant, des réactions croisées au sein des 24 sérotypes existent ce qui laisse supposer que l'on a affaire à un continuum de souches virales plus ou moins éloignées (Gorman, 1990). Néanmoins, une protection vaccinale efficace contre la FCM nécessite de connaître le sérotype responsable des cas cliniques.

Ces sérotypes ont un effet pathogène plus ou moins marqué pour les moutons. En Afrique du Sud où 17 des 24 sérotypes connus ont été détectés, les sérotypes 1, 2, 3, 4, 6 et 10 sont connus comme ayant un index pathogénique élevé et un fort potentiel épizootique (Dungu *et al.*, 2004a).

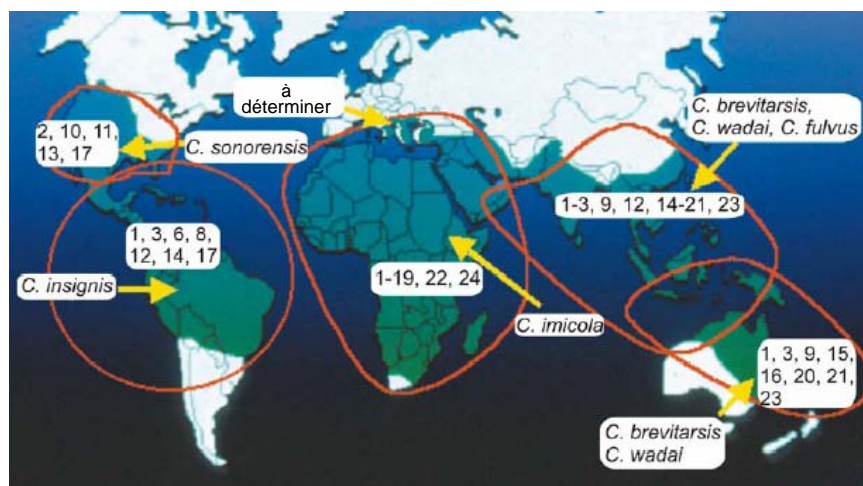


Figure 8 : Distribution mondiale des sérotypes du virus de la fièvre catarrhale du mouton et de ses principaux vecteurs (d'après (Tabachnick, 2004))

Les moucheron vecteurs s'infectent avec le BTV lorsqu'ils se gorgent sur un animal virémique. Si le vecteur est compétent, le virus remontera jusqu'aux glandes salivaires où il se multipliera avant de pouvoir être de nouveau transmis lors d'un repas de sang ; c'est la phase d'incubation extrinsèque du virus.

Cette phase de multiplication virale à l'intérieur du vecteur, grâce à laquelle il devient infectant, est plus ou moins rapide selon les conditions de température. Plus la température est élevée et plus la durée d'incubation extrinsèque est courte (Mullens *et al.*, 1995). Cette durée varie également en fonction du couple sérotype/espèce vectrice (Wittmann *et al.*, 2002). Une fois l'insecte infecté, il le reste toute sa vie (Mellor, 2001). Ensuite, la piqûre d'un seul moucheron infectant suffit à infecter un ruminant sensible.

1.2.2.2. Les espèces animales sensibles

Le virus de la FCM peut infecter toutes les espèces de ruminants, domestiques ou sauvages. Cependant, il convient de distinguer la maladie clinique de l'infection. En effet, ce sont essentiellement les ovins domestiques, notamment les races améliorées, qui expriment dans certaines conditions les signes cliniques de la maladie. Des forts taux de mortalités ont également été observés aux États-unis chez le cerf de Virginie (*Odocoileus virginianus*) (Howerth *et al.*, 1988), le bighorn (*Ovis canadensis*) (Robinson *et al.*, 1967) et l'antilope pronghorn (*Antilocapra americana*) (Thorne *et al.*, 1988).

Chez la plupart des animaux, la virémie est détectable 3 à 6 jours après l'infection selon la dose infectante et la localisation du point d'inoculation. La virémie chez les moutons dure habituellement de 6 à 10 jours et persiste rarement plus de 14 jours. Chez les bovins, la virémie semble persister plus longtemps (7-28 jours). La durée maximum de la virémie chez les autres espèces de ruminants semble varier de 10 à 50 jours (Mellor, 2001). Les animaux développent ensuite une immunité humorale (anticorps neutralisants) et cellulaire qui les protège contre le sérotype ayant induit cette immunité.

Parmi les ruminants domestiques, seuls les moutons développent des signes cliniques de la maladie notamment les races dites améliorées ou les populations ovines naïves. Les conséquences économiques directes concernent ainsi essentiellement cette espèce. Cependant, le poids économique de cette maladie sur les espèces bovines et caprines n'est pas négligeable. Il est lié aux restrictions commerciales et au coût des mesures de surveillance mises en place pour limiter la propagation de ce virus au sein de populations cliniquement sensibles.

1.2.2.3. Les insectes vecteurs

Le BTV est transmis presque exclusivement par la piqûre de certaines espèces de *Culicoides*, vecteurs biologiques de ce virus. Ce mode de transmission a été mis en évidence pour la première fois en 1943 par Du Toit au moyen d'expériences de laboratoire durant lesquelles il a infecté des moutons en inoculant un broyat de *Culicoides imicola* capturés sur le terrain et a infecté ces insectes avec les animaux virémiques (Du Toit, 1944a).

Un vecteur d'arbovirus est un arthropode capable de transmettre le virus d'un hôte vertébré à un autre par simple piqûre. L'OMS a édité des critères pour reconnaître un tel vecteur (WHO, 1967) :

- (1) détection de virus dans des spécimens sauvages visiblement non gorgés,
- (2) démonstration de la capacité de devenir infecté en se gorgeant sur un hôte vertébré virémique ou sur un substitut artificiel,
- (3) démonstration de sa capacité à transmettre biologiquement le virus par piqûre,
- (4) accumulation d'évidences de terrain confirmant l'association significative entre des arthropodes infectés et une population de vertébrés dans laquelle l'infection ou la maladie est présente.

Les *Culicoides* sont de petits diptères nématocères⁴ hémato-phages (1 à 4 mm) de la famille des *Ceratopogonidae* (Delécolle & Schaffner, 2003). Parmi les quelques 1250 espèces de *Culicoides* se nourrissant sur des mammifères ou des oiseaux, seulement quelques-unes sont des vecteurs avérés ou suspectés d'arboviroses. Les espèces se différencient entre elles essentiellement par les ornements clairs et sombres présents sur les ailes.



Figure 9 : Morphologie d'un *Culicoides*

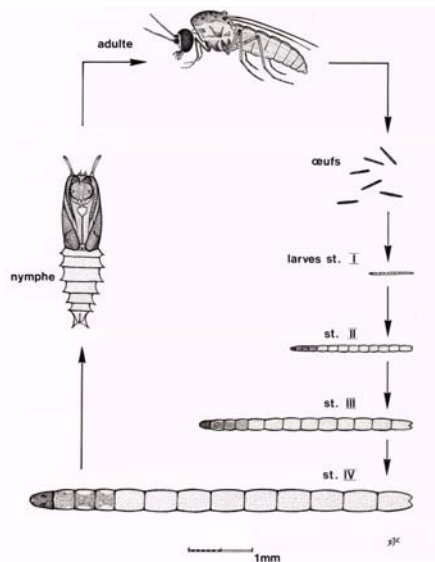


Figure 10 : Cycle de développement des *Culicoides* (schéma de J. C. Delécolle)

Le cycle biologique de ces moucheron inclut la ponte d'œufs, 4 stades larvaires, un stade nymphal et un stade adulte (imago). La durée des 4 stades larvaires varie de 4-5 jours à plusieurs semaines selon l'espèce et les conditions du milieu (Mellor *et al.*, 2000). La connaissance des paramètres régissant le cycle de vie d'un insecte (fécondité, durée des différents stades, fréquence des pontes etc.) et des facteurs les influençant est un point essentiel pour modéliser la dynamique d'une population dans un environnement donné. Malheureusement, ces insectes ont été très peu étudiés en conditions de laboratoire ou en conditions de terrain. L'espèce vectrice la plus étudiée est *Culicoides (variipennis) sonorensis*. Elle est impliquée dans la transmission du BTV en Amérique du Nord (Figure 8).

D'autres éléments ayant des répercussions sur la capacité des *Culicoides* à véhiculer des arbovirus sont importants à apprécier pour évaluer le risque de transmission et/ou développer des méthodes de lutte ciblées et efficaces :

- le rythme d'activité et les habitudes trophiques.

La plupart des *Culicoides* sont crépusculaires ou nocturnes, certains se nourrissant préférentiellement à l'intérieur (endophagie), d'autres à l'extérieur (exophagie).

- la capacité de dispersion.

On distingue alors la dispersion active qui varie de quelques centaines de mètres (Kettle, 1984) à 2-3 kilomètres selon les espèces (Lillie *et al.*, 1981) et la dispersion passive par des vents porteurs qui serait à l'origine de sa propagation dans les différentes îles du bassin méditerranéen.

- les gîtes larvaires et de repos.

L'habitat larvaire des *Culicoides* est très varié et plus ou moins spécifique selon les espèces mais les larves ont toutes besoin d'un substrat riche en matières organiques et humide pour se développer (Mullen, 2002).

- les préférences trophiques⁵.

A cause de leur petite taille et des habitudes nocturnes de la plupart des *Culicoides*, il est très difficile de collecter et d'identifier directement les *Culicoides* sur leurs hôtes. Des méthodes indirectes sont alors utilisées. Une indication de cette préférence peut être fournie par la présence d'un grand nombre de spécimens d'une espèce dans un piège posé à proximité d'un hôte particulier (Nevill & Anderson, 1972).

⁴ Insectes diptères (une paire d'ailes) avec de longues antennes articulées et des palpes maxillaires pendants.

⁵ Indique la préférence du vecteur pour une espèce hôte par rapport à une autre.

L'identification de l'origine du sang contenu dans des insectes gorgés est également possible mais cela suppose de pouvoir piéger un grand nombre de *Culicoides* gorgés.

Selon les régions du monde, les espèces de *Culicoides* impliquées dans la transmission du BTV sont différentes. Peu d'espèces peuvent être considérées comme des vecteurs avérés de la FCM, c'est-à-dire répondant aux 4 critères de l'OMS.

C. sonorensis est ainsi considéré comme l'espèce vectrice majeure en Amérique du Nord (Price & Hardy, 1954).

En Floride (Tanya *et al.*, 1992), dans les Caraïbes et en Amérique centrale (Greiner *et al.*, 1992), *C. insignis* est le seul vecteur avéré de la FCM.

En Australie, 4 espèces majeures semblent impliquées dans le cycle de transmission de la FCM : *C. wadai*, *C. fulvus* (zone très localisée), *C. brevitarsis* et *C. actoni* (Standfast *et al.*, 1985).

En Europe et en Afrique, *C. imicola* est le seul vecteur avéré de la FCM. *C. bolitinos* est suspectée dans certaines zones plus arides.

D'autres espèces sont également suspectées de jouer un rôle dans le maintien du virus en Europe : *C. obsoletus* (De Liberato *et al.*, 2005; Savini *et al.*, 2005) et *C. pulicaris* (Torina *et al.*, 2004) sont ainsi régulièrement citées comme des espèces pouvant prendre le relais sur *C. imicola* dans certaines zones. Dans les Balkans, la circulation du BTV9 a été mise en évidence sans que la présence de *C. imicola* n'ait pu être révélée à ce jour (Goffredo *et al.*, 2004).

En Corse, *C. imicola* est présent depuis les premiers cas de FCM. Cette espèce s'est même largement répandue sur l'ensemble de l'île entre 2002 et 2003 (Figure 11) avec une augmentation particulièrement nette des effectifs en Balagne (Nord-Ouest de l'île). Le rôle majeur de cette espèce pour la transmission du BTV reste donc la plus probable par rapport à d'autres espèces potentielles.

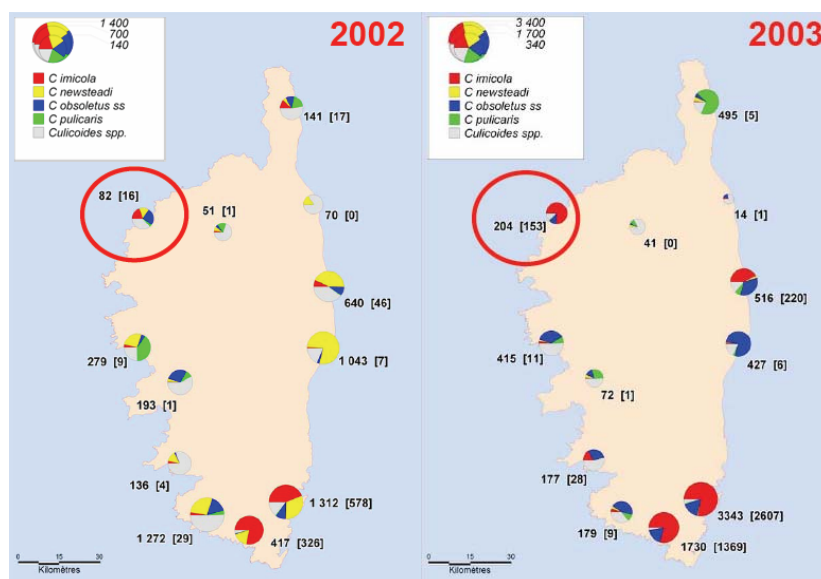


Figure 11 : Évolution de l'effectif moyen de femelles de *Culicoides* piégées par mois sur les 12 sites sentinelles de Corse entre 2002 et 2003 (entre crochets, [effectif de *C. imicola*], en cercle rouge, la Balagne)

Afin d'apprécier la dynamique saisonnière de *Culicoides imicola*, il faut pouvoir le capturer régulièrement et efficacement. Plusieurs types de pièges à *Culicoides* existent. Le choix d'une méthode de piégeage dépend de l'objectif de celui-ci : diversité des espèces, rythme d'activité nyctéméral, structure d'âge d'une population, suivi de l'abondance etc. (Anderson & Linhares, 1989).

En France, dans le cadre du plan de surveillance entomologique, le choix s'est porté sur un piège lumineux à Ultra-Violet (UV) modifié par Rieb (Rieb, 1982). Sa facilité d'utilisation à moindre coût permet de l'utiliser très largement. Ainsi, même si des biais d'échantillonnage pour ce type de pièges ont déjà été décrits (Bellis & Reid, 1996), il répond parfaitement aux objectifs du programme de surveillance développé dans la partie française du bassin méditerranéen : (i) estimer la répartition géographique de *C. imicola*, (ii) suivre l'évolution des effectifs de *C. imicola* dans le temps.

Cependant, afin de pouvoir comparer les résultats des piégeages avec les pays limitrophes et d'augmenter la sensibilité des piégeages, le piège lumineux dit de type Onderstepoort est également utilisé sur la bande littorale continentale française. Il a, en effet, été constaté sur le terrain que ce piège permet de capturer en général un plus grand nombre d'insectes. Des différences notables, bien que difficiles à quantifier, ont surtout été observées dans une zone où *C. imicola* est piégé de façon inconstante (pers. comm.).



Figure 12 : Les 2 types de pièges UV à succion utilisés pour la capture des *Culicoides* en France

Si *C. imicola* est incontournable pour la réalisation du cycle de transmission du BTV en Corse, les particularités de l'environnement dans lequel les populations de ce vecteur évoluent ont également une influence, à la fois sur le vecteur et le virus.

1.2.2.4. L'environnement

Dans un contexte de réchauffement climatique déjà amorcé puisqu'en Europe, la température moyenne globale a augmenté de 1,2°C entre 1900 et 2000 (European Environmental Agency, 2003), les maladies vectorielles sont au cœur des questionnements soulevés par ce changement climatique (Jetten & Focks, 1997; Githeko *et al.*, 2000; Gubler *et al.*, 2001) du fait du lien étroit qui existe entre les insectes et leur environnement.

Cette tendance observée de l'évolution du climat n'a pas seulement une influence sur la répartition des populations de *C. imicola* qui semble, pour la première fois, s'installer durablement au-delà du 40^{ème} parallèle (Purse *et al.*, 2005) mais peut également modifier la compétence⁶ et la capacité vectorielle⁷ de cette famille d'insectes.

Plusieurs paramètres clés de la dynamique de *C. imicola* varient ainsi en fonction de la température :

→ la longévité :

La plupart des adultes survivent moins de 3 semaines (Mellor *et al.*, 2000). Plus un vecteur vit longtemps, plus il pourra infliger de piqûres infectantes. L'élévation de la température a un effet négatif sur l'espérance de vie des *Culicoides* en diminuant le taux de survie journalier.

⁶ La compétence traduit le potentiel qu'a un vecteur à s'infecter, multiplier et retransmettre un virus donné. C'est une notion biologique.

⁷ La capacité vectorielle est une synthèse de tous les paramètres entomologiques nécessaires pour que la transmission d'un hôte vertébré à un autre puisse se faire : elle englobe la compétence, l'intensité du contact hôte/vecteur, la longévité du vecteur, paramètres qui sont sous dépendance d'un environnement donné. C'est une notion épidémiologique, équivalente aux taux de transmission pour les maladies contagieuses.

→ la durée de l'oogénèse :

La durée nécessaire pour que les œufs arrivent à maturation après le repas de sang représente l'étape la plus longue entre deux repas de sang. Une augmentation de la température diminue le temps nécessaire pour cette maturation. Ainsi, le vecteur pourra piquer plus fréquemment d'où une augmentation du contact hôte/vecteur.

→ l'abondance :

Des températures plus élevées favorisent le développement larvaire d'où un temps de génération plus court. Le nombre potentiel de générations au cours d'une saison est alors plus grand. En Espagne, les zones avec les températures moyennes mensuelles les plus élevées coïncident avec les zones où *C. imicola* est le plus abondant (Rawlings *et al.*, 1998).

→ la durée de la saison d'activité :

18°C est souvent cité comme la température moyenne seuil en dessous de laquelle les *Culicoides* ne sont plus actifs (Nevill, 1971; Sellers & Mellor, 1993). Si la période durant laquelle les températures moyennes journalières sont supérieures à cette valeur s'allonge, le nombre de générations possibles de *C. imicola* sera plus grand d'où un allongement de la période de transmission du virus. Un hiver doux favorise également la persistance de l'activité d'individus adultes comme cela a déjà été montré par Nevill (Nevill, 1971)

La virogénèse au sein de l'insecte étant thermodépendante, à températures élevées le temps nécessaire pour qu'un insecte devienne infectant est plus court. Le potentiel de transmission d'un arbovirus par un insecte vecteur est ainsi fonction de l'interaction entre l'accélération de la virogénèse et la diminution de la durée de vie de l'insecte (Mellor, 2004).

Certains auteurs suggèrent également qu'une élévation de la température pourrait augmenter la compétence d'autres espèces de *Culicoides* (Wittmann & Baylis, 2000; Mellor, 2004; Purse *et al.*, 2005).

D'autres facteurs climatiques et environnementaux sont régulièrement cités pour leur rôle sur la répartition et la dynamique des *Culicoides*. Ainsi, pour des températures favorables, la pluviométrie peut avoir un effet majeur sur la distribution et l'abondance de ces espèces (Mellor, 2004). Meiswinkel *et al.* (Meiswinkel *et al.*, 2004) ont montré en Afrique du Sud qu'une pluviométrie annuelle de 300 à 700 mm était favorable à *C. imicola*.

D'autres variables ayant un impact sur les gîtes larvaires peuvent également être déterminantes pour expliquer la répartition et l'abondance de telle ou telle espèce : le taux d'évaporation, le type de sol, la pente du terrain, la proximité avec des points d'eau permanents etc. (Mellor & Leake, 2000).

La vitesse et la direction du vent sont aussi des facteurs pouvant affecter la distribution des *Culicoides* adultes par une dispersion passive de ces derniers sur de larges distances (Braverman & Chechik, 1996; Alba *et al.*, 2004).

En fonction du sérotype, de l'espèce animale ou encore de l'espèce vectrice, on peut distinguer plusieurs types de cycle de transmission répondant au même mécanisme général mais avec des particularités biologiques propres. Le vecteur principal du BTV en Afrique et en Asie est *C. imicola*, vecteur qui a été mis en évidence par Du Toit dans les années 40 grâce à des expérimentations de laboratoire (Du Toit, 1944a). Une revue détaillée des connaissances acquises sur cette espèce vectrice est un préalable nécessaire pour une bonne compréhension du cycle de transmission du BTV impliquant cette espèce.

I.2.3. Le vecteur principal afro-européen : *Culicoides imicola*

Culicoides imicola est un *Culicoides* du groupe Avaritia (annexe F). Cette espèce est relativement facilement reconnaissable des autres espèces de *Culicoides* présentes en France grâce aux motifs visibles sur ses ailes. En effet, même si *C. imicola sensu stricto* fait parti d'un complexe comprenant une dizaine d'espèces dites jumelles (Sebastiani *et al.*, 2001b), en France elle est à ce jour la seule espèce de ce complexe. Le recours à des caractéristiques morphologiques nécessitant une phase de dissection et de mise en préparation pour l'observation au microscope n'est donc pas nécessaire en routine.

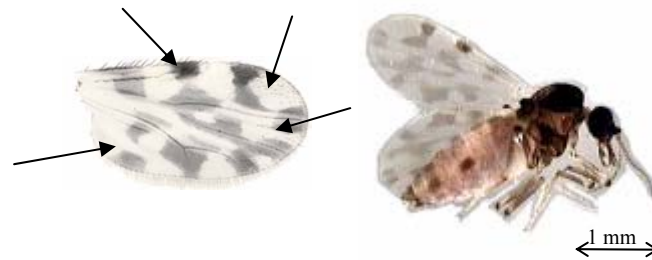


Figure 13 : Morphologie d'une femelle adulte de *Culicoides imicola*, complexe Avaritia et éléments caractéristiques de l'aile.

En plus du BTV, *C. imicola* est impliqué dans le cycle de transmission de plusieurs arboviroses d'importance vétérinaire comme le virus de la peste équine (African Horse Sickness ou AHS) (Mellor, 1993), le virus Akabane (Blackburn *et al.*, 1985) et des virus Palyam (Braverman & Swanepoel, 1981).

C. imicola est une espèce exophile⁸, nocturne avec, d'après la littérature, un pic d'activité communément au crépuscule et à l'aube (Braverman *et al.*, 1992) même si de nombreux facteurs peuvent influencer sur l'activité nocturne des adultes (intensité lumineuse, température, humidité relative, cycle lunaire etc.) (Mullen, 2002). Le rayon d'activité par dispersion active de ces moucheron est généralement faible mais varie beaucoup en fonction de leur succès à se reproduire, de la disponibilité en hôtes, de la topographie du terrain ou des conditions météorologiques. Ils peuvent se disperser ainsi de quelques centaines de mètres à 2 - 3 kilomètres (Walker, 1977a; Kettle, 1984; Mullen, 2002).

La localisation précise des gîtes larvaires de *C. imicola* n'est pas facile et paraît peu spécifique comme l'atteste sa large distribution en Afrique, dans le bassin méditerranéen et en Asie. Ces gîtes sont habituellement des sites humides, saturés en eau, et riches en matières organiques, ce qui englobe un large éventail de possibilités : débordement d'abreuvoirs d'animaux, bords de petits cours d'eau, zones irriguées etc. Le type de sol semble également jouer un rôle. En effet, *C. imicola* apparaît systématiquement absent des zones à sol sableux et/ou calcaire (Meiswinkel, 1997; Meiswinkel *et al.*, 2004). *C. imicola* est une espèce qui s'est très bien adaptée aux pratiques agricoles humaines. En Afrique du Sud, l'irrigation constante de prairies herbacées où sont maintenus des troupeaux semble être favorable au développement de larges populations de *C. imicola* (Venter *et al.*, 1996).

Peu de données spécifiques existent sur le développement larvaire de *C. imicola* et sur la longévité des adultes. Les seules références citent un taux de survie journalier de 0,7 à 0,9 en Afrique du Sud (Lefèvre, 2003) et de 0,8 au Kenya (Walker, 1977b). Un certain nombre de facteurs ont un effet négatif sur ce taux de survie : la température au-delà d'un certain seuil (Baylis *et al.*, 1998), des taux d'humidité faibles (Nevill, 1967), du vent supérieur à 3 m.s⁻¹ (Walker, 1977a).

⁸ Espèce piquant préférentiellement à l'extérieur.

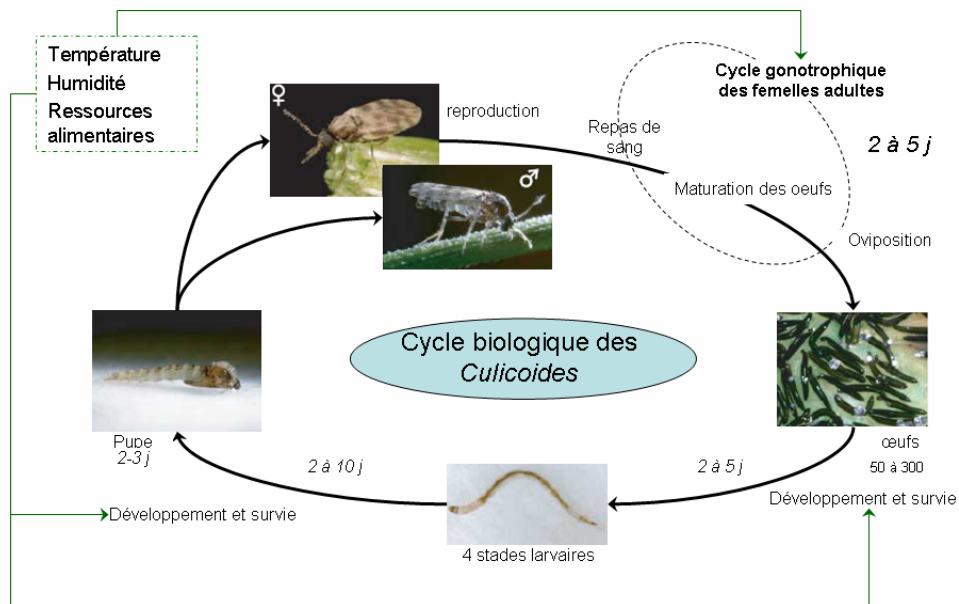


Figure 14 : Cycle biologique de *C. imicola* (d'après (Purse *et al.*, 2005))

Après le premier repas sanguin, la maturation des œufs dure 2 jours à 27°C et 3-4 jours à 22°C (Meiswinkel *et al.*, 1994). Les œufs sont pondus en grappe avec une moyenne de 69 œufs par grappe (Nevill, 1967) sans que le nombre de grappes soit connu. La durée du développement larvaire est de 7 à 25 jours puis un stade nymphal de 4 jours. Le temps entre 2 générations (d'œufs à œufs) est au minimum de 25 jours (Meiswinkel *et al.*, 1994). La fréquence des repas dépend essentiellement de la durée de l'oogénèse et varie de 2 à 5 jours en fonction des conditions de température (Braverman *et al.*, 1985; Baylis *et al.*, 1998). En général, au moins 2 générations évoluent pendant chaque saison d'activité. En Israël, il a été démontré que *C. imicola* pouvait produire jusqu'à 8 générations (Braverman & Linley, 1988).

Ainsi, comme les *Culicoides* en général, *C. imicola* est sensible aux paramètres environnementaux qui modulent son activité, influencent sa dispersion et déterminent la dynamique de la population. A ce jour, peu de relations quantitatives avec ces paramètres ont été établies pour cette espèce en régions tropicales et encore moins en régions tempérées. L'espèce vectrice de FCM la plus étudiée reste *C. sonorensis*.

L'introduction pour la première fois de cette maladie vectorielle en France métropolitaine a nécessité de mettre en place en Corse et sur le pourtour méditerranéen français un plan de surveillance adapté. Le chapitre suivant fait le point sur les objectifs, outils et méthodes de la surveillance épidémiologique de la FCM et les besoins en terme de recherche que cela suppose.



C. imicola femelle en train de se gorger

I.3. La surveillance épidémiologique : comment l'améliorer ?

L'étude d'une maladie à l'échelle de l'individu permet de disposer des éléments de base pour s'intéresser aux questions posées par celle-ci à l'échelle d'une population. Dans le cadre de cette thèse, nous nous sommes intéressés plus particulièrement aux besoins en terme de surveillance que la FCM a induit par sa présence récente en Europe.

I.3.1. Généralités

L'approche épidémiologique est une démarche essentielle en santé animale : elle permet de définir les modalités de surveillance des maladies animales et de déclenchement d'alertes sanitaires, l'analyse de leur évolution, l'identification des sources d'infection, des modes de transmission et des facteurs de risque, la définition des stratégies les plus efficaces ou les plus efficientes (meilleur coût/bénéfice) et l'évaluation de leur impact.

A partir de la situation épidémiologique d'une maladie sur un territoire donné et des connaissances existantes sur son cycle et sur son mode de transmission, une surveillance adaptée peut être envisagée.

I.3.1.1. Le cycle de transmission

La Figure 15 schématise le cycle de transmission du virus entre ces 2 compartiments et les facteurs-clés influençant cette transmission. D'autres facteurs environnementaux ont un effet indirect sur ce cycle du fait de leur action sur la biologie et la dynamique des populations de vecteur (cf. § I.2.2.4).

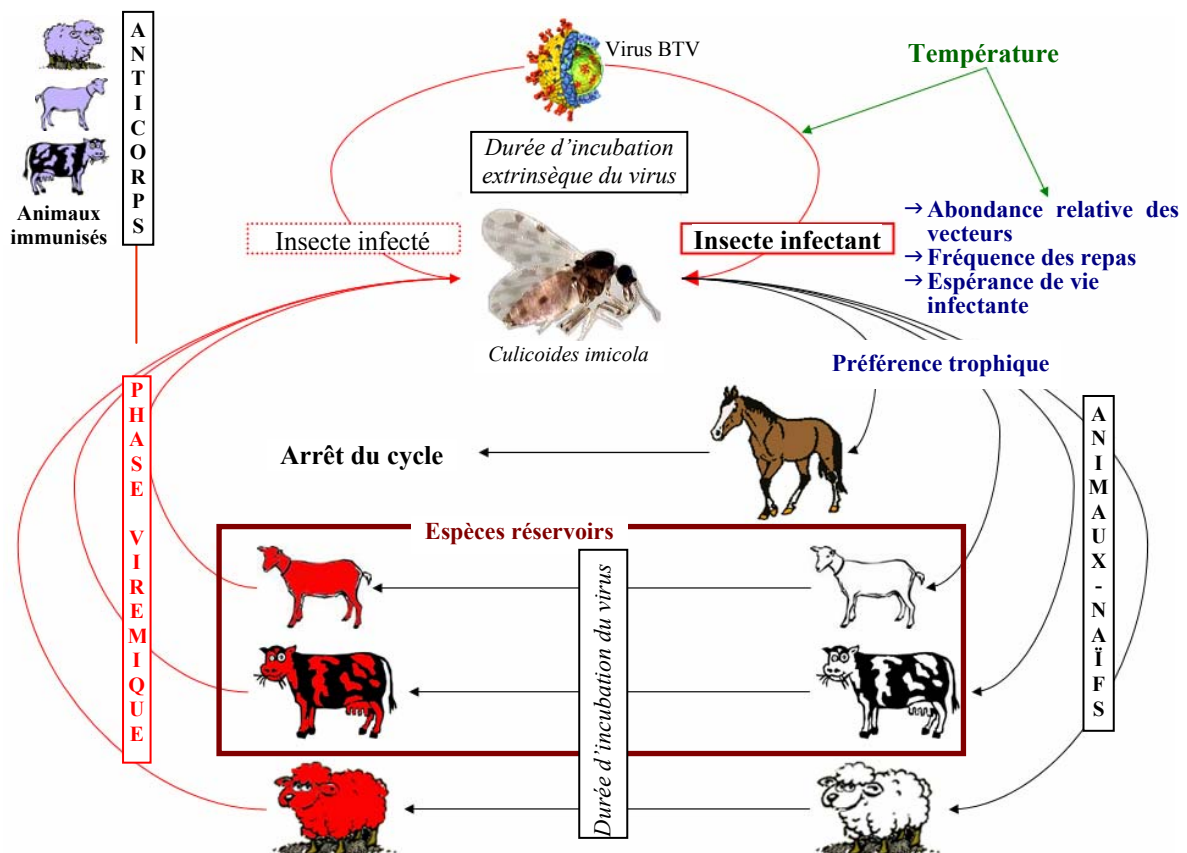


Figure 15 : Cycle de transmission du BTM entre une population de vecteurs et les espèces hôtes (sensibles et réservoirs) et facteurs d'influence (en bleu : facteurs liés à l'insecte, en vert : les facteurs liés à l'environnement).

Le vecteur est le lien indispensable pour permettre la circulation d'un virus d'un hôte à un autre. Ainsi, tous les facteurs favorables à l'installation, à l'endémisation ou à la dispersion des espèces vectrices sont autant de facteurs de risque pour l'expansion de la maladie dans de nouvelles zones géographiques. De même, les facteurs influençant positivement la dynamique du vecteur jouent également un rôle dans le cycle de transmission du BTV. En effet, plus le vecteur sera abondant, se gorgera fréquemment sur des hôtes sensibles et vivra longtemps, plus son potentiel à transmettre un virus sera grand. C'est pourquoi une meilleure compréhension de la dynamique des vecteurs et des facteurs qui l'influencent est primordiale pour apprécier l'évolution du risque de transmission d'arbovirus comme le BTV.

I.3.1.2. Les modes de dissémination

Comme nous l'avons vu précédemment, l'apparition de la FCM dans une nouvelle zone géographique peut s'expliquer de deux façons :

- importation d'animaux virémiques dans une zone où une espèce vectrice compétente est présente et cette population de vecteurs est capable,
- dissémination passive, survie et installation de vecteurs infectés dans une nouvelle zone géographique.

Cette dernière option suppose que les vecteurs trouvent des conditions favorables à leur survie pendant au moins le temps nécessaire à la transmission du virus.

Le premier cas de dissémination correspond à l'introduction du BTV4 en Espagne en Octobre 2004 à partir du Maroc (OIE, 2004b).

Le second cas constitue l'hypothèse la plus probable expliquant l'apparition de la FCM dans les îles de l'ouest méditerranéen (îles Baléares, Sardaigne, Corse).

La FCM est devenue rapidement, en ce début de 21^{ème} siècle, une menace sérieuse pour un bon nombre de pays européens. Pour faire face à cet enjeu économique et sanitaire, les pays membres de l'Union Européenne ont l'obligation de justifier qu'ils surveillent de manière efficace cette maladie sur leur territoire.

La FCM a la particularité d'être une maladie transmise par des insectes. Or, les pays européens ont très peu d'expérience pour traiter ce type de maladie. Nous allons voir, dans le point suivant, les besoins en terme de recherche qu'induit ce mode de transmission pour répondre aux objectifs de surveillance.

I.3.2. La surveillance de la FCM

La mondialisation des échanges des animaux et leurs produits s'est accompagnée progressivement de l'élaboration de règles visant à limiter les risques sanitaires qui y sont liés. A ce titre, dans le cadre de l'accord sur l'application des mesures sanitaires et phytosanitaires (accord SPS) les règles publiées dans le code zoosanitaire international de l'Office International des Épizooties (OIE) sont celles reconnues par l'Organisation Mondiale du Commerce (OMC), organisme qui régleme les échanges commerciaux au niveau planétaire. Au vu de l'évolution du code de l'OIE, on s'aperçoit que la surveillance épidémiologique des maladies animales s'est inscrite petit à petit comme un élément essentiel pour garantir durablement le niveau sanitaire des pays candidats aux échanges internationaux.

Ainsi, avoir des services vétérinaires de qualité suppose que les pays membres se dotent « de systèmes efficaces de surveillance des maladies animales et de notification, conformément aux dispositions du présent code terrestre, des problèmes sanitaires, quelque soit le lieu où ils surviennent. (...) Ils doivent aussi faire preuve en permanence d'une volonté d'amélioration de leurs performances en matière de systèmes d'information zoonitaire et de prophylaxie des maladies animales. » (OIE, 2004d). De plus, la version de 2004 du code de l'OIE introduit un chapitre particulier sur « les lignes directrices pour la surveillance de la santé animale » (OIE, 2005a) qui est venu compléter les normes recommandées pour la surveillance de maladies spécifiques. L'importance de disposer d'un système efficace de surveillance et de suivi des maladies animales et zoonotiques au sein des populations animales domestiques et sauvages capable de générer des informations fiables sur la situation de certaines maladies est désormais unanimement reconnue (Jebara, 2004).

Si les systèmes de surveillance ont démontré leur grande importance pour le contrôle et l'éradication des maladies animales (Roger *et al.*, 2004), leurs objectifs se sont élargis pour intégrer les nouveaux enjeux sanitaires liés notamment à l'émergence ou à la ré-émergence de maladies hautement pathogènes et/ou à fort potentiel de diffusion (SRAS, grippe aviaire, fièvre West Nile, fièvre de la vallée du Rift, péripneumonie contagieuse bovine, peste des petits ruminants). Les outils et méthodes disponibles pour la surveillance bénéficient également des avancées technologiques récentes (télé-détection⁹, Systèmes d'Information Géographique¹⁰, communication etc.).

La mise en place d'un programme de surveillance nécessite donc que ces objectifs soient définis ainsi que les outils et méthodes à appliquer ou à développer pour les atteindre.

I.3.2.1. Les objectifs de la surveillance :

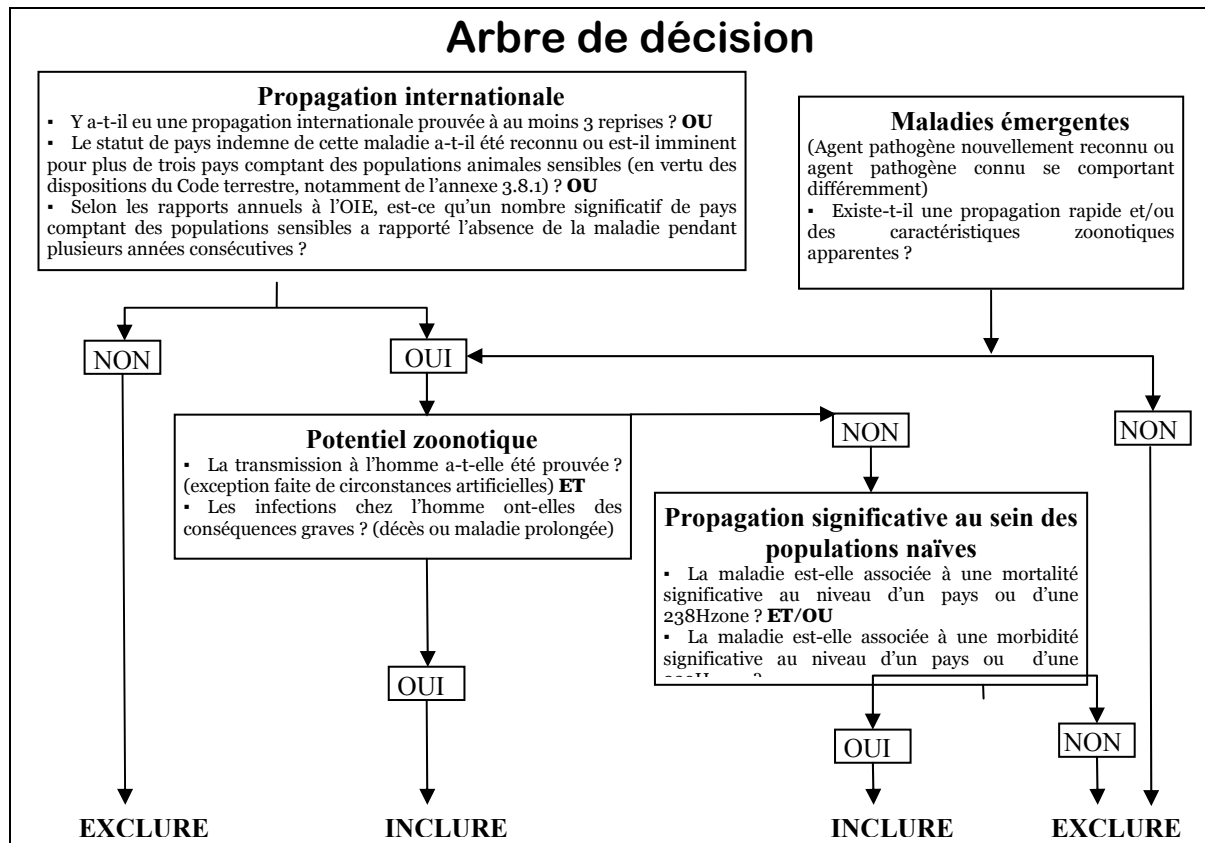
i Détection et description du phénomène sanitaire

Le rôle principal d'un système de surveillance est de **détecter et de décrire les changements de statut de maladies définies comme prioritaires** au niveau national et/ou international pour permettre la mise en place d'une réaction de lutte adaptée.

La surveillance ne se limite cependant pas forcément aux seules maladies présentes sur le territoire national. La capacité des réseaux de surveillance à détecter et notifier l'apparition de phénomènes inhabituels est ainsi devenue un élément extrêmement important (Jebara, 2004). Les pays peuvent ainsi être amenés à prouver qu'ils sont bien indemnes de telle ou telle maladie de la liste unique de l'OIE, liste qui rassemble les maladies transmissibles approuvées par le Comité international de l'OIE dont les critères de sélection sont présentés selon l'arbre de décision de la Figure 16. De plus, des analyses de risque régulières visant à déterminer la vraisemblance de l'introduction de maladies exotiques sont également recommandées dans le « Manual on the Preparation of National Animal Disease Emergency Preparedness Plans » de l'organisation des Nations Unies pour l'alimentation et l'agriculture (FAO) (FAO, 1999).

⁹ Ensemble des connaissances et techniques utilisées pour déterminer les caractéristiques physiques et biologiques d'objets ou de phénomènes par des mesures effectuées à distance, sans contact matériel avec ceux-ci. En pratique, le terme fait référence à l'acquisition, le traitement et l'extraction d'information sur l'environnement de la Terre.

¹⁰ Ou SIG, "système informatique de matériels, de logiciels, et de processus conçus pour permettre la collecte, la gestion, la manipulation, l'analyse, la modélisation et l'affichage de données à référence spatiale afin de résoudre des problèmes complexes d'aménagement et de gestion"



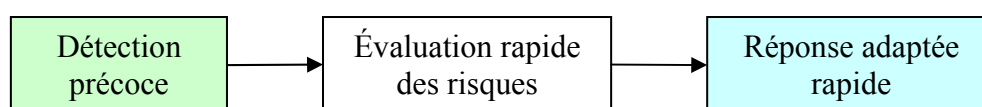
D'après le code zoosanitaire de l'OIE (2005)

Figure 16 : Critères d'inscription de maladies sur la liste de l'OIE

Cette dernière recommandation répond à la nécessité grandissante pour les états de disposer d'un système d'alerte précoce pour les maladies animales de la liste OIE. En effet, dans le contexte particulier de l'émergence et/ou de l'expansion de maladies comme les maladies vectorielles et afin de répondre efficacement à ces nouveaux enjeux sanitaires, il est important de se doter de systèmes capables de **détecter le plus précocement possible l'apparition de nouvelles maladies** afin de pouvoir **agir très rapidement**. L'intégration d'un **système d'alerte précoce** dans les réseaux de surveillance constitue désormais un enjeu majeur national et international.

ii Intégration d'un système d'alerte précoce dans le réseau de surveillance

Un système d'alerte précoce doit permettre la détection rapide de l'introduction, ou de la soudaine augmentation de l'incidence, de toute maladie animale qui a le pouvoir de prendre des proportions épidémiques et/ou causer de sérieux dommages socio-économiques ou de santé publique (Geering *et al.*, 1999). Il implique la collecte systématique et l'analyse d'informations provenant de zones à risque dans le but a) d'anticiper l'évolution d'épidémies potentielles, b) de développer des réponses adaptées, c) de présenter des éléments d'aide à la décision aux décideurs. Ce système peut être décomposé en plusieurs étapes (Figure 17).



d'après le National Invasive Species Council, Washington (Anonymous, 2003a)

Figure 17 : Étapes majeures d'un système d'alerte précoce

L'étape 1 consiste en un système de détection précoce des phénomènes sanitaires potentiellement à risque. D'après l'OIE (OIE, 2005a), ce système désigne « un système placé sous le contrôle des Services vétérinaires, destiné à détecter et à reconnaître précocement les maladies animales. Ce système doit se caractériser au moins par les éléments suivants :

- a. supervision suffisante des populations animales cibles par les services de terrain ;
- b. capacité à enquêter efficacement sur les maladies et à les notifier ;
- c. accès à des laboratoires capables de diagnostiquer et de différencier les maladies considérées ;
- d. existence d'un programme de formation à la détection et à la notification des événements sanitaires inhabituels, à l'intention des vétérinaires et des paravétérinaires. »

S'il est incontournable d'avoir défini au préalable les indicateurs pertinents à suivre, les informations émanant de ceux-ci doivent également pouvoir être rapportées, identifiées, vérifiées pour permettre une évaluation rapide des risques qu'ils incarnent (étape 2).

Enfin, la mise en place d'un système d'alerte précoce suppose également qu'une procédure visant à répondre rapidement et efficacement à l'alerte ait été prévue (étape 3).

Ainsi, pour être capable de donner une alerte précoce, le système doit s'appuyer sur des **indicateurs épidémiologiques fiables et sensibles**.

Compte tenu des avancées significatives dans le domaine de la modélisation des phénomènes de santé et en vue d'**anticiper** au maximum l'occurrence de tels événements, ces indicateurs peuvent par exemple être constitués par les paramètres du modèle de prédiction de la probabilité d'occurrence de telle ou telle maladie que l'on peut appeler des indicateurs du risque de transmission. Dans le cas du paludisme, ces indicateurs pourraient prédire à quel moment on peut s'attendre à une augmentation significative de la transmission de la maladie, 2 à 4 mois avant que l'épidémie ne se produise (Thomson & Connor, 2001). Cet indicateur repose notamment sur la prédiction de l'augmentation du taux d'inoculation entomologique¹¹ (Entomological Inoculation Rate ou EIR).

En effet, pour les maladies vectorielles, le vecteur étant un point incontournable de la transmission des agents pathogènes, la surveillance de ce compartiment épidémiologique peut constituer un point essentiel pour prédire les risques de maladie dans le temps et ou l'espace. On surveille en effet très en amont d'un foyer potentiel (Figure 18). Les objectifs de la surveillance doivent donc se situer à la fois au niveau de l'agent pathogène (virus) et du vecteur.

D'après le « International Strategy for Disaster Reduction » (ISDR) de l'Organisation des Nations Unies (ONU) qui gère une plateforme pour la promotion des systèmes d'alerte, un système d'alerte précoce complet et efficace comporte 4 éléments, allant de la connaissance des risques auxquels il convient de faire face à la préparation pour réagir à l'alerte précoce (ONU) :

1. Connaissance du risque : collecte de données systématiques et évaluation des risques
2. Suivi et services d'alerte : développement du suivi des dangers et des services d'alerte précoces
3. Dissémination et communication : communiquer les informations sur les risques et les alertes
4. Capacité de réponse : construire une capacité de réponse nationale et communautaire

¹¹ Cet indice mesure le niveau de transmission du paludisme dans une zone donnée. Il est calculé en multipliant le nombre de piqûres journalières moyennes reçu par les personnes par le pourcentage de femelles *Anopheles* avec des sporozoïtes (taux de sporozoïtes). Il s'agit ainsi d'un index strictement entomologique (relation vecteur-hôte et vecteur-virus).

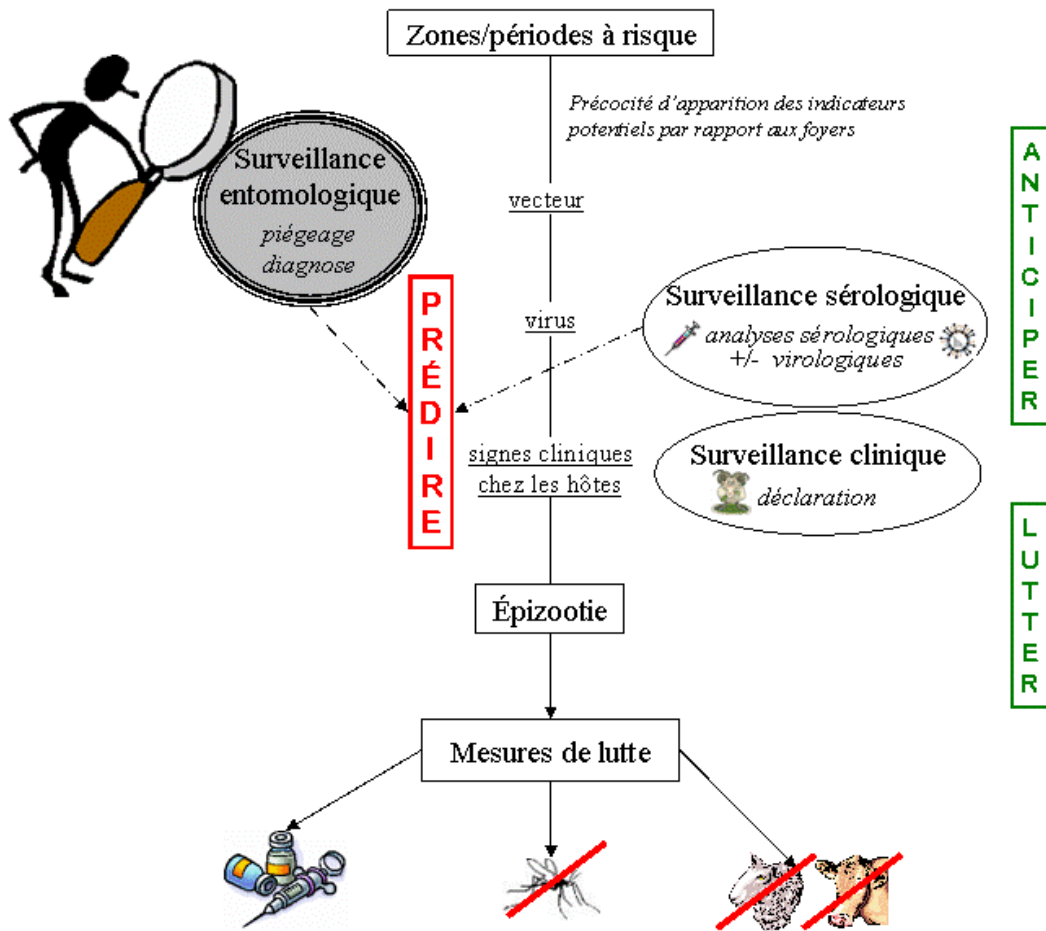


Figure 18 : Précocité d'apparition potentielle de trois composants détectables dans l'évolution de la fièvre catarrhale du mouton et surveillés par le réseau de surveillance mis en place en France (Corse et pourtour méditerranéen)

Depuis l'apparition des premiers foyers de FCM, le risque concernant cette maladie exotique est désormais pris en compte. Cependant, des inconnues demeurent concernant notamment l'identification des zones à risque et les facteurs qui les déterminent. De plus, il reste à identifier les données pertinentes pouvant être collectées afin de suivre et d'évaluer l'évolution de ce risque (point 1).

Le deuxième point soulève également un certain nombre de questions auxquelles il convient de répondre afin de prétendre à l'instauration d'un système d'alerte précoce sensible et efficace. On peut s'interroger tout d'abord sur la pertinence des paramètres suivis. Il est nécessaire également de disposer de modèles de prédiction solides. Enfin, il faut se demander si des alertes précises et opportunes peuvent être produites.

Au vu des ces éléments et afin d'améliorer la surveillance de la FCM en France, nous avons centré nos objectifs de recherche sur la détection précoce ce qui suppose d'une part de disposer des outils de détection et d'autre part de suivre des paramètres pertinents.

Les études présentées dans cette thèse ont été initiées en 2002, juste après les crises épizootiques de 2000 et 2001. Une partie des données (2^{ème} partie) ont ainsi été collectées dans le cadre du programme de surveillance développé en vue d'apporter des réponses rapides aux questions de gestion posées. Dans ce contexte, il apparaît opportun de rappeler les différences qui existent entre la surveillance épidémiologique, outil d'aide à la décision en matière de santé et la surveillance conduite pour répondre à des questions de recherche.

1.3.2.2. Surveillance épidémiologique et surveillance pour la recherche en épidémiologie : deux approches complémentaires mais distinctes

La surveillance épidémiologique étant une recommandation internationale forte, il est souvent plus facile d'obtenir des données de terrain à travers les réseaux de surveillance que de monter des protocoles de recherche *ad hoc* notamment en période de crise sanitaire. Cependant, il faut être conscient des écueils possibles liés à l'utilisation de tels jeux de données pour alimenter des questions de recherche. Ainsi, si ces deux types de surveillance permettent d'acquérir des données sur la situation épidémiologique de la maladie, leurs objectifs différents ne permettent pas de répondre aux mêmes questions.

	Réseau de surveillance épidémiologique	Surveillance pour la recherche en épidémiologie
Motif de la collecte des données	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Épidémiologie descriptive ▪ Détection d'une maladie 	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Épidémiologie descriptive : description du phénomène de santé observé ▪ Épidémiologie analytique : étude cas-témoins, étude de cohorte
Fréquence de la collecte	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Continue dans le temps 	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Limitée dans le temps
Méthode de collecte	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Procédures fixes ▪ Grand nombre de participants 	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Procédures adaptées aux hypothèses ▪ Faible nombre de participants
Quantité de données collectées	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Faible 	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Importante et données détaillées
Analyse des données	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Souvent simple 	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Souvent complexe
Diffusion des résultats	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Normalement rapide et régulière 	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Publications scientifiques

Tableau III : Différences entre un réseau d'épidémiosurveillance et un programme de surveillance pour la recherche en épidémiologie (Dufour & Hendriks, 2005)

Même si chacun de ces plans de surveillance constitue un outil pour la collecte de données, celles issues d'un réseau de surveillance épidémiologique sont rarement adaptées pour répondre à des questions particulières de recherche du fait notamment de la quantité et de la qualité des données. Néanmoins, elles peuvent motiver et alimenter la mise en place d'études épidémiologiques.

A l'inverse, les avancées en terme de recherche peuvent servir à améliorer le dispositif de surveillance et apporter des informations complémentaires pour aider aux décisions de lutte.

Le problème de l'utilisation de données issues d'une surveillance épidémiologique pour répondre à des questions de recherche est soulevé dans la deuxième partie du document. Il concerne particulièrement les maladies réglementées en France pour lesquelles des efforts de recherche sont encore nécessaires, comme c'est le cas des maladies émergentes vectorielles, et dont les premières sources de données proviennent de systèmes de surveillance.

Au vu des particularités de certaines zones françaises vis-à-vis de la FCM, la surveillance de cette maladie n'est pas homogène sur tout le territoire métropolitain d'où des objectifs de surveillance propres.

Après nous être attachés à présenter quels sont les objectifs recherchés par un réseau d'épidémiosurveillance dans le contexte d'émergence d'une maladie exotique, nous allons aborder les différentes méthodes disponibles pour détecter la présence de la FCM ou de ses variations d'incidence.

1.3.2.3. Les méthodes de surveillance :

Compte tenu du cycle épidémiologique, de la pathogénie et de la symptomatologie de la FCM, différents éléments peuvent être utilisés pour détecter la présence du BTV ou du risque de transmission de celui-ci. Un compromis entre la précocité d'apparition des signes et la fiabilité de ces indices doit être trouvé afin d'optimiser la surveillance.

Les trois principaux éléments pouvant être surveillés dans le cadre de la FCM sont présentés ci-dessous dans l'ordre décroissant de leur apparition chronologique, soit du plus tardif au plus précoce par rapport à la survenue d'une épizootie (Figure 18).

i La surveillance clinique :

La surveillance clinique vise à détecter les manifestations cliniques de FCM par un examen minutieux des animaux pouvant exprimer de tels symptômes c'est-à-dire essentiellement les ovins.

Dès lors que des signes cliniques évocateurs de FCM sont identifiés par un vétérinaire sanitaire, une déclaration auprès des services vétérinaires doit être faite. Parmi ces signes, on trouve :

- forte hyperthermie, abattement,
- ptyalisme,
- jetage nasal,
- hémorragies généralisées du tissu buccal et nasal,
- gonflement des lèvres, de la langue et de la mâchoire inférieure (signe de l'auge),
- +/- cyanose des muqueuses (langue bleue),
- +/- boiteries, torticolis, amaigrissement etc.

La détection d'animaux suspects de FCM peut se faire dans différents contextes :

- sur appel de l'éleveur,
- lors de visites du vétérinaire,
- dans le cadre d'une surveillance systématique, notamment lors d'une épizootie où des visites de contrôle peuvent être organisées dans les élevages à proximité d'un cas ou dans une zone plus large.

Historiquement, les foyers de maladies animales étaient d'abord mis en évidence au niveau local par la détection des signes cliniques.

La sensibilité de cette étape, dernier rempart avant la propagation inaperçue d'une épizootie, suppose que les éleveurs aient une bonne connaissance des signes cliniques évocateurs de la maladie et de ses conséquences socio-économiques afin qu'ils informent leur vétérinaire. Les vétérinaires doivent également être préparés à gérer la maladie. Cette préparation inclut :

- la reconnaissance des signes évocateurs de la FCM,
- une connaissance de base sur l'étiologie et l'épidémiologie de la FCM,
- une connaissance de la procédure à suivre pour déclarer et confirmer les cas suspects de FCM.

Or, la connaissance des prodromes d'une maladie exotique lors de sa première apparition n'est en général pas très élevée si un programme de préparation spécifique incluant les éléments cités précédemment n'a pas été mis en place.

En France, la conception d'un vade-mecum (DGA *et al.*, 2004) a été initiée à la suite de la première épizootie de 2000 afin d'informer largement les éleveurs et les vétérinaires sur cette maladie exotique apparue pour la première fois en Corse.

Cette formation s'est progressivement étendue au littoral continental avec la mise en place d'un dispositif de formation continue des vétérinaires sanitaires ayant une activité en pathologie ovine dans les régions Languedoc-Roussillon, Provence-Alpes-Côte-d'Azur, Midi-Pyrénées, Rhône-Alpes et Aquitaine (Direction Générale de l'Alimentation, 2005a).

Cependant, la découverte des premiers cas cliniques peut intervenir après une phase de circulation à bas bruit (Figure 19).

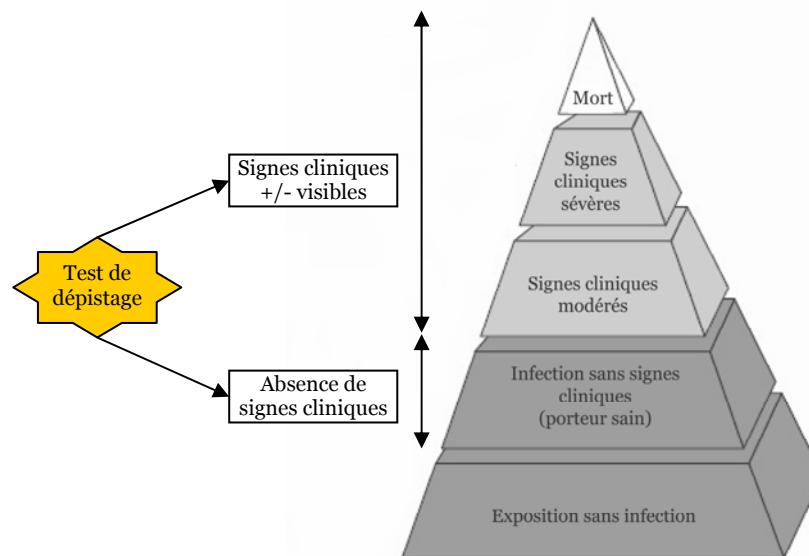


Figure 19 : De l'exposition à la maladie clinique : la phase cachée de l'infection

C'est pourquoi le retour à un test de diagnostic adapté peut apporter des éléments d'informations très importants, soit dans le cadre d'une épizootie, soit pour surveiller une éventuelle circulation à bas bruit du virus au sein de population considérée à risque.

ii La surveillance sérologique

Ce volet d'un plan de surveillance sanitaire peut être un atout important pour un pays cumulant des zones infectées et des zones *a priori* indemnes limitrophes de zones infectées.

La surveillance sérologique permet de détecter la présence d'anticorps spécifiques de la FCM. L'objectif de celle-ci dépend de la zone surveillée. Dans une zone ayant un historique récent de circulation virale, elle doit permettre de suivre l'évolution de cette circulation et notamment de détecter l'introduction de nouveaux sérotypes. En zone considérée à risque, elle est utilisée pour attester que la zone est toujours indemne de la maladie avec un certain niveau de confiance.

Pour être efficace, les aspects suivants doivent être pris en considération lors de la conception d'un tel programme de surveillance : l'épidémiologie de la maladie, l'unité d'analyse (animal ou troupeau), les sous-populations cibles (espèce, âge, type de fermes etc.), les caractéristiques du test et la taille de l'échantillon (Stark *et al.*, 2000).

Un point critique de cette analyse préalable est souvent le test de diagnostic utilisé dont les valeurs de performance n'ont le plus souvent pas été évaluées pour la population faisant l'objet de la surveillance, notamment lorsqu'il s'agit d'une maladie nouvelle pour la zone d'étude.

Ce point a ainsi fait l'objet d'une étude particulière visant à évaluer les caractéristiques de test de diagnostic sérologique utilisé en France dans le cadre de la surveillance de la FCM (Cf. II.1).

Dans le cas de maladies vectorielles, le professeur F. Rodhain insiste particulièrement sur la nécessité de « mettre en place (...) une surveillance épidémiologique, en particulier entomologique, qui soit fiable et permanente » (Rodhain, 1998).

iii La surveillance entomologique

En l'absence de vecteur biologique du virus, la FCM ne peut pas être transmise. Ainsi, tant que *C. imicola* n'est pas mis en évidence dans une zone, le risque de transmission du virus reste limité. Cependant, au vu de la dispersion rapide de *C. imicola* dans le bassin méditerranéen, une surveillance efficace de la répartition de ce vecteur suppose la mise en place d'un réseau permanent, au maillage réfléchi selon les risques, ciblé dans les zones géographiques apparemment favorables et ayant une fréquence de piégeage adaptée.

Cette surveillance permet de réévaluer en permanence les zones à risque de transmission du BTV en fonction de l'évolution de la répartition du vecteur, et de disposer d'informations aidant à la prise de décision lors de la détection d'une circulation virale (sérologies positives ou cas cliniques).

Les objectifs et le protocole de cette surveillance devront être adaptés selon la situation entomologique d'une zone : présence ou non du vecteur (Cf. 2^{ème} partie).

1.3.2.4. La surveillance de la FCM en France

La mise en place d'un réseau de surveillance nécessite que les objectifs clairs et adaptés au contexte épidémiologique soient définis au préalable afin de recourir aux bons outils et de mettre en place des méthodes de suivi appropriées.

En France, on se situe dans le cas singulier d'une zone insulaire où la FCM est présente et une zone continentale proche sans circulation de la maladie. On distingue donc deux types de réseaux (Figure 20) :

- Un réseau d'épidémiosurveillance en Corse où le virus est présent,
- Un réseau d'épidémiovigilance¹² sur le pourtour du bassin méditerranéen où la présence du BTV (Bluetongue Virus) n'a jamais été mise en évidence.

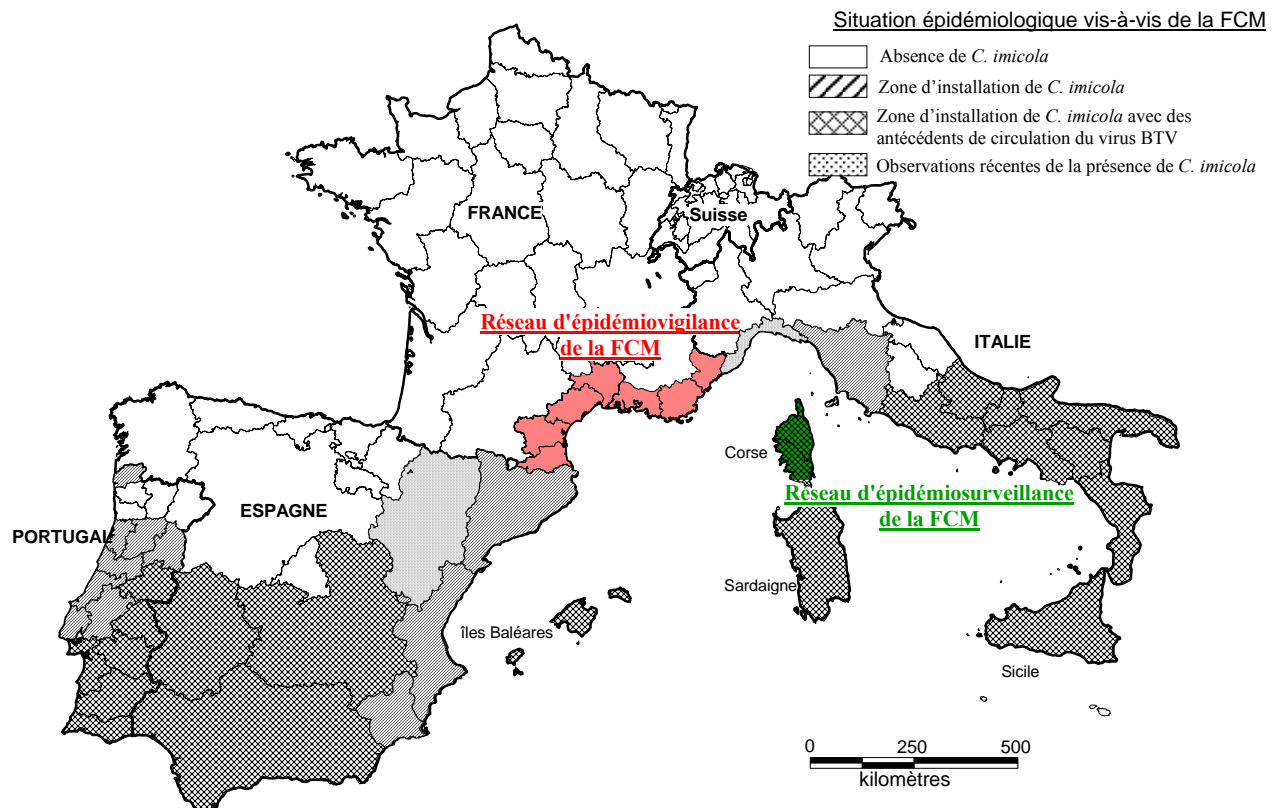


Figure 20 : Les deux types de réseaux de surveillance de la fièvre catarrhale du mouton en France métropolitaine

¹² = partie de l'épidémiosurveillance qui a pour objet de **décélérer l'apparition** d'un nouveau phénomène pathologique dans une population définie, que ce soit une maladie exotique (introduite à partir d'un autre pays) ou une maladie véritablement nouvelle. En anglais, on parle de « monitoring & surveillance ».

Le statut épidémiologique différent de ces deux zones s'est décliné sur le terrain par la mise en place d'un protocole de surveillance distinct. L'expérience acquise grâce aux analyses des résultats obtenus a permis de faire évoluer progressivement le dispositif général de surveillance.

Ainsi, sur la base de l'évolution des résultats de la surveillance clinique, entomologique et sérologique menée dans le pourtour du bassin méditerranéen, la France a été progressivement découpée en plusieurs zones en fonction du risque d'apparition de la maladie (Figure 21) :

- zone infectée par le virus et le vecteur *C. imicola*,
- zone de présence de *C. imicola* sans le virus
- zone périphérique à des zones où le virus et/ou le vecteur sont présents.
- zone de risque d'implantation de *C. imicola*.

Pour chacune de ces zones, des objectifs de surveillance propres ont été définis. Au vu de ces objectifs et des données disponibles, les plans de surveillance ont été formatés pour répondre aux spécificités du terrain.

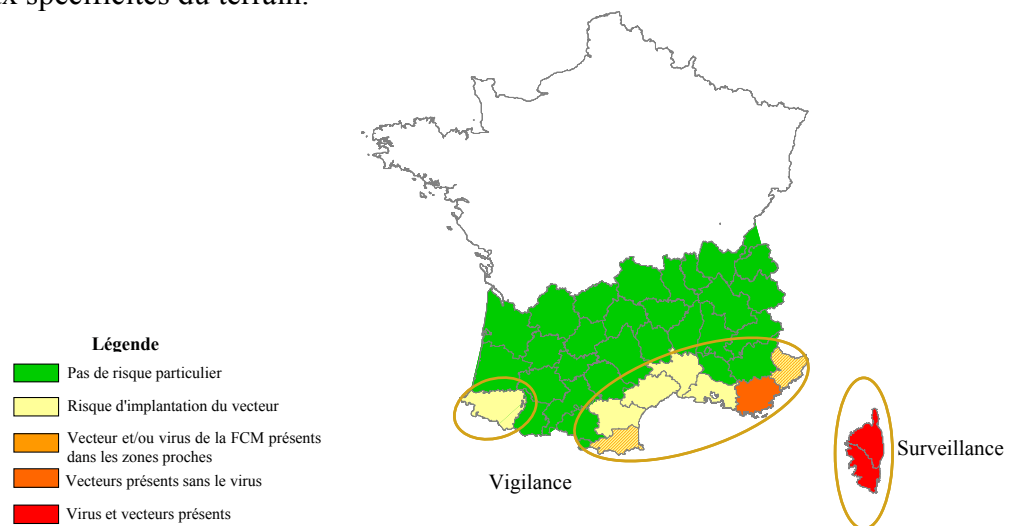


Figure 21 : Les différentes zones à risque d'occurrence de la fièvre catarrhale du mouton en fonction des situations épidémiologiques et entomologiques en juillet 2006

i Des objectifs de la surveillance différents en Corse et sur le pourtour méditerranéen

Le Tableau IV récapitule les objectifs de la surveillance en fonction de la zone surveillée. La surveillance mise en place vise avant tout à répondre aux questions de gestion posées par cette maladie. Dans les 2 zones, elle se décompose en trois volets : clinique, de laboratoire et entomologique. Chaque protocole tient en compte des données pouvant être collectées sur le terrain et de l'expérience acquise par l'analyse rétrospective des résultats antérieurs.

Le dispositif de surveillance mis en place d'une part dans la zone infectée par le virus de la FCM et d'autre part dans la zone périphérique est présenté ci-dessous. L'objectif commun du réseau de surveillance de la FCM en France est d'apporter une aide pour décider quelles sont les options de lutte les mieux adaptées à la réalité épidémiologique de la FCM.

	CORSE Zone infectée	BANDE LITTORALE CONTINENTALE Vecteur absent Vecteur présent ou proche	
VIRUS	<i>Objectifs</i>		
	<ul style="list-style-type: none"> • <u>Détection des cas cliniques de FCM.</u> • <u>Détection</u> de la circulation virale sachant que la <u>population ovine est vaccinée.</u> 	<ul style="list-style-type: none"> • <u>Détection des cas cliniques de FCM.</u> • <u>Détection</u> de la circulation du virus au sein d'une <u>population animale naïve.</u> 	
	<i>Protocole</i>		
	<ul style="list-style-type: none"> – Déclaration obligatoire des cas suspects de FCM auprès des services vétérinaires 	<ul style="list-style-type: none"> – Formation des éleveurs à la reconnaissance des symptômes évocateurs de FCM 	
	<ul style="list-style-type: none"> – Suivi de la séroconversion des bovins en élevage (2002), puis – Suivi sérologique mensuel des veaux de moins d'un an à l'abattoir (2003-...) – Suivi sérologique mensuel de 4 cheptels caprins 	<ul style="list-style-type: none"> – Analyses sérologiques de 150 sérums par département prélevés lors de la campagne de prophylaxie hivernale (2002-2006) 	<ul style="list-style-type: none"> – <u>Suivi mensuel</u> de 5 élevages de ruminants dans les départements 83, 06, 64 et 66 (2005-..)
VECTERUS	<i>Objectifs</i>		
	<ul style="list-style-type: none"> • Suivi de l'évolution temporelle des effectifs de <i>C. imicola</i> 	<ul style="list-style-type: none"> • <u>Détection</u> de la présence de <i>C. imicola</i> 	<ul style="list-style-type: none"> • Suivi de l'<u>extension</u> de <i>C. imicola</i>
	<i>Protocole</i>		
	<ul style="list-style-type: none"> – Piégeages mensuels sur 12 sites sentinelles définis en 2002 	<ul style="list-style-type: none"> – Piégeages mensuels sur 30 sites sentinelles redéfinis chaque année 	<ul style="list-style-type: none"> – Mission de piégeages en juin et septembre selon un transect adapté

Tableau IV : Objectifs de la surveillance en fonction de la zone et du statut vis-à-vis du BTV et du vecteur *C. imicola*.

ii Programme de surveillance de la FCM en Corse

La surveillance de la FCM en Corse est venue compléter la stratégie de lutte vaccinale mise en place dès 2001 sur l'île de Beauté (annexe C). Après 4 épizooties de FCM et au vu de la vaccination annuelle du cheptel ovin corse, l'objectif principal de la surveillance au niveau des animaux est de détecter l'éventuelle circulation du BTV et de déterminer, si elle est mise en évidence, quel sérotype est impliqué.

Différentes méthodes ont été appliquées successivement impliquant la redéfinition annuelle des protocoles de suivi depuis 2002.

Au vu des contraintes opérationnelles et des résultats mitigés du suivi sérologique biennuel du cheptel bovin (Cf. II.2) mis en place en 2002, le programme de surveillance a été redéfini en 2003.

Un suivi sérologique mensuel (de mai à septembre) de 4 cheptels sentinelles caprins a ainsi été initié en 2003 en complément du suivi sérologique mensuel de veaux de moins d'un an prélevés en abattoirs et occasionnellement au sein des élevages. Après l'introduction du sérotype 4 en 2003, un second contrôle par un test de séroneutralisation des sérums bovins et caprins positifs a été organisé afin d'identifier le sérotype en cause.

Si le programme de vaccination déployé depuis 2001 a montré son efficacité contre le sérotype 2, il ne prémunit pas contre l'introduction d'autres sérotypes. De plus, la vaccination annuelle de tous les élevages ovins est de plus en plus difficile à faire accepter auprès des éleveurs. En effet, la multiplication des injections vaccinales liées à la présence de plusieurs sérotypes (2, 4, 16), la remise en cause de l'innocuité du vaccin, l'absence de cas cliniques en 2005 entraînent une baisse de motivation des éleveurs. Cependant, il reste difficile d'imaginer que la Corse soit acceptée et gérée comme une zone d'endémie à l'instar de l'île de la Réunion. La persistance de la circulation d'un tel virus si proche du continent français entretient en effet le risque d'introduction de ce virus dans les départements du pourtour méditerranéen. En limitant une telle circulation, on réduit le risque d'introduction passive de vecteurs infectés depuis la Corse. La surveillance sérologique chez les jeunes bovins reste donc d'actualité. Elle permet d'avoir une appréciation au moins qualitative de la circulation virale. La poursuite du suivi des caprins sentinelles risque lui d'être rapidement compromis du fait de la très forte prévalence désormais atteinte dans ces 4 élevages.

A cette surveillance sérologique et clinique s'ajoute la surveillance entomologique de 12 sites sentinelles répartis sur l'ensemble de l'île. Des piégeages y sont réalisés tous les mois depuis 2002. Ce dispositif permet de suivre l'évolution moyenne des populations de *C. imicola* et de l'ensemble des *Culicoides* capturés. Les résultats de ces captures sont régulièrement mis à jour sur un site Internet (<http://blue-tongue.cirad.fr>) permettant à quiconque de s'informer sur la situation entomologique en Corse.

Le dispositif de surveillance de la FCM en Corse répond clairement à des problématiques de gestion. Il ne permet pas de répondre à des questions de recherche que ce soit au niveau des facteurs de répartition de la maladie ou du vecteur ou des facteurs déterminants la (ré-) apparition de cas cliniques. Cependant un certain nombre d'enseignements ont été acquis au cours des 5 dernières années de gestion de la FCM en Corse. Ils ont été pris en compte lors de la définition du plan d'urgence de la FCM publié en février 2005 (Direction Générale de l'Alimentation, 2005b).

Bien que les départements continentaux du pourtour méditerranéen n'aient révélé jusque là aucun cas clinique de FCM, cette zone littorale est depuis la première épizootie corse considérée comme à risque de FCM du fait notamment de sa proximité avec la Corse (180 km au minimum). Au vu de l'évolution de la répartition du virus et du vecteur *C. imicola*, ce risque a été revu annuellement et adapté aux nouvelles circonstances.

iii Programme de surveillance de la FCM sur le pourtour méditerranéen

La surveillance sur le pourtour méditerranéen est basée à la fois sur une surveillance sérologique des ruminants et sur une surveillance entomologique. Ces deux approches complémentaires évoluent ensemble, l'une motivant les objectifs à atteindre par l'autre.

La surveillance sérologique a débuté en 2001 par le contrôle de bovins prélevés lors de la campagne de prophylaxie hivernale 2001-2002. Un total de 133 élevages avait alors été testés par ELISA de compétition. Le plan d'échantillonnage a ensuite été revu au moins une fois par an en se basant sur les résultats de l'année précédente. Il est apparu très vite que le nombre d'animaux testés à la fin d'une enquête était largement en deçà du nombre demandé (Tableau I). De plus, certaines zones géographiques étaient sous-représentées malgré les mentions spéciales des notes de service¹³ insistant sur la nécessité de prélever « des animaux appartenant à des élevages différents (...) afin d'obtenir une représentativité maximale des différents communes du département ».

¹³ Notes internes des services vétérinaires français précisant, par exemple, les conditions d'application d'un texte réglementaire.

En 2002, la surveillance sérologique sur des bovins d'élevages a été complétée par l'analyse de bovins (ou d'ovins) prélevés mensuellement en abattoirs. Au vu du faible nombre d'animaux analysés, cette méthode de collecte d'échantillons n'a pas été poursuivie.

A partir de la campagne de prophylaxie hivernale de 2002-2003, la sélection des sérums à tester vis-à-vis de la FCM a été réalisée directement par les laboratoires agréés par l'État.

La démonstration de l'installation d'une population de *C. imicola* dans une zone très localisée du Var fin 2004 a justifié le renforcement, dès 2005, de la surveillance sérologique dans le département du Var avec le suivi mensuel de 5 cheptels de ruminants. Cette surveillance renforcée a été étendue aux départements limitrophes avec l'Espagne (Pyrénées-Orientales) et l'Italie (Alpes-Maritimes).

Ce dispositif n'a pas permis, à ce jour, de révéler d'animaux positifs aux anticorps de la FCM. Seuls 4 douteux issus de 2 élevages différents ont été détectés en 2003. Cette découverte avait motivé à l'époque le contrôle de tous les animaux de l'élevage d'origine et une enquête entomologique avait été réalisée dans les alentours des 2 élevages concernés. Sur la base des éléments entomologiques et sérologiques, la suspicion avait été levée.

Période de l'étude	Échantillon demandé	Nombre d'animaux testés
2001	→ Choix aléatoire de cheptels lors de la campagne de prophylaxie hivernale (06, 11, 13, 30, 34, 66)	✓ 129 élevages contrôlés, ✓ 3308 bovins testés
Début 2002	→ 21 élevages par département en LR et PACA (04, 06, 11, 13, 30, 34, 66, 83)	✓ 61 élevages contrôlés ✓ 1 860 bovins testés
Août à novembre 2002	→ 450 ruminants par mois prélevés dans 8 abattoirs du bassin (150 par zone géographique : 04, 06, 83 / 13, 30, 84 / 13, 34, 66)	✓ 827 bovins et 716 ovins ✓ En moyenne 308 par mois ✓ 4 douteux, 2 dans le Vaucluse et 2 dans le Var
Novembre 2002 à avril 2003	→ 21 élevages par département en LR et PACA (campagne de prophylaxie hivernale)	✓ Seulement 48 élevages contrôlés ✓ 985 bovins testés ✓ 4 départements (06, 13, 30, 34)
Novembre 2003 à avril 2004	→ 150 sérums par département (04, 06, 11, 13, 30, 34, 66, 83, 84) sélectionnés de manière aléatoire par le laboratoire département vétérinaire (LDV).	✓ 435 élevages contrôlés ✓ 914 bovins testés ✓ 101 en moyenne par département
Novembre 2004 à avril 2005	→ 150 sérums par département (04, 06, 11, 13, 30, 34, 66, 83, 84) sélectionnés de manière aléatoire par le LDV.	✓ 490 sur 1350, ✓ Variation de 0 à 150 selon les départements, ✓ Seulement 18 dans le var (83)
Novembre 2005 à avril 2006	→ 150 sérums par département (04, 06, 11, 13, 30, 34, 66, 83, 84) sélectionnés de manière aléatoire par le LDV.	✓ <i>Données manquantes</i>
Mai à novembre 2005	→ Dans 06, 66 et 83 : suivi sérologique mensuel de 10 animaux de 5 cheptels	✓ Totalité des prélèvements dans le Var
Mai à novembre 2006	→ Dans 06, 64, 66 et 83 : suivi sérologique mensuel de 10 animaux de 5 cheptels	✓ Traitement en cours

Tableau V : Correspondance entre le nombre d'échantillons demandés dans le cadre de la surveillance sérologique des bovins adultes du pourtour méditerranéen et le nombre d'animaux testés.

La surveillance entomologique consiste en la pose de pièges lumineux à *Culicoides* une fois par mois sur un certain nombre de sites dits sentinelles. Ces sites ont été choisis parmi les élevages de ruminants ou des lieux hébergeant des chevaux. Le nombre de sites sentinelles est passé de 19 en 2002 à 30 en 2005. En effet, la découverte et la confirmation de l'installation d'une population de *C. imicola* dans le Var et la présence récente de ce même vecteur en Catalogne a conduit à mettre en place un dispositif de surveillance renforcé dans les départements du Var, des Alpes-Maritimes et des Pyrénées-Orientales.

De plus, depuis 2005, des enquêtes entomologiques ponctuelles sont réalisées pour délimiter la zone d'extension de *C. imicola* dans le Var.

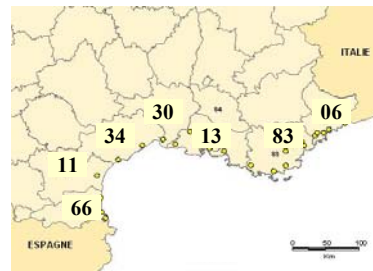


Figure 22 : Localisation des 30 sites de piégeages mensuels des *Culicoides* sur le littoral méditerranéen fonctionnels depuis 2005

La pertinence et l'efficacité de la surveillance entomologique sur le littoral méditerranéen ont été prouvées par la détection répétée en Octobre 2004 de quelques spécimens de *C. imicola* sur un site sentinelle du Var. Cependant, la preuve de la présence d'une population de *C. imicola* n'a été apportée qu'à la suite d'une enquête entomologique plus large (annexe D). Cette surveillance permet ainsi de donner l'alerte mais ne répond pas à un certain nombre de questions plus spécifiques.

Cette surveillance apporte également de précieuses informations pour orienter la surveillance sérologique compte tenu du fait qu'en l'absence de vecteurs la transmission ne peut avoir lieu.

Qu'on le regrette ou qu'on le promeuve, l'utilisation de la modélisation en épidémiologie animale est de plus en plus courante. La FCM n'a pas échappé à cette tendance et quelques modèles visant à améliorer les capacités de surveillance de cette maladie en Europe ont été développés. Après une introduction sur ce qu'est et doit être un modèle pour l'épidémiologie, nous allons présenter ces modèles et leurs limites pour répondre à certaines questions au niveau local.

I.3.3. L'utilisation de modèles comme outil pour améliorer la surveillance de la FCM

I.3.3.1. Qu'est-ce qu'un modèle, à quoi sert-il et comment le construit-on ?

Le dictionnaire Robert définit au sens scientifique un modèle comme étant une représentation simplifiée d'un processus ou d'un système. Un modèle est une représentation théorique d'une situation réelle. Un modèle mathématique, basé sur un certain nombre d'*observations* et d'*hypothèses*, cherche à fournir la meilleure description possible du phénomène étudié. Un modèle mathématique contient essentiellement deux types d'éléments : des *variables*, directement ou indirectement observables, concernant le phénomène à étudier et des *paramètres*, qui lient les variables entre elles au sein du modèle. D'une façon générale, l'objet d'un modèle est de fournir une réponse à une question ou à un problème posé. C'est la question qui doit déterminer la construction du modèle.

Trois points sont à retenir :

1. Le modèle est lui-même un processus. L'avantage de ce processus est qu'on l'a construit soi-même. On le connaît donc parfaitement et on peut l'étudier facilement.

2. Le modèle est une représentation appauvrie de l'objet, puisqu'elle concerne seulement certaines de ses caractéristiques.

3. Le choix de celles-ci revient au concepteur du modèle. Ce choix est déterminant pour aboutir à un modèle répondant à l'objectif fixé et doit être fait avec le maximum d'attention. Plus leur nombre est élevé, plus le modèle sera compliqué à construire, paramétrer et utiliser.

On distingue plusieurs types de modèles selon sa structure.

Les *modèles statistiques* sont basés sur des relations empiriques entre des données d'entrée et des observations en sortie d'un processus. Ils permettent de quantifier des relations et de tester des hypothèses les concernant (ex : effet d'un gène sur un caractère phénotypique), de quantifier l'effet de différents facteurs dans un processus (ex : effet de la température sur la durée du cycle extrinsèque d'un arbovirus), d'estimer des risques (ex : risque de maladie dans une population), d'identifier et de caractériser des structures dans les données (ex : identification d'une structure spatiale dans une épidémie), etc.

Les *modèles mécanistes* nécessitent une connaissance parfaite de la structure du système et des lois qui le régissent ainsi qu'une quantification des différentes variables du système. Les connaissances (biologiques, physiques, sociales, etc.) que l'on a sur le processus sont intégrées sous différentes formes : analytiques dans les modèles à base d'équations différentielles ou aux dérivées partielles, qualitatives ou symboliques (intégration de connaissances d'expert), ou multi-agents (SMA) lorsque l'on veut modéliser les interactions entre agents (« acteurs »). Ce type de formalisation permet de décrire des processus, de les intégrer dans un même système (ex : intégration des différents processus impliquant des flux de matières en écophysiologie), de hiérarchiser des processus, de faire de l'expérimentation virtuelle, d'évaluer l'efficacité d'une stratégie (ex : lutte contre une maladie), d'identifier des lacunes dans les connaissances, etc.

Les *modèles conceptuels* décrivent le concept physique du système par une représentation plus simple en utilisant des équations semi-empiriques mais ayant un sens physique et contenant des paramètres qui ont ou non une interprétation physique.

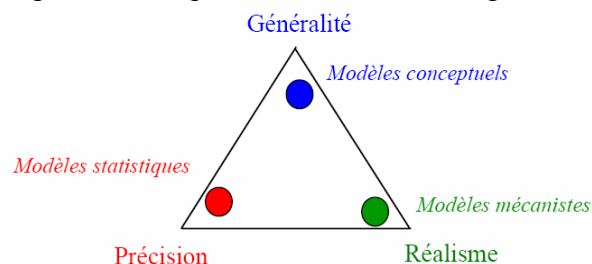


Figure 23 : Le triangle de Levins (Levins, 1966)

Un classement basé sur les variables du modèle et leurs représentations comme des variables déterminées ou aléatoires est également possible.

Les *modèles déterministes* décrivent ce qui se passe « en moyenne » dans une population. En épidémiologie des maladies infectieuses, les individus sont classés dans des compartiments représentant leur statut vis-à-vis de l'infection et le passage d'un compartiment à un autre est possible par application d'un taux de transition moyen ayant une valeur fixe.

Les *modèles stochastiques* incorporent la variabilité et/ou les incertitudes existantes sur un ou plusieurs paramètres internes du modèle. Les liens entre les variables du modèle ne sont pas fixes mais correspondent à un processus aléatoire. Les variables correspondent à une loi de distribution de probabilité définie en fonction du processus stochastique en jeu.

Ainsi, dans un modèle déterministe, la force d'infection (Figure 24) correspondra à une valeur fixe représentant la force d'infection moyenne alors que dans un modèle stochastique, elle sera représentée par une loi de distribution de probabilité.

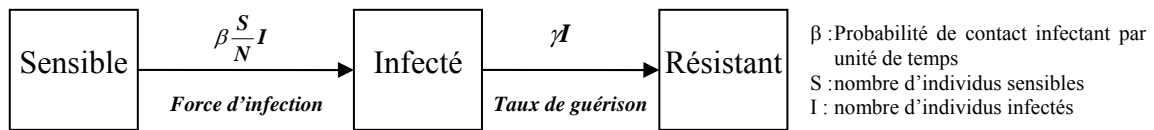


Figure 24 : Modèle à compartiment de type « SIR »

Des modèles plus complexes/complets peuvent combiner des modèles déterministes et stochastiques.

Les modèles peuvent être utilisés pour répondre à différents objectifs :

✦ Représenter le réel

La première fonction d'un modèle est de représenter la réalité. Cette fonction apparaît dès la phase de construction du modèle. Cette dimension descriptive du modèle n'est en rien négligeable ou accessoire même si elle ne met pas en jeu des connaissances pointues concernant les techniques de modélisation. Quelles variables utiliser pour décrire l'état du système ? Quelles lois lient ces variables entre elles ? Quels sont les paramètres à introduire ? Ces questions sont primordiales. Le modélisateur doit recueillir les informations des spécialistes (soit directement, soit par leurs publications). Il doit, si possible en interaction avec eux, synthétiser les connaissances disponibles sur le sujet, connaissances d'origines souvent diverses : réunir les informations, les trier et en retenir l'essentiel. Un premier modèle, même « brut », permet ainsi de repérer les lacunes.

✦ Comprendre le Réel

Une fois assemblées les différentes briques du modèle, (et une fois le modèle validé) le comportement émergent du modèle permet, par équivalence, de comprendre ce qu'il y a derrière ce que l'on observe du système réel. Suivant Jorgensen (Jorgensen, 1994), cette fonction explicative permet quatre types d'études :

1. la surveillance du système ;
2. l'étude des propriétés du système pour comprendre les effets des variations des paramètres sur le comportement émergent et interpréter l'état du système ;
3. la mise en évidence des carences des connaissances actuelles (un paramètre jouant un grand rôle peut par exemple être mal connu) ;
4. le test d'hypothèses pour vérifier si elles conduisent à un comportement réaliste du système.

✦ Prédire le réel

Enfin un modèle peut permettre d'anticiper le comportement à venir du système réel. Il s'agit de répondre à la question : connaissant l'état du système aujourd'hui et si les paramètres sont tels et tels, que se passera-t-il ?

Cette dimension prédictive est la finalité du modèle lorsqu'il est conçu comme un outil d'aide à la décision.

Il n'existe pas une seule méthode pour la conception des modèles. Pourtant, le processus de modélisation passe par une succession d'étapes méthodologiques liées entre elles et indispensables pour la mise en oeuvre d'un modèle. Comme le montre la Figure 25, la modélisation est formée essentiellement de 4 grandes étapes : la définition du projet de modélisation, le développement du modèle, l'analyse du modèle, et enfin l'utilisation du modèle. L'existence des rétroactions entre ces différentes étapes fait de la modélisation une procédure itérative pour assurer un bon fonctionnement du modèle vis-à-vis des objectifs précisés.

En partant du constat que *C. imicola* est indispensable à la circulation du virus de la BTV au moins dans la zone la plus occidentale de l'Europe, des modèles ayant pour objet les vecteurs de la FCM ont été développés. L'objectif de ces modèles est d'améliorer la surveillance en prédisant, soit la répartition du vecteur, soit les zones à risque d'occurrence de la maladie. Les paramètres environnementaux peuvent être obtenus, soit à partir de stations de mesure terrestres, soit à partir d'images satellitales (Patz *et al.*, 1998; De La Rocque *et al.*, 2004b; Thomson *et al.*, 2006).

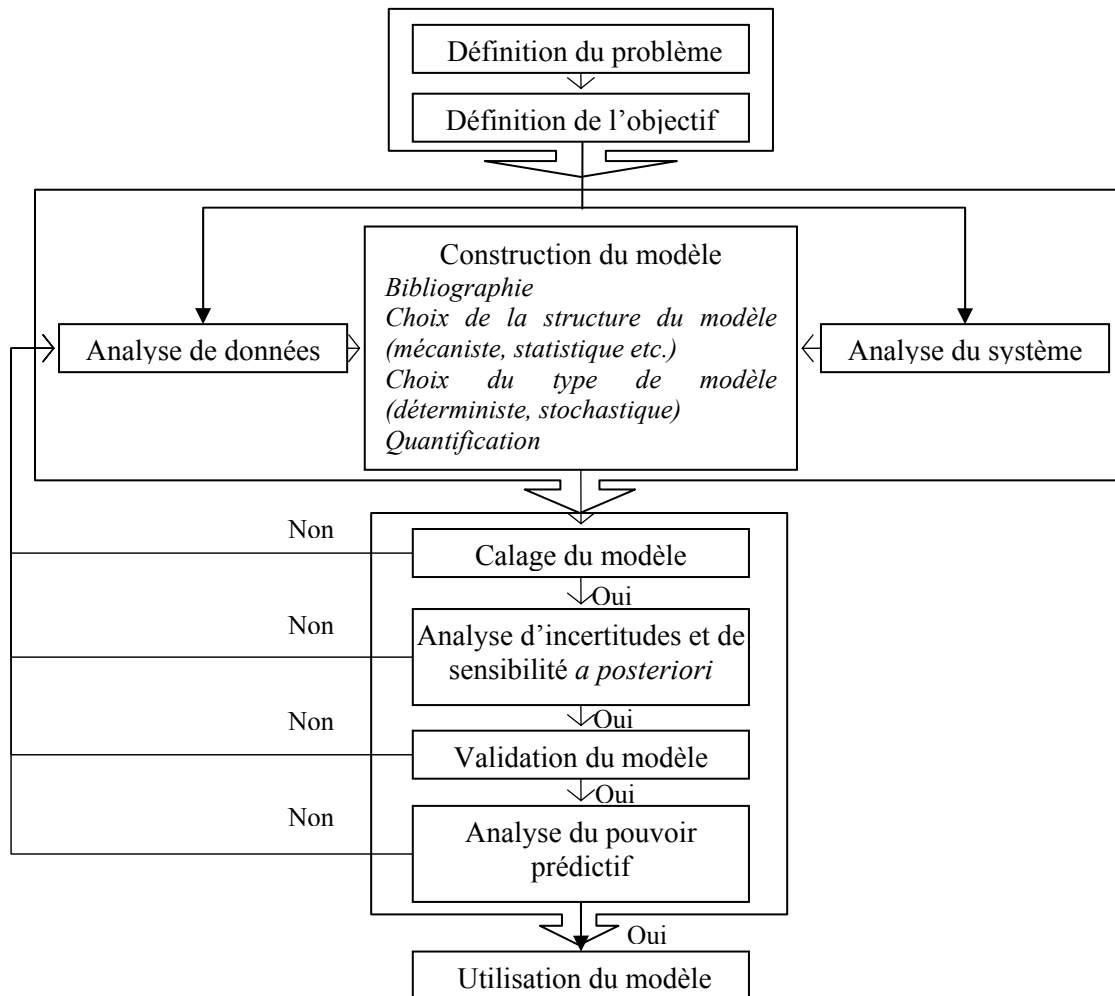


Figure 25 : Méthodologie de modélisation d'un système et de mise en œuvre du modèle

1.3.3.2. L'analyse de sensibilité des modèles

L'analyse de sensibilité consiste à déterminer, quantifier et analyser comment réagissent les sorties d'un modèle (*outputs*) à des perturbations sur ses variables d'entrée (*inputs*). Elle informe sur la façon dont se répercutent les incertitudes d'entrée sur les variables de sortie (Saltelli *et al.*, 2000b). L'analyse de sensibilité permet notamment de :

- i) déterminer quelles sont les variables qui contribuent le plus à la variabilité de la réponse du modèle. Connaissant les variables d'entrée les plus influentes, on saura sur quels paramètres agir pour augmenter significativement la robustesse du modèle.
- ii) déterminer quelles sont au contraire les variables les moins influentes. Il sera possible de les considérer comme des paramètres déterministes, en les fixant par exemple à leur espérance, et ainsi d'obtenir un modèle plus *léger* avec moins de variables d'entrée.
- iii) évaluer la robustesse des estimations de risque et d'aider à identifier les besoins en terme de recherche et de jeux de données à collecter (Frey & Patil, 2002).

Généralement, une analyse de sensibilité s'effectue en faisant varier certains paramètres d'un modèle autour d'une valeur connue déterminée, tout en gardant fixes les autres facteurs au cours de la simulation. Le but de ce processus est d'arriver à identifier les paramètres d'entrée du modèle les plus sensibles, c'est à dire ceux pour lesquels une simple variation peut entraîner des changements considérables dans les sorties du modèle (Saltelli *et al.*, 2000a).

Cette analyse a ainsi un double objectif :

- ✓ Identifier les paramètres internes et les variables d'entrée prépondérants d'un modèle,
- ✓ Estimer l'incertitude attachée au résultat.

Plusieurs méthodes d'analyse de sensibilité existent. On distingue les méthodes mathématiques, les méthodes statistiques et les méthodes graphiques (Frey *et al.*, 2002).

Les méthodes mathématiques impliquent le calcul de l'*output* pour un petit nombre de valeurs des paramètres d'entrée dans l'intervalle de leurs valeurs possibles. La sensibilité est alors généralement décrite en terme de changements relatifs dans l'*output*. Ces méthodes sont utiles pour évaluer les *inputs* les plus importants (Frey *et al.*, 2002).

Les méthodes statistiques nécessitent de recourir à des simulations pour évaluer l'effet de la variance des *inputs* sur la distribution de l'*output*. Selon la méthode, un ou plusieurs *inputs* peuvent varier en même temps. Ces méthodes permettent d'étudier les interactions parmi différents *inputs*. Elles sont largement utilisées pour les modèles stochastiques. Parmi les plus communément utilisées, on peut citer la méthode par coefficient de régression paramétrique (Pearson) ou non (Spearman), par analyse de régression, *et cetera*.

Les méthodes graphiques permettent d'avoir une indication visuelle de la façon dont un *output* est affecté par les variations des *inputs*. Elles peuvent être utilisées comme méthode de sélection avant une investigation plus approfondie du modèle ou pour représenter les interdépendances complexes entre *inputs* et *outputs*.

1.3.3.3. Les modèles climatiques

Les premières tentatives visaient à établir, à une échelle continentale, une relation entre la distribution de *Culicoides* vecteurs de BTV et des facteurs environnementaux (Sellers & Mellor, 1993). Elles étaient basées sur les conditions de température nécessaires pour la transmission du BTV en hiver (Sellers & Mellor, 1993).

Les modèles climatiques existant actuellement pour la FCM dans le bassin méditerranéen ont été développés à la fois à partir de données météorologiques (Wittmann *et al.*, 2001) et satellitaires à basse résolution spatiale (Baylis *et al.*, 2001; Tatem *et al.*, 2003; Purse *et al.*, 2004c).

Le modèle de Wittmann *et al.* (2001), développé pour la péninsule ibérique, compare l'altitude et des variables météorologiques (température, déficit de saturation et précipitations mesurés entre 1931 à 1960) de 16 sites où *C. imicola* était présent avec 14 sites où le vecteur n'avait jamais été identifié. Le modèle de régression logistique en résultant a permis de prédire 83% de la distribution de *C. imicola* dans cette zone. Ce modèle incluait la température moyenne du mois le plus froid et du mois le plus chaud, le nombre de mois avec une température moyenne supérieure ou égale à 12,5°C mais ne comportaient pas de variables liées aux précipitations.

Ce type de modèle suppose une interpolation des données pour pouvoir réaliser des prédictions dans les zones non couvertes par des relevés de terrain. Des modèles faisant appel à des données spatialisées issues des capteurs AVHRR (Advanced Very High Resolution Radiometer) embarqués sur des satellites NOAA (National Oceanic and Atmospheric Administration) ont permis de passer outre cette étape.

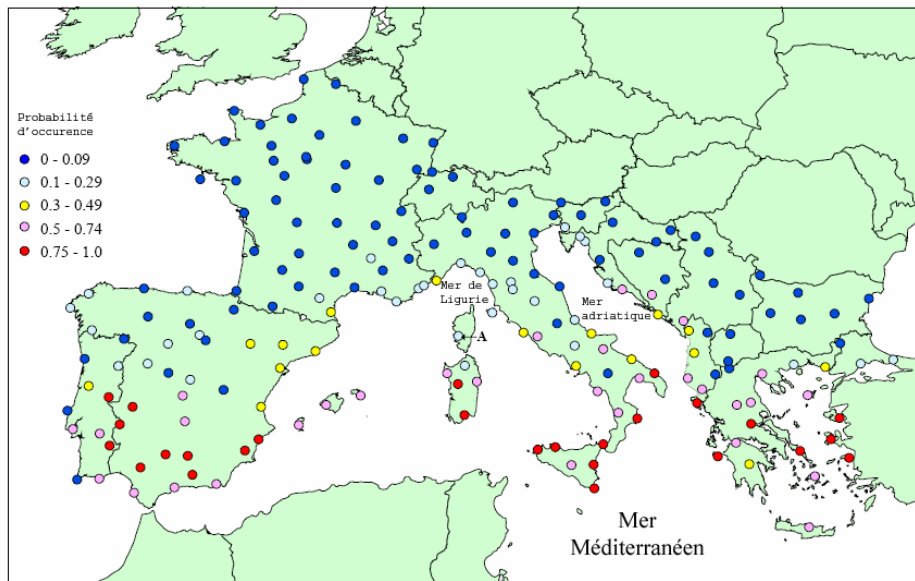


Figure 26 : Aptitudes de sites situés en Europe à accueillir *C. imicola* sur la base d'un modèle de régression logistique établi à partir de données météorologiques de la péninsule ibérique (Wittmann et al., 2001)

Un premier modèle de Baylis *et al.* (1998) (Baylis & Rawlings, 1998) a mis en évidence, au Maroc, une relation positive entre l'abondance de *C. imicola* relevée sur 22 sites et le NDVI (Normalized Difference Vegetation Index) minimum annuel, indice qui est corrélé avec l'humidité du sol, les précipitations et la biomasse végétale (Campbell, 1996).

Deux autres études ont ensuite confirmé la pertinence des variables climatiques issues d'images satellitales de différentes résolutions (pixel de 8×8 km : (Baylis *et al.*, 2001) ; 1×1 km : (Tatem *et al.*, 2003)) pour prédire la distribution de *C. imicola* à l'échelle du bassin méditerranéen. Une analyse discriminante non linéaire a été utilisée pour identifier parmi l'altitude et 40 variables climatiques quel était le meilleur modèle qui subdivisait la péninsule ibérique en différentes zones selon l'abondance observée de *C. imicola*. A partir de ces modèles, des prédictions de présence/absence de *C. imicola* ou de son échelle d'abondance probable ont été réalisées sur d'autres zones géographiques.

Si ces modèles permettent de prédire des zones où *C. imicola* est effectivement présent (îles Baléares, Sicile, Sardaigne, Lazio, Toscane etc.), la zone de la Corse est très mal prédite par ces modèles issus de données entomologiques de la péninsule ibérique. Le modèle de Tatem *et al.* (2003) a alors été revu en intégrant des données entomologiques corses (Figure 27).

Le développement de ce type de modèles suppose de disposer d'un grand nombre de données entomologiques pour inclure un large éventail de profils environnementaux. Un niveau de résolution trop faible limite également la précision du modèle (Purse *et al.*, 2003). Les résultats du modèle de Wittmann et al. (2001) ne correspondent ainsi pas totalement aux résultats des piégeages faits en Italie (Calistri *et al.*, 2003).

Des données relatives au type de sol et à la répartition des espèces animales pour lesquelles *C. imicola* a une préférence trophique ne sont pas incluses dans ces modèles bien que des relations fortes avec ce type de paramètres aient déjà été suggérées (Meiswinkel *et al.*, 2004). La saisonnalité de *C. imicola* n'a, de plus, pas été prise en compte.

Le dernier modèle développé en Italie intègre plus de données environnementales de différentes sources : index d'aridité, environnement lithologique et type d'occupation du sol (Conte *et al.*, 2004).

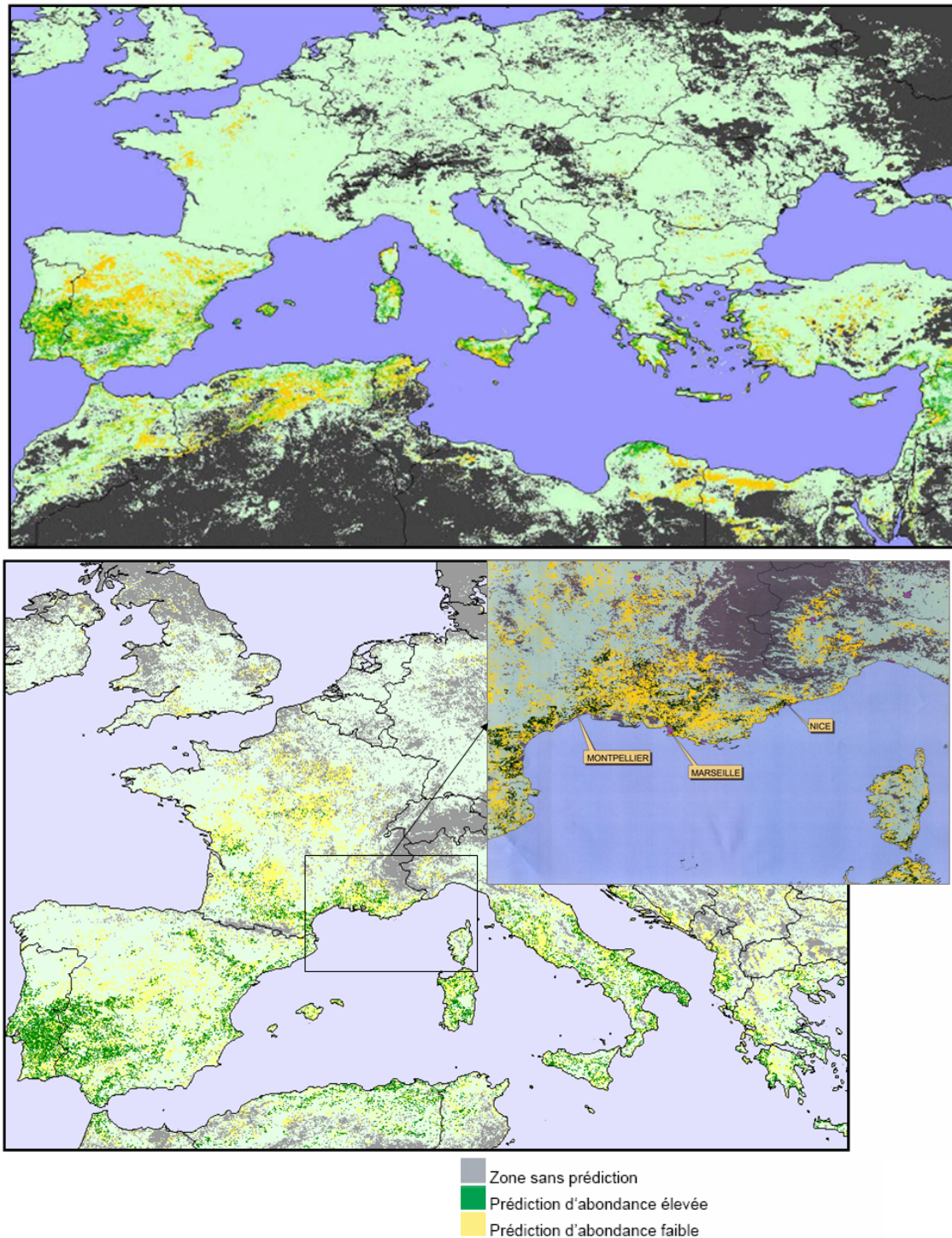


Figure 27 : Modélisation des sites potentiels d'implantation de *C. imicola* à partir de données satellitaires et de données entomologiques (1) uniquement portugaises (Tatem *et al.*, 2003) ou (2) portugaises et corses (Roger *et al.*, 2003).

Des modèles utilisant des images satellitaires ayant une résolution spatiale plus fine (pixel de 10×10 mètres par exemple) sont également en cours de développement. Ils permettent de caractériser les milieux favorables au vecteur selon une approche plus « écologique », notamment en travaillant sur les types de végétation rencontrés (après avoir réalisé une classification de l'image) et leurs agencements entre eux (notion de corridors, de zones enclavées...) (Tran *et al.*, 2005).

C'est à partir de ces cartes de prédiction des zones favorables à l'installation de *C. imicola* basées essentiellement sur des paramètres climatiques que le risque d'occurrence de la FCM est indirectement estimé. Cependant, une zone géographique peut être favorable à *C. imicola* sans pour autant que le risque de transmission du virus de la FCM soit élevé du fait de l'intervention d'autres facteurs. D'autres approches évaluant directement les relations entre l'occurrence de la maladie et des paramètres environnementaux ont également été développées.

1.3.3.4. Modèles basés sur les cas cliniques

Ces modèles étudient les relations existantes entre les variables climatiques extraites d'images satellitales et la répartition spatiale ou temporelle des foyers de FCM.

Purse *et al.* (2004) ont ainsi montré que les foyers de FCM depuis 25 ans en Israël pouvaient être reliés de manière significative avec des variables climatiques (Purse *et al.*, 2004a).

En Corse, un modèle visant à caractériser, à partir d'images satellitales de haute résolution (image SPOT, 10 × 10 m), les paysages où des cas de FCM ont été révélés entre 2000 et 2003 est en cours de développement (Guis, 2003; Guis *et al.*, 2006).

Ces modèles géographiques répondent tous au besoin de mise en place d'un système d'alerte précoce pour la surveillance de la FCM dans le bassin méditerranéen. Ils visent à prédire les zones les plus à risque d'occurrence de la maladie soit parce que le vecteur y serait abondant, soit parce que les caractéristiques environnementales d'une zone sont similaires à une autre ayant un antécédent de maladie. Cependant, tous ces modèles présentent des limites liées à l'échelle d'étude, aux données entomologiques et aux manques d'informations concernant la bio-écologie et la dynamique de populations de *C. imicola*. De plus, les images satellitales utilisées pour la construction des modèles ne prennent pas toujours en compte les évolutions climatiques en cours.

L'échec de tous ces modèles à prédire certaines régions où, soit *C. imicola* est installé, soit la maladie a émergé, laisse suggérer que des facteurs autres que le réchauffement climatique sont déterminants pour expliquer la progression rapide de ce vecteur et des foyers en Europe (Baylis *et al.*, 2004). Afin d'étudier plus spécifiquement le risque de transmission du BTV lié à la présence avérée d'une population de vecteurs, une nouvelle approche centrée sur les paramètres entomologiques impliqués dans la transmission du BTV est proposée. Cette approche se base sur le modèle dit de « capacité vectorielle »



Image SPOT de Corse du Sud

I.3.4. La capacité vectorielle comme outil pour la surveillance

I.3.4.1. Historique

Les travaux visant à quantifier la transmission d'un agent pathogène d'un hôte vertébré à un autre ont débuté au début du 20^{ème} siècle par Sir Ronald Ross (Ross, 1911) qui tenta de relier la transmission du paludisme avec un seuil d'abondance d'anophèles. D'après lui, «Affirmer qu'une maladie est sous la dépendance de certains facteurs sert à bien peu de choses, à moins qu'il ne soit possible d'évaluer l'influence de chacun des facteurs sur le résultat final.»

Dans les années 50, MacDonald (Macdonald, 1957) reprit ce travail et développa une formule mathématique intégrant les paramètres entomologiques et parasitologiques impliqués dans la transmission du paludisme. Il définit alors le taux de reproduction de base du paludisme (R_0), c'est-à-dire le nombre de nouveaux malades produits à partir d'un cas infecté, introduit dans une population naïve, durant toute la durée de son infection.

Ensuite, compte tenu des difficultés à estimer les paramètres parasitologiques de ce modèle, Garrett-Jones a isolé les composants entomologiques de l'équation de Macdonald au sein de la capacité vectorielle C (Garrett-Jones, 1964a; Garrett-Jones, 1964b).

Cependant, progressivement les études de compétence vectorielle développées en laboratoire ont montré la nécessité d'inclure un paramètre décrivant l'aptitude des vecteurs à transmettre une infection acquise. La compétence vectorielle V désigne l'ensemble des relations agent pathogène/vecteur au sens strict, tenant aux seuls facteurs intrinsèques (mécaniques, physico-chimiques, génétiques) qui permettent à un vecteur de s'infecter, de multiplier l'agent infectieux et de le retransmettre (Rodhain, 1985). Elle est une mesure du niveau de co-adaptation entre un pathogène et un invertébré vecteur.

Si ce concept trouve ses sources en paludologie, il a trouvé par la suite des applications pour d'autres branches de l'entomologie médicale notamment les arboviroses telle la dengue (Almeida *et al.*, 2005). Pour les maladies vectorielles, la capacité vectorielle est un concept analogue au taux de contact pour les maladies à transmission directe. C'est une fonction a) de la densité relative de vecteurs par rapport aux hôtes, b) de la fréquence des repas de sang, c) de la période de latence du virus dans le vecteur et d) de l'espérance de vie du vecteur.

I.3.4.2. Le modèle mathématique de la capacité vectorielle

La formule mathématique de C repose sur un modèle à compartiments de type « SI » pour le volet « hôte » et de type « SEI » pour le volet « vecteur ».

Les hypothèses de ce modèle sont les suivantes :

- Les individus sont homogènes à l'intérieur d'un même compartiment ;
- Les contacts sont aléatoires et les individus sont dispersés de manière aléatoire au sein de tous les compartiments ;
- Les contacts ont une durée négligeable ;
- L'infectivité a une durée constante durant toute la période infectieuse ;
- Les vecteurs sont infectés à vie ;
- Il n'existe pas de transmission verticale.

On cherche à modéliser le nombre de piqûres potentiellement infectantes produit en une journée à partir d'un hôte infecté, c'est-à-dire le potentiel de transmission d'une population de vecteurs pour un virus donné, même en l'absence du virus. La Figure 28 représente le schéma de transmission à modéliser. On suppose que la transmission verticale n'existe pas et que l'agent pathogène ne peut être transmis que par un vecteur biologique.

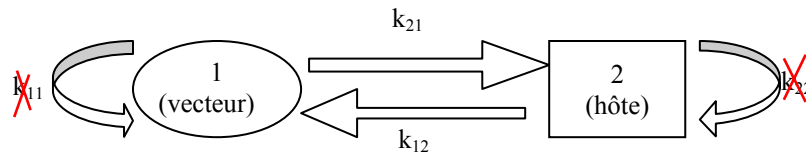


Figure 28 : Schéma de transmission d'un agent pathogène par un vecteur biologique modélisé par la capacité vectorielle

A partir des variables suivantes :

- m : densité relative de vecteurs (nombre de vecteurs femelles par hôte et par jour),
- a : taux de piqûres d'un vecteur femelle par hôte et par jour,
- q : probabilité de survie des vecteurs à la période de latence du virus,
- b : probabilité de succès de la transmission par piqûre d'un vecteur à un hôte,
- c : probabilité de succès de la transmission par piqûre d'un hôte à un vecteur,
- σ_v : taux de mortalité du vecteur

on obtient :
$$C = \frac{ma^2q}{\sigma_v}$$

Or $q = p^n$ où p est le taux de survie journalier des vecteurs et,

n , la durée de la période d'incubation extrinsèque (période de latence du virus).

De plus, sous l'hypothèse d'une force de mortalité constante quelque soit l'âge, la probabilité de survie jusqu'à un âge x est : $F(x) = \exp(-\sigma x)$ avec une durée moyenne de $\frac{1}{\sigma}$.

D'où $p = F(1) = \exp(-\sigma)$ soit $\sigma = -\ln p$ et une durée de vie moyenne de $\frac{1}{-\ln p}$

$$C = \frac{ma^2 \times p^n}{-\ln p}$$

Ainsi, C peut s'écrire :

Avec le développement des méthodes de laboratoire permettant d'obtenir des données sur la compétence des vecteurs pour tel ou tel agent pathogène, certains auteurs pensent que l'ajout de la variable V représentant la compétence vectorielle est important à prendre en considération pour estimer la capacité vectorielle (Reisen, 1989). D'où une autre écriture plus complète de la capacité vectorielle :

$$C = \frac{ma^2 \times V \times p^n}{-\ln p}$$

Notons que le terme ma^2 peut s'écrire également « $ma \times a$ ». Cette seconde écriture correspond plus clairement aux paramètres estimés en pratique. ma représente alors le nombre de piqûres reçues par jour et par hôte.

C représente ainsi le nombre de piqûres que les vecteurs, ayant piqué un animal infecté le jour t , font aux hôtes pendant le reste de leur vie, une fois achevé le cycle extrinsèque du virus, de durée n . Autrement dit, C représente le nombre de contacts potentiellement infectants qu'un hôte vertébré peut avoir, par l'intermédiaire de la population vectrice, par unité de temps.

Cette équation mathématique s'applique pour des cycles de transmission faisant intervenir une espèce hôte, une population de vecteurs et un agent pathogène donné. Elle suppose en effet les hypothèses suivantes (Dye, 1986) :

- Chaque espèce de virus a seulement un type de vecteur invertébré et un type d'hôte vertébré c'est-à-dire que C dépend d'un virus donné (voire d'un sérotype donné) et d'une espèce (sous-espèce) donnée.
- Le taux de survie journalier est constant dans le temps et est indépendant de l'âge.
- Les vecteurs prennent leur repas de sang sur les hôtes de manière aléatoire.
- Les vecteurs prennent un nombre de repas fixé par unité de temps, indépendamment de l'hôte et de l'abondance du vecteur.
- Les hôtes sensibles contractent toujours l'infection quand ils sont piqués par un vecteur infecté.

La formule de la capacité vectorielle peut s'expliquer de la façon suivante : en 1 jour, un individu est piqué par ma vecteurs ; une fraction p^n de ces vecteurs survivent au cycle extrinsèque d'incubation du pathogène; ces vecteurs ont encore une espérance de vie de $\frac{1}{-\ln p}$ (on admet que l'espérance de vie est indépendante de l'âge) pour piquer a hôtes par jour (Figure 29).

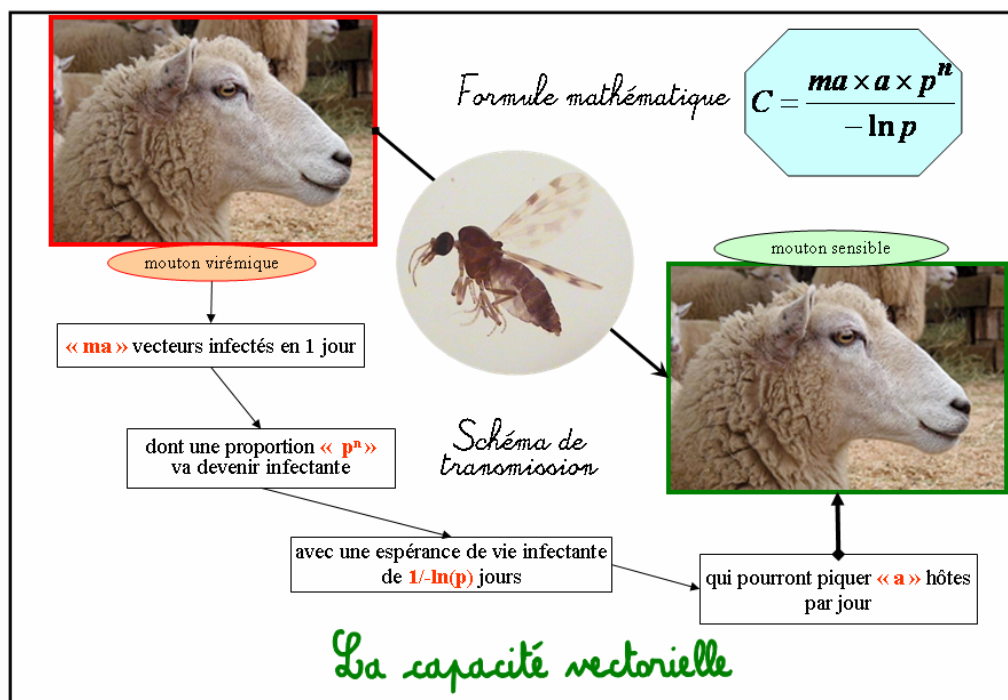


Figure 29 : Schéma illustrant la notion de capacité vectorielle définie par Garrett-Jones (1964).

1.3.4.3. Intérêts et limites

La capacité vectorielle est un index synthétisant toutes les composantes entomologiques nécessaires à la transmission d'un agent infectieux d'un hôte vertébré à un autre. Elle mesure ainsi la capacité d'une population de vecteurs à transmettre un pathogène qu'il soit présent ou seulement potentiel. Chaque paramètre de C est estimé de façon plus ou moins précise en fonction des connaissances acquises et des relations établies avec des facteurs extrinsèques.

La force de cette approche est d'intégrer au sein d'un même index l'ensemble des relations vecteurs/pathogène et vecteurs/hôtes. Elle permet donc de prendre en compte les effets antagonistes que peuvent avoir certains facteurs extrinsèques sur des paramètres entomologiques. Par exemple, une élévation de température va avoir à la fois un effet positif sur la transmission du BTV en diminuant la durée d'incubation extrinsèque du virus et un effet négatif en diminuant la durée de vie infectante du vecteur. Le résultat du calcul de C déterminera alors si oui ou non, l'élévation de température observée est favorable ou non.

Cependant, mesurer précisément tous les composants de C est techniquement exigeant. C'est pourquoi Dye (2001) défend l'idée que des prédictions épidémiologiques peuvent être réalisées en incluant seulement les variables entomologiques les plus importantes. Celles-ci restent toutefois à déterminer selon le contexte propre de chaque cycle de transmission en confrontant les observations entomologiques et parasitologiques (ou virologiques) (Dye, 1986). De plus, il faut déterminer les méthodes adaptées pour estimer les paramètres de C : taux de survie quotidien des insectes, nombre de piqûres journalières par hôte etc. ;

En suivant l'évolution de cet index, on surveille les tendances de transmission très en amont de tout foyer potentiel ce qui est très séduisant pour la mise en place d'un système d'alerte précoce. De plus, C peut être estimé même dans les zones indemnes de la maladie, c'est-à-dire dans des zones sans antécédent de maladie mais où une population de vecteurs est installée. Cette approche permet également d'étudier le potentiel d'espèces qui sont suspectées jouer un rôle dans l'épidémiologie de la maladie.

La définition des estimateurs pour les différentes variables de C est une étape indispensable pour l'élaboration d'un modèle de transmission basé sur la capacité vectorielle. Des études approfondies de certains de ces estimateurs est ensuite nécessaire pour suivre leur évolution au cours du temps et d'étudier leurs facteurs de variations (Figure 30). Cependant, tous les paramètres de C n'ont pas besoin d'être estimés *in situ*. Certaines données publiées sur tel ou tel vecteur peuvent être réinvesties pour le développement d'autres modèles impliquant le même vecteur. De plus, l'estimation de paramètres comme la durée d'incubation extrinsèque ou la compétence vectorielle impose le plus souvent le recours à des études de laboratoires.

L'idée d'utiliser C pour surveiller une maladie vectorielle n'a pas pour objectif de déterminer la valeur vraie de C . On cherche plutôt à comparer deux situations entre elles, soit dans le temps (période la plus à risque pour la transmission) soit dans l'espace (zone la plus à risque) et à évaluer laquelle est la plus à risque afin de cibler la surveillance et d'optimiser les mesures de lutte.

Dans le cas de la transmission du BTV par *C. imicola* au sein de populations ovines naïves, peu de données existent sur la dynamique d'une population, sur sa bioécologie et les facteurs qui les déterminent. Or, pour modéliser C , il est nécessaire de pouvoir quantifier les paramètres qu'il intègre. Le recours à des lois de distribution de probabilité pour estimer ma , a , p , n , V permet la construction d'un modèle stochastique de C prenant en compte les incertitudes existantes sur la valeur de ces paramètres. Cependant, il reste nécessaire de baser ce modèle sur un certain nombre de paramètres estimés à l'aide de données collectées dans la zone où on veut évaluer C .

Une autre limite à ce modèle est qu'il considère seulement l'intervention d'une espèce vectrice. Si d'autres espèces de *Culicoides* peuvent intervenir, il sera nécessaire de construire un autre modèle ayant la même structure mais ajusté avec ses propres paramètres. A l'heure actuelle, si d'autres espèces sont suspectées en Europe, aucune ne répond encore aux critères de l'OMS définissant une espèce vectrice.

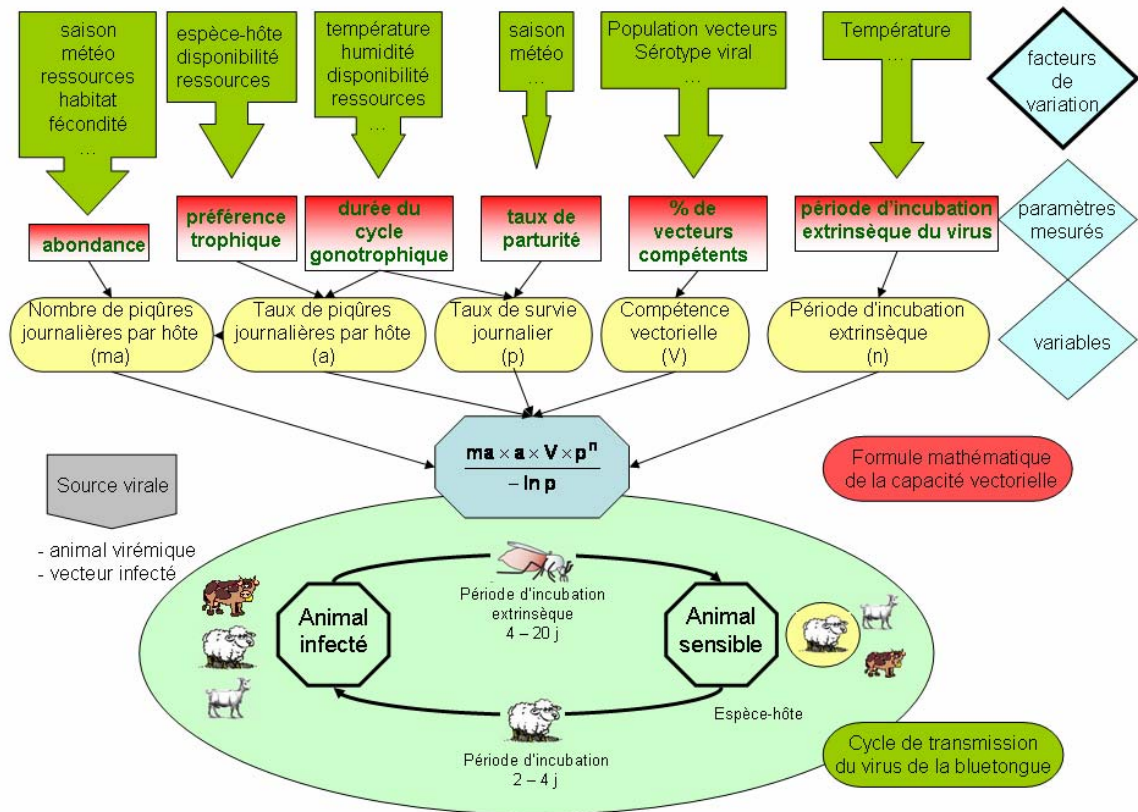


Figure 30 : Schéma illustrant les relations existantes entre les facteurs environnementaux et les variables entomologiques de la capacité vectorielle de *Culicoides imicola* pour le BTV.

En l'absence de circulation virale, ce modèle ne pourra de plus pas être validé, dans un premier temps, dans la zone d'étude. Il doit ainsi être davantage vu comme un modèle théorique permettant de simuler les zones et/ ou les périodes les plus à risque dans les régions où *C. imicola* est présent. Il permet également d'appréhender différents scénarios et d'observer dans le(s)quel(s) le potentiel de transmission du BTV est le plus fort. De plus, grâce à ce modèle stochastique, on pourra identifier les paramètres qui sont les plus sensibles aux variations. S'il s'agit de paramètres peu connus du modèle (loi de distribution de probabilité non précise), il conviendra d'approfondir les recherches à ce niveau pour améliorer significativement la précision du modèle.

Fort du constat de Mullens (1995) concernant la FCM aux États-Unis qui écrit que «Understanding vector capacity is the key to understanding disease dynamics»¹⁴ (Mullens *et al.*, 1995), cette approche via le volet entomologique de la maladie a motivé les travaux de recherche conduits au cours de cette thèse dans la zone d'installation récente de *C. imicola*.

¹⁴ Comprendre la capacité vectorielle est la clé pour comprendre la dynamique des maladies

Questions de recherche :

L'émergence de cette maladie vectorielle animale nouvelle pour la France métropolitaine pose la question de fond : « **Comment améliorer la surveillance de la FCM en France ?** », c'est-à-dire comment détecter le plus rapidement possible l'émergence de la FCM pour pouvoir réagir rapidement.

La France, comme beaucoup de pays européens, n'a en effet pas l'expérience de la surveillance et la gestion de ce type de maladie. Les objectifs de cette surveillance sont conditionnés essentiellement par le statut épidémiologique de la zone surveillée. Elle vise dans tous les cas à détecter le plus précocément possible l'apparition d'un nouveau cas, potentiel ou effectif, ce qui nécessite de s'appuyer sur des indicateurs épidémiologiques fiables et sensibles.

Comme tout système de surveillance, il est essentiel de disposer des outils méthodologiques et diagnostiques pour détecter l'apparition des cas recherchés par le réseau de surveillance. Afin de mieux appréhender la capacité du réseau à répondre à cet objectif, l'évaluation du test de diagnostic utilisé est primordiale pour optimiser les protocoles d'échantillonnage et d'utilisation d'un test afin de répondre aux objectifs du plan de surveillance. De plus, il faut définir des protocoles adaptés pour prouver qu'une zone est encore ou est redevenue indemne de la maladie. D'où les questions de recherche suivantes :

- ➔ Quelles sont la sensibilité et la spécificité du test de diagnostic d'ELISA de compétition utilisé dans le cadre de la surveillance de la FCM en Corse et en France continentale ?
- ➔ Quelle est l'efficacité du protocole de suivi sentinelle des bovins sentinelles mis en place en Corse en 2002 ?

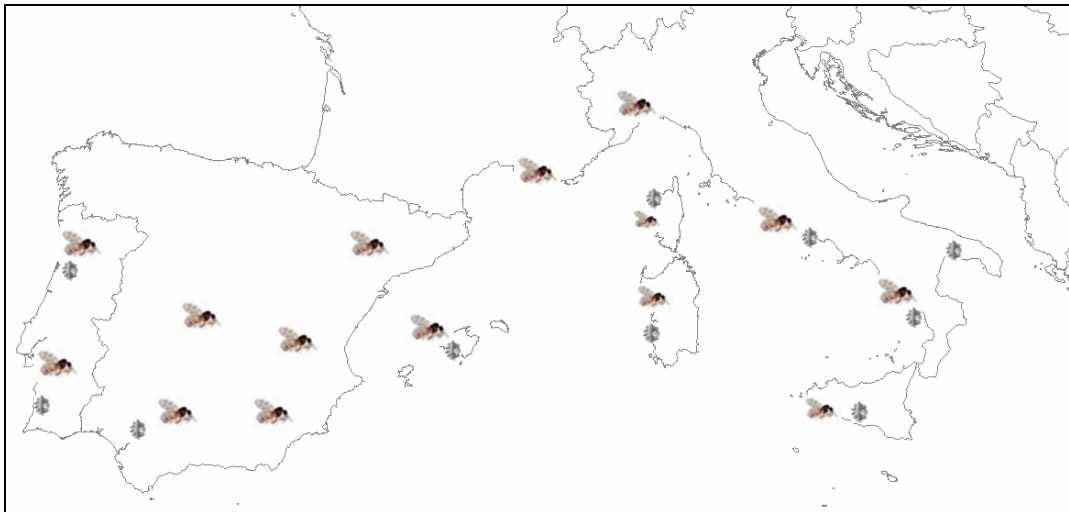
Dans le cas particulier des maladies vectorielles, le vecteur est un point incontournable de la transmission de l'agent pathogène. Ainsi, dans une zone d'installation récente du vecteur, la surveillance d'une maladie pouvant potentiellement émerger implique de répondre à des questions d'ordre entomologique :

- ➔ Quelle est l'aire d'installation de *Culicoides imicola* en France continentale ?
- ➔ Quelle est la dynamique saisonnière de *Culicoides imicola* en France continentale ?
- ➔ Quels facteurs déterminent les variations d'abondance observées au cours d'une saison ?
- ➔ Quel est le risque de transmission du virus de la bluetongue en France continentale estimé à partir des données entomologiques ? Comment évolue ce risque dans le temps et l'espace ?
- ➔ Quelles données sont nécessaires pour suivre l'évolution de ce risque ? Peut-on définir des indicateurs-clés ?

L'amélioration de la surveillance de cette maladie vectorielle nouvelle pour la France implique de disposer de plans d'échantillonnage adaptés et des outils nécessaires à la détection des éléments impliqués dans le cycle épidémiologique de la maladie : le virus ou les anticorps qu'il induit et/ou le vecteur principal sans lequel le virus ne peut pas se transmettre.



La 2^{ème} partie de cette thèse synthétise et analyse les outils et méthodes utilisés pour la surveillance de la FCM en France selon la situation épidémiologique. Nous présentons d'abord l'étude mise en œuvre pour évaluer la capacité du test sérologique utilisé. Puis, nous analysons de manière comparée le dispositif de surveillance mis en place d'une part dans la zone infectée par le virus de la FCM et d'autre part dans la zone périphérique.

Approche évaluative : surveillance sérologique en zone infectée



**La fièvre catarrhale du mouton et la situation virologique et entomologique
de la France et de ses pays limitrophes**

Légende :

-  : présence de *C. imicola*
-  : présence du virus BTV

II.1. Un test de diagnostic sérologique adapté ?

Ce papier a été accepté pour publication au *Veterinary Microbiology* en Juillet 2006 et publié en novembre 2006 (Biteau-Coroller *et al.*).

Performance evaluation of a competitive ELISA test used for Bluetongue antibody detection in France, a recently infected area



Available online at www.sciencedirect.com



Veterinary Microbiology 118 (2006) 57–66

**veterinary
microbiology**

www.elsevier.com/locate/vetmic

Performance evaluation of a competitive ELISA test used for Bluetongue antibody detection in France, a recently infected area

Fabienne Biteau-Coroller^{a,*}, Guillaume Gerbier^a, Katharina D.C. Stärk^b,
Colette Grillet^a, Emmanuel Albina^a, Stéphan Zientara^c, François Roger^a

^a CIRAD, Centre de Coopération Internationale en Recherche Agronomique pour le Développement,
Département D'élevage et de Médecine Vétérinaire, TA 30/E, Campus International de Baillarguet,
F-34398 Montpellier Cedex 5, France

^b Federal Veterinary Office, P.O. Box, CH-3003 Bern, Switzerland

^c AFSSA, Agence Française de Sécurité Sanitaire des Aliments, UMR 1161 Afssa/INRA/ENVA,
23 Avenue du Général de Gaulle, 94703 Maisons-Alfort Cedex, France

Received 5 April 2006; received in revised form 30 June 2006; accepted 13 July 2006

Abstract

In 1998, bluetongue (BT) was introduced in northern Africa and then extended to northern latitudes including the French island of Corsica. Following the outbreaks in Corsica in 2000 and 2001, cross-sectional studies and surveillances have been set up in Corsica and also in the southern part of mainland France, a disease-free area but considered at high risk because of its proximity. The surveillance was based on regular blood sampling of susceptible species and antibody detection by a commercial competitive ELISA kit (cELISA). The performance of this cELISA was evaluated on both field results obtained during the 2001 surveillance campaigns and experimental results. ROC analyses were carried out using RT-PCR results as gold standard for determining the infection status of animals. From all these sets of data, cut-off values optimising the diagnostic accuracy of the test were computed. Their values ranged around the manufacturer's 50% threshold from 41% to 63%. The area under the ROC curve obtained from field data was 0.843 (95% CI: 0.762–0.923). In all our results, it appeared also that the specificity of the cELISA test was always perfect if the cut-off was at least at 80%. This cELISA test does not seem sufficient to diagnose BT disease in animals with BT-like symptoms. However, complementary data are needed to better estimate sensitivity and specificity values of this BT test for its use either as a diagnostic tool in infected areas or as a screening test in BT-free areas. The use and validity of RT-PCR results as gold standard are discussed. As the lack of suitable data strongly limited the applicable analyses, a discussion based on the OIE recommendations about test evaluation is initiated.

© 2006 Elsevier B.V. All rights reserved.

Keywords: Bluetongue; France; ELISA test; Sensitivity and specificity; Predictive value; ROC analysis

* Corresponding author. Tel.: +33 04 6759 3829.

E-mail address: biteau@cirad.fr (F. Biteau-Coroller).

1. Introduction

Bluetongue (BT) is an infectious, non-contagious, arthropod-borne viral disease that mainly affects sheep and also occurs in cattle, goats and wildlife ruminants in asymptomatic form (Verwoerd and Erasmus, 1994). Bluetongue virus (BTV) is the type species of the genus *Orbivirus*, within the Reoviridae family and 24 serotypes have been identified so far over the world (Gorman, 1990). It is capable of inducing a severe haemorrhagic disease with high mortality rate especially in naïve domestic sheep (Gibbs and Greiner, 1994). In contrast, cattle, while commonly infected in endemic and epizootic areas, rarely develop clinical disease (Barratt-Boyes and MacLachlan, 1994).

For European countries, BT was for a long time considered as an exotic disease which rarely occurred in the north, at latitudes higher than 40–50°N (Gibbs and Greiner, 1994). But, since 1998, BT became regarded as an emerging disease in the Mediterranean basin, especially in the northern latitudes, relating to the number of outbreaks registered (Bréard et al., 2004). In France, the first BT epizootic due to BTV serotype 2 (BTV2) occurred in the island of Corsica in October 2000 during which 49 sheep holdings were involved (Zientara et al., 2000). The presence of BTV2 was again reported in 2001 in Corsica where 335 outbreaks were recorded (OIE, 2002). In accordance with European Union (EU) policy (Anonymous, 2000; Giovannini et al., 2004), French authorities implemented surveillance programmes both in the infected area (Corsica) and in the French Mediterranean littoral. These programmes are still active since BT remains a major threat for the southern European countries where *Culicoides imicola*, its major vector (Mellor et al., 2000), is present and seems to become established more and more widely (Goffredo et al., 2003; Monteys et al., 2005).

Diagnostics tests are a major component of the success in any surveillance system. A wide variety of tests are capable of detecting BTV-specific antibodies. These include agar gel immunodiffusion (AGID), haemagglutination-inhibition, complement fixation and enzyme-linked immunosorbent Assay (ELISA) either blocking ELISA or competitive ELISA (cELISA) which are serogroup-specific and serum neutralization (SN) test which is serotype-specific

(Afshar, 1994). On the side of the classical techniques of BTV isolation and identification, molecular tools like reverse transcription polymerase chain reaction (RT-PCR) have and are being developed and have reached now a prime place among the BTV diagnostics tools. RT-PCR allows indeed a rapid detection and serotype identification of the BTV (Billinis et al., 2001) and can identify viral nucleic acid for up to 6 weeks post-infection in experimentally infected sheep (Katz et al., 1994) and to 6 months post-infection in cattle (Katz et al., 1994; MacLachlan et al., 1994). The OIE manual of diagnostic tests (OIE, 2004a) has recommended the AGID, the cELISA test and RT-PCR as prescribed tests for international trade. However, contrary to the other OIE prescribed serological test (i.e. cELISA), AGID is known for its cross-reactions with others orbiviruses such as epizootic haemorrhagic disease virus (EDHV) (Afshar et al., 1989). Thus, its use has been more and more often abandoned and replaced by ELISA tests which are rapid and easier to use, more sensitive and specific (Della-Porta et al., 1985; Reddington et al., 1991). Although the SN test is in general recognized as the most sensitive and specific serological test for the detection of BTV antibodies in ruminants (Jochim, 1985), its application in routine is too cumbersome and time-consuming especially when several serotypes could be involved (Reddington et al., 1991). Moreover, cELISA has been reported to detect BTV antibodies earlier, from the 7th to 10th day post-infection (Gustafson and Pearson, 1991).

As bluetongue has occurred in France only in Corsica, the objectives of BT surveillance have to be distinguished for two types of areas: a BT surveillance program in the BT-free area of southern France and a BT monitoring program in Corsica where the virus is circulating. Nevertheless, the same serological test (cELISA) is applied in the two areas to determine the BT status of animals although the sampling design is not the same.

In the validation process of diagnostic tests recommended in the OIE manual (Jacobson, 1998; OIE, 2004c), most steps are well managed by manufacturers. However, the stage of test performance assessment is often reduced to laboratory experiments and a given reference animal population of known infection status. The sensitivity (se) and specificity (sp) estimations, which are the parameters most

commonly used for evaluating the accuracy of a test, remain, however, often unavailable and are not well-documented, especially in veterinary medicine. Moreover, the OIE manual also recommends re-validating the assay for any new intended use with the target population; this post-analytical phase is often disregarded (Greiner and Gardner, 2000). The great importance of this point was emphasized by the resolution XXIX of the 71st general session of OIE in May 2003 which established an OIE certification for diagnostic tests and introduced the concept of 'fitness for purposes' as a criterion for validation (OIE, 2003). The OIE label diagnostic tests will be recognized for specific purpose.

A number of statistical tools and methods have become available to assess the performance of a test under specific conditions (Branscum et al., 2005; Enoe et al., 2000; Pouillot et al., 2002). However, in a newly infected area, the required data are not always available. As a result, few specific studies are conducted to assess the specificity and the sensitivity of the selected test (Singer et al., 1998) while this knowledge appears to be crucial to take into account epidemiological considerations (Brenner and Gefeller, 1997; Christensen, 2001). To illustrate this particular context, we present test results for BT as an emerging disease in a new geographic area. Both experimental and field data were analysed. Sensitivity and specificity estimations are thus conducted for specific conditions and conclusions are drawn and discussed.

2. Materials and methods

2.1. Field data

During the 2001 bluetongue outbreaks in Corsica, 2607 sheep originating from 147 suspected farms were tested with a competitive Elisa (cELISA) test. According to French regulations, a holding is considered as a suspect BT case either if at least one susceptible animal shows bluetongue-like clinical signs or if the farm is close to one where bluetongue outbreak was confirmed. Some of the sheep were also tested by RT-PCR analysis ($n = 321$). Only the 113 sera originating from unvaccinated sheep and tested with both cELISA and RT-PCR at the same time were selected for a ROC analysis.

In the French continental Mediterranean BT-free area (Languedoc-Roussillon and Provence-Alpes-Côtes d'Azur), 4593 serum samples were randomly collected from cattle during winter prophylactic campaigns from 2001 to 2004 and analysed against bluetongue virus with a cELISA test. To compare these results with those from an infected bluetongue area, we also plotted the results of 2366 cattle tested with the same cELISA in Corsica in 2002. These animals came from 147 sentinel farms randomly selected to monitor bluetongue seroconversions among sentinel bovines.

2.2. Experimental data

In 2001, an experiment was carried out by the Agence Française de la Sécurité Sanitaire et alimentaire (AFSSA) in Sophia-Antipolis on 28 sheep to assess vaccination efficacy. The results of the virological and serological tests were used to assess the performance of the test under laboratory conditions. A total of 28 samples were included.

Then, in 2002, during another experiment supervised by AFSSA, 24 vaccinated and 24 non-vaccinated rams were observed weekly for 3 months to study the effect of the South African bluetongue virus serotype 2 monovalent vaccine on the quality of the ram semen (Bréard et al., *in press*). Two vaccine inoculations were performed: one at day 0 and one at day 41. The serological response was monitored with the cELISA test and the vaccine genome was detected by RT-PCR. The protocols for these two tests were the same as those previously published (Hammoumi et al., 2003).

2.3. Diagnostic tests

RT-PCR was performed at AFSSA in Maisons-Alfort as described by Zientara et al. (2002).

Anti-BTV antibodies were detected in the serum of sheep by cELISA using a commercial kit (VMRD Inc., Pullman, WA, USA) at CIRAD laboratory (Montpellier, France). The test is based on the detection of antibodies specific to the highly conserved segment 7 (VP7) of BTV. It is therefore designed to detect infection by any type of BTV and/or vaccination by any vaccine presenting the VP7 antigen. Under the manufacturer's instructions, a sample result is

considered to be positive if it displays a result greater than 50% of inhibition. The inhibition percentage was determined by the following formula: ((optical density (O.D.) of the mean of negative controls – O.D. of the sample) divided by (O.D. of the mean of negative sample)) \times 100.

Virus neutralizing antibodies in sheep serum were detected essentially according to the SN test described in the OIE Manual of Standards (OIE, 2004a). These analyses were conducted by AFSSA. Briefly, serial dilutions of tested sera were incubated for 1 h at 37 °C with an equal volume of the vaccine strain of BTV (100 tissue culture infectious doses 50% (TCID₅₀) in each well of a 96-well microplate). Then, Vero cells were added to each well and the microplates were incubated for 5 days at 37 °C with 5% CO₂. Cytopathic effects (CPE) of the virus were sought at the end of the incubation period and serum neutralizing antibody titres were determined as the last reciprocal dilution of the serum that neutralized the CPE (Hammoumi et al., 2003). An animal is usually considered positive to BTV if it has a titre to anyone serotype that is at least twice the initial dilution (Jochim, 1985). There, the sera were considered to be positive when the titres were above 10.

2.4. Data analysis

A receiver operating characteristic (ROC) analysis (Zweig and Campbell, 1993) was performed to assess the performance of cELISA test used in France as a diagnostic and surveillance test. In such analyses, the accuracy of a dichotomous screening test is quantified by comparing the results of the test with those of a gold standard test for infection (Greiner et al., 2000). A gold standard is an absolutely accurate test used to assess the true disease or infection status of animals. In reality, gold standard tests rarely exist (Hanson et al., 2003). In this situation, the test used should rather be considered as a reference test. In our study, the true BT status of sheep was undetermined. We chose the RT-PCR test to divide sheep into infected and uninfected groups because of the data availability and the good accuracy of PCR methods (Afshar, 1994; Yang and Rothman, 2004). For the laboratory experiments, the results of the SN test were used for the classification of sheep in the infected and non-infected groups. The result of the ROC analysis is a plot with sensitivity in the y-axis and (1-specificity) in

the x-axis for each possible cut-off value of the studied test. This type of graph is called a ROC curve. The closer the ROC curve gets to the top-left corner of the graph, the better is the ability of the test to discriminate between infected and non-infected animals. Given equal costs to test results errors, the optimal cut-off point is the one with both se and sp at a maximum (Greiner, 1995), which occurs at the point where the curve gets the closest to the top left corner of the plot.

All statistical analyses were carried out with Intercooled Stata 8[®] software. Sensitivity and specificity were estimated by using “diagt” stata command (Seed, 2004). Ninety-five percent confidence intervals (CI 95%) were provided assuming a binomial distribution. For point estimates of 100%, the 95% lower confident limit was estimated using the formula described by Hanley and Lippman-Hand (1983) and modified by Ward et al. (1995).

3. Results

A first estimation for the sensitivity and the specificity of the cELISA was based on the data previously published on sheep vaccination against bluetongue virus. Either the RT-PCR or the SN tests were used as reference test to determine the true infected status of sheep. In both cases, at day (D) 14 post-vaccination, cELISA sensitivity estimate was 35.7% (95% confidence interval (95% CI): 12.8–64.9) using the manufacturer’s 50% threshold. At D28 post-vaccination, it reached 100% (lower confidence limit: 80.7). Thus, all vaccinated sheep had inhibition percentage above 50% 28 days post vaccination (mean 71.7, S.D. 2.8) while 9 animals out of 14 had still results under 50% 14 days after vaccination (mean 45.2, S.D. 4.5). The cELISA specificity was very high as no false positive animals were detected in this small sample. Moreover, we noted that the infected status determined by RT-PCR test or SN test matched perfectly with the vaccinated status of the sheep after 14-day post vaccination.

The data produced in the framework of the study of bluetongue vaccination were used to conduct a ROC analysis of the cELISA results. At each time point in the experiment, we computed the cut-off value

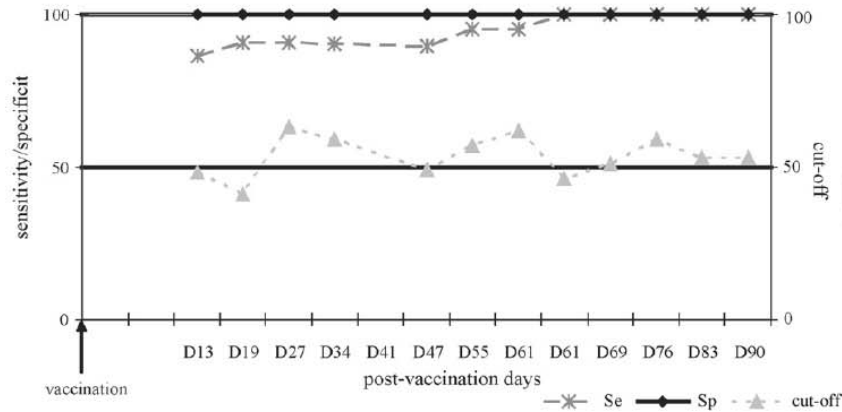


Fig. 1. Evolution of the optimum cELISA cut-off for BT antibodies detection on experimentally vaccinated rams from D0 to D90 post-vaccination. *Note:* The criterion of the optimum was se and sp at their maximum.

providing the optimum sensitivity and specificity of the test (Fig. 1). The cut-off values obtained varied from 41% to 63%. The test gave perfect results 76 days after the primo-vaccination, that is, 28 days after the second vaccination. At this time, all vaccinated animals had a positive cELISA result (mean: 70.5, 95% CI: 65.4–75.1). The sensitivity and the specificity were 100% (95% CI: 83.9–100 and 84.6–100 respectively). Until 3 weeks after vaccination, we obtained better sensibility with a cut-off point lower than 50% without losing in specificity. Afterward, a 55% cut-off permits to have the best se and sp.

Concerning the sera collected from sheep in the field during the 2001 bluetongue outbreak in Corsica, 113 sheep samples were included in the ROC analysis. The area under curve was 0.843 with a 95% confidence interval between 0.762 and 0.923 (Fig. 2). The cut-off point where the sensitivity and the specificity were optimal occurred for an inhibition percentage of 47%. The sensitivity of the test for this cut-off was 78% (95% CI: 66.4–86.7) and the specificity was 85% (95% CI: 69.5–94.1). We noticed also that with a cut-off above 77%, the specificity became perfect.

The bluetongue cELISA results of samples collected from cattle in the French bluetongue-free area during 4 years of monitoring programme were plotted as a histogram (Fig. 3). The mean of the inhibition percentage was 8.2% (S.D. 17.2) with a minimum at –50% and a maximum at 52.6%. Two

animals had a cELISA inhibition percentage above 50% (51.9% and 52.6%). Except one cattle with a 49.1% result, all negative cattle had a result below 43%. Thus, accordingly to these observations, with a 55% cut-off, the specificity of this test in a BT-free area appears perfect. In comparison, the results of a survey on cattle in the bluetongue infected Corsican area showed an inhibition percentage distribution histogram with a bimodal shape (Fig. 4) with inhibition percentage values included between –33% and 93%. The mean of all inhibition results below and above the 50% cut-off were 6.0 (95% CI: 5.1–6.8) and 74.8 (95% CI: 74.4–75.2) respectively.

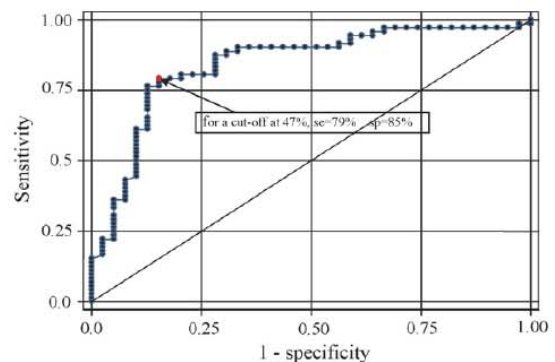


Fig. 2. Results of BT cELISA ROC analysis of 113 sheep sera from the 2001 Corsica outbreak when the RT-PCR test is used to determine the BT status.

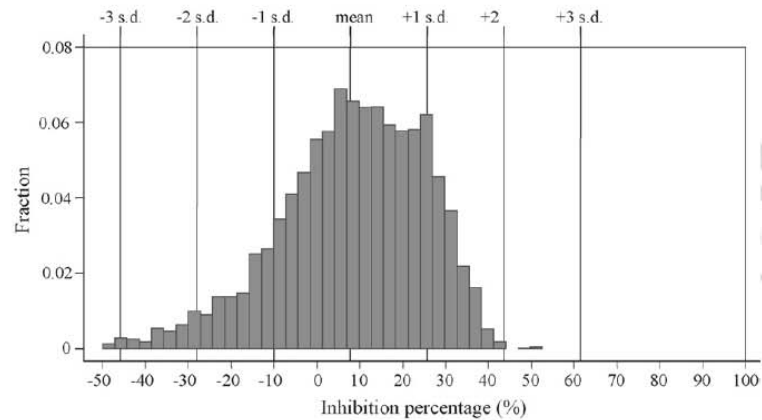


Fig. 3. Distribution of the BT cELISA results of 4593 sera of cattle from a French BT-free area collected between 2001 and 2004.

4. Discussion

The objectives of the cELISA test used were both to confirm the BTV infected status of sheep in suspicious holdings in Corsica (diagnostic test) and to detect the incursion of BTV in mainland of France (screening test). In an ideal world, it would be necessary to carry out *ad hoc* surveys to assess the test performance for each of these purposes. But it is not always a priority, especially during the management of an unexpected

disease, although it is exactly in these particular cases that tests should be re-validated (OIE, 2004c). Useful techniques are now available to response to this more and more topical issue of test evaluation. But these approaches work with specific assumptions and particular data need to be available (Branscum et al., 2005; Dohoo et al., 2003; Pouillot et al., 2002). In our case, most of these requirements were not fulfilled. We had also little information on the sampled animal.

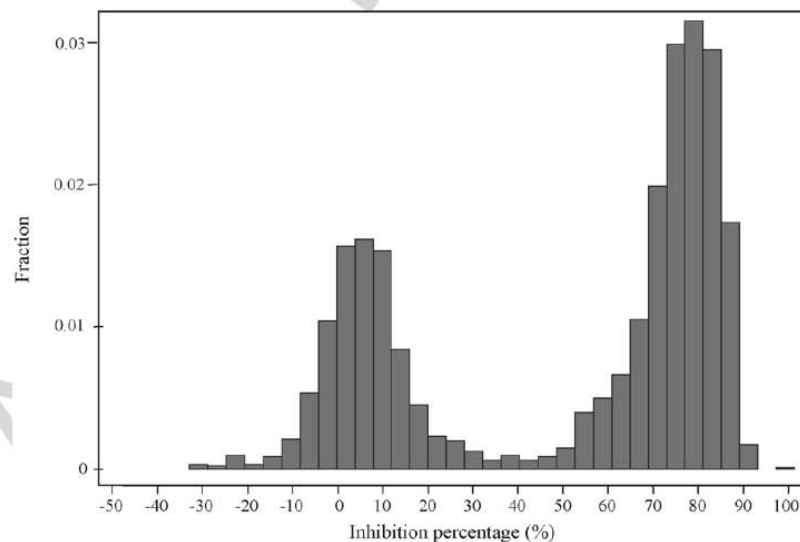


Fig. 4. Distribution of the BT cELISA results of 2366 sera of cattle from Corsica, the French bluetongue infected area collected in 2002.

The choice of the RT-PCR as a reference test for Corsican data can be justified even if it does not detect the same biological entity as the cELISA test (viral nucleic acid versus BTV antibodies). In our particular conditions, we evaluate the ability of the cELISA test to diagnose infected animals at the early stage of the infection, i.e. incubation period and period of clinical signs. In this epizootic context, the RT-PCR test is considered as an excellent test that can be used as a reference one (Müller-Doblies et al., 1998). In the absence of clinical signs, this reference test becomes unsuitable as we do not know at which stage of the disease we are.

The 2001 vaccination campaign against the BTV serotype 2 in Corsica appeared as a major problem for the data interpretation since information about the vaccine status of sheep was frequently unknown. This is the reason why only sheep with a known unvaccinated status were selected for analysis.

To interpret the discordant results between cELISA and RT-PCR, we needed to be aware of the difference between the BTV viraemia and antibodies evolution in sheep. These elements could explain under or over-estimations of the computed parameters. Under laboratory conditions, bluetongue antibodies are usually detected in the serum of BTV infected ruminants by 7–28 days after inoculation, depending on the type of assay and route of animal inoculation used (Jeggo et al., 1983; MacLachlan, 1994; Richards et al., 1988). Thus, Koumbati et al. (1999) showed that anti-BTV antibodies could be detected by cELISA from 6 days post-infection although the animal became only strongly positive (inhibition percentage > 80%) from the 10th day post-infection. In our experimental trials, anti-BTV antibodies directed against South African bluetongue serotype 2 attenuated viruses were detected from the 14th day post-vaccination (no tests performed between the 7th and 14th day post-vaccination). In sheep, the peak of viral blood titre could occur as early as the 4th day post-infection and as late as the 8th day (Foster et al., 1991; Ghalib et al., 1985; Luedke, 1969). RT-PCR can detect BTV as soon as the 5th day post-infection (Akita et al., 1993). The duration of the viraemia could be prolonged up to 38–54 days post-infected as determined by virus isolations by Koumbati et al. (1999). BTV nucleic acids can be still detected on a longer period using RT-PCR even if it does not mean

that infectious viral particles are present (Katz et al., 1994). In the experimental experience presented here, specific RT-PCR tests were all positive from the 7th day after vaccination to the 32nd day when the assay stopped (Hammoumi et al., 2003).

The sensitivity and the specificity estimated with respect to the reference test were 70.8 (95% CI: 58.9–80.0) and 87.2 (95% CI: 72.6–95.7), respectively, at the best cut-off point of 47%. This cut-off value matches very well with the one of 50% proposed by the manufacturer. The relatively low sensitivity of this cELISA in sheep may be explained partly by the required time before antibodies reach a detectable level. Experimental data confirmed this aspect as cELISA showed better performance if cut-off is lower until 3 weeks after vaccination. Hence, a negative result should be confirmed by RT-PCR, especially results above 40%. While the apparent specificity of the cELISA observed on sera from the BT-free area of France showed its extremely good specificity in cattle (only 2 animals out of 4593 had results slightly above 50%), the specificity of this test for diagnosis in sheep appeared lower in infected area. Although comparisons between these different species should be taken with great care, a certain underestimation of this parameter is probable, due to biases either because of the misclassification of vaccinated sheep, or because of the reference test. RT-PCR test has indeed its own sensitivity which means that it could also have false-negative, especially with low-quality samples. Moreover, the existence of a phase of virus circulation without clinical signs, which has been highlighted in Corsica in 2003 few months before the first BTV4 outbreak (Gerbier et al., pers. com.), needs to be considered. A part of the sheep from suspicious farms could indeed have developed anti-BTV antibodies during such a silent phase. This scenario is all the more possible as the farmers' awareness about bluetongue disease was still low. So, undernotifications of BT-like symptoms could be expected. This aspect should be however moderated by the fact that BTV nucleic acids can be detected even after the viraemia phase.

Finally, accordingly to the area under the curve (AUC) calculated through the ROC analysis, this cELISA test used for BT diagnosis appears to have a moderate accuracy ($0.7 < \text{AUC} < 0.9$) essentially because of the delay to produce BTV antibodies.

That's why OIE's recommendations published in 2004 (OIE, 2004b) which used to propose to perform two serological tests at an interval of at least 7 days seems well adapted to this test.

Giovannini et al. (2004) pointed out the fact that the clinical evaluation may be more reliable than serology in the initial phases of an epizootic as symptoms are the earliest warning of the BT occurrence. Considering the serological evidence of BT before the beginning of the 2003 outbreak in Corsica, we consider, however, that an early detection system based on a sentinel herd network involving serological tests may be equally suitable. But, once the BT epizootic is confirmed, cELISA does not appear to be a suitable test to confirm the disease at the individual scale unless two samples at 10–14 days interval are done.

In all our results, it appears that the specificity of the cELISA test is always perfect if the cut-off is at least at 80%. This suggests that the predictive value of a positive result above 80% is excellent as previously observed by Afshar et al. (1989).

5. Conclusions

If the use of the cELISA test for diagnosis is discussed, its many advantages such as its speed, high throughput or reasonable cost, lead to the conclusion that this test is very suitable for screening of large number of samples. Nevertheless, for epidemiological purposes, its performance as a screening test needs also to be considered.

Unfortunately, the lack of suitable data hinders such an evaluation. Following the introduction of the serotype 4 in France in 2003, it was envisaged to compare the cELISA test with the results of the SN test carried out on few samples collected through the sentinel network. Nevertheless, no samples were re-tested blindly and no negative results were included. The objective was only to determine which serotype was involved. Thus, in the present state of interdisciplinary barriers, it appears clearly that disease crisis is not a good period for test evaluation. The preoccupations are elsewhere, and the concerns of epidemiologists and the question on test performance have low priority. Based on the OIE resolution XXIX in May 2003 and the appendix 3.8.1 of the OIE manual which specifies that "the performance of a test at the

population level (including field observations) may be described in terms of its sensitivity and specificity and predictive values", two points appear essential. Firstly, recommendations on protocols that should be applied to collect suitable data for test evaluation according to available methods are needed. Secondly, the issue of test performance should become an integral part of the design of disease surveillance, especially in newly infected areas where tests, by definition, were not previously assessed for any specific animal population.

Acknowledgements

The analyses were funded by the French agriculture ministry. The first author is seconded by the French agriculture ministry to CIRAD.

References

- Afshar, A., 1994. Bluetongue: laboratory diagnosis. *Comp. Immunol. Microbiol. Infect. Dis.* 17, 221–242.
- Afshar, A., Thomas, F.C., Wright, P.F., Shapiro, J.L., Anderson, J., 1989. Comparison of competitive ELISA, indirect ELISA and standard AGID tests for detecting blue-tongue virus antibodies in cattle and sheep. *Vet. Rec.* 124, 136–141.
- Akita, G.Y., Glenn, J., Castro, A.E., Osburn, B.I., 1993. Detection of bluetongue virus in clinical samples by polymerase chain reaction. *J. Vet. Diagn. Invest.* 5, 154–158.
- Anonymous, 2000. Council Directive 2000/75/EC of 20 November 2000 laying down specific provisions for the control and eradication of bluetongue, <http://europa.eu.int/eur-lex/lex/LexUriServ/site/en/consleg/2000/L/02000L0075-20040501-en.pdf>. Last access: January, 2006.
- Barratt-Boyes, S.M., MacLachlan, N.J., 1994. Dynamics of viral spread in bluetongue virus infected calves. *Vet. Microbiol.* 40, 361–371.
- Billinis, C., Koumbati, M., Spyrou, V., Nomikou, K., Mangana, O., Panagiotidis, C.A., Papadopoulos, O., 2001. Bluetongue virus diagnosis of clinical cases by a duplex reverse transcription-PCR: a comparison with conventional methods. *J. Virol. Meth.* 98, 77–89.
- Branscum, A.J., Gardner, I.A., Johnson, W.O., 2005. Estimation of diagnostic-test sensitivity and specificity through Bayesian modelling. *Prev. Vet. Med.* 68, 145–163.
- Bréard, E., Hamblin, C., Hammoumi, S., Sailleau, C., Dauphin, G., Zientara, S., 2004. The epidemiology and diagnosis of bluetongue with particular reference to Corsica. *Res. Vet. Sci.* 77, 1–8.
- Bréard, E., Pozzi, N., Sailleau, C., Catinot, V., Durand, B., Dumont, P., Guérin, B., Zientara, S. Transient effect of the attenuated

- bluetongue virus vaccine on the quality of the ram semen. *Vet. Rec.*, in press.
- Brenner, H., Gefeller, O., 1997. Variation of sensitivity, specificity, likelihood ratios and predictive values with disease prevalence. *Stat. Med.* 16, 981–991.
- Christensen, J., 2001. Epidemiological concepts regarding disease monitoring and surveillance. *Acta Vet. Scand. Suppl.* 94, 11–16.
- Della-Porta, A.J., Parsonson, I.M., McPhee, D.A., 1985. Problems in the interpretation of diagnostics tests due to cross reactions between orbiviruses and broad serological responses in animals. In: Barber, T.L., Jochim, M. (Eds.), *Bluetongue and Related Orbiviruses*. Alan R. Liss, New York, pp. 445–453.
- Dohoo, I., Martin, W., Stryhn, H., 2003. *Screening and Diagnostics Tests*, Veterinary Epidemiologic Research. AVC Inc., Charlottetown, Canada, pp. 85–120.
- Enoe, C., Georgiadis, M.P., Johnson, W.O., 2000. Estimation of sensitivity and specificity of diagnostic tests and disease prevalence when the true disease state is unknown. *Prev. Vet. Med.* 45, 61–81.
- Foster, N.M., Luedke, A.J., Parsonson, I.M., Walton, T.E., 1991. Temporal relationships of viremia, interferon activity, and antibody responses of sheep infected with several bluetongue virus strains. *Am. J. Vet. Res.* 52, 192–196.
- Ghalib, H.W., Cherrington, J.M., Osburn, B.I., 1985. Virological, clinical and serological responses of sheep infected with tissue culture adapted bluetongue virus serotypes 10, 11, 13 and 17. *Vet. Microbiol.* 10, 179–188.
- Gibbs, E.P., Greiner, E.C., 1994. The epidemiology of bluetongue. *Comp. Immunol. Microbiol. Infect. Dis.* 17, 207–220.
- Giovannini, A., Calistri, P., Conte, A., Savini, G., Nannini, D., Patta, C., Santucci, U., Caporale, V., 2004. Bluetongue virus surveillance in a newly infected area. *Vet. Ital.* 40, 188–197.
- Goffredo, M., Conte, A., Cacciolito, R., Meiswinkel, R., 2003. The distribution and abundance of *Culicoides imicola* in Italy. *Vet. Ital.* 39, 22–32.
- Gorman, B.M., 1990. The bluetongue viruses. *Curr. Top. Microbiol. Immunol.* 162, 1–19.
- Greiner, M., 1995. Two-graph receiver operating characteristic (TG-ROC): a Microsoft-EXCEL template for the selection of cut-off values in diagnostic tests. *J. Immunol. Meth.* 185, 145–146.
- Greiner, M., Gardner, I.A., 2000. Epidemiologic issues in the validation of veterinary diagnostic tests. *Prev. Vet. Med.* 45, 3–22.
- Greiner, M., Pfeiffer, D., Smith, R.D., 2000. Principles and practical application of the receiver-operating characteristic analysis for diagnostic tests. *Prev. Vet. Med.* 45, 23–41.
- Gustafson, G.A., Pearson, J.E.M.M.K., 1991. A comparison of the bluetongue competitive-ELISA to other serologic tests. In: *Bluetongue, African Horse Sickness and Related Orbiviruses: Proceedings of the Second International Symposium*, Paris, 17–21 June, pp. 570–574.
- Hammoumi, S., Breard, E., Sailleau, C., Russo, P., Grillet, C., Cetre-Sossah, C., Albina, E., Sanchis, R., Pepin, M., Guibert, J.-M., Zientara, S., 2003. Studies on the safety and immunogenicity of the South African Bluetongue Virus Serotype 2 monovalent vaccine: specific detection of the vaccine strain genome by RT-PCR. *J. Vet. Med. Ser. B* 50, 316–321.
- Hanley, J.A., Lippman-Hand, A., 1983. If nothing goes wrong, is everything all right? Interpreting zero numerators. *JAMA* 249, 1743–1745.
- Hanson, T., Johnson, W.O., Gardner, I.A., 2003. Hierarchical models for estimating herd prevalence and test accuracy in the absence of a gold standard. *J. Agric. Biol. Environ. Stat.* 8, 223–239.
- Jacobson, R.H., 1998. Validation of serological assays for diagnosis of infectious diseases. *Rev. Sci. Technol.* 17, 469–526.
- Jeggo, M.H., Gumm, I.D., Taylor, W.P., 1983. Clinical and serological response of sheep to serial challenge with different bluetongue virus types. *Res. Vet. Sci.* 34, 205–211.
- Jochim, M.M., 1985. An overview of diagnostics for bluetongue. *Prog. Clin. Biol. Res.* 178, 423–433.
- Katz, J., Alstad, D., Gustafson, G., Evermann, J., 1994. Diagnostic analysis of the prolonged bluetongue virus RNA presence found in the blood of naturally infected cattle and experimentally infected sheep. *J. Vet. Diagn. Invest.* 6, 139–142.
- Koumbati, M., Mangana, O., Nomikou, K., Mellor, P.S., Papadopoulos, O., 1999. Duration of bluetongue viraemia and serological responses in experimentally infected European breeds of sheep and goats. *Vet. Microbiol.* 64, 277–285.
- Luedke, A.J., 1969. Bluetongue in sheep: viral assay and viremia. *Am. J. Vet. Res.* 30, 499–509.
- MacLachlan, N.J., 1994. The pathogenesis and immunology of bluetongue virus infection of ruminants. *Comp. Immunol. Microbiol. Infect. Dis.* 17, 197–206.
- MacLachlan, N.J., Nunamaker, R.A., Katz, J.B., Sawyer, M.M., Akita, G.Y., Osburn, B.I., Tabachnick, W.J., 1994. Detection of bluetongue virus in the blood of inoculated calves: comparison of virus isolation, PCR assay, and in vitro feeding of *Culicoides variipennis*. *Arch. Virol.* 136, 1–8.
- Mellor, P.S., Boorman, J., Baylis, M., 2000. *Culicoides* biting midges: their role as arbovirus vectors. *Annu. Rev. Entomol.* 45, 307–340.
- Monteys, V.S.I., Ventura, D., Pages, N., Aranda, C., Escosa, R., 2005. Expansion of *Culicoides imicola*, the main bluetongue virus vector in Europe, into Catalonia, Spain. *Vet. Rec.* 156, 415–417.
- Müller-Doblies, U.U., Li, H., Hauser, B., Adler, H., Ackerman, M., 1998. Field validation of laboratory tests for clinical diagnosis of sheep-associated malignant catarrhal fever. *J. Clin. Microbiol.* 36, 2970–2972.
- OIE, 2002. *World Animal Health*. OIE, Paris, France, p. 146.
- OIE, 2003. Resolution XXIX: OIE Procedure for Validation and Certification of Diagnostic Assays (Test Methods) for Infectious Animal Diseases, Paris, ftp://ftp.oie.int/F_Reso_2003%20WP.pdf. Last access: January, 2006.
- OIE, 2004a. *Bluetongue, Manual of Diagnostic Tests and Vaccines for Terrestrial Animals (mammals, birds and bees)*. OIE, Paris, pp. 195–210.
- OIE, 2004b. *Bluetongue, Code sanitaire pour les animaux terrestres*. OIE, Paris, pp. 137–138.
- OIE, 2004c. *Principles of Validation of Diagnostic Assays for Infectious Diseases, Manual of Diagnostic Tests and Vaccines for Terrestrial Animals (mammals, birds and bees)*. OIE, Paris, pp. 21–29.

- Pouillot, R., Gerbier, G., Gardner, I.A., 2002. "TAGS", a program for the evaluation of test accuracy in the absence of a gold standard. *Prev. Vet. Med.* 53, 67–81.
- Reddington, J.J., Reddington, G.M., MacLachlan, N.J., 1991. A competitive ELISA for detection of antibodies to the group antigen of bluetongue virus. *J. Vet. Diagn. Invest.* 3, 144–147.
- Richards, R.G., MacLachlan, N.J., Heidner, H.W., Fuller, F.J., 1988. Comparison of virologic and serologic responses of lambs and calves infected with bluetongue virus serotype 10. *Vet. Microbiol.* 18, 233–242.
- Seed, P., 2004. Evaluation of diagnostic tests for diseases in pregnancy: some statistical issues, <http://www.stata.com/meeting/10uk/abstracts.html>. Last access: December 2005.
- Singer, R.S., Boyce, W.M., Gardner, I.A., Johnson, W.O., Fisher, A.S., 1998. Evaluation of bluetongue virus diagnostic tests in free-ranging bighorn sheep. *Prev. Vet. Med.* 35, 265–282.
- Verwoerd, D.W., Erasmus, B.J., 1994. Bluetongue. In: Coetzer, J.A.W., Thomson, G.R., Tustin, R.C. (Eds.), *Infectious Disease of Livestock with Special Reference to Southern Africa*. Oxford University Press, Capetown (Afrique du Sud), pp. 443–459.
- Ward, M.P., Gardner, I.A., Flanagan, M., 1995. Evaluation of an agar gel immunodiffusion test to detect infection of cattle with bluetongue viruses in Queensland, Australia. *Vet. Microbiol.* 45, 27–34.
- Yang, S., Rothman, R.E., 2004. PCR-based diagnostics for infectious diseases: uses, limitations, and future applications in acute-care settings. *Lancet Infect. Dis.* 4, 337–348.
- Zientara, S., de La Rocque, S., Gourreau, J.M., Grégory, M., Diallo, A., Hendrickx, P., Libeau, G., Sailleau, C., Delécolle, J.C., 2000. La fièvre catarrhale ovine en Corse en 2000. *Épidémiol. Santé Anim.* 38, 133–144.
- Zientara, S., Sailleau, C., Dauphin, G., Roquier, C., Remond, E.M., Lebreton, F., Hammoumi, S., Dubois, E., Agier, C., Merle, G., Breard, E., 2002. Identification of bluetongue virus serotype 2 (Corsican strain) by reverse-transcriptase PCR reaction analysis of segment 2 of the genome. *Vet. Rec.* 150, 598–601.
- Zweig, M.H., Campbell, G., 1993. Receiver-operating characteristic (ROC) plots: a fundamental evaluation tool in clinical medicine. *Clin. Chem.* 39, 561–577.

L'évaluation des tests de diagnostic utilisés dans le cadre de réseaux de surveillance de maladies est ainsi un point incontournable pour apprécier la capacité de ceux-ci à détecter les nouveaux cas définis par le plan de surveillance. La connaissance de la sensibilité et de la spécificité du test est en effet primordiale pour interpréter par exemple un résultat positif dans une zone considérée comme indemne. Elle permet d'ajuster le plan d'échantillonnage et d'alimenter une analyse quantitative du risque visant à répondre aux questions posées par les gestionnaires.

Les qualités de sensibilité et de spécificité d'un test sont définies dans un contexte donné où notamment les caractéristiques de la population animale et son statut sanitaire ont un rôle central. Après cette phase d'évaluation, son utilisation pourra être adaptée afin de répondre du mieux possible aux exigences de surveillance.

En plus de devoir disposer des outils diagnostiques adaptés, il est nécessaire de mettre en place une méthodologie d'échantillonnage permettant de répondre aux objectifs de surveillance.

II.2. Étude du suivi de la séroconversion des bovins sentinelles en Corse : l'expérience de 2002

II.2.1. Introduction

Depuis les premiers foyers de fièvre catarrhale du mouton en 2000, la Corse a perdu son statut de région officiellement indemne de cette maladie entraînant d'importantes contraintes sur les échanges d'animaux et de semences. Pour retrouver un statut indemne de FCM, la Corse doit suivre régulièrement la circulation virale de la FCM et prouver qu'en l'absence de foyers, ce virus n'a pas circulé pendant deux années consécutives (OIE, 2004f). Sur la base des recommandations générales de l'OIE, différentes méthodes de suivi de la circulation des sérotypes de la bluetongue peuvent être utilisées. Elles doivent être adaptées à la situation épidémiologique de la maladie, aux problématiques particulières induites par la présence d'un tel virus ou encore aux méthodes de lutte mises en place. Elles ont pour objectif de prouver que l'infection est en deçà d'un certain niveau de prévalence avec un niveau de confiance suffisant (OIE, 2005a).

En Australie où différents sérotypes du BTV circulent de façon endémique, un système de surveillance visant notamment à délimiter les zones indemnes et les zones infectées est en place depuis 1980. Du fait de l'absence d'élevages commerciaux d'ovins dans les zones de circulation du virus, la surveillance concerne les seuls élevages commerciaux bovins. En 2002 et 2003, cette surveillance a consisté en un suivi sérologique mensuel de troupeaux sentinelles dans la zone infectée et en une enquête sérologique annuelle de 10 à 15 troupeaux bovins visant à délimiter la zone de surveillance et la zone indemne. Le suivi des troupeaux sentinelles est basé sur le contrôle sérologique mensuel de 20 à 25 bovins sérologiquement négatifs en début de saison d'activité du vecteur. L'enquête sérologique annuelle repose sur un transect au nord et au sud de la zone de circulation virale où 80 à 100 bovins de 18 à 24 mois provenant de 10 à 15 élevages sont contrôlés avec un test cELISA. Les sérums positifs sont recontrôlés par un test de séroneutralisation (Melville, 2004).

Aux États-Unis, la surveillance a été longtemps basée sur le contrôle sérologique de sérums de bovins adultes collectés en abattoir dans les zones où les vecteurs sont absents (Dargatz *et al.*, 2004). Actuellement, le système de surveillance de la circulation virale est basé sur le suivi de troupeaux sentinelles situés au Nord du pays. Environ 140 élevages de trois états sont sélectionnés. Les bovins de ces élevages sont alors prélevés et testés pour la FCM avec un test cELISA deux fois par an, une fois avant et une fois après la saison d'activité du vecteur (Dargatz *et al.*, 2004).

En Europe, dès lors que l'Union Européenne n'a pas formulé de critères particuliers à respecter dans le plan de surveillance de la FCM, chaque pays a pu développer son propre programme en tenant compte de ses besoins spécifiques, ses particularités géographiques ou ses pratiques d'élevages.

Un volet du plan de surveillance mis en place en Italie vise à délimiter avec une précision inférieure à 100km les zones dans lesquelles le virus circule même en l'absence de cas cliniques. Il est basé sur le suivi de troupeaux sentinelles. Cependant, étant donné que le programme de vaccination contre les sérotypes de la FCM est appliqué à la fois chez les ovins, les caprins et les bovins, ce suivi impose de conserver un certain nombre d'élevages non vaccinés. Les régions avec un antécédent de FCM ont été découpées en cellules de 400 km² (carré de 20km de côté). Dans chaque cellule, un plan d'échantillonnage visant à détecter une prévalence de 5% avec un risque d'erreur inférieur à 5% a été défini (Giovannini *et al.*, 2004). Ainsi, 58 bovins provenant de 5 à 8 élevages bovins ont été sélectionnés par cellule et contrôlés régulièrement avec une fréquence variable en fonction de la saison et de l'occurrence de l'infection dans la zone (Calistri *et al.*, 2004).

En Corse, suite à l'épizootie de FCM de 2000, un programme de vaccination des ovins contre le sérotype 2 a été lancé au printemps 2001. Si la première campagne de vaccination a été moyennement efficace (Edderai *et al.*, 2002) comme l'attestent les 335 foyers de 2001, la seconde campagne de vaccination, débutée en mars 2002, a permis d'assurer une bonne couverture vaccinale des élevages ovins. Une enquête transversale menée en 2002 a ainsi estimé la prévalence apparente des ovins à 91% (Hendrickx, 2002), une partie étant certainement liée à la vaccination et une autre aux circulations virales de 2000 et 2001. Au vu de ce contexte vaccinal existant en Corse, la surveillance d'une éventuelle circulation virale au sein de l'espèce ovine est devenue impossible. Ce suivi devait donc se faire au sein d'une autre population animale gardant une trace détectable du passage viral. C'est le cas notamment des espèces domestiques bovines et caprines. De plus, le système d'élevage corse très extensif ne permet pas de suivre avec une grande fréquence un nombre assez important d'animaux.

Au vu de ces éléments, une méthode alternative adaptée au contexte corse a été mise en place en 2002. Elle visait à démontrer l'absence de circulation virale en Corse ou, en cas de mise en évidence d'une circulation, à quantifier l'ampleur de la circulation virale, mesure indirecte de l'efficacité des mesures de prophylaxie déployées.

II.2.2. Matériels et méthodes

L'objectif du plan d'échantillonnage a été de mettre en évidence une éventuelle circulation du BTV dans au moins 2% des cheptels bovins en détectant les animaux ayant séroconverti au cours de l'année 2002. Le vecteur de la FCM, *C. imicola* ayant une activité saisonnière s'étalant d'avril à décembre, le protocole de suivi de la séroconversion des bovins au cours de l'année 2002 a consisté en la réalisation de deux enquêtes sérologiques réalisées sur des prélèvements sanguins issus des campagnes de prophylaxie hivernale.

La première enquête (campagne de prophylaxie de 2001-2002) a permis de déterminer le statut sérologique des animaux avant le début de la saison d'activité du vecteur et d'identifier des animaux sérologiquement négatifs vis-à-vis du BTV. Ceux-ci ont alors été recontrôlés lors de la deuxième enquête (campagne de prophylaxie de 2002-2003) soit, après la saison d'activité 2002 de *C. imicola*.

Les critères de sélection des cheptels bovins ont été les suivants :

- représentativité de tous les écosystèmes de l'île,
- détection d'une séroconversion dans au moins 2% des élevages bovins,
- inclusion d'élevages situés à proximité des sites de surveillance entomologique.

La Corse comptant environ 1 260 cheptels bovins en 2000, 141 cheptels ont été sélectionnés par tirage au sort et l'ensemble des bovins de ces cheptels ont été contrôlés vis-à-vis de la FCM. Compte tenu d'un nombre moyen de 41 animaux par cheptel en 2000, d'une prévalence observée en Corse du Sud de 40% (Zientara *et al.*, 2000a) et considérant que la circulation virale de 2001 a été intense, la prévalence intra-troupeau attendue dans les élevages était d'au moins 75% (Hendrikx, P., person. comm.). Le nombre attendu de bovins sérologiquement négatifs par cheptel après la première enquête était alors de 10.

Au cours de la seconde campagne de prophylaxie, l'échantillon d'animaux a été augmenté en prélevant, soit en abattoir, soit dans les élevages, les veaux nés en 2002 et âgés de plus de six mois pour éviter la présence des anticorps colostraux. De plus, des élevages, choisis de manière aléatoire parmi les échantillons de la campagne de prophylaxie, ont également été inclus dans la 2^{ème} enquête sérologique.

II.2.3. Résultats

Au cours de la première enquête sérologique un total de 4 499 sérums a été testé par cELISA, 1 318 provenant de 47 élevages de Corse du Sud et 3 181 provenant de 69 élevages de Haute-Corse (Tableau VI). Au total 2 267 bovins répartis dans 93 élevages ont révélé une sérologie négative au test cELISA de la FCM.

Département	Nombre de cheptels	Nombre de prélèvements	Nombre de négatifs	Nombre de positifs	Nombre de douteux	Prévalence inter-troupeau observée [IC à 95%]
Corse du Sud	47	1 318	395	901	22	94 % [0,87-1]
Haute-Corse	69	3 181	1 872	1 284	25	93 % [0,87-0,99]
Total	116	4 499	2 267	2 185	47	93 % [0,88-0,98]

Tableau VI : Résultats de l'enquête sérologique vis-à-vis du BTV réalisée en Corse dans 116 élevages bovins prélevés lors de la campagne de prophylaxie 2001-2002.

La prévalence intra-troupeau observée dans les différents élevages était comprise entre 0 et 100 % selon une répartition présentée dans la Figure 35. La moyenne des prévalences intra-troupeau était de 70 % (IC95% [0,53 - 0,87]) en Corse du Sud et de 43 % (IC95% : 0,35 - 0,51]) en Haute Corse.

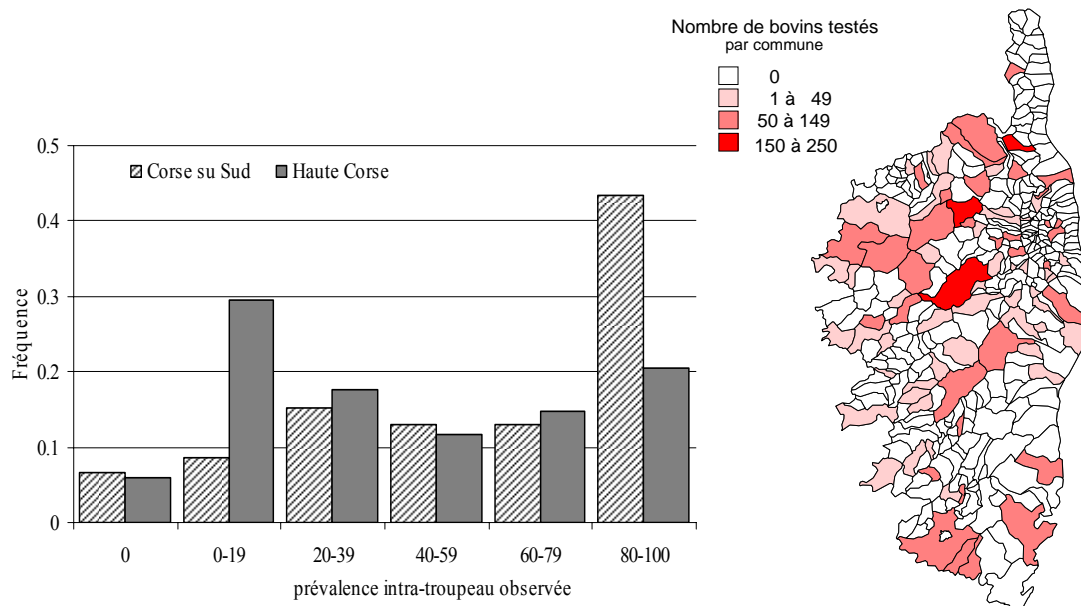


Figure 35 : a) Distribution de la prévalence intra-troupeau observée en Corse du Sud et en Haute Corse au printemps 2002 et b) répartition géographique des bovins prélevés.

Lors de la 2^{ème} enquête sérologique qui s'est déroulée entre le 1^{er} octobre 2002 et le 31 mars 2003 (campagne de prophylaxie hivernale 2003-2003), deux approches distinctes ont été suivies dans les deux départements corses :

En Haute Corse, l'ensemble des animaux détenus dans un élevage où des bovins sérologiquement négatifs ont été identifiés au printemps a été testé.

En Corse du Sud, dans un premier temps, seuls les bovins sérologiquement négatifs lors de la première campagne ont été retestés. Puis, devant la difficulté à isoler ces animaux parmi les autres, l'ensemble du cheptel a été contrôlé.

Un total de 3 823 bovins répartis dans 143 élevages a ainsi été testé pour la FCM. Parmi ces résultats, 1 213 résultats répartis dans 65 élevages provenaient des bovins sérologiquement négatifs au virus BTV au printemps 2002.

Département	Nombre de cheptels	Nombre de cheptels recontrôlés	Nombre total de prélèvements	Nombre de négatifs	Nombre de positifs
Corse du Sud	94	27	1 615	527	1 084
Haute-Corse	49	38	2 208	1 414	756
Total	143	65	3 823	1 941	1 840

Tableau VII : Résultats de l'enquête sérologique vis-à-vis du BTV réalisée en Corse dans 143 élevages bovins prélevés lors de la campagne de prophylaxie 2002-2003.

Au total, 1 192 étaient interprétables en terme de séroconversion (Tableau VIII). Ils correspondent aux prélèvements suivants :

- un résultat négatif à la 1^{ère} et un résultat négatif à la 2^{ème} campagne,
- un résultat négatif à la 1^{ère} campagne et un résultat positif à la 2^{ème} ; cette catégorie représente les animaux ayant séroconverti pendant l'année 2002.
- pas de résultats à la 1^{ère} campagne et un résultat négatif à la 2^{ème} ; ils correspondent à des animaux provenant d'élevages nouvellement contrôlés.

Les autres ne sont pas interprétables essentiellement du fait qu'au moins un des résultats étaient douteux ou que les bovins n'avaient pas été contrôlés au printemps.

Département	Nombre d'élevages contrôlés 2 fois	Nombre d'élevages avec au moins une séroconversion	% d'élevages avec au moins une séroconversion [IC 95%]	Nombre d'animaux avec 2 résultats négatifs	Nombre total d'animaux ayant séroconverti
Corse du Sud	27	13	48,1 % [38,7 – 56,5]	191	38
Haute Corse	38	31	81,6 % [75,4 – 87,8]	778	185
Total	65	44	67,7 % [62,0 – 73,4]	969	223

Tableau VIII : Synthèse des résultats interprétables du suivi biennuel de bovins adultes en élevage en 2002

Parmi 65 élevages contrôlés deux fois, 44 détenaient au moins un bovin ayant séroconverti entre 2002 et 2003, attestant par la même un contact avec le virus BTV au cours de l'année 2002. Ce résultat correspond, au niveau des animaux, à un total de 223 séroconversions. 21 avaient un 2^{ème} résultat douteux et 969 sont restés négatifs. En Corse du Sud, 11 communes sur les 19 suivies ont ainsi révélé une circulation virale chez les bovins adultes et 30 sur les 34 en Haute Corse, ce qui correspond à un élevage par commune (2 à Balogna, Monacia d'Aullène et Oletta).

Les taux de séroconversion observés au niveau des animaux ne sont pas significativement différents ($p > 0,1$) entre les 2 départements : 16,6% en Corse du Sud et 19,2% en Haute Corse, avec des variations allant de 2 à 100% selon les élevages. Cependant, c'est en Haute Corse que le nombre d'élevages ayant présenté des séroconversions a été le plus important avec 31 élevages avec au moins une séroconversion (pour un total de 185 bovins). A Occhiatana, l'ensemble des 12 bovins contrôlés d'un élevage de 14 animaux a séroconverti. De même à Castifao, 11 des 13 bovins suivis parmi les 14 bovins recensés ont séroconverti. Ainsi, dans ces 2 élevages du Nord-Ouest de la Corse, la prévalence apparente est passée de 0% à plus de 80%.

Parmi les 21 élevages dans lesquels aucune séroconversion n'a été mise en évidence, 16 avaient une prévalence au printemps 2002 significativement inférieure à la moyenne estimée dans chaque département. Les 5 autres avaient en revanche des prévalences initiales supérieures à 74%. Plus généralement, les plus forts taux de séroconversion ont majoritairement eu lieu dans les élevages avec une prévalence initiale inférieure à 40% (26 sur 44 élevages). Cependant, si on regarde plus en détail ces résultats, on note des différences entre les 2 départements puisque dans les élevages de Corse du Sud avec une séroprévalence initiale inférieure à 25%, aucune séroconversion n'a été identifiée parmi un total de 100 sérums testés.

prévalence initiale	Séroconversion			
	Nombre d'élevages sans séroconversion	Nombre d'élevages avec au moins une séroconversion	% minimal de séroconversion	% maximal de séroconversion
0	5	2	84.6%	100.0%
1 - 20	7	13	2.1%	76.2%
21 - 40	4	11	2.5%	64.0%
41 - 60	0	8	7.1%	100.0%
61 - 80	1	7	10.0%	100.0%
81 - 100	4	3	25.0%	100.0%

Tableau IX : Distribution des séroconversions observées en fonction de la prévalence calculée dans les élevages lors de l'enquête du printemps 2002.

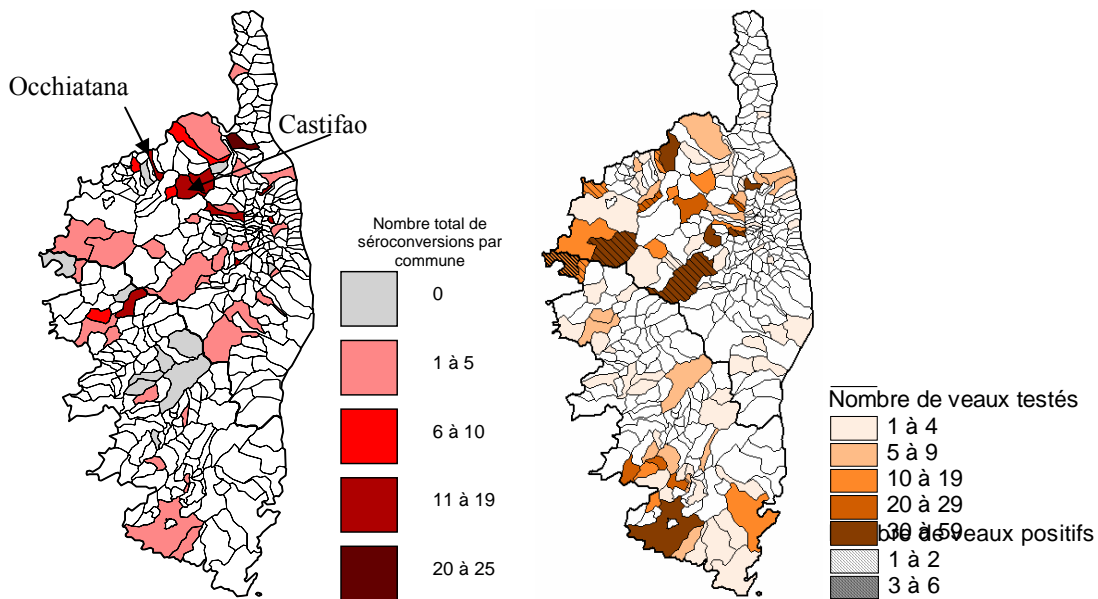


Figure 36 : a) Répartition, par commune, des bovins adultes ayant produit des anticorps contre le BTV au cours de l'année 2002 et b) provenance géographique des veaux testés à l'abattoir avec, en hachure, les communes d'origine des veaux contrôlés positifs vis-à-vis de la FCM.

Pour compléter ce dispositif de suivi, 834 veaux d'abattoir âgés de 6 à 12 mois ont été testés vis-à-vis de la FCM entre novembre 2002 et juin 2003. 19 veaux répartis dans 12 élevages et provenant de 8 communes différentes se sont révélés positifs (Figure 6).

II.2.4. Discussion

Le suivi des séroconversions chez les bovins en Corse est intéressant pour deux raisons. D'une part, en cas d'absence de foyers cliniques de la FCM, il permet de décider si oui ou non le virus a circulé au cours de l'année. D'autre part, en contrôlant les sérums positifs au test cELISA avec un test spécifique du sérotype viral, il est possible de déceler si un nouveau sérotype a été introduit ou non.

Le plan d'échantillonnage retenu pour ce suivi a été défini en prenant comme unité épidémiologique le troupeau sachant que le suivi s'est fait ensuite sur l'animal. La taille de l'échantillon a été défini pour détecter une prévalence « troupeau » de 2 % ce qui est bien en deçà de la prévalence attendue en cas de circulation virale chez les bovins (Ward *et al.*, 1994). L'ensemble des bovins d'un élevage sélectionné devait faire l'objet d'un contrôle. Ainsi, la probabilité de détecter au moins un animal positif dans un élevage infecté dépendait uniquement de la qualité du test et non de la proportion d'animaux testés. Cependant, en pratique, les animaux d'un même propriétaire n'évoluent pas forcément au sein d'un même troupeau. Il est donc difficile *a posteriori* de vérifier si tous les animaux présents dans un élevage contrôlé ont été effectivement prélevés. Au final, 1 192 animaux répartis dans 65 élevages ont pu être suivis, soit 8 fois plus que nécessaire pour détecter une prévalence de 2% avec un risque d'erreur de 5 % suite à un tirage aléatoire simple (TAS). On peut donc considérer que l'effet troupeau inhérent à la méthode d'échantillonnage a été pris en compte.

A défaut de connaître précisément quels milieux écologiques sont les plus favorables pour la circulation du virus, la sélection par tirage au sort des élevages suivis devait permettre de représenter la majorité des écosystèmes de l'île. Sur les 141 élevages devant être suivis lors de l'enquête du printemps 2002, seulement 117 ont réellement été inclus dans le protocole, soit 49 sur 70 en Corse du Sud et 69 sur 71 en Haute Corse.

Les zones de la plaine orientale où se situent beaucoup d'élevages ovins et la pointe de la Corse du Sud ont notamment été mal représentées dans ce premier échantillon. L'ajout de nouveaux élevages au cours de la deuxième enquête ainsi que le contrôle de veaux en abattoir a permis d'améliorer sensiblement leur représentation.

Pour des raisons *a priori* non liées au caractère étudié, 1 054 soit 46% des animaux négatifs lors de la 1^{ère} enquête n'ont pas été recontrôlés après la saison d'activité du vecteur en 2002. Plusieurs facteurs expliquent cette importante difficulté à tester un même animal à deux périodes différentes. Les bovins corses incorporés dans l'étude n'avaient pas tous un numéro d'identification unique à 10 chiffres. Certains étaient ainsi mal identifiés (3 221 bovins soit 72 %) et d'autres n'étaient pas du tout identifiés (8 bovins). De plus, la feuille accompagnant les prises de sang au laboratoire spécifiant notamment le numéro de l'élevage, l'identifiant de l'animal, la commune où ont eu lieu les prélèvements ont été complétés manuellement par la personne en charge des prélèvements, ces données étant ensuite informatisées au niveau du laboratoire. Des erreurs de saisies ont ainsi pu être commises notamment lorsque les informations étaient peu lisibles. De plus, certains éléments sont restés manquants comme le numéro de l'élevage. Dans ce cas, un même numéro pouvait provenir de différents animaux si l'animal était identifié seulement avec son numéro de travail (pas d'identifiant national unique à 10 chiffres). Un long travail de recouplement des données du laboratoire et des services vétérinaires a donc été nécessaire pour corriger les éventuelles erreurs de saisies et collecter les données manquantes.

Au printemps 2002, la prévalence apparente à l'échelle des animaux était significativement plus élevée ($p < 10^{-3}$) qu'en hiver 2000 avec un taux de 68% (intervalle de confiance à 95% (IC95) : 0,65-0,70) en Corse du Sud et 40% en Haute Corse (IC95 : 0,38-0,42). On a ainsi confirmé la forte circulation virale en 2001 sur l'ensemble de la Corse. De plus, cette prévalence est restée significativement plus forte en Corse du Sud qu'en Haute Corse ($p < 10^{-3}$).

L'augmentation significative des prévalences observées sur l'échantillon tiré au sort de cheptels bovins ainsi que la mise en évidence d'une séroconversion chez 16% des bovins suivis a permis de démontrer l'occurrence d'une circulation virale en 2002. Cependant, le fait que l'ensemble de l'île ne soit pas bien représenté dans l'échantillon limite l'analyse visant à délimiter les zones où la circulation a été la plus forte. Il reste tout de même intéressant de constater qu'en Corse du Sud, les élevages à faible prévalence suivis n'ont pas révélé de séroconversion bien qu'un total de 100 animaux au sein de tels élevages ait été suivi. Si des séroconversions ont eu lieu dans des élevages dont la prévalence initiale était supérieure à 80%, celles-ci ont été très limitées (4 élevages de Corse du Sud). Une prévalence apparente supérieure à 80% semble donc réduire la circulation virale.

Si les cas cliniques ont été très majoritairement limités au sud de la Corse lors de l'épizootie de 2000 (Zientara *et al.*, 2000a), la large circulation du sérotype 2 sur l'ensemble de l'île constatée lors de l'épizootie de 2001 a été confirmée en 2002 par cette étude. Malheureusement, ce suivi n'a pas été accompagné d'une surveillance entomologique spécifique dans les élevages suivis. On ne peut donc pas mettre en relation par exemple les élevages nouvellement infectés (Occhiatana, Castifao) avec des résultats entomologiques.

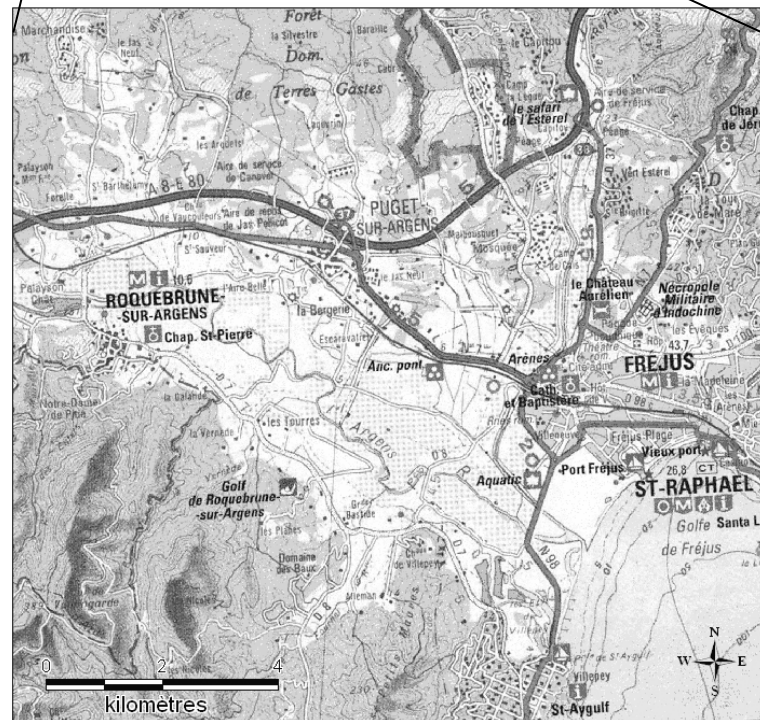
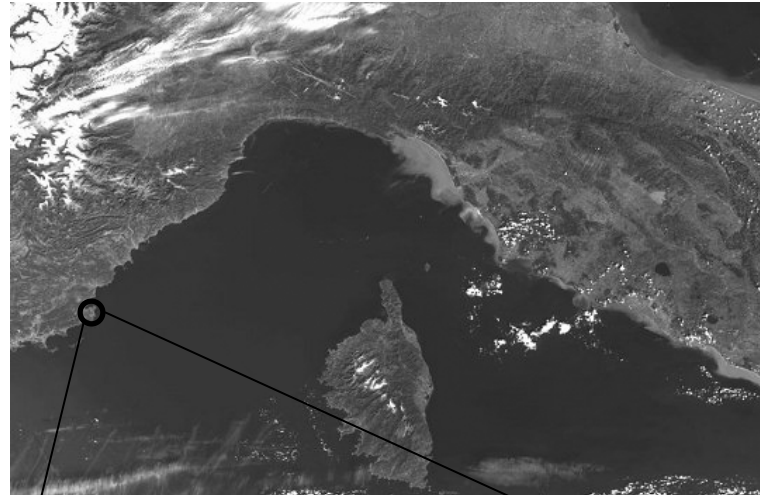
L'autre limite de cette étude vient du fait qu'elle ne répond pas aux besoins de détection rapide de l'introduction d'un nouveau sérotype puisque la séroconversion a été révélée après la période d'activité du vecteur. Pour atteindre cet objectif, il aurait fallu contrôler les élevages plus fréquemment. Cette expérience avait été initiée en 2001 mais seulement 4 élevages avaient pu être suivis régulièrement. La détermination du sérotype impliqué sur les résultats positifs est également indispensable pour pouvoir surveiller l'introduction d'un nouveau sérotype.

La lourdeur de mise en place de ce type d'étude dans le contexte corse où les animaux ne sont pas faciles à prélever et sont parfois mal identifiés a conduit à redéfinir le protocole de suivi des séroconversions. Ainsi, en 2003, seul le suivi sérologique de veaux de moins de 12 mois prélevés tous les mois en abattoirs a été maintenu et renforcé. De plus, après réflexions avec les services vétérinaires, un suivi mensuel d'animaux sentinelles a été instauré dans des 4 élevages laitiers caprins. Ils ont été choisis au vu de leur conduite d'élevage qui offrait une certaine facilité pour réaliser régulièrement des prélèvements sanguins sur l'ensemble du troupeau. La bonne volonté des éleveurs pour ce type de suivi permettait également d'envisager un suivi sur une longue période. L'efficacité de ce système a été démontrée *a posteriori* en 2003, puisque ce suivi des caprins sentinelles a permis d'identifier dès juillet 2003 l'introduction du sérotype 4 (Gerbier *et al.*, 2006a), même si les analyses permettant de définir le sérotype en cause ont été réalisées après les premiers foyers de 2003.

Si la connaissance des performances d'un test de diagnostic utilisé dans le cadre d'un programme de surveillance permet d'avoir une meilleure lisibilité des résultats obtenus et d'adapter le plan d'échantillonnage aux objectifs fixés, le contexte épidémiologique, le type d'élevages présents ou encore les particularités géographiques d'une zone sont autant d'éléments méritant d'être pris en compte dans le choix du protocole d'échantillonnage et des méthodes de surveillance à mettre en place. De plus, la situation pouvant évoluer rapidement, il faut veiller à disposer en permanence d'éléments suffisants pour réévaluer régulièrement le risque d'occurrence de la maladie.

Outre les zones infectées par la FCM, une surveillance épidémiologique adaptée est nécessaire dans les zones considérées à risque de FCM. Or, pour disposer d'un système de surveillance efficace, cela suppose d'avoir un certain nombre de connaissances sur les éléments intervenant dans la transmission et notamment du vecteur, *C. imicola*. Si la surveillance entomologique apparaît adaptée pour détecter l'introduction de spécimens erratiques ou installés, ce dispositif n'apporte aucun élément sur la bioécologie de *C. imicola*. Elle n'explique pas non plus les facteurs ayant favorisé l'installation de ce vecteur dans une zone du Var et ne permet pas d'estimer quantitativement le risque de transmission dans une zone où il est présent. Les piégeages mensuels sont également insuffisants pour suivre la dynamique d'une population installée. Une étude spécifique est donc nécessaire pour appréhender ces éléments. L'étude de cette population récemment installée dans le Var est d'autant plus intéressante qu'elle est très localisée et qu'il s'agit de la population de *C. imicola* la plus au Nord de son aire de répartition habituelle qui soit connue.

Approche entomologique : bioécologie de *Culicoides imicola* dans une zone d'implantation récente



III.1. Introduction

L'évaluation du risque de FCM en France continentale peut être abordé à différents niveaux. On peut par exemple s'intéresser au risque d'introduction de la maladie lors de l'importation de bovins depuis la Corse. La question posée est alors très précise et fait référence à un fait pouvant en théorie facilement être contrôlé si le risque est jugé trop important. Cependant, il existe également des risques provoqués par des événements non maîtrisables comme l'introduction et l'installation de populations de vecteurs dans une nouvelle zone. Dans ce cas, il est intéressant d'analyser ce qui pourra se produire suite à un tel événement.

La présence d'une population installée de *C. imicola* dans la commune de Roquebrune sur Argens (département du Var) implique de reconsidérer le risque d'occurrence de la FCM dans cette zone. Une façon d'aborder ce problème est de se demander quel est le potentiel de transmission de cette population de vecteur, comment il évolue au cours du temps et quels sont les facteurs déterminants qui l'influencent.

L'étude de la capacité vectorielle de cette population de *C. imicola* permet de répondre à ces questions. Cependant, pour estimer cet index, il est nécessaire au préalable de connaître les paramètres gouvernant la dynamique de cette population. Une étude entomologique a donc été menée en 2005 à Roquebrune sur Argens.

III.1.1. Objectifs de l'étude approfondie à Roquebrune sur Argens

L'étude a consisté en :

- un protocole central visant à suivre durant toute la saison d'activité du vecteur l'évolution de l'abondance de *C. imicola* et de la parité¹⁵ des femelles et,
- une série d'études ponctuelles au protocole spécifique. Ces études parfois préliminaires avaient pour objectif soit d'approfondir les connaissances sur la bioécologie de *C. imicola*, soit d'apprécier plus spécifiquement un des paramètres de la capacité vectorielle (taux de piqûres journaliers, compétence vectorielle).

L'objectif principal a donc été de suivre l'évolution de la population de *C. imicola* en phase de colonisation d'une zone au nord de sa répartition habituelle.

Cependant, l'estimation de *C* suppose aussi de disposer d'informations sur les contacts entre les hôtes (moutons) et les vecteurs et sur la compétence vectorielle de *C. imicola* pour le virus BTV. Des études spécifiques visant à évaluer ces paramètres ont donc également été mises en place.

III.1.2. La zone d'étude

III.1.2.1. Généralités

Roquebrune sur Argens est une commune de 12 000 habitants située à l'extrême sud-est du département du Var dans le golfe de Fréjus (43°43'N - 6°63'E). Elle se trouve dans l'embouchure de l'Argens, fleuve séparant le massif des Maures situé à l'Ouest du massif de l'Estérel s'étendant à l'Est. Ces deux massifs constituent une unité géologique cristalline remarquable dans une Provence essentiellement calcaire. Il est intéressant de constater que les massifs des Maures, de l'Estérel, la Corse et la Sardaigne faisaient partie jusqu'au Miocène¹⁶ de la même entité géologique (paléo-massif).

¹⁵ Il correspond à la proportion de femelles pares, c'est-à-dire le nombre de femelles pares divisé par le nombre de femelles totales. Les femelles sont dits pares quand elles ont pondu au moins une fois.

¹⁶ Elle s'étend de 23,0 à 5,3 millions d'années avant notre ère. Elle est suivie par le Pliocène et précédée par l'Oligocène. Elle a été nommée ainsi par Charles Lyell et signifie approximativement *moins récent* en référence aux mammifères déjà essentiellement modernes.

Cette commune très boisée s'étend sur 17 km de la façade méditerranéenne au pied des montagnes (10610 Ha) en passant par la plaine de l'Argens. Cette plaine alluviale est une zone essentiellement agricole où se côtoient terrains horticoles et maraîchers, vergers, vignobles et oliveraies.

La végétation est de type mésoméditerranéen inférieur à chêne vert. Le climat se caractérise par un hiver doux et un été long et chaud. Les précipitations se concentrent sur les mois d'automne et d'hiver. La température moyenne est de 15°C avec des précipitations annuelles de 740 mm (normales 1996-2005).

Les élevages sont essentiellement des élevages ovins dont une partie pratique encore la transhumance estivale. Parmi les 11 élevages de ruminants déclarés sur la commune, dix sont des élevages ovins à viande et un est un élevage de caprins laitiers. Un grand nombre de chevaux est également présent dans l'embouchure de l'Argens sans que l'effectif exact soit connu. Ils se répartissent à la fois dans des structures ouvertes au public (centre équestre) et chez des particuliers. Un total de 8 sites hébergeant des chevaux ont été répertoriés lors des enquêtes entomologiques dans cette plaine entre la bouverie au Nord et Saint-Aygulf au Sud (annexes G).

III.1.2.2. Choix des sites

Cette zone d'étude a été retenue pour trois raisons. Premièrement, c'est sur cette commune que les premiers spécimens de *C. imicola* ont été mis en évidence en octobre 2004. De plus, suite à la mission d'octobre 2004 (annexe D), on disposait des informations nécessaires à la sélection de sites potentiels pour initier un suivi longitudinal. Enfin, un suivi régulier entre octobre et novembre 2004 sur le centre équestre de la Rouvière a été mené par l'EID pour dater la fin de l'activité de la population de *C. imicola* nouvellement découverte.

Au sein de cette zone, il a fallu définir le nombre de sites à suivre et la fréquence des piégeages. La définition du rythme des piégeages a pris en compte à la fois la dimension logistique (déplacement sur site depuis Montpellier) et la lourdeur du traitement entomologique des résultats des différents piégeages. La diagnose des *C. imicola* parmi tous les insectes piégés suivie de la différenciation entre les mâles, les femelles pares et nullipares puis leur comptage devaient pouvoir être assurées par une seule personne. Il a été retenu de suivre 4 sites de manière hebdomadaire.

Du fait d'un possible effet de l'espèce-hôte sur la dynamique de *C. imicola*, il a été retenu de suivre à la fois deux centres équestres et deux élevages ovins. Les 4 sites retenus couvrent l'ensemble de la plaine de l'Argens orientée selon un axe Nord-ouest/Sud-est.

Compte tenu de l'activité saisonnière de *C. imicola* s'étendant au moins de mai à octobre, seuls les élevages ovins ne pratiquant plus la transhumance ont été retenus. Il restait donc à choisir deux élevages ovins parmi les trois répondant à ces critères. L'élevage le plus proche du fleuve et l'élevage le plus au Sud ont été sélectionnés.

Concernant les centres équestres, celui de la Rouvière, dont le suivi a été initié dès octobre 2004, a été conservé. C'est sur ce site que le nombre le plus important de spécimens avait été identifié lors de la mission d'octobre 2004. Le choix du deuxième site s'est porté sur le centre équestre le plus au Nord de la plaine de l'Argens.

Un jour de la semaine a été fixé pour poser les 4 pièges. Ils ont été posés le soir au moins deux heures avant le coucher du soleil et relevés le matin 2 heures au moins après le lever du soleil.

III.1.2.3. Présentation des 4 sites de piégeages

Les 4 sites de piégeages sont répartis comme indiqué sur la Figure 37.

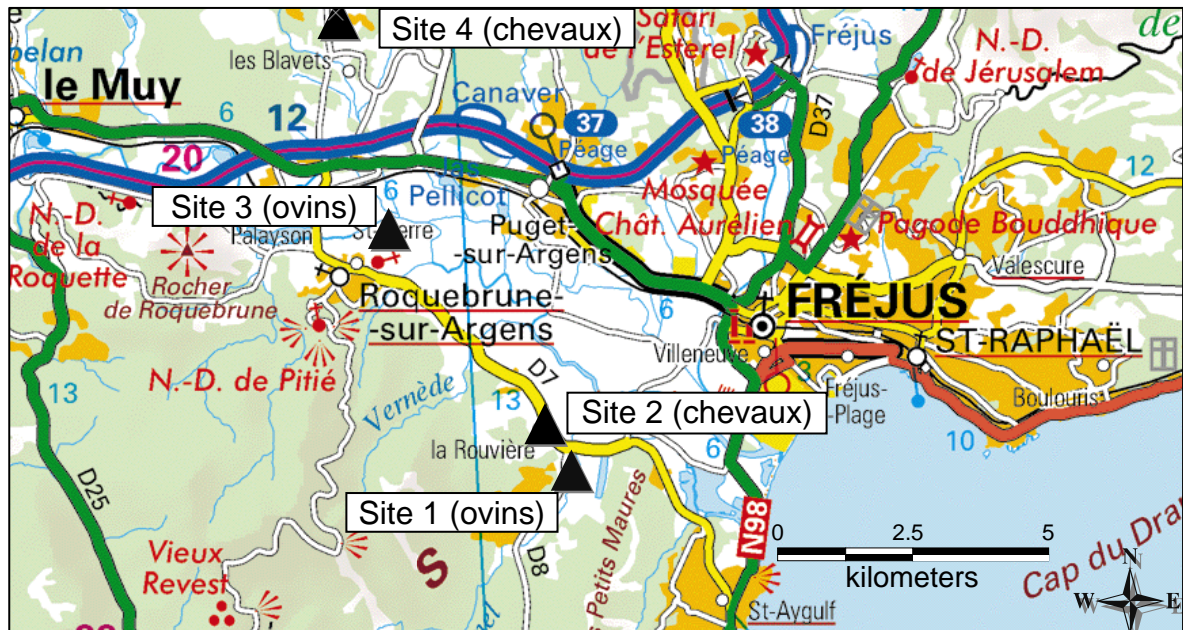


Figure 37 : Situation géographique des 4 sites de piégeages dans l'embouchure de l'Argens (Var)

Les 4 sites présentent les caractéristiques suivantes :

◆ *Centre équestre des Murettes (site 4)*

Ce site de piégeages est le plus au nord de la zone d'étude. Il comporte une quarantaine de chevaux. La moitié des chevaux passent la nuit dans les paddocks autour du bâtiment principal. L'autre moitié est logée dans des box.

Étant situé au-delà du massif des Maures et du massif de l'Estérel, ce centre équestre est très exposé au vent, notamment du Mistral qui souffle encore de manière assez forte dans cette zone.

La vue aérienne de ce site (annexe H) permet de se rendre compte de l'environnement avoisinant constitué essentiellement de prairies sèches, de vignobles et d'une chênaie. On note également la présence de petites étendues d'eau à 500 m au Nord-Est du centre.

◆ *Élevage ovin des Iscles (site 3)*

Ce site est situé à proximité direct de l'Argens qui chemine au nord de l'élevage. On y dénombre environ 200 brebis et agneaux qui sont rentrés tous les soirs dans une bergerie ouvrant sur un petit parcours.



Photo 1 : Bergerie de l'élevage ovin des Iscles

L'élevage est entouré de vignes, de vergers, d'une oliveraie et de prairies mésophiles. Il est également très proche du centre ville de Roquebrune sur Argens d'où la présence de nombreuses habitations à l'ouest. Dans un rayon de 500 mètres, on trouve également au moins 2 sites hébergeant des chevaux et un autre élevage ovin dont les animaux reviennent de transhumance vers la fin septembre. Cet élevage est le site sentinelle qui a révélé la présence de *C. imicola* en octobre 2004.

Les animaux peuvent aller pâturer dans des prés se situant à 1 ou 2 kilomètres de la bergerie.

◆ **Centre équestre de la Rouvière (site 2)**

Le centre équestre de la Rouvière héberge une soixantaine de chevaux et poneys. Une partie reste dans les écuries totalement fermées la nuit. Un petit groupe de poney est maintenu en permanence dans un paddock à proximité duquel le piège était posé. Le sol dans l'enceinte du centre est totalement à nu. Les zones humides en été sont rares même aux alentours des abreuvoirs. Seul le paddock des poneys conserve des zones d'humidité du fait du surpâturage et du stockage temporaire du fumier à cet endroit.

Le site, très dégagé, est exposé au vent d'ouest et d'est. Le seul élevage connu dans un rayon d'un kilomètre est l'élevage ovin de l'Orme (site 1). Ce centre, entouré de terres horticoles et maraîchères, de vignes et d'un terrain golf, est jouté par un ensemble de petits étangs utilisés pour la pisciculture.



Photo 2 : Situation du piège au centre équestre de la Rouvière

◆ **Élevage ovin de l'Orme (site 1)**

C'est le seul élevage qui n'avait pas été contrôlé dans la mission d'évaluation de la présence de *C. imicola* dans la vallée de l'Argens en octobre 2004. Il comprend 28 brebis et une vingtaine d'agneaux. En 2004, l'éleveur a pris sa retraite si bien qu'il a éliminé une grande partie de son troupeau composé alors de 300 têtes pour ne garder que 10 mères. Sa fille ayant repris l'exploitation, le troupeau est en phase de reconstitution.

La bergerie qui accueille les brebis pratiquement tous les soirs est localisée sous un hangar ouvert sur trois côtés. Ce dernier est longé par un profond fossé bordé de grands châtaigniers qui fait de cette zone un endroit très abrité du vent. Des volailles (canards, poules) sont également présentes à côté de la bergerie. Afin de disposer, tout au long de l'année, d'une pataugeoire pour les canards, une zone du fossé est maintenue en eau.

Cet élevage qui fait également camping à la ferme est largement entouré d'étangs au nord et à l'est. On trouve aussi des zones de cultures et un grand hameau. Une rivière ombragée chemine à l'est de la propriété.



Photo 3 : Situation du piège dans l'élevage ovin de l'Orme

Un piégeage hebdomadaire sur ces 4 sites à l'aide d'un piège lumineux de type New Jersey modifié a ainsi été réalisé entre mi-avril et mi-novembre 2005.

III.2. Le suivi longitudinal hebdomadaire de *C. imicola*

Article en cours de soumission à *Medical and Veterinary Entomology* :

*Seasonal abundance and daily survival of a recently established population of *Culicoides imicola* in France.*

BITEAU-COROLLER Fabienne^{1*}, BALDET Thierry¹, BAYLIS Matthew², MATHIEU Bruno³, ROGER François¹

1. CIRAD, Centre de coopération internationale en recherche agronomique pour le développement, département d'élevage et de médecine vétérinaire, TA 30/E, campus international de Baillarguet, F-34398 Montpellier Cedex 5, France.
2. University of Liverpool. Department of Veterinary Clinical Science, Leahurst, Neston, Wirral CH64 7TE
3. EID, Entente Interdépartementale de Démoustication, Montpellier, France

Keywords: *Culicoides imicola*, seasonal abundance, parous rate, survival rate, bluetongue virus, France, Ceratopogonidae

III.2.1. Introduction

Culicoides imicola, the primary Old-World vector of bluetongue (BT), was identified for the first time in France, on the island of Corsica, in 2000 (Delécolle & de La Rocque, 2002) and it now occurs widely across the island. Bluetongue virus (BTV) has circulated on the island each year since then (Gerbier *et al.*, 2006b).

In 2002, an entomological surveillance network was established along the French continental Mediterranean coast (Baldet *et al.*, 2004). It reported the first specimen of *Culicoides imicola* in May 2003 in the French department of Var, near Toulon. Some other erratic specimens were caught before finding consistent elements in October 2004 which proved that this species was currently establishing in this zone (Pers. Comm.).

The Argens valley, where the first *C. imicola* specimens were found in large numbers in mainland France, is the closest area (180 km) from Balagna (42° 36' 42" N, 8° 55' 23"E), the northern-western region of Corsica where the abundance of *C. imicola* was observed to increase considerably in 2003 (Figure 38).

The discovery of a potentially established population of *C. imicola* in the Var region led to a reassessment of the risk of BTV transmission throughout the south-east of France, by means of estimation of vectorial capacity (*VC*). This concept synthesizes the entomological features of a given vector-borne disease, assuming a completely susceptible host population in a given environment, into a measure of ‘transmission risk’ (Garrett-Jones, 1964a). This transmission risk may be either potential or actual depending on the viral status of the host population. Nevertheless, as the entomological parameters that make up this index are usually difficult to evaluate and are often biased, estimates of *VC* are essentially used for assessing changes or differences in transmission risk from place to place and/or from time to time (Dye, 1986; Dye, 1990).

Biting intensity and survivorship are two of the principal variables that determine *VC* (Dye, 1986; Dye, 1992). These variables are intimately linked to population dynamics and are expected to vary seasonally. Biting intensity, that is, the number of bites by host by day depends on vector abundance in relation to hosts, blood-feeding frequency and environmental factors. Thus, Mullens and Gerry (1998) established a relationship between collections of *Culicoides sonorensis* in CO₂-baited traps and actual number of females feeding on host. Such a relation was also demonstrated between light traps collections and human-biting catches (Lines *et al.*, 1991).

As BTV requires a period after ingestion before transmission is possible, called the extrinsic incubation period (EIP), small changes in temperature (which determines the length of the EIP) and vector survival rate (which affects vector life span) can significantly affect the potential transmission of this virus (Dye, 1992), increasing or decreasing the proportion of infected midges that live long enough to potentially transmit the virus. The parous rate, that is the proportion of adult females that have already laid eggs, can be used as a crude indicator of the daily survival rate of a vector population (Dye, 1992).

To better understand the risk of BTV transmission and the dynamics of this newly established species in Roquebrune-sur-Argens, we performed a longitudinal study to monitor the seasonal changes in abundance and parity of adult *C. imicola* within the 2005 activity season, before any local BT cases were described. From the parous rate, we estimated the seasonal change in the daily survival rate of *C. imicola*. The association between meteorological data (temperature and precipitation) and the activity of adult *C. imicola* were also evaluated.

III.2.2. Materials and methods

Study Area. Roquebrune-sur-Argens (43° 26' 38" N, 06° 38' 32 E) is a small town of the Var department in the Mediterranean coast. This alluvial plain, oriented northwest-southeast, is surrounded to the west by the Maures Massif (maximal altitude: 780 m) and to the east by the Esterel Massif (maximal altitude: 614 m), two crystalline mountainous massifs with a dense vegetation. This Mediterranean climate is characterized by a minimum and maximum annual temperature of 11°C and 20°C, respectively, and a total annual precipitation of 735 mm. This agricultural area mixes tree fruits, vineyards, olive groves and pastures.

As no cattle or goats are reared in the Argens mouth, four trapping sites were selected from places where horses or sheep were present during the expected vector activity season and were kept outside at night (Figure 38). At site 1, located 5 km away from the Mediterranean littoral (43°24'33" N – 6°41'19" E, Altitude: 12m), the trap was hung next to the sheep hangar where 25 ewes were penned all night long. A dry tree-lined brook went along this sheep barn and limited wind exposure. Immediate surroundings were characterized by open fields bordered with hedges where animals grazed during the day. Site 2, situated 1 km north of the first site (43°25'00" N – 6°40'56" E, Altitude: 12m), was a riding school where 55 horses were kept in stables and paddocks. The trap was set near an enclosure where about ten horses and ponies were penned permanently.

Site 3 was positioned near the Argens River, 8 km from the Mediterranean Sea (43°27'02" N – 6°38'59" E, Altitude: 9m), in a smooth and open plain surrounded by orchards, vineyards and olive groves. The light trap was hung from the sheep barn which has an entirely open side and an outside area. Site 4 was an equestrian centre situated slightly to the north of the Argens plain, 11 km away from the sea, in an open landscape. The trap was set at the foot of large and overgrazed horse pen along a row of oaks and reeds.

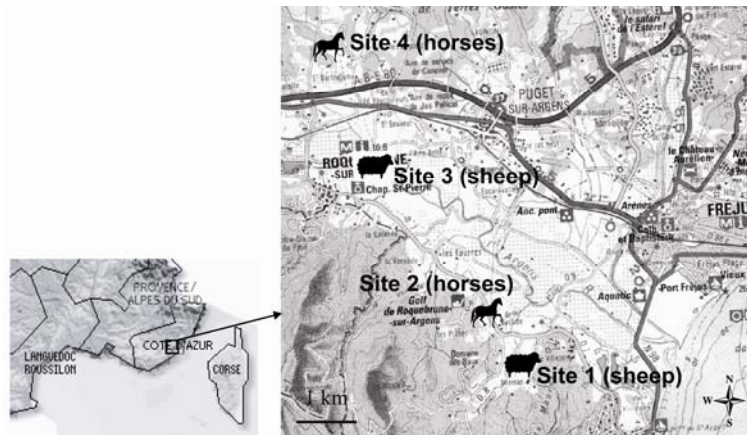


Figure 38 : Localisation of the 4 trapping sites in the Argens valley, France

Culicoides Collections. Traps were operated weekly at these four sites from April 15 to November 12, 2005, except for the third week of April and the second week of October when there were strong winds. *Culicoides* were trapped with a classical New Jersey light trap slightly modified (Rieb, 1982) using UV-light (fluorescent tubes, type “Atlas” F4T5/BL, 4 Watts) and operated with a 12V battery. A screw-top plastic bottle which contained a dilute detergent solution was used to collect and drown the insects. Traps were placed about 1.5 m above the ground, near animals, and were activated two to three hours before sunset and stopped two to three hours after sunrise. Catches were stored in 95% ethanol before sorting and identification. Among *Culicoides*, only *Culicoides imicola* species was identified on the basis of wing patterns (Delécolle, 1985; Delécolle & de La Roque, 2002). The females were classified into nulliparous and parous ones according to the abdominal pigmentation method (Dyce, 1969) to determine the parous rate. The reliability of this method has been confirmed for this species (Venter *et al.*, 1997).

Calculation of daily survival rate. The parous rate, P , was determined from nightly samples when the female catch exceeded 10 individuals. A monthly parous rate was also calculated as the monthly total of parous females caught out of the monthly total of females caught. From the standard error of this estimate, which was calculated from the binomial formula: $s.e. (P) = \sqrt{\frac{P \times (1-P)}{\text{total} \cdot \text{caught}}}$ (Birley & Boorman, 1982), we defined the confidence interval of P as $P \pm z_{\alpha} \cdot s.e.$ ($\alpha=0.05$). An estimation of daily survival rate, p , was computed each month from this monthly parous rate from the formula $p = P^{1/\mu}$ where p is the probability of surviving one day, P is the parous rate and μ is the duration of the gonotrophic cycle (Davidson, 1954). The latter parameter includes the time necessary for host seeking, blood feeding, egg maturation, breeding site seeking and oviposition (Beklemishev, 1940). As this life table parameter is not well known for this insect, we use literature (Walker, 1977a; Braverman *et al.*, 1985; Mullens *et al.*, 2004) and expert opinion to determine the most likely value of μ for each month. For *C. sonorensis*, Mullens *et al.* (2004) established a relationship between temperature and ovarian development rate and hence, gonotrophic cycle, as it was presumed that the main part of this cycle was composed of oogenesis.

From this formula, we obtained three μ estimates per month based on monthly minimum, mean and maximum temperature. A minimum, most likely and maximum daily survival rate of *C. imicola* was then computed from the following variables respectively: minimum μ & P(lower95); most likely μ & P, and maximum μ & P(upper95).

Meteorological data: Meteorological data were provided from a local METEO-FRANCE station in Fréjus, near the study area. Daily minimum, mean and maximum temperatures, precipitation and wind speed were collected. In order to compare temperature conditions in this area with the potential for *C. imicola* to persist as adults during winter, we computed weighted degree-days (wDD) values as defined by Sellers and Mellor (1993). Therefore, a score of 0 to 6 was assigned to days with maximum temperatures of ≤ 12 , 13, 14, 15, 16, 17 and $\geq 17^\circ\text{C}$ respectively. The monthly wDD estimate was the mean.

Statistical analysis. Variation in abundance was analysed using weekly and mean monthly catch data. Mean abundance per month was computed at each trap site and for the entire zone. Parity rate was estimated for each trap night and from the total of females caught per month and per site. Parity rates were compared using Chi square.

III.2.3. Results

Weather. Monthly mean maximum (MMmax), monthly mean (MMean) and monthly mean minimum (MMmin) temperatures were calculated from respectively daily maximum, mean and minimum temperature from September 2004 to November 2005 (figure 2). Whereas maximum daily temperature regularly exceeded 30°C in summer (maximum: 35.8 in mid-July), monthly mean temperatures did not exceed 24°C during summer. The winter of 2004-2005 was particularly cold and dry with a total precipitation in January and February of 12 mm (normal 1996-2005: 110 mm) and a total of 55 days with daily mean temperature less than 10°C . Furthermore, 18 consecutive days had daily maximum temperatures below 13°C . The wDD value (Sellers & Mellor, 1993) of the coldest month (February) was only 1.14. Nevertheless, the average daily maximum temperature for the coldest month of this winter was 12.6°C . Whereas rainfall in July was nearly absent (0.5 mm vs 18 mm for normal 1996-2005), precipitation in late summer and early autumn was quite abundant, with several major rainy episodes (Figure 39).

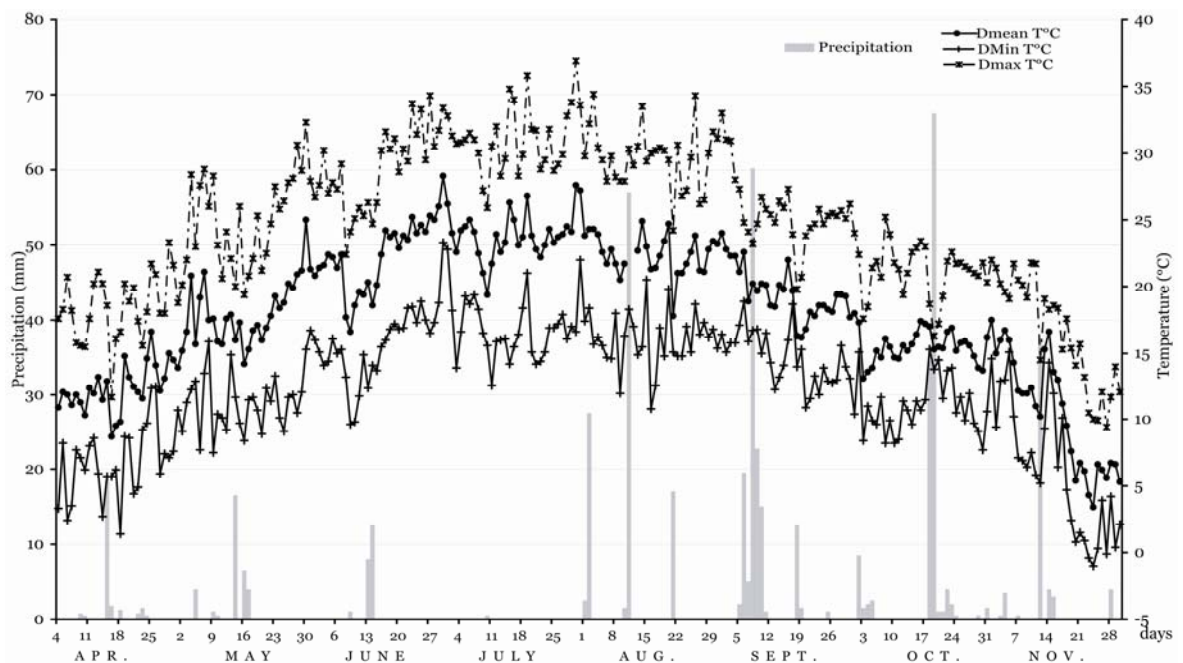


Figure 39: Daily precipitation, daily minimum, mean and maximum temperature recorded at Fréjus Météo-France station from September 2004 to November 2005.

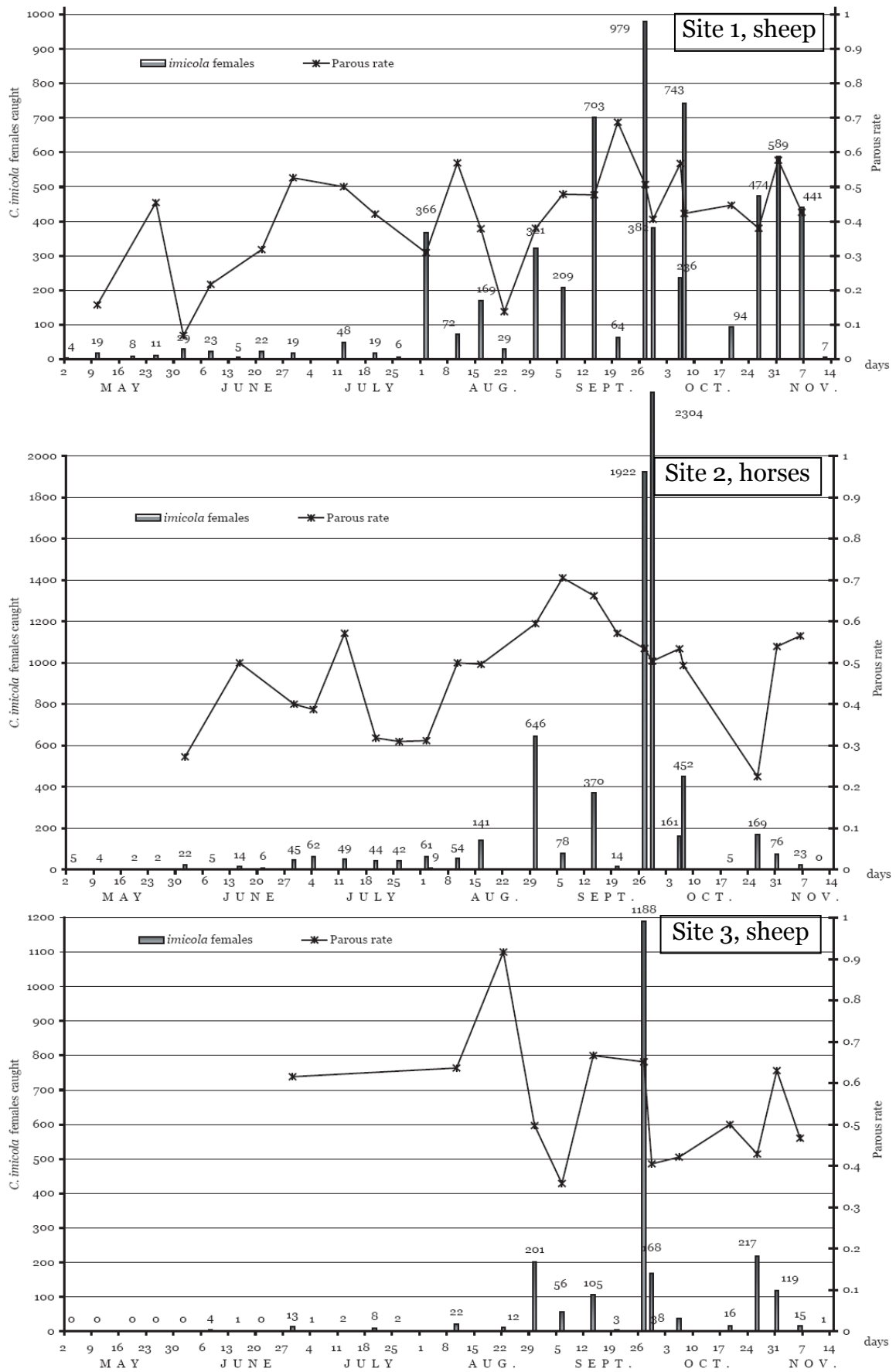


Figure 40 : Seasonal abundance and parity rate of females *Culicoides imicola* from May to November 2005 at three trap sites in Roquebrune-sur-Argens, France.

Seasonal abundance

The trapping protocol permitted monitoring of seasonal variation in the number of biting *C. imicola* within the vector activity period (Figure 40). Altogether 15 142 females and 450 male *C. imicola* were captured during 117 trap-nights from May to November 2005 (Tableau X). The majority of each catch comprised nulliparous and parous *C. imicola* without a bloodmeal or eggs were the most important part of the collections. This indicates that these light traps were mainly capturing host-seeking females.

Trap sites	No. of trap-night collections	Total collected (%) ^a			Date of collection		
		<i>Culicoides</i> spp	<i>C. imicola</i> (%)		First positive	Last positive	Date of highest number (numbers)
Site 1 (sheep)	29	9°100	6 169 (67.8)		May 2	Nov 12	Sep 27 (980)
Site 2 (horses)	30	7°629	7 143 (93.6)		May 2	Nov 6	Sep 28 (2327)
Site 3 (sheep)	27	2°678	2 200 (82.2)		June 8	Nov 12	Sep 28 (1191)
Site 4 (horses)	31	868	80 (9.2)		Jul 20	Oct 31	Jul 26 (55)
Total	117	20°275	15 592 (75.0)				

Tableau X : Seasonal distribution of *Culicoides imicola* adult collected by UV light traps from four sites in Roquebrune-sur-Argens

C. imicola was only detected at site 4 from mid-July and just 9 of the 31 trapping nights were positive for the vector. As *C. imicola* seems not to be well established there, we will only examine in detail the three other sites.

Once *C. imicola* seasonal activity had started, all samples collected were positive for *C. imicola* in sites 1, 2 & 3. Activity was first detected in early May at the two most southern sites (site 1 & 2) and one month later at site 3 (Figure 40). At all three sites, abundance peaked in late September, and the last *C. imicola* adults were caught in the first half of November. The abundance peak at site 2 was about twice that of sites 1 and 3. By comparing *C. imicola* seasonal activity patterns, we observed that the shape of the abundance peak was different between site 1 and sites 2 & 3. In the latter case, the number of *C. imicola* increased rapidly over a short period, whereas at site 1, the increase was more gradual, but over more time. Furthermore, at site 1, there was a second abundance peak at the end of October.

Parous rates and daily survival rate

The parous rate was calculated from each trapping night (Figure 40) and monthly average (Tableau XI). At sites 1 & 2, the curve shows three significant drops. Because of the small number of *C. imicola* caught at site 3 before the end of August, it was difficult to detect a possible decrease in the parous rate before that date. Then, two major falls occurred at the beginning and at the end of September when this rate was below 0.4.

The parous rate calculated for the whole season differed between sites. It was higher at site 2 than at sites 1 & 3 ($z=15.2$, $p < 0.001$ and $z=13.7$; $p < 0.001$). The major similarity between sites was the prolonged period of high parity in late summer (September). Apart from that time period, changes in parity between site 1 and 2 were quite different. The pattern at site 2 was characterized by a period of low parity in the second half of July followed by a progressive increment until early September when it reached a peak of 0.7. Then, it decreased gently but remained above 0.5 until early October. At site 1, parity was more variable with a long period of low parity in May and June. Periods when parous rate was above 0.5 were short and became more frequent in September and October when parity varied mainly between 0.4 and 0.6 with a peak of 0.68 in mid-September.

		Collection period							Overall season
		May	June	July	August	September	October	November	
sheep 1	total females (number traps)	42 (4)	98 (5)	73 (3)	957 (5)	2 337 (5)	2136 (5)	448 (2)	6 091 (29)
	% parous	0.333a/eg	0.265a/e	0.466a/fh	0.359a/g	0.484a/f	0.473a/f	0.424a/f	0.451a/h
horse 1	total females (number traps)	13 (4)	92 (5)	197 (4)	911 (5)	4 690 (5)	863 (5)	23 (2)	6 789 (30)
	% parous	0.231a/--	0.391b/e	0.401a/e	0.554b/f	0.628b/g	0.452a/e	0.565a/fgh	0.585b/h
sheep 2	total females (number traps)	0 (4)	18 (5)	13 (4)	235 (3)	1 520 (5)	390 (4)	16 (2)	2 192 (27)
	% parous	----	0.500/-	0.538/-	0.532b/e	0.377c/f	0.492a/e	0.438a/-	0.417c
total	total females (number traps)	55 (12)	208 (15)	283 (11)	2103 (13)	8547 (15)	3389 (14)	487 (6)	15072 (86)
	% parous	0.309	0.341	0.420	0.463	0.491	0.470	0.431	0.477

Parity estimates followed by the same letter are not significantly different ($p > 0.05$, unilateral test) by pairwise comparison (two-sample z test for a proportion, $\alpha = 0.05$). Comparisons between sites (row) correspond to letters a, b, c, d and month by month within sites (columns) to letters e, f, g and h.

Tableau XI : Monthly number of female midges and parous rates of *Culicoides imicola* collected from three different sites in Roquebrune sur Argens (France) from May to November 2005.

The range of possible values for the daily survival rate is presented in Tableau XI. At site 1, it became significantly higher in September and October.

Month	Monthly mean T°C	Gonotrophic cycle length			sites	Parous rate (%)			Daily survival rate		
		mini	most likely	maxi		inf	P	sup	mini	Most likely	maxi
June	22.3	4	5	6	Site 1	17.8%	26.5%	35.2%	0.649	0.767	0.840
					Site 2	27.9%	39.1%	49.1%	0.727	0.829	0.888
					Site 3	26.9%	50.0%	73.1%	0.720	0.871	0.949
July	23.9	3	4	4.5	Site 1	35.2%	46.6%	58.0%	0.706	0.826	0.886
					Site 2	33.3%	40.1%	50.1%	0.693	0.796	0.858
					Site 3	26.7%	53.8%	80.9%	0.644	0.856	0.954
August	22.4	3	4	5	Site 1	32.9%	35.9%	38.9%	0.690	0.774	0.828
					Site 2	52.2%	55.4%	58.6%	0.805	0.863	0.899
					Site 3	46.8%	53.2%	59.6%	0.777	0.854	0.902
September	19.6	5	6	7	Site 1	46.4%	48.4%	50.4%	0.858	0.886	0.907
					Site 2	61.4%	62.8%	64.2%	0.907	0.925	0.939
					Site 3	35.3%	37.7%	40.1%	0.812	0.850	0.878
October	15.5	7	9	10	Site 1	45.2%	47.3%	49.4%	0.893	0.920	0.932
					Site 2	41.9%	45.2%	48.5%	0.883	0.916	0.930
					Site 3	44.2%	49.2%	54.2%	0.890	0.924	0.941

Tableau XII : Estimates of daily survival rates for female *Culicoides imicola* based on observed monthly parity and different gonotrophic cycle durations at three trap locations in Roquebrune sur Argens, France.

III.2.4. Discussion

Although *C. imicola* is a newly established species in mainland France, it became the dominant Ceratopogonidae species at sites 1, 2 and 3 from the end of July to the end of its seasonal activity period. In total, this species represented 75 % of the Ceratopogonidae caught in these locations and frequently comprised over 90% of a single catch. Given that *C. imicola* is involved in BTV transmission in Africa and in Europe, its prompt establishment in areas beyond its traditional distribution (Lefèvre, 2003) should be considered carefully. A better understanding of what lies behind these rapid developments is urgently required.

Climate is a critical element for both *Culicoides* biology and BTV development (Purse *et al.*, 2005). There is still insufficient data to establish the relationship between climatic variables and *C. imicola* abundance in this part of France. But, it remains interesting to describe local meteorological conditions that seem to be favourable to *C. imicola*. Sellers *et al.* (1993) assessed temperature criteria that allow BTV overwintering in different world regions. At that time, it was supposed that the persistence of virus was possible in winter if viral circulation continue between vectors and hosts. Therefore, a sufficient number of adult *Culicoides* had to remain active during winter (Mellor & Boorman, 1995). The conditions for the likely persistence of active *Culicoides* are the following: the coldest month of the winter should have an average daily maximum temperature $\geq 12.5^{\circ}\text{C}$, a daily maximum temperature \geq to 13°C on 45 % of days or more and a weighted "degree day" value of ≥ 1.35 of 6 together with a total of 40 or fewer days with daily maximum temperatures $< 13^{\circ}\text{C}$ and less than 11 consecutive days with maximum temperatures $< 13^{\circ}\text{C}$. According to these criteria, *C. imicola* adult activity was unlikely to occur in this part of southern France during the winter of 2004-2005 and 2005-2006. Nevertheless, the map drawn by Sellers *et al.* in 1993 based on the isotherm of 12.5°C for the lowest daily maximum temperature in the coldest month predicted the possible virus persistence thanks to *Culicoides* in a small area in the southern-eastern France. This area coincides with the zone where the first *C. imicola* population was discovered. Moreover, despite the very cold winter in 2004 for the region when daily maximum temperatures were, for example, below 12°C for 18 consecutive days in February, *C. imicola* larvae appeared to have supported these harsh conditions as adults' activity restarted as early as the beginning of May when daily mean temperatures began to increase to 20°C . This early and progressive build-up let us suppose that it was indeed a local emergence of adults rather than a passive dispersal of adults from infested areas (Sellers *et al.*, 1978; Braverman & Chechik, 1996; Alba *et al.*, 2004) like those found in Corsican Island. This doesn't necessarily preclude that the latter hypothesis could not have occurred later in the year when the needed conditions were fulfilled. A passive dispersal by wind of adults *Culicoides* from Corsica (especially Balagna) remains thus the most likely hypothesis to explain the establishment of this Afro-tropical vector in this northern new area.

In tropical areas, Nevill (1971) first provided evidence of a link between the rise in catches and abundant rains the previous month once the seasonal activity period was well initiated. These observations were confirmed in Kenya (Walker & Davies, 1971; Walker, 1977a). In temperate areas, annual abundances were positively correlated with the average and minimum Normalized Difference Vegetation Index (NDVI), a variable correlated with soil moisture and vegetation biomass and productivity, and an index which is strongly correlated with the total annual rainfall (Baylis & Rawlings, 1998). As immature stages of *C. imicola* need a breeding substrate that is moist and rich in micro-nutrients (Braverman *et al.*, 1974; Meiswinkel *et al.*, 1994), such a relationship was expected. Nevertheless, it appeared that too much rainfall could also have had a negative impact on *C. imicola*'s breeding sites as it led to soil leaching (Braverman *et al.*, 2001; Meiswinkel *et al.*, 2004). In this new incursion pocket we've studied, the total rainfall was 762 mm which matched well the observations made in South Africa, where *C. imicola* is most abundant in areas where annual rainfall averages are between 300-700mm (Meiswinkel *et al.*, 2004). The first major increase in the number of *C. imicola* occurred about 2-3 weeks days after the significant rainy period of the beginning of August (58 mm) in sites 2 and 3. This observation is less clear in site 1 where a marked increase of *C. imicola* numbers already arose at the beginning of August, before this rainfall. A possible explanation may be found in the fact that breeding sites became more independent of rainfall in the presence of irrigation (Meiswinkel *et al.*, 2004). In site 1, wet zones were artificially maintained during summer to provide paddling pools for ducks. The major abundance peak of the year, in late September, was also preceded by heavy rains three weeks before (109 mm in 5 days).

As for *C. brevitarsis* in Australia (Murray, 1995), we observed that, at this time scale, the seasonal abundance pattern of *C. imicola* was different between localities, especially between site 1 and 2. Firstly, we noticed a time-lag of six weeks for *C. imicola* activity to get going between sites 1 and 2 versus 3. As *C. imicola* were already detected in site 3 in October 2004, we can put forward the hypothesis that larval development in this site took more time without knowing which local conditions were involved. The major peak of abundance between site 1 versus 2 and 3 did not have the same shape. The sudden and brief peak observed in sites 2 and 3 let us suggest that additional breeding sites was temporally filled with water at this period. This phenomenon was not so marked at site 1 as artificial irrigation was used throughout the year closed to the sheep barn (Meiswinkel *et al.*, 2004). Nevertheless, in this part of the Mediterranean basin, the abundance peak of *C. imicola* occurred at the same period than in Balearic islands (Miranda *et al.*, 2004), Spain (Ortega *et al.*, 1997; Sarto i Monteys *et al.*, 2005), Italy (De Liberato *et al.*, 2003) and Corsica (Baldet *et al.*, 2004), where abundance is highest during September and October.

Trappings were not done from December to March 2006. They started again in April 2006 and were positive for *C. imicola* in mid-April 2006. Thus, host-seeking females did not seem to be active throughout the year. Nevertheless, we should confirm this assumption by trapping at least during the warmest period of the winter. Indeed, Nevill (1971) described that during a period when the average minimum temperature increased in winter 1967, they caught a large numbers of *Culicoides* while no midges were trapped before and after this mild period.

Ortega (1997) found that the abundance of the studied *Culicoides* did not seem to be correlated with precipitation. In our case, the relationship between the abundance of *C. imicola* and temperature was not obvious but larger catches were done in September and October when daily mean temperature decreased to 16-17°C and after late summer rainfall. Hot season followed by heavy rains seem to be favourable to an explosion of *C. imicola* (Meiswinkel *et al.*, 2004). The recruitment of additional breeding sites could explain this phenomenon.

At site 4, *C. imicola* was not detected regularly. High trapping pressure in two locations at this site was necessary to reveal its presence. We confirm then previous observations done in Italy (Goffredo *et al.*, 2003) where the authors concluded that a larger number of *Culicoides* collections and collection sites are required to exclude the presence of *C. imicola* at low abundance. More extensive trapping at this site is needed to explain why *C. imicola* seems not to be well established in this area. One hypothesis is that trap efficiency could be inadequate because horses were dispersed on a large area. Moreover, this site located in the north of the Argens valley was quite exposed to wind.

Baylis *et al.* (1998) showed that daily mortality rate for *C. imicola* in Morocco varied from 3.9% to 25.6% (Baylis *et al.*, 1998). Braverman *et al.* (1985) found that the estimated survival rates between bloodmeals for *C. imicola* in Bet-Dagan (Israël) was about 0.4 between April and October with 2 high peak of 0.75 in August (Braverman *et al.*, 1985). For $\mu=4$, we obtained a daily survival rate of 0.93. In our study, the daily survival rate was estimated between 0.86 and 0.91 at site 1 and between 0.89 and 0.93 at site 3. Comparisons between these results would be hazardous, especially because different methods were used. Moreover, we are more interested in having an indicator to monitor *p* changes than we are in knowing its true value.

Perspective

To predict the seasonal peak of *C. imicola* which often correlates with BTV outbreaks (Mellor, 1992; Capela *et al.*, 2003; Purse *et al.*, 2004a), it may be instructive to not only assess correlation between climatic factors (temperature, rainfall) and *C. imicola* distribution at annual level (De Liberato *et al.*, 2003; Meiswinkel *et al.*, 2004; Purse *et al.*, 2004b), but to detect the key-event(s) that determine the major peak of *C. imicola* within a year (Baylis *et al.*, 1999).

Previous studies on this aspect were performed in Australia about *C. brevitarsis* (Ward, 1994; Ward & Thurmond, 1995) and showed a correlation between BTV seroconversions in cattle and rainfall 1 or 3 months before.

It may be a critical point to better understand why in September, period when BT outbreaks usually occurred in European countries of the western Mediterranean, parous females were trapped in a larger number at site 2 than at site 1 whereas, until to then, parous *C. imicola* females were most abundant at site 1.

Any major changes of biting intensity can be crucial to define the risk period for virus transmission. Braverman *et al.* (2001) assume that collections with suction light traps approximate actual numbers of females feeding on hosts. But, as we don't know which proportion of host-seeking *C. imicola* could be caught during a night by this type of traps, this method of trapping should be regarded rather as an index of changes in biting rates (Lines *et al.*, 1991). In late September, when the number of parous *C. imicola* females caught exploded, we could suppose that the risk would be relatively higher as other sensitive parameters of *VC* linked with temperatures did not change so significantly.

Nevertheless, as daily survival rate, p , is generally cited as a determinant factor of the vectorial capacity because of its particular sensitivity to variation (Dye, 1992), this parameter needs also to be considered. The estimate used can formally only be applied to populations with a stable size and age structure (Briet, 2002). In the case of seasonal vector population, the parous rate will correctly estimate survival rate if calculated from the sum of samples taken throughout the season of activity (Dye, 1992). According to seasonal variation of μ and BT outbreaks' periodicity, monthly estimates are necessary for modelling vectorial capacity. Moreover, the intended objective of such an ongoing entomological surveillance is to develop a tool to forecast BT risk period and area. That means to concentrate efforts on variations of key parameters which are determinant for outbreaks to occur (Dye, 1986). This approach remains fully relevant if parameters' values are regarded as comparative index. Thus, in our study, we noticed that observed vector abundance and parous rate, two sensitive parameters of *VC*, greatly increased in September to reach a maximum in late September.

To integrate all entomological components involved for BTV transmission and study the effects of their variations on the final result, we planned to model *VC* in Roquebrune-sur-Argens from these field data and published data.

Moreover, to analyse environmental factors that determine the seasonal abundance pattern and the distribution of *C. imicola* in this part of France, we need to collect meteorological and environmental data at each site. High resolution satellitaires images could help to define environmental parameters at such a fine scale. Different factors should then be taken into account, especially temperature, humidity, wind, soil type (Meiswinkel *et al.*, 2004), host species and host density.

III.2.5. Points de discussion complémentaires

III.2.5.1. Limites du piégeage hebdomadaire

A quelques reprises, l'opportunité de piéger plusieurs nuits consécutives au même endroit s'est présentée. Ce fut alors l'occasion de vérifier que de fortes variations journalières sur les résultats des piégeages étaient possibles (Murray, 1991; Murray, 1995) sans que les conditions météorologiques n'aient évolué significativement. Par exemple, sur le site 1, le nombre de *C. imicola* femelles est passé de 236 à 743 en un jour en Octobre 2005. Inversement, sur le site 2, 61 femelles ont été capturées le 2 août 2005 contre seulement 6 le lendemain. La part de nullipares et de pares évoluent globalement dans les mêmes proportions.

	SITE 1					SITE 2				
	<i>C. spp</i>	<i>imicola</i>	♀	pare	nullipare	<i>C. spp</i>	<i>imicola</i>	♀	pare	nullipare
2-août	430	390	366	113	253	88	83	61	19	42
3-août						43	34	9	5	4
27-sept.	1008	980	979	496	483	2077	1986	1922	1027	895
28-sept.	430	391	382	155	227	2398	2327	2306	1162	1144
6-oct.	245	237	236	134	102	183	168	161	86	75
7-oct.	758	743	743	314	429	467	461	452	223	229

En gras: les pièges utilisés étaient de type Onderstepoort.

Tableau XIII : Résultats de piégeages réalisés sur deux nuits consécutives sur les sites 1 et 2 en 2005.

La comparaison entre les résultats du 27 et 28 septembre 2005 est plus difficile car le type de piège utilisé était différent. Cependant, on note que l'évolution s'est fait dans le sens opposé pour le site 1 et 2, avec une diminution du nombre de femelles capturées sur le site 1 et une légère augmentation sur le site 2.

III.2.5.2. Techniques de piégeages

Une méthode communément utilisée pour estimer le taux de survie des vecteurs sur le terrain s'appuie sur la parité et la durée du cycle gonotrophique (Millby & Reisen, 1989). Cette estimation repose sur des hypothèses dont l'une est d'avoir un échantillon représentatif de la population d'insectes (Mullens, 1985). Les techniques d'échantillonnage utilisées introduisent inévitablement des biais. Ceux-ci peuvent être liés au type de piège, au moment du piégeage, à la localisation des pièges par rapport aux gîtes de ponte ou encore à la présence d'hôtes aux alentours du piège. Bien que les pièges lumineux ne soient pas considérés comme une technique d'échantillonnage non biaisée, ils permettent de capturer un grand nombre de *Culicoides*. De plus, ils présentent de sérieux avantages logistiques et peuvent fonctionner toute la nuit. La taille de l'échantillon peut également affecter sa capacité à être représentatif (Bellis & Reid, 1996). Comme les pièges lumineux attirent plus particulièrement les femelles en quête d'un repas de sang (femelles non gravides et non gorgées), la parité observée n'est représentatif que de cette partie de la population. Cependant, comme nous souhaitons utiliser cet estimateur pour comparer des changements d'abondance et de taux de survie sur différentes sites ou à différentes périodes, nous minimisons les biais (Dye, 1992) si l'efficacité du piège est la même pour les femelles pares ou nullipares. De plus, le piégeage doit être réalisé dans les mêmes conditions. C'est pourquoi les pièges ont fonctionné selon le même mode opératoire et ont été positionnés à proximité d'un endroit où des animaux (moutons ou chevaux) étaient parqués en permanence. Comme la vitesse du vent et la pluie sont également des facteurs qui peuvent interférer avec l'activité des insectes ou l'efficacité du piège (Murray, 1987; Bishop *et al.*, 2000; Torina *et al.*, 2004), nous avons évité de faire fonctionner les pièges lorsque de forts vents et de la pluie étaient prévus. Seuls les résultats des piégeages réalisés dans des conditions météorologiques satisfaisantes (peu ou pas de vent, pas de pluie ou pluie peu abondante) ont été pris en compte.

Si on veut comparer les différences entre les sites, un autre facteur reste à prendre en compte : l'espèce-hôte. Dans le cas de *C. variipennis*, Zimmerman et Turner (1983) ont suggéré que les bovins pouvaient attirer une plus grande proportion de femelles pares (Zimmerman & Turner, 1983). La parité observée près des chevaux sur le site 2 était, dans l'ensemble, plus élevée que dans les sites avec des moutons, spécialement quand *C. imicola* était abondant. Ainsi, on peut se demander si cette observation est un biais lié à la technique d'échantillonnage ou si elle représente la réalité. Pour aller plus loin dans l'interprétation, il serait intéressant de vérifier si on observe les mêmes différences avec une autre méthode de piégeage. L'éclaircissement de ce point permettra d'aller plus loin dans l'analyse du rôle protecteur ou non des chevaux vis-à-vis du BTV. Ce sont en effet les femelles pares qui transmettent le virus.

III.2.5.3. Différence entre le site 1 et le site 2

Malgré la relative proximité des sites 1 et 2, la parité a été significativement plus élevée sur le site 1 durant les 4 nuits de piégeage réalisées entre la mi-août et la mi-septembre. Zimmerman et Turner (1984) ont souligné le lien entre une forte parité et la distance avec un gîte larvaire : plus la distance est grande et plus la parité diminue. Mullens et Gerry (2000) ont supposé que la dispersion par les vents des nullipares pendant la phase initiale de recherche d'un hôte et le retour immédiat des femelles pares vers les hôtes après la ponte pouvaient expliquer ces observations. Les pluies de fin août/début septembre ont pu conduire à la production de nouveaux sites de ponte à proximité du lieu de pose du piège et ainsi augmenter artificiellement la parité observée. Ce phénomène a déjà été observé dans un élevage de bovins pour *C. sonorensis* (Gerry & Mullens, 2000).

Le recrutement de sites de ponte supplémentaires sur le site 2 pourrait également expliquer en partie l'importance du pic d'abondance de fin septembre par rapport au site 1. Il est possible également que sur le site 1, l'acmé du pic ait eu lieu plus tôt, entre le 20 et 27 septembre. Il reste cependant à noter que les gîtes larvaires sur les différents sites n'ont pas pu être identifiés malgré les efforts pour les localiser.

Si les piégeages réalisés tout au long de la saison d'activité du vecteur ont permis de suivre les variations d'abondance et de taux de survie de *C. imicola*, paramètres importants pour estimer les variations de la capacité vectorielle, il est également nécessaire de connaître les variations de l'intensité du contact entre les vecteurs et les moutons. Une étude répondant à cet objectif a alors été mise en place.

III.3. Estimation du contact entre *C. imicola* et les ovins

La formule de la capacité vectorielle C commence par le terme ma qui représente le nombre de piqûres infligées par une population de vecteurs par hôte et par jour. En fonction de l'abondance de vecteurs en quête d'un repas sanguin et le nombre d'hôtes présents dans son aire d'activité, ma va varier. S'il est relativement facile de déterminer le nombre d'hôtes potentiels dans une zone, il est beaucoup moins évident d'estimer le nombre de vecteurs recherchant un hôte dans cette même zone.

Plusieurs techniques visant à évaluer ma ont été développées notamment en entomologie médicale pour évaluer le contact entre les hommes et les moustiques (Freier, 1989). Les captures sur homme sont ainsi souvent utilisées (Prakash *et al.*, 2001; Seyoum *et al.*, 2002; Almeida *et al.*, 2005) même si cette méthode présente aussi ses limites (Service, 1977). Garrett-Jones et Malayuka (1975) ont estimé le nombre de femelles affamées par personne et par nuit à partir du comptage des seules femelles non gorgées capturées par un piège lumineux (Garrett-jones & Magayuka, 1975). L'efficacité de l'échantillonnage par piège lumineux pour estimer le taux journalier de piqûres a ensuite été évaluée pour *Anopheles gambiae* (Magbity *et al.*, 2002). Magbity *et al.* (2002) concluent que cette méthode pouvait être utilisée comme substitut à la méthode sur appâts humains.

Concernant les *Culicoides* et leurs hôtes, les études publiées visant à estimer le contact hôtes-vecteurs sont rares. Mullens *et al.* (1998) ont comparé l'efficacité de différentes méthodes de piégeages. Ils ont conclu que, sous les conditions de leur étude, le nombre de femelles *C. variipennis sonorensis* capturés par un piège à CO₂ multiplié par 7,2 permettait d'approcher le nombre attendu de femelles près d'un veau (Mullens & Gerry, 1998). Dans cette idée, il a été imaginé d'estimer à partir du résultat d'une nuit de piégeage utilisant un piège lumineux (PL), le nombre de piqûres reçus par un mouton au cours d'une nuit. Une étude préliminaire a donc été conçue pour estimer la relation entre les résultats d'un PL et ceux obtenus par la capture de *Culicoides* directement sur les moutons.

III.3.1. Matériels et méthodes

Le site retenu pour mener cette étude est l'élevage ovin de l'Orme. La petite taille de la bergerie et la présence de points d'attache tout autour de l'enclos a permis de concevoir un piège à appâts sur mesure. En effet, à la capture de *Culicoides* attirés par un seul animal (piège à appâts individuel), on a préféré capturer les *Culicoides* présents autour du troupeau (piège à appâts collectif) au cours d'une nuit. Pour ce faire, un piège aux rabats relevables s'adaptant à la taille de l'enclos a été confectionné à l'aide de plusieurs draps cousus ensemble.



Photo 4 : Piège à appât confectionné pour la bergerie de l'élevage ovin de l'Orme

L'étude a consisté en la répétition du protocole de capture à deux périodes de la saison d'activité du vecteur : une fois début août et une fois fin septembre. Le protocole de capture a été défini pour deux nuits consécutives. Chaque nuit a été découpée en plusieurs cycles de capture d'une durée de 45 minutes. Un cycle de capture comprenait :

→ une phase d'exposition de 15 minutes.

Pendant cette phase, les rabats du piège étaient relevés afin que les *Culicoides* puissent entrer en contact avec le troupeau de mouton parqué sous le piège.

→ une phase de transition de 5 minutes

Ces 5 minutes permettaient de refermer le piège en laissant tomber les rabats. Des pinces à linge ont été utilisées pour s'assurer que l'ensemble était bien fermé.

→ une phase d'aspiration de 10 minutes

Trois personnes munies d'un aspirateur dorsal fonctionnant sur batterie de type CDC modifié et adapté pour la capture des *Culicoides* capturaient tous les insectes présents sous le piège refermé.

Contrairement aux moustiques, on ne connaît pas le comportement des *Culicoides* fraîchement gorgés. Les recherches se sont donc faites essentiellement en aveugle. Une personne recherchait plus particulièrement les *Culicoides* potentiellement accrochés sur les animaux. Une autre s'attachait à relever les insectes présents sur les pans du drap. La troisième remuait la litière. On estime en effet que les *Culicoides* gorgés sont tellement alourdis qu'ils ont un très mauvais vol (Delécolle J-C, Com. Pers.). Ils se poseraient ainsi à proximité de l'endroit où ils se sont nourris.

→ une phase de repos de 15 minutes

Pendant ce temps, les rabats étaient relevés et les animaux laissés au calme. Cette phase visait à ce que notre présence interfère le moins possible avec le comportement des *Culicoides*. Elle permettait également aux personnes de se reposer ou de commencer le tri des *Culicoides* parmi tous les éléments piégés (moustiques, mouches, foin et autres débris de végétaux). Ce suivi en continu de l'efficacité de la capture a permis d'orienter nos aspirations. En Septembre, ce temps de repos est passé à 30 minutes.



Photo 5 : Aspirateur dorsal à batterie de type CDC et adapté pour la capture des *Culicoides*

En parallèle de ces captures à l'aide d'un aspirateur, un piège lumineux a été posé à l'orée de la bergerie et synchronisé avec la capture sur appât. Les flacons recueillant les insectes piégés ont été changés tous les quarts d'heure. A chaque cycle de capture sur appâts correspondaient ainsi 4 échantillons issus de la capture par PL dont l'un était en phase avec le temps d'aspiration des *Culicoides*. Afin d'étudier si la présence du PL interférait avec le piégeage sur appâts, le PL n'a été posé que pendant une des deux nuits de capture.

Le début et la fin du protocole ont été définis en fonction de l'heure de coucher et de lever du soleil respectivement. Ces horaires ont été fournis par l'Institut de Mécanique Céleste et de Calcul des Éphémérides (URL: <http://lychnis.imcce.fr/cgi-bin/levcou.cgi>) qui calcule les éphémérides planétaire selon la théorie VSOP87/EL2000-82B (IMCCE) pour un lieu donné. Le protocole était ainsi initié 1H30 avant le coucher du soleil et se terminait 1H30 après le lever du soleil.

A chaque relevé du PL, la température et l'hygrométrie ont été enregistrées. De plus, une appréciation quantitative des évolutions météorologiques majeures de la nuit a été ajoutée pour chaque cycle de capture.

Photo 6 : Table de travail sur laquelle les échantillons étaient triés et conservés dans l'alcool à 90°.



Photo 7 : Aspiration des insectes présents autour des brebis

III.3.2. Résultats

La première série de capture a eu lieu dans les nuits du 1^{er} au 2 août et du 2 au 3 août 2005. 13 cycles de capture ont été réalisés la première nuit contre 15 la deuxième. Des problèmes techniques en cours de nuit nous ont conduit à allonger la durée des cycles de capture entre les cycles 6 et 10.

Si les conditions météorologiques sont restées relativement stables et calmes lors de la première nuit, elles se sont largement dégradées le deuxième jour. D'un temps calme sans vent, avec seulement quelques gouttes de pluie vers 2 heures du matin, et une température passant progressivement de 25°C le soir à 19°C le lendemain matin, nous sommes passées à une nuit ventée avec une grosse averse orageuse vers 4 heures du matin (27 mm de pluie). Quant aux températures, elles sont passées de 28°C au coucher du soleil à 16°C à l'aube.

Lors de la première nuit, 293 *C. imicola* ont été capturés sous le piège à appât et 375 avec le piège lumineux (Tableau XIV), soit un total de 668 *C. imicola* (642 femelles et 26 mâles). Aucune des femelles capturées n'était gravide. Un petit nombre de femelles était fraîchement gorgé, toutes piégées avec le piège à appât (14 soit 2% des femelles). En multipliant le résultat obtenu avec le PL par 1,8, on obtient le total de femelles de *C. imicola* capturées à proximité des moutons au cours de la nuit.

Lors de la seconde nuit, seulement 27 *Culicoides* ont été piégés par le piège à appât dont 10 *C. imicola* femelles (5 pares et 5 nullipares).

Horaire de fin	Captures avec le piège sur appât						Capture avec le piège lumineux						
	<i>Culicoides imicola</i>						<i>Culicoides imicola</i>						
	total	♂	♀	pares	nullipares	gorgées	total	♂	♀	pares	nullipares	gorgées	
Cycle 1	20:45	0	0	0	0	0	0					0	
Cycle 2	21:30	0	0	0	0	0	0					0	
Cycle 3	22:15	7	0	7	1	6	0	3	0	3	1	2	0
Cycle 4	23:00	37	0	37	10	27	0	70	5	65	18	47	0
Cycle 5	23:45	81	3	78	17	61	0	49	3	46	14	32	0
Cycle 6	0:30	47	0	47	8	39	0	43	1	42	14	28	0
Cycle 7	1:45	57	1	56	12	44	4	30	0	30	19	11	0
Cycle 8	2:45	0	0	0	0	0	0	9	1	8	1	7	0
Cycle 9	3:45	64	2	62	11	51	10	92	5	87	27	60	0
Cycle 10	4:45	0	0	0	0	0	0	34	2	32	6	26	0
Cycle 11	5:30	0	0	0	0	0	0	25	2	23	7	16	0
Cycle 12	6:15	0	0	0	0	0	0	12	1	11	1	10	0
Cycle 13	7:00	0	0	0	0	0	0	8	0	8	1	7	0
Total		293	6	287	59	228	14	375	20	355	109	246	0

Tableau XIV : Résultats obtenus avec le piège sur appât et le piège lumineux lors de la nuit du 1^{er} au 2 août 2005 dans l'élevage ovin de l'Orme.

La deuxième série de capture a eu lieu du 27 au 29 septembre 2006, semaine durant laquelle le pic annuel d'abondance de *C. imicola* a été observé sur tous les sites du suivi.

Les conditions météorologiques ont été bonnes même si les températures nocturnes étaient plus basses qu'en août. La température est ainsi passée de 23°C à 16°C lors la 1^{ère} nuit et de 19°C à 16°C lors de la 2^{nde} nuit de piégeage. L'humidité relative était assez élevée avec un taux au moins supérieur à 70 % la 1^{ère} nuit et proche de 100% la seconde nuit, sauf à partir de 6 heures du matin où elle est descendue brutalement à 76%. Cette chute correspond au moment où le vent s'est levé pour devenir assez fort durant les deux dernières heures de capture.

220 femelles de *C. imicola* ont été identifiées dans les échantillons issus du piège à appât et 162 dans le piège lumineux (Tableau XV). Seules 7 étaient gorgées.

Horaire de fin	Captures avec le piège sur appâts						Capture avec le piège lumineux					
	<i>Culicoides imicola</i>						<i>Culicoides imicola</i>					
	total	♂	♀	pares	nullipares	gorgées	total	♂	♀	pares	nullipares	gorgées
Cycle 1 19:45	0						0					
Cycle 2 20:45	3	0	3	1	2	0	5	0	5	2	3	0
Cycle 3 21:45	12	0	12	6	6	0	9	0	9	5	4	0
Cycle 4 22:45	14	0	14	4	10	0	1	0	1	0	1	0
Cycle 5 23:45	23	0	23	9	14	0	10	0	10	4	6	0
Cycle 6 0:45	1	0	1	0	1	0	1	0	1	0	1	0
Cycle 7 1:45	13	1	12	5	7	0	10	0	10	5	5	0
Cycle 8 2:45	21	0	21	7	14	2	12	0	12	7	5	0
Cycle 9 3:45	6	0	6	1	5	0	6	2	4	3	1	0
Cycle 10 4:45	8	0	8	4	4	0	7	0	7	2	5	2
Cycle 11 5:45	53	2	51	18	33	3	36	1	35	10	25	0
Cycle 12 6:45	61	1	60	24	36	0	55	1	54	26	28	0
Cycle 13 7:45	9	0	9	6	3	0	15	1	14	6	8	0
Total	224	4	220	85	135	5	167	5	162	70	92	2

Tableau XV : Résultats obtenus avec le piège sur appât et le piège lumineux lors de la nuit du 27 au 28 septembre 2005 dans l'élevage ovin de l'Orme.

Une relation linéaire significative ($F=91$, $df=11$, $p < 0.01$) entre ces deux séries de résultats a été mise en évidence (Figure 41). Une telle relation n'a pas été relevée avec la première série de capture. L'ajout d'un facteur multiplicateur de 1,8 au nombre de femelles piégés par PL permet de retrouver le total des femelles capturées au cours de la nuit.

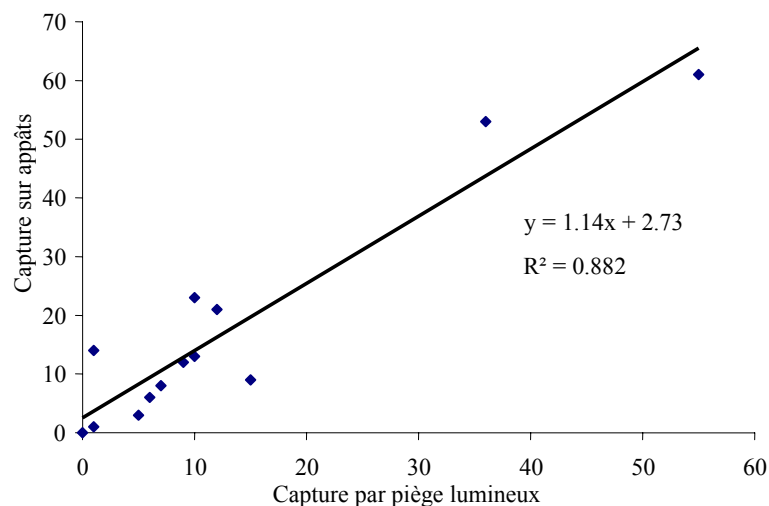


Figure 41 : Relation entre le nombre de *C. imicola* femelles capturés par piège lumineux et par piège à appât, la nuit du 27 au 28 septembre 2005, dans l'élevage ovin de l'Orme.

Lors de la seconde nuit de piégeages, 203 *Culicoides* ont été dénombrés dont 198 *C. imicola* femelles. 13 d'entre elles étaient gorgées, soit 6,5%, la majorité ayant été capturée avant minuit.

		nuit du 28 au 29 septembre 2005							
	Horaire de fin	<i>Culicoides</i>	<i>Culicoides</i> gorgés	<i>Culicoides imicola</i>					
				total	♂	♀	pares	nullipares	gorgées
Cycle 1	19:45	0							
Cycle 2	20:45	12	0	11	0	11	2	9	0
Cycle 3	21:45	38	6	36	0	36	16	20	5
Cycle 4	22:45	44	3	43	0	43	12	31	3
Cycle 5	23:45	17	1	16	0	16	4	12	0
Cycle 6	0:45	14	1	14	0	14	2	12	1
Cycle 7	1:45	25	1	25	0	25	7	18	1
Cycle 8	2:45	7	1	7	0	7	2	5	1
Cycle 9	3:45	7	0	7	0	7	2	5	0
Cycle 10	4:45	3	0	3	0	3	1	2	0
Cycle 11	5:45	7	0	7	0	7	3	4	0
Cycle 12	6:45	27	2	27	0	27	8	19	2
Cycle 13	7:45	2	0	2	0	2	1	1	0
Total		203	15	198	0	198	60	138	13

Tableau XVI : Résultats du piégeage sur appât posé durant la nuit du 28 au 29 septembre 2005 dans la bergerie de l'élevage de l'Orme.

Lors de cette deuxième expérience, toutes les femelles étaient également en quête d'un repas de sang, c'est-à-dire qu'elles étaient soit nullipares non gravides, soit pares non gravides.

III.3.3. Discussion

Aucune étude sur le contact entre les moutons et *C. imicola* n'a été publiée à ce jour. La difficulté à capturer des *Culicoides* directement sur les animaux limite en effet très largement la mise en place de telles expérimentations. L'artificialisation de la relation hôte / vecteur qu'entraîne l'isolement d'un animal de son troupeau pour faciliter le piégeage sur appât nous a décidé à concevoir une autre méthode. L'attractivité de l'ensemble du troupeau a ainsi été préférée en première approche, à la fois pour augmenter les chances de capturer des *C. imicola* sans attractant artificiel et reproduire au maximum les conditions naturelles.

L'inconvénient majeur du choix d'une grande cage pour la capture des *Culicoides* est la difficulté à trouver les insectes dans ce grand volume. Braverman *et al.* (2003) ont utilisé pour attirer et capturer les *Culicoides* un piège à 4 côtés enveloppant un veau et comprenant deux pièges lumineux à grilles électrocutantes desquels ont été retiré les ampoules attractives. Malheureusement, ils n'ont pas publié en détail les résultats de ces tentatives. On ne peut donc pas en apprécier l'efficacité. De plus, *C. imicola* étant exophile, on peut se demander dans quelle mesure la présence d'un piège enfermant un hôte ne va pas dévier leur route vers des proies plus accessibles. Ce point est d'autant plus critique que dans leur expérience, le veau était isolé du troupeau. Un tel système serait cependant intéressant à tester dans la bergerie de l'Orme en conservant l'attractivité de l'ensemble du troupeau. Il faudrait veiller à installer de larges ouvertures pour ne pas gêner l'approche des insectes. Cet élevage étant relativement isolé de tout autre lieu hébergeant des hôtes potentiels pour *C. imicola*, on pourrait s'attendre à ce que les besoins alimentaires maintiennent l'afflux de femelles en quête d'un repas sanguin vers la bergerie même si on la calfeutre plus que d'habitude (Barnard, 1997).

Sur la base de nos résultats, on confirme, au moins d'un point de vue qualitatif, que les conditions météorologiques influencent la qualité du piégeage notamment lors de fortes précipitations ou de la présence d'un vent fort (Mellor *et al.*, 2000). La comparaison entre la première et la deuxième nuit de piégeage d'août 2005 n'a ainsi pas été possible.

L'objectif majeur de cette étude était d'apprécier comment les résultats des captures par piège lumineux pouvaient être utilisés pour estimer le contact journalier entre les moutons et *C. imicola*. En effet, il n'est pas envisageable de suivre en routine l'évolution de ce contact avec des techniques de piégeage sur appâts qui sont lourdes à mettre en œuvre et ne sont pas toujours au point pour la capture des *Culicoides*. Les résultats des captures par PL montrent que seules des femelles en quête d'un hôte sont capturées. Compte tenu que seuls des ovins sont présents dans un rayon d'un kilomètre, on peut supposer que toutes les femelles non gravides capturées allaient se nourrir sur une des 27 brebis de la bergerie de l'Orme. Il en est de même avec le piège sur appât. Lors des premières nuits de capture d'août et de septembre, un total de, respectivement, au moins 642 et 382 femelles ont été attirés par les 27 brebis. Le taux de piqûres minimal estimé à partir d'une nuit est donc de 25 piqûres par mouton et par jour en août et de 14 piqûres par mouton et par jour en septembre.

L'estimation pour septembre ne reflète pas le pic d'abondance observé la veille sur ce même site avec 979 femelles piégées. Ce pic d'abondance a pourtant été observé, de façon généralisée, à l'ensemble des sites du suivi. Sur le centre équestre de la Rouvière situé à 1 kilomètre, 1 922 ont ainsi été capturées dans la nuit du 26 au 27 septembre et 2 306 le lendemain, jour du début de l'expérience. Plusieurs hypothèses peuvent être avancées pour expliquer ce constat : (i) Le pic d'abondance dans l'élevage de l'Orme était peut être plus précoce qu'au centre équestre de la Rouvière. Le piégeage aurait eu lieu dans la phase de déclin du pic. (ii) La méthode de piégeage a été moins efficace qu'en août du fait que seules deux personnes, contre trois en Septembre, étaient présentes pour aspirer les *Culicoides*. (iii) Le passage à un cycle d'une heure au lieu de trois quarts d'heure a permis à des *Culicoides* de repartir avant que le piège ne se referme. Cependant, le ratio entre le nombre de *C. imicola* identifiés dans le piège sur appât et le nombre obtenu par piège lumineux est passé de 0,8 en août à 1,36 en septembre. Ainsi, *C. imicola* a été relativement plus capturé par aspiration manuelle (piège à appât) que par le piège lumineux en septembre.

En première approche, on peut considérer que les femelles *C. imicola* non gravides sont des femelles en quête d'un repas de sang. En ajoutant un facteur multiplicateur compris au moins entre 1,8 et 2,3 aux résultats d'une capture par PL, on obtient une estimation du nombre minimum de contact entre les moutons et les *C. imicola* produit en une nuit. Avec un piège à CO₂, Mullens *et al.* (1998) avait évalué qu'il fallait ajouter un facteur à 7,2 pour estimer le contact entre *C. sonorensis* et des bovins. Même s'il ne s'agit pas de la même espèce vectrice, on peut légitimement supposer que l'on sous-estime ce facteur d'autant plus que le piège à CO₂ est considéré comme meilleur que le piège lumineux (Wieser-Schimpf *et al.*, 1990). Une amélioration du dispositif de capture sur appât est nécessaire. Le peu de femelles gorgées présentes dans les échantillons de capture laisse présager qu'une marge de progression existe.

La répétition de ces expérimentations est indispensable pour limiter l'impact des facteurs influençant la qualité des techniques de piégeage. De même, l'abondance des *C. imicola* étant très fluctuante d'une nuit à une autre, plusieurs séries de données sont nécessaires pour minimiser les variations attendues. Des essais associant la présence d'un cheval à proximité des ovins seraient également très intéressants à mettre en place pour évaluer l'influence de cette espèce sur le comportement des *Culicoides*.

Afin d'exploiter en totalité les données collectées lors de l'étude du contact entre les moutons et *C. imicola*, une étude préliminaire de l'activité nyctémérale a été conduite. Des données provenant de captures sur deux sites du Sud de la Corse ont également été intégrées.

III.4. Étude préliminaire de l'activité nyctémérale de *C. imicola*

Une première version de cette communication a tout d'abord été proposée à *Veterinary and Medical Entomology* qui a refusé ce papier jugeant qu'il était nécessaire de se baser sur un plus grand nombre de nuits de piégeage. L'intérêt de cette étude a cependant été souligné. Étant conscient que l'article présente une étude préliminaire, le titre a été revu pour bien spécifier que des résultats complémentaires étaient nécessaires. L'article ayant été évalué par Gary Mullens, spécialiste de *C. sonorensis* en Californie et pionnier dans l'étude de la capacité vectorielle des *Culicoides*, ces remarques sont encourageantes.

L'article a ensuite été soumis au *Bulletin of Entomological Research*. Ils ont confirmé le besoin de répéter l'expérimentation sur plusieurs nuits de piégeages. Ils suggèrent également de développer l'analyse des facteurs explicatifs. L'article a été remanié pour en faire un article court (Short communication) répondant aux critères du *Veterinary Record*.

L'article constitue une étude préliminaire décrivant l'activité nocturne observée chez *C. imicola* en Corse et dans le sud-est de la France. Une étude plus approfondie du rythme endogène de *C. imicola* est nécessaire pour tester les hypothèses émises à partir de ces observations.

Preliminary observations on the activity rhythms of Culicoides imicola (Diptera: Ceratopogonidae) in France

Biteau-Coroller^{1*}, F.
Mathieu², B.
Guis¹, H.
Delécolle³, J.-C.
Baldet¹, T.

1. CIRAD, Centre de coopération internationale en recherche agronomique pour le développement, département d'élevage et de médecine vétérinaire, Montpellier, France.
2. EID Méditerranée, Entente interdépartementale de la démoustication, Montpellier, France
3. ULP, Université Louis Pasteur, Faculté des sciences de la Vie, Strasbourg, France

Abstract

The flight activity of the biting midge *Culicoides imicola* Kieffer (Diptera: Ceratopogonidae), the main vector of bluetongue and African Horse sickness viruses in Europe and Africa, was sampled every 30 minutes at three sites in France, using UV-light traps. Local meteorological parameters were recorded at the same time intervals. Females of *C. imicola* possessed a bimodal pattern of activity, with a strong peak in activity before dawn and weaker peak after dusk. Flight activity was also slightly persistent for few hours after dawn. No correlations with relative humidity or temperature were established. Given these results, recommendations in terms of preventive measures against bluetongue are provided.

Keywords: *Culicoides imicola*, bluetongue, flight activity, France

III.4.1. Introduction

Culicoides imicola Kieffer, is a biting midge of Afro-Asian origin reported to be a vector of bluetongue (BT) and African horsesickness (AHS) viruses (Reoviridae: Orbivirus), two important livestock diseases (Meiswinkel *et al.*, 1994). Until recently, BT was considered as an exotic disease for a long time in European countries, except for sporadic incursions into the Iberian peninsula (Meiswinkel *et al.*, 1994; Rawlings *et al.*, 1997). Since 1998, this is no longer the case as the Mediterranean Basin is undergoing an unprecedented epizootic of BT (Purse *et al.*, 2005). One major reason for the expansion of BT appears to be related to the expansion of *C. imicola*. *Culicoides imicola* was discovered in southern Corsica three weeks before the first French BT outbreaks occurred in autumn 2000 (Delécolle & de La Rocque, 2002). Its northern expansion was spectacularly fast and, by 2003, this afro-tropical species was widespread throughout Corsica (Baldet *et al.*, 2005). At about the same time, from 2003 to 2005, it appears that *C. imicola* also became more and more widely distributed in mainland Spain (Calvete *et al.*, 2006), especially in Catalonia (Sarto i Monteys *et al.*, 2005). In 2005, the establishment of *C. imicola* in southern France, the shortest distance from mainland France to Corsica (about 180 km), was confirmed (Mathieu *et al.*, 2006).

The significance of *C. imicola* as a potential vector of BT in mainland France and the rest of Europe makes understanding its bio-ecology and field behaviour essential. The majority of species of *Culicoides* are crepuscular or nocturnal and the onset of activity is triggered usually by falling light intensity (Kettle, 1957; Nelson & Bellamy, 1971; Mellor *et al.*, 2000). Little has been published on the flight activity of *C. imicola* and the few publications on this subject concern *C. imicola* populations in its traditional distribution, e.g. Israel (Braverman *et al.*, 2003) and Kenya (Walker, 1977a).

The aim of this manuscript is therefore to present preliminary results regarding the flight activity of *C. imicola* in France, a temperate area where this species has established recently.

III.4.2. Materials and methods

III.4.2.1. Trapping methods

Phototropic species of *Culicoides* were trapped with a classical New Jersey light trap slightly modified (Rieb, 1982) using UV-light as attractants and operated with 12V battery. A screw-top plastic bottle which contained a dilute detergent solution was used to collect and drown the insects. Traps were placed about 1.5 m above the ground and were activated one hour before sunset and stopped one hour after sunrise. The collection bottle was replaced every 30 minutes. *Culicoides* were identified based on wing patterns, and confirmed subsequently by mounting specimens on microscope slides (Wirth & Marston, 1968; Delécolle, 1985; Delécolle & de La Rocque, 2002). *C. imicola* females were classified as either nulliparous or parous according to the presence of pigment deposited in the abdominal cuticle (Dyce, 1969).

III.4.2.2. Study areas

Culicoides were sampled both in southern Corsica and in southern mainland France.

In Corsica, *C. imicola* populations have been present since at least 2000 (Delécolle & de La Rocque, 2002). The traps were placed in two sheep farms, one in Poggiale near Figari (41°30'06''N – 9°05'08''E) and one in Porto-Vecchio (41°35'40''N – 9°14'17'' E) and were activated for one night in early September 2003. *C. imicola* collections at these two sites have taken place monthly since 2002 as a part of the framework of the French entomological BT surveillance (Baldet *et al.*, 2004). Vector abundance in these two particular sites increased greatly between 2002 and 2003 where the number of *C. imicola* trapped in one night went, on average, from 326 and 578 specimens, respectively, to 1369 and 2607 specimens (Pers. Com.).

In mainland France, the trap was set at a sheep holding (43°24'32" N – 6°48'56" E) in the area where a *C. imicola* population has been established since 2004. It was operated twice at the same location, once in early August and once in late September 2005.

III.4.2.3. Meteorological Records and Ephemeris

During the one-night trappings, temperature and relative humidity were recorded every 30 minutes. Times of sunrise, sunset, moonrise and moonset were provided by the Institut de Mécanique Céleste et de calcul des Éphémérides (Institut de Mécanique Céleste et de calcul des Éphémérides, 2005) which computed the planet ephemeris from the theory VSOP87/EL2000-82B (IMCCE).

III.4.3. Results

At all sites, *C. imicola* was the most abundant species, representing more than 90% of Ceratopogonidae caught. Nightly patterns of flight activity of *C. imicola* are shown in figures 39-41 which depict the number of insects collected in consecutive 30 min periods over a night.

In mainland France, 390 *C. imicola* (24 males and 366 females) were collected during the trapping night in early August (Figure 42 A). The parity rate was 31%. In September, 172 *C. imicola* (5 males and 167 females) were caught. The parity rate was 44% which was significantly higher than in August ($p < 0.01$).

In August (Figure 42A), the first peak was observed two hours after sunset and ended at 22.30 pm (UTC – Coordinated Universal Time). While the first peak occurred when relative humidity was relatively stable around 80 %, the second one coincided with a period when relative humidity was at its lowest level, between 46% and 55 %. The flight activity of nulliparous and parous females presented the same bimodal pattern, except a peak of parous females in the middle of the night (23.00-23.30).

In September (Figure 42B), a peak after dusk was not detected and two thirds of *C. imicola* females were trapped between 2.15 and 6.15 UTC. This peak matched with the period during which temperature dropped from 19°C to 16 °C and relative humidity increased from 80% to 99 %.

In Corsica, 1 518 *C. imicola* (29 males and 1489 females) were captured at Poggiale's sheep barn (Figure 43) and 12 372 (193 males and 12 179 females) at Porto-Vecchio's site (Figure 44). The parous rates were 31 % and 54 %, respectively. Whatever the difference of either abundance or parous rate, a peak occurred few hours before sunrise. No major differences between nulliparous and parous patterns were shown.

At Poggiale's sheepfold (Figure 43), the first and major peak occurred abruptly quite a long time after sunset during which 778 *C. imicola* females were caught in the space of one hour, which constitutes 51% of the total number of females trapped that night. The second peak showed a progressive evolution from 00.30 to 3.30 UTC with a maximum at 1.30 UTC, that is, three hours before the sunrise.

In Porto-Vecchio (Figure 44), *C. imicola* were caught in large numbers throughout the night with two major waves. The earliest and major wave started two hours after sunset, between 19.30 and 22.00 UTC. During this wave, almost half of *C. imicola* were trapped. The second one occurred near dawn, between 0.30 and 3.00 UTC, *i.e.* 2 hours before sunrise.

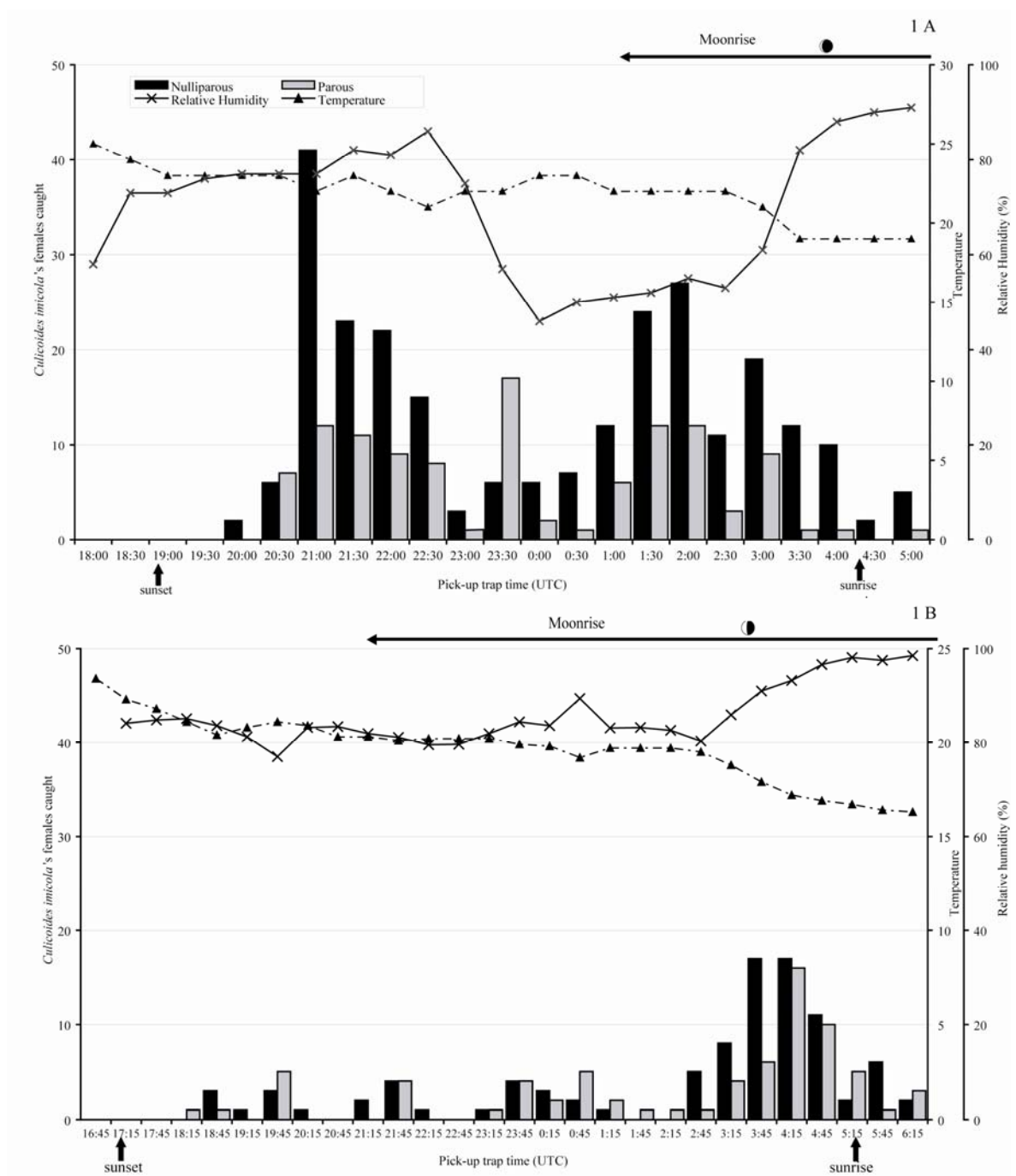


Figure 42 : Flight activity of *Culicoides imicola* in Roquebrune sur Argens (Var - France) in a sheep barn during the night A) of the 1st to the 2nd of August 2005 and B) of the 27th to the 28th of September 2005.

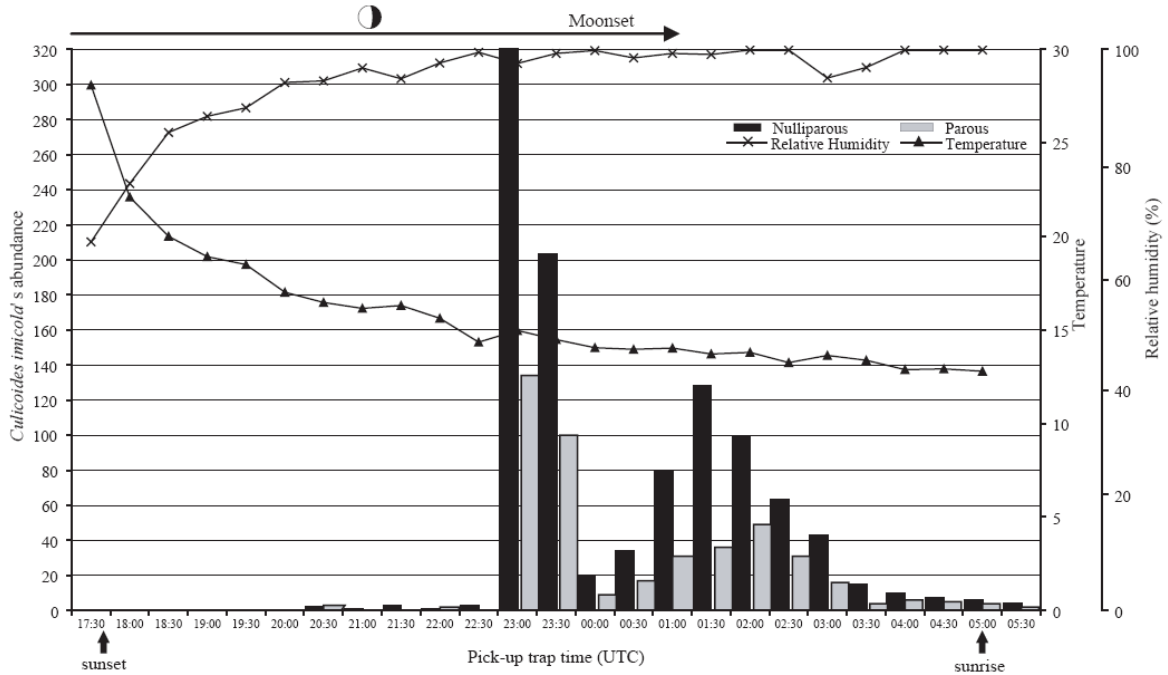


Figure 43 : Flight activity of *Culicoides imicola* in Poggiale (southern Corsica) at a sheepfold during the night of the 6th to the 7th of September 2003.

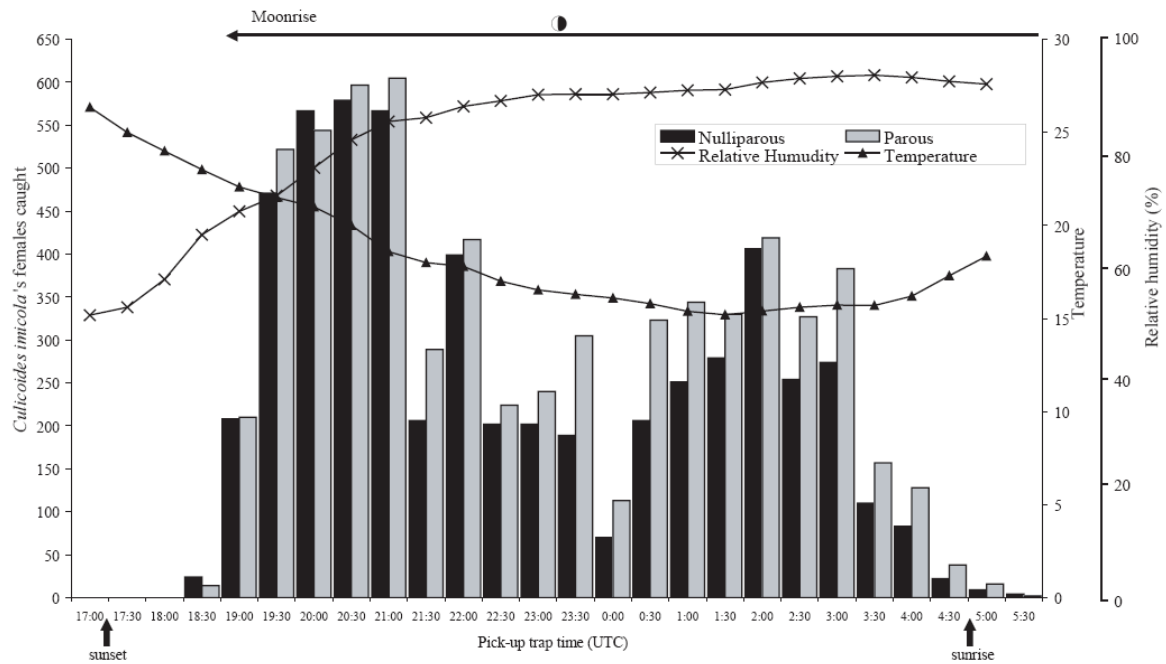


Figure 44 : Flight activity of *Culicoides imicola* in Porto-Vecchio (southern Corsica) at a sheepfold during the night of the 11th to the 12th of September 2003

III.4.4. Discussion

The nocturnal flight activity of *C. imicola* is confirmed and followed mainly a bimodal pattern in this temperate zone, both in south mainland France and in Corsica Island. In Israel, Braverman *et al.* (1992) concluded that the flight activity of *C. imicola* was crepuscular, that is, 0.5h before and 0.5h after sunset and sunrise, because the host detection mode of *C. imicola* is essentially visual and olfactory. Their work also showed a greater peak at sunrise than at sunset. In Kenya, based on combined data from suction traps operated during a period of ten months, Walker (1977) described that *C. imicola* was active throughout the night and reached a maximum in the middle of the night with a relatively little activity in the early evening but a small peak of activity at dawn. In our study, the link between flight activity and the brighter period of the night, as described in Israel, was not so obvious. This could be explained partly by the fact that we used a UV-light trap whereas Braverman only presented the results obtained with calf-baited traps (Braverman *et al.*, 1992; Braverman *et al.*, 2003). Indeed, UV-light traps induce a positive attraction of *Culicoides*, and this attraction is probably the most efficient when no other light source is interfering. Because of this potential bias, many studies use traps without light attractants, e.g. simple suction traps, which enable to reveal the endogenous patterns of activity of species more impartially.

As *C. imicola* is involved in the transmission of the bluetongue (BT) virus in France and in Europe, a better understanding of its biting activity is determinant to improve prevention methods. Nevertheless, although biting activity entails flight activity, the contribution of biting to total flight activity is difficult to determine. However, the use of UV-light traps to catch *Culicoides spp.* could here induce a positive selection. Indeed, UV-light traps attract mostly females looking for a bloodmeal, i.e. unengorged and non-gravid females, whatever the parous status (Braverman & Linley, 1988). So, in order to study biting activity which requires catching *Culicoides* in large number, UV-light traps could be a good alternative to CO₂ traps or animal baits which involve important logistic and financial constraints.

Neither the aim nor the design of this study allowed a thorough analysis of the relationship between flight activity patterns and the environmental parameters known to influence it such as light intensity, wind speed, temperature or relative humidity (Lewis & Taylor, 1965; Walker, 1977a; Bishop *et al.*, 2000; Braverman *et al.*, 2003). Nevertheless, the peaks observed did not seem to take place during highest temperature periods which is often associated with a peak of flight activity in the literature (Walker, 1977a; Mellor *et al.*, 2000; Braverman *et al.*, 2003). As it was already suggested by Nelson and Bellamy for *C. variipennis* (Nelson & Bellamy, 1971), these observations lead us to think that in a temperate zone, other factors may govern the flight activity of the biting population of *C. imicola*.

An important variability of the abundance of *C. imicola* was observed from trapping night to trapping night and from site to site. However, the peak in flight activity in the second part of the night is rather consistent, although it could not always be linked to dawn. On the contrary, the peak after sunset is not always detected. Thus, in September at the Roquebrune-sur-Argens' site, the sunset peak did not occur as it did in August. The moonlight did not appear as an explicative factor as the moon raise after the expected peak. Moreover, there was no wind in this first part of the night. The few number of *C. imicola* caught during this night could explain a part of this observation. Several consecutive trapping nights at different periods of year are needed to investigate more in detail the determinant factors of such variations.

When compared to Porto-vecchio site, the sunset peak in Poggiale was strongly delayed and the first females were not caught in abundance before 23.00 pm, more than 5 hours after sunset.

Hence, as temperature and relative humidity were similar, we can suppose that other factors may influence this observed *C. imicola*'s activity. Moonlight and wind should then be considered in the future. The distance from breeding sites could also be involved.

The presence or absence, type and density of animals (hosts) should not be neglected as they are an important stimulus for unfed individuals. So, the absence of sheep nearby the light-trap, as it was the case in Poggiale, may have influenced the trap efficiency.

The persistent presence of the *C. imicola* parous females throughout the night and even after sunrise is an important point for prevention policies. Indeed, as *C. imicola* is an exophilic species (Barnard, 1997), we would recommend delaying the moment in the morning at which sheep leave their enclosed sheep barn.

More information is needed to better understand flight activity determinants of *C. imicola* in its new distribution area in south-western Europe. Further research may help get an insight on *C. imicola*'s breeding site preference.

Acknowledgements

We appreciate the cooperation of Michel and MM. Andreani, Marchetti and Sciarraffa. This study was funded by FNS-INRA-ACI quantitative ecology – French research ministry.

Compte tenu du fait que la compétence de la population de vecteurs peut influencer largement le potentiel de transmission d'un virus donné, il a été programmé d'évaluer cette compétence pour *C. imicola* et le BTV.

III.5. Évaluation de la compétence vectorielle de *C. imicola*

La notion de capacité vectorielle inclut la compétence du vecteur pour l'agent pathogène considéré soit, dans notre cas, pour le virus de la FCM. La compétence vectorielle est sous influence génétique. Elle traduit la compétence de l'espèce vectrice étudiée à s'infecter avec l'agent pathogène, à le diffuser dans son organisme jusqu'au lieu de maturation, à le répliquer et à le retransmettre lors d'une prochaine piqûre via ses glandes salivaires. Étant donnée que cette compétence est gouvernée par des phénomènes génétiques, on peut s'interroger à juste titre de l'homogénéité de cette compétence en fonction de la population de vecteurs considérée. En effet, de récentes études sur le complexe *C. imicola* montre l'hétérogénéité génétique à l'intérieur de ce groupe morphologiquement semblable (Sebastiani *et al.*, 2001a). Il est donc intéressant de savoir si cette variation génétique inter-population a des répercussions avec sa compétence vectorielle à multiplier et transmettre le BTV.

L'exposition à un virus via un repas de sang pris sur un vertébré virémique entraîne en général une infection plus efficace que lors d'un repas sanguin artificiel (Weaver *et al.*, 2004). Ce phénomène observé chez des moustiques du genre *Culex* serait lié à une plus forte concentration des particules virales, à proximité de l'épithélium intestinale de l'insecte, favorisée par la coagulation du sang à ce niveau. Une infection expérimentale doit essayer de reproduire au mieux les relations du couple vecteur/virus. Cependant, comme le contact provoqué n'est pas aussi efficace que dans les conditions naturelles, on s'attend à une sous-estimation de la compétence d'un insecte pour un sérotype de virus donné.

Quelques études expérimentales de compétence ont été conduites sur *C. imicola* en Afrique du Sud (Venter *et al.*, 1991; Venter *et al.*, 1998). La réalisation de telles études se heurte à un certain nombre de difficultés techniques. En effet, l'élevage de *C. imicola* ayant toujours été un échec jusqu'ici, il est nécessaire de capturer des spécimens sauvages vivants et de les transporter au laboratoire pour les infections expérimentales. Cette étape est souvent une phase critique de l'expérience du fait de la forte mortalité des insectes lors de ce transport. Ensuite, il faut gorger artificiellement les insectes avec du sang infecté. Si le choix de l'espèce animale donneuse de sang est relativement facile (le plus souvent chevaux ou moutons), la technique utilisée influence notablement le résultat final (Venter *et al.*, 2005; Carpenter *et al.*, 2006).

Différentes méthodes visant à infecter artificiellement des *Culicoides* existent. Elles incluent l'utilisation d'hôtes infectés (Du Toit, 1944a; Foster *et al.*, 1963; Luedke *et al.*, 1967; Muller, 1979; Standfast *et al.*, 1985; Jennings & Mellor, 1988) ou d'œufs de poulet embryonnés (Foster & Jones, 1973), l'inoculation intra-thoracique (Jochim & Jones, 1966; Boorman, 1975; Muller, 1987; Jennings & Mellor, 1988), l'infection orale de *Culicoides* par l'utilisation de fines aiguilles en verre (Mellor *et al.*, 1985b), l'utilisation de disques de coton (Jennings & Mellor, 1987; Venter *et al.*, 2005) ou encore les techniques utilisant une membrane naturelle ou artificielle (Jones & Potter, 1972; Owens, 1981; Davis *et al.*, 1983). Les études les plus récentes utilisent essentiellement une membrane artificielle (Tanya *et al.*, 1993; Mullens *et al.*, 1995; Venter *et al.*, 1998; Paweska *et al.*, 2002; Wittmann *et al.*, 2002). Plus récemment, l'utilisation d'un morceau de coton hydrophile imbibé de sang comme support pour infecter *C. imicola* a été testée comparativement avec la technique sur membrane (Venter *et al.*, 2005). Si cette technique est facile à mettre en œuvre et ne demande pas d'équipements particuliers, elle entraîne un engorgement moins important des *Culicoides*. Cela peut induire une sous-estimation de la compétence réelle (Venter *et al.*, 2005).

En vue d'étudier la compétence de la population de *C. imicola* située à Roquebrune-sur-Argens, une collaboration avec l'Institut of Health Animal (IAH) de Pirbright (Royaume-Uni)¹⁷ a été initiée en 2004. Je me suis familiarisée, lors d'une mission d'une semaine, avec les différentes étapes qu'implique une telle étude : i) piégeages de spécimens sauvages vivants et transport, ii) repas de sang infectant, iii) tri et phase d'incubation des *C. imicola* gorgés, iv) analyses virologiques après la phase d'incubation extrinsèque du virus. Par la suite, il fut envisagé de mener cette étude au laboratoire du Cirad-Baillarguet de niveau de sécurité 3. Cependant, différentes contraintes nous ont fait préférer le laboratoire de IAH de Pirbright qui dispose de l'expérience, des équipements adéquats et entretient les cultures cellulaires de BTV nécessaires à l'étude.

L'étude menée visait donc à répondre à la question suivante : Dans quelle proportion de *C. imicola*, infectés expérimentalement avec du virus BTV, retrouve-t-on ce virus en quantité suffisante pour permettre sa transmission à un hôte vertébré ?

III.5.1. Matériels et méthodes

III.5.1.1. Site d'étude

Les collectes de *C. imicola* ont été faites sur les sites du suivi longitudinal : centre équestre de la Rouvière, élevage ovin de l'Orme et élevage ovin de l'Isclès. Trois pièges lumineux de type Onderstepoort équipés d'un tube UV de 8 watts (350 nm, Phillips, Pays Bas) (Venter *et al.*, 1998) ont été utilisés pour collecter, toute la nuit, des *Culicoides* vivants sur ces sites entre mi-septembre et mi-octobre 2005.

¹⁷ L'IAH-Pirbright est le laboratoire de référence de l'OIE pour la FCM.

III.5.1.2. Technique d'infection expérimentale

Les insectes ont été recueillis dans un pot en plastique de 500 mL dans lequel des bandes de serviettes en papier humide ont été déposées pour protéger les *Culicoides* de la dessiccation induite par le ventilateur. Les pots ont été relevés à l'aube. Après une phase de réfrigération à 4°C, les insectes piégés ont été transvasés dans des piluliers cylindriques à bouchon à vis. Le bouchon a été remplacé par un tulle à maille très fine pour assurer le renouvellement de l'air dans ces récipients lors de leur voyage vers le laboratoire de l'IAH. Ces boîtes de transport ont été conservées pour la phase de gorgement des insectes. Les *Culicoides* ont été nourris, en première intention, par la méthode du bloc de coton imbibé (Venter *et al.*, 2005) de 4 à 5 mL d'un mélange égal de sang de cheval et de suspension virale. En complément, la méthode sur membrane siliconée a également été utilisée (Mellor, 1971). Un isolat du sérotype BTV9 provenant d'une épizootie dans le Nord du Kosovo, identifié et typé à IAH, a été utilisé pour les infections. Il a été soumis à un passage sur œufs embryonnés et à trois passages sur cellules BHK-21 et utilisé à un titre de $10^{6,5-7,0}$ Dose Infectante de Culture Tissulaire (DICT₅₀) par mL lors de sa combinaison avec le sang de cheval.

Les insectes ont été ensuite anesthésiés avec du CO₂ et les *C. imicola* gorgés de sang ont été identifiés puis isolés. Quelques spécimens gorgés et morts dans les 2-3 jours après le repas de sang infectant ont été conservés à -80°C pour le contrôle de l'étape d'infection expérimentale. Les autres insectes ont été transférés dans des cages propres et incubés à 23-25°C et 80-95% d'humidité relative pendant 7 à 10 jours. Un coton imbibé d'une solution de sucrose à 5% a été disposé sur le haut de la cage en guise de nourriture pendant cette phase.

Après l'incubation, les moucheron survivants ont été congelés dans des tubes Eppendorf à -80°C en attendant l'isolement viral et le test ELISA.

III.5.1.3. Isolement viral

Les individus ont été placés dans des tubes Eppendorf de 1,5 mL contenant 100 µL de Milieu Essentiel Minimum (MEM) réfrigéré avec 0,6% d'antibiotiques (2,0 µg/mL de fongizone, 1 000 IU/mL de pénicilline, 50 mg/mL de néomycine et 1 000 IU/mL de Polymyxine). Ils ont ensuite été homogénéisés en utilisant un pilon en polypropylène motorisé et stérilisé. Puis, 900 µL de MEM ont été ajoutés à chaque échantillon et les tubes ont été centrifugés à 12 000 tours par minute pendant 5 minutes. Pour chaque échantillon, 100 µL du surnageant obtenu ont été pris pour préparer, dans un tube Eppendorf supplémentaire, un échantillon dilué au 1:10 avec du MEM. Les titrations virales ont été réalisées sur des microplates de 96 puits de cultures cellulaires contenant une monocouche de cellules de BHK-21 et 100 µL de MEM complété avec 2% d'un bouillon de phosphate de tryptose (Invitrogen, Paisley, United Kingdom) et des antibiotiques. 100 µL de chaque échantillon et de leur dilution à 1:10 ont été inoculés dans les puits en 4 réplicats. Un contrôle positif du virus original utilisé (à une dilution de 10⁴ et 10⁷) et un contrôle négatif de diluant ont été ajoutés. Les microplates ont ensuite été placées dans un incubateur à CO₂ à 37°C pendant 7 jours. Une observation au microscope de l'effet cytopathogène (ECP) a été faite entre 5 et 7 jours post-inoculation. Si un ECP avait été observé, l'échantillon d'origine aurait été de nouveau dilué avec un volume égal (500 µL) de MEM et passés à travers un filtre (pore de 0.2 µm, Minisart, Esosm Surrey, Royaume-Uni). Le filtrat obtenu serait testé de nouveau selon le même protocole, jusqu'à une dilution maximum de 10⁴. Un test ELISA spécifique du BTV aurait été finalement utilisé pour confirmer l'identité et la présence du virus dans tous les puits avec un ECP. La méthode de calcul des titres est alors celle de Spearman et Kärber (Finney, 1964).

III.5.2. Résultats

Plus de 2 000 *Culicoides*, majoritairement des *C. imicola*, ont été acheminés vers le laboratoire de Pirbright entre le 22 septembre et le 25 Octobre 2005, soit par courrier international, soit directement de site à site. Dans le premier cas, qui concerne 3 envois, le trajet a pris entre 24 et 72 heures. Dans le second cas, les insectes étaient prêts pour le repas infectant en début d'après midi le jour de la collecte.

Un total de 119 *C. imicola* a été gorgé avec succès lors de 2 repas de sang infectant (86 lors du premier puis 33 lors du suivant). Cependant, le volume de sang ingéré était visuellement très faible pour une majorité des femelles. Deux des envois ont été des échecs, les insectes ayant été réceptionnés trop tardivement sur leur lieu de destination.

75 *C. imicola* ont survécu à la phase d'incubation de 10 jours, soit 63,0%. 8 échantillons analysés par culture cellulaire n'ont pas pu être validés du fait d'une contamination des cellules. Parmi les 67 échantillons dont l'analyse par culture cellulaire a été validée, aucun n'a présenté d'effet cytopathogène. Aucune des 67 *C. imicola* femelles n'a ainsi conservé le virus BTV au-delà des 10 jours nécessaires pour l'incubation extrinsèque du virus.

On peut déterminer le nombre maximal de positifs attendus dans cette population de vecteurs si l'ensemble des individus échantillonnés s'est révélé négatif. La formule permettant d'estimer cette prévalence maximale observée est :

$$D = \left(1 - (1 - IC)^{\frac{1}{n}}\right) * \left(N - \frac{(n-1)}{2}\right) \text{ (WinEpiscope 2.0®)}$$

Avec : D : nombre maximum de positifs dans la population testée

IC : niveau de confiance recherché

N : taille de la population

n : taille de l'échantillon. Tous les résultats de cet échantillon doivent être négatifs

En considérant la population de *C. imicola* à Roquebrune sur Argens comme très importante (100 000 individus), on obtient $D(95) = 4,3\%$ et $D(99) = 6,6\%$. Ces valeurs représentent la prévalence maximale possible avec un niveau de confiance de, respectivement, 95% et 99%.

III.5.3. Discussion

La compétence de *C. imicola* dans sa nouvelle aire de répartition géographique (Italie, Îles Baléares, Grèce, Corse) et plus généralement dans le bassin méditerranéen n'a encore jamais été évaluée. Les seules études concernant cette espèce ont été réalisées en Afrique du Sud (Venter *et al.*, 1991; Venter *et al.*, 1998; Paweska *et al.*, 2002; Venter *et al.*, 2005).

La susceptibilité de *C. imicola* aux virus BTV dépend à la fois du sérotype (Venter *et al.*, 1998) et de la température d'incubation du virus (Paweska *et al.*, 2002). Au vu du contexte français, le choix du sérotype 9 pour étudier la compétence de *C. imicola* n'est pas le meilleur. Le sérotype 2, 4 et/ou 16 aurait été plus approprié puisqu'ils sont présents en Corse et dans les pays limitrophes. Ce constat est d'autant plus vrai que le sérotype 9 n'est impliqué en Europe que dans les Balkans. De plus, le rôle de *C. imicola* comme vecteur dans ces zones est remis en question au profit d'autres espèces de *Culicoides*. En effet, les efforts de piégeages réalisés en Bulgarie, Albanie et au nord de la Grèce n'ont pas permis de mettre en évidence *C. imicola* malgré la circulation du virus BTV9 (Mellor & Wittmann, 2002; Goffredo *et al.*, 2004). Cependant, nos expérimentations ont coïncidé avec celles faites, au Royaume-Uni, sur *C. obsoletus* et le BTV 9 (Carpenter *et al.*, 2006). De ce fait, cette souche était facilement accessible pendant toute la durée de l'étude et était adaptée à la culture cellulaire. De plus, cette même souche a été utilisée selon le même protocole en Afrique du Sud (Venter *et al.*, 2005). Les résultats des deux études pouvaient ainsi être comparés.

En première approche, le choix a été d'étudier seulement selon le taux d'infection de *C. imicola* suite à une infection expérimentale. L'effet de la température sur ce paramètre n'a pas été évalué.

Le taux de réussite du repas de sang infectant, bien que n'ayant pas pu être déterminé avec exactitude, est globalement en deçà de 10%. Dans la littérature, ce taux varie de 10 à 70% d'une expérience à un autre même lorsque les méthodes de repas restent les mêmes (Venter *et al.*, 1991; Venter *et al.*, 1998; Paweska *et al.*, 2005). Le taux observé lors cette étude est ainsi plutôt médiocre. On peut supposer que les *Culicoides* n'étaient plus très vigoureux suite au temps écoulé entre la collecte et le repas de sang. Le coton imbibé de jus sucré disposé pendant le trajet ne semble pas suffisant. Les conditions du repas de sang n'étaient, de plus, pas optimum du fait de l'impossibilité d'éteindre la lumière dans la pièce réservée à cet effet.

A l'inverse, le taux de survie aux 10 jours d'incubation a été plutôt élevé puisqu'il a été de 63,0%. Venter *et al.* (1998) ont accusé, lors de leurs tentatives, un taux de mortalité moyen de 3,6% avec des variations allant de 0,3% à 54,1% au cours d'une même étude. Pour Paweska *et al.* (2002), ce taux a été de 11,8%.

Seules des études concernant la compétence de *C. imicola* pour les sérotypes 1, 3, 4, 5, 6 et 9 ont été réalisées à ce jour. D'une étude à l'autre, le taux d'infection varie de manière relativement importante. Cependant, la compétence de *C. imicola* pour des virus BTV reste toujours faible et inférieure à celle de *C. brevitarsis* dont pourtant le rôle vecteur n'a pas encore pu être avéré selon les critères de l'OMS (Venter *et al.*, 1998). Mise à part l'étude de Venter *et al.* publiée en 1991 qui a mis en évidence une compétence de 31% et 24% pour, respectivement, les sérotypes BTV 3 et BTV 6, ce taux, déterminé sous conditions de laboratoire, est toujours inférieur à 20% (Venter *et al.*, 1998; Paweska *et al.*, 2002; Venter *et al.*, 2005).

L'étude la plus proche de la nôtre tant d'un point de vue méthodologique que virologique est celle de Venter *et al.* publiée en 2005. Ils ont comparé le résultat obtenu suite à une infection sur coton imbibé à celui issu d'une infection sur membrane. Avec le sérotype 9 (Kosovo), ils ont observé un taux de respectivement 4,2% et 16,0%. Ainsi, pour la même technique et le même sérotype, la prévalence maximale estimée à partir de nos 67 échantillons négatifs est du même ordre de grandeur que celle observée sur une population de *C. imicola* d'Afrique du Sud. La compétence de la population de *C. imicola* présente au-delà de sa limite de répartition habituelle semble donc toujours relativement faible.

Afin de disposer d'informations plus précises sur la compétence de *C. imicola* en France, il est nécessaire de poursuivre ce type d'étude en augmentant le nombre de spécimens analysés. Un minimum de 100 est requis d'après Jennings et Mellors (1987). Cela passe par l'amélioration de la méthode d'acheminement des *Culicoides* au laboratoire de Pirbright (accompagner directement les échantillons par avion). De plus, l'utilisation du sérotype 2, 4 et/ou 16 est préférable. La faisabilité de réaliser des infections expérimentales au sein du laboratoire du Cirad à Baillarguet sera également à étudier.

L'étude entomologique approfondie des différents aspects intervenant dans la capacité vectorielle de *C. imicola* est un préalable incontournable en vue d'évaluer le potentiel de transmission de BTV en France continentale. Chaque paramètre requiert pratiquement la mise en place d'un protocole spécifique sachant qu'il existe peu d'études antérieures pour cette espèce. Le choix s'est porté sur les paramètres pouvant varier de manière très importante au cours d'une saison et d'un site à un autre (abondance, taux de survie).

L'étude du taux de contact hôte/vecteur est également un point critique sous dépendance des facteurs environnementaux influençant l'abondance des *Culicoides* mais également de l'environnement animalier (espèces hôtes présentes, densités).

Le rôle des chevaux, des bovins et des caprins doit ainsi ne pas être négligé lors de l'estimation de la capacité vectorielle puisqu'ils influencent à la fois l'abondance de *C. imicola* (capacité alimentaire du milieu) et l'intensité du taux de contact moutons/vecteurs. De plus, la présence d'un certain type d'élevages favorise l'entretien de gîtes larvaires même en période estivale (Meiswinkel *et al.*, 2004).

La compétence reste un point à approfondir. Ce paramètre est en effet déterminant pour évaluer le nombre de *C. imicola* nécessaire pour qu'une transmission virale ait lieu (Venter *et al.*, 1991).

En vue d'estimer le potentiel de transmission du virus BTV à Roquebrune sur Argens, un modèle intégrant l'ensemble des données disponibles sur *C. imicola*, qu'elles soient issues des études présentées ci-dessous ou de précédentes publications, va être proposé. Il reprend la formule de la capacité vectorielle développée par McDonald (1957) et Garrett-Jones (1964).

Approche intégrative : estimation du risque de transmission du BTV dans la vallée de l'Argens



Image satellite colorisée de l'embouchure de l'Argens (Var)

IV.1. Introduction

En l'absence du BTV sur le littoral continental français, l'étude des risques liés à cette maladie pourrait se limiter au risque d'introduction du virus, soit par l'importation d'animaux virémiques, soit par la dispersion passive de vecteurs infectés. Cependant, l'introduction du virus ne suffit pas pour déclencher une épizootie, notamment lorsqu'il est introduit par des insectes. Il faut ensuite que l'agent pathogène soit transmis sur place via des insectes compétents : une « masse critique » du couple vecteurs/virus doit être atteint. La production d'un nombre suffisant d'insectes infectés dépendra notamment de la population d'hôtes vertébrés présents.

En présence ou en l'absence de virus, le potentiel de transmission d'une population de vecteurs peut être apprécié au travers de sa capacité vectorielle C (Dye, 1986). Cet index entomologique intègre l'ensemble des paramètres entomologiques (intensité du contact hôte/vecteur, fréquence des repas de sang, longévité des femelles) intervenant dans la transmission de la fièvre catarrhale du mouton.

Dans le cadre de l'analyse du risque de FCM pour la région PACA, nous nous sommes ainsi intéressés plus spécifiquement au risque de transmission du virus dans la zone d'installation récente du vecteur. Cette phase de transmission est en effet indispensable pour déclencher une épizootie. Le modèle présenté ci-dessous vise donc à répondre à la question suivante : quel est le potentiel de transmission du BTV dans la zone d'installation récente de *C. imicola* ?

A partir du suivi entomologique mené dans la zone d'installation de *C. imicola* dans le Var (Sud-est de la France) et des données de la littérature, nous avons estimé C , de manière comparative, dans deux élevages ovins présents dans cette zone.

IV.2. Matériels et méthodes

Rappel :

La formule de la capacité vectorielle publiée par Garrett-Jones (1964) est la suivante :

$$C = \frac{ma \times a \times p^n}{-\ln p}$$

Suite au développement des techniques de laboratoire permettant d'estimer la compétence vectorielle de certains insectes, le besoin d'ajouter une variable représentant la compétence vectorielle V s'est peu à peu imposé (Reisen, 1989), d'où :

$$C = \frac{ma \times a \times V \times p^n}{-\ln p}$$

Au vu des études entomologiques menées à Roquebrune sur Argens et de la littérature, nous avons défini les paramètres estimant les différentes variables de C . Il est impossible de définir une valeur exacte pour ces paramètres biologiques, qui, par définition, présentent une variabilité interne (variabilité biologique). De plus, ces paramètres varient au cours d'une saison et d'une saison à une autre. C'est pourquoi on a cherché à identifier des indicateurs reflétant ces variations et les incertitudes concernant la valeur vraie.

La capacité vectorielle est un index relatif permettant de comparer le potentiel de transmission de deux situations comparables. Dans notre cas, la comparaison s'est faite à deux niveaux : i) dans le temps, en suivant l'évolution de C selon un rythme mensuel et ii) dans l'espace, en comparant les résultats obtenus à la même période sur différents sites d'intérêt.

Si certains paramètres peuvent varier fortement d'un jour à un autre (abondance) (Murray, 1991; Murray, 1995), d'autres ont une variation plus progressive (durée du cycle extrinsèque, fréquence des repas de sang). Afin de conserver la saisonnalité de la capacité vectorielle de *C. imicola* pour le BTV, il a été choisi de calculer *C* de façon mensuelle. Bien que *C* ne soit pas forcément homogène au sein d'un mois (pic d'abondance), ce compromis permet de reproduire en partie la saisonnalité de la transmission du BTV et d'envisager, par exemple, de renforcer la surveillance lors des mois les plus à risque.

Les variables ont été estimées par des lois de distribution de probabilité dont la nature et les paramètres ont été déterminés en fonction des données issues du suivi de terrain, de la littérature et à dire d'expert.

Le logiciel @risk® a été utilisé pour simuler la distribution de *C*. La méthode d'échantillonnage retenue est la méthode de l'hypercube latin avec 10 000 itérations. Avec cette méthode, la fonction de distribution cumulative¹⁸ de chaque variable est divisée en autant d'intervalles qu'il y a d'itération. À chaque itération, un intervalle est choisi au hasard et ensuite un nombre est choisi au hasard à l'intérieur de cet intervalle. Une fois qu'un intervalle est utilisé, il ne le sera plus par la suite, ce qui permet d'avoir une couverture complète et rapide de toute la gamme de probabilité cumulée d'une variable.

IV.2.1. L'intensité des contacts hôte/vecteurs, *ma*

L'intensité des contacts entre les moutons et les vecteurs *C. imicola*, est spécifique d'un élevage donné. Pour suivre l'évolution de ce paramètre, nous avons choisi de réaliser un piégeage régulier de *Culicoides* avec un piège lumineux (PL) sur 4 sites de la zone d'étude (Cf. III.2).

L'abondance relative observée par la capture via un PL au cours d'une nuit est notée *M*.

Pour le calcul de *C*, on pouvait estimer l'intensité du contact moutons/vecteurs soit à partir de la moyenne des résultats des piégeages d'un mois donné, soit à partir du résultat du piégeage le plus important du mois. Cette dernière option permet de reproduire au mieux la réalité de la transmission virale. Celle-ci peut en effet se produire de manière très ponctuelle au cours d'une période. En effet, on ne veut pas apprécier la capacité vectorielle moyenne mais on cherche plutôt à déterminer si, au cours d'un mois, *C* a été assez élevé pour permettre la transmission, ne serait-ce que pendant quelques jours.

Le calcul de *C* a ainsi été réalisé à la fois à partir du nombre moyen et du nombre maximal de femelles de *C. imicola* piégées par mois sur chaque site.

Mois	Nombre moyen de <i>C. imicola</i> femelles observé par nuit de piégeage		Nombre maximal de <i>C. imicola</i> femelles observé par nuit de piégeage	
	élevage ovin de l'Orme	élevage ovin des Isclès	élevage ovin de l'Orme	élevage ovin des Isclès
Mai	11	0	19	0
Juin	20	4	29	13
Juillet	23	4	48	8
Août	192	59	366	201
Septembre	468	304	979	1188
Octobre	427	98	743	217
Novembre	224	8	441	15

Tableau XVII : Nombre moyen et maximal de *C. imicola* femelles capturées par nuit de piégeage dans deux élevages ovins de Roquebrune sur Argens (Var) entre mai et novembre 2005.

¹⁸ Encore appelée, fonction de répartition : elle spécifie pour une variable aléatoire *X*, la probabilité $P(X \leq x)$ pour que *X* soit inférieure ou égale à *x*. Cette fonction varie de 0 vers 1 quand *x* tend vers l'infini.

Les valeurs observées d'abondance, notée M , sont sujettes à des variations liées notamment à l'efficacité de la méthode de capture dépendantes des conditions météorologiques (variabilité interne). Pour limiter cet effet, on a retenu dans le modèle que les nuits de piégeage où ces conditions ont été, qualitativement, jugées satisfaisantes (absence de fortes pluies, vent faible ou d'une durée limitée). Les données concernant la force moyenne des vents à 2 mètres ont été demandées auprès de Météo-France afin de fixer des critères plus objectifs pour exclure certaines nuits de piégeage. Malheureusement, elles ne sont pas disponibles sur la station de Fréjus pour la période demandée. Pour le modèle basé sur M maximal du mois, ce problème ne s'est pas posé.

L'estimation de ma comporte également une part d'incertitudes. En effet, on ne mesure pas directement le nombre de femelles piquant les moutons au cours d'une nuit mais on capture seulement une proportion indéterminée de femelles attirées par les moutons situés à proximité du piège. Cette incertitude est liée notamment au fait qu'on ne connaît pas l'efficacité de la méthode de piégeage même dans des conditions favorables.

Afin de prendre en compte cette incertitude sur la valeur exacte de ma , on a ajouté un facteur correcteur δ qui suit une loi de distribution de probabilité. Compte tenu des éléments à notre disposition, cette loi peut être soit une loi uniforme¹⁹, soit une loi de Pert²⁰. Pour construire cette loi, il faut fixer son minimum et son maximum ainsi que, pour la loi de Pert, sa valeur la plus vraisemblable.

L'étude évaluant la relation entre les résultats d'une capture par PL et d'une capture sur appâts a servi de base pour déterminer la valeur la plus vraisemblable de δ . Au cours de cette étude, nous avons constaté qu'en utilisant deux types de piégeages (PL + pièges sur appâts), on capturerait entre 1,8 et 2,1 fois plus de femelles en quête d'un repas de sang. La valeur « 2 » pour δ a ainsi été retenue comme la plus vraisemblable.

Le minimum pour la loi δ a été fixé à 1 puisqu'il n'y a pas de raisons pour qu'il y ait moins de femelles que le nombre capturé. Cela supposerait qu'on envisage que certaines des femelles piégées près des moutons auraient pu aller piquer d'autres espèces de ruminants. Compte tenu de la proximité du piège avec les moutons et l'éloignement relatif d'autres espèces, cette option est si peu probable qu'elle a été considérée comme négligeable. De plus, aucune femelle gravide n'a été capturée par cette méthode de capture. On a donc négligé la part de femelles piégées qui ne seraient pas en quête d'un repas.

Le maximum a été plus difficile à fixer. Mullens et Gerry (1998) ont évalué qu'un facteur correcteur de 7,2 permettait d'estimer l'intensité du contact entre des veaux et *C. sonorensis* à partir du résultat d'un piège à CO₂. Afin de garder ce même ordre de grandeur tout en intégrant l'ensemble des possibilités pour δ , le maximum a été fixé à 10.

Le nombre de piqûres reçues en moyenne par jour et par mouton au cours d'un mois a donc été estimé par :

$$(1) \text{ « } ma \text{ » } \text{moyen}_{\text{mois}} = (M_{\text{moyen}_{\text{mois}}} * \delta) / \text{nombre de moutons présents}$$

Et le nombre maximal de piqûres reçues par jour et par mouton au cours d'un mois par :

$$(2) \text{ « } ma \text{ » } \text{maximal}_{\text{mois}} = (M_{\text{maximal}_{\text{mois}}} * \delta) / \text{nombre de moutons présents}$$

¹⁹ Cette loi de distribution assigne une probabilité d'occurrence égale pour toutes les valeurs comprises entre un minimum et un maximum. Elle est utilisée lorsque peu ou pas de données existent.

²⁰ La loi de Pert est une loi de distribution de type triangulaire basée sur une loi de distribution Beta. Elle fait l'hypothèse que la moyenne est égale à (minimum + (4*valeur la plus probable) + maximum)/6. Elle est utilisée pour modéliser les opinions d'expert.

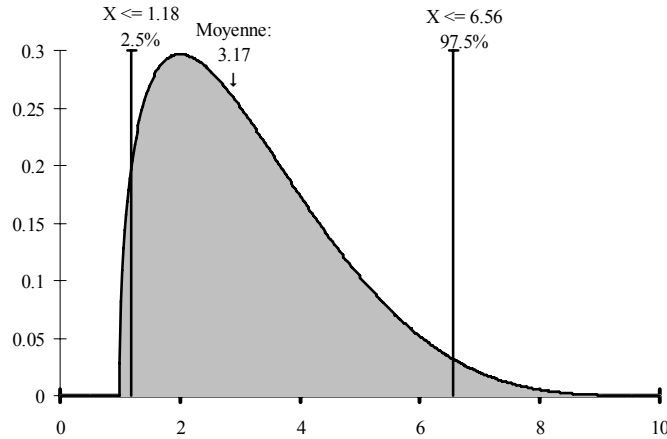


Figure 45 : Estimation de δ par une loi de Pert (1;2;10).

IV.2.2. La fréquence des repas, a

Les insectes hématophages ne se nourrissent pas tous les jours sur leurs hôtes et peuvent se gorger sur différentes espèces de mammifères (chevaux, bovins, caprins).

La fréquence de ces repas de sang est souvent estimée à partir de leur préférence trophique et de la durée entre les repas de sang.

IV.2.2.1. La préférence trophique, h

La préférence trophique, h , peut s'exprimer quantitativement par un pourcentage représentant la part de l'alimentation faite sur une espèce donnée. Si *C. imicola* est connu comme se nourrissant spécifiquement sur des mammifères, cette espèce garde un large éventail de possibilités. Parmi les espèces domestiques, la préférence de *C. imicola* serait la suivante : chevaux >>bovins>>ovins (Avis d'expert, Gert Venter, 07-2005). La distinction avec les caprins est rarement faite. De taille relativement proche, on peut à défaut supposer que cette préférence est équivalente.

Si cette classification qualitative est largement admise, on ne dispose pas de données quantitatives. L'étude sur le terrain de cette préférence est en effet très difficile du fait de la petitesse de ces insectes et de la difficulté à capturer des femelles gorgées en grand nombre.

Pour que la préférence trophique intervienne, il faut que *C. imicola* ait le choix entre plusieurs espèces hôtes, c'est-à-dire que plusieurs espèces soient présentes dans son aire de dispersion active. Partant de ce constat, on a défini différentes estimations pour h en fonction de l'aire de dispersion active de *C. imicola*.

* Hypothèse 1 : l'aire de dispersion active de *C. imicola* est inférieure à 1 km.

Sous cette hypothèse, la seule espèce présente dans un rayon de 1 km autour des élevages ovins de la zone d'étude est le mouton. Moyennant une marge d'erreur de 10%, h a été défini comme suit

$$(3) \quad h = \text{RiskPert}(0.9 ; 1 ; 1)$$

* Hypothèse 2 : l'aire de dispersion active de *C. imicola* est supérieure à 1 km.

Sous cette hypothèse, au niveau de la zone d'étude, des chevaux et des moutons sont présents dans le rayon d'action supposé de *C. imicola* (annexe H). Pour définir une loi de Pert représentant h , nous avons fixé un minimum, la valeur la plus vraisemblable et un maximum pour h .

On a considéré que h était au minimum de 10%.

En considérant que *C. imicola* n'a pas de préférence entre les chevaux et les moutons, le maximum serait de 50%. Cependant, on ne peut pas négliger que, parmi les « M » femelles potentiellement infectées lors d'un premier repas de sang pris sur des moutons (pas de bovins ou caprins dans la zone), une partie ne restera pas liée à l'élevage (disponibilité en hôtes, proximité des lieux de ponte). Une marge d'erreur de 20% a ainsi été retenue. Le maximum a donc été fixé à 70%. Se fiant aux experts qui affirment une préférence trophique de *C. imicola* pour les chevaux, nous avons choisi une loi de type triangulaire centrée sur 40% plutôt qu'une loi uniforme. La valeur centrale, 40%, a alors servi de valeur la plus probable. De plus, afin de limiter l'effet des extrêmes sur le résultat final (Vose *et al.*, 2002), on a retenu une loi de Pert plutôt qu'une loi triangulaire simple.

$$(4) \quad h \rightarrow \text{Pert} (0.1; 0.4; 0.7)$$

En divisant la préférence trophique par la fréquence des repas de sang, on obtient une estimation du taux journalier de piqûres des *C. imicola*.

IV.2.2.2. La durée du cycle gonotrophique, μ

Le cycle gonotrophique (ou trophogonique), noté μ , est la succession des phénomènes physiologiques qui se produisent chez l'insecte hématophage entre deux repas de sang successifs. On distingue trois phases :

- (1) la recherche de l'hôte suivie du repas de sang de la femelle à jeun ;
- (2) la digestion du sang qui se déroule en même temps que la maturation ovarienne ;
- (3) la recherche du lieu de ponte par la femelle gravide et la ponte.

Lorsque les gîtes de ponte et les hôtes sont proches, les temps de recherche inclus dans ce cycle peuvent être considérés comme négligeables par rapport au temps nécessaire pour la maturation des œufs. On peut alors estimer la durée du cycle gonotrophique par la durée de l'oogénèse. Le temps de maturation des œufs dépend essentiellement de la température. A de fortes températures, la durée de l'oogénèse diminue d'où une augmentation de la fréquence des repas de sang (Mullens *et al.*, 2004).

Mullens and Holbrook (1991) ont étudié la durée de l'oogénèse en fonction de la température pour *C. sonorensis*. Entre 13°C et 34°C, ils ont trouvé la relation suivante :

$$(5) \quad OD_1 = -1.98 + 0.07217 * T + \frac{2516.65}{T^2} \quad (\text{Mullens \& Holbrook, 1991})$$

revue ensuite comme :

$$(6) \quad 1/OD_2 = 0.0071 \times T \times (T - 3.6966) \times (41.8699 - T)^{\frac{1}{2.7056}} \quad (\text{Mullens } et al., 2004)$$

Avec :

OD = *Ovarian development* ou durée du développement ovarien

T = Température

A partir de la formule (6), on obtient, en fonction de la température, les durées moyennes suivantes pour l'oviposition :

T°C	Durée moyenne entre le repas sanguin et l'oviposition
[13-15]	10 - 14
[16-18]	7 - 9
[19-20]	5.5 - 6.5
[21-24]	4 - 5
[25-28]	3 - 4
[29-34]	2.6 - 3.1

Tableau XVIII : Estimation, en fonction de la température, de la durée moyenne entre un repas de sang et l'oviposition pour *C. sonorensis* (exprimée en jours).

Notons que cette relation a été établie en conditions de laboratoire. Différents lots de femelles ont été maintenues à une température constante donnée, leur développement ovarien étant évalué tous les jours jusqu'à l'oviposition.

On trouve également dans la littérature des estimations pour la durée moyenne entre deux repas de sang pour *C. imicola*.

Ainsi pour les mois les plus favorables, Braverman *et al.* (1985) évaluent que la fréquence des repas varie entre 3 à 5 jours. Ce résultat coïncide avec ceux obtenus pour *C. sonorensis* pour des températures entre 21°C et 28°C.

Lord *et al.* (1996) ont choisi d'estimer l'intervalle entre deux repas de sang par une loi triangulaire avec un minimum à 3, un mode à 5 et un maximum à 16. Ils se sont basés sur les publications de Braverman *et al.* (1985), Braverman and Linley (1988) et Mullens and Holbrook (1991). Ils ont ainsi admis une valeur moyenne pour toute la saison d'activité.

Or, il apparaît que la fréquence des repas augmente avec la température du fait de la diminution du temps nécessaire pour la maturation des œufs. C'est pourquoi nous avons préféré définir un ensemble de valeurs possibles pour μ en fonction de la température moyenne sur chaque mois. Nous avons, au préalable, vérifié si la température moyenne des deux quinzaines de chaque mois n'était pas trop différente de la moyenne du mois. Au final, pour chaque mois, nous avons fixé une valeur minimale, modale et maximale pour μ en se basant sur les données publiées pour *C. imicola* et *C. sonorensis* (Tableau XIX)

2005	$T^{\circ}C_{mini}$	$T^{\circ}C_{moy}$	$T^{\circ}C_{max}$	OD_2 (Mullens & Holbrook, 1991)	Littérature	Loi de distribution
Mai	11.4	18.0	24.8	7		=RiskUniform(7; 8)
1 ^{ère} moitié	11.1	17.2	23.9	8		
2 ^{ème} moitié	11.6	18.7	25.7	7		
Juin	15.7	22.3	31.1	5		=RiskPert(4; 5; 6)
1 ^{ère} moitié	13.7	20.2	26.4	6	3 à 5 jours	
2 ^{ème} moitié	17.7	24.5	31.3	4		
Juillet	16.9	23.9	31.1	4		=RiskPert(3; 4; 4.5)
1 ^{ère} moitié	16.9	23.4	30.5	4	3 à 5 jours	
2 ^{ème} moitié	16.9	24.3	31.7	4		
Août	16.1	22.4	29.7	5		=RiskPert(3; 4; 5)
1 ^{ère} moitié	16.3	22.9	30.1	4	3 à 5 jours	
2 ^{ème} moitié	15.8	22	29.3	5		
Septembre	14.7	19.6	25.7	6		=RiskPert(5; 6; 7)
1 ^{ère} moitié	15.6	20.7	26.8	5		
2 ^{ème} moitié	13.8	18.4	24.5	7		
Octobre	11.0	15.5	21.2	9		=RiskPert(7;9;10)
1 ^{ère} moitié	10.3	15.3	21.6	10		
2 ^{ème} moitié	11.6	15.8	20.8	9		
Novembre	6.2	10.5	16.6			=RiskPert(10;12;14)
1 ^{ère} moitié	10	14.1	19.9	12		
2 ^{ème} moitié	2.4	6.9	13.3			

Tableau XIX : Loi de distribution estimant la durée entre 2 repas de sang, μ , en fonction de la température moyenne du mois.

OD2 : formule publiée par Mullens and Holbrook (1991)

La fréquence des repas de sang est ainsi supposée identique sur tous les sites de la zone d'étude. Elle varie en effet essentiellement en fonction de la température qui peut être considérée comme homogène dans la vallée de l'Argens. A cette échelle d'étude, ce paramètre n'est donc pas un paramètre permettant de discriminer le potentiel de transmission entre différents sites. Sa prise en compte reste cependant essentielle pour définir quelle est la période la plus à risque d'un site donné.

IV.2.3. Le taux de survie journalier, p

Le taux de survie journalier, p , et la durée de la période d'incubation extrinsèque, n , sont des paramètres pouvant modifier de manière significative la capacité vectorielle. En effet, p est élevé à la puissance n , paramètre variant de 7 à plus de 20 jours en fonction de la température, on s'attend à ce que une petite variation de p modifie de façon significative l'espérance de vie infectante de l'insecte.

A partir des données du suivi longitudinal mené à Roquebrune sur Argens, une estimation du taux de survie des *C. imicola* a été définie pour chaque mois (Cf. III.2.3).

IV.2.4. La période d'incubation extrinsèque du virus, n

Pour que le vecteur devienne infectant, il faut qu'il se gorge sur un animal virémique et que le virus se multiplie suffisamment pour pouvoir être retransmis via les glandes salivaires. Cette période durant laquelle le virus est multiplié et migre vers les glandes salivaires s'appelle la période d'incubation extrinsèque. Sa durée varie en fonction de la température extérieure.

En conditions de laboratoire, plusieurs estimations ont été publiées pour *C. sonorensis* et *C. imicola*. On constate que cette durée varie également avec le sérotype en cause. Une synthèse de ces résultats est fournie dans le Tableau XX.

Source	<i>C. imicola</i>								
Paweska (Paweska <i>et al.</i> , 2002)	4 j à 30°C, 6j à 25°C et 10 j à 23.5°C pour le BTV 1								
DuToit (Du Toit, 1944a)	10 jours – température et sérotype non précisés								
Nevill (pers. com.)	7 à 11 jours – température et sérotype non précisés								
	<i>C. sonorensis</i>								
	Température								
	18°C	20°C	21°C	22°C	23°C	25°C	28°C	30°C	
BTV11 (Mullens <i>et al.</i> , 1995)	18 j	16 j	15 j	14 j	13 j	11 j	8 j	6 j	
BTV11 (Mullens <i>et al.</i> , 2004)	24 j	17 j	15	13 j	12 j	9 j	7 j	6 j	
BTV10 (Wittmann <i>et al.</i> , 2002)	17 j	13 j	12 j	11 j	11 j	9 j	8 j	7 j	
BTV16 (Wittmann <i>et al.</i> , 2002)	16 j	12 j	10 j	9 j	8 j	7 j	6 j	5 j	

Tableau XX : Durée de l'incubation extrinsèque du virus estimée en jours en conditions de laboratoire pour *C. sonorensis* et *C. imicola*.

A partir de ces données, nous avons défini, pour chaque mois, une loi de distribution pour n en fonction de la température moyenne mensuelle (moyenne des températures journalières moyennes). Le mois d'octobre ayant une température moyenne mensuelle de 15,5°C, on ne dispose d'une estimation pour n à cette température qu'au travers de l'étude de Wittman *et al.* (2002). En effet, l'intervalle de validité des équations linéaires, représentant le lien entre n et la température, publiées par Mullens *et al.* (1995, 2004) est compris entre 18°C et 32°C. Au bout de 22 jours à 15°C, aucune répllication virale n'était encore détecté (Mullens *et al.*, 1995).

IV.2.5. La compétence vectorielle, V

La compétence vectorielle de *C. imicola* a été considérée comme homogène sur l'ensemble de la zone d'étude. A cette échelle d'étude, cette variable n'a ainsi pas été prise en compte pour le calcul de C . Cependant, du fait de son importance sur le potentiel de transmission du BTV, cette variable sera prise en compte dans la discussion des résultats.

IV.2.6. L'analyse de sensibilité

Une analyse de sensibilité a également été conduite pour tester l'importance relative des différentes variables sur le résultat final. L'objectif était d'apprécier la robustesse du modèle aux variations des paramètres d'entrée et d'expliquer l'origine de l'incertitude observée sur le résultat final. L'analyse a été réalisée seulement pour le mois de septembre.

Une première analyse visuelle a été conduite, avec @risk®, en représentant par un diagramme de Tornado (*Tornado chart*) les coefficients de corrélation non paramétriques (coefficient de Spearman) des différents *inputs* (variables d'entrée). Cette opération suppose deux hypothèses majeures : i) tous les paramètres des *inputs* testés ont soit une corrélation purement positive soit négative avec l'*output* ; ii) chaque variable incertaine est modélisée par une seule distribution de @risk®. Une analyse de régression linéaire *a posteriori* a été réalisée sous Intercooled Stata 8.0® et Excel 2003® pour les différents *inputs* à partir des valeurs utilisées par le logiciel pour estimer l'*output*.

Ensuite, une analyse plus fine a été réalisée sous @risk®, en spécifiant les probabilités cumulatives à tester pour les *inputs* identifiés de la première phase (1%, 5%, 25%, 50%, 75%, 95%, 99%). La moyenne de l'*output* a alors été calculée pour ces différentes valeurs. Le résultat est présenté par un diagramme en forme de toile d'araignée (*spider plot*).

IV.3. Résultats

Les résultats des 10 000 simulations réalisées pour chacun des sites et pour les différents mois étudiés sont présentés sous forme d'histogrammes²¹ de densité de probabilité²² (Figure 46). La surface d'un bâton d'histogramme représente ainsi la probabilité estimée que *c* soit compris dans l'intervalle délimité par le bâton. La somme des aires des différents bâtons composant l'histogramme est égale à 1.

IV.3.1. Évolution de *C* au cours du temps

La distribution des *outputs* obtenus à partir des 10 000 simulations a pu être rapprochée statistiquement, dans chacun des cas, à une loi log-normale (Figure 46Figure 47).

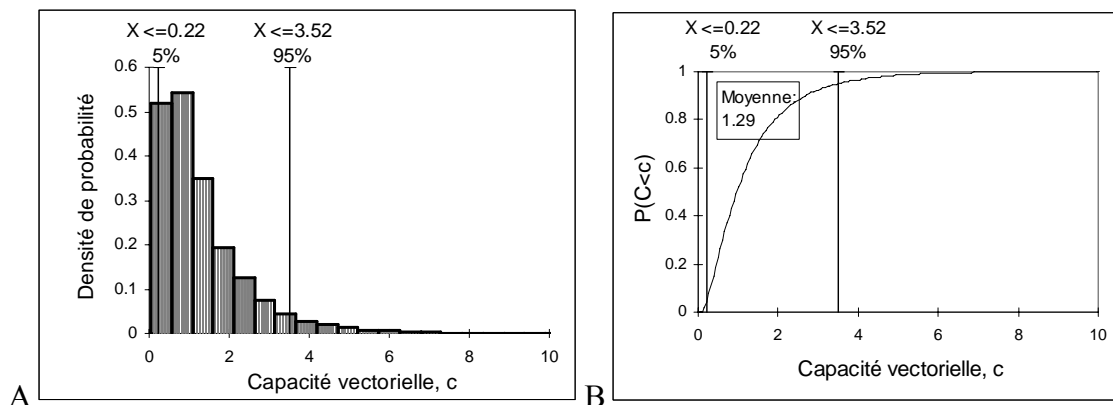


Figure 46 : Distribution A) de la densité de probabilité et, B) de la probabilité cumulée de la capacité vectorielle, *C*, de *C. imicola* pour la FCM, estimée par 10 000 simulations, dans l'élevage ovin de l'Orme au mois d'août 2005.

²¹ Un histogramme est une représentation graphique où l'on porte en abscisse la variable étudiée et en surface la probabilité associée.

²² La densité de probabilité renvoie la probabilité de se trouver dans un intervalle de valeurs divisé par la longueur de l'intervalle.

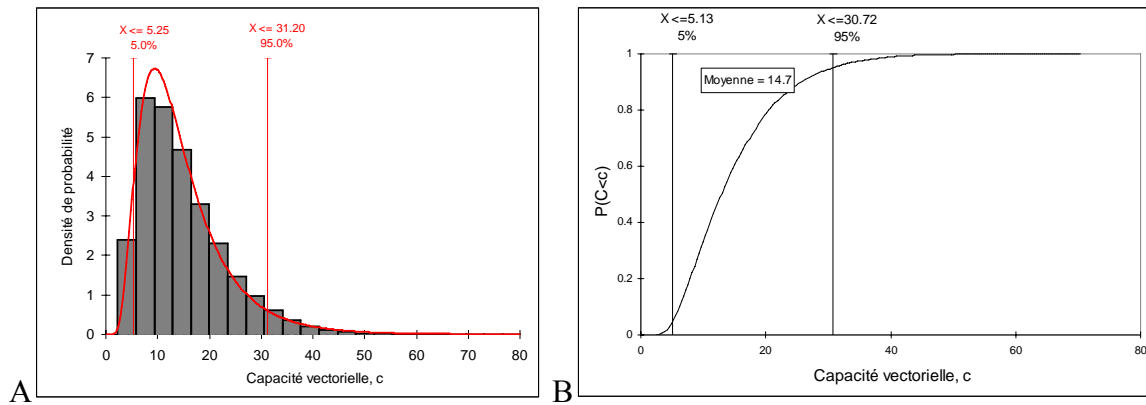


Figure 47 : Distribution A) de la densité de probabilité et, B) de probabilité cumulée de la capacité vectorielle, C , de *C. imicola* pour la FCM, estimée par 10 000 simulations, dans l'élevage ovin de l'Orme au mois de septembre 2005. Cette distribution est statistiquement proche d'une loi log-normale de moyenne géométrique 14,6 et de déviation standard géométrique de 8,7.

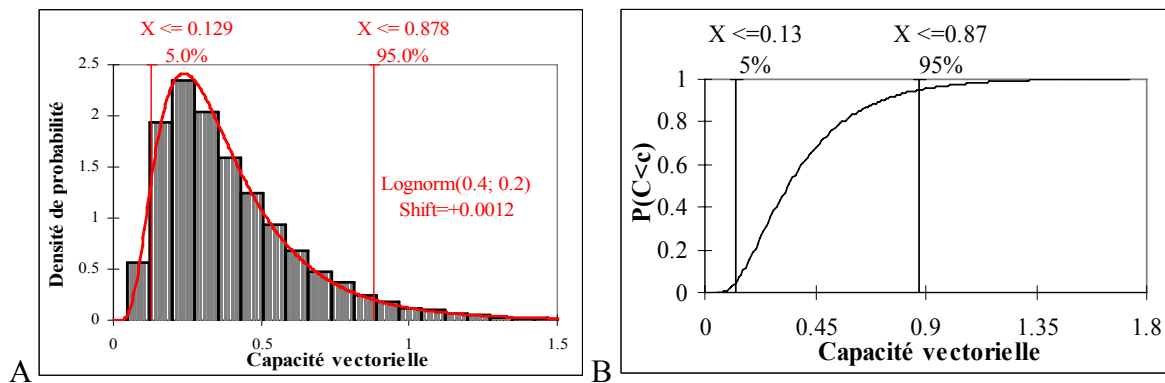


Figure 48 : Distribution A) de la densité de probabilité et, B) de probabilité cumulée de la capacité vectorielle, C , de *C. imicola* pour la FCM, estimée par 10 000 simulations, dans l'élevage ovin des Iscles au mois de septembre 2005. Cette distribution est statistiquement proche d'une loi log-normale de moyenne géométrique 0,4 et de déviation standard géométrique de 0,2.

En superposant les histogrammes de densités de probabilité estimée pour C aux mois de juin, juillet, août, septembre et octobre (Figure 49) et les distributions de probabilité cumulée correspondantes (Figure 50), on peut apprécier visuellement l'évolution du risque de transmission du BTV.

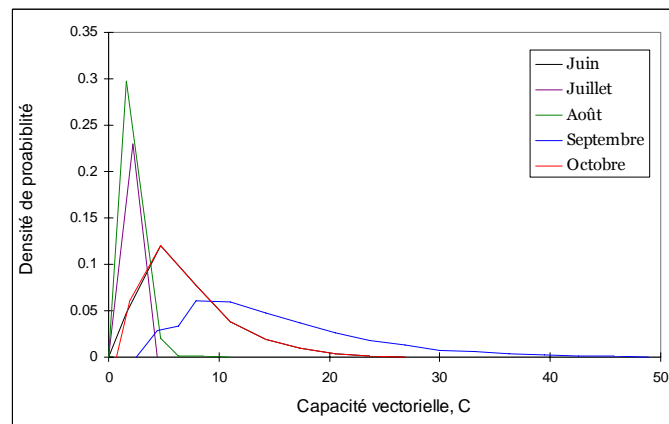


Figure 49 : Densité de probabilité estimée pour C en 2005, à partir de 10 000 simulations, en fonction du mois, dans l'élevage de l'Orme sur la base du nombre moyen de *C. imicola* capturé par mois.

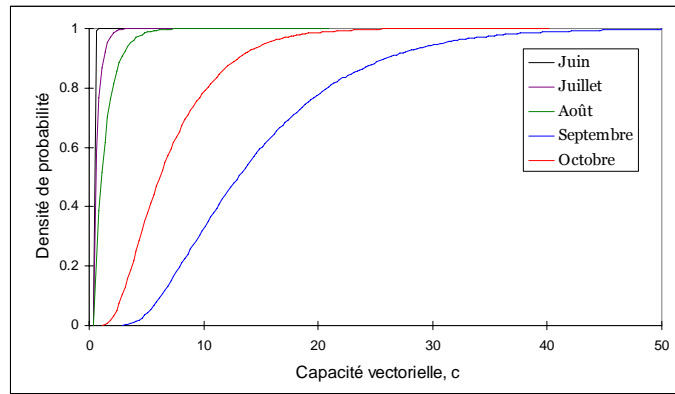


Figure 50 : Probabilité cumulée estimée pour C en 2005, à partir de 10 000 simulations, en fonction du mois, dans l'élevage de l'Orme sur la base du nombre moyen de $C. imicola$ capturé par mois.

Dans l'élevage ovin de l'Orme, en se basant sur le résultat de la moyenne des piégeages mensuels de $C. imicola$, la probabilité d'avoir une valeur de c supérieure à 10 est plus élevée au mois de septembre (Figure 47). Pour les mois de juin, juillet et août, la densité de probabilité observe un maximum pour c égale à respectivement 0,2, 0,32 et 0,77 (cf. annexe I) avec un écart-type de, respectivement, $9.6 \cdot 10^{-2}$, 0,45 et 1,08. La distribution des *outputs* du mois de septembre et octobre est d'allure plus étalée ce qui traduit une forte incertitude sur la valeur exacte de C . Cependant, on note que l'ensemble des valeurs prises par C est supérieur à 1 contrairement aux autres mois sur ce site.

Site	Nombre de $C. imicola$ capturé	Mois 2005				
		Juin 2005	Juillet 2005	Août 2005	Septembre 2005	Octobre 2005
élevage des Iscles	moyen	0.03	0.3	1.3	2	1
	maximal	0.1	0.62	4.5	7.5	2.1
élevage de l'Orme	moyen	1.5	4.5	11	50	35
	maximal	2	10	23	120	55

Tableau XXI : Valeurs minimales de c telle que la probabilité $P(C < c)$ soit égale à 1 en fonction du mois et du site d'étude.

Le Tableau XXI permet de visualiser et de comparer, pour chaque mois, à partir de quelle valeur de c la probabilité cumulée est égale à 1. Dans le système vectoriel décrit, la transmission du BTV est possible seulement si C est supérieur à 1. Ainsi, si $P(C < c) = 1$ pour une valeur minimale de c inférieure ou égale à 1, alors l'ensemble des *outputs* obtenus est inférieur ou égal à 1.

Les rapports complets de l'ensemble des simulations de C sont donnés dans l'annexe I.

IV.3.2. Évolution de C d'une zone à une autre

La comparaison des résultats de C peut également se faire entre sites. Dans notre cas, les deux élevages ovins suivis étaient proches, certains paramètres (n , h et μ) ont été considérés comme communs pour les deux sites.

Pour le mois de septembre, mois pour lequel la valeur la plus probable de la distribution de probabilités de C était la plus élevée dans les deux élevages, on note que la valeur minimale de c pour laquelle $P(C < c) = 1$ est de 2 dans l'élevage des Iscles et 62 dans l'élevage de l'Orme, soit un facteur multiplicateur de 31 entre les deux sites. La moyenne de la distribution de densité de probabilités de C est de 14,7 dans l'élevage de l'Orme et de 0,4 dans l'élevage de l'Orme. Cet écart entre les deux sites se retrouve pour les autres mois de l'étude.

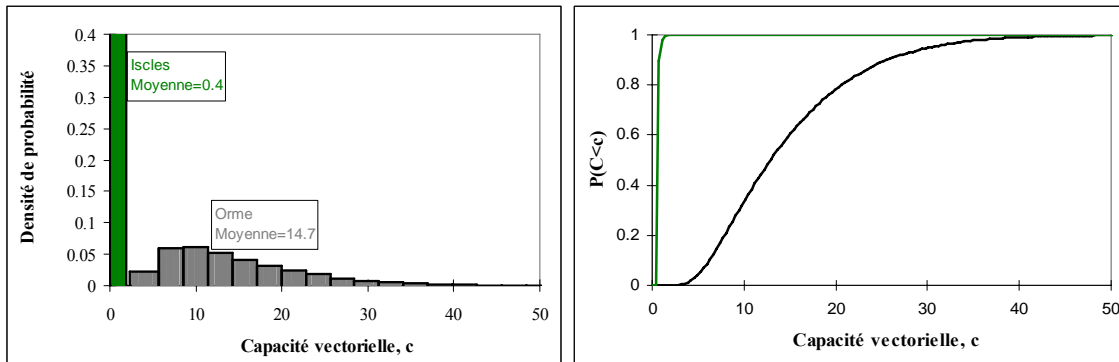


Figure 51 : A) Densité de probabilité et B) Probabilité cumulée estimées pour C en 2005, à partir de 10 000 simulations, dans les élevages de l'Orme et des Iscles sur la base du nombre moyen de $C. imicola$ capturé pendant le mois de Septembre.

IV.3.3. Analyse de sensibilité

Le diagramme de Tornado permet de visualiser quelles distributions d'inputs a le plus d'influence sur le résultat final (output). Il permet également de vérifier si le modèle a le comportement attendu. Cette première étape identifie les inputs les plus importants. A partir de ce premier résultat, une analyse plus fine a été conduite.

Quelque soit le mois considéré, le taux de survie journalier (p) et le nombre de piqûres journalier (ma) sont les deux variables ayant le lien le plus fort avec le résultat final (Figure 52). La durée d'incubation extrinsèque du virus (n), pour certains mois, joue également un rôle important.

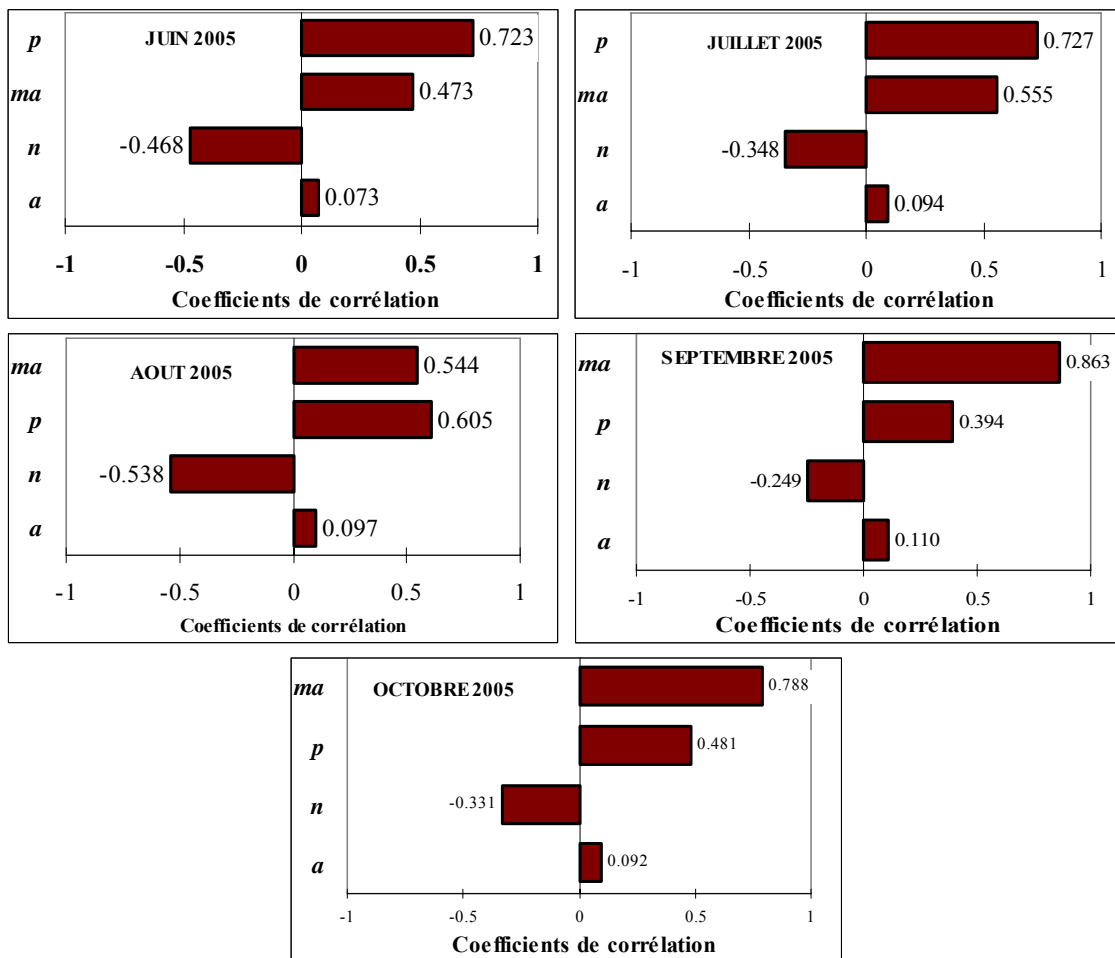


Figure 52 : Diagrammes de Tornado présentant les résultats de l'analyse de sensibilité des inputs pour les mois de juin à octobre 2005 dans l'élevage de l'Orme.

En analysant plus finement ces deux variables, on observe que l'incertitude sur la valeur de ma influe largement le résultat final. L' $output$ varie ainsi de 5 à 28.3 entre le 5^{ème} et le 95^{ème} percentile. La valeur de p est également à l'origine d'une forte variation de l' $output$ qui passe de 8.8 au 5^{ème} percentile de la distribution à 13.7 pour le 95^{ème} percentile de la distribution (Figure 53).

La Figure 54A permet d'observer la forte sensibilité de p pour lequel une variation de quelques pourcents par rapport à une valeur de référence entraîne une variation très importante du résultat du modèle. Pour observer la même variation de l' $output$ avec la variable ma , il faut faire varier ce paramètre de +/- 50%. Cependant, compte tenu de la plus grande amplitude de valeur de ma , on note, qu'au final, cette variable induit potentiellement une plus forte variation sur le résultat final (Figure 54B).

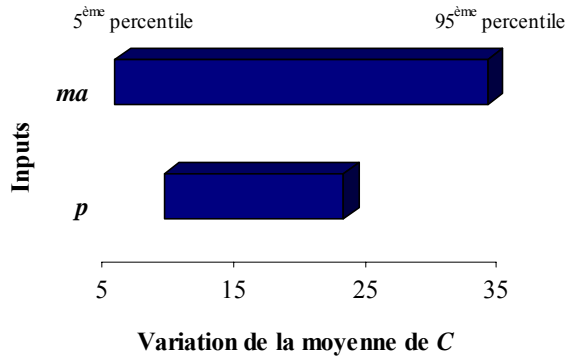


Figure 53 : Variation observée sur le résultat final déterminée par le 5^{ème} et 95^{ème} percentile des variables p et ma . Exemple pour l'élevage de l'orme en septembre 2005.

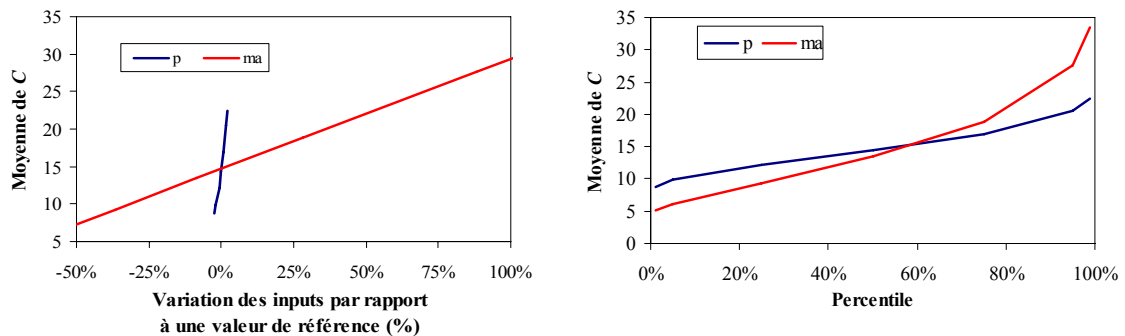


Figure 54 : Valeur moyenne simulée de la capacité vectorielle C en fonction de la variation, A) en pourcentages, et B) en percentiles, des inputs p et ma . Exemple pour l'élevage de l'orme en septembre 2005.

IV.4. Discussion

Les modèles mathématiques sont depuis longtemps un moyen d'appréhender les caractéristiques épidémiologiques de certaines maladies comme le paludisme grâce à des représentations simples des mécanismes biologiques sous-jacents (McKenzie, 2000).

Les outils de simulation par ordinateur disponibles *via* des logiciels comme @Risk (PALISADE®) ont élargi le champ des possibilités offertes par la modélisation. Il est désormais possible de recourir à des distributions de probabilité pour estimer les valeurs prises par les différentes variables du modèle. On peut ainsi envisager d'étudier les paramètres d'influence d'un système bien que tous les paramètres de ce système ne soient pas connus avec précision. Dans le cas du système de transmission du BTV par *C. imicola*, les nombreuses inconnues existantes sur la biologie et la dynamique du vecteur induisent une grande incertitude sur les valeurs des paramètres du modèle de transmission.

Le recours à des lois de distribution de probabilités particulières a permis de simuler le potentiel de transmission du BTV dans une zone où *C. imicola* est installée tout en intégrant les incertitudes existantes sur chacun des paramètres composant le modèle. Cette approche rend possible la définition des éléments les plus déterminants du système. Elle constitue une première étape intéressante pour orienter les recherches sur les points critiques de ce cycle de transmission.

La construction de ce modèle quantitatif permet également d'analyser de manière comparative différentes situations locales. Si la tentation devant de tels résultats numériques est de conclure au nombre potentiel de nouvelles infections produites à partir d'un cas infecté introduit dans une population ovine naïve²³, il faut garder à l'esprit que l'interprétation des résultats doit se faire de manière relative. Cette précaution est d'autant plus importante que, à ce stade, le modèle présenté n'a pas été confronté à des zones avec des antécédents de circulation virale. Cette étape est indispensable pour ajuster les paramètres du modèle à la réalité. L'intégration de la compétence aura alors toute sa justification puisqu'elle module significativement la capacité vectorielle réelle d'une population.

Avant que cette étape de validation ne soit possible, il reste intéressant d'observer le comportement du modèle face à différentes variations sur les paramètres d'entrée. La comparaison des résultats obtenus dans les deux élevages ovins est également instructive. On constate en effet que la force de transmission attendue sur chacun des sites est très différente. $P(C < 1)$ est très élevé dans l'élevage des Iscles alors qu'il est très faible dans celui de l'Orme pour le mois de septembre, mois qui est ressorti comme le plus favorable pour une transmission du BTV. En cas d'introduction du virus dans la vallée de l'Argens, l'occurrence de la transmission du virus est, en relatif, plus probable dans l'élevage de l'Orme. Cependant, sur la base de ces seuls éléments, il est difficile de conclure que la surveillance sérologique en place dans le Var doit uniquement se poursuivre dans l'élevage de l'Orme. En effet, il faut également prendre en compte la source virale. Le système de surveillance basé sur le suivi sérologique mensuel de 5 élevages du Var reste plus sensible si on maintient la surveillance en différents points. Mais il est clair que si, pour des raisons diverses (coût financier, lassitude des éleveurs, etc.), le nombre d'élevages suivis devait être adapté, l'élevage de l'Orme serait celui à suivre en priorité.

L'analyse de sensibilité a montré que le nombre de piqûres journalières, ma , et le taux de survie journalier, p , influaient significativement le résultat final. Or, ce sont deux variables intimement liées à la dynamique de *C. imicola* et spécifiques du site, puisqu'elles dépendent de facteurs locaux (Murray, 1991; Baylis *et al.*, 1998). L'hétérogénéité de l'abondance observée de *C. imicola* dans la vallée de l'Argens est là pour l'attester. Afin de suivre l'évolution spatio-temporelle du risque, le suivi régulier de ces variables apparaît ainsi essentiel.

La variable ma est similaire au EIR²⁴ utilisé pour estimer le risque de transmission d'infections véhiculées par les moustiques comme le paludisme. Or, d'après Smith *et al.* (1999), de manière générale, la moyenne des EIR calculés localement dans un environnement hétérogène ne permet pas d'avoir une estimation juste du risque moyen d'une zone, même si les EIR estimés localement procurent une bonne estimation du risque local (Smith *et al.*, 2004). Ainsi, l'estimation du ma à partir de paramètres mesurés localement apparaît incontournable quelle soit l'échelle d'étude du risque.

²³ Définition de la capacité vectorielle

²⁴ Entomological Infection Rate, qui représente le nombre de piqûres par des moustiques infectants, par homme et par jour.

La complexité des facteurs environnementaux locaux qui déterminent le taux de piqûres journaliers et l'absence de relations linéaires entre la dynamique des vecteurs et de leurs hôtes (inégalité de Jensen (Ruel & Ayres, 1999)) limite en effet l'extrapolation des résultats obtenus sur plusieurs sites à une zone entière.

Le taux de survie journalier est souvent cité comme un point sensible d'un système de transmission vectoriel modélisé par la capacité vectorielle ou le R_0 du fait de son élévation à la puissance n . Nos résultats confirment ce constat. Cependant, la gamme mensuelle des valeurs possibles pour p reste limitée, notamment pour les mois durant lesquels les vecteurs sont abondants. Par exemple, en septembre 2005, dans l'élevage de l'Orme, p estimé était compris entre 0.85 et 0.90 avec une moyenne à 0.88. De ce fait, si le résultat final est sensible aux incertitudes et variations de p , ce paramètre restant compris dans une gamme de valeurs restreinte, l'amplitude de variations de l'*output*, sous l'effet de ce seul paramètre, reste limitée. Elle est plus importante avec le paramètre *ma* dont les valeurs possibles ont été déterminées entre 17 et 162 pour le mois de septembre 2000 dans l'élevage de l'Orme. Cependant, on note que les estimations faites pour p sont significativement différentes entre certains mois et d'un site à un autre. Baylis *et al* (1998) observe une bonne corrélation entre le taux de mortalité journalier combiné à la taille relative des populations de *C. imicola* et l'épizootie d'AHS de 1988-89. Un taux de mortalité faible et une taille de population de *C. imicola* élevé ont ainsi été constatés sur des sites ayant déclaré un grand nombre de cas lors de l'épizootie d'AHS de 1988-89. Cette variable, combinée à l'abondance du vecteur, apparaît ainsi importante à considérer pour évaluer le risque de transmission d'une zone. Cependant, à ce stade, il apparaît indispensable d'aller plus loin dans l'estimation de ce paramètre, en recourant, par exemple, à d'autres méthodes d'estimation beaucoup plus lourdes à mettre en œuvre (Birley & Boorman, 1982; Lord & Baylis, 1999).

Les différences observées entre l'élevage de l'Orme et l'élevage des Iscles montrent la nécessité de développer les connaissances à une échelle locale. Il convient en effet de déterminer les facteurs expliquant ces différences qui reposent essentiellement sur des différences d'abondance entre les deux sites. Cependant, en basant notre calcul sur la seule nuit du pic d'abondance pour laquelle l'abondance est du même ordre de grandeur, le risque de transmission estimé sur les deux sites reste très significativement différent. Les éléments pouvant expliquer ce constat sont la taille du troupeau de l'élevage des Iscles qui est plus important (280 ovins contre 27 dans l'élevage de l'Orme) et la parité (estimation indirecte du taux de survie journalier de l'insecte). Il est en effet de 34.8% dans l'élevage des Iscles contre 50.7% dans l'élevage de l'Orme ($p < 0.001$). D'où un taux de survie journalier plus faible dans l'élevage des Iscles. On peut alors légitimement se poser la question de l'existence, dans une zone donnée, d'une valeur seuil d'abondance relative au-delà de laquelle la transmission du virus est possible.

Une étude plus approfondie des facteurs expliquant la répartition et la dynamique des populations de *C. imicola* dans la vallée de l'Argens permettrait de mieux anticiper les sites à risque de transmission. Une meilleure connaissance de ces facteurs est, de plus, nécessaire pour passer à une échelle d'analyses plus grande.

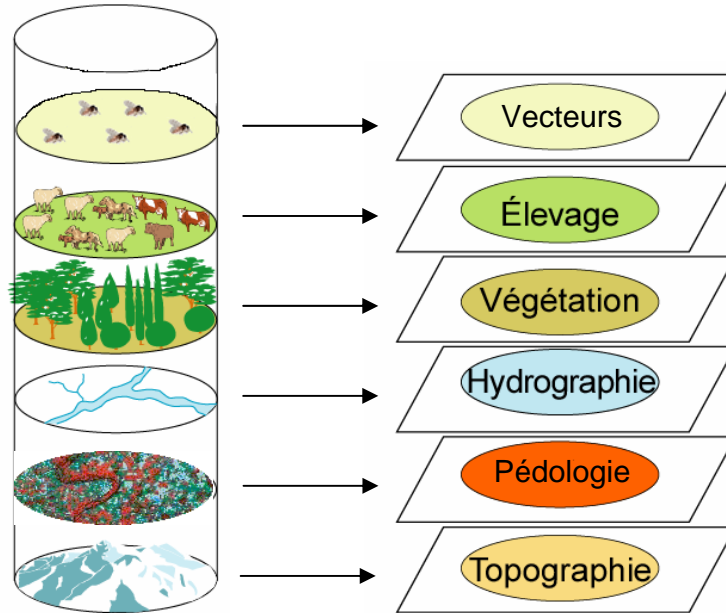
Le calcul de C au sein des centres équestres suivis n'a pas de sens compte tenu du fait que les chevaux ne sont pas sensibles au BTM. L'évaluation de la capacité vectorielle de *C. imicola* pour un virus AHS est cependant envisageable. Seul le paramètre concernant la durée d'incubation extrinsèque du virus est propre au couple vecteur/virus. Les autres paramètres dépendant du comportement alimentaire de l'insecte et de sa dynamique saisonnière.

A ce jour, aucune circulation de BTV n'a pu être mise en évidence dans la vallée de l'Argens par le suivi sérologique mensuel. Ce modèle est donc encore à un stade théorique et nécessite d'être confronté à des données de prévalence de fièvre catarrhale du mouton pour validation. Ce travail n'a pas pu être effectué avec les données issues des épizooties corses du fait de l'absence des données entomologiques requises. Les 12 sites sentinelles ne fournissent que l'information sur le nombre de spécimens capturés une nuit par mois. La parité n'est pas non plus disponible. Cette confrontation permettra d'une part de vérifier la pertinence du modèle et des estimateurs utilisés et de le paramétrer pour que le résultat numérique final donne une information plus quantitative du risque de transmission.

L'étude de *C. imicola* dans une zone d'installation récente ouvre vers un champ de recherche très vaste que ce soit au niveau de la bioécologie de ce moucheron ou au niveau de l'épidémiologie des maladies dont il est le vecteur. Plusieurs angles d'approches ont été abordés au travers de cette thèse avec pour objectif commun de disposer des outils pour mieux appréhender le potentiel de transmission des populations de *C. imicola* et mieux surveiller la fièvre catarrhale du mouton. L'approche intégrative ouverte par le modèle « capacité vectorielle » n'est pas spécifique à cette maladie mais est utilisable plus largement pour toutes les maladies transmises par des insectes.

La dernière partie de cette thèse vise à faire la synthèse des différents éléments étudiés depuis le début de ce travail de recherche. Sur la base des enseignements obtenus de l'étude de *C. imicola* en France, elle dessine les points qui nous semblent importants à prendre en considération pour la surveillance de maladies animales vectorielles.

Discussion générale



La surveillance des maladies animales et la recherche en épidémiologie sont deux domaines complémentaires qui avancent en parallèle et se nourrissent l'une de l'autre. Afin de concevoir un réseau de surveillance efficace qui réponde aux besoins de plus en plus marqués d'anticiper un problème sanitaire, il est nécessaire de s'appuyer sur des réalités scientifiquement éprouvées. L'expérience acquise par la gestion et/ou l'éradication en Europe d'un certain nombre de maladies infectieuses importantes montre l'efficacité des méthodes et outils disponibles pour faire face à une crise sanitaire. Cependant, à l'heure actuelle, il ne suffit plus seulement de gérer mais également de prévenir et de prédire.

Les maladies vectorielles, peu présentes ou peu considérées (exceptées les maladies à tiques) en Europe, sont devenues une préoccupation majeure de ce début du XXI^{ème} siècle pour les pays de l'Union Européenne. En effet, l'apparition de la fièvre de West Nile en 2000 en Camargue et le processus de réchauffement climatique dans lequel nous nous trouvons aujourd'hui ont amené inévitablement les pays membres à reconsidérer le risque d'émergence et de pérennisation des maladies vectorielles en Europe. Le « projet intégré » de la commission européenne, intitulé Eden, Emerging Diseases in a changing European Environment, et accepté en 2004, matérialise bien cette préoccupation grandissante puisque 5 des 6 groupes de maladies étudiés sont des maladies vectorielles (maladies à tiques, leishmanioses, West Nile, paludisme, fièvre de la vallée du Rift). Il a pour objectif de comprendre et de quantifier l'impact des changements environnementaux sur le risque d'introduction, de diffusion et d'implantation de maladies humaines et zoonotiques sur le territoire européen. Ce projet regroupe des chercheurs de 47 institutions, réparties dans 24 pays.

La FCM est une arbovirose que l'on peut qualifier d'arbovirose-modèle pour étudier, en Europe, les facteurs d'émergence et d'endémisation de maladies vectorielles dans un contexte de changement climatique. Bien que la FCM, initialement intégrée dans le projet Eden, n'ait pas été retenue dans ce projet du fait de l'absence d'implications en santé humaine, elle répond aux mêmes problématiques que les différentes maladies abordées dans le projet paneuropéen.

A une échelle plus modeste, cette thèse a été l'occasion d'initier des recherches sur cette maladie émergente en Europe, et notamment sur l'écologie et la dynamique des vecteurs. Les résultats de ces recherches ont ensuite été intégrés dans un modèle stochastique unique estimant le potentiel de transmission de la population de vecteurs suivie. La comparaison des indices de risque de transmission ainsi estimés dans des différentes zones à une période donnée permettra d'identifier les zones les plus à risque vis-à-vis du virus étudié. Or, l'identification des zones à risque est essentielle pour renforcer efficacement la surveillance d'une maladie.

Cette discussion générale est l'occasion de faire le point sur les différents outils méthodologiques et diagnostiques disponibles pour surveiller les maladies émergentes et notamment les maladies vectorielles émergentes. En se concentrant plus particulièrement sur l'étude entomologique réalisée à une échelle locale, on s'est interrogé sur l'importance que pouvait avoir le compartiment « vecteur » pour la surveillance et l'évaluation des risques liées aux arboviroses animales. La question du passage à une échelle plus large s'est rapidement posée et a ouvert des perspectives intéressantes pour la définition de zones à haut risque de transmission virale. D'autres perspectives de développement du modèle sont également proposées.

Rattrapé par l'actualité durant la fin de cette thèse, une réflexion sur l'épizootie apparue aux Pays-Bas en août 2006 est également proposée.

V.1. La surveillance des maladies émergentes vectorielles

La surveillance des maladies émergentes est devenue un enjeu majeur de ce XXI^{ème} siècle marqué par des changements environnementaux majeurs. Surveiller une maladie qualifiée d'émergente suppose d'abord de l'avoir identifiée comme maladie risquant d'émerger, grâce, par exemple à une analyse de risque adaptée. Les maladies nouvelles sont à considérer séparément.

Parmi ces maladies émergentes en Europe, on trouve notamment les maladies vectorielles. Nous allons voir que, si l'on dispose, pour les surveiller, d'un certain nombre d'outils et méthodes communs avec les maladies à transmission directe, il existe également un formidable potentiel de nouveaux outils pouvant être développés en s'intéressant plus particulièrement aux vecteurs.

V.1.1. Évaluation du risque d'émergence de certaines maladies

La détection des maladies dites émergentes est, par définition, difficile puisque, étant absentes, elles ne sont pas recherchées par les réseaux de surveillance. Pour les trouver, il faut d'abord qu'une maladie potentiellement émergente ait été identifiée comme telle. La réalisation d'une analyse des maladies risquant d'émerger est donc un point de départ incontournable pour les cibler et mettre en place un système de surveillance adapté.

Le DEFRA²⁵, Department for Environment, Food and Rural Affairs, au Royaume-Uni a lancé en 2003 un plan stratégique de surveillance vétérinaire sur 10 ans. Ce programme décrit comment le DEFRA envisage de travailler en partenariat pour disposer d'un système de détection plus rapide des maladies constituant une menace ainsi que d'un système d'alerte précoce (DEFRA, 2004). L'approche se focalise notamment sur 5 objectifs majeurs : 1) le renforcement des collaborations entre les décideurs, 2) le développement d'un procédé pour classer, par ordre de priorité, les menaces, 3) l'optimisation des analyses issues des données de la surveillance et des différentes activités, 4) le partage de l'information plus largement et 5) l'amélioration de l'assurance qualité des résultats de la surveillance. Le DEFRA fait notamment appel à un groupe d'experts indépendant pour analyser différentes situations. La FCM étant considérée comme une maladie prioritaire, la division de la santé animale internationale (International Animal Health Division) édite régulièrement des rapports résumant les derniers développements de cette maladie dans le Nord de l'Europe (DEFRA, 2006a; DEFRA, 2006b). Une mise à jour régulière des risques encourus par le Royaume-Uni est, de plus, réalisée.

Les Pays-Bas ont également conduit une étude en 2003 visant à évaluer le risque lié à la FCM (Elbers *et al.*, 2003). Ils ont estimé que le risque d'introduction était faible mais qu'il était nécessaire de travailler sur la compétence des vecteurs autochtones potentiels. Ils ont suggéré le besoin de mettre en place des plans de surveillance et d'urgence pour cette maladie.

La mise en place d'une telle capacité d'anticipation des risques est primordiale pour améliorer la surveillance des maladies émergentes. L'analyse des risques est valable seulement pour les maladies dont le qualificatif d'émergence est lié à l'apparition dans un nouvel écosystème ou dans une nouvelle zone. On n'inclut pas les émergences au sens strict du terme, c'est-à-dire les maladies nouvelles (ex : SRAS) qui n'existent pas encore et pour lesquelles il est donc difficile d'associer un risque. Dans ce cas, d'autres axes de recherche sont nécessaires en développant par exemple des indicateurs non spécifiques (seuils de morbidité/mortalité ; syndromes particuliers etc.).

²⁵ Structure gouvernementale équivalente à la DGAI en France.

L'analyse des risques liés à des maladies « exotiques » pour la France n'est pas encore bien intégrée dans le schéma général de la surveillance vétérinaire française et doit se développer pour répondre aux nouveaux enjeux sanitaires. Une collaboration étroite (Weinberg, 2005) entre les décideurs et les organismes d'expertise et de recherche (DGAL, AFSSA, INRA, CIRAD, etc.) est, pour cela, nécessaire. Au niveau européen, l'EFSA (European Food Safety Authority) symbolise ce besoin de concertation entre les différents organismes concernés par les risques émergents. Cette agence de l'Union Européenne a pour objectif d'évaluer les risques relatifs à la sécurité des aliments destinés à l'alimentation humaine et animale en étroite collaboration avec les autorités nationales et en consultation ouverte avec les parties prenantes. Elle fournit des avis scientifiques indépendants ainsi qu'une communication claire sur les risques existants et émergents. Bien que la FCM ne constitue pas un risque alimentaire, un groupe d'experts sur la FCM a été créé le 20 septembre 2006 pour travailler en étroite collaboration et partager les connaissances sur cette maladie à l'échelle européenne.

Une fois qu'un risque a été identifié et évalué comme devant fait l'objet d'une surveillance, différents aspects méthodologiques doivent être pris en compte pour la définition d'un système de surveillance.

V.1.2. Outils méthodologiques et diagnostiques au service de la surveillance

V.1.2.1. Les tests de diagnostic

Le recours à des tests de diagnostic et/ou de dépistage est une constante des plans de surveillance. C'est en effet grâce aux outils diagnostiques qu'il est possible de mesurer l'occurrence des maladies (Christensen, 2001), objectif principal de la surveillance. Les tests de diagnostic peuvent avoir des applications très variées dans de nombreux domaines vétérinaires comme la surveillance, le dépistage et le suivi de maladies, l'estimation de prévalence ou encore dans des études de facteurs de risque (Greiner & Gardner, 2000b).

Les tests sérologiques sont particulièrement adaptés à certaines situations car ils offrent, à moindre coût, une grande capacité de diagnostic. Ils sont particulièrement intéressants lorsque la présence d'un agent pathogène peut difficilement être détectée sur la base des seuls signes cliniques (porteurs sains, circulation à bas bruit avant une épizootie, faune sauvage, animaux importés etc.). Ils sont également incontournables dans les études visant à prouver la situation indemne d'une zone (OIE, 2004d).

Le virus de la FCM induit une réponse immunitaire détectable sérologiquement entre 2 à 4 semaines post – inoculation. De plus, une circulation virale à bas bruit avant la mise en évidence de cas cliniques est fortement pressentie (Gibbs & Greiner, 1994; Gerbier *et al.*, 2006a). La surveillance sérologique mise en place en France dans les élevages (bovins, ovins et/ou caprins) et à l'abattoir a ainsi toute sa pertinence. Les différents programmes de surveillance ne visent cependant pas tous le même objectif et ne suivent pas, par conséquent, le même protocole.

La connaissance de la sensibilité et de la spécificité des tests de diagnostic sur lesquels s'appuie la surveillance est une donnée importante (Greiner & Gardner, 2000a) à prendre en compte pour la définition du plan d'échantillonnage (Fuchs *et al.*, 2000). Ces études visant à évaluer spécifiquement ces paramètres en fonction du contexte épidémiologique dans lequel seront utilisés les tests commencent sensiblement à se développer (Orr *et al.*, 2003; Geurden *et al.*, 2004; Capelli *et al.*, 2006; Kostoulas *et al.*, 2006). Elles bénéficient notamment du développement d'outils statistiques permettant d'évaluer des tests en l'absence de gold standard (Berezowski *et al.*, 2004; Dendukuri *et al.*, 2004; Branscum *et al.*, 2005; Toft *et al.*, 2005; Gardner & Greiner, 2006).

La reconnaissance récente par l'OIE du besoin grandissant d'évaluer les performances d'un test (sensibilité, spécificité et valeurs prédictives) à l'échelle d'une population pour une utilisation particulière (Jacobson, 1998; OIE, 2003c) va se traduire, à terme, par l'instauration d'une sorte de label OIE, pour les tests de diagnostic, certifiant leur « aptitude à l'emploi prévu » (OIE, 2005b).

Pour améliorer un système de surveillance, on a besoin d'outils avec une sensibilité et une spécificité en adéquation avec les résultats désirés (Weinberg, 2005). Concernant la FCM, le même test de diagnostic a été utilisé indifféremment pour répondre à différents objectifs : i) diagnostic individuel des animaux présentant des signes cliniques ; ii) dépistage d'animaux sentinelles et iii) estimation de la prévalence dans la population ovine. L'évaluation du test initiée sur la base de données de l'épizootie de 2001 présente un certain nombre de limites (Biteau-Coroller *et al.*, 2006) qui restreint l'utilisation de ces résultats pour la surveillance. La mise en place d'une telle étude a cependant été riche d'enseignements. Elle a permis notamment d'identifier les problèmes auxquels on peut être confronté lors de la conduite de ce type d'étude dans un contexte d'émergence d'une maladie considérée comme « exotique ». La qualité des données fut le point le plus critique de cette évaluation.

Dans un contexte d'émergence, les tests de diagnostic n'ont, *a fortiori*, pas pu être évalués pour la population étudiée. Ils ont ainsi besoin de l'être dans un bref délai. Pour améliorer la qualité des données disponibles, il serait nécessaire que, soit des recommandations simples de collecte et de traitement de données soient intégrés dès l'élaboration de la conduite à tenir en cas de foyers, soit qu'une étude *ad hoc* soit mise en place rapidement. La deuxième proposition impliquerait de faire d'autres prélèvements, ce qui pourrait être vu comme redondant si d'autres ont déjà été réalisés par ailleurs. La première option devra considérer le besoin de pouvoir suivre l'ensemble des résultats d'un même animal même si plusieurs laboratoires sont impliqués. C'est le cas notamment quand un test sérologique et un test virologique sont exigés (numéro d'identification unique des prélèvements issus d'un même animal). Les échantillons devront également être traités en aveugle. Le recours à des méthodes sans gold standard impliquent, de plus, la réalisation d'au moins deux tests dans deux populations différentes.

L'évaluation du test cELISA utilisé pour la FCM a montré ces limites dans un contexte épizootique. Un délai correspondant au temps nécessaire pour la production d'anticorps spécifiques de l'agent pathogène est en effet nécessaire avant que le test n'ait atteint la sensibilité à laquelle on peut s'attendre. Utilisé pendant la phase clinique de la maladie, il faut considérer que ce test n'est pas au meilleur de ses performances en terme de sensibilité. Cette réflexion peut se généraliser à d'autres tests de diagnostic basés sur la détection d'anticorps spécifiques (Kaluzewski *et al.*, 1994). Le test virologique semble ainsi plus adapté pour limiter le nombre de faux négatifs.

La gestion des sérologies positives en zone indemne doit se faire en regard de la performance des tests. Des faux positifs sont en effet possibles comme cela a été le cas en 2003 par exemple dans deux élevages du Var. L'apparition de foyers de FCM dans le nord de l'Europe (Allemagne, Belgique, France, Pays-Bas) ainsi que la croissance et l'expansion de *C. imicola* dans le sud-est de la France créent un contexte particulier qui incite à privilégier un test de diagnostic très sensible afin de diminuer la proportion de faux négatifs tout en gardant les avantages d'un test de type ELISA. La sensibilité de ce test pourrait être améliorée en abaissant le seuil de positivité du test. On s'attend alors à avoir davantage de faux positifs. Or, cette situation ne peut être envisageable que si un plan de gestion des positifs visant à limiter au maximum l'impact des erreurs en excès sur l'économie des filières bovines, ovines et caprines est défini précisément.

Au vu de la réglementation française et en accord avec les recommandations de l'OIE, la FCM est une maladie à déclaration obligatoire sous sa forme clinique (Ministère de l'Agriculture et de la Pêche, 2001). Avec l'effervescence que suscite actuellement la FCM sur la scène européenne, toute suspicion déclarée, en zone indemne, pourrait inquiéter, même si elle se base seulement sur un résultat sérologique. Cette déclaration peut alors conduire certains pays à restreindre leurs échanges commerciaux. Une harmonisation, au niveau européen, est nécessaire et l'origine de la suspicion doit être clairement notifiée : suspicion sérologique ou suspicion clinique.

En France, le plan d'urgence contre la FCM (DGAI, 2005) prévoit une gestion particulière des cas positifs en zone indemne. Elle implique notamment une visite dans l'élevage pour vérifier la présence ou non de signes cliniques et d'analyser le résultat sérologique en vu du contexte épidémiologique et entomologique. Si les résultats sérologiques sont confirmés par le laboratoire national de référence français²⁶, une première série de prélèvements sanguins pour sérologie est réalisée sur l'ensemble des animaux sensibles au BTV. En cas de mise en évidence de séroconversions, l'infection est confirmée et l'élevage est mis sous Arrêté Préfectoral de Déclaration d'Infection (APDI). D'autres séries de prélèvements sont ensuite collectées tous les dix jours pour analyse tant que des séroconversions sont mises en évidence. Ce plan permet de gérer plus sereinement une suspicion sérologique, l'APDI n'intervenant qu'après une confirmation basée sur l'ensemble des animaux sensibles présents. Si la France a bien compris l'importance d'une investigation approfondie des sérologies positives avant de remettre en question le statut sanitaire d'un élevage, il reste nécessaire de définir combien de résultats positifs peuvent être assumés comme des faux positifs (Stark *et al.*, 2000).

Pour utiliser la surveillance sérologique en zone indemne comme outil de détection précoce, un préalable est donc de connaître la valeur prédictive positive du dispositif. A l'échelle d'un troupeau, il faut définir une valeur seuil (correspondant à un nombre de sérologies positives) au-delà de laquelle un élevage pourra être considéré comme infecté (Jordan & McEwen, 1998). La valeur seuil de « 1 » utilisée traditionnellement ne semble pas adaptée à la FCM. En effet, le test de diagnostic n'étant pas parfait, une seule sérologie positive doit être interprétée avec prudence, d'autant plus que la spécificité d'un test à l'échelle d'un troupeau diminue, avec la taille du troupeau (Stark *et al.*, 2000). Cette maladie ayant une forte morbidité dans une population indemne (Erasmus, 1990; Mellor & Wittmann, 2002; Lefèvre, 2003), il doit être envisager de définir un seuil plus élevé (Donald *et al.*, 1994; Audige *et al.*, 2001) en adéquation avec la prévalence intra-troupeau, les performances du test et la taille du troupeau. Avec l'épizootie qui sévit actuellement dans le Nord de l'Europe et l'implication présumée d'un autre vecteur réparti beaucoup plus largement que *C. imicola*, la surveillance sérologique va prendre de plus en plus d'importance en France continentale. C'est pourquoi l'approche proposée par Jordan *et al.* (1998), Christensen *et al.* (2001) ou Audige *et al.* (2001) est nécessaire à étudier (Jordan & McEwen, 1998; Christensen & Gardner, 2000; Audige *et al.*, 2001).

Si les performances du test de diagnostic et leur adaptation possible aux objectifs de surveillance sont primordiales à considérer, les méthodes de surveillance des maladies conditionnent également les capacités du plan de surveillance à répondre aux objectifs fixés.

²⁶ Le CIRAD est le laboratoire national de référence pour la FCM.

V.1.2.2. Les méthodes de surveillance

i Les troupeaux sentinelles

Le suivi d'animaux sentinelles en Corse se révèle une bonne approche pour répondre aux exigences communautaires et surveiller l'introduction possible de nouveaux sérotypes. Les États-Unis qui expérimentent la gestion de la FCM depuis longtemps ont d'ailleurs progressivement basculé vers cette méthode de surveillance (Dargatz *et al.*, 2004). En Corse, elle permettra d'apporter les preuves de l'absence de circulation virale, bien que la population ovine soit vaccinée tous les ans. Cependant, à ce jour, la circulation de sérotypes a toujours été mise en évidence.

En zone indemne, un suivi mensuel de troupeaux sentinelles a également été mis en place dans les départements considérés comme les plus à risque du fait de la présence du vecteur à proximité. Ce type de surveillance ciblé sur les zones à risque a montré de bons résultats en Corse en 2003 en détectant dès le mois de juillet des séroconversions, avant les premiers cas observés en 2004.

Cependant, le suivi d'animaux en élevage est difficile à maintenir sur le long terme. La question de la pérennité de ce système va se poser rapidement en Corse. Les 4 élevages caprins suivis depuis 2003 ont atteint, à présent, des taux de prévalence si élevés qu'ils ne sont plus aussi intéressants à suivre. Et, il devient de plus en plus difficile de trouver, sur l'île, des élevages avec des prévalences faibles ou modérées. Le recours aux veaux sentinelles apparaît ainsi comme un bon compromis pour suivre la circulation virale. La faiblesse du système reste la représentativité et la taille de l'échantillon qui ne sont pas bien maîtrisées. Il est difficile dans ces conditions de quantifier l'importance de la circulation virale quand des veaux sont contrôlés positifs. On peut cependant considérer que la valeur prédictive positive de ce système est bonne quand plusieurs veaux sont contrôlés positifs. À l'inverse, sa valeur prédictive négative est mal évaluée. Si aucun veau n'était contrôlé positif, on pourrait seulement évaluer *a posteriori* le niveau de détectabilité offert par ces veaux sentinelles.

ii Le protocole d'échantillonnage

Le problème de représentativité se retrouve sur l'ensemble du plan de surveillance de la FCM en France. La surveillance en Corse et dans le bassin méditerranéen répond à des exigences réglementaires qui imposent à la France de pouvoir détecter 2% de prévalence avec un niveau de confiance de 95%. Cet objectif conditionne la taille de l'échantillon. Ce seul élément est cependant insuffisant pour donner une vision juste de la situation de la FCM.

Pour améliorer la représentativité, les plans d'échantillonnage ont progressivement proposé des méthodes intégrant une étape de sélection aléatoire des animaux. Concernant la surveillance établie dans les départements du pourtour méditerranéen, il est désormais prévu que les laboratoires d'analyses aient en charge la sélection aléatoire des sérums issus de la campagne de prophylaxie hivernale.

Pour ce qui concerne les élevages suivis mensuellement, la sélection se fait sur la base du volontariat des éleveurs. Leur sensibilisation et leur implication sont donc essentielles pour s'assurer de leur participation. La communication avec les groupements d'éleveurs doit aussi se développer en amont des crises pour qu'ils comprennent l'intérêt de ce mode de surveillance.

En plus de la bonne volonté des éleveurs, le suivi d'animaux suppose que les animaux soient identifiés avec un numéro unique et que ce numéro suive les prélèvements. Le recours à des codes barres pour identifier les prélèvements serait un atout indéniable pour ce type de protocole.

En France continentale, l'objectif de la surveillance de la FCM restant la détection précoce de tout foyer potentiel, on ne cherche pas à être représentatif de toute une zone mais à cibler les zones les plus à risque. L'échantillonnage est donc plutôt basé sur une notion de risque, quelle que soit l'unité épidémiologique (l'animal ou le troupeau) (Stark *et al.*, 2000). La définition des élevages à risque apparaît alors essentiel pour améliorer la qualité de l'échantillon.

iii Vers un réseau de surveillance

La question de la pérennité du protocole de surveillance se pose à la fois en amont d'une crise et en aval de celle-ci. La perte de motivation des éleveurs, la lourdeur des prélèvements, le coût économique ainsi que le problème de la circulation de l'information entre les différents acteurs impliqués sont autant de facteurs pouvant altérer l'efficacité de la surveillance.

Pour que la surveillance de la FCM s'inscrive dans la durée et soit capable de détecter précocement l'apparition de nouveaux foyers, le dispositif nécessite que toutes les informations soient centralisées (résultats virologiques, sérologiques, entomologiques) et analysées rapidement. Le réseau nécessite également d'être animé par un responsable clairement identifié. Il faut également que le système développe sa capacité de réponse à une alerte. A l'heure actuelle, la conduite à tenir en cas de mise en évidence d'élevages sérologiquement positifs sans signes cliniques dans une zone indemne n'est pas définie au-delà de la mise sous APDI. Cette partie nécessite d'impliquer les professionnels des filières concernées et de comparer le coût économique des différentes solutions possibles. En Espagne, par exemple, le principal groupements d'éleveurs (Union de Pequeños Agricultores - UPA) sollicite l'extension du programme de vaccination à l'ensemble des animaux sensibles et des régions espagnols (ProMED-mail, 2006a).

La qualité des données issues des systèmes de surveillance et de suivi (MO&SS²⁷) a été identifiée comme un point critique limitant la qualité des analyses réalisées à partir de ces données. Elles sont par ailleurs utilisées plus généralement dans tout processus d'analyse des risques liés à une maladie (identification du danger, évaluation de l'émission, conséquence de l'émission). Ainsi, comme la qualité d'une telle analyse dépend pour une large part de la disponibilité et de la qualité des données fournies par ces systèmes, il existe une relation étroite entre MO&SS et l'analyse des risques. C'est pourquoi il est important que les personnes chargées de la mise en place des MO&SS et les décideurs aient conscience de ces interrelations pour assurer une meilleure qualité des données produites (Stark & Salman, 2001).

A côté de ces méthodes et outils épidémiologiques pouvant s'appliquer à tout type de maladie animale, la surveillance des maladies vectorielles peut faire appel à des outils plus spécifiques.

V.1.3. Les vecteurs comme outil pour la surveillance

Les vecteurs constituent un champ d'investigation à part entière. Leur présence détermine en effet les zones où le virus pourra potentiellement circuler. De plus, l'introduction du virus dans une zone où le vecteur est présent ne suffit pas toujours à déclencher une épizootie. C'est pourquoi il ne suffit pas d'identifier et/ou de prédire les zones favorables à la présence du vecteur. Il convient également de définir le potentiel de transmission d'une population de vecteurs.

²⁷ Terme anglais signifiant « Monitoring and surveillance systems » c'est-à-dire systèmes de surveillance et de suivi.

L'utilisation des vecteurs comme outil pour la surveillance comporte deux volets complémentaires (Figure 55) :

- 1) Identification des zones favorables à l'installation et la pérennisation du vecteur et surveillance des zones de présence des vecteurs.

Ce volet repose notamment sur l'entomosurveillance et les recherches sur les facteurs favorables à l'installation et à l'expansion d'un vecteur. Les insectes entretiennent en effet des liens très étroits avec les paramètres environnementaux, au sens large. L'étude de ces relations et leur quantification va permettre de définir des profils environnementaux favorables à l'installation et à la pérennisation des vecteurs. Ceci sera notamment très intéressant pour identifier des zones de présence du vecteur et cibler la surveillance entomologique. La surveillance entomologique de vecteurs nouvellement installés va, quant à elle, permettre de stratifier le risque d'une maladie d'un territoire donné et donc d'orienter la surveillance sérologique et clinique.

- 2) Définition des zones et périodes à risque sur la base du potentiel de transmission des populations de vecteurs identifiés.

Ce volet repose sur la construction d'un modèle synthétisant le potentiel de transmission d'une population de vecteurs. Le vecteur seul ne suffit pas en effet à déclencher une épizootie. Il faut que le couple vecteur-virus soit présent et rencontre les conditions adéquates incluant des hôtes réceptifs et sensibles. Le recours à des indices entomologiques comme l'EIR, qui synthétise le nombre de piqûres potentiellement infectantes que peut infliger une population vectrice en un jour, est utile pour analyser conjointement ces deux éléments indispensables à la transmission. Ces indices sont par exemple utilisés pour identifier des facteurs, des zones et des périodes à risque pour le paludisme (Patz, 1998; Shililu *et al.*, 2003; Thomson *et al.*, 2006) ou pour évaluer les programmes de contrôle de cette maladie (Girod *et al.*, 1999). Pour développer de tels indices, il est nécessaire de connaître certains éléments de la bioécologie, de la dynamique et du comportement alimentaire des insectes (Gratz, 1999). A partir de ces indicateurs entomologiques de risque, on peut ensuite orienter la surveillance sérologique et clinique sur les zones avec le plus fort potentiel de transmission.

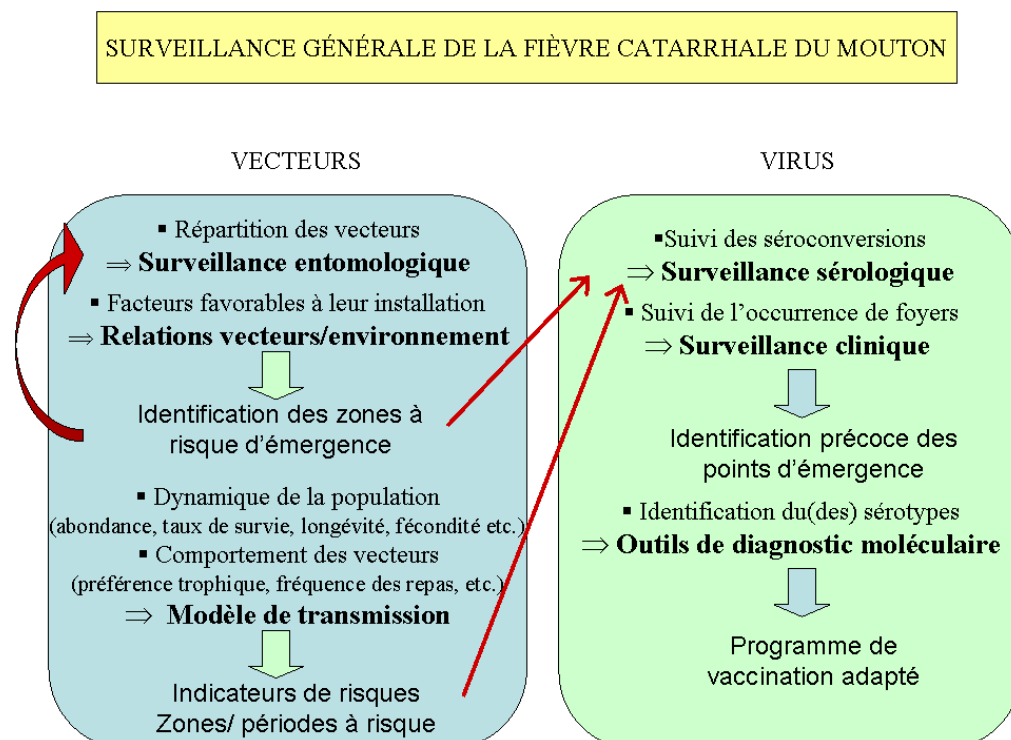


Figure 55 : Les vecteurs comme outil pour la surveillance de la fièvre catarrhale du mouton

La surveillance entomologique accompagne donc avantageusement les deux autres volets de la surveillance d'une maladie vectorielle. Elle permet notamment d'orienter les zones à surveiller pour une meilleure sensibilité du système général. Si la surveillance passive de la FCM, moyennant un coût financier en proportion, peut s'envisager sur une large zone sans perdre en sensibilité, la surveillance sérologique nécessite d'être ciblée sur les zones à risque pour être efficace. La sensibilité d'une surveillance sérologique conduite de manière aléatoire à l'échelle du bassin méditerranéen sera inévitablement moins bonne qu'une surveillance centrée sur les zones de présence du vecteur, condition nécessaire pour toute transmission virale.

L'évaluation de la sensibilité générale du système de surveillance de la FCM est importante à faire. Elle permettra de bien cerner l'importance de la surveillance entomologique par rapport à la seule surveillance clinique et/ou sérologique. Il conviendra notamment d'ajouter une notion de temps à la sensibilité générale du système de surveillance afin de tester également sa qualité de système d'alerte précoce. En effet, il ne suffit pas au système de détecter les cas mais également de les signaler assez tôt pour permettre une réponse rapide et adaptée. Cette analyse de la qualité générale de la surveillance est également importante pour définir le juste milieu entre une alerte précoce (bonne sensibilité en amont des foyers) et une alerte fiable (spécificité). Ce volet est un autre champ de recherche à explorer en utilisant, par exemple, les outils de simulation pour tester, avec quelles combinaisons des trois types de surveillance, le système est le plus performant.

L'entomosurveillance, pris isolément, peut être caractérisée par une sensibilité et une spécificité. Dans le cas de la FCM, la spécificité de cette surveillance est liée à la capacité des entomologistes à faire la diagnose des *Culicoides* vecteurs. Pour ce qui concerne *C. imicola*, peu d'erreurs d'identification sont possibles car elle est la seule espèce de son complexe à être présente en Europe. L'implication d'autres espèces de *Culicoides* complique sérieusement le problème car les autres espèces suspectées, *C. obsoletus* ou *C. pulicaris*, appartiennent à deux complexes d'espèces pour lesquels la diagnose morphologique est impossible. Il est nécessaire de recourir à des dissections fines et l'identification finale se fait grâce aux mâles de l'espèce. La spécificité doit également être appréciée en regard de l'objectif de la surveillance. Si l'objectif est de classer une zone soit en « zone d'installation du vecteur » ou en « zone sans installation du vecteur », la détection d'un seul ou de quelques spécimens de *C. imicola* ne suffira pas à statuer sur le fait que le vecteur s'est installé ou non. Il faut donc définir les conditions permettant de différencier les deux types de zones dont dépendra la spécificité du système.

La sensibilité de ce système est quant à elle tout d'abord liée au type de pièges utilisés, à la méthode de piégeage et aux conditions dans lesquelles il a été réalisé. Cette sensibilité est donc fluctuante d'un piégeage à un autre. La sensibilité dépend également du choix des sites de piégeage, de la période pendant laquelle les piégeages sont réalisés et de leur nombre. Cette donnée est donc très difficile à évaluer.

Pour mettre en place une surveillance entomologique, il faut au préalable répondre à un certain nombre de questions :

→ Qui ? :

Quelle(s) espèce(s) d'insectes est(sont) capable(s) de transmettre le virus. Pour répondre à cette interrogation, il faut que les 4 conditions définies par l'OMS soient remplies (WHO, 1967) : i) le virus doit être isolé de spécimens capturés dans la nature visiblement non gorgés, ii) sa compétence doit être mise en évidence soit par nourrissage sur un hôte virémique soit par une technique d'infection expérimentale, iii) sa capacité à se transmettre biologiquement par piqûre doit être démontrée et iv) il faut accumuler des évidences de terrain confirmant l'association significative entre les arthropodes infectés et les populations vertébrés cibles dans lesquelles la maladie ou l'infection survient.

Jusqu'à la survenue de foyers de FCM dans le Nord de l'Europe, la seule espèce vectrice avérée en France était *C. imicola* (Du Toit, 1944a; Du Toit, 1944b). Cependant, en l'absence de *C. imicola* dans le Nord de l'Europe, une ou d'autres espèces de *Culicoides* sont désormais suspectés. Le virus a par ailleurs déjà été isolé dans le groupe *C. pulicaris* en Italie (Caracappa *et al.*, 2003) et dans le groupe *C. obsoletus* à Chypre (Mellor & Pitzolis, 1979) et en Italie centrale (De Liberato *et al.*, 2005). La compétence du groupe *C. obsoletus* a été estimée en conditions de laboratoire pour le sérotype BTV9 (Carpenter *et al.*, 2006). La présence du sérotype BTV8 a également été détectée chez des femelles paires non gorgées de *C. obsoletus dewulfi* aux Pays-Bas (ProMED-mail, 2006b; ProMED-mail, 2006c).

→ Où ?

On ne peut pas surveiller tous les élevages. Il faut donc sélectionner les sites les plus favorables au vecteur pour détecter rapidement son aire d'expansion. L'étude des zones favorables à *C. imicola* grâce à des données environnementales issues d'images satellitales est ainsi très utile pour cibler les zones de présence potentielle du vecteur (Guis, 2003; Purse *et al.*, 2004c).

→ Comment ?

Des pièges spécifiques aux espèces recherchées doivent être utilisés dans de bonnes conditions. Pour la capture de *Culicoides*, plusieurs types de pièges existent mais ils n'ont pas tous la même efficacité. Afin de pouvoir comparer les résultats entomologiques entre eux et d'utiliser les données collectées à des fins d'analyse, le type de pièges utilisés dans un réseau d'entomosurveillance doit être le même. Au niveau européen, pour la surveillance des *Culicoides*, cette harmonisation est vivement souhaitable.

→ Pourquoi ?

Les résultats de l'entomosurveillance permettent de suivre l'expansion d'un vecteur et donc de réorienter la surveillance sérologique si nécessaire. Elle définit le premier niveau de risque d'une zone : présence ou absence d'un vecteur. Une recherche de virus dans les insectes est également possible pour détecter la présence d'éventuels vecteurs infectés. La pertinence de ce volet entomologique au sein du plan général de surveillance de la FCM serait intéressante à évaluer au travers d'une évaluation quantitative du réseau.

Pour optimiser l'apport de la surveillance entomologique sur l'ensemble du réseau de surveillance d'une maladie vectorielle, il est nécessaire d'étudier le vecteur à deux échelles différentes : i) une échelle fine pour mieux connaître les paramètres entomologiques impliqués dans la transmission virale et leurs liens avec l'environnement et ii) une échelle plus large pour prédire à l'échelon d'une région ou d'un pays les zones et les périodes à risque vis-à-vis d'une maladie.

V.2. Échelle locale : importance et limites

V.2.1. Un préalable nécessaire

Pour définir des indicateurs de risque entomologiques, il faut au préalable bien connaître les paramètres gouvernant la dynamique d'une population de vecteurs et les facteurs les influençant. Il faut également quantifier la préférence trophique des vecteurs et la fréquence des repas de sang, deux éléments conditionnant la pression de piqûres des vecteurs sur leurs hôtes.

Seule l'échelle locale et les études en conditions contrôlées (Mullens *et al.*, 2004) permettent d'étudier les relations étroites existantes entre les vecteurs et leurs environnements. Cette échelle est également l'échelle d'étude adaptée pour identifier et expliquer les différences de prévalence observées entre des élevages proches (Greenwood, 1989; Ijumba *et al.*, 2002).

C'est une première étape indispensable pour construire un modèle de transmission intégrant les variables environnementales ayant une influence sur les paramètres entomologiques déterminant la capacité de transmission d'une population de vecteurs (Bockarie *et al.*, 1995; Prakash *et al.*, 2001; Almeida *et al.*, 2005). Ces modèles décrivant de manière quantitative les mécanismes sous-jacents à la variabilité des maladies sont en effet essentiels pour évaluer objectivement les effets des changements globaux sur l'émergence et la réémergence de maladies vectorielles (Zell, 2004).

Les relations entre la température et la fréquence des repas de sang, la durée de la virogénèse ou encore la compétence vectorielle sont ainsi très importantes à évaluer et quantifier dans un contexte de réchauffement climatique. De nombreux modèles visant à prédire l'impact du changement climatique sur les maladies vectorielles se basent sur ces relations (Martens, 1995; Massad & Forattini, 1998; Patz *et al.*, 1998; Rogers & Randolph, 2000; Thomson *et al.*, 2006).

D'autres paramètres environnementaux peuvent également être pertinent à relier avec le risque de transmission d'une maladie. Au Kenya, un modèle basé sur l'humidité du sol a ainsi été développé pour estimer les facteurs clés de la transmission du paludisme (Patz, 1998). Il convient ainsi de parvenir à identifier les variables les plus pertinentes pour suivre l'évolution du risque d'occurrence d'une maladie (Dye, 1986) et les plus importantes à cibler pour limiter ce risque (McElhany *et al.*, 1995).

L'approche locale permet, de plus, d'évaluer l'impact de méthodes de lutte sur le potentiel de transmission d'une population de vecteurs (Garrett-Jones & Grab, 1964; Seyoum *et al.*, 2002).

Le développement des connaissances sur les relations des variables entomologiques intervenant dans la transmission d'un agent pathogène et des variables environnementales va permettre d'améliorer progressivement le modèle de transmission basé sur la capacité vectorielle d'une population de vecteurs. Ce modèle intégratif doit en effet être un modèle évolutif qui s'enrichit des résultats des recherches. Un modèle stochastique construit à une petite échelle donne, de plus, la possibilité d'identifier les paramètres sensibles du modèle et ainsi d'orienter les futures recherches (Depinay *et al.*, 2004).

Concernant le modèle développé dans le Var sur la capacité vectorielle de *C. imicola*, les relations avec des variables environnementales ne sont pas encore bien établies. C'est pourtant un point essentiel pour évoluer vers un modèle prédictif des zones à risque de *C. imicola*. Il est ainsi nécessaire d'étudier les facteurs environnementaux déterminant la dynamique saisonnière de ce vecteur. Pour ce faire, le suivi entomologique dans la zone de l'Argens doit être poursuivi pour disposer d'une série temporelle de données suffisante. De plus, on a besoin de disposer des données climatologiques spécifiques (température, humidité, vent) à chacun des sites suivis pour expliquer les différences de dynamique observées sur *C. imicola* sur ces sites. La télédétection peut également nous apporter des données environnementales complémentaires. Les données pédologiques sont également à intégrer (Meiswinkel *et al.*, 2004).

Le modèle développé a montré, de plus, l'importance du taux de contact journalier sur le résultat final. Le contact hôte-vecteur apparaît ainsi comme une donnée à approfondir pour améliorer le modèle.

V.2.2. Quelle validation pour le modèle ?

Une fois le modèle de transmission établi à partir de données de la littérature et de données produites à cet effet, une phase de validation s'impose. Elle permet à la fois de paramétrer le modèle et de voir dans quelle mesure il « colle » à la réalité. Cette étape est plus facile à réaliser, dans un premier temps, à une petite échelle.

Le problème dans le cas d'un modèle développé dans une zone indemne de maladie où seul le vecteur est présent est qu'il faut attendre l'apparition de la maladie pour vérifier son adéquation avec la réalité... Il peut toutefois être envisagé de tester ce modèle en Corse où le vecteur et la maladie ont été et sont encore présents. Cette validation en Corse suppose de disposer du même type de données entomologiques que celles utilisées pour construire le modèle dans le Var. Or, ces données n'existent pas pour 2000 à 2006. Elles sont donc à produire. Il peut être envisagé de collecter les données entomologiques conjointement avec des données sérologiques. Pour faciliter la faisabilité de ce projet, on peut concentrer les efforts sur la période identifiée comme la plus propice pour une transmission, c'est-à-dire en septembre. Le choix de la zone d'étude reste à discuter mais devra dans la mesure du possible se situer dans une zone où des fortes variations d'occurrence ou de prévalence ont été relevées.

Le paramétrage et la validation d'un modèle spatial restent difficiles. Pourtant, des validations rigoureuses sont nécessaires et doivent permettre d'obtenir des informations sur les incertitudes des cartes de risque produites et sur les données (Graham *et al.*, 2004).

Le travail à une échelle locale va finalement poser la question du passage à une échelle plus adaptée à la prédiction des zones à risque. La surveillance s'étale en effet à une échelle beaucoup plus large et l'étude faite à une échelle locale ne peut pas être reproduite dans toutes les zones sous surveillance. De plus, cette approche entomologique du risque vise à prédire des zones à risque et donc, par définition, une population de vecteurs n'y est pas forcément déjà installée. Ce problème du changement d'échelle en épidémiologie sera abordé dans la partie V.3.2.

Le développement d'un modèle de capacité vectorielle de *C. imicola* à une échelle locale est un pilier important pour la définition d'un système global de surveillance de la FCM et d'identification des zones et périodes à risque. Les perspectives de développement suivantes restent nécessaires pour disposer d'un outil de surveillance et d'analyse des risques complet et utilisable pour la prise de décision.

V.3. Perspectives

V.3.1. Intégration des différents éléments du système

Afin de compiler l'ensemble des variables intervenant dans le potentiel de transmission d'une maladie vectorielle, le Système d'Information Géographique (SIG) se révèle un outil très approprié (Norstrom, 2001). On peut ainsi empiler l'ensemble des couches d'information utiles :

- le sol et autres variables caractérisant la topologie d'une zone (paysages, relief, hydrographie etc.),
- le climat, défini par des variables météorologiques (température, vent etc.),
- les élevages : leur distribution, les espèces présentes et le nombre d'animaux sont des informations fondamentales à intégrer,
- les données entomologiques : abondance de l'espèce vectrice et taux de survie journalier pouvant être estimé grossièrement grâce au taux de parturité.

Il faut, dans un premier temps, construire un SIG relativement simple se concentrant sur des variables incontournables. Il pourra toujours être enrichi par la suite.

Toutes les données entomologiques incluses dans la capacité vectorielle ne sont ainsi pas forcément toutes utiles en première approche. On recherche plutôt à définir un index entomologique comme l'EIR utilisé pour le paludisme. Les variables n et p qui varient en fonction de la température peuvent être négligées tout d'abord si le modèle est appliqué dans une zone avec des paramètres de température du même ordre de grandeur

L'intérêt d'avoir recours à un SIG est que cet outil autorise un enrichissement progressif du système en fonction des avancées scientifiques. Il est envisageable notamment que l'abondance d'une population en un lieu donné soit prédite par un modèle adéquat et non qu'elle soit mesurée sur le terrain. De tels modèles ont déjà été développés pour *C. imicola* (Baylis *et al.*, 2001; Roger *et al.*, 2003; Purse *et al.*, 2004c). Le niveau d'abondance alors prédit comporte trois classes : nulle, faible et élevé.

Les taux de survie des vecteurs sont plus difficiles à relier avec des données environnementales. Baylis *et al.* (1999) ont suspecté au Maroc que le vent soit un facteur influençant négativement le taux de survie de *C. imicola* (Baylis *et al.*, 1998). On pourrait imaginer montrer à terme que les zones fortement exposées au vent sont moins à risque que les zones faiblement exposées.

Comprendre la distribution spatio-temporelle du risque d'une maladie transmise par des insectes est une étape très importante pour programmer et développer des mesures de lutte efficaces (Greenwood, 1989; Charlwood *et al.*, 1998; Chadee & Kitron, 1999; Focks *et al.*, 1999; Killeen *et al.*, 2000; Smith *et al.*, 2004). La télédétection et les SIG rendent ainsi possibles le développement de cartes prédisant la distribution de vecteurs et les études épidémiologiques permettent d'identifier les facteurs de risques de certaines maladies (Brownstein *et al.*, 2002; Capela *et al.*, 2003; Conte *et al.*, 2003; De La Rocque *et al.*, 2004a). Les modèles mathématiques, quant à eux, construisent des ponts entre l'environnement, la biologie des vecteurs et l'épidémiologie animale ou humaine (Smith *et al.*, 2004).

La surveillance est un moyen de défense clé contre l'émergence de pathogènes mais suppose d'avoir une vision intégrée des différents composants du système (Chan *et al.*, 1999; McKenzie, 2000; Woolhouse, 2002) à différentes échelles (Weinberg, 2005).

V.3.2. De l'échelle locale à une échelle plus large

Si l'étude des facteurs déterminant les zones et/ou des périodes à risque de transmission d'une maladie vectorielle nécessite d'avoir une approche très locale, le passage à une échelle plus large reste l'objectif final.

Smith *et al.* (2004), qui ont évalué grâce à un modèle mathématique l'influence de l'hétérogénéité de l'environnement sur l'EIR, ont constaté que ce paramètre pouvait varier spatialement et temporellement du fait de facteurs locaux (distance aux gîtes larvaires, préférence trophique, méthodes et périodes du piégeage). Ils ont montré que l'utilisation de la moyenne des EIR dans un environnement hétérogène donnait une estimation du risque moyen fortement biaisée, même si l'estimation locale de l'EIR donnait une mesure satisfaisante du risque local. Ils ont généralisé ce constat aux autres maladies infectieuses vectorielles.

Si l'utilisation de la télédétection et des SIG procure un outil potentiellement puissant pour mieux comprendre la distribution des maladies infectieuses vectorielles à grande échelle, il n'en reste pas moins que la dynamique et le contrôle des vecteurs ont lieu localement. Ces technologies seront ainsi plus efficaces si elles sont couplées à des modèles décrivant le cycle de la maladie à une échelle locale (Greenwood, 1989). Il s'ensuit que la connaissance de la démographie des vecteurs et de leur comportement devrait jouer un rôle central dans la surveillance et le contrôle des infections transmises par ces insectes (Smith *et al.*, 2004). L'estimation du risque à une échelle plus large sera d'autant plus pertinente que les liens existants entre le système virus/pathogène/hôte et les facteurs environnementaux au sens large auront été identifiés au niveau local. Les observations de terrain faites en Corse lors des périodes d'épizootie de FCO ont montré que cette variation d'occurrence de la maladie à une toute petite échelle (voisinage des exploitations) existait également sans que les facteurs les déterminant ne soient encore expliqués.

Le changement d'échelle pose tout d'abord la question suivante : quelles sont les variables pertinentes à garder ? En effet, la capacité de collecte de données sur le terrain va être limitée par l'étendue de la zone à surveiller. Il faut donc se concentrer sur les variables les plus sensibles.

Concernant le volet entomologique, nous avons vu que l'abondance et le taux de parturité semblaient pertinents à conserver dans un premier temps. La méthodologie suivante est ainsi proposée pour déterminer ces paramètres à l'échelle, par exemple, du département du Var :

→ Étape 1 :

Simulation à partir des données d'abondance et de taux de parturité issues des piégeages entomologiques réalisés, en Septembre 2006, sur 40 élevages du département du Var. Cette première simulation permet de tester la démarche sur un jeu de données déjà disponibles.

→ Étape 2 :

- × Sélection de manière aléatoire d'élevages bovins, ovins, ou équins dans le département du Var. Cela suppose d'avoir la liste exhaustive des élevages du Var.
- × Piégeages dans ces élevage pendant le pic d'abondance attendue de *C. imicola* (fin septembre ou début octobre). L'idéal serait de faire ces piégeages pendant deux nuits consécutives.
- × Tri, identification et détermination de l'abondance et du taux de parturité de *C. imicola*.
- × Simulation du modèle en intégrant les données obtenues dans la couche d'information correspondant aux données entomologiques.

On voit que le passage à une échelle départementale et plus nécessite d'avoir les données spécifiant l'emplacement des élevages. Des informations sur le nombre d'animaux et les espèces présentes seraient un plus indéniable pour aborder les problèmes de préférence trophique (différents scénarii possibles) et déterminer l'abondance relative des *C. imicola*.

La disponibilité de ces informations constitue également un pas indéniable pour l'analyse du risque de la FCM à l'échelle départementale voire régionale. Les données sur les flux des animaux permettraient de parachever le tout.

Par l'identification des zones les plus à risque de transmission, on se rapproche de plus en plus de la réalité du système. On ne base plus le risque d'occurrence de la maladie sur la simple présence/absence du vecteur dans une zone mais sur le potentiel de transmission de la population de vecteurs. La localisation des zones les plus à risque permet de basculer sur une surveillance basée sur le risque (risk-based surveillance (Stark *et al.*, 2006)) et non plus une surveillance d'élevages ou d'animaux sélectionnées de manière aléatoire. Le tirage au sort d'élevages dans les zones identifiés à risque pourra toutefois avoir lieu s'il n'est pas possible de les suivre tous. Le concept de « risk-based surveillance » inclut également les aspects économiques de la surveillance. On ne cherche pas seulement à surveiller mais aussi à surveiller au meilleur coût/bénéfice (Stark *et al.*, 2006). Cibler la surveillance sur les zones à risque permet ainsi, pour un moindre coût, d'avoir au moins la même efficacité.

Les maladies vectorielles sont pour la plupart mal connues du fait de la complexité des interrelations qui existent entre les vecteurs, les pathogènes, les espèces hôtes, les espèces réservoirs et l'environnement. Une approche intégrée de la surveillance de ces maladies est ainsi vivement souhaitable pour une meilleure efficacité. La complexité d'une maladie comme la FCM a une nouvelle fois été illustrée par l'émergence de foyers atypiques dans le Nord de l'Europe. Une confrontation de cette épizootie avec la problématique de la FCM dans le Sud de l'Europe est intéressante à avoir.

V.3.3. Problématique liée au BTV 8

Le 17 août 2006, les Pays-Bas ont déclaré, sur la base d'une suspicion clinique, un foyer de FCM dans un élevage ovin localisé dans la province de Limberg (Sud des Pays-Bas) près de la frontière avec l'Allemagne et la Belgique (OIE, 2006b).

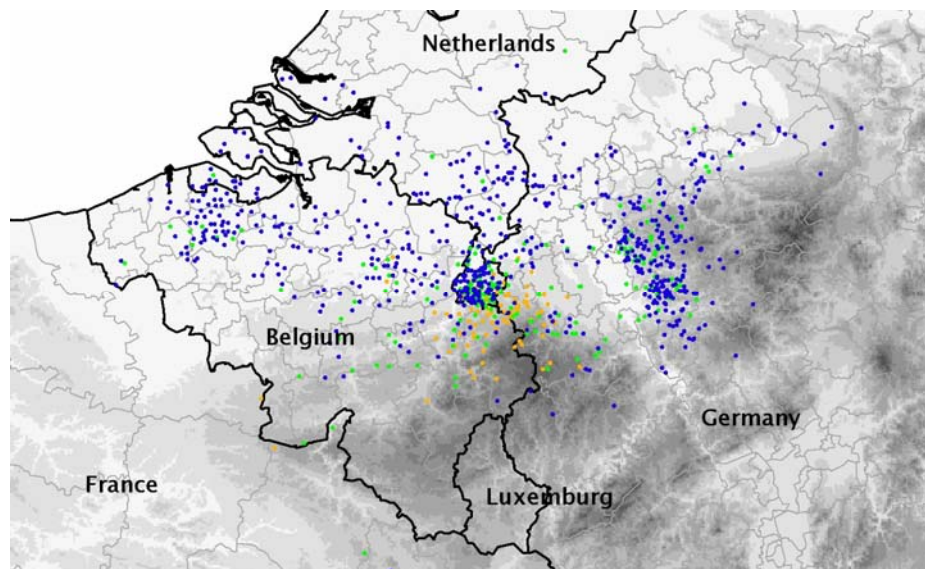
Rapidement les autorités néerlandaises ont pris des mesures de restrictions des mouvements des espèces sensibles dans la zone. Une zone de protection de 100 km et une zone de surveillance entre 100 et 150 km autour du foyer ont également été mise en place.

Plusieurs autres foyers ont rapidement été confirmés dans cette province de Limberg mais également en Belgique (19 août 2006) et Allemagne (21 août 2006) (OIE, 2006b). Le sérotype sera finalement identifié le 26 août 2006 comme le BTV8 par le laboratoire de référence communautaire de Pirbright (Royaume-Uni) (ProMED-mail, 2006i). Jusqu'à cet épisode, le BTV n'avait jamais été reporté, dans l'hémisphère nord, au delà du 44^{ème} parallèle et le sérotype 8 n'avait jamais été détecté en Europe. La France confirmera son premier foyer le 30 août 2006 dans un élevage bovin des Ardennes (Brognon) (OIE, 2006a).

Au 30 Octobre 2006, 1 475 cheptels de ruminants domestiques ont été déclarés atteints par le BTV 8 (European Commission, 2006) : 592 en Allemagne, 490 en Belgique, 5 en France et 359 aux Pays-Bas (Figure 56 & Figure 57). La majorité des cas a ainsi été reporté en Belgique, Allemagne et Pays-Bas et plus de la moitié au cours des 3 dernières semaines d'Octobre. Une analyse spatiale réalisée par l'EFSA suggère trois clusters principaux, un dans la région où le premier cas a été identifié (frontière Belgique/Pays-Bas/Allemagne), un dans l'Ouest de la Belgique et dans le l'änder Bergisches en Allemagne (Figure 58).

Des sérologies positives ont également été identifiées en Pologne sur des bovins importés de la zone infectée.

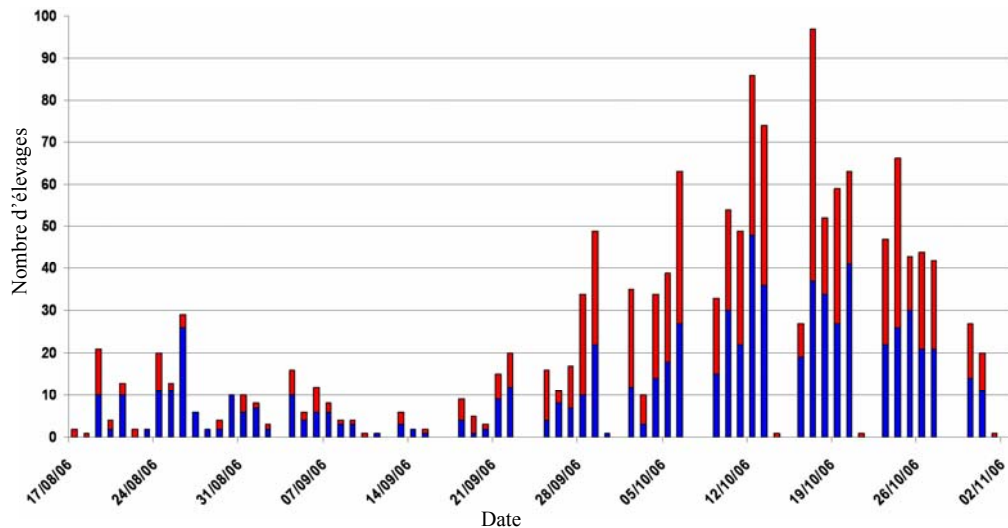
En France, deux bovins provenant de deux élevages différents (Brognon et Tailly dans les Ardennes (08)) ont présenté des signes cliniques modérés sans conséquences pour les animaux. Ces animaux n'ont jamais quitté l'élevage dans lequel ils ont montré des signes cliniques. Les 3 autres élevages ont été déclarés infectés sur la base d'une unique sérologie positive parmi une centaine d'animaux contrôlés par élevage (OIE, 2006c). Ces contrôles ont été réalisés dans le cadre d'une enquête de dépistage sérologique menée dans la zone de protection de 20 km autour du premier cas identifié.



Source : EFSA



Figure 56 : Distribution mensuelle des foyers de FCM dus au BTV8 en Europe du Nord entre le 17 août et le 25 Octobre 2006



Source : EFSA

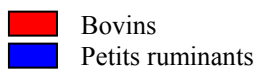
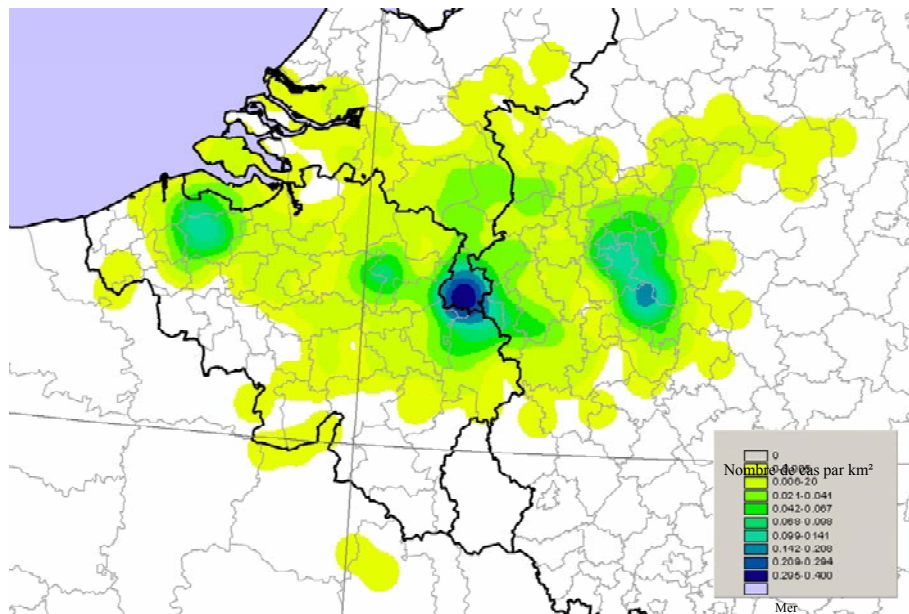


Figure 57 : Nombre journalier de foyers dus au BTV8 détectés dans le Nord de l'Europe entre le 17 août et le 1^{er} novembre 2006.



Source : EFSA

Figure 58 : Densité lissée de Kernel du nombre de cas de FCM dus au BTV8, toutes espèces de ruminants confondues

Au vu des premières données disponibles sur les cas de FCM aux Pays-Bas, en Belgique, en Allemagne et en France, on peut considérer que le cycle épidémiologique en jeu n'est pas le même qu'en Corse et dans le bassin méditerranéen ouest. En effet, le sérotype impliqué n'est pas le même et n'est pas retrouvé dans la zone méditerranéenne. De plus, le(s) vecteur(s) responsables de la transmission n'est pas *C. imicola*, cette espèce étant absente dans cette zone. Enfin, alors que les bovins en Corse, en Espagne ou en Italie n'ont jamais développé de signes cliniques de FCM, il apparaît que, lors de cette épizootie, un grand nombre d'animaux exprimant des signes cliniques était des bovins (ProMED-mail, 2006e) (Tableau XXII et Figure 57).

La définition d'un cas n'est pas claire puisque les foyers déclarés mélangent les élevages avec seulement des sérologies positives et les élevages avec des animaux cliniquement atteints de FCM. Si la prise en compte des animaux sérologiquement positifs permet de suivre la propagation de la maladie et est essentielle pour des visées de recherche, elle pose la question de la valeur prédictive des résultats positifs dans ce contexte épizootique. Il serait intéressant de disposer à la fois des résultats sérologiques et virologiques pour interpréter plus finement les résultats obtenus.

	Corse, Méditerranée occidentale	Nord de l'Europe
VECTEURS	<i>C. imicola</i> Expansion de son aire de répartition au Nord	Inconnu, vecteurs locaux suspectés suspicion de <i>C. obsoletus dewulfi</i> (ProMED-mail, 2006c)
VIRUS	BTV1, BTV2, BTV4, BTV9, BTV16 Origine : Maghreb, Afrique sub-saharienne	BTV8 Origine à définir
VICTIMES	Ovins	Bovins Ovins

Tableau XXII : Différences observées entre les caractéristiques de la FCM dans le Nord de l'Europe et sur le pourtour méditerranéen occidental.

Plusieurs inconnues demeurent concernant ces foyers dans le Nord de l'Europe. La source virale n'a ainsi pas encore été identifiée. Plusieurs hypothèses ont circulé sur le forum d'informations internationales ProMED-mail mais aucune n'est à ce jour pleinement satisfaisante.

La première hypothèse avance l'introduction d'animaux sauvages virémiques via des zoos par exemple (ProMED-mail, 2006g). Cette introduction aurait pu avoir lieu avant 2006 (ProMED-mail, 2006d). Une seconde hypothèse est liée à l'utilisation, dès 1999 en Bulgarie, d'un vaccin atténué contenant la valence BTV8 (ProMED-mail, 2006f). Le virus aurait alors circulé à bas bruit avant de retrouver une forte virulence dans le Nord de l'Europe.

Il peut être fait appel à des outils moléculaires pour tenter de relier les souches du Nord de l'Europe avec des souches déjà identifiées dans d'autres zones (Nigeria, Afrique du Sud (Gerdes, 2004; ProMED-mail, 2006g; ProMED-mail, 2006h)). Une approche plus épidémiologique est également à promouvoir : on pourrait essayer d'identifier les clusters primaires ayant initié l'épizootie ce qui permettrait de renforcer certaines hypothèses en mettant en évidence d'éventuelles corrélations écologiques. Le recoupement des deux approches serait nécessaire.

Le vecteur ou les vecteurs responsable(s) restent, de plus, à identifier. A ce stade, des isolements du BTV 8 ont été obtenus à partir de pools de *C. obsoletus* sous-groupe *dewulfi* aux Pays-Bas. En France, cette espèce est très peu représentée (moins de 10% des espèces piégées) alors que *C. nubeculosus*, une autre espèce qui pourrait être suspectée, est largement majoritaire.

Dans un second temps, quand notamment le vecteur aura été identifié, une approche intégrée comme celle menée sur *C. imicola* est possible. Elle devra se faire en collaboration avec l'ensemble des pays européens ayant expérimenté cette épizootie au BTV8. Elle pose déjà le problème de la non harmonisation des méthodes de piégeages utilisées. Les Pays-Bas utilisent par exemple un piège de type « mosquito-magnet » qui n'a pas permis la capture de *C. imicola* dans le Var alors que le piège de type Onderstepoort piégeait des centaines de *C. imicola*.

La compréhension des facteurs gouvernant l'apparition d'une maladie vectorielle dans une nouvelle zone demande une approche multidisciplinaire et un travail de terrain important afin de se faire une idée plus précise des interrelations complexes qu'il existe. L'amélioration de la surveillance de ces maladies repose tout d'abord sur une analyse précoce de risques que peut constituer telle ou telle maladie pour un pays donné. Une fois le risque identifié, un certain nombre d'outils sont disponibles ou sont en cours de développement pour appuyer les besoins en terme de surveillance et de système d'alerte précoce. La mise en réseau des compétences des épidémiologistes, des entomologistes, des microbiologistes, des géomaticiens, des modélisateurs, des décideurs, etc. apparaît comme un gage de réussite d'une telle entreprise. Il faut cependant garder à l'esprit que l'analyse de risque, sa gestion et sa communication sont à distinguer de l'étude d'une émergence comme celle du Benelux. Les moyens et disciplines à mobiliser ne sont en effet pas les mêmes.

Annexe A : Silent spread of Bluetongue virus (BTV 4) in a naïve population in Corsica in 2003: lessons for surveillance

Gerbier Guillaume¹,
Biteau-Coroller Fabienne¹,
Grillet Colette¹,
Parodi Jacques²,
Zientara Stephan³,
Baldet Thierry¹,
Guis Hélène¹,
Roger François¹

¹. CIRAD, Centre de coopération internationale en recherche agronomique pour le développement, département d'élevage et de médecine vétérinaire, TA 30/E, campus international de Baillarguet, F-34398 Montpellier Cedex 5, France.

². Direction départementale des services vétérinaires de Corse du Sud. Immeuble Le Pélican - Résidence Parc d'Azur 20090 Ajaccio, France

³. UMR 1161 de virologie INRA/Afssa/ENVA. 23 Av. Général De Gaulle, 94704 Maisons-Alfort, France.

Short title: Silent spread of bluetongue

Abstract

Since 1999, several serotypes of bluetongue virus (BTV) have been isolated in the Western part of the Mediterranean basin. Corsica, a French island in Mediterranean, has been exposed to three different virus serotypes since 2000: BTV2 in 2000, BTV4 in 2003 and BTV16 in 2004. While in 2000, BT surveillance systems had not yet been put in place, in 2003, active surveillance of BTV circulation and its vector *Culicoides*, aided by a raised level of awareness of the farmers and veterinarians allowed the study of the introduction of a new serotype, BTV4. Surveillance systems monitored and temporally analysed seroconversions of sentinel goats, clinical symptoms and meteorological parameters. BTV4 was shown to be present in the island since May 2003, but clinical symptoms started only in October 2003. Moreover, weather conditions and wind patterns were suitable for transportation of *Culicoides* from Sardinia Island in May. All these elements seem to point at: (i) an airborne propagation of BTV from southern infected area, (ii) the spread of BTV takes place silently for over a few months, and (iii) after few months since introduction, the first clinical signs appear. These considerations should be taken into account when designing an efficient surveillance system for this vector-borne disease.

Keywords: bluetongue / spread / surveillance / *Culicoides* / Corsica

Introduction

In 1999, the serotype 2 of bluetongue virus (BTV) was isolated for the first time in the Western part of the Mediterranean Sea. It caused numerous outbreaks first in Maghreb (1999 in Tunisia, 2000 in Algeria according to OIE reports) and later in Sardinia (OIE, 2000d), Corsica (OIE, 2000c; Zientara *et al.*, 2002), Majorca and Minorca (OIE, 2000a). Bluetongue emergence occurred within a short period but the evolution of BT infection in each of the European countries affected was quite different. In the Balearic Islands, after one round of massive winter vaccination, no other outbreak due to serotype 2 was observed (Spanish report to the EU). In Corsica, outbreaks occurred again in 2001. Following two winter campaigns of massive vaccination, no other outbreak nor viral circulation were observed (Gerbier *et al.*, 2004). In Italy, seroconversions due to BTV 2 were still observed in 2005 (Anonymous, 2005). In early 2003, with the absence of further progression of serotype 2 in the western part of the Mediterranean, the epidemiological situation can thus be considered as stable.

During the same period 1999-2003, the spatial distribution of the main BT vector in Africa, *Culicoides imicola* (Diptera: Ceratopogonidae), changed. Specimens were trapped for the first time in France in Corsica in 2000 (Delécolle & de La Rocque, 2002). In 2003, it was shown that a population of *C. imicola* had settled up in Catalonia (Sarto i Monteys & Saiz-Ardanaz, 2003).

The spatial spread of BTV2 in Corsica in 2000 suggested that the vector and the virus were introduced into the island from Sardinia 12 kilometres south far from Corsica. In 2003, it seems that the 2000 scenario was replayed with another serotype. Serotype 4 was declared in Sardinia in August 2003 (740 outbreaks in 49 days (Giovannini *et al.*, 2004)) and later in October, outbreaks due to this BTV4 strain were identified in Corsica and in the Minorca Balearic island. BTV4 was isolated the next year in Morocco (OIE, 2004a) and later in Spain (OIE, 2004b). The aim of this paper is to describe the early evolution of BTV4 in Corsica in 2003 through serological, entomological and meteorological data. We also provide recommendations to implement early warning systems for BT surveillance.

Material and methods

Outbreaks in Corsica:

Location of outbreaks (latitude and longitude) which occurred in 2003 was collected from official reports. Animal infection was officially confirmed by national reference laboratory (AFSSA) after virological evidence of the virus by RT-PCR. In April 2004, a retrospective epidemiological survey was performed in several premises. Date of first BT symptoms and location of the animals during the previous 30 days were collected.

Surveillance system:

In 2003, a surveillance network was set up to monitor a possible virus circulation. It ensures an indirect evaluation of the efficiency of vaccination against serotype 2. It was based on two systems: target sampling of calves in abattoir and sheep and goat sentinel herds. A total of 618 less than one year old calves were sampled between the 15th of January 2003 and the 1st of October 2003. The four sheep and goat flocks of this surveillance network were located in Sartene, Quenza, Bonifacio and Sant'Andrea-d'Orcino (figure 1). Blood samples were collected 3 times between May and July 2003 and screened with a competitive Elisa test (cELISA, VMRD©). The cElisa cut-off was fixed at 55% of inhibition with a doubtful area between 45 and 55% (Biteau-Coroller *et al.*, 2003). As the presence of BTV4 in Sardinia was declared after this sampling, some of the positive sera were re-tested retrospectively in November 2003, using a serotype-specific technique, the virus neutralisation test (VNT) to determine which serotype, BTV2 or BTV4, was in cause.



Figure 1 : Locations of meteorological stations (★) and goat sentinel herds (●)

Meteorological data:

Hourly data for wind direction and strength were obtained from MeteoFrance for 8 months each year (April to November 2000 and April to November 2003). Four sites were selected in the South-Western part of Corsica: the extreme South of the island (Bonifacio), a plain, a 400-meter-high hilly place and a 1000-meter-high place (figure 1). To determine when wind was favourable for the transport of insects from Sardinia to Corsica two distances were considered: 50 and 100 km. One of the conditions for insects to be carried from Sardinia to Corsica in less than 50 km is that the wind has to come from a direction comprised between 130° and 210° (0° wind direction corresponds to a northern wind). In the event of insects being carried on 100 km, the range of wind directions to consider is enlarged to 130°-250° (figure 1). According to previous studies (Sellers *et al.*, 1978; Sellers & Pedgley, 1985; Braverman & Chechik, 1996), only winds with a force of less than 10m/s were included in the study. The parameter estimated monthly was the sum of daily hours of favourable wind.

Entomological data:

Since 2002, an entomological surveillance network has been implemented in Corsica. Twelve traps are located all over Corsica island (Baldet *et al.*, 2004). A classical New Jersey light trap slightly modified by Rieb (Rieb, 1982) is used. One-night catches per site are performed every three weeks.

Results:

Between the 16th of October 2003 and the 3rd of December 2003, 17 BT outbreaks were officially declared in the South of Corsica. Serotype 4 virus was isolated on the 29th of October 2003 by Afssa and confirmed in all these flocks. A total of 128 sheep died and 224 showed clinical symptoms. Mortality varied from 0 to 37%. This serotype had previously been reported in Sardinia (25 August 2003) and in Minorca Island (27 October 2003). Following the confirmation of the introduction of this new serotype, an attenuated vaccine against BTV4 was included in the massive vaccination campaign of sheep performed during the winter 2003-2004 in Corsica. In comparison with the extension of BTV serotype 2 before the start of vaccination program, BTV 4 outbreaks were limited to the South-West of Corsica (figure 2).

Retrospective investigations made in 7 communes (Pratavone, Iena, Pianottoli-Caldarello, Figari, Sartene, Sollacaro and PortoVecchio) showed that clinical expression was quite different in intensity between flocks of the same commune. In 3 communes, the flocks presented a high morbidity or mortality whereas other flocks held 1 km away did not express any sign.

Out of 618 calves tested by cELISA, 7 gave a doubtful result and 7 were found positive. Five were re-tested using VNT test. None was positive against the serotype 2 while three were positive against the serotype 4. Two were negative probably because of the lower sensitivity of VNT compared to c-ELISA. In the four sentinel small ruminants flocks, seroconversions against BTV4 measured by VNT were first observed in May 2003 and continued in July (Table I) whereas outbreaks started only in October 2003.

Commune	Number of animals	Seroconversion (%)	Date of detection of BTV4
Quenza	96	32 %	17/07/03
Sartene	53	0 %	-
Bonifacio	150	6 %	16/05/03*
Sant'andrea	220	8 %	29/07/03

Table I : Seroconversions in goat sentinel flocks in Corsica in 2003

The analysis of wind coming from Sardinia between April and November 2003 showed that the conditions (estimated as a cumulative number of hours with a favourable wind) were more suitable for the airborne spread of the vectors in May or June than in September (figure 3).

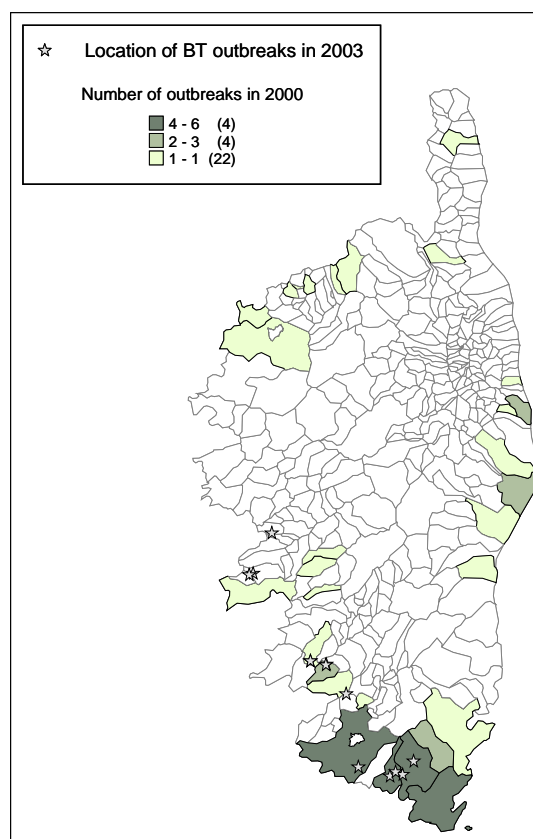


Figure 2 : Locations of BTV4 outbreaks declared in 2003 (triangles) in comparison with the location of BTV2 outbreaks found in 2000

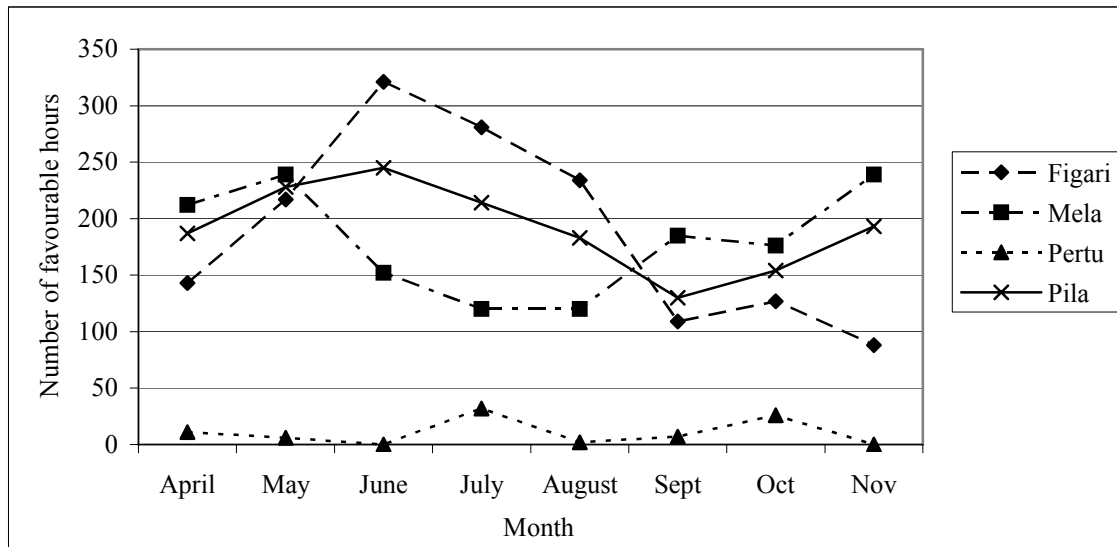


Figure 3 : Monthly distribution of the number of favourable hours of wind coming from Sardinia

This result can be compared with the entomological observations in Porto-Vecchio. At this surveillance point, the catches of *C. imicola* started in April 2003 and the peak of density was observed in June (figure 4).

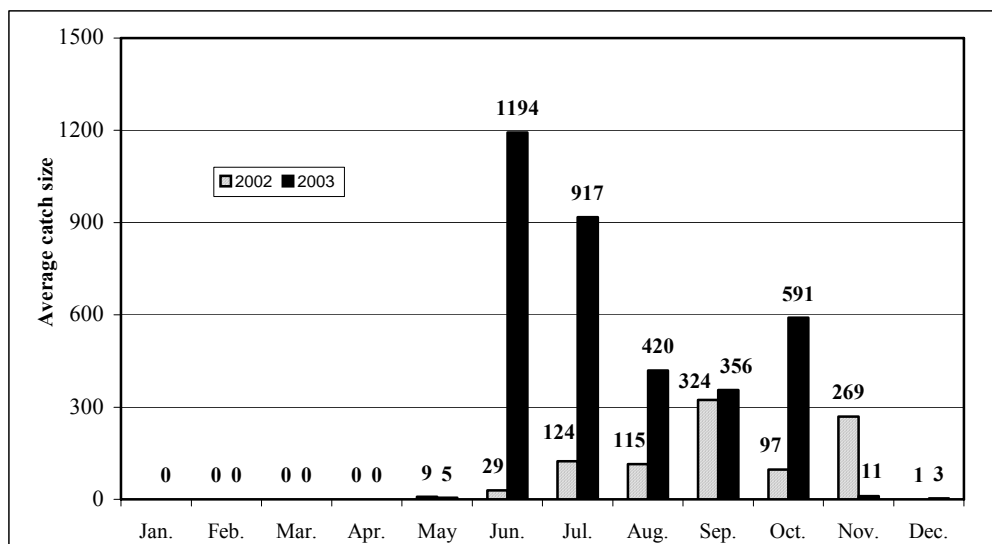


Figure 4 : Average catches of *Culicoides imicola* in Porto Vecchio (Corsica) in 2002 and 2003

Discussion:

If several articles describe the spatial distribution of the vector of BT (Goffredo *et al.*, 2003; Torina *et al.*, 2004; Calvete *et al.*, 2006) or map the favourable habitat for this vector (Baylis *et al.*, 2001; Wittmann *et al.*, 2001; Tatem *et al.*, 2003) very few articles describe the surveillance and control of BT except in often internal reports (Giovannini *et al.*, 2004). We believe that the lessons gained from one area can be useful for risk manager and decision makers from other parts of the world.

From a risk analysis point of view, the pathway which leads to an introduction of a new BTV serotype in Corsica during a given period is roughly the following: presence of vectors in Sardinia, circulation of the viral strain among animals and vectors, insect's passive transportation by wind from Sardinia into Corsica in an area where susceptible animals and vector population are present.

The assessment of the risk of introduction via air stream is linked to the source of virus (emission), the way of transmission (exposure) and the consequences of this exposure. At the source level, as the incoming shipments of BTV viraemic animals from Sardinia can be neglected, the risk is essentially linked to the percentage of infected and competent vectors and their dispersal ability. As these parameters cannot be easily estimated, the “amount” of virus circulating in the area illustrated by the number of BTV outbreaks and the vector abundance could be used as indicators of the risk. It seems difficult to specify which areas of Sardinia should be taken into account when studying the risk of introduction of the vector into Corsica (origin of the source). Indeed, in 2000, more outbreaks were identified in Sardinian province of the North-West of the island (Anonymous, 2001) while more vectors were trapped in the North-East. Furthermore, published data concerning outbreaks and/or vector distribution in 2003 are available. According to Delrio (Delrio *et al.*, 2002), *C. imicola* adults have been trapped in Sassari as early as May, rendering the introduction of vectors into Corsica at that period possible. Whereas the presence of the virus cannot be estimated, some elements related to the exposure have been collected. Firstly, wind conditions were suitable for the transport of infected midges in May and June 2003. Secondly, first serological evidence of BTV4 circulation was found in Corsica in May. Thirdly, in May 2003 *C. imicola* was present in Corsica, allowing the circulation of the virus once it has been introduced in the island. Thus, all these elements support the conclusion that BTV 4 could have been introduced in Corsica as early as in May 2003.

The first suspicion of BT serotype 2 in Corsica in 2000 was declared in Figari (SW) on 23 October 2000. In autumn 2003, the distribution of serotype 4 outbreaks was quite similar. Assuming a BTV incubation period of 7 days in sheep (Verwoerd & Erasmus, 1994), we could put forward that the new serotype could have been introduced in late summer followed rapidly by the occurrence of clinical signs. This rather simple scenario is ruled out by the *a posteriori* discovery of serological evidence of the BTV4 as early as May 2003. Therefore it seems that between the introduction of this new serotype and the emergence of clinical signs in October a silent phase of virus spread occurred at least since May 2003. Such a phase was already suspected to have existed prior to the 2000 BT epizootic but evidences were too scarce to confirm this hypothesis. In fact, some bovine adults sera collected at the end of September 2000 and retrospectively tested positive with the cELISA test seem to prove that the BTV2 virus was present before the first epizootic (October 2000, data not shown). But it remains unclear whether, after the introduction of BTV2, there was a silent phase of viral circulation or a phase of underreported clinical signs. At that time, the farmers and veterinarians’ awareness about this disease was low so an underreporting of symptoms was possible. After the two BTV2 epizootics, it can be assumed that if any clinical signs had arisen in May 2003 they would have been declared, unless they were too mild to be associated to BT by farmers.

In a BT enzootic zone, the absence of clinical signs is mainly due to a high level of immunity. In this context, the disease can however be observed when BT naïve animals are introduced as it occurred in La Reunion island in 2003 (Bréard *et al.*, 2005). As in Corsica, vaccination is always implemented after the isolation of the circulating virus strain, for each introduction of a new serotype, the sheep were always naïve. According to Gibbs (Gibbs & Greiner, 1994), this silent phase can be explained as following: “BT virus-infected midges population build up in spring and early summer with a primary cycle involving mainly cattle and, later, sheep are infected in a secondary cycle as a result of a spill-over”. Several other factors could explain the fact that clinical symptoms can occur much later than the initial virus circulation: the host preferences of *C. imicola* which seems to be more attracted by cattle (Nevill, 1978), a reduced/lesser vector capacity of *C. imicola* in the early season of activity, sheep transhumance which implies that sheep are located in mountain pastures where *C. imicola* is absent. Thus, vector abundance which peaked in June in 2003 does not seem to be sufficient to explain this late occurrence of clinical signs in sheep.

According to Dungu (Dungu *et al.*, 2004b), BTV serotypes can be classified according to their potential of transmission and their pathogenicity. Whereas the effect of BTV pathogenicity is mainly limited to sheep species, BTV transmission involves at least sheep, goats and cattle. Hence, there is probably a set of risk factors that influence the transmission and another one which influence the pathogenic effect of the infection.

Conclusion:

The existence of a silent phase in the spread of a newly introduced serotype of BT has major implications on the relevance of BT surveillance system based on the reporting of clinical symptoms since, by definition, they are unable to detect this silent spread. In the absence of active surveillance systems based on serological or virological tests, vaccination is delayed and can not limit the spread of a new serotype. It can indeed be assumed that in winter 2003, BTV4 was already largely distributed in Corsica when the vaccination started. The vaccination was thus really protective only in 2004. As the serotyping of positive calves and goats was only performed retrospectively in November 2003, the question of starting the vaccination sooner was not raised. Political and practical matters such as the fact that farmers are reluctant to vaccinate in late summer as ewes are pregnant should then have been taken into account. Nevertheless, the existence of an initial silent spread of BTV4 in Corsica in 2003 highlights and justifies in itself the importance of early warning systems for BT based on serological tests especially on unvaccinated susceptible animals as goats or cattle.

Annexe B : Bluetongue in Corsica 2000-2005: 3 serotypes, 3 different behaviours

Gerbier Guillaume^{1*},
Biteau-Coroller Fabienne¹,
Grillet Colette¹,
Parodi Jacques²,
Zientara Stephan³,
Baldet Thierry¹,
Roger François¹

¹. CIRAD, Centre de coopération internationale en recherche agronomique pour le développement, département d'élevage et de médecine vétérinaire, TA 30/E, campus international de Baillarguet, F-34398 Montpellier Cedex 5, France.

². Direction départementale des services vétérinaires de Corse du Sud. Immeuble Le Pélican - Résidence Parc d'Azur 20090 Ajaccio, France

³. UMR 1161 de virologie INRA/Afssa/ENVA. 23 Av. Général De Gaulle, 94704 Maisons-Alfort, France.

* Corresponding author: CIRAD, Centre de coopération internationale en recherche agronomique pour le développement, département d'élevage et de médecine vétérinaire, TA 30/E, campus international de Baillarguet, F-34398 Montpellier Cedex 5, France. gerbier@cirad.fr, Tel : +33 (0) 4 67 59 38 64

Ce papier sera soumis à *The Veterinary Record*.

Bluetongue (BT) is an arboviral disease affecting ruminants that begins to become well known in Mediterranean Basin due to the number of outbreaks that occurred in this area since 1998. It is transmitted by haematophagous biting midges of the genus *Culicoides* of which *Culicoides imicola* is considered as the main vector in the Mediterranean region (Mellor *et al.*, 1985a).

Three different serotypes of Bluetongue have been isolated in Corsica since 2000 : BT serotype 2 in 2000 (Zientara *et al.*, 2000b), serotype 4 in 2003 and serotype 16 in 2004 (Sailleau *et al.*, 2005). 5 years after the first emergence of BT in France, it becomes suitable to analyse the similarities and differences between the three French BT epizootics. In this country, vaccination against a particular serotype was always started after the confirmation of the presence of a wild strain of this serotype. Program vaccination started in 2001. Ovine population was then vaccinated once per year with an attenuated vaccine against serotype 2. As soon as serotype 4 was identified in 2003, this program also included this serotype. The serotype 16 was added in 2005 vaccination campaign. As vaccination was not always implemented with the same vaccine and with the same coverage, the circulation of the strains one year after detection, *i.e.* after the first round of massive vaccination of sheep, cannot be compared. The comparisons were then mainly based on the situation the year of the first declaration of a serotype. For BTV16, the comparison is quite limited because some reported BTV16 outbreaks were found to be due to adverse effect of the vaccine. Potgieter (2005), showed afterwards that the wild strain isolated in Corsica and the vaccine BTV16 strain were indistinguishable (Potgieter *et al.*, 2005). Note that, fortunately, BTV 16 was isolated in Corsica before the use of the attenuated vaccine.

Full of all these experiences about BT epizootics, we describe the chronology of the events occurring when a new serotypes is introduced in France. Then, we bring out essential features which should be kept in mind during future outbreak management.

Material and methods

Data were collected from official reports of the French veterinary services and from the national reference laboratory for bluetongue. In France, a BT outbreak is defined as a flock in which clinical symptoms evocating BT are observed and confirmed by PCR (Zientara *et al.*, 2002).

Results

All the outbreaks due to a new serotype started in autumn, in the South-West of the Corsica Island (Figure 1). The sequence of the events was even all similar: isolation of the virus in Sardinia and later isolation in Corsica. Serotype 2 was firstly detected on the 18th of August 2000 in Sardinia then on the 18th of October 2000 in Corsica (OIE, 2000b; OIE, 2000e). For the serotype 4, the disease was detected on the 25th of August 2003 in Sardinia and on the 18th of October 2003 in Corsica (OIE, 2003a; OIE, 2003b). The situation was a little different for BTV 16 as serological traces of BTV 16 were first recorded in Sardinia in 2003 on sentinel herd (Anonymous, 2004). Outbreaks in Corsica due to serotype 16 started only on the 18th of August 2004 (OIE, 2004g). Zientara (2002) and Potgieter (2005) showed close phylogenetic relationship between BTV2, 4 and 16 strains from Corsica and Sardinia. There is then few doubt that the source of the viruses were the circulation of these serotypes in Sardinia 12 kilometres far South from Corsica.

Moreover, there is evidence that, in 2003 (Gerbier *et al.*, 2006a) and probably in 2000, the viruses had spread silently few months before the apparition of clinical symptoms. Whereas BTV2 and 4 outbreaks occurred mainly in the South West of the island, BTV16 outbreaks were recorded quite rapidly in the North. The number of outbreaks (Table 1), morbidity and mortality rates (data not shown) observed in infected flocks were higher for BTV2 than for BTV4.

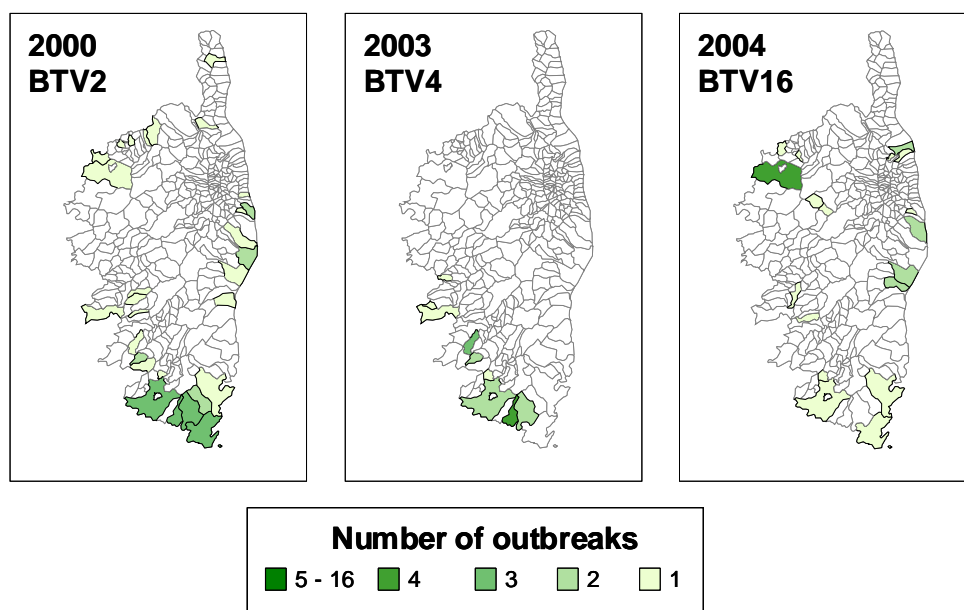


Figure 1 : Distribution of BT outbreaks in Corsica the first year after introduction of a serotype

After 2 annual rounds of massive vaccination using South African BTV2 attenuated vaccine, neither outbreak involving BTV2 nor the circulation of this serotype was observed. Inactivated BTV 2 vaccine (Merial©) was used in 2004 while the absence of circulation of this strain in Corsica was assessed. Nevertheless, its circulation was still reported in neighbouring areas.

Year	Suspicious	BTV2		BTV4		BTV16	
		Outbreaks	Vaccinated flocks or vaccination coverage [†]	Outbreaks	Vaccinated flocks	Outbreaks	Vaccinated flocks
2000	78	49	0	0	0	0	0
2001	394	335	80%*	0	0	0	0
2002	73	0	91%**	0	0	0	0
2003	61	0	528	16	528	0	0
2004	74	0	613	13	613	25	17
2005	50	0	NA	0	NA	0	0

[†] Situation at the beginning of the year, before the start of the vector activity

* (Edderai *et al.*, 2002)

** Seropositivity rate estimated from a sample of 2176 sheep from 107 vaccinated flocks

Table 1 : Annual number of BT suspicions, outbreaks and vaccinated flocks according to the serotype in Corsica between 2000 and 2005

After one year of vaccination using South African BTV4 attenuated vaccine, outbreaks due to the serotype 4 were only observed in 2004 in unvaccinated flocks (13 in total). Nevertheless, serological evidences of this serotype were still found on sentinel herds in 2005.

Vaccination against BTV16 has been stopped in January 2005 because of its attested adverse effects on sheep. Whereas only 17 flocks have been vaccinated (with only 10 showing BT evocating symptoms), no BTV 4 outbreaks were recorded in 2005. Thus, spatial spread, pathogenicity and persistence ability were clearly different.

Discussion

In South Africa, BTV serotypes 1-8, 11, 12, 16, 19 and 24 have been observed to have a high transmission potential (Dungu *et al.*, 2004b). In Corsica, the larger spread of BTV16 could be explained by either a high transmission potential of the virus, a better vectorial capacity or a sooner introduction of the strain in the island. As BTV 16 was present in Sardinia in 2003, the virus could have entered in Corsica at the end of 2003 or in early 2004. This scenario supposes a silent viral circulation as demonstrated for the serotype 4 (Gerbier *et al.*, 2006a). Anyway, this strain that can be either considered as an attenuated wild strain or a not enough attenuated vaccine strain does not seem to have the potential to create major epidemics.

Culicoides imicola was trapped for the first time in Corsica in 2000 but the exact date of its introduction is unknown (Delécolle & de La Rocque, 2002). Entomological surveillance of *Culicoides* in Corsica was set up in 2002 (Baldet *et al.*, 2004) and showed that the population is in a deep growing. In 2003, while very unusual hot temperatures were recorded in late spring, the higher peak of *C. imicola* density occurred earlier during this activity season. This observation suggests that some of these noticed differences could be partly explained by different vector dynamics.

According to Potgieter (2005), 2 groups of BTV4 strains are coexisting around the Mediterranean basin: one was isolating from Greece and Israel, the other one came from Italy and Corsica. The relationship between the isolates from Morocco and Spain and these two groups has not been known yet. So, any extrapolation about transmission potential or pathogenicity should be limited to strains belonging to the same group or topotype. The distributions of these topotypes are changing with time. In 2003, the situation in the west Mediterranean islands (Sardinia, Corsica and Balearic islands) was quite similar with in each cases the emergence of BTV2 outbreaks first and subsequently BTV4 outbreaks (Gerbier *et al.*, 2004). Since, BTV16 has spread over the westward but never reached the Balearic Islands and outbreaks involving BT serotype 4 have been declared in Morocco and Spain. So, in order to enhance decision making of future BT episodes the knowledge accumulated since 2000 in the Mediterranean region should be coupled with the identification of the serotype involved and if possible its topotype.

The publication of the experience of other countries in the management of BT epizootics should be encouraged.

Vaccination using attenuated live vaccine against BTV2 and 4 was successful to eradicate the clinical symptoms of BT. The circulation of BTV2 seems to be stopped or at least limited to a level below the detection capacity of the surveillance system. The situation in Corsica is then probably favourable because of a high level of herd immunity of the susceptible animals against the 3 serotypes. As it was observed in the Balearic Islands, it seems that after an epizootic phase, the eradication is reachable. This has to be modulated by the fact that firstly the susceptible populations in the Balearic Islands and in Corsica are limited and secondly the specific sheep breeds present may have a particular susceptibility to BTV.

The future evolution of the situation in Corsica will be related to the change in herd immunity and to the BTV status in rest of the Mediterranean basin. At this stage, more data are needed to evaluate if BTV4 will be eradicated or if cycles of outbreaks re-emergence will occur. As a conclusion, as it has been already shown in South Africa, different serotypes have different behaviours. This has to be taken into account for the evaluation of cost-effectiveness of massive vaccination for other countries of the Mediterranean basin as the main vector of BT, *Culicoides imicola*, is still spreading over the northward reaching the North-West of Spain (Sarto i Monteys *et al.*, 2005) and the French mainland coast (Pers. Com.).

Annexe C : Bluetongue control using vaccines: experience of the Mediterranean islands

Vet. Ital., 40 (4), 611-615

Vaccine

Bluetongue control using vaccines: experience of the Mediterranean islands

G. Gerbier⁽¹⁾, P. Hendriks⁽²⁾, F. Roger⁽¹⁾, S. Zientara⁽³⁾, F. Biteau-Coroller⁽¹⁾, C. Grillet⁽¹⁾, T. Baldet⁽¹⁾ & E. Albina⁽¹⁾

- (1) Centre de coopération internationale en recherche agronomique pour le développement (CIRAD-EMVT) Animal Health Programme, TA 30/G, Campus International de Baillarguet, 34398 Montpellier Cedex 5, France
- (2) Ministère de l'agriculture, DDSV du GARD, Mas de l'Agriculture, BP 78215, 30942 Nîmes Cedex, France
- (3) Agence française de Sécurité sanitaire des Aliments (AFSSA) – LERPAZ, Unité de virologie, 22 rue Pierre Curie, BP67, 94703 Maisons-Alfort Cedex, France

Summary

Following the emergence of bluetongue (BT) virus serotype 2 on the island of Corsica in 2000, annual monovalent vaccination campaigns of the ovine population were conducted between 2001 and 2003. Despite vaccination, outbreaks were reported from several areas in 2001, but since November 2001, the absence of clinical cases in Corsica proves that vaccination is effective. This experience in Corsica is examined and, using available data, compared to the situation and the vaccination strategies on other Mediterranean islands. In light of the expansion of a new serotype of BTV onto these islands, a Mediterranean information network for BT and other emerging diseases is proposed.

Keywords

Bluetongue – Mediterranean – Vaccination – Vaccine – Virus.

As the ability to control vector populations of insects is limited, vaccination against bluetongue (BT) remains a very useful disease control tool. Four objectives can be sought when using this tool, as follows:

- 1) prevention of the establishment of BT virus (BTV) in an area
- 2) reduction of the number of clinical BT cases
- 3) eradication of BTV infection
- 4) immunisation of animals that will be introduced into the affected region.

After defining the objectives of BT vaccination, the following questions remain:

- 1) What level of vaccination should be reached?
- 2) Which species should be immunised?
- 3) Is the objective of eradication feasible?
- 4) When should vaccination cease?
- 5) How can the arrival of new serotypes be prevented?

In this review we will first present the example of BT in Corsica between 2000 and 2002. After a summary of the epidemic, the use of vaccination is evaluated and then compared with experience in the other islands of the western Mediterranean (the Balearic islands, Sardinia and Sicily) (Fig. 1).

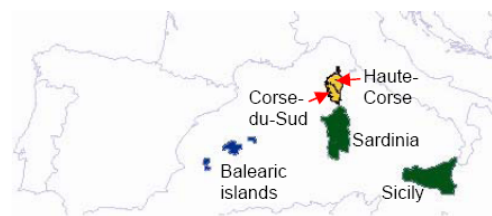


Figure 1
The larger islands of the western Mediterranean

History of bluetongue in Corsica

2000 and 2001 bluetongue epidemic

Following the first description of the principal vector (*Culicoides imicola*) in Corsica at the beginning of October 2000 (6), 49 outbreaks of BT (involving approximately 12 000 sheep) were later recorded on the island, whereas BT did not occur in continental France (Fig. 2). Serological surveys showed that BTV spread throughout the island. Corse-du-Sud was more infected with a 41% morbidity rate and twice the seropositivity rate of Haute-Corse (24% vs 40% in cattle, 16% vs 38% in sheep). Sheep were vaccinated with homologous vaccine against BTV-2 during the winter of 2000-2001. On average, 78% of the sheep flocks were vaccinated. Nevertheless, 335 outbreaks of BT were recorded between July and November 2001 and Haute-Corse was more affected than Corse-du-Sud (7). The last outbreak of BT in Corsica with serotype 2 was recorded on 8 November 2001. The 2000 and 2001 data confirm that BT commenced late in 2000 and ceased after the onset of cooler weather in November. A relatively mild winter allowed the persistence of infection and outbreaks began again the following July.

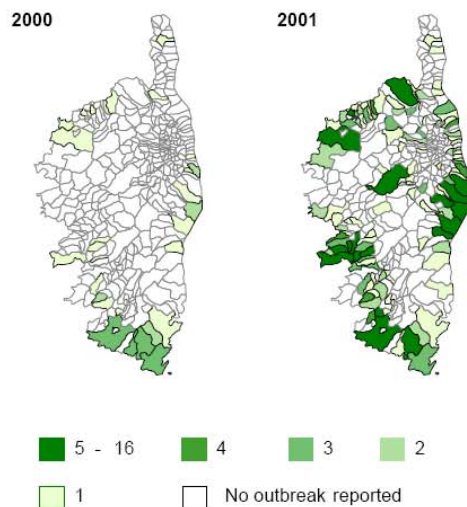


Figure 2
Spatial distribution of bluetongue cases in Corsica, 2000 and 2001

Source: National Food Directorate (Direction générale de l'Alimentation: DGAL)

Serological prevalence in non-vaccinated cattle and sheep

A total of 113 cattle herds were sampled in spring 2002, and 48% of the animals were seropositive. Corse-du-Sud has a significantly higher prevalence

(68%) than Haute-Corse (39%). The serological rate of infection increased in cattle between the winters of 2000-2001 and 2001-2002 (increase of 63% in Haute-Corse and 70% in Corse-du-Sud) with a stable difference between the two regions. The geographic distribution of samples influenced these results, as the seropositivity rates (>75%) were higher in coastal areas and lower (<25%) in the mountains (Fig. 3). At this stage of the epidemic, a substantial portion of the cattle population (32% in Corse-du-Sud and 61% in Haute-Corse) was still susceptible (seronegative) and so could play a role in virus multiplication and dissemination. Nevertheless, the highest proportion of seronegative cattle occurred in the central areas of Corsica where the altitude is high and vector abundance is limited. The more affected areas in 2000 and 2001 were those with more seropositive cattle. The amplifying role of cattle in high altitude areas would, therefore, seem to be limited.

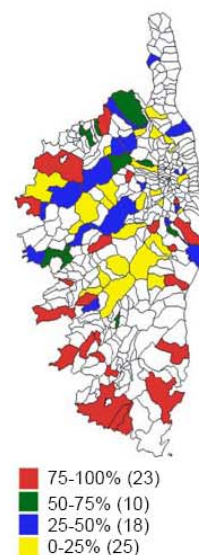


Figure 3
Seropositivity against bluetongue virus in cattle in Corsica in 2002

Source: National Food Directorate (Direction générale de l'Alimentation: DGAL)

Assessment of bluetongue virus circulation through serological analyses in sentinel cattle

Despite the vaccination campaign, circulation of BTV was observed in sentinel herds of cattle in 2002. Although the percentage of seroconversion at herd level is similar, the raw numbers show that the circulation of BTV was higher in Haute-Corse (Table I). This has to be compared with the presence of *C. imicola* during eight months from May to December 2002. The principal vector of BT is now permanently established in Corsica. To summarise

the situation in France in September 2003, neither *C. imicola* nor cases of BT have been found in mainland France and clinical BT due to BTV-2 has not been observed in Corsica since 8 November 2001. Vaccination was very effective in reducing clinical symptoms but BTV still circulates at a low level.

Table I
Seroconversions in cattle in Corsica in 2002

Herds	Corse-du-Sud	Haute-Corse
Herd level		
Number of herds	35	48
Percentage of herds with at least one seroconversion	37.1% (13/35)	64.6% (31/48)
Animal level		
Number of animals	229	1 495
Seroconversion	16.6%	12.9%

Evaluation of vaccination in Corsica

The possible use of vaccination against BT was discussed by the European Union scientific committee on animal health and welfare on 27 June 2000, prior to the initial report of BT in Corsica. At the national level, the case was submitted to the official risk assessment institution, the French Agency for Food Safety (AFSSA: Agence française de Sécurité sanitaire des Aliments). The choice to vaccinate was largely based on the assumption that *C. imicola*, which had been captured for the first time in Corsica, would survive the winter of 2000-2001. It was decided to vaccinate sheep, but not other species, with the South African attenuated monovalent BTV-2 vaccine as only BTV-2 had been isolated in the outbreaks of 2000 and 2001.

Impact of vaccination on serological status of ruminants

Serological status after the first vaccination campaign (2000-2001)

Assuming that there was no contact with vectors because of altitude, a sample of 13 herds (1 461 animals) vaccinated in February 2001 and 9 non-vaccinated herds (306 animals) was selected (4). These flocks went to summer pastures in 2001. Seven months after vaccination they were tested using the competitive immunosorbent assay (c-ELISA). The seropositivity rate was significantly different ($\chi^2 = 36.88$, $p < 0.05$) (Table II) between the two populations. Some positive results in the vaccinated population were due to previous infection. The non-vaccinated population was taken as a control population to calculate the effect of vaccination. From the 1 461 animals vaccinated, 43% were positive before vaccination and 275 became

positive after vaccination (out of 831 negative animals before vaccination). Vaccination caused seroconversion of only 33% of the seronegative animals (Fig. 4). This very poor result has been explained by the delay between vaccination and serology (7 months), the vaccination protocol (single vaccination of all sheep, regardless of age) and vaccination failure (i.e. excessive delay between vaccine reconstitution and injection). These results fully explained the poor protection of sheep herds during the 2001 epidemic.

Table II
Serological results in transhumant sheep

Sheep population	c-ELISA +	c-ELISA -	Seropositivity rate	Standard deviation
Vaccinated transhumant population	905	556	62%	0.0127
Non vaccinated transhumant population	132	174	43%	0.0283

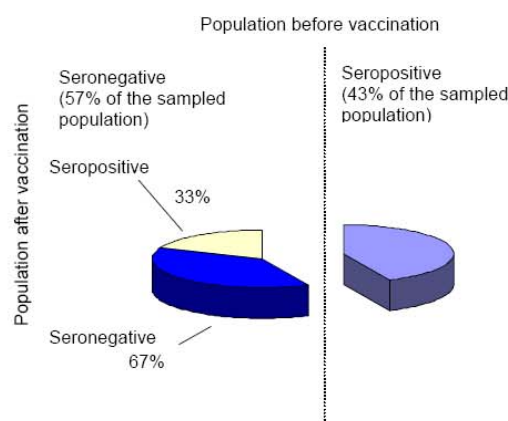


Figure 4
Effect of vaccination in transhumant sheep

Serological status after the second vaccination campaign (2001-2002)

The proportion of BT-seropositive animals is 91% on average. The northern and southern areas of Corsica show the same results (Table III). The serological prevalence in 2002 is obviously very high and is the result of a more efficient vaccination campaign during the 2001-2002 winter, and also because of the very high levels of virus circulating during the 2001 epizootic. These data are consistent with the absence of clinical BT amongst ruminants in Corsica in 2002.

Effect of vaccination

A comparison of mortality and morbidity rates between vaccinated and non-vaccinated animals shows that non-vaccinated animals are more affected, which validates the decision to undertake massive vaccination in 2000 (Table IV).

Table III
Serological status of vaccinated sheep flocks in Corsica

Flocks	Corse-du-Sud	Haute-Corse	Total
Number of flocks	57	50	107
Number of samples	1 118	1 058	2 176
Positive	91%	91%	91%
Negative	7%	7%	7%
Doubtful	2%	2%	2%

Table IV
Bluetongue outbreaks in Corsica in 2001

Flocks	Haute-Corse	Corse-du-Sud	Total
Infected flocks			
Total number	211	124	335
Sheep belonging to infected flocks	63 274	21 664	84 938
Vaccinated sheep in infected flocks	48 833	17 678	66 511
Morbidity rate			
Infected flocks	16.67%	14.18%	16.03%
Vaccinated animals belonging to infected flocks	6.06%	6.99%	6.31%
Non vaccinated animals belonging to infected flocks	52.52%	46.04%	51.12%
Mortality rate			
Infected flocks	12.77%	12.43%	12.68%
Vaccinated animals belonging to infected flocks	4.65%	6.41%	5.12%
Non vaccinated animals belonging to infected flocks	40.22%	39.11%	39.98%

Source: National Food Directorate (Direction générale de l'Alimentation: DGAL)

Comparison with the other Mediterranean islands

The situation in Corsica is best compared to that of the other islands in the western Mediterranean where BT outbreaks due to BTV-2 were recorded, namely: Sardinia, Sicily and the Balearic islands (Fig. 5). The presence of *C. imicola* was confirmed in all of these islands except Ibiza (5). After one annual vaccination campaign from October 2000 to spring 2001, no clinical cases of BT were recorded in the Balearic

islands (1). Only two annual vaccinations of sheep were necessary to obtain the same results in Corsica. In Sardinia, the vaccination coverage was between 94.58-99.97% and in Sicily between 22.93-93.90% in 2002 (2). In Sicily and Sardinia, clinical cases of BT were still recorded during 2002-2003 despite annual vaccination (10 and 53 outbreaks compared to 6 090 and 6 in 2001-2002, respectively) using the same attenuated vaccine against BTV-2. Three important factors may explain this contrast: First, the sheep population is much greater on Sardinia and Sicily than on the other islands (Table V). It is also possible that an 'island effect' played a role in the extinction of BTV infection in the Balearic islands as the susceptible population may not have been sufficient to maintain the infection; similar findings have been observed with other contagious diseases like measles (3). Second, the geographic position of the different islands has to be taken into account. The Balearic islands are located 200 km from continental Spain but 350 km from Sardinia, whereas Corsica and Sardinia are separated by only 12 km, and Sicily and continental Italy are almost connected. It is then probable that only the Balearic islands can be considered an independent entity from an epidemiological perspective. The close interaction between Sicily and continental Italy is illustrated by the presence of the same serotypes of BTV in Sicily and Calabria (BTV serotypes 2 and 9). Third, vaccination in the Balearic islands was implemented very rapidly whereas it took three months in France.

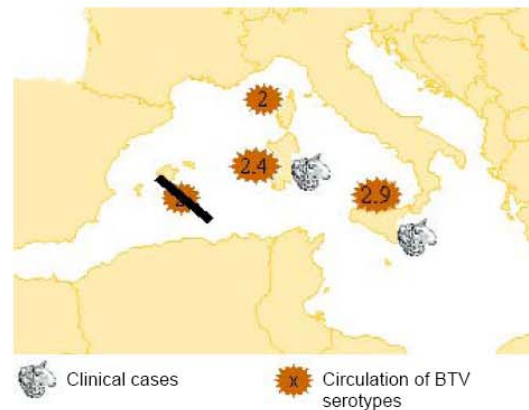


Figure 5
Bluetongue in the larger islands of the Mediterranean, September 2003

It is very important to evaluate the level of vaccination coverage that should be attained to eradicate disease, specifically the herd immunity threshold (HIT). An empirical evaluation gives 80% (Charles Nicolle's law) but it has been shown that HIT calculation should be based on the evaluation

of the strength of spread of the disease measured by the basic reproduction ratio R_0 . Basically, if $R_0 < 1$, the disease cannot persist in a population. Let R_0 be the reproduction ratio in a population; to decrease

R_0 to a value below 1, a simple calculation indicates that the proportion of vaccinated animals should be more than $1 - 1/R_0$. In vector-borne diseases, several factors attributable to the vector will change the

Table V
Bluetongue in the larger islands of the Mediterranean

Island	Area (km ²)	Sheep	Goats	Cattle	First	BT clinical cases	
						Last	
Sardinia	24 090	3 283 000	283 000	230 000	18 August 2000	Ongoing	
Sicily	25 700	1 032 000	197 000	465 000	10 October 2000	Ongoing	
Corsica	8 682	137 000	24 800	55 860	18 September 2000	08 November 2001	
Ibiza	572				No outbreak		
Majorca	3 639	334 775	19 228	46 934			
Minorca	702				9 September 2000	27 November 2000	

approach (biting rate, trophic preferences, survival rate, incubation period and vectorial competency). Consequently, even with high vaccination coverage, it is still possible that the virus will persist in small areas or in reservoir animals. There is then a risk of re-emergence when coverage declines. For instance, the very high coverage in Sardinia in 2002 (from 95% to 99%) did not prevent all outbreaks.

Conclusion

The experience in the Balearic islands, Corsica, Sicily and Sardinia showed that attenuated vaccine can safely be used to reduce the direct costs of BTV infection, i.e. morbidity and mortality in sheep. Even when side effects were reported by farmers, investigations did not confirm them. In September 2003, the question for the French authorities was whether to stop vaccination after two years without any outbreaks of BT. However, this question has been negated by the occurrence of new outbreaks of BT due to serotype 4 in Sardinia. On 25 August 2003, outbreaks were reported in Sardinia and serotype 4 was confirmed on 15 September 2003. It was then decided to vaccinate animals in Corsica against serotypes 2 and 4. In this case, the vaccination strategy was to prevent the establishment of the new serotype in Corsica. This experience illustrates the need for regional collaboration to define optimal vaccination strategies. The importance of information about circulating serotypes has also to be stressed. For this purpose, it is proposed that a Mediterranean information network be established for BT and other emerging diseases.

References

1. Anon. (2002). – Medidas de lucha contra la epizootia de lengua azul en las islas Baleares den año 2000, 9 pp.
2. Anon. (2003). – Bluetongue in Italia: copertura vaccinale, focolai e sorveglianza sireologica. Istituto Zooprofilattico Sperimentale dell'Abruzzo e del Molise 'G. Caporale', Teramo (izs.it/bluetongue/epidemiologia/scarico.html accessed on 24 September 2004).
3. Cliff A. & Haggett P. (1995). – The epidemiological significance of islands. *Health & Place*, **1** (4), 199-209.
4. Edderaï D., Le Fur C., Hendrikx P., Grillet C., Zientara S., Albina E. & Gregory M. (2002). – La vaccination contre la fièvre catarrhale ovine en Corse. *Epidémiol. Santé Anim.*, **42**, 33-42.
5. Miranda M.A., Borrás D., Rincon C. & Alemany A. (2003). – Presence in the Balearic Islands (Spain) of the midges *Culicoides imicola* and *Culicoides obsoletus* group. *Med. Vet. Entomol.*, **17** (1), 52-54.
6. Zientara S., de La Rocque S., Gourreau J.M., Grégory M., Diallo A., Hendrikx P., Libeau G., Sailleau C. & Delécolle J.-C. (2000). – La fièvre catarrhale ovine en Corse en 2000. *Epidémiol. Santé Anim.*, **38**, 133-144.
7. Zientara S., Grillet C., de La Rocque S., Gourreau J.M., Grégory M., Hendrikx P., Libeau G., Sailleau C., Albina E., Bréard E. & Delécolle J.-C. (2001). – La fièvre catarrhale ovine en Corse en 2001. *Epidémiol. Santé Anim.*, **40**, 129-134.

Annexe D : Prospections entomologiques dans la région de Roquebrune sur Argens suite à la découverte de spécimens de *Culicoides imicola* vecteur de la fièvre catarrhale ovine



Rapport de mission
VAR
OCTOBRE 2004

Prospections entomologiques dans la région de Roquebrune sur Argens suite à la découverte de spécimens de *Culicoïdes imicola*, vecteur de la fièvre catarrhale du mouton

Réalisée du 18 au 20 octobre 2004

par

Bruno Mathieu

Entomologiste, EID-Montpellier

Fabienne Biteau-Coroller

Épidémiologiste, ISPV, MAD (FCPR), CIRAD-EMVT

Thierry Baldet

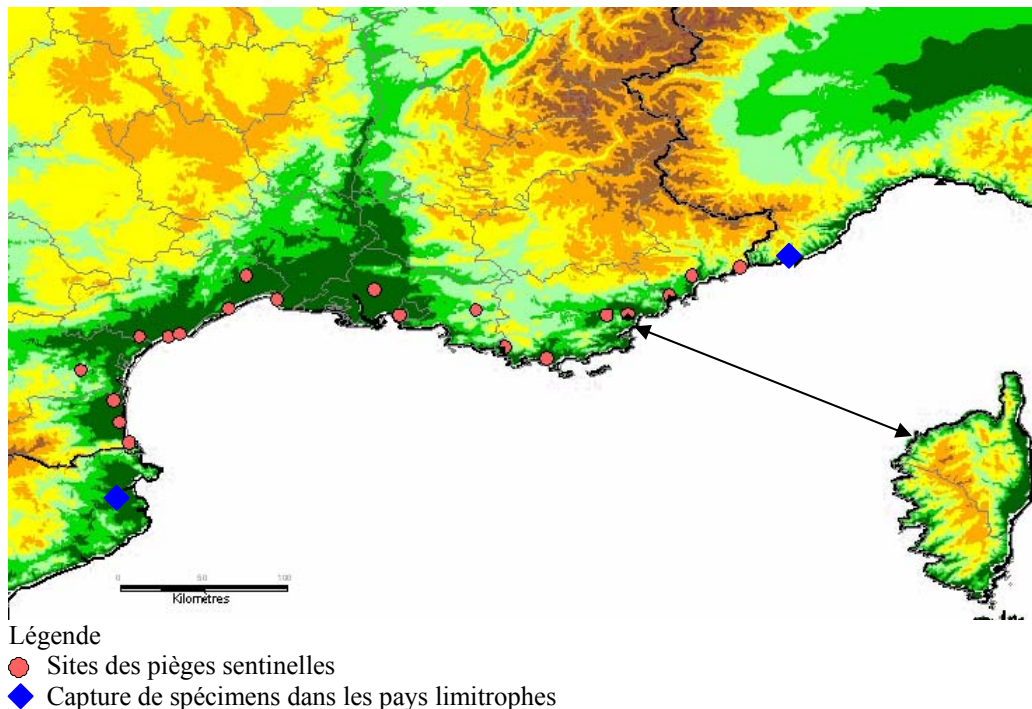
Entomologiste, CIRAD-EMVT

26 octobre 2004

1] Contexte

Depuis 2001, l'Entente Interdépartementale de Démoustication (EID) est chargée de la surveillance entomologique du vecteur avéré de la fièvre catarrhale du mouton, *Culicoides imicola*, sur le littoral méditerranéen continental. Ce moucheron de quelques millimètres n'a jamais été isolé en France continentale mais la littérature décrit que celui-ci peut être transporté sur de très longues distances par les vents (jusqu'à 700 km).

Or, ce vecteur est présent en abondance en Corse et notamment une augmentation de ces densités a été observée en Balagne, région de la Corse la plus proche du littoral continental (Cf. carte n°1). On note également la capture de quelques spécimens capturés depuis 2003 en Espagne et en Italie à proximité de la frontière française. Cette présence « à portée de vents » de ces insectes permet légitimement de craindre à une introduction de cette espèce sur le continent.



Carte n°1 : Situation du littoral continental français par rapport aux zones de présence de *Culicoides imicola* dans le bassin méditerranéen.

Une carte de prédiction des zones favorables à *C. imicola* se basant sur des indices environnementaux extraits de données satellitaires met en évidence des zones en France continentale, et notamment sur le littoral, où les conditions sont favorables à une abondance élevée de ce vecteur (cf. annexe I)

Au cours du piégeage sentinelle réalisé en juin 2004 (nuit du 03 au 04 juin 2004) à Roquebrune-sur-Argens (83PS4-20), une femelle de *C. imicola* (1 femelle pare gravide sur un total de 8 *Culicoides* piégés) a été capturée. Les 6 autres piégeages sentinelles effectués la même nuit dans cette région, c'est-à-dire 3 dans le Var et 3 dans les Alpes Maritimes, étaient tous négatifs en *C. imicola*. Consécutivement à cette découverte, la DDSV du Var (83) a réalisé des piégeages complémentaires sur ce seul et même site sentinelle positif (83PS4) pendant deux nuits consécutives (05 et 06 juin 2004). Ce nouveau piégeage n'a pas permis de retrouver d'autres spécimens de *C. imicola*. L'hypothèse de spécimens erratiques a ainsi été privilégiée par rapport à l'installation d'une population localement au vu des données collectées.

Cet événement s'est reproduit quelques mois plus tard en septembre 2004 (nuit du 23 au 24 septembre 2004) avec la capture d'une autre femelle de *C. imicola* (1 femelle pare sur un total de 2 *Culicoïdes* piégés) à Roquebrune-sur-Argens, soit sur le même site sentinelle (83PS4-24 bis). De la même façon les 6 autres sites sentinelles de la région Provence-Alpes-Côtes-d'Azur (3 dans le Var et 3 dans les Alpes Maritimes) effectués la même nuit se sont révélés négatifs en *C. imicola*. On remarque également que depuis l'alerte du 04 juin 2004 (cf. paragraphe précédent), les piégeages sentinelles effectués dans cette région (soit un total de 4 dans le Var et de 3 dans les Alpes maritimes) ont tous été négatifs en *C. imicola* (campagnes 21 (28 juin 2004), 22 (21 juillet 2004) et 23 (18 août 2004). Environ deux semaines après cet épisode, la DDSV du Var (83) a de nouveau procédé à des piégeages complémentaires sur le site sentinelle positif (83PS4 - nuit du 04 au 05 octobre 2004) et dans le centre de pensions pour chevaux de M. Valette situé à proximité (nuit du 05 au 06 octobre – 83BT3, cf. annexe III). La présence de *C. imicola* a alors été confirmée sur ces deux sites. En effet, 3 femelles de *C. imicola* (2 pares gravides et 1 nullipare) sur un total de 6 *Culicoïdes spp* ont été piégés sur le site sentinelles (83PS4) et 2 femelles de *C. imicola* (2 nullipares) sur un total de 11 *Culicoïdes spp* dans la pension pour chevaux de M. Valette (84BT3).

La confirmation de la présence de *C. imicola* (5 spécimens femelles) sur 2 sites relativement proches prospectés suite à une détection d'un spécimen femelle sur un de ces sites 12 jours auparavant infirme l'hypothèse d'individus erratiques. D'autre part, la présence de spécimens nullipares (c'est-à-dire n'ayant jamais pondu et par conséquent relativement jeune *i.e.* moins de 3 ou 4 jours) sur les 2 sites a tendance à nous orienter vers l'hypothèse d'une population locale installée.

Compte tenu de l'importance des implications d'une telle hypothèse, une enquête plus approfondie de la situation de *C. imicola* s'est avérée nécessaire.

2] Objectifs de la mission

L'objet de cette mission, au vu des événements décrits précédemment, est notamment de vérifier la présence d'une population locale installée de *C. imicola* au niveau de Roquebrune sur Argens (var). La zone d'étude ciblée est délimitée dans la figure 1

Dans l'affirmative, une prospection plus large de la zone sera envisagée pour permettre de préciser l'extension de cette présence.

Cette mission doit ainsi permettre de collecter davantage de données sur le terrain afin d'apprécier plus précisément l'ampleur de la présence de *C. imicola* dans cette zone, qui reste à définir. Une bonne appréhension de la situation entomologique est en effet indispensable pour orienter de manière ajustée le suivi ultérieur à mettre en place dans ce secteur.

3] Méthodologie

- identification des meilleurs sites de piégeage dans un secteur défini le long de l'embouchure de l'Argens (rectangle de 15 km de long sur 3 km de large cf. figure 1) en relation avec les élevages recensés de la zone (ovins, bovins, caprins, équins) et les sites potentiellement à risque en prévision d'un relais assuré par la DDSV 83,
- réalisation de piégeages une première nuit
- au vu des premiers résultats et des conditions météorologiques, orientation de la seconde nuit de piégeages soit sur les mêmes sites soit sur d'autres sites plus éloignés afin d'appréhender la distribution d'une population locale installée,
- sur le ou les sites positifs, réalisation de prospections larvaires pour isoler des larves de *Culicoïdes*. Dans ce cas, le diagnostic de *C. imicola* pourra se faire par PCR (Polymerase Chain Reaction)

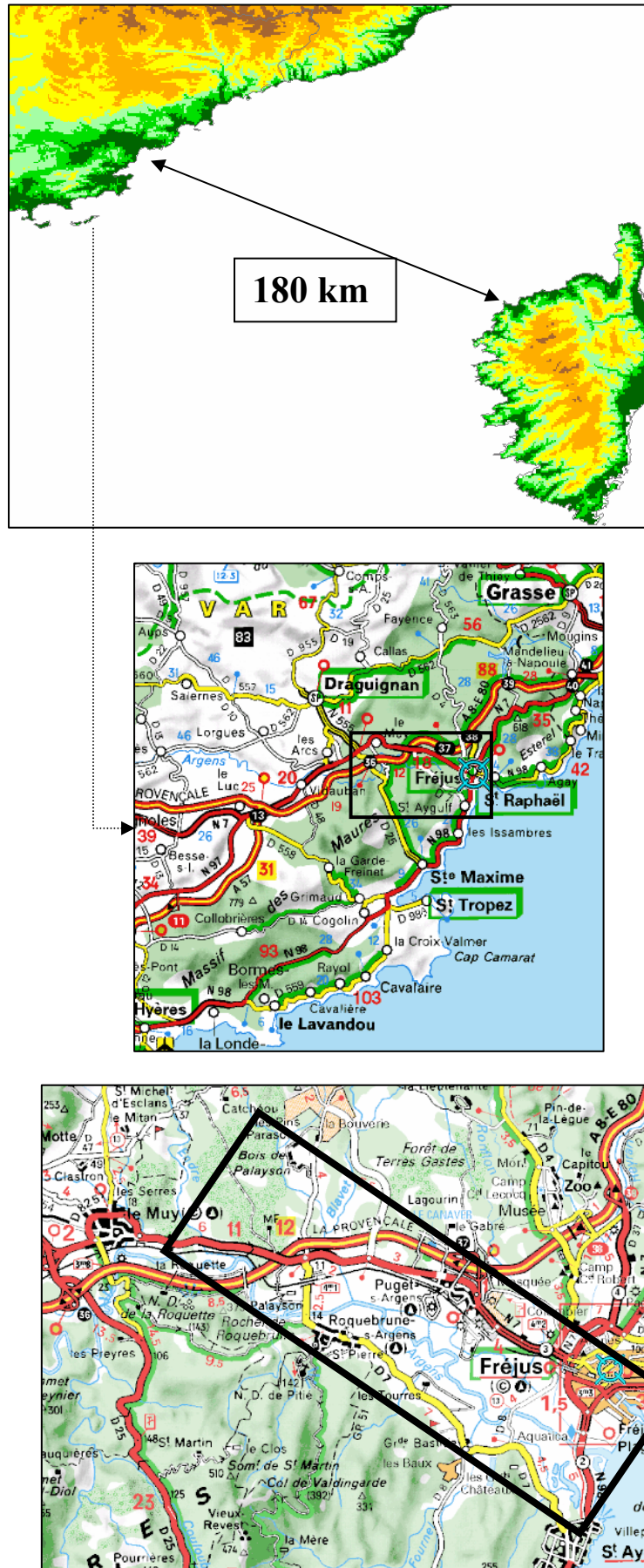


Figure 1 : Situation de la zone d'étude – Roquebrune sur Argens (Var, France)

4] Résultats

Deux nuits de piégeages ont été réalisées (18-19/10/2004 et 19-20/10/2004)

4-1] Première nuit 18-19/10/04

Les conditions de cette première nuit étaient bonnes (entre 12°C et 14°C la nuit – pluie fine le matin à partir de 5h00).

Un total de 10 pièges UV a été posé sur un rectangle de 15 km de long sur 3 km de large le long de l'Argens (cf. situation des sites de piégeages sur la figure 2) depuis St Aygulf (bord du littoral) jusque Roquebrune sur Argens (au nord de l'autoroute A7).

Le détail des *Culicoïdes* capturés au cours de cette nuit sur les différents sites est présenté dans le tableau I ci-dessous. L'annexe III donne des informations plus précises sur les différents sites de piégeages notamment les animaux présents et la localisation en Lambert II étendu (longitude et latitude)

<i>n° site</i>	<i>Nom établissement</i>	<i>Nombre de Culicoïdes</i>	<i>Nombre de C. imicola</i>	<i>Sexe Parturité</i>	<i>Remarques</i>
83BT1	Écuries Les Murettes	60	3	3 femelles : 1 NP + 2 P	
83BT2 = 83 PS 4	Élevage ovin	3	2	2 femelles : 2 P	Rappel - positif en : - juin 2004 (1 spécimen) - septembre 2004 (1 spécimen) - début octobre 2004 (3 femelles)
83BT3	Écuries de M. Valette	20	6	1 mâle 5 femelles : 2 NP + 3 P	Voisin du site sentinelle
83BT4	Élevage ovin	60	39	1 mâle 38 femelles : 21 NP + 17 P	Troupeau non transhumant d'environ 150 brebis
83BT5	Pâturage ovin de M. Persolja	3	0		Site ouvert <i>a priori</i> peu favorable
83BT6	Particulier, Lieudit 14 « Aire belle »		0		
83BT7	Centre Équestre de Fréjus	12	0		Autre endroit sur le site potentiellement plus favorable
83BT8	Centre Équestre de St Aygulf	12	4	4 femelles : 4 P	
83BT9	Centre Équestre de la Rouvière	148	132	19 mâles 113 femelles : 46 NP + 67 P	
83BT10	Casse Roger Pneus	108	48	2 mâles 46 femelles : 18 NP + 28 P	
Total		440	234		

Légende

NP : femelles nullipares, P : femelles pares

Tableau I : Synthèse des piégeages de *Culicoïdes* réalisés la nuit du 18 au 19 octobre 2004 sur 10 sites de la vallée de l'Argens (Var).

La première nuit de piégeage a permis de détecter 7 sites positifs en *C. imicola* parmi les 10 sites prospectés avec un total de 234 spécimens de *C. imicola*. Sur 7 de ces sites positifs, on dénombre un total de 23 mâles, 88 femelles nullipares et 123 femelles pares.

La forte proportion de mâles et de femelles nullipares laisse à penser que nous sommes en présence du démarrage d'une nouvelle génération (productivité larvaire et émergence d'adulte en cours). La quantité des spécimens adultes de *C. imicola* va probablement augmenter dans les prochains jours d'autant plus qu'un redoux est en cours sur la façade maritime varoise.

De plus, on note une relative abondance de *C. imicola* (plus de 10 individus par piège) dans les pièges relevés sur les sites BT4, BT9 et BT10, situés sur la rive droite de l'Argens entre Roquebrune sur Argens et St Aygulf.

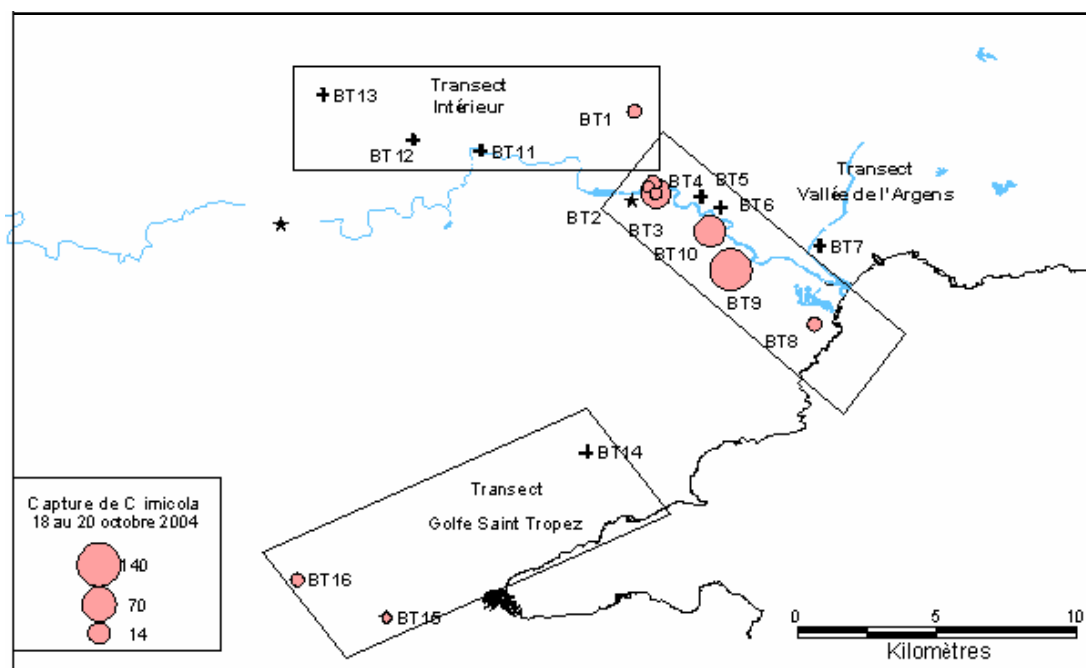


Figure 2 : Situation géographique des 16 sites de piégeages, identifiés de BT1 à BT16

Suite à cette première nuit de piégeage, il a été jugé opportun de piéger une seconde nuit afin de réaliser de 2 petits transects (cf. figure 2) :

- le premier, composé de 3 sites, a été orienté le long de l'Argens en allant vers Draguignan (Haut Var : élevages ovins importants) pour évaluer l'étendue de l'installation de *C. imicola* à l'intérieur des terres.
- le second, composé également de 3 sites, est situé dans le golfe de St Tropez (au sud-ouest du précédent –toujours dans le Var) pour vérifier l'extension de *C. imicola* le long du littoral varois et pour objectiver également la pertinence d'une éventuelle intervention insecticide.

Les conditions météorologiques étaient bonnes avec une température comprise entre 12°C et 15°C la nuit. Une pluie fine a commencé le matin vers 6h00.

Les résultats de cette deuxième de piégeage (nuit du 19 au 20 octobre 2004) sont présentés dans le tableau II.

n° site	Nom établissement	Nombre de Culicoides	Nombre de <i>C. imicola</i>	Sexe Parturité	Remarques
Transect intérieur					
83BT11	Écuries de la Cavale	4	2	2 femelles : 1 NP + 1 P	
83BT12	Écuries Magri	1	0		Site venteux, chevaux en stabulation la nuit
83BT13	Particulier, lieudit « Le Glabre »	5	0		Peu de chevaux dispersés en pâture
Transect dans le golfe de Saint Tropez					
83BT14	Haras de Ste Maxime	2	0		Site en pente, exposé au vent, sol sec et caillouteux, chevaux dispersés en pâture
83BT15	Écuries de Grimaud	5	1	1 femelle : 1 P	
83BT16	Le relais du Mène	162	3	3 femelles : 1 NP + 2 P	
TOTAL		179	6		

Tableau II : Synthèse des piégeages de *Culicoides* réalisés la nuit du 19 au 20 octobre 2004 sur les 6 sites autour du Muy et dans le golfe de Saint-Tropez (Var)

On note ainsi l'absence *a priori* de *C. imicola* au niveau du Muy et de Trans en Provence (nord-ouest de Roquebrune sur Argens). Cependant, le dispositif de piégeage est trop fragmentaire pour conclure définitivement sur l'extension des populations littorales vers l'intérieur des terres.

Les résultats positifs sur les sites 83BT15 et 83BT16 situés dans le golfe de Saint Tropez mettent en évidence la présence de population installée de *C. imicola* dans ce golfe. Au vu du relief dans cette zone littoral avec notamment la présence entre les deux golfes du massif des petites maures (site de collines *a priori* peu favorable, peu d'élevage (point à vérifier), pente, chânaie et incendie en juin 2003), le passage difficile de populations de *C. imicola* depuis Roquebrune sur Argens semble difficile. Nonobstant le risque de diffusion par transports d'animaux comme notamment les déplacements de chevaux entre différents centres équestres de cette zone, il s'agit là probablement d'un autre point d'entrée à partir de la Corse.

En première approche, il semblerait que les populations en présence soient *a priori* moins abondantes que dans le Golfe de St Aygulf – ceci restant encore à confirmer par des piégeages plus détaillés. L'orientation des vents dominants par rapport à l'orientation desdits Golfes peut donner une première explication à cette observation. On doit cependant garder à l'esprit que, si la thèse d'un transport aérien de *C. imicola* depuis la Corse est correcte, les sites les plus exposés dans le golfe du Saint Tropez pour cette introduction se situe plus au sud-est.

5] Conclusions et Recommandations

5-1] Conclusions

C. imicola est installée sur plusieurs sites de la zone étudiée. Cette installation date de plusieurs semaines (voire de quelques mois), notamment au niveau des 3 sites précités : 83BT4, 83BT9 et 83BT10. Les individus adultes piégés au cours de cette mission sont indubitablement issus d'une génération locale.

Au regard de cette mission, on confirme qu'il aurait été opportun de réaliser un tel quadrillage (10 piégeages et 2 nuits consécutives) en juin 2004 suite à la première découverte d'un spécimen femelle de *C. imicola* au niveau du site sentinelle de Roquebrune sur Argens (à l'instar de ce qui avait été réalisé suite à la découverte d'un spécimen de *C. imicola* au site sentinelle du Castellet en mai 2003). Nous aurions alors probablement détecté les populations installées du côté de la rive droite entre Roquebrune et St Aygulf. Cette suggestion avait été alors rejetée et on s'était contenté d'un seul piégeage complémentaire réalisé par la DDSV 83 au niveau du seul site sentinelle qui avait été négatif ne préjugant en rien de la présence de populations installées de *C. imicola* dans le secteur.

A l'avenir, de telles investigations entomologiques (plusieurs piégeages et 2 nuits consécutives) devraient être systématiques autour d'un nouveau site sentinelle où un (des) spécimen(s) de *C. imicola* est détecté.

A la lumière de ces résultats et au vu des antécédents de piégeages de spécimens de *C. imicola* au Castellet et à la Roquette sur Siagne, il est recommandé de mettre des piégeages au niveau d'autres sites dans les golfes de Nice, Cagnes sur Mer, St Tropez, Le Lavandou, Hyères. Ces piégeages pourront par exemple être réalisés par les DDSV concernés (Alpes Maritime et Var). Les lieux de piégeages à privilégier sont notamment les centres équestres comme par exemple le poney club de Pampelonne, bien exposé par rapport à la Corse. Les élevages ovins ne sont pas forcément les sites les plus appropriés pour évaluer l'aire de répartition de *C. imicola* sur le littoral d'autant plus qu'une partie (large partie ?) transhument jusqu'au début de l'automne. Cependant, il reste important de s'intéresser à la situation de *C. imicola* dans les zones où la densité ovine est forte.

5-2 Recommandations

La question de la désinsectisation de la zone de présence du vecteur est une question qui a été soulevée suite à la première capture d'un *C. imicola* à Roquebrune sur Argens en septembre 2004. Ces données collectées lors de cette mission permettent d'apporter de nouveaux éléments de réponse. Les objectifs d'une telle intervention seraient (i) de confiner les populations sur le littoral afin d'éviter une diffusion dans l'arrière pays où les élevages ovins sont plus importants et également (ii) de limiter le risque d'obtenir des populations très importantes au printemps prochain ce qui entraînerait un risque accru d'amplification et de diffusion du virus si celui-ci est introduit par les insectes ou des animaux.

Les résultats attendus sont séduisants mais ne seront pas forcément atteints au vu notamment de l'extension de l'espèce sur le littoral. En effet, la zone d'activité de *C. imicola* adultes n'a pas été bien circonscrite. Tant qu'une prospection plus fine dans les autres golfes n'a pas été réalisée, il est difficile d'objectiver le niveau d'extension de cette espèce le long du littoral. Ainsi, si le traitement insecticide est efficace dans la zone ciblée, il peut ne pas suffire à freiner le phénomène si l'insecte a déjà investi une large étendue du littoral. Il apparaît donc important de vérifier la présence ou non d'individus sur l'ensemble du littoral de la région PACA par la mise en place par exemple d'une nuit de piégeage sur différents favorables lorsque les conditions météorologiques sont propices. En effet, dans un premier temps, le nombre de pièges sur un site n'a pas besoin d'être multiplié. Des investigations plus fines pourront être proposées dans un second temps dans les zones positives. L'idéal serait de les réaliser avant l'hiver

La présence du vecteur avéré de la fièvre catarrhale du mouton pose de manière différente la question de la surveillance de la maladie en France continentale d'autant plus que des foyers cliniques de cette maladie ont cours en Espagne et en Italie continentales. Actuellement, une surveillance sérologique est mise en place au niveau des animaux d'abattoirs. Une réflexion à ce propos est donc nécessaire afin de tenir compte de l'évolution majeure de la situation en France continentale. Il faut en effet bien redéfinir les objectifs de cette surveillance et de mettre en place un protocole de surveillance qui répondent à ces objectifs.

Dans cette optique, il convient de garder à l'esprit que la capture de spécimens de *C. imicola* ne signifie pas que c'est le moment propice pour faire des tests sérologiques sur des ovins pour mettre en évidence des séroconversions. Le risque dans ce cas est d'aboutir à l'effet pervers que les éleveurs ovins qui auront fait l'expérience de cette intervention ne désireront plus participer à la surveillance entomologique. L'efficacité de la surveillance sérologique repose essentiellement sur la possibilité de réaliser des analyses en continue tout au long de la période à risque de circulation du virus et préférentiellement sur des espèces qui n'expriment pas de signes cliniques comme les bovins ou les caprins. L'expérience corse a en effet montré une circulation à bas bruit avant l'apparition de signes cliniques dans les cheptels ovins, bien que le niveau de cette circulation reste difficile à quantifier au vu des données disponibles.

Les résultats de cette mission qui a consisté essentiellement à densifier les piégeages suite à la capture d'un *C. imicola* montre la pertinence de cette démarche dans les zones nouvellement colonisées par cette espèce. Il apparaît ainsi recommandé de renouveler cette démarche dans les départements les plus exposés au risque de colonisation depuis la Corse, l'Italie ou l'Espagne (Catalogne), c'est-à-dire dans les départements d'Alpes maritimes, du Var et de Pyrénées-Orientales, et ce, dès le printemps 2005 si des sites se révèlent positifs.

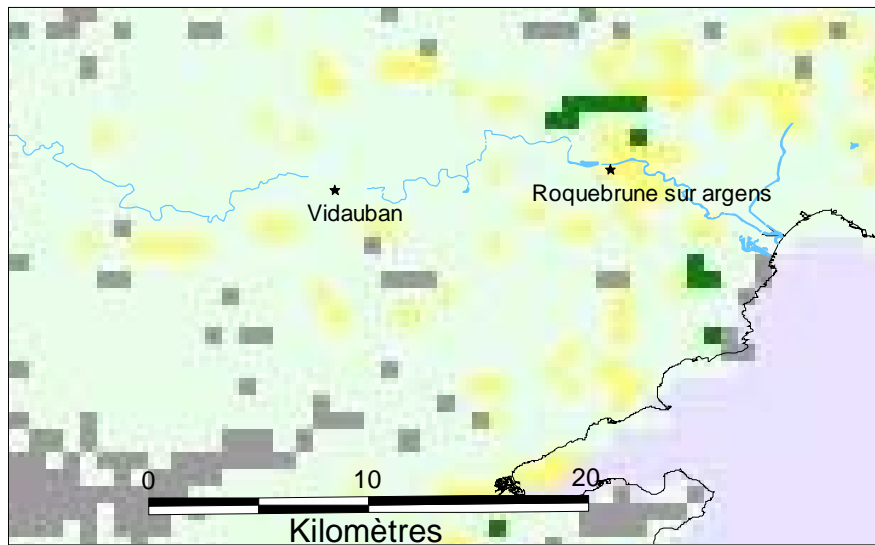
D'autre part, l'objectivation du risque d'introduction du virus nécessite de mieux connaître la circulation virale en Haute-Corse et notamment en Balagne (intensité, saisonnalité, sérotypes). Il reste également beaucoup d'inconnus sur le niveau d'infection à atteindre au sein d'une population vectrice pour que celle-ci transmette le virus. La compétence des différentes populations est en effet influencée par des facteurs génétiques et également par le sérotype en cause. Toujours est-il qu'il semble légitime de préconiser le maintien d'une bonne couverture vaccinale en Corse afin de limiter la circulation virale des différents sérotypes présents.

Remerciements

Nous tenons à remercier les différentes personnes citées précédemment pour leur coopération et leur aide dans l'identification des nouveaux sites de piégeages.

Nous exprimons également notre reconnaissance à M. Jean-claude DELÉCOLLE de l'Université Louis Pasteur de Strasbourg pour sa contribution et la Direction des Services Vétérinaire du Var et notamment à Mme CHEMEL et M. BAUDISSION pour leur appui dans la bonne conduite de cette mission sur le terrain.

ANNEXE I



Légende

- Zone sans prédiction
- Zone non favorable
- Zone faiblement favorable
- Zone hautement favorable

Carte 2 : Carte de prédiction des zones favorables à *Culicoides imicola* en France continentale établie à partir de données environnementales extraites d'images satellitales.

Annexe II

Calendrier de la mission

Lundi 18 octobre 2004	Arrivée à Roquebrune sur Argens en fin de matinée Prospection à partir du point sentinelle 83PS4 (Elevage ovin - Persoljat) et pose de 10 pièges lumineux dans un rectangle de 15 km sur 3 km autour de l'embouchure du fleuve Argens (7 écuries ou centre équestres, 3 élevages ovins)
Mardi 19 octobre	<p><u>Matin :</u> Relevé des 10 pièges avec première identification sur place pour estimer la présence ou non du vecteur de la FCO : <i>C. imicola</i> et aussi l'opportunité de poursuivre le piégeage une nouvelle nuit compte tenu des conditions météorologiques.</p> <p><u>Après midi :</u> Prospection dans deux nouvelles zones (i) plus à l'intérieur en remontant le long de l'Argens vers Trans en Provence et (ii) dans le golfe voisin de Saint-Tropez – appui de M. Baudisson par téléphone pour trouver plus rapidement les centres équestres : un total de 6 pièges a pu être posé avant la tombée de la nuit.</p>
Mercredi 20 octobre	Relevés des 6 pièges et première identification rapide Recherche des gîtes larvaires sur le site où la plus forte densité de <i>C. imicola</i> a été trouvée au cours de la première nuit i.e. Centre équestre de la Rouvière Retour à Montpellier dans l'après midi

Annexe III : Détails des sites de piégeages

Identifiant	Nom établissement	Activité	Responsable	CV	OV	BV	autres	Commune	LAT	LONG
83BT1	CE Les Murettes	CE	MEURANT Sarah	40	0	0	2	Roquebrune sur Argens	948512.94	1841195.81
83BT2	=								949215.47	1837512.23
83PS4		OV	PERSOLJA	0	10	0		Roquebrune sur Argens		
83BT3	Ecurie Valette	Pe	VALETTE Stéphane	20	0	0		Roquebrune sur Argens	949357.19	1837666.78
83BT4		OV	BLANC Richard	0	150	0		Roquebrune sur Argens	951158.99	1837112.16
83BT5		OV	PERSOLJA	0	500	0		Roquebrune sur Argens	951872.74	1836637.05
83BT6	Aire Belle	P	??	40	0	0		Roquebrune sur Argens	955531.8	1834901.24
83BT7	CE de Fréjus	CE	MATHIEU Denis	++				Fréjus	955523.21	1831102.07
83BT8	Les poneys de Sophie	CE	FERRARI	+++				St Aygulf	952387.84	1833589.67
83BT9	Les écuries de la Rouvière	CE	ROUX Nathalie	+++	0	3	++	Roquebrune sur Argens	951539.12	1835448.41
83BT10	Roger Pneus	P	ROGER	100			+++	Roquebrune sur Argens	949499.71	1837191.67
83BT11	CE de la Cavale	CE	GOULAS Sonia	++	+	0	++	Roquebrune sur Argens	949500.97	1837193.62
83BT12		CE	MAGRI Valérie	++				Le Muy	943173.18	1838886.58
83BT13		P	FAURE	+				Trans en Provence	937363.81	1841381.98
83BT14	Haras de St Maxime	CE	PERLOT George	+++	0	0		St Maxime	947770.08	1824345.68
83BT15	Les écuries de Grimaud	CE	MUHR	+++				Grimaud	940991.01	1815845.81
83BT16	Relais équestre de la Mène	CE	COLANESI Anne	10			+	Grimaud	937696.74	1817533.73

Légende

CE : Centre équestre

Pe : Pension pour chevaux

OV : élevage ovin ou présence d'ovins

CV : Chevaux

BV : Bovins

P : Particulier

MODELISATION DES MALADIES VECTORIELLES*

*Annelise Tran*¹, *Fabienne Biteau-Coroller*²,
*Hélène Guis*¹ et *François Roger*²

RESUME : Les maladies vectorielles présentent des cycles épidémiologiques complexes liés à leur mode de transmission indirecte, faisant intervenir un arthropode désigné sous le terme de vecteur. Ces maladies figurent parmi les plus importantes en santé humaine et animale, tant par la morbidité que par la mortalité qu'elles entraînent. Afin d'améliorer la compréhension et le contrôle de ces maladies vectorielles, différents modèles peuvent être développés.

Nous présentons ici les deux principaux types de modèles réalisés sur les maladies vectorielles : les modèles géographiques, pouvant être utilisés pour décrire la distribution des vecteurs en fonction de conditions environnementales, et les modèles épidémiologiques liés au calcul de la capacité vectorielle et du taux de reproduction de base (R_0) de la maladie. Pour chacune de ces deux catégories de modélisation, un exemple d'application est donné avec le cas de la fièvre catarrhale ovine. Les objectifs, les données utilisées, les résultats, les limites ainsi que la complémentarité des deux approches sont discutés.

Mots-clés : Maladie vectorielle, modélisation, capacité vectorielle, modèle géographique, fièvre catarrhale ovine.

SUMMARY : Vector-borne diseases present complex epidemiologic cycles because of their indirect transmission mode which includes an arthropod called vector. These diseases are of major importance for human and animal health, because of the morbidity and mortality that they imply. In order to improve the understanding and control of these vector-borne diseases, different kinds of models can be developed.

In this paper we present two main types of models that can be carried out for vector-borne diseases: geographic models, which describe the vector distribution based on environmental conditions, and epidemiologic models based on the calculation of the vectorial capacity and the disease basic reproductive ratio (R_0). For each of these models, we give an example of application with the case of the bluetongue disease. Objectives, data, results, limits and the complementarities of the two approaches are discussed.

Keywords : Vector-borne disease, modelling, vectorial capacity, geographic model, bluetongue.



* Texte de la conférence présentée à la Journée AEEMA, 19 mai 2005

CIRAD, département Elevage et Médecine Vétérinaire, Unité Epidémiologie et Ecologie des Maladies Animales :

¹ Maison de la Télédétection, 500 rue Jean-François Breton, 34093 Montpellier Cedex 5, France

² Campus international de Baillarguet, TA 30/E, 34398 Montpellier Cedex 5, France

I - INTRODUCTION

Les maladies à transmission vectorielle sont des maladies pour lesquelles l'agent pathogène (virus, bactérie ou parasite) est transmis d'un individu infecté (un hôte vertébré : homme ou animal) à un autre par l'intermédiaire d'un arthropode (insecte, tique) hématophage. Ces maladies, notamment les maladies humaines comme le paludisme ou la dengue, contribuent de façon majeure à l'impact global des maladies dans le monde [OMS, 2004]. La production animale est également souvent sérieusement affectée par des maladies vectorielles comme la trypanosomose animale, la fièvre de la vallée du Rift ou la fièvre catarrhale du mouton [OIE, 2003]. Ces maladies ont ainsi des effets non seulement sur la santé mais également sur le développement socio-économique des pays touchés.

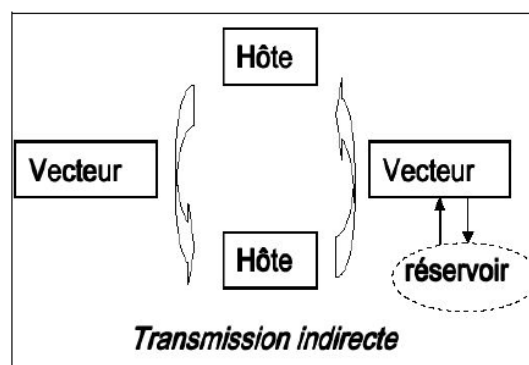
D'autre part, aujourd'hui, nombre de maladies émergentes³ du fait notamment des changements écologiques tels le réchauffement climatique et la modification des écosystèmes, sont des maladies à transmission vectorielle. En effet, ces maladies

sont particulièrement sensibles aux changements écologiques susceptibles de modifier l'aire de répartition de certains pathogènes et/ou vecteurs et de favoriser la propagation de la maladie. C'est le cas, par exemple, de l'émergence récente de la fièvre catarrhale ovine dans le bassin méditerranéen [Purse *et al.*, 2005] ou de la fièvre du Nil occidental aux Etats-Unis [Glaser, 2004].

Ainsi, le contrôle des maladies vectorielles constitue aujourd'hui un enjeu majeur. Ce contrôle passe par la compréhension des mécanismes de transmission de la maladie, qui sont généralement complexes du fait du mode de transmission indirect des maladies à transmission vectorielle (figure 1) faisant intervenir de nombreux acteurs : plusieurs vecteurs impliqués dans le cycle de transmission, éventuellement plusieurs hôtes, ou la présence d'un réservoir (population, vertébrée ou invertébrée, assurant le maintien de l'agent infectieux dans la nature [Rodhain *et al.*, 1985]).

Figure 1

Schéma de la transmission d'une maladie vectorielle



³ Maladie infectieuse dont le taux d'incidence (nombre de nouveaux cas dans une population par unité de temps) a significativement augmenté dans les vingt dernières années, ou risque d'augmenter dans un avenir proche.

De nombreuses questions se posent concernant la transmission de ces maladies vectorielles :

- concernant les facteurs qui déterminent l'apparition, la persistance et la diffusion de la maladie, en particulier le rôle de l'environnement. En effet, les arthropodes vecteurs sont très sensibles aux conditions environnementales (climat, paysage) qui régulent leurs dynamiques de population et auront donc généralement un impact important sur les dynamiques de transmission de la maladie ;
- concernant les moyens de lutte. Comme pour les maladies à transmission directe, il pourra s'agir d'évaluer l'impact d'une campagne de vaccination, mais également d'évaluer celui d'une lutte ciblée sur le vecteur (pulvérisation d'insecticide, destruction des gîtes larvaires, etc.).

Afin d'améliorer le contrôle des maladies vectorielles en particulier, et afin de mieux anticiper et prévenir leur risque d'émergence, la modélisation est un outil qui peut être utilisé pour, d'une part, mieux comprendre le cycle épidémiologique de transmission, qui dépend des caractéristiques de tous les acteurs

impliqués et de leurs interactions et, d'autre part, si possible, mettre au point les outils opérationnels permettant la prévision des zones et périodes à risque ou leur simulation selon différents scénarios.

Différents types de modèles ont ainsi été développés pour les maladies vectorielles, parmi lesquels les modèles géographiques, pouvant être utilisés pour décrire la distribution des vecteurs en fonction de conditions environnementales [Hay *et al.*, 1996] [Kitron, 1998] [Thomson *et al.*, 2000], et les modèles épidémiologiques liés au calcul de la capacité vectorielle⁴ et du taux de reproduction de base⁵ (R0) de la maladie [Garrett-Jones, 1964a] [Dye, 1992] [Lord *et al.*, 1996].

Ces deux types de modèles sont présentés tout d'abord de manière générale (section 2), puis à travers des exemples d'application pour le cas de la fièvre catarrhale du mouton, permettant de détailler les hypothèses de départ, les données utilisées, les résultats, ainsi que les limites des différents modèles (section 3). Enfin, la complémentarité des deux approches et les perspectives de développement sont discutées (section 4).

II - PRESENTATION DES PRINCIPAUX MODELES DEVELOPPES POUR LES MALADIES VECTORIELLES

1. QUELQUES RAPPELS ET DEFINITIONS CONCERNANT LES MODELES

Rappelons tout d'abord qu'un modèle est une représentation simplifiée d'un système réel : ainsi, un modèle n'est pas la réalité, il s'agit d'une simplification effectuée afin de répondre à un problème donné, qui implique l'existence de limites de validité du modèle.

Les modèles peuvent généralement être classés en deux grandes catégories :

- les **modèles conceptuels**, qui s'attachent à expliquer de manière qualitative un phénomène ;

- les **modèles mathématiques**, qui visent à décrire de manière quantitative le fonctionnement d'un système, en écrivant sous forme d'équations les lois qui le régissent.

Parmi ces derniers, on distingue encore les modèles empiriques (ou statistiques), basés sur les données, et les modèles mécanistes (ou théoriques), qui sont basés sur les concepts. La première approche consiste à utiliser les résultats de l'expérience afin de déduire des relations statistiques entre les différentes variables du système. La seconde vise à déterminer ces relations à partir de la compréhension du fonctionnement du système.

⁴ Indicateur synthétisant le rôle joué par le vecteur dans la transmission. La capacité vectorielle est définie comme le nombre de piqûres que le vecteur, ayant piqué un individu infectant le jour t, peut infliger à l'hôte pendant le reste de sa vie, une fois achevé le cycle extrinsèque.

⁵ Nombre moyen d'infections secondaires produites à partir d'un individu infecté introduit dans une population d'individus sensibles.

Enfin, parmi les modèles théoriques, on peut encore distinguer modèles déterministes, qui lient les variables entre elles de manière univoque, et modèles stochastiques, qui permettent d'introduire une part d'aléatoire dans les lois du modèle.

Ainsi, différents types de modèles pourront être développés en fonction du problème posé et de l'objectif de la modélisation (représentation, compréhension, prévision).

2. LES MODELES GEOGRAPHIQUES

L'objectif de ces « modèles géographiques » pour les maladies vectorielles est de décrire la distribution spatiale des vecteurs ou de la maladie, afin d'identifier et cartographier les zones à risque de manière à ce que les efforts de contrôle et les stratégies d'intervention soient les plus efficaces et ciblés possible. L'hypothèse sous-jacente à ces modèles est que la présence des arthropodes vecteurs (et par voie de conséquence l'occurrence spatiale de la maladie transmise par ces vecteurs) dépend fortement de l'environnement : type de végétation, conditions climatiques (température, précipitations), etc. qui déterminent leur habitat [Curran *et al.*, 2000]. Les zones de contacts hôtes/vecteurs correspondent également à des conditions environnementales particulières.

La méthode consiste donc à rechercher des corrélations entre la distribution des vecteurs et des paramètres environnementaux. L'inversion de la relation statistique observée, à condition de pouvoir justifier le lien vecteur/environnement, permet d'extrapoler les résultats pour obtenir des cartes de la répartition des vecteurs. Dans certains cas, les données mises en relation avec les paramètres environnementaux concernent non pas le vecteur mais directement la maladie (nombre de cas, taux d'incidence).

Les données d'observation de la Terre (images satellitaires, photographies aériennes), parce qu'elles permettent d'obtenir une information spatialisée sur l'environnement (occupation du sol, indices de température, de végétation), ont été largement utilisées pour ce type de modèle [Washino *et al.*, 1994] [Hay, 1997] [Kitron,

1998], et appliquées à des maladies humaines telles que le paludisme [Beck *et al.*, 1994] [Omumbo *et al.*, 2002], la maladie de Lyme [Dister *et al.*, 1997] ou animales comme la trypanosomose animale [De La Rocque *et al.*, 2001] ou la peste équine [Baylis *et al.*, 1998]. Le développement de ce type de modèle a également été facilité par l'essor récent des systèmes d'information géographique (SIG), qui sont des outils informatiques permettant le recueil, le stockage, l'intégration, l'analyse et la restitution de données géoréférencées⁶ [Gatrell *et al.*, 1998].

A titre d'exemple, Rejmankova *et al.* utilisent une image satellitale SPOT (satellite pour l'observation de la terre) pour cartographier les zones de marais qui sont les gîtes larvaires potentiels pour *Anopheles albimanus*, le moustique vecteur du paludisme au Belize [Rejmankova *et al.*, 1995]. De la Rocque *et al.* [2001] établissent des cartes de risque de la trypanosomose animale en croisant des cartes de distribution des glossines vectrices, correspondant à un certain type de forêts galeries identifiées par l'interprétation d'images satellitaires SPOT, et des cartes de fréquentation des troupeaux. Ces données sont dites à « haute résolution spatiale » et adaptées pour des études cartographiques à des échelles locales ou régionales.

Sur de plus vastes zones géographiques (échelle d'un continent ou d'un pays), des modèles géographiques ont été établis à partir de paramètres environnementaux dérivés d'images satellitaires à basse résolution spatiale (résolution de l'ordre du km²) pour la cartographie de la distribution d'arthropodes comme les tiques [Rogers *et al.*, 1993] [Estrada-Peña *et al.*, 1999] ou les glossines [Rogers *et al.*, 1996].

La plupart de ces études reposent sur l'analyse statistique des relations entre indicateurs environnementaux et paramètres épidémiologiques ou entomologiques (il s'agit donc de modèles empiriques). Par la suite (section 3.2), nous présentons l'exemple de modèles géographiques développés. Les pour le cas de la fièvre catarrhale ovine, à deux échelles différentes.

⁶ Données localisées dans l'espace par leurs coordonnées géographiques.

3. LES MODELES EPIDEMIOLOGIQUES DE LA TRANSMISSION

3.1. PRESENTATION GENERALE

L'objectif de ces modèles théoriques est de pouvoir décrire les mécanismes de la transmission de la maladie de manière explicite, en imposant qu'une cause engendre un effet, soit de manière systématique (modèles déterministes) soit avec un certain degré d'aléatoire (modèles stochastiques). Cette description doit permettre de pouvoir simuler de manière réaliste la dynamique de la

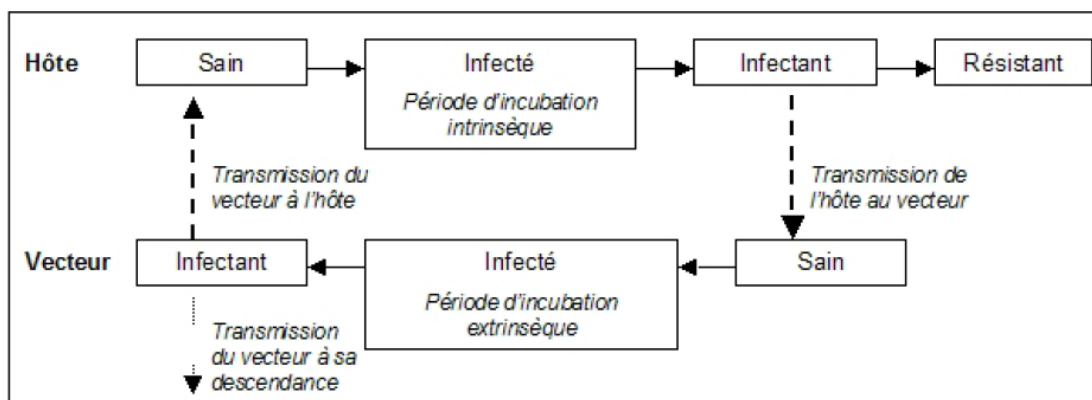
maladie et, en particulier, d'évaluer, à partir de conditions initiales données, le nombre de nouveaux cas attendus, ainsi que d'identifier parmi différents facteurs les déterminants de la transmission.

L'utilisation de ce type de modèle impose donc de connaître préalablement un schéma de transmission de la maladie étudiée. Un exemple d'un tel schéma pour une maladie à transmission vectorielle est donné dans la figure 2.

Figure 2

Exemple de modélisation en compartiments, pour une maladie vectorielle.

Les flèches pleines symbolisent les flux d'hôtes et de vecteurs entre les différents compartiments infectieux. Les flèches en pointillés symbolisent la transmission de l'agent pathogène.



Ici les populations d'hôtes et de vecteurs sont divisées en un nombre réduit de classes d'individus correspondant à leur état infectieux. Une telle division définit un modèle « en compartiments » ; ce type de modèle, développé pour les maladies infectieuses par Kermack et McKendrick (1927) a eu une influence majeure sur le développement des modèles mathématiques en épidémiologie (plusieurs ouvrages présentent ces modèles de manière détaillée : [Anderson *et al.*, 1991] [Murray, 2003] [Diekmann *et al.*, 2000]).

Selon cet exemple, les hôtes et les vecteurs vont passer successivement d'un état sain, à un état infecté, puis infectant, puis éventuellement résistant (cette catégorie peut également inclure les individus décédés), le passage entre les différentes classes dépendant, d'une part, des contacts infectieux hôte/vecteur (transmission de l'agent

pathogène d'un hôte infectant à un vecteur sain, ou l'inverse) et, d'autre part, des « taux de passage » entre les différents états correspondant aux durées des périodes d'incubation et d'infection.

Cette description plus ou moins simplifiée du cycle de transmission de la maladie définit les hypothèses du modèle.

De tels modèles ont été utilisés pour simuler la dynamique temporelle de maladies et pour étudier si, considérant les caractéristiques de la maladie et les conditions initiales, l'infection va se propager ou non. Cette question pourra être étudiée à partir du calcul du « taux basique de reproduction » de la maladie (noté R_0), défini comme le nombre de cas secondaires générés à partir de l'introduction d'un premier cas infecté dans une population d'hôtes sensibles, ou de la capacité vectorielle,

indicateur synthétisant le rôle joué par le vecteur dans la transmission. Le détail de ces indicateurs est donné dans les paragraphes suivants.

3.2. CALCUL DE LA CAPACITE VECTORIELLE

La capacité vectorielle d'une population de vecteurs est définie comme le nombre moyen de piqûres que les vecteurs, ayant piqué un individu infectant le jour t , infligent à la population d'hôtes pendant le reste de leur vie, une fois achevé le cycle d'incubation extrinsèque [Garrett-Jones, 1964b]. Autrement dit, elle représente le nombre de piqûres potentiellement infectantes qu'un individu peut générer, par l'intermédiaire de la population vectrice, par unité de temps, et constitue donc un indicateur du risque de transmission de la maladie.

Le calcul de la capacité vectorielle, notée C , peut être explicité en se basant sur la description du cycle de transmission hôte/vecteur (figure 2) :

1. à partir d'un hôte infectant, il s'agit d'estimer le nombre de vecteurs qui vont piquer cet hôte par unité de temps (généralement l'unité de temps est le jour). Ce nombre est le produit de la densité relative des vecteurs (nombre de vecteurs par hôte, noté m) par la proportion des vecteurs piquant ces hôtes par unité de temps : en effet, les vecteurs ne se nourrissent pas tous les jours, et pas uniquement sur la population d'hôtes considérée. Il faut noter que la proportion des vecteurs piquant par unité de temps est égale au nombre de piqûres qu'un vecteur fait sur la population d'hôtes par unité de temps. Ce taux (noté a) dépend ainsi des préférences trophiques de l'espèce vectrice et de la durée entre deux repas sanguins (liée à la durée du cycle gonotrophique).
2. Parmi ces vecteurs qui se sont potentiellement infectés par piqûre, il s'agit d'estimer maintenant la proportion d'entre eux qui passeront du stade infecté au stade infectant, c'est-à-dire ceux qui survivront à la durée d'incubation extrinsèque (n). En notant p le taux de survie journalier, cette proportion de survivants peut être estimée par p^n .
3. Enfin, le nombre de piqûres que ces vecteurs infectants peuvent infliger à la population d'hôtes durant le reste de leur

vie peut être approché par le produit du nombre de piqûres qu'un vecteur fait sur la population d'hôtes par unité de temps (a) et de son espérance de vie. Cette espérance de vie (en jours) peut être estimée par une fonction croissante du taux de survie journalier p : $1/(-\ln(p))$ [MacDonald, 1952].

Ainsi, la capacité vectorielle peut s'exprimer finalement sous la forme classique [Garrett-Jones, 1964a] :

$$C = \frac{m \cdot a^2 \cdot p^n}{-\ln p},$$

avec m le nombre de vecteurs par hôte ;

a le taux de vecteurs piquant par unité de temps ;

p le taux de survie journalier et n la durée du cycle d'incubation extrinsèque.

Une expression plus complète de la capacité vectorielle introduit également la compétence vectorielle [Dye, 1992] [Lord *et al.*, 1996], c'est-à-dire l'habilité du vecteur à s'infecter après ingestion du repas de sang infecté, puis à assurer le développement du pathogène et enfin à le transmettre au vertébré par une piqûre. La compétence vectorielle mesure ainsi le niveau de coadaptation pathogène/vecteur invertébré et dépend essentiellement de facteurs génétiques.

Les variables m , a , p et n peuvent être estimées à partir de paramètres mesurés par des relevés de terrain et des tests en laboratoire : l'abondance, la préférence trophique, la durée du cycle gonotrophique, le taux de parturité⁷, la durée du cycle d'incubation extrinsèque du virus.

L'intérêt d'un tel indicateur est de pouvoir évaluer l'impact de différents facteurs jouant un rôle la transmission de la maladie : les paramètres cités ci-dessus mais également les facteurs environnementaux et les actions de lutte susceptibles de les modifier. Par exemple, la capacité vectorielle a été calculée pour quantifier l'impact de pulvérisation d'insecticide sur la transmission pour différentes espèces vectrices [Garrett-Jones *et al.*, 1964] ; pour identifier les périodes à risque en fonction de conditions météorologiques [Prakash *et al.*, 2001] ; pour quantifier l'influence du réchauffement climatique sur la distribution de maladies vectorielles ré-émergentes comme la dengue [Jetten *et al.*, 1997].

⁷ Nombre de femelles pares (ayant déjà pondu) sur le nombre total de femelles.

3.3. CALCUL DU TAUX DE REPRODUCTION DE BASE (R_0)

Le taux de reproduction de base, défini comme le nombre de cas secondaires générés à partir de l'introduction d'un premier cas infecté dans une population d'hôtes sensibles, traduit la notion du seuil pour qu'une maladie se propage ($R_0 > 1$) ou non ($R_0 < 1$) dans une population. L'utilisation de cet indicateur permet ainsi d'étudier l'équilibre endémie/épidémie de manière simple [Anderson *et al.*, 1991] [Van den Driessche *et al.*, 2002].

Pour les maladies vectorielles, ce taux peut être estimé à partir de l'observation des cas

déclarés [Degallier *et al.*, 2005], mais son expression détaillée est liée à celle de la capacité vectorielle, en multipliant celle-ci par la durée pendant laquelle l'hôte est infectant, qui peut être exprimée comme l'inverse du taux de guérison de l'hôte (noté r) :

$$R_0 = \frac{C}{r} \text{ [MacDonald, 1957].}$$

En effet, la formule de la capacité vectorielle donnée par Garret-Jones (1964) est dérivée des travaux de MacDonald sur le taux de reproduction de base du paludisme [Reisen, 1989].

III - EXEMPLES POUR LE CAS DE LA FIEVRE CATARRHALE OVINE

1. CONTEXTE

1.1. LA FIEVRE CATARRHALE OVINE (FCO)

La fièvre catarrhale ovine (bluetongue en anglais), est une maladie virale affectant les ruminants sauvages et domestiques, transmise par des moucheron hématophages du genre *Culicoides*. L'infection ne provoque de signes cliniques que chez les moutons ; elle est généralement asymptomatique chez les bovins et les caprins mais ces espèces pourraient jouer le rôle de réservoirs [MacLachlan, 1994]. Il existe 24 sérotypes⁸ de virus qui ne présentent pas de protection croisée ; ainsi un vaccin ne protège que pour le sérotype contre lequel il est dirigé (il existe néanmoins des vaccins regroupant plusieurs sérotypes). Inscrite sur la liste de l'Office international des épizooties⁹ (OIE), l'affection a des conséquences économiques majeures pour l'élevage dans les régions touchées, tant en termes de santé animale que de répercussions sur les échanges commerciaux.

1.2. *CULICOIDES IMICOLA*, PRINCIPALE ESPECE VECTRICE DE LA FCO EN EUROPE

Le moucheron *Culicoides imicola* est le principal vecteur de la fièvre catarrhale ovine en Europe. Il s'agit d'un vecteur tropical,

d'origine sub-saharienne mais qui s'est installé récemment dans les pays du pourtour méditerranéen, notamment en France, en Corse depuis 2000 et dans le Var en 2004. Depuis 1999, ce vecteur a provoqué plusieurs épizooties dans le bassin méditerranéen, notamment en Italie, Sardaigne, Corse, Tunisie, Algérie, Iles Baléares, Maroc, Espagne continentale (figure 3). Suite à la confirmation de l'installation de populations de *C. imicola* dans le Sud de la France (mai 2005), le risque pour la France continentale est aujourd'hui élevé.

1.3. MODELISATION DE LA FCO

La bluetongue correspond donc à un double enjeu, à la fois opérationnel (menace pour l'élevage) et scientifique (étude de la propagation rapide d'une maladie vectorielle émergente dans des régions jusqu'alors indemnes).

Les questions posées actuellement par cette maladie dans le bassin méditerranéen concernent principalement la dynamique du moucheron *C. imicola* : quelles sont les voies de diffusion de ce vecteur et quelles sont les conditions environnementales favorables à son installation ?

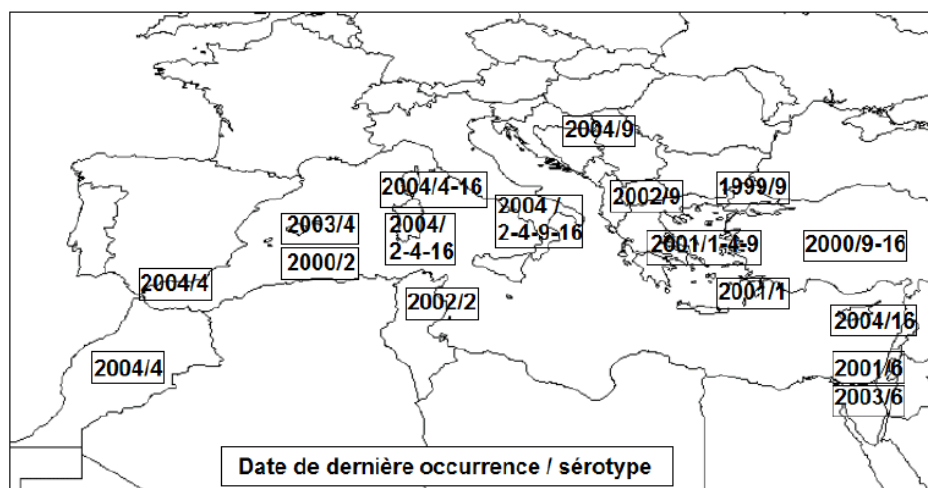
⁸ Catégorie dans laquelle on classe les virus et les bactéries selon leurs réactions en présence de sérums contenant des anticorps spécifiques.

⁹ L'organisation mondiale chargée de la santé animale.

Figure 3

La situation des différents sérotypes du virus de la FCO dans le bassin méditerranéen

(<http://blue-tongue.cirad.fr/>)



A quelles conditions est-il capable de transmettre la FCO ? Autrement dit, quelles sont sa capacité et sa compétence vectorielles et quels sont les facteurs qui les influencent ? Des modèles géographiques, d'une part, et des modèles de la capacité vectorielle de *C. imicola*, d'autre part, sont actuellement développés pour répondre respectivement à ces deux types de questions.

2. MODELES GEOGRAPHIQUES DE LA REPARTITION DE *CULICOIDES IMICOLA*, VECTEUR DE LA FIEVRE CATARRHALE OVINE

2.1. ECHELLE CONTINENTALE

Les modèles géographiques pour la FCO existant actuellement ont été développés à partir de données météorologiques [Wittman *et al.*, 2001] et satellitaires [Roger, 2002] [Tatem *et al.*, 2003] [Purse *et al.*, 2004] à basse résolution spatiale (taille de pixel¹⁰ de l'ordre du km²), permettant d'obtenir des cartes de probabilité de présence de *C. imicola* à une échelle continentale.

Comme cela a été décrit plus haut (§2.2), dans ces différentes études, des corrélations sont recherchées entre les résultats de relevés entomologiques (présence/absence de *Culicoides* dans différents sites comme l'Espagne, le Portugal, la Sicile ou la Corse par exemple) et des paramètres environnementaux issus de relevés météorologiques ou dérivés d'imagerie satellitaire.

Ainsi, Wittman *et al.* testent des relevés météorologiques relatifs aux caractéristiques annuelles de température et précipitations ; les études utilisant des données satellitaires testent de nombreux paramètres calculés à partir des mesures radiométriques du capteur AVHRR¹¹. Ces paramètres sont des indicateurs des cycles saisonniers (obtenus par le calcul de la transformée de Fourier de séries temporelles) des valeurs de la réflectance¹² mesurée dans le moyen infrarouge ainsi que d'un indice de végétation, et d'indices de températures du sol et de l'air [Rogers *et al.*, 1996] [Tatem *et al.*, 2003].

¹⁰ Le pixel est la plus petite surface homogène constitutive d'une image enregistrée (forme abrégée de « picture element »).

¹¹ Advanced Very High Resolution Radiometer. Radiomètre effectuant des mesures dans les domaines visible, proche et moyen infrarouge, infrarouge thermique, embarqué à bord des satellites NOAA.

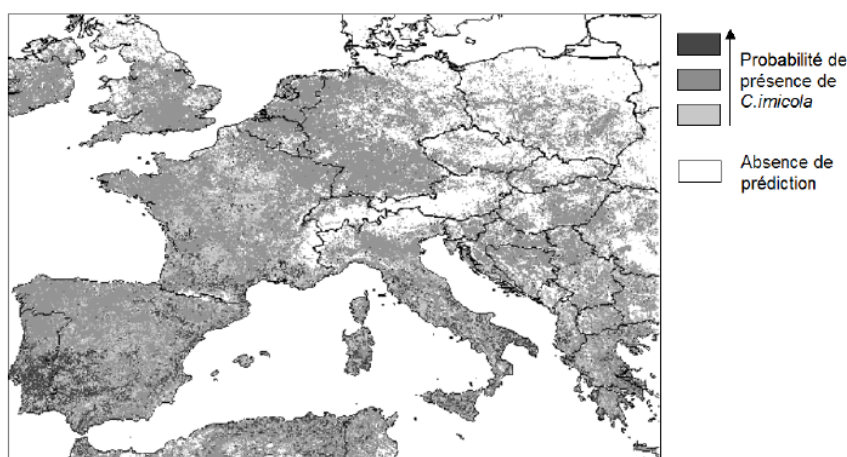
¹² La réflectance est le rapport de l'énergie réfléchie par un objet dans une longueur d'onde à l'énergie reçue du soleil par cet objet dans la même longueur d'onde.

Les méthodes statistiques utilisées sont la régression logistique ou l'analyse discriminante, méthodes qui permettent d'identifier parmi les nombreuses variables testées celles qui sont potentiellement explicatives de la présence/absence ou de l'abondance de *C. imicola*. L'inversion de la relation statistique obtenue, si elle est

significative, permet alors de produire à partir des paramètres environnementaux, des cartes de distribution des vecteurs, à une échelle continentale (les données du capteur AVHRR couvrant de grandes zones géographiques). Un exemple de telles cartes est donné dans la figure 4.

Figure 4

Modèle géographique de la distribution de *C. imicola* en Europe [d'après Roger, 2002]



2.2. ECHELLE LOCALE

Les modèles développés à une échelle locale se distinguent de ceux développés à une échelle continentale essentiellement par leurs objectifs et les données utilisées (les mêmes méthodes statistiques sont mises en œuvre et des cartes d'aléa ou de risque peuvent être obtenues de la même manière que précédemment).

Au fil des années, les progrès techniques réalisés en imagerie satellitale ont permis l'utilisation d'images ayant une résolution spatiale de plus en plus fine. Il est ainsi désormais possible d'élaborer des modèles à haute résolution à partir d'images satellitales SPOT¹³ (taille du pixel de 5 à 20 m), Ikonos (1 m) ou QuickBird (60 cm).

Travailler à une échelle fine permet de répondre à plusieurs objectifs. Tout d'abord, on peut vouloir développer un modèle à une échelle fine pour expliquer des différences locales, par exemple, dans le cas de la FCO,

les différences de densité du vecteur [Baldet *et al.*, 2003] et de répartition des foyers observées au sein même de la Corse. Ensuite, cette échelle permet de caractériser les milieux favorables au vecteur selon une approche plus « écologique », notamment en travaillant sur les types de végétation rencontrés (après avoir réalisé une classification de l'image) ainsi que sur leurs agencements entre eux (notion de corridors, de zones enclavées...).

Un premier modèle expliquant la survenue de foyers de FCO en Corse, développé à partir d'une image SPOT (10 m), souligne ainsi le rôle protecteur de certaines formations végétales telles que le maquis, la garrigue, la forêt et les cultures [Guis, 2004]. Enfin, pour un vecteur ayant une faible dispersion active (par le vol) tel que *C. imicola*, travailler à une petite échelle peut aussi contribuer à l'élaboration d'hypothèses sur la localisation des gîtes larvaires et des gîtes de repos et ainsi orienter les recherches entomologiques.

¹³ Satellite Pour l'Observation de la Terre.

A cette échelle, outre les images satellitales haute résolution, il peut s'avérer pertinent d'intégrer des informations environnementales complémentaires telles que celles dérivées de modèles numériques de terrain (MNT). Un MNT permet de tester des variables telles que l'altitude, la pente, l'orientation (exposition des versants d'une montagne par exemple), l'ensoleillement (valeur théorique calculée pour une position du soleil donnée) afin de voir si elles influent sur la répartition du vecteur. Les instituts géographiques peuvent également être une source intéressante de données sur l'environnement telles que, par exemple, la localisation des petits cours d'eau qui ne sont pas forcément visibles sur une image satellitale.

Les données épidémiologiques mises en relation avec les données environnementales peuvent être de deux types : elles peuvent concerner la maladie ou le vecteur lui-même. Les données concernant la maladie sont souvent plus facilement accessibles, notamment lorsqu'il s'agit d'une maladie à déclaration obligatoire. Cependant, les foyers devront être géoréférencés (par exemple en les positionnant avec un GPS) afin d'être intégrés au SIG. Les données concernant le vecteur reposent sur des campagnes de piégeage qui peuvent s'avérer difficiles à mettre en place (car elles nécessitent des moyens humains et matériels importants, et impliquent l'identification des espèces capturées...), mais s'avèrent souvent plus intéressantes à exploiter. En effet, le lien entre l'environnement et le vecteur est plus étroit (et donc *a priori* plus facile à mettre en évidence) que celui entre l'environnement et la maladie puisque le vecteur est l'élément le plus sensible aux conditions environnementales et que la maladie se déclarera seulement si à la fois le vecteur, l'hôte et l'agent pathogène sont présents. De plus, les données sur le vecteur permettent de s'affranchir des informations sur l'état vaccinal des animaux ou leur localisation précise (bergerie, pâture éloignée, transhumance...).

2.3. LIMITES

Il faut noter que le domaine de validité des modèles géographiques est lié à l'échelle spatiale des paramètres environnementaux

utilisés dans l'analyse statistique. Ainsi, les modèles développés à une échelle continentale ne permettent pas d'expliquer des différences de distribution à une échelle locale observées sur de petites zones, comme en Corse ou dans le Var, ni de caractériser de manière fine l'habitat favorable à *C. imicola*. A l'inverse, la généralisation des résultats obtenus à une échelle locale sur de plus vastes zones est difficile ou nécessite l'acquisition et la standardisation de données souvent coûteuses.

D'autre part, dans ce type d'approche le rapport de cause à effet reste difficile à expliquer (en particulier lorsqu'un grand nombre d'indicateurs environnementaux est pris en compte dans l'analyse), ce qui rend l'interprétation de l'indice de risque final délicate et limite l'application du modèle à d'autres zones géographiques. Ainsi, par exemple, les résultats du modèle de Wittman *et al.* développé à partir de relevés entomologiques en Espagne ne correspondent pas aux relevés effectués en Italie [Calistri *et al.*, 2003].

3. MODELISATION DE LA CAPACITE VECTORIELLE DE *CULICOIDES IMICOLA* EN FRANCE

La présence des premières populations de *Culicoides imicola* dans une commune du département du Var a fait basculer ce secteur en zone à haut risque de transmission de la fièvre catarrhale ovine, d'autant plus que l'origine suspectée de cette introduction est la dispersion passive par les vents des moucheron depuis la Corse.

Le recours à l'estimation quantitative du risque de transmission dans cette zone grâce à la capacité vectorielle permet d'envisager de modéliser ce risque en l'absence d'antécédent de circulation virale. On évalue alors le risque de transmission si le virus était introduit dans cette population ovine naïve.

La première étape de cette approche consiste à définir le modèle conceptuel pour le cycle de transmission et à définir les estimateurs à utiliser pour les différentes variables utilisées (tableau I).

Tableau I
Liste des indices entomologiques utilisés pour calculer la capacité vectorielle

Variables	Définition	Techniques de recueil des données utilisées
Ma	Nombre de moucheron femelles par hôte et par nuit	- Capture sur appâts - Piège lumineux
PR	Taux de parturité ¹⁴	- Diagnose des femelles pares piégées
Pf	Index de préférence trophique (ici de <i>C. imicola</i> pour les ovins)	- Captures sur appâts, analyse des repas sang des individus gorgés - Dires d'expert
Gc	Durée du cycle gonotrophique	- Elevage du vecteur en laboratoire - Données publiées - Dires d'expert
A	Nombre de repas sanguins pris sur les ovins par vecteur et par jour	- Estimation indirecte : Pf/gc
P	Taux de survie journalier	- Estimation indirecte : $PR^{1/gc}$
N	Durée du cycle extrinsèque du virus ¹⁵	- Infections expérimentales du vecteur - Données publiées - Dires d'expert

Le recueil de toutes ces variables s'avère très long et difficile ; souvent la modélisation s'appuie, pour certains paramètres, sur des estimations faites par autrui de ces variables (publications ou dire d'experts). Par exemple, pour *C. imicola*, espèce très mal connue et peu étudiée du fait notamment de sa petite taille (1 à 2 mm) [Mellor *et al.*, 2000], il subsiste beaucoup d'incertitudes sur les valeurs des données telles la durée extrinsèque d'incubation, le taux de piqûres journaliers (a), la durée entre deux repas de sang, etc. Afin d'en tenir compte, les différents éléments de la capacité vectorielle seront estimés au moyen d'une loi de distribution de probabilité.

3.1. CHOIX DES LOIS DE DISTRIBUTION POUR LES VARIABLES DE LA CAPACITE VECTORIELLE

Certains paramètres pour lesquels peu de données ont été publiées peuvent être estimés

à partir de la synthèse d'opinions d'experts récoltées par un questionnaire adapté. Ensuite, à partir de la valeur minimale, maximale et moyenne obtenue pour un paramètre donné, on peut construire par exemple une loi de Pert [Vose, 2000].

Une synthèse bibliographique apporte également de riches informations sur certaines variables comme la durée entre deux repas de sang, estimée par la durée du cycle gonotrophique, pour laquelle les données publiées s'accordent autour d'une durée de 3 jours à 4,5 jours en août-septembre [Gerry *et al.*, 2000]. Une loi uniforme comprise entre 3 et 4,5 peut alors être une alternative permettant d'intégrer la variabilité et l'incertitude persistant autour de ce paramètre.

¹⁴ Le taux de parturité correspond à la proportion de femelles pares, c'est-à-dire ayant déjà pondu au moins une fois, parmi l'ensemble des femelles capturées. Il permet d'estimer indirectement le taux de survie journalier.

¹⁵ Nombre de jours requis pour achever le cycle sporogonique.

Des études sur la durée de la virogenèse en fonction de la température ont également fait l'objet de publications pour une autre espèce vectrice du virus de la Bluetongue en Californie (USA), *Culicoides sonorensis variipennis* [Gerry *et al.*, 2000]. On obtient ainsi un estimateur de la durée extrinsèque du virus pour une gamme définie de températures.

3.2. ANALYSE DE SENSIBILITE

L'analyse de sensibilité est une méthode permettant d'identifier les variables d'entrée (« inputs ») clé du modèle c'est-à-dire celles contribuant le plus aux variations du résultat d'intérêt (output) ou de la plus grande valeur du résultat final [Frey *et al.*, 2002].

Les objectifs de l'analyse de sensibilité peuvent être multiples :

- identifier la(les) variable(s) la (les) plus pertinentes au regard du risque estimé, parmi toutes celles potentiellement « contrôlables » du modèle ;
- identifier les combinaisons des « inputs » qui contribuent à une forte exposition ;
- aider au développement du modèle, à l'interprétation de l'analyse et à la validation du modèle ;
- cibler des travaux prioritaires qui permettront de réduire les incertitudes sur l'appréciation du risque ;
- identifier les limites critiques du modèle.

La méthode à appliquer pour atteindre ces objectifs est à choisir en fonction d'un certain nombre de contraintes liées au modèle lui-même, aux objectifs recherchés, au logiciel utilisé, etc.

Une des représentations les plus lisibles de cette analyse est donnée par les analyses graphiques telles les diagrammes de Tornado qui représentent la sensibilité sous forme de graphes, surfaces ou diagrammes, ce qui donne une indication visuelle de la façon dont le résultat final est affecté par la variation des données d'entrée [Frey *et al.*, 2003].

3.3. DEFINITION DES PROTOCOLES ET RESULTATS ATTENDUS

Si les données de la littérature peuvent venir en appui pour estimer certains paramètres de

la capacité vectorielle, il reste primordial de connaître la dynamique de l'évolution du vecteur dans la zone d'étude et d'estimer le nombre de piqûres journalières que les moutons peuvent subir.

Dans cette optique, un protocole d'étude spécifique a été défini. Il consiste dans le suivi de quatre sites situés sur la commune où les premiers spécimens de *C. imicola* ont été isolés en France continentale. Ces sites ont été choisis, d'une part, en fonction de la population animale présente (chevaux ou moutons)¹⁶ et, d'autre, part par la situation géographique de ceux-ci afin de mettre en évidence d'éventuelles disparités dans l'évolution de l'abondance des vecteurs. Un piégeage hebdomadaire est réalisé entre mi-avril 2005 et mi-novembre 2005. Les échantillons prélevés grâce à un piège lumineux sont ensuite analysés afin de déterminer le nombre total de *C. imicola* et de définir le taux de parturité.

Ce suivi permet de surveiller l'évolution dans le temps de l'abondance des mouches, donnée qui influence directement la densité relative du vecteur (« m » de la formule). On obtient ainsi un indicateur comparatif de ce paramètre. On estime également l'évolution du taux de survie journalier.

Cependant, il reste difficile de relier un nombre d'insectes piégés par piège lumineux avec le nombre effectif de piqûres reçues par les brebis en une nuit. Afin de mieux appréhender cette relation, un protocole particulier a été élaboré. Ainsi, durant une nuit entière selon des phases bien définies, des captures directes sur l'animal ont été réalisées afin d'aspirer les *Culicoides* qui venaient se gorger. On évalue alors le nombre de piqûres par hôte et par nuit (« ma » de la formule).

3.4. LIMITES

Comme tout modèle, cette approche *via* la capacité vectorielle présente des limites. Tout d'abord, il faut garder à l'esprit que la capacité vectorielle reste un index comparatif [Dye, 1986]. Il nécessite donc d'avoir les informations suffisantes pour confronter deux situations entre elles, soit au niveau spatial, soit au niveau temporel après des mesures de lutte par exemple. Elle est définie pour la population de vecteurs étudiée, pour un virus donné et pour une espèce d'hôte vertébré.

¹⁶ A noter qu'aucun bovin ni caprin n'est présent dans la zone d'étude.

Le modèle en lui-même pose déjà un certain nombre d'hypothèses :

- Le vecteur a une compétence supposée de 100% c'est-à-dire que tous les vecteurs sont capables de transmettre le virus et que ceux-ci ne sont pas affectés par le virus. L'introduction de la compétence, notée V , dans le modèle permet de moduler cette simplification.
- Le taux de survie journalier des vecteurs est indépendant de l'âge. Or, chez les moustiques, il a été montré que ce taux avait tendance à diminuer avec l'âge.
- Les vecteurs sont supposés prendre, de manière aléatoire, un nombre limité de repas de sang par unité de temps, indépendamment de leur abondance et de celle de l'hôte. Or, on peut raisonnablement envisager que le succès d'un repas de sang peut dépendre du nombre de vecteurs attaquant simultanément un hôte.
- Une piqûre par un vecteur infectant suffit à infecter un hôte sensible. Dans le cas de la FCO, cette hypothèse semble admise.

Le recueil des paramètres implique une compétence entomologique (diagnose des spécimens, etc.) et les moyens appropriés. Des améliorations peuvent être apportées au protocole présenté ici. Dans le cadre d'un insecte dont la répartition géographique semble évoluer rapidement sous l'effet d'un réchauffement climatique, il conviendrait d'effectuer un suivi temporel et climatique plus précis :

- Un suivi journalier de la dynamique des populations de vecteurs permettrait notamment de pouvoir apprécier de

manière plus fine l'influence des conditions climatiques sur l'efficacité du piégeage ;

- Le suivi devrait être prolongé au delà d'une année, surtout si des phénomènes climatiques exceptionnels se produisent ;
- Il serait également nécessaire de pouvoir étudier les variabilités climatiques et environnementales existant entre les sites de piégeage pour apprécier plus finement les facteurs expliquant les disparités observées entre les sites. Cependant, ces données météorologiques ne sont pas toujours disponibles ;
- Enfin, l'intégration de la variabilité temporelle est nécessaire pour identifier les périodes à risque, et ce, d'autant plus que de nombreux paramètres de la capacité vectorielle sont sous l'influence de la température qui varie de manière significative tout au long de la saison d'activité du vecteur.

L'estimation de la relation hôte/vecteur constitue la limite la plus notable pour ce vecteur de petite taille difficile à repérer à l'œil nu. La méconnaissance de sa biologie ne permet pas de pouvoir piéger efficacement des femelles gorgées, signe du lien hôte/vecteur.

La prise en compte de la variabilité spatiale apparaît en dernier point un élément majeur pour permettre d'identifier les zones à risque. Cela suppose, par exemple, de disposer d'un dispositif de piégeage plus large. C'est à ce niveau que la complémentarité entre les deux approches, géographique et sur la base du vecteur, sera la plus manifeste.

IV - DISCUSSION ET PERSPECTIVES

Par les exemples avec le cas de la FCO dans le bassin méditerranéen présentés ci-dessus, deux types d'approches de modélisation pour les maladies vectorielles ont été présentés.

Les modèles géographiques développés pour la FCO à une échelle continentale, à partir des relevés entomologiques existants et de paramètres environnementaux, permettent d'identifier les zones favorables à l'installation du vecteur *C. imicola*, zones à surveiller en priorité. D'autre part, un modèle développé à une échelle locale permet de mettre en

évidence de nouveaux éléments pour une meilleure compréhension de l'écologie de *C. imicola*, vecteur tropical dont l'émergence récente dans le bassin méditerranéen semble montrer la capacité à s'adapter aux écosystèmes européens.

Ces modèles sont relativement simples et rapides à mettre en œuvre à partir de données géoréférencées disponibles (relevés entomologiques, déclaration des foyers de FCO) et les résultats, présentés sous forme de cartes, sont aisément interprétables.

Cependant, certaines limites ont pu être mises en évidence, notamment la difficulté d'expliquer d'un point de vue écologique les corrélations statistiques observées entre paramètres environnementaux et distribution du vecteur ou de la maladie. D'autre part, actuellement ces modèles ne prennent pas en compte la variabilité temporelle de la dynamique de population de vecteurs, notamment les phénomènes de diffusion des insectes vecteurs.

Ainsi, de nombreuses perspectives de développement des modèles géographiques peuvent être évoquées. Par exemple, des méthodes alliant modèles de diffusion classiques utilisés en écologie [Okubo, 1980] et modèles géographiques basés sur des images satellitales ont été récemment proposées pour modéliser la diffusion d'une maladie vectorielle [Raffy *et al.*, 2005] [Tran *et al.*, sous presse].

Par ailleurs, comme cela a été présenté précédemment (§3.3) la modélisation de la capacité vectorielle constitue une approche complémentaire aux modèles géographiques pour mieux appréhender les mécanismes sous-jacents à la dynamique de la maladie, notamment sa variabilité temporelle. En effet, nous avons vu que la capacité vectorielle est un indicateur comparatif qui permet d'explicitier de manière mécaniste le rôle des différents paramètres déterminant la transmission de la maladie. Cependant, le recueil des données pour l'estimation des paramètres du modèle étant lourd à mettre en œuvre, ce type de modélisation ne permet d'évaluer cet indicateur que de manière ponctuelle et la variabilité spatiale de la capacité vectorielle est ainsi rarement étudiée.

Ainsi, la liaison entre les deux approches, c'est-à-dire entre un modèle de la capacité vectorielle et un modèle géographique qui établirait des correspondances entre les paramètres de la capacité vectorielle (notamment l'abondance des vecteurs) et des caractéristiques environnementales, permettrait d'obtenir finalement une cartographie de la capacité vectorielle.

Les applications pratiques d'un tel « produit » sont, d'une part, une meilleure connaissance et compréhension de l'écologie du vecteur, intégrant à la fois les dimensions spatiale et temporelle et, d'autre part, des outils d'aide à la décision opérationnels. Pour la FCO, des cartes de la capacité vectorielle de *C. imicola* doivent conduire à l'identification d'indicateurs précoces de risque à l'échelle régionale permettant par exemple de cibler les campagnes de vaccination, ou le développement d'outils de simulation selon différents scénarios (changement climatique, présence de différentes populations d'hôtes, introduction d'une population de vecteurs infectés, introduction d'hôtes infectés, etc.). De tels travaux sont actuellement en cours, à la suite d'études sur la distribution de *C. imicola* et sa capacité vectorielle en France.

De manière générale, aujourd'hui, face au développement des maladies vectorielles, un effort important de recherche sur la modélisation est nécessaire afin d'améliorer les stratégies de lutte et de contrôle. Le potentiel d'application de nouvelles méthodes de modélisation à l'épidémiologie est exploré, développement facilité notamment par l'augmentation des capacités de calcul des ordinateurs.

V - CONCLUSION

Cet article a pour objectif de présenter de façon générale différents types de modèles développés pour les maladies à transmission vectorielle, illustrés par l'exemple sur la fièvre catarrhale ovine.

Cet exemple nous a permis d'illustrer l'élaboration d'un modèle géographique, d'une part, et d'un modèle de la capacité vectorielle, d'autre part, ainsi que les limites d'application des deux types d'approche. En particulier, la difficulté de mettre au point un modèle complet a été mise en évidence : chaque type de modèle est conçu pour apporter des éléments

de réponse à un problème donné, mais comporte des limites d'application.

La complémentarité des approches permet d'envisager la mise au point de nouveaux outils pour améliorer la compréhension des mécanismes de transmission de la maladie étudiée et les stratégies de lutte. Ce développement nécessite un travail interdisciplinaire impliquant épidémiologistes, entomologistes et modélisateurs et une collaboration étroite entre chercheurs, décideurs de santé publique ou vétérinaire et praticiens.

BIBLIOGRAPHIE

- Anderson R. M. *et al.* - Infectious diseases of humans: dynamics and control, 757 pages, Oxford University Press, New York, 1991.
- Baldet T. *et al.* - Entomological surveillance of bluetongue in France in 2002. *Veterinaria Italiana*, 2003, **40**, 226-231.
- Baylis M. *et al.* - Use of climatic data and satellite imagery to model the abundance of *Culicoides imicola*, the vector of African horse sickness virus, in Morocco. *Medical and Veterinary Entomology*, 1998, **12**, 255-266.
- Beck L. R. *et al.* - Remote Sensing as a landscape epidemiologic tool to identify villages at high risk for malaria transmission. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 1994, **51**, 271-280.
- Calistri P. *et al.* - The distribution of *Culicoides imicola* in Italy: Application and evaluation of current Mediterranean models based on climate. *Journal of Veterinary Medicine Series B-Infectious Diseases and Veterinary Public Health*, 2003, **50**, 132-138.
- Curran P. J. *et al.* - Linking remote sensing, land cover and disease. *Advances in parasitology*, 2000, **47**, 37-80.
- De La Rocque S. *et al.* - Du satellite au microsatellite. Le risque trypanosomien. Une approche globale pour une décision locale, 152 pages, Editions du CIRAD, Montpellier, 2001.
- Degallier N. *et al.* - Une nouvelle méthode d'estimation du taux de reproduction des maladies (R0) : application à l'étude des épidémies de dengue dans le District Fédéral (Brésil). *Environnement, Risques et Santé*, 2005, **2**, 131-135.
- Diekmann O. *et al.* - Mathematical Epidemiology of Infectious Diseases: Model Building, Analysis and Interpretation, 303 pages, John Wiley & Sons Ltd, Chichester, England, 2000.
- Dister S. W. *et al.* - Landscape characterization of peridomestic risk for Lyme disease using satellite imagery. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 1997, **57**, 687-692.
- Dye C. - The Analysis of Parasite Transmission by Bloodsucking Insects. *Annual Review of Entomology*, 1992, **37**, 1-19.
- Dye C. - Vectorial capacity: Must we measure all its components? *Parasitology Today*, 1986, **2**, 203-209.
- Estrada-Peña *et al.* - Geostatistics and remote sensing using NOAA-AVHRR satellite imagery as predictive tools in tick distribution and habitat suitability estimations for *Boophilus microplus* (Acari : Ixodae) in South America. *Veterinary Parasitology*, 1999, **81**, 73-82.
- Frey H. C. *et al.* - Evaluation of Selected Sensitivity Analysis Methods Based Upon Applications to Two Food Safety Process Risk Models, 496 pages, Report for U.S. department of Agriculture, Washington, 2003.
- Frey H. C. *et al.* - Identification and Review of Sensitivity Analysis Methods. *Risk Analysis*, 2002, **22**, 553-578.
- Garrett-Jones C. - The Human Blood Index of Malaria Vectors in Relation to Epidemiological Assessment. *Bulletin of the World Health Organization*, 1964a, **30**, 241-61.
- Garrett-Jones C. - Prognosis for interruption of malaria transmission through assessment of the mosquito's vectorial capacity. *Nature*, 1964b, **204**, 1173-1175.
- Garrett-Jones C. *et al.* - The assessment of insecticidal impact on the malaria mosquito's vectorial capacity, from data on the proportion of parous females. *Bulletin of the World Health Organization*, 1964, **31**, 71-86.
- Gatrell A. C. *et al.* - GIS and Health Research: an introduction. In: GIS and Health. Taylor & Francis, London, 1998, 3-16.
- Gerry A. C. *et al.* - Seasonal abundance and survivorship of *Culicoides sonorensis* (Diptera: Ceratopogonidae) at a southern California dairy, with reference to potential bluetongue virus transmission and persistence. *Journal of Medical Entomology*, 2000, **37**, 675-88.
- Glaser A. - West Nile virus and North America: An unfolding story. *Revue Scientifique et Technique de l'Office International des Epizooties*, 2004, **23**, 557-568.
- Guis H. - Caractérisation par télédétection de l'environnement favorable aux *Culicoides*, vecteurs de la fièvre catarrhale ovine dans

- le bassin méditerranéen : cas de la Corse, 60 pages, Rapport du Mastère SILAT (Systèmes d'Informations Localisées pour l'Aménagement des Territoires), Montpellier, 2004.
- Hay S. I. - Remote sensing and disease control: past, present and future. *Transactions of the royal society of tropical medicine and hygiene*, 1997, **92**, 105-106.
- Hay S. I. *et al.* - Remotely sensed surrogates of meteorological data for the study of the distribution and abundance of arthropod vectors of disease. *Annals of Tropical Medicine and Parasitology*, 1996, **90**, 1-19.
- Jetten T. H. *et al.* - Potential changes in the distribution of dengue transmission under climate warming. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 1997, **57**, 285-297.
- Kermack W. O. *et al.* - A contribution to the mathematical theory of epidemics. *Proceedings of the Royal Society*, 1927, **A115**, 700-721.
- Kitron U. - Landscape ecology and epidemiology of vector-borne diseases: tools for spatial analysis. *Entomological Society of America*, 1998, **35**, 435-445.
- Lord C. C. *et al.* - Vector-borne diseases and the basic reproduction number: A case study of African horse sickness. *Medical and Veterinary Entomology*, 1996, **10**, 19-28.
- MacDonald G. - The analysis of the sporozoite rate. *Tropical diseases bulletin*, 1952, **49**, 569-586.
- MacDonald G. - The epidemiology and control of malaria, 201 pages, Oxford University Press, London, 1957.
- MacLachlan N. J. - The Pathogenesis and Immunology of Bluetongue Virus-Infection of Ruminants. *Comparative Immunology Microbiology and Infectious Diseases*, 1994, **17**, 197-206.
- Mellor P. S. *et al.* - Culicoides biting midges: Their role as arbovirus vectors. *Annual Review of Entomology*, 2000, **45**, 307-340.
- Murray J. D. - Geographic spread and control of epidemics. In: *Mathematical Biology: II: Spatial Models and Biomedical Applications*. New York, 2003, 661-721.
- Office International des Epizooties - La santé animale dans le monde en 2003, http://www.oie.int/fr/info/fr_sam.htm, 2003.
- Okubo A. - Diffusion and ecological problems: mathematical models, 254 pages, Springer, Berlin, 1980.
- Organisation Mondiale de la Santé - Global Strategic Framework for Integrated Vector Management, Geneva, 2004.
- Omumbo J. A. *et al.* - Updating historical maps of malaria transmission intensity in East Africa using remote sensing. *Photogrammetric Engineering & Remote Sensing*, 2002, **68**, 161-166.
- Prakash A. *et al.* - Estimation of Vectorial Capacity of Anopheles dirus (Diptera: Culicidae) in a Forest-Fringed Village of Assam (India). *Vector-Borne and Zoonotic Diseases*, 2001, **1**, 231-237.
- Purse B. V. *et al.* - Climate change and the recent emergence of bluetongue in Europe. *Nature Reviews Microbiology*, 2005, **3**, 171-181.
- Purse B. V. *et al.* - Modelling the distributions of Culicoides bluetongue virus vectors in Sicily in relation to satellite-derived climate variables. *Medical and Veterinary Entomology*, 2004, **18**, 90-101.
- Raffy M. *et al.* - On the dynamics of flying insects populations controlled by large scale information. *Theoretical Population Biology*, 2005, **68**, 91-104.
- Reisen W. K. - Estimation on vectorial capacity: introduction. *Bulletin of the Society for Vector Ecology*, 1989, **14**, 39-40.
- Rejmankova E. *et al.* - Predictions of adult anopheles albimanus densities in villages based on distances to remotely sensed larval habitats. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 1995, **53**, 482-488.
- Rodhain F. *et al.* - Précis d'entomologie médicale et vétérinaire, 443 pages, Ed. Maloine, Paris, 1985.
- Roger F. - Emergence of Bluetongue Disease in the Mediterranean basin: Modelling Locations at Risk for Potential Vectors (Culicoides spp.) using Satellite Imagery. Research Project Report submitted in part fulfilment of the requirements for the degree of Master of Science in Veterinary Epidemiology, University of London, 2002.
- Rogers D. J. *et al.* - Predicting the distribution of tsetse flies in West Africa using temporal Fourier processed meteorological satellite data. *Annals of Tropical Medicine and Parasitology*, 1996, **90**, 225-241.

- Rogers D. J. *et al.* - Distribution of Tsetse and ticks in Africa: past, present and future. *Parasitology Today*, 1993, **9**, 266-271.
- Tatem A. J. *et al.* - Prediction of bluetongue vector distribution in Europe and north Africa using satellite imagery. *Veterinary Microbiology*, 2003, **97**, 13-29.
- Thomson M. C. *et al.* - Environmental information systems for the control of arthropod vectors of disease. *Medical and Veterinary Entomology*, 2000, **14**, 227-244.
- Tran A. *et al.* - On the dynamics of dengue epidemics from large scale information. *Theoretical Population Biology*, sous presse.
- Van den Driessche P. *et al.* - Reproduction numbers and sub-threshold endemic equilibria for compartmental models of disease transmission. *Mathematical Biosciences*, 2002, **180**, 29-48.
- Vose D. - Risk analysis : a quantitative guide, 418 pages, 2d, New York, 2000.
- Washino R. K. *et al.* - Application of remote sensing to arthropod vector surveillance and control. *Am J Trop Med Hyg*, 1994, **50**, 134-144.
- Wittman E. J. *et al.* - Using climate data to map the potential distribution of *Culicoides imicola* (Diptera: Ceratopogonidae) in Europe. *Revue Scientifique et Technique de l'Office International des Epizooties*, 2001, **20**, 731-740.

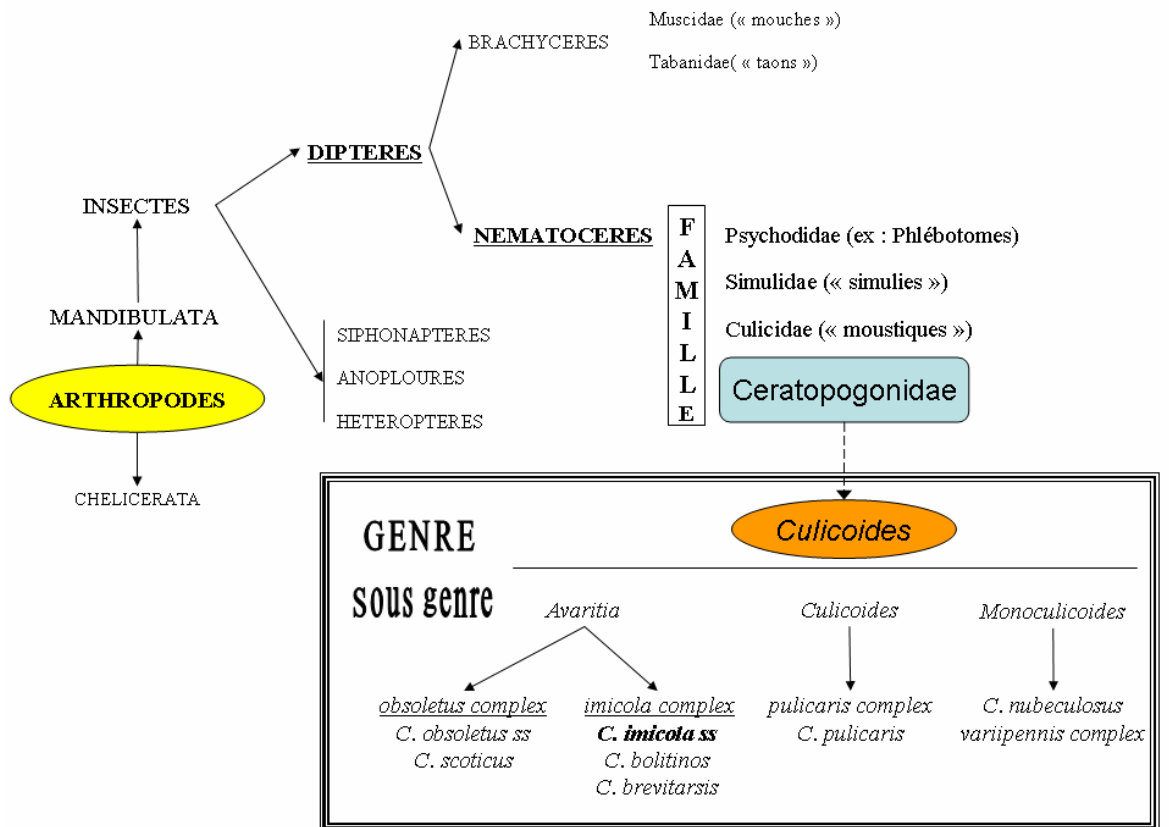


Remerciements

Les auteurs tiennent à remercier les différentes personnes ayant contribué aux études présentées dans cet article, notamment : Dr. T. Baldet et Dr. G. Gerbier (CIRAD, département Elevage et médecine vétérinaire), Pr. J-C Delécolle (Université Louis Pasteur de Strasbourg), B. Mathieu (Entente interdépartementale de démoustication), Dr. F. Mauny et Pr. J-F Viel (Université de Franche-Comté) ainsi que les services vétérinaires départementaux de Corse et du Var et les éleveurs qui ont permis de récolter les données de terrain indispensables.

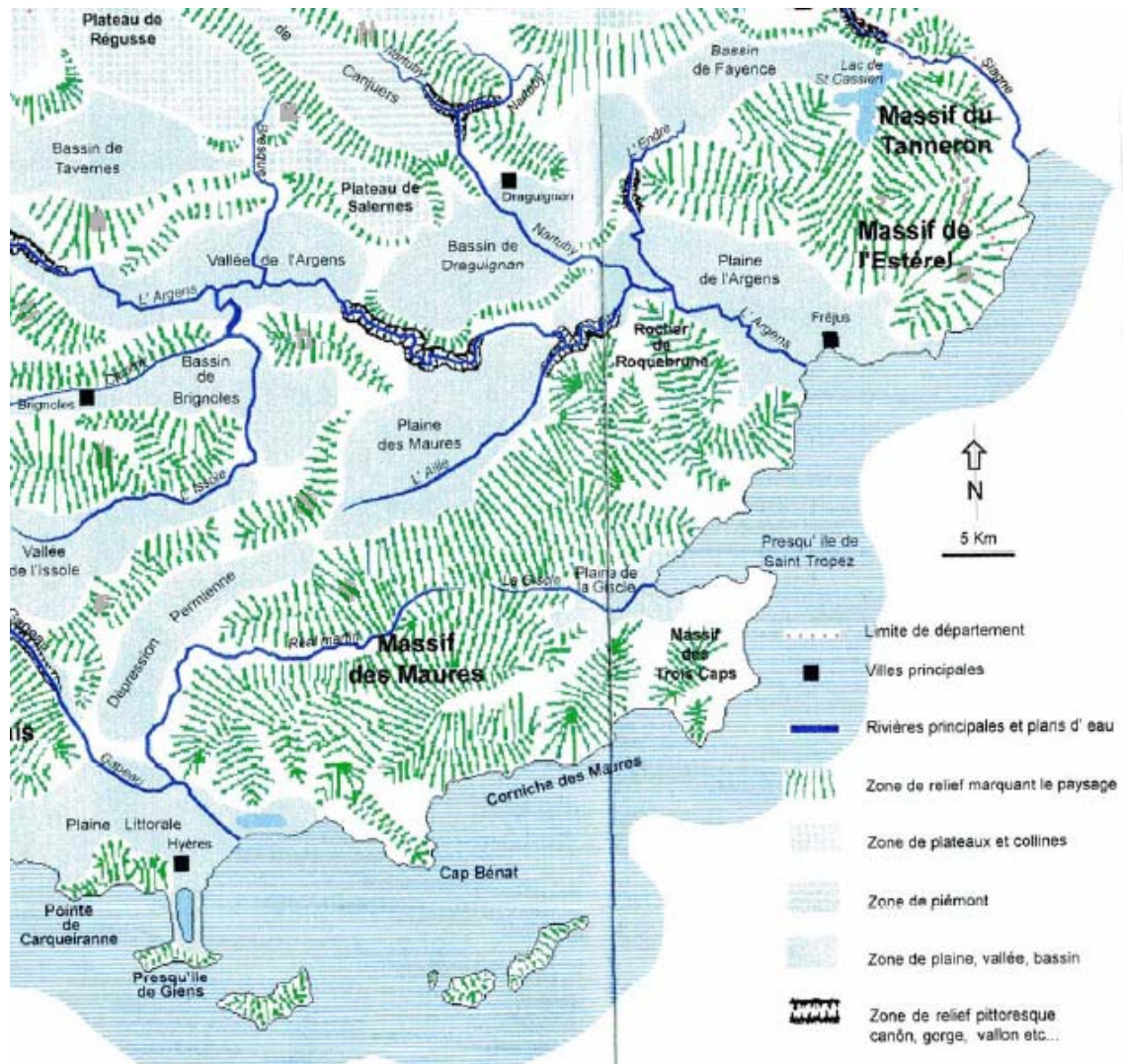
Ces études ont été réalisées dans le cadre du projet « Processus et facteurs d'endémisation et de diffusion d'une maladie vectorielle émergente dans les écosystèmes méditerranéens » financé par le Ministère de la recherche (ACI Ecologie quantitative) et ont bénéficié du programme ISIS du CNES pour l'acquisition d'images SPOT.

Annexe F : Classification de *C. imicola*, diptère nématocère du groupe Avaritia dans la famille des Cératopogonidae



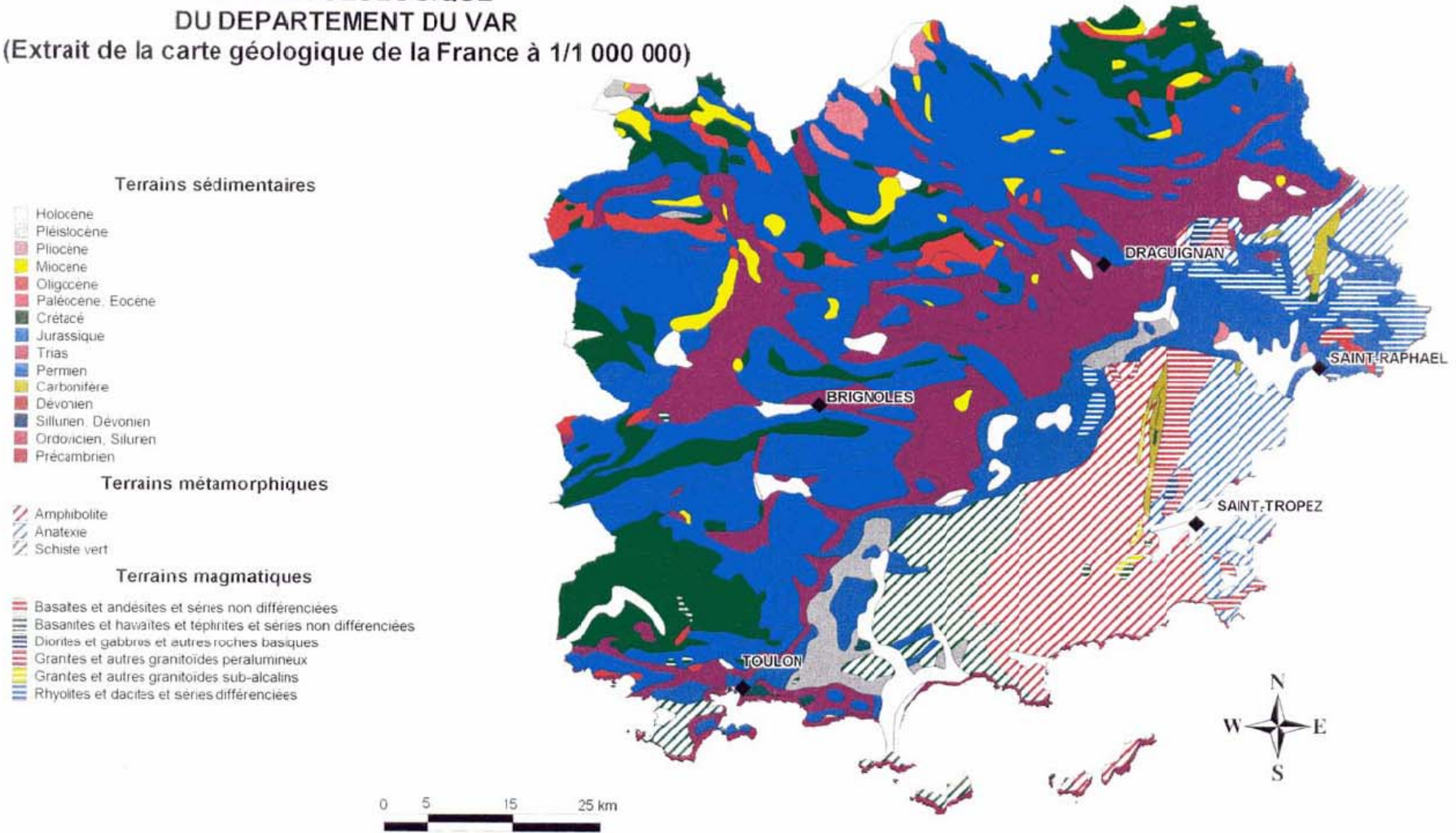
Annexe G : Géographie dans la zone de Roquebrune sur Argens

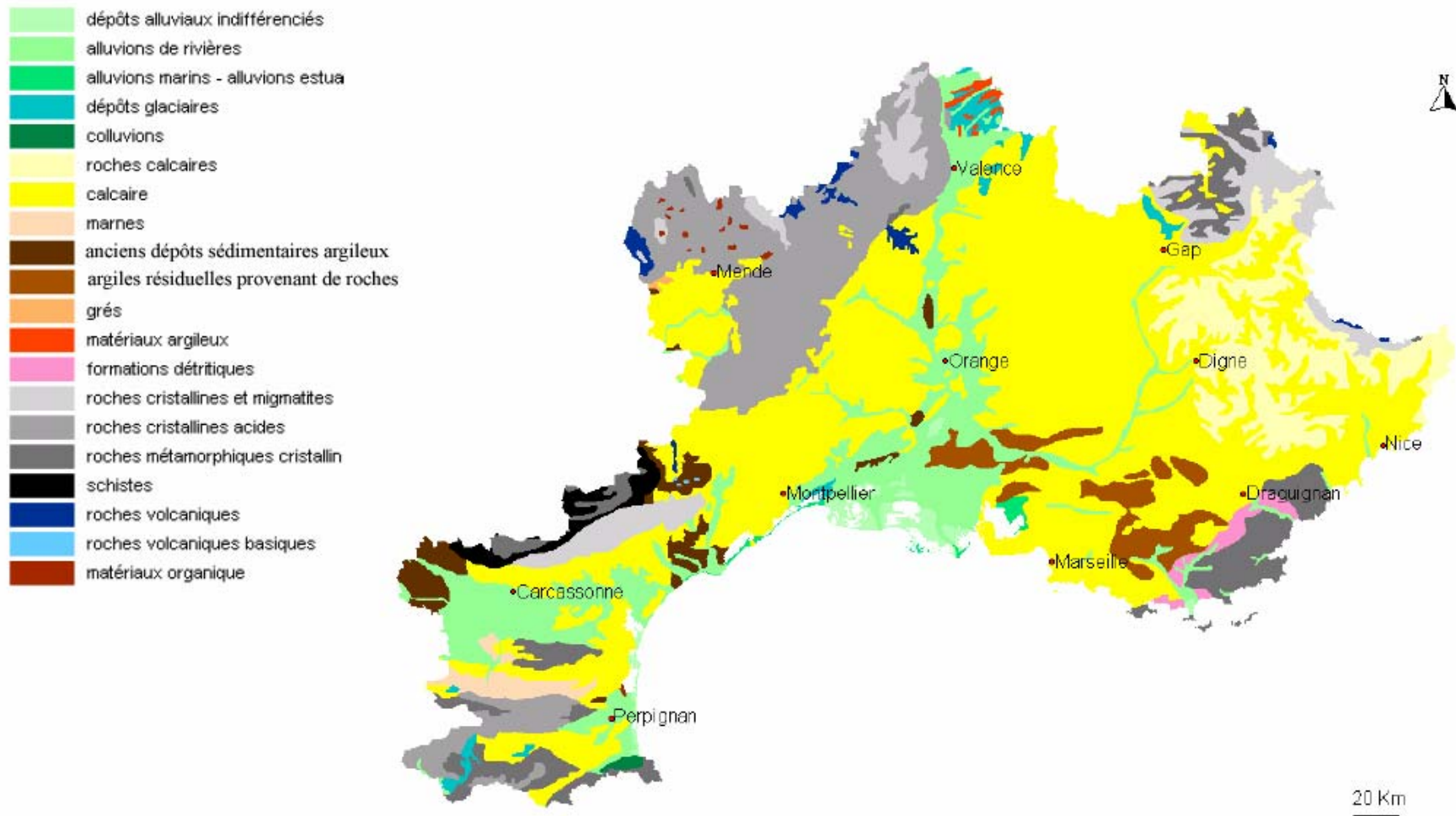
- i. Unités paysagères de l'Est du département du Var*
- ii. Schéma géologique du département du Var (extrait de la carte géologique de la France à 1/1 000 000)*
- iii. Nature de la roche mère des unités cartographiques des sols en région Provence Alpes Côte d'Azur (20 classes)*



Unités paysagères de l'Est du département du Var

**SCHEMA GEOLOGIQUE
DU DEPARTEMENT DU VAR**
(Extrait de la carte géologique de la France à 1/1 000 000)

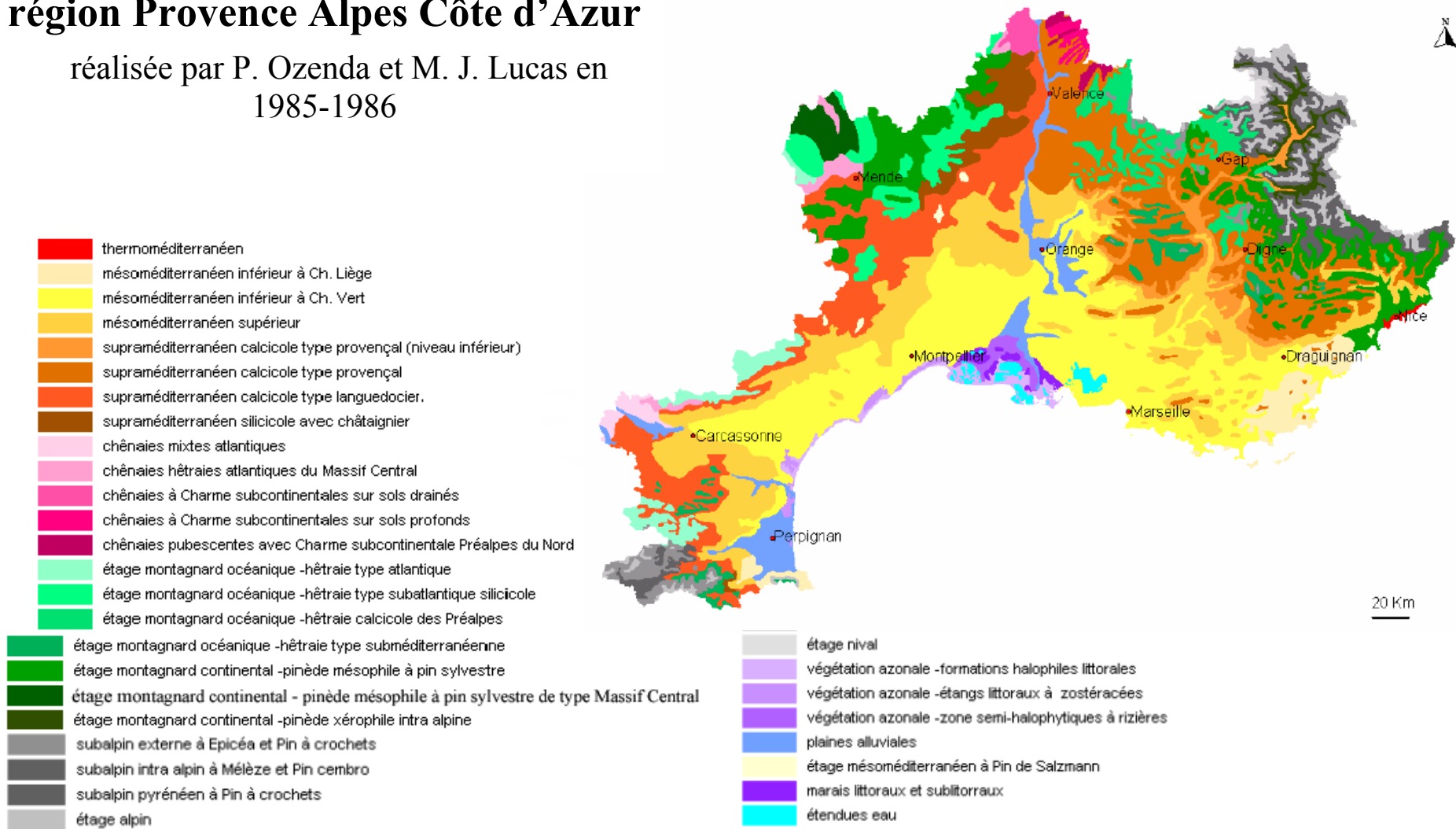


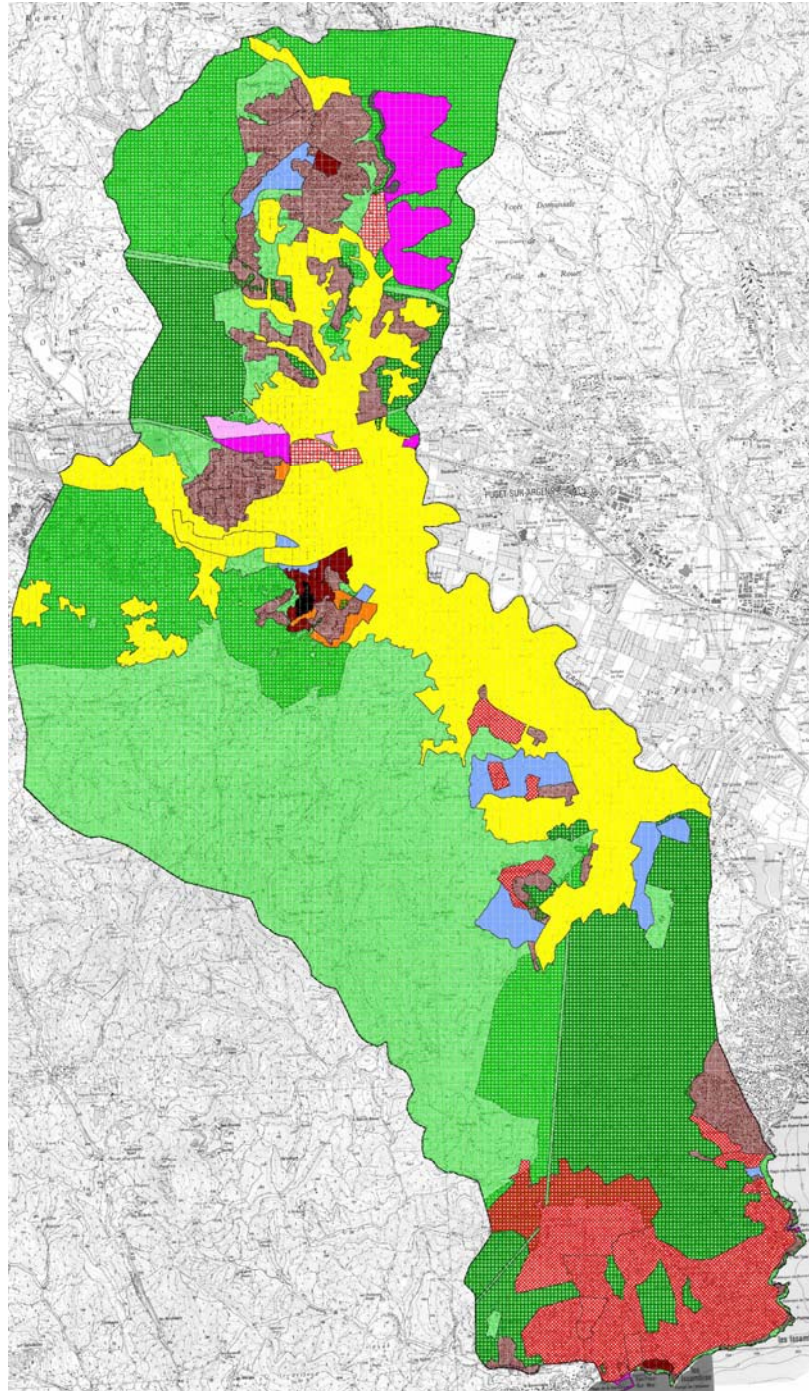


Nature de la roche mère des unités cartographiques des sols en région Provence Alpes Côte d'Azur (20 classes)

Série de végétation présente en région Provence Alpes Côte d'Azur

réalisée par P. Ozenda et M. J. Lucas en 1985-1986









Direction
Départementale
de l'Équipement
Var

S.I.C.
Janvier 2004

COMMUNE DE
**ROQUEBRUNE
SUR ARGENS**

PLAN D'OCCUPATION DES SOLS GENERALISE



Echelle : 1 / 25 000
E31 25 0 021 025

-  Zone urbaine constituant le centre de l'agglomération
-  Zone d'habitat, individuel et collectif
-  Zone d'habitat individuel
-  Zone réservée aux activités commerciales et industrielles

-  Zone non équipée destinée à l'habitat
-  Zone non équipée destinée au commerce et à l'industrie
-  Zone non équipée destinée à l'urbanisation touristique et de loisirs
-  Zone d'Aménagement Concerté destinée au commerce et à l'industrie
-  Zone d'Aménagement Concerté destinée à l'habitat
-  Zone naturelle à valeur agricole
-  Zone naturelle inconstructible
-  Zone Militaire
-  Espace Boisé Classé

Plan d'occupation des sols de la commune de Roquebrune sur Argens



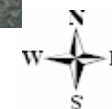
-  Élevages de caprins laitiers
-  Élevages d'ovins à viande

Répartition des élevages ovins et caprins dans la plaine de l'Argens

**Annexe H : Vues aériennes des différents sites de piégeages à
Roquebrune sur Argens**



0 100 200 300 400 500 Mètres



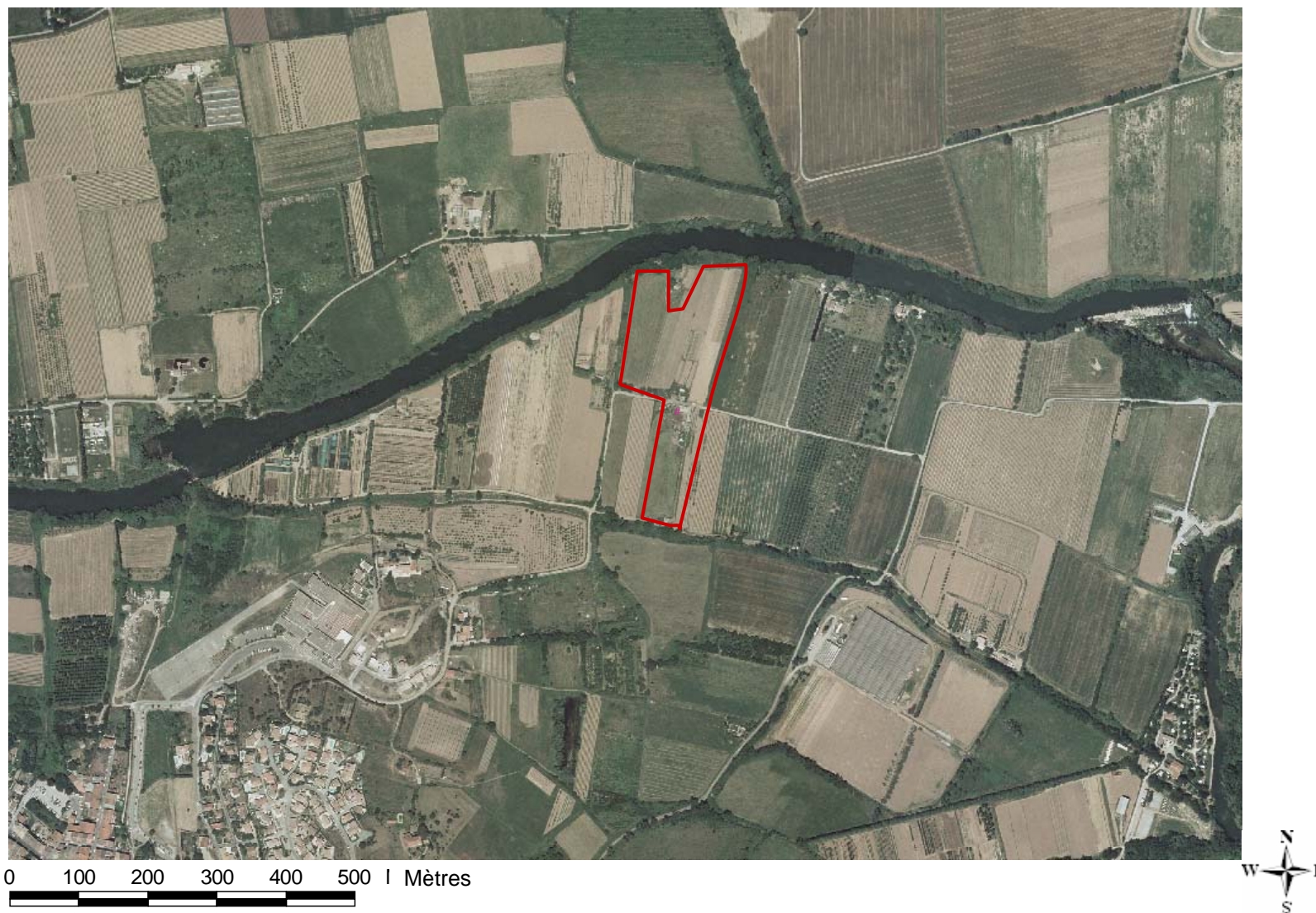
Vue aérienne du site de piégeages dans l'élevage ovin de l'Orme



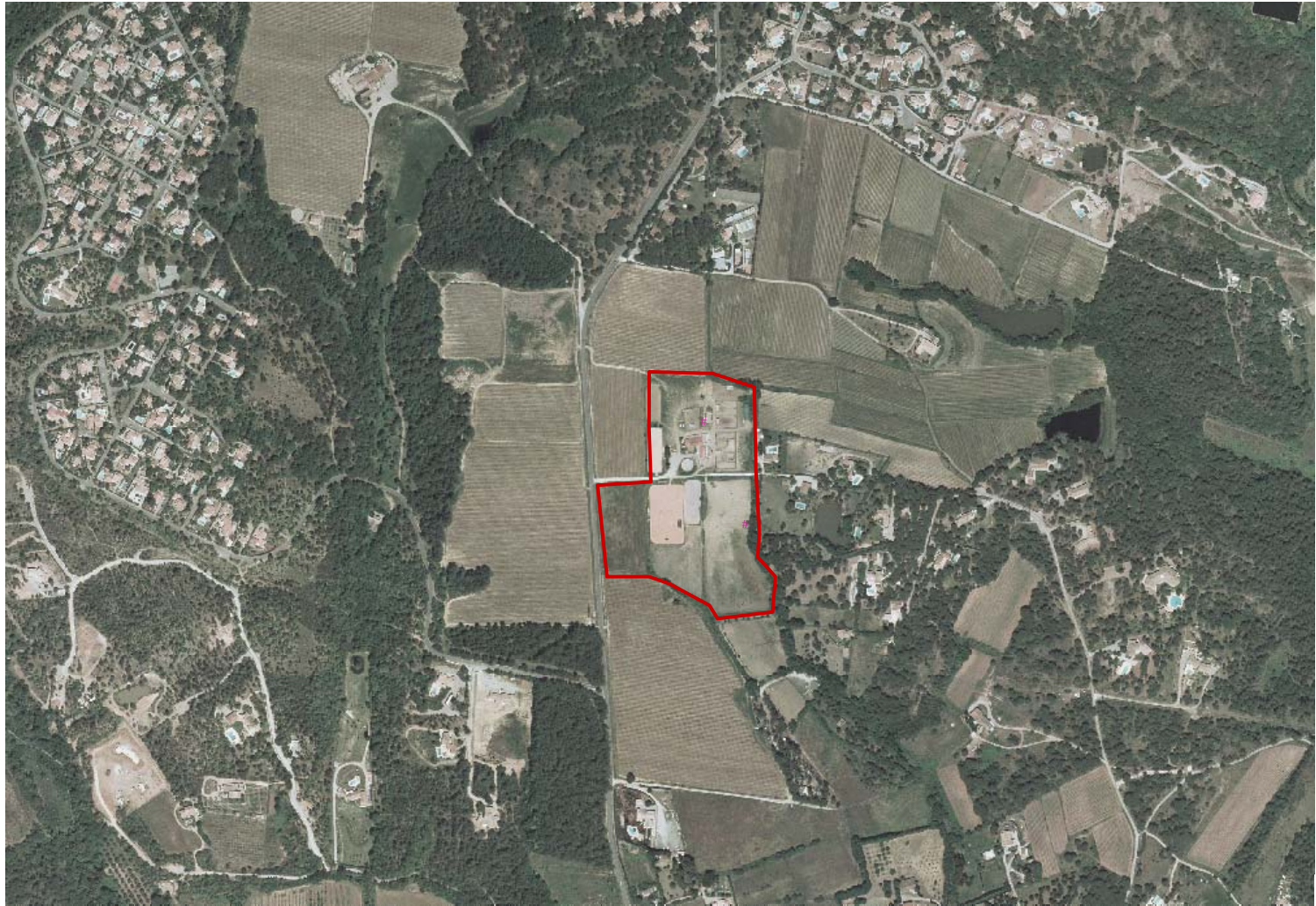
0 100 200 300 400 500 Mètres



Vue aérienne du site de piégeages dans le centre équestre de la Rouvière



Vue aérienne du site de piégeages dans l'élevage ovin des Iscles



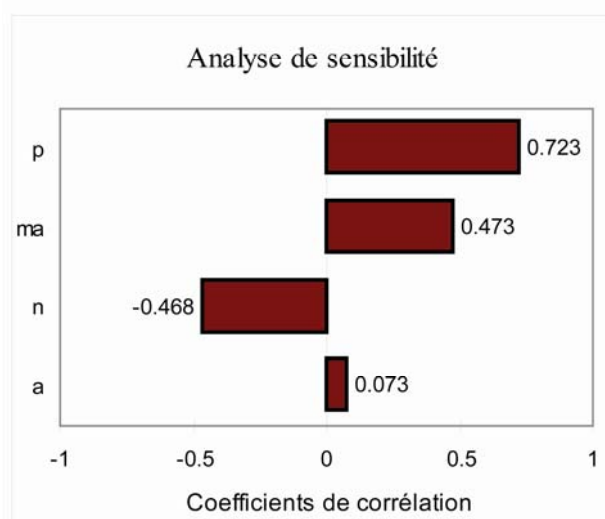
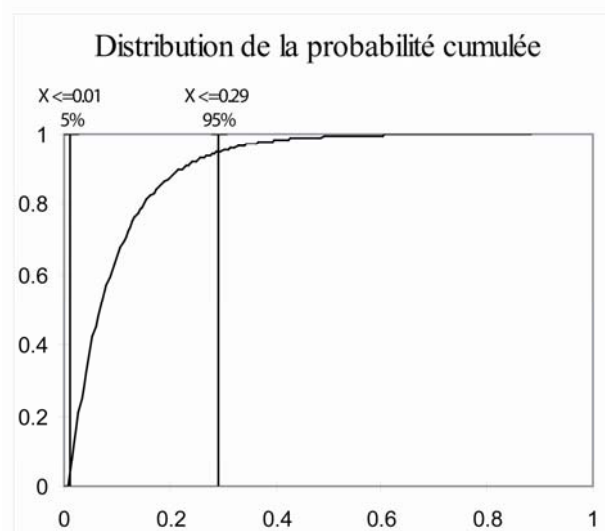
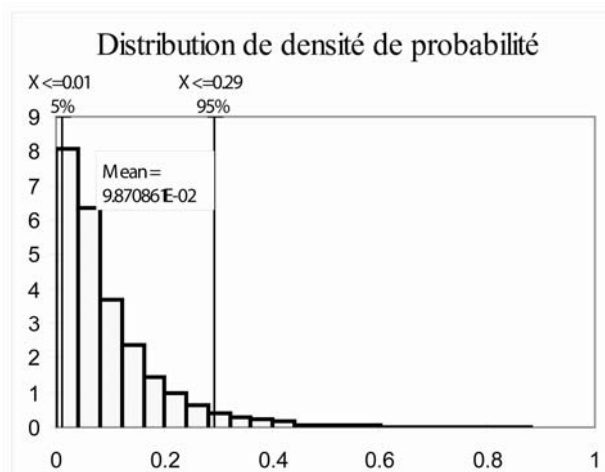
0 100 200 300 400 500 Mètres



Vue aérienne du site de piégeages dans le centre équestre des Murettes

Annexe I : Rapports présentant les résultats pour la capacité vectorielle, *C*, de *C. imicola*, obtenus à partir de 10 000 simulations réalisées selon un échantillonnage de type hypercube latin dans les élevages de l'Orme et des Iscles à Roquebrune sur Argens en 2005.

i. Résultat de C pour le mois de juin 2005 dans l'élevage de l'Orme

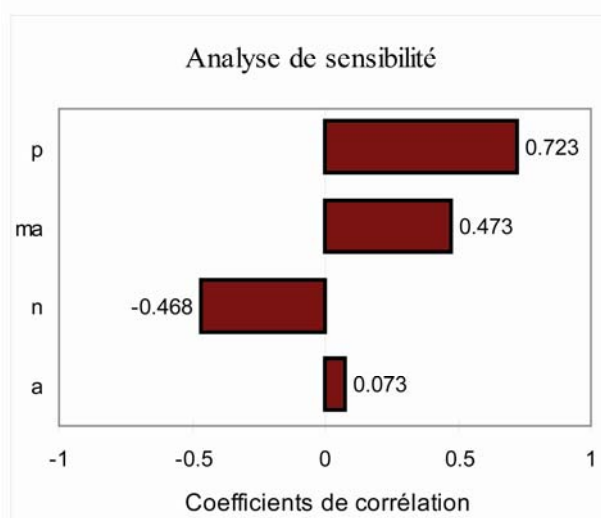
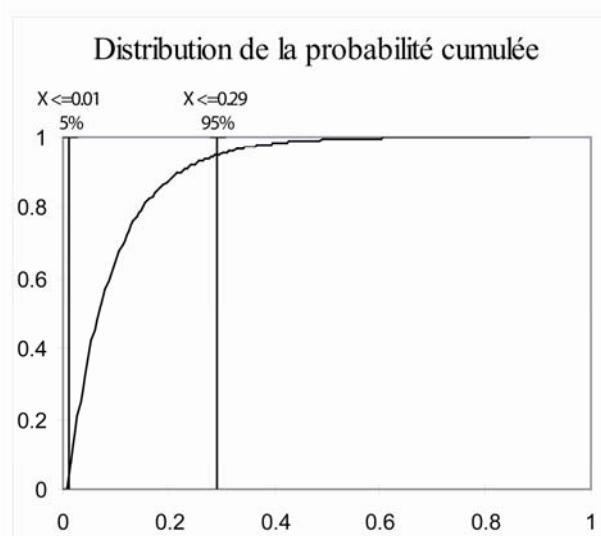
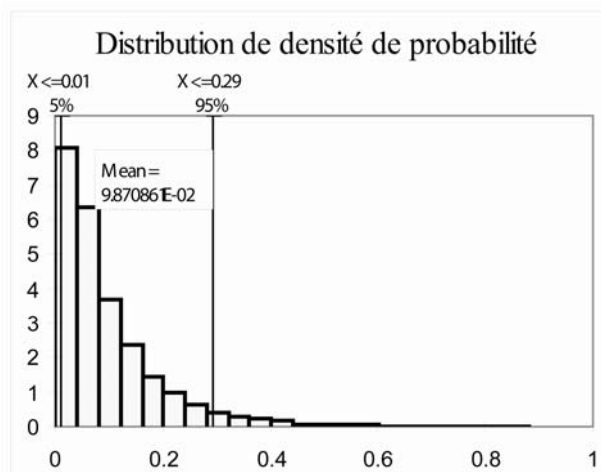


Summary Information	
Workbook Name	modele_C.xls
Number of Simulations	1
Number of Iterations	10000
Number of Inputs	4
Number of Outputs	1
Sampling Type	Latin Hypercube
Random Seed	1764811993

Summary Statistics			
Statistic	Value	%tile	Value
Minimum	0.002	5%	0.012
Maximum	0.883	25%	0.033
Mean	0.099	50%	0.067
Std Dev	0.097	75%	0.130
Variance	0.009	95%	0.293
Skewness	2.266		
Kurtosis	10.444		
Median	0.067		
Mode	0.015		
Left X	0.012		
Left P	5%		
Right X	0.3		
Right P	95%		
Diff X	0.3		
Diff P	90%		
#Errors	0		

Sensitivity		
Rank	Name	Corr
#1	p	0.723
#2	ma	0.473
#3	n	-0.468
#4	a	0.073

ii. Résultat de C pour le mois de juillet 2005 dans l'élevage de l'Orme

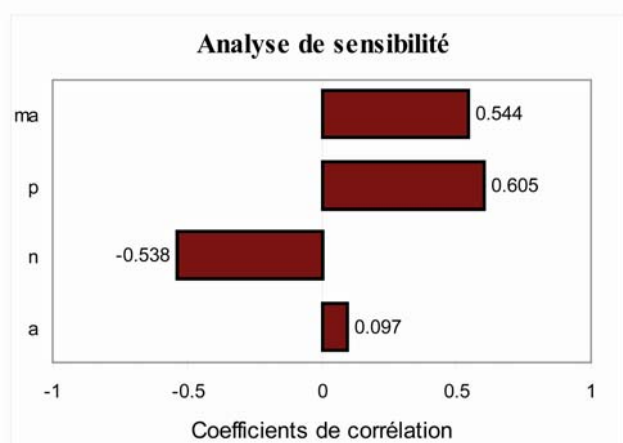
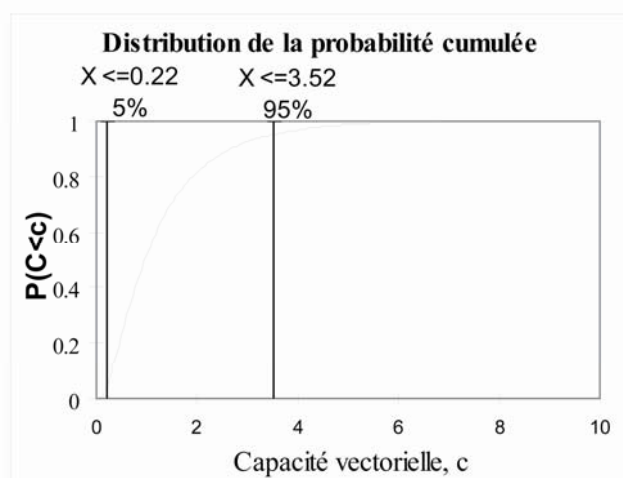
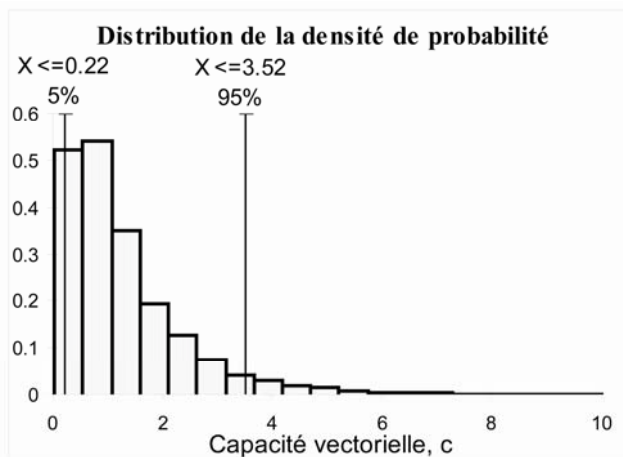


Summary Information	
Workbook Name	modele_C.xls
Number of Simulations	1
Number of Iterations	10000
Number of Inputs	4
Number of Outputs	1
Sampling Type	Latin Hypercube
Random Seed	874689317

Summary Statistics			
Statistic	Value	%tile	Value
Minimum	0.021	5%	0.097
Maximum	4.137	10%	0.134
Mean	0.546	15%	0.166
Std Dev	0.468	20%	0.197
Variance	0.219	25%	0.229
Skewness	2.102	30%	0.262
Kurtosis	9.296	35%	0.295
Median	0.411	40%	0.328
Mode	0.626	45%	0.367
Left X	0.097	50%	0.411
Left P	5%	55%	0.455
Right X	1.5	60%	0.504
Right P	95%	65%	0.558
Diff X	1.4	70%	0.626
Diff P	90%	75%	0.704
#Errors	0	80%	0.797
Filter Min		85%	0.942
Filter Max		90%	1.137
#Filtered	0	95%	1.478

Sensitivity		
Rank	Name	Corr
#1	p	0.727
#2	ma	0.555
#3	n	-0.348
#4	a	0.094

iii. Résultat de C pour le mois de août 2005 dans l'élevage de l'Orme

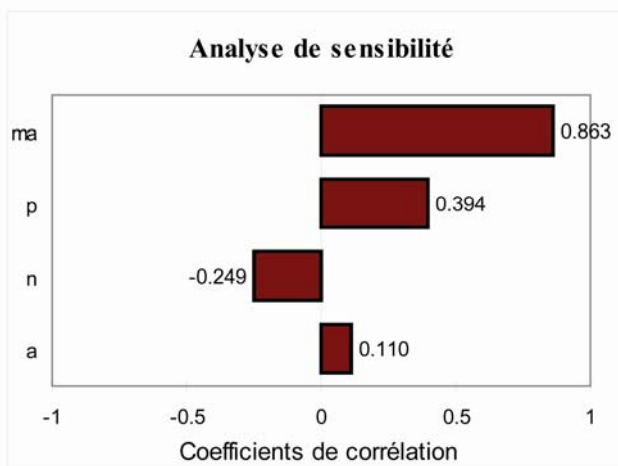
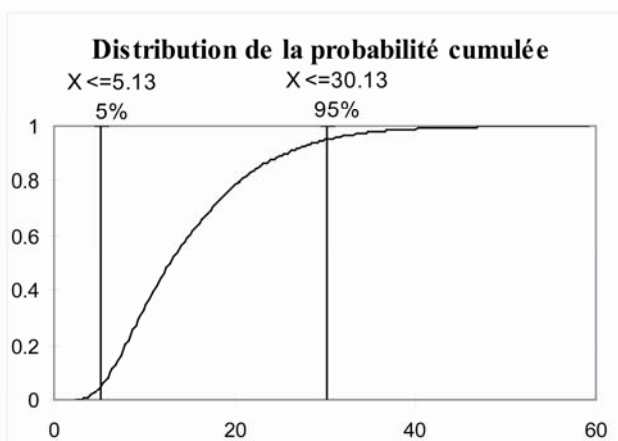
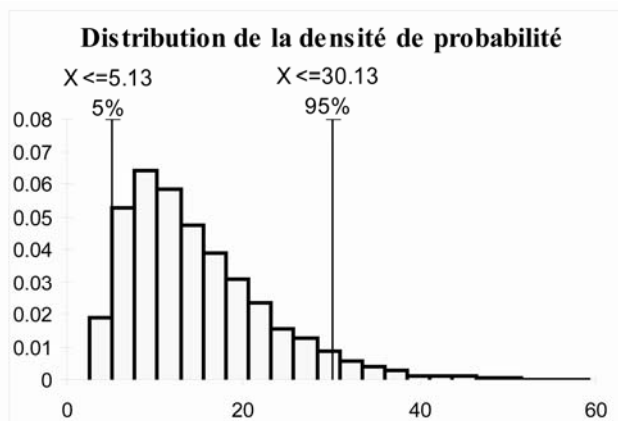


Summary Information	
Workbook Name	modele_C.xls
Number of Simulations	1
Number of Iterations	10000
Number of Inputs	4
Number of Outputs	1
Sampling Type	Latin Hypercube
Simulation Start Time	25/09/2006 16:43
Simulation Stop Time	25/09/2006 16:44
Simulation Duration	00:00:11
Random Seed	1541919998

Summary Statistics			
Statistic	Value	%tile	Value
Minimum	0.039	5%	0.220
Maximum	11.443	10%	0.304
Mean	1.287	15%	0.381
Std Dev	1.105	20%	0.458
Variance	1.220	25%	0.528
Skewness	2.096	30%	0.607
Kurtosis	9.454	35%	0.693
Median	0.962	40%	0.776
Mode	0.677	45%	0.868
Left X	0.220	50%	0.962
Left P	0.050	55%	1.073
Right X	3.516	60%	1.191
Right P	95%	65%	1.324
Diff X	3.3	70%	1.477
Diff P	90%	75%	1.670
#Errors	0	80%	1.912
Filter Min		85%	2.231
Filter Max		90%	2.662
#Filtered	0	95%	3.516

Sensitivity		
Rank	Name	Corr
#1	ma	0.544
#2	p	0.605
#3	n	-0.538
#4	a	0.097

iv. Résultat de C pour le mois de septembre 2005 dans l'élevage de l'Orme

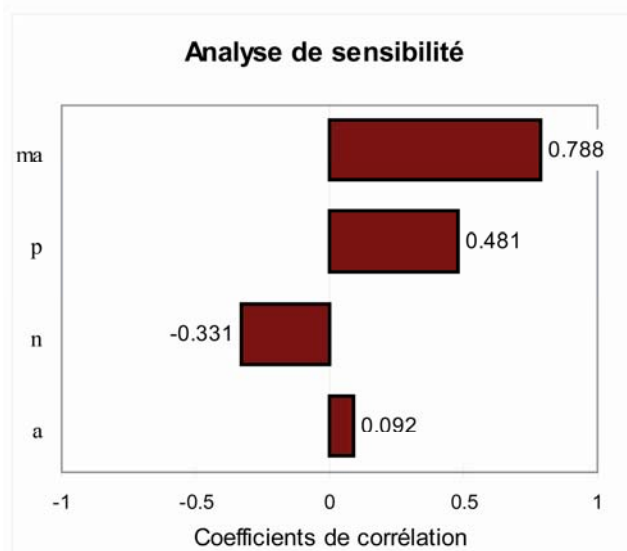
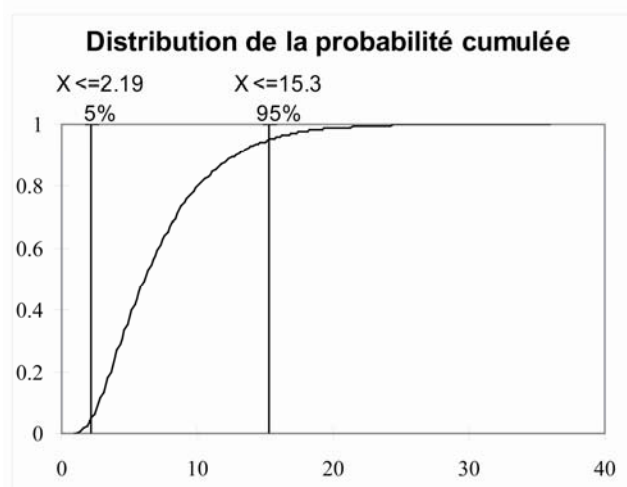
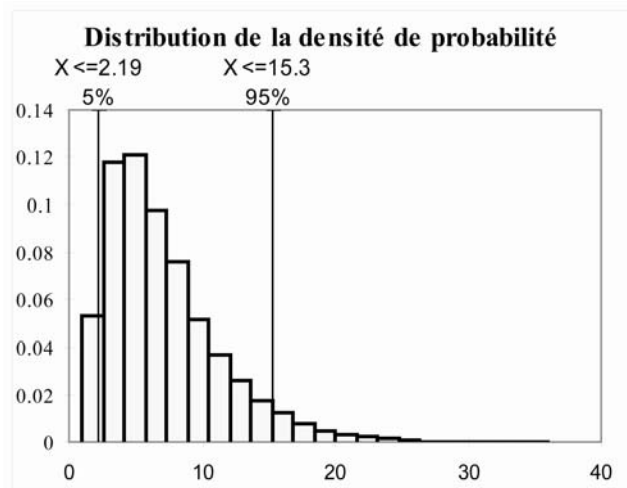


Summary Information	
Workbook Name	modele_C.xls
Number of Simulations	1
Number of Iterations	10000
Number of Inputs	6
Number of Outputs	1
Sampling Type	Latin Hypercube
Random Seed	1845136538

Summary Statistics			
Statistic	Value	%tile	Value
Minimum	2.5	5%	5.1
Maximum	59.2	10%	6.2
Mean	14.7	15%	7.2
Std Dev	8.0	20%	7.9
Variance	64.0	25%	8.7
Skewness	1.2	30%	9.5
Kurtosis	5.0	35%	10.3
Median	12.8	40%	11.1
Mode	8.2	45%	12.0
Left X	5.1	50%	12.8
Left P	5%	55%	13.8
Right X	30.1	60%	14.9
Right P	95%	65%	16.2
Diff X	25.0	70%	17.4
Diff P	90%	75%	18.9
#Errors	0	80%	20.6
Filter Min		85%	22.6
Filter Max		90%	25.7
#Filtered	0	95%	30.1

Sensitivity		
Rank	Name	Corr
#1	ma	0.863
#2	p	0.394
#3	n	-0.249
#4	a	0.110

v. Résultat de C pour le mois d'octobre 2005 dans l'élevage de l'Orme



Summary Information	
Workbook Name	modele_C.xls
Number of Simulations	1
Number of Iterations	10000
Number of Inputs	4
Number of Outputs	1
Sampling Type	Latin Hypercube
Random Seed	2012050787

Summary Statistics			
Statistic	Value	%tile	Value
Minimum	1.0	5%	2.2
Maximum	36.0	10%	2.7
Mean	7.1	15%	3.2
Std Dev	4.2	20%	3.6
Variance	17.5	25%	4.0
Skewness	1.33	30%	4.4
Kurtosis	5.33	35%	4.8
Median	6.1	40%	5.2
Mode	4.5	45%	5.6
Left X	2.2	50%	6.1
Left P	5%	55%	6.6
Right X	15.3	60%	7.1
Right P	95%	65%	7.7
Diff X	13.1	70%	8.4
Diff P	90%	75%	9.1
#Errors	0	80%	10.1
Filter Min		85%	11.3
Filter Max		90%	12.8
#Filtered	0	95%	15.3

Sensitivity		
Rank	Name	Corr
#1	ma	0.788
#2	p	0.481
#3	n	-0.331
#4	a	0.092

Références bibliographiques

- ACIA** (2006). Examen de la politique d'importation de l'Agence canadienne d'inspection des aliments relativement à la fièvre catarrhale du mouton [et à l'anaplasmosse] pour les ruminants en provenance des États-Unis. Ottawa.
<http://www.inspection.gc.ca/francais/anima/heasan/disemala/blufie/blufie-consul-1f.shtml>.
- Afshar, A., Thomas, F. C., Wright, P. F., Shapiro, J. L. & Anderson, J.** (1989). Comparison of competitive ELISA, indirect ELISA and standard AGID tests for detecting blue-tongue virus antibodies in cattle and sheep. *The Veterinary Record* **124**(6), 136-41.
- Afshar, A.** (1994). Bluetongue: laboratory diagnosis. *Comparative Immunology, Microbiology and Infectious Diseases* **17**(3-4), 221-42.
- Akita, G. Y., Glenn, J., Castro, A. E. & Osburn, B. I.** (1993). Detection of bluetongue virus in clinical samples by polymerase chain reaction. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation* **5**(2), 154-8.
- Alba, E. A., Casal, F. J. & Domingo, H. M.** (2004). Possible introduction of bluetongue into the Balearic Islands, Spain, in 2000, via air streams. *The Veterinary Record* **155**(15), 460-461.
- Almeida, A. P. G., Baptista, S. S. S. G., Sousa, C. A. G. C. C., Novo, M. T. L. M., Ramos, H. C., Panella, N. A., Godsey, M., Simões, M. J., Anselmo, M. L., Komar, N., Mitchell, C. J. & Ribeiro, H.** (2005). Bioecology and Vectorial Capacity of *Aedes albopictus* (Diptera: Culicidae) in Macao, China, in Relation to Dengue Virus Transmission. *Journal of Medical Entomology* **42**(3), 419-428.
- Anderson, J. R. & Linhares, A. X.** (1989). Comparison of several different trapping methods for *Culicoides variipennis* (Diptera : Ceratopogonidae). *Journal of the American Mosquito control Association* **5**(3), 325-334.
- Anonymous** (2001). Analisi del rischio di diffusione della bluetongue in italia in relazione alle possibili strategie di lotta. IZS Teramo,
http://gis2.izs.it:7777/bluetongue/doc_tec/analisi%20del%20rischio/aprile_2001.html.
- Anonymous** (2003a). General Guidelines for the Establishment & Evaluation of Invasive Species Early Detection and Rapid Response Systems. National Invasive Species Council, Washington. <http://www.invasivespeciesinfo.gov/docs/council/GuidelineCommunication.doc>.
- Anonymous** (2003b). "Décision 2003/828/CE de la Commission, du 25 novembre 2003, concernant les zones de protection et de surveillance pour la fièvre catarrhale du mouton." Journal officiel L 311 du 27.11.2003, Union Européenne.
- Disposizioni del Ministero della Salute Direzione Generale Sanità Pubblica Veterinaria, Alimenti e Nutrizione. (2004). Nota del 16 gennaio 2004 n. 584/DGVA/I.8.d./18. Accertamento in Provincia di Cagliari (Sardegna) di circolazione virale del virus della Febbre catarrale degli ovini sierotipo 16. Anonymous.

- Anonymous** (2005). Surveillance of bluetongue in Italy.
http://gis2.izs.it:7777/pls/izs_bt/bt_gestmenu.bt_index.
- (2002). Risk Assessment on the importation of feeder cattle during April 1 – October 1 from selected US States. Animal Health Risk Assessment Unit, Ontario, Draft Version 3 October 22 2001; Bayesian Update Addendum March 19, 2002. APFRAN & GARZPA.
- Audige, L., Doherr, M. G., Hauser, R. & Salman, M. D.** (2001). Stochastic modelling as a tool for planning animal-health surveys and interpreting screening-test results. *Preventive Veterinary Medicine* **49**(1-2), 1-17.
- Baldet, T., Delecolle, J. C., Mathieu, B., de La Rocque, S. & Roger, F.** (2004). Entomological surveillance of bluetongue in France in 2002. *Veterinaria Italiana* **40**(3), 226-231.
- Baldet, T., Mathieu, B., Delécolle, J.-C., Gerbier, G. & Roger, F.** (2005). Emergence de la fièvre catarrhale ovine dans le bassin méditerranéen et surveillance entomologique en France. *Revue d'Élevage et de Médecine Vétérinaire des Pays Tropicaux* **58**(3), 125-132.
- Barnard, B. J.** (1997). Some factors governing the entry of *Culicoides* spp. (Diptera: Ceratopogonidae) into stables. *Onderstepoort Journal of Veterinary Research* **64**(3), 227-33.
- Barnard, D. R., Gerdes, G. H. & Meiswinkel, R.** (1998). Some epidemiological and economic aspects of a bluetongue-like disease in cattle in South Africa. *Onderstepoort Journal of Veterinary Research* **65**, 145-151.
- Barratt-Boyes, S. M. & MacLachlan, N. J.** (1994). Dynamics of viral spread in bluetongue virus infected calves. *Veterinary Microbiology* **40**(3-4), 361-71.
- Barré, N., Eramus, B. J., Gautier, A., Rème, A. & Valin, R.** (1985). La bluetongue, nouvelle maladie des ovins à La Réunion (océan Indien). *Revue d'Élevage et de Médecine Vétérinaire des Pays Tropicaux* **38**(1), 16-21.
- Baylis, M. & Rawlings, P.** (1998). Modelling the distribution and abundance of *Culicoides imicola* in Morocco and Iberia using climatic data and satellite imagery. *Archives of Virology Supplement* **14**, 137-53.
- Baylis, M., Touti, J., Bouayoune, H., Moudni, L., Taoufiq, B., El Hasnaoui, H., Mellor, P. S., Hamblin, C., Calisher, C. H. & Mertens, P. P. C.** (1998). Studies of the mortality rate of *Culicoides imicola* in Morocco. *Archives of Virology Supplement* **14**, 127-136.
- Baylis, M., Mellor, P. S. & Meiswinkel, R.** (1999). Horse sickness and ENSO in South Africa. *Nature* **397**, 574.
- Baylis, M., Mellor, P. S., Wittmann, E. J. & Rogers, D. J.** (2001). Prediction of areas around the Mediterranean at risk of bluetongue by modelling the distribution of its vector using satellite imaging. *The Veterinary Record* **149**(21), 639-43.
- Baylis, M., O'connell, L. & Purse, B. V.** (2004). Modelling the distribution of bluetongue vectors. *Veterinaria Italiana* **40**(3), 176-181.
- Beklemishev, W.** (1940). Gonotrophic rhythm as a basic principle of the biology of Anopheles. *Voprosy Fiziologii i Ekologii Malyariinogo Konara* **1**, 3-22.

- Bellis, G. & Reid, D.** (1996). Sampling bias in determining the parous rate of collections of *Culicoides brevitarsis* Kieffer and *C. wadai* Kitaoka (Diptera: Ceratopogonidae). *Australian Journal of Entomology* **4**, 319-322.
- Berezowski, J., Renter, D. & Evans, R.** (2004). *Proceedings of the SVEPM Conference, Martigny, Switzerland.*
- Billinis, C., Koumbati, M., Spyrou, V., Nomikou, K., Mangana, O., Panagiotidis, C. A. & Papadopoulos, O.** (2001). Bluetongue virus diagnosis of clinical cases by a duplex reverse transcription-PCR: a comparison with conventional methods. *Journal of Virological Methods* **98**(1), 77-89.
- Birley, M. H. & Boorman, J. P. T.** (1982). Estimating the survival and biting rate of haemotophagous insectes, with particular reference to the *Culicoides obsoletus* group (Diptera, Ceratopogonidae) in southern England. *Journal of Animal Ecology* **51**, 135-138.
- Bishop, A., McKenzie, H., Barchia, I. & Spohr, L.** (2000). Moon phase and other factors affecting light-trap catches of *Culicoides brevitarsis* Kieffer (Diptera: Ceratopogonidae). *Australian Journal of Entomology* **39**(1), 29-32.
- Biteau-Coroller, F., Hendriks, P., Grillet, C., Albina, E. & Roger, F.** (2003). Évaluation des tests sérologiques utilisés dans le cadre de la surveillance de la fièvre catarrhale du mouton en France. *Épidémiologie et santé animale* **44**, 105-114.
- Biteau-Coroller, F., Gerbier, G., Stärk, C., Grillet, C., Albina, E., Zientara, S. & Roger, F.** (2006). Performance evaluation of a competitive ELISA test used for Bluetongue antibody detection in France, a recently infected area. *Veterinary Microbiology* **118**(1-2), 57-66.
- Blackburn, N. K., Searle, L. & Phelps, R. J.** (1985). Viruses isolated from *Culicoides* (Dipt.: Cerat.) caught at the Veterinary research Farm, Mazowe, Zimbabwe. *Journal of the Entomological Society of South Africa* **48**(331-336).
- Bockarie, M. J., Service, M. W., Barnish, G. & Toure, Y. T.** (1995). Vectorial capacity and entomological inoculation rates of *Anopheles gambiae* in a high rainfall forested area of southern Sierra Leone. *Tropical Medicine and Parasitology* **46**(3), 164-71.
- Boorman, J.** (1975). Semi-automatic device for inoculation of small insects with viruses. *Laboratory Practise* **February**, 90.
- Branscum, A. J., Gardner, I. A. & Johnson, W. O.** (2005). Estimation of diagnostic-test sensitivity and specificity through Bayesian modeling. *Preventive Veterinary Medicine* **68**(2-4), 145-163.
- Braverman, Y., Galun, R. & Ziv, M.** (1974). Breeding sites of some *Culicoides* species (Diptera, Ceratopogonidae) in Israel. *Mosquito News* **34**(3), 303-308.
- Braverman, Y. & Swanepoel, R.** (1981). Infection and transmission trials with Nyabira virus in *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae) and two species of *Culicoides* (Diptera: Ceratopogonidae). *Zimbabwe Veterinary Journal* **12**, 13-17.

- Braverman, Y., Linley, J. R., Marcus, R. & Frish, K.** (1985). Seasonal survival and expectation of infective life of *Culicoides spp.* (Diptera: Ceratopogonidae) in Israel, with implications for bluetongue virus transmission and a comparison of the parous rate in *C. imicola* from Israel and Zimbabwe. *Journal of Medical Entomology* **22**(5), 476-84.
- Braverman, Y. & Linley, J. R.** (1988). Parity and voltinism of several *Culicoides spp.* (Diptera: Ceratopogonidae) in Israel, as determined by two trapping methods. *Journal of Medical Entomology* **25**(2), 121-126.
- Braverman, Y., Walton, T. E. & Osburn, B. I.** (1992). *Bluetongue, African horse sickness, and related orbiviruses: Proceedings of the Second International Symposium.*
- Braverman, Y. & Chechik, F.** (1996). Air streams and the introduction of animal diseases borne on *Culicoides* (Diptera, Ceratopogonidae) into Israel. *Revue Scientifique et Technique* **15**(3), 1037-52.
- Braverman, Y., Chechik, Y. & Mullens, B. A.** (2001). The interaction between climatic factors and Bluetongue outbreaks in Israël and the eastern mediterranean, and the feasibility of establishing bluetongue-free zones. *Israel Journal of Veterinary Medicine* **56**(3).
- Braverman, Y., Rechtman, S., Frish, A. & Braverman, R.** (2003). Dynamics of biting activity of *Culicoides imicola* Kieffer (Diptera: Ceratopogonidae) during the year. *Israel Journal of Veterinary Medicine* **58**(2-3), 46-56.
- Bréard, E., Hamblin, C., Hammoumi, S., Sailleau, C., Dauphin, G. & Zientara, S.** (2004). The epidemiology and diagnosis of bluetongue with particular reference to Corsica. *Research in Veterinary Science* **77**(1), 1-8.
- Bréard, E., Sailleau, C., Hamblin, C. & Zientara, S.** (2005). Bluetongue virus in the French Island of Reunion. *Veterinary Microbiology* **106**, 157-165.
- Brenner, H. & Gefeller, O.** (1997). Variation of sensitivity, specificity, likelihood ratios and predictive values with disease prevalence. *Statistics in medicine* **16**(9), 981-91.
- Briet, O. J.** (2002). A simple method for calculating mosquito mortality rates, correcting for seasonal variations in recruitment. *Medical and Veterinary Entomology* **16**(1), 22-7.
- Brown, C.** (2004). Emerging zoonoses and pathogens of public health significance--an overview. *Revue Scientifique et Technique* **23**(2), 435-42.
- Brownstein, J. S., Rosen, H., Purdy, D., Miller, J. R., Merlino, M., Mostashari, F. & Fish, D.** (2002). Spatial analysis of West Nile virus: rapid risk assessment of an introduced vector-borne zoonosis. *Vector-Borne and Zoonotic Diseases* **2**(3), 157-64.
- Calistri, P., Goffredo, M., Caporale, V. & Meiswinkel, R.** (2003). The Distribution of *Culicoides imicola* in Italy: Application and Evaluation of Current Mediterranean Models Based on Climate. *Journal of Veterinary Medicine Series B* **50**(3), 132-138.
- Calistri, P., Giovannini, A., Conte, A., Nannini, D., Santucci, U., Patta, C., Rolesu, S. & Caporale, V.** (2004). Bluetongue in Italy: Part I. *Veterinaria Italiana* **40**(3), 243-251.
- Calvete, C., Miranda, M. A., Estrada, R., Borrás, D., Sarto i Monteys, V., Collantes, F., Garcia-de-Francisco, J. M., Moreno, N. & Lucientes, J.** (2006). Spatial distribution of

- Culicoides imicola*, the main vector of bluetongue virus, in Spain. *The Veterinary Record* **158**(4), 130.
- Campbell, J. B.** (1996). "Introduction to remote sensing." 3rd ed. The Guilford Press, London.
- Capela, R., Purse, B. V., Pena, I., Wittman, E. J., Margarita, Y., Capela, M., Romao, L., Mellor, P. S. & Baylis, M.** (2003). Spatial distribution of *Culicoides* species in Portugal in relation to the transmission of African horse sickness and bluetongue viruses. *Medical and Veterinary Entomology* **17**(2), 165-77.
- Capelli, G., Natale, A., Nardelli, S., Frangipane di Regalbono, A. & Pietrobelli, M.** (2006). Validation of a commercially available cELISA test for canine neosporosis against an indirect fluorescent antibody test (IFAT). *Preventive Veterinary Medicine* **73**(4), 315-20.
- Caracappa, S., Torina, A., Guercio, A., Vitale, F., Calabro, A., Purpari, G., Ferrantelli, V., Vitale, M. & Mellor, P. S.** (2003). Identification of a novel bluetongue virus vector species of *Culicoides* in Sicily. *The Veterinary Record* **153**(3), 71-4.
- Carpenter, S., Lunt, H. L., Aray, D., Venter, G. J. & Mellor, P. S.** (2006). Oral susceptibility to bluetongue virus of *Culicoides* (Diptera: Ceratopogonidae) from the United Kingdom. *Journal of Medical Entomology* **43**(1), 73-8.
- Chadee, D. D. & Kitron, U.** (1999). Spatial and temporal patterns of imported malaria cases and local transmission in Trinidad. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene* **61**, 513-517.
- Chan, N. Y., Ebi, K. L., Smith, F., Wilson, T. F. & Smith, A. E.** (1999). An integrated assessment framework for climate change and infectious diseases. *Environmental Health Perspectives* **107**(5), 329-37.
- Charlwood, J. D., Mendis, C., Thompson, R., K. B. & Cuamba, N.** (1998). Cordon sanitaire or laissez faire: Differential dispersal of young and old females of the malaria vector *Anopheles funestus* fies (Diptera: Culicidae) in southern Mozambique. *African Entomology* **6**, 1-6.
- Christensen, J. & Gardner, I. A.** (2000). Herd-level interpretation of test results for epidemiologic studies of animal diseases. *Preventive Veterinary Medicine* **45**(1-2), 83-106.
- Christensen, J.** (2001). Epidemiological concepts regarding disease monitoring and surveillance. *Acta Veterinaria Scandinavia supplement* **94**, 11-6.
- Conte, A., Giovannini, A., Savini, L., Goffredo, M., Calistri, P. & Meiswinkel, R.** (2003). The effect of climate on the presence of *Culicoides imicola* in Italy. *Journal of Veterinary Medicine Series B* **50**(3), 139-47.
- Conte, A., Ippoliti, C., Calistri, P., Pelini, S., Savini, G., Salini, R., Goffredo, M. & Meiswinkel, R.** (2004). Towards the identification of potential infectious sites for bluetongue in Italy: a spatial analysis approach based on the distribution of *Culicoides imicola*. *Veterinaria Italiana* **40**(3), 311-315.
- Dargatz, D., Akin, K., Green, A., Herrero, M., Holland, S., Kane, A., Knowles, D., McElwain, T., Moser, K. M., Ostlund, E. N., Parker, M., Schmidtman, E. T., Seitzinger, A.,**

- Schuler, L., Stevens, G., Tesar, L., White, L., Williams, L., Wineland, N. & Walton, T. E.** (2004). Bluetongue surveillance methods in the United States of America. *Veterinaria Italiana* **40**(3), 182-183.
- Davidson, G.** (1954). Estimation of the survival rate of anopheline mosquitoes in nature. *Nature* **174**(4434), 792-793.
- Davis, E. L., Butler, J. F., Roberts, R. H., Reinert, J. F. & Kline, D. L.** (1983). Laboratory blood feeding of *Culicoides mississippiensis* (Diptera: Ceratopogonidae) through a reinforced silicone membrane. *Journal of Medical Entomology* **20**(2), 177-82.
- De La Rocque, S., Michel, V., Plazanet, D. & Pin, R.** (2004a). Remote sensing and epidemiology: examples of applications for two vector-borne diseases. *Comparative Immunology, Microbiology and Infectious Diseases* **27**(5), 331-41.
- De La Rocque, S., Michel, V., Plazanet, D. & Pin, R.** (2004b). Remote sensing and epidemiology: examples of applications for two vector-borne diseases. *Comp Immunol Microbiol Infect Dis* **27**(5), 331-41.
- De Liberato, C., Purse, B. V., Goffredo, M., Scholl, F. & Scaramozzino, P.** (2003). Geographical and seasonal distribution of the bluetongue virus vector, *Culicoides imicola*, in central Italy. *Medical and Veterinary Entomology* **17**(4), 388-94.
- De Liberato, C., Scavia, G., Lorenzetti, R., Scaramozzino, P., Amaddeo, D., Cardeti, G., Scicluna, M., Ferrari, G. & Autorino, G. L.** (2005). Identification of *Culicoides obsoletus* (Diptera: Ceratopogonidae) as a vector of bluetongue virus in central Italy. *The Veterinary Record* **156**(10), 301-304.
- DEFRA** (2004). Veterinary Surveillance Strategy. Londres.
<http://www.defra.gov.uk/animalh/diseases/veterinary/index.htm>.
- DEFRA** (2006a). Bluetongue in sheep in the Netherlands. International Animal Health Division,
<http://www.defra.gov.uk/animalh/diseases/monitoring/pdf/bt-nlsheep180806.pdf>.
- DEFRA** (2006b). Bluetongue in North-West Europe – New Developments. International Animal Health Division,
<http://www.defra.gov.uk/animalh/diseases/monitoring/pdf/bt-nweu101006.pdf>.
- Delécolle, J.-C.** (1985). Nouvelle contribution à l'étude systématique et iconographique des espèces du genre *Culicoides* (Diptera: Ceratopogonidae) du Nord-Est de la France. Thèse d'état. Université Louis Pasteur, UER Sciences, Vie et Terre, n° 293, 238 pp
- Delécolle, J.-C. & de La Rocque, S.** (2002). Contribution à l'étude des *Culicoides* de Corse. Liste des espèces recensées en 2000/2001 et redescription du principal vecteur de la fièvre catarrhale ovine : *C. imicola* Kieffer, 1913 (Diptera, Ceratopogonidae). *Bulletin de la société entomologique de France* **107**(4), 371-379.
- Delécolle, J.-C. & Schaffner, F.** (2003). Vecteurs des arboviroses - Les *Culicoides*. pp. 123-128 in Tec & Doc Médicales Internationales (Ed.) *Principales maladies infectieuses et parasitaires du bétail - Europe et régions chaudes*, Vol. 1. 2 vols. Londres, Paris, New York, France.

- Della-Porta, A. J., Parsonson, I. M. & McPhee, D. A.** (1985). Problems in the interpretation of diagnostics tests due to cross reactions between orbiviruses and broad serological responses in animals. pp. 445-453 in Barber, T. L., and Jochim, M. (Ed.) *Bluetongue and related orbiviruses*. New York, Alan R. Liss.
- Delrio, G., Deliperi, S., Foxi, C., Pantaleoni, R. & Piras, S.** (2002). *XIX Congresso nazionale italiano di Entomologia, Catania*.
- Dendukuri, N., Rahme, E., Belisle, P. & Joseph, L.** (2004). Bayesian Sample Size Determination for Prevalence and Diagnostic Test Studies in the Absence of a Gold Standard Test. *Biometrics* **60**(2), 388-397.
- Depinay, J. M., Mbogo, C. M., Killeen, G., Knols, B., Beier, J., Carlson, J., Dushoff, J., Billingsley, P., Mwambi, H., Githure, J., Toure, A. M. & McKenzie, F. E.** (2004). A simulation model of African Anopheles ecology and population dynamics for the analysis of malaria transmission. *Malaria Journal* **3**, 29.
- DGAI, CIRAD & AFSSA** (2004). Vade-mecum sur la fièvre catarrhale ovine. <http://blue-tongue.cirad.fr>.
- Ministère de l'Agriculture et de la Pêche (2005). Plan d'urgence Fièvre catarrhale ovine (FCO). DGAI.
- Ministère de l'Agriculture et de la Pêche (2005a). Dispositif pilote de formation continue des vétérinaires sanitaires à l'égard de la fièvre catarrhale ovine. Direction Générale de l'Alimentation. DGAL/SDSPA/N2005-8207.
- Ministère de l'Agriculture et de la Pêche (2005b). Plan d'urgence Fièvre catarrhale ovine (FCO). Direction Générale de l'Alimentation. DGAL/SDSPA/N2005-8215. 6 septembre 2005.
- Dohoo, I., Martin, W. & Stryhn, H.** (2003). Screening and diagnostics tests. pp. 85-120 in (Ed.) *Veterinary epidemiologic research*. Charlottetown, Canada, AVC Inc.
- Donald, A. W., Gardner, I. A. & Wiggins, A. D.** (1994). Cut-off points for aggregate herd testing in the presence of disease clustering and correlation of test errors. *Preventive Veterinary Medicine* **19**(3-4), 167-187.
- Du Toit, R. M.** (1944a). The transmission of blue-tongue and horse-sickness by *Culicoides*. *Onderstepoort Journal of Veterinary Science and Animal Industry* **19**, 7-16.
- Du Toit, R. M.** (1944b). Transmission of Horse-sickness and Bluetongue in South Africa. *Farming in South Africa* **July**, 421-436.
- Dufour, B. & Hendriks, P.** (2005). "La surveillance épidémiologique en santé animale." AEEMA (CIRAD, Ed.), Montpellier.
- Dungu, B., Gerdes, T. & Smit, T.** (2004a). The use of vaccination in the control of bluetongue in southern Africa. *Veterinaria Italiana* **40**(4), 616-622.
- Dungu, B., Potgieter, C., Von Teichman, B. & Smit, T.** (2004b). Vaccination in the control of bluetongue in endemic regions: the South African experience. *Dev Biol (Basel)* **119**, 463-72.

- Dyce, A. L.** (1969). The recognition of nulliparous and parous *Culicoides* (Diptera: Ceratopogonidae) without dissection. *Journal of the Australian Entomological Society* **8**, 11-15.
- Dye, C.** (1986). Vectorial capacity: Must we measure all its components? *Parasitology Today* **2**(8), 203-209.
- Dye, C.** (1990). Epidemiological significance of vector-parasite interactions. *Parasitology* **101 Pt 3**, 409-15.
- Dye, C.** (1992). The Analysis of Parasite Transmission by Bloodsucking Insects. *Annual Review of Entomology* **37**(1), 1-19.
- Edderai, D., Le Fur, C., Hendriks, P., Grillet, C., Zientara, S., Albina, E. & Gregory, M.** (2002). La vaccination contre la fièvre catarrhale ovine en Corse. *Épidémiologie et santé animale* **42**, 33-42.
- Elbers, A. R. W., Van Rijn, P. A. & Van Rooij, E. M.** (2003). Aanzet tot een Risk Analysis m.b.t. introductie van Bluetongue virus en West Nile virus in Nederland. CIDC, <http://www.kennisonline.wur.nl/NR/rdonlyres/0208AE87-2AFC-4CFC-B732-67833A5296CE/16417/BluetongueWNVRiskAnalysispdf.pdf>.
- Enoe, C., Georgiadis, M. P. & Johnson, W. O.** (2000). Estimation of sensitivity and specificity of diagnostic tests and disease prevalence when the true disease state is unknown. *Preventive Veterinary Medicine* **45**(1-2), 61-81.
- Eramus, B. J.** (1990). Bluetongue virus. pp. 227-237 in Dinter, Z., and Morein, B. (Ed.) *Virus Infection of Ruminants*. New-York, USA, Elsevier.
- Erasmus, B. J.** (1990). Bluetongue virus. pp. 227-237 in Dinter, Z., and Morein, B. (Ed.) *Virus Infection of Ruminants*. New-York, USA, Elsevier.
- European Commission** (2006). Animal disease notification system: animal disease situation per country and per disease. http://ec.europa.eu/food/animal/diseases/adns/table_11_2006/adns_031106_en.pdf.
- European Environmental Agency** (2003). Climate Change. pp. 91-111 in (Ed.) *Europe's Environment - The Third Assessment*. Copenhagen, EEA.
- European Union** (2000). Council Directive 2000/75/EC of 20 November 2000 laying down specific provisions for the control and eradication of bluetongue. European Union, <http://europa.eu.int/eur-lex/lex/LexUriServ/site/en/consleg/2000/L/02000L0075-20040501-en.pdf>.
- FAO** (1999). Manual on the Preparation of National Animal Disease Emergency Preparedness Plans. Rome. <http://www.fao.org/docrep/004/x2096e/X2096E00.htm#TOC>.
- FAO** (2002). Projections à moyen terme relatives à la viande et aux produits laitiers jusqu'en 2010. Rome. http://www.fao.org/DOCREP/MEETING/004/Y7022F/Y7022F00.HTM#P32_1974.
- FAO** (2005). Politiques relative aux produits alimentaires de base 2003-2004. Rome. http://www.fao.org/es/ESC/common/ecg/108492_fr_BasicPolicyF05.pdf.
- Finney, D. J.** (1964). "Statistical methods in biological assays." 2nd ed. Griffin, London.

- Focks, D. A., Brenner, R. J., Chadee, D. D. & Trosper, J. H.** (1999). The use of spatial analysis in the control and risk assessment of vector-borne diseases. *American Entomology* **45**, 173-183.
- Foster, N. M., Jones, R. H. & McCrory, B. R.** (1963). Preliminary Investigations on Insect Transmission of Bluetongue Virus in Sheep. *American Journal of Veterinary Research* **24**, 1195-200.
- Foster, N. M. & Jones, R. H.** (1973). Bluetongue virus transmission with *Culicoides variipennis* via embryonating chicken eggs. *Journal of Medical Entomology* **10**, 529-532.
- Foster, N. M., Luedke, A. J., Parsonson, I. M. & Walton, T. E.** (1991). Temporal relationships of viremia, interferon activity, and antibody responses of sheep infected with several bluetongue virus strains. *American Journal of Veterinary Research* **52**(2), 192-6.
- Freier, J. E.** (1989). Estimation of vectorial capacity: vector abundance in relation to man. *Bulletin of The Society for Vector Ecology* **14**(1), 41-46.
- U.S.D.A. (2002). Evaluation of Selected Sensitivity Analysis Methods Based Upon Applications to Two Food Safety Process Risk Models. Frey, H. C., Mokhtari, A. & Danish, T.
- Frey, H. C. & Patil, S. R.** (2002). Identification and Review of Sensitivity Analysis Methods. *Risk Analysis* **22**(3), 553-578.
- Fuchs, K., Deutz, A., Kofer, J. & Wagner, P.** (2000). [Influence of diagnostic tests for estimating prevalence during surveillance programs]. *Berliner und Munchener Tierarztliche Wochenschrift* **113**(9), 348-51.
- Gambles, R. M.** (1949). Bluetongue of sheep in Cyprus. *Journal of Comparative Pathology* **59**(:), 176-190.
- Gardner, I. A. & Greiner, M.** (2006). Receiver-operating characteristic curves and likelihood ratios: improvements over traditional methods for the evaluation and application of veterinary clinical pathology tests. *Veterinary Clinical Pathology* **35**(1), 8-17.
- Garrett-Jones, C.** (1964a). The Human Blood Index of Malaria Vectors in Relation to Epidemiological Assessment. *Bulletin of the World Health Organisation* **30**, 241-61.
- Garrett-Jones, C.** (1964b). Prognosis for Interruption of Malaria Transmission through Assessment of the Mosquito's Vectorial Capacity. *Nature* **204**, 1173-5.
- Garrett-Jones, C. & Grab, B.** (1964). The assessment of the insecticidal impact on the malaria's mosquito's vectorial capacity, from data on the proportion of parous female. *Bulletin of World Health Organization* **31**, 71-86.
- World Health Organisation (1975). Studies on the natural incidence of *Plasmodium* and *Wuchereria* infections in *Anopheles* in rural East Africa. Assessment of densities by trapping hungry females *Anopheles gambiae* Giles species A. Garrett-jones, C. & Magayuka, S. A. WHO/MAL75.851, WHO/VBC 75.541.

- Geering, W. A., Roeder, P. L. & Obi, T. U.** (1999). "Manual on the Preparation of National Animal Disease Emergency Preparedness Plans. Food and Agriculture Organization (FAO)." Animal Health Manual No. 6. (FAO, Ed.), Rome.
- Gerbier, G., Roger, F., Hendrickx, P., Zientara, S., Biteau-Coroller, F., Grillet, C., Baldet, T. & Albina, E.** (2004). Bluetongue control using vaccines: experience of the Mediterranean islands. *Veterinaria Italiana* **40**(4), 611-615.
- Gerbier, G., Biteau-Coroller, F., Grillet, C., Parodi, J., Zientara, S., Baldet, T. & Roger, F.** (2006a). Silent spread of a newly introduced Bluetongue virus (BTV 4) in Corsica in 2003: lessons for the surveillance. *The Veterinary Record* **in press**.
- Gerbier, G., Parodi, J., Biteau-Coroller, F., Baldet, T., Mathieu, B., Zientara, S., Cetre-Sossah, C. & Roger, F.** (2006b). Surveillance de la Fièvre catarrhale ovine (Bluetongue) en France et dans l'Ouest méditerranéen: Bilan et perspectives. *Épidémiologie et santé animale* **in press**.
- Gerdes, G. H.** (2004). A South African overview of the virus, vectors, surveillance and unique features of bluetongue. *Veterinaria Italiana* **40**(3), 39-42.
- Gerry, A. C. & Mullens, B. A.** (2000). Seasonal abundance and survivorship of *Culicoides sonorensis* (Diptera: Ceratopogonidae) at a southern California dairy, with reference to potential bluetongue virus transmission and persistence. *Journal of Medical Entomology* **37**(5), 675-88.
- Geurden, T., Claerebout, E., Vercruyse, J. & Berkvens, D.** (2004). Estimation of diagnostic test characteristics and prevalence of *Giardia duodenalis* in dairy calves in Belgium using a Bayesian approach. *International Journal for Parasitology* **34**(10), 1121-1127.
- Ghalib, H. W., Cherrington, J. M. & Osburn, B. I.** (1985). Virological, clinical and serological responses of sheep infected with tissue culture adapted bluetongue virus serotypes 10, 11, 13 and 17. *Veterinary Microbiology* **10**(2), 179-88.
- Gibbs, E. P. & Greiner, E. C.** (1994). The epidemiology of bluetongue. *Comparative Immunology, Microbiology and Infectious Diseases* **17**(3-4), 207-20.
- Giovannini, A., Calistri, P., Conte, A., Savini, G., Nannini, D., Patta, C., Santucci, U. & Caporale, V.** (2004). Bluetongue virus surveillance in a newly infected area. *Veterinaria Italiana* **40**(3), 188-197.
- Girod, R., Salvan, M., Simard, F., Andrianaivolambo, L., Fontenille, D. & Laventure, S.** (1999). Evaluation de la capacité vectorielle d'*Anopheles arabiensis* (Diptera: Culicidae) à l'île de La Réunion: une approche du risque sanitaire liée au paludisme d'importation en zone d'éradication. *Bulletin de la société entomologique de France* **92**(3), 203-9.
- Githeko, A. K., Lindsay, S. W., Confalonieri, U. E. & Patz, J. A.** (2000). Climate change and vector-borne diseases: a regional analysis. *Bulletin of the World Health Organisation* **78**(9), 1136-47.
- Goffredo, M., Conte, A., Cocciolito, R. & Meiswinkel, R.** (2003). The distribution and abundance of *Culicoides imicola* in Italy. *Veterinaria Italiana* **39**(47), 22-32.

- Goffredo, M., Delecolle, J. C., Semproni, G. & Lika, A.** (2004). *Culicoides* (Diptera: Ceratopogonidae) in Albania: results of the 2002 entomological survey for bluetongue. *Veterinaria Italiana* **40**(3), 209-211.
- Gorman, B. M.** (1990). The bluetongue viruses. *Current Topics in Microbiology and Immunology* **162**, 1-19.
- Graham, A. J., Atkinson, P. M. & Danson, F. M.** (2004). Spatial analysis for epidemiology. *Acta Tropica* **91**(3), 219-25.
- Gratz, N. G.** (1999). Emerging and resurging vector-borne diseases. *Annual Review of Entomology* **44**(1), 51-75.
- Greenwood, B. M.** (1989). Impact of culture and environmental changes on epidemiology and control of malaria and babesiosis : The microepidemiology of malaria and its importance to malaria control. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene* **83**(Supplement 1), 25-29.
- Greiner, E. C., Mo, C. L., Tanya, V., Thompson, L. H., Oviedo, M. T. & the Interamerican Bluetongue Team** (1992). Vector ecology of bluetongue viruses in Central America and the Caribbean. pp. 320-324 in Walton, T. E., and Osburn, B. I. (Ed.) *Bluetongue, African Horse Sickness and Related Orbiviruses*. Boca Raton, Florida, USA, CRC Press.
- Greiner, M.** (1995). Two-graph receiver operating characteristic (TG-ROC): a Microsoft-EXCEL template for the selection of cut-off values in diagnostic tests. *Journal of Immunological Methods* **185**(1), 145-6.
- Greiner, M. & Gardner, I. A.** (2000a). Epidemiologic issues in the validation of veterinary diagnostic tests. *Preventive Veterinary Medicine* **45**(1-2), 3-22.
- Greiner, M. & Gardner, I. A.** (2000b). Application of diagnostic tests in veterinary epidemiologic studies. *Preventive Veterinary Medicine* **45**(1-2), 43-59.
- Greiner, M., Pfeiffer, D. & Smith, R. D.** (2000). Principles and practical application of the receiver-operating characteristic analysis for diagnostic tests. *Preventive Veterinary Medicine* **45**(1-2), 23-41.
- Gubler, D. J., Reiter, P., Ebi, K. L., Yap, W., Nasci, R. & Patz, J. A.** (2001). Climate variability and change in the United States: potential impacts on vector- and rodent-borne diseases. *Environmental Health Perspectives* **109**(Suppl 2), 223-33.
- ENSAM, ENGREF (2003). Caractérisation par télédétection de l'environnement favorable aux *Culicoides* vecteurs de la fièvre catarrhale ovine dans le bassin méditerranéen : cas de la Corse. Guis, H.
- Guis, H., Tran, A. L., Mauny, F., Roger, F., Gerbier, G., Baldet, T., Viel, J.-F. & de La Rocque, S.** (2006). *XI International Symposium on Veterinary Epidemiology and Economics, Cairns, Australia*.
- Gustafson, G. A., Pearson, J. E. & M., M. K.** (1991). *Bluetongue, African horse sickness and related orbiviruses: proceedings of the Second International Symposium, Paris*.

- Hammoumi, S., Breard, E., Sailleau, C., Russo, P., Grillet, C., Cetre-Sossah, C., Albina, E., Sanchis, R., Pepin, M., Guibert, J.-M. & Zientara, a. S.** (2003). Studies on the Safety and Immunogenicity of the South African Bluetongue Virus Serotype 2 Monovalent Vaccine: Specific Detection of the Vaccine Strain Genome by RT-PCR. *Journal of Veterinary Medicine Series B* **50**(7), 316-321.
- Hanley, J. A. & Lippman-Hand, A.** (1983). If nothing goes wrong, is everything all right? Interpreting zero numerators. *Journal of the American Medical Association* **249**(13), 1743-1745.
- Hanson, T., Johnson, W. O. & Gardner, I. A.** (2003). Hierarchical Models for Estimating Herd Prevalence and Test Accuracy in the Absence of a Gold Standard. *Journal of Agricultural, Biological, and Environmental Statistics* **8**(2), 223-239.
- CIRAD, département EMVT (2002). Résultats des enquêtes sérologiques transversales sur les cheptels ovins vaccinés et bovins en Corse pour l'année 2002. Hendrickx, P. Juillet, 2002.
- Hourrigan, J. L. & Klingsporn, A. L.** (1975). Bluetongue: the disease in cattle. *Australian Veterinary Journal* **51**(4), 170-174.
- Howerth, E. W., Greene, C. E. & Prestwood, A. K.** (1988). Experimentally induced bluetongue virus infection in white-tailed deer: coagulation, clinical pathologic, and gross pathologic changes. *American Journal of Veterinary Research* **49**(11), 1906-1913.
- Hutcheon, D.** (1880). Fever or epizootic catarrh. *Report of the Colonial Veterinary Surgeon for 1880* **12**(1881).
- Ijumba, J. N., Mosha, F. W. & Lindsay, S. W.** (2002). Malaria transmission risk variations derived from different agricultural practices in an irrigated area of northern Tanzania. *Medical and Veterinary Entomology* **16**(1), 28-38.
- Institut de Mécanique Céleste et de calcul des Éphémérides** (2005). Lever, Coucher et Passage au Méridien des Corps du Système Solaire. <http://lychnis.imcce.fr/cgi-bin/levcou.cgi>.
- Jacobson, R. H.** (1998). Validation of serological assays for diagnosis of infectious diseases. *Revue Scientifique et Technique* **17**(2), 469-526.
- Jebara, K. B.** (2004). Surveillance, detection and response: managing emerging diseases at national and international levels. *Revue Scientifique et Technique* **23**(2), 709-715.
- Jeggo, M. H., Gumm, I. D. & Taylor, W. P.** (1983). Clinical and serological response of sheep to serial challenge with different bluetongue virus types. *Research in Veterinary Science* **34**(2), 205-211.
- Jennings, D. M. & Mellor, P. S.** (1987). Variation in the responses of *Culicoides variipennis* (Diptera: Ceratopogonidae) to oral infection with bluetongue virus. *Archives of Virology* **95**(3-4), 177-182.
- Jennings, D. M. & Mellor, P. S.** (1988). The vector potential of British *Culicoides* species for bluetongue virus. *Veterinary Microbiology* **17**(1), 1-10.
- Jetten, T. H. & Focks, D. A.** (1997). Potential changes in the distribution of dengue transmission under climate warming. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene* **57**(3), 285-297.

- Jochim, M. M. & Jones, R. H.** (1966). Multiplication of bluetongue virus in *Culicoides varripennis* following artificial infection. *American Journal of Epidemiology* **84**(2), 241-246.
- Jochim, M. M.** (1985). An overview of diagnostics for bluetongue. *Progress in clinical and biological research* **178**, 423-433.
- Jones, R. H. & Potter, H. W.** (1972). A six-position feeding apparatus for *Culicoides varripennis*. *Mosquito News* **32**, 520-527.
- Jordan, D. & McEwen, S. A.** (1998). Herd-level test performance based on uncertain estimates of individual test performance, individual true prevalence and herd true prevalence. *Preventive Veterinary Medicine* **36**(3), 187-209.
- Jorgensen, S. R.** (1994). "Fundamentals of ecological modelling." Elsevier, Amsterdam.
- Kaluzewski, S., Jagielski, M., Rastawicki, W. & Kochman, M.** (1994). [Evaluation of occurrence of infections caused by *Mycoplasma pneumoniae* during 1970-1973 based on serological investigations]. *Przegląd Epidemiologiczny* **48**(3), 165-72.
- Katz, J., Alstad, D., Gustafson, G. & Evermann, J.** (1994). Diagnostic analysis of the prolonged bluetongue virus RNA presence found in the blood of naturally infected cattle and experimentally infected sheep. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation* **6**(2), 139-142.
- Kettle, D. S.** (1957). Preliminary observations on weather conditions and the activity of biting flies. *Proceedings of the Royal Entomological Society of London Series A* **32**, 13-20.
- Kettle, D. S.** (1984). Ceratopogonidae (Biting midges). pp. 658 in (Ed.) *Medical and Veterinary Entomology*. London & Sidney, Croom Helm.
- Killeen, G. F., McKenzie, F. E., Foy, B. D., Schieffelin, C. & Billingsley, P. F.** (2000). A simplified model for predicting malaria entomologic inoculation rates based on entomologic and parasitologic parameters relevant to control. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene* **62**, 535-544.
- Kostoulas, P., Leontides, L., Enoe, C., Billinis, C., Florou, M. & Sofia, M.** (2006). Bayesian estimation of sensitivity and specificity of serum ELISA and faecal culture for diagnosis of paratuberculosis in Greek dairy sheep and goats. *Preventive Veterinary Medicine* **76**(1-2), 56-73.
- Koumbati, M., Mangana, O., Nomikou, K., Mellor, P. S. & Papadopoulos, O.** (1999). Duration of bluetongue viraemia and serological responses in experimentally infected European breeds of sheep and goats. *Veterinary Microbiology* **64**(4), 277-85.
- Lefèvre, P.-C.** (2003). Fièvre catarrhale du mouton. pp. 667-685 in Tec & Doc Médicales Internationales (Ed.) *Principales maladies infectieuses et parasitaires du bétail - europe et régions chaudes*, Vol. 1. Londres, Paris, New York, France.
- Levins, R.** (1966). The strategy of model building in population biology. *American Scientist* **54**(4), 421-431.
- Lewis, T. & Taylor, L. R.** (1965). Diurnal periodicity of flight by insects. *Transactions of the Royal Entomological Society of London* **116**, 393-469.

- Lillie, T. H., Marquard, W. C. & Jones, R. H.** (1981). The flight range of *Culicoides variipennis* (Diptera: Ceratopogonidae). *Canadian Entomologist* **133**, 419-426.
- Lines, J. D., Curtis, C. F., Wilkes, T. J. & njunwa, K. J.** (1991). Monitoring human biting mosquitoes in Tanzania with light traps hung beside mosquito nets. *Bulletin of Entomological Research* **81**, 77-84.
- Lord, C. C. & Baylis, M.** (1999). Estimation of survival rates in haematophagous insects. *Medical and Veterinary Entomology* **13**(3), 225-33.
- Luedke, A. J., Jones, R. H. & Jochim, M. M.** (1967). Transmission of bluetongue between sheep and cattle by *Culicoides variipennis*. *American Journal of Veterinary Research* **28**(123), 457-60.
- Luedke, A. J.** (1969). Bluetongue in sheep: viral assay and viremia. *American Journal of Veterinary Research* **30**(4), 499-509.
- Macdonald, G.** (1957). "The epidemiology and control of malaria." Oxford University Press, London.
- MacLachlan, N. J.** (1994). The pathogenesis and immunology of bluetongue virus infection of ruminants. *Comparative Immunology, Microbiology and Infectious Diseases* **17**(3-4), 197-206.
- MacLachlan, N. J., Nunamaker, R. A., Katz, J. B., Sawyer, M. M., Akita, G. Y., Osburn, B. I. & Tabachnick, W. J.** (1994). Detection of bluetongue virus in the blood of inoculated calves: comparison of virus isolation, PCR assay, and in vitro feeding of *Culicoides variipennis*. *Archives of Virology* **136**(1-2), 1-8.
- Magbity, E. B., Lines, J. D., Marbiah, M. T., David, K. & Peterson, E.** (2002). How reliable are light traps in estimating biting rates of adult *Anopheles gambiae* s.l. (Diptera: Culicidae) in the presence of treated bed nets? *Bulletin of Entomological Research* **92**(1), 71-76.
- Martens, W. J.** (1995). Climate change and malaria: exploring the risks. *Medicine War* **11**(4), 202-13.
- Massad, E. & Forattini, O. P.** (1998). Modelling the Temperature Sensitivity of Some Physiological Parameters of Epidemiologic Significance. *Ecosyst Health* **4**(2), 119-129.
- Mathieu, B., Biteau-Coroller, F., Delécolle, J.-C., Gerbier, G. & Baldet, T.** (2006). First settlement of *Culicoides imicola*, the main bluetongue vector in mainland France. *Revue d'Élevage et de Médecine Vétérinaire des Pays Tropicaux* **submitted**.
- McElhany, P., Real, L. A. & Power, A. G.** (1995). Vector Preference and Disease Dynamics: A Study of Barley Yellow Dwarf Virus. *Ecology* **76**(2), 444-457.
- McKenzie, F. E.** (2000). Why Model Malaria? *Parasitology Today* **16**(12), 511-516.
- Meiswinkel, R., Nevill, E. M. & Venter, G. J.** (1994). Vectors: *Culicoides spp.* pp. 68-89 in Coetzer, J. A. W., Thomson, G. R., and Tustin, R. C. (Ed.) *Infectious disease of livestock with special reference to southern Africa*, Vol. 1. 2 vols. Capetown, Oxford, New York, Oxford University Press.

- Meiswinkel, R.** (1997). Discovery of a *Culicoides imicola*-free zone in South Africa: preliminary notes and potential significance. *Onderstepoort Journal of Veterinary Research* **64**(1), 81-6.
- Meiswinkel, R., Labuschagne, K., Baylis, M. & Mellor, P. S.** (2004). Multiple vectors and their differing ecologies: observations on two bluetongue and African horse sickness vector *Culicoides* species in South Africa. *Veterinaria Italiana* **40**(3), 296-302.
- Mellor, P. S.** (1971). A membrane feeding technique for the infection of *Culicoides tuberculosus* Mg. and *Culicoides variipennis sonorensis* Cog. with *Onchocerca cervicalis* Rail. and Henry. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene* **65**(2), 199-201.
- Mellor, P. S. & Pitzolis, G.** (1979). Observations on breeding sites and light-trap collections of *Culicoides* during an outbreak of bluetongue in Cyprus. *Bulletin of Entomological Research* **69**(2), 229-234.
- Mellor, P. S., Jennings, D. M., Wilkinson, P. J. & Boorman, J. P. T.** (1985a). *Culicoides imicola*: a bluetongue virus vector in Spain and Portugal. *The Veterinary Record* **116**(22), 589-590.
- Mellor, P. S., Jennings, M. & Boorman, J.** (1985b). Oral infection of *Culicoides* (Diptera, Ceratopogonidae) with viral agents, using fine glass needles. *Progress in clinical and biological research* **178**, 235-237.
- Mellor, P. S.** (1992). *Culicoides* as a potential orbivirus vectors in Europe. pp. 278-283 in Walton, T. E., and Osburn, B. I. (Ed.) *Bluetongue, African horse sickness, and related orbiviruses: Proceedings of the Second International Symposium*. Boca Raton, Florida, USA, CRC Press.
- Mellor, P. S.** (1993). African horse sickness: transmission and epidemiology. *Veterinary Research* **24**(2), 199-212.
- Mellor, P. S. & Boorman, J.** (1995). The transmission and geographical spread of African horse sickness and bluetongue viruses. *Annals of Tropical Medicine and Parasitology* **89**(1), 1-15.
- Mellor, P. S., Boorman, J. & Baylis, M.** (2000). *Culicoides* biting midges: their role as arbovirus vectors. *Annual Review of Entomology* **45**, 307-40.
- Mellor, P. S. & Leake, C. J.** (2000). Climatic and geographic influences on arboviral infections and vectors. *Revue Scientifique et Technique* **19**(1), 41-54.
- Mellor, P. S.** (2001). Bluetongue virus. pp. 78-83 in Service, M. W. (Ed.) *The encyclopedia of arthropod-transmitted infections of man and domesticated animals*. CABI Publishing, UK.
- Mellor, P. S. & Wittmann, E. J.** (2002). Bluetongue Virus in the Mediterranean Basin 1998-2001. *The Veterinary Journal* **164**(1), 20-37.
- Mellor, P. S.** (2004). Environmental influences on arbovirus infections and vectors. pp. 181-197 in Gillepsie, S. H., Smith, G. L., and Osbourn, A. (Ed.) *SGM symposium 63: Microbe-vector interactions in vector-borne diseases*. Cambridge University Press.
- Mellor, P. S. & Hamblin, C.** (2004). African horse sickness. *Veterinary Research* **35**(4), 445-66.
- Melville, L. F.** (2004). Bluetongue surveillance methods in an endemic area: Australia. *Veterinaria Italiana* **40**(3), 184-187.

- Millby, M. M. & Reisen, W. K.** (1989). Estimation of vectorial capacity: vector survivorship. *Bulletin of the Society for Vector Ecology* **14**(1), 47-54.
- Ministère de l'Agriculture et de la Pêche** (2001). Arrêté du 21 août 2001 fixant les mesures techniques et financières de police sanitaire relative à la fièvre catarrhale du mouton. pp. 13614-13616 in (Ed.) *Journal Officiel de la République française*, Vol. n° 195 du 24 août 2001. Paris.
- Miranda, M. A., Rincón, C. & Borràs, D.** (2004). Seasonal abundance of *Culicoides imicola* and *C. obsoletus* in the Balearic islands. *Veterinaria Italiana* **40**(3), 292-295.
- Morse, S. S.** (2004). Factors and determinants of disease emergence. *Revue Scientifique et Technique* **23**(2), 443-51.
- Mullen, G.** (2002). Biting Midges (*Ceratopogonidae*). pp. 163-183 in (Ed.) *Medical and Veterinary Entomology*. Pays Bas, Academic Press.
- Mullens, B. A.** (1985). Sampling bias and the problem of age and survivorship determination in *Culicoides*. *Progress in clinical and biological research* **178**, 207-11.
- Mullens, B. A. & Holbrook, F. R.** (1991). Temperature effects on the gonotrophic cycle of *Culicoides variipennis* (Diptera: Ceratopogonidae). *Journal of the American Mosquito control Association* **7**(4), 588-91.
- Mullens, B. A., Tabachnick, W. J., Holbrook, F. R. & Thompson, L. H.** (1995). Effects of temperature on virogenesis of bluetongue virus serotype 11 in *Culicoides variipennis sonorensis*. *Medical and Veterinary Entomology* **9**(1), 71-6.
- Mullens, B. A. & Gerry, A. C.** (1998). Comparison of bait cattle and carbon dioxide-baited suction traps for collecting *Culicoides variipennis sonorensis* (Diptera: Ceratopogonidae) and *Culex quinquefasciatus* (Diptera: Culicidae). *Journal of Medical Entomology* **35**(3), 245-50.
- Mullens, B. A., Gerry, A. C., Lysyk, T. J. & Schmidtman, E. T.** (2004). Environmental effects on vector competence and virogenesis of bluetongue virus in *Culicoides*: interpreting laboratory in a field context. *Veterinaria Italiana* **40**(3), 160-166.
- Muller, M. J.** (1979). A method of feeding the biting midge *Culicoides brevitarsis* (Diptera: Ceratopogonidae) on mammalian hosts. *Journal of Medical Entomology* **16**(4), 335-338.
- Muller, M. J.** (1987). Transmission and in vitro excretion of bluetongue virus serotype 1 by inoculated *Culicoides brevitarsis* (Diptera: Ceratopogonidae). *Journal of Medical Entomology* **24**(2), 206-11.
- Müller-Doblies, U. U., Li, H., Hauser, B., Adler, H. & Ackerman, M.** (1998). Field validation of laboratory tests for clinical diagnosis of sheep-associated malignant catarrhal fever. *Journal of Clinical Microbiology* **36**(10), 2970-2972.
- Murray, M. D.** (1987). Local dispersal of the biting-midges, *Culicoides brevitarsis* (Diptera, ceratopogonidae), in south-eastern Australia. *Australian Journal of Zoology* **35**, 559-573.
- Murray, M. D.** (1991). The seasonal abundance of femal biting-midges, *Culicoides brevitarsis* (Diptera, ceratopogonidae), in coastal south-eastern Australia. *Australian Journal of Zoology* **39**, 333-342.

- Murray, M. D.** (1995). Influences of vector biology on transmission of arboviruses and outbreaks of disease: the *Culicoides brevitarsis* model. *Veterinary Microbiology* **46**(1-3), 91-9.
- Nelson, R. L. & Bellamy, R. E.** (1971). Pattern of flight activity of *Culicoides variipennis* (coquilletti)(Diptera, Ceratopogonidae). *Journal of Medical Entomology* **8**, 283-291.
- Nevill, E. M.** (1967). Biological studies on some South African *Culicoides* species (Diptera: Ceratopogonidae) and the morphology of their immature stages. M. Sc. thesis. University of Pretoria 210 pp
- Nevill, E. M.** (1971). Cattle and *Culicoides* biting midges as possible overwintering hosts of bluetongue virus. *Onderstepoort Journal of Veterinary Research* **38**(2), 65-71.
- Nevill, E. M. & Anderson, D.** (1972). Host preferences of *Culicoides* midges (Diptera: Ceratopogonidae) in South Africa as determined by precipitin tests and light trap catches. *Onderstepoort Journal of Veterinary Research* **39**(3), 147-152.
- Nevill, E. M.** (1978). The use of cattle to protect sheep from bluetongue infection. *Journal of the South African Veterinary Medical Association* **49**(2), 129-30.
- Norstrom, M.** (2001). Geographical Information System (GIS) as a tool in surveillance and monitoring of animal diseases. *Acta Veterinaria Scandinavia supplement* **94**, 79-85.
- OIE** (2000a). Bluetongue in Balearic islands (Spain), Report: 11 October 2000. *OIE disease information* **13**(40).
- OIE** (2000b). Bluetongue in Sardinia (Italie), Report : 31 August 2000. *OIE disease information* **13**(34).
- OIE** (2000c). Bluetongue in Corsica (France), Report: 31 October 2000. *OIE disease information* **13**(43).
- OIE** (2000d). Bluetongue in Sardinia (Italy), Report: 31 August 2000. *OIE disease information* **13**(34).
- OIE** (2000e). Bluetongue in Corsica (France), Report :31 Octobre 2000. *OIE disease information* **13**(43), .
- OIE** (2003a). Bluetongue in Corsica (France), Report : 20 October 2003. *OIE disease information* **16**(44).
- OIE** (2003b). Bluetongue in Sardinia (Italie), Report : 18 September 2003. *OIE disease information* **16**(39).
- OIE** (2003c). Resolution XXIX: OIE Procedure for Validation and Certification of Diagnostic Assays (Test Methods) for Infectious Animal Diseases. Paris.
ftp://ftp.oie.int/F_Reso_2003%20WP.pdf.
- OIE** (2004a). Bluetongue in Morocco, Report: 16 September 2004. *OIE disease information* **17**(39).
- OIE** (2004b). Bluetongue in Spain, Report: 15 October 2004. *OIE disease information* **17**(42).
- OIE** (2004c). Bluetongue. pp. 195-210 in (Ed.) *Manual of diagnostic tests and vaccines for terrestrial animals (mammals, birds and bees)*, Vol. 1. 2 vols. Paris, OIE.

- OIE** (2004d). "Code sanitaire pour les animaux terrestres." 13ème ed. OIE, Paris.
- OIE** (2004e). Principles of validation of diagnostic assays for infectious diseases. pp. 21-29 in (Ed.) *Manual of diagnostic tests and vaccines for terrestrial animals (mammals, birds and bees)*, Vol. 1. 2 vols. Paris, OIE.
- OIE** (2004f). Bluetongue. pp. 137-138 in (Ed.) *Code sanitaire pour les animaux terrestres*. Paris, OIE.
- OIE** (2004g). Bluetongue in Corsica (France), Report : 14 September 2004. *OIE disease information* **17**(38).
- OIE** (2005a). Lignes directrices pour la surveillance de la santé animale. OIE, Paris.
http://www.oie.int/fr/normes/mcode/fr_chapitre_3.8.1.htm.
- OIE** (2005b). L'OIE lance une nouvelle procédure pour la validation et la certification des Tests de Diagnostic. Paris. http://www.oie.int/fr/press/fr_050429.htm.
- OIE** (2006a). Fièvre catarrhale du mouton en France. *OIE disease information* **19**(35), 636.
- OIE** (2006b). Fièvre catarrhale du mouton aux Pays-Bas. *OIE disease information* **19**(34), 612.
- OIE** (2006c). Fièvre catarrhale du mouton en France: rapport de suivi n°1. *OIE disease information* **19**(37), 651.
- ONU** Basics of early warning. International Strategy for Disaster Reduction,
<http://www.unisdr.org/ppew/whats-ew/basics-ew.htm>.
- Orr, K. A., O'Reilly, K. L. & Scholl, D. T.** (2003). Estimation of sensitivity and specificity of two diagnostics tests for bovine immunodeficiency virus using Bayesian techniques. *Preventive Veterinary Medicine* **61**(2), 79-89.
- Ortega, M. D., Lloyd, J. E. & Holbrook, F. R.** (1997). Seasonal and geographical distribution of *Culicoides imicola* Kieffer (Diptera: Ceratopogonidae) in southwestern Spain. *Journal of the American Mosquito control Association* **13**(3), 227-32.
- Owens, L.** (1981). A method for membrane feeding blood to *Culicoides*. *Australian Veterinary Journal* **57**(8), 396-7.
- Patz, J. A.** (1998). Predicting key malaria transmission factors, biting and entomological inoculation rates, using modelled soil moisture in Kenya. *Tropical Medicine and International Health* **3**(10), 818-827.
- Patz, J. A., Martens, W. J., Focks, D. A. & Jetten, T. H.** (1998). Dengue fever epidemic potential as projected by general circulation models of global climate change. *Environmental Health Perspectives* **106**(3), 147-53.
- Paweska, J. T., Venter, G. J. & Mellor, P. S.** (2002). Vector competence of South African *Culicoides* species for bluetongue virus serotype 1 (BTV-1) with special reference to the effect of temperature on the rate of virus replication in *C. imicola* and *C. bolitinos*. *Medical and Veterinary Entomology* **16**(1), 10-21.
- Paweska, J. T., Venter, G. J. & Hamblin, C.** (2005). A comparison of the susceptibility of *Culicoides imicola* and *C. bolitinos* to oral infection with eight serotypes of epizootic haemorrhagic disease virus. *Medical and Veterinary Entomology* **19**(2), 200-207.

- Potgieter, A., Monaco, F., Mangana, O., Nomikou, K., Yadin, H. & Savini, G.** (2005). VP2-segment sequence analysis of some isolates of bluetongue virus recovered in the Mediterranean basin during the 1998-2003 outbreak. *Journal of Veterinary Medicine Series B* **52**(9), 372-379.
- Pouillot, R., Gerbier, G. & Gardner, I. A.** (2002). "TAGS", a program for the evaluation of test accuracy in the absence of a gold standard. *Preventive Veterinary Medicine* **53**(1-2), 67-81.
- Prakash, A., Bhattacharyya, D. R., Mohapatra, P. K. & Mahanta, J.** (2001). Estimation of Vectorial Capacity of Anopheles dirus (Diptera: Culicidae) in a Forest-Fringed Village of Assam (India). *Vector-Borne and Zoonotic Diseases* **1**(3), 231-237.
- Price, D. A. & Hardy, W. T.** (1954). Isolation of the Bluetongue virus from Texas sheep; *Culicoides* shown to be vector. *J Am Vet Med Assoc* **121**, 255-258.
- ProMED-mail** (2006a). PRO/AH/EDR> Bluetongue, domestic ruminants - Spain. ProMED-AHEAD Digest,
http://www.promedmail.org/pls/promed/f?p=2400:1001:12672434224954333154::NO::F2400_0_P1001_BACK_PAGE,F2400_P1001_PUB_MAIL_ID:1010,34981.
- ProMED-mail** (2006b). PRO/AH> Bluetongue - Europe (11): vector: Bluetongue demonstrated in midges.
http://www.promedmail.org/pls/promed/f?p=2400:1001:16984951013260626317:::F2400_P1001_BACK_PAGE,F2400_P1001_ARCHIVE_NUMBER,F2400_P1001_USE_ARCHIVE:1001,20061016.2978,Y.
- ProMED-mail** (2006c). PRO/AH/EDR> Bluetongue - Europe (14): new vector.
http://www.promedmail.org/pls/promed/f?p=2400:1001:16984951013260626317:::F2400_P1001_BACK_PAGE,F2400_P1001_ARCHIVE_NUMBER,F2400_P1001_USE_ARCHIVE:1001,20061024.3042,Y.
- ProMED-mail** (2006d). PRO/AH/EDR> Bluetongue - Europe (06): BTV-8 origin. ProMED-AHEAD Digest,
http://www.promedmail.org/pls/promed/f?p=2400:1001:16984951013260626317:::F2400_P1001_BACK_PAGE,F2400_P1001_ARCHIVE_NUMBER,F2400_P1001_USE_ARCHIVE:1001,20060923.2713,Y.
- ProMED-mail** (2006e). PRO/AH/EDR> Bluetongue - Europe (12): clinical signs in cattle.
http://www.promedmail.org/pls/promed/f?p=2400:1001:16984951013260626317:::F2400_P1001_BACK_PAGE,F2400_P1001_ARCHIVE_NUMBER,F2400_P1001_USE_ARCHIVE:1001,20061022.3033,Y.
- ProMED-mail** (2006f). PRO/AH/EDR> Bluetongue - Europe (08): BTV-8 origin. ProMED-AHEAD Digest,
http://www.promedmail.org/pls/promed/f?p=2400:1202:16984951013260626317::NO::F2400_0_P1202_CHECK_DISPLAY,F2400_P1202_PUB_MAIL_ID:X,34685.

- ProMED-mail** (2006g). PRO/AH/EDR> Bluetongue - Europe (14): "Science Now".
http://www.promedmail.org/pls/promed/f?p=2400:1202:16984951013260626317::NO::F2400_P1202_CHECK_DISPLAY,F2400_P1202_PUB_MAIL_ID:X,34241.
- ProMED-mail** (2006h). PRO/AH/EDR> Bluetongue - Europe (05). ProMED-AHEAD Digest,
http://www.promedmail.org/pls/promed/f?p=2400:1202:16984951013260626317::NO::F2400_P1202_CHECK_DISPLAY,F2400_P1202_PUB_MAIL_ID:X,34435.
- ProMED-mail** (2006i). PRO/AH> Bluetongue - Netherlands, Belgium, Germany (06): BTV-8.
http://www.promedmail.org/pls/promed/f?p=2400:1202:16984951013260626317::NO::F2400_P1202_CHECK_DISPLAY,F2400_P1202_PUB_MAIL_ID:X,34201.
- Purse, B. V., Mellor, P. S. & Baylis, M.** (2003). Bluetongue in the Mediterranean: prediction of risk in space and time. pp. 125-136 in (Ed.) *Environmental Change and Malaria Risk: Global and Local Implications*. Wageningen, Kluwer Academic Publisher.
- Purse, B. V., Baylis, M., Tatem, A. J., Rogers, D. J., Mellor, P. S., Van Ham, M., Chizov-Ginzburg, A. & Braverman, Y.** (2004a). Predicting the risk of bluetongue through time: climate models of temporal patterns of outbreaks in Israel. *Revue Scientifique et Technique* **23**(3), 761-75.
- Purse, B. V., Caracappa, S., Marino, A. M. F., Tatem, A. J., Rogers, D. J., Mellor, P. S., Baylis, M. & Torina, A.** (2004b). Modelling the distribution of outbreaks and *Culicoides* vectors in Sicily: towards predictive risk maps for Italy. *Veterinaria Italiana* **40**(3), 303-310.
- Purse, B. V., Tatem, A. J., Caracappa, S., Rogers, D. J., Mellor, P. S., Baylis, M. & Torina, A.** (2004c). Modelling the distributions of "Culicoides" bluetongue virus vectors in Sicily in relation to satellite-derived climate variables. *Medical and Veterinary Entomology* **18**(2), 90-101.
- Purse, B. V., Mellor, P. S., Rogers, D. J., Samuel, A. R., Mertens, P. P. & Baylis, M.** (2005). Climate change and the recent emergence of bluetongue in Europe. *Nature Reviews Microbiology* **3**(2), 171-81.
- Rawlings, P., Pro, M. J., Pena, I., Ortega, M. D. & Capela, R.** (1997). Spatial and seasonal distribution of *Culicoides imicola* in Iberia in relation to the transmission of African horse sickness virus. *Medical and Veterinary Entomology* **11**, 49-57.
- Rawlings, P., Capela, R., Pro, M. J., Ortega, M. D., Pena, I., Rubio, C., Gasca, A. & Mellor, P. S.** (1998). The relationship between climate and the distribution of *Culicoides imicola* in Iberia. *Archives of Virology Supplement* **14**, 95-102.
- Reddington, J. J., Reddington, G. M. & MacLachlan, N. J.** (1991). A competitive ELISA for detection of antibodies to the group antigen of bluetongue virus. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation* **3**(2), 144-7.
- Reisen, W. K.** (1989). Estimation of vectorial capacity: introduction. *Bulletin of The Society for Vector Ecology* **14**, 39-40.

- Richards, R. G., MacLachlan, N. J., Heidner, H. W. & Fuller, F. J.** (1988). Comparison of virologic and serologic responses of lambs and calves infected with bluetongue virus serotype 10. *Veterinary Microbiology* **18**(3-4), 233-42.
- Rieb, J. P.** (1982). Contribution à la connaissance de l'écologie et de la biologie des Cératopogonidés (Diptera, Nematocera). Thèse d'Etat. Université Louis Pasteur, U.E.R. Sciences, Vie et Terre, n°10, 395 pp
- Roberts, D. H.** (1990). Bluetongue: a review. *State Veterinary Journal* **44**(124), 66-80.
- Robinson, R. M., Hailey, T. L., Livingston, C. W. & Thomas, J. W.** (1967). Bluetongue in the desert bighorn sheep. *Journal of Wildlife Management* **31**(.), 165-168.
- Rodhain, F.** (1985). Les relations arbovirus-vecteurs. *Bulletin de la société entomologique de France* **78**(5 Pt 2), 763-8.
- Rodhain, F.** (1998). Impacts sur la santé : le cas des maladies à vecteurs. pp. 111-121 in (Ed.) *Impacts potentiels du changement climatique en France au XXIème siècle*. Paris, Premier Ministre, Mission Interministérielle de l'Effet de Serre.
- Roger, F., Tatem, A. J., de La Rocque, S., Hendrickx, P., Baylis, M., Delécolle, J.-C. & Rogers, D. J.** (2003). L'émergence de la bluetongue en Corse et dans le bassin méditerranéen (1998-2002) : modélisations des zones à risque à partir de données satellitaires. *Épidémiologie et santé animale* **43**, 127-128.
- Roger, F., Thonnat, J., Hendrickx, P. & Domenech, J.** (2004). Les systemes de suivi et de surveillance des maladies et le role des acteurs de sante animale publics et privs: l'experience de l'Afrique. *Revue Scientifique et Technique* **23**(1), 137-145.
- Rogers, D. J. & Randolph, S. E.** (2000). The Global Spread of Malaria in a Future, Warmer World. *Science* **289**(5485), 1763-1766.
- Ross, R.** (1911). "The prevention of Malaria." Murray, London.
- Ruel, J. J. & Ayres, M. P.** (1999). Jensen's inequality predicts effects of environmental variation. *Trends in Ecology and Evolution* **14**(:), 361-366.
- Sailleau, C., Bréard, E., Gerbier, G., Parodi, J., Bouchot, A. & Zientara, S.** (2005). Epidémiologie descriptive et moléculaire de la bluetongue en Corse en 2004. *Épidémiologie et santé animale* **48**, 9-14.
- Saltelli, A., Chan, K. & Scott, M.** (2000a). "Sensitivity Analysis." Probability and Statistics series. John Wiley, New York.
- Saltelli, A., Tarantola, S. & Campolongo, F.** (2000b). Sensitivity Analysis as an Ingredient of Modeling. *Statistical Science* **15**(4), 377-395.
- Sarto i Monteys, V. & Saiz-Ardanaz, M.** (2003). *Culicoides* midges in Catalonia (Spain), with special reference to likely bluetongue virus vectors. *Medical and Veterinary Entomology* **17**(3), 288-93.

- Sarto i Monteys, V., Ventura, D., Pages, N., Aranda, C. & Escosa, R.** (2005). Expansion of *Culicoides imicola*, the main bluetongue virus vector in Europe, into Catalonia, Spain. *The Veterinary Record* **156**(13), 415-417.
- Savini, G., Goffredo, M., Monaco, F., Di Gennaro, A., Cafiero, M. A., Baldi, L., de Santis, P., Meiswinkel, R. & Caporale, V.** (2005). Bluetongue virus isolations from midges belonging to the *Obsoletus* complex (*Culicoides*, Diptera: Ceratopogonidae) in Italy. *The Veterinary Record* **157**(5), 133-139.
- Sebastiani, F., Meiswinkel, R., Gomulski, L. M., Guglielmino, C. R., Mellor, P. S., Malacrida, A. R. & Gasperi, G.** (2001a). Molecular differentiation of the Old World *Culicoides imicola* species complex (Diptera, Ceratopogonidae), inferred using random amplified polymorphic DNA markers. *Mol Ecol* **10**(7), 1773-86.
- Sebastiani, F., Meiswinkel, R., Gomulski, L. M., Guglielmino, C. R., Mellor, P. S., Malacrida, A. R. & Gasperi, G.** (2001b). Molecular differentiation of the Old World *Culicoides imicola* species complex (Diptera, Ceratopogonidae), inferred using random amplified polymorphic DNA markers. *Molecular Ecology* **10**(7), 1773-86.
- Seed, P.** (2004). Evaluation of diagnostic tests for diseases in pregnancy: some statistical issues. <http://www.stata.com/meeting/10uk/abstracts.html>.
- Sellers, R. F., Pedgley, D. E. & Tucker, M. R.** (1978). Possible windborne spread of bluetongue to Portugal, June-July 1956. *Journal of Hygiene (London)* **81**(2), 189-96.
- Sellers, R. F. & Pedgley, D. E.** (1985). Possible windborne spread to western Turkey of bluetongue virus in 1977 and of Akabane virus in 1979. *Journal of Hygiene (London)* **95**(1), 149-58.
- Sellers, R. F. & Mellor, P. S.** (1993). Temperature and the persistence of viruses in *Culicoides* spp. during adverse conditions. *Revue Scientifique et Technique* **12**(3), 733-55.
- Service, M. W.** (1977). A critical review of procedures for sampling populations of adult mosquitoes. *Bulletin of Entomological Research* **67**, 343-382.
- Seyoum, A., Balcha, F., Balkew, M., Ali, A. & Gebre-Michael, T.** (2002). Impact of cattle keeping on human biting rate of anopheline mosquitoes and malaria transmission around Ziway, Ethiopia. *Eastern African Medical Journal* **79**(9), 485-90.
- Shililu, J., Ghebremeskel, T., Mengistu, S., Fekadu, H., Zerom, M., Mbogo, C. M., Githure, J., Novak, R., Brantly, E. & Beier, J. C.** (2003). High Seasonal Variation In Entomologic Inoculation Rates In Eritrea, a Semi-arid Region of unstable Malaria in Africa. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene* **69**(6), 607-613.
- Singer, R. S., Boyce, W. M., Gardner, I. A., Johnson, W. O. & Fisher, A. S.** (1998). Evaluation of bluetongue virus diagnostic tests in free-ranging bighorn sheep. *Preventive Veterinary Medicine* **35**(4), 265-82.
- Smith, D. L., Dushoff, J. & McKenzie, F. E.** (2004). The Risk of a Mosquito-Borne Infection in a Heterogeneous Environment. *PLoS Biology* **2**(11), 1957-1964.

- Standfast, H. A., Dyce, A. L. & Muller, M. J.** (1985). Vectors of bluetongue virus in Australia. *Progress in clinical and biological research* **178**, 177-86.
- Stark, K. D., Mortensen, S., Olsen, A. M., Barfod, K., Botner, A., Lavritsen, D. T. & Strandbygard, B.** (2000). Designing serological surveillance programmes to document freedom from disease with special reference to exotic viral diseases of pigs in Denmark. *Revue Scientifique et Technique* **19**(3), 715-24.
- Stark, K. D. & Salman, M. D.** (2001). Relationships between animal health monitoring and the risk assessment process. *Acta Veterinaria Scandinavia supplement* **94**, 71-7.
- Stark, K. D., Regula, G., Hernandez, J., Knopf, L., Fuchs, K., Morris, R. S. & Davies, P.** (2006). Concepts for risk-based surveillance in the field of veterinary medicine and veterinary public health: review of current approaches. *BMC Health Services research* **6**, 20.
- Tabachnick, W. J.** (2004). *Culicoides* and the global epidemiology of bluetongue virus infection. *Veterinaria Italiana* **40**(3), 145-150.
- Tanya, V. N., Greiner, E. C. & Gibbs, E. P.** (1992). Evaluation of *Culicoides insignis* (Diptera: Ceratopogonidae) as a vector of bluetongue virus. *Veterinary Microbiology* **32**(1), 1-14.
- Tanya, V. N., Greiner, E. C., Shroyer, D. A. & Gibbs, E. P.** (1993). Vector competence parameters of *Culicoides variipennis* (Diptera: Ceratopogonidae) for bluetongue virus serotype 2. *Journal of Medical Entomology* **30**(1), 204-8.
- Tatem, A. J., Baylis, M., Mellor, P. S., Purse, B. V., Capela, R., Pena, I. & Rogers, D. J.** (2003). Prediction of bluetongue vector distribution in Europe and north Africa using satellite imagery. *Veterinary Microbiology* **97**(1-2), 13-29.
- Thomson, M. C. & Connor, S. J.** (2001). The development of Malaria Early Warning Systems for Africa. *Trends in Parasitology* **17**(9), 438-45.
- Thomson, M. C., Doblaz-Reyes, F. J., Mason, S. J., Hagedorn, R., Connor, S. J., Phindela, T., Morse, A. P. & Palmer, T. N.** (2006). Malaria early warnings based on seasonal climate forecasts from multi-model ensembles. *Nature* **439**(7076), 576-579.
- Thorne, E. T., Williams, E. S., Spraker, T. R., Helms, W. & Segerstrom, T.** (1988). Bluetongue in free-ranging pronghorn antelope (*Antilocapra americana*) in Wyoming: 1976 and 1984. *Journal of Wildlife Diseases* **24**(1), 113-9.
- Toft, N., Jorgensen, E. & Hojsgaard, S.** (2005). Diagnosing diagnostic tests: evaluating the assumptions underlying the estimation of sensitivity and specificity in the absence of a gold standard. *Preventive Veterinary Medicine* **68**(1), 19-33.
- Toma, B. & Thiry, E.** (2003). Qu'est-ce qu'une maladie émergente ? *Épidémiologie et santé animale* **44**, 1-11.
- Torina, A., Caracappa, S., Mellor, P. S., Baylis, M. & Purse, B. V.** (2004). Spatial distribution of bluetongue virus and its "*Culicoides*" vectors in Sicily. *Medical and Veterinary Entomology* **18**(2), 81-89.

- Tran, A. L., Biteau-Coroller, F., Guis, H. & Roger, F.** (2005). Modélisation des maladies vectorielles. *Épidémiologie et santé animale* **47**, 35-51.
- Venter, G. J., Hill, E., Pajor, I. T. P. & Nevill, E. M.** (1991). The use of a membrane feeding technique to determine the infection rate of *Culicoides imicola* (Diptera: Ceratopogonidae) for 2 bluetongue virus serotypes in South Africa. *Onderstepoort Journal of Veterinary Research* **58**(1), 5-9.
- Venter, G. J., Meiswinkel, R., Nevill, E. M. & Edwardes, M.** (1996). *Culicoides* (Diptera: Ceratopogonidae) associated with livestock in the Onderstepoort area, Gauteng, South Africa as determined by light-trap collections. *Onderstepoort Journal of Veterinary Research* **63**(4), 315-325.
- Venter, G. J., Nevill, E. M. & Van Der Linde, T. C.** (1997). Seasonal abundance and parity of stock-associated *Culicoides* species (Diptera: Ceratopogonidae) in different climatic regions in southern Africa in relation to their viral vector potential. *Onderstepoort Journal of Veterinary Research* **64**(4), 259-71.
- Venter, G. J., Paweska, J. T., Van Dijk, A. A., Mellor, P. S. & Tabachnick, W. J.** (1998). Vector competence of *Culicoides bolitinos* and *C. imicola* for South African bluetongue virus serotypes 1, 3 and 4. *Medical and Veterinary Entomology* **12**(4), 378-85.
- Venter, G. J., Paweska, J. T., Lunt, H., Mellor, P. S. & Carpenter, S.** (2005). An alternative method of blood-feeding *Culicoides imicola* and other haematophagous *Culicoides* species for vector competence studies. *Veterinary Parasitology* **131**(3-4), 331-335.
- Verwoerd, D. W., Els, H. J., De Villiers, E. M. & Huismans, H.** (1972). Structure of the bluetongue virus capsid. *Journal of Virology* **10**(4), 783-94.
- Verwoerd, D. W. & Erasmus, B. J.** (1994). Bluetongue. pp. 443-459 in Coetzer J.A.W., T. G. R., Tustin R.C. (Ed.) *Infectious disease do livestock with special reference to southern Africa*, Vol. 1. 2 vols. Capetown (Afrique du Sud), oxford university press.
- Modelassist Advanced for @risk. version 1.01: Vose consulting
- Walker, A. R. & Davies, F. G.** (1971). A preliminary survey of the epidemiology of bluetongue in Kenya. *Journal of Hygiene* **69**, 47-60.
- Walker, A. R.** (1977a). Seasonal fluctuations of *Culicoides* species (Diptera: Ceratopogonidae) in Kenya. *Bulletin of Entomological Research* **67**(2), 217-233.
- Walker, A. R.** (1977b). Adult lifespan and reproductive status of *Culicoides* species (Diptera: Ceratopogonidae) in Kenya, with reference to virus transmission. *Bulletin of Entomological Research* **67**, 205-215.
- Ward, M. P.** (1994). Climatic factors associated with the prevalence of bluetongue virus infection of cattle herds in Queensland, Australia. *The Veterinary Record* **134**(16), 407-10.
- Ward, M. P., Carpenter, T. E. & Osburn, B. I.** (1994). Host factors affecting seroprevalence of bluetongue virus infections of cattle. *American Journal of Veterinary Research* **55**(7), 916-20.

- Ward, M. P., Gardner, I. A. & Flanagan, M.** (1995). Evaluation of an agar gel immunodiffusion test to detect infection of cattle with bluetongue viruses in Queensland, Australia. *Veterinary Microbiology* **45**(1), 27-34.
- Ward, M. P. & Thurmond, M. C.** (1995). Climatic factors associated with risk of seroconversion of cattle to bluetongue viruses in Queensland. *Preventive Veterinary Medicine* **24**(2), 129-136.
- Weaver, S. C., Coffey, L. L., Nussenzeig, R., Ortiz, D. & Smith, D.** (2004). Vector competence. pp. 139-179 in Gillepsie, S. H., Smith, G. L., and Osbourn, A. (Ed.) *SGM symposium 63: Microbe-vector interactions in vector-borne diseases*. Cambridge University Press.
- Weinberg, J.** (2005). Surveillance and control of infectious diseases at local, national and international levels. *Clinical Microbiology and Infection* **11**(s1), 12-14.
- WHO (1967). Arboviruses and human disease. WHO. 369.
- Wieser-Schimpf, L., Foil, L. D. & Holbrook, F. R.** (1990). Comparison of New Jersey light traps for collection of adult *Culicoides variipennis* (Diptera : ceratopogonidae). *Journal of the American Mosquito control Association* **6**(3), 537-538.
- Wirth, W. W. & Marston, N.** (1968). A method for mounting small insects on microscope slides in Canada balsam. *Annals of the Entomological Society of America* **61**, 783-784.
- Wittmann, E. J. & Baylis, M.** (2000). Climate change: effects on *Culicoides*-transmitted viruses and implications for the UK. *The Veterinary Journal* **160**(2), 107-117.
- Wittmann, E. J., Mellor, P. S. & Baylis, M.** (2001). Using climate data to map the potential distribution of *Culicoides imicola* (Diptera: Ceratopogonidae) in Europe. *Revue Scientifique et Technique* **20**(3), 731-40.
- Wittmann, E. J., Mello, P. S. & Baylis, M.** (2002). Effect of temperature on the transmission of orbiviruses by the biting midge, *Culicoides sonorensis*. *Medical and Veterinary Entomology* **16**(2), 147-56.
- Woolhouse, M. E.** (2002). Population biology of emerging and re-emerging pathogens. *Trends in Microbiology* **10**(10 Suppl), S3-7.
- Yang, S. & Rothman, R. E.** (2004). PCR-based diagnostics for infectious diseases: uses, limitations, and future applications in acute-care settings. *The Lancet Infectious Diseases* **4**(6), 337-348.
- Zell, R.** (2004). Global climate change and the emergence/re-emergence of infectious diseases. *International Journal of Medical Microbiology* **293 Suppl 37**, 16-26.
- Zientara, S., de La Rocque, S., Gourreau, J. M., Grégory, M., Diallo, A., Hendrickx, P., Libeau, G., Sailleau, C. & Delécolle, J. C.** (2000a). La fièvre catarrhale ovine en Corse en 2000. *Épidémiologie et santé animale* **38**, 133-144.

- Zientara, S., de La Rocque, S., Gourreau, J. M., Grégory, M., Diallo, A., Hendrickx, P., Libeau, G., Sailleau, C. & Delécolle, J. C.** (2000b). La fièvre catarrhale ovine en Corse en 2000. *Épidémiologie et santé animale* **38**, 133-144.
- Zientara, S., Sailleau, C., Dauphin, G., Roquier, C., Remond, E. M., Lebreton, F., Hammoumi, S., Dubois, E., Agier, C., Merle, G. & Breard, E.** (2002). Identification of bluetongue virus serotype 2 (Corsican strain) by reverse-transcriptase PCR reaction analysis of segment 2 of the genome. *The Veterinary Record* **150**(19), 598-601.
- Zimmerman, R. H. & Turner, E. C., Jr.** (1983). Host-feeding patterns of *Culicoides* (Diptera: Ceratopogonidae) collected from livestock in Virginia, USA. *Journal of Medical Entomology* **20**(5), 514-9.
- Zweig, M. H. & Campbell, G.** (1993). Receiver-operating characteristic (ROC) plots: a fundamental evaluation tool in clinical medicine. *Clinical Chemistry* **39**(4), 561-77.