



De l'identification des vecteurs du virus West Nile à la modélisation du risque d'infection dans le sud de la France

Thomas Balenghien

► To cite this version:

Thomas Balenghien. De l'identification des vecteurs du virus West Nile à la modélisation du risque d'infection dans le sud de la France. Autre [q-bio.OT]. Université Joseph-Fourier - Grenoble I, 2006. Français. NNT: . tel-00129514

HAL Id: tel-00129514

<https://theses.hal.science/tel-00129514>

Submitted on 7 Feb 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.

UNIVERSITÉ DES SCIENCES DES TECHNOLOGIES ET DE LA SANTÉ DE GRENOBLE

THÈSE

présentée à l'Université des Sciences des Technologies et de la Santé de Grenoble
pour obtenir le diplôme de Doctorat

École Doctorale de l'Ingénierie pour la Santé, la Cognition et l'Environnement
Spécialisation : Modélisation des Systèmes Vivants

De l'identification des vecteurs du virus *West Nile* à la modélisation du risque d'infection dans le sud de la France

par

Thomas BALENGHIEN

soutenue publiquement le 20 décembre 2006

Membres du Jury

Rapporteurs :

M. Didier Fontenille

Mme Loredana Nicoletti

Examineurs :

M. Paul Reiter

M. Stéphane de La Rocque

Directeurs de thèse :

M. Dominique Bicout

Mme Florence Fouque

Membres invités :

Mme Marie Vazeille

M. Francis Schaffner

M. Hervé Zeller

M. Philippe Sabatier

Institut de recherche pour le développement

Istituto Superiore di Sanita

Institut Pasteur

**Organisation des Nations unies pour l'alimentation et
l'agriculture**

École Nationale Vétérinaire de Lyon

Institut Pasteur

Institut Pasteur

**Entente Interdépartementale pour la
Démoustication du littoral méditerranéen**

Institut Pasteur

École Nationale Vétérinaire de Lyon

Avant-propos

Ce travail de thèse a été co-encadré par Dominique Bicout (physicien modélisateur à l'École nationale vétérinaire de Lyon) et par Florence Fouque (entomologiste médical de l'Institut Pasteur). Je tiens à remercier Dominique pour sa disponibilité sans faille et pour sa conception altruiste et responsable de l'encadrement et Florence pour l'aide et les conseils qu'elle m'a apportés, notamment pour sa participation active aux longues nuits de capture. Au contact de ces deux personnes j'ai beaucoup appris.

Je voudrais d'abord remercier sincèrement les personnes qui ont accepté de se réunir pour juger ce travail : les rapporteurs Didier Fontenille (IRD, Montpellier) et Loredana Nicoletti (ISS, Rome), les examinateurs Paul Reiter (Institut Pasteur, Paris) et Stéphane de La Rocque (FAO, Rome) et les membres invités Francis Schaffner (EID-Méditerranée, Montpellier), Marie Vazeille (Institut Pasteur, Paris), Hervé Zeller (Institut Pasteur, Lyon) et Philippe Sabatier (ENVL, Lyon).

Ce travail de thèse a été réalisé dans l'unité Biomathématiques et épidémiologie (EPSP-TIMC) de l'ENVL dirigée par Philippe Sabatier. Merci à Philippe pour ses encouragements constants et son aide. Je tiens à remercier l'ensemble des personnes de cette unité pour leur accueil et leur collaboration à ce travail, en particulier Elsa Jourdain pour son aide précieuse et son soutien et Delphine Doctrinal pour son accueil Ch'timi : tautologiquement *fort* chaleureux.

Je voudrais ensuite remercier toutes les personnes qui ont participé à la réalisation de ce travail.

Les captures de moustiques, dont les résultats sont présentés dans ce document, ont été menées à la station biologique de la Tour du Valat et au centre équestre le Dardaillon de Lunel-Viel. Je remercie l'ensemble des personnes de la Tour du Valat pour leur accueil, en particulier Michel Gauthier-Clerc et Alain Sandoz pour leur collaboration, Olivier Pineau, Philippe Bouzige et Michel Mouiren pour avoir rendu ces captures possibles. Je remercie Bruno Cotton pour nous avoir autorisé à travailler au centre équestre et Maurice Deydier pour

le prêt de ses canards. Pour ces captures, Michèle Leduc, Maulde Chanteau et Camilo Rotela m'ont apporté une aide précieuse, merci ! Merci à Pierre-Marie Bouquet et Chantal Tardy pour leur accueil au Domaine du Merle (ENSA, Montpellier).

Une partie des infections expérimentales, décrites dans ce document, s'est déroulée dans l'unité Insectes et maladies infectieuses (Institut Pasteur, Paris), dirigée par Paul Reiter, que je tiens à remercier de m'avoir accueilli. Un grand merci à Marie Vazeille pour son enthousiasme, son aide précieuse et son encadrement au cours de ces infections expérimentales. Merci à Blandine Massonnet et Nicole Corre-Catelin pour avoir rendu ce séjour très sympathique. L'autre partie des infections expérimentales s'est déroulée dans l'unité Rétrovirus et Pathologie Comparée (INRA/UCBL/ENVL, Lyon). Je tiens à remercier Jean-François Mornex de m'avoir accueilli et Fabienne Archer et Kathy Gallay pour leur aide active.

Je voudrais remercier Hervé Zeller (Institut Pasteur, Lyon) pour ses conseils et sa collaboration à ce projet. Merci aussi à Séverine Murri pour la réalisation des titrages viraux. Je tiens à remercier Didier Fontenille et Nicolas Ponçon (IRD, Montpellier) pour leur collaboration et leur aide à l'aboutissement de ce travail. Merci à Cécile Brengues et Céline Toty pour la réalisation des analyses de repas de sang et l'identification des anophèles. Je remercie Marc Grandadam (IMTSSA, Marseille) pour les différentes recherches virales. Je tiens à remercier Annelise Tran (Cirad, Montpellier) pour sa gentillesse et sa collaboration à ce travail. Merci aussi à Stéphane de La Rocque (FAO, Rome) pour son intérêt et son soutien.

Au cours de la dernière année de thèse, j'ai été hébergé par l'EID-Méditerranée (Montpellier). Merci à l'ensemble des personnes qui y travaillent pour leur accueil et leur aide dans la réalisation de ce travail. En particulier, je remercie chaleureusement Francis Schaffner pour sa confiance et sa participation à ce projet. Merci aussi à Grégory L'Ambert et Alexandre Carron pour leur collaboration, Christophe Lagneau pour son enthousiasme, Michel Babinot pour son expertise, Michel Tolosa et Jean-Baptiste Ferré pour leur aide, Odile Moussiegt pour ses compétences et sa disponibilité et Gil Sinègre pour m'avoir autorisé à utiliser ses données de thèse. Merci aussi à tous ceux qui ont rendu cette période très agréable : Stéphanie Grosset, Sandy Bellec, Claire Duchet, Yvon Perrin, Nans Bujan, Matthieu Grosjean et Charles Jeannin.

Table des matières

Table des figures	VI
Table des cartes	VII
Table des tableaux	VII
Introduction	3
Première partie :	
La fièvre <i>West Nile</i> à travers le monde et son contexte en France	9
Chap. 1 Histoire et épidémiologie de la fièvre <i>West Nile</i>	13
1. Histoire d'un virus globe trotteur	13
1.1. Un virus largement réparti, supposé peu pathogène	13
1.2. La seconde vie du virus <i>West Nile</i>	17
2. Synthèse sur l'épidémiologie de la fièvre <i>West Nile</i>	21
2.1. Les oiseaux, hôtes naturels du virus <i>West Nile</i>	21
2.2. Les moustiques, vecteurs du virus <i>West Nile</i>	21
2.3. Le rôle éventuel des mammifères dans les cycles de transmission	24
2.4. D'autres cycles de transmission du virus <i>West Nile</i>	25
2.5. La fièvre <i>West Nile</i> à l'échelle mondiale	29
Chap. 2 La fièvre <i>West Nile</i> en France	35
1. Une histoire en deux temps	35
1.1. Les années 1960 : description et premières études	37
1.2. Le retour après 35 ans de silence	39
1.3. Mise en parallèle de ces deux périodes	40
2. Les terrains de jeu du virus <i>West Nile</i>	43
2.1. Le Midi méditerranéen et son climat	43
2.2. Le triangle camarguais du virus <i>West Nile</i>	47
2.2.1. La Camargue	47
2.2.2. La Costière	56

Deuxième partie :	
Identification des vecteurs du virus <i>West Nile</i> dans le sud de la France	61
Chap. 3 Recherche du virus et de ses vecteurs en France	65
1. Qui pique quoi, où et quand ? Les vecteurs potentiels	65
1.1. Diversité et dynamique saisonnière et journalière	65
1.2. Le comportement trophique des vecteurs potentiels	78
2. Recherche de virus chez les individus capturés	89
Chap. 4 Compétence vectorielle pour le virus <i>West Nile</i>	91
1. Retour sur 60 ans de littérature	91
1.1. Un bref aperçu historique	91
1.2. Cinétique virale et quantification de la compétence vectorielle	92
1.3. La compétence vectorielle des moustiques pour le virus <i>West Nile</i>	93
2. Infections expérimentales des candidats vecteurs	100
2.1 Expériences préliminaires	100
2.2. Compétence vectorielle des candidats vecteurs	101
2.1.1. Compétence vectorielle de <i>Culex modestus</i> , <i>Culex pipiens</i> et <i>Aedes caspius</i>	101
2.1.2. Informations et expériences complémentaires	107
2.3. Les interactions entre le virus <i>West Nile</i> et ses vecteurs	110
Troisième partie :	
Vers une modélisation du risque d'infection par le virus <i>West Nile</i>	119
Chap. 5 Comment modéliser le risque d'infection ?	123
1. Transmission et capacité vectorielle	123
1.1. Des systèmes épidémiologiques complexes	123
1.2. La capacité vectorielle	124
2. Un indice de risque adapté au virus <i>West Nile</i>	127
2.1. Modélisation de la transmission du virus <i>West Nile</i>	127
2.2. Formalisation d'un indice de risque	131
Chap. 6 Dynamique des vecteurs dans le temps	137
1. Dynamique des espèces du genre <i>Culex</i>	137
2. Dynamique des espèces du genre <i>Aedes</i>	141

Chap. 7 Distribution des vecteurs dans l'espace	151
1. Détermination des gîtes de ponte et des zones de dispersion	151
1.1. Les gîtes de ponte du littoral méditerranéen	151
1.1.1. Données bibliographiques	153
1.1.2. Résultats des suivis larvaires : données dynamiques	154
1.2. La dispersion des adultes	156
1.2.1. Données bibliographiques	156
1.2.2. Les rivières : des couloirs de dispersion pour <i>Culex modestus</i>	158
2. Cartes de distribution des vecteurs	164
2.1. La démarche suivie	164
2.2. Cartes de distribution pour <i>Culex modestus</i> , <i>Culex pipiens</i> et <i>Aedes caspius</i>	165
 Conclusion générale	 177
 Références	 185
 Annexes	 207

Table des figures

Figure 1. Schéma des cycles de transmission du virus <i>West Nile</i> d'après Taylor <i>et al.</i> (1956).	15
Figure 2. Schéma général de l'épidémiologie de la fièvre <i>West Nile</i> .	34
Figure 3. Succession de la végétation dans un milieu temporaire saumâtre de Camargue.	52
Figure 4. Choix trophique des espèces de moustiques en Camargue.	82
Figure 5. Effet de la disponibilité en hôte sur la probabilité de repas successifs sur oiseau ou cheval.	84
Figure 6. Illustration de l'effet de la dose virale sur la compétence vectorielle.	111
Figure 7. Illustration de l'influence de la température sur la cinétique virale.	113
Figure 8. Transmission schématique du virus <i>West Nile</i> .	127
Figure 9. Dynamique de <i>Culex modestus</i> au cours de l'année 1966 à la Capelière.	139
Figure 10. Temps d'émergence et température pour <i>Aedes caspius</i> au laboratoire.	144
Figure 11. Dynamique d'émergence d' <i>Aedes caspius</i> en Camargue.	145
Figure 12. Dynamique de population d' <i>Aedes caspius</i> en Camargue.	147
Figure 13. Suivi larvaire du gîte de La Bastide.	154
Figure 14. Suivi larvaire des rizières.	155
Figure 15. Répartition des <i>Culex</i> le long du Dardaillon.	161

Table des cartes

Carte 1. Zones de circulation du virus <i>West Nile</i> en France.	36
Carte 2. Carte botanique simplifiée du domaine méditerranéen français, d'après Flahault (1937).	44
Carte 3. Carte d'occupation des sols de la zone camarguaise.	48
Carte 4. Localisation des pièges à CO ₂ le long du Dardaillon.	160
Carte 5. Les milieux de la zone de transmission.	166
Carte 6. Gîtes de ponte et milieux de dispersion de <i>Culex modestus</i> en Camargue.	167
Carte 7. Couloirs de migration en zone sèche pour <i>Culex modestus</i> : résultats préliminaires.	169
Carte 8. Gîtes de ponte et milieux de dispersion de <i>Culex pipiens</i> en Camargue.	171
Carte 9. Gîtes de ponte et milieux de dispersion d' <i>Aedes caspius</i> en Camargue.	172

Table des tableaux

Tableau 1. Identification des espèces du complexe <i>Maculipennis</i> capturées.	77
Tableau 2. Comportements trophiques des espèces de moustiques en Camargue.	83
Tableau 3. Infections expérimentales préliminaires avec le virus <i>West Nile</i> .	101
Tableau 4. Traits de vie de <i>Culex modestus</i> à la Capelière en 1966.	140
Tableau 5. Dynamique d'émergence d' <i>Aedes caspius</i> en Camargue	145
Tableau 6. Date d'émergence et paramètres démographiques d' <i>Aedes caspius</i> en Camargue.	146
Tableau 7. Cartographie des gîtes de ponte et des milieux de dispersion.	165
Tableau 8. Légende de l'image classée.	166

*« La théorie, c'est quand on sait tout et que rien ne fonctionne.
La pratique, c'est quand tout fonctionne et que personne ne sait pourquoi.
Ici, nous avons réuni théorie et pratique :
rien ne fonctionne et personne ne sait pourquoi ! »*

Albert Einstein

Introduction

Introduction

« ... *Seeking his secret deeds
With tears and toiling breath,
I find thy cunning seeds,
O million-murdering Death.*

*I know this little thing
A myriad men will save,
O Death, where is thy sting?
Thy victory, O Grave?..»*

Ross R., 1897,
découvrant des oocystes de
Plasmodium chez l'anophèle.

L'observation de larves de la filaire de Bancroft chez un moustique par Manson permet, pour la première fois en 1877, d'impliquer les insectes dans la transmission des maladies. En un quart de siècle, les grands cycles vectoriels étaient établis, grâce aux travaux de Finlay sur la fièvre jaune en 1881, de Bruce sur la trypanosomose en 1895, de Ross sur le paludisme en 1897, de Bancroft sur la filaire en 1899, de Nicolle sur le typhus en 1909... (Rodhain et Perez 1985). Les maladies vectorielles sont un des problèmes majeurs de santé publique à travers le monde. La maladie la plus répandue et la plus meurtrière est le paludisme, avec un à deux millions de morts par an¹. Les filarioses lymphatiques touchent 100 millions d'individus (Rodhain 1985). La maladie du sommeil est en recrudescence dans ses foyers africains et la *nagana* (trypanosomose animale) est un des principaux freins au développement de l'élevage et de l'agriculture dans les pays subsahariens (de La Rocque *et al.* 2001). Parmi les arboviroses, c'est la dengue qui est sans conteste la plus répandue, avec une incidence annuelle de 50 à 100 millions de cas, dont des centaines de milliers de cas de dengue hémorragique particulièrement meurtrière (Gubler 2002).

La découverte de l'effet insecticide du DDT² en 1939 ouvre le champ à de vastes programmes de lutte antivectorielle. Certains de ces programmes ont été couronnés de succès (régression ou disparition du paludisme dans des zones instables en Europe et en Chine), recul de l'onchocercose dans le bassin des anciennes Voltas, recul d'*Aedes aegypti* (Linnaeus)³ en Amérique du Sud). Néanmoins, depuis une vingtaine d'année, on assiste à une dramatique résurgence des maladies vectorielles, avec l'émergence de nouvelles maladies ou la

¹ Estimation de l'Organisation mondiale de la santé (<http://www.who.int>).

² Dichlorodiphényltrichloroéthane

³ Dans tout le document, nous garderons *Aedes* comme genre et considérerons *Stegomyia* et *Ochlerotatus* comme des sous-genres d'*Aedes* (Savage 2005).

recrudescence et la globalisation de maladies précédemment sous contrôle (Gubler 2002). Le changement climatique est souvent incriminé dans cette résurgence. Néanmoins, l'interaction entre les systèmes vectoriels et leur environnement est complexe (Rodhain 2003) et, à de rares exceptions, il n'y a pas d'exemple de maladies vectorielles dont on peut attribuer la résurgence à une augmentation de la température (Rogers et Randolph 2000 ; Reiter 2001 ; Rodhain 2003 ; Reiter *et al.* 2004). Dans certains cas, l'arrêt des programmes de lutte (instabilité politique ou redistribution des financements) peut anéantir rapidement des années d'efforts (de La Rocque *et al.* 2001 ; Glaser 2001). Mais ce sont sans doute les changements démographiques et sociaux actuels qui sont les principaux responsables de la résurgence des maladies infectieuses en général et vectorielles en particulier (Gubler 2002 ; Rodhain 2003). Parmi ces changements, on peut citer l'urbanisation rapide et anarchique des pays en voie de développement (concentration de personnes et insalubrité), les déplacements de populations liés aux conflits (personnes non immunes et affaiblies en zone d'endémie), la déforestation (entrée des hommes dans les foyers sylvatiques de zoonoses), la généralisation des échanges (déplacements rapides d'hôtes et de vecteurs) (Rodhain 2003). De plus, la dégradation ou la disparition des structures de recherche ou de lutte dans le domaine des maladies vectorielles rend difficile la réaction à ces nouveaux défis (Hubalek 2000 ; Glaser 2001 ; Cuisance et Rioux 2004).

La fièvre du Nil occidental ou fièvre *West Nile* est un exemple d'arbovirose émergente. Cette maladie est endémique et largement distribuée en Afrique subsaharienne (Murgue *et al.* 2002 ; Zeller et Schuffenecker 2004). Bien que son impact en santé humaine n'ait jamais été mesuré en zone subsaharienne, le virus *West Nile* a longtemps été considéré comme un arbovirus peu pathogène, sans conséquence importante pour la santé publique (Rodhain et Perez 1985). Pourtant, depuis une dizaine d'années, des épidémies de plusieurs dizaines à des centaines de cas ont été reportées dans le bassin méditerranéen (Murgue *et al.* 2001a ; Dauphin *et al.* 2004). Et surtout, suite à son introduction dans le Nouveau Monde, le virus *West Nile* s'est étendu en quelques années du Canada à l'Argentine (Gancz *et al.* 2004 ; Morales *et al.* 2006). Dans ce nouvel écosystème, il a trouvé des vecteurs et des hôtes lui permettant d'établir des cycles de transmission durables. Depuis, il provoque chaque année des milliers de cas, essentiellement aux États-Unis (Hayes *et al.* 2005a).

En France, le virus *West Nile* a été décrit pour la première fois dans les années 1960 en Camargue, provoquant cas humains et épizooties équine pendant quelques années successives (Panthier 1968). Après 35 ans d'absence apparente, il provoque une large

épizootie en 2000 et depuis, circule régulièrement sur le littoral méditerranéen (Murgue *et al.* 2001b). À l'heure actuelle, ce virus n'est pas un problème de santé publique en France, mais l'exemple américain incite à prendre au sérieux le risque sanitaire associé au virus *West Nile*. En revanche, il pose un problème vétérinaire important dans une région où les activités culturelles et touristiques associées au cheval sont essentielles. Les conditions de la ré-émergence du virus *West Nile* restent à étudier et à comprendre. Les hypothèses concernant la transmission du virus *West Nile* en France établies il y a 40 ans (Panthier *et al.* 1968 ; Joubert *et al.* 1970 ; Mouchet *et al.* 1970) ne permettent pas d'expliquer l'ensemble des récents épisodes de circulation. La ré-émergence du virus *West Nile* en France pose donc de nombreuses questions scientifiques concernant d'une part les espèces d'oiseaux et de vecteurs impliquées dans la transmission, d'autre part les relations entre environnement et cycles de transmission.

C'est dans ce contexte que s'inscrit ce travail de thèse sur l'étude des vecteurs du virus *West Nile* en France. Concernant les autres aspects associés à la circulation du virus *West Nile*, à savoir le rôle des oiseaux et l'épidémiologie de la maladie dans les populations équines, nous recommandons au lecteur de se référer à d'autres auteurs (Jourdain 2006 ; Leblond 2006).

Ce travail a deux objectifs :

- i) identifier les vecteurs du virus *West Nile* dans le sud de la France,
- ii) proposer une démarche de modélisation du risque d'infection dans l'espace et au cours du temps.

La démarche mise en œuvre pour satisfaire le premier objectif est triple : étude de l'interaction entre les moustiques et les hôtes impliqués dans les cycles de transmission ; recherche de vecteurs infectés sur le terrain ; étude de la compétence vectorielle des vecteurs potentiels.

Pour répondre au deuxième objectif, une formalisation généralisée et spatialisée du risque d'infection est d'abord proposée, puis, la dynamique des vecteurs dans le temps est explorée grâce à des modèles de dynamique de population, et enfin la distribution des vecteurs dans l'espace est étudiée en se basant sur une cartographie des milieux favorables aux espèces considérées.

Ce document comprend trois parties. Dans la première partie, nous décrivons :

- l'évolution du statut du virus *West Nile* au cours du temps et une synthèse de son épidémiologie, pour replacer cette étude dans un contexte plus général (chapitre 1) ;
- l'histoire du virus *West Nile* en France et l'environnement dans lequel la transmission s'effectue. Cette description permet de faire ressortir les questions scientifiques à résoudre et donc justifie les objectifs de cette étude (chapitre 2).

La deuxième partie s'intéresse à l'identification des vecteurs du virus *West Nile* dans le sud de la France. Nous exposons successivement :

- les résultats d'une saison de capture sur appâts oiseau, cheval et homme et l'analyse de l'interaction entre ces hôtes et les principales espèces de moustiques, puis les résultats de la recherche virale sur des individus capturés sur le terrain (chapitre 3) ;
- la compétence vectorielle des espèces potentiellement vectrices, après une revue des infections expérimentales publiées depuis 60 ans qui permet de discuter les résultats obtenus (chapitre 4).

La troisième partie s'intéresse à la modélisation du risque d'infection dans l'espace et au cours du temps. Nous proposons :

- un indice de risque d'infection par le virus *West Nile*. Le fonctionnement des systèmes vectoriels est d'abord brièvement exposé et la notion de capacité vectorielle expliquée. Cette démarche est appliquée à la fièvre *West Nile* pour définir les taux de reproduction de base applicables à la transmission enzootique (dans une population d'oiseaux) et épidémique (des oiseaux aux hôtes accidentels). Ces indices définis dans un schéma simple sont ensuite généralisés à plusieurs espèces d'hôtes et de vecteurs et spatialisés (chapitre 5) ;
- d'utiliser des modèles de dynamique de population pour reproduire les dynamiques saisonnières observées chez les espèces considérées et ainsi obtenir l'évolution des densités de vecteurs au cours du temps (chapitre 6) ;
- de nous baser sur une cartographie des milieux favorables aux moustiques afin d'étudier la distribution des vecteurs dans l'espace (chapitre 7).

Enfin, une conclusion générale permet de dégager, à partir des différents résultats obtenus tout au long de ce travail, des hypothèses de fonctionnement des cycles de transmission du virus *West Nile* dans le sud de la France.

Première partie :

**La fièvre *West Nile* à travers le monde et
son contexte en France**

L'introduction du virus West Nile aux États-Unis en 1999 est un des exemples de la capacité d'émergence des maladies vectorielles hors de leurs zones de distribution. Cet épisode a considérablement relancé l'intérêt porté à ce virus. Pourtant, sa découverte remonte à presque 70 ans. Ses cycles de transmission ont été étudiés en détail dès le début des années 1950 en Égypte. Aussi nous a-t-il paru important de commencer ce document par un aperçu de l'histoire du virus, de sa découverte à aujourd'hui, afin de comprendre l'évolution de son statut. Ensuite, il a nous semblé indispensable de présenter une synthèse de l'épidémiologie de la fièvre West Nile, afin de planter le décor des éléments connus, mais surtout des zones d'ombres qui persistent, et ainsi mettre en perspective le travail réalisé.

La présence du virus West Nile en France n'est pas nouvelle, non plus. Là encore, un retour sur les premières études réalisées dans les années 1960 s'impose. Après 35 ans d'absence apparente de la maladie, le virus West Nile circule de nouveau depuis l'année 2000 sur le littoral méditerranéen français. La mise en parallèle de ces deux périodes souligne les questions encore à résoudre sur la transmission de ce virus en France, et donc définit le contexte de cette étude. Nous décrivons aussi l'environnement des zones de transmission, en nous focalisant sur la zone d'étude, c'est-à-dire la région camarguaise. Cela permet de délivrer les clefs de compréhension des cycles de transmission du virus West Nile en France.

Histoire et épidémiologie de la fièvre *West Nile*

Nous commencerons par exposer l'histoire du virus West Nile : sa découverte, les premières études qui lui sont consacrées et l'évolution à travers le temps de son statut, de virus non pathogène à celui de virus émergent.

Ensuite, nous proposerons une synthèse de l'épidémiologie de la fièvre West Nile. Loin d'être exhaustive, elle a surtout pour but de mettre en exergue les points non résolus dans les modalités de transmission du virus.

1. Histoire d'un virus globe-trotter

1.1. Un virus largement réparti, supposé peu pathogène

« Il s'avançait vers Babylone (...). Arrivé près des murs de la ville, il voit plusieurs corbeaux qui se disputaient et se frappaient les uns les autres : il en tomba même quelques-uns à ses pieds. (...) Dieu, s'écria le roi, quel horrible présage ! »

Plutarque, *Vies parallèles I – Vie d'Alexandre*, vers l'an 100 après J. C.

Après son périple asiatique, Alexandre le Grand retourne à Babylone. Peu de temps après son arrivée, il y meurt au terme de 10 jours de fièvre. Plutarque rapporte différents présages annonciateurs de cette maladie, dont la mort brutale de corbeaux. Certains auteurs ont cru reconnaître dans ces lignes et dans les symptômes d'Alexandre le Grand la première description de l'activité du virus *West Nile* en 323 avant J. C. près de l'actuelle Bagdad (Marr et Calisher 2003). Le débat autour de cette hypothèse (Cunha 2004 ; Oldach *et al.* 2004) illustre l'intérêt que suscite toujours la mort des « grands hommes », mais aussi l'intérêt scientifique et médiatique actuel pour la fièvre *West Nile*, qui n'est en fait que très récent.

La découverte. L'histoire officielle du virus *West Nile* commence en 1937 en Ouganda, avec les enquêtes épidémiologique de la fondation Rockefeller sur la répartition de la fièvre jaune en Afrique centrale. Durant ces enquêtes, un virus est isolé du sang d'une femme venant du *West Nile District*. Ce virus provoque chez le singe une encéphalite mortelle après inoculation intracérébrale, un syndrome fébrile et neurologique réversible après inoculation intranasale et une maladie fébrile bénigne par inoculation intraveineuse. Par similitude aux virus des encéphalites japonaise et de Saint Louis, il rejoint le genre *Flavivirus* et le

« complexe de la japonaise⁴ ». Au début des années 1940, on connaît la large répartition du virus *West Nile* en Afrique centrale grâce à des enquêtes sérologiques et la capacité des moustiques à le transmettre expérimentalement (Philip et Smadel 1943).

L'étude de la fièvre *West Nile* en Égypte. Treize ans après sa découverte, le virus *West Nile* est isolé chez l'homme en Égypte, dans un village où il circule intensément (70 % de séroprévalence⁵) (Melnick *et al.* 1951). L'équipe de Richard Taylor a dirigé dans ce pays les premières études écologiques sur le virus *West Nile*. Elles sont remarquables dans la mesure où elles ont permis d'identifier les points clefs de l'épidémiologie du virus (Figure 1). Nous reprenons brièvement le cheminement qui a abouti à l'établissement des cycles de transmission du virus *West Nile*.

Pour établir l'importance du virus chez l'homme, de vastes enquêtes sérologiques sont menées le long du Nil. Les hommes sont particulièrement exposés au virus de l'Égypte au Soudan (séroprévalence moyenne de 60 % et jusqu'à 84 % au Caire et dans le nord du delta du Nil) (Smithburn *et al.* 1954 ; Taylor *et al.* 1956). La séroprévalence augmente avec l'âge, ce qui est le signe d'une situation endémique (Taylor *et al.* 1956). En recherchant régulièrement le virus pendant les années 1952 et 1954, cette équipe établit le caractère saisonnier de la maladie, avec des isollements de virus uniquement entre juin et septembre (Taylor *et al.* 1956).

Pour rechercher l'existence d'un réservoir animal, des enquêtes sérologiques sont réalisées chez les mammifères domestiques et les oiseaux. Le virus circule intensément chez ces populations (par exemple, 86 % chez les chevaux et 65 % chez les corneilles) (Taylor *et al.* 1956). Mais le virus n'est isolé qu'à partir d'oiseaux⁶, à savoir une corneille mantelée⁷, *Corvus (corone) cornix*, et deux pigeons Biset d'élevage, *Columba livia*, dont l'un présente des signes de maladie (Work *et al.* 1953). Cela laisse supposer l'importance du rôle des oiseaux dans les cycles de transmission, notamment dans la dispersion du virus : Work *et al.* (1953) évoquent « *a possible mechanism for dissemination of the virus by local pigeon movements* ».

⁴ Ce complexe comporte 10 espèces selon le Comité international de taxonomie des virus, parmi lesquels on peut citer les virus des encéphalites japonaise, de la Murray Vallée, de Saint Louis et les virus Usutu et Kunjin (<http://www.virustaxonomyonline.com>).

⁵ Les tests sérologiques (dans la partie : études *West Nile* en Égypte) consistent à rechercher des anticorps neutralisants (Taylor *et al.* 1956).

⁶ Les noms d'oiseaux utilisés (noms vernaculaires et scientifiques) sont ceux adoptés par la Commission internationale des noms français des oiseaux.

⁷ Appelée dans l'étude *Hooded crow*, *Corvus corone sardonius*.

Pour mettre en évidence un éventuel vecteur, la présence du virus est recherchée chez près de 80 000 arthropodes (puces, mouches, acariens, poux, moustiques et tiques). Des isollements viraux sont réalisés uniquement à partir de moustiques, à savoir *Culex univittatus* Theobald et *Culex antennatus* (Becker), les *Culex* les plus abondants dans la zone (Taylor *et al.* 1956). Parmi les arthropodes, ce sont les moustiques qui montrent la plus grande aptitude à multiplier le virus (Hurlbut 1956). *Culex univittatus*, *Cx. antennatus* et *Culex pipiens* Linnaeus peuvent transmettre le virus par piqûre après infection sur un animal virémique (Taylor et Hurlbut 1953 ; Taylor *et al.* 1956). Le rôle des moustiques comme vecteurs principaux de la fièvre *West Nile* devient alors évident.

L'implication des oiseaux comme hôtes amplificateurs principaux est confirmée par des infections expérimentales. Après piqûre par un moustique infecté, différentes espèces d'oiseaux développent des virémies importantes et de longue durée, notamment la corneille mantelée et le moineau domestique *Passer domesticus* (avec des virémies⁸ entre $10^{3,5}$ et $10^{8,0}$ DL₅₀ pendant six jours) (Work *et al.* 1955). Les cycles de transmission entre oiseaux et moustiques sont facilement reproduits. À cette époque, le rôle potentiellement pathogène du virus *West Nile* chez des oiseaux est observé en conditions naturelles et expérimentales (Work *et al.* 1953, 1955).

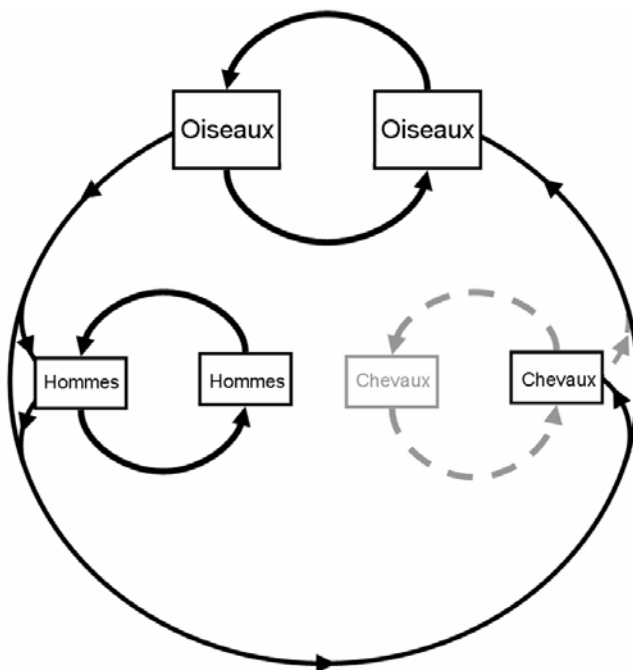


Figure 1 : Schéma des cycles de transmission du virus *West Nile* d'après Taylor *et al.* (1956).

Les flèches représentent une transmission vectorielle. La partie grisée et en pointillée est considérée comme hypothétique.

⁸ Les titres sont obtenus en effectuant des séries de dilution de l'échantillon à tester et en inoculant en intracérébral des souris de 3 semaines avec 0,03 ml de chaque dilution et en calculant la dose létale pour 50 % des souris (DL₅₀). Ce titre n'est pas exprimé rapporté à un volume donné, il est donc difficilement comparable avec les études d'autres auteurs, mais peut servir de comparaison entre les différents articles de la période égyptienne.

La capacité du virus *West Nile* à provoquer des encéphalites mortelles est mise en évidence chez les chevaux en conditions naturelles et expérimentales (Schmidt et El Mansoury 1963). La virémie des chevaux est supposée trop faible pour infecter des vecteurs (Schmidt et El Mansoury 1963). En revanche, et contrairement au cheval, l'homme présente des virémies suffisantes pour infecter des vecteurs très compétents comme *Cx. antennatus* ou *Cx. univittatus* (Melnick *et al.* 1951 ; Hurlbut 1956 ; Taylor *et al.* 1956). Concernant le rôle pathogène du virus *West Nile* chez l'homme, l'infection est rarement rattachée à un syndrome clinique, sauf dans certains cas de contamination accidentelle en laboratoire (Hamilton et Taylor 1954).

Le virus *West Nile* : un virus non pathogène ? Le virus *West Nile* a longtemps été décrit comme un virus non pathogène. Pourtant, très tôt, des preuves de sa pathogénie chez l'homme existent. La première preuve de sa capacité à provoquer des épidémies remonte à 1951, où 40 % des 300 habitants d'un campement agricole de la plaine côtière d'Israël présentent de la fièvre, avec un exanthème et éventuellement un sévère mal de tête (Bernkopf *et al.* 1953). La maladie touche principalement les jeunes enfants, qui guérissent plus rapidement que les adultes atteints. Cet épisode est aussi la première description du virus *West Nile* hors d'Afrique. Dans les années suivantes, plusieurs épidémies et des cas d'encéphalites sont décrits (Goldblum *et al.* 1954 ; Nisenbaum et Wallis 1965). C'est *Cx. pipiens*⁹ qui est considéré comme le principal vecteur en Israël (Bernkopf *et al.* 1953 ; Tahori *et al.* 1955). C'est ensuite en France, en Camargue et dans le Bas-Languedoc, que le virus *West Nile* provoque des affections bénignes à graves chez l'homme (d'une fièvre d'été à une encéphalite grave) et des épidémies d'encéphalites chez le cheval (Hannoun *et al.* 1964a).

À la même époque, le rôle pathogène du virus *West Nile* chez l'homme est confirmé expérimentalement. En effet, certains virus ayant montré des effets antinéoplasiques sur modèles animaux, on envisage de les utiliser comme traitement expérimental chez des patients en phase terminale de cancer. La souche égyptienne du virus *West Nile*, considérée comme non pathogène, est inoculée en intramusculaire à 95 patients (Southam et Moore 1954). Dans 89 % des cas, l'infection entraîne uniquement une hyperthermie, mais provoque des encéphalites diffuses pour le reste des individus (Southam et Moore 1954). La phase

⁹ Nommé dans l'étude *Culex molestus*.

fébrile est longue (6 jours pour 73 % des patients) et accompagnée d'une virémie élevée (atteignant 10^2 à 10^5 DL₅₀)¹⁰ (Southam et Moore 1954).

Du Caire au Cap, de l'océan Atlantique à l'océan Indien. Le virus *West Nile* est largement réparti dans l'Ancien Monde, sa distribution étant connue au fur et à mesure des enquêtes sérologiques ou des épisodes de circulation. Sa limite orientale est l'Inde, où il est mis en évidence dès 1952. Dans ce pays, le virus a été isolé chez des espèces du complexe *Culex vishnui* Theobald et chez *Culex quinquefasciatus* Say¹¹ (Pavri et Singh 1965 ; Work 1971). Son rôle pathogène réel en Inde n'est reconnu qu'au début des années 1980 (George *et al.* 1984). Sa limite sud est constituée par les hauts plateaux d'Afrique du Sud, où des cas de fièvre estivale sont rapportés dans les années 1950 et, rétrospectivement, attribués aux virus Sindbis et *West Nile* (McIntosh *et al.* 1967). Sa circulation dans le bassin de la Volga en 1963 montre sa présence en Asie centrale (Bashkirtsev *et al.* 1969).

Dans l'océan Indien, il est présent à Madagascar, où il est isolé pour la première fois en 1978 (Fontenille *et al.* 1985). Il est vraisemblablement l'arbovirus le plus fréquent de l'Île rouge (Fontenille *et al.* 1989), avec un taux de séroconversion de 14,7 % en une saison (de décembre 1988 à juillet 1989) dans les environs d'Antananarivo (Morvan *et al.* 1990) et une séroprévalence de 10,6 % à Mahajanga en 1999 (Lonchampt *et al.* 2003).

Par la suite, les preuves sérologiques ou virales de circulation du virus *West Nile* à travers l'Ancien Monde se sont accumulées. Nous n'essayerons pas d'en faire la liste exhaustive. Différentes revues ont repris avec détails les isolements du virus *West Nile* chez les arthropodes (Hubalek et Halouzka 1999), les différentes preuves de circulation du virus en Afrique, Asie, Europe de l'Ouest (Murgue *et al.* 2002) et Europe de l'Est (Hubalek et Halouzka 1999 ; Hubalek 2000).

1.2. La seconde vie du virus *West Nile*

Regain d'activité dans le bassin méditerranéen et en Europe. À partir de 1994, on assiste à la multiplication d'épidémies importantes d'encéphalites à virus *West Nile* dans le bassin méditerranéen et en Europe (Murgue *et al.* 2001a ; Dauphin *et al.* 2004). Son statut de virus peu pathogène est remis en question.

¹⁰ Là encore, le titre n'est pas exprimé rapporté à un volume. Il est estimé par inoculation intracérébrale à des souris.

¹¹ Nommé *Culex fatigans* dans l'étude.

Des épidémies de plusieurs dizaines à centaines de cas sont recensées en Algérie en 1994 (Le Guenno *et al.* 1996), en Roumanie en 1996 (Anonyme 1996a, 1996b), en Tunisie en 1997 (Triki *et al.* 2001), en Russie en 1999 (Platonov *et al.* 2001) et en Israël en 2000 (Weinberger *et al.* 2001). De plus, des cas sporadiques sont recensés en Roumanie en 1997 et 1998 (Cernescu *et al.* 2000), en République tchèque en 1997 (Hubalek *et al.* 1999) et en France en 2003 (Del Giudice *et al.* 2004). En parallèle, la circulation du virus *West Nile* dans le bassin méditerranéen est marquée par des épizooties équine : au Maroc en 1996 et 2003 (Tber Abdelhaq 1996 ; Schuffenecker *et al.* 2005), en Italie en 1998 (Autorino *et al.* 2002) et en France en 2000, 2003, 2004 et 2006 (Murgue *et al.* 2001b ; Zeller *et al.* 2004 ; Durand *et al.* 2005). En 2004, une circulation virale est mise en évidence en Espagne (preuves sérologiques avec vraisemblablement quelques cas humains) (Bofill *et al.* 2006) et au Portugal (lots de moustiques positifs) (Esteves *et al.* 2005). Des preuves sérologiques de circulation du virus *West Nile* sont aussi mises en évidence au Royaume-Uni (Buckley *et al.* 2003 ; Buckley *et al.* 2006).

Un épisode est assez particulier. En août 1998, un groupe d'un millier de cigognes blanches (*Ciconia ciconia*) effectue une migration d'automne de l'Europe du Nord vers l'Afrique. Des vents particulièrement violents le forcent à interrompre sa route et à atterrir dans le sud d'Israël. Le virus *West Nile* est isolé à partir de certaines cigognes retrouvées mortes (Malkinson *et al.* 2002). Les mois suivants, des élevages d'oies en Israël connaissent de la mortalité (jusqu'à 40 %) associée au virus *West Nile* (Malkinson *et al.* 2002). Cet épisode montre le rôle potentiel des oiseaux migrateurs dans l'introduction du virus *West Nile*. Il s'agit, de plus, de la première description de mortalité aviaire importante associée au virus *West Nile* en conditions naturelles. Cet épisode va avoir des conséquences importantes.

Le virus *West Nile* dans le Nouveau Monde. L'événement qui a le plus participé au changement de statut du virus *West Nile* est son introduction aux États-Unis.

Fin août 1999, des cas d'encéphalites virales (61 cas avec 7 décès) sont rapportés à New York (Garmendia *et al.* 2001). Le virus *West Nile* n'est pas immédiatement identifié (Asnis *et al.* 1999 ; Briesse *et al.* 1999). Ces cas sont accompagnés d'encéphalites équine et de la mort de plusieurs centaines d'oiseaux sauvages, essentiellement des corneilles d'Amérique (*Corvus brachyrhynchos*) et des oiseaux exotiques du zoo du Bronx (Garmendia *et al.* 2001). Le virus *West Nile* est isolé de corneilles, d'un épervier de Cooper (*Accipiter cooperii*) et de lots de *Cx. pipiens* et d'*Aedes vexans* (Meigen) (Anderson *et al.* 1999). Cette souche du virus *West Nile*, très similaire de la souche israélienne isolée en 1998, a très certainement été introduite

aux États-Unis à partir du Proche-Orient (Lanciotti *et al.* 1999). On pourrait dire que l'introduction du virus *West Nile* aux États-Unis est la conséquence indirecte de quelques jours de vents violents au large d'Israël en août 1998.

Plus que cet épisode, c'est la naturalisation du virus *West Nile*, sa rapide extension à l'ensemble des États-Unis (en 4 ans) et ses conséquences sanitaires qui vont considérablement augmenter l'intérêt de la communauté scientifique et des sociétés civiles pour ce virus¹². Au total, entre 1999 et 2006, plus de 23 000 cas et presque 900 décès sont répertoriés (statistiques du CDC¹³). Il s'agit de la plus grande épidémie d'encéphalites à virus *West Nile* jamais décrite.

Par la suite, le virus *West Nile* va gagner une grande partie du continent américain, atteignant vers le nord le Canada en 2002 (Gancz *et al.* 2004) et, vers le sud, les îles Caïman et la Jamaïque en 2001, le Mexique, la République dominicaine et la Guadeloupe en 2002, le Salvador, le Guatemala, les Bahamas et Cuba en 2003, Porto Rico, Trinidad et la Colombie en 2004, l'Argentine en 2006 (Dupuis *et al.* 2003 ; Estrada-Franco *et al.* 2003 ; Komar *et al.* 2003b ; Quirin *et al.* 2004 ; Cruz *et al.* 2005 ; Lefrancois *et al.* 2005 ; Mattar *et al.* 2005 ; Komar et Clark 2006 ; Morales *et al.* 2006 ; Morales-Betoulle *et al.* 2006 ; Pradel 2006 ; Pupo *et al.* 2006).

¹² Le nombre d'articles référencés dans *PubMed* qui comprennent « *West Nile* » dans leur titre est d'en moyenne 9,3 par an entre 1950 et 1998 et passe de 6 en 1998, à 17 en 1999, 74 en 2000, 144 en 2001, 145 en 2002, 268 en 2003, 293 en 2004, 274 en 2005 et 278 entre le 1^{er} janvier et le 27 novembre 2006.

¹³ Center for disease control and prevention - <http://www.cdc.gov/ncidod/dvbid/westnile/index>).

En résumé, à peine 20 ans après sa découverte, les cycles de transmission du virus *West Nile* ont été établis en Égypte. Les oiseaux, notamment les corneilles et les moineaux, sont considérés comme les hôtes amplificateurs, et les moustiques du genre *Culex* comme les vecteurs. L'homme et les équidés sont supposés être des hôtes tangentiels. La virémie des hommes est considérée comme suffisante pour infecter des vecteurs très compétents (Taylor *et al.* 1956). Un demi-siècle plus tard, ces considérations sont toujours d'actualité.

Au début des années 1960, le virus *West Nile* est considéré comme un arbovirus peu pathogène pour l'homme, responsable d'épidémies de maladies asymptomatiques à bénignes se compliquant rarement en syndromes neurologiques graves. Illustrant ses capacités d'adaptation à différentes espèces d'oiseaux et de vecteurs, il est présent dans toute l'Afrique subsaharienne, à Madagascar, dans le bassin méditerranéen (Maghreb, Égypte, Proche-Orient, Europe du Sud), en Europe¹⁴ et en Asie Mineure jusqu'en Inde. Jusqu'au début des années 1990, le virus *West Nile* est toujours considéré comme peu pathogène, responsable parfois d'épidémies, essentiellement en marge de son aire de répartition.

Au cours de ces 10 dernières années, le statut du virus *West Nile* a radicalement changé. Il a montré sa capacité à provoquer des épidémies de plusieurs centaines de méningo-encéphalites dans le bassin méditerranéen, mais surtout aux États-Unis. Cependant, comparé à d'autres *Flavivirus*, comme la dengue, son importance sanitaire reste relative. Mais il est sans doute l'arbovirus le plus largement distribué, manifestant de grandes capacités d'adaptation à de nombreux écosystèmes.

¹⁴ La littérature concernant le virus *West Nile* dans tout l'ancien bloc soviétique est difficilement accessible : problème de langue et d'accès aux revues. Le site des *Armed forces and pest management board* propose la traduction en langue anglaise de certains articles russes concernant la fièvre *West Nile* (<http://www.afpmb.org>).

2. Synthèse sur l'épidémiologie de la fièvre *West Nile*

2.1. Les oiseaux, hôtes naturels du virus *West Nile*

Les oiseaux sont considérés comme les hôtes naturels du virus *West Nile* depuis les études égyptiennes (Taylor *et al.* 1956). Cette hypothèse s'appuie sur l'isolement régulier du virus *West Nile* chez des oiseaux à travers le monde (Work *et al.* 1953 ; Bashkirtsev *et al.* 1969 ; Berezin 1971 ; Nir *et al.* 1972). De plus, les clusters de mortalité aviaire sont associés à une intense transmission à l'homme et au cheval aux États-Unis (Guptill *et al.* 2003 ; Mostashari *et al.* 2003 ; Eidson *et al.* 2005 ; Reisen *et al.* 2006a ; Roberts et Foppa 2006). Enfin, après inoculation¹⁵ avec le virus *West Nile*, certains oiseaux, notamment passériformes, développent des virémies longues et intenses (Work *et al.* 1955 ; Langevin *et al.* 2001 ; Komar *et al.* 2003a ; Reisen *et al.* 2005). Pour une revue détaillée du rôle des oiseaux dans la transmission du virus *West Nile*, se reporter à Jourdain (2006).

2.2. Les moustiques, vecteurs du virus *West Nile*

La transmission expérimentale du virus *West Nile* par des moustiques a été réalisée dès 1943 (Philip et Smadel 1943) et le rôle des moustiques comme principaux vecteurs est accepté depuis les années 1950 (Taylor *et al.* 1956).

Les espèces impliquées dans la transmission. Les principales espèces impliquées dans la transmission du virus *West Nile* appartiennent au genre et au sous-genre *Culex* (à l'exception de *Culex modestus* Ficalbi). Il s'agit de *Cx. univittatus*, *Cx. antennatus* et *Cx. pipiens* en Égypte (Taylor *et al.* 1956), de *Cx. pipiens* et *Cx. univittatus* en Israël (Nir *et al.* 1972), de *Cx. univittatus* et *Culex theileri* Theobald en Afrique du Sud (McIntosh *et al.* 1967), de *Cx. modestus* et *Cx. pipiens* en Europe et Russie (Mouchet *et al.* 1970 ; Berezin 1971 ; Savage *et al.* 1999) et de *Culex tritaeniorhynchus* Giles et *Cx. quinquefasciatus* en Inde et au Pakistan (Pavri et Singh 1965 ; Akhter *et al.* 1982). Aux États-Unis, on soupçonne dans le nord-est

¹⁵ Suivant les études, l'infection expérimentale des oiseaux ou des mammifères est réalisée par piqûre de moustiques ou par injection (le plus souvent sous-cutanée). Ces deux méthodes sont équivalentes en terme de durée et de niveau de la virémie, la dose injectée n'ayant pas de conséquence (Tahori *et al.* 1955 ; Reisen *et al.* 2005 ; Sbrana *et al.* 2005 ; Tiawsirisup *et al.* 2005b).

Cx. pipiens, *Culex restuans* Theobald et *Culex salinarius* Coquillett (Andreadis *et al.* 2004 ; Lukacik *et al.* 2006), et au sud *Cx. quinquefasciatus* associé à *Culex nigripalpus* Theobald à l'est et *Cx. tarsalis* à l'ouest (Reisen *et al.* 2004 ; Hayes *et al.* 2005a).

Pourtant, de nombreuses espèces de moustiques (de genres différents) ont été trouvées naturellement infectées par le virus *West Nile* (Hubalek et Halouzka 1999). Il faut cependant garder à l'esprit que capturer sur le terrain des individus positifs au virus *West Nile* ne signifie en aucun cas que l'espèce en question est vectrice. Les erreurs d'interprétation peuvent provenir i) de faux positifs (erreurs de manipulation ou contamination croisée) (Turell *et al.* 2002), ii) de la détection d'un matériel viral non infectieux (par RT-PCR¹⁶) (White *et al.* 2001), iii) de la présence de femelles fraîchement gorgées sur un animal virémique (Woodall *et al.* 1961) ou iv) de la mise en évidence de moustiques infectés mais non infectants. Au final, lorsque peu d'isolements sont obtenus, il est difficile de discriminer les espèces impliquées dans la transmission de celles accidentellement infectées (Hribar *et al.* 2004 ; Godsey *et al.* 2005). Néanmoins, l'isolement d'un virus de façon répétée atteste que l'espèce concernée rencontre le virus en conditions naturelles.

La transmission du virus *West Nile* aux mammifères. Dans les zones où les espèces de *Culex* présentes sont ornithophiles, se pose la question de quelles espèces peuvent transmettre le virus *West Nile* aux hôtes accidentels (hommes et chevaux). Deux possibilités peuvent s'envisager, sans nécessairement s'exclure. La transmission des oiseaux à l'homme ou au cheval est réalisée soit par des moustiques opportunistes ou non strictement mammophiles, suffisamment compétents pour le virus *West Nile*, les « *bridge vectors*¹⁷ » (Turell *et al.* 2002 ; Turell *et al.* 2005), soit par les espèces de *Culex* non strictement ornithophiles (Kilpatrick 2005).

L'existence de vecteurs « ponts » est suspectée à cause de l'isolement répété du virus *West Nile* chez des espèces mammophiles, comme *Ae. vexans* aux États-Unis (Andreadis *et al.* 2004) et en Russie, ou comme *Coquillettidia richiardii* (Ficalbi) en Russie (Berezin 1971). De même, *Aedes albopictus* (Skuse) est souvent suspecté de jouer ce rôle, car il est compétent pour le virus *West Nile* et présente des préférences trophiques opportunistes (Turell *et al.*

¹⁶ Reverse Transcriptase Polymerase Chain Reaction.

¹⁷ La traduction littérale de ce terme, *vecteur pont*, n'est pas très heureuse, mais sera conservée dans un souci de clarté.

2005). L'absence de détection virale répétée chez cette espèce peut s'expliquer par sa sous-représentation¹⁸ dans les populations capturées par piège CO₂ (Gingrich et Williams 2005).

Les préférences trophiques sont les paramètres clefs à étudier pour comprendre dans quelle mesure les *Culex* ornithophiles peuvent transmettre le virus *West Nile* aux mammifères. Prenons l'exemple de *Cx. pipiens*, qui est particulièrement illustratif. En fonction des études de repas de sang, cette espèce peut être considérée soit comme très ornithophile (Apperson *et al.* 2002 ; Molaei *et al.* 2006), soit comme opportuniste (Andreadis *et al.* 2004 ; Gingrich et Williams 2005). Il est important de comprendre le déterminisme des préférences trophiques de cette espèce pour savoir si elle est capable de transmettre le virus aux mammifères et, dans ce cas, dans quelles conditions.

Les préférences trophiques pourraient être liées à un déterminisme génétique. Il existe, en effet, deux formes chez *Cx. pipiens* (Harbach *et al.* 1985) : une forme *pipiens* réputée anautogène, eurygame et ornithophile, et une forme *molestus*, considérée comme autogène, sténogame et anthropophile (Vinogradova 2000). Les différences de biologie entre ces deux formes seraient liées à une adaptation écologique rapide à des gîtes épigés pour la forme *pipiens* et hypogés pour la forme *molestus* (Barr 1981 ; Harbach *et al.* 1984). Si, dans le nord de l'Europe, les deux formes sont bien différenciées et éventuellement en voie de spéciation (Rioux *et al.* 1965), dans le sud de l'Europe, les populations restent en interconnexion (Rioux *et al.* 1965 ; Pasteur *et al.* 1981 ; Bourguet *et al.* 1998 ; Chevillon *et al.* 1998). Ainsi, des formes de gîtes épigés sténogames et anautogènes ont été décrites dans le sud de la France avec des préférences trophiques soit anthropophiles, soit ornithophiles (Rioux *et al.* 1965 ; Pasteur *et al.* 1977). D'autres auteurs estiment que ces deux formes sont en réalité deux espèces distinctes à travers le monde, et que la présence aux États-Unis d'hybrides entre ces deux espèces y expliquerait la transmission intense du virus *West Nile* (Fonseca *et al.* 2004). Dans ce cas, les hybrides piqueraient de façon indifférenciée les oiseaux et les hommes, ce qui n'est pas toujours confirmé par les études de préférences trophiques (Spielman *et al.* 2004).

Les préférences trophiques pourraient varier en fonction d'un déterminisme environnemental. Une variation des préférences trophiques (d'ornithophiles à mammophiles) au cours de la saison a déjà été décrite pour *Cx. pipiens* au Colorado (Tempelis *et al.* 1967) ou pour *Cx. nigripalpus* en Floride (Edman et Taylor 1968). Il est possible que la température ait une influence sur le comportement trophique ; en effet, des nuisances à *Cx. pipiens* sont constatées en milieu rural et en plein jour pendant des périodes de fortes chaleurs dans le sud

¹⁸ Un ratio de 28 est trouvé entre le nombre d'*Ae. albopictus* capturés sur appât humain et par piège CO₂.

de la France (EID-Méditerranée 2003). D'autres déterminismes sont envisageables ; dans la même région, la teneur en matière organique des gîtes larvaires de *Cx. pipiens* est positivement corrélée à la mammophilie des adultes issus de ces gîtes (Gabinaud *et al.* 1985). Enfin, la variation de la disponibilité en hôte peut modifier le comportement trophique de *Cx. pipiens*. Par exemple, le départ en migration en fin d'été du merle d'Amérique (*Turdus migratorius*), considéré comme le principal hôte de *Cx. pipiens*, expliquerait que *Cx. pipiens* se tourne à ce moment là vers les hommes (Kilpatrick *et al.* 2006b).

Les préférences trophiques des *Culex* sont donc complexes ; or, il s'agit d'un des facteurs clefs pour comprendre les conditions de transmission de la fièvre *West Nile* à l'homme et au cheval.

2.3. Le rôle éventuel des mammifères dans les cycles de transmission

« *The apparent insignificant role of wild mammals in the ecology of WN virus may be from lack of scrutiny rather than from lack of importance* »

(McLean *et al.* 2002)

De nombreux mammifères sauvages et domestiques peuvent être infectés par le virus *West Nile* (McLean *et al.* 2002). Il est classiquement admis que les mammifères n'interviennent pas en tant que source de virus pour les moustiques (Hayes *et al.* 2005b). Nous discutons ici de cette supposition.

Les équidés. Ce sont les équidés qui sont les mammifères les plus sensibles à l'infection par le virus *West Nile*, avec de véritables épizooties d'encéphalites et une létalité d'environ 40 % (Ostlund *et al.* 2001 ; Dauphin *et al.* 2004). Les premières infections expérimentales d'équidés leur attribuent une virémie insuffisante pour infecter des moustiques (Taylor *et al.* 1956 ; Schmidt et El Mansoury 1963). Plus récemment, la virémie¹⁹ de chevaux inoculés (inférieure à $10^{2,7}$ PFU/ml) s'est révélée insuffisante pour infecter *Ae. albopictus* (Bunning *et al.* 2002). Néanmoins, toutes ces expériences ont été réalisées avec des chevaux adultes. En France, des infections expérimentales ont été menées avec des équidés de différents âges (Guillon *et al.* 1968 ; Lapras *et al.* 1968 ; Oudar *et al.* 1971). Ces auteurs décrivent que la

¹⁹ Titrage par inoculation à des tapis cellulaires de cellules Vero et comptage du nombre de plages de lyse induite par le virus. Le titre est estimé en *Plaque-Forming Units* par millilitre.

virémie des poulains est plus élevée que celle des adultes, en particulier pour des poulains en mauvais état général (parasitisme) (Joubert *et al.* 1971). Ces auteurs considèrent que la virémie des poulains est suffisante pour infecter des vecteurs. Cet effet de l'âge a été mis en évidence pour d'autres espèces : poulets, souris ou porc (les animaux développent une virémie d'autant plus intense qu'ils sont jeunes) (Hurlbut 1956 ; Taylor *et al.* 1956 ; Teehee *et al.* 2005). Les poulains pourraient alors servir de source de virus. Ce phénomène ne doit cependant pas être quantitativement important, si ce n'est lors d'épizooties intenses.

Les autres mammifères. Des infections expérimentales ont été menées chez différentes espèces de mammifères (van der Meulen *et al.* 2005). La plupart développent des virémies de courte durée et de faible intensité : le macaque rhésus (Ratterree *et al.* 2004), le mouton (Taylor *et al.* 1956 ; Oudar *et al.* 1972), le chien (Austgen *et al.* 2004) et le porc adulte (Oudar *et al.* 1972 ; Teehee *et al.* 2005). Néanmoins, pour certains, la virémie semble suffisante pour l'infection de moustiques, comme le chat, chez qui la virémie dure 3 à 5 jours (Austgen *et al.* 2004). Les lémuriens (*Lemur fulvus*) présentent quant à eux des virémies pendant 5 à 6 jours qui permettent d'infecter à maintes reprises des femelles d'*Ae. aegypti* (Rodhain *et al.* 1985). Pour les petits mammifères, la situation semble différente, puisque des cycles de transmission entre moustiques et souris ou hamsters sont possibles en conditions de laboratoire (Philip et Smadel 1943 ; Davies et Yoshpe-Purer 1954 ; Vermeil *et al.* 1960) et que le lapin à queue blanche (*Sylvilagus floridanus*) présente une virémie suffisante pour infecter *Cx. pipiens*, *Cx. salinarius*, *Ae. albopictus* et *Ae. aegypti* (Tiawsirisup *et al.* 2005b). Ainsi, le rôle de la plupart des mammifères en tant que source du virus *West Nile* pour les vecteurs est sans doute anecdotique. Mais cette règle admet des exceptions ; c'est pourquoi les mammifères ne devraient pas être exclus *a priori* de l'étude des cycles de transmission.

2.4. D'autres cycles de transmission du virus *West Nile* ?

Les cycles de transmission du virus *West Nile* sont classiquement décrits avec les oiseaux comme hôtes amplificateurs, les moustiques du genre *Culex* comme vecteurs et les hommes et chevaux comme hôtes tangentiels, victimes et culs-de-sac épidémiologiques (Zeller et Schuffenecker 2004). D'autres cycles et voies de transmission sont néanmoins possibles.

D'autres hôtes amplificateurs ? Au Tadjikistan, des cycles de transmission du virus *West Nile* existaient entre des grenouilles (grenouille rieuse, *Rana ridibunda*) et les moustiques (Kostyukov *et al.* 1985)²⁰. Ainsi, la question du rôle des amphibiens ou des reptiles comme hôtes amplificateurs peut se poser. D'autant plus que la proportion de repas des *Culex*, en particulier *Cx. pipiens*, sur amphibien ou reptile peut être importante (Apperson *et al.* 2004). Chez quasiment tous les amphibiens ou reptiles inoculés avec le virus *West Nile* aux États-Unis, la virémie est faible ou indétectable (Klenk et Komar 2003). Par contre les alligators juvéniles (*Alligator mississippiensis*) développent des virémies élevées ($10^{5,8}$ PFU/ml) et de longues durées (10 à 14 jours) (Klenk *et al.* 2004), et peuvent être considérés comme des hôtes amplificateurs, par exemple dans les fermes d'alligators (Floride).

Une transmission non virémique. L'infection de moustiques se gorgeant sur un hôte sain à côté d'un moustique infectant est possible en laboratoire (Higgs *et al.* 2005). Ce phénomène a été bien documenté chez les tiques (Randolph *et al.* 1996) et décrit aussi chez les simules (Mead *et al.* 2000), mais n'avait jamais été envisagé chez les moustiques²¹. Les taux d'infection sont faibles. Seulement 2,3 % (n = 87) des *Cx. quinquefasciatus* qui se gorgent sur la même souris qu'un seul moustique infectant s'infectent (Higgs *et al.* 2005). Mais ce phénomène n'a été observé que pour *Cx. quinquefasciatus*, qui n'est pas un bon vecteur de virus *West Nile*. Ce taux de transmission non virémique devrait être évalué pour d'autres vecteurs, avant que l'on puisse juger de l'importance de ce mode de transmission en conditions naturelles.

Une transmission non vectorielle. Des contaminations accidentelles de laboratoire montrent la possible contamination directe du virus *West Nile*, vraisemblablement par aérosol (Nir 1959). La voie conjonctivale pourrait aussi être infectieuse (Hannoun *et al.* 1967 ; Fonseca *et al.* 2005). Il est important de savoir dans quelle mesure une telle transmission peut se produire dans les populations d'hôtes, notamment d'oiseaux. Chez différentes espèces, un oiseau sain peut s'infecter s'il est présent dans la même cage qu'un groupe d'oiseaux inoculés (Langevin *et al.* 2001 ; Swayne *et al.* 2001 ; Komar *et al.* 2003a), alors qu'il reste indemne

²⁰ Un cycle de transmission *Rana ridibunda* et *Cx. pipiens* aurait été reproduit expérimentalement, mais la publication originale n'a pas été retrouvée : Kostyukov *et al.* (1986) Med Parazitol (Mosk) 6 : 76-8.

²¹ Les tiques et les simules, telmophages (se nourrissant dans un lac sanguin créé par la dilacération des tissus), sont capables de prélever un agent pathogène hors circulation sanguine, dans le derme. La transmission non systémique d'un agent pathogène entre vecteurs se nourrissant sur le même hôte (*co-feeding*) est compréhensible. Elle est moins intuitive pour les moustiques, solénophages, cathétérisant les capillaires veineux. Ainsi, un moustique serait capable d'absorber du virus circulant à des doses non détectables.

dans une cage adjacente (McLean *et al.* 2001 ; Banet-Noach *et al.* 2003). Une transmission directe est donc possible chez les oiseaux ; le mode de transmission précis n'est pas expliqué, mais nécessite *a priori* un contact étroit. Le virus présent dans les fèces chez la plupart des espèces d'oiseaux (Banet-Noach *et al.* 2003 ; Komar *et al.* 2003a) est une source possible pour une contamination oro-fécale ou par aérosol. Ce mode de transmission pourrait prendre de l'importance chez les espèces d'oiseaux coloniaux (Jourdain 2006). Lors d'épizooties assez importantes (10 % de mortalité) dans les fermes d'élevage d'alligators, la transmission directe semble jouer le rôle principal (Miller *et al.* 2003 ; Klenk *et al.* 2004).

Une contamination orale est suspectée depuis qu'une buse a été retrouvée infectée en février 2000, *a priori* hors période d'activité des moustiques (Garmendia *et al.* 2000). Cette voie de contamination a été confirmée expérimentalement chez différentes espèces d'oiseaux ingérant une souris, une carcasse ou un moustique infecté (Komar *et al.* 2003a). Les alligators, chats et hamsters peuvent aussi s'infecter par ingestion (Austgen *et al.* 2004 ; Klenk *et al.* 2004 ; Sbrana *et al.* 2005).

Aux États-Unis, une transmission du virus *West Nile* par transfusion est connue depuis 2002 et un dépistage des donneurs effectué depuis 2003. Malgré cette précaution, environ une dizaine de cas depuis 2002 sont rapportés. Plus anecdotiques, quelques cas de transmission intra-utérine ou par allaitement sont suspectés (Hayes *et al.* 2005a).

D'autres vecteurs ? La mise en évidence du virus *West Nile* chez d'autres arthropodes que les moustiques peut poser la question de l'existence d'autres vecteurs. Pour les *Hippoboscidae* ou les *Culicoides*, le nombre réduit de détections (ou la présence d'individus gorgés dans les lots testés) ne permet pas de conclure à un rôle de ces arthropodes dans la transmission du virus *West Nile* (Gancz *et al.* 2004 ; Farajollahi *et al.* 2005b ; Sabio *et al.* 2006). En revanche, le virus *West Nile* a été isolé de différentes espèces²² d'*Argasidae* (tiques molles) et d'*Ixodidae* (tiques dures) à travers l'Afrique et l'Eurasie, posant la question de leur implication, notamment dans des mécanismes de persistance (Schmidt et Said 1964). Les infections expérimentales répondent en partie à cette question.

Jamais au cours de différentes expériences les *Ixodidae* ne se sont révélées capables de transmettre le virus *West Nile*. Après inoculation, les tiques dures²³ sont moins aptes que les moustiques à amplifier le virus *West Nile* (Hurlbut 1956). Le taux d'infection de larves, nymphes ou adultes, fixés sur des animaux virémiques, est faible (10 à 40 %) pour

²² Pour une revue de ces différentes espèces, voir Mumcuoglu *et al.* (2005).

²³ Les noms des tiques employés sont ceux recensés dans la dernière revue connue (Horak *et al.* 2003).

Dermacentor variabilis (Say), *Ixodes scapularis* Say, *Dermacentor andersoni* Stiles et *Amblyomma americanum* (Linnaeus) (Whitman et Aitken 1960 ; Anderson *et al.* 2003) ou nul pour *Ixodes ricinus* (Linnaeus) (Lawrie *et al.* 2004). Pour les individus infectés, le virus peut être maintenu par transmission trans-stadiale jusqu'à l'adulte, mais n'est pas transmis à la descendance (Whitman et Aitken 1960 ; Anderson *et al.* 2003). Aussi, les tiques dures ne semblent-elles jouer aucun rôle dans la transmission.

La situation est différente pour les *Argasidae*. Certaines espèces sont réfractaires à l'infection et se montrent incapable de transmettre le virus *West Nile* : *Ornithodoros savignyi* (Audouin), *Argas persicus* (Oken) et *A. hermanni* (Hurlbut 1956 ; Abbassy *et al.* 1993). Au contraire, d'autres s'infectent sur animaux virémiques (taux inférieur à 50 %) et sont capables de transmettre le virus jusqu'à plusieurs centaines de jours après l'exposition, par exemple après 10 mois pour *Carios coniceps* (Canestrini)²⁴, 45 jours pour *Ornithodoros erraticus*²⁵ (Lucas) (Vermeil *et al.* 1958, 1960), 57 à 224 jours pour *Ornithodoros moubata* (Murray) (Whitman et Aitken 1960 ; Lawrie *et al.* 2004), 418 jours pour *Argas reflexus* (Fabricius)²⁶ (Hannoun et Rau 1970), 20 jours pour *Argas arboreus* Kaiser, Hoogstraal et Kohls (Abbassy *et al.* 1993) et 35 jours pour *Carios capensis* (Neumann) (Hutcheson *et al.* 2005). La conservation du virus *West Nile* dans les tiques molles est imparfaite ; en effet le titre viral ou le nombre d'individus infectés décroît avec le temps (Whitman et Aitken 1960 ; Hutcheson *et al.* 2005). Une transmission verticale n'est mise en évidence que chez *A. arboreus* (Abbassy *et al.* 1993). La transmission est souvent mise en évidence par le biais d'une infestation massive (Whitman et Aitken 1960), sauf chez certaines espèces : *C. coniceps* ou *A. reflexus* (Vermeil *et al.* 1960 ; Hannoun et Rau 1970).

Il est donc possible que certaines espèces d'*Argasidae* puissent jouer le rôle de vecteurs du virus *West Nile* dans des situations particulières de densités importantes d'oiseaux et de tiques. Un tel cycle oiseaux-tiques est proposé pour expliquer l'infection par le virus *West Nile* des populations de goélands argentés (*Larus argentatus*) infestés par *C. capensis*²⁷ dans des îles de la mer Caspienne en l'absence de moustiques (Lvol 1987). Un cycle oiseaux-tiques est aussi suspecté en Israël dans des colonies de hérons garde-bœufs (37,8 % de séroprévalence), où le virus *West Nile* est mis en évidence par RT-PCR chez *A. arboreus* (taux d'infection minimal 16/1000) (Mumcuoglu *et al.* 2005). La longue vie des tiques

²⁴ Nommée *Ornithodoros coniceps* (Canestrini) dans l'étude.

²⁵ La compétence de *C. coniceps* est jugée « bien supérieure » à celle d'*O. erraticus* (Vermeil *et al.* 1960).

²⁶ Nommée *Argas reflexus reflexus* dans l'étude.

²⁷ Nommé *Ornithodoros capensis* dans l'étude.

molles, 10 à 20 ans selon les espèces (Rodhain et Perez 1985), pourrait permettre une persistance du virus *West Nile* de façon localisée dans certains foyers.

2.5. La fièvre *West Nile* à l'échelle mondiale

Le virus *West Nile* est largement répandu et endémique en Afrique tropicale. Il circule ensuite dans d'autres zones du monde, souvent dans des foyers (zones humides, deltas) où son endémie est moins certaine. Nous discutons ici de la façon dont le virus peut être introduit dans de nouvelles zones et des modalités nécessaires à son maintien plusieurs années consécutives dans ces foyers, en particulier pendant l'hiver dans les zones tempérées.

La circulation du virus *West Nile*. Les oiseaux migrateurs ont depuis longtemps été suspectés d'être à l'origine de l'introduction du virus *West Nile* dans de nouvelles zones (Zeller et Murgue 2001). L'introduction du virus en Israël en 1998 en est l'exemple le plus démonstratif (Malkinson *et al.* 2002). *A priori*, un oiseau en migration ne peut introduire le virus que si sa durée de virémie (de l'ordre de quelques jours) est plus longue que celle de la migration. La détermination des durées de virémie et de migration peut théoriquement permettre d'identifier les espèces potentiellement introductrices. Néanmoins, il est aussi possible que le stress physiologique de la migration puisse entraîner une immunodépression rendant la virémie plus longue et plus intense ou réactiver le virus maintenu en infection chronique dans le corps de l'oiseau (Zeller et Murgue 2001). Certains ont ajouté comme hypothèse, le transport par les oiseaux migrateurs de tiques infectées fixées qui serviraient de point de départ à un nouveau cycle de transmission. Cependant, le repas sanguin ne dure plusieurs jours que chez les *Ixodidae* (à tous les stades) contre quelques minutes pour les nymphes et les adultes des *Argasidae*²⁸ (Rodhain et Perez 1985). Ainsi, seules les premières sont susceptibles d'être transportées lors des migrations (Hoogstraal *et al.* 1961 ; Hoogstraal *et al.* 1963)²⁹. Les *Ixodidae* n'ayant jamais été trouvées compétentes pour le virus *West Nile*, leur rôle dans l'initialisation d'un cycle de transmission doit être quasi nul³⁰. Pour les États-

²⁸ Le repas des larves dure plusieurs jours, mais les espèces du genre *Ornithodoros* ne se gorgent pas au stade larvaire.

²⁹ Parmi les oiseaux en migration examinés en Égypte, les oiseaux allant de l'Europe ou l'Asie vers l'Afrique ne transportaient que des *Ixodidae* (30 000 individus examinées, 1000 infestés avec 1700 tiques) et, sur le chemin inverse, seules 2 larves d'*Argasidae* sont collectées (340 oiseaux infestés par 1025 tiques).

³⁰ La probabilité qu'un oiseau transporte une tique infectée, qui, ensuite ingérée par un oiseau résident, initialise un cycle de transmission est sans doute très faible.

Unis, les voies de migration depuis l'Ancien vers le Nouveau Monde étant rares (Rappole *et al.* 2000), les hypothèses les plus probables sont l'introduction commerciale (légale ou non) d'un ou plusieurs oiseaux virémiques, et non l'introduction par des oiseaux migrateurs (Weaver et Barrett 2004). En revanche, les mouvements migratoires ont sans doute permis au virus de passer du nord-est des États-Unis à la Floride (Peterson *et al.* 2003) et à la Caraïbe (Rappole et Hubalek 2003), et l'extension de la fièvre *West Nile* d'est en ouest semble liée à des mouvements d'oiseaux résidents assurant la propagation de proche en proche (Rappole *et al.* 2006).

L'analyse phylogénétique des isolements viraux réalisés permet de tracer de grandes zones géographiques à l'intérieur desquelles les souches de virus *West Nile* circulent vraisemblablement par le biais des oiseaux migrateurs. Les souches de virus *West Nile* sont séparées en deux grandes lignées³¹ (Zeller et Schuffenecker 2004). La lignée I comprend des souches isolées en Afrique, Europe, Asie et Amérique, et la lignée II la souche initiale d'Ouganda et des souches isolées uniquement en Afrique subsaharienne et à Madagascar. Néanmoins, une souche de lignée II a été isolée en 2004 en Hongrie (Bakonyi *et al.* 2006) et deux souches isolées à partir de lots de *Cx. pipiens* en 1997 et 1999 en République tchèque (Hubalek *et al.* 1998 ; Hubalek *et al.* 2000) appartiendraient à une nouvelle lignée ou un nouveau *Flavivirus* (Bakonyi *et al.* 2005).

Parmi les souches de la lignée I, on peut distinguer plusieurs clusters (Schuffenecker *et al.* 2005). Un cluster américain/israélien, comprenant les souches américaines et des souches israéliennes de 1998 et 2000, plus une souche qui a provoqué la mort d'oies en Hongrie en 2003 (Bakonyi *et al.* 2006). Un cluster regroupe des souches européennes, méditerranéennes et africaines (Zeller et Schuffenecker 2004), séparées en deux groupes : les souches isolées à Volgograd (1999 et 2000) et en Roumanie (1996) associées à une souche kenyane et à des épidémies humaines ; les souches Maroc 1996 et 2003, Italie 1998 et France 2000 et 2004, associées à des épizooties équine (Jourdain *et al.* 2007a). Ainsi, il est certain que le virus *West Nile* peut être transporté par les oiseaux migrateurs de l'Afrique vers l'Europe, ou inversement, mais les modalités de persistance du virus pendant la migration restent inconnues.

³¹ Le virus Kunjin précédemment décrit en Australie a été rattaché au virus *West Nile*.

Le maintien du virus *West Nile* dans une zone donnée. On sait que le virus *West Nile* peut se maintenir dans une zone donnée plusieurs années successives et en particulier passer l'hiver des pays tempérés. En effet, après les épidémies ou épizooties de fièvre *West Nile* en Israël en 1951 (Goldblum *et al.* 1954), en France en 1962 (Panthier *et al.* 1968 ; Joubert *et al.* 1970) ou en Roumanie en 1996 (Cernescu *et al.* 2000), la circulation du virus a persisté les années suivantes. Les souches isolées dans le même foyer avec quelques années d'écart sont souvent très proches comme en Israël en 1998 et 2000, à Volgograd en 1999 et 2000 ou en France en 2000 et 2004 (Schuffenecker *et al.* 2005 ; Jourdain *et al.* 2007a), ce qui suggère la persistance de la souche localement. De même, le virus *West Nile* s'est maintenu dans le nord-est des États-Unis pendant les hivers suivant son introduction pour y réapparaître les années suivantes.

Si l'existence de ce phénomène est connue, ses mécanismes ne le sont pas encore. Les différentes hypothèses sont : i) le maintien d'une transmission à bas bruit pendant l'hiver, ii) une infection chronique chez les oiseaux ou iii) une persistance chez le vecteur. En Californie, la persistance d'une transmission à bas bruit n'a pas été mise en évidence pendant l'hiver, moins rude que dans le Sud européen : aucune séroconversion de sentinelles (190 poulets) (Reisen *et al.* 2006b). En revanche, le virus peut se maintenir chroniquement dans les organes des oiseaux pendant au moins 6 semaines après infection expérimentale (Reisen *et al.* 2006b), mais les conditions d'initialisation d'un nouveau cycle restent à élucider (relargage du virus dans le sang, contamination par voie orale). La possible persistance du virus chez le vecteur a été mise en évidence en conditions naturelles, par la présence du virus *West Nile* (isolement ou RT-PCR) chez des femelles *Cx. pipiens* en diapause hivernale dans le nord-est des États-Unis (Nasci *et al.* 2001 ; Bugbee et Forte 2004 ; Farajollahi *et al.* 2005a). En effet, ce sont les femelles qui passent l'hiver chez les *Culex* et les *Anopheles*, alors que, chez les *Aedes*, le stade quiescent est l'œuf (Mitchell 1988). Ainsi, des femelles *Culex* infectées à la fin de la saison pourraient maintenir le virus jusqu'au printemps suivant.

La question est de savoir comment ces femelles ont pu s'infecter. En effet, les femelles *Cx. pipiens* ou *Cx. tarsalis* trouvées dans les sites d'hibernation sont quasiment toutes non gorgées, inséminées et nullipares (Reisen *et al.* 1986a ; Vinogradova 2000), ce qui peut signifier que les femelles n'ont pas pris de repas sanguin avant d'entrer en hibernation ou qu'il existe un phénomène de discordance trophogonique. Chez certaines espèces d'anophèles, ce phénomène est décrit : la diapause n'interrompt pas complètement le comportement de recherche de l'hôte, les femelles se gorgent, mais le repas n'est pas suivi de la maturation des œufs (Mitchell 1988 ; Jetten et Taekken 1994). Au contraire, chez

Cx. pipiens, après diminution de la photopériode marquant l'entrée en diapause (Eldridge 1987 ; Mitchell 1988), tout comportement de recherche d'hôte est inhibé (Mitchell 1983). De plus, 50 % des femelles placées en conditions de diapause survivent 6 mois après la prise unique de jus sucré, contre seulement 20 jours après la prise d'un repas sanguin (Mitchell 1983). Enfin, les femelles *Cx. pipiens* en hibernation semblent inaptes à prendre des repas sanguins (Mitchell et Briegel 1989 ; Robich et Denlinger 2005). Il semble donc que les *Cx. pipiens* ne prennent pas de repas de sang pendant la période de diapause. Ainsi, comme les femelles retrouvées en hibernation sont essentiellement nullipares, la majorité des femelles *Cx. pipiens* destinées à hiberner semblent uniquement se nourrir de jus sucrés pour développer des réserves et gagnent ensuite les gîtes d'hibernation³² (Vinogradova 2000). Si on peut extrapoler ces résultats aux autres *Culex*, la persistance du virus chez les *Culex* passe nécessairement par une transmission verticale, c'est-à-dire une transmission de la femelle infectée à sa descendance qui entrera en diapause (Rosen 1987). Dans ce cas, les *Aedes* peuvent aussi permettre la persistance du virus pendant l'hiver.

L'existence d'un tel phénomène en conditions naturelles est suggérée par l'isolement du virus *West Nile* chez un mâle *Cx. univittatus* au Kenya (possible transmission sexuelle) (Miller *et al.* 2000) et démontrée par l'isolement du virus chez des adultes *Cx. quinquefasciatus* issus de larves collectées en Californie (Reisen *et al.* 2006b). La transmission verticale du virus *West Nile* a été reproduite au laboratoire³³ en 1990 pour *Ae. albopictus*, *Ae. aegypti* et *Cx. tritaeniorhynchus* (Baqar *et al.* 1993).

Différents essais expérimentaux ont été réalisés aux États-Unis pour quantifier ce phénomène (Dohm *et al.* 2002b ; Goddard *et al.* 2003 ; Reisen *et al.* 2006b). Ils se déroulent sur le même schéma : des femelles sont inoculées en intrathoracique, sont gorgées 5 à 7 jours postinoculation et la descendance est élevée jusqu'au stade adulte et testée sur cellules Vero pour la présence de virus (annexe 1). Seuls Reisen *et al.* (2006b) quantifient la transmission verticale pour des femelles *Cx. tarsalis* exposées oralement au virus *West Nile*.

Il en ressort que le virus *West Nile* peut être transmis verticalement chez les *Culex* et les *Aedes*, comme c'est le cas pour les autres *Flavivirus* : virus de la dengue et de la fièvre jaune chez *Ae. aegypti* et *Ae. albopictus*, de l'encéphalite de Saint Louis chez *Cx. tarsalis*, *Cx. pipiens*, *Cx. quinquefasciatus* et *Cx. nigripalpus*, ou de l'encéphalite japonaise chez *Cx. tritaeniorhynchus* et *Cx. vishnui* (Rosen 1987). Les taux minimaux d'infections filiales

³² Dans les zones de transition entre climats tempéré et tropical, il peut exister pour la même espèce un dégradé de comportements entre diapause franche et absence de diapause. Voir les études réalisées sur *Cx. tarsalis* en Californie (Reisen *et al.* 1986a, 1986b, 1986c).

³³ Voir annexe 1 pour le détail des résultats des essais expérimentaux de transmission verticale.

sont faibles et équivalents à ce qui est observé pour les autres *Flavivirus*, à savoir entre 0,1 et 1 % (Rosen 1987). Pour être plus précis, chez *Cx. tarsalis*, seule une partie des femelles ($\approx 25\%$) transmet le virus *West Nile* à sa descendance, avec un taux moyen de 4,1 % (Reisen *et al.* 2006b), phénomène déjà observé chez *Cx. tritaeniorhynchus* et le virus de l'encéphalite japonaise (Rosen *et al.* 1989). La transmission sexuelle du virus *West Nile* est possible, mais les femelles infectées ne sont pas capable de transmettre le virus horizontalement (Reisen *et al.* 2006b), comme c'est le cas pour le virus de La Crosse et *Aedes triseriatus* (Say) (Thompson et Beaty 1976).

Ainsi, il est certain que le virus *West Nile* peut se maintenir dans ses foyers des zones tempérées d'une année sur l'autre en survivant à l'hiver. Si les hypothèses concernant les modalités de son maintien sont posées, l'importance relative de chacun des phénomènes est encore à évaluer.

En résumé, les cycles de transmission décrits il y a 50 ans en Égypte montrent une grande uniformité à travers le monde. Les oiseaux sont les hôtes naturels du virus *West Nile*, les moustiques du sous-genre *Culex* (*Culex*) les principaux vecteurs et les hommes et chevaux les principales victimes. Secondairement et localement, d'autres cycles de transmission sont sans doute possibles, avec d'autres vertébrés comme hôtes amplificateurs (mammifères, reptiles ou batraciens) et une transmission directe ou vectorielle (moustiques) ou avec d'autres arthropodes vecteurs (*Argasidae*) et des oiseaux comme hôtes amplificateurs. L'identification des espèces d'oiseaux et de moustiques responsables de la transmission du virus reste à mener dans de nombreux endroits du monde. Plus généralement, les voies de transmission du virus aux mammifères (rôle relatif des *Culex* ou des vecteurs « ponts ») ne sont pas encore totalement expliquées. Les mêmes souches de virus *West Nile* circulent dans plusieurs zones de transmission différentes, introduites par les oiseaux migrants. Néanmoins, le virus est capable de se maintenir localement d'une saison sur l'autre. Bien que les différentes hypothèses de ce maintien soient posées (Figure 2), le rôle relatif de chacune d'elles reste à élucider.

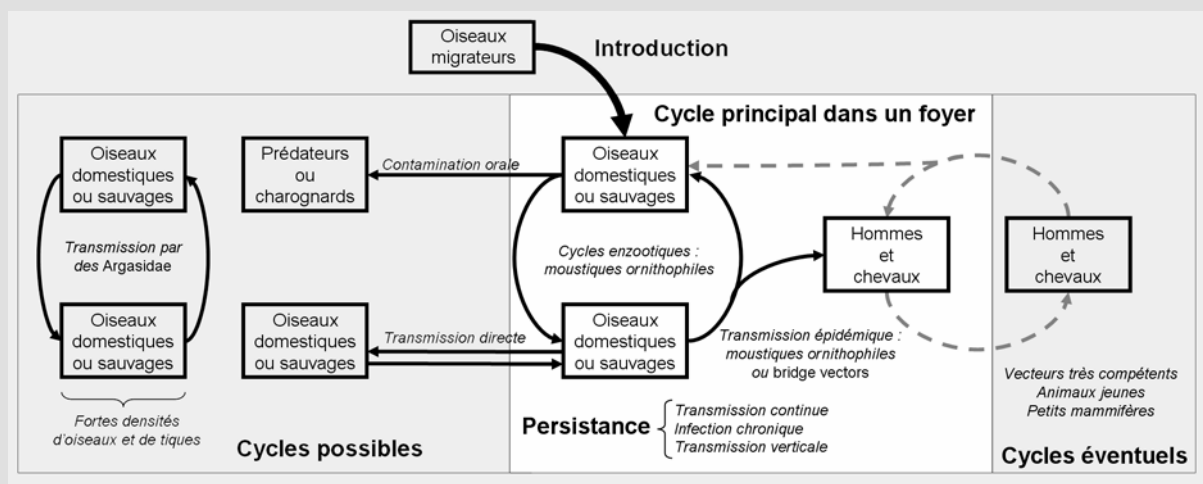


Figure 2 : Schéma général de l'épidémiologie de la fièvre *West Nile*.

La fièvre *West Nile* en France

Nous détaillerons d'abord les épisodes de circulation du virus West Nile en France. Deux périodes se distinguent. Au début des années 1960, le virus est pour la première fois décrit en France, où il est responsable d'encéphalites humaines et équine. Après 35 années de « disparition » de la maladie, le début des années 2000 est témoin de nouveaux épisodes de transmission. Cette description en deux temps a pour but de souligner les questions soulevées par ces derniers épisodes en regard des travaux réalisés il y a maintenant 40 ans.

Ensuite, nous nous intéresserons à l'environnement des zones de transmission du virus West Nile. Ainsi, après un aperçu rapide du Midi méditerranéen et de son climat, nous décrirons la zone d'étude, à savoir la zone de transmission autour du delta rhodanien.

1. Une histoire en deux temps

« En Camargue et dans les régions voisines de l'Hérault et du Gard persiste, depuis longtemps, l'énigme étiologique d'un syndrome parésique postérieur du cheval, baptisé « lourdigé » en dialecte provençal local, pour évoquer la démarche ébrieuse, « lourde », de l'animal atteint. [Ce syndrome était] déjà décrit dans les textes anciens du XIX^e siècle retraçant l'histoire culturelle et pathologique de la Camargue. »

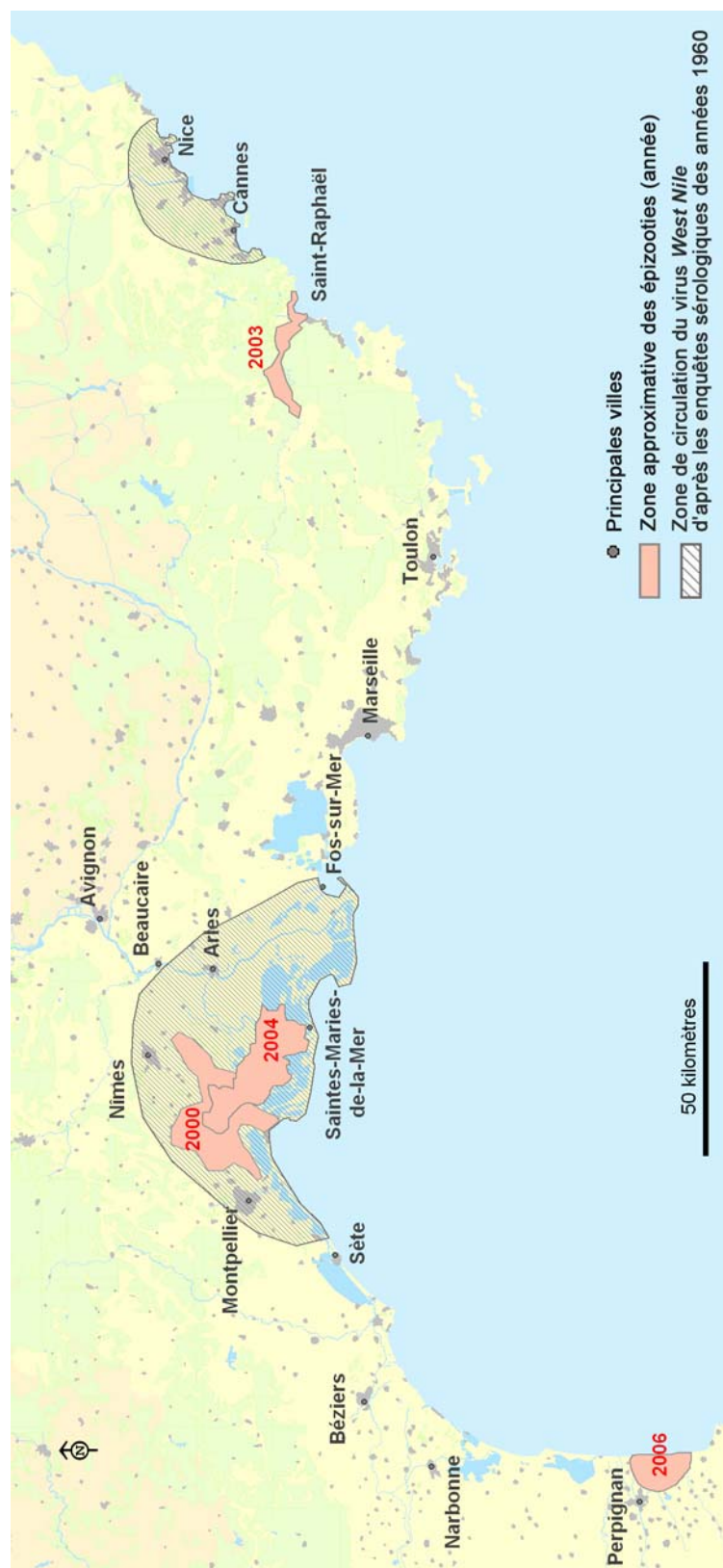
(Joubert et Oudar 1970)

« Les cliniciens de la région de Montpellier ont observé, dès 1935 et jusqu'en 1942, plusieurs types de syndromes grippaux estivaux d'évolution courte et bénigne qui laissaient après eux une asthénie profonde pouvant durer plusieurs semaines. De véritables épisodes épidémiques ont été observés à plusieurs reprises dans la région de Mauguio-Lunel (...). Il s'agissait essentiellement d'affections fébriles d'apparition brutale et persistant trois à quatre jours avec des céphalées, des courbatures, une injection conjonctivale et un léger état méningé. »

(Panthier et al. 1968)

« On observe aussi des cas d'encéphalites sévères ne relevant pas des étiologies bactériennes ou virales habituelles. Enfin, on parle souvent dans la région de fièvres d'été, de gripes d'été, de fièvres des marais, de fièvres d'acclimatation. »

(Hannoun et al. 1964a)



Carte 1 : Zones de circulation du virus *West Nile* en France.

1.1. Les années 1960 : description et premières études

Au cours de l'été 1962, de nombreux cas d'encéphalites graves sont constatés, en Camargue et dans la partie orientale du Bas-Languedoc, aussi bien chez l'homme que chez le cheval (Panthier 1968). L'analyse des sérums de malades prélevés montre la circulation d'un arbovirus du groupe B³⁴ (Panthier 1968). Un « groupe de recherche sur les arbovirus en France » est alors constitué pour enquêter de manière rétrospective. Quelques cas humains de méningite ou d'encéphalite, apparus entre fin juin et fin septembre, sont répertoriés, les cas les plus graves semblant apparaître chez les adultes les plus âgés (Panthier *et al.* 1968). Une trentaine de cas équins en Camargue et une cinquantaine dans la région de Beaucaire sont recensés (Joubert *et al.* 1970). La maladie est apparue au début de l'été, avec le maximum de cas entre le 15 août et le 15 septembre. Elle a touché un dixième des 500 chevaux de la zone et a tué 25 à 30 % des chevaux malades (Joubert *et al.* 1970). Il apparaît suite aux examens sérologiques qu'un virus apparenté au sous-groupe encéphalite japonaise/*West Nile*/encéphalite de la *Murray Valley* circule dans la région, au côté du virus Tahyna et du virus de la fièvre à phlébotomes type Sicile (Hannoun *et al.* 1964a). Le virus *West Nile* est fortement suspecté.

En 1964, trois missions successives sont organisées en juin, septembre et novembre, afin d'isoler le virus circulant (Hannoun *et al.* 1964a). Des prélèvements sanguins sont effectués sur des hommes, des chevaux, des mammifères domestiques, des rongeurs, des lagomorphes, des oiseaux de basse-cour et sauvages et sur des animaux sentinelles. L'ensemble des espèces prélevées présentent des anticorps (Hannoun *et al.* 1966). En septembre 1964, 900 *Cx. modestus*, 50 *Aedes caspius* (Pallas) et 12 *Anopheles hyrcanus* (Pallas) sensu lato sont collectés sur la digue au Rhône aux alentours du Sambuc. Le virus *West Nile* est isolé d'un des lots de *Cx. modestus* et du sang de deux entomologistes qui ont présenté une brusque fièvre de trois jours avec frissons et céphalées (Hannoun *et al.* 1964b). Ce virus est de nouveau isolé en 1965 de lots de *Cx. modestus* capturés à la Capelière et du cerveau d'un poulain atteint d'encéphalite (Panthier *et al.* 1966). Par la suite, des enquêtes sérologiques chez l'homme ont permis d'identifier deux foyers principaux sur le littoral méditerranéen (carte 1) : le foyer camarguais s'étendant à l'ouest jusqu'à Agde et Montpellier, limité au nord par Nîmes et Beaucaire et débordant légèrement le grand Rhône à l'est et le foyer de la Côte

³⁴ Ce groupe contenait alors les virus suivants (dans la nomenclature de la référence citée) : fièvre jaune, encéphalite japonaise, encéphalite Saint Louis, encéphalite Murray Valley, dengue, encéphalites à tiques Europe et Extrême-Orient, fièvre hémorragique d'Omsk, Louping-ill, N'taya, Wesselsbron, West Nile, virus de chauves-souris (Joubert et Oudar 1969).

d'Azur, englobant Cannes et Menton (Joubert 1975). Des preuves sérologiques³⁵ sont également mises en évidence en Corse (Joubert 1975).

La Camargue est une zone écologique particulière (Hoffmann *et al.* 1968). La diversité de ses habitats en fait une terre d'accueil pour de nombreux oiseaux résidents ou migrateurs venus nicher ou hiverner. On peut estimer à près de 300 le nombre d'espèces d'oiseaux régulièrement présentes (Jourdain *et al.* 2007b). Les groupes systématiques les plus représentés comprennent des espèces adaptées aux zones humides dans le sens le plus large, à savoir les anatidés (canards, oies), les laridés (mouettes, goélands...), les limicoles (chevaliers, pluviers...), les ardéidés (hérons), les rallidés (foulques, poules d'eau...), les phoenicotéridés (flamands roses) et certains passereaux (Hoffmann *et al.* 1968). De plus, une vingtaine d'espèces de moustiques sont recensées en Camargue, dont *Cx. modestus*, qui est considéré comme une espèce en pleine expansion à cause du développement de la riziculture (Rioux et Arnold 1955 ; Rageau et Mouchet 1967). Les densités importantes d'oiseaux et de moustiques font sans doute de la Camargue un milieu privilégié pour la transmission du virus *West Nile*, tout comme les autres zones deltaïques du bassin méditerranéen ou de l'Europe : les deltas du Nil, du Danube, de la Volga... Le virus *West Nile* est alors considéré comme enzootique en Camargue (Hoffmann *et al.* 1968).

À partir de 1966, la maladie semble disparaître : aucun cas humain ou équin n'est rapporté. Une enquête sérologique, réalisée en Camargue de 1975 à 1979, donne une séroprévalence de 4,9 % chez l'homme (n = 242) et de 2 % chez le cheval (n = 99) et la séroconversion de lapins sentinelles montre une circulation du virus *West Nile* en 1978 (Rollin *et al.* 1982). Entre 1982 et 1983, aucun des 54 petits mammifères prélevés en Corse ne présentent d'anticorps contre le virus *West Nile* (Chastel *et al.* 1986). Entre 1986 et 1987, sur 61 lapins de garenne (*Oryctolagus cuniculus*) prélevés dans les environs du Sambuc, un seul présentait une réaction sérologique au virus *West Nile*, soit une prévalence de 1,6 % (Le Lay-Rogues *et al.* 1990).

³⁵ Pour l'anecdote, lors d'une conférence en 1965, le professeur Joubert « évoque le cas d'un chevreuil tué en Alsace à l'automne dernier et dont le sérum se révélera très positif à l'antigène West Nile » (Joubert et Oudar 1965)

1.2. Le retour après 35 ans de silence

Le 6 septembre 2000, l'infection par le virus *West Nile* de deux chevaux atteints d'encéphalite est confirmée par analyse sérologique et isolement viral (Murgue *et al.* 2001b). Ces chevaux proviennent de Lansargues, une commune située à une dizaine de kilomètres des limites de la Camargue gardoise. Entre début septembre et fin octobre, 58 cas équins confirmés et 18 probables sont recensés, avec environ 30 % de létalité (Murgue *et al.* 2001b). Une enquête sérologique menée dans un rayon de 10 kilomètres autour de chaque cas confirmé donne une séroprévalence³⁶ de 8,5 % sur les 5107 équins prélevés (Durand *et al.* 2002). L'analyse de la distribution géographique des chevaux séropositifs situe l'épicentre sur les communes Lansargues/Lunel (Durand *et al.* 2002), c'est-à-dire en zone de Costière, dominée par la vigne et la culture, en dehors des zones humides du delta. La séroprévalence est constante quel que soit l'âge (Durand *et al.* 2002), suggérant une épizootie en zone naïve. Il est vraisemblable que la zone d'enzootie ait été centrée sur les zones humides du delta camarguais et que le virus ait été dispersé, sans doute par des mouvements d'oiseaux ou de vecteurs, vers les zones sèches voisines (Jourdain *et al.* 2007b).

Un système de surveillance de l'activité du virus *West Nile* est mis en place suite à cet épisode, comprenant un volet aviaire de surveillance active (Hars *et al.* 2002) et un volet équin de surveillance active et passive (Zientara *et al.* 2004). Par ce biais, des séroconversions sont mises en évidence chez les oiseaux en 2001 et 2002 (Zeller et Schuffenecker 2004) et chez des équidés (Zientara et Leblond 2002), mais sans apparition de la maladie. Le système de surveillance ne concerne alors que la zone camarguaise. En septembre 2003, un habitant de Fréjus (Var), présentant des signes de méningo-encéphalite, est confirmé infecté par le virus *West Nile* (Del Giudice *et al.* 2004). Au total, 7 cas humains sont décrits dans le Var, associés à 4 cas équins, dont un fatal. En octobre, une enquête sérologique est effectuée dans un rayon de 30 kilomètres autour du cas équin mortel, et concerne au total 906 équidés. La séroprévalence en IgG varie de 3 à 95 % parmi les écuries positives (80 % du total des écuries) et est en moyenne de 33,7 % (Durand *et al.* 2005). La circulation du virus *West Nile* pourrait être régulière dans certaines zones du Var, notamment dans la vallée de l'Argens, à proximité de ZICO (zones importantes pour la conservation des oiseaux) (Durand *et al.* 2005).

³⁶ Il s'agit ici de la séroprévalence en immunoglobulines G (IgG). Ces anticorps persistent longtemps et donc la distinction entre une infection ancienne ou récente n'est pas possible.

L'année suivante, c'est de nouveau en Camargue, plus précisément autour des Saintes-Maries-de-la-Mer que le virus *West Nile* circule. Une quarantaine de cas équins (avec environ 10 morts) est rapportée essentiellement durant le mois de septembre 2004, après que des séroconversions aviaires ont été signalées par le système de surveillance pendant le mois d'août (Zeller *et al.* 2004). Les cas sont concentrés autour de la jonction de la Grande Camargue, de la Petite Camargue et de la Camargue gardoise, mais une partie est recensée à l'ouest de la Camargue gardoise, dans la zone sèche (Zeller *et al.* 2004). L'isolement du virus chez un moineau domestique et une pie européenne moribonds montre que les deux souches sont très proches de celle isolée en 2000 (Jourdain *et al.* 2007a). Cette souche identifiée en 2000 aurait pu se maintenir localement et circuler à bas bruit (entraînant uniquement des séroconversions) entre 2001 et 2003 pour finalement se manifester de nouveau en 2004. Aucune circulation virale n'a été détectée par le réseau de surveillance en 2005 (Hars *et al.* 2006). Le 29 septembre 2006, un cas équin est confirmé à Argelès-sur-Mer, dans les Pyrénées-Orientales. Cinq cas équins *West Nile* sont confirmés, les symptômes étant apparus chez ces chevaux entre les 16 et 25 septembre³⁷.

1.3. Mise en parallèle de ces deux périodes

La circulation du virus *West Nile* a été mise en évidence à presque 40 ans d'intervalle dans deux zones géographiques bien distinctes, l'une située entre Montpellier, Beaucaire et Fos-sur-Mer, l'autre située sur la Côte d'Azur. De plus, un nouveau foyer de circulation a été défini près de Perpignan. Quelles sont les questions soulevées par la mise en parallèle de ces deux périodes de transmission ?

Dans les années 1960, le virus *West Nile* a été isolé uniquement chez *Cx. modestus* deux années consécutives (Hannoun *et al.* 1964b ; Panthier *et al.* 1966). Cette espèce a donc été considérée comme le principal vecteur du virus *West Nile* en Camargue et sa biologie a été étudiée après les premiers épisodes de transmission (Mouchet *et al.* 1970). *Culex modestus* est actif dès février et jusqu'en octobre et pique agressivement une grande variété d'hôtes : mammifères (homme, cheval, taureau, lapin, mouton...), oiseaux et reptiles (Mouchet *et al.* 1970). Les gîtes larvaires sont constitués des roselières et marais à végétation serrée (jonc et scirpe), mais aussi des rizières évoluées. Les gîtes de repos des femelles sont constitués des

³⁷ Communiqué de presse de l'Institut de veille sanitaire du 4 octobre 2006 (<http://www.invs.sante.fr>)

roselières, des haies et de la ripisylve, les femelles ayant un rayon de vol en milieu découvert très faible (Mouchet *et al.* 1970). Les femelles *Cx. modestus* passent l'hiver en Camargue dans la végétation serrée des roselières (Mouchet *et al.* 1969). Le virus *West Nile* pourrait se maintenir d'une année sur l'autre chez ce vecteur. Soit les femelles s'infectent avant l'hiver – l'hibernation ne semble pas complète chez cette espèce (Mouchet *et al.* 1969) – soit le virus se maintient par transmission verticale. Les tentatives d'isolement viral chez des femelles hivernantes ont échoué (Mouchet *et al.* 1969). Aucun essai expérimental de transmission verticale n'a été mené avec *Cx. modestus*, vraisemblablement parce qu'en France toutes les tentatives d'élevage ont échoué³⁸ (Callot et Ty 1942, 1944-1945 ; Rioux 1958 ; Mouchet *et al.* 1970). Les femelles, reprenant leur activité en février piquent, pondent et meurent. Les températures encore basses rendent le temps de développement larvaire très long. Ainsi, les femelles sorties de l'hiver meurent avant que leur descendance n'ait pu émerger et on observe une très faible densité d'adultes pendant le mois d'avril et le début de mai (Mouchet *et al.* 1970). Les très faibles densités de l'espèce à cette époque de l'année la rendent peu propice à la circulation et à l'introduction du virus. C'est pourtant à cette période que la majorité des oiseaux migrateurs en provenance d'Afrique arrivent (migration de printemps)³⁹. De plus, si le virus a passé l'hiver chez les femelles hivernantes, il reste à éclaircir comment le virus se maintient au cours de cette période de faibles densités.

Culex modestus est une espèce de zones humides, abondante dans les deltas et les zones inondables. La transmission du virus *West Nile* en zone sèche (zone de la Costière en marge de la Camargue ou plus typiquement zone varoise), inapte *a priori* au développement et au déplacement de *Cx. modestus*, pose la question de l'existence d'autres vecteurs ou remet en cause la distribution supposée de *Cx. modestus*. Les enquêtes entomologiques menées dans le Var durant l'année 2004 (Schaffner, pers. comm.) et dans les Pyrénées-Orientales début octobre 2006 (L'Ambert, pers. comm.) n'ont pas détecté la présence de *Cx. modestus*.

Entre les années 2000 et 2004, le virus *West Nile* semble avoir circulé chaque année, avec seulement deux années épizootiques. Le rythme d'apparition d'épizooties est-il à relier au vecteur ou à d'autres facteurs : introduction du virus, immunité de la population ? Certains travaux suggèrent des conditions météorologiques particulières influençant les densités de *Cx. modestus* les années épizootiques, sans exclure d'autres facteurs (Ludwig 2004 ; Ludwig *et al.* 2005).

³⁸ De tels essais ont peut-être été menés en Russie ou en Europe de l'Est, où des populations sténogames et autogènes ont été signalées (Mouchet *et al.* 1970), mais aucune littérature n'a été retrouvée.

³⁹ Voir les travaux de D. Doctrinal (Doctrinal 2004 ; Doctrinal *et al.* 2005).

En résumé, des encéphalites humaines et équine dues au virus *West Nile* ont été observées dans le sud de la France en 1962 et les années suivantes. D'importantes recherches ont été conduites sur les cycles de transmission, permettant les premiers isollements du virus en Europe occidentale. Deux zones de transmission ont pu être identifiées, l'une camarguaise et l'autre azuréenne. Depuis les années 1960, *Cx. modestus* est supposé être le principal vecteur. Mais il est absent des zones varoises de transmission et *a priori* peu abondant dans la partie sèche de la zone camarguaise. L'implication de *Cx. pipiens* est fortement suspectée, mais il est considéré comme presque exclusivement ornithophile en zone rurale. Les questions posées par ces nouveaux épisodes en France font écho aux interrogations précédemment exposées (chapitre 1).

Quelle est la capacité des espèces de *Culex* ornithophiles à transmettre le virus *West Nile* aux mammifères (*Cx. modestus* en marge de sa zone de distribution classiquement décrite et *Cx. pipiens* en dehors de ses préférences trophiques) ?

Quel est le rôle relatif de chaque espèce de *Culex* dans les cycles de transmission ?

D'autres espèces de moustiques, notamment mammophiles, sont-elles impliquées dans les cycles de transmission du virus *West Nile* en France ?

Les moustiques peuvent-ils assurer le maintien du virus d'une année sur l'autre et initier un nouveau cycle de transmission ?

2. Les terrains de jeu du virus *West Nile*

2.1. Le Midi méditerranéen et son climat

Le littoral méditerranéen. Le Midi méditerranéen est caractérisé par une végétation xérophile typique, qualifiée souvent de végétation méditerranéenne (Harant et Jarry 1961 ; Bournérias *et al.* 1992)⁴⁰. Il est difficile d'en donner une caractéristique unique. Louis Emberger associe la zone méditerranéenne à l'aire de répartition du chêne vert⁴¹, *Quercus ilex*. Charles Flahault préfère la zone où la culture de l'olivier est possible. Néanmoins il concédait que : « le Chêne vert est partout, dans le bassin français de la Méditerranée, où règne le climat méditerranéen ; il est partout où se développe la flore méditerranéenne dans les limites du bassin. Il est le terme principal d'une association de végétaux qui caractérise la région méditerranéenne, mieux que tout autre caractère » (Flahault 1937). En France, la zone méditerranéenne est cerclée d'un étage montagnard, comprenant d'ouest en est : les Albères et Corbières (Roussillon), la Montagne Noire, les Cévennes et ses Causses (Languedoc) et les Préalpes (Provence et Côte d'Azur). À l'ouest, le Midi méditerranéen s'arrête avant la ligne de partage des eaux, au sud à la bande littorale et à l'est aux Alpes maritimes.

Le littoral méditerranéen présente deux zones bien distinctes, la côte d'Azur à l'est et le golfe du Lion à l'ouest, séparées grossièrement par le Rhône. À l'est, le littoral, rocheux et découpé, est contigu à des massifs montagneux de formation géologique ancienne (les Maures, l'Estérel...) fragmentés en un système complexe de basses montagnes et cuvettes réduites.

À l'ouest, la côte régulière est une édification marine qui a gagné une dizaine de kilomètres sur les rivages anciens. Ainsi, d'anciens ports romains, Montpellier, Agde ou Narbonne, sont aujourd'hui prisonniers des terres. Cette construction est le résultat de l'action des fleuves (apport de sédiments), de la mer (courants marins d'est en ouest, faibles marées, faibles profondeurs de la plate-forme littorale) et de points d'appui rocheux (Maguelone, Mont Saint-Clair...). En bordure du golfe du Lion, on trouve une succession de grands étangs, alimentés en eau douce par un fleuve et communiquant avec la mer par un grau. Autour de ce

⁴⁰ Sauf autre citation, les éléments bibliographiques principaux proviennent de ces deux publications, qui ne seront pas citées à chaque fois dans un souci de lisibilité.

⁴¹ Les noms latins des végétaux utilisés dans ce document correspondent à ceux préconisés par M. Kergélen (<http://www.dijon.inra.fr/flore-france/index.html>).

golfe, en partant de la mer vers l'intérieur des terres, se succèdent une bande d'étangs saumâtres, la zone de Costière plus ou moins large, le pays de garrigue bordé au nord par les Causses, puis les sommets cévenols pour l'Hérault et le Gard (carte 2).



Carte 2 : Carte botanique simplifiée du domaine méditerranéen français, d'après Flahault (1937).

Dans la partie orientale du golfe du Lion, deux entités se distinguent. L'ancien delta de la Durance a façonné la Crau : triangle calcaire, essentiellement constitué de galets et cailloutis des Alpes et de la Provence, limité au nord par les Alpilles. Aujourd'hui la Durance se jette dans le Rhône, qui a comblé la majorité du golfe Sète-Avignon-Fos en charriant graviers et limons. Un de ces anciens bras a formé la Costière, zone de transition entre la partie sablonneuse des étangs et la partie calcaire des garrigues. La Camargue constitue l'actuel delta du Rhône (carte 2). Ce dernier se sépare au nord d'Arles en un grand et un petit Rhône. Entre les deux, se situe l'île deltaïque du Rhône : la Grande Camargue. Les bras du fleuve n'ont pas toujours suivi ce cours et une zone plus vaste que l'île deltaïque peut être englobée dans le terme de Camargue, tant l'environnement est similaire. Il s'agit à l'est du Grand Rhône, du Grand Plan du Bourg et, à l'ouest du Petit Rhône, de la Petite Camargue (entre l'ancien Rhône Vif et le Petit Rhône) et de la Camargue gardoise⁴² (entre le Petit Rhône et le canal du Rhône à Sète). Le littoral camarguais est un des plus mobiles au monde, il a longtemps gagné sur la mer grâce à l'apport de matériaux par le Rhône. Aujourd'hui, avec la diminution de l'apport de la fraction solide amenée par le Rhône (aménagement hydro-électrique et endiguement du Rhône), certains points du littoral s'érodent, et d'autres s'engraissent.

Le climat méditerranéen. Il est caractérisé par un été chaud et sec, un automne où se concentrent les pluies et un hiver relativement doux.

Sur la zone Camargue-Costièrre-Étang de Mauguio, il pleut entre 500 et 800 mm par an (Ascensio 1984), les isohyètes des précipitations étant parallèles au relief cévenol. Il pleut 460 mm sur les plages de la Grande Camargue, 620 mm à Arles et entre 700 et 800 mm par an sur la Costière et l'Étang de Mauguio (Ascensio 1984 ; Bournérias *et al.* 1992). Les précipitations augmentent régulièrement d'août à octobre (mois le plus pluvieux) mais décroissent irrégulièrement de novembre à juillet (mois le plus sec), avec des maxima locaux éventuels en janvier ou février (Ascensio 1984). À la fin de l'été, sous l'effet des vents de la mer, les masses d'air chaud et humide sont déplacées du littoral vers les reliefs cévenols. Si elles rencontrent des masses d'air froid venues du nord, éclatent de violents orages (par exemple, 400 mm à Nîmes en 6 heures le 3 octobre 1988). Ce sont les pluies cévenoles, qui, lorsqu'elles tombent dans un bassin versant, ruissellent jusqu'à la mer dans les lits calcaires. En dehors de ces phénomènes exceptionnels, les pluies sont souvent rares et intenses.

⁴² Dans la suite du manuscrit, en l'absence d'indication contraire, le terme Camargue sera à prendre dans sa définition large (Grande Camargue, Petite Camargue, Camargue gardoise et Plan du Bourg).

La température moyenne annuelle est d'environ 14,5 °C, avec 23 °C en juillet (mois le plus chaud) et 5 °C en janvier (mois le plus froid). Cependant la température quotidienne la plus élevée est souvent enregistrée en août (10 à 30 jours/an où la température dépasse 30 °C, de juin à septembre) et la plus basse en février (20 à 30 jours/an où la température descend au dessous de 0 °C, de décembre à mars). L'amplitude entre les valeurs des températures minimale et maximale augmente au fur et à mesure que l'on s'éloigne de la côte.

L'ouest du littoral méditerranéen est soumis à quatre vents principaux : le mistral d'orientation nord, la tramontane d'ouest, le marin du sud et le grec de sud-est, ces deux derniers apportant la pluie (Harant et Jarry 1961). Le mistral présente une orientation nord presque parfaite dans la plaine du sillon rhodanien, pour subir une diffluence à sa sortie. Ainsi le mistral vient du nord à Nîmes, du nord-nord-est à Montpellier et du nord-nord-ouest à la Tour du Valat. Il est le vent quasi exclusivement dominant à Nîmes, alors que Montpellier subit aussi l'influence d'un vent ouest-nord-ouest et la Tour du Valat d'un vent sud-sud-est (Ascensio 1984). En Camargue, le mistral dépasse les 5 km/h durant 280 jours par an (Bournérias *et al.* 1992).

2.2. Le triangle camarguais du virus *West Nile*

2.2.1. La Camargue

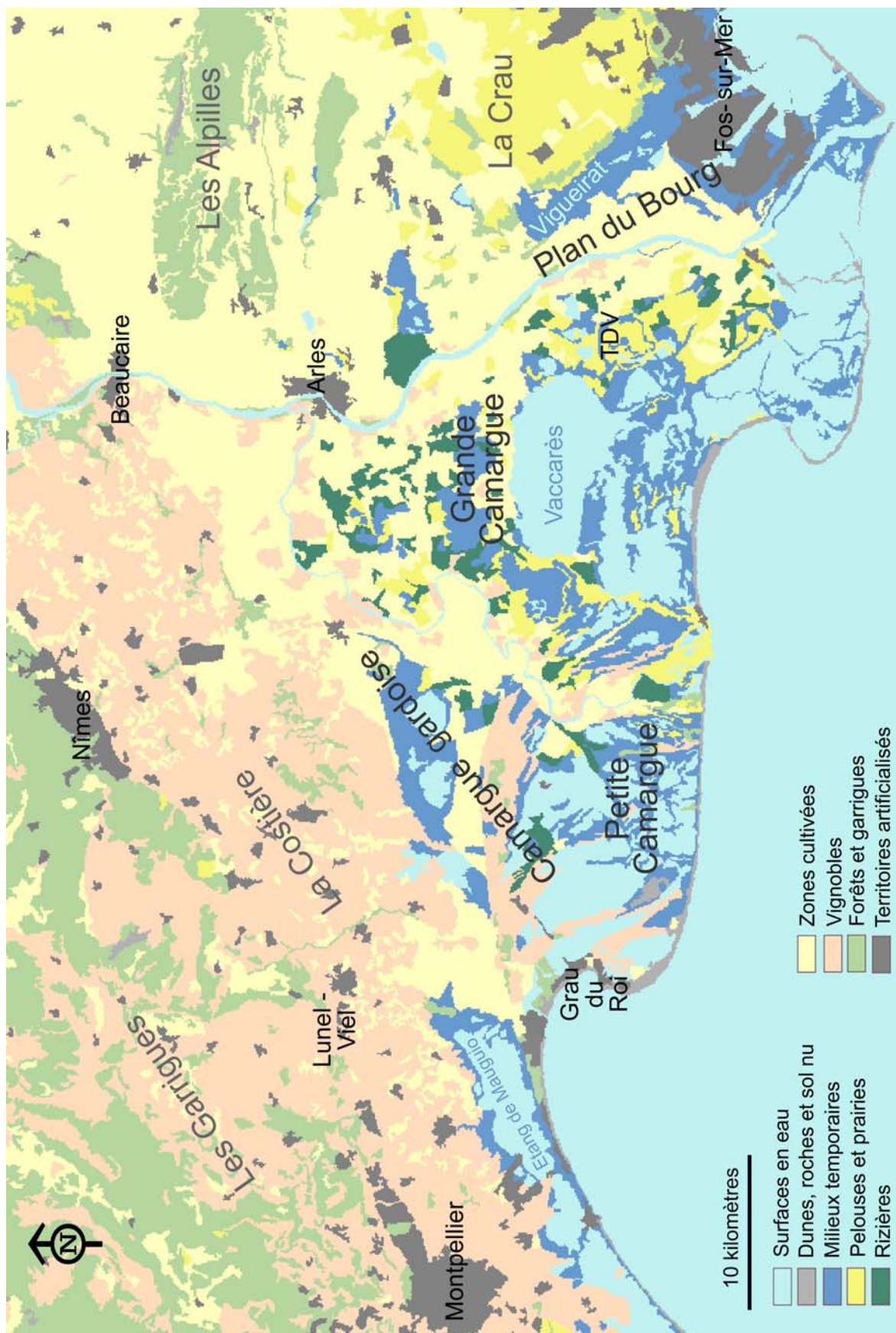
« Les terres cultivées dépassées, nous voici en pleine Camargue sauvage. À perte de vue, parmi les pâturages, des marais, des roubines, luisent dans les salicornes. Des bouquets de tamaris et de roseaux font des îlots comme sur une mer calme. Pas d'arbres hauts. L'aspect uni, immense, de la plaine, n'est pas troublé. De loin en loin, des parcs de bestiaux étendent leurs toits bas presque au ras de terre. Des troupeaux dispersés, couchés dans les herbes salines, ou cheminant serrés autour de la cape rousse du berger, n'interrompent pas la grande ligne uniforme, amoindris qu'ils sont par cet espace infini d'horizons bleus et de ciel ouvert. Comme de la mer unie malgré ses vagues, il se dégage de cette plaine un sentiment de solitude, d'immensité, accru encore par le mistral qui souffle sans relâche, sans obstacle, et qui, de son haleine puissante, semble aplanir, agrandir le paysage. Tout se courbe devant lui. Les moindres arbustes gardent l'empreinte de son passage, en restent tordus, couchés vers le sud dans l'attitude d'une fuite perpétuelle... »

Alphonse Daudet, *Lettres de mon moulin*, 1869

La Camargue peut être schématiquement séparée en deux parties, l'une fluvio-lacustre au nord, la Camargue agricole, et l'autre laguno-marine au sud, pays de sel (carte 3). Tout paysage des zones humides est le résultat d'une action en deux dimensions, celle de la salinité et celle des conditions hydriques (durée d'inondation). L'eau provient pour sa partie douce des pluies irrégulières, de l'irrigation et des débordements du Rhône (pour les zones hors digue), et pour sa partie saumâtre des entrées maritimes. La teneur en sel est influencée par des facteurs climatiques (évapotranspiration, vent, pluie), par le substrat (pédologie et topographie), par l'hydrogéologie (profondeur et salinité de la nappe phréatique, drainage de l'eau), par la couverture végétale ou encore par l'action de l'homme et des animaux (Corre 1975).

Schématiquement, on distingue en Camargue une zone halophile, occupée par les dunes, les lagunes et les étangs saumâtres, les marais et les prés salés, et une partie dulçaquicole, composée des milieux aquatiques d'eau douce, des zones boisées et des milieux cultivés (Molina 1996)⁴³.

⁴³ Sauf indication contraire, les principaux éléments descriptifs sont tirés de la *Flore de Camargue* (Molina 1996).



Carte 3 : Carte d'occupation des sols de la zone camarguaise.

Fond de carte : CORINE Land Cover (<http://www.ifen.fr>) avec TDV : Station biologique de la Tour du Valat.

Les dunes

Les dunes peuvent se séparer en dunes littorales et dunes intérieures, comprenant les montilles⁴⁴, anciennes dunes littorales intériorisées par l'avancée du littoral, et les dunes fluviatiles en bordure des bras du Rhône.

Les dunes littorales naissent de la capacité de plantes pionnières, comme le cakile maritime (*Cakile maritima*) ou la salicorne glauque (*Arthrocnemum macrostachyum*), à pousser dans un environnement très salé. Le vent pousse le sable, qui s'accumule au pied des plantes pionnières. Une fois ensevelies, elles sont remplacées par d'autres plantes capables de résister à l'ensevelissement comme le chiendent des rivages (*Elytrigia juncea*). Dès que l'eau de pluie a dessalé ces petites dunes, d'autres plantes moins halophiles continuent à édifier la dune : c'est le cas de l'oyat (*Ammophila arenaria*). La lentille « sous-dunaire », poche d'eau douce reposant sur la nappe salée, permet à différentes plantes de coloniser la dune. La présence de la dune et de la lentille d'eau crée, du côté opposé à la mer, un environnement juxta-dunaire préservé du sel. Au fur et à mesure que l'on s'éloigne de la dune, le sel redevient prédominant. Dès que la force des éléments (vent et sel) s'adoucit, la dune vive tend à devenir fixe et à être colonisée par des arbustes et par des arbres comme le pin pignon (*Pinus pinea*). Aujourd'hui, l'évolution vers ces dunes fixes est rare en Camargue, à cause des vents violents, de la diminution de l'apport de sédiments par le Rhône et de l'augmentation de la pression anthropique (Huet 2000).

Les dunes littorales intériorisées, ou montilles, ont une organisation compliquée, liée à l'histoire de la formation de la Camargue. Les plus célèbres sont les bois de Rièges, au sud du Vaccarès, recouverts d'une végétation arborescente de genévriers de Phénicie et dont les fourrés sont constitués de filaires, garances voyageuses (*Rubia peregrina*), pistachiers lentisques (*Pistacia lentiscus*) et romarins (*Rosmarinus officinalis*).

Les dunes fluviatiles sont des formations en bordure des bras du Rhône, témoins du temps où le Rhône, en débordant, déversait d'énormes quantités de sédiments. Leur évolution tend vers une couverture par le chêne vert et les plantes caractéristiques de l'yeuse verte (Molina 1996).

⁴⁴ Le terme de montilles sert aussi à décrire les bourrelets des lagunes et des étangs (Molina 1996).

Les lagunes et les étangs saumâtres

« De place en place, les étangs fumaient au soleil comme d'immenses cuves, gardant tout au fond un reste de vie qui s'agitait, un grouillement de salamandres, d'araignées, de mouches d'eau cherchant des coins humides. Il y avait là un air de peste, une brume de miasmes lourdement flottante qu'épaississaient encore d'innombrables tourbillons de moustiques. »

« Ce qu'il y a de beau en Camargue, c'est le Vaccarès. Souvent, abandonnant la chasse, je viens m'asseoir au bord de ce lac salé, une petite mer qui semble un morceau de la grande, enfermé dans les terres et devenu familier par sa captivité même. Au lieu de ce dessèchement, de cette aridité qui attristent d'ordinaire les côtes, le Vaccarès, sur son rivage un peu haut, tout vert d'herbe fine, veloutée, étale une flore originale et charmante : des centaurées, des trèfles d'eau, des gentianes, et ces jolies saladelles, bleues en hiver, rouges en été, qui transforment leur couleur au changement d'atmosphère, et dans une floraison ininterrompue marquent les saisons de leurs tons divers. »

Alphonse Daudet, *Lettres de mon moulin*, 1869

Les lagunes sont des étangs littoraux, salés, permanents et de faible profondeur (Les Écologistes de l'Euzière 1998)⁴⁵. En Camargue, un complexe réseau d'étangs saumâtres est dominé par le Vaccarès, qui occupe une place centrale et absorbe de nombreux apports d'eau douce. Les lagunes situées sous la digue à la mer sont en communication importante avec la mer en hiver et en sont isolées en été. L'influence de la mer permet des remontées salées par les nappes phréatiques, même au-delà de la digue. Ce phénomène est particulièrement important par vent de sud. Les sels ainsi dissous passent dans les étangs inférieurs avant de participer à la resalinisation du Vaccarès.

La composition floristique des lagunes et étangs est constituée d'herbiers et d'algues (phytoplancton et algues macroscopiques). La répartition des herbiers dépend notamment de la teneur en sel. La cymodocée (*Cymodocea nodosa*) plutôt marine occupe les zones en communication avec la mer, alors que le potamot (*Potamogeton pectinatus*) plutôt dulçaquicole occupe les zones d'entrée d'eau douce. La majeure partie des étangs est occupée par les ruppias (*Ruppia cirrhosa* et *Ruppia maritima*) et par les zostères (*Zostera noltii* et *Zostera marina*) ayant une tolérance intermédiaire. Nous encourageons le lecteur à consulter les ouvrages cités ci-après pour une description complètes des différentes algues des lagunes (Les Écologistes de l'Euzière 1998 ; Région Languedoc-Roussillon 2001).

Certaines zones lagunaires sont exploitées pour la production de sel : il s'agit des salins d'Aigues-Mortes et de Salin-de-Giraud. Les bassins sont actuellement compartimentés et l'eau pompée dans la mer. Quand le niveau de sel devient très important, seule une algue microscopique (*Dunaliella salina*) résiste, donnant une couleur rosée aux lagunes.

⁴⁵ Certains réservent le terme de lagune aux plans d'eau les plus proches de la mer et donc les plus salés (Molina 1996).

Les milieux temporaires

En Camargue humide, ce sont les milieux naturels les plus propices au développement des moustiques. Ils sont soumis à une inondation plus ou moins prolongée. Les sansouires ou enganes dominent les zones où la salinité est importante. Les milieux à inondation longue et salinité faible sont occupés par les roselières. Enfin, on rencontre les prés salés là où l'inondation est périodique à accidentelle.

Les sansouires. Les sansouires se rencontrent sur terrains salés limoneux ou sableux. La durée d'inondation varie de 1 à 8 mois par an et la salinité est dominante, dépassant 30 g par kilo de sol. Elles sont composées exclusivement de salicornes, supportant de fortes salinités.

Sur les grèves des étangs, une formation exclusivement composée d'annuelles (*Suaeda maritima* et *Salicornia europea*) marque la limite atteinte par les dernières vagues. En effet, les graines flottées se déposent en fin d'hiver et au printemps. Elles germent sur place dans un alignement qui illustrent les différentes phases de retrait de l'eau (Corre 1975).

À proximité immédiate des étangs, on rencontre une formation à salicorne radicante (*Sarcocornia perennis*), qui occupe des zones à engorgement permanent et submergées de 7 à 8 mois par an (Corre 1975). Lorsque la durée d'inondation hivernale diminue, dominent les formations à salicorne en buisson (*Sarcocornia fruticosa*), parfois très denses, atteignant 50 à 80 cm. Ces formations sont plus riches que les précédentes, en effet, en plus des salicornes, on peut rencontrer des saladelles, des juncs, de la soude... (Région Languedoc-Roussillon 2001), en fonction des nuances de salinité et de drainage (Corre 1975).

Lorsque la teneur en sel du sol augmente, les deux formations sont remplacées par la salicorne glauque, la seule à résister à une salinité très importante. Sur le sommet des buttes, où la submersion est rare, *Arthrocnemum macrostachyum* prend une forme prostrée. Au contraire, dans les bas-fonds à submersion quasi permanente, elle prend une forme érigée ; on la retrouve alors associée à des plantes aquatiques halophytes, comme *Ruppia maritima* (Région Languedoc-Roussillon 2001).

Ces formations servent de gîte de ponte à des espèces de moustiques, dont les larves sont halophiles : *Aedes detritus* (Haliday) et *Aedes caspius* (Pallas). Ces deux espèces sont fortement anthropophiles et se dispersent largement, pouvant provoquer d'importantes nuisances. C'est sur le sol humide, essentiellement dans la zone à salicorne en buisson (*Sarcocornia fruticosa*), que ces espèces déposent leurs œufs (Gabinaud 1975). L'éclosion se produit lors de la mise en eau de ces gîtes. Elle est alors massive et synchrone (Sinègre 1974).

Les roselières et les marais. Ces milieux temporaires sont caractérisés par une période de submersion longue et une salinité plus faible que dans les sansouires. Dans des gammes de salinité faible, la composition des espèces est déterminée par la profondeur de l'eau. Maximal en hiver et minimal en été, c'est surtout le niveau d'eau au printemps qui est important (figure 3).

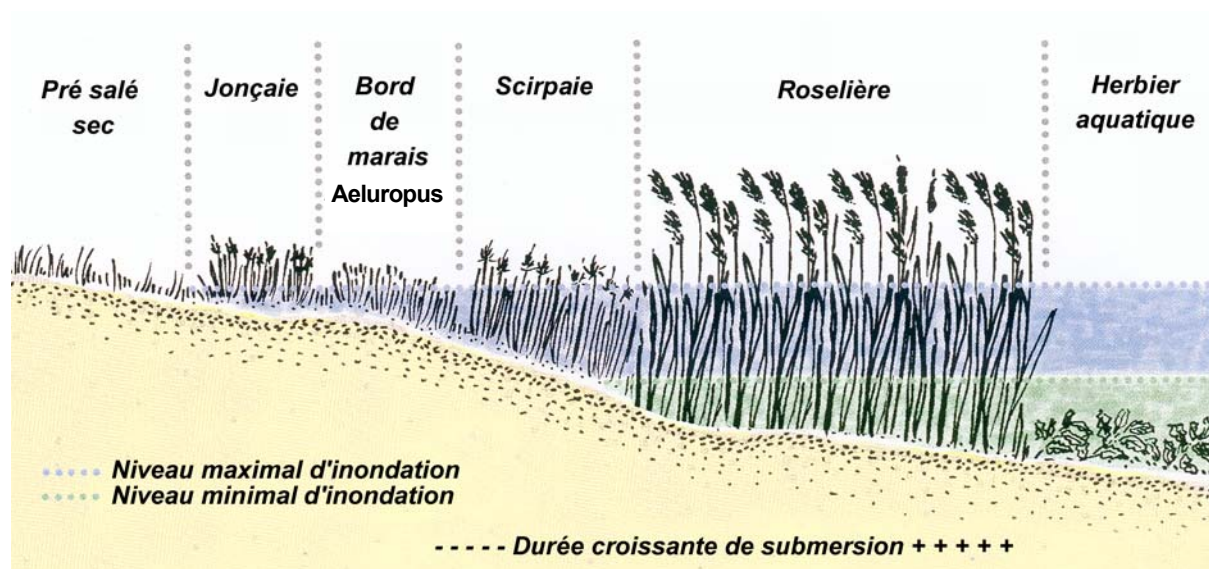


Figure 3 : Succession de la végétation dans un milieu temporaire saumâtre de Camargue.
Schéma d'après Mesléard et Perennou (1996).

Si ce niveau est supérieur à 50 cm, ce sont les espèces les plus hautes qui dominent : les massettes (*Typha angustifolia* et *Typha latifolia*), les grands scirpes (*Schoenoplectus litoralis* et *Schoenoplectus lacustris*) et le roseau (*Phragmites australis*), ce dernier étant plus halotolérant que les autres. Il est en revanche défavorisé par l'accumulation de matière organique, le faible niveau d'oxygénation et le pâturage (Région Languedoc-Roussillon 2001). En Camargue, où toutes les eaux sont plus ou moins saumâtres, le roseau domine et constitue de vastes étendues monospécifiques. La submersion est souvent supérieure à 10 mois par an, la hauteur d'eau importante et la salinité faible. Les formations dominées par le roseau évoluent par augmentation de la salinité vers les sansouires et par assèchement vers les prés salés (Corre 1975).

Avec des niveaux d'eau inférieurs au printemps (entre 10 et 50 cm), le scirpe maritime domine (*Bolboschoenus maritimus*) formant des scirpaies. Il supporte, de plus, des salinités plus importantes que le roseau. Néanmoins, si la salinité augmente encore le scirpe maritime est remplacé par le jonc de Gérard ou par les salicornes. De plus, d'autres facteurs que l'eau ou la salinité interviennent, notamment le pâturage (Mesléard et Perennou 1996).

Par la suite, nous réserverons le terme de **roselière** aux formations quasiment monospécifiques de roseaux (Sinnassamy et Mauchamp 2000). Le terme de **marais** sera employé pour caractériser des milieux temporaires à submersions longues, où le roseau est dominé par les scirpes à cause d'une hauteur d'eau peu importante ou par les joncs à cause du pâturage.

Les zones les plus longuement en eau permettent le développement de moustiques pondant leurs œufs sur l'eau. Ainsi, les roselières et marais servent de gîtes larvaires essentiellement à *Cx. modestus* et à certaines anophèles (*Anopheles maculipennis* Meigen sensu lato ou *Anopheles hyrcanus* (Pallas) sensu lato) mais aussi à *Cx. pipiens* (Rioux 1958).

Les prés salés. Ils sont caractérisés par une période de submersion de périodique à accidentelle (moins de 6 mois par an) et une salinité plus faible que dans les sansouires. Suivant l'hydromorphie liée au microrelief, on distingue deux grands groupes de prés salés (Molina 1996).

Dans les zones les plus basses, l'inondation est périodique. C'est le domaine des graminées vivaces, des joncs et de la saladelle de Narbonne (*Limonium narbonense*). À la jonction avec le marais, le dactyle maritime (*Aeluropus littoralis*) domine (Corre 1975). À mesure que la durée d'inondation diminue (moins de 4 mois par an), les formations à jonc se développent pleinement. Les jonçaises à jonc maritime (*Juncus maritimus*) sont souvent monospécifiques car ce dernier forme des peuplements denses (Région Languedoc-Roussillon 2001). Dans les zones légèrement plus sèches, différents groupements sont possibles en fonction du substrat ou de la salinité, les groupements à chiendent (*Elytrigia acuta* et *Elytrigia elongata*) marquant la transition avec les prés salés secs. Ces zones, dont l'inondation est irrégulière, n'autorisent le développement que d'espèces du genre *Aedes*. Les zones à jonc maritime sont des gîtes très productifs surtout pour *Ae. caspius*, mais aussi *Ae. detritus* (Gabinaud 1975).

Dans les zones plus hautes, la submersion devient exceptionnelle. Les prés salés secs sont toujours hors d'eau en hiver et la présence de sel est moins intense. On y trouve différents trèfles et luzernes associés à la laîche (*Carex divisa*), la pâquerette annuelle (*Bellis annua*) ou le campanule raiponce (*Campanula rapunculus*). On peut aussi y rencontrer quelques orchidées (*Ophrys sphegodes*, *Barlia robertiana*...).

Les milieux aquatiques doux

En Camargue, l'influence de la nappe salée se fait sentir dans tout le delta. Aussi la partie douce est-elle réduite et la séparation entre zone douce et salée plus théorique que réelle. On peut rattacher à cette classe les parties les plus douces des étangs saumâtres (cf. supra), mais surtout les canaux et roubines qui parcourent la Camargue, distribuant les eaux du Rhône en fonction des besoins d'irrigation. Ces canaux sont envahis de plantes aquatiques flottantes, à savoir lentilles d'eau (*Lemna* sp.) et morène (*Hydrocharis morsus-ranae*), ou de plantes aquatiques fixées, à savoir jussies (*Ludwigia* sp.), renoncules (*Ranunculus baudotii*), myriophylles (*Myriophyllum spicatum*), potamots (*Potamogeton* sp.) et naïades (*Najas* sp.). De plus ces canaux et roubines peuvent être colonisés par le roseau. Ils sont en général bordés de tamaris, d'oliviers de Bohême (*Elaeagnus angustifolia*) ou de faux-indigotiers (*Amorpha fruticosa*) et éventuellement d'iris (*Iris pseudacorus*). En tant que milieux doux et permanents, ces milieux peuvent héberger des espèces de *Culex* et d'*Aedes* (Rioux 1958).

Les zones boisées

La forêt camarguaise occupait la partie la plus au nord du delta. Aujourd'hui, elle se résume à une ripisylve s'étirant le long des anciens bras du Rhône et bordant les deux bras actuels. La strate arborée est composée de peupliers blancs et noirs (*Populus alba* et *Populus nigra*), de frênes (*Fraxinus angustifolia*), de saules (*Salix alba*) et aulnes (*Alnus glutinosa*). Cette composition illustre l'intrusion d'une flore d'Europe tempérée dans la zone méditerranéenne à la faveur des conditions particulières offertes par les cours d'eau. En certains points, on trouve en plus des chênes pubescents et pédonculés (*Quercus humilis* et *Quercus robur*). La strate arbustive est dominée par le laurier (*Laurus nobilis*), associé à l'aubépine (*Crataegus monogyna*) et au sureau noir (*Sambucus nigra*), sur lesquels se développent des lianes. Le lierre (*Hedera helix*) compose l'essentiel du sous-bois, où l'on rencontre, par exemple, l'iris fétide (*Iris foetidissima*), la ficaire (*Ranunculus ficaria*) et l'arum d'Italie (*Arum italicum*). Ces zones offrent des gîtes de développement larvaire pour les moustiques des trous d'arbres, comme *Aedes geniculatus* (Olivier) ou *Anopheles plumbeus* Stephens. Ces zones étant particulièrement protégées, elles offrent aussi aux différents moustiques comme *Cx. modestus* d'importants gîtes de repos.

Les zones cultivées

Jusqu'au XIX^e siècle, l'élevage du Mérinos d'Arles a été l'activité agricole principale de la Camargue. Les meilleures pâtures du nord du delta lui étaient alors réservées. Les chevaux et taureaux étaient relégués dans les marais, essentiellement pour l'entretien de ces zones marécageuses. Au milieu du XIX^e siècle, l'essor des courses taurines a augmenté l'intérêt porté au taureau et par conséquent au cheval.

Au lendemain de la seconde guerre mondiale, les pelouses, autrefois réservées au pâturage des moutons, ont été récupérées au profit de la riziculture pour pallier la pénurie vivrière et l'arrêt de l'apport colonial. La surface occupée par les rizières s'étend aujourd'hui à 20 000 hectares. C'est la principale production céréalière de Camargue (110 000 tonnes de riz paddy par an). Les semis sont réalisés en général dans la seconde quinzaine d'avril dans une lame d'eau de quelques centimètres. Un assec est réalisé 15 à 20 jours après semis, pour favoriser l'enracinement et lutter contre certains pathogènes, mais aussi pour réaliser des traitements herbicides. Ensuite, la hauteur d'eau est maintenue à 7 centimètres pendant la phase de tallage, puis à 20 centimètres entre le tallage et la formation des grains. L'eau douce nécessaire est pompée dans le Rhône et transportée par les roubines. La riziculture est une grande consommatrice d'eau, en moyenne 23 000 m³ par hectare, dont 5 000 à 10 000 s'infiltrant. Cet apport d'eau douce aboutit à un recul des terres salées. Les rizières permettent le développement de différentes espèces de moustiques (Rioux 1958). Lors de la mise en eau, on peut observer des émergences d'*Aedes* : *Ae. vexans* ou *Ae. caspius*. Lorsque l'eau est permanente, ces gîtes sont colonisés par *Cx. pipiens*. Enfin, les rizières évoluées abritent en grande quantité des larves de *Cx. modestus* et d'*An. maculipennis* s.l. et *An. hyrcanus*. Ainsi, *Cx. modestus*, rare en Camargue avant la seconde guerre, y devient une espèce très présente dans les prospections de Rioux (1958) à cause du développement de la riziculture.

La majeure partie des terrains sableux de la Petite Camargue est occupée par la viticulture. Elle a pris son essor en Camargue à la fin du XIX^e siècle, quand le phylloxéra dévastait les ceps français, y compris ceux de Camargue, à l'exception des vignes plantées dans le sable ou inondées en début de saison. Les vignobles d'Aigues-Mortes ont depuis gardé leur production particulière de « vin des sables ».

Les terres cultivées couvrent 50 000 hectares, dont la moitié entre les deux bras du Rhône. En dehors des deux cultures principales, riz et vigne, le maraîchage et l'arboriculture irriguée se développent dans le nord du delta et le long du Rhône. La culture de l'asperge est importante dans les sols sableux de la Petite Camargue.

2.2.1. La Costière

Dans la zone d'étude, en dehors de la Camargue, se détachent deux entités, l'étang de Mauguio (ou étang de l'Or) et la Costière⁴⁶. La zone des étangs du sud de Montpellier ne diffère pas de la partie littorale de la Camargue, à ceci près qu'à partir du Grau-du-Roi la côte est très urbanisée. Cette partie ne sera pas décrite.

La Costière correspond à un ancien bras du Rhône. Elle a été formée, à la fin de l'ère tertiaire, par le dépôt de matériaux grossiers, essentiellement des galets. La Costière est une vaste plaine dans sa partie gardoise dominée par Nîmes. Elle s'étire vers Montpellier, en s'amincissant, coincée entre la Camargue et les étangs au sud et les garrigues au nord. Dans sa limite sud-est, la plaine s'élève en coteaux entre Vauvert, Générac, Beauvoisin et Saint-Gilles, qui par endroits s'accroissent en *puechs* (hauteurs en occitan). Cette zone est drainée par le Vistre et traversée de nombreux cours d'eau qui descendent de la zone des garrigues pour se jeter dans les étangs et marais littoraux : le Virdoule, séparant l'Hérault et le Gard, ou plus à l'ouest le Dardaillon, la Cadoule, le Lez...

La Costière est couverte de cailloutis à galets siliceux, le *gress*, très drainant. La vigne est la seule culture naturellement adaptée à cette caractéristique. Elle est donc aujourd'hui la culture dominante de la Costière. Les travaux d'irrigation du Bas-Rhône-Languedoc ont dessiné de nouveaux paysages. Les cultures se sont diversifiées, avec l'apparition de cultures maraîchères et céréalières et de grands vergers. Cette zone très agricole contraste avec la Camargue à cause de l'absence d'étendues d'eau et de l'importance de l'urbanisation, en particulier dans l'Hérault. Ce milieu offre peu de gîtes naturels pour les moustiques, à part les trous d'arbre en bord de rivières. En revanche, de nombreux gîtes artificiels permettent le développement de *Cx. pipiens*, souvent accompagné de *Culiseta annulata* (Schränk).

La Costière butte au nord contre la bande calcaire des garrigues. Il existe sans doute autant de définitions de cette formation végétale que d'auteurs qui s'y sont intéressés. Nous retiendrons la définition d'une « *formation végétale xérique, sur sol calcaire pauvre en humus et avec rocher affleurant, provenant de la dégradation anthropogène de la forêt primitive de Chênes verts* » (Harant et Jarry 1987). La circulation du virus *West Nile* n'atteint jamais la zone des garrigues, nous n'entrerons donc pas dans le détail de sa description.

⁴⁶ L'atlas des paysages de la région Languedoc-Roussillon offre une description intéressante des unités paysagères de la région (<http://www.languedoc-roussillon.ecologie.gouv.fr/paysages.asp>).

En résumé, la végétation du littoral méditerranéen est caractérisée par le chêne vert, dominant dans la partie occidentale et dominé par le pin d'Alep (*Pinus halepensis*) dans sa partie orientale. Elle est interrompue à l'ouest et au nord par la végétation de l'Europe tempérée, c'est-à-dire par le chêne pubescent et le châtaigner (*Castanea sativa*) dans les basses vallées et par le hêtre (*Fagus sylvatica*) dans l'étage montagnard. De plus, les fleuves et rivières traversant la zone méditerranéenne apportent avec eux une flore d'Europe tempérée, dominée par les peupliers (*Populus alba*) et les saules (*Salix alba*). Enfin, au sud, la végétation méditerranéenne est bordée par la zone des halophiles, qui, large de quelques kilomètres sur le littoral (zone des étangs), atteint son plein développement dans le sud du delta rhodanien. L'hiver est relativement doux et l'été chaud et sec. Sous l'action conjuguée du vent et de l'ensoleillement, le déficit hydrique est important, notamment en été. La végétation méditerranéenne est composée de plantes adaptées à cette sécheresse.

Le virus *West Nile* circule dans une zone triangulaire définie par Montpellier, Beaucaire et Fos-sur-Mer. La Camargue occupe la majeure partie de cette zone, contrastant avec la sécheresse des garrigues languedociennes. Sa mosaïque écologique est née de la lutte du Rhône et de la mer et déterminée par l'eau, le sel et le vent. Aujourd'hui, cet espace est devenu artificiel, endigué et contrôlé par l'irrigation pour la culture, la chasse ou la pêche. Dans le sud du delta, les dunes s'opposent aux assauts de la mer, délimitant la zone des étangs et lagunes entourés par les sansouires dans un univers dominé par le sel. Les marais moins soumis à l'influence du sel sont envahis soit par de vastes roselières soit par un mélange de différents joncs, suivant l'influence de l'eau, du sel ou du pâturage. La culture est devenue omniprésente en Camargue, diminuant la surface des pâturages disponibles pour les taureaux et les chevaux. Elle est dominée par le riz dans le delta et par la vigne en Petite Camargue et Camargue gardoise. Cette diversité de milieux attire chaque année de grandes quantités d'oiseaux migrateurs, qui trouvent en Camargue une zone propice à leur nidification ou à leur hivernage, et autorise une grande diversité de culicidés (Rioux et Arnold 1955). Le virus *West Nile* ne circule pas uniquement en Camargue, mais aussi dans une zone beaucoup plus sèche, coincée entre les zones humides littorales et les garrigues et dominée par l'agriculture (essentiellement viticole) : la Costière. C'est cette dualité qui interroge sur les conditions du passage du virus *West Nile* des zones humides propices à sa circulation aux zones sèches *a priori* moins propices, par le biais du mouvement des oiseaux ou des vecteurs.

Les cycles de transmission du virus West Nile impliquent les oiseaux comme hôtes amplificateurs et les moustiques du genre Culex comme principaux vecteurs. Ces cycles ont été établis il y a un demi-siècle. Ils montrent une grande constance à travers l'Ancien et le Nouveau Monde. Néanmoins, dans des conditions particulières, ces cycles admettent des exceptions : autres hôtes amplificateurs, autres vecteurs ou transmission non vectorielle. C'est pourquoi, il convient d'étudier l'épidémiologie de la fièvre West Nile sans a priori.

En France, la fièvre West Nile sévit dans trois foyers distincts, un autour de la Camargue, un autre dans la partie orientale de la Côte d'Azur et le dernier dans la zone côtière des Pyrénées-Orientales. Culex modestus est considéré comme le vecteur principal du virus West Nile depuis les années 1960. Pourtant, cette espèce ne semble pas être responsable de l'ensemble des épisodes récents de transmission, laissant supposer au moins une autre espèce de vecteur. En effet, Cx. modestus serait présent en trop faibles densités dans la zone de Costière en bordure de la Camargue et totalement absent des zones de transmission varoise et catalane. L'un des objectifs de ce travail est donc d'identifier l'ensemble des vecteurs du virus West Nile en France.

Nous avons choisi de nous concentrer sur la zone de transmission camarguaise. En effet, la Camargue présente une grande richesse écologique, abritant de nombreuses espèces d'oiseaux résidents et migrateurs et de nombreuses espèces de moustiques. Elle pourrait héberger des cycles enzootiques de la maladie et servir de théâtre à la réintroduction du virus par les oiseaux migrateurs à l'instar des autres deltas méditerranéens et européens. De plus, on retrouve dans cette zone des faciès de transmission très différents, avec d'un côté la Camargue et ses milieux humides, de l'autre la Costière avec ses terres agricoles sèches.

Deuxième partie :

**Identification des vecteurs du virus
West Nile dans le sud de la France**

L'implication d'une espèce dans la transmission d'un agent pathogène repose sur la réunion de différentes preuves (Mitchell 1995). Une espèce peut être considérée comme vectrice : i) si elle présente une biologie compatible avec le contact hôte/vecteur (préférences trophiques adaptées et présence durant la période de circulation virale), ii) si l'agent pathogène est régulièrement isolé à partir d'individus capturés sur le terrain (exposition fréquente au pathogène en conditions naturelles), et iii) si cette espèce est compétente pour l'agent pathogène en question.

Pour identifier les espèces vectrices de West Nile, nous avons essayé d'explorer chacune de ces conditions. En suivant les critères définis ci-dessus, le premier objectif était de lister les espèces de moustiques piquant les différents intervenants du cycle épidémiologique du virus West Nile. Deux sites ont été choisis. Le premier est situé dans le cœur du delta du Rhône, à la station biologique de la Tour du Valat, le second dans la zone de la Costière, au centre équestre « Le Dardaillon » de Lunel-Viel. Ces deux sites ont connu par le passé des épisodes de transmission du virus West Nile et présentent des environnements très différents. Sur chacun des sites, des captures sur appât oiseau, cheval et homme ont été réalisées au cours d'une année, du printemps au début de l'automne. La dynamique saisonnière et le rythme nyctéméral des espèces collectées ont été décrits. Ces captures se sont déroulées durant un épisode de transmission virale. La présence du génome viral dans les lots de moustiques collectés a donc été recherchée. Enfin, la compétence vectorielle des espèces jugées pertinentes par notre expérience de terrain a été évaluée lors d'infections expérimentales.

Recherche du virus et de ses vecteurs en France

Dans ce chapitre, nous commencerons par exposer les résultats des captures sur appâts, pour présenter la diversité et la dynamique saisonnière et journalière des moustiques capturés. Puis, nous analyserons les résultats des captures pour détailler le comportement trophique des espèces présentes et donc étudier les espèces présentant une biologie compatible avec le contact hôte/vecteur.

Ensuite, nous exposerons la méthode et les résultats de la recherche de virus à partir de lots de moustiques capturés pendant un épisode de circulation virale.

L'ensemble de ces résultats sera analysé dans une discussion permettant de définir les espèces potentiellement vectrices, dont il faut tester la compétence vectorielle.

1. Qui pique quoi, quand et où ? Les vecteurs potentiels

1.1. Diversité et dynamique saisonnière et journalière

Les résultats des captures. Ces résultats ont fait l'objet d'une publication, qui est intégrée directement au texte.

Horse-, Bird-, and Human-Seeking Behavior and Seasonal Abundance of Mosquitoes in a West Nile Virus Focus of Southern France

T. BALENGHIEN,¹ F. FOUQUE,² P. SABATIER,¹ AND D. J. BICOUT¹

J. Med. Entomol. 43(5): 936–946 (2006)

ABSTRACT After 35 yr of disease absence, West Nile virus (family *Flaviviridae*, genus *Flavivirus*, WNV) circulation has been regularly detected in the Camargue region (southern France) since 2000. WNV was isolated from *Culex modestus* Ficalbi, which was considered the main vector in southern France after horse outbreaks in the 1960s. Recent WNV transmissions outside of the *Cx. modestus* distribution suggested the existence of other vectors. To study potential WNV vectors, horse- and bird-baited traps and human landing collections of mosquitoes were carried out weekly from May to October 2004 at two Camargue sites: one site in a wet area and the other site in a dry area, both chosen for their past history of WNV transmission. At the wet site, the most abundant species in bird-baited traps were *Culex pipiens* L. and *Cx. modestus*; both species also were found in lower proportions on horses and humans. The most abundant species in horse-baited traps and human landing collections were *Aedes caspius* (Pallas), *Aedes vexans* (Meigen), and *Anopheles hyrcanus* (Pallas) sensu lato; some of these species were occasionally collected with avian blood at the end of the summer. *Anopheles maculipennis* Meigen sensu lato was an abundant horse feeder, but it was rarely collected landing on human bait and never contained avian blood. At the dry site, *Cx. pipiens* was the most abundant species in bird- and horse-baited traps. The seasonal and circadian dynamics of these species are analyzed, and their potential in WNV transmission in Camargue discussed.

KEY WORDS Camargue, host-baited collections, mosquito potential vectors, West Nile fever

West Nile virus (family *Flaviviridae*, genus *Flavivirus*, WNV) was first isolated in 1937 from the blood of a febrile woman in Uganda (Smithburn et al. 1940), and its transmission by mosquitoes was experimentally established in 1943 (Philip and Smael 1943). This arbovirus was reported to cause mild disease and was reisolated from apparently healthy children in Egypt in 1950 (Melnick et al. 1951). During the 1950s, WNV was suspected to be responsible for human disease outbreaks in Israel (Bernkopf et al. 1953), and its etiological role in human encephalitis was established (Southam and Moore 1954). At the same time, ecological studies undertaken in Sindbis district in Egypt described WNV transmission cycles, involving mosquitoes (mainly *Culex* species) as vectors, birds as amplifying hosts, and humans and horses as sensitive but probably dead-end hosts (Taylor et al. 1956). During the subsequent decades, WNV was isolated in many countries of Africa, the Middle East, Asia, and Europe (Murgue et al. 2002), and its transmission was studied after outbreaks in Israel (Goldblum et al. 1954), France (Panthier 1968), and South-Africa (McIntosh et al. 1967).

During the past 10 yr, severe WNV outbreaks occurred around the Mediterranean basin, with human mortality in Algeria in 1994 (Le Guenno et al. 1996), Romania in 1996 (Savage et al. 1999), Tunisia in 1997 (Triki et al. 2001), Russia in 1999 (Platonov et al. 2001), and Israel in 2000 (Weinberger et al. 2001). Horse epizootics also were reported from Morocco in 1996 (Tber Abdelhaq 1996), Italy in 1998 (Autorino et al. 2002), France in 2000 (Murgue et al. 2001), and Morocco again in 2003 (Schuffenecker et al. 2005). In 1999, two fatal human cases of West Nile fever were reported from Israel (Giladi et al. 2001), after WNV mortality in bird populations the previous year (Malkinson et al. 2002). The same year, the emergence of WNV was reported for the first time from North America associated with the death of seven people, several horses, and thousands of wild birds in New York city (Garmendia et al. 2001). The WNV strain isolated in The United States was closely related to a strain isolated from a goose in Israel in 1998 (Lanciotti et al. 1999), suggesting an introduction of the virus from Israel. After this first outbreak, WNV became a major problem for public health in the United States (Hayes et al. 2005) with ≈20,000 human infections and ≈800 fatal cases (CDC statistics, <http://www.cdc.gov/ncidod/dvbid/westnile/>) and the virus spread to Canada (Gancz et al. 2004), Mexico (Estrada-Franco et al. 2003), and the Caribbean islands (Dupuis et al. 2003, Komar et al. 2003, Quirin et al. 2004).

¹ Unité Biomathématiques et épidémiologie, Ecole Nationale Vétérinaire de Lyon, 1 avenue Bourgelat, 69280 Marcy l'Etoile, France.

² Unité Biomathématiques et épidémiologie, ENVL/Institut Pasteur, Domaine du Merle, 13300 Salon de Provence.

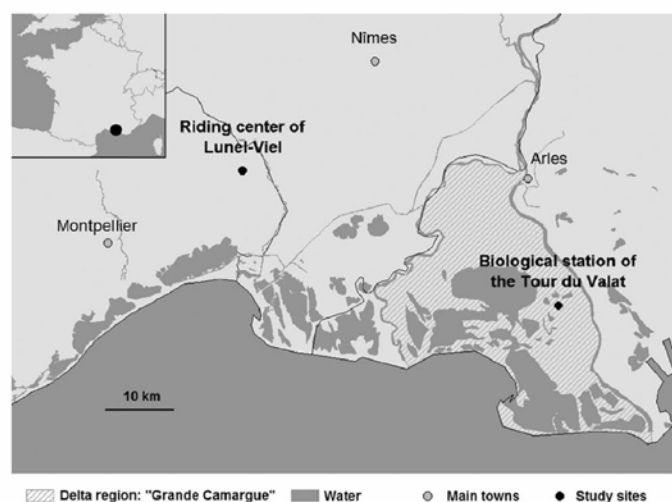


Fig. 1. Location of the study sites: the biological station of the Tour du Valat and the riding center of Lunel-Viel.

In Camargue (region of the Rhône River delta in southern France), summer influenza-like syndromes in humans, and neurological syndromes in horses called "lourdiges" were described since the beginning of the 20th century (Panthier et al. 1968, Joubert et al. 1970). In 1962, a large number of encephalitis syndromes occurred in horses associated with report of human cases in Camargue (Panthier 1968). Epidemiological studies in the subsequent years confirmed the implication of WNV, which was isolated in 1964 from field-collected mosquito pools of *Culex modestus* Ficalbi and from the blood of two entomologists (Hannoun et al. 1964), and, in 1965, from the brain of a foal with encephalitis (Panthier et al. 1966). Further serological investigations suggest the existence of a primary WNV focus in Camargue, a smaller focus around the city of Cannes, and some serological evidence from Corsica (Joubert 1975). The entomological studies carried out in the 1960s considered *Cx. modestus*, a species breeding in reed marshes or rice fields and aggressively feeding on birds, humans, and other mammals, as the main WNV vector. However, these authors did not exclude the role of *Culex pipiens* L. as an enzootic vector (Mouchet et al. 1970). After the first WNV outbreak, the virus seemed to persist in the environment as detected by seroconversion in rabbits in 1978 (Rollin et al. 1982) but failed to produce human or equine cases. Investigations in a large population of wild rabbits in 1986 showed a very low level of WNV antibodies (Le Lay-Rogues et al. 1990). More recently, and like other European countries, France faced new WNV episodes. A large equine outbreak occurred in 2000 in western Camargue (Durand et al. 2002), and serological evidence of virus circulation was reported in the bird surveillance network in 2001 and 2002 (Zeller and Schuffenecker 2004). In 2003, five human cases and an important WNV circulation in horse populations were reported (Del Giudice et al. 2004, Durand et al. 2005) from the Var department (Côte d'Azur region). Recent WNV transmission in dry areas inappropriate for development of *Cx. mod-*

estus suggests transmission cycles involving other vectors.

In this context, a research program was undertaken to study potential WNV vectors and improve knowledge of WNV transmission cycles in southern France. To be implicated as a vector, a mosquito species must satisfy specific requirements: a biology compatible with the required host-vector contact (e.g., adequate host preferences, activity during the period of virus circulation), a demonstrated laboratory vector competence, and virus isolation from field-collected individuals (Turell et al. 2002). To explore the first requirement, weekly host-baited collections were carried out from May to October 2004 by using bird- and horse-baited traps and human landing collections. Collections were performed in one wet and one dry site, both with past evidence of WNV transmission. Mosquito diversity and abundance were analyzed and compared for these two sites. The population dynamics and circadian biting activities of the most important species are discussed as well as the potential role of vectors based on host preference and relative abundance.

Materials and Methods

Collection Sites and Associated Environment. The Camargue region includes the Rhône River delta (called "Grande Camargue") and western areas of the delta, with southern wet areas and northern dry areas (Fig. 1). The wet areas of Camargue host large populations of migratory and resident birds and extensive breeding of cattle and horses. Human and horse WNV outbreaks occur both in wet areas and in bordering dryer areas. Study sites were therefore chosen in these two contrasted zones. One site was located at the biological station of the Tour du Valat in the delta area, and the other site was located in a riding center at Lunel-Viel in a bordering dry area (Fig. 1).

The ecological mosaic of the Rhône River delta results from the influence of the sea in the south and



Fig. 2. Mosquito collection methods: horse- and bird-baited traps and human landing.

agricultural activities in the north (Devaux 1978), leading to a south-north gradient of salinity (originating from the mixing of the tide water from the sea and the irrigation system of fresh water from the Rhône River). Localized in the center of the delta and east of the Vaccarès pond, the domain of the Tour du Valat includes a nature reserve (Hoffmann et al. 1968). The southern landscapes are under the influence of the saltwater and exclusively composed of associations of halophytic plants (locally called “sansouire”: *Arthrocnemum glaucum* Ungern-Sternberg, *Arthrocnemum perrine* (Miller), and *Salicornia herbacea* L.) and salt ponds (*Zostera noltii* (Horneman) and *Ruppia cirrhosa* [Petagna]). The network of southern salt ponds is connected with the sea during the winter, when pond levels are high, or during storm events. The tides are very low for the Mediterranean Sea (mean of 40 cm). The vegetation associated with fresh water is composed of reed marshes (*Phragmites australis* (Trin.), *Potamogeton pectinatus* L., and *Myriophyllum spicatum* L.), wet meadows (*Juncus maritimus* Lam., *Trifolium* species, and *Medicago* species), and riverine forest (*Populus alba* L., *Populus nigra* L., *Fraxinus angustifolia* Vahl, *Quercus pubescens* Willd., *Laurus nobilis* L., and *Tamarix gallica* L.). Rice fields and pastures are the third ecological complex of this area. In the delta, flood levels are conditioned by rainfall and artificial flooding through a complex network of canals maintained for human activities (cultivation, livestock productions, and hunting and fishing), colonized by reeds, and bordered by trees (*Tamarix gallica* and *Eleagnus angustifolia* L.). The extensive breeding of Camargue bulls in large marshes is an important part of agricultural activities in Camargue. The Camargue horse is essential for the “gardians” (local cow shepherds) to sort out herds of bulls and is one of the major folk symbols of Camargue.

In contrast, the Lunel-Viel village is situated in a dry area of the Camargue region (Dupias et al. 1966), where agricultural areas are composed mainly of vineyards, forage production, and fallow fields surrounded by Mediterranean vegetation (*Quercus ilex* L., *Pinus halepensis* Miller, and *Quercus pubescens*). The study site was located in a riding center near a small river,

partially drained at the end of the summer, and bordered by poplars (*P. alba*).

The sites under study were selected according to epidemiological considerations. After the WNV episode of 1962 (Panthier et al. 1968, Joubert et al. 1970), entomological WNV studies in the 1960s were carried out in the Tour du Valat area (Mouchet et al. 1970). The riding center of Lunel-Viel was chosen because a clinical infection in a resident horse was reported during the 2000 outbreak (Durand et al. 2002).

Meteorological Data. Temperature and rainfall data were obtained from the meteorological stations (Météo France) in the Tour du Valat domain and in the town of Vèrargues, situated at ≈ 3 km from the site of Lunel-Viel.

Mosquito Collections. Mosquito collections were carried out weekly from 10 May to 11 October 2004 at the Tour du Valat site and from 27 May to 14 October 2004 at the Lunel-Viel site by using horse- and bird-baited traps and human landing collections (Fig. 2). The animals used in baited traps were the same during all collections. We used an 11-yr-old Camargue gelding at the Tour du Valat site and a 14-yr-old “selle française” mare at the Lunel-Viel site. We used two 1-yr-old ducks of the “Mulard” breed at the Tour du Valat site and two 3-yr-old male ducks of the “Barbarie” breed at the Lunel-Viel site. Outside of the collection periods, the animals were maintained by their owners.

Horse-baited traps were net boxes (4 by 4 by 3 m), with a free space of ≈ 10 cm from the ground allowing mosquitoes to enter. The bird-baited traps were net and wood cages (0.5 by 0.5 by 0.7 m) with a gutter-shaped opening and a mosquito-collecting chamber at the top of the cage. The horse-baited traps were installed in an open area inside a forested area at the Tour du Valat site and in a pasture near the river at the Lunel-Viel site. At each site, two bird-baited traps with one duck per trap were suspended in a tree ≈ 1 and ≈ 8 m above the ground. Animal-baited traps were installed at noon and operated for 24 h. Mosquitoes were collected every 4 h (at 4, 8, 12, 16, 20, and 24 h) with a backpack aspirator (Modified CDC Backpack Aspirator model 1412, John W. Hock, Gainesville, FL)

in the horse-baited traps and with a hand aspirator (Aspirator, model 1135A, BioQuip, Gardena, CA) in the bird-baited traps. Mosquitoes landing on humans were collected with a hand aspirator by two collectors exposing their calves for 15 min every 4 h for 24 h starting at noon.

Collected mosquitoes were sorted by species (identified using morphological keys, Schaffner et al. 2001), by sex, by whether they were engorged or unengorged, and counted. Mosquitoes were frozen and stored at -20°C for further investigations.

Bloodmeal analysis was carried out on engorged female *Aedes*, *Anopheles*, and *Coquillettidia* collected in bird-baited traps to confirm the ability of these species to feed on bird. A direct enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) was used for bloodmeal identification, following the method described by Beier et al. (1988). All bloodmeals were tested with antisera (Sigma-Aldrich, Lyon, France) against human, bird, horse, and cattle, with positive and negative controls.

Results

Meteorological Data. In 2004, total rainfall was 476 mm at the Tour du Valat site and 585 mm at the Lunel-Viel site. During the collection period, rainfall was sporadic from May to July at both sites (Fig. 3). Total rainfall in August, September, and October was 8, 72, and 157 mm at the Tour du Valat site and 71, 88, and 92 mm at the Lunel-Viel site. In these areas, total annual rainfall usually ranges between 400 and 700 mm and is irregular, with important storms mainly at the end of summer (with up to 200 ml during a day).

The mean daily minimum and maximum temperatures were, at the Tour du Valat site, 10.8 and 20.4°C during the spring, 17.4 and 28.0°C during the summer, and 9.1 and 16.5°C during the fall and at the Lunel-Viel site, 9.5 and 22.4°C during the spring, 16.2 and 30.2°C during the summer, and 7.6 and 17.6°C during the fall. These values reflect a Mediterranean climate, characterized by warm and dry summer and mild and wet winter. In southern France, mean temperatures usually range between 0 and 10°C during winter and between 15 and 30°C during summer. The weekly temperature means were similar at both sites, but the minimum and the maximum temperature range was smaller at the Tour du Valat site, because of the influence of the sea. The Mediterranean Sea surface temperature lies between 10 and 15°C during the winter and 21 and 30°C during the summer.

Diversity. In total, 141,071 mosquitoes of 14 different species were collected (22 collection days) at the Tour du Valat site and 1,646 mosquitoes of nine species (21 collection days) at the Lunel-Viel site (Table 1).

At the Tour du Valat site, *Aedes caspius* (Pallas), *Aedes vexans* (Meigen), *Anopheles maculipennis* Meigen sensu lato, and to a lesser extent *Anopheles hyrcanus* (Pallas) sensu lato represented 98.8% of engorged females collected on the horse. The same species, except for *An. maculipennis*, represented 95.5% of females collected landing on human bait.

Cx. pipiens and *Cx. modestus* represented 97.3% of engorged females collected on birds. *Cx. modestus* fed mainly at ground level, and *Cx. pipiens* was found equally at ground and canopy levels.

At the Lunel-Viel site *Cx. pipiens*, *Ae. caspius*, and *Culiseta annulata* (Schrank) represented 95.4% of engorged females collected on the horse. Only 13 mosquitoes, mainly *Cx. pipiens* and *Cx. modestus*, were collected landing on human bait. *Cx. pipiens* was the only species collected on birds, mainly at the tree-top level.

Host Preferences. *Aedes caspius*, *Ae. vexans*, *An. maculipennis*, and *An. hyrcanus* exhibited a strong mammophilic feeding pattern. However, engorged specimens of all species except *An. maculipennis* also were collected in bird-baited traps in August and at the beginning of September when mosquito densities were peaking (Table 1). Seven (7/9) *Ae. caspius*, 10 (10/12) *Ae. vexans*, and one (1/2) *An. hyrcanus* collected engorged in the bird-baited traps were confirmed to contain avian blood. One *Ae. caspius* had engorged on cattle, one *Ae. vexans* on the horse, and the bloodmeal origin of the other three engorged females was not identified.

At the Tour du Valat site, *Cx. pipiens* was found essentially feeding on birds but also on the horse during September when mosquito densities were high. At the Lunel-Viel site, the feeding behavior of *Cx. pipiens* seemed different; indeed, this species was found to be more opportunistic, with significant numbers found in all traps. In both sites, captures of *Cx. pipiens* on human bait were infrequent. At the Tour du Valat site, *Cx. modestus* fed on birds and also on humans and horses. In contrast, at the Lunel-Viel site, the few individuals of *Cx. modestus* were collected landing on human bait.

Coquillettidia richiardii (Ficalbi) showed an interesting opportunistic feeding behavior with engorged females collected on all hosts (both *Cq. richiardii* collected on birds were confirmed by ELISA test to contain avian blood). Despite the very low densities observed in our survey, this species may be very abundant and even cause nuisance problems in some areas.

Relative Abundance. At the Tour du Valat site, *Ae. caspius* and *Ae. vexans* densities fluctuated with successive peaks of abundance during the capture season (Fig. 3). The peaks were at the end of June, at the end of July, and at the beginning of September, without any apparent relation with rainfall, except perhaps for the last peak of *Ae. caspius* (week 39). This pattern may be explained by artificial flooding of pastures and marshes during summer for agriculture and hunting activities. *An. maculipennis* and *An. hyrcanus* exhibited one peak of abundance at the end of August, after the dry summer (Fig. 3). During the dry summer, rice fields in late maturation may offer large breeding areas for *Anopheles* species. *Cx. pipiens* and *Cx. modestus* were present from July to September, with peak abundance during September (Fig. 3). Other less abundant species in horse collections, *Aedes detritus* (Haliday) sensu lato and *Cs. annulata*, were collected

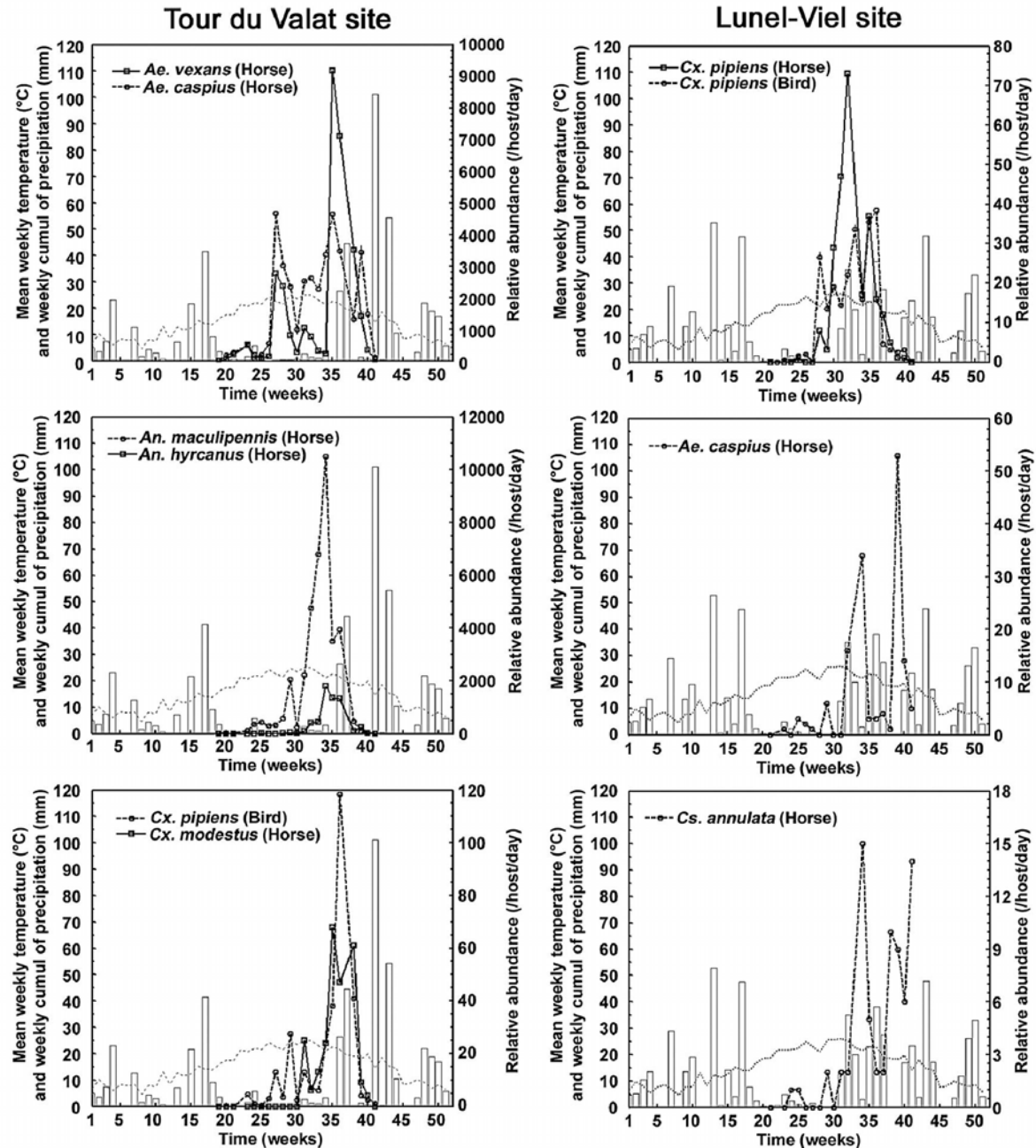


Fig. 3. Weekly relative abundance of dominant species, i.e., the number of engorged females collected during the 24 h of collection on one host (horse or bird: mean of the two traps), at each site (left, Tour du Valat site and right, Lunel-Viel site), plotted with the weekly rainfalls (histogram) and the weekly mean temperatures (dotted gray line).

regularly, with an increased abundance at the end of the capture period.

At the Lunel-Viel site, *Cx. pipiens* was present during July, August, and September, with a peak of abundance in horse collections during August (Fig. 3). *Ae. caspius* exhibited two successive peaks of abundance at the end of August and September (Fig. 3). *Cs. annulata* was captured mainly during the end of the capture period (Fig. 3).

Circadian Biting Activity. Between May and October, the collection interval 4–8 h included the sunrise and the dawn crepuscular period; the collection intervals 8–12, 12–16, and 16–20 h included only diurnal periods (except during October); the collection interval 20–24 h included the sunset and the evening crepuscular period (except during October); and the collection interval 0–4 h included only the nocturnal period (Fig. 4).

Table 1. Diversity and abundance of mosquito species in host-baited collections at the Tour du Valat and the Lunel-Viel sites from May to October, 2004

Host	Biological station of the Tour du Valat			Riding center of Lunel-Viel		
	Species	No. females (no. engorged)	No. males	Species	No. females (no. engorged)	No. males
Horse-baited	<i>Ae. caspius</i>	43,517 (39,347)	489	<i>Cx. pipiens</i>	583 (251)	39
	<i>Ae. vexans</i>	40,744 (34,897)	1,999	<i>Ae. caspius</i>	165 (159)	0
	<i>An. maculipennis</i> s.l.	40,531 (38,000)	32	<i>Cs. annulata</i>	78 (72)	0
	<i>An. hyrcanus</i> s.l.	6,663 (5,881)	1	<i>An. maculipennis</i> s.l.	16 (15)	0
	<i>Ae. detritus</i> s.l.	566 (493)	2	<i>An. plumbeus</i>	8 (7)	0
	<i>Cx. modestus</i>	397 (318)	27	<i>Cs. longiareolata</i>	2 (0)	0
	<i>Cs. annulata</i>	361 (326)	0	<i>Ae. detritus</i> s.l.	1 (1)	0
	<i>Cx. pipiens</i>	170 (90)	26			
	<i>Cq. richiardii</i>	42 (40)	0			
	<i>Aedes</i> species ^a	26 (26)	0			
	<i>Culiseta subochrea</i> (Edwards)	22 (18)	0			
	<i>An. plumbeus</i>	12 (7)	0			
	<i>Ae. geniculatus</i>	11 (9)	1			
	<i>Aedes annulipes</i> (Meigen)	3 (2)	0			
	<i>Cx. theileri</i>	3 (3)	0			
Bird-baited (≈1 m)	<i>Cx. pipiens</i>	695 (419)		<i>Cx. pipiens</i>	197 (131)	
	<i>Cx. modestus</i>	134 (104)				
	<i>Ae. caspius</i>	23 (8)	2			
	<i>Ae. vexans</i>	24 (11)				
	<i>An. hyrcanus</i> s.l.	7 (1)				
Bird-baited (≈8 m)	<i>Cq. richiardii</i>	2 (2)				
	<i>Cx. pipiens</i>	658 (360)		<i>Cx. pipiens</i>	544 (341)	
	<i>Cx. modestus</i>	34 (29)				
	<i>Ae. caspius</i>	11 (1)				
	<i>Ae. vexans</i>	7 (1)				
	<i>An. hyrcanus</i>	1 (1)				
	<i>Cq. richiardii</i>	1 (0)				
	<i>Aedes. species</i>	1 (0)				
Human-baited ^c	<i>Ae. caspius</i>	2,055 ^b	1	<i>Cx. modestus</i>	6	
	<i>Ae. vexans</i>	1,354		<i>Cx. pipiens</i>	4	
	<i>An. hyrcanus</i> s.l.	244		<i>Ae. geniculatus</i>	2	
	<i>Cx. modestus</i>	75		<i>Ae. caspius</i>	1	
	<i>Ae. detritus</i> s.l.	62				
	<i>An. maculipennis</i> s.l.	13				
	<i>An. plumbeus</i>	12				
	<i>Cx. pipiens</i>	5				
	<i>Cq. richiardii</i>	3				
	<i>Ae. geniculatus</i>	1				
	<i>Cs. annulata</i>	1				

^a Damaged specimens of *Aedes* genus for which identification was not possible.^b As soon as possible, females are collected before biting. All females (engorged and unengorged) are considered as aggressive females, thus number of engorged females is not noticed.^c As soon as possible, two captors were present for human landing collections.

The biting activity of *Ae. caspius* was clearly diurnal during May, when 88% of engorged females were collected on the horse between 8 and 20 h, with a peak between 12 and 16 h (Fig. 4). After May, engorged *Ae. caspius* were collected on the horse also during the night. However, the minimum number of engorged females was always collected during the interval 0–4 h, representing diurnal activity. The activity of *Ae. vexans* was also diurnal: during all collections, 67% of engorged *Ae. vexans* were collected on the horse between 8 and 20 h. The maximum number of engorged females was always collected between 12 and 16 h and the minimum between 0 and 4 h (Fig. 4).

In contrast, during all collections 85% of engorged *An. maculipennis* and 90% of engorged *An. hyrcanus* were collected on the horse between 20 and 8 h. Engorged *An. maculipennis* were collected during the beginning (20–24 h) and the end (4–8 h) of the night in May, June, September, and October and throughout the night in July and August (Fig. 4), when nighttime

temperatures were warmer (>17°C). The biting activity of *An. hyrcanus* started after midnight in July and August and just after sunset (20 h) in September (Fig. 4).

Cx. pipiens exhibited a nocturnal biting activity: during all collections, 96% of engorged females were collected on birds between 20 and 8 h, essentially after midnight (Fig. 4). During the study period, 67% of engorged *Cx. modestus* were collected on birds between 20 and 8 h, with minimum activity at midday (Fig. 4). Surprisingly, 58% of engorged *Cx. modestus* were collected on the horse between 8 and 20 h, with maximum biting activity at midday (35% between 12 and 16 h) and minimum biting activity at midnight (9% between 0 and 4 h).

Discussion

In the current study, 15 of the 24 mosquito species found in Camargue by previous authors (Rioux and Arnold 1955) were collected with horse- and bird-

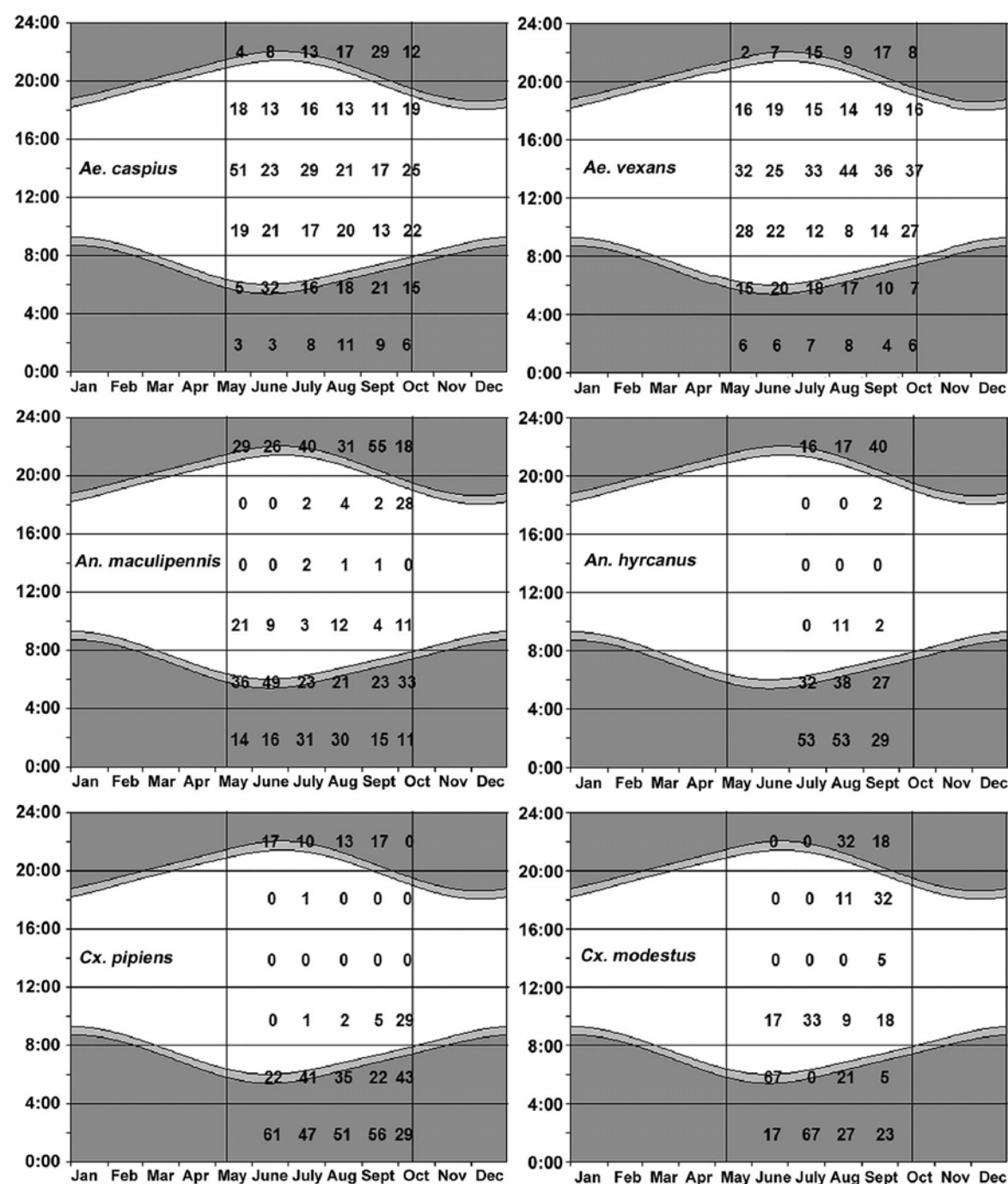


Fig. 4. Monthly percentage of engorged females collected on a given host (in bird-baited traps for *Culex* species; in horse-baited trap for other species) during each collection interval. Time of sunrise and sunset, duration of the day (white), of the night (dark gray), and of the crepuscular period (clear gray) is plotted in background. In each capture month (May to October), the total number of engorged females collected was 265, 1,290, 10,807, 15,395, 8,218, and 1,582 *Ae. caspius*; 191, 901, 6,173, 11,505, 12,022, and 375 *Ae. vexans*; 14, 1,205, 3,175, 27,772, 4,494, and 76 *An. maculipennis*; 0, 3, 38, 4,101, 1,640, and 4 *An. hyrcanus*; 0, 18, 93, 176, 327, and 7 *Cx. pipiens*, and 0, 6, 3, 66, 44, and 0 *Cx. modestus*.

baited traps and human landing collections in the two different ecological sites. The Tour du Valat site produced the greatest diversity with 14 species and the Lunel-Viel site yielded nine species, including two

specimens of *Culiseta longiareolata* (Macquart) collected only at this site. At the Tour du Valat site as well as in all wet areas of Camargue, abundant ponds, marshes, flooded meadows, and rice cultures produce

numerous breeding sites. In contrast, in the dry site of Lunel-Viel, breeding sites were almost restricted to artificial breeding containers (as automatic waterers), where larvae of *Cx. pipiens* and *Cs. annulata* were regularly found during our survey. Because of its great dispersal ability, *Ae. caspius* was found in very low densities at the Lunel-Viel site, probably dispersing from littoral breeding sites. Such small densities may result from insecticide spraying against *Ae. caspius* and *Ae. detritus* larvae as carried out routinely in tourist visited littoral areas by the mosquito control agency (Entente Interdépartementale pour la Démoustication du littoral méditerranéen). No spraying activities are carried out in the delta of the Rhône River, including the Tour du Valat site.

The host preferences described in our study are in agreement with the previous descriptions (Rioux 1958), except for the *Culiseta* species that usually are described as bird feeders (Rioux and Arnold 1955, Medlock et al. 2005). Numbers of bites received by a host in a baited-trap may differ from those received in natural conditions, and estimation of the latter is difficult. One expects that an animal-baited trap allowing blood feeding would attract more mosquitoes than a trap that prevents them from feeding on the host (Service 1993). Thus, our results from animal-baited traps allowing blood feeding may overestimate the number of bites received by a host in natural conditions. The finding of engorged mosquitoes with mammal blood in bird-baited traps suggests the need for caution when interpreting collections for animal-baited traps.

In the wet areas of Camargue, the peaks of abundance of the main species were driven mostly by artificial flooding for human activities (cultivation, hunting and fishing) rather than rainfall. Consequently, only the understanding of the complex system of artificial flooding in the delta could explain the dynamics of the different species, especially *Aedes* species. In dry areas of Camargue, the persistence of *Cx. pipiens* throughout the season could be explained by the presence of permanent artificial breeding sites, such as automatic waterers and containers.

Knowledge of the circadian rhythms of mosquito vectors is important to determine the period of contact between hosts and vectors. At the Tour du Valat site, during periods of high mosquito density, collection of all mosquitoes in the horse-baited trap was difficult, in particular during the night (because up to 11,300 individuals were collected in one visit). This difficulty may explain residual activity of some nocturnal species in the morning. Moreover, in temperate regions, the use of constant collection intervals during a long period limits the study's sensitivity to circadian rhythms. Nevertheless, the rhythms observed are in agreement with previous descriptions (Rioux 1958) for the different species. Patterns of mosquito activity are related to the natural daily cycle of light and dark and can fluctuate according to the season (Clements 1999) or daily, for example, under the influence of the temperature or moonlight. *Cx. modestus* was found by Mouchet et al. (1970) to be active throughout the diel,

except in the middle of the day in summer and except during the night in fall.

During the 2004 summer, seroconversions of sentinel birds, including at the Tour du Valat site, and an outbreak of 30 confirmed equine cases (including one in the town of Lunel situated very close to Lunel-Viel), showed that WNV circulated close to our study sites (Languille et al. 2005), during the period of mosquito collections.

During past WNV outbreaks in France, seroconversions of sentinel birds and/or equine clinical cases were reported for August, September, and the beginning of October (Joubert et al. 1970, Durand et al. 2002, Del Giudice et al. 2004, Durand et al. 2005, Languille et al. 2005). The period of viral circulation usually spans weeks 30–40, when the most abundant mosquito species collected in our survey are at their peak. *Ae. caspius* and *Ae. vexans* were present in great numbers at the Tour du Valat site during September and could be involved as “bridge” vectors in equine outbreaks in wet area of Camargue. Dispersing from wet areas, *Ae. caspius* may export the virus into dry neighboring zones. *Ae. caspius* infected by intrathoracic inoculation can transmit experimentally WNV (Akhter et al. 1982). Field-collected individuals of *Ae. vexans* have been found positive for WNV in United States (Bernard et al. 2001), where its laboratory vector competence was established (Turell et al. 2000, Sardelis et al. 2001, Goddard et al. 2002). *An. maculipennis* and *An. hyrcanus* peaked at the end of August and then quickly declined during the beginning of September, whereas maximum equine infections were reported during September. *An. hyrcanus* was found engorged on birds, but to our knowledge, this species has never been implicated in WNV transmission. No *An. maculipennis* were collected in bird-baited traps; however, WNV was isolated from field collected individuals of this species in Portugal (Filipe 1972). The number of *Culex* mosquitoes increased progressively during the summer, with a peak in September when the number of WNV clinical cases was greatest. Both *Culex* species have been involved in WNV transmission: *Cx. modestus* in France (Mouchet et al. 1970) and *Cx. pipiens* in Israel (Goldblum et al. 1954), Romania (Savage et al. 1999), and the United States (Bernard et al. 2001). These two species are strongly ornithophilic and good enzootic vector candidates in wet areas of Camargue. However, only *Cx. pipiens* seems able to play this role in the dry zones. *Cx. modestus* aggressively fed on people and horses and is a “bridge” vector candidate in wet areas of Camargue. *Cx. pipiens* (more ornithophilic than *Cx. modestus*) also fed on horses and acts as a “bridge” vector according to some authors (Kilpatrick et al. 2005).

However, the case of *Cx. pipiens* is complicated by the fact that the *Cx. pipiens* taxon is divided in two forms in Europe: the *pipiens* form, described as anautogenous, eurygamous and mainly ornithophilic and the *modestus* form, described as autogenous, stenogamous, and strongly anthropophilic (Vinogradova 2000). Behavioral and physiological differences between the two forms are considered as rapid ecolog-

ical adaptations of the form *pipiens* to rural open air (anautochthonous) and of the form *molestus* to urban hypogaeous (autochthonous) breeding sites (Rioux 1958, Barr 1981, Harbach et al. 1984). However, the existence of two species is still debated (Fonseca et al. 2004). At both capture sites, *Cx. pipiens* individuals develop in open air habitats and belong to the *pipiens* form. Stenogamous and completely anautochthonous populations breeding in open air sites were described in southern France with anthropophilic (Rioux et al. 1965) or ornithophilic (Pasteur et al. 1977) preferences. Physicochemical characteristics (especially degree of organic pollution) of breeding sites were found associated with the degree of mammophilic of *Cx. pipiens* populations in southern France (Gabinaud et al. 1985). In both sites, only nine *Cx. pipiens* were collected landing on human bait. A better knowledge of the distribution, dynamics, and host preferences of *Cx. pipiens* is an important point to better understand its potential role in WNV transmission in France.

Among other lower densities species collected in our survey, vector competence was established for *Cs. longiareolata* in Egypt (Hurlbut 1956), *Aedes geniculatus* (Olivier) and *Anopheles plumbeus* Stephens in France (Vermeil et al. 1960), and *Culex theileri* Theobald in South Africa (Jupp et al. 1966). WNV was found in field collected individuals of *Cx. theileri* (McIntosh et al. 1967) and *Cq. richiardii* (Bashkirtsev et al. 1969).

These host-baited collections established the abundance and tendencies of bird-, horse-, and human-feeding species in two sites of Camargue during a WNV epizootic. The next requirement to confirm these mosquito species as WNV vectors is to conduct vector competence tests.

Acknowledgments

We thank O. Pineau, M. Gauthier-Clerc, and the staff of the Station Biologique de la Tour du Valat for logistic help and scientific collaboration; B. Cotton and M. Deydier for loaning the horse and ducks; and M. Leduc, M. Chanteau, and C. Rotela for help in mosquito collections. We thank F. Schaffner, C. Lagneau, and the staff of the Entente Interdépartementale pour la Démoustication du littoral méditerranéen for logistic and technical support and scientific collaboration; D. Fontenille, N. Ponçon, and the staff of the Laboratoire de lutte contre les Insectes Nuisibles (Institut de Recherche pour le Développement) for bloodmeal analyses; and H. Zeller of the Centre National de Référence des Arboviroses et Fièvres Hémorragiques (Institut Pasteur) for scientific collaboration. We thank P. M. Bouquet, Ecole Nationale Supérieure d'Agronomie (ENSA-Montpellier) in Salon de Provence, and staff for logistic help and M. Bocoz and M. Jouan of the Institut Pasteur for supporting this research project. The ethical committee of the Ecole Nationale Vétérinaire de Lyon gave approval for this protocol (decision 04/14) and for all mosquito collection methodologies included in this study. Informed consent of collectors participating to the human landing collections was obtained.

References Cited

- Akhter, R., C. G. Hayes, S. Baqar, and W. K. Reisen. 1982. West Nile virus in Pakistan. III. Comparative vector capability of *Culex tritaeniorhynchus* and eight other species of mosquitoes. *Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.* 76: 449–453.
- Autorino, G. L., A. Battisti, V. Deubel, G. Ferrari, R. Forletta, A. Giovannini, R. Lelli, S. Murri, and M. T. Scicluna. 2002. West Nile virus epidemic in horses, Tuscany region, Italy. *Emerg. Infect. Dis.* 8: 1372–1378.
- Barr, A. R. 1981. The *Culex pipiens* Complex, pp. 123–136. In R. Pal, J. B. Kitzmiller, and T. Kanda [eds.], *Cytogenetics and genetics of vectors*. Elsevier Biomedical Press, Tokyo, Japan.
- Bashkirtsev, V. N., M. P. Chumakov, V. V. Berezin, A. M. Butenko, T. I. Zavadova, and D. N. Stolbov. 1969. Isolation of new strains of West Nile virus in Astrakhan region, p. 182. In V Symposium of the study of role of migrating birds in distribution of arboviruses, 20–27 July 1969, Novosibirsk, Siberia.
- Beier, J. C., P. V. Perkins, R. A. Wirtz, J. Koros, D. Diggs, T. P. Gargan, 2nd, and D. K. Koech. 1988. Bloodmeal identification by direct enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA), tested on *Anopheles* (Diptera: Culicidae) in Kenya. *J. Med. Entomol.* 25: 9–16.
- Bernard, K. A., J. G. Maffei, S. A. Jones, E. B. Kauffman, G. Ebel, A. P. Dupuis, 2nd, K. A. Ngo, D. C. Nicholas, D. M. Young, P. Y. Shi, et al. . 2001. West Nile virus infection in birds and mosquitoes, New York State, 2000. *Emerg. Infect. Dis.* 7: 679–685.
- Bernkopf, H., S. Levine, and R. Nerson. 1953. Isolation of West Nile virus in Israel. *J. Infect. Dis.* 93: 207–218.
- Clements, A. N. 1999. Adult circadian rhythms, pp. 206–238. In A. N. Clements [ed.], *The biology of mosquitoes*. Vol. 2. Sensory reception and behaviour. CABI Publishing, London, United Kingdom.
- Del Giudice, P., I. Schuffenecker, F. Vandenbos, E. Counillon, and H. Zeller. 2004. Human West Nile virus, France. *Emerg. Infect. Dis.* 10: 1885–1886.
- Devaux, J. P. 1978. Notice explicative de la carte phytosociologique de la Camargue au 1/50000e. *Biol. Écol. Méditerran.* 5: 159–196.
- Dupias, G., R. Molinier, J. J. Corre, and L. Trabaud. 1966. Carte de végétation de la France N°73 Montpellier. Centre National de la Recherche Scientifique, Toulouse, France.
- Dupuis, A. P., P. P. Marra, and L. D. Kramer. 2003. Serologic evidence of West Nile virus transmission, Jamaica, West Indies. *Emerg. Infect. Dis.* 9: 860–863.
- Durand, B., G. Dauphin, J. Labie, H. Zeller, and S. Zientara. 2005. Résultats d'une enquête sérologique sur l'infection à virus West Nile chez les équidés dans le Var, en 2003. *Environ. Risques Santé.* 4: 114–118.
- Durand, B., V. Chevalier, R. Pouillot, J. Labie, I. Marendat, B. Murgue, H. Zeller, and S. Zientara. 2002. West Nile virus outbreak in horses, southern France, 2000: results of a serosurvey. *Emerg. Infect. Dis.* 8: 777–782.
- Estrada-Franco, J. G., R. Navarro-Lopez, D. W. Beasley, L. Coffey, A. S. Carrara, A. Travassos da Rosa, T. Clements, E. Wang, G. V. Ludwig, A. C. Cortes, et al. 2003. West Nile virus in Mexico: evidence of widespread circulation since July 2002. *Emerg. Infect. Dis.* 9: 1604–1607.
- Filipe, A. R. 1972. Isolation in Portugal of West Nile virus from *Anopheles maculipennis* mosquitoes. *Acta Virol.* 16: 361.
- Fonseca, D. M., N. Keyghobadi, C. A. Malcolm, C. Mehmet, F. Schaffner, M. Mogi, R. C. Fleischer, and R. C. Wilk-

- erson. 2004. Emerging vectors in the *Culex pipiens* complex. *Science* (Wash., DC) 303: 1535–1538.
- Gabinaud, A., G. Vigo, J. Cousserans, M. Roux, N. Pasteur, and H. Croset. 1985. La mammophilie des populations de *Culex pipiens pipiens* L., 1758 dans le Sud de la France; variations de ce caractère en fonction de la nature des biotopes de développement larvaire, des caractéristiques physico-chimiques de leurs eaux et des saisons. Conséquences pratiques et théoriques. *Cah. ORSTOM, sér. Entomol. méd. et Parasitol.* 23: 123–132.
- Gancz, A. Y., I. K. Barker, R. Lindsay, A. Dibernardo, K. McKeever, and B. Hunter. 2004. West Nile virus outbreak in North American owls, Ontario, 2002. *Emerg. Infect. Dis.* 10: 2135–2142.
- Garmendia, A. E., H. J. Van Kruiningen, and R. A. French. 2001. The West Nile virus: its recent emergence in North America. *Microbes Infect.* 3: 223–229.
- Giladi, M., E. Metzkor-Cotter, D. A. Martin, Y. Siegman-Igra, A. D. Korczyn, R. Rosso, S. A. Berger, G. L. Campbell, and R. S. Lanciotti. 2001. West Nile encephalitis in Israel, 1999: the New York connection. *Emerg. Infect. Dis.* 7: 659–661.
- Goddard, L. B., A. E. Roth, W. K. Reisen, and T. W. Scott. 2002. Vector competence of California mosquitoes for West Nile virus. *Emerg. Infect. Dis.* 8: 1385–1391.
- Goldblum, N., V. V. Sterk, and B. Paderski. 1954. West Nile fever; the clinical features of the disease and the isolation of West Nile virus from the blood of nine human cases. *Am. J. Hyg.* 59: 89–103.
- Hannoun, C., R. Panthier, J. Mouchet, and J. P. Eouzan. 1964. Isolement en France du virus West-Nile à partir de malades et du vecteur *Culex modestus* Ficalbi. *C.R. Acad. Sci. Paris Sér. D.* 259: 4170–4172.
- Harbach, R. E., B. A. Harrison, and A. M. Gad. 1984. *Culex (Culex) molestus* Forskal (Diptera: Culicidae): neotype designation, description, variation, and taxonomic status. *Proc. Entomol. Soc. Wash.* 86: 521–542.
- Hayes, E. B., N. Komar, R. S. Nasci, S. P. Montgomery, D. R. O'Leary, and G. L. Campbell. 2005. Epidemiology and transmission dynamics of West Nile virus disease. *Emerg. Infect. Dis.* 11: 1167–1173.
- Hoffmann, L., J. Mouchet, J. Rageau, C. Hannoun, L. Joubert, J. Oudar, and D. Beytout. 1968. Epidémiologie du virus West Nile: étude d'un foyer en Camargue II. Esquisse en milieu physique, biologique et humain. *Ann. Inst. Pasteur (Paris)* 114: 521–538.
- Hurlbut, H. S. 1956. West Nile virus infection in arthropods. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 5: 76–85.
- Joubert, L. 1975. L'arbovirose West Nile, zoonose du midi méditerranéen de la France. *Bull. Acad. Nat. Med.* 159: 499–503.
- Joubert, L., J. Oudar, C. Hannoun, D. Beytout, B. Corniou, J. C. Guillon, and R. Panthier. 1970. Epidémiologie du virus West Nile: étude d'un foyer en Camargue. IV. La méningo-encéphalomyélite du cheval. *Ann. Inst. Pasteur (Paris)* 118: 239–247.
- Jupp, P. G., B. M. McIntosh, and R. G. Brown. 1966. Laboratory transmission experiments with West Nile and Sindbis viruses and *Culex (Culex) theileri* Theobald. *S. Afr. J. Med. Sci.* 31: 95–97.
- Kilpatrick, A. M., L. D. Kramer, S. R. Campbell, E. O. Alleyne, A. P. Dobson, and P. Daszak. 2005. West Nile virus risk assessment and the bridge vector paradigm. *Emerg. Infect. Dis.* 11: 425–429.
- Komar, O., M. B. Robbins, K. Klenk, B. J. Blitvich, N. L. Marlenee, K. L. Burkhalter, D. J. Gubler, G. Gonzalez, C. J. Pena, A. T. Peterson, et al. 2003. West Nile virus transmission in resident birds, Dominican Republic. *Emerg. Infect. Dis.* 9: 1299–1302.
- Lanciotti, R. S., J. T. Roehrig, V. Deubel, J. Smith, M. Parker, K. Steele, B. Crise, K. E. Volpe, M. B. Crabtree, J. H. Scherret, et al. 1999. Origin of the West Nile virus responsible for an outbreak of encephalitis in the north-eastern United States. *Science* (Wash., DC) 286: 2333–2337.
- Languille, J., S. Zientara, H. Zeller, P. Hendriks, A. Armengaud, and J. Hars. 2005. Bilan de la surveillance West Nile en France en 2004. *Bull. Epidémiol.* 17: 3–4.
- Le Guenno, B., A. Bougermouh, T. Azzam, and R. Bouakaz. 1996. West Nile: a deadly virus? *Lancet* 348: 1315.
- Le Lay-Rogues, G., C. P. Arthur, P. Vanderwalle, E. Hardy, and C. Chastel. 1990. Lapin de Garenne, *Oryctolagus cuniculus* L. et arbovirus dans le sud-est de la France. Résultats de deux enquêtes sérologiques. *Bull. Soc. Pathol. Exot.* 83: 446–457.
- Malkinson, M., C. Banet, Y. Weisman, S. Pokamunski, R. King, M. T. Drouet, and V. Deubel. 2002. Introduction of West Nile virus in the Middle East by migrating white storks. *Emerg. Infect. Dis.* 8: 392–397.
- McIntosh, B. M., P. G. Jupp, D. B. Dickinson, G. M. McGilivray, and J. Sweetnam. 1967. Ecological studies on Sindbis and West Nile viruses in South Africa. I. Viral activity as revealed by infection of mosquitoes and sentinel fowls. *S. Afr. J. Med. Sci.* 32: 1–14.
- Medlock, J. M., K. R. Snow, and S. Leach. 2005. Potential transmission of West Nile virus in the British Isles: an ecological review of candidate mosquito bridge vectors. *Med. Vet. Entomol.* 19: 2–21.
- Melnick, J. L., J. R. Paul, J. T. Riordan, V. H. Barnett, N. Goldblum, and E. Zabin. 1951. Isolation from human sera in Egypt of a virus apparently identical to West Nile virus. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* 77: 661–665.
- Mouchet, J., J. Rageau, C. Laumond, C. Hannoun, D. Beytout, J. Oudar, B. Corniou, and A. Chippaux. 1970. Epidémiologie du virus West Nile: étude d'un foyer en Camargue V. Le vecteur: *Culex modestus* Ficalbi (Diptera: Culicidae). *Ann. Inst. Pasteur (Paris)* 118: 839–855.
- Murgue, B., H. Zeller, and V. Deubel. 2002. The ecology and epidemiology of West Nile virus in Africa, Europe and Asia. *Curr. Top. Microbiol. Immunol.* 267: 195–221.
- Murgue, B., S. Murri, S. Zientara, B. Durand, J. P. Durand, and H. Zeller. 2001. West Nile outbreak in horses in southern France, 2000: the return after 35 years. *Emerg. Infect. Dis.* 7: 692–696.
- Panthier, R. 1968. Epidémiologie du virus West Nile: étude d'un foyer en Camargue. I. Introduction. *Ann. Inst. Pasteur (Paris)* 114: 518–520.
- Panthier, R., C. Hannoun, J. Oudar, D. Beytout, B. Corniou, L. Joubert, J. C. Guillon, and J. Mouchet. 1966. Isolement du virus West Nile chez un cheval camarguais atteint d'encéphalomyélite. *C. R. Acad. Sci. Paris* 262: 1308–1310.
- Panthier, R., C. Hannoun, D. Beytout, and J. Mouchet. 1968. Epidémiologie du virus West Nile: étude d'un foyer en Camargue. III. Les maladies humaines. *Ann. Inst. Pasteur (Paris)* 115: 435–445.
- Pasteur, N., J. A. Rioux, E. Guilvard, and J. Pech-Perieres. 1977. Nouvelle mention, pour le "Midi" méditerranéen, de populations naturelles anautogènes et sténogames de *Culex pipiens pipiens* L. *Ann. Parasitol. Hum. Comp.* 52: 205–210.
- Philip, C. B., and J. E. Smaedel. 1943. Transmission of West Nile virus by infected *Aedes albopictus*. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* 48: 537–548.

- Platonov, A. E., G. A. Shipulin, O. Y. Shipulina, E. N. Tyutyunnik, T. I. Frolochkina, R. S. Lanciotti, S. Yazyshina, O. V. Platonova, I. L. Obukhov, A. N. Zhukov, et al. 2001. Outbreak of West Nile virus infection, Volgograd Region, Russia, 1999. *Emerg. Infect. Dis.* 7: 128–132.
- Quirin, R., M. Salas, S. Zientara, H. Zeller, J. Labie, S. Murri, T. Lefrancois, M. Petittler, and D. Martinez. 2004. West Nile virus, Guadeloupe. *Emerg. Infect. Dis.* 10: 706–708.
- Rioux, J. A. 1958. Les Culicidés du "Midi méditerranéen". Etude systématique et écologique. Editions Paul Lechevalier, Paris, France.
- Rioux, J. A., and M. Arnold. 1955. Les Culicidés de Camargue (étude systématique et écologique). Société Nationale d'Acclimatation, Paris, France.
- Rioux, J. A., H. Croset, G. Gras, B. Juminer, and G. Tesson. 1965. Les problèmes théoriques et pratiques posés par la lutte contre *Culex pipiens* L. dans le sud de la France. *Arch. Inst. Pasteur Tunis* 42: 473–500.
- Rollin, P. E., D. Rollin, P. Martin, R. Baylet, F. Rodhain, and C. Hannoun. 1982. Résultats d'enquêtes séroépidémiologiques récentes sur les arboviroses en Camargue: populations humaines, équine, bovine et aviaires. *Médecine et Maladies Infectieuses* 12: 77–80.
- Sardelis, M. R., M. J. Turell, D. J. Dohm, and M. L. O'Guinn. 2001. Vector competence of selected North American *Culex* and *Coquillettidia* mosquitoes for West Nile virus. *Emerg. Infect. Dis.* 7: 1018–1022.
- Savage, H. M., C. Ceianu, G. Nicolescu, N. Karabatsos, R. Lanciotti, A. Vladimirescu, L. Laiv, A. Ungureanu, C. Romanca, and T. F. Tsai. 1999. Entomologic and avian investigations of an epidemic of West Nile fever in Romania in 1996, with serologic and molecular characterization of a virus isolate from mosquitoes. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 61: 600–611.
- Schaffner, F., G. Angel, B. Geoffroy, J. P. Hervy, A. Rhaïem, and J. Brunhes. 2001. The mosquitoes of Europe. Identification and training program. IRD Editions, Montpellier, France.
- Schuffenecker, I., C. N. Peyrefitte, M. el Harrak, S. Murri, A. Leblond, and H. G. Zeller. 2005. West Nile virus in Morocco, 2003. *Emerg. Infect. Dis.* 11: 306–309.
- Service, W. 1993. Sampling adults by animal bait catches and by animal-baited traps, pp. 349–498. In W. Service [ed.], *Mosquito ecology: field sampling methods*. Chapman & Hall, London, United Kingdom.
- Smithburn, K. C., T. P. Hughes, A. W. Burke, and J. H. Paul. 1940. A neurotropic virus isolated from the blood of a native of Uganda. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 20: 471–492.
- Southam, C. M., and A. E. Moore. 1954. Induced virus infections in man by the Egypt isolates of West Nile virus. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 3: 19–50.
- Taylor, R. M., T. H. Work, H. S. Hurlbut, and F. Rizk. 1956. A study of the ecology of West Nile virus in Egypt. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 5: 579–620.
- Tber Abdelhaq, A. 1996. West Nile fever in horses in Morocco. *Bull. OIE* 11: 867–869.
- Triki, H., S. Murri, B. Le Guenno, O. Bahri, K. Hili, M. Sidhom, and K. Dellagi. 2001. Meningo-encéphalite à arbovirus West Nile en Tunisie. *Med. Trop.* 61: 487–490.
- Turell, M. J., M. O'Guinn, and J. Oliver. 2000. Potential for New York mosquitoes to transmit West Nile virus. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 62: 413–414.
- Turell, M. J., M. R. Sardelis, M. L. O'Guinn, and D. J. Dohm. 2002. Potential vectors of West Nile virus in North America. *Curr. Top. Microbiol. Immunol.* 267: 241–252.
- Vermeil, C., J. Lavillaureix, and E. Reeb. 1960. Sur la conservation et la transmission du virus West Nile virus par quelques arthropodes. *Bull. Soc. Pathol. Exot.* 53: 273–279.
- Vinogradova, E. B. 2000. *Culex pipiens pipiens* mosquitoes: taxonomy, distribution, ecology, physiology, genetics, applied importance and control. PENSOFT Publishers, Sofia-Moscow, Russia.
- Weinberger, M., S. D. Pitlik, D. Gandacu, R. Lang, F. Nassar, D. Ben David, E. Rubinstein, A. Izthaki, J. Mishal, R. Kitzes, et al. 2001. West Nile fever outbreak, Israel, 2000: epidemiologic aspects. *Emerg. Infect. Dis.* 7: 686–691.
- Zeller, H. G., and I. Schuffenecker. 2004. West Nile virus: an overview of its spread in Europe and the Mediterranean basin in contrast to its spread in the Americas. *Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis.* 23: 147–156.

Received 30 September 2005; accepted 28 March 2006.

Résultats complémentaires : identification des anophèles du complexe *Maculipennis*.

Anopheles maculipennis Meigen sensu lato appartient aux trois espèces les plus agressives pour un cheval en zone humide (jusqu'à 10 000 piqûres par cheval et par jour). Quelques individus ont aussi été capturés sur homme à la Tour du Valat et sur cheval à Lunel-Viel. Ce complexe regroupe huit espèces présentes en Europe (Schaffner *et al.* 2001), parmi lesquelles *Anopheles atroparvus* Van Thiel était considérée comme le principal vecteur de paludisme en Europe de l'Ouest (Rioux 1958).

Les espèces du complexe *Maculipennis* ne sont vraisemblablement pas candidates à la transmission du virus *West Nile*. Aucune espèce d'anophèle n'a été clairement impliquée dans la transmission du virus et *An. maculipennis* s.l. ne se gorge pas sur oiseau (Balenghien *et al.*

2006 ; Ponçon *et al.* submitted). À notre connaissance, seule *Anopheles plumbeus* Stephens a été testée et s'est révélée compétente expérimentalement (Vermeil *et al.* 1960). De plus, même si le virus *West Nile* a été isolé de lots de femelles *An. maculipennis* s.l. au Portugal, ces lots contenaient des femelles fraîchement gorgées (Filipe 1972). Cependant, il nous est apparu intéressant de déterminer les espèces capturées.

Un échantillon des femelles d'*An. maculipennis* s.l. capturées en 2004 sur chaque hôte et chaque site a été sélectionné, soit au total 97 femelles capturées sur cheval et 6 sur homme à la Tour du Valat et 11 sur cheval à Lunel-Viel. Les individus ont été testés par PCR au Laboratoire de lutte contre les insectes nuisibles (LIN, IRD-Montpellier) pour déterminer à quelle espèce ils appartiennent (Proft *et al.* 1999).

Les résultats sont présentés tableau 1.

Tableau 1 : Identification des espèces du complexe Maculipennis capturées.

Espèce	Tour du Valat		Lunel-Viel
	Cheval (%)	Homme (%)	Cheval (%)
<i>Anopheles melanoon</i> Hackett	91 (93,8)	5 (83,3)	3 (27,3)
<i>Anopheles atroparvus</i> Van Thiel	4 (4,3)	1 (16,7)	0
<i>Anopheles maculipennis</i> Meigen sensu stricto	0	0	6 (54,4)
Non identifié	2 (2,1)	0	2 (18,2)
Total	97	6	11

À la Tour du Valat, le nombre important de femelles du complexe Maculipennis capturées sur cheval (43 517) contraste avec celui des femelles capturées sur homme (13). La majorité appartenant à *An. melanoon*, cela confirme la zoophilie quasi stricte de cette espèce et son abondance en Camargue, déjà décrite par Rioux (1958). Les nombres de moustiques capturés sur homme sont trop faibles pour mettre en évidence l'anthropophilie d'*An. atroparvus* classiquement décrite (Schaffner *et al.* 2001). Cette espèce semble beaucoup plus rare à la Tour du Valat qu'*An. melanoon*, comme dans d'autres sites de Camargue (Ponçon *et al.* submitted).

Anopheles maculipennis s.s. est retrouvée uniquement à Lunel-Viel. Cette espèce est associée à des gîtes d'eau douce (Schaffner *et al.* 2001). Des larves d'*An. maculipennis* s.l. ont été retrouvées dans le Dardaillon (petite rivière bordant le centre équestre de Lunel-Viel), au milieu des lentilles d'eau, pendant la réalisation des captures sur appâts.

1.2. Le comportement trophique des vecteurs potentiels

Introduction. Les espèces de moustique ont des spécificités d'hôtes plus ou moins strictes. On peut distinguer les espèces qui piquent préférentiellement une classe de vertébrés (oiseaux, mammifères ou batraciens/reptiles), de celles qui sont opportunistes (Clements 1999). Néanmoins, si on connaît la spécificité d'hôtes des moustiques, la question de savoir comment ils sélectionnent leur hôte reste entière (Scott et Edman 1991). Le choix de l'hôte est important pour la transmission vectorielle. En effet, cette dernière nécessite qu'un vecteur s'infecte sur un vertébré en phase de virémie (ou de parasitémie) et repique dans un repas ultérieur un vertébré naïf. Par définition, un vecteur doit donc montrer un comportement trophique lui permettant de piquer successivement ces deux hôtes. Dans le cas de maladies comme la fièvre *West Nile*, les hôtes peuvent appartenir à des classes de vertébrés différentes (oiseaux et mammifères). Le virus *West Nile* est un virus dont les hôtes naturels sont les oiseaux (Taylor *et al.* 1956). Le caractère ornithophile des moustiques transmettant le virus dans les populations d'oiseaux est communément admis. De plus, le virus *West Nile* est transmis à l'homme ou au cheval par des moustiques piquant à la fois les oiseaux et les mammifères. Pour certains auteurs, ce rôle revient à des espèces opportunistes ou mammophiles qui jouent le rôle de vecteur « pont » (Turell *et al.* 2005). Pour d'autres, la relative non-spécificité des espèces ornithophiles et leur forte compétence vectorielle leur permettent de jouer ce rôle (Kilpatrick 2005). C'est pourquoi l'étude du comportement trophique des vecteurs est essentielle pour comprendre les schémas de transmission.

Nous nous intéressons ici au comportement trophique des principales espèces de moustiques en Camargue. Nous cherchons à formaliser le comportement trophique des moustiques pour en quantifier certaines composantes et permettre la comparaison entre espèces. De plus, le rôle potentiel des espèces dans la transmission du virus *West Nile* en fonction du comportement trophique est discuté. Nous nous basons sur les résultats des captures sur animaux appâts, où, pendant 24 heures consécutives, un cheval et deux oiseaux sont exposés aux attaques de moustiques dans un environnement donné. Bien que ni l'âge, ni le nombre, ni l'espèce des moustiques n'aient été contrôlés, il nous a semblé que la capture de moustiques sur le terrain dans leur comportement trophique habituel présentait un réel intérêt.

Matériel et méthodes

Captures sur appâts. Les protocoles de captures ont été détaillés précédemment (captures hebdomadaires pendant 24 heures consécutives de mai à octobre 2004 sur appât cheval et canard) (Balenghien *et al.* 2006). Les sites ont été décrits précédemment : Tour du Valat (fortes densités de moustiques) et Lunel-Viel (faibles densités) (Balenghien *et al.* 2006). Les résultats des collectes sont présentés en calculant la proportion de femelles capturées sur les 2 hôtes et dans les 2 sites.

Comportements trophiques. Les facteurs connus influençant le choix d'un hôte sont i) une préférence trophique innée pour certains hôtes, ii) la distribution spatiale des femelles en recherche d'hôte et leur rythme nycthémeral, iii) les réactions de défense de l'hôte, et iv) la disponibilité des hôtes (Clements 1999). Ce choix peut se décomposer en une partie liée à l'attraction du moustique (i, ii, et iv) et en une partie liée au succès du repas sanguin (iii). L'attraction dépend d'une préférence intrinsèque (considérée comme dirigée vers une classe de vertébrés), de la taille de l'hôte, qui, plus que l'espèce, est corrélée positivement au nombre de moustiques attirés, et de la disponibilité des hôtes (Dow *et al.* 1957 ; Edman *et al.* 1974 ; Clements 1999). Le succès du repas est essentiellement lié aux réactions de défense de l'hôte (Edman *et al.* 1974), qui diffèrent en fonction des espèces d'hôtes (Edman et Kale II 1971) et augmentent avec la densité de vecteurs (Edman *et al.* 1972 ; Nelson *et al.* 1976). On considère un environnement avec N_O oiseaux d'une espèce donnée, N_H chevaux et D autres hôtes potentiels disponibles. Alors, en prenant en compte ce qui a été exposé, les nombres de moustiques d'une espèce i attirés par l'ensemble des oiseaux de l'espèce en question et par l'ensemble des chevaux, notés M_{iO} et M_{iH} , sont donc égaux à

$$\left\{ \begin{array}{l} M_{iO} = \frac{f_{iO} N_O}{f_{iO} N_O + f_{iH} N_H + \sum_{j=1}^D f_{ij} N_j} M = x_{iO} M \\ M_{iH} = \frac{f_{iH} N_H}{f_{iO} N_O + f_{iH} N_H + \sum_{j=1}^D f_{ij} N_j} M = x_{iH} M \end{array} \right. \quad (1)$$

où f_{iO} représente l'attraction de l'espèce d'oiseau pour le moustique d'espèce i et M le nombre total de moustiques en recherche d'hôte dans l'environnement donné.

On peut réécrire que :

$$f_{iO} = \text{préférence intrinsèque } \varepsilon_{iO} \times \text{facteur de poids de l'hôte } p_O.$$

Dans ce cas, les proportions de moustiques attirés par l'ensemble des oiseaux de l'espèce en question et par l'ensemble des chevaux peuvent se formuler :

$$\left\{ \begin{array}{l} x_{iO} = q_{iO}(1 - F_D), \text{ avec } q_{iO} = \frac{\varepsilon_{iO} p_O N_O}{\varepsilon_{iO} p_O N_O + \varepsilon_{iH} p_H N_H} \text{ et } F_D = \frac{\sum_j^D f_{ij} N_j}{f_{iO} N_O + f_{iH} N_H + \sum_j^D f_{ij} N_j} \\ x_{iH} = q_{iH}(1 - F_D), \text{ avec } q_{iH} = 1 - q_{iO} = \frac{\varepsilon_{iH} p_H N_H}{\varepsilon_{iO} p_O N_O + \varepsilon_{iH} p_H N_H} \end{array} \right. \quad (2)$$

le facteur F_D peut être considéré comme un facteur de dilution, c'est-à-dire qu'il prend en compte les moustiques piquant d'autres hôtes que ceux qui nous intéressent. Il n'est pas possible, dans un environnement donné, d'estimer q_{iO} ou q_{iH} , ne connaissant ni le nombre d'hôtes réellement présents ni les préférences trophiques intrinsèques.

Dans nos captures, seuls sont connus M_{iO} et M_{iH} , qui correspondent aux nombres de femelles de l'espèce i capturées dans les pièges oiseaux et le piège cheval pour chaque capture, avec $N_O = 2$ et $N_H = 1$, si on considère que les autres canards et chevaux de la zone sont inclus dans les autres hôtes disponibles D . Les préférences trophiques intrinsèques dirigées contre un oiseau ou un mammifère peuvent s'écrire à partir de l'équation (1) comme suit :

$$\varepsilon_{iO} = \frac{M_{iO} A}{M N_O p_O} \text{ et } \varepsilon_{iH} = \frac{M_{iH} A}{M N_H p_H}, \text{ avec } A = f_{iO} N_O + f_{iH} N_H + \sum_{j=1}^D f_{ij} N_j \quad (3)$$

Dans ce cas :

$$\varepsilon_i = \frac{\varepsilon_{iO}}{\varepsilon_{iO} + \varepsilon_{iH}} = \frac{M_{iO} N_H p_H}{(M_{iO} N_H p_H + M_{iH} N_O p_O)} \quad (4)$$

avec $N_O = 2$ et $N_H = 1$. La probabilité ε peut être considérée comme une préférence trophique relative, de telle sorte que $\varepsilon_i = 0,5$ s'il n'existe pas de préférence pour l'espèce i entre mammifère et oiseau, que $\varepsilon_i = 1$ pour une espèce ornithophile stricte et $\varepsilon_i = 0$ pour une espèce mammophile stricte.

Il n'y a pas de méthode connue pour prendre en compte le facteur de poids. Kay *et al.* (1979) utilisent simplement le rapport des poids. Ici, nous considérons que l'attraction, supposée liée aux émanations de CO_2 et d'odeurs (Scott et Edman 1991), est proportionnelle au métabolisme basal, qui est lui-même proportionnel au poids à la puissance $3/4$ suivant la loi de Kleiber (Kleiber 1932), tel que :

$$p_O = c (M_O)^{3/4} \text{ et } p_H = c (M_H)^{3/4} \quad (5)$$

Ainsi, en reprenant la méthode proposée pour le *Feeding Index* (Kay *et al.* 1979) et corrigeant avec le facteur de Kleiber, le rapport de biomasse entre un cheval de 400 kg et un canard 5 kg est de 26,7. Dans ce cas, on peut réécrire l'équation (4) comme suit :

$$\varepsilon_i = \frac{26,7 \times M_{iO}}{(26,7 \times M_{iO} + 2 \times M_{iH})} \quad (6)$$

Nous avons décrit la partie liée à l'attraction des moustiques par un oiseau ou un cheval. Seule une partie de ces moustiques attirés va se gorger, avec un taux de réussite appelé s_{iO} pour le repas sur oiseau et s_{iH} pour celui sur cheval. Pour chaque espèce de moustique, ces taux de repas réussis peuvent facilement être calculés en divisant le nombre de femelles gorgées à chaque capture par celui des femelles capturées.

Pour chaque espèce de moustique, la moyenne des ε_i , s_{iO} et s_{iH} et leurs écart-types sont calculés en ne prenant en compte que les captures récoltant plus de 10 individus de l'espèce considérée. Ces quantités ne suivant pas des distributions normales, les tests statistiques utilisés pour les comparer sont tous des tests non paramétriques (Siegel et Castellan 1988). De plus, la dépendance des taux de succès de repas et des ε au nombre de moustiques capturés et à la température hebdomadaire est testée en calculant le coefficient de corrélation de Spearman (Siegel et Castellan 1988). Les données météorologiques proviennent des stations Météo France de la Tour du Valat et de Vérargues (à quelques kilomètres de Lunel-Viel).

Conséquences sur la transmission du virus West Nile. Les probabilités d'un moustique à piquer deux fois un oiseau (P_E) et une fois un oiseau et une fois un cheval (P_B) peuvent être considérées comme le reflet de sa capacité à jouer un rôle de vecteur enzootique ou de vecteur « pont » (Nelson *et al.* 1976 ; Bicout, pers. comm.). En se basant sur la même supposition que ces auteurs, c'est-à-dire que le choix d'un repas est indépendant du repas précédent, alors :

$$\begin{cases} P_{iE} = (s_{iO} q_{iO})^2, \text{ avec } P_{iE} = x_{iO}^2 \Leftrightarrow F_D = 0 \\ P_{iB} = (s_{iO} q_{iO})(s_{iH} q_{iH}), \text{ avec } P_{iB} = x_{iO} x_{iH} \Leftrightarrow F_D = 0 \end{cases} \quad (7)$$

Les probabilités P_{iE} et P_{iB} peuvent s'exprimer en fonction de ε , telles que :

$$\begin{cases} P_{iE} = \left(\frac{s_{iO} \varepsilon_i B_O / B_H}{\varepsilon_i B_O / B_H + (1 - \varepsilon_i)} \right)^2 \\ P_{iB} = \frac{s_{iO} s_{iH} \varepsilon_i (1 - \varepsilon_i) B_O / B_H}{(\varepsilon_i B_O / B_H + (1 - \varepsilon_i))^2} \end{cases} \quad (8)$$

où B_O et B_H sont les biomasses de l'espèce d'oiseau considérée et des chevaux de la zone, avec $B_O = N_O \times p_O$ et $B_H = N_H \times p_H$. Les quantités P_{iE} et P_{iB} dépendent de la disponibilité en hôte. Elles sont tracées en fonction du rapport B_O/B_H pour chaque espèce de moustique

identifiée comme piquant les chevaux et les oiseaux et en prenant les valeurs moyennes de ε_i et s_i calculées dans cette étude. P_{iE} et P_{iB} n'ont de sens que dans un environnement où suffisamment de moustiques piquent l'espèce d'oiseau considérée et les chevaux, c'est-à-dire que $F_D < 1$.

Résultats

Capture sur appâts. Environ 140 000 moustiques ont été capturés en 22 jours de captures à la Tour du Valat (dont 96 % sur cheval) contre environ 1600 à Lunel-Viel en 21 jours de captures (figure 4).

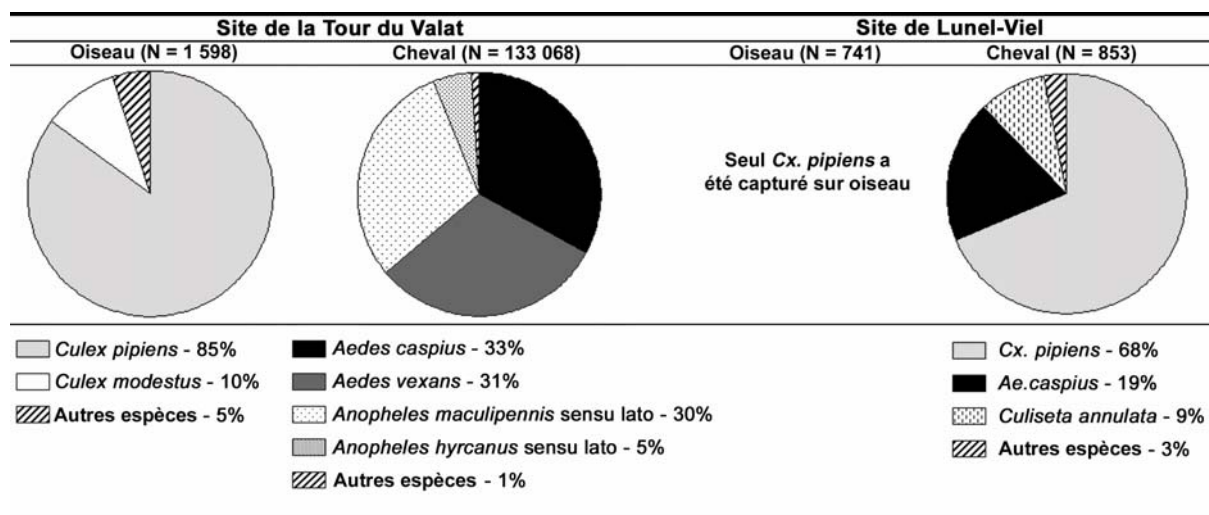


Figure 4 : Choix trophique des espèces de moustiques en Camargue.

Proportion de femelles collectées sur chaque hôte (pour les oiseaux, il s'agit de la somme des deux oiseaux) et dans chaque site au cours de toute la saison de capture.

Comportements trophiques. Les succès de repas sur oiseau et cheval, et le rapport des préférences trophiques ε sont présentés tableau 2.

Tableau 2 : Comportements trophiques des espèces de moustiques en Camargue.

Pour chaque espèce, sont donnés le nombre de captures (N), le nombre total de moustiques (M), le nombre moyen de moustiques collectés par capture sur cheval (M_H) et oiseaux (M_O), le taux de repas moyen sur cheval (s_H) et oiseaux (s_O) et le rapport moyen des préférences trophiques (ε), avec TDV : Tour du Valat et LV : Lunel-Viel. Toutes les moyennes sont présentées plus ou moins un écart-type. Par site, les quantités suivies d'une lettre différente sont significativement différentes, celles sans lettre ne sont pas testées par manque de données. Les espèces *Aedes detritus*, *Anopheles maculipennis* et *Anopheles hyrcanus* sont données au sens large.

Site	Espèce	N	M	M_H	M_O	s_H	s_O	ε
TDV	<i>Aedes caspius</i>	21	43 548	2072±1701	2±2	90,5±6,4 ^a	21±28,1 ^a	1,6±2,7 ^a
	<i>Ae. detritus</i>	8	530	66±74	0	84,4±7,0	-	0
	<i>Ae. vexans</i>	21	40 775	1940±3145	1±3	90,1±7,5 ^a	46,3±43,9 ^{a,b,c}	1,3±3,0 ^a
	<i>Anopheles maculipennis</i>	21	40 529	1930±2888	0	93,4±3,3 ^a	-	0
	<i>An. hyrcanus</i>	10	6 646	664±718	1±2	90,3±4,1 ^a	13,3±18,9	0,6±1,0 ^a
	<i>Culiseta annulata</i>	12	320	27±13	0	89,8±6,3	-	0
	<i>Culex pipiens</i>	17	1 507	10±10	79±94	50,1±14,1 ^b	55,3±19,8 ^b	96,5±4,9 ^b
	<i>Cx. modestus</i>	9	547	43±27	17±8	77,3±10,1 ^c	80,6±12,0 ^c	83,4±7,4 ^c
LV	<i>Ae. caspius</i>	5	135	27±16	0	96,1±2,5	-	0
	<i>Cs. annulata</i>	4	51	13±3	0	93,6±3,9	-	0
	<i>Cx. pipiens</i>	13	1 297	44±43	56±39	43,7±19,4	64,5±16,7	93,3±5,3

Pour toutes les espèces, la valeur d' ε est différente de 50, qui symbolise une espèce sans préférence entre mammifères et oiseaux (test des signes de Wilcoxon, $p < 0,01$). Pour *Cx. pipiens*, la valeur d' ε n'est pas significativement différente entre la Tour du Valat et Lunel-Viel (test de Mann Withney, $p > 0,05$), mais différente de celle de *Cx. modestus* à la Tour du Valat (test des signes de Wilcoxon, $p < 0,01$).

À la Tour du Valat, l'espèce influe sur les taux de succès des repas sur cheval (test de Friedman, $p < 0,01$). Testées deux à deux, *Cx. pipiens* présente le taux de succès des repas sur cheval le plus faible, *Cx. modestus* un taux moyen et les autres espèces (*Aedes* et *Anophèles*) un taux très élevé, sans distinction entre elles (test des signes de Wilcoxon, $p < 0,05$). À Lunel-Viel, le nombre de captures ne permet pas de tester les différences entre espèces.

Les taux de succès des repas sur oiseau sont différents selon l'espèce à la Tour du Valat (test de Friedman, $p < 0,01$). Testés deux à deux, les taux de repas sur oiseau sont significativement différents entre *Cx. modestus*, *Cx. pipiens* et *Ae. caspius* (test des signes de Wilcoxon, $p < 0,05$). Etant donné l'écart-type des valeurs, le taux de repas d'*Ae. vexans* n'est significativement pas différent des autres espèces.

Pour *Ae. caspius* à la Tour du Valat, le taux de succès des repas sur cheval est plus élevé que celui sur oiseau, alors qu'on observe une situation inverse pour *Cx. pipiens* à Lunel-Viel (test des signes de Wilcoxon, $p < 0,01$). Il n'y a pas de différence significative entre ces taux pour *Ae. vexans*, *Cx. modestus* et *Cx. pipiens* à la Tour du Valat.

La valeur de ε n'est corrélée positivement au nombre de moustiques capturés que pour *An. hyrcanus* s.l. ($r_s = 0,94$, $p < 0,01$). Pour cette espèce, ε est nul quand le nombre de moustiques est inférieur à 500 et non nul (mais toujours faible) quand ce nombre est supérieur à 1500. Les taux de succès des repas sur cheval ou sur oiseau ne sont pas corrélés au nombre de moustiques collectés ($p > 0,05$). Pour aucune espèce, le taux de succès des repas et le ε ne sont corrélés à la température hebdomadaire, sauf pour *Cx. pipiens* à Lunel-Viel, où le taux de succès des repas sur cheval est corrélé positivement à la température ($r_s = 0,63$, $p = 0,02$).

Influence sur la transmission du virus West Nile. La figure 5 présente les probabilités de repas successifs (P_E et P_B) en fonction du rapport N_O/N_H pour les deux espèces de *Culex*, *Ae. caspius* et *Ae. vexans*. *Anopheles hyrcanus* s.l. a été écarté car au total, seuls deux individus ont été retrouvés gorgés dans les pièges oiseaux.

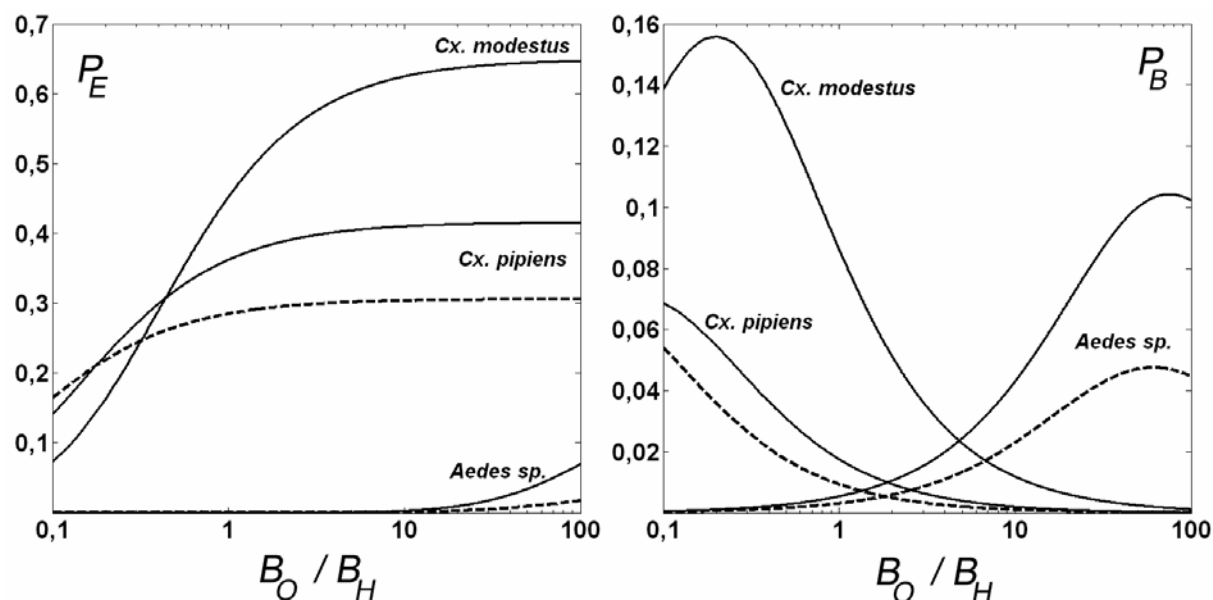


Figure 5 : Effet de la disponibilité en hôte sur la probabilité de repas successifs sur oiseau ou cheval. Probabilités enzootiques P_E (graphique de gauche) et probabilités « ponts » P_B (graphique de droite) en fonction du ratio de la biomasse d'une espèce d'oiseau donnée (B_O) sur celle des chevaux (B_H). *Aedes caspius* (trait plein), *Ae. vexans* (trait pointillé), *Cx. modestus* et *Cx. pipiens* (Tour du Valat trait pointillé, Lunel-Viel trait plein).

Discussion. Le nombre de moustiques capturés sur chaque site montre des situations très différentes en terme de densités de moustiques. La différence est liée essentiellement à l'importance des moustiques mammophiles en Camargue humide (Tour du Valat). La valeur d' ε permet d'identifier aisément deux groupes de moustiques, les ornithophiles (*Culex*) et les mammophiles (*Aedes*, *Anopheles* et *Culiseta*). Parmi les espèces ornithophiles, *Cx. pipiens* est plus strict que *Cx. modestus*. Parmi les espèces mammophiles, seuls *Ae. caspius*, *Ae. vexans* et dans une moindre mesure *An. hyrcanus* s.l. ne sont pas strictement mammophiles ($\varepsilon \neq 0$). Néanmoins, le caractère strict de la mammophilie n'est certain que pour *An. maculipennis* s.l.,

étant donné les nombres de moustiques capturés. Pour les autres espèces, le nombre de moustiques n'est peut être pas suffisant pour capturer des individus sur oiseau, comme pour *Ae. caspius* à Lunel-Viel.

Le succès de repas d'un moustique est souvent attribué aux réactions de défense de l'hôte, certains hôtes étant qualifiés de tolérants aux piqûres de moustiques, alors que d'autres manifestent un comportement de défense important (Edman et Kale II 1971 ; Edman *et al.* 1974). Les espèces les plus grandes sont souvent les plus tolérantes (Scott et Edman 1991). Classiquement, lorsque la densité des moustiques augmente, les réactions de défense s'intensifient et le succès de repas diminue (Edman *et al.* 1972 ; Nelson *et al.* 1976).

Dans notre cas, les taux de repas réussi sur cheval sont toujours très élevés pour les mammophiles, quelle que soit la densité de moustiques observée, laissant supposer que le cheval ne présente aucun comportement de défense vis-à-vis des moustiques. De même, les canards semblent tolérants aux piqûres de moustiques puisqu'ils autorisent des taux de repas relativement élevés en comparaison avec ce qui peut être observé pour d'autres espèces d'oiseaux (Dow *et al.* 1957 ; Edman et Kale II 1971 ; Nelson *et al.* 1976 ; Scott et Edman 1991). Néanmoins, certaines réactions de défense (coups de bec) ont été observées. De plus, contrairement aux espèces mammophiles, des différences sont observées entre les deux espèces de *Culex* quant à leur capacité à se gorger sur oiseau, *Cx. modestus* étant plus agressif que *Cx. pipiens*. La forte agressivité de *Cx. modestus* en Camargue a déjà été signalée par d'autres auteurs (Callot et Ty 1944-1945 ; Rioux 1958 ; Mouchet *et al.* 1970).

À la Tour du Valat, les taux de repas sur cheval sont fortement diminués par rapport à ceux sur oiseau pour *Ae. caspius*, alors que les taux de repas sur cheval ou oiseau semblent équivalents pour les espèces ornithophiles. Étant donné le faible effectif, les données concernant *An. hyrcanus* s.l. n'ont pas été testées. Pour le site de Lunel-Viel, le taux de repas sur cheval de *Cx. pipiens* est plus faible que celui sur oiseau et augmente avec la température. Cette influence de la température sur le comportement trophique des *Culex* avait été avancée pour expliquer le changement de préférence trophique de *Cx. nigripalpus* au cours d'une année, passant d'ornithophile à mammophile (Edman et Taylor 1968). Le site de Lunel-Viel, éloigné de la mer, présente des variations de température plus importantes que le site de la Tour du Valat, ce qui peut expliquer que cette observation ne soit réalisée qu'à Lunel-Viel. Néanmoins, ce site se situe en zone sèche, où les gîtes de pontes sont rares. Des pontes de *Cx. pipiens* ont été observées dans le seau d'eau mis à disposition du cheval, laissant supposer

que des femelles venant de pondre ont été récoltées pendant les captures, ce qui diminue artificiellement le ε et le taux de repas sur cheval.

En résumé, il semble que les *Culex* ornithophiles soient plus attirés par les chevaux que les espèces mammophiles ne le sont par les oiseaux. De plus, les *Culex* présentent le même taux de succès de repas sur cheval que sur oiseau (sauf *Cx. pipiens* à Lunel-Viel).

La probabilité de se gorger deux fois sur oiseau (P_E) est très faible pour les espèces mammophiles. Pour les espèces de *Culex*, cette probabilité est plus faible lorsque la biomasse des chevaux est plus importante que celle des oiseaux. Si l'on se base uniquement sur cette probabilité, seuls les *Culex* pourraient jouer un rôle de vecteur enzootique. *Culex modestus* pourrait être meilleur vecteur que *Cx. pipiens*, toutes choses égales par ailleurs, car il présente des taux de succès de repas supérieurs. La probabilité de se gorger à la fois sur oiseau et cheval (P_B) est nulle pour les *Aedes* lorsque la biomasse des chevaux domine largement celle des oiseaux et atteint un maximum dans le cas contraire. On constate une situation opposée pour les *Culex*. La différence de P_B entre les espèces d'*Aedes* provient de la différence de taux de succès des repas sur oiseau. La différence de P_B entre *Cx. modestus* et *Cx. pipiens* provient des taux de succès des repas supérieurs pour *Cx. modestus*, que ce soit sur cheval ou sur oiseau. Ainsi, les espèces ornithophiles ou mammophiles pourraient jouer le rôle de vecteur « pont », mais uniquement dans des situations opposées (Bicout, pers. comm.). *Culex modestus* est un meilleur candidat que *Cx. pipiens* à la transmission du virus des oiseaux vers les chevaux, lorsqu'on ne considère que les probabilités P_B .

Les probabilités de deux repas successifs (P_E et P_B) ont été calculées à partir des données de captures sur appât, réalisées avec un cheval et deux canards. Le canard a été choisi comme espèce appât pour des raisons de manipulation et non parce que cette espèce serait impliquée dans les cycles de transmission du virus *West Nile*. Pour que les conclusions qui viennent d'être exposées soient généralisables aux espèces amplificatrices, il faut que : i) la valeur de ε ne dépende pas de l'espèce d'oiseau, c'est-à-dire que la préférence innée des moustiques soit dirigée vers une classe de vertébrés plus que vers une espèce particulière, et que ii) l'espèce amplificatrice ait des réactions de défense de même ordre que celles du canard. On peut supposer que les espèces amplificatrices sont tolérantes puisque, par définition, elles sont piquées par les moustiques. Ici, on a considéré que le facteur de dilution F_D était le même pour toutes les espèces de moustiques ; or rien ne prouve que ce soit le cas. Dans ce cas, les tendances des probabilités P_E et P_B présentées figure 5 peuvent s'en trouver modifiées. De

plus, nous avons considéré que chaque individu d'une même espèce était piqué de la même façon que tous ses autres congénères. Or on sait que des facteurs individuels, notamment l'âge, modifient à la fois l'attraction des moustiques et les réactions de défense de l'hôte entre individus (Scott et Edman 1991).

Il s'agit donc plutôt de donner des pistes de réflexion concernant le rôle que peut jouer chaque espèce dans la transmission du virus *West Nile* en fonction de son comportement trophique. L'analyse de résidus des repas sanguins des moustiques, en particulier des espèces de *Culex*, pourrait permettre d'estimer F_D et d'identifier si certaines espèces d'oiseau servent d'hôtes privilégiés. Cela permettrait de confirmer ou d'infirmer les règles utilisées ici. Par la suite, il faudrait aussi prendre en compte d'autres composantes importantes de la capacité vectorielle, comme la compétence vectorielle, la longévité ou la densité des vecteurs.

En résumé, si on extrapole les résultats des captures de la Tour du Valat aux zones humides de Camargue et ceux de Lunel-Viel à la zone de Costière, les principales espèces piquant les oiseaux sont *Cx. pipiens* et *Cx. modestus* en zone humide, et principalement *Cx. pipiens* en zone sèche. Ce sont les principaux candidats à la transmission du virus *West Nile* parmi les populations d'oiseaux dans les zones où ils sont présents. *Culex modestus* pique régulièrement l'homme et le cheval. Il est considéré comme se dispersant peu en terrain ouvert et pourrait donc transmettre le virus aux mammifères pénétrant dans ses sites de repos. La capture de quelques individus à Lunel-Viel, en l'absence de gîte identifié, reste à éclaircir. *Culex pipiens* est l'espèce dominante sur cheval en zone sèche et a été retrouvé occasionnellement gorgé sur cheval en zone humide. Il pourrait donc intervenir dans la transmission du virus *West Nile* aux chevaux, notamment dans des conditions de fortes populations équine. Sa faible représentation dans les captures sur homme provient d'une faible anthropophilie vraie ou d'un biais dans la méthode de collecte. Les populations de ces deux espèces augmentent progressivement en densité au cours de l'été pour culminer en septembre, lorsque la transmission aux chevaux est la plus intense.

Deux espèces d'*Aedes*, *Ae. caspius* et *Ae. vexans*, sont abondantes en zone humide, piquent agressivement l'homme et le cheval et sporadiquement les oiseaux, notamment au cours de l'été, et présentent un pic de densité à la fin de l'été suite aux pluies et irrigations de mi-août à fin septembre. Ces espèces sont considérées comme potentiellement capables de transmettre le virus *West Nile* des oiseaux aux mammifères, notamment dans des conditions de faibles densités équine. Seul *Ae. caspius* est retrouvé en Costière, vraisemblablement suite à sa migration depuis les zones de forte production que sont les zones humides deltaïques et littorales. En migrant, il pourrait entraîner avec lui le virus. La démoustication du littoral à l'ouest du Petit Rhône limite néanmoins fortement ses densités en dehors du delta.

Une seule des deux espèces abondantes d'anophèle, *An. hyrcanus*, n'est pas strictement mammophile. Néanmoins, une seule femelle a été retrouvée gorgée sur oiseau. Enfin, cette espèce présente un pic de densité fin août avec une rapide décroissance début septembre. Même si cette espèce est compétente pour le virus *West Nile*, son rôle dans la transmission de ce virus est probablement anecdotique.

2. Recherche de virus chez les individus capturés

Matériel et méthodes. Pour détecter une éventuelle circulation du virus *West Nile* pendant la réalisation des captures, les animaux appâts ont été suivis sérologiquement. Des prélèvements sanguins ont été effectués toutes les semaines sur les deux chevaux, et tous les mois sur les canards. Le sang prélevé sur tube hépariné a été centrifugé et le sérum séparé du culot sanguin. Les prélèvements ont été conservés à - 20 °C, jusqu'à expédition au Centre national de référence des arbovirus et fièvre hémorragique de l'Institut Pasteur pour recherche d'anticorps anti-*West Nile*.

Les moustiques capturés ont été répartis en lots monospécifiques de moins de 50 individus de même sexe, triés par site et date de capture, et par hôte. Les lots sont conservés à - 20 °C. Les lots à tester ont été envoyés au laboratoire de virologie de l'Institut de médecine tropicale du service de santé des armées pour recherche virale par RT-PCR en temps réel.

Résultats et discussion. Les deux chevaux et les quatre canards utilisés pour les captures étaient séronégatifs lors de la première capture. Parmi ces appâts, un des canards utilisés à la Tour du Valat a séroconverti entre le 3 août et le 20 septembre 2004. Toutefois, en dehors des périodes de capture (c'est-à-dire 6 jours sur 7), les oiseaux appâts de la Tour du Valat ont été gardés dans le poulailler du domaine (situé à 200 m du lieu de capture). Il est donc probable que cet oiseau ait été infecté plutôt dans le poulailler que dans la cage de capture. Néanmoins, il reste certain que le virus *West Nile* a circulé à la Tour du Valat pendant l'été 2004.

Durant cette période, 13 séroconversions ont été observées parmi les 152 oiseaux suivis sur les départements de l'Hérault, du Gard et des Bouches-du-Rhône par le réseau de surveillance aviaire du virus *West Nile* (Hars *et al.* 2004) et une épizootie a été constatée parmi les populations équines (Zeller *et al.* 2004). L'épicentre de la circulation (maximum des cas équins et des séroconversions aviaires) était situé au nord des Saintes-Maries-de-la-Mer. Ainsi, même si le virus *West Nile* a circulé à l'endroit des captures, sa circulation a été plus intense dans d'autres zones (20 % de séroconversions ($n = 10$) à la Tour du Valat, contre 58 % ($n = 12$) aux environs des Saintes-Maries-de-la-Mer) (Hars *et al.* 2004).

Étant donné le grand nombre de lots de moustiques collectés pendant les captures, tous les lots n'ont pas pu être testés systématiquement. Les moustiques les plus intéressants à tester sont ceux ayant piqué l'oiseau qui a séroconverti. Il a été décidé de tester tous les moustiques

capturés sur appât oiseau à partir de début août à la Tour du Valat. Les moustiques ont été testés en entier, sauf pour ceux capturés gorgés sur l'oiseau séropositif, pour lesquels seule la tête a été testée afin d'éviter une détection du virus à partir du sang ingéré. Au total, 35 lots sont testés, correspondant à 1266 moustiques, dont 1061 *Cx. pipiens*, 142 *Cx. modestus*, 29 *Ae. vexans*, 25 *Ae. caspius*, 7 *An. hyrcanus* et 2 *Coquillettidia richiardii* (Ficalbi). Le génome viral n'a été détecté dans aucun des lots testés. La détection du virus à partir de moustiques capturés sur le terrain remplit le deuxième critère d'identification d'un vecteur défini par Mitchell (1995). Dans une zone où le virus circule intensément, les taux d'infection des vecteurs principaux restent faibles. Pour illustration, dans l'État de New York, une surveillance entomologique en routine a été réalisée de juin à octobre pour les années 2000 à 2004, aboutissant au test de 35 280 lots de moustiques, soit plus d'un million de moustiques (Lukacik *et al.* 2006). Dans ces lots, on a pu estimer le taux minimal d'infection moyen des *Culex* à 1,5/1000 (Lukacik *et al.* 2006).

En résumé, la circulation du virus *West Nile* a été détectée pendant les captures sur appâts. Pourtant le virus n'a pas été mis en évidence parmi les moustiques capturés. Au cours des récents épisodes de circulation, tous les essais de recherche virale sur des lots de moustiques capturés sur le terrain sont restés infructueux (Zientara *et al.* 2004). Ces constats illustrent la faible sensibilité de cette méthode pour des protocoles de surveillance ou de recherche. Dans d'autres pays, des résultats ont pu être obtenus, en contrepartie de protocoles de captures régulières et d'un test systématique d'un grand nombre de moustiques, ce qui est coûteux en moyens humains, techniques et financiers. Étant donné le caractère sporadique et aléatoire des épisodes de circulation du virus *West Nile* dans le temps et dans l'espace en France, cette méthode ne semble pas adaptée pour l'étude des vecteurs du virus *West Nile* dans ce contexte. La connaissance de la compétence vectorielle des espèces candidates à la transmission est donc essentielle pour évaluer leur implication dans les cycles de transmission. Son étude fait l'objet du chapitre 4.

Compétence vectorielle pour le virus *West Nile*

Depuis 60 ans, de nombreux travaux ont étudié les interactions entre moustiques et virus West Nile. Dans un premier temps, il nous a semblé intéressant de synthétiser les résultats des différentes études pour permettre une comparaison entre espèces.

Dans un deuxième temps, nous présentons les résultats des infections expérimentales réalisées sur les candidats vecteurs de Camargue.

Enfin, ces résultats sont analysés dans un contexte plus global qui intègre les données historiques.

1. Retour sur 60 ans de littérature

1.1. Un bref aperçu historique

La compétence vectorielle peut être définie par l'aptitude d'un insecte à s'infecter, amplifier et transmettre le virus en conditions de laboratoire (Rodhain et Perez 1985). Pour démontrer la capacité d'une espèce à transmettre un virus, il faut reproduire expérimentalement le cycle de transmission, c'est-à-dire réaliser i) le gorgement des moustiques sur un hôte virémique, puis ii) des tests de transmission à un hôte naïf. Pour éviter l'utilisation d'animaux comme hôtes donneurs ou receveurs, on considère que le cycle peut être reproduit par des méthodes artificielles permettant d'exposer *oralement* les moustiques au virus et d'*isoler* ce dernier de la salive.

L'expérience princeps dans la transmission vectorielle du virus *West Nile* est celle de Philipp et Smadel (1943). Des femelles d'*Ae. albopictus* sont gorgées sur des hamsters préalablement inoculés. Après dix jours d'incubation, ces femelles sont capables de transmettre le virus par piqûre à un hamster naïf (Philip et Smadel 1943). L'expérience est reproduite⁴⁷ dans les années qui suivent avec *Cx. pipiens*, *Cx. antennatus* (Taylor et Hurlbut 1953 ; Tahori *et al.* 1955), *Cx. univittatus* (Taylor *et al.* 1956) et *Ae. aegypti* (Goldwasser et Davies 1953 ; Davies et Yoshpe-Purer 1954).

Au fil des années, la liste des espèces compétentes pour le virus *West Nile* en laboratoire s'allonge : *Cx. quinquefasciatus* (Varma 1960), *Cx. theileri* (Jupp *et al.* 1966b), *Cx. tritaeniorhynchus* (Hayes *et al.* 1980), *Culex neavei* Theobald (Jupp *et al.* 1986), et aussi *Aedes geniculatus* (Olivier), *Aedes punctor* (Kirby) et *An. plumbeus* (Vermeil *et al.* 1960).

⁴⁷ La transmission du virus *West Nile* par *Cx. tritaeniorhynchus* et *Culex pallens* Coquillett a été décrite par Kitaoka (1950) mais la publication (*Jap. Med. Jour.* **3**, 77-81) n'a pas été retrouvée.

Les interactions entre moustique et virus *West Nile* ont été étudiées en détail pour les espèces considérées comme impliquées dans les cycles de transmission : *Cx. pipiens* en Israël (Tahori *et al.* 1955), *Cx. univittatus* en Afrique du Sud (Jupp et McIntosh 1970b ; Jupp 1974 ; Cornel *et al.* 1993) et *Cx. tritaeniorhynchus* au Pakistan (Ahmed *et al.* 1979 ; Baqar *et al.* 1980 ; Hayes *et al.* 1980 ; Akhter *et al.* 1982). Enfin, après l'introduction du virus *West Nile* aux États-Unis en 1999, les études de compétence vectorielle se sont multipliées, testant de nombreuses espèces nord-américaines de moustiques. La quasi-totalité de ces espèces est capable de transmettre le virus, mais à des niveaux très différents.

1.2. Cinétique virale et quantification de la compétence vectorielle

Pour rendre un vecteur infectant après un repas virémique, le virus *West Nile* va infecter différents tissus cellulaires pour passer de la lumière du tube digestif à la salive.

Aperçu général. Suite à un repas infectieux, le titre viral du corps d'un moustique suit sensiblement le même profil au cours d'une incubation entre 26 et 30 °C pour différentes espèces de *Culex* et d'*Aedes* (Tahori *et al.* 1955 ; Hayes *et al.* 1980 ; Cornel *et al.* 1993 ; Sardelis et Turell 2001 ; Sardelis *et al.* 2002). Le jour de l'infection (J0), le titre viral est équivalent à celui du repas infectieux. Il diminue par la suite, signe d'une destruction virale, atteignant un minimum entre 24 et 72 heures post-infection (Hayes *et al.* 1980 ; Cornel *et al.* 1993). Ensuite, le titre augmente progressivement et atteint un plateau qui semble durer la vie du moustique (Cornel *et al.* 1993 ; Sardelis *et al.* 2002). En parallèle, le titre viral des pattes est nul à J0. Il devient détectable au bout de quelques jours et augmente progressivement jusqu'à atteindre un plateau (Sardelis *et al.* 2002).

Infection des tissus du moustique. La dissémination du virus *West Nile* dans les différents organes a été bien décrite chez *Cx. quinquefasciatus* (Girard *et al.* 2004). Le virus infecte d'abord les cellules du tube digestif. Après invasion des cellules intestinales, le virus gagne l'hémocœle. Le terme de « barrière intestinale » regroupe l'ensemble des filtres (membranes intestinales) possibles associés à ces étapes. Par la suite, le virus arrive dans le système salivaire et se concentre dans la salive. Le terme de « barrière salivaire » correspond aux éléments qui s'opposent à ce passage et donc à la transmission du virus. Le temps nécessaire à un moustique pour devenir infectant (i.e. présence de virus dans la salive) suite au repas infectieux est appelé durée d'incubation extrinsèque. Cette dernière est fortement dépendante de la température. D'autre part, un facteur quantitatif important intervient, le seuil

d'infectivité, dose virale en dessous de laquelle un vecteur, même compétent, ne s'infectera pas.

Quantification de la compétence vectorielle. Elle dépend du seuil d'infectivité et des deux types de barrières (intestinale et salivaire). Le taux d'infection⁴⁸ permet de mesurer le seuil d'infectivité, le taux d'infection disséminée⁴⁹ l'effet global de la barrière intestinale et le taux de transmission disséminée⁵⁰ l'effet de la barrière salivaire (Turell *et al.* 2000). C'est la barrière intestinale qui est déterminante dans la compétence vectorielle des moustiques pour le virus *West Nile*. En effet, le taux de transmission disséminée est toujours très élevé quelle que soit l'espèce (Turell *et al.* 2005). De plus, la transmission du virus *West Nile* par des femelles inoculées par voie intrathoracique (évitement de la barrière intestinale) est possible quelle que soit l'espèce de moustique. De tels essais ont été réalisés pour *Cx. vishnui* (Hurlbut 1956), *Culex fuscocephala* Theobald, *Culex pseudovishnui* Colless, *Ae. caspius*, *Aedes indicus* (Theobald) et *Aedes lineatopennis* (Ludlow) (Akhter *et al.* 1982), *Aedes cantator* (Coquillett) (Turell *et al.* 2005) ou *Coquillettidia perturbans* (Walker) (Sardelis *et al.* 2001). Seul *Psorophora ferox* (Von Humboldt) fait exception à la règle et ne transmet pas après inoculation intrathoracique (Turell *et al.* 2005). Le taux de transmission (nombre de femelles transmettant le virus par piqûre divisé par le nombre de femelles exposées oralement) permet donc une mesure globale de la compétence vectorielle.

1.3. La compétence vectorielle des moustiques pour le virus *West Nile*

Une revue des études citées ci-dessus n'étant pas disponible dans la littérature, ce travail a été réalisé pour ce document, malgré la diversité des méthodes utilisées (annexe 2).

Diversité des méthodes

Méthode d'exposition. La méthode d'exposition au virus la plus classique est d'autoriser les femelles à se gorger sur des animaux virémiques, dont l'espèce, l'âge et la voie d'inoculation diffèrent selon les études. Cependant, il nous a semblé correct de considérer comme comparables, pour une même virémie, les résultats de différentes études utilisant ce mode d'exposition.

⁴⁸ Femelles infectées (multiplication du virus dans le tube digestif)/femelles exposées, i.e. gorgées.

⁴⁹ Femelles avec une infection disséminée (multiplication du virus dans les pattes ou ailes)/femelles exposées.

⁵⁰ Femelles transmettant le virus par piqûre/femelles avec une infection disséminée.

À la place d'animaux virémiques, de nombreux systèmes artificiels ont été employés, aussi divers que : repas sur œufs de poule inoculés, sur membrane, sur coton imbibé ou sur goutte pendante⁵¹. Pour de nombreux arbovirus, ces méthodes infectent un nombre moins important de moustiques qu'une exposition sur animal virémique avec un même titre viral (Turell 1988). Pour *Cx. tarsalis* et l'encéphalite équine de l'Ouest, il a été montré que la distribution du virus dans le tractus digestif des moustiques est radicalement différente en fonction du type de repas, le sang étant stocké dans le diverticule pour des repas artificiels, contrairement aux repas sur animaux virémiques (où le sang passe directement dans l'intestin moyen) (Weaver *et al.* 1993). L'utilisation de sucrose dans les repas artificiels, pour stimuler le gorgement, pourrait être en partie responsable de ce phénomène (Weaver *et al.* 1993). En effet, les jus sucrés ingérés sont physiologiquement stockés dans les diverticules, alors que le sang passe directement dans l'estomac (Clements 1992). Néanmoins, même sans utilisation de sucrose, à titre égal, les repas artificiels sont moins infectieux que les repas sur animaux virémiques.

Parmi ces méthodes, l'infection de *Cx. tarsalis* avec le virus de l'encéphalite équine de l'Ouest par exposition sur membrane semble plus efficace que l'exposition sur coton imbibé ou goutte pendante (Mahmood *et al.* 2004). C'est donc la méthode artificielle à privilégier, même si, comme nous l'avons vu, elle sous-estime les taux d'infection par rapport à un repas en conditions naturelles. Pour le virus *West Nile*, il faut un titre environ 100 fois supérieur pour infecter le même nombre de *Cx. univittatus*, de *Cx. quinquefasciatus* et de *Cx. pipiens* sur membrane qu'il n'en faut sur animal virémique (Jupp et McIntosh 1970a, 1970b ; Jupp 1976).

Mesure du titre viral. C'est la diversité des méthodes de titrage viral utilisées qui est le principal obstacle à la comparaison des études. Les études les plus anciennes utilisent pour le titrage viral l'inoculation intracérébrale à des souris adultes ou nouveau-nées. Les souris nouveau-nées étant plus sensibles que les souris adultes, Jupp (1974) propose de diminuer d'un log le titre obtenu sur souriceau pour obtenir l'équivalent sur souris adulte. Les études les plus récentes titrent sur cultures cellulaires, mais les unités peuvent être différentes.

Estimation du taux de transmission. Elle est classiquement conduite en gorgeant les moustiques infectés sur des animaux naïfs et en recherchant des signes de l'infection. Les méthodes artificielles consistent à recueillir la salive des moustiques (Hurlbut 1966), soit par goutte pendante ou par « méthode capillaire ». La méthode de la goutte pendante consiste à

⁵¹ L'infection par mise en contact des tarsi du moustique et d'un coton saturé avec une mixture sang/virus *West Nile* est aussi possible (Jupp *et al.* 1966a).

laisser pendre une goutte d'un mélange érythrocytes, sérum de veau fœtal et sucre à la surface de la moustiquaire et à la récupérer lorsque le moustique testé a commencé à se gorger (Gubler et Rosen 1976). La méthode capillaire consiste à introduire entièrement le proboscis du moustique testé dans un tube capillaire affiné à la flamme et contenant de l'huile de submersion pour microscope ou du sérum de veau fœtal et à récupérer le fluide après début de gorgement réflexe (Aitken 1977). Ces deux méthodes sous-estiment le taux de transmission obtenu pour le virus *West Nile* chez *Cx. univittatus* par rapport à un essai sur hamster naïf (Cornel et Jupp 1989). Comparées entre elles, elles donnent des résultats équivalents (Cornel et Jupp 1989). De plus, Cornel et Jupp (1989) insistent sur la nécessité de tester dans l'immédiat le produit d'expectoration, la conservation à - 70 °C diminuant la probabilité d'isoler le virus.

Comparaison des espèces

Une espèce étalon. Les résultats des infections expérimentales menées sur *Cx. pipiens* sont relativement homogènes malgré les différences d'origine géographique : Israël (Tahori *et al.* 1955), Égypte (Hurlbut 1956), Afrique du Sud (Jupp 1976) et États-Unis (Turell *et al.* 2000 ; Turell *et al.* 2001 ; Goddard *et al.* 2002) (annexe 2). La dose virale nécessaire pour infecter 50 % des femelles (DI₅₀) gorgées sur animal virémique est de 10^{4,8} à 10^{5,6} PFU/ml (Tiawsirisup *et al.* 2004 ; Erickson *et al.* 2006) et de 10^{4,4} DL₅₀/ml⁵² après 14 à 18 jours à 26-27 °C (Jupp 1976), les titres étant relativement comparables. Pour un titre de 10⁷ PFU/ml, le taux de transmission est compris entre 20 et 70 % pour 14 jours d'incubation à 26-28 °C (Turell *et al.* 2001 ; Goddard *et al.* 2002 ; Tiawsirisup *et al.* 2005a). Toutes ces infections sont réalisées avec la forme *pipiens*. Les résultats semblent équivalents avec la forme *molestus*, gorgée sur poulet virémique (10^{6,3} à 10^{7,0} PFU/ml), avec un taux de transmission de 47 % (au moins 16 jours à 26 °C) (Turell *et al.* 2006). *Culex pipiens* peut donc être considéré comme une espèce moyennement compétente, avec une DI₅₀ assez forte et un taux de transmission moyen.

Comme elle a été étudiée par beaucoup d'auteurs différents, elle peut servir d'espèce de référence à laquelle comparer les autres espèces.

Les espèces de *Culex*. *Culex univittatus* semble être un vecteur extrêmement compétent pour le virus *West Nile*. Sa DI₅₀ est plus petite que celle de *Cx. pipiens* (10^{2,6} contre 10^{3,3} DL₅₀

⁵² Le titre est exprimé en dose létale 50 % pour des souris adultes ; sauf indication contraire, tout titre exprimé en DL₅₀ fera référence à cette méthode de titrage.

en Égypte et $10^{2,1}$ contre $10^{4,6}$ DL₅₀/ml en Afrique du Sud) (Hurlbut 1956 ; Jupp 1976). Cette espèce est hautement sensible à l'infection. De plus, jusqu'à 100 % des individus exposés peuvent transmettre le virus et cette espèce permet une dynamique rapide et complète du virus même à température relativement basse (Cornel *et al.* 1993). Parmi les espèces testées, *Cx. univittatus* semble le plus adapté à la transmission du virus, attestant, semble-t-il, d'une co-adaptation importante avec le virus *West Nile*.

Culex tritaeniorhynchus est plus sensible à l'infection au virus *West Nile* que *Cx. quinquefasciatus* (Akhter *et al.* 1982), dont la sensibilité est équivalente à *Cx. pipiens* (Jupp 1976). La DI₅₀ de *Cx. tritaeniorhynchus* est d'environ $10^{4,6}$ DLSNN₅₀/ml⁵³ (Hayes *et al.* 1980). Après exposition sur membrane ($10^{8,5}$ DLSNN₅₀/ml), 100 % des femelles *Cx. tritaeniorhynchus* (n = 45) sont capables de transmettre le virus par piqûre (12 jours à 28 °C) (Hayes *et al.* 1980). Cette espèce semble donc être très compétente pour le virus *West Nile*. Mais ces expériences ont été menées avec une souche d'élevage (colonisée depuis plus de 11 ans), ce qui ne permet pas d'extrapoler ces résultats aux populations de terrain.

Parmi les autres *Culex*, certaines espèces semblent très compétentes, mais les études n'ayant pas été aussi complètes que pour *Cx. univittatus*, il n'est pas possible de l'affirmer avec certitude. Ainsi, *Cx. antennatus* semble présenter la même sensibilité à l'infection que *Cx. univittatus* (Hurlbut 1956) et est capable de transmettre le virus par piqûre (Taylor et Hurlbut 1953), mais avec un taux de transmission qui n'a pas été évalué. Pour *Cx. neavei*, après gorgement sur poulet virémique ($10^{5,7}$ DLSNN₅₀/ml), jusqu'à 100 % des femelles (F0) sont capables de transmettre le virus *West Nile* par piqûre (après 21 jours) (Jupp *et al.* 1986). En revanche, cette espèce semble environ 25 fois moins sensible à l'infection que *Cx. univittatus* (Jupp 1976). Enfin, la DI₅₀ de *Cx. theileri* est deux fois plus grande que celle de *Cx. univittatus* après gorgement sur membrane (Jupp *et al.* 1966b ; Jupp et McIntosh 1970b ; Jupp *et al.* 1972).

La plupart des autres espèces de *Culex* semblent présenter une compétence vectorielle équivalente à *Cx. pipiens*. C'est le cas de *Cx. quinquefasciatus* qui présente cependant une grande hétérogénéité des taux de transmission en fonction de l'origine géographique (Goddard *et al.* 2002 ; Reisen *et al.* 2005) et des méthodes d'exposition utilisées. Les méthodes artificielles donnent des résultats assez médiocres avec cette espèce (Jupp et McIntosh 1970a ; Jupp 1976 ; Akhter *et al.* 1982 ; Goddard *et al.* 2002 ; Reisen *et al.* 2005).

⁵³ Dose létale sur souris nouveau-nées estimée par inoculation intracérébrale ; on peut estimer que ce titre est de l'ordre de $10^{3,6}$ DL₅₀/ml pour des souris adultes. Cette espèce serait donc 10 fois moins susceptible à l'infection que *Cx. univittatus* et 10 fois plus que *Cx. pipiens* (Jupp 1976).

Culex tarsalis présente des taux de transmission équivalents à ceux de *Cx. pipiens* (Goddard *et al.* 2002), mais semble plus sensibles à l'infection (Reisen *et al.* 2005). De plus, le virus *West Nile* se développe quasiment de la même manière à 26 ou 30°C chez *Cx. tarsalis* (Reisen *et al.* 2005), alors que ce n'est pas le cas chez *Cx. pipiens* (Dohm *et al.* 2002a). Aux États-Unis, *Cx. nigripalpus*, *Cx. restuans*, *Cx. salinarius*, *Culex stigmatosoma* Dyar et *Culex erythrothorax* Dyar sont capables de transmettre expérimentalement le virus *West Nile* (Sardelis *et al.* 2001 ; Goddard *et al.* 2002 ; Ebel *et al.* 2005). Le nombre d'études leur étant consacrées est trop petit pour mettre en évidence une différence de compétence avec *Cx. pipiens*, sauf peut être pour *Cx. nigripalpus*, qui semble moins compétent (Sardelis *et al.* 2001).

Les espèces d'*Aedes*. Pour le virus *West Nile*, la compétence vectorielle a été sans conteste la plus étudiée chez les espèces du genre *Culex*. Pourtant, c'est avec une espèce du genre *Aedes* que la capacité des moustiques à transmettre le virus a été établie pour la première fois en 1943 (Philip et Smadel 1943). D'autres études ont démontré la capacité des espèces du genre *Aedes* à transmettre le virus *West Nile* en laboratoire, mais sans en mesurer la compétence (Goldwasser et Davies 1953 ; Davies et Yoshpe-Purer 1954 ; Varma 1960 ; Vermeil *et al.* 1960 ; Nir 1963). Depuis l'émergence du virus *West Nile* aux États-Unis, plusieurs *Aedes* ont été testés pour leur compétence vectorielle, la plupart de façon ponctuelle.

La quasi-totalité des espèces d'*Aedes* sont capables après exposition orale de transmettre le virus *West Nile* par piqure. En revanche, la plupart des espèces d'*Aedes* sont peu compétentes et présentent des taux de transmission toujours faibles par rapport à *Cx. pipiens*, comme *Ae. vexans*, *Ae. taeniorhynchus*, *Aedes sollicitans* (Walker), *Aedes dorsalis* (Meigen), *Aedes melanimon* Dyar, *Aedes sierrensis* (Ludlow), *Aedes canadensis* (Theobald), *Aedes triseriatus* (Say) (Turell *et al.* 2000 ; Turell *et al.* 2001 ; Goddard *et al.* 2002 ; Turell *et al.* 2005).

Aedes trivittatus et *Ae. albopictus* sont légèrement moins sensibles à l'infection que *Cx. pipiens* (Tiawsirisup *et al.* 2004), mais présentent, lorsque la dose virale est forte, des taux de transmission équivalents pour *Ae. trivittatus* et peut-être supérieurs pour *Ae. albopictus* (Tiawsirisup *et al.* 2005a). Cette dernière espèce est souvent qualifiée de très compétente. Cette affirmation doit être nuancée par le fait que la majorité des études ont été réalisées à partir d'individus d'élevage, alors que les individus capturés sur le terrain avaient des taux de transmission plus faibles, équivalents à ceux de *Cx. pipiens* (Sardelis *et al.* 2002). Seules deux espèces pourraient être considérées comme plus compétentes que *Cx. pipiens*, il s'agit

d'*Aedes atropalpus* (Coquillett), mais l'étude, unique, ne porte que sur 12 individus, et d'*Aedes japonicus* (Theobald) (Turell *et al.* 2001). Chez cette dernière espèce, les taux d'infection sont équivalents à ceux de *Cx. pipiens* et les taux de transmission plus élevés (Sardelis et Turell 2001). L'échappement à la barrière intestinale semble plus rapide et complet, le virus étant retrouvé dès le troisième jour d'incubation à 26 °C dans les pattes d'*Ae. japonicus* contre le 11^e jour chez *Cx. pipiens* (Sardelis et Turell 2001).

Enfin, la capacité à transmettre le virus *West Nile* a été démontrée pour *An. plumbeus*, sans quantification de sa compétence (Vermeil *et al.* 1960), et pour *Culiseta inornata* (Williston), dont la compétence peut être qualifiée de faible par rapport à *Cx. pipiens* (Goddard *et al.* 2002).

Pour conclure ce chapitre, il faut rappeler qu'une bonne compétence vectorielle n'est pas la seule caractéristique d'un vecteur et qu'une espèce très compétente peut être un mauvais vecteur, à cause d'une biologie incompatible avec la transmission (Rodhain 1985). Aux Etats-Unis, il ne semble pas exister de vecteur présentant une très grande compétence (comme *Cx. univittatus*). Cette absence pourrait expliquer le maintien d'une souche qui provoque chez les oiseaux une forte virémie. En effet, les souches de l'encéphalite de Saint Louis isolées chez *Cx. pipiens*, vecteur médiocre, provoquent des virémies beaucoup plus importantes chez les moineaux domestiques que celles isolées de *Cx. tarsalis*, bon vecteur (Bowen *et al.* 1980).

En résumé, c'est *Ae. albopictus* qui a permis de démontrer dès 1943 la compétence vectorielle des moustiques pour le virus *West Nile*. Par la suite, la compétence vectorielle a été étudiée en détail pour les espèces supposées impliquées dans les cycles de transmission, à savoir des espèces du genre *Culex*.

Culex univittatus possède les caractéristiques d'un excellent vecteur du virus *West Nile* : faible seuil d'infectivité et taux de transmission pouvant atteindre 100 %. D'autres espèces de *Culex* semblent très compétentes, mais les données disponibles sont moins nombreuses ; il s'agit de *Cx. tritaeniorhynchus*, *Cx. antennatus*, *Cx. theileri* et *Cx. neavei*. La plupart des autres *Culex* présentent une compétence vectorielle moyenne, équivalente à celle de *Cx. pipiens* ou de *Cx. quinquefasciatus*. C'est par exemple le cas de la majorité des *Culex* testés aux États-Unis.

La quasi-totalité des *Aedes* ont une compétence vectorielle faible à très faible, sauf *Ae. albopictus* et *Ae. trivittatus*, qui présentent une compétence vectorielle quasiment équivalente à *Cx. pipiens*. Seuls *Ae. atropalpus* et *Ae. japonicus* semblent pouvoir être considérés comme de meilleurs vecteurs expérimentaux que *Cx. pipiens*, mais leurs seuils d'infectivité n'ont pas été déterminés.

2. Infections expérimentales des candidats vecteurs

2.1. Expériences préliminaires

Une première série d'infections expérimentales a été réalisée dans l'unité Rétrovirus et pathologie comparée (INRA/ENVL/Université Lyon). Peu de résultats ont été obtenus de ces expériences à cause de contraintes logistiques. Nous en résumons ici le déroulement.

Moustiques. Ces infections expérimentales ont été réalisées avec *Ae. caspius*, *Ae. vexans* et *Cx. pipiens*. Tous les individus testés (F0) ont été collectés en 2005 à la Tour du Valat.

Virus. La souche virale utilisée a été isolée en 2000 du bulbe rachidien d'un cheval infecté en Camargue (Murgue *et al.* 2001b). Le stock viral a été fourni par le Centre national de référence des arboviroses et fièvres hémorragiques de Lyon. Les repas infectieux ont été préparés en diluant le stock viral dans un volume de sang héparinisé de canard ou de cheval pour obtenir un titre final de $10^{5,0}$ PFU/ml.

Étude de la compétence vectorielle. Les femelles ont été privées de sucrose 24 heures avant d'être exposées au virus sur membrane (Vazeille-Falcoz *et al.* 1999) pour les *Aedes* et sur coton imbibé pour les *Culex*. Seules les femelles gorgées ont été conservées (température de 23 ± 2 °C et humidité relative supérieure à 70 %) et maintenues grâce à une solution de sucrose à 10 %. Quand le nombre de femelles exposées a été suffisant, ces femelles ont été sacrifiées par lot à intervalles réguliers. Les femelles sacrifiées ou retrouvées mortes ont été disséquées pour extraire les glandes salivaires. Des squashes ont été réalisés avec une des glandes salivaires et la tête entière du moustique. Le reste du corps et l'autre glande salivaire ont été placés en cryotube et conservés à - 80 °C. L'infection des échantillons a été testée par immunofluorescence (IFI) (Kuberski et Rosen 1977). Les IFI et la lecture des lames ont été réalisées dans l'unité Insectes et maladies infectieuses de l'Institut Pasteur de Paris.

Résultats. Au total, un repas sanguin a été proposé à 80 *Ae. caspius* (en deux essais *a* et *b*), 81 *Ae. vexans* et 204 *Cx. pipiens*. Seuls 18 *Ae. caspius*, 15 *Ae. vexans* et 52 *Cx. pipiens* se sont gorgés. Le détail du nombre de moustiques disséqués en fonction du temps d'incubation est donné dans le tableau 3. Quel que soit l'essai, le titre viral des repas sanguins reste le même, à savoir de l'ordre de $10^{3,0}$ PFU/ml, soit 2 log de moins que le titre attendu. Aucune infection disséminée ou infection des glandes salivaires n'a été détectée par IFI sur l'ensemble des 85 moustiques testés.

Tableau 3 : Infections expérimentales préliminaires avec le virus *West Nile*.

Nombre de moustiques exposés oralement au virus *West Nile* ($10^{3.0}$ PFU/ml) et sacrifiés ou retrouvés mort en fonction du temps d'incubation à 23 ± 2 °C. NB : les repas infectieux sont constitués de sang de canard pour *Cx. pipiens* et *Ae. caspius* (essai a) et de sang de cheval pour *Ae. vexans* et pour *Ae. caspius* (essai b).

Espèce	Jour de l'incubation													Total
	J0	J4	J5	J6	J7	J8	J9	J11	J12	J16	J18	J19	J20	
<i>Aedes caspius</i> (a)		1				1			4					6
<i>Ae. caspius</i> (b)	3			1		1			1	6				12
<i>Ae. vexans</i>	3		1	1		1	1	1	3	4				15
<i>Culex pipiens</i>	4	4	1		1	10			10	10	2	1	9	52
														Total 85

Discussion. La différence entre le titre viral des repas infectieux attendu et celui obtenu reste inexpliquée. Il est possible que des cycles congélation/décongélation aient entraîné une dégradation rapide du virus. Un tel titre n'est pas suffisant pour obtenir l'infection d'un nombre significatif de moustiques, surtout après un repas artificiel. De plus, l'absence d'insectarium dans le L3 impose des repas infectieux en milieu très ventilé. Ces contraintes logistiques ont entraîné une forte mortalité pour les *Aedes* et un faible taux de gorgement (entre 20 et 25 %). La présence de génome viral a été recherchée par RT-PCR sur certains de ces moustiques (10 au total) par H. Uteene dans le cadre d'un master de recherche (Uteene 2005). Les 2 *Ae. caspius* disséqués à J4 et J8 se sont révélés positifs. L'infection des pattes et ailes d'un des *Ae. caspius* pose la question d'une possible infection disséminée non détectée par IFI. Ces observations sont néanmoins très limitées. Pour compléter ce travail, les corps et les glandes salivaires des moustiques exposés ont été analysés en RT-PCR quantitative par F. Fouque à la Cellule d'intervention biologique d'urgence de l'Institut Pasteur de Paris. Les résultats préliminaires ne mettent pas en évidence de virus *West Nile* dans les échantillons testés.

Les difficultés logistiques se sont révélées trop pénalisantes. Elles sont liées exclusivement à l'infrastructure, qui n'est pas conçue à l'origine pour ce genre d'expérimentation. Il a donc été décidé de réaliser une autre série d'infections expérimentales à l'Institut Pasteur de Paris.

2.2. Compétence vectorielle des candidats vecteurs

2.2.1 Compétence vectorielle de *Culex modestus*, *Culex pipiens* et

Aedes caspius

Ces études font l'objet d'une publication en préparation qui est intégrée au texte. Ensuite, des informations et expérimentations complémentaires sont exposées pour chacune des espèces testées.

Vector Competence of Some French *Culex* and *Aedes* Mosquitoes for West Nile Virus

Thomas Balenghien,* Marie Vazeille,† Marc Grandadam,‡ Francis Schaffner,§ Hervé Zeller,** Paul Reiter, †† Philippe Sabatier,* Florence Fouque,‡‡ and Dominique J. Bicout*

*Biomathematics and Epidemiology Unit – EPSP, TIMC – National Veterinary School of Lyon, France; † Insects and Infectious Diseases Unit and Virology Department (present affectation), Pasteur Institute, Paris, France; ‡ Tropical Virology Unit, Tropical Medicine Institute of Army Health Services (IMTSSA), Marseille, France; § Entomology Unit, EID-Méditerranée (Mosquito Control Agency), Montpellier, France; ** National Reference Center for Arbovirus and Viral Hemorrhagic Fevers, Pasteur Institute, Lyon, France; †† Insects and Infectious Diseases Unit, Pasteur Institute, Paris, France; and ‡‡ CIBU, Pasteur Institute, Paris, France

To identify the French mosquito species able to sustain the transmission of *West Nile Virus* (WNV) in the Camargue region (main WNV focus of Southern France), we tested for vector competence *Culex modestus* and *Culex pipiens*, the most abundant bird-feeders, and *Aedes caspius*, the most abundant mammophilic species occasionally found engorged with avian blood. *Culex modestus* was found to be an extremely efficient laboratory WNV vector and can thus be considered the main enzootic and epidemic WNV vector in wetlands of the Camargue. *Culex pipiens* was a moderate efficient laboratory WNV vector, but can play the main role in WNV transmission between birds and from birds to mammals in dry areas of the region. *Aedes caspius* was a poor efficient laboratory WNV vector and despite its high densities, its role in WNV transmission may be minor in Southern France.

The transmission of *West Nile virus* (WNV) by mosquitoes was first demonstrated experimentally in 1943 in *Aedes albopictus* (1). Vector competence for WNV is well documented for numerous *Culex* species in countries where WNV circulation has occurred: *Culex antennatus*, *Culex pipiens* and *Culex univittatus* in Egypt and Israel (2-4), *Culex quinquefasciatus* in India (5), *Cx. univittatus*, *Culex theileri*, *Cx. quinquefasciatus* and *Culex neavei* in South Africa (6-9), and *Culex tritaeniorhynchus* in Pakistan (10, 11). Since the introduction of WNV in the USA, numerous North American mosquito species, both *Culex* and *Aedes* species, have been tested for susceptibility to transmit experimentally WNV (12-16). *West Nile* fever has been known in Europe for almost 50 years. Human and equine outbreaks have been regularly reported from countries of southern and central Europe, with an increase in frequency and severity since 1994 (17). Nevertheless, although identifying which species have the greatest potential for transmission is essential for risk assessment, few European mosquito species (*Aedes geniculatus*, *Aedes punctor*, and *Anopheles plumbeus*) have been tested for susceptibility to transmit experimentally WNV (18).

West Nile fever was first reported in France in the 1960s, with equine outbreaks and human cases in the Camargue region (Rhône river delta) (19, 20). In 1964, WNV was isolated from *Culex modestus* field-

collected individuals in wetlands of the Camargue and from the blood of two entomologists who were collecting these mosquitoes (21). This species was thereafter considered the main vector in southern France, but has never been tested for susceptibility to transmit experimentally WNV (22). After 35 years of silence, WNV equine outbreaks occurred in the Camargue region in 2000 (23). Its circulation the following years was attested by equine outbreak in 2004 (24) and seroconversions of sentinel birds in 2001 and 2002 (25). This circulation was reported in delta wetlands and in neighboring areas, including southern wetlands and dry northern areas (26, 27).

To assist public health personnel in focusing survey protocols and vector control, we conducted laboratory studies to evaluate the vector competence of potential WNV vectors in southern France (28): *Cx. modestus*, *Cx. pipiens* and *Aedes caspius*.

Material and methods

Mosquitoes

Culex pipiens and *Cx. modestus* were tested because they are the most abundant bird-feeders in wetlands of the Camargue and *Cx. pipiens* is the most abundant bird-feeder in dry areas (28). *Aedes caspius* was tested because it is the most abundant mammophilic species in the whole Camargue. It feeds aggressively on humans and horses and is able to engorge on birds,

Table 1. Date and location of the collection of the mosquito species tested

Species	Collection location (French department)	Collection month
<i>Culex pipiens</i>	Tour du Valat, Arles (Bouches-du-Rhône)	08/2005
<i>Cx. modestus</i>	Lattes (Hérault)	07/2005
<i>Aedes caspius</i>	Mas de Badet, Saintes-Maries-de-la-Mer (Bouches-du-Rhône)	08/2005

acting as a potential “bridge” vector (28). The individuals tested were collected in breeding sites of the Camargue region as larvae for *Culex* species and as eggs for *Aedes* species (Table 1).

Culex species were colonized in laboratory. Larvae were reared in pans with tap water and yeast tablets. Adults were maintained with 10% sucrose solution and allowed to feed on heparinised rabbit blood for egg production. Eggs of *Ae. caspius* were hatched and larvae reared to the adult stage in the same conditions than *Culex* larvae.

Larvae and adults of all species were reared at $26\pm1^\circ\text{C}$ with $>50\%$ relative humidity and a 16 hr photophase with 1.5hr simulated dawn crepuscular period.

Virus

The WNV strain used (GenBank accession number: AY268132) was isolated on Vero E6 cells in 2000 from the rachidian bulb of an infected horse in Camargue (23) and passed four times on Vero E6 cells. The viral stock used in this study was produced on C6/36 clones of *Ae. albopictus* (29). The mosquito cells were maintained at 28°C on D-MEM supplemented with non essential amino acids, penicillin, streptomycin and 10% heated-inactivated fetal calf serum. The percentage of infected cells was monitored during the incubation period by indirect fluorescent antibody assay (IFA) (30). When 100% of the cells were infected, the supernatant fluid was collected and the pH was adjusted to 7.5 with 10% sodium bicarbonate. The viral stock was divided into aliquots and stored at -80°C until used.

Titration of the viral stock was carried out by plaque assay in twelve-well tissue culture plates containing monolayers of Vero E6 cells. Serial dilutions of the viral stock were inoculated (1 mL of each dilution) to confluent Vero E6 cells at 37°C in a 5% CO_2 atmosphere for one hour. Cells were then maintained on Carboxyl Methyl Cellulose and D-MEM with 10% heated-inactivated fetal calf serum at 37°C in a 5% CO_2 atmosphere during 96 h of incubation. Cells were overlaying with 1/80 neutral red solution the day before the count. Plaques were then counted and virus concentrations were calculated as PFU/mL.

Vector competence studies

The feeding protocol used was adapted from Vazeille *et al.* (31). Females were deprived of

sucrose solution 24 hr prior to the infectious meal and then allowed to feed, for less than 90 min through a chicken-skin membrane, on the feeding mixture maintained at 37°C . The infectious meal consisted of two-thirds washed rabbit erythrocytes, one-third virus suspension, and adenosine triphosphate (ATP, as phagostimulant) at a final concentration of 5×10^{-3} M. Engorged females were transferred to small cardboard containers and maintained at $26\pm0.5^\circ\text{C}$ for 14 or 21 days.

Salivary secretions were collected after 14 incubation days from some females, using a method adapted from Aitken (32). Females were immobilized by cold; their wings and legs were removed. The entire proboscis was inserted into a glass capillary tube containing 5 μl of D-MEM. After 20 min of feeding, the residual meal was ejected into an Eppendorf tube and stored at -80°C until RNA assay.

Disseminated infection was assessed by WNV detection by IFA on head squashes. We defined the dissemination rate as the percentage of females exposed that contained WNV in their head. The presence of WNV RNA was assessed in salivary secretions using a real time reverse transcriptase-polymerase chain reaction (RT-PCR). Briefly, salivary secretion samples (5 μl) were adjusted to 200 μl with PBS. RNA extraction was performed on a MagnaPure instrument (Roche Diagnostics, Meylan, France) with the RNA Isolation Hight Performance kit (Roche Diagnostics, Meylan, France) according to the manufacturer's instruction. Purified RNA (4 μl) was submitted. Samples with a threshold cycle (C_t) value below 40 were designated as positive, and those above 40 were negative. Transmission rate was the percentage of salivary secretions tested that contained WNV RNA.

Statistical analysis

Dissemination and transmission rates were compared between species and incubation time using the Fisher exact test calculated with StatView 4.57 (Abacus Concepts, Berkeley, CA). Differences were considered statistically significant at $\alpha \leq 0.05$.

Results

Dissemination rates were assessed on 234 *Cx. pipiens*, 37 *Cx. modestus* and 124 *Ae. caspius* at 14 days post exposure and 31 *Cx. pipiens* and 20 *Ae. caspius* at 21 days post exposure. Transmission rates were assessed on 57 *Cx. pipiens*, 22 *Cx. modestus* and 42 *Ae. caspius* at 14 days post exposure (Table 2). The 3 species examined in this study were susceptible to develop a disseminated infection with WNV after oral exposure with $10^{10.3}$ PFU/mL, but with marked differences (Table 2). After 14 incubation days, the dissemination rate is very high ($\approx 90\%$) for *Cx. modestus*, moderate ($\approx 40\%$) for *Cx. pipiens* and very low ($\approx 1\%$) for *Ae. caspius* ($p < 0.0001$). From 14 to 21 incubation days, the dissemination rate seemed to increase for *Cx. pipiens* and *Ae. caspius*.

Table 2. Dissemination and transmission rates for mosquitoes 14 or 21 days (at 26 ± 0.5 °C) after oral exposure to *West Nile virus* ($10^{10.3}$ PFU / ml)

Species	Generation	Replicate	Dissemination rate ^a at 14 days	Transmission rate ^b at 14 days	Dissemination rate ^a at 21 days
<i>Culex pipiens</i>	F1	1	28/76 (36.8%)	ND ^c	16/31 (51.6%)
		2	62/158 (39.2%)	9/57 (15.8%)	ND
		Total	90/234 (38.5%)	9/57 (15.8%)	16/31 (51.6%)
<i>Cx. modestus</i>	F3	1	5/6	4/6	
		2	3/3	1/3	
	F4	1	9/10	5/10	
		2	3/3	2/3	
		3	7/8	ND	
		4	6/7	ND	
		Total	33/37 (89.2%)	12/22 (54.5%)	ND
<i>Aedes caspius</i>	F0	Total	1/124 (0.8%)	0/42	1/20 (5.0%)

^aNo. females positive by IFA / No. females tested (percentage)
^bNo. saliva positive by real time RT-PCR / No. saliva tested (percentage)
^cNot determined

WNV RNA was detected only in saliva of the *Culex* females. The estimated transmission rate was 54.5% for *Cx. modestus* and 15.8% for *Cx. pipiens* ($p < 0.002$). WNV RNA was detected in 57.9% of the females with a disseminated infection for *Cx. modestus* and in 35.0% for *Cx. pipiens*. Unfortunately, the 42 females *Ae. caspius* tested for the presence of WNV RNA in saliva were negative by IFA. Thus, no saliva of *Ae. caspius* females with a disseminated infection was tested for the presence of WNV RNA.

Discussion

The titre of the infectious meal was compatible with viremias of experimental infected Passeriformes in USA (33). Indeed, for different arboviruses (34), including WNV (35), one admits that artificial blood meals are less infectious than viremic animals. The low number of *Cx. modestus* tested in each replicate could be explained by the poor engorgement level of this species on artificial system (always less than 10%). The RNA detection rate for females with a disseminated infection seemed to be low for *Culex* species compared to the disseminated transmission rates regularly estimated in recent studies in USA: $\approx 90\%$ for *Cx. pipiens* (36). WNV transmission rates estimated with capillary methods are always lower than those based on biting tests on naïve animals (37). Thus, our results probably underestimate the number of females with a disseminated infection able to transmit WNV by bite.

Culex modestus was found naturally infected with WNV in southern France in the 1960s (21) and recently in Russia (38). As, to our knowledge, its experimental ability of transmitting WNV by bite has never been established, we confirmed the infectious status of some saliva of females with a disseminated infection by intrathoracic inoculation to *Aedes aegypti* individuals (data not shown). Results show that 90% of the exposed *Cx. modestus* females develop a disseminated infection (versus 40% for

Cx. pipiens). This species can thus be considered an extremely efficient laboratory WNV vector. *Culex modestus* larvae can be found in semi-permanent reed marshes, irrigation canals or rice fields (39). This species is thus associated with wetland ecosystems (river deltas or floodplain ecosystems). *Culex modestus* shows very low dispersal ability in open lands and high densities of aggressive females remain localized in breeding and resting places: reed marshes and riverine forest in the Camargue (22). *Culex modestus* feeds mainly on birds (28). In the Camargue, It can thus be involved in very efficient rural WNV cycles between wetland birds in breeding or resting sites where mosquito and bird densities are high, such as reed marshes. As this species also feeds aggressively on humans and horses (22, 28), it can transmit the virus to human or mammal populations meeting the vector in these sites.

In Europe, *Cx. pipiens* was found naturally infected by WNV in Czech Republic (40), in Portugal (41), Romania (42) and Russia (38). The ability of this species to transmit WNV by bite was regularly established in different countries (2, 3, 13, 43, 44). The French population of *Cx. pipiens* tested can be considered a moderate laboratory WNV vector. This species is found in the whole Camargue (39). Being the main bird-feeder in the whole Camargue (28), *Cx. pipiens* can be involved in enzootic WNV cycles as the main vector in dry areas and a secondary vector in wetlands. *Culex pipiens* is also the most abundant species collected engorged on horses in dry areas (28) ; it can thus be considered the main WNV epidemic vector in dry areas of WNV transmission.

The last species tested, *Ae. caspius*, is able to transmit WNV by bite after intrathoracic inoculation (11). Only a very low number of females orally exposed with WNV developed a disseminated infection. This species can be considered a poor efficient WNV laboratory vector. Peak of abundance occurs in September following fall rains. In periods of

high densities, it has already been found engorged with avian blood (28) and can then disperse in the whole Camargue. Exceptional densities can reach >250,000 *Ae. caspius*, as in September 2005 (one night catch in a single CO₂ trap) (Schaffner F., pers. comm.). Although these densities may partly compensate for its low competence level for WNV, its role in WNV transmission may remain anecdotic.

In wetlands of Camargue, *Aedes vexans* is an abundant horse feeder and can be found engorged with avian blood at the end of summer (28). Although this species is considered a relatively inefficient WNV laboratory vector in US (16), it would be interesting to test the susceptibility of the French populations. Moreover, the determination of the oral dose allowing the infection of 50% of the exposed *Culex* mosquitoes is necessary to better understand the relative role of both *Culex* species in WNV transmission in southern France.

Acknowledgements

Authors thank A. Carron of the Entomology Unit, EID-Méditerranée, for providing the eggs of *Ae. caspius* and S. Murri of the National Reference Center for Arbovirus and Viral Hemorrhagic Fevers, Pasteur Institute, for the virus titration.

Thomas Balenghien is a DVM preparing a PhD at the Unit of Biomathematics and Epidemiology of the National Veterinary School of Lyon. His current research focuses on the epidemiology of vector-borne diseases, and especially on medical entomology and epidemiological modeling.

References

- Philip CB, Smael JE. Transmission of West Nile virus by infected *Aedes albopictus*. *Proc Soc Exp Biol Med*. 1943;48:537-48.
- Tahori AS, Sterk VV, Goldblum N. Studies on the dynamics of experimental transmission of West Nile virus by *Culex molestus*. *Am J Trop Med Hyg*. 1955 Nov;4(6):1015-27.
- Hurlbut HS. West Nile virus infection in arthropods. *Am J Trop Med Hyg*. 1956 Jan;5(1):76-85.
- Taylor DJ, Hurlbut HS. Isolation of West Nile Virus from *Culex* Mosquitoes. *J Egypt Med Assoc*. 1953;36(3):199-208.
- Varma MGR. Preliminary studies on the infection of Culicine mosquitoes with the Tamilnad strain of West Nile virus. *Indian J Med Res*. 1960;48:537-48.
- Jupp PG, McIntosh BM. Quantitative experiments on the vector capability of *Culex* (*Culex*) pipiens fatigans Wiedemann with West Nile and Sindbis viruses. *J Med Entomol*. 1970 May 30;7(3):353-6.
- Jupp PG, McIntosh BM. Quantitative experiments on the vector capability of *Culex* (*Culex*) univittatus Theobald with West Nile and Sindbis viruses. *J Med Entomol*. 1970 May 30;7(3):371-3.
- Jupp PG, McIntosh BM, Blackburn NK. Experimental assessment of the vector competence of *Culex* (*Culex*) neavei Theobald with West Nile and Sindbis viruses in South Africa. *Trans R Soc Trop Med Hyg*. 1986;80(2):226-30.
- Jupp PG, McIntosh BM, Dickinson DB. Quantitative experiments on the vector capability of *Culex* (*Culex*) theileri Theobald with West Nile and Sindbis viruses. *J Med Entomol*. 1972;9(5):393-5.
- Hayes CG, Basit A, Bagar S, Akhter R. Vector competence of *Culex tritaeniorhynchus* (Diptera: Culicidae) for West Nile virus. *J Med Entomol*. 1980 Mar 31;17(2):172-7.
- Akhter R, Hayes CG, Baqar S, Reisen WK. West Nile virus in Pakistan. III. Comparative vector capability of *Culex tritaeniorhynchus* and eight other species of mosquitoes. *Trans R Soc Trop Med Hyg*. 1982;76(4):449-53.
- Ebel GD, Rochlin I, Longacker J, Kramer LD. *Culex restuans* (Diptera: Culicidae) Relative Abundance and Vector Competence for West Nile Virus. *J Med Entomol*. 2005;42(5):838-43.
- Goddard LB, Roth AE, Reisen WK, Scott TW. Vector competence of California mosquitoes for West Nile virus. *Emerg Infect Dis*. 2002 Dec;8(12):1385-91.
- Reisen WK, Fang Y, Martinez VM. Avian host and mosquito (Diptera: Culicidae) vector competence determine the efficiency of West Nile and St. Louis encephalitis virus transmission. *J Med Entomol*. 2005 May;42(3):367-75.
- Sardelis MR, Turell MJ, Dohm DJ, O'Guinn ML. Vector competence of selected North American *Culex* and *Coquillettidia* mosquitoes for West Nile virus. *Emerg Infect Dis*. 2001 Nov-Dec;7(6):1018-22.
- Turell MJ, Dohm DJ, Sardelis MR, O'Guinn ML, Andreadis TG, Blow JA. An update on the potential of north American mosquitoes (Diptera: Culicidae) to transmit West Nile Virus. *J Med Entomol*. 2005 Jan;42(1):57-62.
- Hubalek Z. European experience with the West Nile virus ecology and epidemiology: could it be relevant for the New World? *Viral Immunol*. 2000;13(4):415-26.
- Vermeil C, Lavillaureix J, Reeb E. Sur la conservation et la transmission du virus West Nile par des arthropodes. *Bull Soc Pathol Exot*. 1960 Mar-Apr;53:273-9.
- Panthier R, Hannoun C, Beytout D, Mouchet J. Épidémiologie du virus West Nile : étude d'un foyer en Camargue. III. Les maladies humaines. *Ann Inst Pasteur (Paris)*. 1968 Sep;115(3):435-45.
- Joubert L, Oudar J, Hannoun C, Beytout D, Corniou B, Guillon JC, et al. Épidémiologie du virus West Nile : étude d'un foyer en Camargue. IV. La méningo-encéphalomyélite du cheval. *Ann Inst Pasteur (Paris)*. 1970 Feb;118(2):239-47.
- Hannoun C, Panthier R, Mouchet J, Eouzan JP. Isolement en France du virus West-Nile à partir de malades et du vecteur *Culex modestus* Ficalbi. *C R Acad Sci Hebd Seances Acad Sci D*. 1964 Nov 30;259:4170-2.
- Mouchet J, Rageau J, Laumond C, Hannoun C, Beytout D, Oudar J, et al. Épidémiologie du virus West Nile : étude d'un foyer en Camargue V. Le

- vecteur : *Culex modestus* Ficalbi Diptera ; Culicidae. Ann Inst Pasteur (Paris). 1970 Jun;118(6):839-55.
23. Murgue B, Murri S, Zientara S, Durand B, Durand JP, Zeller H. West Nile outbreak in horses in southern France, 2000: the return after 35 years. Emerg Infect Dis. 2001 Jul-Aug;7(4):692-6.
 24. Zeller H, Zientara S, Hars J, Languille J, Mailles A, Tolou H, et al. West Nile outbreak in horses in Southern France: September 2004. Euro Surveill. 2004;8(41):(available at <http://www.eurosurveillance.org/ew/2004/041007.as> p#3).
 25. Zeller HG, Schuffenecker I. West Nile virus: an overview of its spread in Europe and the Mediterranean basin in contrast to its spread in the Americas. Eur J Clin Microbiol Infect Dis. 2004 Mar;23(3):147-56.
 26. Durand B, Chevalier V, Pouillot R, Labie J, Marendat I, Murgue B, et al. West Nile virus outbreak in horses, southern France, 2000: results of a serosurvey. Emerg Infect Dis. 2002 Aug;8(8):777-82.
 27. Jourdain E, Toussaint Y, Leblond A, Bicout DJ, Sabatier P, Gauthier-Clerc M. Bird Species Potentially Involved in Introduction, Amplification and Spread of West Nile Virus in a Mediterranean Wetland, the Camargue (Southern France). Vector Borne Zoonotic Dis. 2006;to be published.
 28. Balenghien T, Fouque F, Sabatier P, Bicout DJ. Horse, bird and human-seeking behavior and seasonal abundance of mosquitoes in a West Nile virus focus of southern France. J Med Entomol. 2006;43(5):936-46.
 29. Igarashi A. Isolation of a Singh's *Aedes albopictus* cell clone sensitive to dengue and chikungunya viruses. J Gen Virol. 1978;40:531-44.
 30. Kuberski TT, Rosen L. A simple technique for the detection of dengue antigen in mosquitoes by immunofluorescence. Am J Trop Med Hyg. 1977 May;26(3):533-7.
 31. Vazeille-Falcoz M, Mousson L, Rodhain F, Chungue E, Failloux AB. Variation in oral susceptibility to dengue type 2 virus of populations of *Aedes aegypti* from the islands of Tahiti and Moorea, French Polynesia. Am J Trop Med Hyg. 1999 February 1; 1999;60(2):292-9.
 32. Aitken THG. An in vitro feeding technique for artificially demonstrating virus transmission by mosquitoes. Mosq News. 1977;37(1):130-3.
 33. Komar N, Langevin S, Hinten S, Nemeth N, Edwards E, Hettler D, et al. Experimental Infection of North American Birds with the New York 1999 Strain of West Nile Virus. Emerg Infect Dis. 2003;9(3):311-22.
 34. Turell MJ. Reduced Rift Valley fever virus infection rates in mosquitoes associated with pledged feedings. Am J Trop Med Hyg. 1988;39(6):597-602.
 35. Jupp PG. The susceptibility of four South African species of *Culex* to West Nile and Sindbis viruses by two different infecting methods. Mosq News. 1976;36(2):166-73.
 36. Turell MJ, O'Guinn ML, Dohm DJ, Jones JW. Vector competence of North American mosquitoes (Diptera: Culicidae) for West Nile virus. J Med Entomol. 2001 Mar;38(2):130-4.
 37. Cornel AJ, Jupp PG. Comparaison of three methods for determining transmission rates in vector competence studies with *Culex univittatus* and West Nile and Sindbis viruses. J Am Mosq Control Assoc. 1989;5(1):70-2.
 38. Fyodorova MV, Savage HM, Lopatina JV, Bulgakova TA, Ivanitsky AV, Platonova OV, et al. Evaluation of Potential West Nile Virus Vectors in Volgograd Region, Russia, 2003 (Diptera: Culicidae) : Species Composition, Bloodmeal Host Utilization, and Virus Infection Rates of Mosquitoes. J Med Entomol. 2006;43(3):552-63.
 39. Rioux JA. Les Culicidés du "Midi méditerranéen". Etude systématique et écologique. Paris: Editions Paul Lechevalier; 1958.
 40. Hubalek Z, Halouzka J, Juricova Z, Sebesta O. First isolation of mosquito-borne West Nile Virus in the Czech Republic. Acta Virol. 1998;42:119-20.
 41. Esteves A, Almeida APG, Galão RP, Parreira R, Piedade J, Rodrigues JC, et al. West Nile Virus in Southern Portugal, 2004. Vector borne and zoonotic diseases 2005;5(4):410-3.
 42. Savage HM, Ceianu C, Nicolescu G, Karabatsos N, Lanciotti R, Vladimirescu A, et al. Entomologic and avian investigations of an epidemic of West Nile fever in Romania in 1996, with serologic and molecular characterization of a virus isolate from mosquitoes. Am J Trop Med Hyg. 1999 Oct;61(4):600-11.
 43. Turell MJ, O'Guinn M, Oliver J. Potential for New York mosquitoes to transmit West Nile virus. Am J Trop Med Hyg. 2000 Mar;62(3):413-4.
 44. Tiawsirisup S, Platt KB, Evans RB, Rowley WA. A Comparison of West Nile Virus Transmission by *Ochlerotatus trivittatus* (Coq.), *Culex pipiens* (L.), and *Aedes albopictus* (Skuse). Vector borne and zoonotic diseases 2005 Spring;5(1):40-7.

2.2.2. Informations et expériences complémentaires

***Culex modestus* : population et élevage.** Nous avons utilisé des individus F3 et F4 d'une population de *Cx. modestus* collectée à l'état de larves dans un gîte de Lattes (département de l'Hérault) en juillet 2005 par l'EID-Méditerranée. Les conditions d'élevage sont décrites dans l'article ci-dessus.

Culex modestus était sténogame. Les accouplements ont été facilement observables et se sont produits posés sur le support. La population en élevage était autogène (observation de F2 à F4). Ces observations sont en contradiction avec de nombreux auteurs, qui décrivent les populations françaises et notamment camarguaises comme eurygames (Callot et Ty 1942, 1944-1945 ; Rioux 1958 ; Mouchet *et al.* 1970). En revanche, de telles populations ont été décrites en Russie (Mouchet *et al.* 1970). Les femelles ont été capables de se gorger sur système artificiel : pot de yaourt et parafilm⁵⁴ ou gorgeur et peau de poulet. Les femelles attirées piquaient, mais peu se gorgeaient. L'ajout d'ATP dans le sang a permis de gorger la majorité des femelles attirées par le système. Les premières pontes ont été observées 4 jours après gorgement à 25 °C, en accord avec Mouchet *et al.* (1970) ou 7 jours après les premières émergences pour les pontes autogènes. Le temps de développement larvaire était long : au minimum 14 jours à 25 °C. Une forte mortalité larvaire a été observée pour toutes les générations avec un faible taux de passage des larves L4 aux nymphes. Ainsi toutes les larves de la 5^e génération sont mortes au stade L4, ne permettant pas un maintien de l'élevage. Ces problèmes d'élevage ne nous ont pas permis d'effectuer des tests de gorgement répétés pour mettre au point le protocole optimal.

Infections expérimentales. *Culex modestus* est très compétent pour le virus *West Nile*, comme le montrent les résultats déjà présentés. Les taux d'infections disséminées ont atteint 90 % et les taux de transmission 55 %. En effet, peu d'espèces développent des taux d'infection disséminée supérieurs à 80 % (Jupp et McIntosh 1970a ; Sardelis *et al.* 2002 ; Tiawsirisup *et al.* 2005a ; Turell *et al.* 2005). A notre connaissance, la capacité de *Cx. modestus* à transmettre le virus *West Nile* par piqure n'a jamais été mise en évidence en conditions de laboratoire. Aussi, pour démontrer cette capacité, avons-nous cherché à isoler du virus de la salive de *Cx. modestus*.

⁵⁴ Le sang est placé dans la partie extérieure et concave du fond d'un pot de yaourt en verre et recouvert de parafilm très étiré. Le pot est placé sur la cage et rempli d'eau à 40 °C. Ce protocole a été mis au point par B. Massonet et N. Corre-Catelin, de l'unité Insectes et maladies infectieuses (Institut Pasteur, Paris).

Cinq femelles présentant une infection disséminée en IFI ont été choisies au hasard. La salive de ces femelles (3 F3 et 2 F4) a été testée pour isolement viral par inoculation intrathoracique d'*Ae. aegypti* (souche Paea) (Rosen et Gubler 1974). L'infection des moustiques inoculés a été testée par IFI sur squashes de tête, après 14 jours à 28 °C (Kuberski et Rosen 1977).

Le virus *West Nile* a été isolé de la salive des 2 femelles F4 testées, mais pas des 3 femelles F3. La conservation des salives dans un faible volume à - 80°C pendant plusieurs jours et la méthode de collecte de la salive peuvent expliquer une sous-estimation du taux de transmission (Cornel et Jupp 1989). Cependant, l'isolement du virus *West Nile* dans la salive de femelles exposées oralement nous a permis de démontrer la capacité de *Cx. modestus* à transmettre le virus *West Nile* par piqure en conditions de laboratoire.

***Culex pipiens* : population et élevage.** La population de *Cx. pipiens* a été collectée à l'aide de pondoirs artificiels sur le domaine de la Tour du Valat en août 2005.

Culex pipiens est une espèce qui s'élève facilement en laboratoire. La population apportée à l'Institut Pasteur était sténogame et anautogène (observation jusqu'à la F2). De telles populations avaient déjà été décrites dans le sud de la France (Rioux *et al.* 1965 ; Pasteur *et al.* 1977). Les femelles étaient capables de se gorger sur système artificiel : pot de yaourt et parafilm ou gorgeur et peau de poulet. Les premières pontes ont été observées 5 jours après gorgement à 25°C. Le temps de développement larvaire était d'environ 10 jours à 25 °C. Les femelles adultes vivaient au maximum 2 mois et demi à 25 °C.

Pour des femelles prises au hasard dans la cage et mises à jeun pendant 24 heures, le taux de gorgement en 20 minutes sur sang total de lapin (avec un protocole tel que celui utilisé pour les repas infectieux) variait entre 2 et 10 %, les taux les plus élevés étant observés lorsque le gorgement s'effectuait au moment du passage du jour à la nuit. Lorsque l'expérience était réalisée avec des femelles sélectionnées pour leur comportement agressif⁵⁵, ce taux augmentait, sans dépasser 25 %. Pour pouvoir travailler plus facilement pendant la période de passage du jour à la nuit, les *Cx. pipiens* ont été transférées dans un insectarium, dont les cycles jour/nuit étaient inversés (période de jour de 18 h à 10 h – période de nuit de 10 h à 18 h). Les meilleurs résultats de gorgement ont été obtenus de la manière suivante. Soixante femelles agressives ont été placées par pot de gorgement. Après 24 heures sans

⁵⁵ Les femelles agressives peuvent être sélectionnées en capturant à l'aspirateur à bouche celles qui se posent sur la main introduite dans la cage ou celles qui sont attirées par un pot d'eau chaude posé sur la cage. L'utilisation d'un pot permet de ne capturer que les femelles ayant un comportement de piqure, alors que certaines femelles non agressives se posent sur la main.

glucose et ni eau, elles ont été autorisées à se gorger sur du sang contenant de l'ATP. Le gorgement a été réalisé aux alentours de 10 h, en plaçant un papier noir autour du gorgeur de manière à laisser les femelles dans la pénombre. Le taux de gorgement pouvait alors atteindre 97 % pour un repas de 40 minutes.

Infections expérimentales. *Culex pipiens* montre une capacité modérée à permettre l'amplification du virus *West Nile*, ce qui est en accord avec les autres études de compétence vectorielle réalisées sur d'autres continents (annexe 2). En revanche, le taux de transmission estimé ici (16 %), était inférieur à ce qui est retrouvée dans les études nord américaines (20 à 70 %) (Turell *et al.* 2001 ; Goddard *et al.* 2002 ; Tiawsirisup *et al.* 2005a). Néanmoins, on sait que la méthode capillaire sous-estime le taux de transmission par rapport au taux observé sur animal naïf (Cornel et Jupp 1989). Ensuite, les faibles volumes récoltés (5 µl de mélange salive, milieu de culture) ont été dilués 40 fois avant d'être testés (volume amplifié 200 µl), ce qui a augmenté d'autant le seuil de détection de la méthode. Le statut infectieux de la salive de *Cx. pipiens* n'a pas été confirmé ici, mais les preuves, de terrain ou de laboratoire, de sa capacité à transmettre le virus *West Nile* abondent.

***Aedes caspius* : population et élevage.** Des échantillons de terre contenant des œufs d'*Ae. caspius* ont été prélevés dans des gîtes connus au Mas de Badet (Saintes-Maries-de-la-Mer) par A. Carron (EID-Méditerranée) en août 2005.

Aedes caspius est eurygame. Aucune femelle disséquée n'a été trouvée fécondée, en accord avec les descriptions classiques (Rioux 1958). Les femelles se sont gorgées facilement sur un système artificiel (pot de yaourt et parafilm). Les premières pontes ont été observées 5 jours après gorgement à 25 °C, tous les œufs étaient stériles. Le temps de développement larvaire était d'environ 7 à 10 jours à 25 °C. La mortalité était nettement plus importante à l'émergence avec l'utilisation de pots à émergence que lors de l'utilisation de plateaux. Pour des femelles prises au hasard dans la cage et mises à jeun pendant 24 heures, le taux de gorgement en 20 minutes sur sang total de lapin (avec un protocole tel que celui utilisé pour les repas infectieux) était supérieur à 70 %.

Infections expérimentales. Les résultats présentés plus haut montrent qu'*Ae. caspius* est un très mauvais vecteur expérimental pour le virus *West Nile*, car il ne permet son amplification que dans moins de 1 % des cas (après 14 jours à 26°C), malgré l'exposition à une dose importante de virus. Seule une population d'*Ae. caspius* du Pakistan a déjà été étudiée pour sa compétence vectorielle vis-à-vis du virus *West Nile* (Akhter *et al.* 1982). Le taux d'infection disséminée n'a pas été estimé, ce qui ne permet pas la comparaison avec nos

résultats. Ces auteurs soulignaient néanmoins la faible compétence d'*Ae. caspius*. En effet, *Ae. caspius* était peu sensible à l'infection, sa DI_{50} était de 90 fois plus élevée que *Cx. tritaeniorhynchus* ($\approx 10^{7,0}$ DLSNN₅₀/ml contre $\approx 10^{5,0}$). Dans nos expériences, la récolte de salive a été réalisée sur un échantillon de femelles exposées, avant d'en connaître le statut d'infection. La salive n'a été récoltée pour aucune des femelles qui présentaient une infection disséminée. Le caractère infectieux de la salive d'une femelle *Ae. caspius* infectée n'a donc pas pu être testé. Néanmoins, on sait que, après inoculation intrathoracique, *Ae. caspius* est capable de transmettre le virus *West Nile* par piqure (Akhter *et al.* 1982).

2.3. Les interactions entre le virus *West Nile* et ses vecteurs

Les infections expérimentales réalisées donnent une image de la compétence vectorielle des espèces pour une durée et une température d'incubation données, une dose virale donnée... Mais, l'infection des moustiques par le virus West Nile est dynamique et influencée par différents facteurs intrinsèques et extrinsèques. Nous discutons ici de ces aspects pour mettre en perspective les résultats obtenus.

Les facteurs intrinsèques. Le système virus-vecteur, aboutissement d'une co-adaptation des deux protagonistes, doit se concevoir en terme de souche virale et de population d'insectes (Rodhain 1985).

La souche virale influe sur la compétence vectorielle estimée, mais peu d'études ont mesuré cet effet de souche pour le virus *West Nile*. En fonction de la souche virale, le seuil d'infectivité (Hayes *et al.* 1980) ou la cinétique virale peuvent être modifiés (Reisen *et al.* 2006c). À l'intérieur d'une espèce, la population testée influe sur la compétence vectorielle. En effet, des différences importantes sont observées dans les populations californiennes de *Cx. tarsalis* et *Cx. quinquefasciatus* en fonction de l'origine géographique (Goddard *et al.* 2002 ; Reisen *et al.* 2005). De même, la quantité de virus dans la salive de moustiques infectants (Colton *et al.* 2005) varie entre populations de *Cx. quinquefasciatus*, mais aussi au sein d'une même population en fonction du moment de l'année (Colton et Nasci 2006). Enfin, la génération d'élevage influe sur la compétence vectorielle. Les taux de transmission d'*Ae. albopictus* sont de 36 et 50 % pour des populations nouvellement colonisées, et de 83 et 92 % pour des populations anciennement colonisées (Sardelis *et al.* 2002). D'autres facteurs, comme l'âge des femelles, pourraient influencer la compétence vectorielle, mais les preuves expérimentales sont plus rares pour le virus *West Nile* (Baqar *et al.* 1980).

De telles différences ont été décrites pour d'autres couples virus-moustique. Ainsi la compétence d'*Ae. aegypti* pour le virus de la dengue est différente selon le pays d'origine de la population (Tardieux *et al.* 1990) ou l'île d'origine en Polynésie française (Vazeille-Falcoz *et al.* 1999). La compétence vectorielle d'*Ae. albopictus* pour ce virus dérive aussi avec le nombre de générations d'élevage (Vazeille *et al.* 2003).

Nous avons donc utilisé une souche virale isolée récemment en Camargue et des populations locales de moustiques nouvellement colonisées, de manière à ce que les résultats de nos infections expérimentales soient directement extrapolables sur le terrain.

Les facteurs extrinsèques. Les facteurs extrinsèques les plus influents pour la compétence vectorielle sont la dose virale ingérée et la température.

Pour illustrer l'influence de la dose virale, reprenons les études complètes menées par Tiawsirisup *et al.* (2004 et 2005a), dans lesquelles des femelles *Cx. pipiens*, *Ae. albopictus* et *Aedes trivittatus* (Coquillett) ont été exposées oralement à des doses croissantes de virus *West Nile* et, pour chaque dose, les taux d'infection, d'infection disséminée et de transmission ont été déterminés (figure 6) après 14 jours d'incubation à 27 °C (Tiawsirisup *et al.* 2004, 2005a).

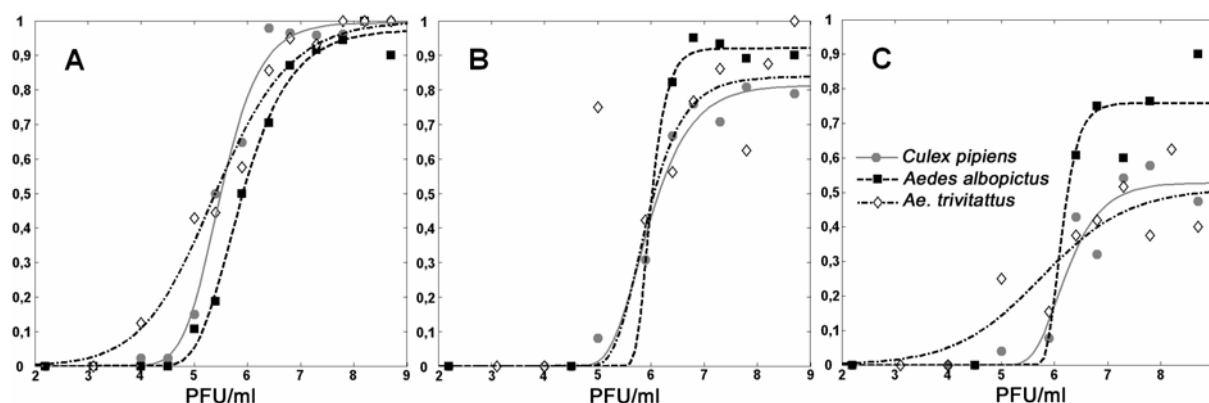


Figure 6 : Illustration de l'effet de la dose virale sur la compétence vectorielle.

Taux d'infection (A), d'infection disséminée (B) et de transmission (C) pour *Cx. pipiens* (rond et trait plein gris), *Ae. albopictus* (carré et trait pointillé noir), *Ae. trivittatus* (losange et trait point noir), en fonction de la dose virale en PFU/ml d'après Tiawsirisup *et al.* (2004 et 2005a). Les symboles correspondent aux données expérimentales, les courbes au modèle (courbe de Richards).

À partir de ces données, la dose virale nécessaire pour infecter 50 % des femelles exposées (DI_{50}) peut être calculée par une méthode classique (Reed et Muench 1938) et permet de comparer les espèces. Les DI_{50} sont de $10^{5,6}$ pour *Cx. pipiens*, $10^{6,3}$ pour *Ae. albopictus* et $10^{5,8}$ PFU/ml pour *Ae. trivittatus*.

Les taux dépendent de la dose virale dans une relation de type sigmoïdale pour les trois espèces. Plus précisément, les données expérimentales sont correctement représentées par une

courbe de Richards⁵⁶ (figure 6). Ainsi, lorsque la dose virale est très faible, le nombre de moustiques qui s'infectent est faible, voire nul. Quand la dose virale dépasse un seuil, les taux de compétence vectorielle atteignent un maximum qui est fonction de l'espèce. À titre d'exemple, par cette représentation, on obtient pour *Cx. pipiens* un maximum de 100 % pour le taux d'infection, de 81 % pour le taux d'infection disséminée et de 53 % pour le taux de transmission. Nous avons illustré ici l'intérêt de tester une gamme complète de doses virales.

De telles études sont nécessaires pour essayer d'évaluer le rôle relatif que peuvent jouer les deux espèces de *Culex* en France. Certains auteurs ont étudié l'influence du profil de la virémie des oiseaux sur le nombre de vecteurs s'infectant au cours du temps (Lord *et al.* 2006). La connaissance de la relation entre dose virale et compétence vectorielle peut permettre de comparer le rôle potentiel des espèces compétentes en fonction du profil de virémie des oiseaux (ou des mammifères). En effet, une espèce de moustique avec un taux de transmission élevé uniquement à dose virale forte n'aura qu'un rôle mineur dans une zone où la virémie des oiseaux reste modérée.

L'influence de la température sur la compétence vectorielle est également variable en fonction du système virus-vecteur.

L'effet classiquement décrit est la diminution de la durée d'incubation extrinsèque avec l'augmentation de la température. Ainsi, pour obtenir 100 % de transmission chez des femelles *Cx. univittatus* (lots de 5 à 10 femelles) exposées à une virémie de $10^{4,8}$ à $10^{5,8}$ CPD₅₀/ml⁵⁷, il faut environ 15 jours entre 26 à 30 °C, 20 à 18 °C et 60 à 14 °C (Cornel *et al.* 1993). En considérant un nombre de 7 moustiques par lot, on peut calculer, à partir des résultats graphiques de Cornel *et al.* (1993), le temps nécessaire pour obtenir 50 % de femelles capables de transmettre (DIE₅₀). Il est de 10,6 jours à 30 °C, de 9 jours à 26 °C, de 14,7 jours à 18 °C et de 30,9 jours à 14 °C (Cornel *et al.* 1993). Le logarithme népérien de la DIE₅₀ est corrélé linéairement à l'inverse de la température (convertie en Kelvin), tel que :

$$\ln(DIE_{50}) = 5772,6 \times \frac{1}{T} - 16,91; r^2 = 0,78$$

Ce type de relation peut ensuite être intégré dans les calculs de capacité vectorielle.

⁵⁶ $Taux = T_{max} \times \left[1 + B e^{-K \times dose} \right]^m$, pour $m < 0$, où T_{max} est le taux maximal obtenu lorsque la dose virale tend vers l'infini. Il s'agit d'une généralisation des courbes de type logistique (Richards 1959).

⁵⁷ « Median cytopathic dose » : dilution virale aboutissant à la lyse de 50 % du tapis cellulaire Vero.

Les taux d'infection disséminée ou les taux de transmission évoluent au cours du temps en suivant aussi une courbe de Richards, différente suivant la température d'incubation (figure 7).

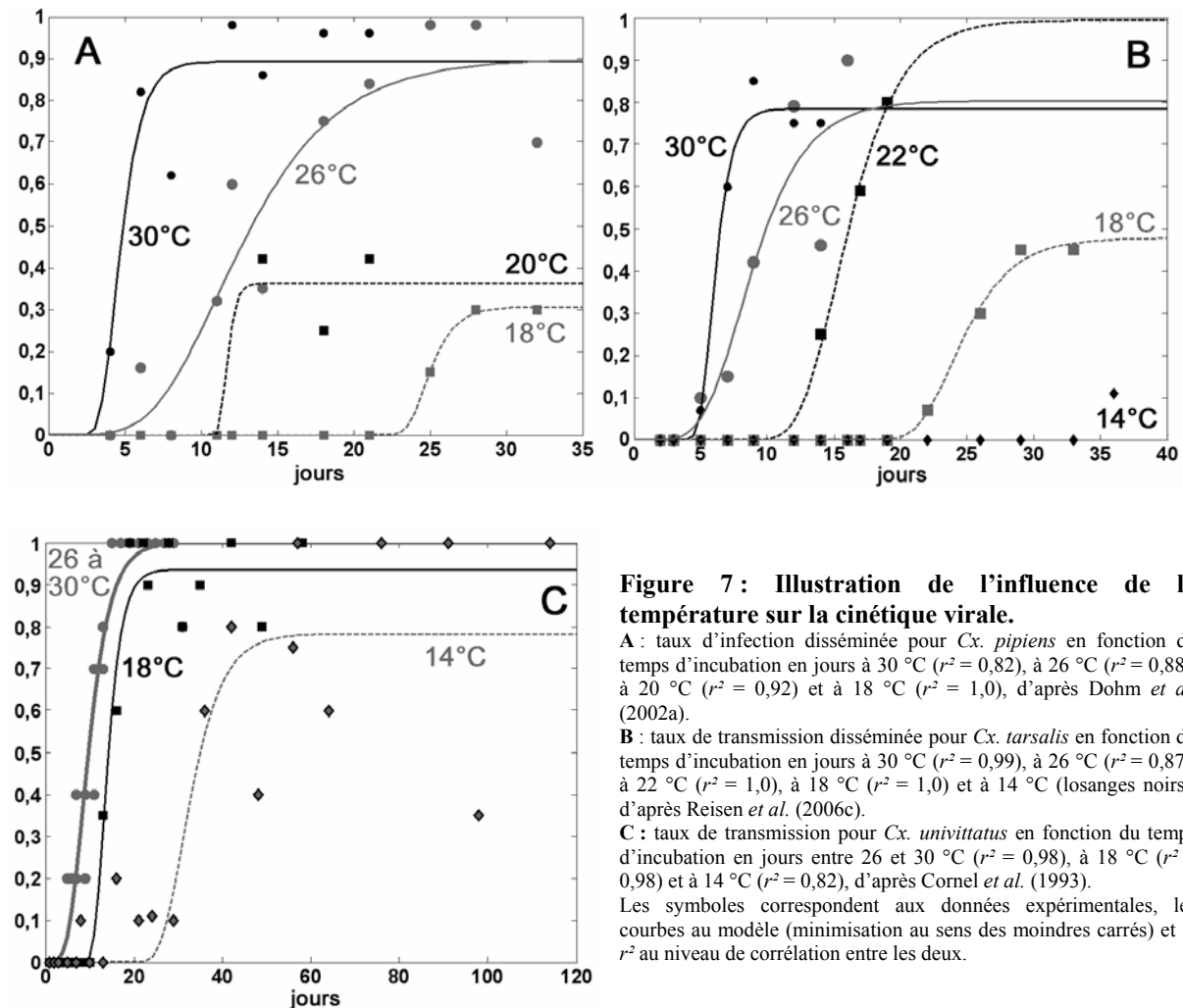


Figure 7 : Illustration de l'influence de la température sur la cinétique virale.

A : taux d'infection disséminée pour *Cx. pipiens* en fonction du temps d'incubation en jours à 30 °C ($r^2 = 0,82$), à 26 °C ($r^2 = 0,88$), à 20 °C ($r^2 = 0,92$) et à 18 °C ($r^2 = 1,0$), d'après Dohm *et al.* (2002a).

B : taux de transmission disséminée pour *Cx. tarsalis* en fonction du temps d'incubation en jours à 30 °C ($r^2 = 0,99$), à 26 °C ($r^2 = 0,87$), à 22 °C ($r^2 = 1,0$), à 18 °C ($r^2 = 1,0$) et à 14 °C (losanges noirs), d'après Reisen *et al.* (2006c).

C : taux de transmission pour *Cx. univittatus* en fonction du temps d'incubation en jours entre 26 et 30 °C ($r^2 = 0,98$), à 18 °C ($r^2 = 0,98$) et à 14 °C ($r^2 = 0,82$), d'après Cornel *et al.* (1993).

Les symboles correspondent aux données expérimentales, les courbes au modèle (minimisation au sens des moindres carrés) et le r^2 au niveau de corrélation entre les deux.

Ce type de représentation permet de mesurer la dimension dynamique de la compétence vectorielle en fonction du temps d'incubation et de la température. La compétence vectorielle de *Cx. univittatus* est moins influencée par la température que celle de *Cx. tarsalis* et surtout de *Cx. pipiens*. L'augmentation de la température entraîne une accélération de la réplication virale et une diminution de la durée d'incubation extrinsèque. Mais, les gammes de températures permettant une dynamique optimale du virus *West Nile* chez ses vecteurs ne sont pas les mêmes en fonction de l'espèce considérée. La largeur de ces gammes peut être une mesure supplémentaire de la compétence d'un vecteur.

Il semble que la température n'influe pas uniquement sur la durée d'incubation extrinsèque, mais aussi sur le taux maximal atteint lorsque le temps augmente. Ainsi le taux de transmission pour *Cx. univittatus* serait de 100 % entre 26 et 30 °C, de 94 % à 18 °C et de

78 % à 14 °C. Néanmoins, une autre interprétation est possible : la température ne modifie pas le taux de transmission maximal, mais uniquement le temps nécessaire pour y parvenir. En effet, pour *Cx. univittatus* à 14 °C, on observe une valeur du taux de transmission de l'ordre de 35 % à 98 jours, alors que les taux précédents à 78, 90 et 110 jours sont de 100 %. En ne prenant pas en compte cette valeur, on revient sur un taux maximal de 100 %. Pour les deux autres espèces, il est difficile de juger, le temps d'observation étant assez court (moins de 40 jours). En analysant l'influence de la température sur la compétence vectorielle d'*Aedes taeniorhynchus* (Wiedemann) et de *Cx. pipiens* pour le virus de la fièvre de la vallée du Rift (Turell *et al.* 1985), il nous semble que la température n'influence pas les taux de transmission maximaux mais seulement le temps nécessaire pour les atteindre, tant que la température est supérieure à un seuil en dessous duquel la réplication virale est quasiment arrêtée. L'influence de la température sur la compétence vectorielle des populations françaises devrait être testée pour comprendre le rôle qu'elles peuvent jouer à différents moments de l'année.

Lorsque la température est en dessous d'un seuil, la dynamique virale semble arrêtée. En effet, sur les 120 femelles *Cx. tarsalis* exposées oralement au virus *West Nile* et conservées à température relativement basse (10 °C), aucune n'est retrouvée infectée pendant les 110 jours d'incubation (Reisen *et al.* 2006c). En revanche, si après cette incubation, un groupe de femelles est transféré quelques jours à 26 °C, certaines d'entre elles deviennent infectées (2/33) (Reisen *et al.* 2006c). Des résultats similaires sont obtenus pour *Cx. pipiens*. Aucune infection n'est décelée chez des femelles exposées oralement au virus *West Nile* et conservées sept jours à 18 °C, puis 30 à 40 jours à 10 °C (Dohm et Turell 2001). En revanche, 30 % des femelles sont infectées, si en plus du régime décrit, les femelles sont transférées un jour à 26 °C (Dohm et Turell 2001). Ce pourcentage augmente avec le nombre de jours à 26 °C et atteint quasiment 100 % pour 7 jours à 26 °C. Les taux d'infection et d'infection disséminée sont équivalents (environ 100 et 40 %) pour des femelles maintenues en incubation 14 jours à 26 °C, même si elles ont été maintenues auparavant une quarantaine de jours à basse température (Dohm et Turell 2001). Ainsi, le virus *West Nile* semble pouvoir se maintenir chez des moustiques à un niveau indétectable pendant plusieurs dizaines de jours à température basse. Lorsque la température augmente, les moustiques deviennent infectés, puis deviennent capables d'initier un nouveau cycle de transmission⁵⁸.

⁵⁸ Il peut donc être utile de maintenir pendant quelques jours à 26°C des moustiques en hibernation avant de les tester pour recherche virale, de manière à augmenter les chances de trouver des lots positifs.

En résumé, les principales espèces candidates à la transmission du virus *West Nile* dans le sud de la France ont été exposées oralement à une dose importante de virus sur membrane et leur compétence vectorielle évaluée.

Culex modestus est l'espèce la plus compétente. Quatorze jours après l'exposition à 26 °C, les taux de dissémination et de transmission sont d'environ 90 % et d'au moins 55 %. De plus l'isolement du virus dans la salive de femelles oralement exposées a permis de démontrer pour la première fois la capacité de cette espèce à transmettre le virus par piquûre. L'observation de l'infection disséminée chez des femelles n'ayant absorbé qu'une toute petite quantité de sang laisse supposer que cette espèce présente un seuil d'infectivité faible.

La population de *Cx. pipiens* peut être considérée comme moyennement compétente, ce qui est en accord avec les études menées à travers le monde. Pour la dose virale utilisée, le taux de dissémination de 40 % de *Cx. pipiens* confirme de façon claire la meilleure compétence vectorielle de *Cx. modestus*, dont le taux de dissémination est de 90 %. Pour une meilleure comparaison entre ces deux espèces, d'autres infections expérimentales doivent être menées notamment en testant une variété de doses virales et de températures pour déterminer le seuil d'infectivité des espèces et l'influence de la température sur leur compétence vectorielle.

Moins de 1 % des femelles *Ae. caspius* présentent une infection disséminée 14 jours après exposition à une forte dose virale et 5 % à 21 jours. Cette espèce présente donc une très faible compétence pour le virus *West Nile*. Les études réalisées n'ont pas permis d'évaluer la compétence vectorielle d'*Ae. vexans*. Aux États-Unis, sa compétence est considérée comme médiocre.

Dans les zones humides, les espèces ornithophiles les plus abondantes sont Cx. pipiens et Cx. modestus. Cette dernière est hautement compétente pour le virus West Nile. Elle se disperse peu en terrain découvert et se concentre dans les marais à roselière (gîte larvaire) et les formations végétales denses (gîte de repos), pouvant sans doute établir des cycles enzootiques très efficaces avec les oiseaux de ces formations végétales. Elle agresse aussi tout mammifère entrant dans ses gîtes, pouvant ainsi transmettre efficacement le virus West Nile à l'homme et au cheval. Culex pipiens, moins compétent, pourrait intervenir dans les cycles enzootiques de façon secondaire par rapport à Cx. modestus. Pour mieux comprendre le rôle relatif des Culex, les études de compétence vectorielle doivent être poursuivies afin notamment de déterminer leur seuil d'infectivité, qu'il faudrait idéalement comparer à la virémie des espèces d'oiseaux présentes en France.

Dans les zones sèches de la Costière, Cx. pipiens domine en forte densité, partout où l'homme lui offre des gîtes artificiels. Là où les densités d'oiseaux sont suffisantes, cette espèce doit pouvoir maintenir le virus dans les populations aviaires. De plus, son ornithophilie n'étant pas stricte, cette espèce est capable de transmettre le virus aux mammifères. La transmission aux chevaux semble favorisée dans les zones où ces derniers sont en forte densité. La quantification des préférences trophiques et l'étude de leur déterminisme sont les facteurs clefs pour comprendre l'implication de Cx. pipiens dans la transmission du virus West Nile aux mammifères. Par ailleurs, la capture de quelques individus Cx. modestus à Lunel-Viel pose la question du rôle vectoriel potentiel de cette espèce en zone sèche. Avant de préciser ce rôle, il est nécessaire de déterminer précisément son aire de distribution. Plus généralement, croiser les informations concernant la répartition au cours du temps des Culex et des oiseaux potentiellement impliqués dans la circulation virale (Jourdain et al. 2007b) permettrait de décrire les cycles de transmission du virus West Nile en zone camarguaise.

Les principales espèces mammophiles capables de se gorger sur oiseaux sont Ae. caspius et Ae. vexans. La première est très abondante dans l'ensemble des zones humides, très agressive envers les mammifères et très dispersive. La démoustication du littoral méditerranéen, principalement dirigée contre cette espèce, réduit fortement ses densités à l'ouest du Petit Rhône. Aedes caspius n'a qu'une très faible compétence vectorielle pour le virus West Nile et, malgré ses très fortes densités, son rôle dans la transmission du virus aux mammifères est vraisemblablement anecdotique. Les infections expérimentales n'ont pas

permis d'évaluer la compétence vectorielle d'Ae. vexans. Cette espèce peut être présente en grande quantité dans certaines zones du delta camarguais, mais semble absente de la zone de la Costière. Son rôle dans la transmission du virus West Nile dans la partie sèche semble donc exclu, celui dans les zones humides où Ae. vexans est abondant reste à explorer.

Cette analyse du rôle relatif des espèces dans les cycles de transmission du virus West Nile reste qualitative et donc soumise à une certaine subjectivité. Par exemple, décider que les densités d'Ae. caspius peuvent ou non compenser sa faible compétence vectorielle est discutable. La mise au point d'une méthode de quantification du risque associée à chaque espèce est donc nécessaire pour juger de leur importance relative dans les cycles de transmission du virus. C'est l'objet de la troisième partie de ce document.

Troisième partie :

Vers une modélisation du risque d'infection par le virus *West Nile*

La transmission vectorielle suppose l'existence de systèmes épidémiologiques complexes impliquant au minimum un triptyque hôte-vecteur-pathogène. Il nous a paru intéressant de présenter, dans un premier temps, quelques interactions entre ces trois acteurs et un bref aperçu des travaux de modélisation de ces systèmes. Pour la fièvre West Nile, la notion d'hôte comprend les hôtes amplificateurs (un certain nombre d'espèces d'oiseaux) et les hôtes accidentels (l'homme et le cheval). Nous proposons une méthode d'estimation du risque d'infection par le virus West Nile pour des hôtes amplificateurs (cycles naturels) ou des hôtes accidentels (cycles épidémiques). De plus, cette méthode doit pouvoir être généralisée à plusieurs espèces d'oiseaux et de vecteurs, et être spatialisée.

La définition d'un indice de risque permet de mettre en avant les paramètres biologiques importants dans la transmission du virus West Nile. Parmi ceux-ci, on s'attend à trouver la densité des vecteurs dans l'espace et au cours du temps. Aussi, après avoir défini un risque d'infection, nous proposons une démarche qui permet de modéliser la distribution des vecteurs dans l'espace et dans le temps. Elle s'appuie sur des modèles de dynamique de population, qui permet d'obtenir la densité des vecteurs potentiels au cours du temps, et sur une cartographie des milieux obtenue à partir d'une image satellite, qui permet d'estimer la présence des vecteurs potentiels dans l'espace.

Tout au long de cette démarche, nous prenons en exemple trois espèces : Cx. modestus, Cx. pipiens et Ae. caspius. Il n'est plus nécessaire ici de justifier le choix des deux premières espèces étant donné leurs préférences trophiques ou leurs compétences vectorielles. En revanche, le choix de continuer à s'intéresser à Ae. caspius peut surprendre à cause de sa mammophilie et de sa faible compétence vectorielle. Il nous a toutefois semblé intéressant d'intégrer à notre étude une espèce dont la bioécologie diffère de celle des Culex, afin de montrer que la démarche reste valide pour d'autres genres de moustiques et peut servir dans d'autres contextes. De plus, dans la perspective future d'un calcul effectif du risque d'infection par le virus West Nile, pouvoir exclure cette espèce des cycles de transmission sur critères quantitatifs, plutôt que qualitatifs, est plus satisfaisante.

Comment modéliser le risque d'infection ?

Dans un premier temps, nous exposons brièvement le fonctionnement des systèmes vectoriels et l'historique de leur modélisation. Par la suite, nous appliquons une démarche de modélisation mécaniste à la transmission de la fièvre West Nile, d'abord dans un système simplifié, puis dans un système généralisé pour obtenir un indice de risque d'infection défini pour tout point de l'espace évoluant au cours du temps.

1. Transmission et capacité vectorielle

1.1. Des systèmes épidémiologiques complexes

Pour que la transmission vectorielle devienne le mode principal de propagation d'un agent pathogène, il est nécessaire⁵⁹ : i) que ce dernier soit présent dans le sang d'un vertébré dans une des phases de son cycle biologique, ii) qu'un arthropode hématophage présente un contact écologique suffisant avec l'hôte amplificateur, et iii) que l'agent pathogène puisse accomplir son développement complet chez l'arthropode jusqu'à le rendre infectant (Rodhain et Perez 1985).

Ce mode de transmission impose des cycles épidémiologiques complexes, comprenant au minimum le triptyque vecteur, hôte et pathogène. Plus précisément, la transmission n'est possible qu'à l'intersection, dans le temps et l'espace, d'une population de vecteur et du pathogène, présent chez l'hôte amplificateur : c'est le concept du « filtre de rencontre » (Combes 2001). Dans ces systèmes, l'hétérogénéité de la transmission peut être liée aux préférences écologiques des vecteurs, aboutissant à des spécificités de gîtes larvaires, de sites de repos et d'aires ou d'horaires d'activité. Bien sûr, symétriquement, la bioécologie des hôtes amplificateurs est tout aussi déterminante⁶⁰. Les préférences trophiques des vecteurs sont des facteurs clefs dans la rencontre entre le vecteur et l'hôte, et sont particulièrement importantes dans les maladies multi-hôtes, comme la fièvre *West Nile*. L'importance d'un vecteur est évidemment étroitement liée à la prise de repas sanguins. Le nombre de contacts hôte-vecteur augmente avec la fréquence de piquûre et la durée de vie. En outre, la transmission est d'autant

⁵⁹ Nous encourageons le lecteur à consulter le chapitre « introduction à l'entomologie médicale » du précis d'entomologie médicale et vétérinaire de Rodhain et Pérez (1985) détaillant le fonctionnement des systèmes vectoriels.

⁶⁰ Les travaux réalisés sur la trypanosomose animale au Burkina Faso illustrent et détaillent l'importance pour la transmission de ces lieux de rencontre entre vecteurs, hôtes et pathogènes (de La Rocque *et al.* 2001).

plus importante que la durée d'incubation extrinsèque est courte par rapport à la vie de l'insecte. La saisonnalité de la transmission vectorielle illustre l'importance des facteurs environnementaux, qui influent sur les densités de vecteurs, mais aussi sur leurs compétences vectorielles (par exemple, diminution de la durée d'incubation extrinsèque avec l'augmentation de la température).

1.2. La capacité vectorielle

La démarche d'une modélisation mécaniste pour décrire le fonctionnement des systèmes vectoriels date du début du XX^e siècle (Ross 1915). Ross (1915) définit cette démarche, qu'il nomme *pathometric*, comme suit : i) supposer la connaissance des lois fondamentales gouvernant les variations au cours du temps d'une maladie dans une population, ii) formaliser ces considérations en terme d'équations différentielles, et iii) déduire quelles composantes du système vont influencer le fonctionnement de ce dernier et dans quelle mesure. Ce travail précurseur est repris par Macdonald une quarantaine d'années plus tard, qui relie les aspects mathématiques aux concepts entomologiques communément utilisés (Macdonald 1950a, 1950b, 1952a). Ces travaux portent sur le paludisme, qui, rappelons-le, implique généralement un seul et unique hôte à la fois amplificateur et cible, l'homme. Cet auteur définit le taux de reproduction de base (R_0) pour le paludisme, comme étant *le nombre d'infections dans une communauté directement liées à la présence d'un seul et unique cas non immun* (Macdonald 1952b). Cette quantité est définie mathématiquement par :

$$R_0 = \frac{ma^2bp^n}{-r \ln p} \quad (9)$$

où m est la densité d'anophèles pour un homme, a le nombre moyen de repas d'un moustique pris sur homme par jour, b la proportion d'anophèles avec des sporozoïtes dans les glandes salivaires qui sont réellement infectants, p la proportion d'anophèles survivant un jour entier, n le nombre de jours du cycle d'incubation extrinsèque, $1/r$ le nombre de jours de parasitémie d'un homme et $-1/\ln p$ l'espérance de vie d'un moustique (Macdonald 1952b). Ainsi durant les $1/r$ jours de parasitémie, un malade va infecter ma anophèles, dont p^n vont survivre à la période d'incubation extrinsèque et b vont être réellement infectants. Ces $mabp^n/r$ anophèles vont piquer et contaminer a hommes pendant chacun des $-1/\ln p$ jours qu'en moyenne chaque anophèle va vivre. Si R_0 est supérieur à 1, chaque cas va contaminer plus d'un homme

sensible, et la maladie va donc se répandre dans la population. Au contraire, un R_0 inférieur à 1 suppose qu'un cas malade ne pourra pas être à l'origine d'une épidémie dans la population. En réarrangeant l'équation $R_0 = 1$, Macdonald (1952b) obtient :

$$ma = \frac{-r \ln p}{abp^n} \quad (10)$$

où ma est la densité agressive critique. En fonction de la valeur de ma , Macdonald définit des niveaux de stabilité de la transmission du paludisme, où par exemple un niveau stable correspond à des valeurs de ma très faibles de l'ordre de 0,025 piqûres par personne et par jour et un niveau instable à des valeurs de ma de 1 à 10 piqûres par personne et par jour (Macdonald 1952b). En se basant sur le R_0 précédemment défini, Garrett-Jones (1964a) introduit un indice, la capacité vectorielle, comme le « *nombre d'infections qu'un vecteur donné va occasionner par malade et par jour dans une population non immune* ». La définition mathématique de la capacité vectorielle est :

$$C = \frac{ma^2 p^n}{-\ln p} \quad (11)$$

c'est-à-dire strictement la quantité R_0 , pour $b = 1$ et en considérant le nombre de cas secondaires par unité de temps et non pendant toute la durée de la parasitémie (Garrett-Jones 1964a). Cet auteur considère que cette quantité peut servir de quantification du niveau de transmission et surtout peut mesurer et pronostiquer l'impact potentiel d'une lutte anti-vectorielle (Garrett-Jones 1964b). Cet indice a été largement utilisé pour mesurer le niveau de transmission dans une zone donnée⁶¹ dans le cadre du paludisme (Garrett-Jones et Shidrawi 1969 ; Reisen 1989 ; Girod *et al.* 1999). Les méthodes de détermination des paramètres de la capacité vectorielle ont été listées et discutées lors d'un symposium de l' *American Society of vector ecologists* en 1989 (Freier 1989 ; Meyer 1989 ; Milby et Reisen 1989 ; Tempelis 1989).

Le calcul de ces paramètres se base sur certaines hypothèses qu'il est nécessaire de garder à l'esprit pour bien comprendre les limites d'utilisation de cet indice (Dye 1990). D'abord, on suppose une hypothèse de mélange homogène, c'est-à-dire un contact hôte-vecteur homogène. Si cette hypothèse peut être valide à grande échelle, elle est fausse à petite échelle. Ensuite, la population des moustiques est supposée constante au cours du temps. On suppose aussi que la probabilité d'être piqué par un vecteur est la même pour chaque hôte. L'expérience de chacun démontre le contraire, certaines personnes par exemple attirant davantage les moustiques que

⁶¹ Dans le but final de comparer plusieurs zones entre elles, comparer différentes saisons, mesurer l'impact d'une méthode de lutte...

d'autres. De plus, en présence d'un agneau en phase de virémie pour le virus de la fièvre de la Vallée du Rift et d'un agneau non infecté, *Cx. pipiens* se gorge préférentiellement sur celui infecté, alors que *Cx. taeniorhynchus* ne montre pas de préférence (Turell *et al.* 1984). En ne prenant pas en compte cette hétérogénéité dans le choix de l'hôte, la capacité vectorielle sous-estime le risque (Dye et Hasibeder 1986). Par ailleurs, le taux de mortalité (ou de survie) est considéré comme constant au cours de la vie du vecteur, c'est-à-dire indépendant de l'âge. Pourtant, certains auteurs ont montré qu'il dépendait de l'âge dans bien des cas, ce qui affecte grandement l'estimation de la longévité (Clements et Paterson 1981). De plus, le pathogène peut induire des effets sur la bioécologie ou la survie du vecteur, non négligeables épidémiologiquement. Par exemple, l'infection par le virus de la fièvre de la Vallée du Rift entraîne chez *Cx. pipiens* une diminution de la survie et de la capacité à réaliser un second repas sanguin après le repas infectieux (Turell *et al.* 1983 ; Faran *et al.* 1987). Enfin la formule de la capacité vectorielle décrite par Garrett-Jones (1964a) suppose que toutes les femelles se gorgeant sur un hôte infecté et survivant à la période d'incubation extrinsèque deviennent infectantes, ce qui surestime le risque (Dye 1992).

Devant l'importance des biais potentiels dans l'estimation de la capacité vectorielle, Dye (1992) préconise de ne pas utiliser cet indice comme mesure absolue du niveau de transmission d'un pathogène. Cet auteur nous encourage à favoriser des approches comparatives, en utilisant la capacité vectorielle de façon relative pour comparer deux situations entre elles.

En résumé, les systèmes vectoriels sont des systèmes complexes à cause de l'interaction de trois acteurs au minimum, le vecteur, l'hôte et le pathogène. La maladie intervient à l'intersection de l'activité, dans le temps et l'espace, de ces protagonistes. La difficulté de l'étude de tels systèmes réside dans la variété des paramètres influençant la transmission et dans leur dépendance à l'environnement.

Une modélisation mécaniste de ces systèmes permet d'obtenir des indices de quantification du niveau de transmission, comme la capacité vectorielle. Son expression repose sur des hypothèses mathématiques fortes, qui, le plus souvent, ne sont pas prises en compte. C'est pourquoi de tels indices doivent être utilisés de façon relative et non absolue.

2. Un indice de risque adapté au virus *West Nile*

2.1. Modélisation de la transmission du virus *West Nile*

En s'inspirant des modèles précédents, une démarche comparable peut être menée pour la transmission du virus *West Nile*. Ce virus circule dans les populations d'oiseaux et occasionnellement des moustiques infectés transmettent la maladie aux hôtes accidentels : l'homme et le cheval. Dans le cas le plus simple, la transmission du virus *West Nile* nécessite une espèce d'oiseau, une espèce de vecteur et un hôte accidentel, et peut alors être schématisée (figure 8).

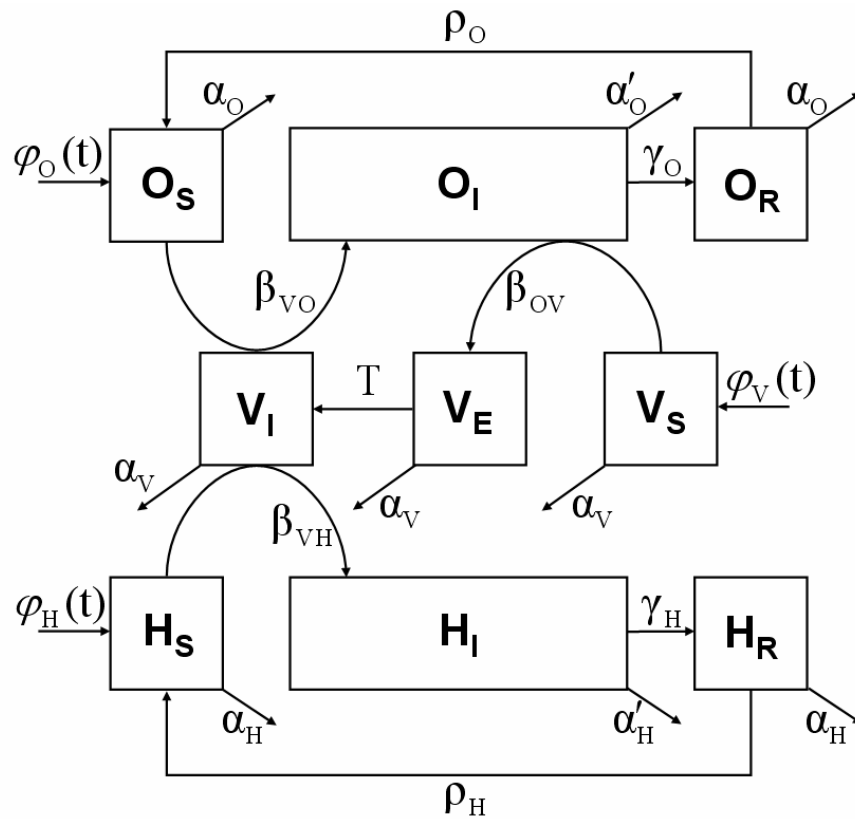


Figure 8 : Transmission schématique du virus *West Nile*.

Les variables H_i , V_i et O_i , correspondent au nombre d'hôtes, de vecteurs et d'oiseaux dans un état épidémiologique donné. Les paramètres de la figure sont : α_i taux de mortalité, β_i taux de transmission, ρ_i taux de disparition de l'état immun, γ_i taux de présence dans l'état infectieux et φ_i taux de renouvellement.

La dynamique de la maladie est décrite par un système SIR pour les populations d'oiseaux et d'hôtes accidentels et par un système SEI pour la population de vecteurs (Anderson et May 1979 ; May et Anderson 1979). Par définition, la population de chacun des acteurs est subdivisée en compartiments en accord avec leur statut épidémiologique, c'est-à-dire sensible (S), en incubation (E), infectieux (I) ou résistant (R). Autrement dit, O_S représente le nombre

d'oiseaux sensibles dans une population de N_O oiseaux où $N_O = O_S + O_I + O_R$. La dynamique de la maladie, c'est-à-dire l'évolution du nombre d'individus dans chaque compartiment au cours du temps, peut s'écrire :

$$\begin{aligned}
 &\text{Hôte amplificateur} \left\{ \begin{aligned} \frac{dO_S(t)}{dt} &= -\beta_{VO}V_I(t)O_S(t) - \alpha_O O_S(t) + \rho_O O_R(t) + \varphi_O(t) \\ \frac{dO_I(t)}{dt} &= \beta_{VO}V_I(t)O_S(t) - (\alpha'_O + \gamma_O)O_I(t) \\ \frac{dO_R(t)}{dt} &= \gamma_O O_I(t) - (\alpha_O + \rho_O)O_R(t) \end{aligned} \right. \\
 &\text{Vecteur} \left\{ \begin{aligned} \frac{dV_S(t)}{dt} &= -\beta_{OV}O_I(t)V_S(t) - \alpha_V V_S(t) + \varphi_V(t) \\ \frac{dV_E(t)}{dt} &= \beta_{OV}O_I(t)V_S(t) - e^{-\alpha_V T} \beta_{OV}O_I(t-T)V_S(t-T) - \alpha_V V_E(t) \\ \frac{dV_I(t)}{dt} &= e^{-\alpha_V T} \beta_{OV}O_I(t-T)V_S(t-T) - \alpha_V V_I(t) \end{aligned} \right. \quad (12) \\
 &\text{Hôte accidentel} \left\{ \begin{aligned} \frac{dH_S(t)}{dt} &= -\beta_{VH}V_I(t)H_S(t) - \alpha_H H_S(t) + \rho_H H_R(t) + \varphi_H(t) \\ \frac{dH_I(t)}{dt} &= \beta_{VH}V_I(t)H_S(t) - (\alpha'_H + \gamma_H)H_I(t) \\ \frac{dH_R(t)}{dt} &= \gamma_H H_I(t) - (\alpha_H + \rho_H)H_R(t) \end{aligned} \right.
 \end{aligned}$$

Les vecteurs s'infectent au contact d'oiseaux infectés avec une fréquence β_{OV} , puis transmettent le virus aux oiseaux et aux hôtes sensibles avec des fréquences β_{VO} et β_{VH} . Chaque population subit une mortalité journalière α_i , avec $\alpha'_i \geq \alpha_i$, à cause de l'infection par le virus. Les taux de mortalité sont supposés constants au cours de la vie des individus. La probabilité de survie journalière d'un vecteur est $e^{-\alpha_V}$, qui est équivalent au p de la capacité vectorielle. Dans le même système de notation, l'espérance de vie d'un vecteur est $1/\alpha_V$, qui est équivalent au $-1/\ln p$ de la capacité vectorielle. Le temps de séjour dans un état infectieux est de $1/\gamma_i$ jours et dans un état immun de $1/\rho_i$ jours. La durée d'incubation extrinsèque, notée T , est constante. Les populations d'oiseaux, de vecteurs et d'hôtes sont supposées constantes, le renouvellement étant permis par les termes $\varphi_i(t)$.

Deux cycles sont à considérer dans la transmission du virus *West Nile*, le cycle naturel (ou enzootique), à savoir la transmission du virus dans les populations d'oiseaux, et le cycle épidémique, à savoir la transmission aux hôtes accidentels.

Dans l'exemple pris ici, le cycle naturel est un système équivalent au système paludique, c'est-à-dire à une espèce d'hôte et une espèce de vecteur. Si le nombre de moustiques infectés est constant au cours du temps ($dV_I/dt = 0$) et que ce nombre est très petit par rapport à la population de moustiques ($V_S(t) \approx N_V(t) \approx N_V(t-T)$), alors il est décrit par :

$$V_I(t) = \frac{\beta_{OV} e^{-\alpha_V T}}{\alpha_V} N_V(t) O_I(t-T) \quad (13)$$

Dans ce cas, la proportion d'oiseaux infectés au cours du temps ($o_I(t)$, où $o_I(t) = O_I(t)/N_O(t)$) est :

$$\frac{do_I(t)}{dt} = \beta_{VO} \frac{\beta_{OV} e^{-\alpha_V T} N_V N_O}{\alpha_V} o_I(t-T) o_S(t) - \gamma_O o_I(t) = \gamma_O R_0 o_I(t-T) o_S(t) - \gamma_O o_I(t) \quad (14)$$

avec $\alpha'_O = 0$. Le taux de reproduction de base R_0 d'un tel système est donc :

$$R_0 = \frac{\beta_{VO} \beta_{OV} e^{-\alpha_V T} N_V N_O}{\gamma_O \alpha_V} \quad (15)$$

R_0 correspond au nombre d'oiseaux secondairement infectés, si un oiseau virémique est introduit dans une population de sensibles, considérée constante. Le taux de transmission correspond à la probabilité qu'un vecteur sensible acquière le virus à partir de l'oiseau virémique et devienne infectant, donc $\beta_{OV} = a C_V/N_O$, où a est la fréquence de piqûre et C_V la compétence vectorielle. Le taux de transmission β_{VO} représente la probabilité qu'un vecteur une fois infectant contamine un oiseau par unité de temps, d'où $\beta_{VO} = a/N_O$. En prenant $C_V = 1$, l'expression (15) est strictement équivalente au taux de reproduction de Macdonald (1952b), où $N_V/N_O = m$. En effet, T est la même quantité que le n de Macdonald (1952b) et donc $e^{-\alpha_V T}$ est équivalent à p^n (probabilité de survie pendant la durée d'incubation extrinsèque et $1/\alpha_V$ à $-1/\ln p$ (espérance de vie des vecteurs).

D'une manière plus générale, les évolutions des nombres de vecteurs, d'oiseaux et d'hôtes infectés au cours du temps, suite à la présence d'oiseaux infectés, sont :

$$\begin{cases} \frac{dV_I(t)}{dt} = e^{-\alpha_V T} \beta_{OV} O_I(t-T) V_S(t-T) - \alpha_V V_I(t) \\ \frac{dO_I(t)}{dt} = \beta_{VO} V_I(t) O_S(t) - (\alpha'_O + \gamma_O) O_I(t) \\ \frac{dH_I(t)}{dt} = \beta_{VH} V_I(t) H_S(t) - (\alpha'_H + \gamma_H) H_I(t) \end{cases} \quad (16)$$

Suite à l'introduction d'un seul oiseau infecté, le nombre de moustiques infectés sera donc :

$$R_0^V = \frac{1}{\gamma_O} \times \beta_{OV} N_V \quad (17)$$

et un vecteur infecté pourra être à l'origine de :

$$R_0^O = \frac{e^{-\alpha_V T} \beta_{VO} N_O}{\alpha_V} \text{ et } R_0^H = \frac{e^{-\alpha_V T} \beta_{VH} N_H}{\alpha_V} \quad (18)$$

cas secondaires d'oiseaux ou d'hôtes.

On peut en conclure que, suite à l'introduction d'un oiseau infecté, le nombre de cas secondaires d'oiseaux et d'hôtes accidentels sera $R^V \times R^O$ (ce qui correspond à l'expression 9) et $R^V \times R^H$.

Les taux de transmission sont des paramètres clefs. Les contacts entre vecteurs et hôtes dépendent d'une concordance dans le temps et l'espace de ces acteurs, mais aussi des préférences trophiques des vecteurs. Comme nous l'avons vu, de manière générale $\beta_{OV} = a C_V x_O / N_O$ où x_O est la proportion de moustique qui se gorge sur l'espèce d'oiseau en question. Dans le chapitre 3, nous avons vu que cette proportion est égale à

$$x_O = s_O q_O (1 - F_D), \text{ avec } q_O = \frac{f_{iO} N_O}{f_{iO} N_O + f_{iH} N_H} \quad (19)$$

où F_D peut être considéré comme un facteur de dilution (proportion de vecteurs qui ne se gorgent pas sur les hôtes considérés), de telle sorte que, lorsque F_D tend vers 1, x_O tend vers 0. Les autres coefficients de transmission peuvent donc s'écrire $\beta_{VO} = a x_O / N_O$ et $\beta_{VH} = a x_H / N_H$, d'où :

$$\begin{cases} R_0^V R_0^O = \frac{1}{\gamma_O} \frac{C_V e^{-\alpha_V T} m_O a^2}{\alpha_V} x_O^2 = \frac{C}{\gamma_O} P_E (1 - F_D)^2, \text{ où } P_E = (q_O s_O)^2 \\ R_0^V R_0^H = \frac{1}{\gamma_O} \frac{C_V e^{-\alpha_V T} m_O a^2}{\alpha_V} x_O x_H = \frac{C}{\gamma_O} P_B (1 - F_D)^2, \text{ où } P_B = (q_O s_O)(q_H s_H) \end{cases} \quad (20)$$

avec $C = \frac{C_V e^{-\alpha_V T} m_O a^2}{\alpha_V}$ et m_O la densité de moustiques par oiseau de l'espèce en question.

Ainsi, typiquement, les R_0 associés à la fièvre *West Nile* proviennent de la combinaison de la capacité vectorielle décrite par Garrett-Jones (1964a), de la durée de virémie chez l'oiseau, de l'importance du facteur de dilution et de la capacité du vecteur à jouer le rôle de vecteur enzootique (P_E) ou pont (P_B), cette dernière dépendant des préférences trophiques, du succès du repas et de l'abondance des hôtes.

2.2. Formalisation d'un indice de risque

En Camargue, différentes espèces de vecteurs et d'oiseaux sont potentiellement impliquées dans les cycles d'amplification du virus *West Nile* (Balenghien *et al.* 2006 ; Jourdain *et al.* 2007b). Les espèces cibles à considérer sont l'homme ou le cheval. La distribution des moustiques dans l'espace est d'abord déterminée par les gîtes de développement larvaire. Par la suite, les moustiques diffusent dans les milieux qui leur sont favorables à la recherche d'hôtes, puis de gîtes de ponte. La bioécologie des oiseaux diffère fortement en fonction de l'espèce (espèce diurne ou nocturne, espèce territoriale ou non, espèce vivant en colonie ou non...), de son régime alimentaire, du moment de l'année (nidification ou non)... On peut schématiser en disant que la répartition des oiseaux est liée aux lieux de repos ou de nidification et aux aires d'activité (recherche de nourriture). Dans le cas de la transmission du virus *West Nile*, il ne faut considérer la répartition des espèces d'oiseaux qu'au moment de la journée où les oiseaux sont vulnérables aux piqûres de moustiques (par exemple lieux de repos ou de nidification dans le cas d'une espèce d'oiseau diurne et d'un vecteur nocturne).

Dans une région donnée, on fait comme hypothèses que :

- i) la zone peut être subdivisée en M cases à l'intérieur desquelles on considère un mélange homogène des vecteurs et des hôtes, c'est-à-dire que chaque case est décrite par le système (4),
- ii) on suppose que les hôtes accidentels ne changent pas de case pendant la *période d'étude*, seuls les vecteurs et les oiseaux sont susceptibles de migrer entre les cases,
- iii) les mouvements (de vecteur ou d'oiseau) entre la case i et la case j se réalisent à une fréquence ω^{ji} (distribuée exponentiellement).

Dans ce cas, la généralisation du système (12) peut s'écrire pour chaque espèce d'oiseau e_O , chaque espèce de vecteur e_V , chaque espèce d'hôte e_H et chacune des i cases :

$$\left\{ \begin{array}{l} \frac{d}{dt} \begin{bmatrix} O_S(t) \\ O_I(t) \\ O_R(t) \end{bmatrix}^{e_O,i} = \sum_{e_V} [SIR]^{e_O,i} + \sum_j \omega_{e_O}^{ij} \begin{bmatrix} O_S(t) \\ O_I(t) \\ O_R(t) \end{bmatrix}^{e_O,j} - \sum_j \omega_{e_O}^{ji} \begin{bmatrix} O_S(t) \\ O_I(t) \\ O_R(t) \end{bmatrix}^{e_O,i} \\ \frac{d}{dt} \begin{bmatrix} V_S(t) \\ V_E(t) \\ V_I(t) \end{bmatrix}^{e_V,i} = \sum_{e_O} [SEI]^{e_V,i} + \sum_j \omega_{e_V}^{ij} \begin{bmatrix} V_S(t) \\ V_E(t) \\ V_I(t) \end{bmatrix}^{e_V,j} - \sum_j \omega_{e_V}^{ji} \begin{bmatrix} V_S(t) \\ V_E(t) \\ V_I(t) \end{bmatrix}^{e_V,i} \\ \frac{d}{dt} \begin{bmatrix} H_S(t) \\ H_I(t) \\ H_R(t) \end{bmatrix}^{e_H,i} = \sum_{e_V} [SIR]^{e_H,i} \end{array} \right. \quad (21)$$

où les systèmes SEIR correspondent à ceux développés dans le système (12). De même, le système (16) s'écrit :

$$\left\{ \begin{array}{l} \frac{dO_I^{e_O,i}(t)}{dt} = \sum_{e_V} \left(\beta_{e_V e_O}^i V_I^{e_V,i}(t) O_S^{e_O,i}(t) \right) - (\alpha'_{e_O} + \gamma_{e_O}) O_I^{e_O,i}(t) \\ \quad + \sum_j \omega_{e_O}^{ij} O_I^{e_O,j}(t) - \sum_j \omega_{e_O}^{ji} O_I^{e_O,i}(t) \\ \frac{dV_I^{e_V,i}(t)}{dt} = \sum_{e_O} \left(e^{-\alpha_{e_V} T_{e_V}} \beta_{e_O e_V}^i O_I^{e_O,i}(t - T_{e_V}) V_S^{e_V,i}(t - T_{e_V}) \right) - \alpha_{e_V} V_I^{e_V,i}(t) \\ \quad + \sum_j \omega_{e_V}^{ij} V_I^{e_V,j}(t) - \sum_j \omega_{e_V}^{ji} V_I^{e_V,i}(t) \\ \frac{dH_I^{e_H,i}(t)}{dt} = \sum_{e_V} \left(\beta_{e_V e_H}^i V_I^{e_V,i}(t) H_S^{e_H,i}(t) \right) - (\alpha'_{e_H} + \gamma_{e_H}) H_I^{e_H,i}(t) \end{array} \right. \quad (22)$$

Pour une espèce de moustique donnée, la taille de la case doit être définie pour qu'on puisse y considérer une densité homogène et qu'un oiseau (ou hôte) présent dans cet espace soit susceptible d'être piqué par tous les moustiques de la case (typiquement l'aire de vol actif). De même, dans une case « oiseau », on doit pouvoir considérer une densité d'oiseaux homogène. L'échelle peut alors être très différente de celle définie pour un moustique. En effet, si on considère que l'espèce d'oiseau est en contact avec les moustiques pendant sa période d'activité, les mouvements de l'oiseau peuvent lui permettre d'être réparti de manière homogène sur une grande zone et donc soumis aux piqûres des moustiques d'un grand nombre de cases pour un pas de temps donné. Ainsi, l'échelle d'étude doit être définie en fonction des espèces de vecteurs et d'oiseaux amplificateurs retenues.

La force d'infection, c'est-à-dire le nombre de piqûres infectantes reçues par un hôte et par unité de temps, est une mesure du risque d'infection. La force d'infection pour une espèce de vecteur et d'hôte donnée s'exprime de la manière suivante :

$$\begin{cases} \lambda_{e_V e_O}^i(t) = \beta_{e_V e_O}^i V_I^{e_V, i}(t) \\ \lambda_{e_V e_H}^i(t) = \beta_{e_V e_H}^i V_I^{e_V, i}(t) \end{cases} \quad (23)$$

Si on considère dans chaque case i que le nombre de vecteurs infectés est constant au cours du temps, on peut écrire que :

$$\begin{cases} \lambda_{e_V e_O}^i(t) = \sum_j K_{e_V}^{ij} B_{e_V e_O}^{ij}(t - T_{e_V}) \\ \lambda_{e_V e_H}^i(t) = \sum_j K_{e_V}^{ij} B_{e_V e_H}^{ij}(t - T_{e_V}) \end{cases} \quad (24)$$

où $K_{e_V}^{ij}$ est la matrice de connectivité pondérée, telle que : $K_{e_V}^{ij} = \alpha_{e_V} \sum_j [\alpha_{e_V} \mathbf{1} - W_{e_V}]_j^{-1}$ (25)

avec $\mathbf{1}$ la matrice unité :

$$\begin{bmatrix} 1 & 0 & . & . & 0 \\ 0 & 1 & . & . & . \\ . & . & . & . & . \\ . & . & . & . & . \\ 0 & . & . & . & 1 \end{bmatrix},$$

W_{e_V} la matrice des déplacements : $[w^{ij}] =$

$$\begin{bmatrix} -\sum_j^M w^{j1} & w^{12} & . & . & w^{1M} \\ w^{21} & -\sum_j^M w^{j2} & . & . & w^{2M} \\ . & . & . & . & . \\ . & . & . & . & . \\ w^{M1} & . & . & . & -\sum_j^M w^{jM} \end{bmatrix}, \text{ avec } w^{ii} = 0$$

et $\begin{cases} B_{e_V e_O}^{ij}(t) = C_{e_O e_V e_O}^{ij} \left[\frac{V_S^{e_V, j}(t)}{N_V^j} \right] \left[\frac{O_I^{e_O, j}(t)}{N_O^j} \right] \\ B_{e_V e_H}^{ij}(t) = C_{e_O e_V e_H}^{ij} \left[\frac{V_S^{e_V, j}(t)}{N_V^j} \right] \left[\frac{O_I^{e_O, j}(t)}{N_O^j} \right] \end{cases}$,

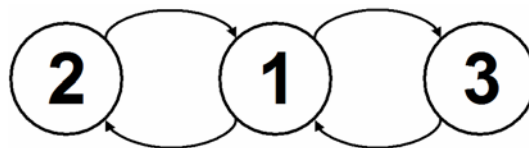
avec $C_{e_O e_V e_O}^{ij}$ et $C_{e_O e_V e_H}^{ij}$ les capacités vectorielles généralisées et spatialisées, telles que :

$$\begin{cases} C_{e_O e_V e_O}^{ij} = \beta_{e_O e_V}^j \beta_{e_V e_O}^i N_{e_V}^i N_{e_O}^i e^{-\alpha_{e_V} T_{e_V}} \\ C_{e_O e_V e_H}^{ij} = \beta_{e_O e_V}^j \beta_{e_V e_H}^i N_{e_V}^i N_{e_H}^i e^{-\alpha_{e_V} T_{e_V}} \end{cases} \quad (26)$$

La force d'infection, qui est une mesure du risque d'infection, comprend donc deux parties. Une partie B^{ij} qui correspond à la capacité d'infection d'un vecteur e_V , qui, contaminé par les oiseaux d'une case j , va devenir infectant dans la case i contenant N_{e_O} oiseaux d'une espèce donnée et N_{e_H} hôtes accidentels (soit homme, soit cheval). C'est pourquoi on peut parler de capacité vectorielle généralisée (plusieurs espèces de vecteurs, d'oiseaux et d'hôtes accidentels) et spatialisée (prise en compte du lieu des contacts). L'autre partie K^{ij} est liée au déplacement des vecteurs en question entre les différentes cases i , dont la connexion est décrite par la matrice W_{e_V} qui est pondérée par les fréquences de déplacement ω^{ij} . Construire cette matrice de connectivité revient à construire un réseau des milieux favorables au déplacement des vecteurs et connectés entre eux. Les caractéristiques et le fonctionnement d'un tel réseau peuvent être décrits par différents indices : indice de connectivité, distribution du nombre de connections... (Balenghien 2003).

La force d'infection telle qu'elle est décrite est centrée sur le vecteur. Néanmoins, B^{ij} dépend de la prévalence des individus infectés pour chaque espèce d'oiseaux infectés ($O_I(t)/N_O$). Ainsi pour aboutir à une estimation complète de la force d'infection, il faut connaître la prévalence de l'infection chez les populations d'oiseaux, mais aussi les mouvements des oiseaux au cours du temps.

Pour illustrer le fonctionnement des matrices K^{ij} , l'exemple d'un système simple est pris, c'est-à-dire un système avec une espèce de vecteur se déplaçant dans trois espaces connectés entre eux de la manière suivante :



En prenant la même fréquence de déplacement, notée ω , entre ces 3 espaces, la matrice des déplacements s'écrit :

$$W = \omega \begin{bmatrix} -2 & 1 & 1 \\ 1 & -1 & 0 \\ 1 & 0 & -1 \end{bmatrix}$$

Si on pose $a = \alpha/\omega$, où α est le taux de mortalité de l'espèce vectrice, alors la matrice de connectivité pondérée s'écrit :

$$K = a \begin{bmatrix} a+2 & -1 & 1 \\ -1 & a+1 & 0 \\ -1 & 0 & a+1 \end{bmatrix}^{-1} = \frac{1}{3+a} \begin{bmatrix} 1+a & 1 & 1 \\ 1 & \frac{1+3a+a^2}{1+a} & \frac{1}{1+a} \\ 1 & \frac{1}{1+a} & \frac{1+3a+a^2}{1+a} \end{bmatrix}$$

On peut noter que $K_{23} = K_{32} \neq 0$, bien que $W_{23} = W_{32} = 0$, c'est-à-dire que, même si les espaces 2 et 3 ne sont pas directement connectés, les moustiques vont se déplacer de l'un à l'autre par le biais de l'espace 1.

Comme illustration, deux situations sont intéressantes : i) celle où $a = 0$, c'est-à-dire $\alpha = 0$ (pas de mortalité), et ii) celle où a tend vers l'infini, c'est-à-dire que ω tend vers 0 (absence de mouvement). Dans la première situation ($a = 0$), on obtient :

$$K = \frac{1}{3} \begin{bmatrix} 1 & 1 & 1 \\ 1 & 1 & 1 \\ 1 & 1 & 1 \end{bmatrix}$$

c'est-à-dire on obtient une situation de mélange homogène, puisque les fréquences de déplacements sont constantes. Dans la deuxième situation (a tend vers l'infini), on obtient :

$$K = \begin{bmatrix} 1 & 0 & 0 \\ 0 & 1 & 0 \\ 0 & 0 & 1 \end{bmatrix}.$$

La prise en compte du déplacement des vecteurs complexifie le calcul du risque. En effet, la force d'infection dans un espace i et au temps t :

- i) dépendra du contact entre les vecteurs infectants et les hôtes naïfs dans cet espace au temps t ,
- ii) sera augmentée par l'arrivée de vecteurs infectés dans cet espace,
- iii) sera diminuée par le départ de vecteurs infectés de cet espace.

De même, la présence de vecteurs infectants au temps t dans un espace i dépend du contact entre des vecteurs naïfs et des oiseaux infectés au temps $t - T$ dans un espace j et de l'histoire des déplacements de ces vecteurs.

La force d'infection telle qu'elle a été définie n'est pas normalisée et peut prendre des valeurs allant de 0 à l'infini. Pour normaliser le risque, on peut calculer la force d'infection nécessaire à infecter 50 % de la population d'un hôte donné λ_{50} , au bout d'une durée

d'exposition τ , avec $\lambda_{50} = \ln(2)/\tau$. Nous proposons donc comme indice de risque d'infection généralisé et spatialisé pour le virus *West Nile* :

$$\begin{cases} I_{e_v e_o}^i = \frac{\lambda_{e_v e_o}^i(t)}{\lambda_{50}} = \frac{\tau \times \lambda_{e_v e_o}^i(t)}{\ln(2)} \\ I_{e_v e_H}^i = \frac{\lambda_{e_v e_H}^i(t)}{\lambda_{50}} = \frac{\tau \times \lambda_{e_v e_H}^i(t)}{\ln(2)} \end{cases} \quad (27)$$

Pour estimer le risque d'infection, il est donc nécessaire de connaître l'évolution du nombre de moustiques dans l'espace et au cours du temps, la compétence vectorielle des espèces de moustiques, les contacts entre hôtes et vecteurs, et la répartition et les mouvements d'hôtes, notamment des oiseaux infectés.

En résumé, la modélisation de la transmission du virus *West Nile* dans un cas simplifié permet d'aboutir à l'expression de deux R_0 , associés i) à la transmission du virus dans les populations d'oiseaux et ii) à la transmission du virus des oiseaux aux hôtes accidentels. Ces R_0 correspondent à la combinaison d'une capacité vectorielle (telle que décrite par Garrett-Jones (1964)), de la durée de virémie chez l'oiseau, d'un facteur de dilution et de la capacité du vecteur considéré à jouer le rôle de vecteur enzootique (P_E) ou pont (P_B), cette dernière dépendant des préférences trophiques, du succès de prise de repas et de l'abondance des hôtes.

Cette démarche a été généralisée à plusieurs espèces d'oiseaux, de vecteurs et d'hôtes accidentels et spatialisée pour prendre en compte les déplacements des moustiques. Un indice normalisé du risque d'infection par le virus *West Nile* est proposé. En dehors des connaissances sur les hôtes et notamment l'infection chez les oiseaux, l'estimation de ce risque nécessite une connaissance des contacts entre hôtes et vecteurs, de la compétence vectorielle et de l'évolution du nombre de moustiques dans l'espace et au cours du temps. Les deux premiers aspects ont déjà été explorés dans ce document et le dernier fait l'objet des chapitres suivants.

Dynamique des vecteurs dans le temps

Pour estimer le risque d'infection par le virus West Nile, il est nécessaire de déterminer les densités de vecteurs au cours du temps et leur durée de survie. Dans ce chapitre, nous utilisons des modèles de dynamique de population pour décrire les traits de vie d'espèces du genre Culex et Aedes.

1. Dynamique des espèces du genre *Culex*

La longévité est un des facteurs clefs déterminant le potentiel de transmission des vecteurs, parce qu'elle conditionne la taille de la population et la durée moyenne de vie infectieuse (Macdonald 1952b ; Milby et Reisen 1989). Différentes méthodes sont utilisées pour déterminer la longévité d'une population sur le terrain. L'une des méthodes les plus fréquemment employées utilise le taux de parturité (proportion de femelles pares dans la population) et la longueur du cycle gonotrophique (temps entre deux repas sanguins consécutifs) (Davidson 1954). Les femelles pares sont celles qui ont pondu au moins une fois, se distinguant des nullipares par l'examen des ovaires (Detinova 1963). Néanmoins cette méthode ne peut être appliquée qu'avec une population stable dans sa taille et sa structure, ce qui est rarement le cas sous les climats tempérés. Une autre méthode d'estimation du taux de survie est la méthode de marquage, capture et recapture, qui suit une cohorte d'individus marqués juste avant le lâcher. La longévité est estimée à partir du nombre de moustiques marqués, qui diminue progressivement au cours du temps. Cette méthode nécessite de lâcher un grand nombre de moustiques, à cause du faible taux de recapture habituel. De plus, il est supposé que la perte liée à l'émigration est négligeable et que le comportement et la survie du moustique ne sont pas affectés par le marquage (Service 1993). Cette méthode est donc coûteuse en temps et son succès dépend de la taille de l'échantillon.

Le but de ce chapitre est de développer un modèle décrivant la dynamique de population des espèces type *Culex*, c'est-à-dire des espèces multivoltines, dont les générations se superposent dans le temps. Ce modèle permet de donner une estimation du taux de survie à partir de données de dynamique de population classiquement recueillies : capture sur appât ou pièges CO₂. Nous appliquons ce modèle à des données entomologiques anciennes concernant des *Culex* en Camargue.

Matériel et méthodes

Modèle. Soit $M_n(t)$ le nombre total de femelles de la n -ième génération présentes dans un environnement donné au temps t . En négligeant l'émigration et l'immigration dans l'environnement considéré, la dynamique de la population peut être décrite par les équations différentielles suivantes :

$$\begin{cases} \frac{dM_1(t)}{dt} = -\alpha_1 M_1(t) + f(t) \\ \frac{dM_n(t)}{dt} = -\alpha_n M_n(t) + \alpha_{n-1} r_{n-1} M_{n-1}(t - T_{n-1}); n > 1 \end{cases} \quad (28)$$

où α_n est le taux de mortalité, T_n le temps de développement aquatique, c'est-à-dire le temps entre la ponte et l'émergence d'un adulte, et r_n le taux de reproduction, c'est-à-dire le nombre moyen de descendants adultes par femelle. L'apparition des individus de la première génération provient de la reprise d'activité de piqûre des femelles nullipares après l'hiver. Cette sortie d'hibernation est représentée par une fonction $f(t)$, qui représente le nombre moyen de femelles adultes sortant de la diapause hivernale par unité de temps, tel que :

$$f(t) = \frac{M_0}{\tau^2} e^{-t/\tau}, \text{ avec : } \begin{cases} f(t < 0) = 0 \\ \int_0^\infty f(t) dt = M_0 \\ t_d = \frac{\left[\int_0^\infty t f(t) dt \right]}{M_0} \end{cases} \quad (29)$$

où M_0 est le nombre total de femelles sorties de diapause, t_d le temps moyen nécessaire à l'ensemble des femelles pour sortir de leur diapause et $\tau = t_d/2$.

Données entomologiques. Ce modèle décrit le nombre total de moustiques dans un environnement donné. Les pièges (appât ou CO₂) ne capturent qu'une fraction de cette population, c'est-à-dire les femelles en recherche d'hôte. Si on considère que la fraction de la population échantillonnée est constante au cours du temps (fréquence de piqûre et attractivité du piège constantes), alors le nombre de femelles capturées est proportionnel au nombre total de moustiques présents. Pour estimer les paramètres du modèle, nous nous basons sur une série de données publiées. Ces données évaluent la densité de *Cx. modestus* Ficalbi par captures sur appât humain (deux captureurs pendant deux heures, deux jours par semaine) dans une roselière de Camargue (la Capelière) au cours d'une saison d'activité complète (Mouchet *et al.* 1970).

Simulations numériques. Les solutions du système (1) sont obtenues en utilisant des transformations de Laplace (annexe 3). Ces équations sont utilisées pour générer le nombre de moustiques de chaque génération au temps t , à l'aide d'un programme (*mosqu.m* écrit par DJ Bicout) utilisé sous Matlab (version 7). Les paramètres M_0 , τ , α_n , r_n et T_n permettant de minimiser, au sens des moindres carrés, la différence entre données observées et données simulées sont estimés en utilisant le programme *lsqcurvefit.m* (Matlab). Pour diminuer le nombre de paramètres à estimer, T_n est considéré dépendant de la température, tel que le logarithme népérien de T_n est linéairement corrélé à la température. Cette corrélation permet de représenter correctement le temps de développement de l'œuf à l'adulte en fonction de la température dans plusieurs études réalisées chez *Cx. pipiens* (Tekle 1960 ; Vinogradova 2000). Les données météorologiques utilisées sont la température moyenne quotidienne fournie par la station MétéoFrance de la Tour du Valat l'année des captures (1966).

Résultats et discussion

La meilleure adéquation entre les données simulées et observées est obtenue pour un nombre de cinq générations. Les résultats sont présentés figure 9 et tableau 4.

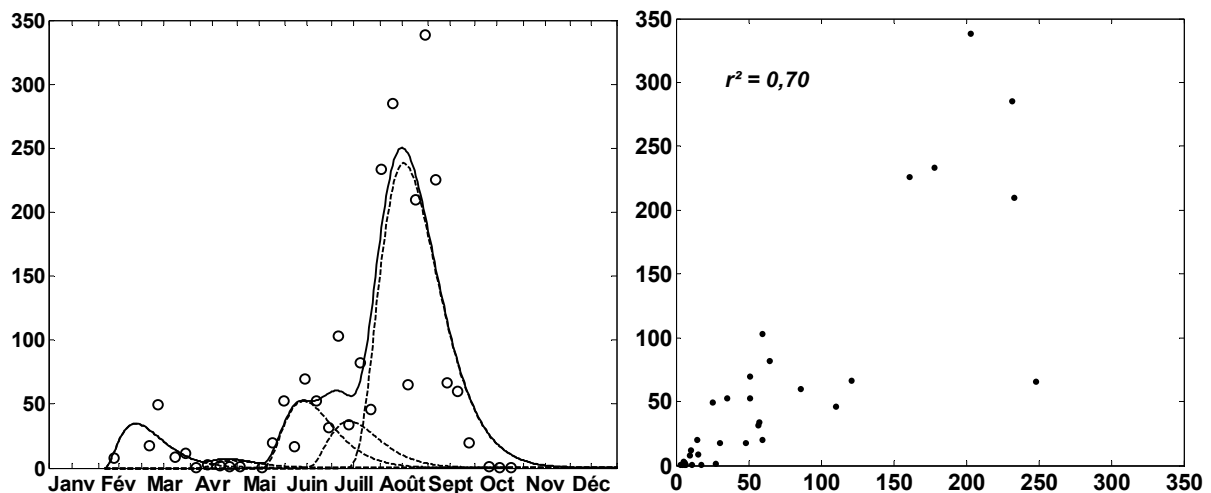


Figure 9 : Dynamique de *Culex modestus* au cours de l'année 1966 à la Capelière.

Graphique de gauche : nombre de femelles *Cx. modestus* capturées sur homme (symboles, par homme et par heure) à la Capelière en 1966 (Mouchet *et al.* 1970) et dynamique simulée pour 5 générations (trait pointillé : une génération ; trait plein : somme de tous les moustiques à chaque instant).

Graphique de droite : corrélation entre données observées et simulées, $r^2 = 0,70$ ($p < 0,01$).

La corrélation obtenue est relativement bonne ($r^2 = 0,70$) et n'est significativement pas liée au hasard ($p < 0,01$). Une seule mesure semble totalement en dehors de la corrélation, il s'agit de

celle du 19 août 1966, pour laquelle les auteurs rapportent des captures réalisées avec un fort vent. En écartant cette mesure du calcul de la corrélation ; on obtient un coefficient de corrélation $r^2 = 0,85$.

Tableau 4 : Traits de vie de *Culex modestus* à la Capelière en 1966.

Paramètres estimés par optimisation dans le sens des moindres carrés pour chacune des cinq générations, avec $M_0 = 26$, $\tau = 10$ jours.

Génération	Taux de mortalité α_n (1/jour)	Durée de vie $1/\alpha_n$ (jours)	Temps de développement T_n (jours)	Taux de reproduction r_n
1	0,100	10,0	58,5	0,80
2	0,640	1,6	38,0	2,70
3	0,129	7,8	28,1	2,18
4	0,369	2,7	26,3	2,21
5	0,117	8,6		

Par rapport à cette situation de cinq générations par an, le temps de développement et la durée de vie moyenne augmentent lorsque le nombre de génération diminue, et inversement. Les temps de développement, tels qu'ils sont intégrés dans le modèle, regroupent le temps nécessaire pour passer de l'œuf à l'adulte et ceux nécessaires à la recherche d'un hôte et d'un gîte de ponte. Les taux de mortalité sont élevés pour la première génération émergée dans l'année (on peut supposer l'influence d'une température basse et d'un développement larvaire difficile) et pour celle du mois de juillet (mois le plus chaud et le plus sec). Nous avons utilisé dans le modèle une survie de type II, c'est-à-dire avec un taux de mortalité constant quel que soit l'âge des moustiques. Nous ne disposons pas de courbe de survie de *Cx. modestus* au laboratoire pour justifier ce choix. Pour *Cx. pipiens*, le taux de mortalité semble plutôt augmenter avec l'âge (Gerberg *et al.* 1969). L'utilisation d'autres courbes de survie pourrait donner des estimations de paramètres différentes.

En résumé, la modélisation permet de reproduire de manière satisfaisante une dynamique de population d'une espèce de type *Culex* et d'estimer certains paramètres, comme le taux de survie, à partir de données de terrain simples à mesurer. Par contre, une validation de l'estimation de ces paramètres est nécessaire. Elle demande la mise en place d'autres protocoles, comme des marquages recaptures, pour comparer les deux estimations.

2. Dynamique des espèces du genre *Aedes*

Aedes caspius est un moustique des marais saumâtres littoraux ou continentaux (Rioux 1958). Cette espèce pond ses œufs sur des zones exondées, potentiellement inondables. Lors de la mise en eau de ses gîtes (pluie, irrigation...), les émergences sont massives et synchrones (Becker *et al.* 2003). Cette espèce est alors responsable de nuisances importantes, car elle est fortement anthropophile et possède une grande capacité de dispersion (Rioux 1958). La démoustication du littoral méditerranéen, en limitant la nuisance d'*Ae. caspius*, a été un préalable indispensable au développement touristique de cette région.

Aedes caspius est actif de mars à octobre. Sa dynamique saisonnière est donc rythmée par les mises en eau de ses gîtes de développement larvaire. Après éclosion des œufs et passé le temps de vie aquatique (développement larvaire et nymphal), les adultes émergent, puis disparaissent sous l'effet combiné de la mortalité et de l'émigration.

Le but de ce travail est de reproduire une dynamique de population d'*Ae. caspius* observée dans une zone donnée, ne connaissant *a priori* que les dates de mise en eau des gîtes. Cette modélisation permet d'estimer les principaux paramètres de vie d'*Ae. caspius* et leur dépendance à l'environnement.

Matériel et méthodes

Modèle. Suite à la mise en eau des gîtes, les œufs éclosent, les différents stades larvaires se succèdent, puis apparaissent les nymphes qui deviennent des adultes, qui se dispersent ou meurent. Nous considérons que l'évolution au cours du temps du nombre de moustiques adultes présents peut être décrit par le même modèle que pour les *Culex*, avec $r_n = 0$. Pour chaque émergence, on a :

$$\frac{dM(t)}{dt} = f(t) - \alpha M(t) \quad (30)$$

où $M(t)$ est le nombre de femelles, α le taux de disparition supposé constant au cours d'une émergence, et $f(t)$ la fonction d'émergence décrite précédemment pour les *Culex*. Par taux de disparition, nous entendons à la fois la disparition liée à la mortalité et à l'émigration, leurs deux effets étant indissociables. On a donc : $\alpha = \alpha_m + \alpha_e$, où α_m est le taux de mortalité, α_e le taux d'émigration. *Aedes caspius* est une espèce très dispersive qui présente un rayon de vol important, contrairement aux *Culex* (Rioux 1958 ; Juminer *et al.* 1964). Ainsi, dans le cas de cette espèce, le taux d'émigration ne doit pas être négligé.

En supposant les mêmes hypothèses que précédemment (fraction échantillonnée constante), on peut utiliser ce modèle pour décrire la population d'adultes capturée par des pièges appâts ou CO₂. La solution explicite de l'équation précédente est :

$$M(t) = M_0 \begin{cases} \frac{[(\alpha\tau - 1)t / (\tau - 1)] \exp(-t/\tau) - \exp(-\alpha t)}{(\alpha\tau - 1)^2} ; \alpha\tau \neq 1 \\ \frac{(\alpha t) \exp(-\alpha t)}{2} ; \alpha\tau = 1 \end{cases} \quad (31)$$

Les paramètres nécessaires à la description de la dynamique de population d'*Ae. caspius* à partir de la date de mise en eau sont donc T_{dev} le temps entre l'éclosion de l'œuf et l'émergence, τ la moitié du temps moyen d'émergence, M_0 le nombre total de moustiques émergeant et α le taux de disparition. À partir de ces paramètres, le nombre de moustiques à chaque pas de temps est simulé numériquement (programme Matlab : *mosqu.m*, Bicout DJ).

Application à une situation réelle

Données de mises en eau. Nous considérons deux gîtes larvaires de Camargue (nommés Mourgues et Pont de Gau) au cours des années 2004 et 2005. La mise en eau de ces gîtes est essentiellement liée à la pluie. Nous considérons que tous les événements pluvieux de plus de 15 mm entre mars et octobre sont capables de provoquer une émergence. Les données météorologiques utilisées proviennent de la station MétéoFrance des Saintes-Maries-de-la-mer. À partir des relevés pluviométriques et des dates d'irrigation artificielle connues (données EID-Méditerranée), la liste des dates de mises en eau de la zone est établie. Les dates des émergences sont calculées comme suit avec $t_{MO} + T_{dev50}(T) - \tau(T)$, où t_{MO} est la date de mise en eau, T_{dev50} est le temps nécessaire entre l'éclosion des œufs et l'apparition de 50 % des adultes, τ est la moitié du temps moyen d'émergence et T la température.

Dynamique larvaire. T_{dev50} est calculé à partir de données de laboratoire, qui suivent des cohortes d'œufs depuis l'éclosion jusqu'au stade adulte à différentes températures (Sinègre 1974). La dépendance de T_{dev50} à la température est établie à partir de ces données. Ces séries décrivent aussi le nombre d'adultes émergeant au cours du temps. Ces données sont comparées à la dynamique d'émergence décrite par $f(t)$ par régression entre données observées et simulées. Pour chaque série, le nombre total d'adultes obtenus M_0 est connu, τ est estimé et sa dépendance à la température établie. Ces règles de dépendance de T_{dev50} et de τ à la température permettent de calculer les dates d'émergences, à partir de la date de mise en eau et de la température.

La capacité de la fonction $f(t)$ à reproduire des dynamiques d'émergence sur le terrain est testée. Les données utilisées proviennent de suivis larvaires réalisés sur les deux gîtes considérés en 2004 et 2005 (données A. Carron, EID-Méditerranée). Après mise en eau et apparition de nymphes dans les gîtes, des plots à émergence sont disposés et le nombre d'adulte émergeant au cours du temps est enregistré quotidiennement.

Dynamique des adultes. Sur les deux gîtes considérés, le nombre d'adultes est évalué hebdomadairement par capture sur piège CO₂ en 2004 et 2005 (données A. Carron, EID-Méditerranée). À partir de la liste des dates d'émergences, la dynamique des adultes est simulée. Les paramètres de dynamique de population M_0 , α et τ sont estimés en minimisant, dans le sens des moindres carrés, la différence entre le nombre de moustiques observé et celui simulé (fonction *lsqcurvefit.m* de Matlab). La dépendance de ces paramètres de dynamique de population aux données environnementales (température, densité larvaire, quantité de pluie) est testée.

Résultats

Temps de développement aquatique. Le temps de développement aquatique 50 %, T_{dev50} dépend de la température, tel que :

$$\ln(T_{dev50}) = 7094 \times \frac{1}{T} - 21.8; r^2 = 0.93 \quad (32)$$

où T est la température en Kelvin.

Fonction et temps d'émergence. Les données de laboratoire (Sinègre 1974) et la dynamique décrite par la fonction $f(t)$ sont comparées (figure 10). Pour chaque température, le τ correspondant est estimé.

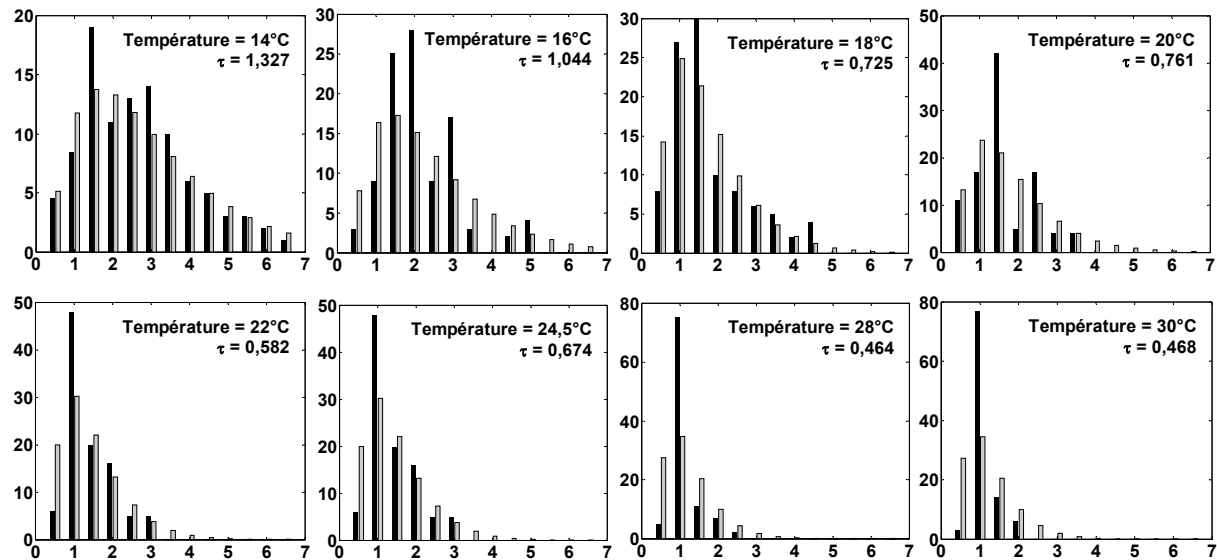


Figure 10 : Temps d'émergence et température pour *Aedes caspius* au laboratoire.

Nombre d'adultes émergents en fonction du temps (observation toutes les 12 heures) et de la températures. Les histogrammes noirs représentent les données observées (Sinègre 1974) et les gris les données simulées à partir de la fonction d'émergence précédemment décrite. Les τ indiqués correspondent à ceux obtenus par minimisation. Les coefficients de corrélations r^2 entre données observées et simulées sont pour chaque température 0,82 ; 0,67 ; 0,87 ; 0,64 ; 0,78 ; 0,76 ; 0,59 ; 0,58 (pour tous $p < 0,01$).

La fonction d'émergence utilisée reproduit correctement les données obtenues au cours de suivis de laboratoire. La relation entre τ et la température est de type exponentielle, c'est-à-dire diminuant avec la température jusqu'à tendre vers un temps τ minimal. Le logarithme népérien de τ peut de façon satisfaisante être corrélé linéairement à l'inverse de la température en Kelvin :

$$\ln(\tau) = 4618 \times \frac{1}{T} - 16,0 ; r^2 = 0,83 \quad (33)$$

Au cours des années 2004 et 2005, la dynamique larvaire est décrite pour quatre à cinq mises en eau dans chacun des gîtes suivis. Les dates des mises en eau sont indiquées dans le tableau 5. Les données observées et simulées sont comparées (figure 11) et les paramètres estimés (le tableau 5).

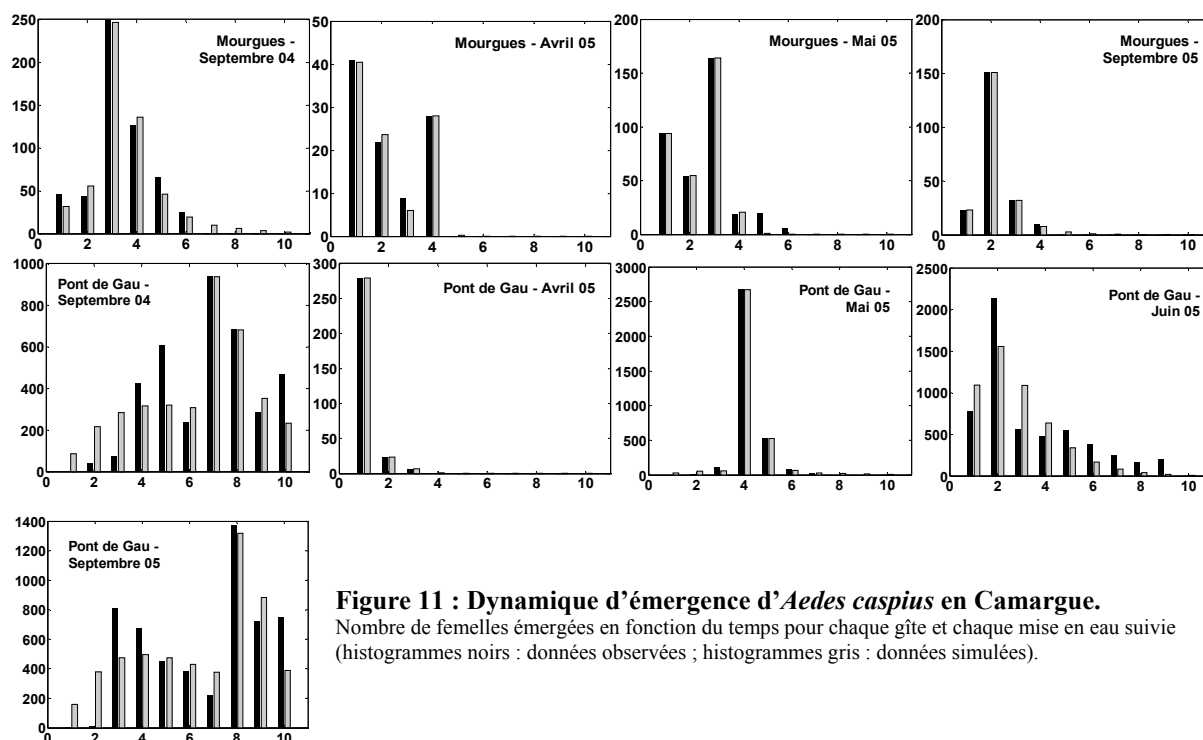


Figure 11 : Dynamique d'émergence d'*Aedes caspius* en Camargue.
 Nombre de femelles émergées en fonction du temps pour chaque gîte et chaque mise en eau suivie
 (histogrammes noirs : données observées ; histogrammes gris : données simulées).

Tableau 5 : Dynamique d'émergence d'*Aedes caspius* en Camargue.

Paramètres estimés par optimisation dans le sens des moindres carrés pour les différentes mises en eau suivies (J : nombre de jours entre deux émergences ; r^2 : coefficient de corrélation entre données observées et simulées avec pour tous $p < 0,01$; MO : Mourgues ; PDG : Pont de Gau)

Émergence	Mises en eau	1 ^{re} émergence		2 ^e émergence		J	r^2
		M_0	τ	M_0	τ		
MO – Sept. 04	11 et 13/09	239	1,55	321	0,47	2	0,98
MO – Avril 05	18 et 20/04	71	0,52	27	0,08	3	0,99
MO – Mai 05	3 jours de pluie	166	0,52	169	0,26	2	0,99
MO – Sept. 05	6 et 8/09	77	0,89	143	0,27	1	0,98
PDG – Sept. 04	11 et 13/09	3640	4,17	1227	0,55	6	0,54
PDG – Avril 05	18 et 20/04	303	0,23	7	0,28	2	1,0
PDG – Mai 05	3 jours de pluie	394	2,33	3133	0,30	3	0,97
PDG – Juin 05	13/06	5030	1,12				0,74
PDG – Sept. 05	6 et 8/09	4520	3,34	1817	0,53	7	0,56

La fonction d'émergence représente correctement les données observées pour toutes les émergences, avec moins de précision pour celles de Pont de Gau en septembre 2004, et en juin et septembre 2005. Dans ces trois cas, peu d'adultes émergent les premiers jours. Pour juin 2005 à Pont de Gau, les émergences sont particulièrement étalées dans le temps. Elles sont mieux représentées par un profil à 2 émergences successives (données non montrées, avec $J = 1$ et $r^2 = 0,94$).

Date des mises en eau et des émergences. Le calendrier des mises en eau et celui des dates d'émergences calculées sont présentés tableau 6.

Tableau 6 : Date d'émergence et paramètres démographiques d'*Aedes caspius* en Camargue.

La température (T° en degré Celsius) correspond à la moyenne des températures minimales et maximales pour le nombre de jours nécessaire au développement aquatique. Les zones grisées correspondent aux estimations qui ne seront plus utilisées par la suite (valeurs des paramètres proches des bornes de l'optimisation).

Gîte	Mise en eau	Date	T°	Paramètres calculés			Paramètres estimés			
				T_{Dev50}	τ	Émergence	M_0	α	$1/\alpha$	τ
Mourgues 2004	Pluie	16/04	14,8	17,9	1,04	02/05	Absence de capture			
		29/04	15,1	17,4	0,87	14/05	234	0,083	12,0	0,40
	Irrigation	18/06	22,8	9,2	0,64	25/06	1264	0,250	4,0	3,89
		11/08	25,6	7,4	0,63	16/08	1984	0,201	5,0	4,89
	Pluie	11/09	21,2	10,5	0,75	19/09	481	0,500	2,0	1,71
		13/09	20,8	10,8	0,74	22/09	9030	0,500	2,0	1,26
Mourgues 2005	Pluie	15/04	16,3	15,7	0,77	30/04	855	0,098	10,2	10,0
		13/05	19,0	12,5	0,71	24/05	4	0,499	2,0	0
		17/05	20,7	10,9	0,69	27/05	0	0,500	2,0	10,0
		13/06	26,2	7,0	0,56	19/06	1615	0,071	14,1	1,23
		10/08	22,7	9,2	0,74	19/08	2804	0,387	2,6	1,04
		06/09	19,9	11,6	0,78	16/09	1260	0,500	2,0	0,67
		08/09	19,6	11,9	0,75	19/09	317	0,174	5,8	5,67
Pont de Gau 2004	Pluie	11/09	21,2	10,5	0,75	19/09	5794	0,330	3,0	3,10
		13/09	20,8	10,8	0,74	22/09	15000	0,253	4,0	1,49
Pont de Gau 2005	Pluie	15/04	16,3	15,7	0,77	30/04	1014	0,123	8,2	8,11
		13/05	19,0	12,5	0,71	24/05	2538	0,354	2,8	0,02
		17/05	20,7	10,9	0,69	27/05	8454	0,499	2,0	1,20
		13/06	26,2	7,0	0,56	19/06	12416	0,167	6,0	4,77
		10/08	22,7	9,2	0,74	19/08	4979	0,464	2,2	1,09
		06/09	19,9	11,6	0,78	16/09	7860	0,500	2,0	0,77
		08/09	19,6	11,9	0,75	19/09	5767	0,182	5,5	5,40

Dynamique des adultes. Les résultats de l'estimation des paramètres sont donnés tableau 6. Les résultats graphiques de la dynamique de population sont présentés figure 12. Certaines densités ne peuvent pas être reliées à des mises en eau des zones considérées, en particulier semaines 29 et 30 de 2004 (deuxième quinzaine de juillet) et semaines 30 à 34 (fin juillet à fin août) de 2005 à Mourgues, et semaines 30 et 31 (fin juillet à début août) de 2005 à Pont de Gau. Ces densités non expliquées par une mise en eau dans la zone sont considérées comme une « pollution » liée à une migration d'*Ae. caspius* et ne seront pas prises en compte.

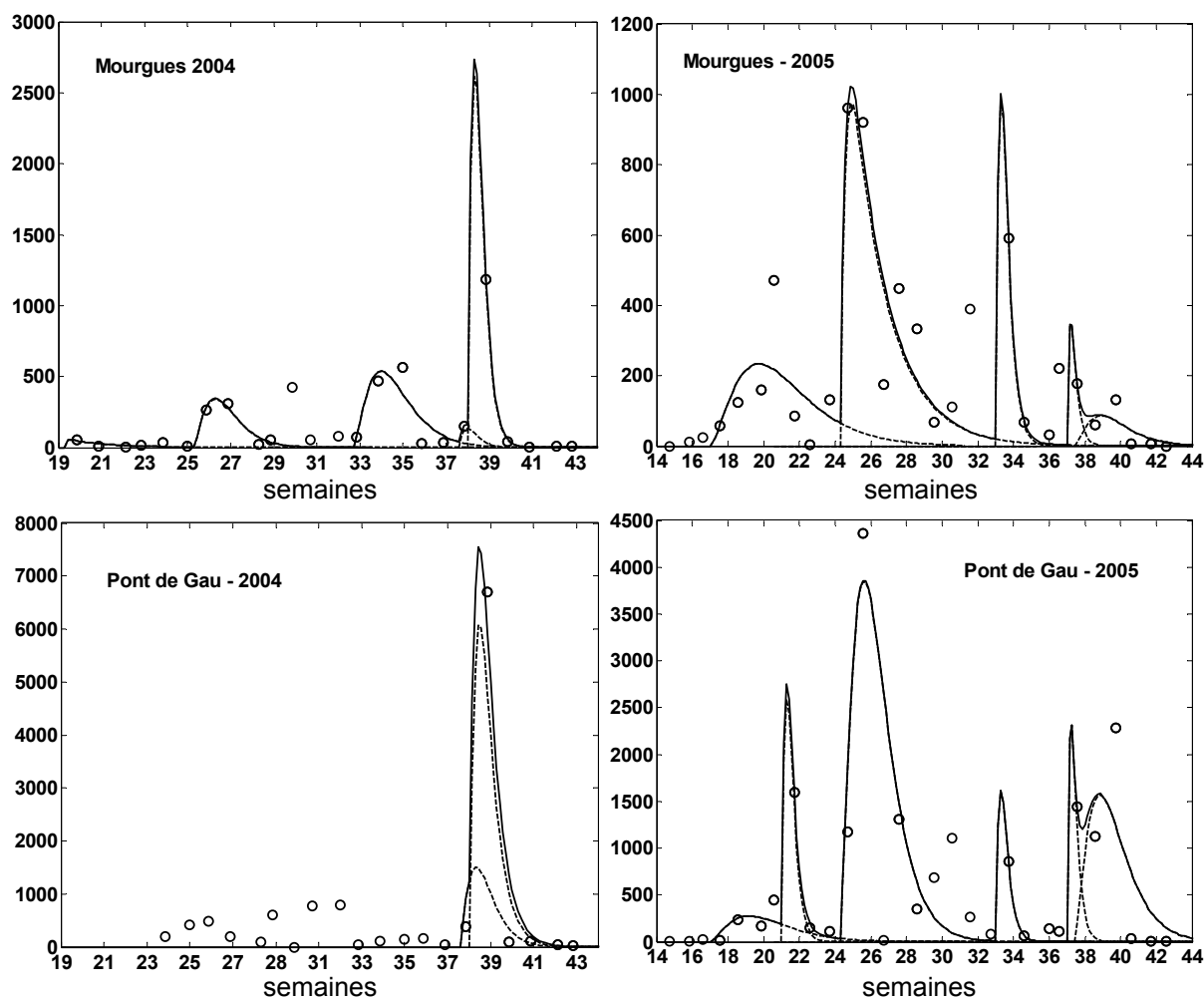


Figure 12 : Dynamique de population d'*Aedes caspius* en Camargue.

Nombres de femelles *Ae. caspius* capturées (symboles) par semaine comparés au nombre obtenu par simulation pour chaque émergence (lignes discontinues). La ligne continue représente la somme, à chaque instant, des moustiques obtenus par simulation. Les coefficients de corrélation r^2 entre données observées et simulées sont de 0,95 et 0,83 pour Mourgues en 2004 et 2005, et de 0,95 et 0,87 pour Pont de Gau en 2004 et 2005 (pour tous $p < 0,01$).

Lorsque les émergences sont trop rapprochées dans le temps (avril et mai 2005 à Mourgues), la fréquence des observations n'est pas suffisante pour permettre de reproduire plusieurs émergences. Lorsqu'on observe une augmentation brusque des densités suivie d'une diminution brutale, l'optimisation tend à retenir un M_0 et un α très élevés, proches de la limite supérieure des bornes de variation de ces paramètres, comme en septembre à Mourgues ou à Pont de Gau. La valeur des paramètres estimés (en grisé dans le tableau 6) ne sera pas retenue pour la suite.

Le temps de présence ($1/\alpha$, représentant le temps moyen de présence des moustiques d'une émergence dans le bassin d'attraction du piège) dépend de la température selon une relation de type quadratique. Ce temps est maximal pour les températures les plus froides et les plus chaudes, il est minimal pour des températures moyennes de l'ordre de 19 à 23 °C.

Une régression polynomiale d'ordre 2 donne la relation suivante :

$$1/\alpha = 0,6 T^2 - 25 T + 288 \quad (34)$$

où T est la température moyenne (degrés Celsius) mesurée pendant $1/\alpha$ jours suivant l'émergence ($r^2 = 0,68$ avec $p < 0,01$).

Discussion

Au laboratoire, la dépendance de T_{dev50} à la température est de type exponentiel. Le temps de développement aquatique est dépendant de différents facteurs environnementaux : température, densité, nutrition (Clements 1992). Dans cette étude, nous n'avons considéré que la température. La fonction d'émergence $f(t)$ reproduit parfaitement l'émergence de cohortes d'adultes au laboratoire et correctement ce qui est observé sur le terrain. En laboratoire, τ (la moitié du temps moyen d'émergence) est dépendant de la température lui aussi selon une relation de type exponentiel. Sur le terrain, les τ estimés lors de suivis d'émergence sont souvent plus grands que ceux calculés à partir de la température et de la formule (33) (tableau 5). Cela s'explique par le fait qu'à l'échelle d'un gîte réel l'histoire de l'éclosion des œufs est plus complexe car liée à la vitesse de mise en eau du gîte, à la migration des larves et aux historiques de densités larvaires et de disponibilité de la nourriture. De plus, avec l'impossibilité de distinguer, chez les adultes émergents, ceux provenant de la 1^{re} ou la 2^e mise en eau, l'estimation des τ est plus délicate que dans le cas de données de laboratoire.

À partir des dates de mises en eau des gîtes et de l'estimation des dates d'émergence, il est possible de reproduire correctement la dynamique d'adultes observée. L'augmentation des fréquences d'observation pourrait permettre d'améliorer l'estimation des paramètres dans des situations particulières : émergences rapprochées dans le temps ou pic important des densités. Pour générer le nombre d'adultes au cours du temps en ne connaissant que la pluviométrie et la température, il faudrait pouvoir déterminer a priori τ et M_0 . Mais leur détermination est difficile.

Les valeurs des τ estimés à partir des données d'adultes capturés au piège CO_2 sont globalement plus élevées que celles estimées à partir des suivis d'émergence. Le nombre d'adultes capturés dans le piège à CO_2 ne correspond pas au nombre d'adultes provenant d'un

gîte bien déterminé. Il correspond à ceux présents dans le bassin d'attraction du piège, provenant de différents gîtes de la zone ou provenant d'autres zones d'émergences. Ainsi le τ estimé intègre le temps nécessaire entre l'émergence d'un adulte à un endroit donné et son entrée dans le bassin d'attraction du piège. Ce point limite la possibilité d'utiliser l'équation (33) pour calculer un τ pour chaque émergence en fonction de la température.

Il n'a pas été possible de trouver une relation satisfaisante entre les M_0 estimés et les densités larvaires ou la hauteur de pluie tombée. Selon la quantité de pluie tombée, une surface plus ou moins importante du gîte est mise en eau. Cette surface dépend du gîte (topographie, pédologie) et de son historique (sol plus ou moins gorgé d'eau, gîte déjà en partie en eau). De même, le nombre d'œufs éclos dépend de la surface mise en eau, mais aussi de la zone (les œufs n'étant pas répartis de façon homogène (Gabinaud 1975)) ou encore de l'historique des mises en eau (nombre d'œufs accumulés) et de la période de l'année (œufs quiescents ou non). C'est pourquoi une relation simple entre les M_0 estimés et un paramètre de l'environnement est difficile à obtenir. Une modélisation plus complexe entre pluie, topographie du gîte, dynamique temporelle et production larvaire est nécessaire pour trouver un déterminisme environnemental au nombre de larves produites.

En conditions de laboratoire, la durée de vie d'*Ae. caspius* (Égypte) a été étudiée (Abdel-Malek et Adham 1978) à différentes températures, humidités relatives et conditions de diète (sans apport alimentaire, apport d'eau seule, apport d'eau et de sucre). La relation entre durée moyenne de vie et température est de type linéaire quelle que soit l'humidité relative (Abdel-Malek et Adham 1978). Ces relations sont compatibles avec les données de survie en laboratoires des souches camarguaise d'*Ae. caspius* (Carron *et al.* submitted). En considérant que, sur le terrain, la relation entre température et mortalité est la même, c'est l'émigration qui impose la relation de type quadratique entre taux de disparition et température exprimée par l'équation (34). En estimant le taux de mortalité par les relations d'Abdel-Malek et Adham (1978), l'émigration explique en moyenne 70 % de la disparition (écart-type 18 %). L'émigration serait alors maximale pour des gammes de températures moyennes et minimales pour des températures basses ou élevées.

En résumé, à partir des événements pluviométriques et du calcul des paramètres de développement larvaire (basé sur des données de laboratoire), il est possible de reproduire la dynamique saisonnière des adultes observés sur le terrain. En première approximation, le temps de présence dans une zone donnée semble essentiellement déterminé par la migration. Néanmoins, pour aller plus loin, il est nécessaire de connaître la relation entre facteurs de l'environnement et production larvaire d'un gîte. Pour cela, une modélisation plus complexe entre pluie, caractéristique du gîte, dynamique temporelle et production larvaire est nécessaire. De plus, un suivi où il serait possible de connaître le gîte d'origine des adultes grâce à un marquage permettrait d'affiner les estimations des paramètres et de leur déterminisme environnemental.

Distribution des vecteurs dans l'espace

Après avoir exposé, dans le chapitre précédent, la démarche pour estimer les densités de vecteurs au cours du temps, nous nous intéressons ici à la distribution des vecteurs dans l'espace. La démarche consiste à transformer une carte des milieux en carte de distribution de Cx. modestus, Cx. pipiens et Ae. caspius.

Dans un premier temps, nous exposons les règles d'association entre milieu et gîtes larvaires d'un côté, et zones de dispersion de l'autre pour chaque espèce considérée. Dans un deuxième temps, les cartes de distribution préliminaires sont discutées.

La démarche. Après émergence des gîtes larvaires et accouplement, les femelles se dispersent dans les milieux qui leur sont favorables à la recherche de gîtes de repos et d'hôtes. Puis, après la maturation des œufs, les femelles se mettent à la recherche de gîtes de pontes (Clements 1992). Nous partons du postulat que la distribution des vecteurs dans l'espace est principalement liée à la répartition des gîtes de ponte. Donc, l'aire de distribution d'une espèce est constituée des milieux, propices à ses déplacements, qui sont en continuité avec ses gîtes de ponte. Pour cartographier les aires de distribution des espèces, nous nous basons sur la classification d'une image satellitale identifiant les différents milieux écologiques. La capacité de chaque milieu à servir de gîte de ponte ou de zone de déplacement favorable est ensuite définie pour chacune des trois espèces cibles définies, à savoir *Cx. modestus*, *Cx. pipiens* et *Ae. caspius*. Les résultats préliminaires de cette démarche sont ensuite discutés.

1. Détermination des gîtes de ponte et des zones de dispersion

1.1. Les gîtes de ponte du littoral méditerranéen

« Comme nous le verrons, la notion de « spécificité des gîtes de ponte » permet l'application d'une telle méthode à l'étude écologique et chorologique des Culicides. Au surplus, il suffit de caractériser un biotope sous l'angle phytosociologique à l'aide de dix à douze relevés, pour en inférer, ipso facto, la répartition des espèces inventoriées... »

(Rioux 1958)

Les moustiques montrent une certaine spécificité dans le choix d'un gîte de ponte, sélectionnant selon l'espèce un ou plusieurs types de gîtes (Rioux 1958). Ces gîtes peuvent être divisés en deux grandes catégories : les gîtes urbains et les gîtes ruraux.

Les gîtes urbains sont essentiellement colonisés par *Cx. pipiens*, sous sa forme *molestus* pour les milieux hypogés (cave inondée, fosse, vide sanitaire) ou sous sa forme *pipiens* pour les milieux épigés (bassins, fossés, égouts à ciel ouvert...).

Les gîtes ruraux peuvent être permanents ou temporaires. Les gîtes permanents dulçaquicoles ou légèrement saumâtres hébergent schématiquement *Cx. pipiens* s'ils sont fortement chargés en matière organique et *Cx. modestus* ainsi que des anophèles dans le cas contraire. Les gîtes temporaires sont soit dulçaquicoles, ce qui est plutôt rare (prairie inondée associée à *Ae. vexans*, creux de rochers ou d'arbres), ou soit halins (creux de rocher en bordure de mer ou marais saumâtres associés à *Ae. caspius* ou *Ae. detritus*).

Le but ici est de décrire les gîtes de ponte pour chacune des trois espèces considérées au cours de leur saison d'activité. Pour cela, nous utilisons deux méthodes.

D'abord, nous procédons à une revue bibliographique des documents décrivant les gîtes des espèces considérées sur le littoral méditerranéen. L'ouvrage de référence reste celui de Rioux (1958), qui décrit notamment l'écologie et l'éthologie pour chacune des espèces inventoriées. Nous nous basons essentiellement sur ce document, complété par une bibliographie spécifique à chaque espèce.

Ensuite, nous exploitons deux séries de données de suivis larvaires (données EID-Méditerranée, M. Babinot). La première série concerne un marais saumâtre, La Bastide (55 hectares), situé à proximité de l'étang de Berre, près de Marignane. Les mises en eau de ce gîte ont été suivies de 1969 à 1971. La date et la nature de la mise en eau ont été recueillies. La composition larvaire a été notée, ainsi que la surface occupée par les larves de chaque espèce. La seconde série concerne deux rizières de 40 et 50 hectares, situées une au nord et l'autre au sud d'Arles. Ces rizières sont visitées tous les 15 jours entre 1999 et 2005 pendant leur période de submersion. À chaque visite est notée la présence ou l'absence significative de larves de chaque espèce. Nous utilisons ces deux suivis pour décrire au cours d'une saison la composition faunistique de ces gîtes larvaires.

1.1.1. Données bibliographiques

Les gîtes de ponte de *Cx. modestus*. Pour cette espèce, ce sont des femelles quiescentes qui survivent à l'hiver, réfugiées dans la végétation serrée des phragmitaies (Mouchet *et al.* 1969). Les gîtes de ponte naturels de *Cx. modestus* sont les marais légèrement saumâtres encombrés de végétation dressée et serrée, c'est-à-dire principalement les phragmitaies, mais aussi éventuellement les zones à scirpes et joncs (Mouchet *et al.* 1970 ; Rouzaud 1975). Les femelles sortent de l'hibernation dès la mi-février. Les gîtes larvaires sont alors abondamment peuplés à partir d'avril et le restent jusqu'en octobre, fin d'activité des femelles (Mouchet *et al.* 1970). De plus, à partir de juin, *Cx. modestus* pullule dans des gîtes semi-artificiels, plus nombreux que les précédents : les rizières (Mouchet *et al.* 1970).

Les gîtes de ponte de *Cx. pipiens*. Pour cette espèce, ce sont également les femelles quiescentes qui survivent à l'hiver, réfugiées dans des gîtes artificiels (cave, étable...) ou naturels (grotte, tronc d'arbre...). *Culex pipiens* est une espèce ubiquiste, caractérisée par la diversité de ses gîtes de ponte (Rioux 1958 ; Vinogradova 2000). C'est l'espèce dominante des gîtes urbains pollués (vide sanitaire inondé, fosse, égout à ciel ouvert...) ou non (bassin, récipient contenant de l'eau de pluie). On la retrouve dans des gîtes ruraux artificiels de grande ou petite taille : rizières, roubine envahie par la végétation, fossé de bord de route, récipient abandonné ou abreuvoir automatique... Elle peut aussi coloniser des gîtes naturels comme les marais d'eau suffisamment douce.

Les gîtes de ponte d'*Ae. caspius*. Cette espèce passe l'hiver à l'état d'œufs quiescents (Sinègre 1974). Les premiers adultes apparaissent en mars, avec les premières pluies de printemps. Les gîtes naturels d'*Ae. caspius* sont les marais halins, sa larve étant halophile, mais on peut aussi la retrouver dans des eaux faiblement saumâtres. C'est ce type de gîte qui a été le plus étudié sur le littoral méditerranéen, car c'est principalement contre *Ae. caspius* et *Ae. detritus* qu'est dirigée la lutte anti-nuisance de l'EID-Méditerranée depuis plus de 40 ans (Rioux *et al.* 1967a). Pour limiter les zones à traiter, une carte phyto-sociologique des marais saumâtres a été établie, définissant environ 30 groupements végétaux, regroupés en 4 grandes unités : sansouire, roselière, jonçaie et pré salé (Rioux *et al.* 1967b). Les unités les plus productrices pour *Ae. caspius* ont été établies (Gabinaud 1975), permettant de disposer d'une cartographie fine des gîtes de développement larvaire de ces espèces (Rioux *et al.* 1968). Ces unités sont la phytocénose à jonc maritime (*Juncus maritimus*) associé aux salicornes, la

phytocénose à salicorne en buisson (*Sarcocornia fruticosa*) associée ou non à la salicorne glauque (*Arthrocnemum macrostachyum*), et enfin la phytocénose à scirpe maritime (*Bolboschoenus maritimus*) (Gabinaud 1975). Il s'agit donc des formations végétales des marais salés, qui sont fortement recouvrantes et qui subissent des cycles d'assèchement et de mise en eau réguliers. Enfin, Rioux (1958) rapporte que les rizières nouvellement mises en eau peuvent permettre des éclosions importantes.

1.1.2. Résultats des suivis larvaires : données dynamiques

Suivi du gîte de La Bastide. La végétation de ce gîte est composée, par ordre de durée croissante de submersion, d'une roselière à *Phragmites australis* associée à une zone à scirpes (*Scirpus maritimus*), d'une zone à joncs (*Juncus gerardi*, *Juncus subulatus*), d'une sansouire (*Sarcocornia fruticosa*, *Salicornia europea*) et d'une zone de graminées vivaces (*Elytrigia* sp.). Les résultats des suivis de La Bastide sont présentés figure 13.

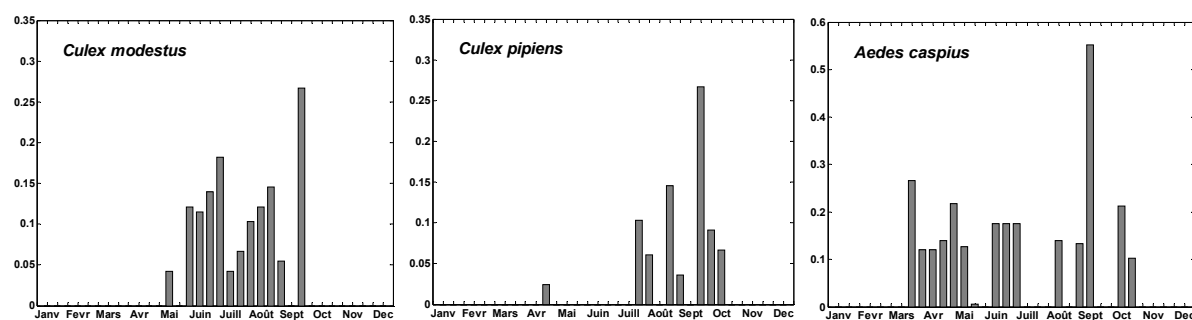


Figure 13 : Suivi larvaire du gîte de La Bastide.

Moyenne sur trois années de suivi (données EID-Méditerranée, M. Babinot) de la fraction de la surface totale du gîte occupé par les larves de chacune des trois espèces au cours de la saison (chaque unité de temps correspond à une décennie).

Dans le gîte de la Bastide, les larves de *Cx. modestus* sont présentes en grande quantité, de mai à octobre. La surface qu'elles occupent est minimale en juillet (assèchement partiel de la phragmitaie) et maximale en septembre (pluie ou irrigation de fin d'été).

Les larves de *Cx. pipiens* ne sont présentes que de juillet à octobre. Soit les caractéristiques du gîte ne sont favorables à *Cx. pipiens* que pendant cette période, soit l'arrivée tardive de *Cx. pipiens* sur ce gîte s'explique par l'éloignement des sites d'hibernation de l'espèce.

On observe la présence de larves d'*Ae. caspius* de fin mars à début mai (pluies de début de printemps), en juin (pluie de fin de printemps), de fin août à septembre (pluies de fin d'été ou irrigation) et en octobre (début des pluies d'hiver). Pour cette espèce, on connaît précisément les zones d'éclosion. Sur les 3 années, la zone la plus productrice est sans conteste la zone à joncs (concernée par 22/24 émergences), associée à la scirpaie (10/24) et la sansouire (11/24). La phragmitaie fonctionne exclusivement après l'assèchement estival

(4/24), dont trois fois suite à une irrigation. Finalement la partie pré salé à graminées vivaces ne fonctionne qu'exceptionnellement (2/24), dont une fois suite à l'irrigation complète de la zone.

Suivi des rizières. Les résultats du suivi des rizières sont présentés figure 14.

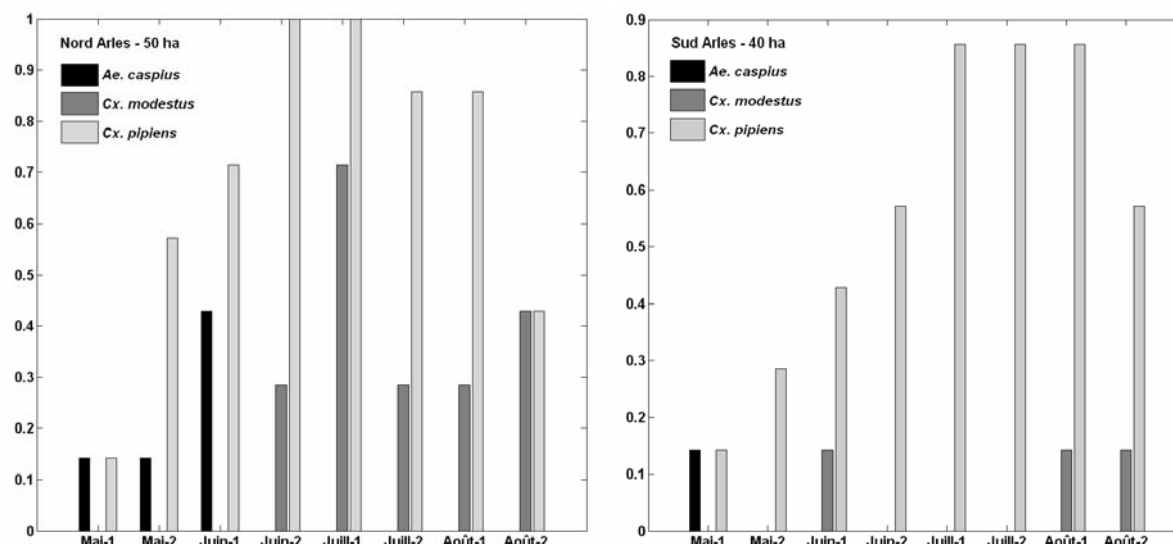


Figure 14 : Suivi larvaire des rizières.

Probabilité de présence de larves pour chacune des trois espèces dans chaque rizière suivie (moyenne de cinq années de suivi, données EID-Méditerranée, M. Babinot) au cours de la saison (chaque unité de temps correspond à une quinzaine).

Culex modestus colonise la rizière au nord d'Arles de mi-juin à août. Son arrivée est tardive par rapport à la mise en eau du gîte (mi-avril à mai). Soit seules les rizières évoluées sont attractives pour les femelles gravides de *Cx. modestus*, soit *Cx. modestus* ne colonise ces gîtes que lorsqu'il est en densité suffisante pour s'éloigner de ses gîtes de développement larvaires naturels. La différence entre les deux rizières reste inexpliquée.

Culex pipiens est présent dans les rizières de mai à août, c'est-à-dire pendant toute la durée de culture. Sur cinq années de suivi, on le retrouve presque systématiquement de fin juin à août.

Aedes caspius peut être présent dans les rizières au moment de la mise en eau. Néanmoins, la mise en eau d'une rizière (mi-avril à mai) est souvent suivie assez rapidement d'un assec pour traitement pesticide du riz (chapitre 2). Suivant la gestion de la mise en eau, de l'existence d'un traitement ou non, ces gîtes peuvent être plus ou moins productifs. Leur production est difficile à quantifier et limitée naturellement à la mise en eau.

1.2. La dispersion des adultes

Nous partons du postulat qu'autour des gîtes larvaires les adultes femelles se dispersent essentiellement pour rechercher des hôtes. On peut considérer trois phases dans ce comportement : i) une dispersion non orientée augmentant la probabilité des femelles à entrer en contact avec un hôte, ii) un déplacement orienté pour se diriger vers l'hôte dont les stimuli ont été détectés (odeurs, gradient de CO₂), et iii) une approche finale essentiellement guidée par des stimuli visuels (Becker *et al.* 2003).

La distance parcourue lors de la première phase est extrêmement variable entre les espèces de moustiques. On décrit classiquement : i) les espèces se dispersant peu autour de leur gîte de développement larvaire, à savoir essentiellement les espèces de gîtes artificiels, comme *Cx. pipiens*, ii) les espèces se dispersant modérément autour de leur gîte d'émergence ou de leur site de reproduction, comme *Aedes rusticus* (Rossi), et iii) les espèces parcourant des distances importantes colonisant de nouveaux habitats pour piquer ou pondre, en général les espèces de type *Ae. vexans* (Becker *et al.* 2003). Néanmoins, cette distance est très difficile à évaluer. En effet, les protocoles de marquage, lâcher et recapture se heurtent à un taux de recapture toujours faible et la différenciation entre la perte liée à la mortalité et celle liée au déplacement n'est pas possible.

Nous essayons de réunir ici des informations concernant les milieux favorables à la dispersion et les rayons de vol des espèces considérées. Nous nous basons d'abord sur une revue bibliographique. Puis nous nous intéressons plus spécialement à la dispersion de *Cx. modestus*. En effet, la capture des quelques individus à Lunel-Viel contredit ce qui est classiquement décrit. Nous mettons en œuvre un protocole spécifique pour tester l'hypothèse que *Cx. modestus* est capable de se disperser, depuis ses gîtes principaux d'émergence (roselières et marais du bord des étangs littoraux) à travers la zone sèche, le long de petits cours d'eau.

1.2.1. Données bibliographiques

Peu de données sont disponibles sur *Cx. modestus*, qui a été peu étudié. La description classique est celle d'une espèce se dispersant extrêmement peu en milieu découvert. Ainsi, Mouchet (1970) écrivait : *Cx. modestus* « semble posséder un rayon de vol assez faible en terrain découvert : les femelles s'éloignent peu des gîtes larvaires ou du couvert végétal où

elles se tiennent habituellement. C'est ainsi qu'à la Capelière les attaques sont très nombreuses dans les champs de roseaux entourant la maison du garde et bordant le Vaccarès, alors qu'elles sont peu fréquentes sur la route et dans la sansouire voisine où, par ailleurs, *Aedes caspius* est agressif». Les femelles de *Cx. modestus* se rencontrent dans la végétation serrée des roselières, haies et ripisylve du bord du Rhône (Mouchet *et al.* 1970). En se basant sur ces observations, on peut en déduire que *Cx. modestus* se déplace principalement dans les formations végétales à fort couvert.

De même, *Cx. pipiens* est réputé se déplacer peu, mais là encore les données chiffrées manquent. En milieu urbain, *Cx. pipiens*, sans doute forme *molestus*, semble être limité à un rayon de moins de 100 mètres autour de ses gîtes d'émergence (Roman *et al.* 1962). On peut supposer que son déplacement se réalise dans les milieux urbains et dans les mêmes milieux que *Cx. modestus*, c'est-à-dire des milieux avec un fort couvert végétal. Service (1993) liste les résultats d'études de marquage-recapture réalisées dans le but de connaître la distance maximale parcourue depuis l'endroit du lâcher. Il ne recense aucune étude qui concerne *Cx. pipiens*. Les études concernant *Cx. quinquefasciatus* (sans doute comparable à *Cx. pipiens*) montrent pour la plupart que la distance maximale parcourue est d'environ un kilomètre ; cependant une étude met en évidence une distance d'environ 5,6 kilomètres (Service 1993).

Aedes caspius est décrit comme un bon voilier (Rioux et Arnold 1955 ; Rageau et Mouchet 1967), souvent sans autre précision qu'un exemple illustratif sur sa capacité à déferler jusqu'au cœur des villes, comme Montpellier (Rioux 1958) ou Arles (Roubaud et Treillard 1944). Les données chiffrées sont souvent anecdotiques : « Les aèdes de ce gîte qui vinrent à l'éclosion se montrèrent en ville à 1700 m de leur foyer de production, c'est la distance qui séparait le gîte du point où je les observais ; sans doute d'autres aèdes volèrent encore plus loin » (Legendre 1935a). Néanmoins, c'est sur ce principe (observation de femelles à différentes distances d'un gîte) que se basent les protocoles les plus informatifs. Ainsi *Ae. caspius* serait capable de parcourir 6 à 7 kilomètres en Angleterre⁶² ou en Sibérie (Proskuriakova et Markovich 1984a, 1984b)⁶³. Dans le bassin méditerranéen, le rayon de vol d'*Ae. caspius* serait⁶⁴ plutôt de 20 kilomètres (Juminer *et al.* 1964). Il faut préciser que ces protocoles sont difficiles à mettre en œuvre : *Ae. caspius* est capable de coloniser des gîtes

⁶² Les études anglaises originales n'ont pas été retrouvées, Marshall (1938) parle de « at least some miles » sans citer les sources originales. Les chiffres avancés sont ceux cités par un auteur français, « d'après les travaux effectués en Angleterre » sans autre précision (Brumpt 1942).

⁶³ Voir la bibliographie sur *A. caspius* réalisée par O. Moussiegt pour une revue de la littérature en langue russe (Moussiegt 1993).

⁶⁴ Chiffre non justifié.

d'eau relativement douce, comme des prairies inondées, et donc d'être présent à l'intérieur des terres, sans forcément provenir de gîtes littoraux (Shute 1933 ; Marshall 1938). De plus ces gîtes sont souvent temporaires et rapidement asséchés, si bien qu'il existe un risque de considérer des moustiques comme provenant d'un gîte éloigné, alors qu'ils ont émergé d'un gîte proche mais asséché (Legendre 1935b ; Roubaud et Treillard 1944). En Camargue, la diversité des gîtes à *Ae. caspius*, leur nombre et leur localisation (dispersés dans tout le delta) rendent ces observations très difficiles. Le déplacement d'*Ae. caspius* doit être facilité par le couvert végétal néanmoins il est beaucoup plus dispersif que les *Culex* dans les milieux ouverts.

1.2.2. Les rivières : des couloirs de migration pour *Culex modestus*

Durant la saison de capture sur appât hôte, six femelles *Cx. modestus* ont été capturées sur le site de Lunel-Viel. Aucun gîte n'a été trouvé dans le voisinage du site de capture. Les marais les plus proches (gîtes potentiels de *Cx. modestus*) sont ceux bordant l'étang de Mauguio, situés à plus de six kilomètres du centre équestre. Nous venons de voir que *Cx. modestus* est réputé se disperser peu. Les quelques individus capturés peuvent être considérés comme des individus erratiques ou refléter la présence d'une population de *Cx. modestus* en faible densité. Selon le cas, l'interprétation du rôle vectoriel potentiel de *Cx. modestus* en zone sèche est différente.

Le centre équestre de Lunel-Viel est situé le long d'une rivière, le Dardaillon, bordée d'arbres (peupliers et platanes) et d'un sous-bois épais. Cette rivière prend sa source dans la garrigue au nord de Vérargues et se jette dans le canal de Lunel, à proximité des marais de l'extrémité nord-est de l'étang de Mauguio. Les individus capturés à Lunel-Viel peuvent avoir migré depuis les marais le long des formations végétales qui bordent la rivière (migration erratique) ou la population de *Cx. modestus*, supposée hiberner dans les marais, colonise au fur et à mesure de la saison la rivière, y trouvant en des points stagnants des gîtes de ponte. Pour répondre à ces questions, des piégeages d'adultes et des prospections larvaires ont été menés le long du Dardaillon.

Matériel et méthodes

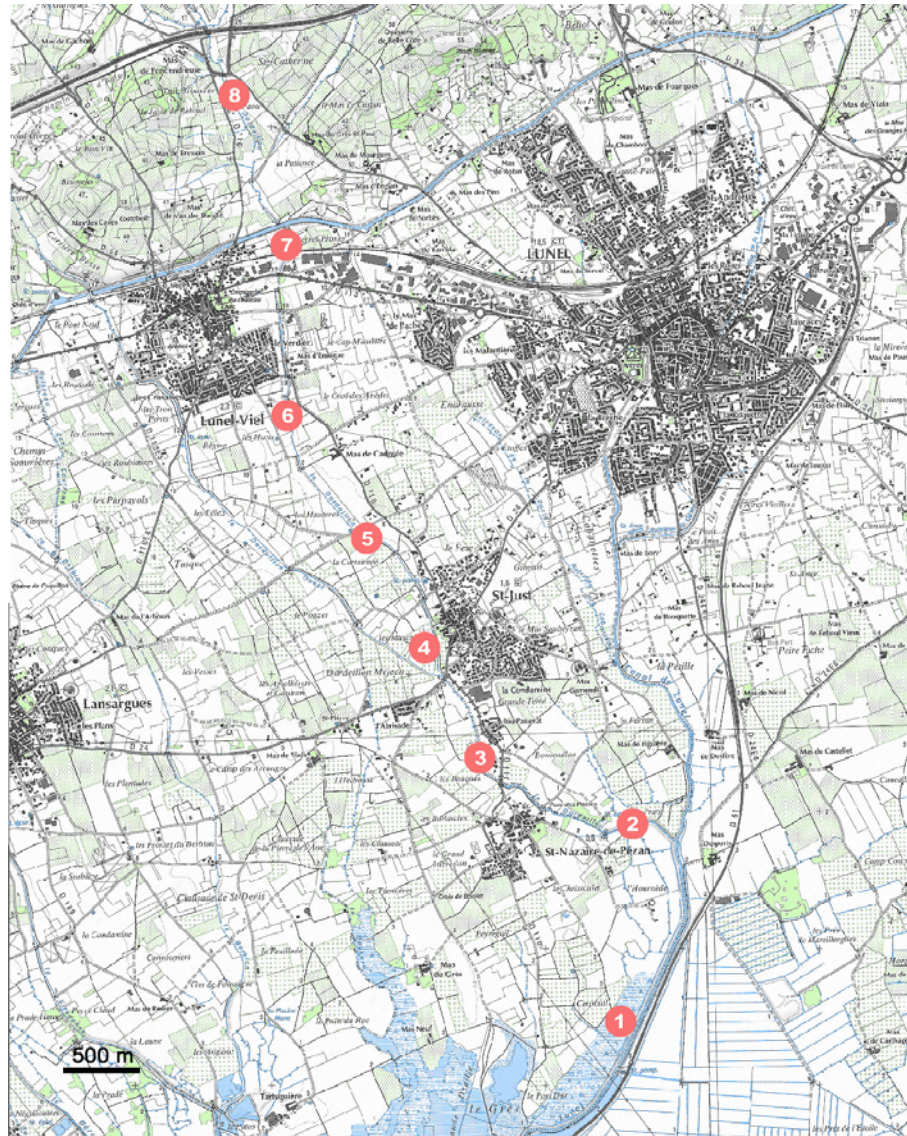
Captures d'adultes. Des pièges à CO₂ ont été répartis régulièrement (environ tous les 1000 – 1500 mètres) le long du Dardaillon, entre le centre équestre et le marais le plus proche

de la fin de la rivière (carte 4). Au total, huit pièges sont posés dans l'après-midi du 17/07/2006 et relevés le lendemain.

Le premier piège a été placé dans un bosquet de tamaris au bord d'un marais pâturé, dominé par le jonc maritime associé au scirpe maritime et bordé par un polypogon (*Polypogon monspeliensis*). Ce marais est adjacent à une roselière non pâturée, les deux étant encadrés par le canal de Lunel d'un côté et des vergers et des prairies de l'autre. L'environnement des autres pièges est quasiment le même. La rivière sillonne au milieu d'un tissu urbain diffus, de vergers et de prairies, où l'on trouve souvent des chevaux. La rivière est bordée de bosquets d'arbres et de cannes de provence. Le sous-bois est plus ou moins épais et souvent dominé par des ronces. Le Dardaillon est large, avec beaucoup de courant en aval (pièges 2 et 3), mais aussi au niveau du piège 7 (travaux d'aménagement pour le passage sous le canal d'irrigation du Bas-Rhône Languedoc). Ailleurs il est étroit avec peu de courant. Dans ces conditions, il est envahi de potamot, de renoncules de Baudot et de lentilles d'eau accumulées aux points stagnants. Au niveau du piège 8, un barrage artificiel s'est formé (débris végétaux et déchets humains), permettant l'accumulation de beaucoup de lentilles d'eau sur une grande superficie.

Les individus capturés sont tués par le froid et identifiés au niveau de l'espèce (Schaffner *et al.* 2001). Pendant la pose des pièges ou la prospection larvaire, les adultes cherchant à piquer sont collectés.

Prospection larvaire. Au moment de la récolte des pièges, les larves de moustiques sont recherchées dans le marais et la roselière ou le lit de la rivière au voisinage des pièges, à raison de trois prospecteurs pendant au moins une demi-heure par site. Les larves récoltées sont identifiées (Schaffner *et al.* 2001).



Carte 4 : Localisation des pièges à CO₂ le long du Dardaillon.
Fond de carte IGN 1/25 000

Résultats préliminaires

Captures des adultes. Les pièges 2, 5 et 8 ont été retrouvés arrêtés, leurs résultats en nombre absolu de moustiques ne doivent pas être pris en considération. Les résultats du piège 6 n'ont pas encore été exploités. Au total dans les pièges à CO₂, 2851 moustiques (dont quatre mâles) regroupant cinq espèces ont été collectés. Plus de 99 % des femelles collectées étaient des *Culex*, à savoir 2061 *Cx. pipiens*, 748 *Cx. modestus* et 18 *Culex* non identifiables. La répartition des *Culex* par piège est présentée figure 15. Seules 20 femelles sont identifiées appartenant à d'autres genres, à savoir : deux femelles d'*An. maculipennis* s. l. (piège 1), une d'*Ae. vexans* (piège 2), 15 d'*Ae. caspius* (réparties sur les pièges 1 à 4) et deux femelles *Aedes* (piège 2 et 3), trop abîmées pour être identifiées.

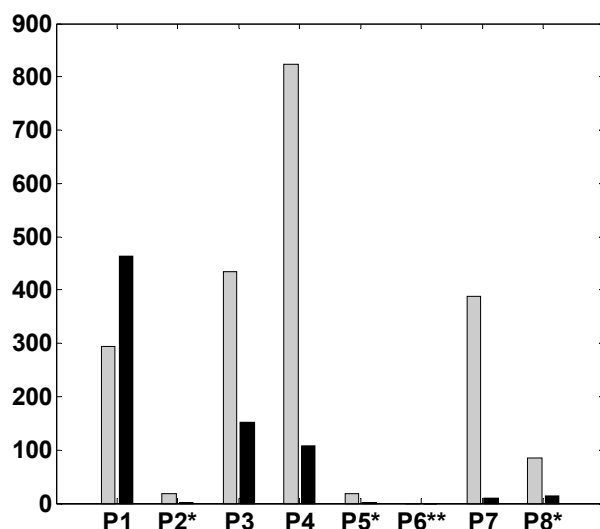


Figure 15 : Répartition des *Culex* le long du Dardaillon.

Nombre de femelles *Culex* (histogrammes gris pour *Cx. pipiens* et noirs pour *Cx. modestus*) capturées par piège (avec P* : piège arrêté, P** : piège non trié).

En journée, pendant la prospection larvaire, peu de femelles cherchaient à piquer. Au niveau du marais et de la roselière, six femelles *Cx. modestus* et une femelle *Ae. caspius* ont été capturées. Sur le reste du parcours, seules quelques femelles *Ae. caspius* cherchaient à se gorger au niveau du piège 2 et quelques *Cx. modestus* au niveau du piège 8 : à ce niveau, le couvert végétal est particulièrement important.

Prospection larvaire. Au niveau du piège 1, trois gîtes ont été identifiés : i) le marais où aucune larve n'a été retrouvée, ii) la roselière, où ont été collectées 9 larves de *Cx. modestus* et une larve de *Cx. pipiens*, et iii) un gîte de petite taille, un trou rempli d'eau et de végétation, où ont été collectées 14 larves de *Cx. pipiens* (ainsi que des adultes (4 femelles et 3 mâles) dans la végétation). Au niveau des pièges 2, 3, 4 et 7, aucune larve n'a été récoltée. Au niveau du piège 5, une larve de *Cx. pipiens* et une de *Culex impudicus* Ficalbi ont été collectées dans les renoncules. Au niveau du piège 6, une larve et une nymphe d'*An. maculipennis* s.l. ont été trouvées. Au niveau du piège 8, 17 larves de *Cx. impudicus* et une larve d'*An. maculipennis* s.l. ont été récoltées au milieu des lentilles d'eau.

Discussion

L'interprétation des résultats est limitée par l'arrêt de trois des huit pièges et par le caractère unique de la capture. Nous donnons donc des pistes de réflexion et des propositions pour compléter ce protocole.

Culex pipiens est l'espèce dominante sur l'ensemble de la rivière. Les variations du nombre de femelles capturées sous-entendent la capacité de cette espèce à coloniser des gîtes larvaires sur toute la zone. Quelques larves ont été retrouvées dans le Dardaillon. Cette espèce

peut donc pondre dans la rivière, néanmoins l'importance du tissu urbain diffus doit lui fournir de nombreux gîtes artificiels plus productifs.

Culex modestus est l'espèce dominante dans le marais. Ses densités diminuent au fur et à mesure que l'on s'en éloigne. Aucune larve n'a été collectée dans la rivière. Soit ce gîte n'est pas attractif, soit les larves sont tellement diluées qu'elles n'ont pas été mises en évidence ; en effet, même dans la roselière, les larves ne sont jamais en très forte densité. Nous avons montré que la présence de *Cx. modestus* en zone sèche n'est pas anecdotique. Nous nous sommes concentrés uniquement sur la rivière. Nous ne pouvons donc pas exclure que les populations trouvent d'autres gîtes de ponte, comme des fossés de bord de route. Une prospection larvaire plus complète devrait être menée. La diminution progressive des densités peut signifier qu'il n'existe pas de gîtes d'émergence le long de la rivière, alors que la capture de deux mâles au niveau du piège 3 peut laisser supposer le contraire. En l'absence de gîte d'émergence le long de la rivière, on peut penser que les populations issues du marais et de la roselière remontent la rivière en recherche d'hôte, puis, soit pondent dans des gîtes non productifs, soit repartent pondre dans les gîtes initiaux. Dans ce dernier cas, la capacité de dispersion de *Cx. modestus* est assez importante (plusieurs kilomètres) pourvu qu'un couvert végétal lui assure un minimum de protection. Un suivi régulier de ces populations au cours d'une saison complète, avec notamment la détermination du taux de parturité, pourrait permettre d'aller plus loin dans l'interprétation de ces résultats. En l'état actuel, on peut seulement dire que *Cx. modestus* est capable d'être présent assez loin dans la zone sèche par le biais de couloirs de migration formés par la végétation des petits cours d'eau.

La rivière peut servir de gîte de ponte à *An. maculipennis* s.l., mais surtout à *Cx. impudicus* dans des conditions particulières, à savoir en zone très ombragée et envahie par les lentilles d'eau. Rioux (1958) insiste d'ailleurs sur le caractère sciophile de cette espèce. Les marais peuvent aussi servir de gîtes de reproduction à *An. maculipennis* s.l., comme en atteste les deux individus capturés, mais aussi à *Ae. caspius* et *Ae. vexans*. Les faibles densités d'*Aedes* sont à mettre en relation avec la déoustication de la zone par l'EID-Méditerranée et avec l'absence de pluie les semaines précédant la prospection.

En résumé, *Cx. modestus* hiberne dans les roselières, qui sont ses gîtes de développement larvaire naturels. Il prolifère dans les rizières évoluées (de mi-juin à août). Ses gîtes de repos sont constitués par la végétation épaisse des roselières, marais, haies et ripisylve. Il se disperse peu en milieu découvert, mais peut progresser dans la zone sèche le long de couloirs de végétation.

Culex pipiens hiberne principalement dans des constructions humaines, que l'on peut associer au tissu urbain diffus. Dans ces zones, il peut trouver des gîtes de ponte toute la saison. De plus, il colonise les rizières tant qu'elles sont en eau et les marais et roselières en fin de saison. Il se déplace *a priori* peu autour des gîtes d'émergence et trouve des gîtes de repos dans les formations végétales denses.

Les gîtes de pontes d'*Ae. caspius* sont constitués par les marais, les prés salés humides, essentiellement dans la zone à joncs et les sansouires. Les femelles se concentrent dans les formations végétales protégées, mais se dispersent facilement dans de nombreux milieux ouverts. Le rayon de vol de cette espèce est de l'ordre de 15 à 20 kilomètres.

2. Cartes de distribution des vecteurs

Cette partie a pour but de présenter une démarche, qui permet d'aboutir à la cartographie des milieux favorables à la présence de moustiques en fonction du moment de la saison. Nous nous basons sur une cartographie des milieux obtenus par classification d'une image satellite. En s'appuyant sur la première partie de ce chapitre, nous attribuons à chaque milieu une capacité à constituer un gîte de ponte et un milieu favorable au déplacement.

2.1. La démarche suivie

Cartographie des milieux. La zone d'étude s'étend de Montpellier à l'ouest, à Fos-sur-Mer à l'est, à Beaucaire au nord et jusqu'au littoral au sud, soit une aire de 80 kilomètres de large et de 50 de hauteur. Cette zone correspond à la zone de transmission camarguaise du virus *West Nile*. Une image Landsat du 21 juillet 2001 et de 170×183 kilomètres a été utilisée. Cette image couvre l'ensemble de la zone d'étude.

Les unités écologiques présentes dans la zone et compatibles avec l'écologie des espèces de moustiques considérés ont été définies. Pour réaliser une carte de ces unités, une classification supervisée orientée objet, par maximum de vraisemblance, a été appliquée à l'image (logiciel *eCognition*, Munich, Allemagne). Les zones d'apprentissage ont été définies à partir de relevés de terrain et de cartes d'occupation du sol déjà existantes (source : EID-Méditerranée et Parc naturel régional de Camargue). De plus, la validité de la classification a été testée avec un ensemble de points de contrôle au sol qui n'avaient pas servi à la classification de l'image. Ce travail a été réalisé en collaboration avec Annelise Tran (Cirad, département Emvt) dans le cadre du projet EDEN⁶⁵ (Tran *et al.* 2006).

Cartographies des gîtes et des milieux de dispersion. En première approche, nous proposons une cartographie des gîtes de développement larvaire et des milieux favorables à la dispersion. Pour cela, nous définissons pour chaque espèce : i) les milieux susceptibles d'abriter des gîtes de développement larvaire, ii) les milieux permettant la dispersion, et iii) les milieux impropres à la dispersion. Les milieux où la dispersion est possible sont

⁶⁵ Centre de coopération internationale en recherche agronomique pour le développement, département Élevage et médecine vétérinaire - projet *Emerging Diseases in an European changing eNvironment*.

subdivisés en deux catégories, suivant que la dispersion y est fortement ou faiblement probable. Les règles de décision retenues sont présentées dans le tableau 7.

Espèce	Gîte de ponte	Milieux de dispersion		
	Description	Période	Haute probabilité	Faible probabilité
<i>Culex modestus</i>	Roselière	mars à octobre	ripisylve, haies, marais	pré salé humide
	Rizière	mi-juin à août		
<i>Cx. pipiens</i>	Urbain diffus	mars à octobre	ripisylve, haies, marais,	prés salés, prairies,
	Rizière	mai à août	zones urbaines	jachère
	Roselière	juillet à octobre		
<i>Aedes caspius</i>	Prés salés humides	mars à octobre	ripisylve, haies, pré salé sec, roselière	zones urbaines, prairie, jachère, rizières, vigne, verger, céréales
	Marais			
	Sansouire			
	Roselière	septembre		

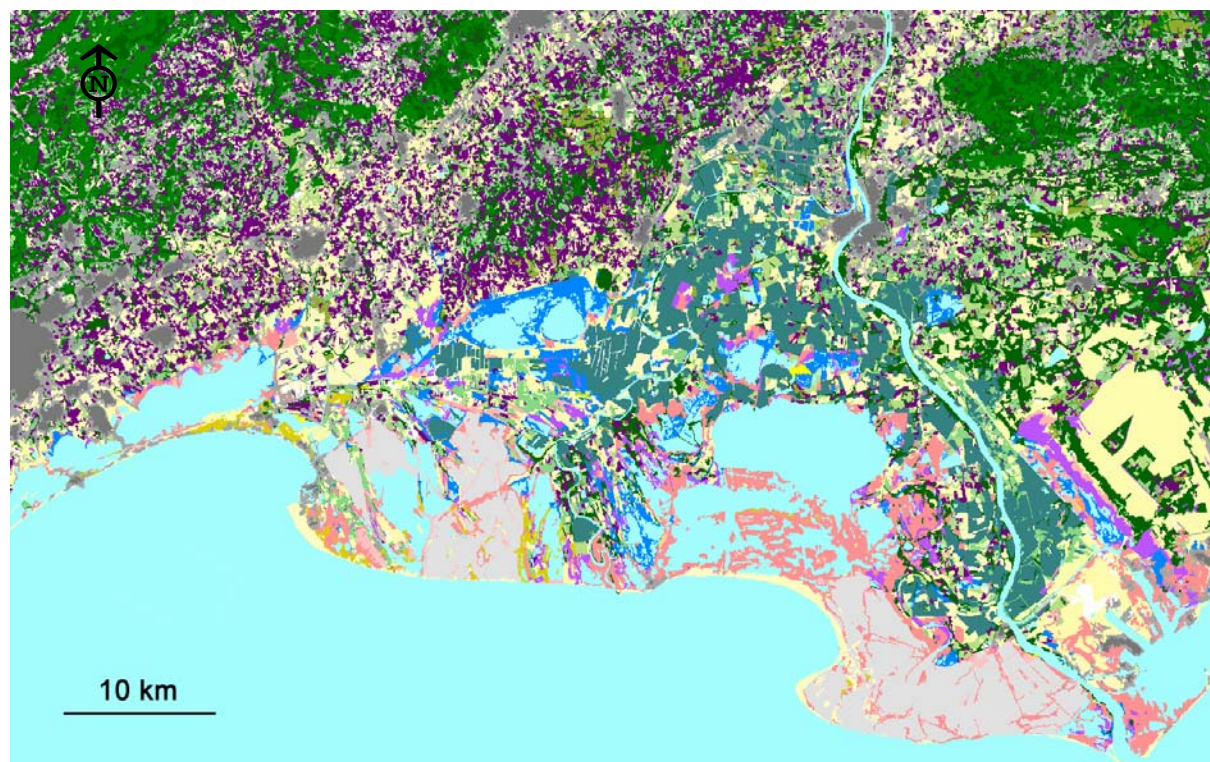
Tableau 7 : Cartographie des gîtes de ponte et des milieux de dispersion.

2.2. Cartes de distribution pour *Culex modestus*, *Culex pipiens* et *Aedes caspius*

Cartographie des milieux. La classification issue de l'image satellitaire (carte 5) comprend 27 classes, que l'on peut rassembler en six groupes : le littoral, l'eau libre, les milieux temporaires salés à saumâtres, les milieux naturels continentaux, les milieux agricoles et les milieux urbains (tableau 7). Elle présente un taux de validité de 68 %.

Avec cette classification, on distingue aisément les zones littorales avec la succession d'étangs saumâtres associés aux sansouires, les marais et les roselières associés aux anciens ou actuels bras du Rhône, la riziculture inféodée au delta, la zone de Costière dominée par la vigne et située entre les zones humides et les garrigues.

L'image Landsat est une image de résolution moyenne, la taille du pixel étant de 30 mètres de côté. Certains gîtes ne peuvent être détectés, comme les gîtes artificiels de petites tailles ou les roubines. Cette difficulté est contournée en considérant par exemple que le tissu urbain diffus abritera des gîtes artificiels propices à *Cx. pipiens*. Aussi, même si les résultats peuvent être améliorés en utilisant une image de meilleure résolution, la démarche présentée ici reste valable.



Carte 5 : Les milieux de la zone de transmission.

Classification en 27 classes de l'image satellite Landsat.

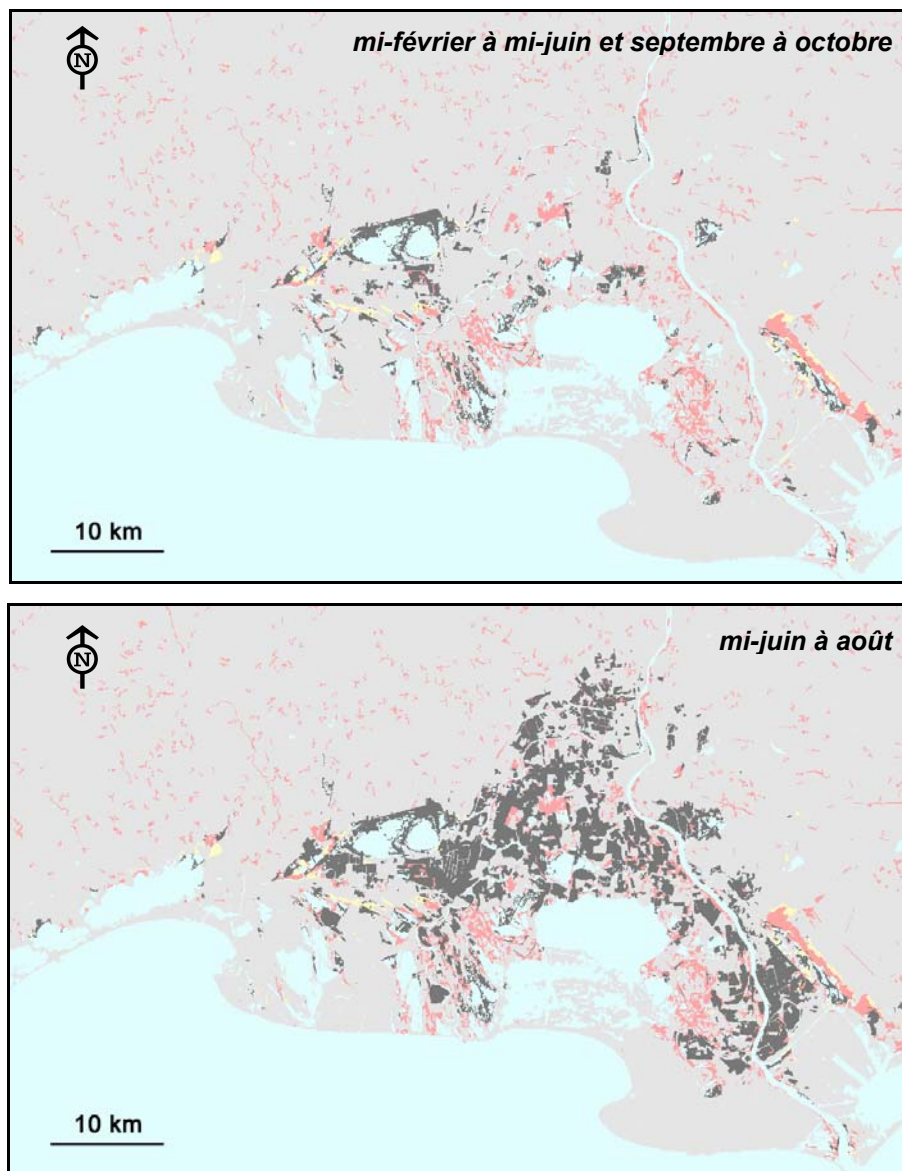
Tableau 8 : Légende de l'image classée.

ID : identifiant de la classe.

ID	Description	ID	Description
Le littoral		Les milieux naturels continentaux	
1	Mer	15	Ripisylve
2	Plage et dune	16	Haies
3	Dune boisée	17	Forêt
L'eau libre		18	Garrigue
4	Etang et lagunes	Les milieux agricoles	
7	Clairs de roselière	14	Prairies
8	Rivières et lacs	19	Vigne
Les milieux temporaires salés à saumâtres		20	Sol nu
5	Souillère : terre très salée sans végétation	21	Verger
6	Sansouire	22	Rizière
9	Vasière : zone de vase peu salée	23	Céréales
10	Roselière	24	Jachère
11	Marais à scirpes et juncs	27	Salins
12	Pré salé humide	Les milieux urbains	
13	Pré salé sec	25	Zone urbaine dense
		26	Zone urbaine diffuse

Cartographies des gîtes et des milieux de dispersion. Pour chaque espèce, nous présentons plusieurs cartes des gîtes de ponte (gris foncé), des milieux propices au déplacement (rouge), des milieux peu propices au déplacement (jaune) et d'autres milieux (gris clair).

Cartes pour *Cx. modestus*. Pour cette espèce, deux cartes sont générées : une pour l'ensemble de sa saison d'activité (mi-février à octobre) et l'autre pour la période où les rizières constituent des gîtes larvaires (mi-juin à août).



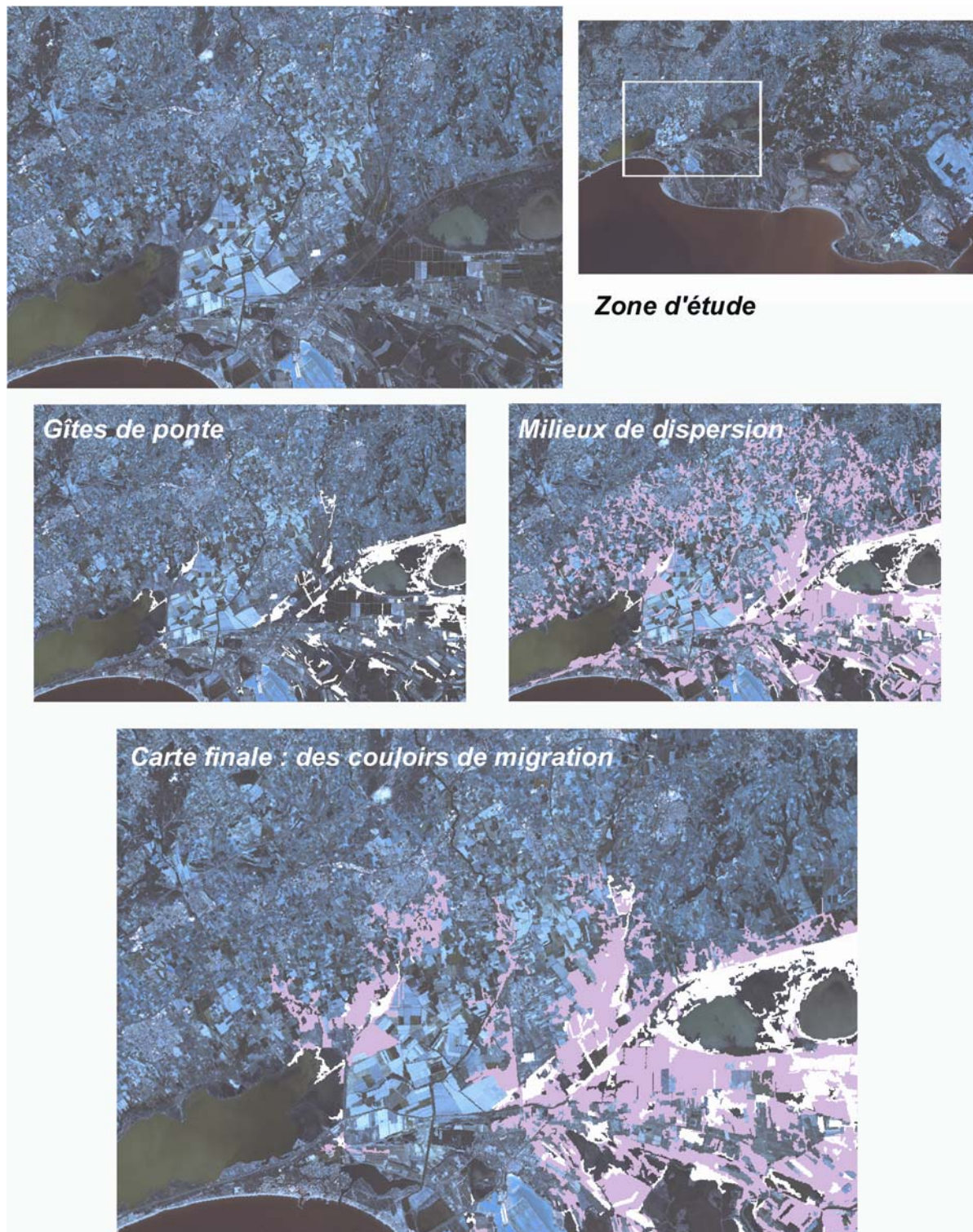
Carte 6 : Gîtes de ponte et milieux de dispersion de *Culex modestus* en Camargue.

Les différentes cartes correspondent à différents moments de l'année, entre mars et octobre pour la première et entre mi-juin à août pour la seconde. Sont représentés les gîtes de ponte (gris foncé), les zones de dispersion (rouge), les zones peu propices à la dispersion (jaune), les zones impropres à la dispersion (gris clair) et l'eau libre (bleu).

Les gîtes de ponte de *Cx. modestus* à la sortie de l'hiver sont constitués par les roselières. Ce milieu est très localisé, essentiellement autour des étangs du Charnier et de Scamandre, autour du Vaccarès et au marais du Vigueirat. Les milieux propices à sa dispersion sont importants dans le delta. À partir de la mi-juin, *Cx. modestus* colonise les rizières. Il peut alors par ce biais être présent dans l'ensemble du delta. Après août et la récolte du riz, la situation est la même que celle de début de saison.

Cette espèce est donc particulièrement inféodée aux zones humides. Néanmoins, en zone sèche, des milieux propices à la dispersion sont présents sous forme d'îlots isolés les uns des autres. Il s'agit essentiellement de la ripisylve présente autour des petits cours d'eau qui traversent la zone. La résolution de l'image n'offre la possibilité d'identifier ces formations que lorsqu'elles sont suffisamment larges. La discontinuité de ces zones est liée soit à une réelle discontinuité de la ripisylve ou alors à l'absence de détection de cette dernière lorsqu'elle devient moins large. Nous avons vu que *Cx. modestus* est capable de remonter une rivière, le Dardaillon, dont la ripisylve se limite à certains endroits à un arbre isolé. Il est donc vraisemblable que cette espèce soit capable d'un vol en milieu ouvert pour passer d'un îlot à l'autre. Il apparaît donc important de pouvoir relier entre eux les îlots qui ne sont pas plus éloignés que le rayon de vol de *Cx. modestus* en milieu ouvert et ainsi établir les couloirs de dispersion de cette espèce dans la zone de Costière.

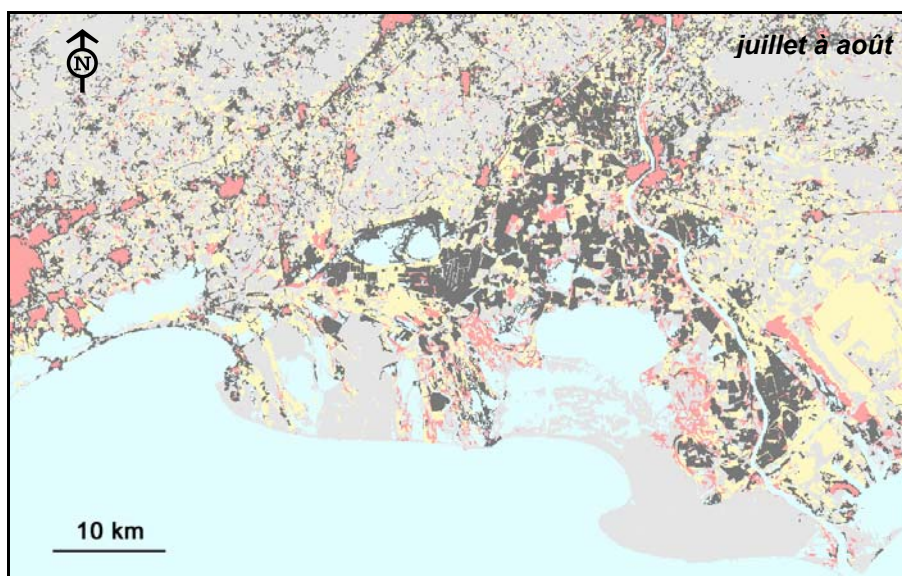
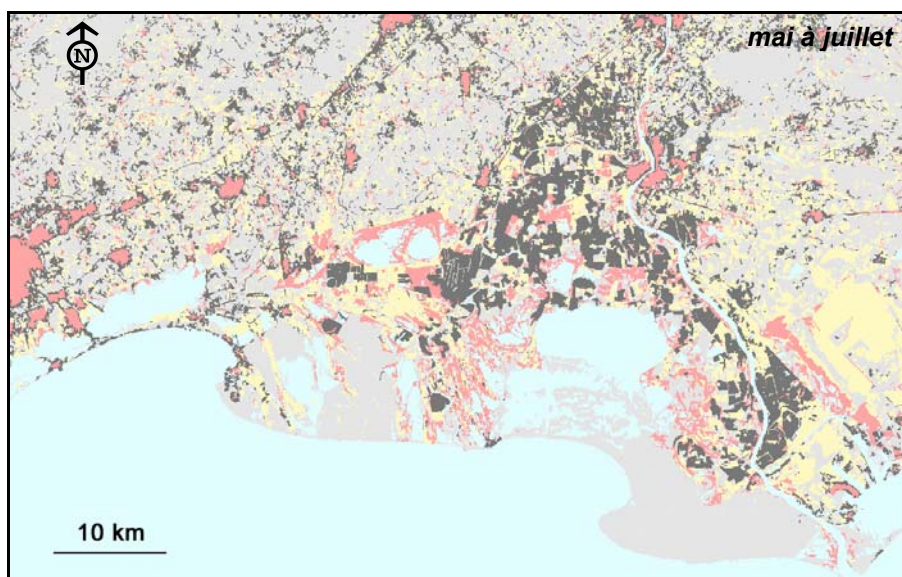
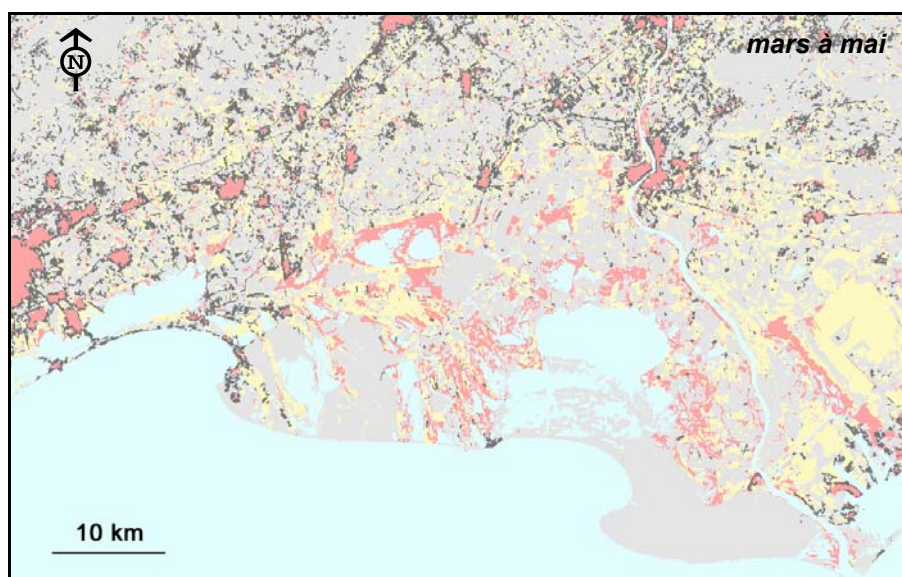
Pour aboutir à l'identification de ces couloirs de dispersion, la démarche qui pourrait être adoptée est la suivante : i) représenter les gîtes de ponte de *Cx. modestus*, ii) représenter les zones de dispersion propices en zone sèche, et iii) les agréger si elles sont situées à moins d'une distance seuil (différentes distances peuvent être testées). Ce travail est pour l'instant en cours de réalisation et n'est pas encore abouti. Cette démarche est illustrée par la carte 7 pour une zone restreinte.

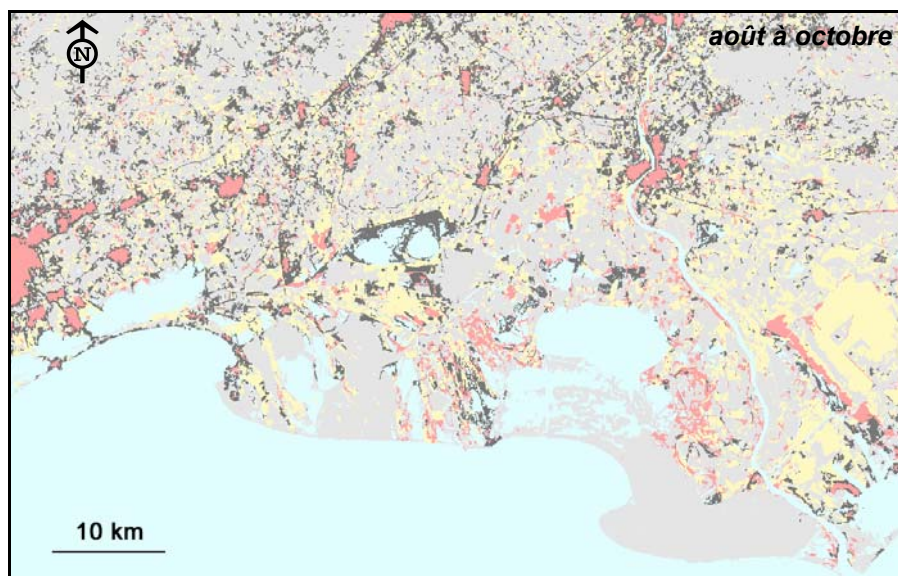


Carte 7 : Couloirs de migration en zone sèche pour *Culex modestus* : résultats préliminaires.

La démarche permettant de mettre en évidence des zones de dispersion à l'intérieur de la zone sèche est ici illustrée. Nous nous concentrons sur une zone d'étude en bordure des zones humides. Les gîtes de pontes de *Cx. modestus* sont représentés (en blanc), puis les zones de dispersion à l'intérieur d'un tampon de cinq kilomètres sont représentées (en rouge). Ces zones sont ensuite agrégées si elles sont distantes de moins de 500 mètres.

Cartes pour Cx. pipiens. Pour cette espèce, quatre cartes sont générées.





Carte 8 : Gîtes de ponte et milieux de dispersion de *Culex pipiens* en Camargue.

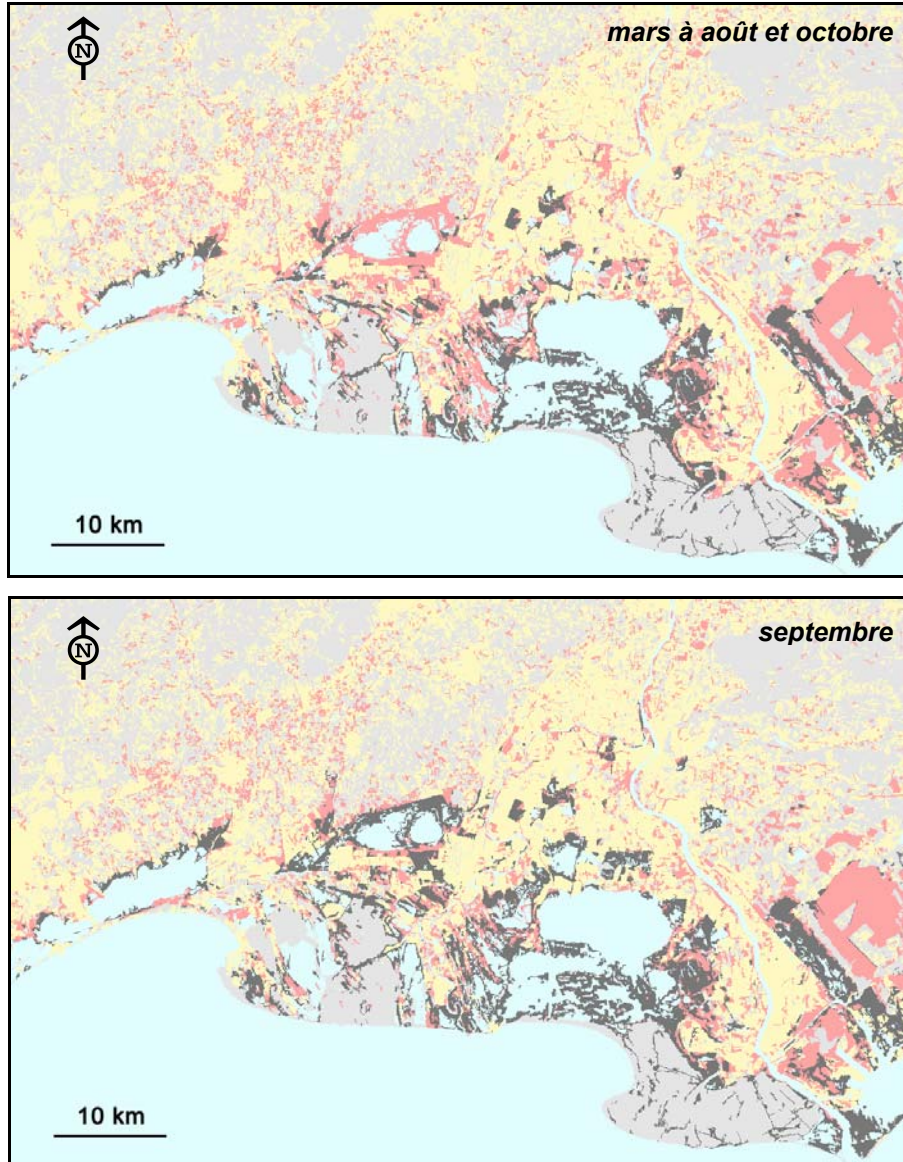
Les différentes cartes correspondent à différents moments de l'année, entre mars et mai pour la première, entre mai et juillet pour la deuxième, entre juillet et août pour la troisième et entre août et octobre pour la quatrième. Sont représentés les gîtes de ponte (gris foncé), les zones de dispersion (rouge), les zones peu propices à la dispersion (jaune), les zones impropres à la dispersion (gris clair) et l'eau libre (bleu).

À la sortie de l'hibernation, les gîtes de ponte de *Cx. pipiens* sont constitués par des gîtes artificiels associés au tissu urbain diffus. Ces gîtes sont assez localisés, essentiellement dans la zone de Costière et le littoral des golfes d'Aigues-Mortes et de Fos. Dans le delta, on peut repérer des îlots de tissu urbain, qui pourraient servir de gîtes d'hibernation et de ponte pour le début de la saison. Les zones de dispersion sont très étendues, mais *Cx. pipiens* est réputé se disperser peu ; il n'est donc sans doute pas présent, à cette période, dans l'ensemble des milieux propices à son déplacement. Ne prendre en compte que les zones de dispersion qui sont comprises dans un certain rayon (correspondant à sa capacité de dispersion) permettrait de mieux définir les zones où il est effectivement présent.

En mai, avec la mise en eau des rizières, les gîtes potentiels de *Cx. pipiens* deviennent nombreux et étendus, notamment dans l'ensemble du delta. Avec la colonisation des marais, *Cx. pipiens* devient omniprésent en juillet et août dans toute la zone d'étude. À partir de septembre, suite à l'assèchement des rizières, l'occupation de l'espace par *Cx. pipiens* se recentre sur les Costières, l'axe Candillargues/Saintes-Maries-de-la-Mer, sur les alentours d'Arles et le golfe de Fos.

Cartes pour *Ae. caspius*. Les gîtes de ponte d'*Ae. caspius* sont essentiellement localisés dans les zones humides, delta et bord des étangs. Ce qui frappe d'abord, c'est l'étendue des milieux de dispersion d'*Ae. caspius*. Cette espèce est considérée comme un bon voilier. Il est donc probable qu'elle puisse occuper l'ensemble des zones de dispersion. Néanmoins,

l'image telle qu'elle est présentée est trompeuse. En effet, les gîtes d'*Ae. caspius* situés à l'ouest du Petit Rhône sont démustiqués. Pour améliorer la première carte, il serait nécessaire de ne retenir que les gîtes non démustiqués et de ne regarder les zones de dispersion qu'à l'intérieur du rayon de vol d'*Ae. caspius*.



Carte 9 : Gîtes de ponte et milieux de dispersion d'*Aedes caspius* en Camargue.

Les différentes cartes correspondent à différents moments de l'année, entre mars et octobre pour la première et en septembre pour la seconde. Sont représentés les gîtes de ponte (gris foncé), les zones de dispersion (rouge), les zones peu propices à la dispersion (jaune), les zones impropres à la dispersion (gris clair) et l'eau libre (bleu).

Les gîtes de ponte d'*Ae. caspius* ne fonctionnent que lorsqu'ils sont mis en eau. En septembre, après assèchement estival de la majorité des zones temporaires, nous avons considéré que les phragmitaies pouvaient devenir des gîtes de développement larvaire. Cette règle de décision est schématique. Une autre méthode consiste à utiliser plusieurs images satellitaires à dates successives au cours de l'année, pour détecter entre deux images les zones

qui ont été mises en eau. Ce travail a été réalisé par A. Sandoz (Station biologique de la Tour du Valat). En croisant cette information et les milieux favorables à la ponte d'*Ae. caspius*, il serait possible d'obtenir de façon plus réaliste les zones d'émergences d'*Ae. caspius* au cours de la saison avec une fréquence régulière (tous les mois).

En résumé, cette approche à fine échelle permet de disposer d'une cartographie des lieux d'émergences des moustiques et des milieux où ils se dispersent.

Culex pipiens et *Ae. caspius* sont omniprésents dans la zone d'étude, le premier à cause de la multitude de ses gîtes larvaires, le second à cause de sa capacité de dispersion. L'image de leur répartition présentée ici nécessite d'être améliorée, en prenant en compte le faible rayon de vol de *Cx. pipiens* et une meilleure définition des gîtes larvaires d'*Ae. caspius* (dynamique des mises en eau et démoustication). La répartition de *Cx. modestus* présentée dans ce chapitre reste limitée aux zones humides. L'agrégation des îlots de dispersion présents en zone sèche pourrait permettre de reproduire les couloirs de dispersion et donc de prendre en compte sa présence en zone sèche, mise en évidence dans ce travail.

Une modélisation mécaniste de la transmission du virus West Nile a été réalisée. Dans le cas d'une transmission au sein des populations d'oiseaux et dans le cas extrême d'une seule espèce d'oiseau impliquée, le risque d'infection par le virus West Nile est équivalent au R_0 défini par Macdonald (1952b). Pour prendre en compte la dimension multi-hôtes de la transmission du virus West Nile, le R_0 associé peut être subdivisé en deux composantes : la première prenant en compte l'infection d'un moustique à partir d'un oiseau virémique et la deuxième mesurant la force d'infection des moustiques infectants pour d'autres oiseaux naïfs ou pour les hôtes cibles. Ainsi, les préférences trophiques deviennent des facteurs essentiels dans la transmission du virus West Nile, en plus des autres paramètres exprimés dans la capacité vectorielle de Garrett-Jones (1964a). Le risque d'infection ainsi défini a été généralisé à plusieurs espèces d'hôtes et de vecteurs et spatialisé. Son calcul nécessite alors de connaître les interactions entre les différents hôtes et chaque espèce de vecteur.

Considérer le risque d'infection dans l'espace et au cours du temps impose de connaître la distribution des vecteurs dans ces mêmes dimensions. Nous avons présenté une méthode permettant d'estimer ces deux composantes. Des modèles de dynamique de population reproduisent de manière satisfaisante les densités de moustiques observées au cours du temps et permettent, dans une certaine mesure, de caractériser la dépendance des paramètres des modèles à l'environnement. Des images satellitaires peuvent être utilisées pour générer des cartes de distribution des gîtes larvaires et des milieux de dispersion pour les espèces considérées. Les résultats présentés dans cette dernière partie demandent à être complétés et affinés. Mais surtout, le calcul effectif d'un risque d'infection du virus West Nile dans l'espace et au cours du temps nécessite la réunion des composantes de dynamique dans le temps et de distribution dans l'espace au sein de modèles de dynamique-diffusion des vecteurs.

Conclusion générale

Conclusion générale

Le virus *West Nile* est un virus ré-émergent en France, qui circule principalement dans la région du delta rhodanien, mais aussi dans d'autres endroits du littoral méditerranéen (Var et Pyrénées-Orientales). Nous avons étudié sans *a priori* quelles espèces de moustiques pouvaient être impliquées dans les cycles de transmission en nous focalisant sur le foyer camarguais. Dans un premier temps, nous avons réalisé des captures sur appât pour lister les espèces de moustiques piquant les différents intervenants du cycle épidémiologique : les oiseaux, le cheval et l'homme. Ces captures ont été réalisées dans deux environnements, à savoir les zones humides de la Camargue deltaïque et les zones sèches de la Costière, illustrant la dualité des zones de transmission du virus *West Nile*. À cause de contraintes logistiques, un seul site a été suivi dans chacun des deux environnements. Les résultats obtenus ne peuvent donc que s'enrichir des résultats d'autres études menées dans d'autres sites. Au cours des captures, une circulation virale a été détectée sur l'un des sites, suite à la séroconversion d'un des oiseaux appâts. Les moustiques capturés sur oiseaux pendant cette période ont donc été testés pour recherche virale. Le virus n'a été détecté dans aucun des lots testés, illustrant la faible sensibilité de cette méthode pour l'étude des arboviroses, tant qu'un programme spécifique capturant et testant un grand nombre de moustiques n'est pas mis en place. La compétence vectorielle des espèces potentiellement vectrices identifiées au cours de cette étape a été évaluée.

Si cette première étape est déjà très instructive, la quantification du risque d'infection associé à chaque espèce de moustique est nécessaire pour pouvoir comparer l'implication des espèces ou établir des cartes de risque. La transmission du virus *West Nile* nécessite que des vecteurs s'infectent à partir d'un oiseau virémique, puis qu'une fois infectants, ils transmettent le virus à d'autres oiseaux naïfs (cycles enzootiques) ou à des hôtes cibles (cycles épidémiques). La transmission enzootique avec une seule espèce d'oiseau et un seul vecteur est équivalente au système paludique et l'intensité de la transmission peut être mesurée par un R_0 comme celui défini par Macdonald (1952b) ou par la capacité vectorielle définie par Garrett-Jones (1964a). La transmission dépend du nombre de vecteurs par hôte, de la fréquence de piqure, de la compétence vectorielle, de la survie du vecteur et éventuellement de la durée de virémie de l'hôte. Il est nécessaire de prendre en compte la proportion de

vecteurs qui vont se gorger sur l'hôte considéré. Nous avons donc introduit la notion de facteur de dilution, qui représente la proportion de vecteurs se gorgeant sur les autres hôtes que ceux considérés.

Lorsqu'on introduit un hôte accidentel, le système n'est plus équivalent au système paludique et les indices de risque « classiques » ne peuvent plus être utilisés. Nous proposons de découper le risque en deux parties, celui des vecteurs à s'infecter à partir d'un oiseau virémique et celui des vecteurs infectants à transmettre. Dans ce cas, l'intensité de la transmission dans un cycle enzootique ou épidémique dépend des mêmes paramètres que ceux décrits au dessus, ainsi que de la capacité du vecteur à piquer successivement deux oiseaux, ou un oiseau et un mammifère. Les préférences trophiques deviennent alors des facteurs déterminants dans la transmission. Nous avons proposé de définir des probabilités de repas successifs P_E et P_B pour quantifier cette capacité. Elles dépendent d'une préférence trophique intrinsèque (choix entre oiseau et mammifère), d'un taux de succès du repas, d'un facteur lié au poids de l'hôte et de la disponibilité en hôte. Ces probabilités ont été quantifiées pour les principales espèces de moustiques de Camargue.

L'indice de risque a ensuite été généralisé à plusieurs espèces de vecteurs, d'hôtes amplificateurs et d'hôtes cibles. Dans ce cas, connaître dans le détail l'interaction entre les moustiques et les hôtes, notamment les différentes espèces d'oiseaux, devient alors indispensable. Des protocoles analysant les résidus de repas sanguins des moustiques, en identifiant l'espèce piquée, sont nécessaires pour améliorer notre compréhension des cycles de transmission (Apperson *et al.* 2004 ; Molaei *et al.* 2006), en identifiant les espèces d'oiseaux impliquées (Jourdain 2006 ; Kilpatrick *et al.* 2006a). Ce risque a aussi été spatialisé. La force d'infection dans un espace donné dépend de la production de vecteurs infectés dans cet espace, augmente avec l'arrivée de vecteurs infectés en provenance d'autres espaces, mais diminue avec la migration des vecteurs infectés hors de l'espace considéré. Pour estimer un risque dans l'espace au cours du temps, les déplacements des vecteurs doivent être connus. Au cours du temps, les densités de moustiques observées peuvent être, de manière satisfaisante, reproduites grâce à des modèles de dynamique de population. Nous avons proposé une démarche pour aboutir à une estimation des milieux propices à la dispersion des espèces de moustiques. Cette méthode se base sur une classification d'une image satellitaire pour cartographier, par association au milieu écologique, les gîtes larvaires et les zones propices aux déplacements. Comme nous l'avons vu, différentes améliorations sont à apporter pour compléter les premiers résultats présentés. La dernière étape pour aboutir

à la détermination du nombre de moustiques dans l'espace et au cours du temps est l'intégration de ces deux approches dans des modèles de dynamique et diffusion des vecteurs.

Ainsi la modélisation est un outil intéressant pour l'étude des maladies à vecteurs. En effet, ces outils permettent de conceptualiser des cycles de transmission, de déterminer les paramètres essentiels à la transmission, d'obtenir ces paramètres à partir de données de terrain et de concevoir les futurs protocoles nécessaires à l'obtention des paramètres encore à estimer. Après avoir décrit la méthode utilisée, nous résumons les principaux résultats obtenus.

Culex modestus est une des principales espèces ornithophiles de Camargue (Rageau et Mouchet 1967 ; Balenghien *et al.* 2006). Elle a été trouvée naturellement infectée par le virus *West Nile* en France (Hannoun *et al.* 1964b) et en Russie (Fyodorova *et al.* 2006), où elle a été considéré comme le vecteur principal de virus *West Nile* dans les années 1970 (Mouchet *et al.* 1970 ; Berezin 1971 ; Detinova et Smelova 1973). Cette espèce paléarctique est largement représentée depuis l'Europe jusqu'en Inde (Callot et Ty 1942 ; Schaffner *et al.* 2001). Elle est associée aux zones humides, ses larves étant retrouvées dans les roselières et les rizières (Rioux 1958). Elle se disperse peu en terrain découvert, les femelles agressives se concentrant dans les zones à fort couvert végétal : roselières et ripisylves (Mouchet *et al.* 1970). Nous avons montré que cette espèce est très compétente pour le virus *West Nile* en conditions de laboratoire. Des individus n'ayant absorbé que des traces de repas infecté ont amplifié le virus. Ainsi, même si le seuil d'infectivité doit être établi rigoureusement, on peut estimer qu'il doit être faible. Cette espèce pourrait donc établir des cycles enzootiques très efficaces avec les espèces d'oiseaux présentes dans ses gîtes de développement larvaire ou ses gîtes de repos, sachant qu'elle pique préférentiellement à hauteur du sol et avec agressivité (Balenghien *et al.* 2006). Elle pique aussi agressivement les mammifères et pourrait transmettre le virus *West Nile* aux chevaux et aux hommes pénétrant dans ses gîtes de repos et ainsi être responsable de cas dans les zones humides. Nous avons montré qu'elle est capable de se disperser dans la zone de Costière en suivant les formations végétales bordant les cours d'eau. Pour évaluer l'importance de cette espèce dans la transmission en zone sèche, la distribution précise de cette espèce doit être établie. Nous proposons de renouveler les protocoles de capture le long des cours d'eau, en piégeant de manière répétée tout au long de l'année. De plus, en laboratoire, il serait intéressant de tester la capacité de cette espèce à transmettre le virus *West Nile* à sa descendance pour évaluer si cette espèce peut être responsable du maintien du virus d'une année sur l'autre.

Culex pipiens est la principale espèce ornithophile de Camargue (Rioux 1958 ; Balenghien *et al.* 2006). Cette espèce a été retrouvée naturellement infectée par le virus en Europe (Esteves *et al.* 2005 ; Fyodorova *et al.* 2006) ou aux États-Unis (Hayes *et al.* 2005a). Elle a été clairement impliquée dans la transmission du virus *West Nile* en Europe, essentiellement en zone urbaine (Savage *et al.* 1999 ; Platonov *et al.* 2001), mais aussi aux États-Unis (Hayes *et al.* 2005a). Cette espèce est présente dans toutes les zones tempérées (Schaffner *et al.* 2001), ses larves étant retrouvées dans une très grande variété de gîtes, artificiels ou naturels, urbains ou ruraux (Rioux 1958 ; Vinogradova 2000). Elle est réputée se disperser peu autour de ses gîtes larvaires (Becker *et al.* 2003). Nous avons montré que *Cx. pipiens* présente une compétence vectorielle moyenne pour le virus *West Nile*, ce qui est en accord avec les études réalisées dans différents endroits du monde (Jupp 1976 ; Goddard *et al.* 2002 ; Turell *et al.* 2005). Cette espèce pourrait participer aux cycles de transmission enzootiques sur l'ensemble de la zone, là où ses densités et celles des oiseaux sont suffisantes, sachant qu'elle pique préférentiellement au niveau de la canopée et avec peu d'agressivité (Balenghien *et al.* 2006). Nous avons montré que *Cx. pipiens* pique aussi les mammifères, avec un taux de repas réussi qui semble augmenter avec la température. La transmission aux espèces cibles serait favorisée dans des contextes de densité de mammifères importante par rapport à celle des oiseaux. La détermination des préférences trophiques de *Cx. pipiens* et de leur déterminisme environnemental ou génétique est importante pour mieux comprendre dans quelles conditions cette espèce peut transmettre le virus aux mammifères. Le rôle relatif des deux espèces de *Culex* dans la transmission du virus *West Nile* pourrait être établi en déterminant et comparant leurs seuils d'infectiosité, qu'il faudrait mettre en parallèle des virémies des espèces d'oiseaux potentiellement impliquées dans la transmission en France. Néanmoins, on sait que *Cx. pipiens* peut être responsable de la transmission du virus *West Nile* dans des cycles enzootiques et épidémiques, en l'absence de *Cx. modestus*, comme cela semble le cas dans les zones de transmission du Var (Schaffner F., pers. commun.) et des Pyrénées-Orientales (L'Ambert G., pers. commun.).

Ces deux espèces de *Culex* semblent les principaux responsables de la circulation du virus *West Nile* dans les populations d'oiseaux et de sa transmission à l'homme et au cheval. En effet, ces espèces sont présentes dans les zones de circulation, elles sont compétentes pour le virus *West Nile* et elles entretiennent des contacts écologiques importants avec les oiseaux. De plus, ce sont toujours des espèces de *Culex* qui ont été impliquées dans la transmission du virus *West Nile* de par le monde (Taylor *et al.* 1956 ; McIntosh *et al.* 1967 ; Mouchet *et al.*

1970 ; Detinova et Smelova 1973 ; Hayes *et al.* 2005a). Néanmoins, il est important de ne pas négliger le rôle secondaire dans la transmission du virus aux mammifères que peuvent jouer des espèces mammophiles. C'est pourquoi la compétence vectorielle d'*Ae. caspius* a été testée au laboratoire. Cette espèce est l'espèce mammophile la plus abondante dans les zones humides de Camargue ; la démoustication de ses gîtes larvaires diminue cependant fortement ses densités en dehors du delta. Elle est capable de se gorger sur oiseau. La transmission aux mammifères serait favorisée dans les situations de grandes densités d'oiseaux par rapport aux mammifères. Nous avons montré que cette espèce n'est que très peu compétente pour le virus *West Nile* en conditions de laboratoire. La question à résoudre est de savoir si les fortes densités de cette espèce peuvent compenser sa faible compétence. Le calcul de l'indice de risque associé à cette espèce pourra permettre de comparer son implication à celle des *Culex*. De même, une autre espèce, *Ae. vexans*, est abondante dans certains points du delta. Sa compétence vectorielle est considérée comme médiocre aux États-Unis (Turell *et al.* 2005). Tester la compétence des populations du sud de la France permettrait d'évaluer son éventuelle implication.

La circulation du virus *West Nile* est endémique en Afrique subsaharienne (Murgue *et al.* 2002). La pression d'introduction du virus dans le sud de la France par le biais d'oiseaux migrateurs doit être semblable chaque année (Jourdain *et al.* 2007b). La ré-émergence du virus *West Nile* en France, après 35 années d'absence, doit être liée à des conditions environnementales nouvelles qui permettent la circulation du virus. L'état d'immunité des populations a été invoqué comme principale cause de l'arrêt de la circulation du virus en Camargue à la fin des années 1960 (Joubert et Oudar 1969). Une évolution cyclique des épidémies était prédite avec une fréquence d'environ une dizaine d'années, le temps d'une disparition de l'immunité (Joubert et Oudar 1970). Cette explication peut être mise en doute à la lumière du délai entre les épisodes de circulation virale.

La riziculture est devenue une culture importante en Camargue après la seconde guerre mondiale, passant de 1 000 hectares en 1945 à 32 500 en 1961. À partir de 1965, les surfaces diminuent rapidement (4 400 hectares en 1981). Depuis 1994, ces surfaces augmentent à nouveau pour atteindre aujourd'hui 20 000 hectares. *Culex modestus* est associé au riz, dans la mesure où les rizières évoluées sont des gîtes très prolifiques (Rioux 1958 ; Rageau et Mouchet 1967). Il est possible que des surfaces importantes de riz, permettant de fortes densités de *Cx. modestus*, aient créé des conditions favorables à l'apparition d'épizooties importantes.

La surveillance du virus *West Nile* instaurée sur le littoral méditerranéen à partir de 2000 a permis de détecter des circulations du virus en dehors de la Camargue, à savoir dans le Var en 2003 et dans les Pyrénées-Orientales en 2006, mais avec des épizooties limitées en nombre de cas. L'ensemble du littoral méditerranéen français pourrait donc être propice à la circulation du virus *West Nile* et la région camarguaise permettre l'émergence d'épizooties importantes, à cause du regroupement de fortes densités d'oiseaux et de vecteurs.

De nombreux axes de recherche restent à développer pour mieux comprendre les interactions entre oiseaux et vecteurs, mieux définir la compétence des vecteurs, mieux comprendre les conditions d'apparition d'épizooties et les conditions de maintien du virus ces dernières années.

Références

Références

- Abbassy M.M., Osman M. et Marzouk A.S.** (1993) West Nile virus (Flaviviridae: Flavivirus) in experimentally infected Argas ticks (Acari: Argasidae). *Am J Trop Med Hyg* **48** (5) : 726-37.
- Abdel-Malek A.A. et Adham F.K.** (1978) Effect of diet, temperature, relative humidity, sex association on the longevity of *Aedes caspius* adults. *Acta Entomol Bohemoslov* **75** : 357-61.
- Ahmed T., Hayes C.G. et Baqar S.** (1979) Comparison of vector competence for West Nile virus of colonized populations of *Culex tritaeniorhynchus* from southern Asia and the Far East. *Southeast Asian J Trop Med Public Health* **10** (4) : 498-504.
- Aitken T.H.G.** (1977) An *in vitro* feeding technique for artificially demonstrating virus transmission by mosquitoes. *Mosq News* **37** (1) : 130-3.
- Akhter R., Hayes C.G., Baqar S. et Reisen W.K.** (1982) West Nile virus in Pakistan. III. Comparative vector capability of *Culex tritaeniorhynchus* and eight other species of mosquitoes. *Trans R Soc Trop Med Hyg* **76** (4) : 449-53.
- Anderson J.F., Andreadis T.G., Vossbrinck C.R., Tirrell S., Wakem E.M., French R.A., Garmendia A.E. et Van Kruiningen H.J.** (1999) Isolation of West Nile virus from mosquitoes, crows, and a Cooper's hawk in Connecticut. *Science* **286** (5448) : 2331-3.
- Anderson J.F., Main A.J., Andreadis T.G., Wikel S.K. et Vossbrinck C.R.** (2003) Transstadial transfer of West Nile virus by three species of ixodid ticks (Acari: Ixodidae). *J Med Entomol* **40** (4) : 528-33.
- Anderson R.M. et May R.M.** (1979) Population biology of infectious diseases: Part I. *Nature* **280** (5721) : 361-7.
- Andreadis T.G., Anderson J.F., Vossbrinck C.R. et Main A.J.** (2004) Epidemiology of West Nile virus in Connecticut: a five-year analysis of mosquito data 1999-2003. *Vector Borne Zoonotic Dis* **4** (4) : 360-78.
- Anonyme** (1996a) Suspected viral meningitis. *Wkly Epidemiol Rec* **36** : 276.
- Anonyme** (1996b) Viral meningitis. *Wkly Epidemiol Rec* **39** : 296.
- Apperson C.S., Harrison B.A., Unnasch T.R., Hassan H.K., Irby W.S., Savage H.M., Aspen S.E., Watson D.W., Rueda L.M., Engber B.R. et Nasci R.S.** (2002) Host-feeding habits of *Culex* and other mosquitoes (Diptera: Culicidae) in the Borough of Queens in New York City, with characters and techniques for identification of *Culex* mosquitoes. *J Med Entomol* **39** (5) : 777-85.
- Apperson C.S., Hassan H.K., Harrison B.A., Savage H.M., Aspen S.E., Farajollahi A., Crans W., Daniels T.J., Falco R.C., Benedict M., Anderson M., McMillen L. et Unnasch T.R.** (2004) Host feeding patterns of established and potential mosquito vectors of West Nile virus in the eastern United States. *Vector Borne Zoonotic Dis* **4** (1) : 71-82.
- Ascensio E.** (1984) Aspects climatologiques des départements de la région Languedoc-Roussillon. Boulogne Billancourt. 94 p.
- Asnis D., Conetta R., Waldman G., Teiweira A., McNamara T., Fine A., Layton M., Miller J.R., Cimini D., Camilo Vargas M., Inglesby A., Labowitz A., Bornschlegel K., Maldin B., Samoff E. et Haddow D.** (1999) Outbreak of West Nile-Like Viral Encephalitis - New York, 1999. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep* **48** (38) : 845-9.
- Austgen L.E., Bowen R.A., Bunning M.L., Davis B.S., Mitchell C.J. et Chang G.J.** (2004) Experimental infection of cats and dogs with West Nile virus. *Emerg Infect Dis* **10** (1) : 82-6.
- Autorino G.L., Battisti A., Deubel V., Ferrari G., Forletta R., Giovannini A., Lelli R., Murri S. et Scieluna M.T.** (2002) West Nile virus epidemic in horses, Tuscany region, Italy. *Emerg Infect Dis* **8** (12) : 1372-8.

- Bakonyi T., Hubalek Z., Rudolf I. et Nowotny N.** (2005) Novel flavivirus or new lineage of West Nile virus, central Europe. *Emerg Infect Dis* **11** (2) : 225-31.
- Bakonyi T., Ivanics E., Erdelyi K., Ursu K., Ferenczi E., Weissenböck H. et Nowotny N.** (2006) Lineage 1 and 2 Strains of Encephalitic West Nile Virus, Central Europe. *Emerg Infect Dis* **12** (4) : 618-23.
- Balenghien T.** (2003) Effet du confinement dans la propagation d'une maladie contagieuse au sein d'un réseau structuré de troupeaux. Mémoire de DEA, Grenoble, Université J. Fourier : 60 p.
- Balenghien T., Fouque F., Sabatier P. et Bicout D.J.** (2006) Horse, bird and human-seeking behavior and seasonal abundance of mosquitoes in a West Nile virus focus of southern France. *J Med Entomol* **43** (5) : 936-46.
- Banet-Noach C., Simanov L. et Malkinson M.** (2003) Direct (non-vector) transmission of West Nile virus in geese. *Avian Pathol* **32** (5) : 489-94.
- Baqar S., Hayes C.G. et Ahmed A.** (1980) The effect of larval rearing conditions and adult age on the susceptibility of *Culex tritaeniorhynchus* to infection with West Nile virus. *Mosq News* **40** (2) : 165-71.
- Baqar S., Hayes C.G., Murphy J.R. et Watts D.M.** (1993) Vertical transmission of West Nile virus by *Culex* and *Aedes* species mosquitoes. *Am J Trop Med Hyg* **48** (6) : 757-62.
- Barr A.R.** (1981). The *Culex pipiens* Complex. Cytogenetics and Genetics of Vectors, Tokyo, Elsevier Biomedical Press : 123-36.
- Bashkirtsev V.N., Chumakov M.P., Berezin V.V., Butenko A.M., Zavadova T.I. et Stolbov D.N.** (1969). Isolation of new strains of West Nile virus in Astrakhan region. V Symposium of the study of role of migrating birds in distribution of arboviruses, Novosibirsk, URSS : p. 182.
- Becker N., Petric D., Zgomba M., Boasse C., Dahl C., Lane J. et Kaiser A.** (2003) Mosquitoes and their control. New York, Kluwer Academic / Plenum Publishers : 498 p.
- Berezin V.V.** (1971) [Investigation of the ecology of arboviruses in river deltas of the Caspian and Azov Sea basins] translation from Russian by NAMRU3 - T1160. Unpublished Thesis, Moska, SSR, Inst Polio Virus Entsef Akad Nauk. 37 p.
- Bernkopf H., Levine S. et Nerson R.** (1953) Isolation of West Nile virus in Israel. *J Infect Dis* **93** (3) : 207-18.
- Bofill D., Domingo C., Cardenosa N., Zaragoza J., de Ory F., Minguell S., Sanchez-Seco M.P., Domingez A. et Tenorio A.** (2006) Human West Nile Virus Infection, Catalonia, Spain. *Emerg Infect Dis* **12** (7) : 1163-4.
- Bourguet D., Fonseca D.M., Vourch G., Dubois M.P., Chandre F., Severini C. et Raymond M.** (1998) The acetylcholinesterase gene *ACE*: a diagnostic marker for the *pipiens* and *quinquefasciatus* forms of the *Culex pipiens* complex. *J Am Mosq Control Assoc* **14** (4) : 390-6.
- Bournérias M., Pomerol C. et Turquier Y.** (1992) La Méditerranée de Marseille à Banyuls. Neuchâtel - Paris, Delachaux et Niestlé. 264 p.
- Bowen G.S., Monath T.P., Kemp G.E., Kerschner J.H. et Kirk L.J.** (1980) Geographic variation among St. Louis encephalitis virus strains in the viremic response of avian hosts. *Am J Trop Med Hyg* **29** (6) : 1411-9.
- Briese T., Jia X.Y., Huang C., Grady L.J. et Lipkin W.I.** (1999) Identification of a Kunjin/West Nile-like flavivirus in brains of patients with New York encephalitis. *Lancet* **354** (9186) : 1261-2.
- Brumpt E.** (1942) Notes parasitologiques concernant l'aménagement agricole de la Crau. *Ann Parasitol Hum Comp* **19** : 74-84.
- Buckley A., Dawson A., Moss S.R., Hinsley S.A., Bellamy P.E. et Gould E.A.** (2003) Serological evidence of West Nile virus, Usutu virus and Sindbis virus infection of birds in the UK. *J Gen Virol* **84** (Pt 10) : 2807-17.

- Buckley A., Dawson A. et Gould E.A.** (2006) Detection of seroconversion to West Nile virus, Usutu virus and Sindbis virus in UK sentinel chickens. *Virology* **4** (3) : 71.
- Bugbee L.M. et Forte L.R.** (2004) The discovery of West Nile virus in overwintering *Culex pipiens* (Diptera: Culicidae) mosquitoes in Lehigh County, Pennsylvania. *J Am Mosq Control Assoc* **20** (3) : 326-7.
- Bunning M.L., Bowen R.A., Cropp C.B., Sullivan K.G., Davis B.S., Komar N., Godsey M.S., Baker D., Hettler D.L., Holmes D.A., Biggerstaff B.J. et Mitchell C.J.** (2002) Experimental infection of horses with West Nile virus. *Emerg Infect Dis* **8** (4) : 380-6.
- Callot J. et Ty D.V.** (1942) Localités françaises nouvelles pour *Culex* (*Culex*) *theileri*, *Culex* (*Barraudius*) *modestus* et *Culex* (*Neoculex*) *impudicus*. *Ann Parasitol Hum Comp* **19** : 142-50.
- Callot J. et Ty D.V.** (1944-1945) Contribution à l'étude des moustiques français culicides de Richelieu (Indre-et-Loire). *Ann Parasitol Hum Comp* **20** : 43-66.
- Carron A., Bichaud L., Platz N. et Bicout D.J.** (submitted) Life span of *Ochlerotatus caspius* adults in laboratory conditions. *J Med Entomol*.
- Cernescu C., Nedelcu N.I., Tardei G., Ruta S. et Tsai T.F.** (2000) Continued transmission of West Nile virus to humans in southeastern Romania, 1997-1998. *J Infect Dis* **181** (2) : 710-2.
- Chastel C., Launay H., Le Lay G., Bailly-Choumara H., Hellal H., Valle M., Bach-Hamba D. et Beaucournu J.C.** (1986) Petits mammifères sauvages et arbovirus dans la région du bassin méditerranéen occidental. *Cah - ORSTOM, Entomol méd* **24** (1) : 69-76.
- Chevillon C., Rivet Y., Raymond M., Rousset F., Smouse P.E. et Pasteur N.** (1998) Migration/selection balance and ecotypic differentiation in the mosquito *Culex pipiens*. *Mol Ecol* **7** (2) : 197-208.
- Clements A.N. et Paterson G.D.** (1981) The analysis of mortality and survival rates in wild populations of mosquitoes. *J Appl Ecol* **18** : 373-99.
- Clements A.N.** (1992) The biology of mosquitoes. Volume 1. Development, nutrition and reproduction. London, Chapman & Hall. 509 p.
- Clements A.N.** (1999) The biology of mosquitoes. Volume 2. Sensory reception and behaviour. London, Chapman & Hall. 740 p.
- Colton L., Biggerstaff B.J., Johnson A. et Nasci R.S.** (2005) Quantification of West Nile virus in vector mosquito saliva. *J Am Mosq Control Assoc* **21** (1) : 49-53.
- Colton L. et Nasci R.S.** (2006) Quantification of West Nile virus in the saliva of *Culex* species collected from the southern United States. *J Am Mosq Control Assoc* **22** (1) : 57-63.
- Combes C.** (2001) L'art d'être parasite. Paris, Flammarion. 362 p.
- Cornel A.J. et Jupp P.G.** (1989) Comparaison of three methods for determining transmission rates in vector competence studies with *Culex univittatus* and West Nile and Sindbis viruses. *J Am Mosq Control Assoc* **5** (1) : 70-2.
- Cornel A.J., Jupp P.G. et Blackburn N.K.** (1993) Environmental temperature on the vector competence of *Culex univittatus* (Diptera: Culicidae) for West Nile virus. *J Med Entomol* **30** (2) : 449-56.
- Corre J.J.** (1975) Etude phyto-écologique des milieux littoraux salés en Languedoc et en Camargue. Doctorat de science, Montpellier, Université des Sciences et Techniques du Languedoc : 179 p.
- Cruz L., Cardenas V.M., Abarca M., Rodriguez T., Reyna R.F., Serpas M.V., Fontaine R.E., Beasley D.W., Da Rosa A.P., Weaver S.C., Tesh R.B., Powers A.M. et Suarez-Rangel G.** (2005) Serological evidence of West Nile virus activity in El Salvador. *Am J Trop Med Hyg* **72** (5) : 612-5.

- Cuisance D. et Rioux J.A.** (2004) Current status of medical and veterinary entomology in France: endangered discipline or promising science? *Comp Immunol Microbiol Infect Dis* **27** : 377-92.
- Cunha B.A.** (2004) Alexander the Great and West Nile Virus Encephalitis (Reply). *Emerg Infect Dis* **10** (7) : 1328-9.
- Dauphin G., Zientara S., Zeller H. et Murgue B.** (2004) West Nile: worldwide current situation in animals and humans. *Comp Immunol Microbiol Infect Dis* **27** (5) : 343-55.
- Davidson G.** (1954) Estimation of the Survival-Rate of Anopheline Mosquitoes in Nature. *Nature* **174** (4434) : 792-3.
- Davies A.M. et Yoshpe-Purer Y.** (1954) Observation on the biology of West Nile virus, with special reference to its behaviour in the mosquito *Aedes aegypti*. *Ann Trop Med Parasitol* **48** (1) : 46-54.
- de La Rocque S., Michel J.F., Cuisance D., De Wispelaere G., Augusseau X., Solano P., Guillobez S. et Arnaud M.** (2001) Le risque trypanosomien : une approche globale pour une décision locale. Montpellier, CIRAD. 151 p.
- Del Giudice P., Schuffenecker I., Vandenbos F., Counillon E. et Zeller H.** (2004) Human West Nile virus, France. *Emerg Infect Dis* **10** (10) : 1885-6.
- Detinova T.S.** (1963) Méthodes à appliquer pour classer par groupes d'âge les diptères présentant une importance médicale. Genève, OMS. 220 p.
- Detinova T.S. et Smelova V.A.** (1973) [The medical importance of mosquitoes of the fauna of the Soviet Union] in Russian. *Med Parazitol (Mosk)* **42** : 455-71.
- Doctrinal D.** (2004) Modélisation de la dynamique de West-Nile dans une population d'oiseaux sentinelles en Camargue : Exemple du Héron Garde-Boeuf. Master2R MRES, Grenoble, Université J. Fourier : 52 p.
- Doctrinal D., Bicout D.J., Gauthier-Clerc M., Artois M., Sandoz A. et Sabatier P.** (2005) Rôle des oiseaux dans l'écologie de la fièvre du Nil occidental : exemple du Héron gardeboeuf en Camargue. *Environ risques santé* **4** (2) : 101-8.
- Dohm D.J. et Turell M.J.** (2001) Effect of incubation at overwintering temperatures on the replication of West Nile Virus in New York *Culex pipiens* (Diptera: Culicidae). *J Med Entomol* **38** (3) : 462-4.
- Dohm D.J., O'Guinn M.L. et Turell M.J.** (2002a) Effect of environmental temperature on the ability of *Culex pipiens* (Diptera: Culicidae) to transmit West Nile virus. *J Med Entomol* **39** (1) : 221-5.
- Dohm D.J., Sardelis M.R. et Turell M.J.** (2002b) Experimental vertical transmission of West Nile virus by *Culex pipiens* (Diptera: Culicidae). *J Med Entomol* **39** (4) : 640-4.
- Donaldson J.M.** (1966) An assessment of *Culex pipiens quinquefasciatus* Say as a vector of viruses in the Witwatersrand region of the Transvaal. I. West Nile virus. *Afr J Med Sci* **31** (1) : 1-10.
- Dow R.P., Reeves W.C. et Bellamy P.E.** (1957) Field tests of avian host preference of *Culex tarsalis* Coq. *Am J Trop Med Hyg* **6** (2) : 294-303.
- Dupuis A.P., 2nd, Marra P.P. et Kramer L.D.** (2003) Serologic evidence of West Nile virus transmission, Jamaica, West Indies. *Emerg Infect Dis* **9** (7) : 860-3.
- Durand B., Chevalier V., Pouillot R., Labie J., Marendat I., Murgue B., Zeller H. et Zientara S.** (2002) West Nile virus outbreak in horses, southern France, 2000: results of a serosurvey. *Emerg Infect Dis* **8** (8) : 777-82.
- Durand B., Dauphin G., Labie J., Zeller H. et Zientara S.** (2005) Résultats d'une enquête sérologique sur l'infection à virus *West Nile* chez les équidés dans le Var, en 2003. *Environ risques santé* **4** (2) : 114-8.

- Dye C. et Hasibeder G.** (1986) Population dynamics of mosquito-borne disease: effects of flies which bite some people more frequently than others. *Trans R Soc Trop Med Hyg* **80** : 69-77.
- 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. *Annu. Rev. Entomol.* **37** : 1-19.
- Ebel G.D., Rochlin I., Longacker J. et Kramer L.D.** (2005) *Culex restuans* (Diptera: Culicidae) Relative Abundance and Vector Competence for West Nile Virus. *J Med Entomol* **42** (5) : 838-43.
- Edman J.D. et Taylor D.J.** (1968) *Culex nigripalpus*: seasonal shift in the bird-mammal feeding ratio in a mosquito vector of human encephalitis. *Science* **161** (836) : 67-8.
- Edman J.D. et Kale II H.W.** (1971) Host Behavior: Its influence on the Feeding Success of Mosquitoes. *Ann Entomol Soc Am* **64** (2) : 513-6.
- Edman J.D., Webber L.A. et Kale II H.W.** (1972) Effect of mosquito density on the interrelationship of host behavior and mosquito feeding success. *Am J Trop Med Hyg* **21** (4) : 487-91.
- Edman J.D., Webber L.A. et Schmid A.A.** (1974) Effect of host defenses on the feeding pattern of *Culex nigripalpus* when offered a choice of blood sources. *J Parasitol* **60** (5) : 874-83.
- EID-Méditerranée** (2003) Des *Culex* en milieu naturel. la lettre n°10, Montpellier : 6 p.
- Eidson M., Schmit K., Hagiwara Y., Anand M., Backenson P.B., Gotham I. et Kramer L.D.** (2005) Dead Crow Density and West Nile Virus Monitoring, New York. *Emerg Infect Dis* **11** (9) : 1370-5.
- Eldridge B.F.** (1987) Diapause and Related Phenomena in *Culex* Mosquitoes: Their Relation to Arbovirus Disease Ecology. In: *Current Topics in Vector Research*. Harris K.F. New York, Springer-Verlag. **4** : 1-28.
- Erickson S.M., Platt K.B., Tucker B.J., Evans R.B., Tiawsirisup S. et Rowley W.A.** (2006) The Potential of *Aedes triseriatus* (Diptera: Culicidae) as an Enzootic Vector of West Nile Virus. *J Med Entomol* **43** (5) : 966-70.
- Esteves A., Almeida A.P.G., Galão R.P., Parreira R., Piedade J., Rodrigues J.C., Sousa C.A. et Novo M.T.** (2005) West Nile Virus in Southern Portugal, 2004. *Vector Borne Zoonotic Dis* **5** (4) : 410-3.
- Estrada-Franco J.G., Navarro-Lopez R., Beasley D.W., Coffey L., Carrara A.S., Travassos da Rosa A., Clements T., Wang E., Ludwig G.V., Cortes A.C., Ramirez P.P., Tesh R.B., Barrett A.D. et Weaver S.C.** (2003) West Nile virus in Mexico: evidence of widespread circulation since July 2002. *Emerg Infect Dis* **9** (12) : 1604-7.
- Farajollahi A., Crans W.J., Bryant P., Wolf B., Burkhalter K.L., Godsey M.S., Aspen S.E. et Nasci R.S.** (2005a) Detection of West Nile Viral RNA from an Overwintering Pool of *Culex pipiens pipiens* (Diptera: Culicidae) in New Jersey, 2003. *J Med Entomol* **42** (3) : 490-4.
- Farajollahi A., Crans W.J., Nickerson D., Bryant P., Wolf B., Glaser A. et Andreadis T.G.** (2005b) Detection of West Nile virus RNA from the louse fly *Icosta americana* (Diptera: Hippoboscidae). *J Am Mosq Control Assoc* **21** (4) : 474-6.
- Faran M.E., Turell M.J., Romoser W.S., Routier R.G., Gibbs P.H., Cannon T.L. et Bailey C.L.** (1987) Reduced survival of adult *Culex pipiens* infected with Rift Valley Fever virus. *Am J Trop Med Hyg* **37** (2) : 403-9.
- Filipe A.R.** (1972) Isolation in Portugal of West Nile virus from *Anopheles maculipennis* mosquitoes. *Acta Virol* **16** (4) : 361.
- Flahault C.** (1937) La distribution géographique des végétaux dans la région méditerranéenne française. Paris, Paul Lechevalier. 180 p.

- Fonseca D.M., Keyghobadi N., Malcolm C.A., Mehmet C., Schaffner F., Mogi M., Fleischer R.C. et Wilkerson R.C.** (2004) Emerging vectors in the *Culex pipiens* complex. *Science* **303** (5663) : 1535-8.
- Fonseca K., Prince G.D., Bratvold J., Fox J.D., Pybus M., K. P.J. et Tilley P.** (2005) West Nile Virus Infection and Conjunctival Exposure. *Emerg Infect Dis* **11** (10) : 1648-9.
- Fontenille D., Mathiot C. et Coulanges P.** (1985) Les cycles de arbovirus - vecteurs - vertébrés dans les forêts malgaches. *Arch Inst Pasteur Madagascar* **52** (1) : 171-80.
- Fontenille D., Rodhain F., Digoutte J.P., Mathiot C., Morvan J. et Coulanges P.** (1989) Les cycles de transmission du virus West-Nile à Madagascar, Océan Indien. *Ann Soc Belg Med Trop* **69** : 233-43.
- Freier J.E.** (1989) Estimation of vectorial capacity: vector abundance in relation to man. *Bull Soc Vector Ecol* **14** (1) : 41-6.
- Fyodorova M.V., Savage H.M., Lopatina J.V., Bulgakova T.A., Ivanitsky A.V., Platonova O.V. et Platonov A.E.** (2006) Evaluation of Potential West Nile Virus Vectors in Volgograd Region, Russia, 2003 (Diptera: Culicidae): Species Composition, Bloodmeal Host Utilization, and Virus Infection Rates of Mosquitoes. *J Med Entomol* **43** (3) : 552-63.
- Gabinaud A.** (1975) Ecologie de deux *Aedes* halophiles du littoral méditerranéen français : *Aedes (Ochlerotatus) caspius* (Pallas, 1771) *Aedes (Ochlerotatus) detritus* (Haliday, 1833) (Nematocera-Culicidae). Doctorat de science, Perpignan, Université des Sciences et Techniques du Languedoc : 451 p.
- Gabinaud A., Vigo G., Cousserans J., Roux M., Pasteur N. et Croset H.** (1985) La mammophilie des populations de *Culex pipiens pipiens* L., 1758 dans le Sud de la France ; variations de ce caractère en fonction des biotopes de développement larvaire, des caractéristiques physico-chimiques de leurs eaux et des saisons. Conséquences pratiques et théoriques. *Cah - ORSTOM, Entomol méd XXIII* (2) : 123-32.
- Gancz A.Y., Barker I.K., Lindsay R., Dibernardo A., McKeever K. et Hunter B.** (2004) West Nile virus outbreak in North American owls, Ontario, 2002. *Emerg Infect Dis* **10** (12) : 2135-42.
- Garmendia A.E., Van Kruiningen H.J., French R.A., Anderson J.F., Andreadis T.G., Kumar A. et West A.B.** (2000) Recovery and identification of West Nile virus from a hawk in winter. *J. Clin. Microbiol.* **38** (8) : 3110-1.
- Garmendia A.E., Van Kruiningen H.J. et French R.A.** (2001) The West Nile virus: its recent emergence in North America. *Microbes Infect* **3** (3) : 223-9.
- Garrett-Jones C.** (1964a) The Human Blood Index of Malaria Vectors in Relation to Epidemiological Assessment. *Bull World Health Organ* **30** : 241-61.
- Garrett-Jones C.** (1964b) Prognosis for interruption of malaria transmission through assessment of the mosquito's vectorial capacity. *Nature* **204** (4964) : 1173-5.
- Garrett-Jones C. et Shidrawi G.R.** (1969) Malaria Vectorial Capacity of a Population of *Anopheles gambiae*. *Bull World Health Organ* **40** : 531-45.
- George S., Gourie-Devi M., Rao J.A., Prasad S.R. et Pavri K.M.** (1984) Isolation of West Nile virus from the brains of children who had died of encephalitis. *Bull World Health Organ* **62** (6) : 879-82.
- Gerberg E.J., Hopkins T.M. et Gentry J.W.** (1969) Mass rearing of *Culex pipiens* L. *Mosq News* **29** (3) : 382-5.
- Gingrich J.B. et Williams G.M.** (2005) Host-feeding patterns of suspected West Nile virus mosquito vectors in Delaware, 2001-2002. *J Am Mosq Control Assoc* **21** (2) : 194-200.
- Girard Y.A., Klingler K.A. et Higgs S.** (2004) West Nile virus dissemination and tissue tropisms in orally infected *Culex pipiens quinquefasciatus*. *Vector Borne Zoonotic Dis* **4** (2) : 109-22.

- Girod R., Salvan M., Simard F., Andrianaivolambo L., Fontenille D. et Laventure S.** (1999) Evaluation de la capacité vectorielle d'*Anopheles arabiensis* (Diptera: Culicidae) à l'île de la Réunion : une approche du risque sanitaire lié au paludisme d'importation en zone d'éradication. *Bull Soc Pathol Exot* **92** (3) : 203-9.
- Glaser V.** (2001) Dengue and West Nile Virus - An Interview with Duane Gubler. *Vector Borne Zoonotic Dis* **1** (1) : 81-8.
- Goddard L.B., Roth A.E., Reisen W.K. et Scott T.W.** (2002) Vector competence of California mosquitoes for West Nile virus. *Emerg Infect Dis* **8** (12) : 1385-91.
- Goddard L.B., Roth A.E., Reisen W.K. et Scott T.W.** (2003) Vertical transmission of West Nile Virus by three California *Culex* (Diptera: Culicidae) species. *J Med Entomol* **40** (6) : 743-6.
- Godsey M.S., Blackmore M.S., Panella N.A., Burkhalter K., Gottfried K., Halsey L.A., Rutledge R., Langevin S.A., Gates R., Lamonte K.M., Lambert A., Lanciotti R.S., Blackmore C.G., Loyless T., Stark L., Oliveri R., Conti L. et Komar N.** (2005) West nile virus epizootiology in the southeastern United States, 2001. *Vector Borne Zoonotic Dis* **5** (1) : 82-9.
- Goldblum N., Sterk V.V. et Paderski B.** (1954) West Nile fever; the clinical features of the disease and the isolation of West Nile virus from the blood of nine human cases. *Am J Hyg* **59** (1) : 89-103.
- Goldwasser R.A. et Davies A.M.** (1953) Transmission of a West Nile-like virus by *Aedes aegypti*. *Trans R Soc Trop Med Hyg* **47** (4) : 336-7.
- Gubler D.J. et Rosen L.** (1976) A simple technique for demonstrating transmission of dengue virus by mosquitoes without the use of vertebrate hosts. *Am J Trop Med Hyg* **25** (1) : 146-50.
- Gubler D.J.** (2002) The global emergence/resurgence of arboviral diseases as public health problems. *Arch Med Res* **33** (4) : 330-42.
- Guillon J.C., Oudar J., Joubert L. et Hannoun C.** (1968) Lésions histologiques du système nerveux dans l'infection à virus West Nile chez le cheval. *Ann Inst Pasteur (Paris)* **114** (4) : 539-50.
- Guptill S.C., Julian K.G., Campbell G.L., Price S.D. et Marfin A.A.** (2003) Early-season avian deaths from West Nile virus as warnings of human infection. *Emerg Infect Dis* **9** (4) : 483-4.
- Hamilton P.K. et Taylor R.M.** (1954) Report of clinical case of West Nile virus infection probably acquired in the laboratory. *Am J Trop Med Hyg* **3** (1) : 51-3.
- Hanley K.A., Goddard L.B., Gilmore L.E., Scott T.W., Speicher J., Murphy B.R. et Pletnev A.G.** (2005) Infectivity of west nile/dengue chimeric viruses for west nile and dengue mosquito vectors. *Vector Borne Zoonotic Dis* **5** (1) : 1-10.
- Hannoun C., Beytout D., Joubert L., Mouchet J. et Abonnenc E.** (1964a) Rapport général sur la deuxième mission d'étude des *Arbovirus* en Camargue et en Bas-Languedoc Paris, Institut Pasteur : 32 p.
- Hannoun C., Panthier R., Mouchet J. et Eouzan J.P.** (1964b) Isolement en France du virus West-Nile à partir de malades et du vecteur *Culex modestus* Ficalbi. *C R Acad Sci Hebd Seances Acad Sci D* **259** : 4170-2.
- Hannoun C., Joubert L. et Oudar J.** (1966) Etude épidémiologique des arboviroses en Camargue. Enquête sérologique chez le cheval. *Bull Soc Sci Vet Lyon* **68** : 147-58.
- Hannoun C., Corniou B., Causse G. et Panthier R.** (1967) Evolution des anticorps sériques dans quatre cas d'infections à virus *West Nile*. *Ann Inst Pasteur (Paris)* **113** (1) : 29-36.
- Hannoun C. et Rau U.** (1970) Experimental transmission of certain arboviruses by *Argas reflexus reflexus* (Fabricius, 1794). *Folia Parasitol (Praha)* **17** : 365-6.
- Harant H. et Jarry D.** (1961) Guide du Naturalisme dans le Midi de la France Tome I : *La Mer, le Littoral*. Neuchâtel - Paris, Delachaux & Niestlé. 216 p.

- Harant H. et Jarry D.** (1987) Guide du Naturalisme dans le Midi de la France Tome II : *la Garrigue, le Maquis, les Cultures*. Neuchâtel - Paris, Delachaux & Niestlé. 406 p.
- Harbach R.E., Harrison B.A. et Gad A.M.** (1984) *Culex (Culex) molestus* Forskal (Diptera: Culicidae): Neotype designation, description, variation, and taxonomic status. *Proc Entomol Soc Wash* **86** (3) : 521-42.
- Harbach R.E., Dahl C. et White G.B.** (1985) *Culex (Culex) pipiens* Linnaeus (Diptera: Culicidae): Concepts, type designations, and description. *Proc Entomol Soc Wash* **87** (1) : 1-24.
- Hars J., Augé P., Balança G., De Visscher M.N., Chavernac D., Keck N., Murgue B., Pradel J. et Zeller H.** (2002) Programme de surveillance de l'infection de l'avifaune par le virus West Nile en 2001 dans la Petite et la Grande Camargue, ONCFS/DGAI : 21 p.
- Hars J., Mortamais M., Gaudin J.C., Gaillet J.R., Jourdain E., Chavernac D., Baldet T., Hendrikx P., Languille J., Schuffenecker I. et Zeller H.** (2004) Programme de surveillance de l'infection de l'avifaune française par le virus West Nile en 2004, ONCFS/DGAI : 26 p.
- Hars J., Mortamais M., Augé P., Baldet T., Chavernac D., Gaillet J.R., Gaudin J.C., Languille J., Terrier M.E., Schuffenecker I. et Zeller H.** (2006) Programme de surveillance de l'infection de l'avifaune française par le virus West Nile en 2005, ONCFS/DGAI : 21 p.
- Hayes C.G., Basit A., Bagar S. et Akhter R.** (1980) Vector competence of *Culex tritaeniorhynchus* (Diptera: Culicidae) for West Nile virus. *J Med Entomol* **17** (2) : 172-7.
- Hayes E.B., Komar N., Nasci R.S., Montgomery S.P., O'Leary D.R. et Campbell G.L.** (2005a) Epidemiology and Transmission Dynamics of West Nile Virus Disease. *Emerg Infect Dis* **11** (8) : 1167-73.
- Hayes E.B., Sejvar J.J., Zaki S.R., Lanciotti R.S., Bode A.V. et Campbell G.L.** (2005b) Virology, Pathology, and Clinical Manifestations of West Nile Virus Disease. *Emerg Infect Dis* **11** (8) : 1174-9.
- Higgs S., Schneider B.S., Vanlandingham D.L., Kingler K.A. et Gould E.A.** (2005) Nonviremic transmission of West Nile virus. *Proc Natl Acad Sci U S A* **102** (25) : 8871-4.
- Hoffmann L., Mouchet J., Rageau J., Hannoun C., Joubert L., Oudar J. et Beytout D.** (1968) Epidémiologie du virus West Nile : étude d'un foyer en Camargue II. Esquisse en milieu physique, biologique et humain. *Ann Inst Pasteur (Paris)* **114** (4) : 521-38.
- Hoogstraal H., Kaiser M.N., Traylor M.A., Gaber S. et Guindy E.** (1961) Ticks (Ixodidae) on Birds Migrating from Africa to Europe and Asia. *Bull World Health Organ* **24** : 197-212.
- Hoogstraal H., Kaiser M.N., Traylor M.A., Guindy E. et Gaber S.** (1963) Ticks (Ixodidae) on Birds Migrating from Europe and Asia to Africa, 1959-1961. *Bull World Health Organ* **28** : 253-62.
- Horak I.G., Camicas J.L. et Keirans J.E.** (2003) The Argasidae, Ixodidae and Nuttalliellidae (Acari: Ixodida): a world list of valid names. *Exp Appl Acarol* **28** : 27-54.
- Hribar L.J., Stark L.M., Stoner R.L., Demay D.J., Nordholt A.L., Hemmen M.J., Vlach J.J. et Fussell E.M.** (2004) Isolation of West Nile Virus from Mosquitoes (Diptera: Culicidae) in the Florida Keys, Monroe County, Florida. *Caribb J Sci* **40** (3) : 362-7.
- Hubalek Z., Halouzka J., Juricova Z. et Sebesta O.** (1998) First isolation of mosquito-borne West Nile Virus in the Czech Republic. *Acta Virol* **42** : 119-20.
- Hubalek Z. et Halouzka J.** (1999) West Nile fever--a reemerging mosquito-borne viral disease in Europe. *Emerg Infect Dis* **5** (5) : 643-50.
- Hubalek Z., Halouzka J. et Juricova Z.** (1999) West Nile fever in Czechland. *Emerg Infect Dis* **5** (4) : 594-5.
- Hubalek Z.** (2000) European experience with the West Nile virus ecology and epidemiology: could it be relevant for the New World? *Viral Immunol* **13** (4) : 415-26.

- Hubalek Z., Savage H.M., Halouzka J., Juricova Z., Sanogo Y.O. et Lusk S.** (2000) West Nile virus investigations in South Moravia, Czechland. *Viral Immunol* **13** (4) : 427-33.
- Huet M.** (2000) La Camargue. Grenoble, Editions Glénat. 69 p.
- Hurlbut H.S.** (1956) West Nile virus infection in arthropods. *Am J Trop Med Hyg* **5** (1) : 76-85.
- Hurlbut H.S.** (1966) Mosquito salivation and virus transmission. *Am J Trop Med Hyg* **15** (6) : 989-93.
- Hutcheson H.J., Gorham C.H., Machain-Williams C., Loroño-Pino M.A., James A.M., Marlenee N.L., Winn B., Beaty B.J. et Blair C.D.** (2005) Experimental Transmission of West Nile Virus (*Flaviviridae: Flavivirus*) by *Carios capensis* Ticks from North America. *Vector Borne Zoonotic Dis* **5** (3) : 293-5.
- Jetten T.H. et Taekken W.** (1994) Anophelism without malaria in Europe: a review of the ecology and distribution of the genus *Anopheles* in Europe. Wageningen, Wageningen agricultural university press. 69 p.
- Joubert L. et Oudar J.** (1965) Les arboviroses animales zoonoses menaçantes, leur incidence actuelle en France. *Bull Soc sci vét méd comp Lyon* **67** : 71-102.
- Joubert L. et Oudar J.** (1969) Les zoonoses arbovirales. Leur présence en France. *Rev Med Vet (Toulouse)* **120** (8-9) : 737-64.
- Joubert L. et Oudar J.** (1970) Les zoonoses arbovirales. Leur présence en France II. La méningo-encéphalomyélite équine West Nile du Midi méditerranéen français. *Rev Med Vet (Toulouse)* **121** (3) : 221-46.
- Joubert L., Oudar J., Hannoun C., Beytout D., Corniou B., Guillon J.C. et Panthier R.** (1970) Epidémiologie du virus West Nile : étude d'un foyer en Camargue. IV. La méningo-encéphalomyélite du cheval. *Ann Inst Pasteur (Paris)* **118** (2) : 239-47.
- Joubert L., Oudar J., Hannoun C. et Chippaux A.** (1971) Reproduction expérimentale de la méningo-encéphalomyélite du cheval par l'arbovirus West Nile. III. Relations entre la virologie, la sérologie et l'évolution anatomo-clinique. Conséquences épidémiologiques et prophylactiques. *Bull Acad Vet Fr* **44** : 159-67.
- Joubert M.L.** (1975) L'arbovirose West Nile, zoonose du midi méditerranéen de la France. *Bull Acad Natl Med* **159** (4) : 499-503.
- Jourdain E.** (2006) Oiseaux sauvages et virus West Nile : étude éco-épidémiologique en Camargue. Thèse de Doctorat, Ingénierie pour la Santé, la Cognition et l'Environnement, Grenoble, Université J. Fourier : 203 p.
- Jourdain E., Schuffenecker I., Korimbocus J., Reynard S., Murri S., Kayser Y., Gauthier-Clerc M., Sabatier P. et Zeller H.** (2007a) West Nile Virus in Wild Resident Birds, Southern France, 2004. *Vector Borne Zoonotic Dis* : to be published.
- Jourdain E., Toussaint Y., Leblond A., Bicout D.J., Sabatier P. et Gauthier-Clerc M.** (2007b) Bird Species Potentially Involved in Introduction, Amplification and Spread of West Nile Virus in a Mediterranean Wetland, the Camargue (Southern France). *Vector Borne Zoonotic Dis* : to be published.
- Juminer B., Kchouk M., Rioux J.A. et Ben Osman F.** (1964) A propos des Culicides vulnérants de la banlieue littorale de Tunis. *Arch Inst Pasteur Tunis* **41** : 23-32.
- Jupp P.G., Brown R.G. et McIntosh B.M.** (1966a) An assessment of two methods for artificially infecting mosquitoes with arboviruses. *Afr J Med Sci* **31** : 51-3.
- Jupp P.G., McIntosh B.M. et Brown R.G.** (1966b) Laboratory transmission experiments with West Nile and sindbis viruses and *Culex (Culex) theileri* Theobald. *Afr J Med Sci* **31** (3) : 95-7.
- Jupp P.G. et McIntosh B.M.** (1970a) Quantitative experiments on the vector capability of *Culex (Culex) pipiens fatigans* Wiedemann with West Nile and Sindbis viruses. *J Med Entomol* **7** (3) : 353-6.

- Jupp P.G. et McIntosh B.M.** (1970b) Quantitative experiments on the vector capability of *Culex (Culex) univittatus* Theobald with West Nile and Sindbis viruses. *J Med Entomol* **7** (3) : 371-3.
- Jupp P.G., McIntosh B.M. et Dickinson D.B.** (1972) Quantitative experiments on the vector capability of *Culex (Culex) theileri* Theobald with West Nile and Sindbis viruses. *J Med Entomol* **9** (5) : 393-5.
- Jupp P.G.** (1974) Laboratory studies on the transmission of West Nile virus by *Culex (Culex) univittatus* Theobald; factors influencing the transmission rate. *J Med Entomol* **11** (4) : 455-8.
- Jupp P.G.** (1976) The susceptibility of four South African species of *Culex* to West Nile and Sindbis viruses by two different infecting methods. *Mosq News* **36** (2) : 166-73.
- Jupp P.G., McIntosh B.M. et Blackburn N.K.** (1986) Experimental assessment of the vector competence of *Culex (Culex) neavei* Theobald with West Nile and Sindbis viruses in South Africa. *Trans R Soc Trop Med Hyg* **80** (2) : 226-30.
- Kay B.H., Boreham P.F.L. et Edman J.D.** (1979) Application of the "Feeding Index" concept to studies of mosquito host-feeding patterns. *Mosq News* **39** (1) : 68-72.
- Kilpatrick A.M.** (2005) West Nile virus risk assessment and the bridge vector paradigm. *Emerg Infect Dis* **11** (3) : 425-9.
- Kilpatrick A.M., Daszak P., Jones M.J., Marra P.P. et Kramer L.D.** (2006a) Host heterogeneity dominates West Nile virus transmission. *Proc R Soc Lond B Biol Sci* **273** : 2327-33.
- Kilpatrick A.M., Kramer L.D., Jones M.J., Marra P.P. et Daszak P.** (2006b) West Nile Virus Epidemics in North America Are Driven by Shifts in Mosquito Feeding Behavior. *PLoS Biol* **4** (4) : 1-5.
- Kleiber M.** (1932) Body size and metabolism. *Hilgardia* **6** : 315-53.
- Klenk K. et Komar N.** (2003) Poor replication of West Nile virus (New York 1999 strain) in three reptilian and one amphibian species. *Am J Trop Med Hyg* **69** (3) : 260-2.
- Klenk K., Snow J., Morgan K., Bowen R., Stephens M., Foster F., Gordy P., Beckett S., Komar N., Gubler D. et Bunning M.** (2004) Alligators as West Nile virus amplifiers. *Emerg Infect Dis* **10** (12) : 2150-5.
- Komar N., Langevin S., Hinten S., Nemeth N., Edwards E., Hettler D., Davis B., Bowen R.A. et Bunning M.L.** (2003a) Experimental Infection of North American Birds with the New York 1999 Strain of West Nile Virus. *Emerg Infect Dis* **9** (3) : 311-22.
- Komar N. et Clark G.G.** (2006) West Nile virus activity in Latin America and the Caribbean. *Rev Panam Salud publica* **19** (2) : 112-7.
- Komar O., Robbins M.B., Klenk K., Blitvich B.J., Marlenee N.L., Burkhalter K.L., Gubler D.J., Gonzalez G., Pena C.J., Peterson A.T. et Komar N.** (2003b) West Nile virus transmission in resident birds, Dominican Republic. *Emerg Infect Dis* **9** (10) : 1299-302.
- Kostyukov M.A., Gordeeva E.E., Bulychev V.P., Hemova N.V., Daniyarov O.A. et Tuktaev T.M.** (1985) [The lake frog (*Rana ridibunda*) - one of the food hosts of blood-sucking mosquitoes in Tadzhikistan - a reservoir of the West Nile fever virus] (russe). *Med Parazitol (Mosk)* **3** : 49-50.
- Kuberski T.T. et Rosen L.** (1977) A simple technique for the detection of dengue antigen in mosquitoes by immunofluorescence. *Am J Trop Med Hyg* **26** (3) : 533-7.
- Lanciotti R.S., Roehrig J.T., Deubel V., Smith J., Parker M., Steele K., Crise B., Volpe K.E., Crabtree M.B., Scherret J.H., Hall R.A., MacKenzie J.S., Cropp C.B., Panigrahy B., Ostlund E., Schmitt B., Malkinson M., Banet C., Weissman J., Komar N., Savage H.M., Stone W., McNamara T. et Gubler D.J.** (1999) Origin of the West Nile virus responsible for an outbreak of encephalitis in the northeastern United States. *Science* **286** (5448) : 2333-7.

- Langevin S.A., Bunning M., Davis B. et Komar N.** (2001) Experimental infection of chickens as candidate sentinels for West Nile virus. *Emerg Infect Dis* **7** (4) : 726-9.
- Lapras M., Florio R., Joubert L., Oudar J., Guillon J.C. et Hannoun C.** (1968) L'électro-encéphalogramme normal du Cheval. Ses variations pathologiques dans la méningo-encéphalo-myélite virale West-Nile. *Rev Med Vet (Toulouse)* **49** (150) : 1423-41.
- Lawrie C.H., Uzategui N.Y., Gould E.A. et Nuttall P.A.** (2004) Ixodid and argasid tick species and west nile virus. *Emerg Infect Dis* **10** (4) : 653-7.
- Le Guenno B., Bougermouh A., Azzam T. et Bouakaz R.** (1996) West Nile: a deadly virus? *Lancet* **348** (9037) : 1315.
- Le Lay-Rogues G., Arthur C.P., Vanderwalle P., Hardy E. et Chastel C.** (1990) Lapin de Garenne, *Oryctolagus cuniculus* L. et arbovirus dans le sud-est de la France. Résultats de deux enquêtes sérologiques. *Bull Soc Pathol Exot* **83** (4) : 446-57.
- Leblond A.** (2006) Diagnostic des épidémies émergentes chez le cheval : cas de la fièvre du Nil Occidental en Camargue. Diplôme d'habilitation à diriger des recherches, Marcy l'Etoile, Ecole Nationale Vétérinaire de Lyon : 63 p.
- Lefrancois T., Blitvich B.J., Pradel J., Molia S., Vachiéry N., Pallavicini G., Marlenee N.L., Zientara S., Petitclerc M. et Martinez D.** (2005) West Nile Virus Surveillance, Guadeloupe, 2003-2004. *Emerg Infect Dis* **11** (7) : 1100-3.
- Legendre J.** (1935a) Le moustique maritime. *Nature (Paris)* **63** : 129-30.
- Legendre J.** (1935b) Le moustique maritime. *C R Acad Sci Hebd Seances Acad Sci D* **201** (1) : 96-8.
- Les Écologistes de l'Euzière** (1998) Les lagunes languedociennes (milieux salés, milieux secrets). Prades-le-Lez, Les Écologistes de l'Euzière. 31 p.
- Lonchamp C., Migliani R., Ratsitorahina M., Rabarijaona L.P., Ramarokoto C.E., Rakoto Andrianarivelo M. et Rousset D.** (2003) Persistance d'une circulation endémique du virus West Nile à Madagascar. *Arch Inst Pasteur Madagascar* **69** (1&2) : 33-6.
- Lord C.C., Rutledge R. et Tabachnick W.J.** (2006) Relationships Between Host Viremia and Vector Susceptibility for Arboviruses. *J Med Entomol* **43** (3) : 623-30.
- Ludwig A.** (2004) Etude de corrélations entre facteurs climatiques et l'émergence de la fièvre de West-Nile en Camargue. Master2R MRES, Grenoble, Université J. Fourier : 73 p.
- Ludwig A., Bicout D.J., Chalvet-Monfray K. et Sabatier P.** (2005) Modélisation de l'agressivité de *Culex modestus*, vecteur potentiel de West Nile en Camargue, en fonction de données météorologiques. *Environ risques santé* **4** (2) : 109-13.
- Lukacik G., Anand M., Shusas E.J., Howard J.J., Oliver J., Chen H., Backenson P.B., Kauffman E.B., Bernard K.A., Kramer L.D. et White D.J.** (2006) West Nile virus surveillance in mosquitoes in New York State, 2000-2004. *J Am Mosq Control Assoc* **22** (2) : 264-71.
- Lvol D.K.** (1987) Natural foci of arboviruses in the USSR. *Sov Med Rev Virol* **1** : 153-96.
- Macdonald G.** (1950a) The analysis of infection rates in diseases in which superinfection occurs. *Trop Dis Bull* **47** (10) : 907-15.
- Macdonald G.** (1950b) The analysis of malaria parasite rates in infants. *Trop Dis Bull* **47** (10) : 915-38.
- Macdonald G.** (1952a) The analysis of the sporozoite rate. *Trop Dis Bull* **49** (6) : 569-86.
- Macdonald G.** (1952b) The analysis of equilibrium in malaria. *Trop Dis Bull* **49** (9) : 813-29.

- Mahmood F., Chiles R.E., Fang Y. et Reisen W.K.** (2004) Methods for studying the vector competence of *Culex tarsalis* for western equine encephalomyelitis virus. *J Am Mosq Control Assoc* **20** (3) : 277-82.
- Malkinson M., Banet C., Weisman Y., Pokamunski S., King R., Drouet M.T. et Deubel V.** (2002) Introduction of West Nile virus in the Middle East by migrating white storks. *Emerg Infect Dis* **8** (4) : 392-7.
- Marr J.S. et Calisher C.H.** (2003) Alexander the Great and West Nile virus encephalitis. *Emerg Infect Dis* **9** (12) : 1599-603.
- Marshall J.F.** (1938) The British mosquitoes. London, The British Museum. 341 p.
- Mattar S., Edwards E., Laguado J., Gonzalez M., Alvarez J. et Komar N.** (2005) West Nile Virus Antibodies in Colombian Horses. *Emerg Infect Dis* **11** (9) : 1497-8.
- May R.M. et Anderson R.M.** (1979) Population biology of infectious diseases: Part II. *Nature* **280** (5722) : 455-61.
- McIntosh B.M., Jupp P.G., Dickinson D.B., McGillivray G.M. et Sweetnam J.** (1967) Ecological studies on Sindbis and West Nile viruses in South Africa. I. Viral activity as revealed by infection of mosquitoes and sentinel fowls. *Afr J Med Sci* **32** (1) : 1-14.
- McLean R.G., Ubico S.R., Docherty D.E., Hansen W.R., Sileo L. et McNamara T.S.** (2001) West Nile virus transmission and ecology in birds. *Ann N Y Acad Sci* **951** : 54-7.
- McLean R.G., Ubico S.R., Bourne D. et Komar N.** (2002) West Nile virus in livestock and wildlife. *Curr Top Microbiol Immunol* **267** : 271-308.
- Mead D.G., Ramberg F.B., Besselsen D.G. et John M.C.** (2000) Transmission of Vesicular Stomatitis Virus from Infected to Noninfected Black Flies Co-Feeding on Nonviremic Deer Mice. *Science* **287** (5452) : 485-7.
- Melnick J.L., Paul J.R., Riordan J.T., Barnett V.H., Goldblum N. et Zabin E.** (1951) Isolation from human sera in Egypt of a virus apparently identical to West Nile virus. *Proc Soc Exp Biol Med* **77** (4) : 661-5.
- Mesléard F. et Perennou C.** (1996) La végétation aquatique émergente, écologie et gestion. Arles (France), Tour du Valat. 86 p.
- Meyer R.P.** (1989) Estimation of the vectorial capacity: pathogen extrinsic incubation and vector competence. *Bull Soc Vector Ecol* **14** (1) : 60-6.
- Milby M.M. et Reisen W.K.** (1989) Estimation of the vectorial capacity: vector survivorship. *Bull Soc Vector Ecol* **14** (1) : 47-54.
- Miller B.R., Nasci R.S., Godsey M.S., Savage H.M., Lutwama J.J., Lanciotti R.S. et Peters C.J.** (2000) First field evidence for natural vertical transmission of West Nile virus in *Culex univittatus* complex mosquitoes from Rift Valley province, Kenya. *Am J Trop Med Hyg* **62** (2) : 240-6.
- Miller D.L., Mauel M.J., Baldwin C., Burtle G., Ingram D., Hines M.E., 2nd et Frazier K.S.** (2003) West Nile virus in farmed alligators. *Emerg Infect Dis* **9** (7) : 794-9.
- Mitchell C.J.** (1983) Differentiation of host-seeking behavior from blood-feeding behavior in overwintering *Culex pipiens* (Diptera: Culicidae) and observations on gonotrophic dissociation. *J Med Entomol* **20** (2) : 157-63.
- Mitchell C.J.** (1988) Occurrence, biology, and physiology of diapause in overwintering mosquitoes. In: *The Arboviruses: Epidemiology and Ecology*. Monath T.P. Atlanta, CRC Press Inc. : 191-217.
- Mitchell C.J. et Briegel H.** (1989) Fate of the Blood Meal in Force-Fed, Diapausing *Culex pipiens* (Diptera: Culicidae). *J Med Entomol* **26** (4) : 332-41.
- Mitchell C.J.** (1995) The role of *Aedes albopictus* as an arbovirus vector. *Parassitologia* **37** (2-3) : 109-13.

- Molaei G., Andreadis T.G., Armstrong P.M., Anderson J.F. et Vossbrinck R.** (2006) Host Feeding Patterns of *Culex* Mosquitoes and West Nile Virus Transmission, Northeastern United States. *Emerg Infect Dis* **12** (3) : 468-74.
- Molina J.** (1996) Flore de Camargue. Montpellier, Parc Naturel Régional de Camargue. 78 p.
- Morales M.A., Barrandeguy M., Fabbri C., Garcia J.B., Vissani A., Trono K., Gutierrez R.A., Pigretti S., Menchaca H., Garrido N., Taylor N., Fernandez F., Levis S. et Enria D.** (2006) West Nile Virus Isolation from Equines in Argentina, 2006. *Emerg Infect Dis* **12** (10) : 1559-61.
- Morales-Betoulle M.E., Morales H., Blitvich B.J., Powers A.M., Davis E.A., Klein R. et Cordon-Rosales C.** (2006) West Nile Virus in Horses, Guatemala. *Emerg Infect Dis* **12** (6) : 1038-9.
- Morvan J., Fontenille D., Lepers J.P. et Coulanges P.** (1990) Surveillance sérologiques de l'infection à virus West Nile dans un village des Hauts Plateaux à Madagascar. *Ann Soc Belg Med Trop* **70** : 55-63.
- Mostashari F., Kulldorff M., Hartman J.J., Miller J.R. et Kulasekera V.** (2003) Dead bird clusters as an early warning system for West Nile virus activity. *Emerg Infect Dis* **9** (6) : 641-6.
- Mouchet J., Rageau J. et Chippaux A.** (1969) Hibernation de *Culex modestus* Ficalbi (Diptera, Culicidae) en Camargue. *Cah - ORSTOM, Entomol méd VII* (1) : 35-7.
- Mouchet J., Rageau J., Laumond C., Hannoun C., Beytout D., Oudar J., Corniou B. et Chippaux A.** (1970) Epidémiologie du virus West Nile : étude d'un foyer en Camargue V. Le vecteur : *Culex modestus* Ficalbi Diptera ; Culicidae. *Ann Inst Pasteur (Paris)* **118** (6) : 839-55.
- Moussiegt O.** (1993) *Aedes (Ochlerotatus) caspius* (Pallas, 1771) Bibliographie. Montpellier : 55 p.
- Mumcuoglu K.Y., Banet-Noach C., Malkinson M., Shalom U. et Galun R.** (2005) Argasid ticks as possible vectors of west nile virus in Israel. *Vector Borne Zoonotic Dis* **5** (1) : 65-71.
- Murgue B., Murri S., Triki H., Deubel V. et Zeller H.G.** (2001a) West Nile in the Mediterranean basin : 1950-2000. *Ann N Y Acad Sci* **951** : 117-26.
- Murgue B., Murri S., Zientara S., Durand B., Durand J.P. et Zeller H.** (2001b) West Nile outbreak in horses in southern France, 2000: the return after 35 years. *Emerg Infect Dis* **7** (4) : 692-6.
- Murgue B., Zeller H. et Deubel V.** (2002) The ecology and epidemiology of West Nile virus in Africa, Europe and Asia. *Curr Top Microbiol Immunol* **267** : 195-221.
- Nasci R.S., Savage H.M., White D.J., Miller J.R., Cropp B.C., Godsey M.S., Kerst A.J., Bennett P., Gottfried K. et Lanciotti R.S.** (2001) West Nile virus in overwintering *Culex* mosquitoes, New York City, 2000. *Emerg Infect Dis* **7** (4) : 742-4.
- Nelson R.L., Tempelis C.H., Reeves W.C. et Milby M.M.** (1976) Relation of mosquito density to bird:mammal feeding ratios of *Culex tarsalis* in stable traps. *Am J Trop Med Hyg* **25** (4) : 644-54.
- Nir Y.** (1963) Failure to Obtain Experimental Transovarian Transmission of West Nile Virus by *Aedes aegypti*. *Ann Trop Med Parasitol* **57** : 428-9.
- Nir Y., Avivi A., Lasovski Y., Margalit J. et Goldwasser R.** (1972) Arbovirus activity in Israel. *Isr J Med Sci* **8** (10) : 1695-701.
- Nir Y.D.** (1959) Airborne West Nile virus infection. *Am J Trop Med Hyg* **8** : 537-9.
- Nisenbaum C. et Wallis K.** (1965) Meningo-encephalitis due to West Nile fever. Reports of 2 cases. *Helv Paediatr Acta* **20** (4) : 392-402.
- Oldach D., Benitez R.M. et Mackowiak P.A.** (2004) Alexander the Great and West Nile Virus Encephalitis. *Emerg Infect Dis* **10** (7) : 1329-30.

- Ostlund E.N., Crom R.L., Pedersen D.D., Johnson D.J., Williams W.O. et Schmitt B.J.** (2001) Equine West Nile encephalitis, United States. *Emerg Infect Dis* **7** (4) : 665-9.
- Oudar J., Joubert L., Lapras M. et Guillon J.C.** (1971) Reproduction expérimentale de la méningo-encéphalomyélite du cheval par l'arbovirus West Nile. II. Etude anatomo-clinique. *Bull Acad Vet Fr* **44** (3) : 147-58.
- Oudar J., Joubert L., Lapras M., Hannoun C. et Guillon J.C.** (1972) Reproduction expérimentale de la méningo-encéphalomyélite animale par l'arbovirus West-Nile. IV. Recherche des réservoirs de virus. Inoculation au Mouton et au Porc. *Bull Acad Vet Fr* **45** : 195-206.
- Panthier R., Hannoun C., Oudar J., Beytout D., Corniou B., Joubert L., Guillon J.C. et Mouchet J.** (1966) Isolement du virus West Nile chez un cheval camarguais atteint d'encéphalomyélite. *C R Acad Sci Hebd Seances Acad Sci D* **262** (11) : 1308-10.
- Panthier R.** (1968) Epidémiologie du virus West Nile : étude d'un foyer en Camargue. I. Introduction. *Ann Inst Pasteur (Paris)* **114** (4) : 518-20.
- Panthier R., Hannoun C., Beytout D. et Mouchet J.** (1968) Epidémiologie du virus West Nile : étude d'un foyer en Camargue. III. Les maladies humaines. *Ann Inst Pasteur (Paris)* **115** (3) : 435-45.
- Pasteur N., Rioux J.A., Guilvard E. et Pech-Perieres J.** (1977) Nouvelle mention, pour le "Midi" méditerranéen, de populations naturelles anautogènes et sténogames de *Culex pipiens pipiens* L. *Ann Parasitol Hum Comp* **52** (2) : 205-10.
- Pasteur N., Sinègre G. et Gabinaud A.** (1981) *Est-2* and *Est-3* polymorphisms in *Culex pipiens* L. from Southern France in relation to organophosphate resistance. *Biochem Genet* **19** (5-6) : 499-508.
- Pavri K.M. et Singh K.R.** (1965) Isolation of West Nile Virus from *Culex fatigans* Mosquitoes from Western India. *Indian J Med Res* **53** : 501-5.
- Peterson A.T., Vieglais D.A. et Andreasen J.K.** (2003) Migratory birds modeled as critical transport agents for west nile virus in north america. *Vector Borne Zoonotic Dis* **3** (1) : 27-37.
- Philip C.B. et Smadel J.E.** (1943) Transmission of West Nile virus by infected *Aedes albopictus*. *Proc Soc Exp Biol Med* **48** : 537-48.
- Platonov A.E., Shipulin G.A., Shipulina O.Y., Tyutyunnik E.N., Frolochkina T.I., Lanciotti R.S., Yazyshina S., Platonova O.V., Obukhov I.L., Zhukov A.N., Vengerov Y.Y. et Pokrovskii V.I.** (2001) Outbreak of West Nile virus infection, Volgograd Region, Russia, 1999. *Emerg Infect Dis* **7** (1) : 128-32.
- Ponçon N., Toty C., L'Ambert G., Le Goff G., Brengues C., Schaffner F. et Fontenille D.** (submitted) Potential Malaria Vector Biology and Dynamics in Southern France. *J Med Entomol*.
- Pradel J.** (2006) Mise en place de la surveillance entomologique du virus West Nile en Guadeloupe, en 2004. Thèse de doctorat vétérinaire, Toulouse, Université P. Sabatier : 60 p.
- Proft J., Maier W.A. et Kampen H.** (1999) Identification of six sibling species of the *Anopheles maculipennis* complex (Diptera: Culicidae) by a polymerase chain reaction assay. *Parasitol Res* **85** : 837-43.
- Proskuriakova A.M. et Markovich N.Y.** (1984a) [The flight of common species of *Aedes* from their breeding places in the steppe zone of Tuva (central Tuva lowlands). 1. The distance of flight of *A. vexans*] (Russe). *Med Parazitol (Mosk)* **1** : 18-22.
- Proskuriakova A.M. et Markovich N.Y.** (1984b) [The flight of common species of *Aedes* from their breeding places in the steppe zone of Tuva (central Tuva lowlands). 2. Distance of flight of *A. sticticus*, *A. cinereus* and *A. c. caspius*] (Russe). *Med Parazitol (Mosk)* **2** : 69-72.

- Pupo M., Guzman M.G., Fernandez R., Llop A., Dickinson F.O., Perez D., Cruz R., Gonzalez T., Estevez G., Gonzalez H., Santos P., Kouri G., Andonova M., Lindsay R., Artsob H. et Drebot M.** (2006) West Nile Virus Infection in Humans and Horses, Cuba. *Emerg Infect Dis* **12** (6) : 1022-4.
- Quirin R., Salas M., Zientara S., Zeller H., Labie J., Murri S., Lefrancois T., Petitclerc M. et Martinez D.** (2004) West Nile virus, Guadeloupe. *Emerg Infect Dis* **10** (4) : 706-8.
- Rageau J. et Mouchet J.** (1967) Les arthropodes hématophages de Camargue. *Cah - ORSTOM, Entomol méd* **V** (4) : 263-81.
- Randolph S.E., Gern L. et Nuttall P.A.** (1996) Co-feeding Ticks: Epidemiological Significance for Tick-borne Pathogen Transmission. *Parasitology today* **12** (12) : 472-9.
- Rappole J.H., Derrickson S.R. et Hubalek Z.** (2000) Migratory birds and spread of West Nile virus in the Western Hemisphere. *Emerg Infect Dis* **6** (4) : 319-28.
- Rappole J.H. et Hubalek Z.** (2003) Migratory birds and West Nile virus. *J Appl Microbiol* **94 Suppl** : 47S-58S.
- Rappole J.H., Compton B.W., Leimgruber P., Robertson J., King D.I. et Renner S.C.** (2006) Modeling Movement of West Nile Virus in the Western Hemisphere. *Vector Borne Zoonotic Dis* **6** (2) : 128-39.
- Ratterree M.S., Gutierrez R.A., Travassos da Rosa A.P., Dille B.J., Beasley D.W., Bohm R.P., Desai S.M., Didier P.J., Bikenmeyer L.G., Dawson G.J., Leary T.P., Schochetman G., Phillippi-Falkenstein K., Arroyo J., Barrett A.D. et Tesh R.B.** (2004) Experimental infection of rhesus macaques with West Nile virus: level and duration of viremia and kinetics of the antibody response after infection. *J Infect Dis* **189** (4) : 669-76.
- Reed L.J. et Muench H.** (1938) A simple method of estimating fifty per cent endpoints. *Am J Hyg* **27** (3) : 493-7.
- Région Languedoc-Roussillon** (2001) Les espèces des lagunes méditerranéennes. Montpellier, Région Languedoc-Roussillon, Hôtel de Région. 241 p.
- Reisen W.K., Meyer R.P. et Milby M.M.** (1986a) Overwintering Studies in *Culex tarsalis* (Diptera: Culicidae) in Kern County, California: Temporal Changes in Abundance and Reproductive Status with Comparative Observations on *C. quinquefasciatus* (Diptera: Culicidae). *Ann Entomol Soc Am* **79** (4) : 677-85.
- Reisen W.K., Meyer R.P. et Milby M.M.** (1986b) Overwintering Studies in *Culex tarsalis* (Diptera: Culicidae) in Kern County, California: Life Stages Sensitive to Diapause Induction Cues. *Ann Entomol Soc Am* **79** (4) : 674-6.
- Reisen W.K., Meyer R.P. et Milby M.M.** (1986c) Overwintering Studies in *Culex tarsalis* (Diptera: Culicidae) in Kern County, California: Survival and the Experimental Induction and Termination of Diapause. *Ann Entomol Soc Am* **79** (4) : 664-73.
- Reisen W.K.** (1989) Estimation of the vectorial capacity: relationship to disease transmission by malaria and arbovirus vectors. *Bull Soc Vector Ecol* **14** (1) : 67-70.
- Reisen W.K., Lothrop H.D., Chiles R.E., Madon M.B., Cossen C., Woods L., Husted S., Kramer V. et Edman J.D.** (2004) West Nile Virus in California. *Emerg Infect Dis* **10** (8) : 1369-78.
- Reisen W.K., Fang Y. et Martinez V.M.** (2005) Avian host and mosquito (Diptera: Culicidae) vector competence determine the efficiency of West Nile and St. Louis encephalitis virus transmission. *J Med Entomol* **42** (3) : 367-75.
- Reisen W.K., Barker C.M., Carney R., Lothrop H.D., Wheeler S.S., Wilson J.L., Madon M.B., Takahashi R., Carroll B., Garcia S., Fang Y., Shafii M., Kahl N., Ashtari S., Kramer V., Glaser C. et Jean C.** (2006a) Role of Corvids in Epidemiology of West Nile Virus in Southern California. *J Med Entomol* **43** (2) : 356-67.

- Reisen W.K., Fang Y., Lothrop H.D., Martinez V.M., Wilson J., O'Connor P., Carney R., Cahoon-Young B., Shafii M. et Brault A.C.** (2006b) Overwintering of West Nile Virus in Southern California. *J Med Entomol* **43** (2) : 344-55.
- Reisen W.K., Fang Y. et Martinez V.M.** (2006c) Effects of Temperature on the Transmission of West Nile Virus by *Culex tarsalis* (Diptera: Culicidae). *J Med Entomol* **43** (2) : 309-17.
- Reiter P.** (2001) Climate change and mosquito-borne disease. *Environ Health Perspect* **109 Suppl 1** : 141-61.
- Reiter P., Thomas C.J., Atkinson P.M., Hay S.I., Randolph S.E., Rogers D.J., Shanks G.D., Snow R.W. et Spielman A.** (2004) Global warming and malaria: a call for accuracy. *Lancet Infect Dis* **4** (6) : 323-4.
- Richards F.J.** (1959) A Flexible Growth Function for Empirical Use. *J Exp Bot* **10** (2) : 290-301.
- Rioux J.A. et Arnold M.** (1955) Les Culicidés de Camargue (étude systématique et écologique). Paris, Société Nationale d'Acclimatation. 42 p.
- Rioux J.A.** (1958) Les Culicidés du "Midi méditerranéen". Etude systématique et écologique. Paris, Editions Paul Lechevalier. 303 p.
- Rioux J.A., Croset H., Gras G., Juminer B. et Tesson G.** (1965) Les problèmes théoriques et pratiques posés par la lutte contre *Culex pipiens* L. dans le sud de la France. *Arch Inst Pasteur Tunis* **42** : 473-500.
- Rioux J.A., Croset H., Corre J.J. et Simoneau P.** (1967a) Les bases phyto-écologiques de la lutte anticulicidienne dans le "Midi" méditerranéen. *Arch Inst Pasteur Tunis* **44** : 429-42.
- Rioux J.A., Croset H., Corre J.J., Simoneau P. et Gras G.** (1967b) Les bases phyto-écologiques de la lutte anticulicidienne. Cartographies des biotopes larvaires. *Ann Parasitol Hum Comp* **42** (6) : 665-80.
- Rioux J.A., Croset H., Corre J.J., Simoneau P. et Gras G.** (1968) Phyto-ecological basis of mosquito control: cartography of larval biotopes. *Mosq News* **28** (4) : 572-82.
- Roberts R.S. et Foppa I.M.** (2006) Prediction of Equine Risk of West Nile Virus Infection Based on Dead Bird Surveillance. *Vector Borne Zoonotic Dis* **6** (1) : 1-6.
- Robich R.M. et Denlinger D.L.** (2005) Diapause in the mosquito *Culex pipiens* evokes a metabolic switch from blood feeding to sugar gluttony. *Proc Natl Acad Sci U S A* **102** (44) : 15912-7.
- Rodhain F.** (1985) Transmission vectorielle : aspects actuels des recherches et perspectives. *Bull Inst Pasteur* **83** : 221-43.
- Rodhain F. et Perez C.** (1985) Précis d'entomologie médicale et vétérinaire. Paris, Maloine s. a. éditeur. 458 p.
- Rodhain F., Petter J.J., Albignac R., Coulanges P. et Hannoun C.** (1985) Arboviruses and Lemurs in Madagascar: experimental infection of *Lemur fulvus* with Yellow fever and West Nile virus. *Am J Trop Med Hyg* **34** (4) : 816-22.
- Rodhain F.** (2003) Emergences de maladies à transmission vectorielle. *Epidémiologie et santé animale* **43** : 33-49.
- Rogers D.J. et Randolph S.E.** (2000) The Global Spread of Malaria in a Future, Warmer World. *Science* **289** (5485) : 1763-6.
- Rollin P.E., Rollin D., Martin P., Baylet R., Rodhain F. et Hannoun C.** (1982) Résultats d'enquêtes séroépidémiologiques récentes sur les arboviroses en Camargue : populations humaines, équines, bovines et aviaires. *Med Mal Infect* **12** (2) : 77-80.
- Roman E., Violet P. et Dumarchey G.** (1962) Principes de lutte contre le moustique citadin. *Rev Hyg Med Soc* **10** (8) : 640-51.

- Rosen L. et Gubler D.** (1974) The use of mosquitoes to detect and propagate dengue viruses. *Am J Trop Med Hyg* **23** (6) : 1153-60.
- Rosen L.** (1987) Overwintering mechanisms of mosquito-borne arboviruses in temperate climates. *Am J Trop Med Hyg* **37** (3) : 69S-76S.
- Rosen L., Jih-Ching L., Shroyer D.A., Baker R.H. et L. L.-C.** (1989) Experimental vertical transmission of Japanese Encephalitis virus by *Culex tritaeniorhynchus* and other mosquitoes. *Am J Trop Med Hyg* **40** (5) : 548-56.
- Ross R.** (1915) Some *a priori* pathometric equations. *Br Med J* **1** : 546-7.
- Roubaud E. et Treillard M.** (1944) Etudes sur les moustiques de la Crau V. L'*Aedes caspius*. *Bull Soc Pathol Exot* **37** : 159-68.
- Rouzaud C.** (1975) Les groupements végétaux du bassin de l'étang de Pissevaches (Aude) et leurs relations avec les aires culicidogènes. Thèse de doctorat en Sciences Naturelles, Montpellier, Université des Sciences et Techniques du Languedoc : 433 p.
- Sabio I.J., Mackay A.J., Roy A. et Foil L.D.** (2006) Detection of West Nile Virus RNA in Pools of Three Species of Ceratopogonids (Diptera: Ceratopogonidae) Collected in Louisiana. *J Med Entomol* **43** (5) : 1020-2.
- Sardelis M.R. et Turell M.J.** (2001) *Ochlerotatus J. japonicus* in Frederick county, Maryland: discovery, distribution, and vector competence for West Nile virus. *J Am Mosq Control Assoc* **17** (2) : 137-41.
- Sardelis M.R., Turell M.J., Dohm D.J. et O'Guinn M.L.** (2001) Vector competence of selected North American *Culex* and *Coquillettidia* mosquitoes for West Nile virus. *Emerg Infect Dis* **7** (6) : 1018-22.
- Sardelis M.R., Turell M.J., O'Guinn M.L., Andre R.G. et Roberts D.R.** (2002) Vector competence of three North American strains of *Aedes albopictus* for West Nile virus. *J Am Mosq Control Assoc* **18** (4) : 284-9.
- Savage H.M., Ceianu C., Nicolescu G., Karabatsos N., Lanciotti R., Vladimirescu A., Laiv L., Ungureanu A., Romanca C. et Tsai T.F.** (1999) Entomologic and avian investigations of an epidemic of West Nile fever in Romania in 1996, with serologic and molecular characterization of a virus isolate from mosquitoes. *Am J Trop Med Hyg* **61** (4) : 600-11.
- Savage H.M.** (2005) Classification of Mosquitoes in Tribe Aedini (Diptera: Culicidae): Paraphylyphobia, and Classification Versus Cladistic Analysis. *J Med Entomol* **42** (6) : 923-7.
- Sbrana E., Tonry J.H., Xiao S.Y., da Rosa A.P., Higgs S. et Tesh R.B.** (2005) Oral transmission of West Nile virus in a hamster model. *Am J Trop Med Hyg* **72** (3) : 325-9.
- Schaffner F., Angel G., Geoffroy B., Hervy J.P., Rhaïem A. et Brunhes J.** (2001) Les moustiques d'Europe : logiciel d'identification et d'enseignement. Cd-ROM, Montpellier, IRD Editions
- Schmidt J.R. et El Mansoury H.K.** (1963) Natural and experimental infection of Egyptian equines with West Nile virus. *Ann Trop Med Parasitol* **57** : 415-27.
- Schmidt J.R. et Said M.I.** (1964) Isolation of West Nile Virus from the African Bird Argasid, *Argas Reflexus* Hermann, in Egypt. *J Med Entomol* **39** : 83-6.
- Schuffenecker I., Peyrefitte C.N., el Harrak M., Murri S., Leblond A. et Zeller H.G.** (2005) West Nile virus in Morocco, 2003. *Emerg Infect Dis* **11** (2) : 306-9.
- Scott T.W. et Edman J.D.** (1991) Effects of avian host age and arbovirus infection on mosquito attraction and blood-feeding success. In : *Bird Parasite Interactions*. Loye J.E. et Zuk M. Oxford, Oxford University Press : 179-204.
- Service W.** (1993) Mark-recapture techniques and adult dispersal. In : *Mosquito ecology: field sampling methods*. Service W. London, Chapman & Hall : 652-751.

- Shute P.G.** (1933) The life-history and habits of British mosquitoes in relation to their control by antilarval operations. *J Trop Med Hyg* **36** : 83-8.
- Siegel S. et Castellan N.J.** (1988) Nonparametric statistics for the behavioral sciences. New York, Mc Graw-Hill Book Compagny. 339 p.
- Sinègre G.** (1974) Contribution à l'étude physiologique d'*Aedes (Ochlerotatus) caspius* (Pallas, 1771) (Nematocera - Culicidae) : éclosion - dormance - développement - fertilité. Thèse de Doctorat en Sciences Naturelles, Montpellier, Université des Sciences et Techniques du Languedoc : 285 p.
- Sinnassamy J.M. et Mauchamp A.** (2000) Roselières : gestion fonctionnelle et patrimoniale., Fondation EDF, Réserves Naturelles de France & Station Biologique de la Tour du Valat. 96 p.
- Smithburn K.C., Taylor R.M., Rizk F. et Kader A.** (1954) Immunity to certain arthropod-borne viruses among indigenous residents of Egypt. *Am J Trop Med Hyg* **3** (1) : 9-18.
- Southam C.M. et Moore A.E.** (1954) Induced virus infections in man by the Egypt isolates of West Nile virus. *Am J Trop Med Hyg* **3** (1) : 19-50.
- Spielman A., Andreadis T.G., Apperson C.S., Cornel A.J., Day J.F., Edman J.D., Fish D., Harrington L.C., Kiszewski A.E., Lampman R., Lanzaro G.C., Matuschka F.R., Munstermann L.E., Nasci R.S., Norris D.E., Novak R.J., Pollack R.J., Reisen W.K., Reiter P., Savage H.M., Tabachnick W.J. et Wesson D.M.** (2004) Outbreak of West Nile Virus in North America. *Science* **306** : 1473.
- Swayne D.E., Beck J.R., Smith C.S., Shieh W.J. et Zaki S.R.** (2001) Fatal encephalitis and myocarditis in young domestic geese (*Anser anser domesticus*) caused by West Nile virus. *Emerg Infect Dis* **7** (4) : 751-3.
- Tahori A.S., Sterk V.V. et Goldblum N.** (1955) Studies on the dynamics of experimental transmission of West Nile virus by *Culex molestus*. *Am J Trop Med Hyg* **4** (6) : 1015-27.
- Tardieux I., Poupel O., Lapchin L. et Rodhain F.** (1990) Variation among strains of *Aedes aegypti* in susceptibility to oral infection with dengue virus type 2. *Am J Trop Med Hyg* **43** (3) : 308-13.
- Taylor D.J. et Hurlbut H.S.** (1953) Isolation of West Nile Virus from *Culex* Mosquitoes. *J Egypt Med Assoc* **36** (3) : 199-208.
- Taylor R.M., Work T.H., Hurlbut H.S. et Rizk F.** (1956) A study of the ecology of West Nile virus in Egypt. *Am J Trop Med Hyg* **5** (4) : 579-620.
- Tber Abdelhaq A.** (1996) West Nile fever in horses in Morocco. *Bull - OIE* **11** : 867-9.
- Teehee M.L., Bunning M.L., Stevens S. et Bowen R.A.** (2005) Experimental infection of pigs with West Nile virus. *Arch Virol* **150** (6) : 1249-56.
- Tekle A.** (1960) The physiology of hibernation and its role in the geographical distribution of populations of the *Culex pipiens* Complex. *Am J Trop Med Hyg* **9** : 321-30.
- Tempelis C.H., Francy D.B., Hayes R.O. et Lofy M.F.** (1967) Variations in feeding patterns of seven culicine mosquitoes on vertebrate hosts in Weld and Larimer Counties, Colorado. *Am J Trop Med Hyg* **16** (1) : 111-9.
- Tempelis C.H.** (1989) Estimation of the vectorial capacity: mosquito host selection. *Bull Soc Vector Ecol* **14** (1) : 55-9.
- Thompson W.H. et Beaty B.J.** (1976) Veneral Transmission of La Crosse (California Encephalitis) Arbovirus in *Aedes triseriatus* Mosquitoes. *Science* **196** (4289) : 530-1.
- Tiawsirisup S., Platt K.B., Evans R.B. et Rowley W.A.** (2004) Susceptibility of *Ochlerotatus trivittatus* (Coq.), *Aedes albopictus* (Skuse), and *Culex pipiens* (L.) to West Nile virus infection. *Vector Borne Zoonotic Dis* **4** (3) : 190-7.

- Tiawirisup S., Platt K.B., Evans R.B. et Rowley W.A.** (2005a) A Comparision of West Nile Virus Transmission by *Ochlerotatus trivittatus* (Coq.), *Culex pipiens* (L.), and *Aedes albopictus* (Skuse). *Vector Borne Zoonotic Dis* **5** (1) : 40-7.
- Tiawirisup S., Platt K.B., Tucker B.J. et Rowley W.A.** (2005b) Eastern Cottontail Rabbits (*Sylvilagus floridanus*) Develop West Nile Viremias Sufficient for Infecting Select Mosquito Species. *Vector Borne Zoonotic Dis* **5** (4) : 342-50.
- Tran A., Gaidet N., L'Ambert G., Balenghien T., Soti V., Ivanec C., Balança G., Chevalier V., Etter E., Schaffner F., Baldet T. et de La Rocque S.** (2006). On the use of remote sensing for the ecological description of multi-host disease systems: a case study on West Nile Virus in Southern France. 1st OIE International conference "GIS in veterinary activities", Silvi Marina, Italia
- Triki H., Murri S., Le Guenno B., Bahri O., Hili K., Sidhom M. et Dellagi K.** (2001) Méningo-encéphalite à arbovirus West Nile en Tunisie. *Med Trop (Mars)* **61** (6) : 487-90.
- Turell M.J., Gargan T.P., 2nd et Bailey C.L.** (1983) *Culex pipiens* (Diptera: Culicidae) morbidity and mortality associated with Rift Valley Fever virus infection. *J Med Entomol* **22** (3) : 332-7.
- Turell M.J., Bailey C.L. et Rossi C.A.** (1984) Increased mosquito feeding in Rift Valley Fever virus-infected lambs. *Am J Trop Med Hyg* **33** (6) : 1232-8.
- Turell M.J., Rossi C.A. et Bailey C.L.** (1985) Effect of extrinsic incubation temperature on the ability of *Aedes taeniorhynchus* and *Culex pipiens* to transmit Rift Valley Fever virus. *Am J Trop Med Hyg* **34** (6) : 1211-8.
- Turell M.J.** (1988) Reduced Rift Valley fever virus infection rates in mosquitoes associated with pledget feedings. *Am J Trop Med Hyg* **39** (6) : 597-602.
- Turell M.J., O'Guinn M. et Oliver J.** (2000) Potential for New York mosquitoes to transmit West Nile virus. *Am J Trop Med Hyg* **62** (3) : 413-4.
- Turell M.J., O'Guinn M.L., Dohm D.J. et Jones J.W.** (2001) Vector competence of North American mosquitoes (Diptera: Culicidae) for West Nile virus. *J Med Entomol* **38** (2) : 130-4.
- Turell M.J., Sardelis M.R., O'Guinn M.L. et Dohm D.J.** (2002) Potential vectors of West Nile virus in North America. *Curr Top Microbiol Immunol* **267** : 241-52.
- Turell M.J., Dohm D.J., Sardelis M.R., O'Guinn M.L., Andreadis T.G. et Blow J.A.** (2005) An update on the potential of North American mosquitoes (Diptera: Culicidae) to transmit West Nile Virus. *J Med Entomol* **42** (1) : 57-62.
- Turell M.J., Mores C.N., Dohm D.J., Komilov N., Paragas J., Lee J.S., Shermuhemedova D., Endy T.P., Kodirov A. et Khodjaev S.** (2006) Laboratory Transmission of Japanese Encephalitis and West Nile Viruses by Molestus Form of *Culex pipiens* (Diptera: Culicidae) Collected in Uzbekistan in 2004. *J Med Entomol* **43** (2) : 296-300.
- Uteene H.** (2005) Détermination des organes cibles pour l'amplification du virus *West-Nile* et conséquences sur les cycles de transmission. Master2R MRES, Grenoble, Université J. Fourier : 36 p.
- van der Meulen K.M., Pensaert M.B. et Nauwynck H.J.** (2005) West Nile virus in the vertebrate world. *Arch Virol* **150** (4) : 637-57.
- Varma M.G.R.** (1960) Preliminary studies on the infection of Culicine mosquitoes with the Tamilnad strain of West Nile virus. *Indian J Med Res* **48** : 537-48.
- Vazeille M., Rosen L., Mousson L. et Failloux A.B.** (2003) Low oral receptivity for Dengue type 2 viruses of *Aedes albopictus* from Southeast Asia compared with that of *Aedes aegypti*. *Am J Trop Med Hyg* **68** (2) : 203-8.

- Vazeille-Falcoz M., Mousson L., Rodhain F., Chungue E. et Failloux A.B.** (1999) Variation in oral susceptibility to dengue type 2 virus of populations of *Aedes aegypti* from the islands of Tahiti and Moorea, French Polynesia. *Am J Trop Med Hyg* **60** (2) : 292-9.
- Vermeil C., Lavillaureix J. et Reeb E.** (1958) Infection et transmission expérimentales du virus West Nile par *Ornithodoros coniceps* (Canestrini) de souche tunisienne. *Bull Soc Pathol Exot* **51** : 489-95.
- Vermeil C., Lavillaureix J. et Reeb E.** (1960) Sur la conservation et la transmission du virus West Nile par des arthropodes. *Bull Soc Pathol Exot* **53** : 273-9.
- Vinogradova E.B.** (2000) *Culex pipiens pipiens* mosquitoes: taxonomy, distribution, ecology, physiology, genetics, applied importance and control. Sofia-Moscow, PENSOFT Publishers. 250 p.
- Weaver S.C., Lorenz L.H. et Scott T.W.** (1993) Distribution of Western Equine Encephalomyelitis Virus in the Alimentary Tract of *Culex tarsalis* (Diptera: Culicidae) Following Natural and Artificial Blood Meals. *J Med Entomol* **30** (2) : 391-7.
- Weaver S.C. et Barrett A.D.** (2004) Transmission cycles, host range, evolution and emergence of arboviral disease. *Nat Rev Microbiol* **2** : 789-801.
- Weinberger M., Pitlik S.D., Gandacu D., Lang R., Nassar F., Ben David D., Rubinstein E., Izthaki A., Mishal J., Kitzes R., Siegman-Igra Y., Giladi M., Pick N., Mendelson E., Bin H. et Shohat T.** (2001) West Nile fever outbreak, Israel, 2000: epidemiologic aspects. *Emerg Infect Dis* **7** (4) : 686-91.
- White D.J., Kramer L.D., Backenson P.B., Lukacik G., Johnson G., Oliver J.A., Howard J.J., Means R.G., Eidson M., Gotham I., Kulasekera V. et Campbell S.** (2001) Mosquito surveillance and polymerase chain reaction detection of West Nile virus, New York State. *Emerg Infect Dis* **7** (4) : 643-9.
- Whitman L. et Aitken T.H.** (1960) Potentiality of *Ornithodoros moubata* Murray (Acarina, Argasidae) as a reservoir vector of West Nile Virus. *Ann Trop Med Parasitol* **54** : 192-204.
- Woodall J.P., Gillett J.D., Corbet P.S., Weinbren M.P. et Williams M.C.** (1961) The isolation of West Nile virus from the bird-biting mosquito *Mansonia metallica* in Uganda. *Ann Trop Med Parasitol* **55** : 398-402.
- Work T.H., Hurlbut H.S. et Taylor R.M.** (1953) Isolation of West Nile virus from hooded crow and rock pigeon in the Nile delta. *Proc Soc Exp Biol Med* **84** (3) : 719-22.
- Work T.H., Hurlbut H.S. et Taylor R.M.** (1955) Indigenous wild birds of the Nile Delta as potential West Nile virus circulating reservoirs. *Am J Trop Med Hyg* **4** (5) : 872-88.
- Work T.H.** (1971) On the Japanese B-West Nile virus complex or an arbovirus problem of six continents. *Am J Trop Med Hyg* **20** (2) : 169-86.
- Zeller H., Zientara S., Hars J., Languille J., Mailles A., Tolou H., Paty M.C., Schaffner F., Armengaud A., P. G., Legras J.F. et Hendriks P.** (2004) West Nile outbreak in horses in Southern France: September 2004. *Euro Surveill* **8** (41) : disponible à <http://www.eurosurveillance.org/ew/2004/041007.asp#3>.
- Zeller H.G. et Murgue B.** (2001) Rôle des oiseaux migrateurs dans l'épidémiologie du virus West Nile. *Med Mal Infect* **31** (Suppl 2) : 168-74.
- Zeller H.G. et Schuffenecker I.** (2004) West Nile virus: an overview of its spread in Europe and the Mediterranean basin in contrast to its spread in the Americas. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* **23** (3) : 147-56.
- Zientara S. et Leblond A.** (2002) Surveillance de la circulation du virus West Nile dans la population équine de la région Camargue 2002, AFSSA/ENVL : 5 p.
- Zientara S., Baldet T., Durand B., Hars J., Lagneau C., de Lamballerie X., Murgue B., Reiter P. et Zeller H.** (2004) Rapport sur la surveillance de l'infection à virus West Nile en France, AFSSA : 48 p.

Annexes

Annexe 1 : essais expérimentaux de transmission verticale avec le virus *West Nile*

Espèce	Virus ^{II}	Repas sanguin	Matériel testé ^{III}	Test ^{IV}	TMIF ^V
Origine	Souche	Mode	Stade et nombre		
Génération	Infection	Jours après infection	Jours après émergence		
Âge ^I			Température incubation		
<i>Aedes aegypti</i> (Linnaeus) – (Davies et Yoshpe-Purer 1954 ; Nir 1963 ; Baqar <i>et al.</i> 1993)					
SL > 3 ans 5-10 jours	E-101	Hamster	10L, 8N, 6I 26-28°C	IC	Pas d'isolement
-	- RA	Souriceau	313 ♀ 10-12 jours	IP	Pas d'isolement
Pakistan SL > 10 ans 3-5 jours	E-101* IT	Souris 3 jours	A : 2243 ♂ et 1239 ♀ B : 1432 ♂ et 871 ♀ 12 jours / 28°C	IC IT*	A : 5,8 et 8,0/1000 B : 13,9 et 16,1/1000
<i>Aedes albopictus</i> (Skuse) - (Baqar <i>et al.</i> 1993 ; Dohm <i>et al.</i> 2002b)					
Pakistan SL > 10 ans 3-5 jours	E-101* IT	Souris 3 jours	371 ♂ et 275 ♀ 12 jours / 28°C	IC IT*	8,0 et 7,2/1000
Maryland - F3 Hawaï SL > 30 ans 10 jours	crow 397-99* IT	Hamster 7 jours	1531 ♂ et 1444 ♀ 4-8 jours / L 20°C I 26°C 5173 ♂ et 5295 ♀ 4-8 jours / 26°C	Vero	Pas d'isolement Pas d'isolement
<i>Culex tritaeniorhynchus</i> Giles - (Hayes <i>et al.</i> 1980 ; Baqar <i>et al.</i> 1993)					
Pakistan SL > 11 ans 2-4 jours	E-101** IT	Souris 4-7 et 13 jours	A : 600 ♂ + 500 ♀ B : 350 ♂ + 340 ♀ 10-12 jours / 28°C	IT**	Pas d'isolement
Pakistan SL > 10 ans 3-5 jours	E-101* IT	Souris 3 jours	A : 850 ♂ et 735 ♀ B : 1680 ♂ et 2685 ♀ 12 jours / 28°C 1709 L et 1563 N / 20°C 2497 L et 1661 N / 28°C	IC IT* IT**	A : 1,2 et 2,7/1000 B : 2,4 et 3,1/1000 4,7 et 2,6/1000 4,8 et 1,8/1000
<i>Culex pipiens</i> Linnaeus - (Turell <i>et al.</i> 2001 ; Dohm <i>et al.</i> 2002b ; Goddard <i>et al.</i> 2003)					
New York F0-3	crow 397-99 IT	Poulet 7 jours	641 L et I / 18°C 933 I / 26°C 44 L / 26°C	Vero	Pas d'isolement 22,8/1000
New York F3-4 10 j	crow 397-99* IT	Hamster 7 jours	722 ♂ et 695 ♀ 4-8 jours / L 18°C I 26°C 911 ♂ et 962 ♀ 4-8 jours / 26°C	Vero	2,8 et 0/1000 3,3 et 1,0/1000
Californie F0	352611 IT	Poulet ou RA 5 jours	4884 I 3 jours / L 18°C I 28°C	Vero	Pas d'isolement
<i>Culex quinquefasciatus</i> (Say) - (Goddard <i>et al.</i> 2003)					
Californie Sauvage	352611 IT	Poulet ou RA 5 jours	665 I 3 jours / L 18°C I 28°C	Vero	3,0/1000*
<i>Culex tarsalis</i> Coquillett - (Goddard <i>et al.</i> 2003 ; Reisen <i>et al.</i> 2006b)					
Yolo CA sauvage		Poulet ou RA	2165 I 3 jours / L 18°C I 28°C	Vero	6,9/1000**
Riverside CA sauvage	35211 IT	5 jours	2453 I 3 jours / L 18°C I 28°C		Pas d'isolement
Kern CA SL 3 ans		Poulet	916 ♂ et 901 ♀ 3 jours / L 28°C I 23°C		1,1 et 1,1/1000
	35211	10 jours (26°C)	936 ♂ et 973 ♀ 3 jours / L 28°C I 23°C	Vero	Pas d'isolement
Yolo CA SL 2 ans	AV		1110 I 3 jours / L 28°C I 23°C		8,1/1000

^I Sont indiqués l'origine de la souche utilisée (CA : Californie), la génération utilisée (sauvage : adultes capturés sur le terrain ; SL : souche de laboratoire, temps de colonisation), et l'âge des individus.

Annexe 1 : essais expérimentaux de transmission verticale avec le virus *West Nile*

^{II} Sont indiqués la souche virale utilisée et le mode d'infection (IT : inoculation intrathoracique, RA : repas artificiel, AV : repas sur animal virémique). Pour les souches virales :

E-101 : souche Égypte 1951, E-101* : même souche après 6 passages sur souriceau et 4 passages sur *Cx. tritaeniorhynchus*, E-101** : même souche après 15 passages sur souriceaux ;

crow 397-99 : souche isolée sur corneille morte dans le Bronx en 1999 ; crow 397-99* : même souche après un passage sur cellules Vero ;

35211 : souche 35211 AAF 9/23/99 isolée sur flamand à New York en 1999 après 2 ou 3 passages sur cellules Vero.

^{III} Les différents stades sont L : larve, N : nymphe et I : imago quand la différence n'est pas faite entre ♂ et ♀.

^{IV} Tous les tests utilisés sont des méthodes d'isolement viral (IC : intra cérébrale à des souris, IP : intra péritonéale à des souriceaux, IT* : intrathoracique à 10 mâles de *Cx. tritaeniorhynchus* de lots de 10 à 45 moustiques, IT** : intrathoracique à 50 mâles de *Cx. tritaeniorhynchus* de lots de 20 à 70 individus, Vero : inoculation sur tapis de cellules Vero de lots ≤ 25 individus).

^V Taux minimal d'infection filiale : nombre de lots positifs/nombre de descendants testés, TMIF* : seuls les lots mâles sont positifs, TMIF** : deux fois plus de lots mâles positifs que de lots femelles.

Annexe 2a : infections expérimentales et compétence vectorielle de *Culex pipiens* Linnaeus pour le virus *West Nile*

Espèce ^I Origine Génération Âge	Virus ^{II} Mode Souche	Titre ^{III} Log/ml	Incubation Température Durée (jours)	TInf. ^{IV}	TTrans. ^V Mode Résultats	Réfs. ^{VI}
Appelé <i>Cx. molestus</i> dans [1] et appartenant à la forme <i>molestus</i> dans [11]						
Israël SL > 2 ans 3-7 j	RA _{CI} Isr	4,3 5,8 - 8,3 DI ₅₀	28°C 28°C	7 à 21 7 21	ND AI - 0 (88) ^{**} AI - 10 (52) ^{**} AI - 79 (53) ^{**}	[1]
Egypte SL	AV Ar-248	≤ 5,1 ≥ 6,0 5,3 8,1 DL ₅₀	30 ± 2°C 13 à 22°C 13 à 26°C	14 28-33 18-29	35 (26) / DI ₅₀ : 4,5 100 (22) 5/5 5/5 AI - 25 (5) ^{**} AI - 50 (5) ^{**}	[2]
Johannesburg F0 ou F9-11	RA _M - AV -	≤ 6,8 6,9 ≤ 3,9 ≥ 5,0 DL ₅₀	25 - 26°C 25 - 26°C	14-18 14-18	1 (95) / DI ₅₀ > 6,9 12 (26) 15 (41) / DI ₅₀ : 4,4 95 (108) ND ND	[3]
New York F0-3	AV 397-99	5,2 7,2 PFU	26°C	14	17 (46) / DI ₅₀ : 6,0 81 (95) AI - 2 (46) [*] AI - 20 (95) [*]	[4,5]
New York F3-4 5-10 j	AV 397-99	7,0 PFU	26°C 30°C 26°C 20°C 18°C	14 ≥ 12 ≥ 25 ≥ 14 ≥ 25	96 (23) 100 (24) 100 (21) 100 (22) 95 (21) AI - ≈ 42 (23) [*] AI - ≈ 88 (24) [*] AI - ≈ 80 (21) [*] AI - ≈ 30 (22) [*] AI - ≈ 18 (21) [*]	[6] [7]
Une grande variété de combinaisons, températures /durées d'incubation est testée, (voir le texte pour plus de détails)						
Californie F1	RA _{GP} 35211	4,9 7,1 PFU	28°C 28°C	14 14	23 (35) / DI ₅₀ : 5,4 100 (31) Mc - 60 (35) Mc - 71 (31)	[8]
Iowa F8-10	AV 397-99 ^{**}	2,2 à 5,0 5,4 à 5,9 6,4 à 6,8 7,3 à 8,7 PFU	27°C 27°C 27°C 27°C	14 14 14 14	5 (175) / DI ₅₀ : 5,6 59 (61) 97 (104) 97 (112) Mc - 1 (100) Mc - 8 (13) Mc - 37 (46) Mc - 54 (69)	[9]
New York F0 - 7 j	RA _{CI} 3356	7,7 PFU	27°C	14	14 (795) Mc - 3 (795)	[10]
Ouzbékistan F1	AV 397-99 [*]	6,3 à 7,0 PFU	26°C	20	96 (53) AI - 47 (15)	[11]
Iowa SL	AV IA02	4,1 à 4,6 5,8 à 6,1 6,8 à 7,0 PFU	27°C	14	33 (105) / DI ₅₀ : 4,8 83 (75) 93 (56)	[12]

^I Origine de la souche, génération (sauvage : adultes capturés sur le terrain ; SL : souche de laboratoire, temps de colonisation), et âge des individus.

^{II} Mode d'exposition des femelles, RA : repas artificiel (RA_{CI} : coton imbibé, RA_M : sur membrane, RA_{GP} : goutte pendante) ; AV : animal virémique (souris pour [2], poulet pour [3-7,9,11-12]), et souche virale utilisée, à savoir :

Isr : souche isolée en Israël sur homme, après 5 à 6 passages sur souris,

Ar-248 : souche isolée sur *Culex* en Égypte en 1952, après 3 passages sur souris et maintenue avec des cycles de transmission souris-moustiques ;

397-99 : souche isolée sur corneille dans le Bronx en 1999 ; 397-99^{*} : même souche après 1 passage sur cellules Vero ; 397-99^{**} : même souche après 6 passages sur cellules Vero et un sur *Ae. albopictus* ;

35211 : souche 35211 AAF 9/23/99 isolée sur flamand à New York en 1999 après 2 passages sur cellules Vero ;

3356 : souche isolée sur corneille à Staten Island (New York) en 2000 après 2 passages sur cellules Vero ;

IA02 : isolée sur corneille en 2002, après 1 passage sur poussin et 5 passages sur cellules Vero.

Annexe 2a : infections expérimentales et compétence vectorielle de *Culex pipiens* Linneaus pour le virus *West Nile*

^{III} Log du titre utilisé exprimé par ml (DI₅₀/DL₅₀ : dose infectieuse/létale pour 50 % des souris adultes inoculées par voie intra cérébrale, PFU : *plaque-forming units*, nombre de plages de lyse sur cultures Vero).

^{IV} Les taux sont exprimés en pourcentage (moustiques testés) ou en nombre de moustiques positifs/testés si le nombre testé est inférieur à 10. ND : non déterminé.

TInf., taux d'infection (nombre de femelles infectées (isolement viral)/nombre de femelles exposées). Si les données sont suffisantes, la DI₅₀ (dose infectante pour 50 % des femelles exposées) est précisée.

^V Taux de transmission et méthode d'estimation (Al : piqûre sur animal naïf (souris pour [1,2], poulet pour [4-7, 11]) et Mc : méthode capillaire) ;

TTrans., taux de transmission (nombre de femelles transmettant / nombre de femelles exposées) ;

TTrans. *, taux de transmission estimé (taux d'infection disséminé (femelles avec virus dans une patte ou aile/femelles exposées) multiplié par la proportion de femelles avec une infection disséminée qui transmettent ; TTrans. **, pourcentage des souris exposées qui s'infectent (nombre de moustiques exposés testés), avec 8 à 28 souris pour [1] et 2 à 4 pour [2].

^{VI} Les références sont : [1] (Tahori *et al.* 1955), [2] (Hurlbut 1956), [3] (Jupp 1976), [4] (Turell *et al.* 2000), [5] (Turell *et al.* 2001), [6] (Dohm et Turell 2001), [7] (Dohm *et al.* 2002a), [8] (Goddard *et al.* 2002), [9] (Tiawsirisup *et al.* 2004, 2005a), [10] (Ebel *et al.* 2005), [11] (Turell *et al.* 2006) et [12] (Erickson *et al.* 2006).

Annexe 2b : infections expérimentales et compétence vectorielle de *Culex quinquefasciatus* Say pour le virus *West Nile*

Esèce ^I	Virus ^{II}	Titre ^{III}	Incubation		TInf. ^{IV}	TTrans. ^V	Réfs. ^{VI}
Origine	Mode	Log/ml	Température			Mode	
Génération	Souche		Durée (jours)			Résultats	
Âge							
Appelé <i>Cx. pipiens fatigans</i> dans [1 et 4] et <i>Cx. fatigans</i> dans [2]							
Inde SL > 4 ans < 14 jours	AV G2266	≥ 6,5 DL ₅₀	26 à 28°C	17 à 62	ND	AI – plusieurs cycles animal moustiques	[1]
SL	AV 28 B	ND	25°C	6	ND	AI – possible	[2]
SL > 5 ans	AV H442		26°C	8 à 122		AI – possible	[3]
Johannesburg F1	RA _M H442	4,2 à 6,2 7,2	25°C 25°C	22 - 24 22 - 24	12 (42) / DI ₅₀ : 6,8 63 (22)	ND AI – 2/9	[4]
F9	RA _M	3,4 à 5,4	25°C	18 - 23	0 (31) / DI ₅₀ : 5,9	ND	
1-25 j	H442	6,4 DL ₅₀	25°C	18 - 23	94 (17)	AI – 1/10	
Johannesburg F9-F72	AV H442	2,9 3,9 5,5 à 6,2 DL ₅₀	25 - 26°C	15-16	4 (25) / DI ₅₀ : 4,2 48 (27) 90 (50)	ND	[5]
Pakistan	RA _M E101	7,2	26°C	12-14	7 (43)	ND	[6]
SL	AV I-746	5,1 DLSNN ₅₀	26°C	12-14	69 (85) / DI ₅₀ < 4,8	ND	
Floride SL > F30	AV 397-99	5,5 7,0 PFU	26°C	12-14	50 (16) / DI ₅₀ ≈ 5,5 91 (78)	AI – 6 (16) [*] AI – 20 (78) [*]	[7]
F10-12		5,0 6,3 PFU	26°C	12-14	46 (13) / DI ₅₀ : 5,2 94 (17)	AI – 0 (13) [*] AI – 12 (17) [*]	
Kern CA F0	RA _{GP} 35211	4,9 7,1	28°C	14	10 (50) 58 (50)	Mc – 0 (50) Mc – 52 (50)	[8]
Riverside CA F1		4,9 7,1	28°C	14	0 (55) 28 (58)	Mc – 0 (55) Mc – 19 (58)	
Orange CA Sauvage		7,1 PFU	28°C	14	66 (50)	Mc – 36 (50)	
Californie F1	RA _{AV} RA _{CI}	4,8 à 5,7 7,3	26°C 26°C	14	42 (100) 58 (99)	Mc – 0 (100) Mc – 8 (99)	[9]
Kern (CA) F1	RA _{CI}	2 à 7 > 7	26°C	14	0 (150) 7 (30)	ND	
Los Angeles F1 3-8 j	RA _{CI} 35211	2 à 4 4 à 7 > 7 PFU	26°C	14	0 (60) / DI ₅₀ > 6,6 15 (120) 73 (30)	ND	

^I Origine de la souche (CA : Californie), génération (sauvage : adultes capturés sur le terrain ; SL : souche de laboratoire, temps de colonisation), et âge des individus.

^{II} Mode d'exposition des femelles, RA : repas artificiel (RA_{CI} : coton imbibé, RA_M : sur membrane, RA_{GP} : goutte pendante ; RA_{AV} : repas sur poulet avec une virémie artificielle) ; AV : oiseau virémique (le plus souvent poulet), et souche virale utilisée, à savoir :

G2266 : souche isolée d'un lot de *Culex vishnui* en Inde, après 3 passages sur souris ;

28 B : souche du Dr. Haddow, sans autre précision ;

H442 : souche isolée sur homme en Afrique du Sud en 1959, après 1 à 4 passages sur souris ;

E101 : souche isolée sur homme en Égypte en 1951, après 16 passages sur souris ;

I-746 : souche isolée au Pakistan, après 2 passages sur poulet et 1 sur souris ;

397-99 : souche isolée sur corneille dans le Bronx en 1999 après 1 passage sur cellules Vero ;

35211 : souche 35211 AAF 9/23/99 isolée sur flamand à New York en 1999 après 2 passages sur cellules Vero.

^{III} Log du titre utilisé exprimé par ml (DL₅₀ : dose létale pour 50 % des souris adultes (DLSNN₅₀ : nouveau-nées) inoculées par voie intracérébrale ; PFU : plaque formit unit, nombre de plages de lyse sur cultures Vero).

Annexe 2b : infections expérimentales et compétence vectorielle de *Culex quinquefasciatus* Say pour le virus *West Nile*

^{IV} Les taux sont exprimés en pourcentage (moustiques testés) ou en nombre de moustiques positifs/testés si le nombre testé est inférieur à 10. ND : non déterminé.

TInf., taux d'infection (nombre de femelles infectées/nombre de femelles exposées). La positivité est déterminée par isolement viral, ou immunofluorescence sur abdomen (IFI) pour [6]. Si les données sont suffisantes, la DI₅₀ (dose infectante pour 50 % des femelles exposées) est précisée.

^V Taux de transmission et méthode d'estimation (Al : piqure sur animal naïf (poulet pour [1-2, 4, 7], souris pour [3]) et Mc : méthode capillaire) ;

TTrans., taux de transmission (nombre de femelles transmettant/nombre de femelles exposées) ;

TTrans. *, taux de transmission estimé (taux d'infection disséminé (femelles avec virus dans une patte ou aile/femelles exposées) multiplié par la proportion de femelles avec une infection disséminée qui transmettent.

^{VI} Les références sont : [1] (Varma 1960), [2] (Vermeil *et al.* 1960), [3] (Donaldson 1966), [4] (Jupp et McIntosh 1970a), [5] (Jupp 1976), [6] (Akhter *et al.* 1982), [7] (Sardelis *et al.* 2001), [8] (Goddard *et al.* 2002) et [9] (Reisen *et al.* 2005).

Annexe 2c : infections expérimentales et compétence vectorielle de *Culex univittatus* Theobald pour le virus *West Nile*

Espèce ^I <i>Origine Génération Âge</i>	Virus ^{II} <i>Mode Souche</i>	Titre ^{III} <i>Log/ml</i>	Incubation <i>Température Durée (jours)</i>		TInf. ^{IV}	TTrans. ^V <i>Mode Résultats</i>	Réfs. ^{VI}
Egypte	AV Ar-248	3,0 à 3,5	26 à 28°C	14	25 (20) / DI ₅₀ : 4,0	ND	[1]
		3,9 à 4,9			45 (38)		
		5,1 à 6,1 DL ₅₀			100 (48)		
		8,1 DL ₅₀	13 à 23°C	15-16		AI - 0 (4)**	
			14 à 26°C	26-29	4/4	AI - 100 (4)**	
Johannesburg F4 1-27 j	RA _M H442	3,4	25°C	18-22	40 (15) / DI ₅₀ : 3,8	ND	[2]
		4,4			80 (25)		
		5,4 à 6,4 DL ₅₀			94 (31)		
Johannesburg F5-6 F48-49 1-11 j	AV H442	5,8 à 6,3	26°C	8 à 50	98 (122)	AI – 95 (109)	[3]
		5,8 à 6,3 DL ₅₀	26°C	17-18	100 (37)	AI – 97 (36)	
			18°C	17-18	100 (30)	AI – 48 (27)	
Johannesburg F5-12	AV H442	1,9	25 - 26°C	15-18	41 (29) / DI ₅₀ : 2,1	ND	[4]
		2,7 à 6,3 DL ₅₀			95 (86)		
Pakistan SL	E101	7,4 DLSNN ₅₀	26°C	12-14	56 (39) IFI	ND	[5]
Johannesburg F1-8 5-7 j	AV H442*	4,8 à 5,8	30°C	≈ 15	Entre 92 et 98	Mc – ≈ 100 (5 à 10 par tests)	[6]
		DCP ₅₀	26°C	≈ 15	quelque soit la		
			18°C	≈ 20	température		
			14°C	≈ 60			
Le taux de transmission est suivi au cours du temps en fonction de la température (voir le texte pour plus de détails)							

^I Origine de la souche, génération (sauvage : adultes capturés sur le terrain ; SL : souche de laboratoire, temps de colonisation), et âge des individus.

^{II} Mode d'exposition des femelles, RA_M : repas artificiel sur membrane ; AV : animal virémique (poulet pour [3-4, 6] et souris pour [1]), et souche virale utilisée, à savoir :

Ar-248 : souche isolée sur *Culex* en Égypte en 1952, après 3 passages sur souris et maintenue avec des cycles de transmission souris-moustiques ;

H442 : souche isolée sur homme en Afrique du Sud en 1959, après 1 à 4 passages sur souris ; H442* : même souche après 5 passages sur souris et 4 sur Vero ;

E101 : souche isolée sur homme en Égypte en 1951, après 16 passages sur souris.

^{III} Log du titre utilisé exprimé par ml (DL₅₀ : dose létale pour 50 % des souris adultes (DLSNN₅₀ : nouveau-nées) inoculées par voie intracérébrale ; DCP₅₀ : dose entraînant la lyse de 50 % du tapis cellulaire Vero).

^{IV} Les taux sont exprimés en pourcentage (moustiques testés) ou en nombre de moustiques positifs/testés si le nombre testé est inférieur à 10. ND : non déterminé.

TInf., taux d'infection (nombre de femelles infectées/nombre de femelles exposées). La positivité est déterminée par isolement viral, ou immunofluorescence sur abdomen (IFI) pour [5]. Si les données sont suffisantes, la DI₅₀ (dose infectante pour 50 % des femelles exposées) est précisée.

^V Taux de transmission et méthode d'estimation (AI : piqûre sur animal naïf (souris pour [1, 3], poulet pour [2-3]) ; Mc : méthode capillaire) ;

TTrans., taux de transmission (nombre de femelles transmettant/nombre de femelles exposées) ;

TTrans.**, pourcentage des souris exposées qui s'infectent (nombre de moustiques exposés testés), avec 1 à 2 souris pour [1].

^{VI} Les références sont : [1] (Hurlbut 1956), [2] (Jupp et McIntosh 1970b), [3] (Jupp 1974), [4] (Jupp 1976), [5] (Akhter *et al.* 1982) et [6] (Cornel *et al.* 1993).

Annexe 2d : infections expérimentales et compétence vectorielle de *Culex tarsalis* Coquillett pour le virus *West Nile*

Esèce ^I Origine Génération Âge	Virus ^{II} Mode Souche	Titre ^{III} Log/ml	Incubation Température Durée (jours)		TInf. ^{IV}	TTrans. ^V Mode Résultats	Réfs. ^{VI}
Yolo CA F1	RA _{GP} 35211	4,9	28°C	14	36 (11)	Mc – 82 (11)	[1]
		7,1			1/1	Mc – 1/1	
Kern CA F1		4,9	28°C	14	7 (45)	Mc – 0 (45)	
		7,1			74 (35)	Mc – 60 (35)	
Riverside CA F1	RA _{CI} 35211	4,9	28°C	14	0 (10)	Mc – 0 (10)	[2]
		7,1 PFU			85 (55)	Mc – 60 (55)	
Coachella CA F1		5,4	26°C	14	90 (21)	Mc – 52 (21)	
		5,9	26°C	14	94 (16)	Mc – 25 (16)	
Kern CA F1	RA _{GP} 35211	5,4	26°C	14	94 (17)	Mc – 65 (17)	[3]
		6,0	26°C	14	20 (40)	Mc – 15 (40)	
		7,3 PFU			100 (40)	Mc – 73 (40)	
Coachella CA	RA _{CI} 35211	2,0 à 4,0	26°C	14	3 (60) / DI ₅₀ : 5,6	ND	[2]
		4,0 à 6,0			30 (60)		
		6,0 à 7,0			70 (30)		
Los Angeles	RA _{GP} 35211	2,0 à 4,0	26°C	14	3 (60) / DI ₅₀ < 7,0	ND	[3]
		4,0 à 6,0			25 (60)		
		6,0 à 7,0			40 (30)		
Kern CA F1	RA _{GP} 35211	2,0 à 4,0	26°C	14	5 (60) / DI ₅₀ : 5,3	ND	[3]
		4,0 à 6,0			40 (60)		
		6,0 à 7,0 PFU			80 (60)		
SL	RA _{GP} 35211	6,0 PFU	28°C	14	45 (40) IFI	Mc – 3 (40)	[3]

^I Origine de la souche (CA : Californie), génération (SL : souche de laboratoire, temps de colonisation), et âge des individus.

^{II} Mode d'exposition des femelles, RA : repas artificiel (RA_{CI} : coton imbibé, RA_{GP} : goutte pendante, RA_{AV} : repas sur poulet avec une virémie artificielle) ; AV : passereau virémique et souche virale utilisée, à savoir : 35211 : souche 35211 AAF 9/23/99 isolée sur flamand à New York en 1999 après 2 passages sur cellules Vero.

^{III} Log du titre utilisé exprimé par ml (PFU : *plaque-forming units*, nombre de plages de lyse sur cultures Vero).

^{IV} Les taux sont exprimés en pourcentage (moustiques testés) ou en nombre de moustiques positifs/testés si le nombre testé est inférieur à 10. ND : non déterminé.

TInf., taux d'infection (nombre de femelles infectées/nombre de femelles exposées). La positivité est déterminée par isolement viral, ou immunofluorescence sur abdomen (IFI) pour [3]. Si les données sont suffisantes, la DI₅₀ (dose infectante pour 50 % des femelles exposées) est précisée.

^V Taux de transmission et méthode d'estimation (Mc : méthode capillaire), avec TTrans., taux de transmission (nombre de femelles transmettant/nombre de femelles exposées).

^{VI} Les références sont : [1] (Goddard *et al.* 2002), [2] (Reisen *et al.* 2005) et [3] (Hanley *et al.* 2005).

Annexe 2e : infections expérimentales et compétence vectorielle de différents *Culex* pour le virus *West Nile*

Espèce ^I Origine Génération Âge	Virus ^{II} Mode Souche	Titre ^{III} Log/ml	Incubation Température Durée (jours)	TInf. ^{IV}	TTrans. ^V Mode Résultats	Réfs. ^{VI}
<i>Culex antennatus</i> (Becker)						
Egypte	AV	5,3 à 6,3 DL ₅₀	28 à 30°C	6 à 19	ND	AI - 2/6 [1]
Egypte	AV	3,1 à 3,9	26 à 28°C	14	45 (11) / DI ₅₀ : 3,9	ND [2]
	Ar-248	4,0 à 6,1 DL ₅₀			100 (79)	
<i>Culex theileri</i> Theobald						
Johannesburg F1 1-7 j	AV H442	5,2 à 5,5 DL ₅₀	25°C	20-26	100 (24)	AI - transmission à J20 (6) [3]
Transvaal F5-7 1-19 j	RA _M H442	3,2 4,2 5,2 à 6,2 7,1 DL ₅₀	24 à 26°C	21-22	14 (21) / DI ₅₀ : 4,1 52 (25) 96 (50)	AI - 0 (18) [4]
			24 à 26°C	18	100 (34)	AI - 23 (32)
Johannesburg Sauvage	AV H442	4,1 6,2 DL ₅₀	24 à 26°C	14	100 (27) / DI ₅₀ < 4,1 100 (18)	ND [5]
<i>Culex tritaeniorhynchus</i> Giles						
Pakistan SL > 11 ans	RA _M E101	8,5 DLSNN ₅₀	28°C	12	DI ₅₀ : 4,6 DLSNN ₅₀	ND [6]
			28°C	6 7-8 10-16	ND	AI - 0 (20) AI - 33 (27) AI - 98 (52)
			28°C	12-14	DI ₅₀ : 5,0 DLSNN ₅₀	ND [7]
	AV I-746	5,1 DLSNN ₅₀	28°C	12-14	100 (100) IFI	ND
<i>Culex fuscocephala</i> Theobald						
Pakistan F1	RA _M E101	7,1 DLSNN ₅₀	28°C	12	95 (19) / IFI DI ₅₀ : 5,7 DLSNN ₅₀	ND [7]
<i>Culex pseudovishnui</i> Colless						
Pakistan F1	RA _M E101	6,8 DLSNN ₅₀	28°C	12	73 (15) / IFI DI ₅₀ : 6,5 DLSNN ₅₀	ND [7]
<i>Culex neavei</i> Theobald						
Johannesburg F1 6-25 j	AV H442	5,7 DL ₅₀	25 - 26°C	21	97 (32)	AI - 100 (29) [8]
			25 - 26°C	12-28	DI ₅₀ : 4,5 DL ₅₀	
<i>Culex nigripalpus</i> Theobald						
Floride F0-1	AV 397-99	5,7 6,8 PFU	26°C	12-14	78 (132) 84 (127) / DI ₅₀ : 5,4	AI - 7 (132)* AI - 10 (127)* [9]
<i>Culex restuans</i> Theobald						
Maryland F0	AV 397-99	6,6 PFU	26°C	12-14	100 (11)	AI - 100 (11)* [9]
Staten Island F0 / 7 j	RA _{CI} 3356	7,7 PFU	27°C	14	11 (402)	Mc - 5 (402) [10]
<i>Culex salinarius</i> Coquillett						
Texas SL > F30	AV 397-99	6,6 PFU	26°C	12-14	95 (20)	AI - 34 (20)* [9]
<i>Culex stigmatosoma</i> Dyar						
Californie F0	RA _{GP} 35211	4,9 7,1	28°C	14	69 (29) 77 (48)	Mc - 34 (29) Mc - 19 (48) [11]
F1	RA _{CI} 35211	2,0 à 4,0 4,0 à 6,0 6,0 à 7,0 PFU	26°C	14	3 (60) / DI ₅₀ : 5,4 37 (60) 90 (30)	ND [12]
<i>Culex erythrorhox</i> Dyar						
Californie F0	RA _{GP} 35211	4,9 7,1 PFU	28°C	14	36 (11) 65 (20)	Mc - 82 (11) Mc - 23 (30) [11]

Annexe 2e : infections expérimentales et compétence vectorielle de différents *Culex* pour le virus *West Nile*

^I La capacité à transmettre le virus *West Nile* par piqure après exposition orale a été démontrée pour les espèces dont le nom est en gras. Origine de la souche (CA : Californie), génération (sauvage : adultes capturés sur le terrain ; SL : souche de laboratoire, temps de colonisation), et âge des individus.

^{II} Mode d'exposition des femelles, RA : repas artificiel (RA_{CI} : coton imbibé, RA_M : sur membrane, RA_{GP} : goutte pendante ; RA_{AV} : repas sur poulet avec une virémie artificielle) ; AV : animal virémique (souris pour [1-2, 6] et poulet pour les autres), et souche virale utilisée, à savoir :

Ar-248 : souche isolée sur *Culex* en Égypte en 1952, après 3 passages sur souris et maintenue avec des cycles de transmission souris-moustiques ;

H442 : souche isolée sur homme en Afrique du Sud en 1959, après 1 à 4 passages sur souris ;

E101 : souche isolée sur homme en Égypte en 1951, après une quinzaine de passages sur souris nouveau-nées ;

I-746 : souche isolée au Pakistan, après 2 passages sur poulet et 1 sur souris ;

397-99 : souche isolée sur corneille dans le Bronx en 1999 après 1 passage sur cellules Vero ;

3356 : souche isolée sur corneille à Staten Island (New York) en 2000 après 2 passages sur cellules Vero ;

35211 : souche 35211 AAF 9/23/99 isolée sur flamand à New York en 1999 après 2 passages sur cellules Vero.

^{III} Log du titre utilisé exprimé par ml, sauf pour [1] où le volume n'est pas précisé (DL₅₀ : dose létale pour 50 % des souris adultes (DLSNN₅₀ : nouveau-nées) inoculées par voie intracérébrale, PFU : *plaque-forming units*, nombre de plages de lyse sur cultures Vero).

^{IV} Les taux sont exprimés en pourcentage (moustiques testés) ou en nombre de moustiques positifs/testés si le nombre testé est inférieur à 10. ND : non déterminé.

TInf., taux d'infection (nombre de femelles infectées/nombre de femelles exposées). La positivité est déterminée par isolement viral, ou immunofluorescence sur abdomen (IFI) pour [6,7]. Si les données sont suffisantes, la DI₅₀ (dose infectante pour 50 % des femelles exposées) est précisée.

^V Taux de transmission et méthode d'estimation (AI : piqure sur animal naïf (poulet pour [3-4,8], souris pour [1]) et Mc : méthode capillaire),

TTrans., taux de transmission (nombre de femelles transmettant/nombre de femelles exposées),

TTrans.^{*}, taux de transmission estimé (taux d'infection disséminé (femelles avec virus dans une patte ou aile/femelles exposées) multiplié par la proportion de femelles avec une infection disséminée qui transmettent.

^{VI} Les références sont : [1] (Taylor et Hurlbut 1953), [2] (Hurlbut 1956), [3] (Jupp *et al.* 1966b), [4] (Jupp *et al.* 1972), [5] (Jupp 1976), [6] (Hayes *et al.* 1980), [7] (Akhter *et al.* 1982), [8] (Jupp *et al.* 1986), [9] (Sardelis *et al.* 2001), [10] (Ebel *et al.* 2005), [11] (Goddard *et al.* 2002), [12] (Reisen *et al.* 2005).

Annexe 2f : infections expérimentales et compétence vectorielle d'*Aedes albopictus* (Skuse) pour le virus *West Nile*

Esèce ^I Origine Génération Âge	Virus ^{II} Mode Souche	Titre ^{III} Log/ml	Incubation Température Durée (jours)	TInf. ^{IV}	TTrans. ^V Mode Résultats	Réfs. ^{VI}
	AV		32°C	10	ND	AI - transmission à J10 (43) [1]
Inde SL > 4 ans < 14 jours	AV G2266	≥ 6,5 DL ₅₀	26 à 28°C	10 à 42	ND	AI – plusieurs cycles animal moustiques [2]
Pakistan SL	RA _M E101	7,0 DLSNN ₅₀	28°C	12-14	26 (19) IFI	ND [3]
Hawaii SL > F30	AV 397-99	7,2 PFU	26°C	14	90 (61)	AI – 73 (61)* [4]
Maryland F0	AV 397-99*	5,7 6,8	26°C	13	27 (45) 55 (45)	AI – 39 (45)* [5]
Maryland F0		5,7 6,8	26°C	13	42 (45) 67 (45)	AI – 43 (45)*
Texas SL > F30		5,7 6,8	26°C	13	53 (45) 96 (45)	AI – 87 (45)*
Hawaii SL > F30 4-5 j		5,7 6,8 PFU	26°C	13	60 (45) 93 (45)	AI – 85 (45)*
Iowa F10-20	AV 397-99**	2,2 à 5,0 5,4 à 5,9 6,4 à 6,8 7,3 à 8,7 PFU	27°C 27°C 27°C 27°C	14 14 14 14	3 (131) / DI ₅₀ : 6,3 40 (48) 78 (148) 94 (191)	Mc – 0 (40) ND Mc – 69 (48) Mc – 73 (95) [6]
SL	RA _{GP} 35211	6,0 PFU	28°C	14	8 (40) IFI	Mc – 0 (40) [7]

^I Origine de la souche, génération (SL : souche de laboratoire, temps de colonisation), et âge des individus.

^{II} Mode d'exposition des femelles, RA : repas artificiel (RA_M : sur membrane, RA_{GP} : goutte pendante) ; AV : animal virémique (souris pour [1], poulet pour [2, 4-6]), et souche virale utilisée, à savoir :

G2266 : souche isolée d'un lot de *Culex vishnui* en Inde, après 3 passages sur souris ;

E101 : souche isolée sur homme en Égypte en 1951, après une quinzaine de passages sur souris nouveau-nées ;

397-99 : souche isolée sur corneille dans le Bronx en 1999 ; 397-99* : même souche après 1 passage sur cellules Vero ; 397-99** : même souche après 6 passages sur cellules Vero et un sur *Ae. albopictus* ;

35211 : souche 35211 AAF 9/23/99 isolée sur flamand à New York en 1999 après 2 passages sur cellules Vero.

^{III} Log du titre utilisé exprimé par ml (DL₅₀ : dose létale pour 50 % des souris adultes (DLSNN₅₀ : nouveau-nées) inoculées par voie intracérébrale ; PFU : *plaque-forming units*, nombre de plages de lyse sur cultures Vero).

^{IV} Les taux sont exprimés en pourcentage (moustiques testés) ou en nombre de moustiques positifs/testés si le nombre testé est inférieur à 10. ND : non déterminé.

TInf., taux d'infection (nombre de femelles infectées/nombre de femelles exposées). La positivité est déterminée par isolement viral, ou immunofluorescence sur abdomen (IFI) pour [3,7]. Si les données sont suffisantes, la DI₅₀ (dose infectante pour 50 % des femelles exposées) est précisée.

^V Taux de transmission et méthode d'estimation (AI : piqure sur animal naïf (souris pour [1], poulet pour [2,4-5]) et Mc : méthode capillaire) ;

TTrans., taux de transmission (nombre de femelles transmettant / nombre de femelles exposées) ;

TTrans.* , taux de transmission estimé (taux d'infection disséminé (femelles avec virus dans une patte ou aile/femelles exposées) multiplié par la proportion de femelles avec une infection disséminée qui transmettent.

^{VI} Les références sont : [1] (Philip et Smadel 1943), [2] (Varma 1960), [4] (Turell *et al.* 2001), [5] (Sardelis *et al.* 2002), [6] (Tiawsirirup *et al.* 2004, 2005a) et [7] (Hanley *et al.* 2005).

Annexe 2g : infections expérimentales et compétence vectorielle d'*Aedes aegypti* (Linnaeus) pour le virus *West Nile*

Espèce ^I Origine Génération Âge	Virus ^{II} Mode Souche	Titre ^{III} Log/ml	Incubation Température Durée (jours)	TInf. ^{IV}	TTrans. ^V Mode Résultats	Réfs. ^{VI}
10-14 j	AV		30°C 6-18	ND	AI - transmission 10 fois sur 16	[1]
SL > 3 ans 5 - 10 jours	AV E101		26 à 28°C	ND	AI - transmission possible	[2]
SL	AV 28 B		25°C 10-15 28°C 7-10	ND	AI - transmission possible	[3]
	RA _{CI}		10-12	ND	AI – 40 (240)	[4]
Rockefeller > F30	AV 397-99	7,2	26°C 14	5 (19)	ND	[5]
SL	RA _{GP} 35211	6,0 PFU	28°C 14	5 (40) IFI	Mc – 0 (40)	[6]

^I Origine de la souche, génération (SL : souche de laboratoire, temps de colonisation), et âge des individus.

^{II} Mode d'exposition des femelles, RA : repas artificiel (RA_{CI} : coton imbibé, RA_{GP} : goutte pendante) et AV : animal virémique (souris pour [1,3], hamster pour [2], poulet pour [5]), et souche virale utilisée, à savoir :

E101 : souche isolée sur homme en Égypte en 1951 ;

28 B : souche du Dr. Haddow, sans autre précision ;

397-99 : souche isolée sur corneille dans le Bronx en 1999 ;

35211 : souche 35211 AAF 9/23/99 isolée sur flamand à New York en 1999 après 2 passages sur cellules Vero.

^{III} Log du titre utilisé exprimé par ml (PFU : *plaque-forming units*, nombre de plages de lyse sur cultures Vero).

^{IV} Les taux sont exprimés en pourcentage (moustiques testés) ou en nombre de moustiques positifs/testés si le nombre testé est inférieur à 10. ND : non déterminé.

TInf., taux d'infection (nombre de femelles infectées/nombre de femelles exposées). La positivité est déterminée par isolement viral, ou immunofluorescence sur abdomen (IFI) pour [6].

^V Taux de transmission et méthode d'estimation (AI : piqure sur animal naïf (souris pour [1,3-4], poulet pour [5]) et Mc : méthode capillaire) ;

TTrans., taux de transmission (nombre de femelles transmettant/nombre de femelles exposées) ;

TTrans.^{*}, taux de transmission estimé (taux d'infection disséminé (femelles avec virus dans une patte ou aile/femelles exposées) multiplié par la proportion de femelles avec une infection disséminée qui transmettent.

^{VI} Les références sont : [1] (Goldwasser et Davies 1953), [2] (Davies et Yoshpe-Purer 1954), [3] (Vermeil *et al.* 1960), [4] (Nir 1963), [5] (Turell *et al.* 2001) et [6] (Hanley *et al.* 2005).

Annexe 2h : infections expérimentales et compétence vectorielle de différents *Aedes* pour le virus *West Nile*

Espèce ^I Origine Génération Âge	Virus ^{II} Mode Souche	Titre ^{III} Log/ml	Incubation Température Durée (jours)	TInf. ^{IV}	TTrans. ^V Mode Résultats	Réfs. ^{VI}
<i>Aedes geniculatus</i> (Oliver)						
Alsace	AV 28 B	ND	28°C	6-9	ND	AI - transmission possible [1]
<i>Aedes punctor</i> (Kirby)						
Alsace	AV 28 B	ND	25°C	12-14	ND	AI - transmission possible [1]
<i>Aedes caspius</i> Pallas						
Pakistan F1	RA _M E101	7,2 DLSNN ₅₀	28°C	12-14	67 (12) / IFI DI ₅₀ : 7,0 DLSNN ₅₀	ND [2]
<i>Aedes indicus</i> (Theobald)						
Pakistan SL	RA _M E101	6,1 DLSNN ₅₀	28°C	12-14	0 (20) IFI	ND [2]
<i>Aedes lineatopennis</i> (Ludlow)						
Pakistan SL	RA _M E101	6,1 DLSNN ₅₀	28°C	12-14	10 (20) IFI	ND [2]
<i>Aedes vexans</i> (Meigen)						
New York F0	AV 397-99	5,2 7,2	26°C	14	0/3 46 (13)	AI - 8 (13)* [3]
Californie F0	RA _{GP} 35211	7,1	28°C	14	32 (22)	Mc - 22 (23) [4]
Maryland F0	AV 397-99	7,1 PFU	26°C	7-14	44 (73)	AI - 11 (18) [5]
<i>Aedes taeniorhynchus</i> (Wiedemann)						
New York F0	AV 397-99	5,2 7,2	26°C	14	0/2 0/2	ND [3]
New York F1 Floride > F30	AV 397-99	5,2 7,2 PFU	26°C	14	2 (45) 12 (75)	AI - 2 (75)* [6]
<i>Aedes sollicitans</i> (Walker)						
New York F0	AV 397-99	7,2 PFU	26°C	14	1/1	ND [3]
Virginie F1	AV 397-99	5,2 7,2 PFU	26°C	14	1/9 70 (50)	AI - 11 (50)* [6]
<i>Aedes atropalpus</i> (Coquillett)						
New Jersey < F10	AV 397-99	7,2 PFU	26°C	14	92 (12)	AI - 92 (12)* [6]
<i>Aedes japonicus</i> (Theobald)						
New Jersey F1	AV 397-99	7,2	26°C	14	69 (36)	AI - 64 (36)* [6]
Maryland F0	AV 397-99	6,0 7,0 PFU	26°C	12-13	57 (92) 80 (83)	AI - 54 (92)* AI - 75 (83)* [7]
<i>Aedes dorsalis</i> (Meigen)						
Californie F0	RA _{GP} 35211	4,9 7,1 PFU	28°C	14	4 (25) 41 (29)	Mc - 4 (25) Mc - 34 (29) [8]
<i>Aedes melanimon</i> Dyar						
Californie F0	RA _{GP} 35211	4,9 7,1 PFU	28°C	14	3 (60) 48 (60)	Mc - 2 (60) Mc - 20 (60) [8]

Annexe 2h : infections expérimentales et compétence vectorielle de différents *Aedes* pour le virus *West Nile*

Espèce	Virus	Titre	Incubation	TInf.	TTrans.	Réfs.
Origine	Mode	Log/ml	Température		Mode	
Génération	Souche		Durée (jours)		Résultats	
Âge						
<i>Aedes melanimon</i> Dyar						
Californie	RA _{GP}	4,9	28°C	14	0 (30)	[8]
F0	35211	7,1 PFU			14 (50)	
<i>Aedes trivittatus</i> (Coquillett)						
Iowa	AV	3,1 à 5,0	27°C	14	13 (76) / DI ₅₀ : 5,8	[9]
F1	397-99**	5,4 à 5,9	27°C	14	56 (68)	
		6,4 à 6,8	27°C	14	91 (101)	
		7,3 à 8,7 PFU	27°C	14	96 (72)	
<i>Aedes canadensis</i> (Theobald)						
Virginie	AV	6,3	26°C	7-14	13 (24)	[5]
F0	397-99	7,1 PFU			4/8	
<i>Aedes cantator</i> (Coquillett)						
Virginie	AV	6,3 PFU	26°C	7-14	22 (51)	[5]
F0	397-99					
<i>Aedes triseriatus</i> (Say)						
Virginie	AV	7,1 PFU	26°C	7-14	31 (29)	[5]
F0	397-99					
Iowa	AV	4,1 à 5,7	27°C	14	14 (320) / DI ₅₀ : 6,5	[10]
SL	IA02	6,2 à 7,1			52 (326)	
		8,2 à 8,6 PFU			98 (48)	
		8,6	27°C	14	100 (16)	
				18	88 (16)	

^I La capacité à transmettre le virus *West Nile* par piqûre après exposition orale a été démontrée pour les espèces dont le nom est en gras. Origine de la souche, génération (sauvage : adultes capturés sur le terrain ; SL : souche de laboratoire, temps de colonisation), et âge des individus.

^{II} Mode d'exposition des femelles, RA : repas artificiel (RA_M : sur membrane, RA_{GP} : goutte pendante) ; AV : poulet virémique et souche virale utilisée, à savoir :

28 B : souche du Dr. Haddow, sans autre précision ;

E101 : souche isolée sur homme en Égypte en 1951, après une 15^e de passages sur souris nouveau-nées ;

397-99 : souche isolée sur corneille dans le Bronx en 1999 après 1 passage sur cellules Vero ;

35211 : souche 35211 AAF 9/23/99 isolée sur flamand à New York en 1999 après 2 passages sur cellules Vero ;

IA02 : isolée sur corneille en 2002, après 1 passage sur poussin et 5 passages sur cellules Vero.

^{III} Log du titre utilisé exprimé par ml (DLSN₅₀ : dose létale pour 50 % des souris nouveau-nées inoculées par voie intra cérébrale, PFU : *plaque-forming units*, nombre de plages de lyse sur cultures Vero).

^{IV} Les taux sont exprimés en pourcentage (moustiques testés) ou en nombre de moustiques positifs / testés si le nombre testé est inférieur à 10. ND : non déterminé.

TInf., taux d'infection (nombre de femelles infectées/nombre de femelles exposées). La positivité est déterminée par isolement viral, ou immunofluorescence sur abdomen (IFI) pour [2]. Si les données sont suffisantes, la DI₅₀ (dose infectante pour 50 % des femelles exposées) est précisée.

^V Taux de transmission et méthode d'estimation (AI : piqûre sur animal naïf (poulet) et Mc : méthode capillaire) ;

TTrans., taux de transmission (nombre de femelles transmettant/nombre de femelles exposées) ;

TTrans.^{*}, taux de transmission estimé (taux d'infection disséminé (femelles avec virus dans une patte ou aile/femelles exposées) multiplié par la proportion de femelles avec une infection disséminée qui transmettent.

^{VI} Les références sont : [1] (Vermeil *et al.* 1960), [2] (Akhter *et al.* 1982), [3] (Turell *et al.* 2000), [4] (Goddard *et al.* 2002), [5] (Turell *et al.* 2005), [6] (Turell *et al.* 2001), [7] (Sardelis et Turell 2001), [8] (Goddard *et al.* 2002), [9] (Tiawsirisup *et al.* 2004, 2005a) et [10] (Erickson *et al.* 2006).

Annexe 2i : infections expérimentales de différents *Anopheles*, *Culiseta*, *Coquillettidia* et *Psorophora* avec le virus *West Nile*

Espèce ^I	Virus ^{II}	Titre ^{III}	Incubation	TInf. ^{IV}	TTrans. ^V	Réfs. ^{VI}
Origine Génération Âge	Mode Souche	Log/ml	Température Durée (jours)		Mode Résultats	
<i>Anopheles plumbeus</i> Stephens						
Alsace	AV 28 B	ND	25°C	6-11	ND	AI - transmission possible [1]
<i>Coquillettidia perturbans</i> (Walker)						
Maryland F0	AV 397-99	6,6 PFU	26°C	7-14	11 (18)	ND [2]
<i>Culiseta inornata</i> (Williston)						
Californie F1	RA _{GP} 35211	7,1 PFU	28°C	14	75 (28)	Mc – 21 (28) [3]
<i>Culiseta melanura</i> (Coquillett)						
Connecticut SL	AV 397-99	6,3 7,1	26°C	14	0/2 26 (19)	AI – 0/5 [4]
<i>Psorophora ferox</i> (Von Humboldt)						
Virginie sauvage	AV 397-99	6,3 7,1	26°C	14	29 (17) 33 (24)	AI – 0/9 AI – 0 (15) [4]

^I La capacité à transmettre le virus *West Nile* par piqûre après exposition orale a été démontrée pour les espèces dont le nom est en gras. Origine de la souche, génération (sauvage : adultes capturés sur le terrain ; SL : souche de laboratoire, temps de colonisation), et âge des individus.

^{II} Mode d'exposition des femelles, RA : repas artificiel (RA_{GP} : goutte pendante) ; AV : poulet virémique et souche virale utilisée, à savoir :

28 B : souche du Dr. Haddow, sans autre précision ;

397-99 : souche isolée sur corneille dans le Bronx en 1999 après 1 passage sur cellules Vero ;

35211 : souche 35211 AAF 9/23/99 isolée sur flamand à New York en 1999 après 2 passages sur cellules Vero.

^{III} Log du titre utilisé exprimé par ml (PFU : *plaque-forming units*, nombre de plages de lyse sur cultures Vero).

^{IV} Les taux sont exprimés en pourcentage (moustiques testés) ou en nombre de moustiques positifs/testés si le nombre testé est inférieur à 10. ND : non déterminé.

TInf., taux d'infection (nombre de femelles infectées (isolement viral)/nombre de femelles exposées). Si les données sont suffisantes, la DI₅₀ (dose infectante pour 50 % des femelles exposées) est précisée.

^V Taux de transmission et méthode d'estimation (AI : piqûre sur animal naïf (poulet) et Mc : méthode capillaire), TTrans., taux de transmission (nombre de femelles transmettant/nombre de femelles exposées).

^{VI} Les références sont : [1] (Vermeil *et al.* 1960), [2] (Sardelis *et al.* 2001), [3] (Goddard *et al.* 2002) et [4] (Turell *et al.* 2005).

Annexe 3 : solutions des équations de dynamique de population

Pour obtenir les solutions du système décrivant la dynamique de population d'une espèce de *Culex* en fonction du temps (chapitre 6), on utilise la transformation de Laplace,

$\bar{g}(s) = \int_0^{\infty} g(t)e^{-st} dt$. Cette opération transforme ce système en :

$$\begin{cases} \bar{M}_1(s) = \frac{M_1(0)}{s + \alpha_1} + \frac{\bar{f}(s)}{s + \alpha_1}, \text{ avec } \bar{f}(s) = \frac{M_0}{\tau^2} \frac{1}{(s + 1/\tau)^2} \\ \bar{M}_n(s) = \frac{M_n(0)}{s + \alpha_n} + \frac{\alpha_{n-1} r_{n-1} e^{-sT_{n-1}}}{s + \alpha_n} \bar{M}_{n-1}(s); n > 1 \end{cases} \quad (35)$$

Par récurrence pour $n > 1$,

$$\begin{aligned} \bar{M}_n(s) &= \frac{M_n(0)}{s + \alpha_n} + \frac{\alpha_{n-1} r_{n-1} e^{-sT_{n-1}}}{(s + \alpha_n)(s + \alpha_{n-1})} \bar{M}_{n-1}(0) \\ &\quad + \dots + \frac{(\alpha_{n-1} r_{n-1} e^{-sT_{n-1}}) \dots (\alpha_1 r_1 e^{-sT_1})}{(s + \alpha_n) \dots (s + \alpha_1)} [M_1(0) + \bar{f}(s)] \end{aligned} \quad (36)$$

En inversant les transformations de Laplace dans les équations (35) et (36), on trouve :

$$M_1(t) = e^{-\alpha_1 t} M_1(0) + F(t | \alpha_1, 1/\tau) M_0, \quad (37)$$

et pour $n > 1$,

$$\begin{aligned} M_n(t) &= e^{-\alpha_n t} M_n(0) + \sum_{m=0}^{n-1} \left[\prod_{i=1}^m r_{n-i} \right] G\left(n, t - \sum_{i=1}^m T_{n-i} | n-m\right) M_{n-m}(0) \\ &\quad + \left[\prod_{i=1}^{n-1} r_i \right] \sum_{i=1}^n A(n, i | 1) F\left(t - \sum_{m=1}^{n-1} T_m | \alpha_i, 1/\tau\right) M_0, \end{aligned} \quad (38)$$

où,

$$G(n, t | m) = \begin{cases} \frac{(\alpha t)^{n-m}}{(n-m)!} e^{-\alpha t} & ; \alpha_i = \alpha \\ \sum_{i=m}^n A(n, i | m) e^{-\alpha_i t} & ; \alpha_i \text{ tous différents} \end{cases} \quad (39)$$

avec,

$$A(n, i | m) = \begin{cases} 1 & ; n = m \\ \left[\prod_{k=m}^{n-1} \alpha_k \right] \left[\prod_{j=m, j \neq i}^n \frac{1}{(\alpha_j - \alpha_i)} \right] & ; n > m \end{cases} \quad (40)$$

et

$$F(t | a, b) = \begin{cases} \frac{(at)^2}{2} e^{-at} & ; a = b \\ \frac{b^2 \{ e^{-at} + [(a-b)t - 1] e^{-bt} \}}{(a-b)^2} & ; a \neq b \end{cases} \quad (41)$$