

## II. LA POPULATION D'ETUDE

### 2.1. Choix de la population d'étude

Du fait de leur importance dans le cycle épidémiologique des virus influenza A, notre étude s'est focalisée uniquement sur les canards du genre *Anas*. Nous avons choisi de tous les regrouper pour les analyses, car la prévalence de l'infection par les VIA n'était pas significativement différente entre les différentes espèces en Camargue (Lebarbenchon *et al.*, 2007).

### 2.2. Les espèces du genre *Anas* présentes en Camargue

Canard chipeau (*Anas strepera*) (cf figure 18)

**Figure 18 : photographie d'un mâle en plumage nuptial (premier plan) et une femelle (arrière plan) de canard chipeau (*Anas strepera*)** (source: Tondini, 2003)



Il mesure 46 à 56 cm de longueur (Svensson *et al.*, 1999). Le canard chipeau se nourrit essentiellement de végétaux aquatiques, racines et feuilles, dans les eaux peu profondes, douces ou saumâtres (Schricke *et al.*, 1992). Il niche principalement dans les zones tempérées de l'Hémisphère nord dans les zones paléarctique et néarctique (Schricke *et al.*, 1992 ; Svensson *et al.*, 1999). Les individus hivernant en Camargue proviennent des pays d'Europe centrale, ainsi que des pays baltes et de Suède méridionale. Ils arrivent en septembre et en octobre en Camargue, mais le nombre maximum d'individus n'est atteint qu'en novembre ou en décembre selon les années (Isenmann, 1993).

Sarcelle d'hiver (*Anas crecca*) (cf figure 19)

**Figure 19 : photographie d'une femelle (à gauche) et d'un mâle en plumage nuptial (à droite) de sarcelle d'hiver (*Anas crecca*) (source: Laverdet, 2005)**



C'est la plus petite des espèces étudiées (34 à 38 cm de longueur) (Svensson *et al.*, 1999). La sarcelle d'hiver se nourrit principalement de graines. Elle sélectionne des eaux ouvertes et peu profondes sur des milieux côtiers, saumâtres ou doux (Schricke *et al.*, 1992). L'aire de nidification se situe dans l'Hémisphère nord, en Eurasie entre les 70<sup>ème</sup> et 45<sup>ème</sup> parallèles. L'aire d'hivernage comprend deux zones majeures au nord-ouest de l'Europe et autour de l'ensemble Mer Noire - Mer Méditerranée, et une zone de plus faible importance au Sénégal (Schricke *et al.*, 1992 ; Svensson *et al.*, 1999). Les individus hivernant en Camargue proviennent d'une zone comprise entre les pays baltes, l'Ukraine et la Sibérie occidentale mais également de Scandinavie. Certains individus ne sont que de passage en Camargue. C'est l'espèce la plus abondante en Camargue (Isenmann, 1993).

Canard colvert (*Anas platyrhynchos*) (cf figure 20)

**Figure 20 : photographie d'un mâle en plumage nuptial (premier plan) et d'une femelle (arrière plan) de canard colvert (*Anas platyrhynchos*) (source: Marques, 2009)**



Il mesure 50 à 60 cm de longueur (Svensson *et al.*, 1999). Il est omnivore et opportuniste mais se nourrit surtout de végétaux et de mollusques (Schricke *et al.*, 1992). Son aire de répartition est très large et s'étend du nord de l'Afrique jusqu'à la Scandinavie. Les individus

hivernant en Camargue proviennent des populations locales, d'Europe centrale, ainsi que du pourtour de la Baltique et de la partie occidentale de la Russie (Isenmann, 1993).

Canard pilet (*Anas acuta*) (cf figure 21)

**Figure 21 : photographie d'un mâle en plumage nuptial (à gauche) et une femelle (à droite) de canard pilet (*Anas acuta*)** (source: Dumoulin, 2008)



Il mesure 51 à 62 cm de longueur (Svensson *et al.*, 1999). Il consomme des graines, des pousses et des mollusques (Schricke *et al.*, 1992). Son aire de distribution est vaste. Il existe une population nicheuse importante en Russie et en Scandinavie, et de nombreux petits sites de reproduction disséminés à travers toute l'Europe. Les sites d'hivernage sont situés au nord-ouest de l'Europe et sur l'ensemble Mer Noire-Mer Méditerranée, en Afrique de l'Ouest (Sénégal, Niger, Mali, Tchad) et en Afrique de l'Est (Soudan, Ethiopie) (Schricke *et al.*, 1992 ; Svensson *et al.*, 1999).

Canard souchet (*Anas clypeata*) (cf figure 22)

**Figure 22 : photographie d'un mâle en plumage nuptial (à droite) et une femelle (à gauche) de canard souchet (*Anas clypeata*)** (source : Tardif, 2009)



Il mesure 44 à 52 cm de longueur (Svensson *et al.*, 1999). Le canard souchet se nourrit de planctons, graines et pousses en filtrant la surface de l'eau (Schricke *et al.*, 1992). Il niche sur un très large territoire principalement dans les régions boréales et tempérées et, de manière marginale, dans les semi-déserts. Il hiverne surtout autour du bassin méditerranéen, et en

effectifs plus faibles dans le Nord-Ouest de l'Europe et en Afrique jusqu'au sud du Sahara (Sénégal, Niger, Tchad) (Schricke *et al.*, 1992 ; Svensson *et al.*, 1999). Les hivernants observés en Camargue proviennent d'une région comprise entre l'Europe centrale, la Mer Blanche et la Sibérie occidentale. La plupart ne font que transiter par la Camargue, en route vers des quartiers d'hivers tropicaux (Isenmann, 1993).

Canard siffleur (*Anas penelope*) (cf figure 23)

**Figure 23 : photographie d'un mâle en plumage nuptial (à gauche) et d'une femelle (à droite) de canard siffleur (*Anas penelope*) (source : Deomurari, 2008)**



Il mesure 42 à 50 cm de longueur (Svensson *et al.*, 1999). Ils se nourrissent principalement de végétaux sur des grandes lagunes saumâtres ou salées (Schricke *et al.*, 1992). L'aire de reproduction se situe en Grande Bretagne, Islande, Suède, Finlande et Russie. Ils hivernent en Europe de l'Ouest et sur le pourtour méditerranéen (Schricke *et al.*, 1992 ; Svensson *et al.*, 1999). Ceux qui hivernent en Camargue proviennent de Sibérie occidentale (Isenmann, 1993).

### **III. MATERIEL ET METHODES**

#### **3.1. Les données utilisées**

##### **3.1.1. Données de dénombrements**

###### Effectifs de septembre à mars

La répartition et la densité des canards est différente le jour et la nuit. C'est pourquoi, les densités diurnes et nocturnes seront prises en compte séparément pour l'analyse des données.

Une estimation mensuelle par espèce des effectifs de canards est réalisée depuis 1965 sur chaque marais de l'ensemble de la Camargue, selon un protocole standardisé. L'avion vole à 100-120 km/h à une hauteur de 30 à 50 mètres au-dessus des marais. Si le temps le permet, le comptage est effectué en général vers le 15 de chaque mois.

Les données utilisées sont celles des quatre derniers hivers. Le vol n'a été possible en mars qu'une seule année. Pour déterminer les remises accueillant un nombre élevé de canards tout au long de l'hiver, on retient l'indice du peuplement total standardisé par la surface, correspondant à la somme des effectifs comptés de septembre à février par site divisé par sa surface. La valeur maximale de l'effectif entre septembre et février pour chaque site est également relevée. Ces deux données fournissent une indication de la répartition diurne des canards du genre *Anas* en hiver.

Cependant, la nuit, les canards se dispersent sur de plus grandes surfaces (densité plus faible). Il n'existe aucune donnée exhaustive sur leurs répartitions nocturnes. En ce qui concerne la densité nocturne, il a été décidé arbitrairement, en l'absence d'autres données, d'attribuer la même densité de canards pour chaque gagnage. Cette densité est calculée en divisant le nombre maximal de canards estimé lors des comptages diurnes, effectués sur les quatre dernières années, par la surface de gagnage utilisée.

###### Effectifs d'avril à août

De mars à août, les canards sont en période de reproduction. Ils nichent séparément les uns des autres. La densité de canards par site est donc beaucoup plus faible qu'en hiver. Les canards deviennent peu visibles et il est alors très difficile d'en estimer le nombre. Il serait de 10 000 couples actuellement (Jean-Yves Mondain-Monval, communication personnelle). A ce nombre s'ajoutent les jeunes à l'envol. Avec en moyenne 2,4 jeunes à l'envol par couple (Blondel et Isenmann, 1981), ce sont 24 000 à 34 000 individus supplémentaires en été. Les estimations du nombre de canards colverts faites par avion en août sur la Camargue de 1979 à 1994 oscillent entre 15 000 et 30 000 individus.

A cela s'ajoutent les canards colverts lâchés pour la chasse entre mars et fin août. Il est également très difficile d'estimer le nombre de lâchés, et leur taux de survie. Le nombre estimé de lâchés est d'environ 50 000 canards colverts.

Le nombre maximal de canards peut donc être évalué à 20 000 en avril-mai, et 95 000 de fin juin à août, dont 50 000 sont des canards colverts lâchés.

### **3.1.2. Les données abiotiques des zones humides en Camargue**

#### **Données de température**

La température à la surface de l'eau sur un site donné dépend de nombreux paramètres: la température du jour précédent, la température de l'air, la force du vent, l'irradiation solaire globale et l'humidité relative. Pour généraliser le modèle à d'autres mares et étangs, il faut également prendre en compte la profondeur et la surface en eau, l'exposition au vent, les caractéristiques de la végétation et les échanges énergétiques entre le sol, l'eau et l'air (Lievfield, 1994). Il est important de noter que les températures moyennes mensuelles de l'eau et de l'air sont corrélées (Marazanof, 1972 ; Grillas communication. Personnelle ; annexe 2). De plus, les différences de températures entre deux plans d'eau proches (moins de 5 km) n'excèderaient pas 5 °C au maximum (Lievfield, 1994 ; annexe 4). Ainsi, pour un mois donné, la température moyenne mensuelle de l'air peut être utilisée pour estimer la température moyenne mensuelle de l'eau et par la suite estimer la durée de persistance des virus influenza A dans l'eau. On va considérer alors pour l'étude que tous les points d'eau de Camargue ont la même température de l'eau. Les données de température utilisées sont les données mensuelles moyennes de la station météorologique du Grau du Roi de 1978 à 2007.

#### **Données de salinité**

Les données de salinité utilisées proviennent des rapports annuels de 2001 à 2008 de la Réserve de Camargue et des cartes de salinité des plans d'eau téléchargeables sur le site <http://www.reserve-camargue.org> (S.N.P.N/Réserve Nationale de Camargue), des données de la Tour du Valat, des données de la Compagnie des Salins du Midi et des salines de l'Est (CSME), compagnie gérant le salin d'Aigues-Mortes et le Salin de Giraud) (CSME, 2008 ; Sejourné, communication personnelle).

### **3.1.3. Les données de prévalence**

Pour l'établissement du modèle de prédiction d'une quantité virale maximale possible, seules les données de prévalence de l'hiver 2007-2008 seront utilisées.

De septembre 2007 à janvier 2008, l'analyse a porté sur 1123 canards du genre *Anas* tués à la chasse, provenant principalement de deux sites. La prévalence était de 14,8 % (IC 95%: 10,0-19,6 %) en septembre, et entre 3,6 et 5,9 % d'octobre à janvier (IC 95% entre 1,0-7,7 %). Pour l'établissement du modèle seront considérées les valeurs maximales de la prévalence.

## **3.2. Logiciel et méthodes**

Des cartes hydrologiques de la Camargue de décembre 2005 et de juin 2006 sont utilisées pour la construction des cartes de salinité, de répartition des canards, de la présence virale et de la quantité maximale virale possible. Toutes les cartes ont été réalisées avec le logiciel ArcView 9.3.

### 3.2.1. Présence virale dans l'eau en Camargue

D'après ce qui est décrit dans la bibliographie (cf chapitre II), on pourra retrouver du virus dans des sites submergés accueillant des canards dont la salinité est inférieure à 45 g/L et le pH compris entre 5,8 et 9,3. Nous ne pouvons pas prendre en compte le pH à cause du manque de données en Camargue.

L'augmentation de la salinité ne diminue que faiblement la durée de persistance des virus dans l'eau à 17 et 28°C. Son effet n'a pas été testé pour des températures plus basses. Pour l'étude, nous faisons l'hypothèse que la température est le facteur principal déterminant la durée de persistance des virus dans l'eau de salinité inférieure à 30 g/L à un moment donné. Nous estimerons donc la durée de persistance mensuelle des virus (DT90) dans les milieux de salinité inférieure à 30 g/L par la température moyenne mensuelle de l'air d'après les données de persistance des virus en fonction de la température établies par Brown *et al.* (2008a).

#### Répartition des canards

La répartition des canards n'est connue que de septembre à mars. Les différents sites accueillant des canards seront classés de septembre à mars selon l'indice de peuplement standardisé par la surface décrit précédemment. D'avril à août, ils auront tous, par convention, la même importance en termes d'effectifs de canards.

#### Détermination de la durée de persistance des virus par site

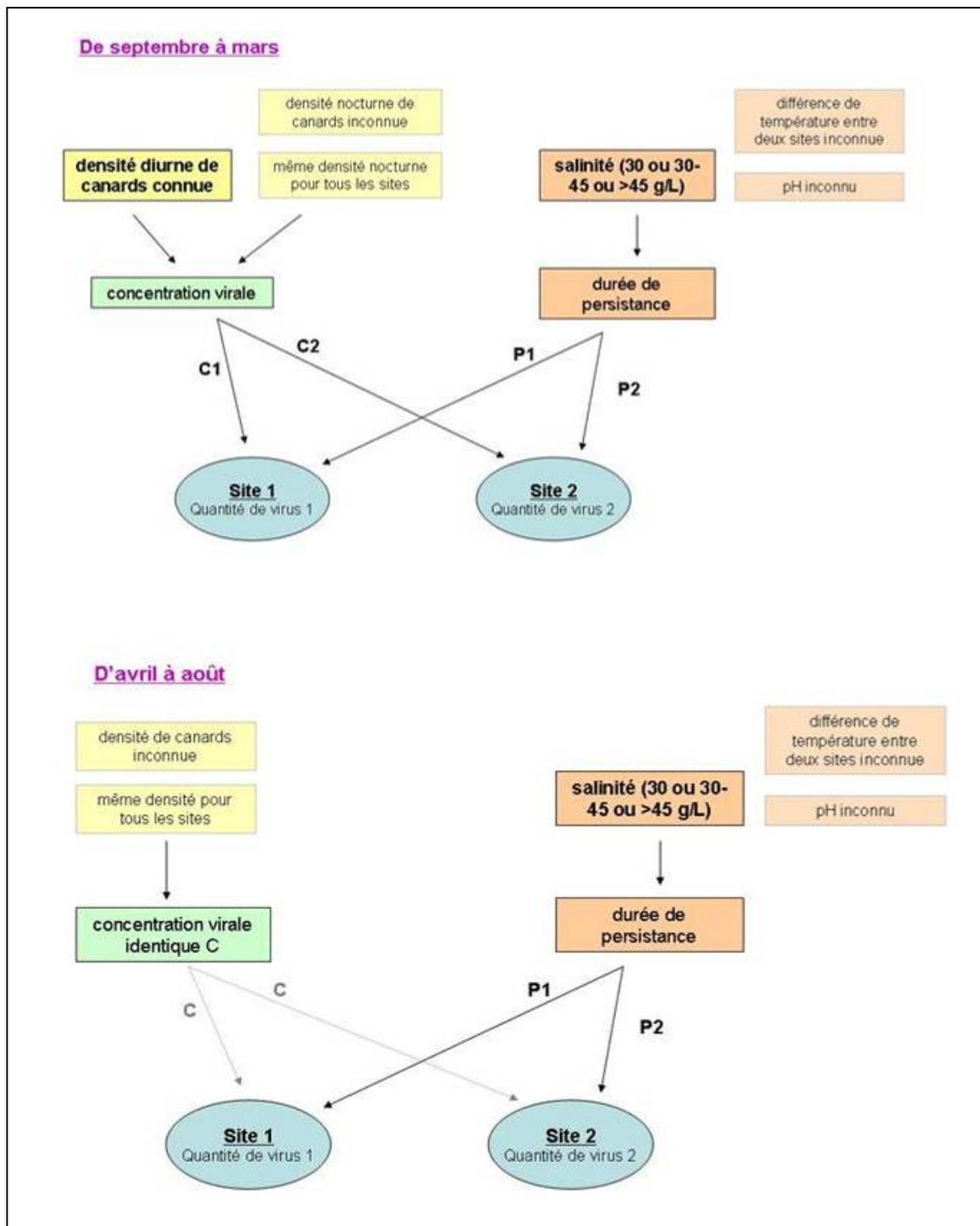
Nous établirons des cartes mensuelles de salinité des milieux camarguais en la divisant en trois classes selon les seuils de persistance des virus influenza A :

- de 0 à 30 g/L, teneur à laquelle les virus persistent au moins trois jours dans l'eau ;
- de 30 à 45 g/L, teneur à laquelle la durée de persistance des virus est inconnue ;
- supérieur à 45 g/L, teneur à partir de laquelle les virus sont inactivés.

#### Détermination des sites favorables

Nous obtiendrons une carte de présence virale en Camargue en superposant les sites déterminés comme favorables à la présence du virus selon les conditions environnementales et la densité des canards. Ces cartes ont été réalisées en suivant la méthodologie décrite dans la figure 24.

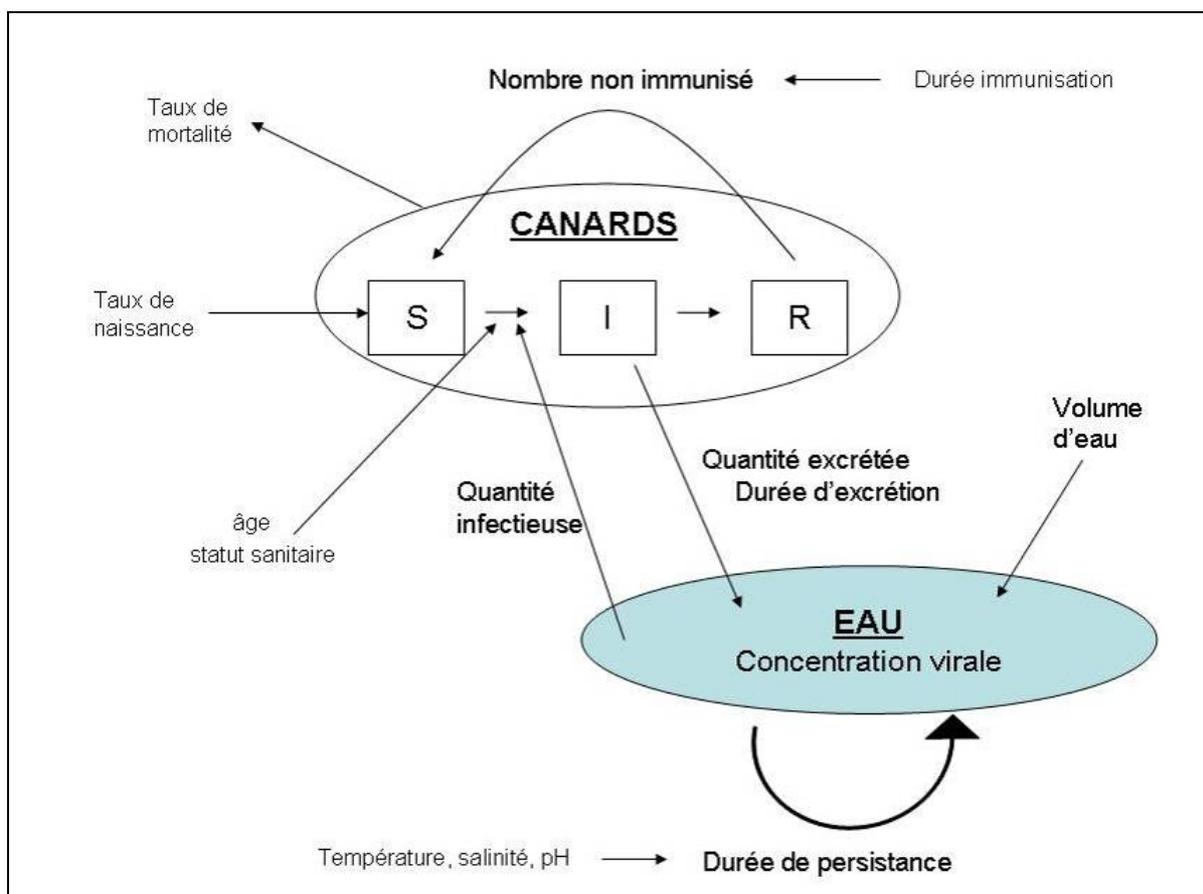
Figure 24 : méthodologie de classement des plans d'eau favorables à la présence des virus influenza A en Camargue en fonction des données disponibles



### 3.2.2. Estimation de la quantité maximale virale possible dans l'eau par site

La quantité de virus dans l'eau à un moment et un endroit donnés dépend de nombreux paramètres (cf figure 25) : présence d'eau, nombre de canards excréteurs (fonction de la prévalence, de la durée d'excrétion, du nombre d'individus sensibles, et infectés les jours précédents...), quantité excrétée par individu (qui varie dans le temps)... Beaucoup de paramètres sont inconnus. C'est pourquoi, nous avons décidé d'estimer chaque mois une quantité maximale de virus possible par site, en émettant plusieurs hypothèses simplifiant le modèle.

**Figure 25 : recensement des facteurs principaux déterminants la quantité de virus dans l'eau. S désigne les individus sensibles, I les individus infectés, et R les individus "guéris" et immunisés selon le modèle SIR**



#### Hypothèses simplificatrices

- tous les canards excrètent quotidiennement la même quantité virale ;
- la prévalence est considérée comme constante pour les jours d'un mois donné : l'effectif d'individus excréteurs est invariable pendant cette période ;
- la température à la surface de l'eau est identique sur tous les points d'eau et la température moyenne mensuelle à la surface de l'eau est identique à celle de l'air ;
- la totalité des virus restent à la surface de l'eau et jusqu'à 1 cm de profondeur au maximum.

## Calcul de la quantité virale maximale

### - Quantité excrétée au mois j

La quantité virale maximale du site i au mois j appelée  $Q_{ij}$  est égale à:

$$Q_{ij} = (\text{Effectif} * \text{prév} * \text{nbJpersistence} * Q_{\text{excr}}) / (\text{surface} * 0,01 * 10^6)$$

$Q_{ij}$  en EID50

avec Effectif = nombre de canards excréteurs sur le site i

prév = prévalence estimée pour le mois j

nbJpersistence = durée de la persistance pour le mois j (en jours)

$Q_{\text{excr}}$  = quantité de virus excrétée par individu et par jour en EID50

Surface = surface du site i en  $m^2$

$\text{surface} * 0,01 * 10^6$  = volume d'eau du site i dans lequel peut persister le virus (sur 1 cm de hauteur en mL).

### - Ajout des quantités virales des mois précédents

Pour un mois donné est calculée la quantité de virus excrétée qui s'ajoute à la quantité de virus produite les mois précédents et encore persistante en utilisant la valeur de la DT90. Par exemple, si on considère un site donné dans lequel l'ensemble des canards excrètent au total 10 000 EID50 de virus en septembre et en octobre, on a :

- début septembre,  $Q = 0$  virus
- fin septembre,  $Q = 10\ 000$  EID50
- début octobre,  $Q = 10\ 000$  EID50

Les virus persistent environ 30 jours au mois d'octobre, il reste donc fin octobre 10 % de la quantité présente début octobre. Pendant ce même mois, la quantité virale totale excrétée est de 10 000 EID50.

- fin octobre,  $Q = 0,1 * 10\ 000 + 10\ 000 = 1000$  EID50.

### - Valeurs des paramètres

Conformément à l'objectif de ce travail, les valeurs des variables ont été choisies de telle façon que les  $Q_{ij}$  calculés mensuellement soient maximales sur chaque site. Ainsi:

- la valeur maximale de la quantité excrétée par individu est fixée à  $10^{10}$  EID/mL, concentration la plus élevée fournie par la littérature (Webster *et al.*, 1978) ;
- les données de prévalence maximales en Camargue concernent l'hiver 2007-2008 : on sélectionne la valeur supérieure de l'intervalle de confiance à 95 % de la prévalence, soit 20 % en septembre et 8 % d'octobre à janvier. N'ayant pas de données par la suite, une prévalence maximale hypothétique de 8 % est choisie de mars à août ;
- Comme valeur du peuplement trois données sont considérées. La valeur du peuplement maximal par site permet d'avoir une idée de la valeur maximale de virus sur un site quel que soit l'année ou le mois. Afin d'avoir une idée "plus réaliste" de la quantité maximale virale et de son évolution au cours de l'année, seront pris également les effectifs de deux années, l'une à fort effectif de canards (hiver 2006-2007) et l'autre à faible effectif (hiver 2008-2009).

## IV. RESULTATS

### 4.1. Répartition des canards en Camargue

#### 4.1.1. De septembre à mars

##### 4.1.1.1. Répartition diurne

##### Indice du peuplement total

Les 93 remises répertoriées sont soit des marais soit des étangs. Les étangs les plus grands, ont été découpés en respectant les limites établies lors du comptage aérien. L'index de peuplement total a été calculé pour chaque site sur les 4 dernières années. Il correspond au cumul des comptages mensuels de septembre à février. Cet index est compris entre 4 et 250 000 pour les sites accueillant des canards. Pour 75 % de ces sites, il est inférieur à 32 000 (cf figure 26). Il est supérieur à 100.000 sur 4 sites seulement (Capette, Les Bruns, Sud des bois, Basses Méjeanes en rouge sur la carte de la figure 27) qui concentrent 30 % de la population totale des canards du genre *Anas* (figure 26). La moitié des effectifs de canards de la Camargue se répartissent sur 10 sites et 80 % sur une trentaine de sites.

**Figure 26 : répartition des remises en fonction de l'indice du peuplement total des canards du genre *Anas* en Camargue**

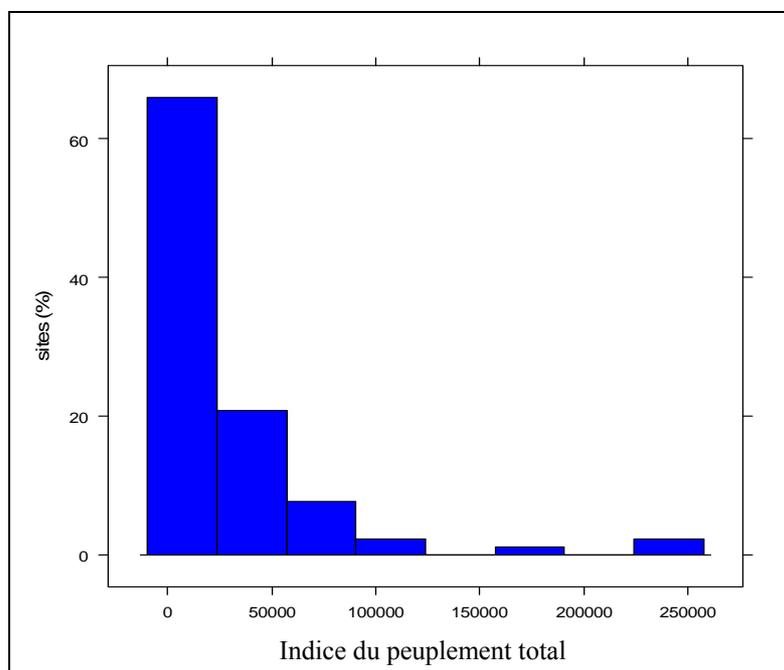
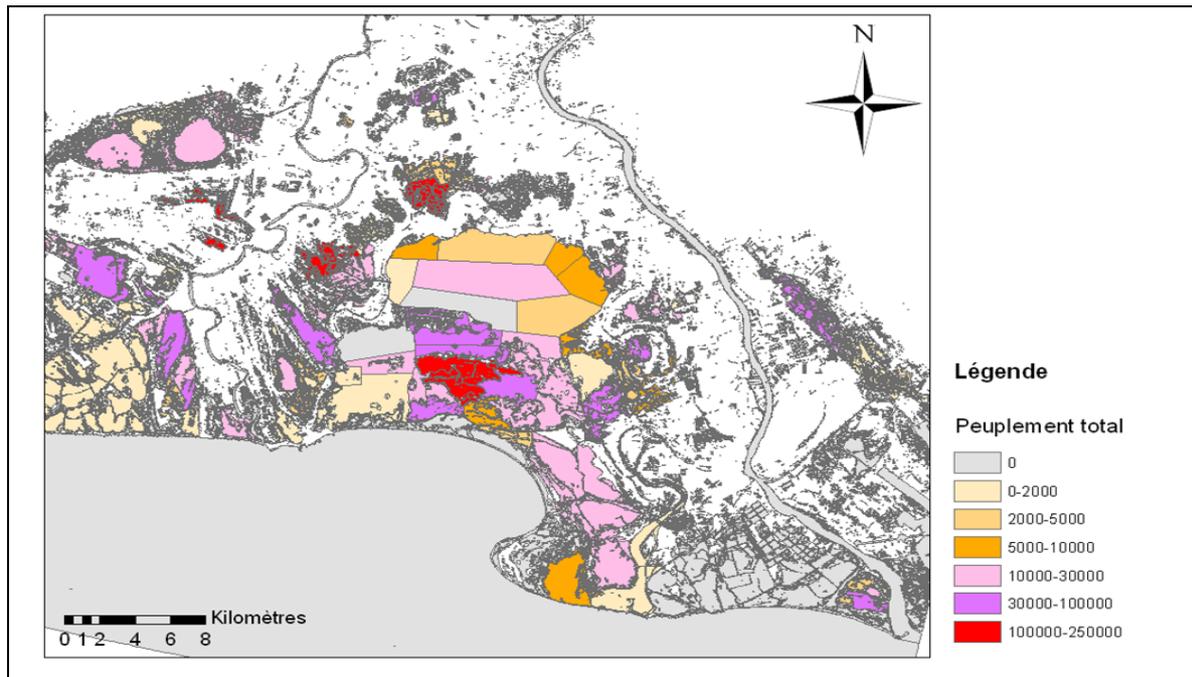


Figure 27 : répartition diurne des canards du genre *Anas* de septembre à mars en Camargue selon l'indice du peuplement total.



Etude du peuplement standardisé par la surface

La quantité de virus influenza dans l'eau dépend de la densité des canards. Il est donc particulièrement intéressant de classer les remises selon le peuplement total d'anatidés standardisé par la surface. L'indice calculé est le suivant:  $(\text{peuplement total} \times 100) / (\text{surface en mètres carrés})$ . Il est compris entre 0 et 13,4. Trois quarts des sites ont une valeur comprise entre 0 et 2, douze sites entre 2 et 5 (en rose sur la figure 28) et huit sites ont cette valeur supérieure à 5 (en rouge sur la figure 28 : Saint Seren (Tour du Valat), Baisse du 2<sup>ème</sup> bois, Capette, Carapasse, Les Bruns, Pointe de Mornès, Rendez-Vous (Tour du Valat), Tamaris) (cf figure 29).

Figure 28 : indice du peuplement total diurne des canards du genre *Anas* standardisé par la surface entre les mois de septembre à février (les noms correspondent aux sites en rouge)

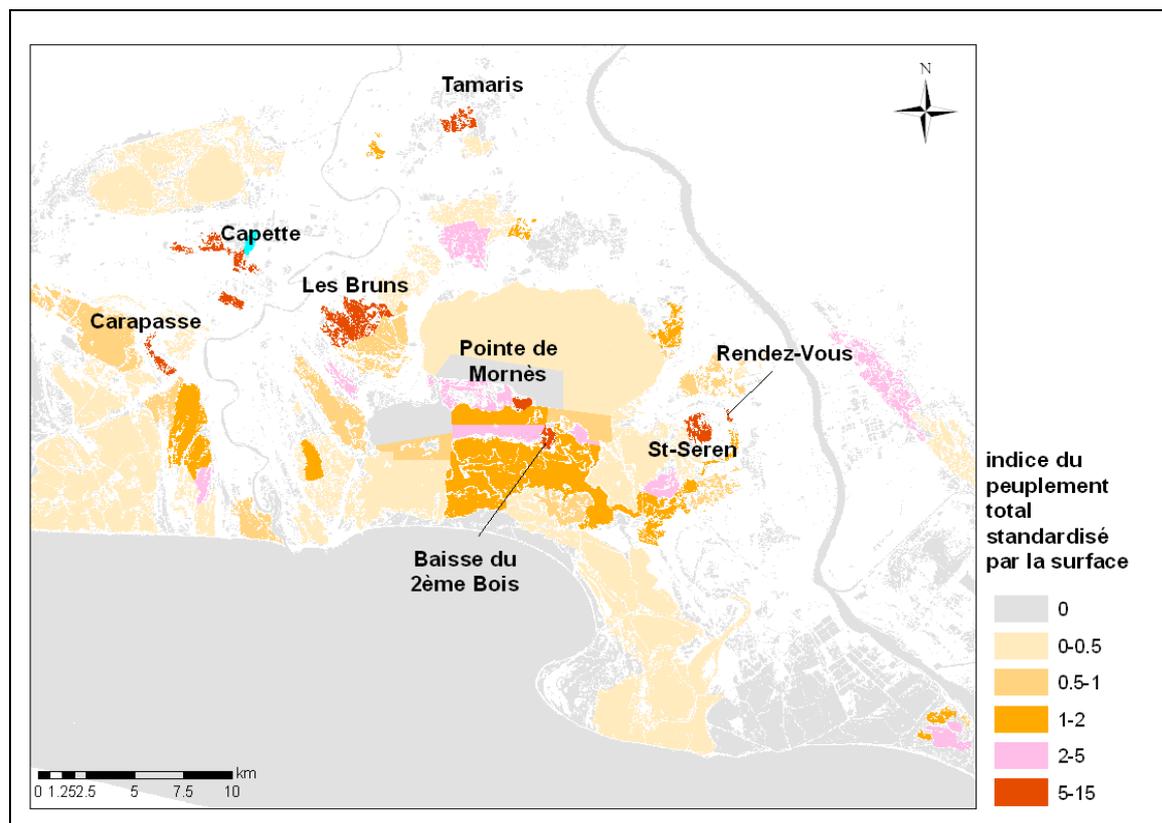
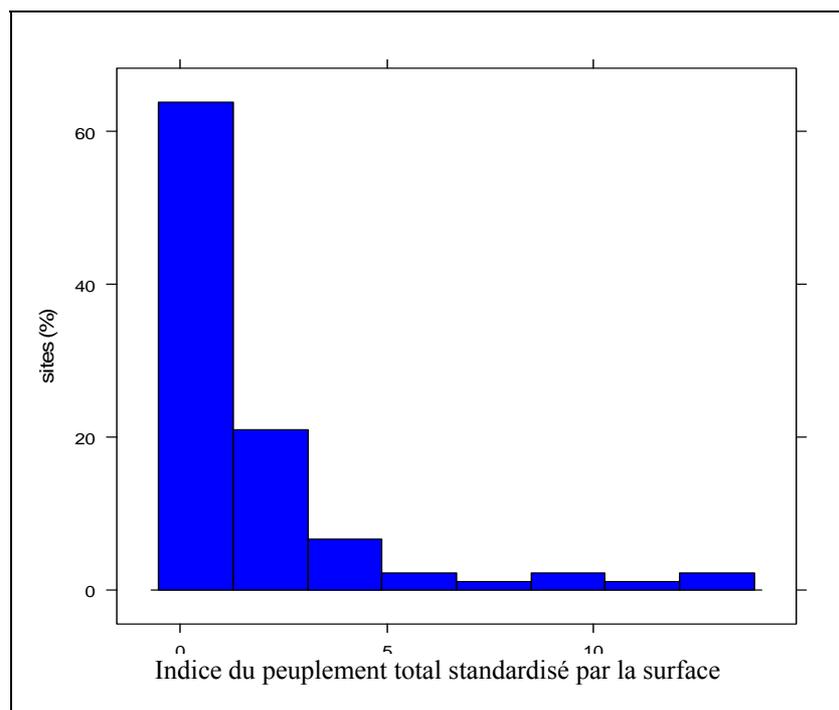


Figure 29 : répartition des remises camarguaises en fonction de l'indice du peuplement total diurne des canards du genre *Anas* standardisé par la surface entre les mois de septembre à février.

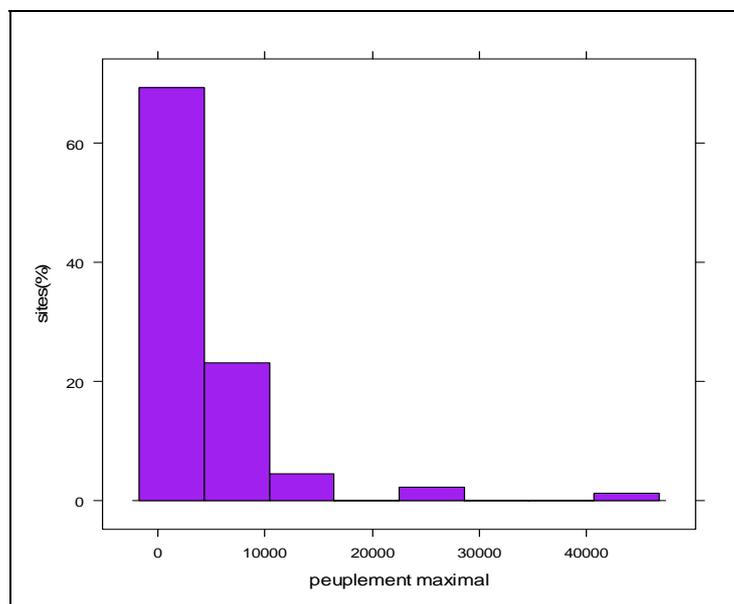


### Etude du peuplement maximal

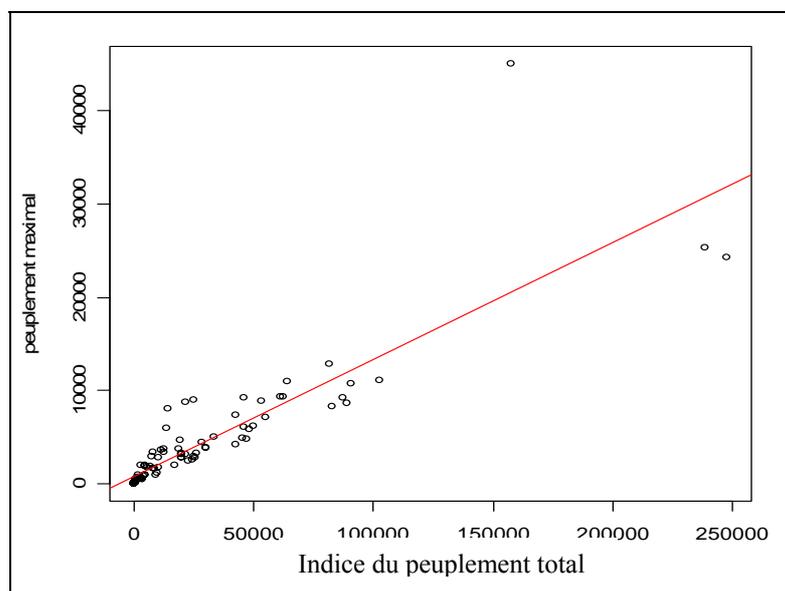
Le peuplement maximal est l'effectif maximal obtenu pendant les quatre années sur chaque site. La valeur obtenue représente donc l'effectif instantané maximal sur un site quels que soient l'année ou le mois ; elle se situe entre 4 et 45 000. La moitié des sites accueillent moins de 2000 canards au maximum et trois-quart des sites moins de 6000. Sept sites peuvent accueillir plus de 10 000 anatidés au maximum et jusqu'à 20 000 pour 3 d'entre eux seulement (cf figure 30).

Cette mesure est corrélée avec la valeur du peuplement total ( $\rho = 0,867$ , p-value < 0,001, test de Spearman) (cf figure 31). Globalement, ce sont donc les mêmes sites qui ont des effectifs élevés pour les deux valeurs considérées.

**Figure 30 : répartition des remises camarguaises en fonction du peuplement maximal des canards du genre *Anas*.**



**Figure 31 : corrélation par site entre le peuplement total de septembre à février et le peuplement maximal des canards du genre *Anas* des quatre dernières années en Camargue**



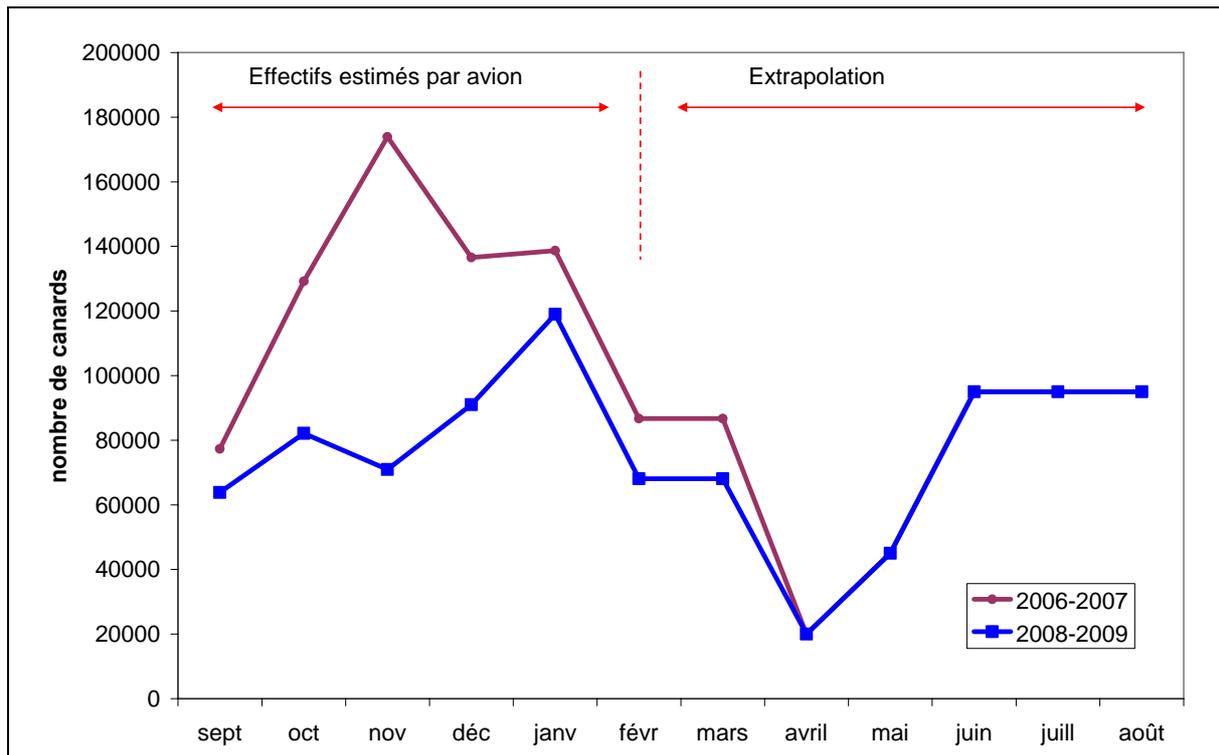
#### 4.1.1.2. Répartition nocturne des canards sur les gagnages

Les gagnages utilisés sont inconnus. La densité des canards par site pendant la nuit est faible car ils se dispersent pour se nourrir. Arbitrairement, la densité retenue a été calculée en divisant l'effectif instantané maximal (174 000 canards du genre *Anas* en novembre 2006) par la surface des territoires de la Camargue en eau (55 000 ha en décembre). On obtient donc 2,71 canards par hectare sur chaque plan d'eau camarguais.

#### 4.1.1.3. Evolution des effectifs de septembre à mars

Les canards arrivent fin août-début septembre. Le pic démographique est atteint en novembre-janvier, et dès février, les effectifs commencent à diminuer. Durant l'hiver 2006-2007 (année à forts effectifs), le maximum a été atteint en novembre avec un total de 174 000 canards sur toute la Camargue. Durant l'hiver 2008-2009 (année à faibles effectifs), il n'a pas dépassé 120 000 oiseaux au mois de janvier. La figure 32 montre l'évolution des effectifs sur ces deux années.

Figure 32 : évolution de l'effectif total de canards du genre *Anas* en 2006-2007 et 2008-2009 en Camargue



En janvier 2007 et 2009, les effectifs sont corrélés avec l'indice du peuplement total (respectivement,  $\rho = 0,76$  et  $\rho = 0,77$  ( $p\text{-value} > 0,001$ , test de Spearman)). Le coefficient de corrélation n'est cependant que de 76 %, ce qui indique des variations d'effectifs pour certains sites.

#### **4.1.2. D'avril à août**

L'estimation du nombre de canards en avril est de 20 000 environ. La surface en eau est approximativement de 55 000 ha. La densité moyenne de canards est donc de 0,36 canards/ha. De juin à août, le nombre maximal de canards est estimé à 95 000. La surface en eau est d'environ 35 000 ha. La densité moyenne est donc de 2,71 canards/ha.

### **4.2. Détermination de la durée de persistance des virus par site et par mois**

#### **4.2.1. la salinité des zones en eau en Camargue**

En Camargue, la salinité varie selon un gradient Nord-Sud et selon la période. Les rizières et les marais qui n'appartiennent pas au "système Vaccarès" ont toujours une salinité inférieure à 30 g/L quelle que soit la période. Les salins sont des zones dont la salinité, toujours supérieure à 30 g/L, est très contrôlée. Pour la plupart des bassins, elle est supérieure à 45 g/L et peut monter jusqu'à 300 g/L dans certains.

Les étangs et lagunes du système Vaccarès ont une salinité comprise entre 15 et 90 g/L qui varie selon la période. La salinité de l'étang du Vaccarès est toujours inférieure à 30 g/L. Les étangs et lagunes situés les plus au sud à proximité de la mer (lagune des Batayolles, étang du Tampan) ont une salinité entre 30 et 45 g/L en décembre-janvier et supérieure à 45 g/l de juin à août.

Pour les autres étangs du système Vaccarès situés entre ces lagunes salées et le Vaccarès, la salinité a été inférieure à 30 g/l de décembre à mai entre 2001 et 2006. En août, la salinité est supérieure à 30 g/l et pour certains étangs supérieure à 45 g/l (étang de Malagroy, Etang du Monro, les Impériaux, le Fournelet en rouge sur la figure 33, se référer à l'annexe 1 pour les noms). La concentration en chlorure de sodium reste en général élevée en septembre (supérieur à 30 g/l) et en novembre la partie occidentale a une salinité comprise entre 30 et 45 g/l. La figure 33 montre les plages de salinité à différents mois de l'année en Camargue.

La salinité varie beaucoup selon les années car elle dépend des conditions météorologiques. Faible de 2001 à 2004, elle augmente de 2005 à 2008. En juin, elle peut être inférieure 30 g/L (2001 à 2004) ou supérieure (entre 30 et 45 g/L pour une grande partie des étangs) (cf figure 34). La salinité a été plus élevée en décembre 2007 sur l'ensemble des marais (cf figure 35).

Figure 33 : évolution de la salinité moyenne des plans d'eau de Camargue au cours de l'année (2003-2008)

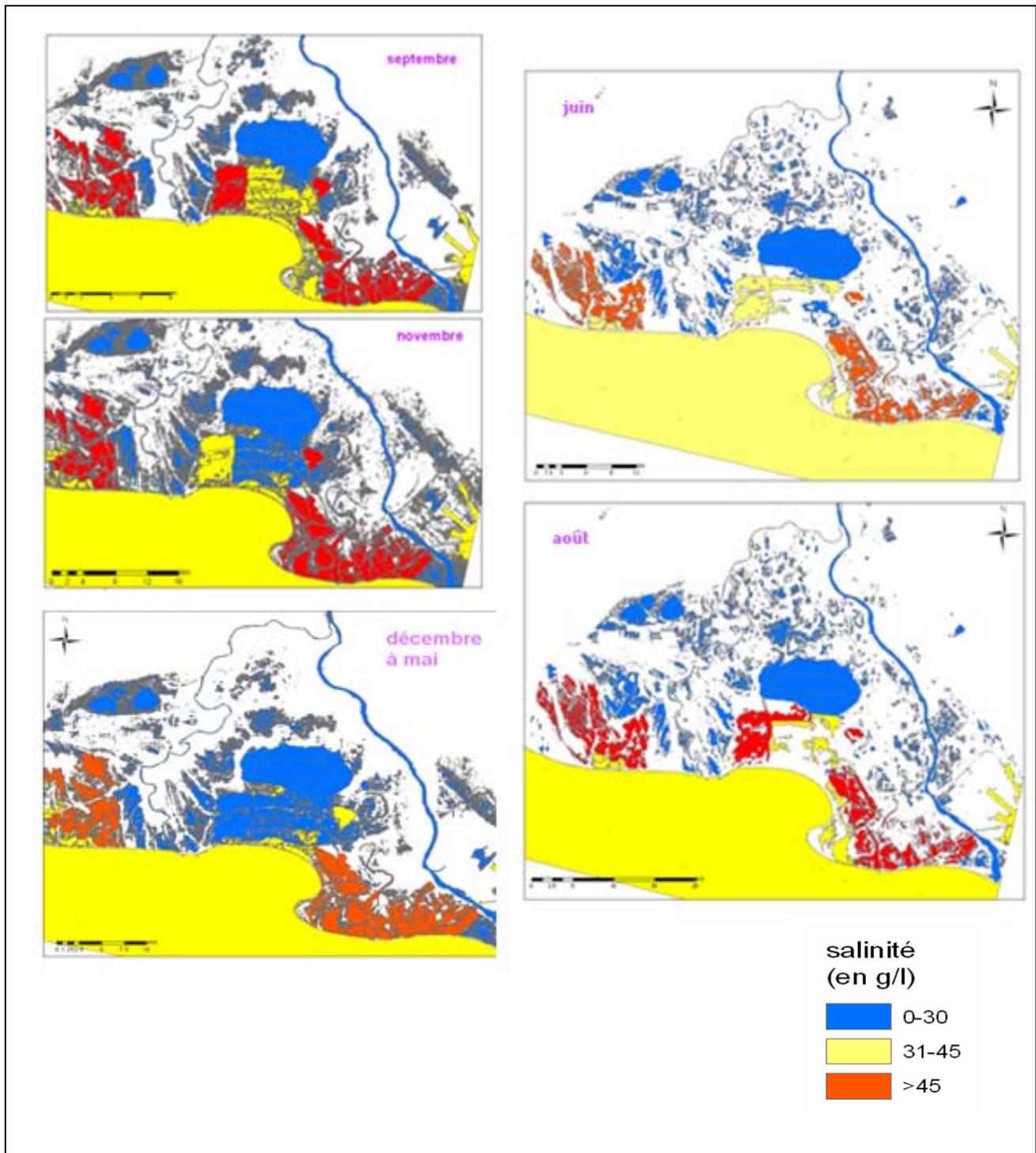


Figure 34: salinité des étangs du système Vaccarès (Camargue) au mois de juin de 2001 à 2008: des classes de salinité différente selon les années.

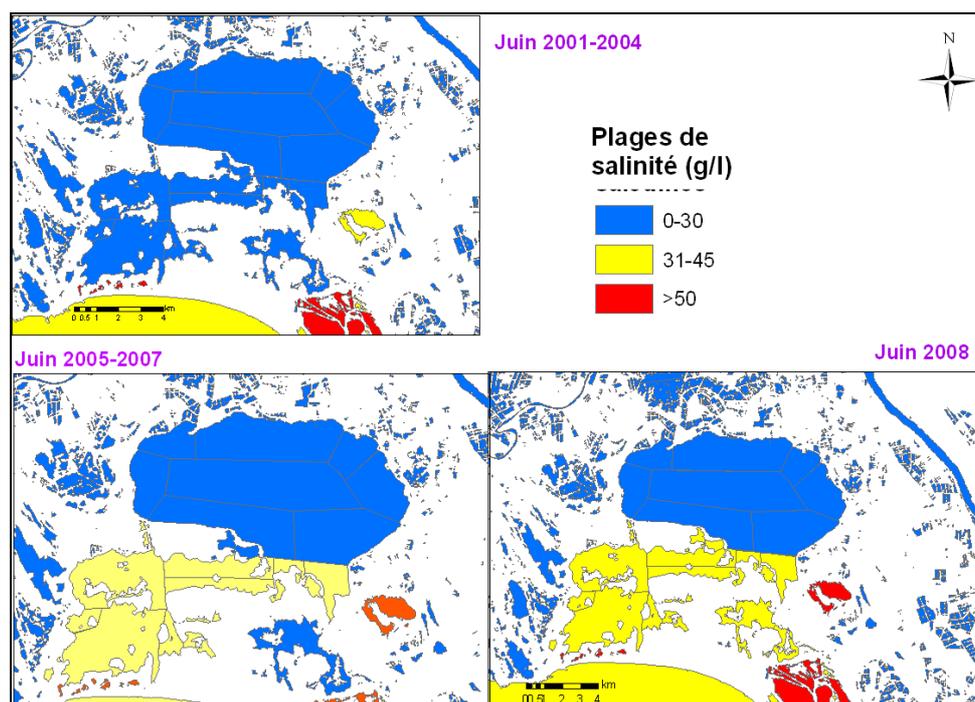
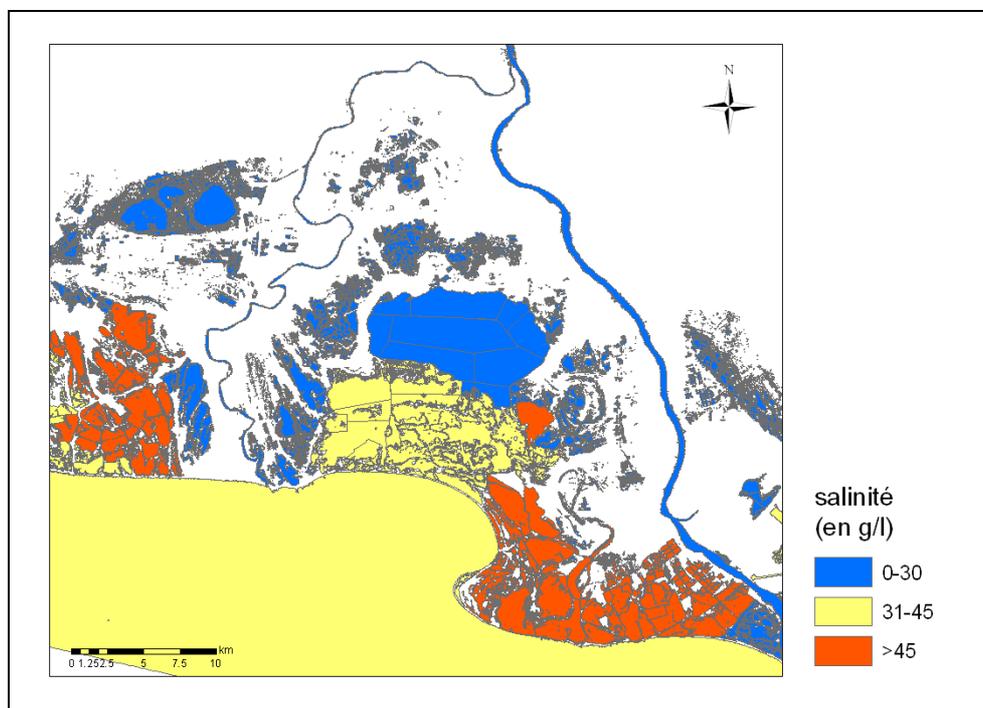


Figure 35 : carte de la salinité des plans d'eau de Camargue en décembre 2007, une année à salinité particulièrement élevée.

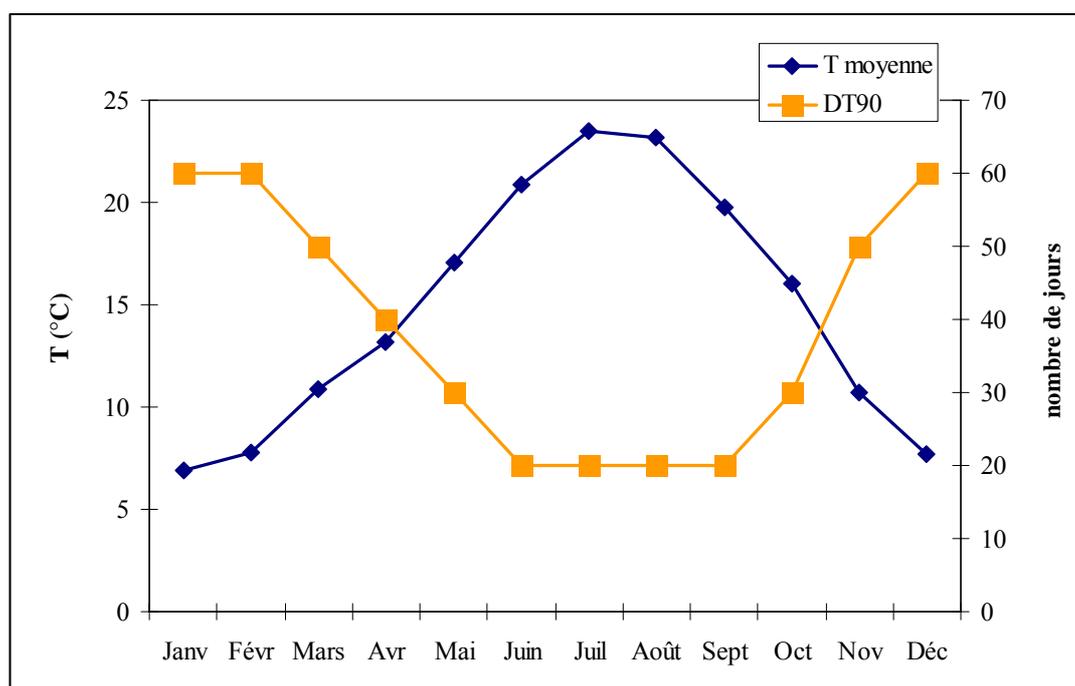


#### 4.2.2. Détermination de la durée de persistance

Pour les sites de salinité inférieure à 30 g/L, la DT90 est de 60 jours en moyenne de décembre à février, elle diminue jusqu'en juin pour atteindre 20 jours entre juin et septembre (cf figure 36).

Pour les sites ayant une salinité supérieure à 45 g/l, on fait l'hypothèse que le virus ne persiste pas. La persistance diminue pour des salinités supérieures à 25 g/l mais il est difficile d'en connaître exactement la durée. Donc pour les sites dont la salinité est comprise entre 30 et 45 g/l, la DT90 moyenne est probablement inférieure à 20 jours de juin à septembre.

**Figure 36 : évolution de la DT90 moyenne des virus influenza A, dans les plans d'eau camarguais de salinité inférieure à 30 g/L, estimée par mois à partir de la température moyenne mensuelle de l'air (d'après les données de persistance des virus en fonction de la température de Brown *et al.*, 2008a)**



#### 4.3. Possibilité de présence des virus dans les plans d'eau en Camargue

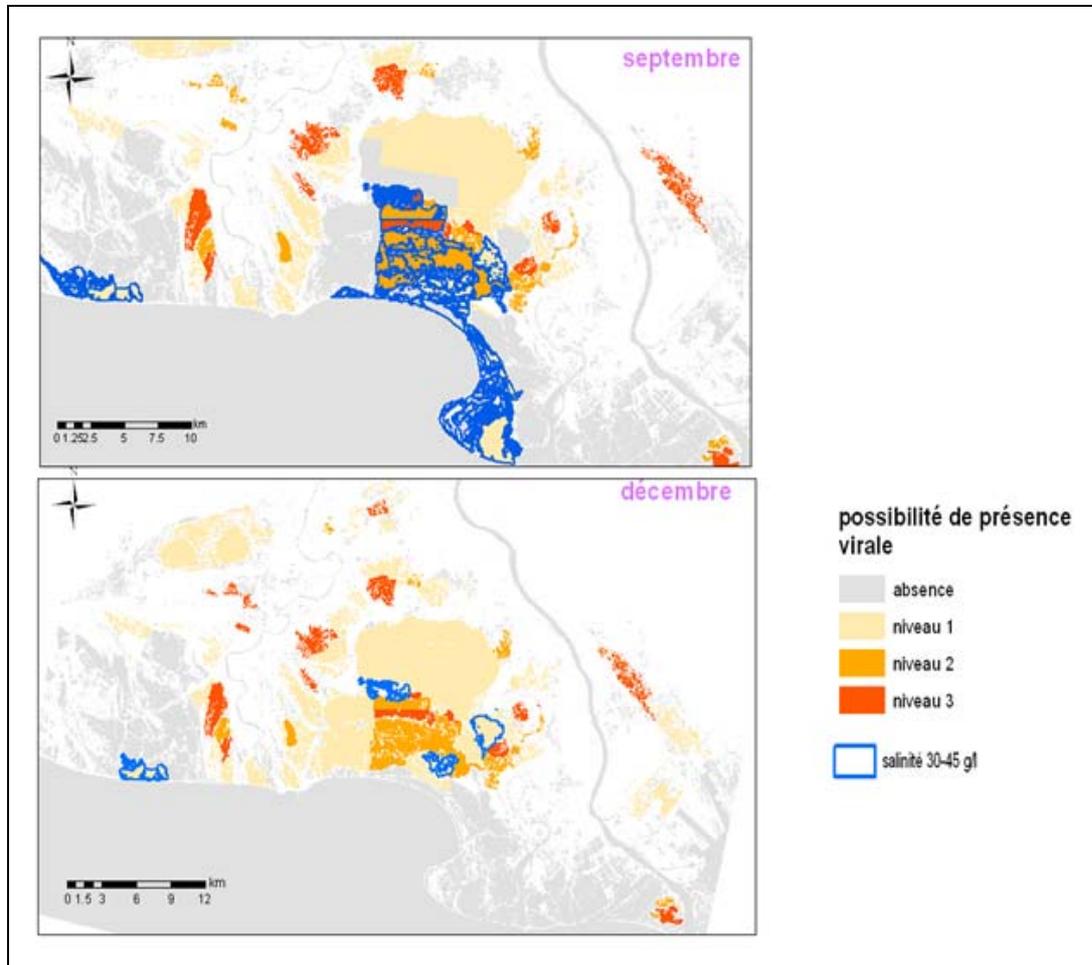
Une salinité supérieure à 45 g/L détermine les zones où les virus influenza sont absents. Lorsque la concentration saline de l'eau est comprise entre 30 et 45 g/L, on ne sait pas si le virus persiste ou non.

De septembre à mars, les zones de remises sont connues précisément et peuvent être classées en fonction de la densité de canards qui les occupent (cf figure 28). De septembre à novembre, la salinité des étangs du système Vaccarès change et détermine les zones où le virus peut être présent (cf figure 37). Ce sont les mêmes sites qui sont favorables à la présence des virus de septembre à mars (cf figure 37).

D'avril à août, en l'absence de données précises sur la répartition réelle des anatidés, la salinité détermine les sites dans lesquels les virus persistent (cf figure 34). On ne peut pas déterminer plus précisément lesquels sont particulièrement favorables à la présence des virus.

Il n'y a pas de virus sur les sites matérialisés en rouge sur la figure 34, leur présence est inconnue pour les sites en jaune et possible pour les sites en bleus.

**Figure 37 : possibilité de présence des virus influenza A dans les plans d'eau en Camargue en septembre et décembre**



#### **4.4. Modélisation de la quantité virale maximale possible par site**

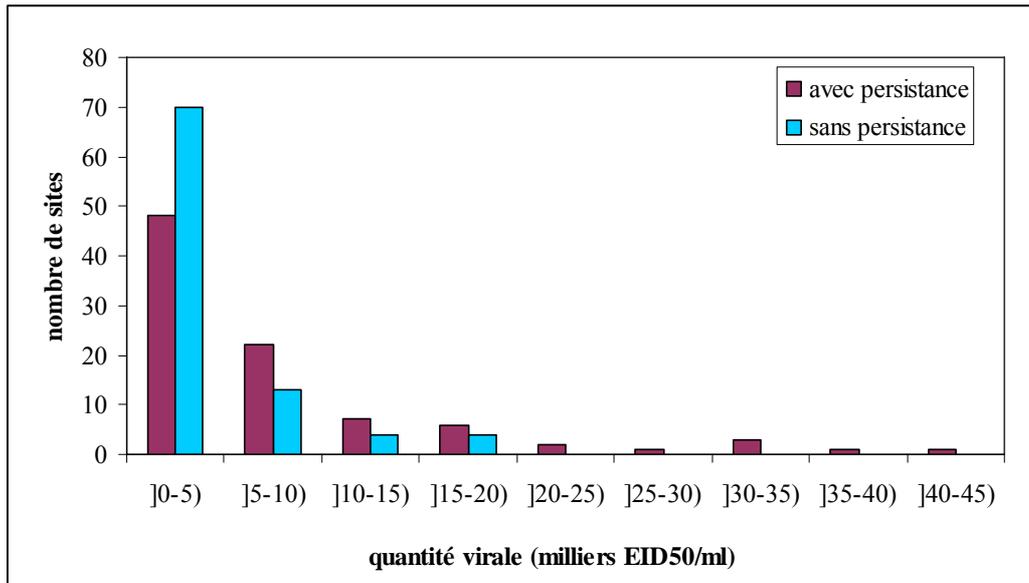
##### **4.4.1. Etude de la quantité maximale possible quelle que soit l'année**

###### Quantité virale maximale en janvier

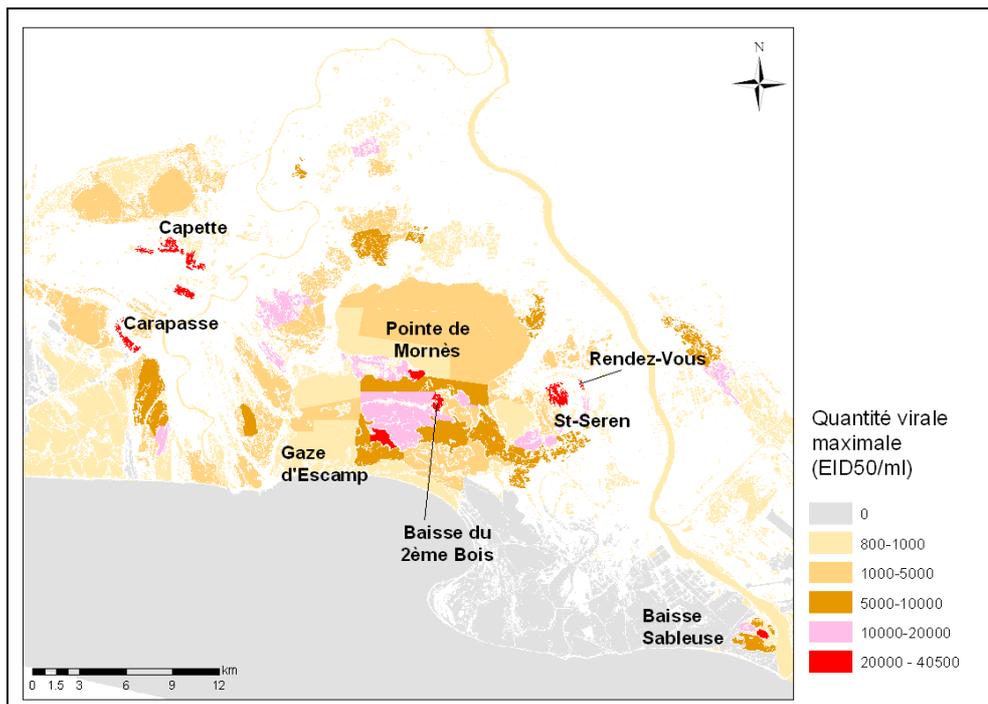
Sur les 91 sites classés comme remises, il y a eu au maximum entre 880 et 43 000 EID50/mL virus pour les quatre années d'étude. Pour 75 % des sites, la quantité virale maximale est inférieure à 10 000 EID50/mL (cf figure 38). Elle dépasse 10 000 EID50/mL sur 21 sites et même 20 000 EID50/mL sur 8 d'entre eux (en rouge sur la figure 39 : Saint Seren et Rendez-Vous (Tour du Valat), Baisse sableuse (La palissade), Baisse du 2<sup>ème</sup> Bois, Capette, Carapasse, Gaze d'Escamp, Pointe de Mornès). Pour les autres sites, hors remises, la concentration virale maximale est de 840 EID50/mL.

Afin de mesurer l'importance de la durée de persistance sur la charge virale, on modélise la quantité maximale virale en janvier sans prendre en compte la persistance des virus ayant été excrétés les mois antérieurs. Celle-ci est comprise entre 400 et 20 000 EID50/mL en fonction des sites. Les trois quarts ont une quantité inférieure à 5000 EID50/mL et seuls 8 sites ont une quantité maximale supérieure à 10 000 EID50/mL (cf figure 38). Ainsi, la quantité maximale virale dans l'eau double, lorsque la durée de persistance moyenne des virus dans l'eau est prise en compte.

**Figure 38 : répartition des remises camarguaises en fonction de la quantité de virus influenza A maximale calculée en janvier en prenant en compte une durée de persistance de 1 ou 2 mois.**



**Figure 39 : répartition de la quantité de virus influenza A maximale possible en Camargue en janvier en tenant compte d'une persistance de deux mois.**



### Quantité virale maximale en juin

En juin, la quantité virale est comprise entre 495 et 520 EID50/mL. Il n'y a donc pas de différences entre les sites ayant servi de remise pendant l'hiver et les autres. Début juin, les virus présents dans l'eau ont donc été excrétés durant le mois précédent.

#### **4.4.2. Etude de la quantité virale maximale de deux années particulières**

### Evolution de la quantité virale moyenne mensuelle

Pour les deux années retenues, la quantité de virus dans l'eau augmente à partir de septembre-octobre, est maximale en janvier et diminue régulièrement à partir de début mars pour atteindre 500 EID50/mL au maximum de juin à août (cf figure 40). Le pic viral peut être concomitant du moment où les canards sont les plus nombreux pendant l'hiver ou bien survenir un mois après. Il y a deux fois plus de virus présents dans l'eau en décembre-janvier qu'en septembre-octobre. La quantité virale est supérieure à la fin de l'hiver qu'au début de l'automne. La même tendance est observée pour les remises les plus importantes (dont la quantité virale au cœur de l'hiver était supérieure à 10 000 EID50/mL dans le modèle de peuplement maximal) (cf figure 41).

**Figure 40 : évolution de la quantité maximale moyenne des virus influenza A sur l'ensemble des remises camarguaises des virus influenza A et des effectifs de canards du genre *Anas* au cours des années 2006-2007 et 2008-2009**

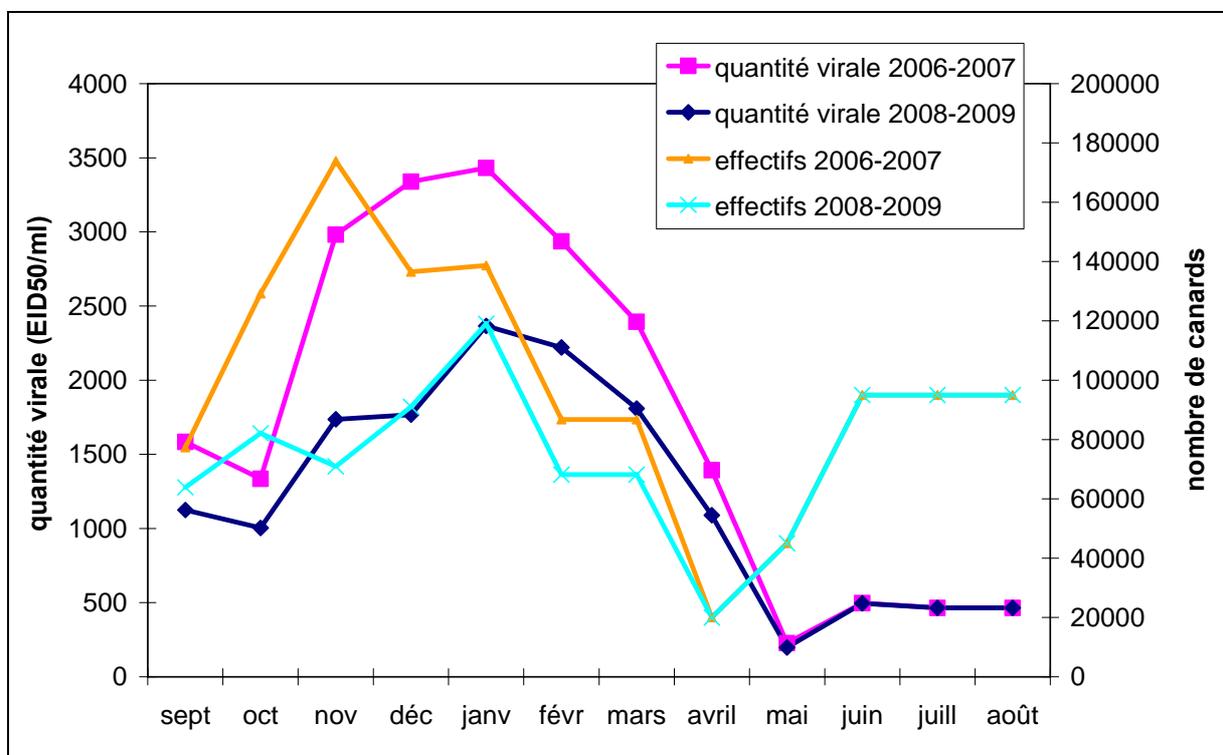
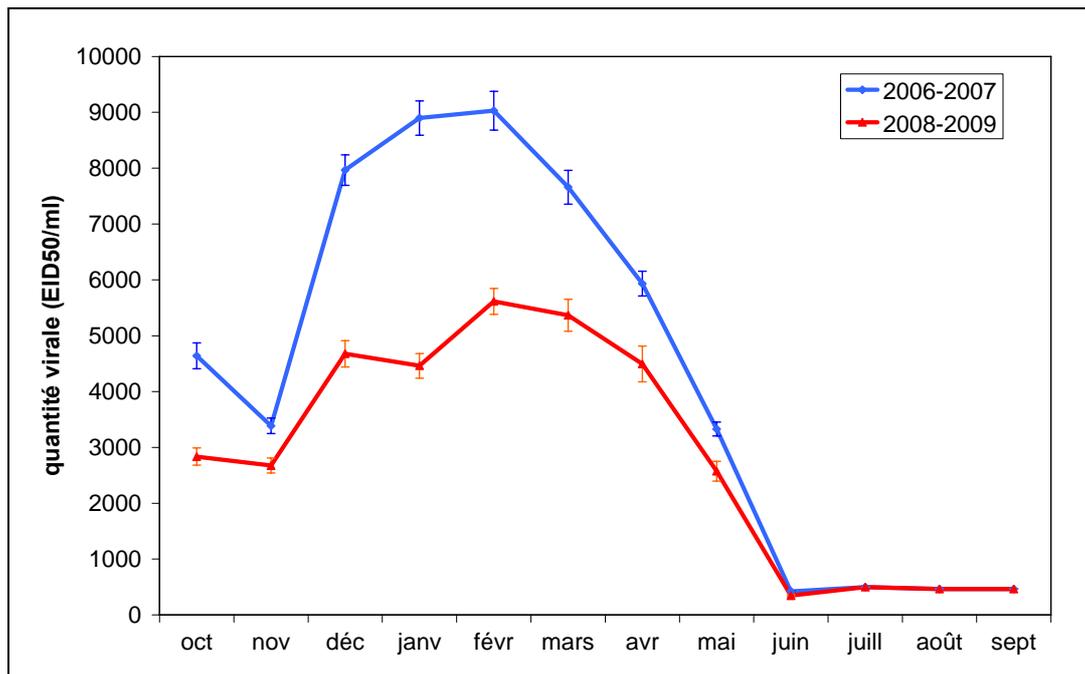


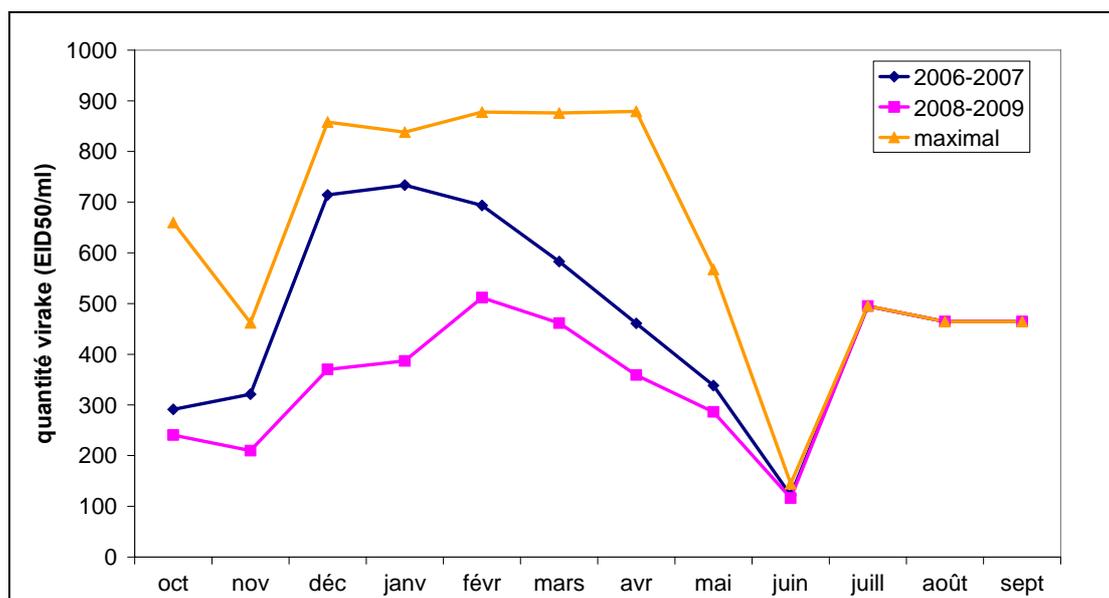
Figure 41 : évolution de la moyenne de la quantité maximale des virus influenza A des 21 remises majeures de Camargue au cours des années 2006-2007 et 2008-2009



#### Evolution de la quantité virale des sites hors remises pendant l'hiver

Pour les deux années étudiées, sur ces sites, la quantité virale augmente en décembre-janvier, puis diminue progressivement jusqu'en juin et s'accroît de nouveau en juillet-août. Elle est constamment inférieure à 1000 EID50/mL (cf figure 42).

Figure 42 : évolution de la quantité de virus influenza A sur les sites camarguais, hors remises pendant l'hiver, durant une année à forts effectifs (2006-2007), et à faibles effectifs (2008-2009) de canards du genre *Anas* et sous le modèle de peuplement maximal.



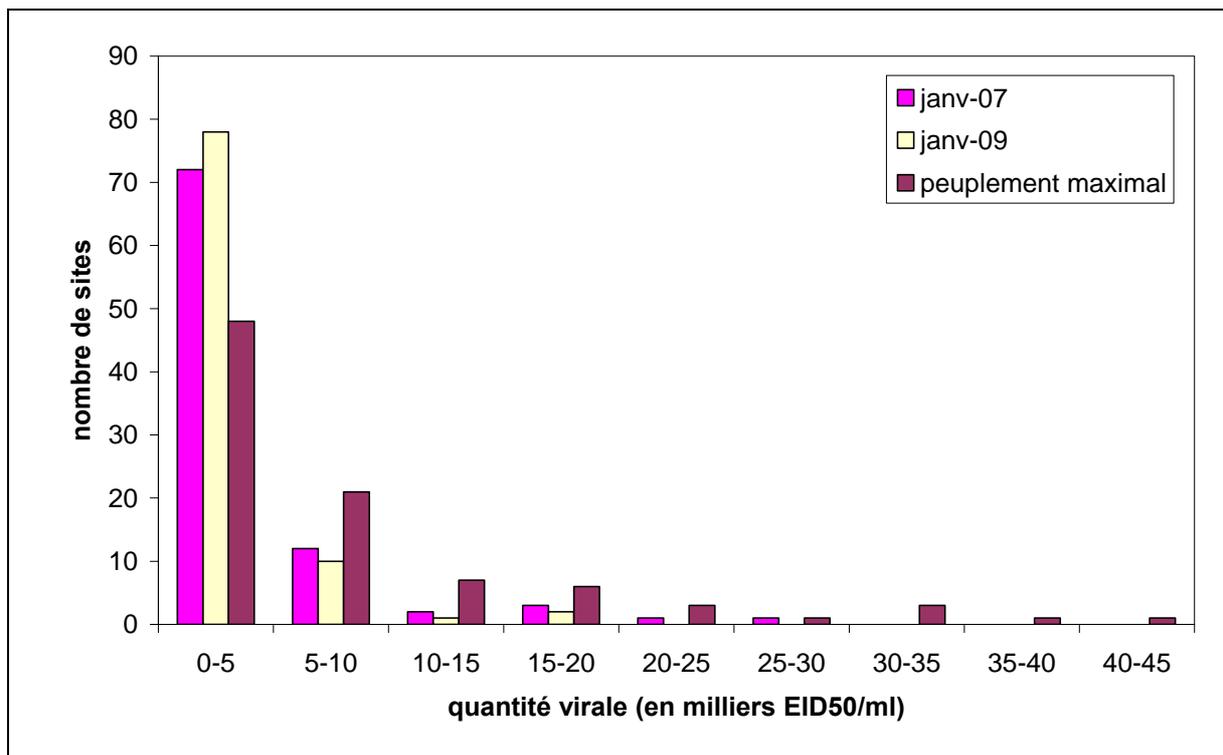
### Quantité maximale atteint en janvier

En janvier 2007 (forts effectifs de canards), la quantité maximale de virus était comprise entre 700 et 28 000 EID50/mL. Pour 75 % des remises, elle est inférieure à 3500 EID50/mL et supérieure à 10 000 EID50/mL pour 7 sites (cf figure 43). Pour les 21 remises majeures, elle était en moyenne de 9000 EID50/mL (cf figure 41)

En janvier 2009 (faibles effectifs de canards), la quantité maximale de virus était comprise entre 500 et 17 500 EID50/mL. Pour 75 % des remises, elle est inférieure à 2600 EID50/mL et supérieure à 10 000 pour 3 sites (cf figure 43). Pour les 21 remises majeures, elle était en moyenne de 5000 EID50/mL (cf figure 41).

La concentration virale estimée dans l'eau peut varier considérablement entre ces deux années. Pour les 21 remises majeures, l'écart des valeurs moyennes calculées se monte à 4000 EID50/mL.

**Figure 43 : répartition des remises camarguaises en fonction de la quantité maximale virale possible en janvier sous les trois modèles (mois respectivement à fort/faible effectif de canards du genre *Anas* en janvier 2007/2009 ; peuplement maximal)**



## V. DISCUSSION

### **5.1. Les facteurs déterminant les périodes et les sites favorables**

#### **5.1.1. Facteurs déterminant la répartition spatiale des virus**

##### Facteurs responsables de l'inactivation des virus

Les virus sont dégradés rapidement à l'air libre et dans l'eau à une salinité supérieure à 45 g/L. Dans les conditions naturelles, la température n'atteint jamais des valeurs permettant d'inactiver les virus influenza. Les virus sont également inactivés par un pH trop basique. Le seuil exact est inconnu (situé probablement entre 9 et 9,5), comme la durée d'inactivation. Des mesures ponctuelles montrent que certains marais ont un pH supérieur à 9 voire 9,5 en été. La répartition spatiale des virus en Camargue pourrait également être déterminée par le pH, ce qui n'a pas pu être pris en compte.

**En considérant que tous les plans d'eau de Camargue peuvent être visités par des canards, susceptibles d'être excréteurs des virus, à tout moment de l'année, les facteurs déterminant la présence ou l'absence de virus sur un site sont sa salinité et son pH.**

##### Classement à un moment donné des sites entre eux selon la charge virale possible

Nous avons classé ces sites en fonction de la salinité et de la densité des hôtes de septembre à mars ; et en fonction de la salinité seulement d'avril à août à cause du manque de données disponibles relatives à la répartition des canards durant cette période (*cf* figure 24).

Nous avons considéré que la température moyenne était la même à un moment donné entre tous les plans d'eau de Camargue. En effet, l'écart de températures moyennes journalières serait faible entre deux plans d'eau proches géographiquement (Marazanof, 1972; annexe 4). En conséquence, la température n'influencerait pas la répartition spatiale des virus à un moment donné. Toutefois, les plans d'eau peu profonds peuvent présenter des variations de températures pouvant atteindre 6 à 8 °C en moyenne dans une même journée. Des écarts de 3 à 5 °C ont pu être enregistrés en l'espace de 5 h (*cf* annexe 2). L'effet de telles variations sur la persistance des virus dans l'eau est inconnu. La charge virale pourrait donc être différente entre les étangs « profonds » et les petites mares soumises à de plus fortes amplitudes de température.

La persistance des virus sur les sites dont la salinité varie entre 30 et 45 g/L serait plus faible que ceux de salinité inférieure à 30 g/L. L'effet de ce paramètre sur la persistance n'a été testé qu'à 17°C et 28°C. Nous avons considéré que la DT90 était la même pour tous les plans d'eau de salinité inférieure à 30 g/L. Il est possible cependant qu'une concentration supérieure à 20 g/L diminue déjà la durée de persistance des virus dans l'eau.

La densité des hôtes permet aussi de classer les sites entre eux. Dans cette étude, seuls les hôtes principaux, à savoir les canards du genre *Anas*, ont été considérés. Le nombre de canards est plus élevé de septembre à mars, période pendant laquelle ils viennent hiverner en Camargue. Il peut exister des variations mensuelles ou annuelles sur les différents sites (Tamisier et Dehorter, 1999). Le fait de travailler sur les quatre derniers hivers permet d'avoir

une vision actualisée des remises occupées dans un passé récent et de la densité des populations accueillies. Cependant le nombre d'années prises en compte est faible et le poids d'une année sera donc élevé. L'indice choisi nous procure un total de 36 images instantanées de la répartition des canards. Trois quarts des canards sont fidèles à la même remise au cours du mois (Tamisier et Dehorter 1999), l'image obtenue peut donc être considérée comme une carte de la distribution moyenne des canards en Camargue en période hivernale.

En hiver, la répartition des canards est bien connue le jour mais pas la nuit. La densité nocturne est plus faible car les canards se dispersent pour s'alimenter sur de vastes étendues. Dans cette étude, elle a été considérée arbitrairement comme étant identique pour tous les sites, ce qui est faux. En effet, l'attractivité des sites n'est pas la même selon les disponibilités locales en ressources alimentaires et la salinité. Les canards s'alimenteraient de préférence sur les sites dont la salinité est inférieure à 5 g/L et sur les zones chassés (Pirrot, 1992 ; Isenmann, 2004).

Fin mars, la plupart des canards hivernants sont partis. Une population reproductrice reste cependant en Camargue. Le nombre exact de reproducteurs est inconnu. Ils abandonnent leur comportement grégaire et se dispersent par couple pour nicher. Il est également très difficile de connaître les sites de nidification. Les canards colverts peuvent nicher dans des habitats très divers, en général à proximité d'un point d'eau, mais pas nécessairement (Blondel et Isenmann, 1981). Il est cependant probable que tous les sites n'ont pas la même attractivité, ce qui n'a pas pu être pris en compte dans l'étude. En juillet-août des canards colverts d'élevages sont lâchés pour la chasse. Leur nombre exact est inconnu. En général, ces canards restent fidèles au site sur lequel ils ont été lâchés, la densité de canards peut donc être localement plus élevée.

Dans cette étude, seuls les hôtes principaux sont pris en compte. Cependant, les virus circulent chez d'autres espèces, notamment chez les laridés qui pourraient avoir un rôle important dans le cycle épidémiologique. Il serait alors également important de les considérer pour éventuellement revoir le classement des sites les plus favorables à la présence des virus. Les taux de prévalence disponibles dans la littérature et en Camargue sont généralement faibles pour les canards des genres *Netta* ou *Aythya* comme pour les foulques (*Fulica spp.*).

### **5.1.2. Facteurs déterminant l'évolution de la quantité virale possible sur un site**

Au cours du temps, la quantité virale varie en fonction de la densité des hôtes, de la prévalence et de la durée de persistance. Même si le taux de prévalence mensuel est maximal en septembre, la durée de persistance (inférieure à un mois) et la densité de canards plus faible expliquerait une charge virale jusqu'à deux fois plus élevée en janvier. Au cours de la période d'hivernage, la durée de persistance peut être le facteur principal jouant sur la quantité virale sur un site donné. Celle-ci est déterminée par la température. Le gel pourrait être un élément important, non pris en compte ici, en l'absence de données disponibles sur la persistance des virus influenza dans la glace. S'ils ne persistent pas, les jours de gels auraient pour conséquences de diminuer fortement la quantité virale d'un jour à l'autre.

## **5.2. Périodes et sites favorables**

### **5.2.1. Sites favorables**

De manière générale, pour avoir des virus influenza A dans une zone, il faut qu'il y ait des hôtes excréteurs du virus (canards principalement) et de l'eau dont la salinité soit inférieure à 45 g/L et le pH compris entre 5,8 et 9,3. Si on considère que les différents plans d'eau d'une même région ont la même température moyenne pour un mois donné, celle-ci n'intervient donc pas sur le classement des sites favorables fait à un moment donné, contrairement à la densité de canards par site.

La salinité peut être très élevée sur certains plans d'eau de Camargue, et en absence de données précises, nous avons considéré que les canards pouvaient stationner sur tous les sites. Donc la salinité et la présence d'eau sont les deux éléments qui nous ont permis de déterminer la présence des virus dans n'importe quelle zone camarguaise à un moment donné. La densité de canards nous a permis ensuite de classer ces sites les uns par rapport aux autres (*cf* figure 28).

La Camargue est organisée en trois zones délimitées par les influences relatives du Rhône et de la mer Méditerranée (*cf* figure 9).

La partie au nord est appelée la Camargue fluvio-lacustre. L'influence du Rhône y est prédominante. Cette partie est formée de marais (dont beaucoup à vocation cynégétique), d'étangs (étang du Charnier et Scamandre) d'eau douce et de rizières. Les rizières sont en eau d'avril à septembre. Les marais gérés pour la chasse, qui s'assèchent en conditions naturelles, sont quasiment toujours maintenus en eau et ne subissent en général qu'un court assec printanier. Ceci est visible sur les cartes représentant la superficie en eau (*cf* figure 13) où l'on constate la quasi-absence de différence des superficies en eau de ces marais constatées en janvier d'une part et en juillet d'autre part. Ainsi, **dans cette zone, les virus peuvent-ils être présents tout au long de l'année.** Certains de ces marais (Basses-Méjeanes, Les Bruns, Capette... (*cf* figure 37)) sont particulièrement favorables à la présence du virus influenza en période d'hivernage.

La partie centrale, appelée la Camargue laguno-marine, sous influence des incursions marines, est formée de lagunes peu profondes dont la salinité est supérieure à 15 g/L. L'étang du Vaccarès est l'élément de transition entre la partie fluvio-lacustre et laguno-marine. Ces lagunes sont principalement des espaces protégés (Réserve Nationale de Camargue, Tour du Valat). Les choix de gestion de ces espaces suivent les rythmes naturels propres au climat méditerranéen, c'est à dire avec un fort déficit hydrique en été, et donc des assecs estivaux. Durant l'été, la surface en eau est donc beaucoup plus faible qu'en hiver. Parallèlement, la salinité augmente suite à une évaporation élevée de telle sorte qu'en été, il n'y a probablement pas de virus dans les lagunes. On s'attendait à ce que cette zone soit toujours défavorable à la présence des virus dans l'eau du fait d'une salinité trop élevée. **En réalité, ce n'est le cas qu'en juillet et août.** En période d'hivernage des canards, ces lagunes sont des remises importantes, notamment quatre sites en particulier (en rouge sur la figure 37 : Nord des bois, Pointe de Mornès, Radeau Long du Terme, Baisse du 2<sup>ème</sup> Bois). Autour de cette zone, des marais sont maintenus en eau en été pour la chasse et permettent la présence des virus toute l'année sauf pendant l'assec printanier.

La partie sud de la Camargue se compose des secteurs d'exploitation du sel situés au sud-est et au sud-ouest, et de lagunes (Batayolles, Tampan). **Ce sont les seules zones de Camargue défavorables à la présence des virus toute l'année** du fait d'une salinité supérieure à 45 g/L. Cette partie englobe cependant également quelques plans d'eau douce à

légèrement saumâtre, dont certains sont particulièrement favorables à la présence de virus dans l'eau de septembre à mars en raison de densités élevées de canards, comme La Palissade, Les Fourneaux et Cabri sud.

Ainsi, contrairement à ce qui était attendu, les virus peuvent être présents dans l'eau presque dans toute la Camargue. Il n'y a qu'en été où cette zone est beaucoup plus restreinte. De septembre à mars, les sites les plus favorables sont ceux où la densité de canards est plus élevée. Dix-huit sites (en rouge sur la figure 37) sont particulièrement favorables. Ils se répartissent dans toute la Camargue sur des domaines privés ou publics, des marais, étangs ou lagunes, protégés ou chassés. On ne connaît pas les sites les plus favorables d'avril à juin à cause de notre manque de connaissance sur la répartition des canards durant cette période.

### **5.2.2. Périodes favorables**

**La période d'hivernage de septembre à mars est la plus favorable à la présence des virus dans l'eau.** Les densités de canards sauvages sont les plus élevées et les conditions environnementales sont optimales : la superficie des zones en eau est maximale, la température et la salinité minimales. La quantité de virus excrétée et la durée de leur persistance dans l'eau sont donc plus fortes à cette période que le reste de l'année, et en particulier au cœur de l'hiver en décembre et janvier.

En période printanière et estivale (avril à août), la surface en eau est plus faible. Les virus peuvent être présents dans l'eau sauf en juillet-août dans certaines lagunes du système Vaccarès. La durée de persistance, déterminée par la température moyenne de l'air, est inférieure à un mois à partir de juin. La concentration en virus de l'eau mesurée chaque mois correspond donc à la charge virale excrétée par les anatidés présents. La densité de canards, même si elle est imparfaitement connue, est *a priori* très faible en comparaison de la période hivernale. Il est très probable qu'il y ait peu de virus dans l'eau, et de toute façon beaucoup moins qu'en hiver.

Au mois de septembre, la durée de persistance estimée des virus dans l'eau est de 20 jours en moyenne. La salinité sur les étangs du système Vaccarès est encore élevée soit entre 30 et 45 g/L, ce qui pourrait diminuer la persistance virale. C'est également le mois où une grande majorité des oiseaux arrive pour hiverner ou faire une halte migratoire; et où la prévalence est en générale la plus élevée en Europe comme en Camargue (Munster *et al.*, 2005; Lebarbenchon *et al.*, 2007; Wallensten *et al.*, 2007). Du fait de la prévalence élevée du portage viral chez les anatidés, ce mois apparaît comme particulièrement favorable à la présence des virus dans l'eau. En intégrant toutefois les données relatives à la densité de canards et à la salinité de l'eau, les étangs du système Vaccarès fourniraient les remises les moins contaminées en septembre.

### **5.2.3. Des différences de répartition possibles entre sous-types et cas particulier de H5N1 HP**

Dans cette étude, les virus influenza A ont été considérés comme une seule et même entité. Or la réalité est beaucoup plus complexe et les souches virales soumises à des conditions expérimentales données peuvent réagir très différemment. Par exemple, certaines

souches ne persistent pas à des concentrations salines supérieures à 15 g/L alors que d'autres ont leur optimum de salinité à 20 g/L (Brown *et al.*, 2008a). Il pourrait donc y avoir des profils distincts de souches virales selon les caractéristiques des différents sites en Camargue, déterminés notamment par la salinité. La persistance de deux souches HP H5N1, dont celle qui a été retrouvée chez des oiseaux sauvages, en Europe notamment, a été testée à 17 °C et 28 °C, avec (30 g/L) ou sans sel. La DT90 est de 20 jours à 30 g/L à 17 °C. La carte de possibilité de présence établie dans cette étude serait donc valable pour les virus HP H5N1.

### **5.3. Modélisation de la quantité maximale virale par site**

#### **5.3.1. Modélisation et réalité**

##### Une valeur probablement éloignée de la réalité

Les quantités virales ont été calculées afin de disposer d'estimations maximales pour chaque site. Les résultats sont certainement très éloignés de la réalité. Parmi les simplifications intégrées au modèle, la prévalence est considérée comme constante, ce qui signifie entre autre que chaque jour le nombre d'individus excréteurs est supposé constant. Le statut de l'individu (sain, infecté, immunisé), la durée d'excrétion et la quantité excrétée qui diffèrent selon les individus ou le moment de la contamination initiale ne sont pas pris en compte dans le calcul. La charge virale calculée par site est sûrement largement surestimée mais a l'avantage d'offrir une valeur quantitative correspondant à un seuil maximal. Les écarts entre valeurs réelle et estimée dépendent également de la précision avec laquelle sont connus les paramètres pris en compte dans le modèle et de leurs variations éventuelles : la concentration virale réelle pourrait ainsi être sous-estimée si la prévalence augmente par rapport au scénario de départ, comme cela a été constaté cet hiver où elle était le double des valeurs moyennes retenues. De même la quantité excrétée par jour par canard correspond à la valeur maximale trouvée dans la bibliographie mais pourrait être encore supérieure en réalité (Webster *et al.*, 1978).

La quantité virale maximale dépend également du volume d'eau à un endroit donné. Dans notre modèle, nous considérons que les virus excrétés se concentrent sur 1 cm de hauteur. On ne sait pas jusqu'à quelle profondeur peuvent diffuser les virus influenza A. Le fait que les canards de surface soient plus infectés que les canards plongeurs pourrait s'expliquer par une concentration virale plus élevée à la surface de l'eau. Il apparaît cependant que les virus de manière générale peuvent diffuser jusqu'à 67 m en profondeur (et donc sous cette hypothèse ce ne serait pas la différence de comportement alimentaire qui serait l'explication de la différence de prévalence observée entre les canards de surface et plongeurs) et sur 400 m de distance horizontale (Yates *et al.*, 1985). Les sites camarguais font plus de 400 m de largeur. La surface totale de la majorité d'entre eux est supérieure à la capacité de diffusion des virus à partir d'un point donné ce qui pourrait entraîner une sous-estimation de la quantité virale. Cependant, compte tenu du fait que les virus influenza peuvent probablement diffuser au-delà d'un cm en profondeur, le volume total de dispersion considéré dans le modèle est vraisemblablement inférieur au volume total contenant des virus.

La quantité virale dépend également de la durée de persistance des virus dans l'eau (DT90). Cet indicateur estime la durée au bout de laquelle 90 % des virus ne persistent pas dans l'eau. Cependant certains virus persistent parfois beaucoup plus longtemps jusqu'à 300 à

400 jours à 17 °C (Brown *et al.*, 2007a) alors que la DT90 est de 60-70 jours. Cela n'a pas été pris en compte dans cette étude. La durée de persistance varie beaucoup selon les souches et selon la température, la salinité et le pH. La valeur retenue dans notre modèle est la DT90 moyenne trouvée pour 12 souches de virus influenza faiblement pathogènes (Brown *et al.*, 2008a), mais celle-ci est plus ou moins élevée selon les souches. Des sous-types particuliers domineraient certaines années comme cela a été constaté en Amérique du Nord (Krauss *et al.*, 2004). Cela pourrait influencer la répartition spatiale et la quantité maximale possible des virus localement. Un tel niveau de précision, faute de données suffisantes, ne peut être envisagé. Le modèle postule une durée de persistance globale commune pour tous les sites mais il est probable qu'elle soit inférieure sur certains plans d'eau. Par exemple, l'effet de la salinité sur la persistance à des températures inférieures à 17 °C est inconnu.

#### Un écart à la réalité différent selon la période

La densité de canards est un paramètre important pour estimer la concentration virale dans l'eau. Il est souvent difficile d'avoir des estimations très précises des effectifs dans le cas d'espèces sauvages. En Camargue, des efforts importants sont effectués depuis plus de 30 ans pour recenser les oiseaux sur toute la Camargue que ce soit en avion ou à pied. Cependant, outre les erreurs d'estimations, le recensement effectué ne donne l'image que d'une répartition instantanée, qui peut varier selon les années, les mois, les jours. De plus, il est difficile de distinguer les canards hivernants des anatins qui sont juste en transit lors des périodes de migrations (migration automnale d'août à novembre et migration printanière de février à avril). Se surajoute à cela le manque total d'informations sur le nombre, les sites et les périodes de lâchés de canards colverts destinés à l'activité cynégétique.

L'écart à la réalité n'est donc pas le même selon la période. De septembre à novembre puis de février à mars, le passage de nombreux canards n'est pas pris en compte. De mars à août, la densité et la répartition des canards ainsi que la prévalence sont inconnues. La prévalence choisie a été celle trouvée fin février 2008 (8 %), mais elle est probablement inférieure d'avril à août. **C'est en décembre-janvier que l'écart à la réalité de la valeur trouvée est très probablement le plus faible.**

#### Les différents modèles et la réalité

La prise en compte dans le modèle de l'effectif maximal trouvé sur chaque site au cours des quatre années d'étude a pour objectif d'estimer la quantité virale maximale possible en hiver. Elle surestime cette valeur certaines années où le peuplement total sera plus faible et ne permet pas d'en décrire l'évolution. Elle peut également sous-estimer cette valeur, mais les effectifs durant l'hiver 2006-2007 ont été particulièrement élevés. Intégrer les effectifs de deux années particulières permet alors d'avoir une valeur peut-être moins éloignée de la réalité mais propose de fait une image instantanée de la répartition de la quantité maximale à un mois donné, et n'est pas forcément représentative d'une réalité moyenne opérationnelle. Les comptages par site disponibles des mois de janvier 2007 et 2009 sont corrélés avec ceux du peuplement total standardisé par la surface mais à 76 % seulement.

#### Interprétation de la valeur trouvée

Ainsi, la quantité virale maximale trouvée est sans doute assez éloignée de la réalité, surtout d'avril à août et cet écart ne peut être évalué. De septembre à mars, sur une vingtaine de sites, la charge virale est la plus élevée. Cependant il est probable qu'elle soit en fait bien inférieure. Elle dépend dans une large mesure du nombre de canards présents pendant

l'hivernage. Ainsi, la différence de la charge virale était en moyenne de 4000 EID50/mL entre janvier 2007 et 2009 pour les remises les plus importantes.

### 5.3.2. Comparaison à la dose infectieuse minimale nécessaire pour infecter des canards

La charge virale est très probablement maximale en décembre-janvier et minimale en mai-juin. Celle-ci peut être comparée à la dose infectieuse minimale nécessaire pour infecter expérimentalement des canards. Très peu de données bibliographiques sont disponibles pour ce point précis. Une dose de  $10^4$  EID50 d'un virus faiblement pathogène a été suffisante pour infecter des canards colverts par voie intra-trachéale (Webster *et al.*, 1978). Dans une autre étude, elle était de  $10^{4,7}$  EID50 sur des poulets exempts d'organismes pathogènes spécifiés ; les doses de  $10^{0,7}$  et  $10^2$  EID50 n'ont entraîné aucune excrétion (Lu et Castro, 2004). Ito *et al.* (1995) ont trouvé dans des points d'eau d'Alaska (Etats-Unis d'Amérique) des concentrations virales de  $10^{1,8}$  et  $10^{2,8}$  EID50/mL en été. Brown *et al.* (2007b) ont cherché à déterminer la dose minimale pour infecter des canards carolins avec la souche virale HP H5N1 (souche A/Whooper Swan/Mongolia/244/05 retrouvée chez les oiseaux sauvages en Europe notamment). La dose minimale testée ( $10^{1,5}$  EID50) a provoqué des signes cliniques et de la mortalité. Les auteurs extrapolent la dose infectieuse moyenne à  $10^{0,95}$  EID50/mL.

Actuellement, on ne sait pas quelle dose exacte induit l'infection : est-ce la dose ingérée en une seule fois ou une dose seuil accumulée sur plusieurs absorptions ? Il est donc difficile de savoir quelle concentration minimale est infectieuse. La concentration de  $10^4$  EID50/mL induit l'infection, mais n'est sûrement pas la dose infectieuse minimale. Dans notre modèle, la charge maximale possible de virus est supérieure à cette concentration sur 21 sites camarguais en janvier sur les quatre années cumulées. Elle est supérieure à ce seuil pour seulement 7 sites en janvier 2007 (représentant une année à fort effectif) et 3 sites en janvier 2009 (représentant une année à faible effectif). A partir de mai, sous les 3 *scenarii* testés (peuplement maximal, en 2006-2007, ou en 2008-2009), la quantité maximale virale possible est toujours inférieure à  $10^4$  EID50/mL.

La dose minimale trouvée sur les sites quelle que soit la période et pour les trois *scenarii* était supérieure à  $10^{1,8}$  EID50/mL, concentration mesurée dans l'eau par Ito *et al.* (1995). Elle était supérieure à  $10^{2,8}$  EID50/mL en hiver dans le modèle de peuplement maximal. Elle n'est jamais atteinte si on modélise les effectifs de 2008-2009, mais est supérieure du mois de novembre au mois de janvier avec les données d'effectifs de 2006-2007. Pour les remises, la quantité virale maximale possible est supérieure à ces deux seuils de septembre à mars. **Si on suppose que la concentration virale de  $10^{1,8}$  EID50/mL, trouvée dans l'eau en été par Ito *et al.* (1995) permet la transmission des virus d'un individu à l'autre dans les conditions naturelles, la circulation de souches FP serait possible en Camargue quelle que soit la période.**

## **5.4.Périodes d'introduction de nouvelles souches virales en Camargue et persistance possible dans l'eau**

### **5.4.1. *Influenza et migrations***

Les périodes de migration peuvent *a priori* promouvoir les échanges d'agents pathogènes. L'arrivée de nouveaux sous-types pourraient alors coïncider avec les flux migratoires (Hanson *et al.*, 2003). La prévalence constatée est ainsi plus élevée à l'arrivée des canards en septembre qu'au cours de l'hiver (Webster *et al.*, 1992 ; Krauss *et al.*, 2004 ; Olsen *et al.*, 2006 ; Lebarbenchon *et al.*, 2007 ; Munster *et al.*, 2007 ; Wallensten *et al.*, 2007) Les canards proviennent du nord et du centre de l'Europe, de Russie et de Sibérie. De nombreux anatinés transitent seulement en Camargue. De plus en automne, c'est essentiellement des jeunes canards non immunisés qui voyagent, ce qui pourrait expliquer le fait que la prévalence soit plus élevée en septembre (Stallknecht et Shane, 1988 ; Krauss *et al.*, 2004 ; Olsen *et al.*, 2006). En Camargue, la circulation virale est possible en septembre à l'exception probable des étangs du système Vaccarès où la salinité peut empêcher les virus de persister. La DT90 moyenne serait de 20 jours. A l'arrivée des oiseaux en août-septembre, il y aurait peu de virus déjà présents dans l'eau. **Ce serait donc des virus apportés par les oiseaux qui circulent dès septembre.**

Au cours de l'hiver, les oiseaux pourraient changer de quartiers d'hivernage. Cela a été démontré pour les sarcelles d'hiver : 20 % des sarcelles effectuent des déplacements entre différents quartiers d'hivernage (Pradel *et al.*, 1997 ; Guillemain, communication personnelle). Ces arrivées pourraient être à l'origine d'introductions continues de sous-types à une période où la circulation virale est fortement favorisée. Les quartiers d'hiver pourraient donc être également reliés d'un point de vue épidémiologique.

Au printemps, les conditions environnementales sont optimales pour la persistance des virus dans l'eau (salinité, température). Les virus circulent parmi les oiseaux sauvages en Afrique pendant la période hivernale (Gaidet *et al.*, 2008). Au printemps, lors de la migration des canards, des souches africaines pourraient être introduites en Camargue et y persister. De plus, la quantité virale serait encore assez élevée à cette période (*cf* figure 40 et 41). Les oiseaux pourraient donc se contaminer à partir de souches ayant persisté dans l'eau.

### **5.4.2. *Influenza et lâchés de canards colverts***

Les canards colverts sont lâchés à l'âge de 8 semaines essentiellement avant l'ouverture de la chasse (juillet-août). Ils sont donc libérés pendant la période la plus défavorable à la circulation virale (densité de canards et durée de persistance faibles). Les marais de chasse sur lesquels ils sont chassés ont une salinité faible. Ils restent le plus souvent groupés et fidèles au site où ils sont lâchés (ils y sont nourris le plus souvent) ce qui favorisent d'autant plus la transmission virale sur ces sites au sein de ces petits groupes. Les conditions de transmission des virus aux oiseaux sauvages ne sont donc pas optimales à cette période mais il est cependant très difficile de savoir ce qui est transmis à la faune sauvage et si les virus circulent encore à l'arrivée des canards sauvages.

Certains chasseurs lâchent des canards reproducteurs à la fin de l'hiver (mars) à une période où la persistance des virus dans l'eau est prolongée et le nombre de canards est encore

élevé. Le risque relatif à la transmission de nouveaux virus des oiseaux d'élevage à l'avifaune sauvage est donc accru à cette période .

On ne connaît pas la prévalence des virus influenza A chez ces canards d'élevage. Une étude est actuellement en cours en Camargue.

### **5.5. Proposition de protocole de surveillance des virus influenza A en Camargue à partir de prélèvements d'eau**

La transmission des virus influenza A d'un oiseau sauvage à l'autre se fait majoritairement par l'eau. Notre étude a permis de montrer que les conditions environnementales de la Camargue permettent cette transmission à tout moment de l'année. Les virus excrétés par les oiseaux peuvent persister plus ou moins longtemps dans l'eau, celle-ci ferait donc office de réservoir. On peut donc retrouver dans l'eau les sous-types circulants dans la faune sauvage.

La surveillance épidémiologique des maladies affectant la faune sauvage est souvent difficile à réaliser. La détection des virus influenza A chez les oiseaux sauvages peut s'opérer sur des animaux tués à la chasse, en capturant des oiseaux vivants ou en utilisant des oiseaux sentinelles. Une méthode complémentaire consisterait à procéder à des analyses de prélèvements d'eau ciblant les sites favorables (USDA, 2006).

La Camargue est une zone d'hivernage très importante pour les canards, mais hormis les élevages de canards pour la chasse, on n'y trouve pas d'élevages avicoles. Elle n'est donc pas classée comme une zone à risque pour l'apparition d'influenza aviaire hautement pathogène en élevage. Néanmoins étant également une zone de haltes migratoires, elle est une zone à risque d'introduction de formes hautement pathogènes dans l'avifaune. Elle est d'ailleurs une des zones du protocole de surveillance des virus influenza aviaires dans l'avifaune mis en place par l'ONCFS.

#### **5.5.1. Proposition de protocole de surveillance des virus H5 et H7**

##### Objectif

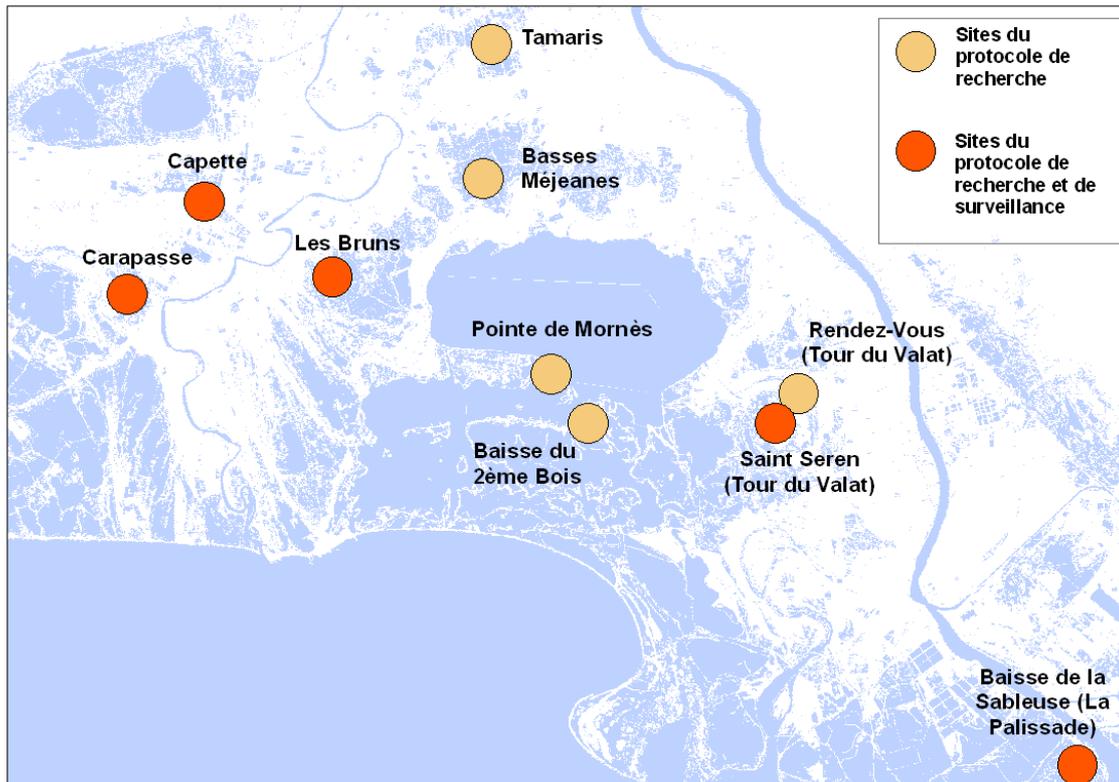
**Détection des virus influenza H5 et H7 dans l'avifaune sauvage en Camargue en vue d'un renforcement de la surveillance dans les élevages avicoles.**

##### Protocole

###### *- Choix des sites*

Afin d'optimiser la détection des virus, les sites choisis ont une salinité toujours inférieure à 20 g/L, et une densité de canards élevée. Les échantillons pourraient être prélevés sur cinq lieux ciblés. Par exemple, devraient être choisis, en dehors de toutes considérations d'accessibilités, les sites suivants: Saint Seren (Tour du Valat), Carapasse, Baisse de la Sableuse (La Palissade), les Bruns, Capette (sites correspondants aux points rouges sur la figure 44)

Figure 44: répartition des sites sur lesquels des prélèvements d'eau pourraient être effectués dans le cadre d'un protocole de recherche (en jaune et rouge) ou d'un protocole de surveillance des virus influenza A (en rouge) en Camargue



- Prélèvements

Trois échantillons de 50 à 500 mL selon la méthode analytique utilisée pourraient être effectués pour chaque site sélectionné dans des zones différentes. Il faudrait étudier cependant la répartition locale des canards et cibler trois endroits de prélèvements où les oiseaux sont les plus concentrés.

- Périodicité

La périodicité des prélèvements est définie selon les périodes à risque d'introduction des virus (cf tableau 10).

- Limites de la méthode

La prévalence des virus hautement pathogènes dans la faune sauvage est de manière générale très faible. Si le virus est introduit en Camargue, la prévalence chez les oiseaux sauvages serait probablement de l'ordre de  $10^{-7}$  à  $10^{-6}$ . La dilution pourrait être un facteur limitant de la détection des virus dans l'eau.

**Tableau 10: périodicité des prélèvements d'eau dans le cadre d'un programme de surveillance des virus influenza A en Camargue**

Mois	mi-août à fin octobre	début novembre à fin janvier	début février à fin avril	début mai à mi-août
<b>Gradation du risque</b>	<b>période à risque</b> (migrations)	risque faible (hivernage : densité de canards forte, peu de mouvements)	<b>période à risque</b> (migration)	risque très faible (période de reproduction : densité de canards très faible, peu de mouvements)
<b>Périodicité des prélèvements</b>	toutes les semaines	1 fois par mois	toutes les semaines	non nécessaire

### **5.5.2. Proposition de protocole de recherche**

Notre étude a montré que des virus influenza A pouvaient persister dans l'eau au moins 20 jours toute l'année en Camargue. La recherche des virus dans l'eau dans un cadre de recherche expérimentale pourrait donc apporter des informations primordiales pour mieux comprendre le cycle épidémiologique des virus influenza. Considéré sous cet angle, il est impossible d'estimer une prévalence, ou d'identifier les espèces touchées. Mais cette recherche permettrait d'analyser tous les sites sélectionnés, d'identifier tous les sous-types circulants et de connaître la quantité virale dans l'eau et cela tout au long de l'année. Le protocole de mise en place sur le terrain est relativement simple. De mars à août, la densité de canards est faible et il est donc plus difficile d'avoir un nombre d'individus échantillonnés élevés. Les prélèvements d'eau permettraient alors de savoir si la circulation virale est continue à cette période et son niveau d'intensité. De septembre à février, elle apporterait, en complément des prélèvements cloacaux réalisés actuellement, des informations sur la quantité de virus qui circule dans l'eau et les sous-types circulants. Les virus étant stables dans l'eau et surtout à cette période, tous les sous-types devraient être retrouvés. Cela pourrait également fournir des informations sur l'introduction d'éventuelles nouvelles souches : les deux périodes de migration constituent-elles des sources de nouvelles souches virales? Est-ce que les souches excrétées par les canards colverts d'élevage lâchés se retrouvent dans l'eau et pendant combien de temps? D'autres questions peuvent ici être envisagées: existent-ils des différences de répartition des sous-types par site? Quelles sont les facteurs pouvant déterminer cette répartition (salinité, pH, espèces)?

#### Protocole 1

- *Objectif*  
**déterminer la quantité virale et les sous-types viraux dans l'eau tout au long de l'année dans l'eau des sites camarguais déterminés comme favorables.**

- Choix des sites

Afin d'optimiser la recherche de virus influenza A dans l'eau, on pourra cibler les sites déterminés comme particulièrement favorables dans cette étude (indice de densité de peuplement élevé, salinité comprise entre 0 et 30 g/L). Les sites candidats pourront être les suivants: Saint Seren, Rendez-vous (Tour du Valat), Capette, Carapasse, Basses-Méjeanes, Baisse de la Sableuse (La Palissade), Les Bruns, Tamaris, Pointe de Mornès, Baisse du 2<sup>ème</sup> Bois (sites correspondants aux points rouges et oranges sur la carte sur la figure 44).

Selon la méthode d'analyse retenue, 50 à 500 mL d'eau par échantillon pourront être prélevés. Deux prélèvements par site pourront être effectués à deux endroits différents.

- Périodicité

Dans l'idéal, des prélèvements effectués tous les 15 jours permettraient d'avoir une bonne idée de la dynamique temporelle de la charge virale et des sous-types circulants.

Protocole 2

**Objectifs: étude de la répartition spatiale des sous-types de virus influenza en fonction de la salinité**

Les optimums de salinité étant différents selon les sous-types, on fait l'hypothèse que la répartition des différents sous-types sera influencée par la concentration en sel des plans d'eau étudiés.

Pour répondre à la question posée, les sous-types trouvés sur les sites dont la salinité est entre 15 et 30 g/L seront comparés à ceux trouvés sur les sites à salinité inférieure à 15 g/L.

Pour cela, ces sites doivent être comparables en procédant à des analyses du pH de l'eau, en répertoriant les densités en canards et en laridés. On fait ici l'hypothèse que les autres espèces d'oiseaux influencent très peu la quantité virale dans l'eau. Dans l'idéal, il faudrait une vingtaine de sites à comparer dans chaque catégorie définie sur la base des caractéristiques abiotiques et de l'avifaune des plans d'eau.

Les prélèvements pourront être effectués pendant la saison où la quantité virale est la plus forte dans l'eau.