

Pathocénoses et émergence des maladies transmissibles : un concept unificateur mis à l'épreuve sur des pathologies exemplaires

RESPONSABLE

Dominique Pontier

PARTENAIRES

- Equipe 1 – (pilotée par UMR-CNRS 5558 Lyon) –, **N. Bahi-Jaber**^{1,2} : post-doctorante 2006-2007 (*recrutée chercheur Institut Pasteur de Tunis en 2007*), **D. Fouchet**¹ : post-doctorant 2006-2007 (*recruté MdC en septembre 2008*), **M. Guiserix**¹ : doctorante (*thèse soutenue en juillet 2009*), **M. Langlais**³ : prof., **D. Pontier**¹ : prof., **F. Sauvage**¹ : MdC –: hantavirus, maladies du lapin et du lièvre, maladie de Carré, modélisation mathématique
- Equipe 2 – (pilotée par ONCFS - Nantes) – **S. Bertagnoli**⁴, **J.-S. Guitton**⁵, **G. Le Gall-Reculé**⁶, **S. Marchandeu**⁵ – : maladies hémorragiques virales des lagomorphes, myxomatose
- Equipe 3 – (pilotée par IRD-Mahidol University, CVVD-UR 178/ UMR 190, Thaïlande) – **P. Barbazan**^{7,9} : CR1, **J.-P. Gonzalez**^{7,8,9,*} : DR1, **P. Kittayapong**⁹ : prof., **M. Souris**^{7,9} : DR2– : dengue, encéphalite japonaise
- Equipe 4 – (pilotée par Institut Pasteur de Tunis) –, **A. Ben Sallah**², **K. Dellagi**^{2,*}, **H. Louzir**² –: leishmanioses, modélisation mathématique

Durée : 3 ans (2006-2008)

¹UMR-CNRS 5558 « *Biométrie et Biologie évolutive* », Université de Lyon, Univ. Lyon1, 43 Bd du 11 novembre 1918, 69622 Villeurbanne Cedex.

²Institut Pasteur de Tunis, 13, place Pasteur B.P. 74 1002 Tunis Belvédère, Tunisie

³Université Victor Segalen Bordeaux 2; IMB UMR CNRS 5251 & INRIA Bordeaux Sud Ouest projet Anubis, case 26, UFR Sciences et Modélisation, 146, rue Leo Saignat, 33076 Bordeaux Cedex.

⁴Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse, 23 Chemin des Capelles, BP 87614, 31076 Toulouse Cedex 03.

⁵Office national de la chasse et de la faune sauvage, Direction des études et de la recherche, 39 Bd Albert Einstein, CS 42355, F-44323 Nantes Cedex 3.

⁶Agence Française de Sécurité Sanitaire des Aliments (AFSSA), LERAPP, Unité de Virologie, Immunologie, Parasitologie Aviaires et Cunicoles, Zoopôle-Les Croix, BP 53, 22440 Ploufragan.

⁷Institut de Recherche pour le Développement, Emerging Viral Pathologies Research Unit (UR178 - UMR 190 IRD - Marseille Univ.).

⁸Centre International de Recherches Médicales de Franceville, Gabon.

⁹Center of Excellence for Vector & Vector Borne Diseases, Faculty of Sciences, Mahidol University Sciences bldg. 1-2, MU Salaya, 999 Phutthamonthon 4, Nakhonpathom 73170, Thailand.

La pathocénose : une approche globale des systèmes hôtes/parasites pour une meilleure compréhension des émergences de maladies infectieuses. Le cas du passage d'une infection non visible à l'apparition de la maladie grave.

Pontier D.¹, Guiserix M.¹, Fouchet D.¹, Sauvage F.¹, Bahi-Jaber N.², Louzir H.², Marchandau S.³, Guitton J.-S.³, Le Gall-Reculé G.⁴, Bertagnoli S.⁵, Barbazan P.⁶, Gonzalez J.P.^{6,7}

¹UMR-CNRS 5558 « *Biométrie et Biologie évolutive* », Université de Lyon, Univ. Lyon1, 43 Bd du 11 novembre 1918, 69622 Villeurbanne Cedex.

²Institut Pasteur de Tunis, 13, place Pasteur B.P. 74 1002 Tunis Belvédère, Tunisie

³Office national de la chasse et de la faune sauvage, Direction des études et de la recherche, 39 Bd Albert Einstein, CS 42355, F-44323 Nantes Cedex 3.

⁴Agence Française de Sécurité Sanitaire des Aliments (AFSSA), LERAPP, Unité de Virologie, Immunologie, Parasitologie Aviaires et Cunicoles, Zoopôle-Les Croix, BP 53, 22440 Ploufragan.

⁴Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse, 23 Chemin des Capelles, BP 87614, 31076 Toulouse Cedex 03.

⁶Institut de Recherche pour le Développement, Emerging Viral Pathologies Research Unit (UR178 - UMR 190 IRD - Marseille Univ.).

⁷Centre International de Recherches Médicales de Franceville, Gabon.

Introduction

Les infections qui intéressent les gestionnaires des populations et les médecines humaine et vétérinaire sont logiquement celles qui posent immédiatement un problème sanitaire, économique ou de conservation. Ainsi toute l'attention va être portée sur les agents infectieux qui provoquent des maladies sévères (mortelles ou très morbides), comme nous avons pu le voir au cours des derniers événements d'émergence de maladies (grippe aviaire, chikungunya, grippe A H1N1). Or, contrairement à ce qui est le plus souvent supposé, certains agents infectieux révélés par de soudaines épidémies ne sont pas nouveaux (dengue, néphropathie épidémique, syndromes pulmonaires aigus, RHDV). De plus, on assiste à la mise en évidence d'un nombre de plus en plus grand d'infections inapparentes qui semblent indiquer que les maladies ne sont que la partie visible d'un ensemble potentiellement beaucoup plus large d'agents infectieux qui circulent dans les populations d'hôtes. A la suite de Grmek (1969) qui a proposé le néologisme de « pathocénose »¹ pour désigner l'ensemble des maladies qui affectent une population à un temps donné, nous proposons de considérer les maladies comme la résultante de l'ensemble des infections en interaction dans une population hôte, qu'elles soient visibles (par exemple par des symptômes) ou non.

L'objectif de ce programme était de mettre en évidence, à travers l'étude d'infections exemplaires humaines et animales, des mécanismes qui permettent d'expliquer le passage d'une forme non visible d'une infection à l'émergence de la maladie. Nous avons apporté au concept de pathocénose une dimension dynamique et écologique, explicative de ses changements.

Dans cet article, nous nous focalisons sur les trois questions principales autour desquelles le projet s'est articulé :

¹ « pathocénose » signifie communauté de maladies. Grmek M. 1969. Préliminaire d'une étude historique des maladies », in *Annales E.S.C.*, 24, 1969, pp. 1437-1483.

- 1) Quel est le rôle de la dynamique des populations réservoirs ou vectrices, en lien avec les perturbations environnementales, dans le risque de passage de l'agent infectieux à l'homme ?
- 2) Comment la structure d'une population hôte va-t-elle influencer la circulation de l'agent ? Comment la perturbation de ce patron de circulation peut-elle influencer l'expression de l'infection associée et conduire à l'émergence d'une pathologie ?
- 3) Quelles conséquences peut avoir une immunité croisée, partielle ou non, acquise par l'hôte pour la circulation des différentes souches d'un même agent infectieux ? Comment ce type d'interaction entre souches va-t-il déterminer le patron de circulation et les événements épidémiques ?

Ces trois grandes questions ont été traitées au travers de l'étude de différentes maladies : hantaviroses, dengue, encéphalite japonaise, leishmanioses, maladies virales des lagomorphes, maladie de Carré. La structure du projet et la diversité des compétences des différentes équipes ont permis l'analyse d'un même phénomène – émergence et diffusion des maladies – par différents champs disciplinaires. Ainsi nous avons pu combiner trois grands types d'approche (expérimentation, observation et modélisation) pour l'étude des huit systèmes hôte-parasite.

1- Dynamique des populations réservoirs ou vectrices et risque de passage de l'agent infectieux à l'homme

Notre choix s'est porté sur deux systèmes pour traiter cette question.

Les **hantavirus** représentent un système intéressant dans la mesure où les cas de maladies humaines sont très localisés dans certaines régions, alors que le réservoir rongeur (*Myodes [Clethrionomys] glareolus*) est présent sur l'ensemble du territoire français. Or la démographie du réservoir diffère nettement entre les zones de contamination humaine, et celles indemnes de cas humains. Nous avons développé une double approche, expérimentale et théorique, visant à tester d'une part si le virus est présent dans les populations de rongeurs dans les zones exemptes de cas humain, d'autre part si la démographie du rongeur permet d'expliquer les cas humains.

Dans le cas des infections transmises par vecteurs, la dynamique d'infection chez l'homme va dépendre de celle de la population vectrice, elle-même dépendante des conditions environnementales. Dans le cas de la **dengue**, le comportement du moustique (fréquence des repas sanguins) et la vitesse de maturation du virus au sein de son organisme dépendent tous deux de la température. Nous avons cherché à quantifier l'effet d'un changement dans la température sur le nombre de piqûres infectantes par une population de moustiques.

1.1- Matériel et méthodes

Recherche du hantavirus dans les zones indemnes de cas humain

Des sessions de capture de rongeurs ont été réalisées entre 2006 et 2008 dans les Ardennes, dans 4 populations de campagnols roussâtres suivies à long terme dans la zone d'endémie de la néphropathie épidémique (NE). Ces captures permettent le suivi de la dynamique de la prévalence chez le réservoir.

A partir de 2008, nous avons étendu la prospection du hantavirus à la zone indemne de cas humain de NE pour tester l'hypothèse de circulation discrète du virus.

Modélisation mathématique du système hantavirus

Les modèles épidémiologiques utilisés dans ce programme sont des extensions directes des modèles de type SIR. Chaque modèle est adapté au système qu'il représente pour prendre en compte ses spécificités et s'adapter à la question posée. Dans le cas des hantavirus, le modèle est déterministe et combine deux sous-modèles, un pour les rongeurs et un pour l'homme.

Etude théorique de l'effet de la température sur la transmission de la dengue

L'effet de la température sur le pouvoir transmetteur de la dengue par une population de moustiques a été quantifié par un modèle simple décrivant le cycle de vie du moustique. Nous avons estimé comment la survie et les durées de cycle gonotrophique (temps de maturation du virus intra-moustique), directement liées à la température, affectent le nombre de repas sanguins.

1.2- Résultats et discussion

Sur les quatre sites suivis entre 2006 et 2008, le virus Puumala est régulièrement présent avec des prévalences pouvant être élevées (jusqu'à 50% au moment du pic démographique du rongeur) même dans la zone où l'incidence des cas chez l'homme est très faible (Augot et al. 2008). On met en évidence une reproduction hivernale des campagnols durant l'hiver précédant le pic de NE chez l'homme, qui n'est pas retrouvée les autres années. Ainsi la reproduction hivernale pourrait constituer un 'proxy' du risque épidémique chez l'homme (Augot et al. soumis).

La modélisation du système hantavirus/campagnol roussâtre (réservoir)/homme met en évidence qu'une excrétion massive de particules virales à la faveur d'une explosion démographique du réservoir pourrait être à l'origine de la contamination humaine. La synchronisation des infections chez les rongeurs associée à leur cyclicité démographique conduit à une excrétion simultanée par de très nombreux individus très infectieux, car en phase aigue de l'infection, et ainsi à une forte contamination du sol nécessaire à la contamination humaine (Sauvage et al. 2007). Des perturbations environnementales, en modifiant le patron démographique des populations de rongeurs, pourraient conduire à l'apparition de cas humains dans les zones classées non à risque (Sauvage et al. 2007, en cours).

Le risque infectieux pour l'homme peut également se trouver modifié lorsque les perturbations environnementales se répercutent sur les populations de vecteurs. L'étude d'un modèle simple reproduisant une population de moustiques *Aedes aegypti* vecteurs de la dengue nous a permis de montrer que sa capacité de transmission augmentait de façon quasi-exponentielle avec la température (Barbazan et al. accepté).

2- Structure de populations, circulation de l'agent et expression de la maladie

La maladie est souvent considérée comme un processus de « tout ou rien » (« tout » étant l'infection et « rien » son absence). Pourtant, l'infection par un même agent peut montrer une large diversité dans l'intensité des symptômes, allant de la forme bénigne (quasi-asymptomatique) à la maladie grave, voire mortelle. Plusieurs observations suggèrent une association entre circulation de l'agent infectieux et variabilité des symptômes. Par exemple, le suivi de populations de lapins (*Oryctolagus cuniculus*)

suggère que l'impact de la **myxomatose** en termes de mortalité serait plus important dans les populations fragmentées et de petites tailles (où le virus circule moins bien) que dans les grandes populations homogènes. Une grande fréquence d'exposition à *Leishmania major* semble associée à des formes plus sévères de **leishmaniose cutanée** chez l'homme. Nous avons étudié, à l'aide de la modélisation mathématique, différents mécanismes potentiellement impliqués dans l'expression d'un des deux patrons plutôt que l'autre dans chacune de ces pathologies. Les hypothèses que nous avons ainsi formulées suggèrent en outre des mécanismes plus généraux d'émergence que nous avons testés par la modélisation, l'un d'eux pouvant notamment expliquer l'apparition de la **maladie de Carré** chez le lion (*Panthera leo*).

Les résultats obtenus sur la **myxomatose** ont motivé la mise en place de protocoles expérimentaux et le suivi sérologique de populations sauvages de lapins pour valider les hypothèses du modèle. De plus, on s'est intéressé à l'effet de la structure des populations d'hôtes sur la circulation de l'agent infectieux ; dans cette idée, nous avons étudié les propagations de la **dengue** et de l'**encéphalite japonaise** en lien avec la structure de l'habitat à Vientiane (Laos).

2.1- Matériels et Méthodes

Etude par la modélisation mathématique des mécanismes impliqués dans la relation entre circulation et impact

Système myxomatose/lapin de garenne : le rôle de l'immunité des jeunes

Nous proposons d'expliquer le moindre impact de la myxomatose dans des populations où l'agent circule bien par une moindre gravité des infections chez les individus les plus jeunes, protégés par des anticorps maternels mais dont la mémoire immunitaire propre peut être activée. Le modèle utilisé dérive du modèle SIR classique, auquel on ajoute une classe d'individus protégés par ces anticorps maternels, et une classe d'individus présentant une maladie atténuée.

Leishmaniose cutanée : effet du taux d'exposition

L'étude théorique de la gravité de la leishmaniose cutanée chez l'homme a été menée à deux niveaux. Nous avons dans un premier temps développé un modèle déterministe de la circulation du pathogène *L. major* au sein des populations réservoir, vectrice et humaine tenant compte i) d'un gradient dans l'issue de l'infection (asymptomatique ou de sévérité variable) et dans la protection conférée par le système immunitaire (fonction de l'histoire infectieuse), ii) d'une relation entre la force d'infection (proportionnelle à la densité de vecteurs infectés) et la gravité des symptômes. Ce modèle permet de prédire, à l'échelle d'une population humaine, le nombre d'infection asymptomatique ainsi que le nombre de cas associés à différentes formes de la maladie en relation avec la dynamique des populations de rongeurs et de vecteurs.

Dans un second temps, nous avons essayé de décrypter les mécanismes immunitaires pouvant expliquer cette relation entre exposition et gravité de la maladie. Le modèle déterministe intra-hôte développé dans ce but formalise la dynamique de différenciation, de migration et de mort des différentes cellules du système immunitaire suite à l'infection par *L. major*. La particularité du modèle réside dans la prise en compte de chaque piqûre infectante de façon distincte des précédentes ; ceci de façon à modéliser le fait que les cellules effectrices ayant migré dans un site de piqûre donné ne peuvent participer à l'élimination du parasite dans d'autres sites. Chaque nouvelle piqûre se traduit par un système d'équations différentielles supplémentaire couplé aux précédents par la dynamique des cellules immunitaires circulantes et/ou présentes dans les ganglions. Le modèle, basé sur des équations

différentielles impulsives à retard, permet de prédire la dynamique de la réponse immunitaire consécutive à des piqûres infectantes multiples.

Maladie de Carré chez le lion : perte d'immunité de groupe

On peut généraliser le mécanisme proposé dans le système myxomatose/lapin par l'hypothèse selon laquelle l'impact d'une infection est limité lorsqu'une large part de la population est protégée contre l'infection. Lorsque l'infection induit une immunité durable des hôtes après guérison, cette protection peut-être acquise grâce à la circulation continue de l'agent infectieux. Au contraire, l'interruption de cette circulation peut entraîner la perte de la protection, et la rendre plus vulnérable à l'agent en cas de réintroduction. C'est le scénario que nous proposons pour expliquer l'émergence de la maladie de Carré chez le lion au Serengeti, et que nous testons à l'aide d'un modèle SIR stochastique.

Approche empirique

Suivi en nature des infections et réinfections de lapins par la myxomatose

Nous avons suivi pendant trois ans deux populations sauvages de lapins de garenne. Ces populations ont fait l'objet de captures régulières au cours desquelles l'animal est identifié, un prélèvement sanguin effectué pour une recherche d'anticorps et les signes cliniques de myxomatose sont relevés.

Suivi d'une cohorte d'individus dans des foyers de Leishmaniose cutanée

Une cohorte d'individus a été suivie pendant deux années consécutives. Un examen clinique ainsi qu'un test d'hypersensibilité retardé (LST) et la recherche de marqueurs immunologiques révélateurs de l'exposition au parasite ont été pratiqués avant et après chaque saison de transmission.

Séroconversion des jeunes protégés par des anticorps maternels et leur rôle épidémiologique

Pour les deux systèmes myxomatose et RHDV, des lots expérimentaux de lapereaux issus de mères vaccinées ont été éprouvés à différentes dates pour tester l'hypothèse d'une protection par les anticorps maternels, leur pouvoir transmetteur et le développement de leur propre immunité. On a de plus étudié le rôle transmetteur de lapins vaccinés contre la myxomatose et réexposés au virus (mise en contact avec des lapins naïfs 'sentinelles' pour mimer une transmission par contact direct).

Suivi de la séroprévalence IgG, IgM pour les flavivirus responsables de la dengue et de l'encéphalite japonaise selon la structure de l'habitat

Une enquête de séroprévalence a été réalisée en 2006 à Vientiane (Laos) sur près de 3700 individus pour étudier les infections anciennes (IgG) et récentes (IgM) par les deux flavivirus en lien avec la structure de l'habitat.

2.2- Résultats et discussion

La modélisation d'une protection contre la maladie grave par anticorps maternels qui permet l'activation d'une immunité propre a mis en évidence une réduction de l'impact de l'infection à forte circulation du pathogène (Fouchet et al. 2006). Ce résultat est donc cohérent avec les observations faites avec le système lapin-myxomatose (moindre impact de la maladie à forte densité). Parallèlement, les hypothèses de réinfections bénignes d'une part et d'une protection des jeunes par les anticorps maternels d'autre part sont appuyées par le suivi des infections récentes (IgM) et plus

anciennes (IgG) dans des populations de lapins touchées par la myxomatose. Ces phénomènes n'ont toutefois pas pu être confirmés par les manipulations expérimentales : la transmission des anticorps maternels n'a été obtenue ni pour le système lapin/myxomatose, ni pour le système lapin/RHDV. Une nouvelle expérience aura lieu avec un protocole vaccinal des mères renforcé pour un meilleur transfert d'anticorps aux lapins nouveau-nés. Enfin, l'expérience menée à ce sujet sur la myxomatose n'a pas permis de mettre en évidence un rôle transmetteur des individus vaccinés réinfectés expérimentalement.

Au-delà du système lapin-myxomatose, ces résultats montrent que le maintien de l'agent infectieux peut conférer une forme de protection à sa population hôte : la fragmentation des populations, entraînant la perte de l'agent, peut provoquer l'émergence de maladies graves en repoussant l'infection des hôtes à un âge où ils sont plus vulnérables à la maladie (Fouchet et al. 2007). Lorsqu'une infection induit une protection durable, la protection acquise par une population grâce à l'infection passée d'une grande partie de ses individus peut se trouver diminuée si la transmission se trouve empêchée : les individus protégés qui disparaissent du fait du renouvellement de la population sont remplacés par des individus sensibles, ce qui augmente la vulnérabilité de la population hôte. Ce mécanisme a été mis en évidence par notre modèle sur la maladie de Carré chez le lion (Guiserix et al. 2007).

L'effet de la circulation de l'agent infectieux sur la gravité de la maladie, que ce soit à l'échelle des individus ou à celle de la population, dépend toutefois fortement du système considéré : dans le cas où une plus forte charge infectieuse augmente le risque de maladie grave y compris chez les individus bénéficiant d'une protection immunitaire, une intense exposition à l'agent infectieux peut conduire à une forte prévalence de la maladie sévère. C'est ce que nous avons mis en évidence par la modélisation du système Leishmaniose cutanée zoonotique chez l'homme (Bahi-Jaber et al., à soumettre). Le modèle populationnel a permis de reproduire le patron épidémiologique observé sur le terrain ; à savoir une proportion d'affection asymptomatique élevée, des cas de sévérité modérée et peu de cas de récurrence dans les foyers à faible densité de rongeurs réservoirs de l'agent et, à l'inverse, une infection rarement asymptomatique chez les naïfs, des cas de lésions chez des individus immuns et de fréquentes lésions multiples dans les foyers à forte densité de rongeurs. Le modèle intra-hôte développé suggère, quant à lui, un mécanisme possible permettant d'expliquer la relation entre force d'infection et issue de l'infection. Si la réponse immune permet de contrôler la prolifération des parasites, même chez un individu naïf, lorsque la fréquence des piqûres infectantes est faible (ce qui permet d'expliquer la forte fréquence d'infection asymptomatique observée dans les foyers à faible force d'infection), la mobilisation des cellules effectrices n'est plus assez rapide pour contenir la prolifération lorsque les expositions sont fréquemment répétées (piqûres infectantes fréquentes) et peut entraîner des lésions chez des individus partiellement immunisés (Bahi-Jaber et al., à soumettre). Ce mécanisme, dont nous avons ainsi montré la pertinence pour la leishmaniose cutanée, est complètement original et pourrait être valable pour d'autres maladies.

Ces résultats illustrent l'importance de la structure de la circulation des agents infectieux dans leur population hôte. Un des grands facteurs structurant de ces populations est le développement croissant des sociétés humaines. Le suivi de l'encéphalite japonaise et de la dengue dans la ville de Vientiane (Laos) nous montre que l'hétérogénéité du niveau d'urbanisation se répercute sur la distribution spatio-temporelle des cas. Le suivi des séroprévalences montre que, en fonction de l'évolution de la structure de la population (formée d'individus majoritairement sédentaires au centre de la ville vs migrants en périphérie), l'intensité de la transmission va changer dans le temps et dans l'espace ; la séroprévalence élevée, marqueur de l'infection, se propage du centre vers la périphérie de la ville (Vallée et al. 2009).

3- Immunité partiellement croisée entre souches et patron épidémique

Certains agents infectieux comme le virus de la grippe montrent une diversité de souches plus ou moins proches génétiquement. Cette diversité pose la question de l'interaction entre souches. On distingue deux grands types d'interactions : une interaction directe, lorsque l'hôte est simultanément infecté par plusieurs souches, ou indirecte, *via* la mémoire immunitaire de l'hôte. C'est ce deuxième cas de figure qui sera traité ici.

Dans le cas de l'**encéphalite Japonaise** et de l'**EBHS**, les observations montrent la co-circulation de différents génotypes dans l'espace et dans le temps. Nous avons cherché à caractériser cette co-circulation et, dans le cas de l'EBHS, à comprendre par la modélisation sous quelles hypothèses l'émergence d'un nouveau génotype pouvait conduire à un impact plus élevé de la maladie.

L'exemple de la **RHD** chez le lapin est également intéressant car il montre la co-circulation de souches de virulences différentes. Par un travail de modélisation, nous avons cherché à comprendre comment la structuration génétique et spatiale des populations de lapins pouvait influencer sur le résultat de la compétition entre ces souches, et se traduire en termes de virulence et de patron épidémique. Parallèlement, nous avons cherché à tester expérimentalement l'existence d'une protection croisée entre les souches.

3.1-Matériel et méthodes

Approche empirique

Suivi des souches d'encéphalite japonaise (EJ) en Thaïlande

Nous avons réalisé une étude rétrospective de l'incidence et de la distribution spatiale des souches de virus de l'encéphalite japonaise (5 génotypes) qui ont circulé à l'échelle du territoire thaïlandais pendant 30 ans, isolées chez des porcelets sentinelles, des moustiques ou l'homme.

Caractérisation spatio-temporelle des génotypes d'EBHS en France

Nous avons utilisé les données du réseau d'épidémiologie-surveillance de la faune sauvage SAGIR pour avoir une image de l'impact des maladies chez le lièvre brun. L'analyse des tissus infectés a permis de séquencer partiellement les souches d'EBHSV et de réaliser les analyses phylogénétiques.

Suivi et typage des souches de RHDV en circulation et épreuve d'une protection croisée

Des lapins sains issus d'une animalerie (supposés naïfs du point de vue de toute infection), prévus pour servir de sentinelles auprès des populations sauvages dans le but de capturer les souches virales de RHDV en circulation, se sont révélés séropositifs. La recherche de souches apathogènes a été entreprise. Des lapins ayant séroconverti sans montrer de signe clinique de la maladie suite soit à une infection naturelle, soit à une infection expérimentale (lapins EOPS), ont été exposés aux souches virulentes de RHDV.

Modélisation de la co-circulation entre différentes souches

EBHS chez le lièvre brun : protection partiellement croisée et patron épidémique

Les observations sur la dynamique de remplacement des génotypes d'EBHSV et sur le patron épidémique associé (forte épidémie en 2004 avec émergence d'un nouveau génotype qui remplace progressivement les anciens) permettent de supposer une plus grande vulnérabilité des lièvres face à ce

génotype. Nous avons testé à l'aide d'un modèle stochastique de type SIR si cette vulnérabilité pouvait être le résultat d'une protection qui ne serait que partiellement croisée avec celle induite par les précédents génotypes, auxquels les lièvres étaient exposés jusque-là.

RHD chez le lapin : évolution de la virulence dans une population de lapins structurée spatialement

A l'aide d'un modèle de type SIR, nous avons étudié la compétition entre différentes souches de RHDV sous l'hypothèse d'une protection totalement croisée. Le modèle prend en compte la structure spatiale et génétique des populations de lapins et considère un compromis entre la durée de l'infection et la virulence en termes de mortalité induite, les souches plus virulentes étant également plus transmissibles. Le modèle est stochastique et intègre donc aussi l'extinction locale des souches et leur réintroduction comme pressions de sélection.

3.2- Résultats et discussion

On a mis en évidence que le génotype 3 de l'EJ était présent sur le territoire Thaïlandais depuis les années 1960 et qu'il a progressivement été remplacé par d'autres génotypes (2, 1), pour ne laisser place qu'au seul génotype 1 depuis presque 30 ans (Nitattapattana et al. 2008). Les études les plus récentes montrent une tendance régionale de remplacement d'un génotype par un autre. Une des hypothèses proposées met en cause le vaccin contre le virus de l'EJ préparé avec une souche du génotype 3 : la pression attendue sur le génotype 3 dans les populations humaines et animales a réduit l'incidence de ce génotype jusqu'à le faire disparaître dans certaines régions ; en contrepartie cette disparition semble avoir favorisé l'émergence du génotype 1 qui serait peu ou pas sensible à ce vaccin dans les conditions de campagnes vaccinales. Des analyses complémentaires de séries temporelles et spatiales des deux paramètres, génotype et couverture vaccinale, sont nécessaires pour préciser cette tendance et proposer de nouvelles stratégies vaccinales (Gonzalez et al., à soumettre).

Les données du réseau SAGIR sur le système lièvre brun/EBHSV ont montré une plus grande mortalité en 2004 que les années précédentes et une plus grande proportion des morts imputables à l'EBHS. Cette mortalité est associée à l'apparition d'un nouveau génotype qui semble se propager au moins au quart sud-est de la France (Guitton et al., à soumettre).

La modélisation de la circulation de souches induisant des protections partiellement croisées, motivées par ces observations, a mis en évidence des résultats qui prolongent ceux obtenus sur le rôle de la circulation (partie 2). Une protection faiblement croisée conduit à une endémie à forte prévalence avec une large part de la population qui est protégée à chaque instant. Les événements épidémiques sont alors rares et suivent des phénomènes de quasi-extinction de l'agent infectieux. A l'inverse, une protection fortement croisée réduit les chances de persistance de l'agent et permet des flambées épidémiques plus fréquentes (Guiserix 2009). Ces résultats permettent de supposer que si ce mécanisme est effectivement impliqué dans le patron observable dans le système lièvre brun-EBHS, la protection entre souches serait plutôt fortement croisée. Cette hypothèse reste toutefois à confirmer par la modélisation de la structure spatiale des populations d'hôtes, qui permettra de tester si l'on retrouve une propagation des souches cohérente avec les données.

L'étude du système lapin-RHD montre l'importance de la circulation de l'agent sur la compétition entre ses souches. Une transmission aisée dans une population (*e.g.* dans une métapopulation où les sous-populations sont fortement connectées) favorise la sélection de souches plus virulentes, capables d'y persister grâce à un accès rapide à des individus sensibles (Fouchet et al. 2009). De manière plus étonnante, le même type de résultat est obtenu lorsque les sous-populations sont petites et faiblement connectées car ces souches très virulentes sont plus compétitives que les autres, aucune n'étant capable

de persister à long terme (Fouchet et al. 2009). La sélection de souches très virulentes est accompagnée de flambées épidémiques suivies d'une extinction locale de ces souches. A l'opposé, les souches avirulentes, lorsqu'elles sont sélectionnées, persistent longtemps et à l'état endémique. La diversité génétique de la population hôte entraîne une fragmentation supplémentaire de la population hôte disponible pour chaque souche, et se traduit globalement par la sélection de souches moins virulentes.

La séroconversion inattendue des lapins sentinelles en animalerie a confirmé l'existence de souches de RHDV apathogènes (Le Gall-Reculé et al., à soumettre). La poursuite du protocole a confirmé l'absence de pathogénicité de cette souche et a montré que les anticorps dirigés contre cette souche ne protégeaient pas contre les souches sauvages, tous les lapins séropositifs ayant succombé aux infections de RHD acquises *in natura* et également par épreuve virulente en laboratoire. Cette étude aborde le problème de l'immunité croisée entre souches de manière très partielle et nécessiterait d'être complétée sur un plus large éventail de souches. L'analyse des séquences virales isolées chez les lapins séropositifs a révélé la coinfection des lapins par au moins deux souches différentes. La séquence génétique de la souche apathogène caractérisée entièrement montre qu'elle est proche d'une souche isolée en Grande-Bretagne et supposée à l'époque très pathogène. Elle a également été identifiée chez des lapins de garenne à différents endroits en France.

Conclusion - perspectives

Structuré par deux grands types d'approches : études approfondies de maladies exemplaires et réflexions transversales sur des mécanismes généraux (Gonzalez et al. soumis, Pontier et al. 2009) autour de la pathocénose, ce projet a permis d'acquérir une vision globale d'un ensemble de mécanismes connus ou suspectés qui participent au processus d'émergence des maladies et à la pathocénose résultante.

Pour plusieurs des systèmes étudiés l'émergence était précédée de la circulation non détectée de la maladie (RHDV, EBHS, leishmanioses, CDV). Déjà Charles Nicolle² avait attiré l'attention sur la circulation cryptique des agents pathogènes et sur le rôle essentiel que pouvait avoir ce phénomène dans l'apparition des maladies, leur maintien et quelquefois leur disparition. Les exemples que nous avons traités montrent que ces phénomènes d'émergence peuvent être expliqués par divers mécanismes alternatifs aux hypothèses classiquement invoquées (franchissement d'une barrière inter-espèce ou augmentation de la virulence intrinsèque de l'agent infectieux). Ces mécanismes se sont souvent révélés transversaux, notamment à travers les similitudes que nous avons observées entre les différents systèmes modèles. Ces résultats – empiriques, théoriques et expérimentaux – permettent une meilleure compréhension des types de changements environnementaux qui présentent un risque de mener à l'émergence de nouvelles pathologies (par exemple, des perturbations météorologiques dans le cas des hantaviroses, Cf. partie 1, ou la fragmentation de la population hôte suite à celle de son habitat dans le cas d'une maladie atténuée chez les jeunes, Cf. partie 2). En particulier, il paraît désormais évident que la non détection de maladie ne signifie pas l'absence d'infection (voir résultats expérimentaux sur la RHD, partie 3), ni l'absence de risque épidémique (exemple de la maladie de Carré ou de la leishmaniose cutanée, partie 2).

Ces conclusions ont des conséquences importantes pour la gestion des maladies infectieuses. Tant que l'infection est assimilée à la maladie (voire à la maladie grave), la prévention de cette dernière passe

² Nicolle C. Destin des maladies infectieuses. Leçons du Collège de France. 1932-1933.

largement par l'évitement de l'agent infectieux, comme en témoignent les campagnes de vaccination ou l'utilisation actuellement très répandue de lotions antibactériennes. Pourtant, certains de nos résultats (portant par exemple sur la myxomatose, Cf. partie 2 ; voir aussi Fouchet et al. 2008) montrent qu'une bonne circulation de l'agent infectieux peut être bénéfique à sa population d'hôtes, en maintenant à un niveau élevé sa protection contre les formes sévères de l'infection. Dans ces cas précis, il pourrait être intéressant de renforcer la transmission, plutôt que de lutter contre elle. Toutefois, la pertinence de telles mesures dépend fortement des spécificités du système géré, *e.g.* du risque pour les individus immunisés de développer une maladie grave ou du type d'interaction entre différentes souches en co-circulation (Cf. modélisations de la leishmaniose et de l'évolution du RHDV, parties 2 et 3).

Le volet expérimental du projet, visant à préciser nos connaissances sur ces divers aspects de l'interaction hôte-parasite dans plusieurs des systèmes que nous avons étudiés, représente donc un enjeu majeur et devra être poursuivi. En particulier il ressort de nos travaux que la compréhension de l'expression en termes de symptômes d'un parasite doit intégrer une bonne connaissance de sa variabilité génétique, de ses formes apathogènes et de leur rôle épidémiologique.

Les résultats obtenus et leur généralisation à d'autres systèmes hôtes/parasites démontrent qu'il y a désormais besoin d'analyser et de définir des politiques de santé publique dans un contexte de communautés parasitaires qui évoluent dans un environnement, et de prendre en compte les interactions entre parasites à l'intérieur des hôtes. Pour relever le challenge du pluri parasitisme indispensable à la compréhension de la pathocénose et de ses changements, nous pouvons nous appuyer sur la compréhension des mécanismes sous-jacents aux expressions observées des relations un hôte-un parasite, comme nous l'avons fait dans le cadre de ce projet, et sur les descriptions de plus en plus nombreuses des effets des interactions entre différentes espèces (ou génotypes, voire souches) de parasites à l'échelle des populations d'hôtes. Ces deux approches complémentaires, l'une classique, axée sur l'étude de relations un hôte-un parasite, et l'autre nouvelle, à l'échelle des communautés d'hôtes et de parasites, doivent être liées, ce qui nécessite maintenant de développer une approche mécanistique de l'écologie et de l'évolution des communautés de parasites.

De ce dialogue entre expérimentation et travaux théoriques, menés sur plusieurs systèmes et par le prisme de disciplines scientifiques différentes, pourront émerger de nouvelles pistes de réflexion pour appréhender des mécanismes d'émergence originaux.

Publications citées

Augot D., Sauvage F., Boue F., Bouloy M., Artois M., Demerson J. M., Combes B., Coudrier D., Zeller H., Cliquet F., Pontier D. 2008. Spatial and temporal patterning of bank vole demography and the epidemiology of the Puumala hantavirus in northeastern France. *Epidemiology and Infection* 136(12): 1638-1643.

Augot D., Sauvage F., Muller D., Caillot C., Demerson J.-M., Boué F., Cliquet F., Pontier D. Unusual breeding season of rodents during winter and prediction of the NE. (soumis).

Bahi-Jaber N., Boussoffara T., Louzir H. Role of the frequency of infected bites in the development of cutaneous leishmaniasis due to *L. major* (à soumettre).

Bahi-Jaber N., Ben Salah A., Chlif S., Louzir H. Predicting the epidemiological pattern of Zoonotic Cutaneous Leishmaniasis : a modeling approach. (à soumettre)

- Barbazan P., Guiserix M., Boonyuan W., Tuntaprasart W., Pontier D., Gonzalez J.P. 2010. Modeling the effect of temperature on transmission of dengue. Accepted dans *Medical and Veterinary Entomology*.
- Fouchet D., Marchandeau S., Bahi-Jaber N., Pontier D. 2007. The role of maternal antibodies in the emergence of severe diseases as a result of fragmentation. *J. R. Soc. Interface* 14 : 479-489.
- Fouchet D., Marchandeau S., Langlais M., Pontier D. 2006. Waning maternal immunity and the impact of diseases: the example of myxomatosis in natural rabbit populations. *J. Theor. Biol.* 242(1): 81-89.
- Fouchet, D., Le Pendu, J., Guitton, J.S., Guiserix M., Marchandeau, S., Pontier, D. 2009. Evolution of RHDV in a spatially and genetically heterogeneous rabbit population. *J. Theor. Biol.* 257 (2): 212-227.
- Fouchet D., O'Brien J., Pontier D. 2008. Visiting sick people: is it really detrimental to our health?, *PLoS One* (3): 81-89.
- Gonzalez J.-P., Guiserix M., Sauvage F., Guitton J.-S., Vidal P., Bahi-Jaber N., Louzir H., Pontier D. The Pathocenosis: A New Paradigm for an Integrated Ecology of Infectious Diseases (soumis).
- Guiserix M. 2009. Mécanismes d'émergence des maladies infectieuses : étude par la modélisation du rôle de la protection de groupe, dans les populations hôtes homogènes ou structurées spatialement. Thèse Université Lyon 1, 246p + annexes.
- Guiserix M., Bahi-Jaber N., Fouchet D., Sauvage F., Pontier D. 2007. The canine distemper epidemic in Serengeti : are lions victims of a new highly virulent CDV strain, or is pathogen circulation stochasticity to blame ? *J. Roy. Soc. Interface* 4 (17): 1127-1134.
- Guitton J.-S., Le Gall-Reculé G., Zwingelstein F., Portejoie Y., Marchandeau S., Guiserix M., Pontier D. Emergence and spreading of a new EBHSV genotype in French wild hare (*Lepus europaeus*) populations (à soumettre).
- Le Gall-Reculé G., Zwingelstein F., Fages M.-P., Bertagnoli S., Gelfi J., Aubineau J., Roobrouck A., Lavazza A., Marchandeau S. Characterisation of a non-protective and a non-pathogenic infectious rabbit haemorrhagic disease-like virus (à soumettre).
- Nitatpattana N., Dubot-Pérès A., Ar Gouilh M., Souris M., Barbazan P., Yoksan S., de Lamballerie X., Gonzalez J.P. 2008. Changes in Japanese encephalitis genotype incidence in Thailand. 2008. *Emerging Infectious Diseases.* 14 (11): 1762-1765.
- Pontier D., Guiserix M., Fouchet D., Sauvage F., Gonzalez J.-P. 2009. Emergence of infectious diseases: when hidden pathogens break out. *C. R. Biologies* 332(2-3): 321-328.
- Sauvage F., Langlais M., Pontier D. 2007. Predicting the emergence of human hantavirus disease using a combination of viral dynamics and rodent demographic patterns. *Epidemiol. Infect.* 135: 46-56.
- Vallée J., Dubot-Pérès A., Ounaphom P., Sayavong C., Bryant J., Gonzalez J.-P. 2009. Spatial distribution and risk factors of dengue and Japanese encephalitis virus infection in urban settings: The case of Vientiane, Lao PDR. *Tropical Medicine & International Health*, 14 (9): 1134-1142.

Autres publications

- Wolf C., Sauvage F., Pontier D., Langlais M. 2006. A multi-patch model with periodic demography for a bank vole – hantavirus system with variable maturation rate. *Math. Population Studies*, 13:153–177.
- Gonzalez J.-P., Barbazan Ph., Baillon F., Capelle J., Chevallier D., Cornet J.-P., Fournet F., Herbreteau V., Hugot J.-P., Le Gouilh M., Leroy E., Mondet B., Nitatpattana N., Rican S., Salem G., Tuntrapasarat W., Souris M. 2007. Fundamentals, domains and diffusion of disease emergence: Tools and strategies for a new paradigm. *In Encyclopedia of infectious diseases*, Edited by Michel Tibayrenc ISBN 0-471 Copyright © 2000 Wiley (Imprint), Inc. 32 pp.
- Nitatpattana N., Singhasiwanon P., Honda K., Sutee Y., Barbazan P., Andrianasolo H. & Gonzalez JP. 2007. Potential association between Dengue Haemorrhagic Fever incidence and Land Surface Temperature from computation of NOAA satellite image, Thailand, 1998. *Southeast Asian J Trop Med Public Health*. 38(3):427-33.
- Ouakad M., Bahi-Jaber N., Chenik M., Dellagi K., Louzir H. 2007. Selection of endogenous reference genes for gene expression analysis in *Leishmania major* developmental stages. *Parasitology research* 101(2):473-7.
- Ouakad M., Chenik M., Ben Achour-Chenik Y., Louzir H., Dellagi K. 2007. Gene expression analysis of wild *Leishmania major* isolates: identification of genes preferentially expressed in amastigotes. *Parasitol Res* 100(2):255-64.
- Reithinger R., Dujardin J. C., Louzir H., Pirmez C., Alexander B., Brooker S. 2007. Cutaneous leishmaniasis. *Lancet Infect Dis* 7(9):581-96.
- Bahi-Jaber N., Fouchet D., Pontier D. 2008. Stochastic extinction and the selection of the transmission mode in microparasites. *J. Roy Soc. Interface* 5(26):1031-9.
- Barbazan P, Tuntrapasart W, Souris M, Demoraes F, Nitatpattana N, Boonyuan W, Gonzalez JP. 2008. Assessment of a new strategy, based on *Aedes aegypti* (L.) pupal productivity, for the surveillance and control of dengue transmission in Thailand. *Ann Trop Med Parasitol*. 102(2):161-71.
- Barbazan P, Palabodeewat S, Nitatpattana N, Gonzalez JP. 2008. Detection of Host Virus-Reactive Antibodies in Blood Meals of Naturally Engorged Mosquitoes. *Vector Borne and Zoonotic Diseases*. 2008 Oct 30. [Epub ahead of print]
- Guitton J.-S., Devillard S., Guenezan M., Fouchet D., Pontier D., Marchandean S. 2008. Vaccination of free-living juvenile wild rabbits (*Oryctolagus cuniculus*) against myxomatosis improved their survival. *Preventive Veterinary Medicine* 84:1-10.
- Lakhal-Naouar, Y. B. Achour-Chenik, Y. Boublik, M. Meddeb, A. Aamouri, A. Fattoum, H. Louzir and M. Chenik 2008. Identification and characterization of a new *Leishmania major* specific 3'nucleotidase/nuclease protein. *Biochem Biophys Res Commun* 375(1):54-8.
- Fouchet D., Guitton J.-S., Marchandean S., Pontier D. 2008. Impact of myxomatosis in relation to local persistence in wild rabbit populations: the role of waning immunity and the reproductive period. *J. Theor. Biol.* 250 (4), 593-605.
- Pontier D., Fouchet D., Bahi-Jaber N., Poulet H., Guiserix M., Natoli E., Sauvage F. 2009. When domestic cat (*Felis silvestris catus*) population structures interact with their viruses. *C.R. Biologies* 332(2-3), 321-328.