



HAL
open science

Le rôle des formes infracliniques dans l'émergence des infections vectorielles ? L'apport des investigations de terrain

Harold Noël

► **To cite this version:**

Harold Noël. Le rôle des formes infracliniques dans l'émergence des infections vectorielles ? L'apport des investigations de terrain. Santé publique et épidémiologie. Université Paris Saclay (COMUE), 2019. Français. NNT : 2019SACLS357 . tel-02977761

HAL Id: tel-02977761

<https://theses.hal.science/tel-02977761>

Submitted on 26 Oct 2020

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

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

Le rôle des formes infracliniques dans l'émergence des infections vectorielles? L'apport des investigations de terrain

Thèse de doctorat de l'Université Paris-Saclay
préparée à l'Université Paris-Sud

École doctorale n°570 EDSP Santé publique
Spécialité de doctorat: Santé publique – Epidémiologie

Thèse présentée et soutenue à Saint-Maurice, le 29 octobre 2019, par

Harold Noël

Composition du Jury :

Laurence Meyer PU-PH, Université Paris Sud (– Inserm U1018)	Présidente
Pierre-Yves Boëlle PU-PH, Médecine Sorbonne Université (–UMR S 1136)	Rapporteur
Arnaud Fontanet PU, Ecole Pasteur/Cnam	Rapporteur
Olivier Bouchaud PU-PH, Université Paris 13	Examineur
Syria Laperche PU-PH, Institut national de la transfusion sanguine	Examinatrice
Jean-Claude Desenclos Directeur scientifique, Santé publique France	Directeur de thèse
Henriette de Valk Médecin épidémiologiste, Santé publique France	Co-encadrante de thèse

Remerciements

C'est pour moi la partie de ce mémoire de thèse la plus délicate à écrire. L'épidémiologie m'a appris que la causalité est difficile à déterminer. Aussi, je sais que ma thèse est le résultat d'innombrables rencontres multiples et heureuses. C'est pourquoi je prie ceux ou celles qui ne se retrouveront pas dans ces lignes de bien vouloir d'avance m'en excuser...

Tout d'abord, je voudrais remercier Jean-Claude Desenclos mon directeur de thèse. J'ai à ma mesure essayé de faire honneur à sa rigueur scientifique et à sa vision du rôle social et politique de l'Agence dans laquelle j'ai la chance de travailler. Merci de m'avoir laissé apprendre de mes erreurs, car c'est d'elles que l'on apprend le plus...

Comment remercier Jet de Valk à la vraie hauteur de son soutien et de sa contribution ? Ce travail de thèse n'aurait jamais abouti sans son encadrement infailible. J'ai la chance d'avoir pour modèle et guide une experte de la Santé publique qui rassemblent une combinaison si unique de qualités humaines, managériales et scientifiques qu'elles tire le meilleur de tous ceux et toutes celles qui travaillent sous son patronage.

Je dois aussi remercier chacun et chacune de mes incroyables collègues de l'unité infections vectorielles, alimentaires et zoonoses et, en particulier, Marie-Claire Paty qui m'a permis de prendre le temps précieux dont j'ai eu besoin pour réaliser ce travail de thèse. Merci également aux collègues de la Direction des maladies infectieuses pour avoir supporté mon humeur du matin qui sera, je le promets, plus agréable à l'avenir. Un merci spécial aux bons génies qui se sont penchés avec bienveillance sur mon berceau de jeunes épidémiologistes : Véronique Vaillant, Elizabeth Couturier, Alain Moren et Delphine Antoine.

Je n'oublie pas le Professeur Alfred Spira à qui je dois d'avoir découvert l'épidémiologie, Wilfried van Pelt pour m'avoir appris à utiliser la créativité que j'ai essayé d'incorporer dans ce travail de thèse.

Je remercie aussi l'ensemble des scientifiques avec qui j'ai travaillé à la fois au CNR des arbovirus de l'IRBA Marseille, au CHU de Toulouse, dans l'unité de modélisation mathématiques de l'Institut Pasteur, dans le regretté CNEV ou encore le Laboratoire Interactions Hôtes-Pathogènes-Environnements du CNRS Perpignan. Une pensée pleine de gratitude pour mes collègues en région qui eux font la véritable épidémiologie de terrain sur laquelle je m'appuie. Je remercie également la culture citoyenne des professionnels qui œuvrent à la santé individuelle et publique ainsi que les patients et personnes qui ont accepté de participer à ces études et investigations...

Je tiens à remercier la Professeure Laurence Meyer qui sans hésiter m'a fait le grand honneur de présider le jury de cette thèse de doctorat. Je remercie les Professeurs Arnaud Fontanet et Pierre-Yves Boëlle dont la relecture minutieuse et critique aura amélioré aussi bien le titre que la présentation des concepts et résultats présentés dans ce manuscrit ; Les examinateur·rice, les Professeur·e·s Syria Laperche et Olivier Bouchaud qui ont su avec la richesse de leur expertise ouvrir la discussion de la soutenance de cette thèse.

Il me reste à remercier mes nombreux amis et amies qui se reconnaîtront, sans eux, je n'aurais pas tenu le coup. Enfin, je remercie ma famille qui a fait de moi ce que je suis... Merci !

Table des matières

Table des matières.....	5
Table des illustrations	8
Liste des abréviations	9
Productions scientifiques issues du travail de thèse	11
Chapitre 1. Introduction	11
1.1 Contexte et justification.....	11
1.2 Hypothèses et objectifs de la thèse	22
1.3 Démarche méthodologique et plan général	23
Chapitre 2. Cadre conceptuel : veille sanitaire et maladies infectieuses émergentes.....	25
2.1 Principes de la veille sanitaire des infections émergentes en France	25
2.2 Signalement spontané de phénomènes sanitaires	27
2.3 Veille évènementielle et scientifique	28
2.4 Systèmes de surveillance	32
2.4.1 Maladies à déclaration obligatoire	34
2.4.2 Les Centres Nationaux de Référence et réseaux de laboratoires.....	35
2.4.3 Dispositifs de surveillance spécifiques complémentaires	36
2.4.4 Surveillance non spécifique.....	37
2.4.5 Lien avec la surveillance de l'environnement, de la santé animale et de la sécurité sanitaire des aliments et de l'eau	38
2.5 Recherche opérationnelle et émergences	39
2.6 Limites et rôle de la veille sanitaire traditionnelle dans la détection des infections émergentes à proportion élevée de formes infracliniques	40
Chapitre 3 : Approches méthodologiques appliquées.....	42
3.1 Définitions et identification des cas infracliniques d'infections émergentes: infections asymptomatiques, pré-symptomatiques et inapparentes.....	42
3.2 Facteurs et déterminants de la fréquence des cas infracliniques d'infections émergentes 44	
3.3 Approches visant à identifier des cas infracliniques d'infections émergentes.....	47
3.3.1 Etudes de séroprévalence communautaires	47
3.3.2 Dépistage ciblé des personnes exposées	48
3.3.3 Suivi séro-épidémiologique après exposition à un risque infectieux émergent.....	50
3.4 Approches visant à évaluer la contribution des cas asymptomatiques à la dynamique de	

l'émergence	52
3.4.1 Analyses de dépendance spatiale entre cas symptomatiques et asymptomatiques ...	52
3.4.2 Reconstruction de la chaîne de transmission la plus probable par modélisation	53
3.4.3 Place de la modélisation mathématique dans l'exploration de la contribution des cas asymptomatiques à l'émergence.....	53
Chapitre 4 : Revue de la littérature sur l'estimation de la fréquence des infections asymptomatiques humaines de chikungunya	57
4.1 Introduction	57
4.2 Méthodes.....	60
Critères d'éligibilité.....	60
Stratégie de recherche bibliographique	61
Sélection des études.....	61
Evaluation critique des références	62
Extraction des données	62
Analyse et Synthèse des données.....	63
4.3 Résultats.....	66
Sélection des études.....	66
Description des études	66
Estimations de la proportion des infections à CHIKV asymptomatiques.....	68
Méta-analyse et méta-régression.....	69
4.4 Discussion	74
Conclusion	77
Annexe : Stratégie de recherche Pubmed : prévalence per- ou post-épidémique et proportion d'infections asymptomatiques de chikungunya	82
Chapitre 5 : Etude de séroprévalence de la dengue mise en œuvre à Nîmes en 2015 dans les suites d'une épidémie : implications pour l'évaluation de risque d'émergence de la dengue en France métropolitaine	84
5.1 Introduction	84
5.2 Méthodes.....	85
5.3 Résultats.....	88
Séroprévalence de la dengue	88
Distribution spatio-temporelle des cas.....	89
Reconstruction de la chaîne de transmission	91
Vraisemblance de la proportion observée de cas asymptomatique de dengue.....	91

5.4	Discussion	92
Chapitre 6 : Emergence de la bilharziose urogénitale en Corse du Sud : trouver les cas asymptomatiques pour prévenir l'endémisation		
6.1	Introduction	95
6.2	Méthodes.....	97
	Dépistage national de la bilharziose urogénitale.....	97
	Dispositif de recensement des cas autochtones de bilharziose urogénitale	97
	Estimation de la taille de l'épidémie et évaluation du dépistage national	98
6.3	Résultats.....	99
6.4	Discussion	99
Chapitre 7 : Discussion.....		
	Annexes	110
	Annexe 1: "Large outbreak of urogenital schistosomiasis acquired in Southern Corsica, France: monitoring early signs of endemicization?"	111
	Annexe 2: "Dengue serosurvey after a 2-month long outbreak in Nîmes, France, 2015: was there more than met the eye?"	138
Bibliographie.....		
		157

Table des illustrations

Liste de figures

Figure 1 : Maladies infectieuses émergentes ou réémergentes chez l'humain, 2008-2018.....	12
Figure 2 : La pyramide d'adaptation des pathogènes à l'homme (adapté de [16])	15
Figure 3 : Illustration de l'intérêt de la détection, de l'investigation et de la réponse précoces, réactives et coordonnées aux épidémies (haut) sur l'impact préventif (bas)[21].....	19
Figure 4 : Représentation schématique de la veille sanitaire des maladies infectieuses émergentes	27
Figure 5 : Sources de la veille sanitaire événementielle, médiatique et scientifique	30
Figure 6 : Classification et définitions des infections infracliniques, adapté de Ten Bosch <i>et al.</i> [27]	44
Figure 7 : Processus de transmission du modèle SIR.....	54
Figure 8 : Diagramme de flux de la revue systématique de la littérature selon la procédure PRISMA et de l'Institut Joanna Briggs	67
Figure 9 : Méta-analyse de la proportion d'infections à virus chikungunya asymptomatiques issues d'études de séroprévalence per- et post-épidémiques publiées jusqu'en 2018.....	69
Figure 10 : Méta-analyse par sous-groupe de génotype viral de la proportion d'infections à virus chikungunya asymptomatiques	71
Figure 11 : Courbe épidémique (A) et distribution spatiale des cas (B), étude de séroprévalence de la dengue, Nîmes, France, 2015.	90
Figure 12 : Reconstruction de la chaîne de transmission, étude de séroprévalence de la dengue, Nîmes, France, 2015.....	92
Figure 13 : Localisation des sites de baignades de la rivière Cavu et spécimens de <i>Bulinus truncatus</i> , Corse-du-Sud, J. Boissier CNRS Perpignan- UMR 5244, France.....	97
Figure 14 : Nombre de sérologie anti-schistosome réalisées (A) et positives en Western Blot <i>Schistosoma</i> (B) par semaine de prélèvement, 2011-2015.	100
Figure 15 : Les stades épidémiologiques de l'émergence	106

Liste des tableaux

Tableau 1 : Surveillance des maladies émergentes étudiées dans le cadre de la thèse, France métropolitaine, 2019.....	33
Tableau 2 : Modèles univariés de méta-régression de la proportion d'infections asymptomatiques à CHIKV. Coefficients, écart-type, significativité (valeur-p) et intervalles de confiance à 95% de l'association entre les potentiels modificateurs de l'effet et la proportion d'infections asymptomatiques à CHIKV (n = 27 estimations ponctuelles).	70
Tableau 3 : Modèles bivariés de méta-régression de la proportion d'infections asymptomatiques à CHIKV. Coefficients, écart-type, significativité (valeur-p) et intervalles de confiance à 95% de l'association entre les potentiels modificateurs de l'effet d'intérêt et la proportion d'infections asymptomatiques à CHIKV (n= 27 estimations ponctuelles).....	73
Tableau 4 : Répartition par âge, sexe et catégorie socioprofessionnelle des participants à l'étude et de la population de référence, séroprévalence de la dengue à Nîmes, France, 2015	89

Tableau 5 : Critères biologiques des définitions de cas de bilharziose urogénitale autochtone, 2014.....98

Liste des abréviations

Anses : Agence nationale de sécurité sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et du travail
ARS : Agence Régionale de Santé
CDC : Centre étasunien de Prévention et de Lutte contre les maladies
CHIKV : virus chikungunya
CID : Clinical Infectious Disease (journal officiel de la Société Etasunienne d'infectiologie)
CMI : Clinical Microbiology and Infection (journal officiel de la Société Européenne de microbiologie clinique et d'infectiologie)
CNR : Centre National de Référence
DENV : virus de la dengue
DGAI : Direction Générale de l'Alimentation
DGS : Direction Générale de la Santé
DO : Déclaration Obligatoire
ECDC : Centre européen de Prévention et de Lutte contre les maladies - European Centre for Diseases prevention and Control
ECSA : Lignée Afrique Centrale-Est et Sud - East-Central-South-African
ELISA : Dosage immuno-enzymatique - Enzyme-Linked ImmunoSorbent Assay
Emerg Infect Dis : Emerging Infectious Diseases (journal scientifique du CDC)
Eurosurv. : Eurosurveillance (journal scientifique de l'ECDC)
HCSP : Haut Conseil de la Santé publique
Ig : Immunoglobuline
INGARCH: processus à hétéroscédasticité conditionnelle autorégressif généralisé à valeurs entières – integer-valued generalized autoregressive conditional heteroscedastic process
Insee : Institut national de la statistique et des études économiques
IOL : Lignée de l'Océan Indien - Indian Ocean Ligneage
JID : Journal of Infectious Disease (journal officiel de la Société Etasunienne d'infectiologie)
MMI : Médecine et Maladies Infectieuses (organe d'expression de la Société de Pathologie Infectieuse de Langue Française)
MMWR : Morbidity and Mortality Weekly Report (bulletin du CDC)
OMS : Organisation mondiale de la Santé
PCR : Amplification en chaîne par polymérase - Polymerase chain reaction
ProMED : Programme de surveillance des maladies émergentes - Program for Monitoring Emerging Diseases - www.promedmail.org/
REML : Restricted Maximun Likelihood - méthode du maximum de vraisemblance restreint
WB : Western Blot

Succo T - Noël H, Nikolay B, Maquart M, Cochet A, Leparc-Goffart I, Catelinois O, Salje H, Pelat C, de Crouy-Chanel P, de Valk H, Cauchemez S, Rousseau C. Dengue serosurvey after a 2-month long outbreak in Nîmes, France, 2015: was there more than met the eye?. *Euro Surveill.* 2018;23(23):pii=1700482. <https://doi.org/10.2807/1560-7917.ES.2018.23.23.1700482>. Accepté le 30 Novembre 2017.

Noël H, Ruello M, Maccary A, Pelat C, Sommen C, Boissier J, Barré-Cardi H, Fillaux J, Termignon JL, Debruyne M, Chyderiotis G, Durand J, Ramalli L, Chiappini JD, Malfait P, Berry A. Large outbreak of urogenital schistosomiasis acquired in Southern Corsica, France: monitoring early signs of endemicization? *Clin Microbiol Infect.* 2018 Mar;24(3):295-300. doi: 10.1016/j.cmi.2017.06.026. Accepté le 22 Juin 2017

Productions scientifiques issues du travail de thèse

Chapitre 1. Introduction

1.1 Contexte et justification

Dans les années 1970, la prédiction de la « fin de la guerre contre les maladies infectieuses » était une idée répandue en médecine moderne [1, 2]. S'inscrivant dans la théorie de la transition épidémiologique, selon laquelle les maladies chroniques devaient totalement éclipser les maladies infectieuses dans les pays industrialisés, cette prédiction semblait avoir été confirmée par les avancées de la biomédecine et de la santé publique. Des succès indiscutables comme l'éradication de la variole par la vaccination ou l'entrée dans l'ère des traitements antibiotiques semblaient lui donner raison [3, 4].

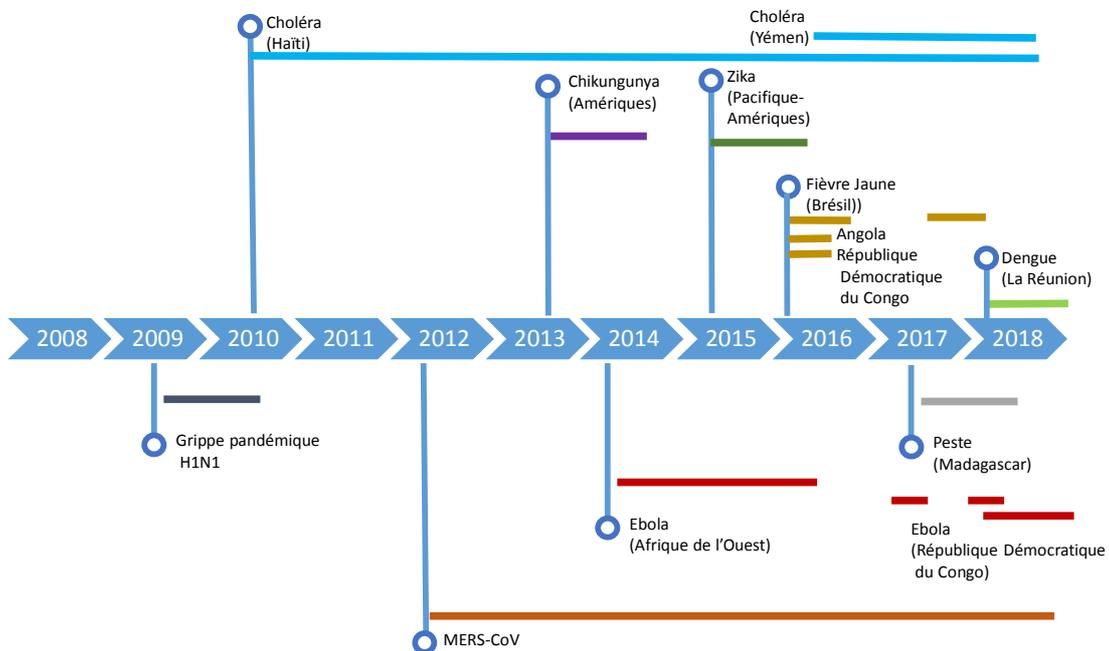
Les maladies infectieuses dites « émergentes », au premier rang desquelles figure la pandémie de VIH/SIDA détectée dans les années 1980, ont apporté un démenti si définitif à cette prédiction qu'il est devenu difficile d'en retrouver l'auteur [5, 6]. Le virus de l'immunodéficience humaine est l'exemple d'une « émergence réussie »[7]. Les deux types du VIH, VIH1 et VIH2, tirent leur origine de l'Afrique centrale coloniale du début du XX^e siècle, où des virus de l'immunodéficience simienne (SIV) sont vraisemblablement passés à l'hôte humain du fait de la consommation de primates chez qui ils circulaient. L'adaptation du VIH à l'hôte humain aurait été initialement favorisée par des chaînes de transmission résultant de vastes campagnes d'utilisation de seringues, avant de d'aboutir à la sélection et la diffusion souches épidémiques et pandémiques par le biais d'une transmission sexuelle soutenue[8].

De façon analogue au VIH avec lequel il partage une phase d'infection chronique silencieuse, le virus de l'hépatite C (VHC) n'a été identifié qu'en 1989 alors qu'il était déjà une des principales causes de décès par

cirrhose ou carcinome hépatocellulaire[9]. Le VHC aurait en fait circulé sans être détecté pendant plusieurs décennies par voie percutanée, essentiellement par injections non- sécurisées et par transfusion. Avec la mise en place de mesure de contrôle du risque transfusionnel à partir de 1992, la transmission du VHC s’est poursuit essentiellement par l’usage de drogues intraveineuses et dans une moindre mesure la transmission verticale ou encore voie sexuelle lors de co-infection avec le VIH.

Si dans la dernière décennie des maladies infectieuses émergentes sont devenues une préoccupation croissante des professionnels de santé et du public (figure 1), leur multiplication pouvait déjà être décelée en 1940 [2]. Plusieurs maladies infectieuses émergentes ont récemment été qualifiées d’urgence sanitaire de portée internationale par l’OMS, la dernière en date étant la fièvre Zika, une maladie à transmission vectorielle [10].

Figure 1 : Maladies infectieuses émergentes ou réémergentes chez l’humain, 2008-2018



Plusieurs définitions des maladies infectieuses émergentes existent, mais de façon générale elles sont

définies comme (i) des infections dont l'incidence ou l'étendue géographique augmente rapidement, ou (ii) des infections non-identifiées jusque-là [11, 12].

Le Journal du Centre étasunien de Prévention et de Lutte contre les maladies (CDC), nommé « Emerging Infections Diseases », a choisi une définition qui inclut un critère d'augmentation, attendue dans un futur proche ou observée dans les deux dernières décennies, de l'incidence de la maladie étudiée[11].

Pour Santé publique France, l'Agence nationale de Santé publique française, une émergence est un phénomène infectieux (ou présumé comme tel) inattendu, en référence à ses propriétés intrinsèques ou aux connaissances de sa biologie, touchant l'homme, l'animal ou les deux. Un groupe hétérogène de situations clinico-épidémiologiques entre dans la définition d'une émergence comme :

- Une entité clinique d'origine infectieuse nouvellement apparue ou identifiée ;
- Une entité pathologique infectieuse connue dont l'incidence augmente dans un espace ou dans un groupe de population donné ;
- Une modification qualitative et/ou quantitative des caractéristiques de l'agent, de la maladie, de la population touchée et de son environnement.

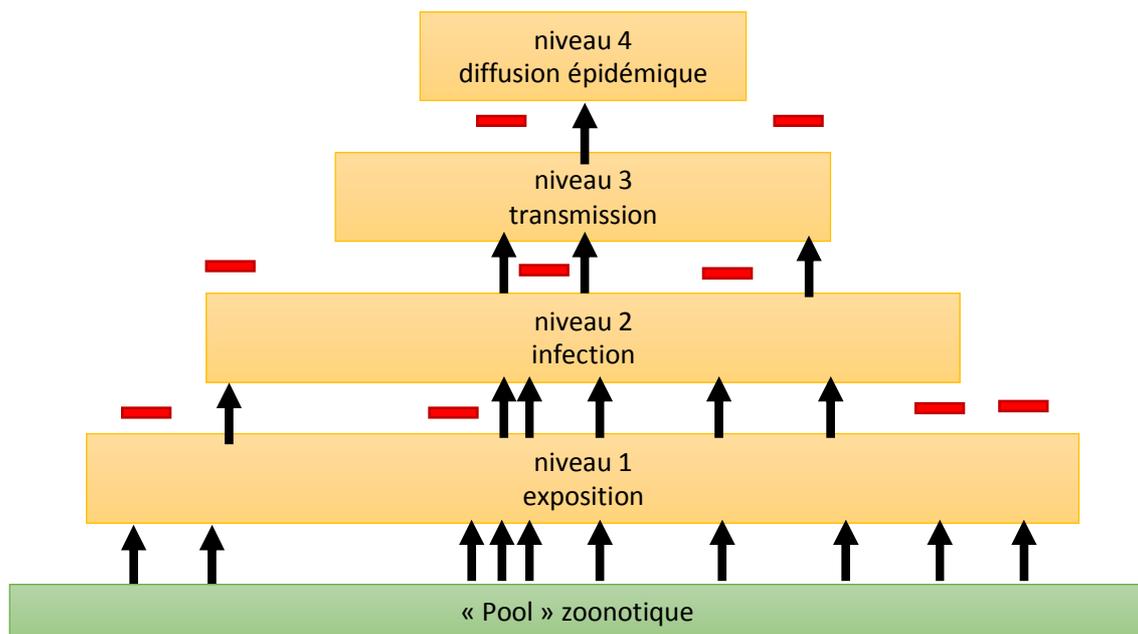
Cette définition souligne l'importance de l'évolution comme mécanisme d'émergence d'infections émergentes. L'émergence survient quand un agent infectieux a évolué de telle sorte à s'adapter à une nouvelle niche (en l'occurrence, l'hôte humain), utiliser une nouvelle voie de transmission, acquérir davantage de virulence ou de transmissibilité, ou encore une résistance aux antibiotiques. Dans le mécanisme d'adaptation des agents infectieux aux êtres humains, les agents infectieux ont des avantages naturels certains en premier lieu un temps de réplication plus court ou, pour les virus à ARN un taux de mutation élevé, et la possibilité d'échanger et de recomposer leur matériel génétique [13, 14].

Le programme étasunien de prévention des menaces émergentes pandémiques – USAID Emerging

Pandemic Threats Program–, a estimé que près de 75% des infections émergentes ou ré-émergentes touchant l'humain au début du XXI^e siècle sont d'origine zoonotiques [15]. Le concept de « pool zoonotique », décrivant l'ensemble des nouveaux agents pathogènes présents chez l'hôte animal qui menace d'émerger chez l'humain [12], pourrait être placé à la base de la pyramide des agents pathogènes [16], présentée dans la figure 1. Dans cette pyramide, chaque étage correspond à une étape dans l'évolution d'un agent transmissible d'origine animale en pathogène adapté à l'homme, allant de l'exposition à la dissémination épidémique ou pandémique. Ce modèle proposé par Wolfe *et al.* apporte la structure théorique à la base de ce travail de thèse.

Figure 2 : La pyramide d'adaptation des pathogènes à l'homme (adapté de [16])

Chaque niveau représente un degré d'interaction toujours plus étroit entre pathogènes et humains, allant de l'exposition à la transmission épidémique. A chaque niveau les pathogènes sont sélectionnés positivement (progression au niveau suivant figurée par une flèche) ou négativement par des barrières biologiques ou écologiques (barre horizontale).



Le premier niveau de la pyramide est l'*exposition*, autrement dit, la rencontre entre un agent transmissible d'origine animale (mammifère ou aviaire) et l'hôte humain. La ou les voies de transmission (piqûre d'arthropode, aliments, morsure par un mammifère, contact direct ou indirect via l'environnement...) et la fréquence des expositions sont déterminées pour un système écologique donné. Les pathogènes peuvent passer soit (i) directement d'un réservoir animal à l'humain (ii), via un hôte animal intermédiaire jouant le rôle d'amplificateur, comme les primates pour le virus Ebola, ou (iii) via un hôte intermédiaire chez qui la population de pathogènes gagne en variabilité génétique, comme le porc qui sert de « creuset »

pour la recombinaison de souches de virus de la grippe d'origine humaine et aviaire [17]. Pour les maladies émergentes vectorielles, ce passage d'espèce requiert l'intervention un « vecteur » défini par l'OMS comme un organisme vivant pouvant transmettre des maladies infectieuses entre humains ou d'animaux à humains [18]. L'OMS inclut dans sa définition aussi bien les moustiques, les vecteurs de maladie les plus connus, les tiques, les mouches, les phlébotomes, les puces, les triatomes que certains escargots d'eau douce. Une revue des définitions les plus communes suggère qu'une définition plus appropriée d'un point de vue évolutif combinerait la nécessité pour le vecteur de se nourrir des fluides de l'hôte (microprédateur) et, pour le pathogène, d'alterner entre vecteur et hôte (caractère séquentiel) [19]. Toutefois, ce travail de thèse relevant de la santé publique, la définition proposée par l'OMS a été retenue. A ce niveau, une approche écologique permet de prendre en compte les nombreux déterminants de l'émergence qui peuvent avoir leur origine dans la dynamique des populations animales ou humaines, les comportements humains et leur évolution, le développement économique et sociétal, les échanges internationaux, les conflits, l'utilisation des sols et l'empiètement sur l'habitat naturel, les contacts inter-espèces, le changement climatique et les modifications des écosystèmes...

Le deuxième niveau (*infection*) est celui du « passage de la barrière d'espèce ». Il est constitué d'un sous-groupe de pathogènes sélectionnés par leur capacité à infecter l'hôte humain. C'est le domaine privilégié de la microbiologie (moléculaire et évolutive), qui permet d'analyser et de comprendre les adaptations du pathogène qui lui ont permis d'entrer et de se multiplier dans l'hôte, et de la physiopathologie (immunopathologie) qui décrit les variations de susceptibilité et de résistance de l'hôte à l'infection.

Au troisième niveau (*transmission*), on retrouve des pathogènes qui en plus de leur capacité à infecter l'humain, ont acquis celle de se transmettre d'un humain à l'autre de façon directe (contact avec les muqueuses des voies aériennes supérieures, génitales ...) ou indirecte (ex : par un aliment contaminé ou par la médiation d'un vecteur). C'est le domaine des sciences qui étudient l'interaction entre hôte et

pathogène. Certains comportements humains peuvent à eux seuls être responsables de la transmission interhumaine comme la transfusion ou les actes chirurgicaux pour les infections nosocomiales ou historiquement le cannibalisme pour le Kuru.

Le quatrième et dernier niveau de cette pyramide inclut un groupe plus restreint de pathogènes suffisamment transmissibles pour causer des épidémies voire des pandémies ou se maintenir chez l'humain en devenant endémique, sans besoin de la persistance d'un contact avec le réservoir animal initial. Cette étape-clef se caractérise en terme épidémiologique par un taux de reproduction de base $R_0 \geq 1$. Le paramètre R_0 est défini comme le nombre moyen de cas secondaires résultant de l'introduction d'un cas primaire dans une population naïve pour une infection donnée et dans laquelle aucune mesure de contrôle est appliquée [20]. Il dépend de la durée de l'infectiosité chez la personne infectée, de la probabilité de transmission pour un contact entre un sujet infecté et un sujet indemne, et du taux de contacts entre les individus constitutifs de la population étudiée. Pour un même pathogène, la valeur de R_0 peut varier de façon substantielle d'une population donnée à l'autre. Au sein d'une même espèce de pathogènes, des sous-espèces distinctes peuvent avoir des R_0 sensiblement différents, certains agents infectieux pouvant acquérir lors de leur évolution la capacité de causer des épidémies de taille plus importante.

Théoriquement, la valeur du R_0 d'un pathogène du troisième niveau sera inférieure à 1, seuil en deçà duquel la transmission s'éteint progressivement même sans intervention au sein de la population touchée. On comprend donc l'intérêt en Santé publique d'identifier rapidement et de promouvoir les actions collectives et les comportements qui permettent de faire passer le taux de reproduction observé de R_0 à une valeur de $R_{observé} < 1$.

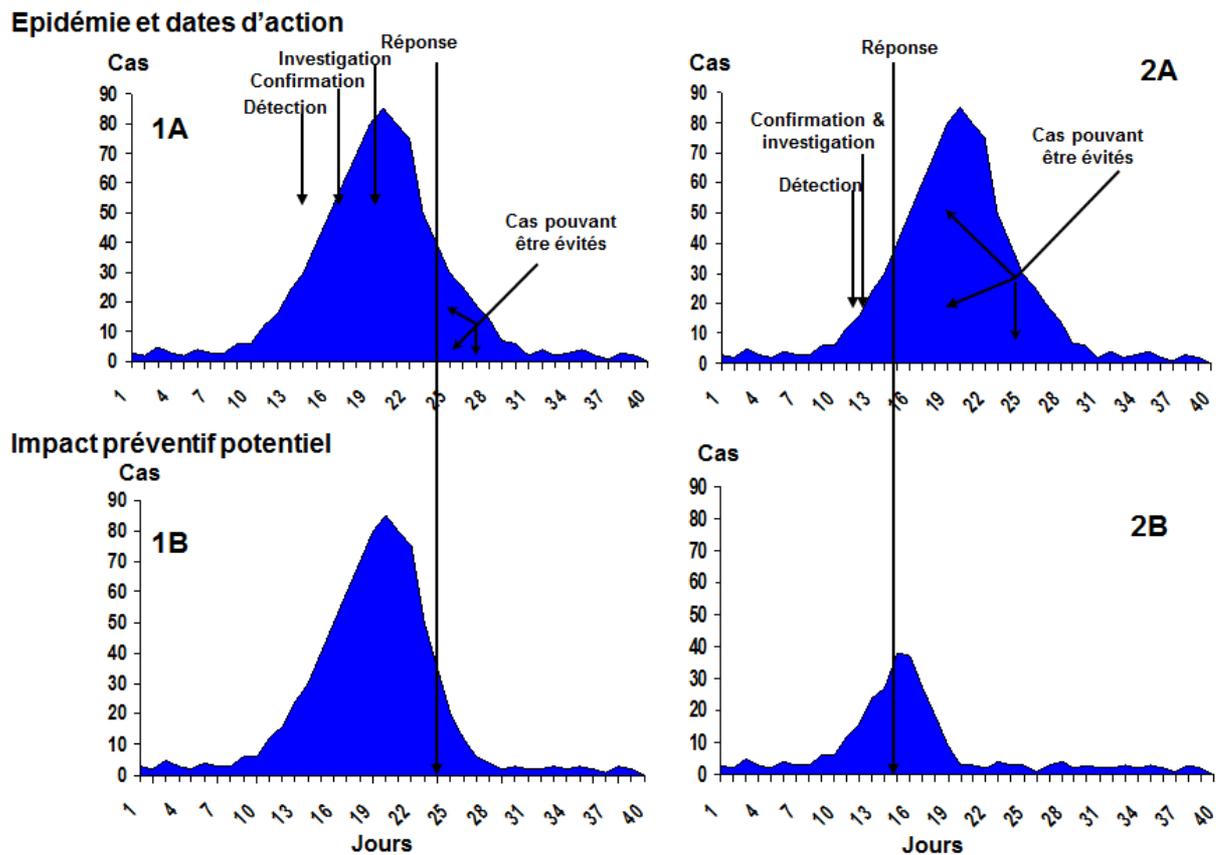
En Santé publique, il importe donc de pouvoir détecter le passage d'une infection émergente entre le troisième et quatrième niveau dès les premières chaînes de transmission interhumaine. En mettant en

œuvre une investigation et une réponse adaptées avant le passage à une transmission interhumaine efficace ($R_0 > 1$), on peut théoriquement obtenir un impact préventif maximum, comme illustré Figure 3. D'où la notion d'urgence sanitaire qui accompagne les infections émergentes. L'épidémiologie de terrain comme « ensemble de méthodes de collecte et de traitement de l'information pour permettre une action de santé publique envers les populations humaines et animales » est la déclinaison de l'épidémiologie la plus adaptée à l'étude des infections émergentes [21]. Par ailleurs, les spécificités de l'épidémiologie des maladies infectieuses vectorielles doivent être prises en compte comme l'existence possible d'une source commune, la notion d'histoire naturelle de l'infection (incubation, contagiosité), le rôle de vecteurs et le recours à la surveillance et à la modélisation comme méthodes de recueil et d'analyse de données. L'épidémiologie de terrain permet de :

- détecter le passage à la transmission interhumaine efficace (épidémiologie descriptive et modélisation des dynamiques de transmission) ;
- identifier les leviers de la prévention et de la lutte contre la maladie (épidémiologie analytique) ;
- évaluer l'efficacité des interventions mises en œuvre (épidémiologie évaluative).

Figure 3 : Illustration de l'intérêt de la détection, de l'investigation et de la réponse précoces, réactives et coordonnées aux épidémies (haut) sur l'impact préventif (bas)[21]

Dans la situation (1A), l'impact préventif potentiel de la détection relativement tardive est limité (1B). Dans la situation d'une détection précoce, une confirmation, une investigation et une réponse réactives et coordonnées (2A), l'impact préventif potentiel sera beaucoup plus important comme indiqué dans le panneau 2B [22].



L'épidémiologie de terrain devant souvent répondre simultanément à plusieurs objectifs, elle repose sur la mise en œuvre de différents types d'études observationnelles ou d'activités relevant de la surveillance, de l'investigation, de la modélisation, de la recherche appliquée et de l'évaluation de l'impact des interventions mises en place.

Si l'épidémiologie de terrain constitue l'approche privilégiée d'acquisition des connaissances pour la maîtrise des infections émergentes, un certain nombre de questions méthodologiques et théoriques restent ouvertes :

1. Une approche écologique identifiant directement, dans le pool zoonotique, les pathogènes candidats à l'émergence ne permettrait-elle pas d'obtenir un impact préventif bien supérieur à celui de l'épidémiologie de terrain qui par nature reste sur un mode réactif [23, 24] ? Cette approche s'appuierait sur les avancées techniques de la biologie et écologie évolutive et l'exploitation des « big data ». Cette promesse peut-être encore trop optimiste ne pourrait-elle pas plutôt éroder la confiance du public et des décideurs quant à la capacité du corps scientifique à guider la prévention des maladies [25] ?
2. Le niveau de preuve des résultats d'études d'épidémiologie de terrain appliquées aux infections émergentes est-il suffisant pour une décision en santé publique fondée sur des faits probants ? Comment tirer le maximum de ces études observationnelles conduites dans l'urgence pour formuler des recommandations adaptées ?
3. Les cas asymptomatiques, ne constituent-ils pas un « point aveugle » de l'épidémiologie de terrain appliquée aux infections émergentes ? En particulier pour les maladies infectieuses émergentes, l'étude des cas asymptomatiques peut permettre de mieux en apprécier la transmissibilité t et l'ampleur de la transmission. Cette dernière question est le fil conducteur du présent travail de thèse.

La place des infections asymptomatiques dans la dynamique des infections émergentes humaines, c'est-à-dire celle où l'infection ne se traduit pas par des symptômes, n'a suscité que peu d'intérêt de recherche dans la perspective de la transmission en médecine et en épidémiologie. En témoigne l'introduction relativement récente, en 2011, du terme « Asymptomatic Infections » dans le thésaurus MeSH (Medical Subject Headings) de la bibliothèque nationale de médecine des Etats-Unis (NLM). Le terme « Communicable

Diseases, Emerging », lui, a été introduit dès 2001. Une requête dans PubMed croisant ces deux termes n'a permis de retrouver que 6 références (articles ou revues)¹ abordant de façon générale la question des cas asymptomatiques d'infections émergentes.

Cependant, les infections asymptomatiques peuvent constituer une part non-négligeable de cas à la source de la transmission interhumaine. Pour contrôler une nouvelle épidémie d'infections à transmission interhumaine directe, la part de la transmission qui a lieu avant l'apparition de symptômes cliniques manifestes ou du fait d'infections asymptomatiques pourrait être un élément aussi important que la transmissibilité du pathogène, estimée par le taux de reproduction de base R_0 [26].

Pour les autorités sanitaires souhaitant contrôler une maladie vectorielle émergente, il semble donc important de mettre en œuvre des mesures qui prennent en compte sa part de cas asymptomatiques. En effet, les cas asymptomatiques peuvent contribuer de façon substantielle à la transmission, comme ce qui est décrit et attendu pour la dengue [27]. N'étant pas ciblés directement par les mesures de contrôle, ils peuvent en diminuer l'efficacité. A l'inverse, une fois qu'ils ont perdu leur susceptibilité à l'infection, les cas asymptomatiques contribuent au développement de l'immunité grégaire de la population touchée. Ainsi, leur fréquence influence la dynamique de transmission et doit être prise en compte pour modéliser ou prédire le cours d'une épidémie, ou encore pour évaluer l'efficacité d'interventions.

C'est pourquoi l'estimation de la proportion d'infection pré-symptomatique et asymptomatique devrait être systématiquement explorée en cas d'épidémie ou émergence due à un nouvel agent infectieux. Il devrait en être de même lors de la première circulation d'un agent infectieux dans une population différente de celle dans laquelle l'expression clinique de l'infection a été initialement documentée, que ce soit en termes de composition, de taille ou d'immunité.

¹ Requête effectuée en date du 23/04/2019

1.2 Hypothèses et objectifs de la thèse

Dans cette thèse, nous décrivons en France métropolitaine comment l'épidémiologie de terrain génère une information spécifique pour guider la maîtrise et la prévention des infections émergentes, mais aussi des connaissances scientifiques sur leur dynamique de transmission. Avec pour fil conducteur l'idée selon laquelle une émergence représenterait une « situation d'expérimentation naturelle », nous avons essayé de tirer d'investigations d'épidémies des connaissances scientifiques qui sont classiquement hors de portée de la recherche biomédicale académique. Le chikungunya, la dengue et la bilharziose urogénitale sont des maladies vectorielles qui ont été responsables d'émergences entre 2007 à 2015 ayant fait l'objet d'investigations entrant dans le cadre des missions de protection de la santé de l'Agence Nationale de Santé Publique, Santé publique France. Nous avons analysé les expériences et les questionnements posés par ces émergences.

Nous avons focalisé notre analyse plus particulièrement sur la contribution des cas asymptomatiques à l'introduction, dissémination et endémisation des maladies vectorielles de façon réactive.

Nous avons fait les hypothèses de travail suivantes : (i) la fréquence des infections infracliniques est une caractéristique de l'agent ou de la maladie émergente qui varie selon la population touchée, son environnement et le moment ; (ii) l'analyse fine de la distribution spatio-temporelle des cas survenus lors d'une émergence peut générer de la connaissance sur la contribution des infections infracliniques à la dynamique de transmission; (iii) l'existence de cas d'infections infracliniques ou asymptomatiques est un élément critique pour le maintien de la maladie émergente et son passage à l'endémicité.

Les objectifs spécifiques de cette thèse sont les suivants :

- 1) étudier le lien potentiel entre le génotype viral et la fréquence des infections infracliniques à virus chikungunya ;
- 2) évaluer la contribution des infections infracliniques de dengue à l'émergence en France métropolitaine ;
- 3) montrer l'importance de la prise en compte des cas infracliniques dans le contrôle de l'émergence de la bilharziose urogénitale en Corse.

1.3 Démarche méthodologique et plan général

En France métropolitaine, l'essentiel des menaces émergentes telles que la dengue, le chikungunya ou la bilharziose urogénitale sont des maladies vectorielles d'importation. La mondialisation des échanges – qui permet l'introduction d'agents pathogènes et de leurs vecteurs – et le changement climatique – propice au développement du « couple » vecteur-pathogènes – produisent des conditions favorables à la transmission de ces maladies, leur dissémination, voire leur maintien dans la population.

Nous présenterons dans le prochain chapitre (Chapitre II) les différents dispositifs de surveillance épidémiologique qui visent à détecter les cas symptomatiques et suivre la transmission des maladies infectieuses émergentes en France métropolitaine (déclaration obligatoire, dispositif de surveillance renforcée, données d'activité de réseau de laboratoires...). Le chapitre suivant (chapitre III) portera sur la description des approches méthodologiques utilisées pour mettre en évidence la contribution à la dynamique de transmission des cas asymptomatiques d'infections vectorielles émergentes au stade de leur introduction, dissémination et endémisation. Nous y détaillerons les cas d'émergences que ces méthodes permettent d'identifier selon l'expression clinique de la maladie.

Dans le chapitre IV, nous exposerons les résultats d'une revue systématique de la littérature sur les variations de proportions de cas asymptomatiques de chikungunya dans les épidémies documentées

jusqu'en 2018. Nous en évaluerons les implications pour la surveillance et l'évaluation du risque d'introduction du chikungunya en France. Dans le chapitre V, nous présenterons l'évaluation du risque de dissémination actuel de dengue en France métropolitaine qui découle des résultats d'une étude de séroprévalence de la dengue mise en œuvre à Nîmes en 2015 dans les suites d'une épidémie.

Dans le chapitre VI, nous ferons état des défis posés par les cas infracliniques pour le contrôle de l'émergence de la bilharziose urogénitale en Corse et la prévention de sa pérennisation dans la population et l'écosystème.

Enfin, le chapitre VII portera sur la discussion des résultats de ce travail de thèse, les perspectives de recherche et les applications dans le domaine de la santé publique qu'ils proposent.

Chapitre 2. Cadre conceptuel : veille sanitaire et maladies infectieuses émergentes

Dans ce chapitre, nous décrivons les différents dispositifs qui constituent le cadre institutionnel et conceptuel dans lequel l'Agence Santé publique France assure sa mission de veille, d'alerte et de surveillance de l'état de santé de la population française dans le domaine des maladies infectieuses émergentes. Les systèmes de surveillance et dispositifs de veille sanitaire doivent identifier le plus précocement possible tout risque sanitaire émergent dans l'espace national et international qui serait susceptible d'affecter la population présente sur le territoire français ou des ressortissants français à l'étranger. Parce que ces dispositifs sont centrés sur la survenue de cas cliniques, ils peuvent être mis en difficulté par la question des cas émergents infracliniques en particulier s'ils contribuent à la transmission. Toutefois, ces dispositifs peuvent servir à lancer des investigations qui, elles, permettent d'identifier des cas infracliniques.

2.1 Principes de la veille sanitaire des infections émergentes en France

En France, comme dans la plupart des pays industrialisés, la veille sanitaire repose sur la collecte continue et l'analyse des signaux à la recherche de phénomènes infectieux inhabituels sur leur territoire et à l'étranger pouvant correspondre à des émergences infectieuses. Ces signaux sont issus de la surveillance de routine, ils consistent en un changement inattendu d'un indicateur (tendance ou dépassement de seuil) ou ils se manifestent comme des événements sanitaires inhabituels (sévérité inhabituellement élevée, nouveau mode de transmission...) (Figure 4). Dans un premier temps, ils sont validés après vérification de leurs sources, leurs plausibilités et leurs contextes (« bruit de fond », biais éventuel gênant leur interprétation...). Ensuite, une fois validé, le signal fait l'objet d'une évaluation de risque s'appuyant sur

une expertise multidisciplinaire qui détermine s'il peut alors constituer une alerte. Le potentiel de diffusion, de pérennisation et le moment de l'émergence sont alors caractérisés pour orienter les investigations complémentaires, les mesures de contrôle adéquates et les adaptations nécessaires du système de surveillance. Une priorité importante est souvent donnée aux émergences dans les pays industrialisés du fait de leur potentiel évolutif, du risque épidémique, de leur impact potentiel sur la santé publique et de leur évitabilité. Dans le domaine des maladies infectieuses, l'évitabilité est un élément critique parce qu'elle dépend de la précocité de la mise en œuvre des mesures de contrôle (**Figure 3**).

Les termes de veille sanitaire, signal, alerte et surveillance utilisés en France sont définis dans l'Encadré 1.

Encadré 1 : définitions retenues pour le cadre conceptuel de la veille, l'alerte, et la surveillance par Santé publique France [28].

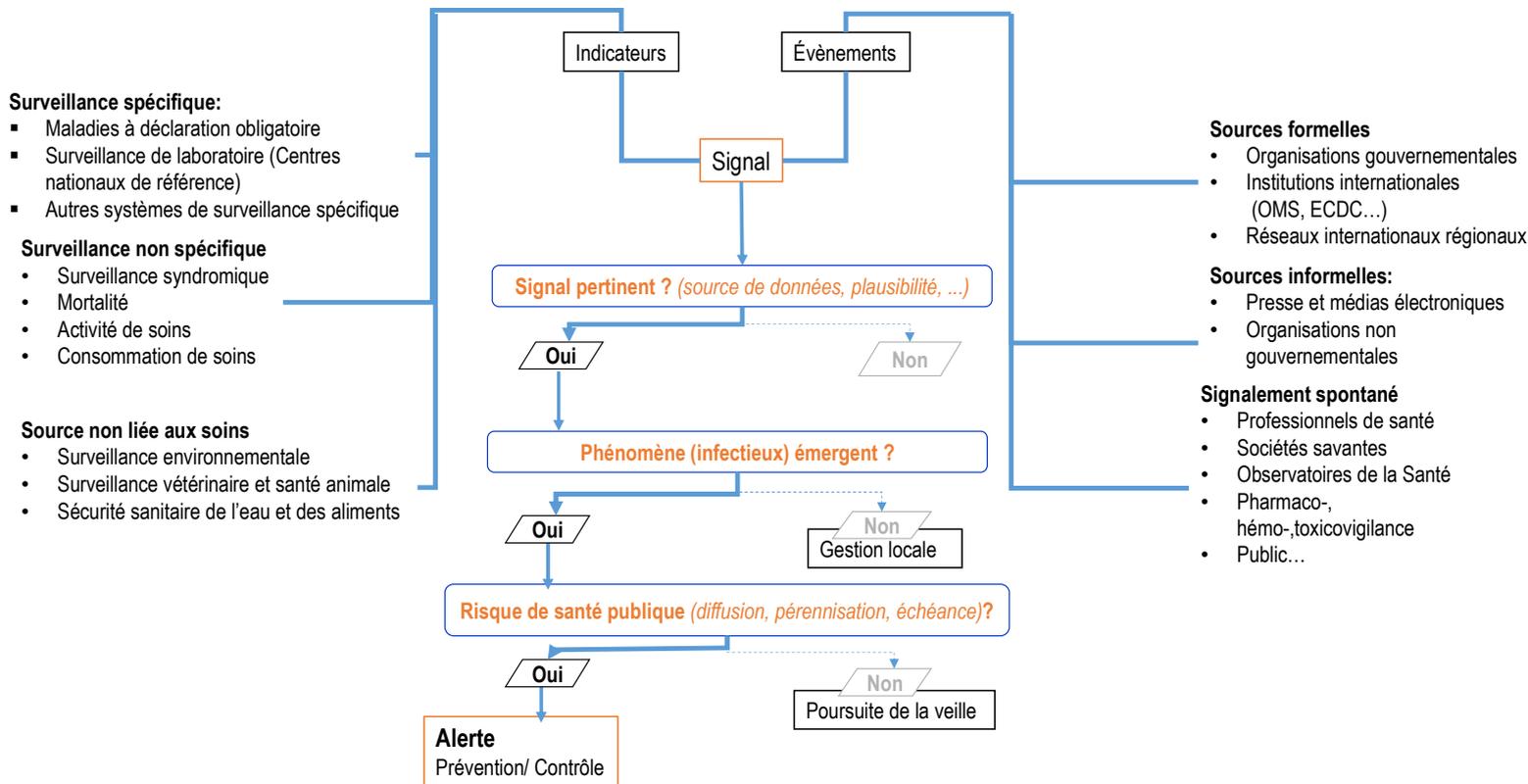
Veille sanitaire : collecte et analyse, en continu, par les structures de veille et/ou de santé publique de signaux évoquant un risque pour la santé publique, dans une perspective d'alerte, d'anticipation et d'actions précoces.

Signal : information sur un phénomène de santé ou une exposition à un danger, qui nécessite une investigation afin de le valider et de le considérer ou non comme une alerte.

Alerte : situation sur laquelle un jugement a été porté suite à une expertise (ou évaluation de risque) sur le fait qu'elle menace potentiellement la santé publique par son évolution, son potentiel de dissémination et/ou sa gravité, inattendus par rapport à ce que l'on connaissait de la situation du risque.

Surveillance : processus de collecte systématique, organisé et continu de données de santé, ainsi que leur analyse, interprétation et dissémination dans une perspective d'aide à la décision et d'évaluation.

Figure 4 : Représentation schématique de la veille sanitaire des maladies infectieuses émergentes



2.2 Signalement spontané de phénomènes sanitaires

Le signalement spontané de phénomènes inhabituels est une source pertinente d'évènements sanitaires pouvant constituer des émergences. Ces signalements émanent d'une part des professionnels de santé ou des partenaires du Santé publique France et d'autre part, mais plus rarement, du public. La liste des partenaires du Réseau National de Santé publique, fixée par voie réglementaire [29], comprend les médecins inspecteurs de santé publique des Agences Régionales de Santé et les institutions et professionnels dotés d'une fonction de Santé Publique ou d'une compétence technique spécifique, telles que les Centres Nationaux de référence, les sociétés savantes du domaine de la santé et des maladies

infectieuses, les Observatoires Régionaux de la Santé ou les réseaux de vigilance (toxicovigilance, hémovigilance...). Ce réseau est animé régulièrement :

1. en sensibilisant les cliniciens à la question et à l'actualité des émergences à l'occasion de séminaires pour les spécialistes de l'infectiologie et de la réanimation médicale, par l'enseignement et par des productions scientifiques disséminées par des communications, des articles ou lors de colloques ;
2. en renforçant les partenariats existants et en développant des nouveaux partenariats ;
3. en organisant la rétro-information des partenaires (bulletins et points épidémiologiques, site internet de l'Agence, liste de diffusion d'information urgente comme le « Flash Info » créé en 2009) ;

L'émergence de la bilharziose urogénitale en Corse détectée en 2014 grâce au signalement spontané d'un praticien en est une parfaite illustration et atteste de son importance, son efficacité et son efficience. La bilharziose ne faisant pas l'objet d'une surveillance spécifique au moment de cette alerte, les membres de l'association nationale des enseignants et praticiens hospitaliers titulaires de parasitologie et mycologie médicale (réseau ANOFEL : <https://anofel.net/>) ont été directement invités à signaler tout cas autochtones. De façon générale, le réseau ANOFEL fait remonter des signalements de situations inhabituelles et est régulièrement consulté pour des études ponctuelles. L'émergence de la bilharziose urogénitale en Corse est le sujet du chapitre VI.

2.3 Veille événementielle et scientifique

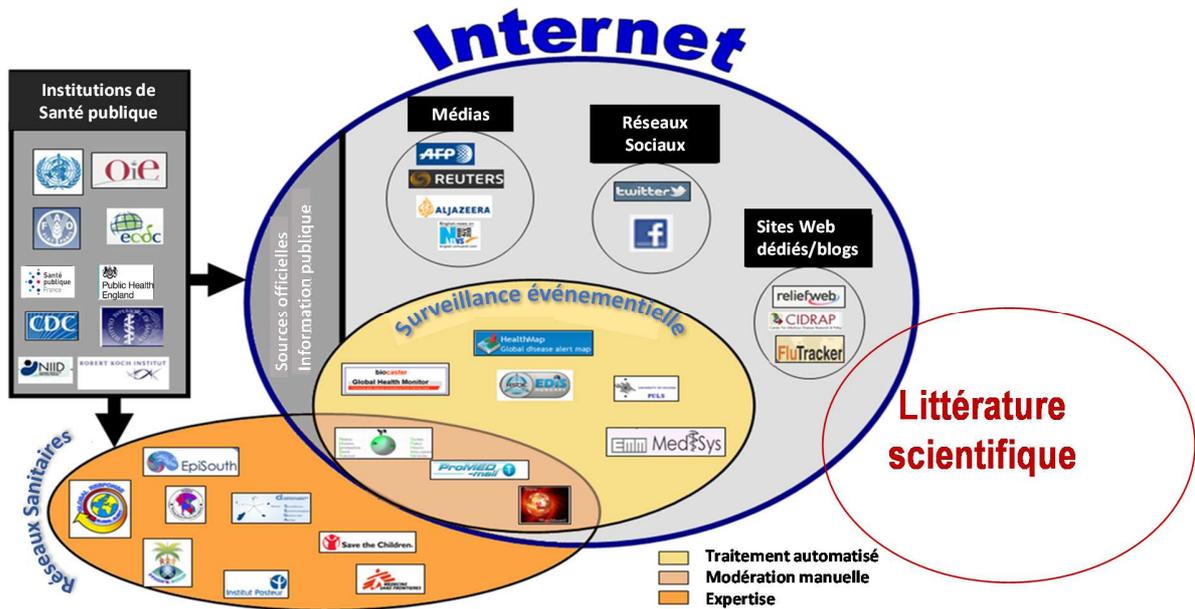
La veille scientifique et médiatique s'est imposée comme un outil complémentaire et important des approches traditionnelles de détection précoce et de suivi en temps réel d'émergences. Ceci a été possible

grâce à l'essor d'internet permettant le partage de grands volumes d'informations sur les évènements de santé des populations au niveau mondial, et ce, en amont de publications scientifiques.

Les termes « Event-based biosurveillance », veille internationale ou veille évènementielle désignent un processus actif de captation, de détection et d'interprétation d'informations non structurées provenant de plusieurs sources prédéfinies sur internet comme présenté Figure 5 [30, 31]. La veille évènementielle traite des signaux provenant essentiellement de :

- sources informelles comme la presse et médias électroniques ou les organisations non-gouvernementales, et plus récemment les médias numériques et réseaux sociaux (Twitter, Facebook...);
- et de sources formelles : organisation gouvernementale, institutions mondiales (l'OMS, l'Organisation mondiale de la santé animale –OIE), institutions régionales, comme l'ECDC, les agences ou instituts nationaux de santé publique, les réseaux régionaux comme le réseau Surveillance Epidémiologique et de Gestion des Alertes (SEGA) dans l'Océan Indien ou le Réseau océanien de surveillance de la santé publique (PacNet), et les réseaux régionaux ou internationaux de surveillance spécifique.

Figure 5 : Sources de la veille sanitaire événementielle, médiatique et scientifique



La veille événementielle complète le signalement à l'OMS d'événements sanitaires ayant une « portée internationale » potentielle selon le Règlement Sanitaire International (RSI 2005) adopté en 2005 par l'Assemblée Mondiale de la Santé [32].

Santé publique France examine au quotidien les rapports du Centre Européen de Prévention et Lutte contre les Maladies (European Centre for Disease Prevention and Control – ECDC) sur la veille événementielle et l'information épidémiologique partagée au niveau européen et international et colligés chaque semaine dans le « Communicable disease threats reports » d'accès libre sur son site [33].

Le Programme pour le suivi des maladies émergentes (ProMED - Program for Monitoring Emerging Diseases - www.promedmail.org/) est une initiative de scientifiques étasuniens datant de 1994 qui fait référence en matière de veille événementielle appliquée aux urgences [34]. Le système ProMED permet le partage réactif d'une information fiable mise en ligne sur tous les événements rapportés au niveau mondial qui menacent la santé humaine, animale ou végétale.

Une étude néerlandaise réalisée en 2014 montre que les rapports quotidiens de l'ECDC et ProMED-mail étaient les sources les plus complètes et réactives en terme de détection de menaces infectieuses extracommunautaires. Leur combinaison permettrait de capturer 95% des menaces notifiées [35].

De la même manière, l'Agence de Santé publique du Canada a mis en place dans sa forme actuel en 2004 le système GPHIN (Global Public Health Intelligence Network) qui propose aux organisations gouvernementales ou non-gouvernementales une information sur la situation sanitaire internationale traitée en temps réel (24h/7j) et accessible en ligne [36]. Les médias du monde entier sont surveillés et analysés manuellement pour fournir rapidement aux utilisateurs des informations modérées sur les menaces sanitaires en cours.

La veille évènementielle est particulièrement utile pour les maladies émergentes susceptibles d'être introduites par des voyageurs entrant sur le territoire national. Elle permet plus particulièrement de cartographier le risque d'importation du MERS-Coronavirus, de la maladie à virus Ebola et d'arboviroses comme le chikungunya, la dengue ou le Zika... L'épidémiologie des arboviroses étant très évolutive au niveau international, elle permet d'anticiper leurs éventuelles introductions en France métropolitaine dans une perspective de détection précoce et de prévention de leur dissémination.

La veille scientifique complète la veille évènementielle sur les maladies infectieuses émergentes, décrite ci-dessus. Elle est avant tout basée sur la consultation de revues scientifiques spécialisées dans le domaine des maladies infectieuses et de leur épidémiologie publiées de façon hebdomadaire (Eurosurv, MMWR...) ou mensuelle (Emerg Infect Dis, MMI, CID, JID, CMI, Nature, Science...). Moins réactive que la veille évènementielle, elle permet de caractériser sur un plan scientifique des menaces le plus souvent déjà identifiées ainsi que leurs modifications ou évolutions. La veille scientifique permet de réunir rapidement

des informations sur la transmissibilité, la gravité et les actions et interventions de lutte et de prévention de phénomènes émergents comme ce fut le cas pour le syndrome de Zika congénital [37].

Un algorithme de sélection mensuelle automatisée de la littérature scientifique référencée dans Pubmed a été conçu avec l'assistance de documentalistes afin de collecter des faits probants sur de nouveaux pathogènes (détection, description), sur la surveillance et la réponse concernant les risques pandémiques (grippe, MERS-Coronavirus...) ou la biologie, l'écologie et la prise en charge des émergences. De la même manière, les sites internet d'institutions étrangères ou internationales (ECDC, OMS, CDC, PHE) sont consultés sur un rythme mensuel à la recherche de « littérature grise » (analyse de risque, rapports, recommandations, réglementations...).

2.4 Systèmes de surveillance

Les systèmes de surveillance reposent sur la collecte régulière d'information structurée avec productions d'indicateurs définis a priori. Pour les maladies infectieuses dont les émergences, la déclaration obligatoire (DO, paragraphe 2.4.1) et la surveillance microbiologique conduite par les CNR (§ 2.4.2) sont à la base de la surveillance en France comme dans la plupart des pays européens et d'Amérique du Nord. Pour certaines maladies, ces systèmes peuvent être complétés par des réseaux structurés spécifiques reposant le plus souvent sur la participation volontaire de professionnels de santé (§ 2.4.3). Il n'existe pas de systèmes de surveillance spécifiques des émergences en général même si plusieurs DO ou CNR ont été mis en place du fait de l'apparition ou de la réapparition de maladies infectieuses. Une émergence peut être mise en évidence par des augmentations ou regroupements spatio-temporels inhabituels de cas, des dépassements de seuils, ou une modification des caractéristiques des personnes touchées ou des agents infectieux impliqués.

Tableau 1 : Surveillance des maladies émergentes étudiées dans le cadre de la thèse, France métropolitaine, 2019

Maladies émergentes	Déclaration obligatoire	Centre National de Référence	Réseaux / dispositifs complémentaires
Chikungunya (2006)	Critères de notification : Fièvre >38,5 °C d'apparition brutale ET douleurs articulaires invalidantes ET confirmation biologique IgM positive ou PCR positive ou séroconversion.	CNR des arbovirus	Signalement des cas cliniquement évocateurs (sans attendre la confirmation biologique) importés ^a de mai à novembre dans les départements colonisés par <i>Aedes albopictus</i> Alerte en cas de détection d'un cas autochtone ^b biologiquement confirmé Transmission à Santé publique France des données d'activité du réseau de laboratoires (patients testés et résultats des analyses diagnostiques)
Dengue (2006)	Critères de notification : Fièvre >38,5 °C de début brutal ET au moins un signe algique (myalgies ± arthralgies ± céphalées ± lombalgies ± douleur retro-orbitaire) ET au moins un des critères biologiques suivants : RT-PCR ou test NS 1 ou IgM positifs OU séroconversion OU augmentation x4 des IgG sur deux prélèvements distants.		
Bilharziose urogénitale autochtone (2016)	Critères de notification : Absence de notion de contact avec de l'eau douce dans une zone d'endémie classique au cours de la vie Cas probable : 2 tests sérologiques de dépistage positifs utilisant des techniques différentes-OU en cas de discordance, un test sérologique Western blot positif (Ag <i>S. mansoni</i> + <i>S. haematobium</i>) Cas certain : Présence d'œufs de <i>S. haematobium</i> à l'examen parasitologique des urines-OU présence d'œufs de <i>S. haematobium</i> sur l'examen anatomopathologique d'une biopsie vésicale et/ou rectale –OU PCR spécifique (<i>S. haematobium</i> et/ou <i>S. bovis</i>) positive	Absence	Transmission à Santé publique France des données d'activité du réseau de laboratoires (patients testés et résultats des analyses diagnostiques)

^a Cas importé : cas ayant séjourné en zone de circulation connue du virus dans les 15 jours précédant le début des symptômes

^b Cas autochtone : cas n'ayant pas voyagé en zone de circulation connue du virus dans les 15 jours précédant le début des symptômes

Ig : Immunoglobuline ; Ag : Antigène

2.4.1 Maladies à déclaration obligatoire

Devant tout cas de maladie inscrite à la liste française des 34 maladies à déclaration obligatoire, les médecins et les responsables des laboratoires de biologie médicale publics et privés doivent transmettre des données individuelles à l'Agence Régionale de Santé (ARS) de leur lieu d'exercice. Elles sont définies dans l'article L3113 du code de la santé publique comme :

1. des maladies qui nécessitent une intervention urgente locale, nationale ou internationale ;
2. des maladies dont la surveillance est nécessaire à la conduite et à l'évaluation de la politique de santé publique.

Trente maladies dont 29 sont infectieuses entrent dans la catégorie de celles nécessitant une intervention urgente. C'est le cas d'émergences telles que le chikungunya, la dengue et la bilharziose urogénitale autochtone qui sont présentées dans le Tableau 1 et décrites plus en détails dans les chapitres IV à VI.

Les infirmières et médecins de santé publique des ARS valident les déclarations obligatoires reçues en vérifiant leur complétude et le respect des critères de notification. Ils procèdent à une première évaluation de risque, initient les premières investigations et mesures de contrôle définis à ce stade (ex : démostication, isolement...). Ils peuvent recourir à l'expertise de Santé publique France disponible en région (épidémiologistes de Cire, infectiologues référents, opérateurs de démostication pour les arboviroses...). Tout cas autochtone d'une maladie non-endémique sur un territoire donné correspond à une émergence et relève de l'alerte. Pour certaines maladies infectieuses graves, comme les fièvres hémorragiques virales africaines, la détection de cas importés peut constituer une alerte dès la suspicion clinique.

Pour les émergences, les fiches de déclaration obligatoire sont rapidement transmises à Santé publique France, où elles font l'objet d'une nouvelle validation et d'une évaluation de risque pouvant déboucher

sur une alerte nationale, adressée à la Direction général de la santé (DGS), voire internationale (Centre européen de prévention et de lutte contre les maladies – ECDC, Organisation Mondiale de la Santé – OMS). Une expertise pluridisciplinaire peut être réunie à tout moment pour procéder à des investigations complémentaires et proposer des mesures de contrôle adaptées (Centre Nationaux de Références pour la microbiologie, Agence nationale de sécurité sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et du travail- ANSES pour les vecteurs, le Haut Conseil de la Santé publique pour la prise en charge des malades...).

2.4.2 Les Centres Nationaux de Référence et réseaux de laboratoires

Les Centres Nationaux de Référence (CNR) ont quatre missions selon le cahier des charges général mentionné à l'article D. 1413-47 du code de Santé publique :

- 1) l'expertise en microbiologie ou pathologie des agents infectieux ;
- 2) la contribution à la surveillance épidémiologique par l'animation d'un réseau de laboratoires qui transmettent au CNR des prélèvements biologiques ou souches des pathogènes surveillés accompagnées d'informations cliniques, microbiologiques et épidémiologiques ;
- 3) l'alerte par l'information immédiate de Santé publique France ou du ministère chargé de la santé de tout évènement susceptible de présenter un risque ou une menace sur l'état de santé de la population ;
- 4) et enfin le conseil auprès des professionnels de santé et des pouvoirs publics.

Dans le détail, certaines des missions font plus explicitement référence à un rôle de premier plan des CNR dans la surveillance et de la lutte contre les émergences. La mission d'alerte fait référence au signalement spontané d'évènements sanitaires inhabituels (cf. § 2.2). La mission d'expertise inclut l'identification et la confirmation d'agents pathogènes en l'absence de test diagnostique homologué, la caractérisation phénotypique et génomique des souches identifiées avec notamment le séquençage et des analyses phylogénétiques pour replacer les souches dans leur dynamique évolutive.

Les CNR sont définis par pathogènes regroupés par genre (ex. : CNR des leishmanioses), présentation clinique (CNR des virus des infections respiratoires), mode de transmission (CNR des Infections sexuellement transmissibles bactériennes) ou pour des menaces transversales (CNR des risques infectieux transfusionnels). Ainsi, pour une maladie infectieuse réapparaissant ou nouvellement apparue, il pourra se trouver une expertise microbiologique et épidémiologique adéquate dans un CNR existant. Le CNR des arbovirus est le seul CNR contribuant directement à la surveillance de maladies infectieuses étudiées dans cette thèse à savoir la dengue et le chikungunya. En métropole, le CNR s'appuie sur un réseau de laboratoires correspondants auxquels il a transféré des techniques validées pour le diagnostic de ces arboviroses. Les données des résultats d'analyses des membres du réseau sont centralisées à Santé publique France par envoi automatisé et sécurisé quotidien pour deux laboratoires leaders en France dans le secteur de la biologie médicale spécialisée. En complément, les laboratoires de virologie de centres hospitalo-universitaires procèdent à un envoi au minimum mensuel de leurs données d'activité et en direct de tout diagnostic positif aux ARS. Ce réseau permet de compléter la surveillance par la DO, de mai à novembre dans les départements où le moustique vecteur *Aedes albopictus* est installé et actif, en recensant des cas non déclarés par la DO qui sont ensuite réinjectés dans le circuit de signalement.

2.4.3 Dispositifs de surveillance spécifiques complémentaires

En tant que phénomènes sanitaires inhabituels, inédits ou rapidement évolutifs, les maladies infectieuses émergentes mettent en lumière des limites de toute stratégie de surveillance et de veille reposant sur des dispositifs préétablis.

Des dispositifs de surveillance spécifiques complémentaires de la DO et des CNR peuvent être mis en place essentiellement pour :

- raccourcir le délai de détection des premiers cas d'infections émergentes importés ou autochtones ;

- améliorer l’articulation entre la détection et la mise en place de mesures de prévention et contrôle de la dissémination ;
- augmenter la sensibilité et la capacité de détection de cas suite à l’identification d’une première chaîne de transmission autochtone ou, plus généralement, suite à la détection d’un premier cas autochtone ;

Ces dispositifs doivent être régulièrement évalués pour rester adaptés à la nature et au niveau de risque sanitaire de l’émergence qu’ils surveillent. Le volet de surveillance épidémiologique adossée au plan anti-dissémination du chikungunya et de la dengue en France métropolitaine est l’exemple de dispositif renforçant la déclaration obligatoire qui sera présenté dans les chapitres IV et V.

2.4.4 Surveillance non spécifique

Apparue à la fin des années 1990 pour répondre à la menace bioterroriste dans les pays Anglo-saxons, la surveillance non spécifique (aussi appelée surveillance syndromique) peut théoriquement contribuer au côté de la surveillance spécifique à la détection des émergences. Elle permet via l’accès et l’analyse automatisée en temps réel (ou légèrement décalée) des données sanitaires de produire des indicateurs simples, très réactifs couvrant l’ensemble d’un territoire. Il s’agit en général de données sanitaires collectées par de services de santé, mais aussi de données d’absentéisme scolaire et professionnel, ou de données démographiques. En France, la surveillance non-spécifique a été mise en place après l’épisode caniculaire de 2006 via le Système de surveillance sanitaire des urgences et des décès (SurSaUD®). Santé publique France analyse en continu les données SurSaUD® qui proviennent de trois sources :

- les services d’urgences hospitalières, réseau OSCOUR®, auquel participaient en 2016 près de 600 sites couvrant 80% du recours aux soins d’urgences sur le territoire français ;
- 60 des 61 associations de médecine d’urgence de ville, S.O.S. médecins ;

- L'institut national de la statistique et des études économiques (Insee) et 3000 communes équipées d'un service d'état-civil informatisé qui fournissent des données de mortalité couvrant 80% des décès.

La surveillance syndromique ne peut généralement pas identifier de cas individuel de pathologies rares comme une émergence débutante, ou devant être confirmée biologiquement. Les signalements spontanés des professionnels de santé gardent donc toute leur importance pour la détection précoce d'émergences. La surveillance syndromique est cependant très utile, voire incontournable pour contribuer à mesurer l'impact sanitaire et suivre les tendances spatiale et temporelle d'une menace (canicule) ou d'une émergence responsable d'un foyer épidémique ou d'une épidémie d'ampleur. C'est le cas par exemple de la grippe pandémique ou saisonnière ou des épidémies de dengue ou de chikungunya touchant les départements français d'Amérique et de l'Océan Indien.

2.4.5 Lien avec la surveillance de l'environnement, de la santé animale et de la sécurité sanitaire des aliments et de l'eau

La transmission de nombreuses maladies infectieuses émergentes peut faire intervenir une source zoonotique (ex : grippe aviaire...) ou passer par voie alimentaire ou hydrique, ou encore s'inscrire dans un système écologique (ex : maladies à transmission vectorielle). Par ailleurs, les facteurs environnementaux (bâti et aménagement du territoire, couverture végétale, écosystème, météorologie) influencent directement la dynamique de transmission des maladies vectorielles émergentes. Les articulations entre la veille en santé humaine et santé animale ou environnementale se font essentiellement dans le cadre de collaborations entre Santé publique France et l'Agence nationale de sécurité sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et du travail (Anses). Santé publique France travaille également en liens étroits avec la Direction Générale de l'Alimentation (DGAI) au Ministère chargé de l'Agriculture qui organise la

surveillance vétérinaire par la déclaration obligatoire, mais aussi avec d'autres partenaires experts en santé animale (l'Office national de la chasse et de la faune sauvage et son réseau SAGIR – « Surveiller les maladies de la faune sauvage pour Agir » –, les Ententes interdépartementales de démoustication, l'Institut de Recherche pour le Développement, l'Institut national de la recherche agronomique...)

Les collaborations santé animale- santé humaine sont formalisées notamment pour certains Centres Nationaux de Référence pour lesquels des Laboratoires Nationaux de Références, nommés par la DGAI, constituent une contrepartie pour la santé animale. Le plan de lutte contre le Virus West Nile dans le pourtour méditerranéen est un exemple très abouti d'intégration de la surveillance des moustiques vecteurs, de la surveillance des mortalités dans l'avifaune, de la surveillance de cas équin et humains.

Dans ce travail de thèse, nous aborderons brièvement les exemples de :

- L'articulation entre la surveillance épidémiologique métropolitaine de la dengue et du chikungunya, et la surveillance entomologique du moustique vecteur *Aedes albopictus*, qui définit des niveaux de risque d'émergence et de dissémination (chapitre IV et V) ;
- La mise en place d'une surveillance environnementale du site de baignade de la rivière Cavu dans le cadre de l'investigation et de la lutte contre l'émergence et l'endémisation de la bilharziose urogénitale (chapitre VI).

2.5 Recherche opérationnelle et émergences

Dans le domaine des émergences, la frontière entre recherche et investigations d'épidémie peut être floue du fait des questions scientifiques souvent similaires auxquelles elles tendent à répondre. Une recherche biomédicale dynamique sur les émergences plus spécifiquement est nécessaire pour le développement ou l'amélioration constante d'outils de diagnostic, de traitement et de prévention fondés sur des faits probants. Cependant, le caractère imprévisible de la survenue des émergences rend la réalisation de

protocole de recherche et le recueil de données et de matériel biologique complexes. Un projet de recherche est donc difficilement faisable en l'absence d'anticipation et de préparation. Dans les conditions d'une émergence non anticipée, il n'est pas toujours possible de bâtir les partenariats nécessaires, de disposer de financements et de remplir en temps utiles les obligations éthiques et réglementaires qui permettent la mise en œuvre de travaux de recherche biomédicale.

Des initiatives comme les consortiums français REACTing (REsearch and ACTion targeting emerging infectious diseases) [38] et Labex IBEID (Laboratory of Excellence for Integrative Biology of Emerging Infectious Diseases – <http://www.pasteur.fr/labex/ibeid>) offrent des financements et une coordination scientifique dans le domaine des infections émergentes. Sous le pilotage d'établissements de recherche biomédicale et en collaboration avec des Agences sanitaires, ces organisations visent à optimiser la capacité et la réactivité de la recherche en cas d'émergence en favorisant la préparation en « temps de paix ». Au cours de l'épidémie de Zika de 2015-2016, leurs contributions scientifiques a été de premier ordre pour établir le lien entre l'infection et la survenue de syndrome de Guillain-Barré et confirmer l'existence du syndrome de Zika congénital [39-41].

2.6 Limites et rôle de la veille sanitaire traditionnelle dans la détection des infections émergentes à proportion élevé de formes infracliniques

Parce que la veille sanitaire a pour but la détection d'évènements sanitaires inhabituels, elle constitue la première ligne pour la collecte et la production précoce de données scientifiques permettant de comprendre la transmission et l'émergence de maladies infectieuses à des fins de les contrôler.

La veille sanitaire n'est pourtant pas conçue pour détecter directement la part d'infections émergentes, qui parce qu'elles sont asymptomatiques ou « inapparentes », n'ont pas d'impact clinique pouvant justifier

un recours aux soins. Ces infections ne sont donc pas directement visibles par les dispositifs constitutifs de la veille sanitaire. Cependant les investigations épidémiologiques en population mises en œuvre lors d'émergence peuvent a posteriori permettre d'estimer la part de cas asymptomatiques. Malgré des initiatives visant à corriger le manque de réactivité de la recherche biomédicale, des contraintes méthodologiques et éthiques peuvent gêner l'exécution rapide de projets de recherche, en particulier hors du milieu de soins. Nous présenterons dans les prochains chapitres comment la surveillance spécifique peut servir de base à la définition, au déclenchement et à l'interprétation d'investigations portant sur la contribution des cas asymptomatiques à la transmission des infections émergentes.

Chapitre 3 : Approches méthodologiques appliquées

Dans ce troisième, chapitre nous décrivons les approches méthodologiques qui dérivent ou viennent compléter l'investigation d'épidémies de maladies infectieuses émergentes vectorielles dans le but de documenter la fréquence des cas infracliniques et leur contribution à la dynamique de transmission. Elles sont basées avant tout sur des études observationnelles « de terrain » complétées de façon croissante par des approches de modélisation. Ces études, soumises aux contingences du terrain, sont donc susceptibles aux risques de biais et requièrent de la rigueur dans leur mise en œuvre et des précautions pour l'interprétation de leurs résultats. Ce chapitre traitera également des approches retenues pour les investigations présentées ou discutées dans ce travail de thèse.

3.1 Définitions et identification des cas infracliniques d'infections émergentes: infections asymptomatiques, pré-symptomatiques et inapparentes

Dans cette thèse, les cas infracliniques désignent les cas d'infections qui échappent généralement à toute détection soit parce que leur expression clinique est trop frustre ou est attribuée à tort à une autre entité clinique, soit parce que leur reconnaissance n'a pas fait l'objet d'un signalement effectif. Le progrès des techniques diagnostiques et l'amélioration de l'organisation des systèmes de soins et de veille sanitaire peuvent en améliorer la détection. Mais la fréquence des infections infracliniques est avant tout déterminée par des propriétés intrinsèques de la maladie étudiée, en tant qu'entité clinique et épidémiologique.

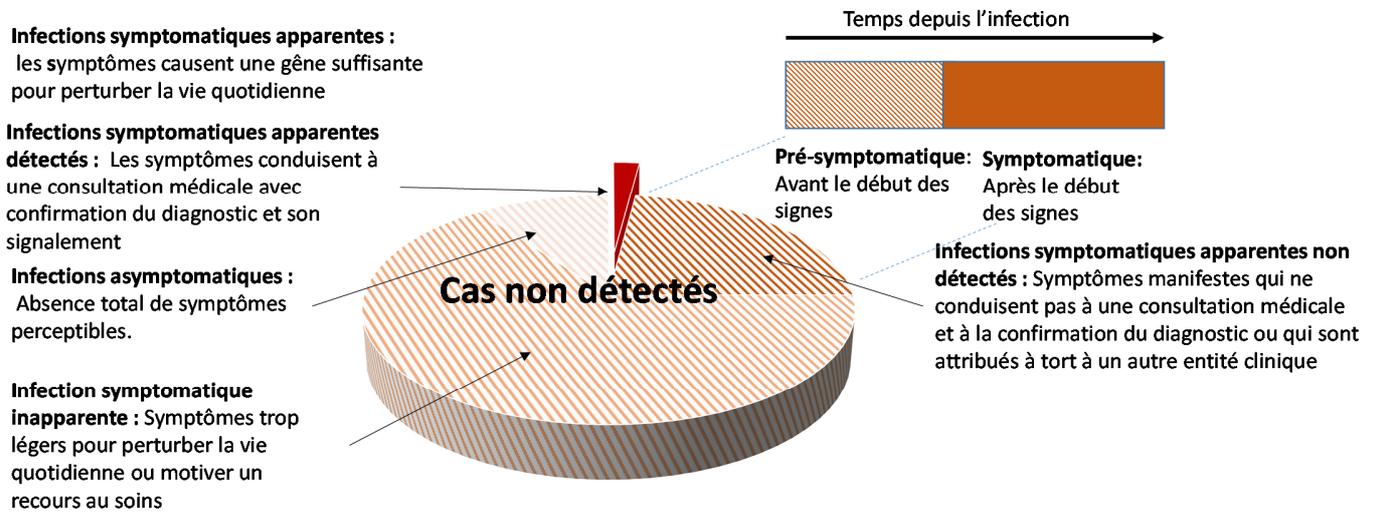
Pour les maladies infectieuses émergentes, notamment celles à transmission vectorielle, on peut distinguer parmi les formes infracliniques :

- les cas asymptomatiques définis comme des personnes infectées par un agent infectieux dépourvues de tout symptôme perceptible de l'entrée de l'agent pathogène dans leur organisme à la résolution de l'infection ou leur décès ;
- les cas d'infections symptomatiques inapparentes définis comme des personnes infectées ne présentant que des symptômes modérés qui ne perturbent pas suffisamment leur vie quotidienne pour motiver un recours au système de soins ;
- les cas d'infections pré-symptomatiques définis comme des personnes infectées chez qui les premiers signes d'infection ne sont pas encore apparus. Dans les exemples traités dans ce travail de thèse, la durée de la phase pré-symptomatique varie de quelques jours pour les arboviroses à plusieurs mois ou années pour la bilharziose.

En pratique dans les études rétrospectives et la surveillance, les infections symptomatiques inapparentes non détectées sont souvent englobées dans les infections infracliniques.

Certains modélisateurs, comme Ten Bosch *et al.*, font le choix d'ajouter aux cas d'infections infracliniques, les infections symptomatiques apparentes non détectées, que l'on peut définir comme des infections dont les symptômes sont manifestes, mais qui ne conduisent pas à une consultation médicale suivie d'une confirmation et d'un signalement [27].

Figure 6 : Classification et définitions des infections infracliniques, adapté de Ten Bosch *et al.* [27]



Théoriquement, des cas infracliniques peuvent être retrouvés à toutes les étapes du phénomène de l'émergence figurées dans la pyramide d'adaptation des pathogènes à l'homme (Figure 2). Il serait toutefois erroné de s'attendre à ce que les infections asymptomatiques contribuent de façon nécessairement plus efficace à l'installation d'une émergence que les infections symptomatiques. Même dans l'éventualité où elles seraient nombreuses et échapperaient aux mesures de contrôle, il n'est pas attendu qu'elles soient plus transmissibles ou qu'elles le restent plus longtemps. Il est toutefois vraisemblable que cette contribution varie sensiblement selon le pathogène, la souche ou encore les caractéristiques génétiques, l'immunité et la structure de la population humaine concernée. Elle devrait donc être étudiée et réévaluée régulièrement notamment à l'occasion d'investigations d'épidémies.

3.2 Facteurs et déterminants de la fréquence des cas infracliniques d'infections émergentes

Pour les émergences vectorielles comme pour les autres maladies infectieuses, les facteurs qui influencent la fréquence observée des infections infracliniques à l'échelle d'une population touchée

sont de plusieurs ordres. Ces facteurs sont rarement étudiés parce que leurs effets ont une importance variable, ils interviennent dans des systèmes complexes et variables d'une émergence à l'autre.

Théoriquement, ces facteurs peuvent être répartis de la manière suivante :

- Facteurs liés à l'hôte : la proportion d'infections infracliniques dépend de facteurs liés à l'hôte comme la susceptibilité à l'infection. Cette susceptibilité est déterminée par des facteurs innés essentiellement génétiques comme le suggère pour la dengue la mise en évidence d'un variant du gène codant pour le récepteur du fragment constant des immunoglobulines G [42]. Ils peuvent être également des facteurs acquis comme une immunodépression, des comorbidités ou la sénescence relative de l'immunité, comme évoqué dans une étude thaïlandaise réalisée après une épidémie de chikungunya[43]. En effet, la fièvre est un signe d'infection dont la fréquence est diminuée chez les personnes âgées[44]. La mémoire immunitaire des infections acquises au cours de la vie peuvent conférer une protection contre certains pathogènes émergents comme c'est le cas pour les différents sérotypes du virus de la dengue. Il existerait une immunité hétérotypique pouvant durer jusqu'à 2 ans non-stérilisante mais capable de réduire l'expression clinique de la maladie à des symptômes cliniques plus légers [45]. A l'inverse, au-delà de cette période de protection, une infection secondaire hétérotypique peut donner une forme plus sévère de la maladie (phénomène des anticorps facilitant)[46]. Enfin, la fréquence des infections asymptomatiques peut être influencée altérer l'expression clinique d'une infection dans un sens comme dans l'autre des facteurs comportementaux, comme l'automédication, ou des facteurs sociologiques, comme l'éducation ou la catégorie socioprofessionnelle [43]. Ces derniers sont vraisemblablement des proxys de facteurs non-décelés, comme le retentissement sur l'activité en cas de profession requérant une activité physique plus importante, ou des facteurs de confusion.
- Facteurs liés à l'agent pathogène : la dose infectieuse est l'un des principaux facteurs de la rapidité de développement et de l'intensité des symptômes d'une infection. Celle-ci est difficile à

déterminer dans les études en populations. Elle peut être approchée par la fréquence de l'infection dans la population étudiée. Plusieurs auteurs suggèrent pour la dengue comme pour le chikungunya qu'une incidence élevée réduirait la fréquence des infections infracliniques [47-49]. La sélection de pathogènes mutants ou d'un variant peut avoir également une influence sur la fréquence des formes infraclinique. La virulence de tels mutants est pour les virus très liée à leur capacité à se multiplier et à atteindre une charge virale importante. Enfin, l'histoire naturelle de l'infection, en particulier la durée de la phase préclinique est également à prendre en compte quand pour la bilharziose urogénitale celle-ci peut durer plusieurs mois ou années. De façon similaire, des facteurs culturels peuvent influencer chez un malade ou un professionnel de santé la perception de l'intensité des symptômes d'une infection.

- Facteurs liés à l'environnement : D'une population à l'autre, la facilité de l'accès et du recours aux soins peuvent influencer la part des infections symptomatiques inapparentes. Plus les obstacles économiques, sociologiques, culturels ou organisationnels à l'accès aux soins sont importants moins un malade sera enclin à les surmonter pour consulter un professionnel de santé s'il présente des symptômes légers.
- Facteurs liés au mode de recueil de données : la collecte des données cliniques et diagnostiques est un point critique de l'estimation de la fréquence des formes infraclinique d'une maladie infectieuse. Il est alors primordial de limiter à la conception ou de prendre en compte dans les résultats en premier lieu les biais de classement, de mémoire et de mesure. Le type d'étude (prospective ou rétrospective), le processus de collecte des données cliniques (déclaratif, objectivé par un clinicien, séquentiel ou en fin d'étude...), la période de rappel, etc. sont autant de facteurs à prendre en compte comme le choix des techniques diagnostiques et leur mise en œuvre. Cette question est explorée dans le chapitre III à l'occasion d'une revue de la littérature sur la fréquence des infections asymptomatiques à virus chikungunya.

3.3 Approches visant à identifier des cas infracliniques d'infections émergentes

Les investigations d'épidémies déclenchées en cas d'alerte relevant de maladies infectieuses émergentes à transmission vectorielle permettent de conduire des études épidémiologiques observationnelles visant à documenter l'importance et la contribution des cas asymptomatiques à l'émergence. De fait, ces études ne font pas toujours intervenir une randomisation et sont souvent rétrospectives et descriptives.

3.3.1 Etudes de séroprévalence communautaires

Les études de séroprévalence communautaires sont des études transversales dont l'objectif principal est l'estimation du nombre de cas infectés (ou de personnes immunes) et de personnes séronégatives (ou restant susceptibles à l'infection) dans une population donnée. Dans le contexte de l'émergence, elles reposent sur la mise en évidence de marqueurs sériques de l'infection par des tests diagnostiques directs (amplification d'acides nucléiques par PCR ou test de détection d'antigènes circulants) ou indirects (immunoglobulines spécifiques type IgM ou IgG), pendant ou au décours d'une épidémie.

La robustesse du corrélat entre titrage des immunoglobulines et statut infectieux est un élément critique de la réalisation de ces études. Le contrôle des erreurs de classement passe par la collecte, le choix des tests diagnostiques performants et adaptés à la cinétique de l'infection et de la réponse immunitaire attendue dans la population d'étude. Les études de séroprévalence supposent une inférence de la relation de causalité entre l'infection étudiée et des symptômes et signes cliniques parfois aspécifiques. Cette inférence repose avant tout sur des critères de spécificité et de temporalité. Pour les études purement sérologiques, l'anamnèse des signes cliniques et symptômes doit porter sur la période pendant laquelle la séroconversion s'est produite, qui coïncide le plus souvent avec la

période épidémique. L'attribution de symptômes à des marqueurs sérologiques peut être plus hasardeuse en cas d'épidémie survenue sur un fond de circulation endémique, car la séroconversion peut avoir eu lieu avant l'épisode symptomatique considéré. La relation de temporalité est plus facile à établir avec des tests détectant des infections aiguës. Néanmoins, il requiert de tester un nombre plus large de personnes pour évaluer la fréquence des cas infracliniques avec suffisamment de précision. Par ailleurs, des cas pré-symptomatiques peuvent être classés à tort comme asymptomatique sans suivi clinique.

Elles doivent inclure des participants indépendamment de leur statut clinique. Les symptômes et signes cliniques sont documentés quel que soit leur statut diagnostique afin de pouvoir estimer la proportion de cas asymptomatiques de façon non biaisée.

Enfin, la définition de la population d'étude se fait le plus souvent sur des critères spatiaux et géographiques pour les maladies émergentes transmises par les moustiques. On inclura volontiers les personnes ayant fréquenté ou ayant résidé dans une zone où la transmission peut être datée.

3.3.2 Dépistage ciblé des personnes exposées

Un dépistage peut être proposé à des groupes de personnes partageant une exposition commune à une maladie émergente vectorielle dans certaines conditions. Cependant, en France, son utilisation est limitée à quelques maladies qui répondent à tout ou partie de critères présentés dans l'Encadré 2.

Pour les maladies émergentes vectorielles, le dépistage est le plus souvent ciblé, par opposition au dépistage de masse. Il consiste à proposer un test à un groupe de personnes à risque apparemment saines afin d'identifier précocement des personnes infectées asymptomatiques ou pré-symptomatiques avec comme finalité un traitement, voire un suivi, des examens diagnostiques complémentaires ou la prise de mesures de contrôle.

Il est critique pour le succès d'un programme de dépistage de choisir des tests ou examens reproductibles, précis et performants avec des seuils qui retiennent un maximum de personnes infectées (vrais positifs) et écartent un maximum des non-malades (vrais négatifs). Une stratégie de dépistage combine souvent un ou plusieurs tests sensibles à un test plus spécifique afin de réduire le taux de mauvais classement (faux positifs et faux négatifs).

Cette approche relève avant tout d'une stratégie de prévention secondaire qui s'applique à des infections à incubation et phase prolongée sans symptômes dans le but d'éviter la survenue de complications graves plus tardives, comme la bilharziose urogénitale (chapitre VI). Un dépistage conduit avec une participation satisfaisante de la population-cible permet d'estimer la taille de l'épidémie et la proportion de cas asymptomatiques et pré-symptomatiques d'une infection.

Nous présenterons dans le chapitre VI une modélisation statistique de l'impact en 2014 du dépistage national de bilharziose urogénitale chez les personnes potentiellement exposée en Corse sur la série chronologique des sérodiagnostics de bilharziose en France à l'aide d'une auto-régression log-linéaire .

Encadré 2 : critères de mise en œuvre d'un programme de dépistage, adapté de Wilson et Jungner [50] :

1. La maladie considérée doit constituer un problème de santé publique suffisamment important (fréquence, gravité, complications et séquelles, potentiel d'extension ou d'endémisation...);
2. Un traitement efficace doit exister pour les personnes reconnues comme infectées ;
3. Des structures adaptées de prise en charge diagnostique et thérapeutique doivent être disponibles ;
4. La maladie doit avoir une phase pré-symptomatique latente ou précoce identifiable ;
5. Le test ou examen diagnostique considéré doit être performant ;
6. Le test doit être acceptable pour la population ciblée ;
7. L'histoire naturelle de la maladie et en particulier le passage de la phase de latence à la phase d'état doivent être connus a priori ;
8. Les personnes à traiter doivent être choisies selon une stratégie prédéfinie ;
9. Le coût du dépistage (y inclus le diagnostic et le traitement des patients diagnostiqués) doit être compensé par les dépenses de prise en charge médicales globales évitées par le diagnostic précoce des personnes infectées ;
10. La recherche de cas doit être un processus pérenne et continu, qui ne doit pas être envisagée comme un problème que l'on peut régler « une fois pour toutes ».

3.3.3 Suivi séro-épidémiologique après exposition à un risque infectieux émergent

Des études de cohorte peuvent être implémentées dans une population définie où une maladie infectieuse émergente circule en suivant le statut sérologique des participants afin d'y déceler la survenue de cas incidents d'infections symptomatiques et asymptomatiques. Ce suivi séro-épidémiologique peut être séquentiel ou continu avec au minimum une détermination du statut infectieux à l'inclusion et à la fin de l'étude. La définition de la population d'étude peut reposer sur des critères géographiques, comme par

exemple les habitants d'un quartier touché par une épidémie d'arboviroses [51]. La population d'étude peut être également constituée des membres de foyers où un cas index aigu a été récemment diagnostiqué dans l'hypothèse où la transmission a eu lieu au sein du foyer [52]. En comparaison avec une étude de séroprévalence, ces études prospectives permettent de limiter les biais de classement concernant les symptômes et le statut des cas en préservant la relation temporelle entre exposition et survenue de la maladie étudiée. En effet, il est possible d'éviter l'inclusion de toute infection survenue avant l'exposition et de réduire la période de rappel des symptômes par des interrogatoires ou des visites séquentielles. Au-delà des difficultés liées au coût et à l'organisation, une transmission plus prolongée à des niveaux d'incidences élevées, généralement observées lors d'épidémies tropicales, est nécessaire pour capturer suffisamment d'évènements pour réaliser ces études.

Par ailleurs, ces approches impliquent la détection et le suivi de foyers de maladies infectieuses émergentes qui constituent une alerte sanitaire contre laquelle des mesures de contrôles doivent être urgemment implémentées pour protéger les populations affectées. La prise en compte de l'effet de mesures de contrôle sur l'incidence serait complexe à appréhender et à interpréter. Ces problèmes éthiques et techniques rendent ces schémas d'études difficilement applicables à la situation de la France métropolitaine. La modélisation mathématique qui permet la constitution d'étude de cohorte *in silico* informée par des données d'investigations épidémiologiques de terrain constitue une alternative intéressante pour ce problème évoqué dans le paragraphe 3.4.3.

3.4 Approches visant à évaluer la contribution des cas asymptomatiques à la dynamique de l'émergence

3.4.1 Analyses de dépendance spatiale entre cas symptomatiques et asymptomatiques

La dépendance spatiale est « la première loi de la géographie » dont l'énoncé est attribué à Waldo R. Tobler, selon laquelle « deux objets proches ont plus de chances d'interagir que deux objets éloignés » [53]. Elle s'applique à la transmission des arboviroses, qui a une composante spatiale importante qui se manifeste par la survenue de cas groupés aux stades initiaux de l'émergence [54-56].

La contribution des cas asymptomatiques à la transmission des arboviroses étudiées peut donc être explorée sur la base des données de géolocalisation du domicile des cas ou tout autre lieu probable d'infection. La distribution des distances entre les lieux d'infection probable de paires de cas dont au moins un est symptomatique peut être comparée à celle séparant ces mêmes lieux pour deux cas asymptomatiques pour rechercher une dépendance spatio-temporelle. Pour un même épisode de transmission, la dépendance spatio-temporelle existe lorsque le moment et le lieu de survenue d'un cas est affectée par où et quand d'autres cas (symptomatique ou asymptomatique) se produisent.

Pour étudier cette dépendance spatiale à court terme des cas d'arbovirose, la probabilité de survenue d'un cas dans le même mois et dans le voisinage d'un cas asymptomatique peut être comparée à celle d'un cas dans le même mois et le même voisinage qu'un cas symptomatique, en utilisant des modèles statistiques spatialement explicites s'inspirant des travaux de Salje *et al.* [57-59].

Des données de séroprévalence collectées précocement après le pic épidémique doivent permettre d'identifier le maximum d'infections récentes chez les cas incidents et de les rattacher en fonction de leur date de début de signes, dates et lieux d'infection présumés.

3.4.2 Reconstruction de la chaîne de transmission la plus probable par modélisation

Quand la taille des foyers d'émergences est limitée dans le temps et dans l'espace, comme récemment observé pour les arboviroses chikungunya et dengue en France métropolitaine, il peut être utile de tenter de reconstruire une chaîne de transmission la plus probable afin d'y déceler la contribution de cas asymptomatiques.

On peut tester ainsi les hypothèses suivantes :

- des cas asymptomatiques sont à l'origine de la survenue de cas secondaires dans la population d'étude, on peut estimer ainsi le taux de reproduction et la force d'infection des cas asymptomatiques ;
- des cas asymptomatiques sont nécessaires pour expliquer le cours observé de l'épidémie, pour tester et évaluer la sous-détection.

Pour l'étude de séroprévalence de la dengue à Nîmes en 2015, présentée dans le chapitre V, un modèle spatialement explicite et prenant en compte la transmission regroupée des arboviroses a été adapté de travaux précédents dont les paramètres ont été estimés par des simulations de Monte-Carlo [58, 59]. Une sous-détection des cas a été recherchée en testant un scénario selon lequel l'ensemble des cas auraient été identifié au cours de l'investigation contre un autre scénario où seule une partie des cas aurait été identifiée.

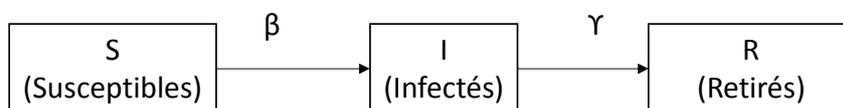
3.4.3 Place de la modélisation mathématique dans l'exploration de la contribution des cas asymptomatiques à l'émergence

La modélisation statistique, qui repose sur l'élaboration et le test d'hypothèse, exige de réunir des conditions d'application qui peuvent empêcher de tirer le maximum d'information des données issues d'études observationnelles mises en œuvre dans le cadre d'investigation d'épidémie. En effet, les données

manquantes, la couverture de la population d'étude ou l'impossibilité d'estimer certains paramètres font sortir les études observationnelles d'un cadre « quasi-expérimental » qui est souvent inatteignable pour des raisons éthiques et pratiques. La modélisation mathématique peut dans certains cas compléter ou prendre le relai de la modélisation statistique, dans l'exploration de la contribution des cas asymptomatiques à l'émergence des maladies vectorielles. En décomposant les mécanismes de transmission à l'œuvre, elle permet de modéliser des scénarios d'émergences, que l'on veut anticiper ou simuler parce qu'ils sont éthiquement ou techniquement hors de portée d'études interventionnelles, et de tester des moyens de réponses.

La modélisation mathématique n'étant pas le sujet principal de ce travail de thèse, nous ne présenterons qu'un résumé de quelques principes généraux s'appliquant aux arboviroses émergentes pour lesquelles nous y avons eu recours. La première étape consiste à développer un modèle mathématique pour reconstruire la chaîne de transmission, estimer le taux de reproduction et examiner la relation entre la distance et le risque de transmission. Ce modèle de l'émergence étudiée peut être spatialement explicite, c'est-à-dire prendre en compte la dépendance spatiale entre les cas. Les modèles dynamiques « compartimentaux » sont les plus couramment utilisés. Ils divisent la population d'étude en compartiments de statut infectieux et cliniques homogènes connectés par des flux d'individus évoluant d'un état clinique à l'autre au cours du temps.

Figure 7 : Processus de transmission du modèle SIR



Le modèle *SIR* partageant la population d'étude de taille N en trois groupes ; les S individus susceptibles, les I infectées et les R retirés ou guéris (« recovered » en anglais) servent de base à cette approche (Figure 7). Dans ce modèle défini par Kermarck et McKendrick, la taille de population étant supposée constante le temps de l'étude, les compartiments sont liés par la relation à tout instant t [60]:

$$N = S(t) + I(t) + R(t)$$

$$\begin{cases} \frac{dS}{dt} = -\beta I(t)S(t) \\ \frac{dI}{dt} = \beta I(t)S(t) - \gamma I(t) \\ \frac{dR}{dt} = \gamma I(t) \end{cases}$$

La force d'infection λ est le paramètre clef en modélisation mathématique appliquée à l'épidémiologie qui exprime la probabilité qu'un individu susceptible acquiert l'infection étudiée. Dans son expression, la force d'infection est le produit du taux de contact β et du nombre de personnes infectées de la population :

$$\lambda = \beta I$$

Le taux de reproduction de base R_0 peut être exprimé en fonction du taux de contact appliquée à une population totalement susceptible de taille N : $R_0 = \frac{\beta N}{\gamma}$

où γ est le taux auquel un infecté guérit et est retiré.

Dans le contexte d'émergences de taille réduite, comme observées en France métropolitaine, des approches plus complexes sont plus adaptées. Il est pertinent de modéliser la dynamique de l'agent infectieux émergent au sein de la population de vecteurs afin de pouvoir tester l'impact de mesures de contrôle. Par ailleurs, par le fait du hasard une chaîne de transmission peut s'interrompre spontanément, même si $R_0 > 1$, ou persister sur plusieurs générations avec une valeur de $R_0 < 1$. On fera alors le choix d'un modèle stochastique qui permet au hasard de déterminer au cours du temps les individus susceptibles qui deviennent infectés ou le nombre de cas secondaires générés par un cas infectieux. Ainsi, nous avons utilisé une approche stochastique compartimentale modélisant la dynamique de la

transmission humaine et vectorielle du chikungunya pour évaluer la performance du système de détection et de lutte contre la dissémination du chikungunya et de la dengue en France métropolitaine [61].

Toutefois, la modélisation se base nécessairement sur la connaissance des propriétés biologiques et clinico-épidémiologiques d'une émergence, issue d'investigations et d'observations cliniques de terrain. Elles peuvent manquer de puissance pour mettre en évidence des modifications importantes comme par exemple un changement de la proportion d'infections asymptomatiques du chikungunya.

La revue systématique et la méta-analyse d'études observationnelles est très utile pour identifier ou suivre les modifications des propriétés des maladies infectieuses émergentes. Ce point sera le sujet du chapitre suivant.

Chapitre 4 : Revue de la littérature sur l'estimation de la fréquence des infections asymptomatiques humaines de chikungunya

Dans ce quatrième chapitre, nous allons illustrer l'intérêt de la revue de littérature pour la collecte de données probantes sur la fréquence de survenue des cas asymptomatiques et les déterminants de la variabilité de cette fréquence pour une maladie infectieuse émergente donnée. Dans l'exemple du chikungunya, il s'agit d'une question déterminante pour l'évaluation du risque d'introduction et de dissémination. Ce chapitre sera soumis à publication dans une revue scientifique sous le titre : « Revue de la littérature et méta-analyse de la fréquence des infections asymptomatiques à chikungunya, l'influence du génotype » par H. Noël, F. Jourdain, J-C. Desenclos et H. de Valk.

4.1 Introduction

Le virus du chikungunya (CHIKV) est un alphavirus, de la famille des *Togaviridae*, transmis par la piqûre d'un moustique du genre *Aedes*, principalement *Aedes aegypti* et *Aedes albopictus*, qui provoquent des épidémies parfois explosives de syndromes fébriles [62]. Si la plupart des malades touchés guérissent en quelques semaines, des douleurs articulaires et musculo-squelettiques peuvent persister des semaines, voire des années après l'infection [63, 64].

Issus de cycles de transmission enzootique en Afrique, le CHIKV a été isolé pour la première fois chez l'homme en Tanzanie dans les années 1950. [65, 66]. Sur les quatre génotypes de CHIKV actuellement prédominant, deux ont été identifiés initialement en Afrique : les lignées « : East-Central-South-African » (ECSA) et Ouest-Africaine. La lignée Asiatique résulte de l'introduction de virus de génotype ECSA en Asie dans les années 50. Plus récemment la lignée de l'Océan Indien (IOL) a également émergé suite à l'introduction d'un autre virus issu de la lignée ECSA. Ces deux lignées (asiatique et IOL) ont récemment

été responsables d'épidémies d'ampleur et ont grandement étendu l'aire de circulation du virus chikungunya dans le monde, même au-delà des zones tropicales et subtropicales [66, 67].

L'expression clinique du chikungunya chez l'homme varie d'une infection silencieuse à un tableau clinique bruyant d'installation brutale associant fièvre, éruption cutanée maculopapulaire et douleurs articulaires débilitantes [62]. De la même manière que certains CHIKV ont évolué vers une transmission plus efficace par *Ae. albopictus*, les différentes souches circulant actuellement pourraient avoir suivi des chemins d'évolution divergents conduisant à des expressions cliniques différentes, avec en particulier des proportions d'infections asymptomatiques variant d'une souche à l'autre, et donc d'une épidémie à l'autre [68]. Dans le cadre de nos missions de surveillance à Santé publique France, nous nous sommes posés pour la première fois cette question, en observant une proportion de cas asymptomatiques nettement supérieure dans l'épidémie de chikungunya de l'île de Saint-Martin que lors de celle de la Réunion [69]. Même s'il est difficile de prendre en compte des facteurs influant la détection des infections symptomatiques, tels que les caractéristiques de l'hôte, les facteurs sociaux et culturels et l'accès aux soins de santé ou les biais divers de surveillance, une hétérogénéité d'une lignée de CHIKV à l'autre est une hypothèse légitime qui mérite d'être évaluée.

Des épidémies potentiellement explosives pourraient encore survenir dans des zones dépourvues d'immunité grégaire qui ont été colonisées au cours des dernières décennies par des moustiques du genre *Aedes*, comme en Europe. Il a été montré que les niveaux de virémie chez les cas asymptomatiques infectés par le CHIKV étaient comparables à ceux des cas symptomatique et se situaient dans les limites connues pour être compatibles avec une transmission vectorielle efficace chez le modèle primate en laboratoire [70, 71]. Il importe alors d'identifier les principaux déterminants de l'expression clinique des souches épidémiques circulant dans le monde pour préparer la réponse, optimiser la surveillance et justifier les efforts de contrôle des émergences comme ceux observés en 2017 en France et en Italie. [72, 73]. Les études de séroprévalence réalisées en per- ou post-épidémique peuvent constituer un corpus

conséquent de données pour en faire la synthèse et ainsi documenter la proportion d'infections asymptomatiques à CHIKV, sa variabilité et ses éventuels déterminants.

Nous présentons ici une revue systématique de la littérature de l'information clinique, épidémiologique et virologique publiées pouvant servir pour analyser la variabilité de la proportion d'infections asymptomatiques par le CHIKV en fonction du génotype viral.

Notre hypothèse de travail, précédemment exposée, est que la proportion d'infections asymptomatiques à CHIKV varie selon le génotype du virus [69]. Elle pourrait être également inversement associée à la séroprévalence globale estimée dans la population en fin d'épisode épidémique, utilisée comme un proxy du taux d'incidence cumulative (taux d'attaque). En effet, en cas d'épidémie intense, les infections pourraient se montrer plus symptomatiques ou plus graves du fait d'expositions à des piqûres de moustique infectantes plus fréquentes et à des doses infectieuses de CHIKV plus élevées [74].

Les objectifs de cette revue systématique sont :

- décrire les études présentant des données de prévalence d'infections à CHIKV et de proportion d'infections asymptomatiques en termes de population, du type d'étude, de la méthode de collecte de données, de méthodes de diagnostic, et du génotype viral ;
- estimer la fréquence globale des infections asymptomatiques et par génotype de CHIKV ;
- identifier des facteurs tiers influençant à la relation entre génotype de CHIKV et la proportion d'infections asymptomatiques à CHIKV.

4.2 Méthodes

Cette revue a été effectuée conformément aux directives concernant les revues systématiques et la méta-analyse (PRISMA ; <http://www.prisma-statement.org/>). Ses résultats sont résumés dans une méta-analyse visant à estimer la proportion d'infections asymptomatiques à CHIKV dont le protocole a été enregistré dans PROSPERO à la date du 31 juillet 2018, le registre prospectif international des revues systématiques, sous le numéro CRD42018098567.

Critères d'éligibilité

Cette revue a inclus les études primaires rapportant des données de séroprévalence du CHIKV. Les critères d'éligibilité ont été dérivés de la question de recherche : « Quelle est la proportion d'infections asymptomatiques à virus chikungunya dans une épidémie et quels facteurs peuvent l'influencer ? ». Nous avons structuré notre question de recherche en utilisant l'approche PICOTS [75]. Nous avons pris en compte les études observationnelles (transversales, cas-témoin et cohorte). En cas de doublons de publication, l'étude la plus complète a été retenue. Nous avons considéré les études conduites pendant ou après une épidémie. Les séries ou études de cas portant sur des cas importés ont été exclues. Notre population d'intérêt était l'ensemble de personnes résidant en zone d'endémie ou épidémique. Le principal résultat recherché était la proportion de formes asymptomatiques parmi les personnes infectées par le CHIKV, c'est-à-dire le nombre d'infections confirmées en laboratoire (sérologie positive, séroconversion ou détection d'ARN viral) chez une personne ne rapportant pas de symptômes compatibles pendant la période de rappel définie pour l'étude, divisée par le nombre total de personnes testées positives. Pour chaque étude incluse, nous avons documenté la population d'étude (âge, sexe, localisation), la définition de cas d'infection (confirmation biologique), la définition d'infection « asymptomatique » ou « inapparente », la période épidémique, la période de rappel. Les études dont les données étaient absentes ou ne pouvaient être extraites, ou sans description explicite des méthodes de

confirmation ont été exclues. Quand le langage de publication était l'espagnol ou le portugais nous avons utilisé le traducteur en ligne Google Translate.

Stratégie de recherche bibliographique

Nous avons conduit une recherche exhaustive des travaux publiés jusqu'au 6 mars 2019 référencés dans les bases : United States National Library of Medicine (PUBMED), SCOPUS, EMBASE (Expert Medica), World Health Organization Library database (WHOLIS), Latin American and Caribbean Health Sciences Database (Lilacs), Scientific Electronic Library Online (SciELO) et la Cochrane Library.

Pour documenter la prévalence et la proportion d'infections asymptomatiques pendant ou après les épidémies de chikungunya, nous avons employé en texte libre et termes MESH (Medical subject heading terms) les termes de recherche suivants, leurs équivalents et leurs combinaisons : «chikungunya», «seroprevalence», «serosurvey» et «asymptomatic». La requête Pubmed, présentée en annexe, a été adaptée aux autres bases de références. La requête finale a été lancée le 6 mars 2019. Nous avons revu les références listées dans les revues de la littérature existante et les articles sélectionnés pour identifier d'autres articles éligibles.

Sélection des études

Toutes les références ont été rassemblées, après suppression des doublons, dans une base de données unique en utilisant le logiciel de gestion de références bibliographiques End Note™.

Deux investigateurs ont trié les références en deux temps (i) sur titre et résumé (ii) sur texte intégral. Les investigateurs ont restitué les raisons de l'exclusion des études évaluées sur texte intégral qui ne répondaient pas aux critères préalablement fixés. Les désaccords entre investigateurs ont été départagés par l'évaluation d'un troisième examinateur.

Evaluation critique des références

Deux investigateurs ont procédé à l'évaluation critique des études sélectionnées à l'aide d'une adaptation d'un Outil d'évaluation critique spécifiquement conçu pour les études de prévalence par l'Institut Joanna Briggs [76]. Cet outil comprend initialement 9 critères principaux dont : la représentativité et la taille de l'échantillon, le taux de réponse et le recrutement des participants, l'analyse des données, la méthode de test et d'autres sources de biais. Des critères spécifiques ont été ajoutés pour évaluer la collecte des symptômes, la définition des cas asymptomatiques et la population d'étude, à la recherche de biais de sélection. Les évaluateurs ont évalué pour chaque critère s'il a été rempli (« Oui », « Non », « Incertain » ou « Non applicable ») et ont donné une évaluation globale avec la recommandation d'inclure, d'exclure ou de « rechercher des informations complémentaires ».

Extraction des données

L'extraction des données des articles en texte intégral a été réalisée de façon indépendante par deux investigateurs à l'aide d'un formulaire de collecte pré-testé, les désaccords ont été résolus par un troisième investigateur. En tant que de besoin, les auteurs ont été contactés pour compléter la collecte de données.

Les données extraites incluaient le nom du premier auteur/ de la première autrice, l'année de publication, le type et la cadre d'étude, l'échantillonnage, la période d'inclusion des participants, le site de recrutement (pays et au moins deux niveaux de divisions administratives), le mode de collecte des données cliniques et la définition de cas d'infection à CHIKV et de cas asymptomatiques ou inapparents, le nombre de participants testés, le nombre de participants infectés par CHIKV, le nombre de participants infectés asymptomatiques, la technique diagnostique employée, la période épidémique étudiée, et la lignée de CHIKV responsable. Quand elle n'était pas directement extractible, la proportion d'infections

asymptomatiques a été recalculée à partir de données de l'article. Quand la lignée virale n'était pas indiquée ou disponible dans une référence, elle a été recherchée dans la littérature en se basant sur la date et le pays d'étude. Sinon, elle a été considérée comme « inconnue ».

Analyse et Synthèse des données

Les études rapportant des estimations ponctuelles de la proportion d'infections asymptomatiques ont été décrites en termes de lignée du CHIKV (ECSA, IOL, Asiatique, Ouest-Africain), sous-région définie par les Nations unies, type d'étude (prospective, transversale, cohorte rétrospective), méthode de collecte des données cliniques (entretien, suivi médicalisé et auto-déclaration), la méthode de diagnostic (toute combinaison des méthodes ELISA, PCR, autre méthodes) et définition clinique de cas (fièvre et arthralgies/ fièvre ou arthralgies/ imprécise) et la prévalence estimée de l'infection.

Les données ont été analysées à l'aide du package '*metafor*' du logiciel de statistiques R (version 3.5.3 ; The R foundation for Statistical Computing, Vienne, Autriche). Nous avons calculé la proportion non-ajustée d'infections asymptomatiques à partir des numérateurs et dénominateurs bruts de chaque étude ainsi que les écarts-types et les intervalles de confiance de chacune de ces proportions. Avant l'analyse des proportions ajustées ont été calculées à l'aide d'une transformation logit [76].

$$\text{logit}(\text{résultat}) = \ln\left(\frac{p}{1-p}\right)$$

$$\text{logit}(\text{écart - type}) = \sqrt{\frac{1}{n \times p \times (1-p)}}$$

où p est la proportion d'infection asymptomatique et n est le nombre total de cas d'infections à CHIKV.

Nous avons employé un modèle méta-analytique à effets aléatoires pour obtenir l'estimation de la proportion globale d'infections asymptomatiques à CHIKV. Pour prendre en compte une hétérogénéité

attendue comme importante, la variance entre les études a été estimée par la méthode du maximum de vraisemblance restreint (REML) [77]. Un biais de publication a été recherché par l'évaluation de la symétrie du *funnel plot* (graphique en entonnoir) et un test d'Egger au seuil de significativité de $p < 0,1$. Des méta-analyses par sous-groupes de génotype viral (ECSA, Asiatique, IOL et Ouest-Africain) et prévalence d'infection à chikungunya ont été réalisées à l'aide de modèles indépendants.

Des modèles de méta-régression ont été ajustés pour identifier les sources d'hétérogénéité parmi les études et pour évaluer l'effet du génotype sur différentes variables explicatives et la proportion d'infections asymptomatiques, selon la relation linéaire suivante :

$$\text{logit } p_j = \beta_0 + \beta X_j + \mu_j + \varepsilon_j$$

Où β_0 est l'ordonnée à l'origine, βX_j est le coefficient de la variable explicative j , μ_j est l'effet mesuré par l'étude j et ε_j est le terme d'erreur correspondant aux différences entre les études dues aux fluctuations d'échantillonnage. L'hétérogénéité a été évaluée par le test χ^2 de la statistique Q de Cochran [78, 79] et I^2 , qui reflète la proportion de la variabilité totale de l'estimation globale attribuable à de véritables différences entre études plutôt qu'à la chance. En général, une valeur de I^2 supérieure à 70% est indicative d'une hétérogénéité élevée.

Nous avons d'abord testé en analyse univariée la contribution du génotype à la variation des estimations de la proportion d'asymptomatiques d'une étude à l'autre. Dans un second temps, nous avons exploré cette relation par une méta-analyse par sous-groupe.

Afin d'identifier des variables explicatives tierces pouvant influencer la relation étudiée, nous avons ajusté des modèles de méta-régression univariés de la proportion d'asymptomatiques (une variable à la fois), suivis de modèles multivariés (testant l'association génotype- proportion d'asymptomatiques simultanément avec une ou plusieurs variables pouvant avoir un effet de confusion ou modificateur de

l'effet). Leur significativité a été évaluée à l'aide d'un test F de Fisher partiel ; les variables explicatives présentant une valeur de $p < 0,1$ ont été incluses dans le modèle multivarié.

Les variables explicatives tierces testées étaient la taille du dénominateur de la proportion d'asymptomatiques, le type d'étude (transversale/prospective), le mode de collecte des données cliniques (suivi médicalisé/auto-déclaration), la prévalence non ajustée de l'infection, la sous-région des Nations Unies de l'étude, la définition de cas clinique et la méthode diagnostique (ELISA, PCR, séroneutralisation, immunofluorescence et titre d'anticorps inhibiteurs de l'hémagglutination), le temps écoulé en mois entre la fin de l'épidémie étudiée et le début de la période d'inclusion.

La confusion a été explorée en incluant chaque facteur de confusion potentiel dans le modèle (analyse bivariable) et en recherchant des variations des coefficients de la variable explicative principale, aussi bien en termes d'ampleur ($> 20\%$) et de direction, que de significativité (valeur-p).

En cas des signes indicatifs de confusion, le facteur de confusion était conservé dans le modèle. En l'absence de preuves de confusion et de significativité de la variable explicative (valeur $p > 0,1$), celle-ci était supprimée du modèle final.

Pour éviter tout sur-ajustement pouvant affecter la précision des estimations de paramètres et des tests statistiques, les résultats d'analyses univariées ont été présentés. La base de données devait contenir un minimum de $10k$ observations, k étant le nombre de variables du modèle, afin d'ajuster le modèle, conformément aux recommandations du *Cochrane Handbook* [80].

4.3 Résultats

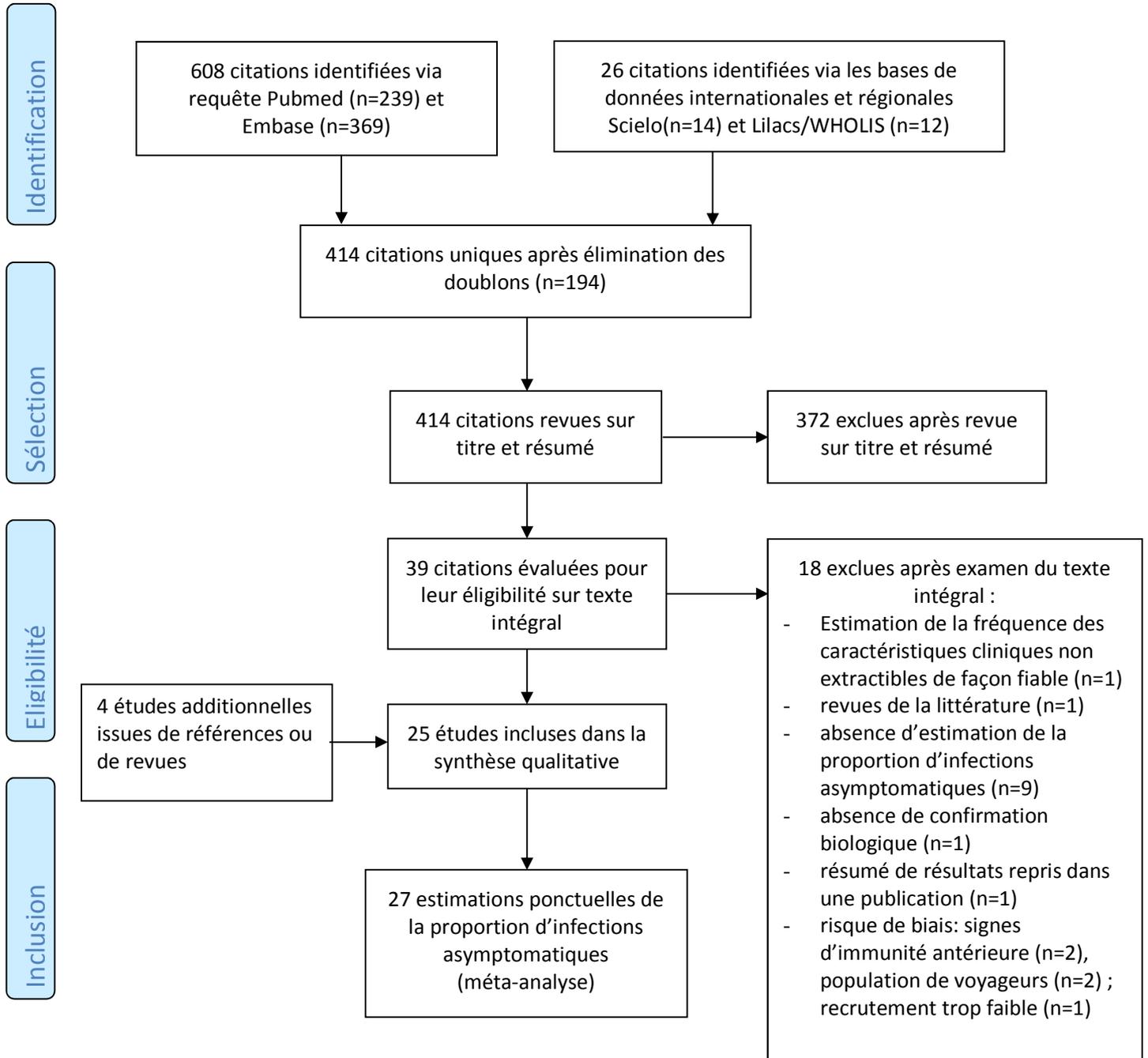
Sélection des études

Sur les 634 citations identifiées initialement, 414 ont été retenues après suppression des doublons. L'examen sur titre et résumé a permis de retenir 39 citations pour une évaluation sur texte intégral. A l'issue de cette dernière étape, ce sont 21 articles qui ont été inclus dans l'analyse. Parmi les 18 études exclues, 13 présentaient au moins un critère d'exclusion et 5 posaient un risque de biais justifiant une exclusion. Les motifs d'exclusion sont détaillés dans la Figure 8. Aux 21 études éligibles, 4 études issues de l'exploration de leurs références ont été ajoutées pour un total de 25 études comptant 27 estimations ponctuelles de la proportion d'infections asymptomatiques.

Description des études

Les principales caractéristiques des 27 estimations ponctuelles et des études dont elles sont issues sont décrites dans le Tableau 2. Les estimations ont été réalisées de 1996 à 2016, dont 14 après 2013. Les terrains d'études étaient situés dans les sous-régions Asie du sud-est (6), Caraïbe (3), Amérique Centrale (6), Afrique de l'Est (5), Polynésie (1), Amérique du sud (3), Asie du sud (2) et Europe méridionale (1). Plus de la moitié (14 ; 51,9%) des estimations provenaient d'études conduites au cours d'une épidémie de chikungunya. Le reste d'études a été réalisé entre 3 et 21 mois après le phénomène épidémique (n=13).

Figure 8 : Diagramme de flux de la revue systématique de la littérature selon la procédure PRISMA et de l'Institut Joanna Briggs



La distribution par âge et par sexe des cas asymptomatiques n'a pas pu être extraite de façon fiable pour la plupart des études.

Le type d'étude était majoritairement transversal (81,5% ; 22/27). L'échantillonnage a été effectué auprès de ménages ou de la population générale (85,2% ; 23/27), autour de cas groupés ou cluster (1) et auprès de populations spécifiques telles que des femmes enceintes ou parturientes (1), des militaires (1) ou de la clientèle de laboratoire (1). Le type d'échantillonnage était le plus souvent non-probabiliste (ou de « convenance » : 37,0% ; 10/27), systématique aléatoire (29,6% ; 8), stratifié sur l'âge (14,8% ; 4) et en grappes (2 aléatoires et 1 systématique aléatoire en grappes), enfin sur critères géographique (1) ou non renseigné (1)

Les données cliniques étaient auto-déclarées à 92,6% (25) et issues d'un suivi médicalisé prospectif pour 7,1% (2). La définition de cas clinique employée était non précisée ou imprécise pour estimations ponctuelles. Parmi les définitions rapportées, 59,3% (16) comprenaient une fièvre et des arthralgies et 8 au moins un de ces deux critères ; la définition était imprécise ou absente pour trois études. Les génotypes de CHIKV en cause dans l'épidémie étaient de lignée asiatique (13/27 ; 48,1%), ECSA (3 ; 11,1%) ou IOL (10 ; 37,0%). Aucun virus de génotype ouest-africain n'a été retrouvé. Le génotype était inconnu pour 1 étude.

Estimations de la proportion des infections à CHIKV asymptomatiques

Deux études présentaient chacune 2 estimations ponctuelles de la proportion d'infections à CHIKV asymptomatiques issues de populations qui étaient de recrutement et âge différents, ou de localisations distinctes. La séroprévalence du CHIKV variait de 10,2 à 75,6%. La taille d'échantillon était comprise entre 72 et 11 280 participants. Les symptômes ont été évalués pour 24 à 3 700 sujets infectés. La proportion d'infections asymptomatiques était grandement variable de 3,1 à 87,5%.

Méta-analyse et méta-régression

L'estimation globale obtenue à partir des 27 mesures ponctuelles de la proportion d'infections asymptomatiques à CHIKV était de 29.3% (intervalle de confiance à 95% : 21,2-39,0%). L'hétérogénéité très élevée (98,3%) a justifié la mise en œuvre d'une méta-régression. Le test d' Egger ne montrait pas de signes d'asymétrie significative du *funnel plot* ($p = 0.82$).

Le génotype de CHIKV en cause dans l'épidémie influençait significativement la proportion d'asymptomatiques ($p = 1,0 \times 10^{-3}$).

Figure 9 : Méta-analyse de la proportion d'infections à virus chikungunya asymptomatiques issues d'études de séroprévalence per- et post-épidémiques publiées jusqu'en 2018

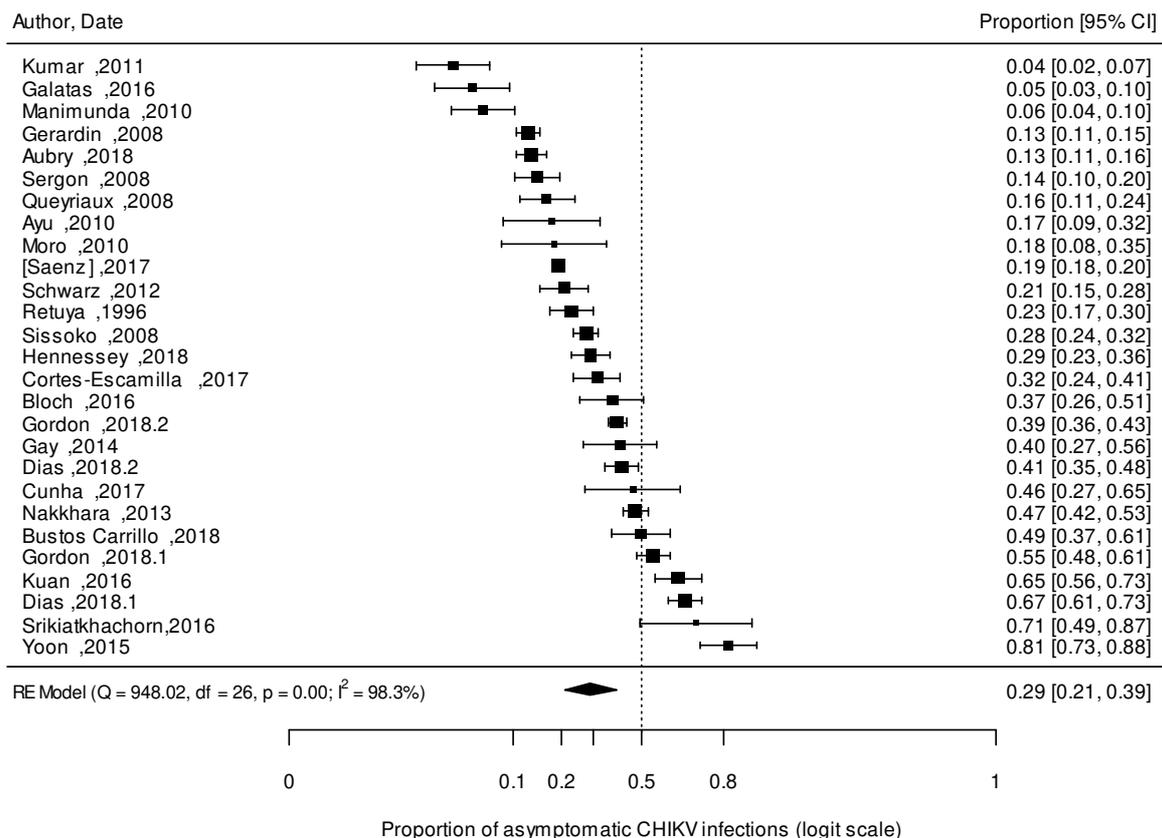


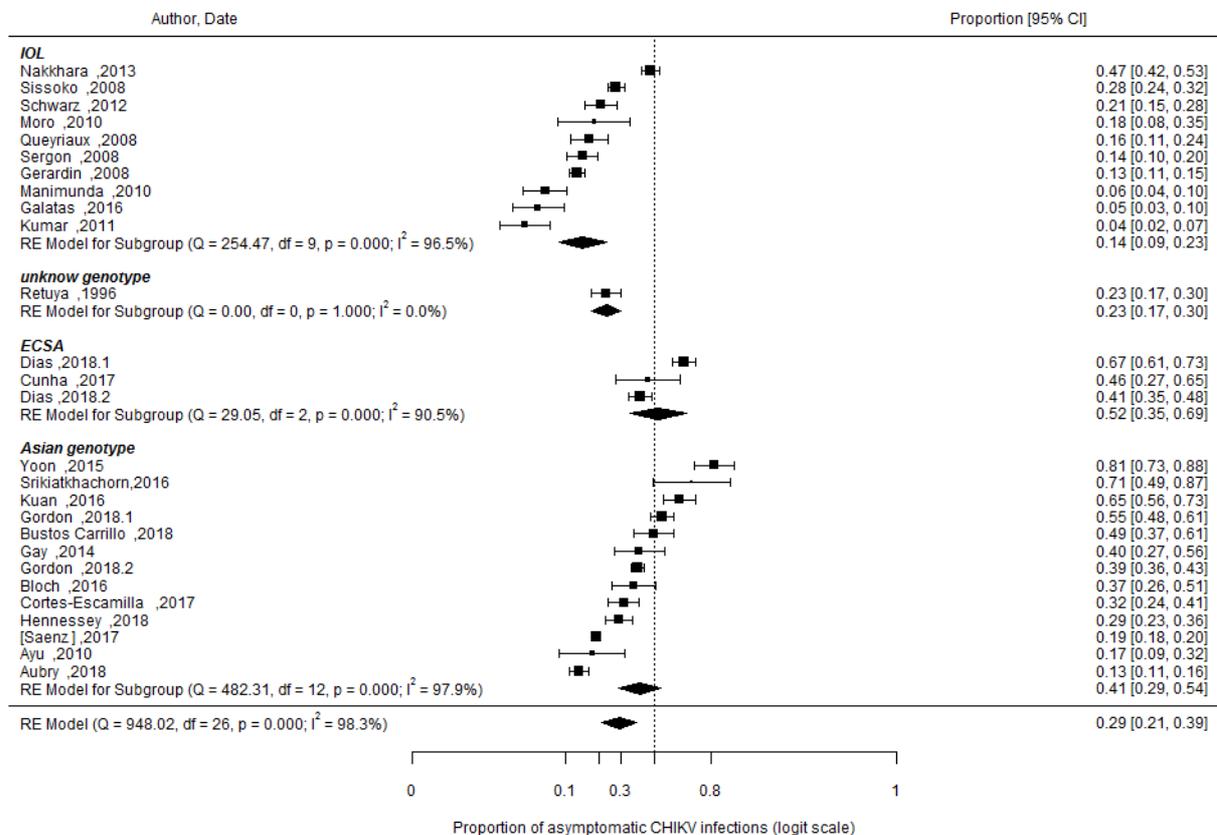
Tableau 2 : Modèles univariés de méta-régression de la proportion d'infections asymptomatiques à CHIKV. Coefficients, écart-type, significativité (valeur-p) et intervalles de confiance à 95% de l'association entre les potentiels modificateurs de l'effet et la proportion d'infections asymptomatiques à CHIKV (n = 27 estimations ponctuelles).

<i>Modificateur potentiel de l'effet</i>	<i>n(%)</i>	<i>Coefficient (logit)</i>	<i>écart-type (logit)</i>	<i>p</i>	<i>95% IC (logit)</i>
Génotype	27			6. 10 ⁻⁴	
asiatique	13 (48,1)	Référence			
ECSA	3 (11,1)	0,46	0,76	0,45	-0,72;1,63
inconnu	1 (3,7)	-0,83	-0,86	0,39	-2,71;1,06
IOL	10 (37)	-1,4	-3,56	4. 10 ⁻⁴	-2,18;-0,63
Région des Nations Unies				5,5 .10⁻³	
Caraïbes	3 (11,1)	Référence			
Amérique Centrale	6 (22,2)	0,28	0,42	0,67	-1,01;1,56
Afrique de l'est	5 (18,5)	-0,93	-1,37	0,17	-2,26;0,4
Polynésie	1 (3,7)	-1,28	-1,21	0,23	-3,35;0,79
Asie du sud-est	6 (22,2)	0,04	0,05	0,96	-1,27;1,34
Amérique du sud	3 (11,1)	0,68	0,89	0,37	-0,82;2,17
Asie du sud	2 (7,4)	-2,36	-2,74	0,01	-4,05;-0,67
Europe du sud	1 (3,7)	-0,9	-0,79	0,43	-3,14;1,33
Type d'études					
transversale	22 (81,5)	Référence			
prospective	5 (18,5)	1,56	3,16	1,6 .10 ⁻³	0,59;2,53
Méthode de collecte de données					
suivi médicalisé	2 (7,4)	Référence			
auto-déclaration	25 (92,6)	-2,25	-2,92	3,5 .10 ⁻³	-3,76;-0,74
Méthode diagnostique				0,15	
ELISA	13 (48,1)	Référence			
ELISA et PCR	7 (25,9)	0,39	0,78	0,44	-0,59;1,37
titres d'inhibition de l'hémagglutination	1 (3,7)	0,94	0,86	0,39	-1,19;3,07
immunofluorescence	3 (11,1)	-0,97	-1,38	0,17	-2,33;0,4
Seroneutralisation	3 (11,1)	1,36	1,93	0,05	-0,02;2,75
Définition de cas				0,23	
fièvre et arthralgies	16 (59,3)	Référence			
fièvre ou arthralgies	8 (29,6)	-0,6	-1,21	0,23	-1,58;0,37
imprécise	3 (11,1)	-0,75	-1,06	0,29	-2,15;0,64
Délai : fin d'épidémie- début d'inclusion		0,87	-3,08	0,95	-1,42;-0,32
Prévalence du chikungunya		-2,88	-3,07	2,1 .10⁻³	-4,72;-1,04

ECSA : East-Central-South-African; IOL: Indian Ocean Lineage.

Dans les analyses en sous-groupe, la proportion d'asymptomatiques était la plus faible pour le génotype IOL (14,4 % ; intervalle de Confiance à 95% [8,5-23,2%], $I^2 = 96,5\%$) et en cas de génotype inconnu (23,1% [17,1-30,3%]). La proportion était significativement plus élevée pour les génotypes ECSA (52.3% [35,0-69,0], $I^2 = 90.5\%$) et asiatique (40.7% [28,7-53,8%], $I^2 = 97.9\%$).

Figure 10 : Méta-analyse par sous-groupe de génotype viral de la proportion d'infections à virus chikungunya asymptomatiques



RE : random effect (effet aléatoire)

Les coefficients des modèles d'analyse univariée sont présentés dans le Tableau 2. Les variables tierces influençant significativement la proportion d'infections asymptomatiques à CHIKV au seuil 0,1 étaient le

type d'étude ($p = 1,6 \times 10^{-3}$), le mode de collecte de données ($p = 3,5 \times 10^{-3}$), la prévalence globale de l'infection ($p = 2,1 \times 10^{-3}$), la région des nations unies ($p = 5,5 \times 10^{-3}$). Une analyse multivariée incluant le génotype et ces 4 variables tierces comme modificateur de l'effet de la proportion d'infections à CHIKV asymptomatiques n'a pas été conduite faute d'un nombre suffisant d'estimations. Nous avons testé l'association génotype-proportion d'asymptomatiques à l'aide de méta-régressions bivariées incorporant une variable tierce à la fois présentée dans le *Tableau 3*.

En comparaison avec les autres génotypes, le génotype IOL était significativement associé à une proportion diminuée d'infections asymptomatiques même en ajustant un-à-un par le type d'étude ($p < 10^{-4}$), la région des nations unies ($p = 7 \times 10^{-4}$), la méthode de collecte de données ($p < 10^{-4}$) et la prévalence de l'infection ($p < 10^{-4}$). Inversement, après ajustement par le génotype, la sous-région n'était plus une variable significative au seuil $p = 0,1$; les études prospectives étaient significativement prédictives de proportion d'infections asymptomatiques plus élevées ($p = 0,01$) ; l'auto-déclaration des symptômes ($p = 5 \times 10^{-3}$) et la prévalence croissante ($p = 6,5 \times 10^{-3}$) étaient significativement associées à des proportions diminuées de formes asymptomatiques.

Tableau 3 : Modèles bivariés de méta-régression de la proportion d'infections asymptomatiques à CHIKV. Coefficients, écart-type, significativité (valeur-p) et intervalles de confiance à 95% de l'association entre les potentiels modificateurs de l'effet d'intérêt et la proportion d'infections asymptomatiques à CHIKV (n= 27 estimations ponctuelles).

<i>Modificateurs potentiels de l'effet</i>	<i>Coefficient (logit)</i>	<i>écart-type (logit)</i>	<i>p</i>	<i>95% IC (logit)</i>
<i>Génotype + Région des Nations Unies</i>			<i>7. 10⁻⁴</i>	
Génotype asiatique	Référence			
ECSA	0,68	0,71	0,33	-0,7; 2,07
inconnu	-1,53	1	0,13	-3,48; 0,43
IOL	-1,74	0,8	0,03	-3,32; -0,16
Région Caraïbes	Référence			
Amérique Centrale	0,28	0,61	0,65	-0,91; 1,47
Afrique de l'est	0,81	1,02	0,43	-1,19; 2,81
Polynésie	-1,28	0,97	0,19	-3,19; 0,63
Asie du sud-est	0,92	0,73	0,2	-0,5; 2,35
Amérique du sud*	-	-	-	-
Asie du sud	-0,62	1,13	0,59	-2,84; 1,6
Europe du sud	0,84	1,34	0,53	-1,78; 3,46
<i>Génotype + type d'étude</i>			<i>< 10⁻⁴</i>	
Génotype asiatique	Référence			
ECSA	0,93	0,57	0,1	-0,19; 2,06
inconnu	-0,35	0,88	0,69	-2,08; 1,38
IOL	-0,92	0,4	0,02	-1,71; -0,14
Etudes transversale	Référence			
prospective	1,24	0,48	0,01	0,29; 2,18
<i>Génotype + collecte des données cliniques</i>			<i>< 10⁻⁴</i>	
Génotype asiatique	Référence			
ECSA	0,72	0,54	0,18	-0,33; 1,78
inconnu	-0,56	0,85	0,51	-2,22; 1,1
IOL	-1,14	0,36	1,6.10 ⁻³	-1,84; -0,43
Collecte par suivi médicalisé	Référence			
auto-déclaration	-1,87	0,66	0,01	-3,17; -0,56
<i>Génotype + prévalence de CHIKV</i>			<i>< 10⁻⁴</i>	
Génotype asiatique	Référence			
ECSA	0,79	0,55	0,15	-0,28; 1,87
inconnu	-0,26	0,88	0,77	-1,98; 1,46
IOL	-1,05	0,37	4,9. 10 ⁻³	-1,78; -0,32
Prévalence du chikungunya	-2,31	0,85	0,01	-3,97; -0,65

ECSA : East-Central-South-African; IOL: Indian Ocean Lineage.

*sous-région totalement déterminée par le génotype ECSA

4.4 Discussion

Cette revue systématique et cette méta-analyse ont permis de résumer 27 estimations ponctuelles de la proportion d'infections à CHIKV asymptomatiques basées sur 6 331 participants et de quantifier sa variation en fonction du génotype impliqué dans des épidémies ou émergences touchant des populations initialement complètement ou majoritairement naïves. En effet, les analyses par sous-groupes ont montré que le génotype IOL était associé à des fréquences d'infections infracliniques variant entre 8,5 et 23,2%. Les infections asymptomatiques étaient plus fréquentes pour les génotypes ECSA (IC 95% : 35 à 69%) et asiatique (IC 95% : 28,7 à 53,8%). La prise en compte de cette variabilité phénotypique permettrait de nuancer les fourchettes rapportées dans la littérature qui sont souvent trop influencées par l'épidémiologie récente ou passée [81, 82], trop prudentes et trop larges [83, 84] et surtout globale, sans prise en compte du génotype impliqué.

Ces résultats soulignent l'importance de rapidement déterminer les génotypes viraux partout où des épidémies ou des émergences sont rapportées afin de mieux interpréter les données de surveillance et d'adapter si besoin la réponse dans les zones touchées ou vulnérables à la dissémination de CHIKV.

En effet, si la contribution des infections asymptomatiques de CHIKV à la transmission est mal connue, elle est vraisemblablement non négligeable. Ces cas humains sont depuis longtemps suspectés d'être le « point aveugle » de nos dispositifs de surveillance [85]. En effet, les personnes développant une infection asymptomatique peuvent présenter des niveaux de virémie comparables à ceux des infections symptomatiques [70]. Leur nombre et leur mobilité pourraient leur conférer un rôle primordial dans l'introduction, l'initiation de la transmission après introduction et plus globalement la dynamique de la transmission de façon comparable à la dengue [27].

Notre étude corrobore la revue de la littérature analogue de Bustos-Carillo *et al.* [52], portant sur 21 estimations ponctuelles, qui a été publiée après le dépôt de notre projet sur la plateforme PROSPERO.

Leur analyse a montré que la proportion d'infections à CHIKV asymptomatique suivait une distribution différente selon le génotype, en moyenne plus faible pour les génotypes IOL que pour le génotype asiatique. Nous avons fait entrer dans notre méta-analyse 18 des 21 estimations ponctuelles qu'inclut l'étude Bustos-Carillo et al. Nos résultats restent très comparables en dépit de l'exclusion de notre part de trois études pour les raisons suivantes : (i) la proportion d'infections asymptomatiques excluait peut-être de nombreux cas récents positifs en IgM faute de tests sérologiques [86] ; une étude ne comptait que 3 infections aiguës à CHIKV toutes asymptomatiques ou peut-être pré-symptomatiques [87], une population d'étude présentait des niveaux non-négligeable d'immunité antérieure anti-alphavirus [88]. Enfin, pour une étude, nous avons extrait un nombre d'infections asymptomatiques différent qui devait être recalculé en appliquant l'incidence des infections asymptomatiques donnée à la taille de la population d'étude [89].

Notre étude montre que la proportion d'infections asymptomatiques à CHIKV est très variable. Même si une grande partie de cette variabilité est expliquée en partie par le génotype et est due à l'hétérogénéité, d'autres facteurs n'ont pas pu être totalement pris en compte dans notre étude. La série de méta-régressions bivariées que nous avons mises en œuvre a montré la robustesse de l'association entre fréquence d'infection asymptomatique et génotype même après ajustement, un à un, par d'autres modificateurs de l'effet, tels que le type d'étude, la prévalence de l'infection dans la population d'étude et la collecte de données cliniques. La fréquence des infections infracliniques des études prospectives étaient de 63,2 à 92,5% supérieure à celle des études transversales. Ceci peut s'expliquer par le fait que les études prospectives sont en générale moins sujettes au biais de mémoire quand, pour les études transversales incluses dans notre analyse, les périodes d'anamnèse pouvaient dépasser 21 mois. Nous n'avons pas mis en évidence d'influence de l'inclusion de symptomatologie non-fébrile dans la définition de cas cliniques utilisée. Toutefois, il semble préférable que la fréquence de l'ensemble des symptômes soit clairement rapportée pour que de prochaines enquêtes permettent d'évaluer la fréquence des infections infracliniques.

De la même façon, la collecte médicalisée de l'information clinique est associée à des fréquences de formes infracliniques moins élevées de 2,3 à 33,4% que l'auto-déclaration, plus susceptible d'attribuer à tort des symptômes aspécifiques à une infection à CHIKV. Enfin, en accord avec une hypothèse formulée précédemment [74, 90], notre étude suggère que la proportion d'infections symptomatiques croît avec la prévalence de l'infection même si elle ne permet pas d'identifier les fondements biologiques de cette association qui devrait être investiguée dans de futures études. Le surcroît de fréquence des infections symptomatiques à CHIKV en Afrique de l'est et en Asie du sud ne persistait pas après ajustement par le génotype. Ceci s'explique par la distribution des épidémies de génotype IOL dans ces sous-régions.

Néanmoins, l'interprétation de ces résultats doit rester prudente en raison du faible effectif d'estimations disponibles interdisant une analyse multivariée plus complète qui pourrait montrer que le génotype est un facteur indépendant de la fréquence des infections infracliniques.

Des sources d'hétérogénéité restent sans doute inexplorées même si notre étude en a déjà identifié plusieurs. En effet, l'influence de l'âge et sexe n'a pas pu être extraite et étudiée, ces données n'étant disponibles le plus souvent qu'au niveau de la population des études de séroprévalence au sein de laquelle les participants infectés asymptomatiques et symptomatiques ne représentent qu'un sous-ensemble. Nous n'avons pas étudié l'influence de facteurs génétiques, socio-économiques ou de l'accès aux soins. Cependant, il est clair que certaines sous-régions des nations unies sont très hétérogènes vis-à-vis de ces caractéristiques (ex : la région Afrique de l'Est rassemble les données des épidémies kenyane, réunionnaise et mahoraise).

Le génotype est resté inconnu pour l'étude la plus ancienne [91]. Même s'il existe des revues de la littérature et études faisant référence sur la distribution dans le temps et dans l'espace des génotypes de CHIKV, elles pourraient être avantageusement complétées par une revue systématique spécifique portant sur la même période que celle de notre étude [92, 93]. L'absence de différence de fréquence d'infections

asymptomatiques constatée entre les génotypes asiatique et ECSA non-IOL peut être due au nombre limité d'estimations disponibles pour ce dernier sous-groupe (n= 3) plutôt qu'à une différence biologique. Toutefois, les estimations documentant une épidémie à CHIKV ECSA non-IOL dans notre analyse proviennent toutes du Brésil ou un sous-type américain de moindre virulence a été rapporté [92]. En outre, nous n'avons pas retrouvé de données concernant des épidémies mettant en cause le génotype ouest-africain.

Pour notre évaluation critique des études éligibles, nous avons pris le parti d'utiliser un outil conçu spécifiquement pour les études de prévalence par l'Institut Joanna Briggs. En effet, les autres grilles et outils disponibles ont été développés pour d'autres types d'études observationnelles ou pour la recherche clinique, ils auraient donc requis davantage d'adaptations. Cet outil ne produit pas de score de risque de biais pouvant entrer dans la méta-analyse. Nous avons cependant testé dans notre analyse des variables explicatives reflétant au moins en partie le risque de biais, comme le type d'étude ou le mode et le délai de collecte des données.

L'une des forces de notre étude est d'avoir pu conduire des analyses bivariées qui suggèrent la robustesse de la relation entre génotype et fréquence des infections asymptomatiques à CHIKV en ajustant par des facteurs de confusion potentiels. D'après nos analyses le niveau de biais de publication serait limité.

Conclusion

La proportion d'infections asymptomatiques à CHIKV varie grandement d'une épidémie à l'autre en fonction de facteurs qui n'ont sans doute pas tous été identifiés dans cette étude. Toutefois, notre étude apporte des éléments probants en faveur d'une fréquence plus élevée d'infections symptomatiques à CHIKV IOL, génotype qui a émergé en 2004. Même si ces résultats doivent être interprétés avec prudence, ils montrent que la relation persiste même en contrôlant, un à un, plusieurs facteurs tiers. Les implications potentielles sont nombreuses pour la préparation et la réponse aux émergences de CHIKV. La

modélisation, la surveillance épidémiologique, les évaluations de risque d'émergence, la stratégie de lutte anti-vectorielle et la préparation de l'offre de soins à une épidémie de CHIKV devraient prendre en compte la variabilité de la fréquence des formes asymptomatiques d'un génotype à l'autre. C'est pourquoi des données de séquençages précoces documentant le CHIKV au niveau mondial devraient être collectées pour chaque émergence et épidémie, de même pour d'autres arbovirus (fièvre jaune, Zika...). L'expression clinique des génotypes doit être suivie autant que possible par des études de séroprévalence incluant dans leurs objectifs la documentation des symptômes développés des sujets infectés décelés. Enfin, il reste à identifier un support génétique à la différence d'expression clinique observée.

Tableau suppl. 1 : Estimations ponctuelles de prévalence et de la proportion d'infection asymptomatique à virus chikungunya chez l'humain (n =29).

Références	Localisation	Sous-régions des Nations Unies	Type d'étude	Délai depuis l'épidémie (mois)	Définition de cas	Prévalence des infections à CHIKV	Proportion d'infections infra-clinique	Collecte de l'information clinique	Génotype	Cadre/ population d'étude (âge : étendue)	Vecteur principal	Tests diagnostiques	Echantillonnage
[Saenz]* et al.2017 [94]	Nicaragua, Managua	Amérique centrale	transversale	contemporain	imprécise	32,8% (3700/11280)	19,1% (707/3700)	interrogatoire	asiatique	ménages (>2 ans)	<i>Ae. aegypti</i>	ELISA (maison)	aléatoire en grappe à plusieurs degrés
Aubry et al.2018 [95]	Polynésie française	Polynésie	transversale	9	non rapportée	75,6% (529/700)	13,2% (70/529)	interrogatoire	asiatique	population générale	non rapporté	ELISA (maison)	non renseigné
Ayu et al.2010 [96]	Malaysia, Bagan Panchor	Asie du sud-est	transversale	11	fièvre ou arthralgies	55,6% (40/72)	17,5% (7/40)	interrogatoire	asiatique	ménages (1-77 ans)	<i>Ae. albopictus</i> , <i>Ae. aegypti</i>	seroneutralisation (maison)	non probabiliste
Bloch et al.2016 [97]	USA, Porto Rico	Caraïbes	transversale	contemporain	fièvre ou arthralgies	29,6% (74/250)	37,5% (21/56)	interrogatoire	asiatique	cluster (1-99 ans)	<i>Ae. aegypti</i>	ELISA PCR (maison)	Géographique
Bustos Carrillo et al.2018 [52]	Nicaragua, Managua	Amérique centrale	prospective	contemporain	fièvre ou arthralgies	26,7% (63/236)	49,2% (31/63)	interrogatoire	asiatique	ménages	<i>Ae. aegypti</i>	ELISA PCR (maison)	non probabiliste
Cortes-Escamilla et al.2017 [98]	Mexico, Morelos, Puente de Ixtla	Amérique centrale	transversale	contemporain	imprécise	29,5% (114/387)	31,6% (36/114)	interrogatoire	asiatique	ménages (≥2 ans)	non rapporté	ELISA (commercial)	aléatoire stratifié à plusieurs degrés
Cunha et al.2017 [99]	Brésil, Bahia, district de Chapada	Amérique du sud	transversale	4	fièvre et arthralgies	20% (24/120)	45,8% (11/24)	interrogatoire	ECSA [100]	ménages	<i>Ae. aegypti</i>	ELISA PCR (commercial)	aléatoire par grappes
Dias et al.2018.1 [101]	Brésil, Bahia, Feira de Santana	Amérique du sud	transversale	18	fièvre et arthralgies	57,1% (220/385)	67,3% (148/220)	interrogatoire	ECSA [92]	ménages (≥1 ans)	<i>Ae. aegypti</i>	ELISA (commercial)	non probabiliste
Dias et al.2018.2 [101]	Brésil, Bahia, Riachão do Jacuípe	Amérique du sud	transversale	18	fièvre et arthralgies	45,7% (204/446)	41,2% (84/204)	interrogatoire	ECSA	ménages (≥1 ans)	<i>Ae. aegypti</i>	ELISA (commercial)	non probabiliste
Galatas et al.2016 [102]	Cambodge, province de Kampong Speu, village de Trapeang Roka	Amérique du sud	transversale	contemporain	fièvre ou arthralgies	44,7% (190/425)	5,3% (10/190)	interrogatoire	IOL	ménages	<i>Ae. aegypti</i>	ELISA PCR (maison)	non probabiliste

Gay et al.2014 [69]	Saint-Martin, Antilles	Caraïbes	transversale	contemporain	fièvre et arthralgies	20,7% (42/203)	40,5% (17/42)	auto-déclaré	asiatique	laboratoire	<i>Ae. aegypti</i>	ELISA (maison)	non probabiliste
Gérardin et al.2008 [103]	La Réunion	Afrique de l'Est	transversale	contemporain	fièvre et arthralgies	39,6% (967/2442)	12,6% (116/921)	auto-déclaré	IOL [93]	ménages	<i>Ae. albopictus</i>	ELISA (maison)	aléatoire stratifié à plusieurs degrés
Gordon et al.2018. 1 [104]	Nicaragua, Managua	Amérique centrale	cohorte communautaire	contemporain	fièvre et arthralgies	6,1% (204/3361)	54,5% (108/198)	interrogatoire	asiatique	ménages (2-14 ans)	<i>Ae. aegypti</i>	ELISA PCR (maison)	Stratifiés par âge
Gordon et al.2018. 2 [104]	Nicaragua, Managua	Amérique centrale	cohorte communautaire	contemporain	fièvre et arthralgies	21,3% (689/3230)	39,4% (254/645)	interrogatoire	asiatique	ménages (2-14 ans)	<i>Ae. aegypti</i>	ELISA PCR (maison)	Stratifiés par âge
Hennessey et al.2018 [105]	USA, Îles Vierges	Caraïbes	transversale	12	fièvre et arthralgies	33,6% (171/509)	29,2% (50/171)	interrogatoire	asiatique	ménages (≥0,5 ans)	non rapporté	ELISA PCR (maison)	aléatoire stratifié en grappes
Kuan et al.2016 [106]	Nicaragua, Managua	Amérique centrale	transversale	3	fièvre et arthralgies	6,1% (204/3362)	58,3% (119/204)	interrogatoire	asiatique	ménages (≥15 ans)	<i>Ae. aegypti</i>	ELISA (maison)	systématique aléatoire
Kumar et al.2011 [107]	Inde, Kerala	Asie du sud	transversale	15	fièvre et arthralgies	68,0% (259/381)	3,8% (10/260)	interrogatoire	IOL	ménages (14-70 ans)	<i>Ae. albopictus</i>	Test d'immunofluorescence (commercial)	systématique aléatoire
Manimunda et al.2010 [47]	Inde, Karnataka, district de Dakshina Kannada,	Asie du sud	transversale	contemporain	fièvre et arthralgies	62,2% (224/360)	6,3% (14/224)	interrogatoire	IOL [93]	ménages (≥5 ans)	non rapporté	ELISA (maison)	Stratifié aléatoire
Moro et al.2010 [108]	Italie, Émilie-Romagne	Europe du Sud	transversale	3	fièvre et arthralgies	10,2% (33/325)	18,2% (6/33)	interrogatoire	IOL	recensement	<i>Ae. albopictus</i>	Test d'immunofluorescence (commercial)	aléatoire stratifié par âge
Nakkhara et al.2013 [43]	Thailand, Phatthalung, Pa Ban district, Thung Nari subdistrict	Asie du sud-est	transversale	21	fièvre ou arthralgies	61,9% (314/507)	47,1% (148/314)	interrogatoire	IOL	ménages	<i>Ae. albopictus</i>	titres d'inhibition de l'hémagglutination (maison)	non probabiliste
Queyrioux et al.2008 [89]	La Réunion	Afrique de l'Est	cohorte rétrospective	6	fièvre ou arthralgies	4,2% (28/662)	3,1% (4/128)	auto-déclaré	IOL [93]	militaires/gendarmes (19-55 ans)	<i>Ae. albopictus</i>	ELISA (maison)	non probabiliste
Retuya et al.1998 [91]	Philippines, Cavite	Asie du sud-est	transversale	contemporain	fièvre et arthralgies	52,3% (156/298)	23,1% (36/156)	interrogatoire	inconnu	ménages (2-89 ans)	<i>Ae. albopictus</i> , <i>Ae. aegypti</i>	ELISA (maison)	non probabiliste

Schwarz et al.2012 [109]	Madagascar, Manajary & Manakara	Afrique de l'Est	transversale	contemporain	fièvre ou arthralgies	32,3% (144/446)	20,8% (30/144)	interrogatoire	IOL	parturientes (12-50 ans)	<i>Ae. albopictus</i> , <i>Ae. aegypti</i>	Test d'immunofluorescence (maison)	non probabiliste
Sergon et al.2008 [110]	Comoros, Grande Comore	Afrique de l'Est	transversale	10	fièvre ou arthralgies	63,1% (209/331)	14,4% (30/209)	interrogatoire	IOL	ménages (≥5 ans)	<i>Ae. aegypti</i>	ELISA (maison)	aléatoire à plusieurs degrés
Sissoko et al.2008 [111]	Mayotte, archipel des Comores	Afrique de l'Est	transversale	4	fièvre et arthralgies	38,1% (440/1154)	27,7% (122/440)	interrogatoire	IOL	ménages (≥2 ans)	<i>Ae. albopictus</i>	ELISA (maison)	aléatoire en grappe à plusieurs degrés
Stewart-lbarra et al.2018 [87]	Équateur, région de Machala	Amérique du sud	screening	contemporain	fièvre ou arthralgies	3,5% (3/86)	100% (3/3)	interrogatoire	asiatique	cluster (≥0,5 ans)	<i>Ae. aegypti</i>	PCR (commercial)	sélection aléatoire de cas index pour enquête en grappes
Yoon et al.2015 [51]	Philippines, Cebu City	Asie du sud-est	prospectif	contemporain	fièvre et arthralgies	12,5% (107/853)	81,3% (87/107)	suivi médicalisé	asiatique	ménages (≥0,5 ans)	non rapporté	seroneutralisation (maison)	Stratifiés par âge
Srikiatkha chorn et al. 2016 [112]	Philippines, Cebu City	Asie du sud-est	prospectif	contemporain	fièvre et arthralgies	4,7% (21/443)	71,4% (15/21)	suivi médicalisé	asiatique	ménages (≥0,5 ans)	non rapporté	seroneutralisation (maison)	Stratifiés par âge

*auteur indiqué pour la correspondance

Annexe : Stratégie de recherche Pubmed : prévalence per- ou post-épidémique et proportion d'infections asymptomatiques de chikungunya

1. Mots clefs

("Chikungunya Fever"[Mesh] OR "Chikungunya virus"[Mesh]) AND ("Prevalence"[Mesh] OR "Seroepidemiologic Studies"[Mesh])

2. Mots libres

((serosurvey[All Fields] OR (seroepidemiology[All Fields] OR seroepidemiological[All Fields] OR seroepidemiologia[All Fields] OR seroepidemiologiai[All Fields] OR seroepidemiologic[All Fields] OR seroepidemiologica[All Fields] OR seroepidemiological[All Fields] OR seroepidemiologically[All Fields] OR seroepidemiologicas[All Fields] OR seroepidemiologice[All Fields] OR seroepidemiologicheskaja[All Fields] OR seroepidemiologicheskii[All Fields] OR seroepidemiologicheskikh[All Fields] OR seroepidemiologicheskoe[All Fields] OR seroepidemiologicheskogo[All Fields] OR seroepidemiologicka[All Fields] OR seroepidemiologico[All Fields] OR seroepidemiologicos[All Fields] OR seroepidemiologiczne[All Fields] OR seroepidemiologie[All Fields] OR seroepidemiologies[All Fields] OR seroepidemiologii[All Fields] OR seroepidemiologiia[All Fields] OR seroepidemiologique[All Fields] OR seroepidemiologiques[All Fields] OR seroepidemiologische[All Fields] OR seroepidemiologischen[All Fields] OR seroepidemiologischer[All Fields] OR seroepidemiologisk[All Fields] OR seroepidemiology[All Fields] OR seroepidemiology'[All Fields] OR seroepidemioloskog[All Fields])) OR ("seroepidemiologic studies"[MeSH Terms] OR ("seroepidemiologic"[All Fields] AND "studies"[All Fields]) OR "seroepidemiologic studies"[All Fields] OR "seroprevalence"[All Fields])) AND Chikungunya[TIAB]

Dédoublonnée :

((serosurvey[All Fields] OR (seroepidemiology[All Fields] OR seroepidemiological[All Fields] OR seroepidemiologia[All Fields] OR seroepidemiologiai[All Fields] OR seroepidemiologic[All Fields] OR seroepidemiologica[All Fields] OR seroepidemiological[All Fields] OR seroepidemiologically[All Fields] OR seroepidemiologicas[All Fields] OR seroepidemiologice[All Fields] OR seroepidemiologicheskaia[All Fields] OR seroepidemiologicheskie[All Fields] OR seroepidemiologicheskii[All Fields] OR seroepidemiologicheskikh[All Fields] OR seroepidemiologicheskoe[All Fields] OR seroepidemiologicheskogo[All Fields] OR seroepidemiologicka[All Fields] OR seroepidemiologico[All Fields] OR seroepidemiologicos[All Fields] OR seroepidemiologiczne[All Fields] OR seroepidemiologie[All Fields] OR seroepidemiologies[All Fields] OR seroepidemiologii[All Fields] OR seroepidemiologiai[All Fields] OR seroepidemiologique[All Fields] OR seroepidemiologiques[All Fields] OR seroepidemiologische[All Fields] OR seroepidemiologischen[All Fields] OR seroepidemiologischer[All Fields] OR seroepidemiologisk[All Fields] OR seroepidemiology[All Fields] OR seroepidemiology'[All Fields] OR seroepidemioloskog[All Fields])) OR ("seroepidemiologic studies"[MeSH Terms] OR ("seroepidemiologic"[All Fields] AND "studies"[All Fields]) OR "seroepidemiologic studies"[All Fields] OR "seroprevalence"[All Fields])) AND Chikungunya[TIAB]) OR (("Chikungunya Fever"[Mesh] OR "Chikungunya virus"[Mesh]) AND ("Prevalence"[Mesh] OR "Seroepidemiologic Studies"[Mesh]))

Chapitre 5 : Etude de séroprévalence de la dengue mise en œuvre à Nîmes en 2015 dans les suites d'une épidémie : implications pour l'évaluation de risque d'émergence de la dengue en France métropolitaine

Le chapitre V montre, par l'exemple d'une étude de séroprévalence de la dengue conduite en post-épidémique à Nîmes en 2015, comment peut être explorée la contribution des cas asymptomatiques à la dissémination d'une maladie vectorielle en France métropolitaine [113]. Nous en résumerons les méthodes et les résultats tout en discutant comment les analyses spatiales et temporelles mises en œuvre ont permis d'évaluer si les cas asymptomatiques pouvaient contribuer à expliquer la dynamique observée.

5.1 Introduction

Entre 2010 et 2015, des épisodes de transmission localisée de la dengue ont été détectés de façon plus fréquente dans les zones du sud de la France colonisées par le moustique vecteur *Aedes albopictus*. Jusqu'à là, la dissémination du virus de la dengue était limitée dans le temps et circonscrite après la survenue d'un maximum 2 cas.

En juillet 2015, un foyer de 7 cas groupés d'infection par le virus de la dengue de sérotype 1 (DENV-1) étalés sur 2 mois a été signalé à Nîmes [114]. S'agissant de l'épisode de transmission la plus prolongée observé en France métropolitaine, une enquête sérologique post-épidémique de terrain a été lancée pour déterminer l'étendue réelle de la transmission de la dengue. Selon le terrain d'études entre 20-94% des sujets infectés par le virus de la dengue ne développent pas de symptômes [115]. Notre hypothèse de travail était donc que cette étude de séroprévalence décèlerait davantage de cas que la surveillance et l'investigation mise en œuvre pendant l'alerte. Elle donnerait ainsi la possibilité d'évaluer les dispositifs de détection de cas de dengue qui guident les mesures de lutte anti-vectorielle visant à contenir la dissémination de la dengue en France métropolitaine.

5.2 Méthodes

L'étude et ses résultats sont décrits en détails dans un article entrant dans la présente thèse publié en 2018 [113]. L'étude de séroprévalence a été menée en novembre 2019, à la fin de la période d'activité du vecteur *Aedes albopictus* dans le quartier de Nîmes où le foyer de cas de dengue autochtone avait été identifié. La population d'étude définie sur critères géographiques correspondait à l'ensemble des ménages résidant dans un rayon de 150 m autour du domicile des cas.

Tous les membres volontaires des ménages éligibles de 2 ans et plus ont été invités à soumettre un échantillon de sang capillaire et ont été interrogés sur leurs antécédents médicaux et de voyage, ainsi que sur l'exposition aux piqûres de moustique. Les infections récentes ont été identifiées à l'aide des tests ELISA IgM et IgG anti-DENV, suivis, en cas de positivité, d'une séroneutralisation DENV 1-4 et virus West Nile.

L'estimation de prévalence a été calculée par calage sur marges basées sur les données démographiques de l'Insee (structure d'âge et catégories socio-professionnelles). La méthode de calage a été utilisée directement sur l'échantillon de répondants afin de corriger la non-réponse et d'améliorer la précision des estimations. Nous avons fait l'hypothèse que l'échantillon d'étude surreprésenterait les sujets les plus susceptibles d'être présent à domicile et d'être exposés aux piqûres de moustiques. Le calage a donc été basé sur la catégorie d'âge et socio-professionnelle comme variables pouvant expliquer la non-réponse. Des analyses visant à quantifier le regroupement spatial des cas de dengue au sein de la communauté touchée et reconstruire la chaîne de transmission ont été mises en œuvre à partir des bases théoriques décrites précédemment (§3.4.1 et §3.4.2). Les adresses des ménages du quartier ont été géoréférencées. Nous avons quantifié le regroupement spatial des sujets sur plusieurs plages de distance (même ménage, 0 à 50 m, > 50 à 100 m et > 100 à 200 m) en calculant le rapport du risque (RR) de trouver deux cas vivant dans une plage de distance par celui de trouver deux personnes non infectées dans ce même intervalle de distance [57].

Nous avons utilisé un modèle statistique pour déterminer la chaîne de transmission la plus probable, estimer le risque d'infection dans la communauté et étudier les schémas spatiaux du risque d'infection. Ces modèles

sont dérivées de modèles publiés précédemment [58, 59]. La force d'infection s'appliquant à un individu i au temps t est

$$\lambda_i(t) = \sum_{j:t_j < t}^N \lambda_{j \rightarrow i}(t|x_j, x_i)$$

où le risque que la personne j infecte la personne i avec une date de début des symptômes le jour d ($d > d_j$) au moment t est

$$\lambda_{j \rightarrow i}(t|x_j, x_i) = \beta(x_i, x_j) \cdot f(t - t_i)$$

où $\beta(x_i, x_j)$ est le taux de transmission entre les individus j et i , qui, dans le cas le plus simple, correspond simplement au taux de transmission communautaire global β . $f(t - t_i)$ est la densité probabiliste de l'intervalle en série, qui est la distribution du temps entre le début des symptômes chez un cas et le début des symptômes dans les cas générés.

Nous avons étudié deux types de dépendance spatiale du risque d'infection. Premièrement, nous avons autorisé un changement de la force d'infection $\lambda_i(t)$ lorsqu'un cas est survenu dans le même ménage, notamment en raison d'une exposition partagée à un moustique déjà présent dans le logement (infections co-primaires). Deuxièmement, nous avons ajusté un noyau (« kernel ») de distance spatiale aux modifications de $\beta(x_i, x_j)$ basé sur une fonction de loi de puissance et la distance géographique entre les individus i et j .

Pour tenir compte de l'augmentation du risque au sein des ménages, nous avons laissé $\lambda_i(t)$ augmenter de Δ_λ une fois qu'un cas est apparu dans le même ménage.

$$\lambda_i(t) = \sum_{j:t_j < t}^N \lambda_{j \rightarrow i}(t|x_j, x_i) + \Delta_\lambda$$

Pour étudier les modifications du taux de transmission en fonction de la distance, nous avons permis à $\beta(x_i, x_j)$ de varier en fonction de la distance entre les individus i et j à l'aide d'un noyau de distance de

puissance $g(x_i, x_j)$ avec le paramètre de noyau α , la distance d_{ij} entre les individus i et j en mètres avec une distance maximale fixée à 1000 mètres

$$g(x_i, x_j) = \frac{1}{\left(1 + \frac{d_{ij}}{1000}\right)^\alpha} \cdot A$$

où A est un facteur de correction garantissant que le noyau ne dépasse pas 1 sur la distance maximale.

$$A = \frac{1 - \alpha}{1000 \cdot (2^{(1-\alpha)} - 1)}$$

$\beta(x_i, x_j)$ est alors obtenu par

$$\beta(x_i, x_j) = \beta \cdot g(x_i, x_j)$$

Le taux de reproduction effectif pour la personne j a été calculé comme suit:

$$R_j = \sum_{i \neq j} \beta(x_i, x_j)$$

La probabilité qu'un membre du ménage soit un cas co-primaire a été calculée comme suit:

$$P_{co-primary} = 1 - \exp(-\Delta_\lambda \cdot d_\lambda)$$

Nous avons estimé les paramètres du modèle en fonction d'un cadre bayésien de Monte Carlo (MCMC) en chaîne de Markov. Les paramètres ont été mis à jour à l'aide d'un algorithme Metropolis-Hastings fonctionnant pour 60 000 itérations avec un burn-in de 10 000 itérations et chaque 10ème valeur échantillonnée est stockée. La convergence a été évaluée visuellement. La comparaison des modèles a été effectuée sur la base du critère d'information sur la déviance (DIC).

Davantage de détails sur la détermination de la distribution de l'intervalle sériel et l'estimation des paramètres du modèle de transmission sont disponibles dans l'annexe méthodologique de l'article présenté en annexe.

L'étude a été réalisée avec l'approbation de la Commission nationale de l'informatique et des libertés. La participation était volontaire. Un consentement éclairé signé a été obtenu de tous les participants ou de leur tuteur légal, pour les mineurs.

5.3 Résultats

Le terrain d'étude correspondait à un quartier résidentiel pavillonnaire de Nîmes d'une population estimée à 1 431 habitants. Les niveaux d'exposition aux piqûres de moustique rapportés étaient élevés pendant l'été 2015 : la majorité des participants ont jugé la présence de moustiques comme abondante (83%) et ont rapporté de fréquentes piqûres de moustique (57%). L'échantillon différait de la population étudiée en termes de catégories socioprofessionnelles ($p < 0,0001$) et de groupes d'âge ($p < 0,0001$). Leur répartition par sexe n'était pas significativement différente ($p = 0,19$). Les catégories des 18 à 24 ans et des cols blancs ou bleus inférieurs étaient surreprésentées (tableau 1).

Séroprévalence de la dengue

Le taux de participation à l'étude était de 39% (564/1 431). Sur les 564 participants testés, trois cas d'infection à DENV-1 ont été décelés, soit une prévalence de l'infection dans la population d'étude de 0,41% (intervalle de confiance à 95%: 0,00-0,84). Seul un de ces trois cas sérologiques n'avait pas été identifié précédemment lors des investigations de l'été 2015 portant la taille du foyer de dengue à 8 cas autochtones faisant suite à un cas index. Six infections anciennes au virus du Nil occidental ont été décelées de manière fortuite (0,9%; IC à 95%: 0,2 - 1,6).

Tableau 4 : Répartition par âge, sexe et catégorie socioprofessionnelle des participants à l'étude et de la population de référence, séroprévalence de la dengue à Nîmes, France, 2015

Groupes d'âge (ans)	Participants		Population de référence	
	Effectif	Proportion	Effectif	Proportion
2-3	8	1,4%	20	1,4%
4-5	5	0,9%*	38	2,7%
6-10	33	5,9%	104	7,3%
11-14	27	4,8%*	109	7,6%
15-17	13	2,3%**	73	5,1%
18-24	56	10,0%***	53	3,7%
25-64	352	62,9%	887	62,0%
65-74	46	8,2%	110	7,7%
≥75	20	3,6%	37	2,6%
Total	564	100,0%	1,431	100,0
Sexe				
Masculin	256	45,5%	697	48,7%
Catégorie socio-professionnelle du ménage				
Agriculteurs	3	0,6%	10	0,7%
Artisans, commerçants	36	6,6%	77	5,4%
Cadres	13	2,4%***	183	12,8%
Professions intermédiaires	85	15,7%	203	14,2%
Employés	165	30,4%***	227	15,9%
Ouvriers	164	30,3%***	294	20,6%
Retraités	69	12,7%***	307	21,5%
N'a jamais travaillé	7	1,3%***	130	9,1%
Total	542	100,0%	1431	100,0%

La population de référence a été estimée pour les 512 ménages éligibles à la participation à l'étude sur la base de données de l'Institut national de la statistique et des sciences économiques (INSEE, "carroyages 200m" and RFL2010, 2013)

* Proportion significativement différente de la population de référence (test χ^2 , $p < 0.05$).

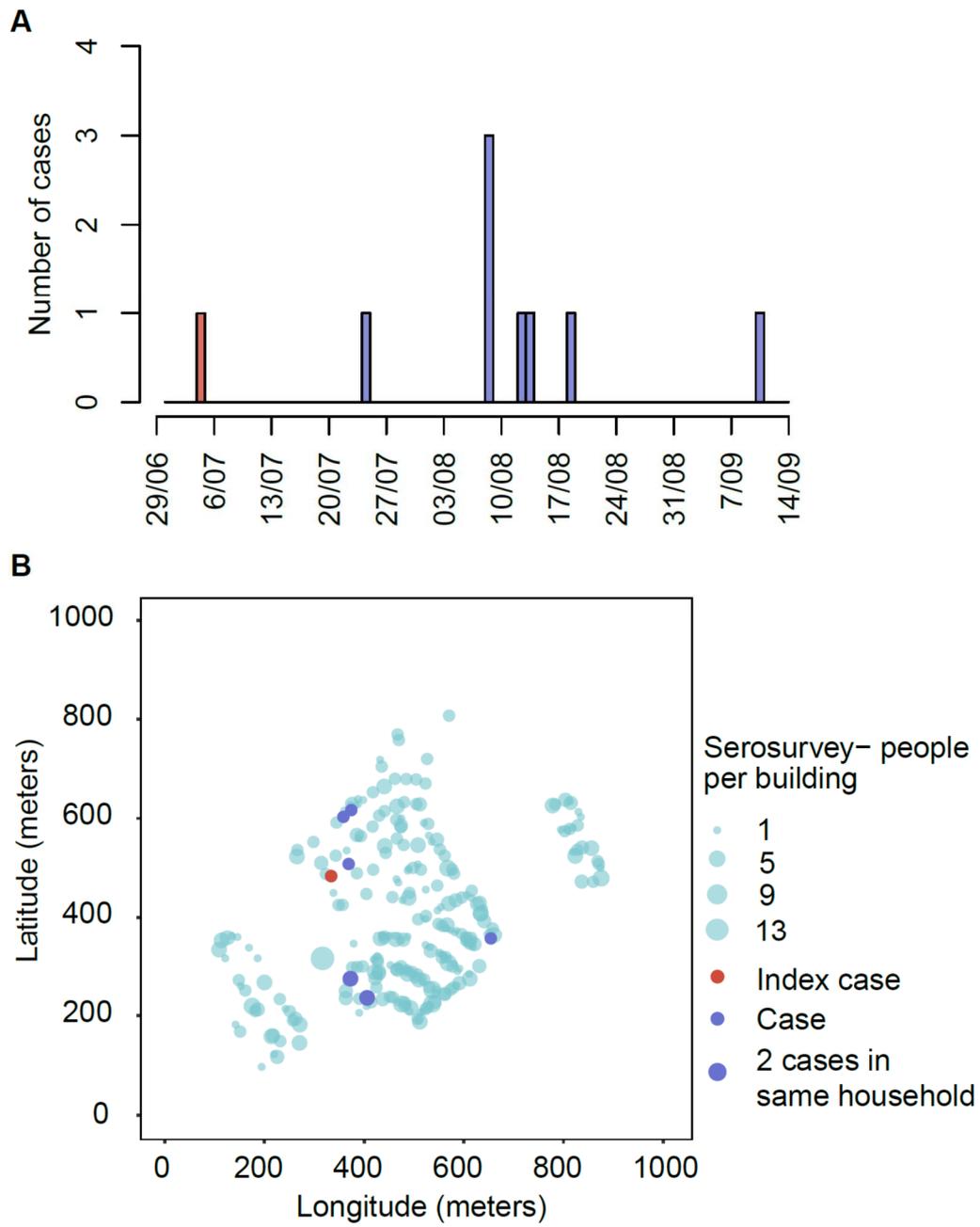
** Proportion significativement différente de la population de référence (test χ^2 , $p < 10^{-2}$).

*** Proportion significativement différente de la population de référence (test χ^2 , $p < 10^{-4}$).

Distribution spatio-temporelle des cas

La courbe épidémique et la distribution spatiale des cas étaient indicatives d'une transmission prolongée sur plusieurs générations mais aussi regroupée dans l'espace autour du domicile des cas (Figure 11). Il n'y avait pas de différence significative entre la distance médiane entre 2 cas de dengue et entre deux non-cas et la probabilité d'être issus du même ménage pour deux cas était 18,2 (Intervalle de Crédibilité à 95%: 4.7–70.2) fois plus élevée que pour deux non-cas.

Figure 11 : Courbe épidémique (A) et distribution spatiale des cas (B), étude de séroprévalence de la dengue, Nîmes, France, 2015.



Reconstruction de la chaîne de transmission

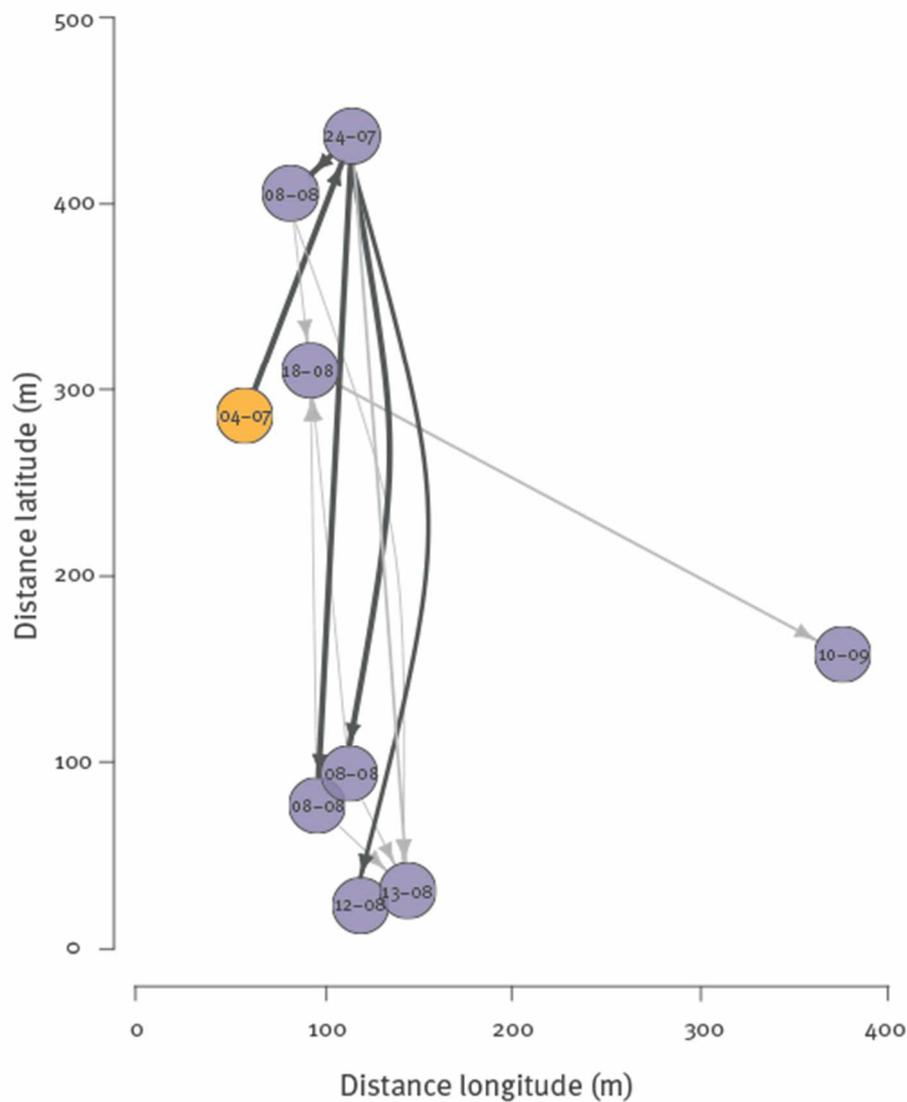
En reconstruisant a posteriori la chaîne de transmission à partir de la distribution des cas dans le temps et dans l'espace, nous avons pu identifier le cas le plus probable à l'origine de l'infection de cinq des huit cas autochtones avec une probabilité > 50%. Le taux de reproduction effectif R (nombre de cas secondaires causés par un cas) a été estimé à 0,98 (ICr à 95%: 0,46 à 1,74). Parce que les personnes infectées issus d'un même ménage présentaient des dates de début des signes rapprochées (écart de 0 ou 1 jour), elles appartenaient probablement à la même génération de cas.

Vraisemblance de la proportion observée de cas asymptomatique de dengue

Contrairement à notre hypothèse de travail, notre étude n'a pas mis en évidence de cas asymptomatiques. Nous avons estimé la proportion maximale de cas asymptomatiques qui concorderait avec l'observation de zéro cas asymptomatique sur l'ensemble des cas de dengue détectés (8 cas secondaires et 1 cas index). En faisant l'hypothèse que le nombre de cas asymptomatiques suive une loi binomiale $n \sim Bin(N, p_{as})$, où N est le nombre total de cas de dengue et p_{as} est la probabilité d'observer un cas asymptomatique.

La borne supérieure de p_{as} a été estimée entre 19 et 20%, sur la base d'un test du rapport de vraisemblance et d'une erreur de type 1 $\alpha = 5\%$. Parce que la probabilité d'observer un cas asymptomatique serait inférieure à 20%, l'absence de cas asymptomatique décelé dans cette étude reste vraisemblable.

Figure 12 : Reconstruction de la chaîne de transmission, étude de séroprévalence de la dengue, Nîmes, France, 2015.



Chaque cas est représenté avec sa date de début des signes par un point selon les coordonnées géographiques de leur domicile. Les points qui se chevauchent représentent des cas vivant dans le même ménage. Le cas index est indiqué en jaune. Seuls les liens entre les cas avec les probabilités de transmission $\geq 0,2$ sont représentés ; Ils figurent en gras si la probabilité de transmission $\geq 0,5$.

5.4 Discussion

L'étude de séroprévalence mise en œuvre rapidement en 2015 à Nîmes dans les suites de l'investigation des cas groupés de dengue indique que 0,4% de la population du quartier avaient été affectée.

Le niveau de prévalence de l'infection constaté à Nîmes n'est pas éloigné de celui d'autres émergences de la dengue en zone de climat tempéré [116-118]. Toutefois, contrairement à notre hypothèse de travail, nous n'avons pas mis en évidence d'infections asymptomatiques.

Les principales limites de notre étude sont celles des investigations de terrain, elles doivent cependant être prises en compte dans l'interprétation de ces résultats. Avec une participation de 55% au niveau de ménages, mais de 39% à l'échelle de la population du quartier, il reste possible que notre étude n'ait pas décelé l'ensemble des personnes infectées. Par ailleurs, nous avons mis en évidence un déclin rapide des IgM anti-dengue chez deux participants, diagnostiqués comme cas de dengue lors de l'investigation réalisée trois mois plus tôt. Des personnes infectées symptomatiques ou non qui présenteraient un titre d'anticorps IgM subliminaire pourraient avoir été classées à tort comme non-cas ou correspondre à des personnes ayant une infection ancienne sans rapport avec le foyer de cas groupés de 2015. La technique de sérologie française de référence a été utilisée dans cette étude que pour l'investigation initiale de l'émergence et de plusieurs autres émergences. Cependant, les prélèvements ayant été fait sur buvard, on ne peut écarter un défaut de sensibilité du fait des conditions de collecte, de transport et de réalisation de ces analyses.

L'analyse poussée de la distribution spatio-temporelle du foyer de dengue a permis d'apporter un éclairage supplémentaire sur une contribution des infections asymptomatiques possiblement occultée. Tout d'abord, la concentration des cas dans le quartier touché n'est pas en faveur d'une dissémination diffuse au sein de laquelle des cas auraient pu passer inaperçus. Au contraire, il s'agirait plutôt de plusieurs foyers de transmission circonscrits centrés autour de ménages, en accord avec les données comportementales des populations européennes d'*Ae. albopictus* femelles [119, 120]. Cette hypothèse de faible dispersion des vecteurs est corroborée par les conditions écologiques de ce quartier favorables à la transmission, où les sites de repos et de pontes devaient être abondants comme peut le suggérer le niveau élevé de nuisance perçue spécifiquement par la population dans ce quartier.

Par ailleurs, la reconstruction de la chaîne de transmission a été possible sans inclure un ou plusieurs cas passé inaperçu (asymptomatique ou non investigué) pour expliquer la dynamique observée. Il est donc vraisemblable que nos investigations reflètent avec une bonne exactitude la vraie dimension du foyer de dengue étudié, le faible nombre de cas survenus étant compatible avec le fait de ne pas observer de cas

asymptomatiques. Enfin, l'essentiel des données cliniques de la dengue provient de populations présentant un degré variable d'immunité hétérotypique contre les virus de la dengue. [45, 121, 122]. Notre étude n'a pas mis en évidence de cas infracliniques. Ce résultat suggère qu'en plus des caractéristiques du virus de dengue émergent, la fréquence de la proportion d'infections asymptomatiques dépend du niveau d'immunité de la population touchée et sans doute de l'ampleur de la transmission.

On peut tirer plusieurs enseignements de cette investigation quant au potentiel de dissémination de la dengue en France métropolitaine. Tout d'abord, cette enquête sérologique confirme que des foyers de dengue autochtone peuvent survenir dans les zones du sud de la France colonisées par *Aedes albopictus*. En comparaison avec le risque d'émergence du chikungunya en Europe, ceux-ci ont été de taille plus limitée que ceux de chikungunya [72, 73, 108]. Néanmoins l'émergence d'une souche virale plus adaptée aux conditions de transmission en zone de climat tempéré pourrait conduire au développement d'une épidémie de taille comparable à l'épidémie de dengue de 164 cas rapportée à Tokyo en 2014 [123]. Il en serait de même si la période de transmission sans intervention efficace était plus longue.

La surveillance de la dengue en France métropolitaine reposant sur la détection précoce de cas confirmés reste adaptée. Toutefois, des études de séroprévalence restent nécessaires pour documenter la proportion d'infections asymptomatiques et la dynamique de transmission en cas de nouvel épisode d'émergence [123].

Chapitre 6 : Emergence de la bilharziose urogénitale en Corse du Sud : trouver les cas asymptomatiques pour prévenir l'endémisation

Ce chapitre documente l'investigation conduite en 2014 d'une épidémie de bilharziose urogénitale autochtone en relation avec des baignades dans le Cavu, cours d'eau de Corse-du-Sud. Nous présenterons ici l'effort national mis en œuvre pour détecter l'ensemble des cas dont une large partie était asymptomatique en vue d'éviter un éventuel passage à l'endémicité de la maladie. Les méthodes mises en œuvre et les résultats résumés ci-après sont décrites de façon détaillée dans l'article joint à la thèse [124].

6.1 Introduction

La bilharziose (ou schistosomiase) urogénitale humaine est une maladie parasitaire causée par un trématode du genre *Schistosoma*, *Schistosoma haematobium*, endémique en Afrique et au Moyen-Orient [125]. Le cycle de vie de *S. haematobium* requiert l'infection de deux hôtes : des mollusques d'eau douce appartenant au genre *Bulinus* chez lequel il effectue une multiplication clonale et l'hôte final humain chez qui la reproduction sexuée a lieu. L'humain s'infecte par contact avec de l'eau douce contaminée.

Après une phase invasive souvent silencieuse dans la circulation sanguine humaine, les larves deviennent des vers adultes quand elles gagnent les veines portes. Les adultes femelles et mâles s'installent dans le plexus veineux urogénital. Le ver femelle pond dans la paroi de la vessie des œufs qui sont finalement excrétés dans l'urine. La présence d'antigènes d'œuf déclenche une réponse immunitaire chronique endommageant les tissus, qui conduit à une hématurie et, à long terme, à une obstruction des voies urinaires et reproductives et, dans certains cas, à un carcinome de la vessie. La survenue de ces lésions irréversibles peut être efficacement prévenue par le diagnostic précoce des cas grâce à un traitement curatif simple et peu onéreux. Plutôt que totalement asymptomatique, l'infection d'expression clinique principalement chronique pourrait n'être décelée qu'après plusieurs mois ou années d'évolution du fait de symptômes demeurant légers ou étant mal reconnus [126].

En Europe, *S. haematobium* peut théoriquement être introduit dans tous les sites hébergeant *Bulinus truncatus*, comme on en trouve en Corse (France) [127, 128], en Espagne [129], au Portugal [130] et en Sardaigne [131]. Toutefois, aucune transmission durable du parasite n'a été documentée en Europe depuis son élimination au Portugal dans les années 1950 [125], [130].

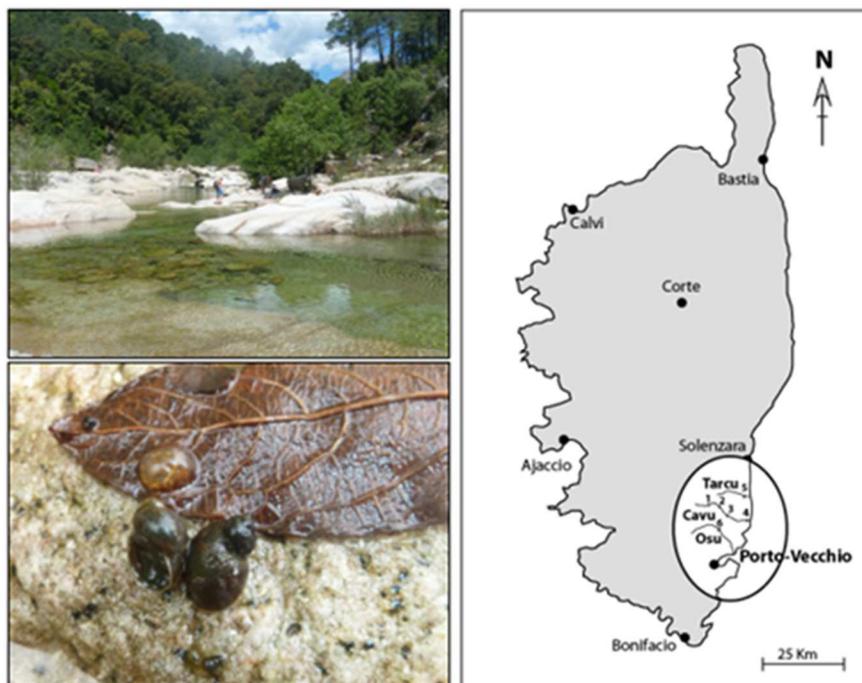
En France avant 2014, les bilharzioses étaient uniquement des infections importées avec plus de 2000 diagnostics sérologiques par an [données Santé publique France].

En avril 2014, 13 cas groupés de bilharziose urogénitale ont été signalés parmi des touristes français et allemands en lien avec la fréquentation de la rivière Cavu entre 2011 et 2013, un site de baignades touristique de Corse-du-Sud [132-134] (Figure 13).

Après avoir émis une alerte européenne, la direction générale de la Santé a pris le 16 juin 2014 une série de mesures incluant en particulier un dépistage chez les personnes exposées au risque d'acquisition de la bilharziose visant à en contrôler l'émergence en Corse et prévenir l'apparition d'infection compliquée, dont le dépistage sérologique national de la bilharziose urogénitale pour toutes les personnes qui ont été en contact avec l'eau dans la rivière Cavu entre 2011 et 2013 et le traitement de toutes les personnes infectées.

Nous avons mis en place un dispositif de recensement national, utilisant notamment le dépistage mentionné ci-dessus, des cas de bilharziose urogénitale autochtones visant à documenter le plus grand nombre possible de cas afin d'identifier tous les sites potentiels de transmission et de déterminer l'ampleur de l'émergence en Corse et sur le Continent.

Figure 13 : Localisation des sites de baignades de la rivière Cavu et spécimens de *Bulinus truncatus*, Corse-du-Sud, J. Boissier CNRS Perpignan- UMR 5244, France



6.2 Méthodes

Dépistage national de la bilharziose urogénitale

Le dépistage national était basé sur les recommandations du Haut Conseil de la santé publique (HCSP) [135] préconisant l'association de deux tests de diagnostic sérologique de première intention : ELISA et hémagglutination, suivis d'un test Western Blot (WB) si au moins un des deux tests était positif. Afin de détecter toute infection pré-symptomatique, le dépistage était indiqué pour toute personne, symptomatique ou non, ayant eu un contact cutané, même bref, avec l'eau de la rivière Cavu à partir de 2011, entre le 1^{er} juin et le 30 septembre. Le bilan pré-thérapeutique recommandé pour les patients présentant une sérologie anti-schistosomale positive comprenait un examen parasitologique des urines, un dosage de la créatinine sérique, un hémogramme et un examen échographique des voies urinaires.

Dispositif de recensement des cas autochtones de bilharziose urogénitale

Le dispositif de recensement des cas autochtones de bilharziose urogénitale venait compléter le dépistage national, en demandant à tout médecin ou biologiste de signaler à l'autorité sanitaire régionale toute

personne présentant au moins un test positif pour le diagnostic de la bilharziose depuis le 1er avril 2014 chez une personne résidant en France, en l'absence d'exposition en zone d'endémie connue de la bilharziose urogénitale. Ce dispositif de recensement des cas a été ouvert de juin 2014 à juillet 2015. Les cas ont été définis comme une personne résidant en France présentant des signes sérologiques de bilharziose (cf. Tableau 5) ou des œufs de schistosomes dans l'urine en l'absence d'antécédents de contact avec de l'eau douce dans des zones d'endémie connues.

Tableau 5 : Critères biologiques des définitions de cas de bilharziose urogénitale autochtone, 2014.

Définition de cas	Critères biologiques
Cas possible	test de dépistage positif isolé (ELISA, immunofluorescence –IF– ou hémagglutination indirecte –HI), sans Western Blot (WB) OU 2 tests sérologiques de dépistage discordants (ELISA, IF ou HI), sans WB
Cas probable	2 test de dépistage positifs utilisant des techniques différentes (ELISA, IF ou HI), sans WB OU un test de dépistage positif (ELISA, IF or HI) et WB positif
Cas confirmés	Œufs de <i>S. haematobium</i> à l'examen parasitologique des urines ou à l'examen histologique des voies urinaires

Les médecins et leurs patients ont été interrogés par des épidémiologistes à l'aide d'un questionnaire explorant le diagnostic biologique, les symptômes et les signes cliniques et le bilan pré-thérapeutique de la maladie et l'exposition à vie à l'eau douce dans les zones d'endémie du monde et en France ou en Corse au minimum au cours des 5 années précédentes. Quand une date d'exposition précise était disponible, nous avons calculé le délai entre la date du dernier contact avec de l'eau douce de surface et l'apparition des symptômes.

Estimation de la taille de l'épidémie et évaluation du dépistage national

Pour estimer la taille de l'épidémie, nous avons modélisé l'effet du dépistage national de 2014 sur la série chronologique 2011-2015 de cas de bilharziose sérodiagnostiqués. Pour ce faire, nous avons travaillé sur les données d'activité des deux laboratoires centralisant l'essentiel de l'activité diagnostique française en définissant comme cas sérodiagnostiqué tout patient présentant un WB positif. Faute d'information collectée sur le lieu probable d'acquisition de l'infection, il n'était pas possible de distinguer les cas autochtones des cas importés. Nous avons fait l'hypothèse que tous les cas diagnostiqués avant le dépistage national

(l'intervention) étaient importés. Nous avons supposé que l'effet de l'intervention entraînerait une augmentation transitoire de la fréquence des cas positifs au WB qui se superposerait à la série chronologique des cas importés après le 15 juin 2014. Nous avons modélisé la moyenne hebdomadaire du nombre de cas de façon conditionnelle aux observations passées, en utilisant un processus « log-linéaire » à « hétéroscédasticité conditionnelle autorégressif généralisé à valeurs entières » (INGARCH – integer-valued generalized autoregressive conditional heteroscedastic process) [136].

6.3 Résultats

Entre juin 2014 et juillet 2015, 106 cas ont été signalés à Santé publique France, dont environ 2/3 (68/103) de cas asymptomatiques jusqu'au moment du dépistage. Il s'agissait à 58% de patients de sexe masculin. L'âge médian était de 17 ans [interquartiles : 12-39]. Trente-et-un (29%) résidaient en Corse. Tous les patients rapportaient au moins une baignade dans le Cavu au cours de l'été 2013. Le délai médian entre un dernier contact avec une masse d'eau douce de surface et l'apparition des premiers symptômes était de 30 semaines (intervalle interquartile, 22–52 semaines; n = 21).

Plus de 37 000 personnes, dont environ 1/4 avaient un test WB positifs, ont été testées sérologiquement en 2014 pour la bilharziose contre en moyenne 5 000-7 000 personnes dans les années précédentes. La taille de l'épidémie estimée par le modèle était de 338 cas (IC 95% : 166–510), dont 36 sérodiagnostiqués en 2015.

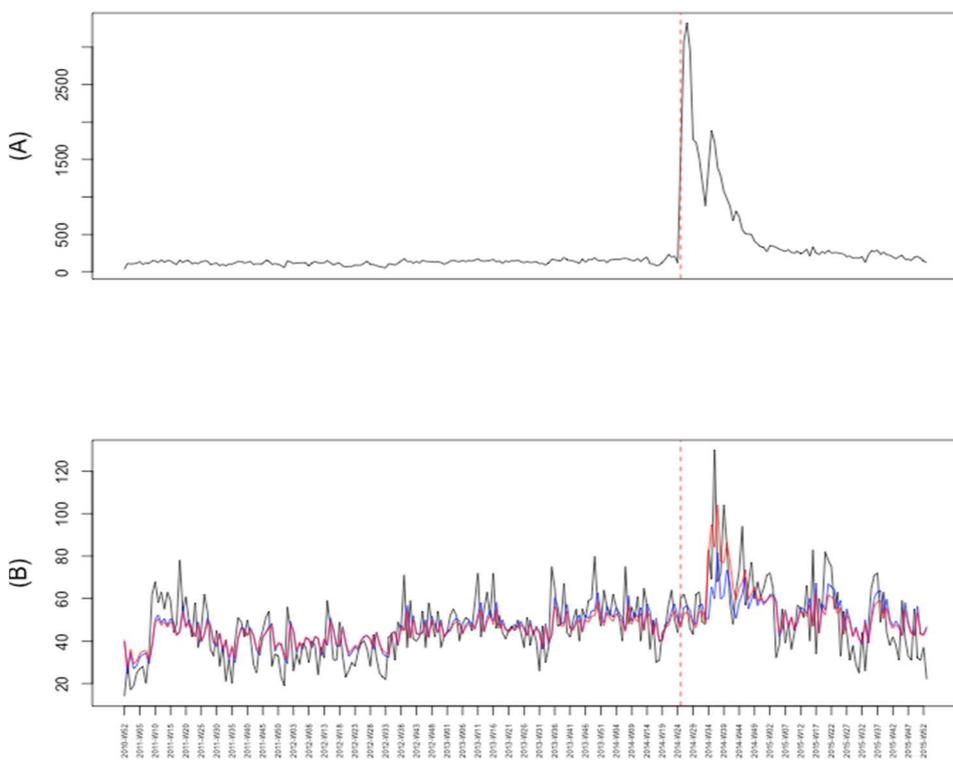
6.4 Discussion

Le dépistage national de la bilharziose a permis de mettre en évidence une épidémie d'ampleur avec 106 cas signalés entre avril 2014 et juillet 2015. Cette épidémie est le résultat de l'émergence dans le Cavu d'une souche hybride *S. haematobium-S. bovis* d'origine phylogénétique sénégalaise [134, 137]. L'élévation d'environ 30 000, du nombre de personnes testés en 2014 est à mettre en rapport avec les 22 759 touristes ayant visité les environs du Cavu au cours de la période 2010-2013 (source: office de tourisme de Sainte-Lucie de Porto-Vecchio). La réponse au dépistage national a vraisemblablement été importante avec environ 1 cas sérodiagnostiqués pour 100 personnes testées. Chez 2/3 des cas, aucun symptôme n'a été rapporté

entre la contamination présumée et le dépistage que plusieurs mois séparaient. Le choix d'une stratégie de dépistage large des personnes exposées semblait également justifié au vu de la dispersion des touristes qu'elles comptaient et de l'ancienneté initialement supposée du foyer de transmission corse. La finalité principale étant la prévention secondaire des complications tardives de la bilharziose (infertilité, lésions obstructives voire néoplasiques des voies urinaires)[138], nous espérons ainsi avoir réduit le risque de retard de prise en charge et d'errance diagnostique pour cette parasitose sans doute mal connue du corps médical français.

Figure 14 : Nombre de sérologie anti-schistosome réalisées (A) et positives en Western Blot *Schistosoma* (B) par semaine de prélèvement, 2011-2015.

Les lignes rouge et bleue représentent le nombre hebdomadaire attendu de patients positifs en WB, déduit respectivement de la modélisation INGARCH avec et sans prendre en compte l'effet du dépistage national (débutant après la ligne rouge pointillée verticale - semaine 25 de 2014).



Néanmoins devant l'excès de 36 cas estimé pour 2015, la fréquence et la durée de la phase pré-symptomatique silencieuse, nous avons évoqué dès 2015 le risque qu'un réservoir humain, même minime,

puisse maintenir le foyer de transmission actif. Entre fin 2015 et début 2019, 10 cas autochtones probables ou confirmés rapportés en lien avec des contacts avec l'eau douce en Corse-du-Sud ont corroboré cette hypothèse [139, 140]. Un de ces 10 cas serait survenu suite à des baignades dans la rivière Solenzara située à proximité du Cavu. Les cas rapportés chez des touristes principalement européens soulignent le risque d'essaimage de la bilharziose urogénitale vers d'autres plans et cours d'eau français et européens qui persistera tant que le foyer de Corse-du-Sud ne sera pas contrôlé [133, 141, 142].

Cependant, des éléments sur la biologie du parasite en Corse pouvant expliquer la persistance des schistosomes d'un été à l'autre dans l'environnement du Cavu restent à clarifier [143]. S'agissant d'une souche hybride entre *S. haematobium*, parasite de l'humain, et de *S. bovis* parasite des ruminants et des murins, le spectre d'hôte de la souche épidémique était peut-être élargi. Bien que des enquêtes sérologiques et parasitologiques semblent avoir écarté l'hypothèse de la constitution d'un réservoir chez les animaux d'élevage à proximité du Cavu, celle d'un réservoir murin reste en cours d'évaluation.

A l'issue de l'épidémie de 2014, plusieurs mesures ont été mises en place pour encadrer l'autorisation de baignades dans le Cavu sur la base des recommandations du HCSP et de l'Agence nationale de sécurité sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et du travail [143]. La bilharziose urogénitale autochtone est entrée dans la liste des maladies à déclaration obligatoire dès 2016. Une surveillance environnementale reposant sur la collecte de bullins sur site à la recherche de signes de présence du parasite a été mise en place depuis 2014. Le HCSP a recommandé dernièrement la mise en place d'un plan visant l'éradication de la bilharziose en Corse-du-Sud reposant sur l'information et la recherche active de cas dans les populations les plus exposées et proposant des axes de recherches environnementales et en sciences humaines et sociales [144].

Chapitre 7 : Discussion

Ce travail de thèse propose une réflexion sur les pratiques de professionnels de la santé publique et les concepts scientifiques qui les sous-tendent dans un moment où l'épidémiologie des maladies infectieuses évolue rapidement en particulier sous l'influence de l'émergence de maladies vectorielles. Nous avons replacé les « cas asymptomatiques » ou plus largement infracliniques au centre de l'investigation d'épidémies de chikungunya, de dengue et de bilharziose en France métropolitaine pour mieux caractériser les mécanismes de ces émergences, guider leur prévention et leur contrôle, et améliorer les dispositifs de veille sanitaire.

Tout d'abord, nous avons synthétisé les données de 25 études de séroprévalence du chikungunya en per- ou post-épidémique pour en tirer une estimation globale de la fréquence d'infections infracliniques par génotype. Nous avons constaté une différence selon le génotype avec la proportion d'infections asymptomatiques la plus faible pour la lignée virale de l'Océan Indien (IOL) responsable d'épidémies majeures entre 2004 et 2010. En effet, la méta-analyse des données de terrain montre que l'IOL était accompagnée d'une fréquence des infections symptomatiques plus élevée que celles des souches ECSA et asiatiques qui ont émergé dans l'hémisphère ouest.

Nous avons intégré avantageusement la recherche de la contribution des cas infracliniques à la transmission d'une émergence pour en évaluer plus finement le potentiel de dissémination. Nous avons pu reconstruire la chaîne de transmission de l'épisode de dengue de Nîmes de 2015 dans le temps et dans l'espace, confirmer que l'ampleur de la transmission locale était limitée ce qui conforte la stratégie de surveillance et lutte contre la dengue en France métropolitaine

Nous avons montré qu'une prise en compte des cas pré-symptomatiques et asymptomatiques de bilharziose urogénitale, du dépistage à l'évaluation de la réponse, est fondamentale pour limiter l'impact sur la santé de l'émergence, mais aussi nécessaire pour en prévenir l'endémisation en Corse. Pour cette parasitose chronique, l'essentiel du réservoir de la maladie peut se maintenir grâce à des cas humains restant cliniquement inapparents de façon prolongée.

Ces études relèvent de l'investigation d'épidémie, qui se situe à la jonction entre veille sanitaire et recherche étiologique, peut être qualifiée de recherche opérationnelle ou appliquée à la décision. Elles confirment que l'investigation d'épidémie produit des résultats pouvant servir à guider l'action pour limiter l'impact de l'émergence de maladies vectorielles quand les conditions de l'alerte sanitaire imposent de sortir d'un cadre expérimental. Ces investigations contribuent par ailleurs au corpus des connaissances sur la transmission de ces infections au sein des populations humaines. Enfin, nos travaux montrent bien le rôle essentiel des cas infracliniques dans l'émergence de maladies infectieuses vectorielles. Il faut donc en anticiper la fréquence et les caractéristiques pour pouvoir en estimer l'impact et adapter les mesures contrôle des émergences.

Contrairement à nos attentes, nous n'avons pas pu montrer que les épidémies causées dans les Amériques par les virus chikungunya de lignée asiatique étaient le résultat de l'émergence de souches associées à une fréquence plus élevée d'infections infracliniques. En effet, le nombre d'études que nous avons synthétisées ne permet pas de mettre en évidence de différence significative entre la fréquence observée pour les virus de la lignée asiatique et ECSA, ou pour les virus de la lignée asiatique documentés en Asie et dans les Amériques.

A la différence de ce que des données de la littérature laissaient attendre [115], nous n'avons pas mis en évidence de cas asymptomatiques de dengue dans le foyer de dengue nîmois de 2015. La taille restreinte de cette émergence et l'absence d'immunité préalable dans la population d'étude pourrait avoir réduit significativement la probabilité de capturer ce genre d'observations.

Il n'a pas été possible de contrôler totalement l'émergence de la bilharziose urogénitale en Corse-du-Sud même en mettant la détection des cas pré-symptomatiques au cœur de la stratégie de la réponse de santé publique. La détection de l'épidémie ayant été retardée par l'intervalle libre entre infection et symptômes, il était d'autant plus difficile pour le dépistage d'atteindre l'exhaustivité des personnes exposées.

De façon générale, nos résultats appellent à rechercher la contribution des cas infracliniques dans l'investigation des émergences. Les stratégies de cette recherche doivent rester flexibles et ouvertes, car la contribution des cas infracliniques à la transmission est une caractéristique susceptible de varier et d'évoluer comme les autres caractéristiques cliniques et épidémiologiques des maladies émergentes.

Les études présentées dans ce travail de thèse ont également eu des traductions et des implications concrètes en termes de Santé Publique. La bilharziose urogénitale autochtone a été inscrite en 2016 à la liste des maladies à déclaration obligatoire suite aux conclusions du recensement des cas de l'épidémie de Corse-du-Sud en 2014. Les définitions de cas et le recueil d'informations qu'elle comprend dérivent directement des données cliniques et épidémiologiques présentées dans ce travail de thèse.

Par l'analyse approfondie de distribution spatiale et temporelle des cas groupés de dengue survenus à Nîmes en 2015, notre étude a suggéré que la dissémination de la dengue reste contrôlable pourvu que la détection de cas confirmés reste précoce et proche de l'exhaustivité. Ces résultats ont servi à l'évaluation des pratiques de santé publique de terrain recommandés. Ils confortent la stratégie actuelle de surveillance épidémiologique de la dengue et de recherche active de cas par enquête de porte-à-porte en cas de transmission autochtone que préconise le plan anti-dissémination du chikungunya, de la dengue et du Zika en France métropolitaine.

Bien qu'ils n'aient pas encore été publiés, les résultats de notre méta-analyse liant la fréquence des infections infracliniques à virus chikungunya et le génotype viral ont des implications pour la surveillance du chikungunya. En effet, cette variabilité d'expression clinique doit faire réfléchir sur l'exhaustivité des systèmes de surveillance épidémiologique lors d'émergences passées et futures du chikungunya. Il nous apparaît nécessaire en pratique de séquencer le CHIKV dès la reconnaissance des premiers cas d'une émergence. Il faut par ailleurs considérer différentes valeurs de fréquence d'infections asymptomatiques, selon la lignée identifiée pour évaluer le potentiel évolutif et choisir le mode de gestion le plus adapté.

Notre travail présente des limites qui sont inhérentes à l'investigation d'épidémie. Tout d'abord, il repose sur des études observationnelles de terrain. Nos résultats n'ont souvent qu'un niveau de preuve faible à intermédiaire. Ils doivent donc être toujours interprétés avec prudence. Cependant, ils sont souvent les seuls disponibles pour répondre aux questions scientifiques posées dans les délais imposés par l'alerte qui portent sur des sujets d'étude d'apparition fugace et imprévisible.

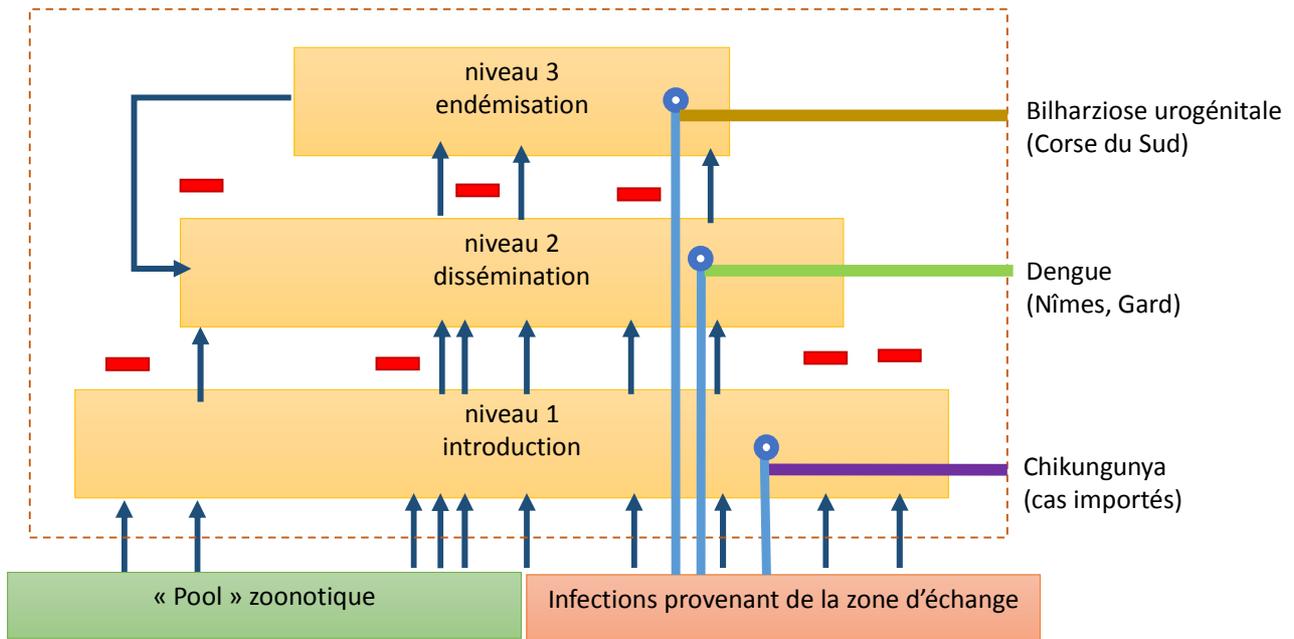
En cas d'émergence, il est souvent difficile de définir les populations d'études ou d'obtenir les données répondant directement à notre objectif d'étude. Ces difficultés conduisent à l'utilisation de données

collectées à d'autres fins comme les données extraites d'études de séroprévalence pour la méta-analyse sur la fréquence des formes infracliniques de chikungunya. Ces données restent susceptibles à des biais dont l'évaluation n'est pas aisée (biais de sélection, de mesure, de publication ou d'agrégation...). Faute de dispositif de surveillance de la bilharziose en France et dans l'urgence, nous nous sommes résolus, pour des raisons de faisabilité et d'efficience, à utiliser les données d'activités de laboratoires directement disponibles. Comme pour les bases médico-administratives, ces données, collectées à d'autres finalités, contiennent des informations plus limitées qu'un système défini *a priori* avec validation des observations (comme par exemple la DO). Elles ne permettaient notamment pas de distinguer les cas importés des cas autochtones sérodiagnostiqués. Ce choix requiert de faire des hypothèses fortes, comme l'attribution de l'excès de sérodiagnostics de bilharziose observé à l'épidémie corse de 2014. [145].

Enfin, nous nous efforçons de détecter et d'intervenir le plus précocement possible afin de prévenir la diffusion des émergences. Ainsi, nous étudions des phénomènes de santé avec une puissance statistique limitée par le faible nombre de cas observés. Il est également très difficile de pouvoir intégrer ou même mesurer l'effet des mesures de contrôle mises en œuvre souvent pendant la période d'observation (ex. : campagnes de déoustication autour des cas groupés de dengue à Nîmes en 2015).

Les trois émergences présentées dans ce travail de thèse peuvent être replacées au niveau des stades épidémiologiques successifs de l'émergence d'une maladie infectieuse étudiée dans une population donnée : l'introduction, la dissémination et l'endémisation. On peut ainsi proposer une adaptation épidémiologique à la pyramide de Wolfe, présentée dans le chapitre 1, qui aborde l'émergence essentiellement du point de vue de la biologie de l'évolution.

Figure 15 : Les stades épidémiologiques de l'émergence



Le premier niveau ou *introduction* correspond à l'arrivée d'une maladie infectieuse émergente dans une population humaine non-immune et un environnement réceptif à partir du « pool zoonotique » ou de sujets humains infectieux externes. Il peut s'agir d'un évènement rare ou relativement fréquent, comme l'introduction du virus chikungunya dans un département colonisé par *Aedes albopictus* de France métropolitaine à partir d'une personne virémique de retour de zone d'endémie ou d'épidémie. Le principal enjeu pour un dispositif de surveillance épidémiologique est la détection précoce du cas importé pour circonscrire toute diffusion de la maladie émergente. La prévention repose sur la connaissance précise des zones ou parties de la population réceptives et la détection précoce de l'introduction, d'autant plus complexe à mettre en évidence que la fréquence des cas infracliniques est élevée. D'autres mesures préventives peuvent être mises en œuvre en diminuant la réceptivité de la population étudiée et de son environnement (ex. : immunisation, destruction de gîtes larvaires...), ou diminuant le risque d'introduction d'infections provenant de la zone d'échange de la population (mesures de protection individuelle des voyageurs contre les piqûres de moustiques). Ce niveau peut aussi correspondre à l'acquisition par l'agent, la maladie ou la population touchée et son environnement d'un changement qualitatif ou quantitatif significatif comme l'apparition d'une souche bactérienne résistante aux antibiotiques.

Le deuxième niveau est celui où la diffusion de la maladie émergente est observable au sein de la population étudiée. Cette *dissémination* peut être spontanément abortive et d'ampleur variable de quelques générations de cas secondaires, comme observée lors de l'émergence de la dengue à Nîmes en 2015, jusqu'au développement d'une épidémie de large ampleur. Dans les premiers temps, il est crucial de déterminer la fréquence des cas infracliniques pour s'assurer de l'exhaustivité de la détection et évaluer la complétude des mesures de contrôle. Le dispositif de surveillance et de lutte doit être adapté pour contenir et ralentir la transmission en cas de dépassement de ces capacités et surveiller les éventuelles formes graves de la maladie, sans nécessairement chercher à identifier tous les cas. Toutefois, à l'issue d'un épisode épidémique, il devient pertinent de mesurer l'immunité nouvellement acquise de la population. Des données de séroprévalences prenant en compte les infections infracliniques .

L'*endémisation* est le dernier stade correspondant à l'autonomisation de la transmission de tout réservoir ou source extérieure permettant le maintien le plus souvent « à bas bruit » de l'émergence dans la population humaine étudiée. Elle dépend largement de la capacité des cas à rester infectieuse et est grandement facilitée quand elle est portée par des cas infracliniques. L'effort demandé pour éliminer la maladie nouvellement installée est plus conséquent qu'au précédent stade et requiert souvent une approche proactive. Même si, quand le déclin de l'immunité de cohorte le permet, des reprises épidémiques sont possibles, il convient à ce stade de ne plus parler d'émergence.

Malgré les limites de l'investigation d'épidémie, il est crucial de documenter les émergences par ce biais et d'en publier les résultats, car ils sont souvent les seuls à documenter ces phénomènes. Pourvu que la méthode appliquée soit rigoureuse, décrite *a priori* dans un protocole et que les limites soient explicitement mentionnées, ces résultats ont toute leur place dans la littérature scientifique [146]. C'est la mission que ce sont déjà donnée deux revues internationales de qualité 'Eurosurveillance' et 'Emerging infectious diseases'.

Les maladies vectorielles investiguées dans ce travail de thèse ont longtemps été négligées [147]. L'essentiel du fardeau au niveau mondial reste porté par les populations de pays aux ressources limitées même si elles posent un risque d'émergences pour les pays industrialisés comme la France. L'exemple de l'étude de la variabilité de la fréquence des infections infracliniques à virus chikungunya peut permettre de tirer des

perspectives générales d'amélioration de la connaissance et de la surveillance d'émergences. Ces arbovirus sont soumis à un processus d'évolution intense du fait de leur expansion mondiale. Pour vérifier si la fréquence des infections infracliniques est soumise à un déterminisme génétique, il faudrait développer la documentation rapprochée de la sélection de nouveaux variants en encourageant la caractérisation du maximum de souches circulantes. Pour chaque variant, il faudrait pouvoir documenter quand c'est possible la fréquence et la contribution des infections infracliniques à la dynamique des émergences, en particulier des maladies vectorielles. La réalisation d'études de séroprévalence en per- ou post-épidémique direct en est l'outil de prédilection. Il pourrait être utile de réfléchir aux moyens de faciliter l'accès aux bases de données collectées lors d'études de séroprévalence pour réduire l'influence de biais d'agrégation et les erreurs d'extractions de données publiées. Ceci implique un effort généralisé d'harmonisation de la conception des études et du mode de collecte des données cliniques et épidémiologiques. La modélisation a toute sa place pour tester et mettre en évidence le rôle des infections infracliniques dans la dynamique de transmission. Cependant, ses résultats restent tributaires du choix d'une structure de modèles adaptée et du nombre de paramètres restant à estimer qui peuvent évoluer significativement en situation d'émergence. C'est pourquoi, même avec des outils de modélisation très performants, on ne peut pas faire l'économie du rôle crucial de l'investigation d'épidémies et de la surveillance.

Notre expérience valide, si cela était nécessaire, qu'il est fondamental d'associer de façon étroite et précoce des équipes de modélisation à l'investigation d'épidémies de maladies infectieuses ce qui permet de mettre à plat et formuler clairement les incertitudes et améliore l'interprétation de nos observations.

Santé publique France s'emploie à ce titre à renforcer ces liens avec le monde académique dans le domaine de la modélisation, mais aussi de la recherche clinique diagnostique et thérapeutique en participant aux initiatives REACTing [38] et Labex IBEID (<http://www.pasteur.fr/labex/ibeid>).

Depuis plusieurs années, certains auteurs promeuvent une approche écologique sur les méga-données de l'émergence portant la promesse de pouvoir détecter et proposer des mesures précoces visant les pathogènes émergents pouvant menacer la santé humaine « à la source », qui coïncide le plus souvent avec un réservoir zoonotique [24, 148, 149]. L'augmentation de la puissance des outils tels que les méga-données

et le séquençage génétique sont prometteurs. Sans sous-estimer le grand potentiel de ces approches pour l'avenir, notre travail démontre qu'une approche pragmatique basée sur une surveillance et veille sanitaire sensibles associées à des investigations épidémiologiques de terrain précoces et de la meilleure qualité permet de proposer des mesures de contrôle et de maîtrise argumentées quand elles sont appliquées en lien étroit avec les microbiologistes, l'analyse phylogénique des agents infectieux, la modélisation mathématique et les disciplines de l'écologie évolutive. Cette approche permet également de contribuer à l'évolution des connaissances, quitte à en réfuter certaines acquises auparavant. Il s'agit en particulier de la seule stratégie réellement applicable à l'heure actuelle dans les pays à ressources limitées où les émergences et épidémies demeurent les plus fréquentes et importantes comme l'a dramatiquement rappelée la diffusion à large échelle de l'infection à virus Ebola en Afrique de l'Ouest de 2013 à 2015[25].

Annexes



Annexe 1: “Large outbreak of urogenital schistosomiasis acquired in Southern Corsica, France: monitoring early signs of endemicization?”

Original article

Title: Large outbreak of urogenital schistosomiasis acquired in Southern Corsica: monitoring the early signs of the endemicization?

Running title: urogenital schistosomiasis, Corsica and France 2013-2015

Author Block: H. Noël¹, MD, M. Ruello², MSc, A. Maccary³, MD, C. Pellat¹, PhD, C. Sommen¹, PhD, J. Boissier⁴, PhD, H. Barré-Cardi⁵, PhD, J. Fillaux⁶, PhD, J-L. Termignon⁷, MD, M. Debruyne⁸, MD, G. Chyderiotis⁹, MD, J. Durand¹, MSc, L. Ramalli², MSc, J-D. Chiappini³, MD, P. Malfait¹⁰, MD, A. Berry^{6,11}, MD;

1. French National Public Health Agency (Santé publique France, SpFrance), Saint-Maurice, France;
2. Regional office of the French National Public Health Agency (Cire Sud), Ajaccio, Corsica, France;
3. Regional Health Agency of Corsica, Ajaccio, Corsica, France;
4. CNRS (UMR 5244), University of Perpignan, Perpignan, France;
5. Environment Agency of Corsica (Office de l'Environnement de Corse), Corte, Corsica, France;
6. Department of Parasitology-Myology, CHU Toulouse, France;.
7. French Directorate General for Health (Direction Générale de la Santé), Paris, France;
8. Laboratoire Cerba, Saint-Ouen L'Aumône, France;
9. Laboratoire Biomnis, Lyon, France;
10. Regional office of the French National Public Health Agency (Cire Sud), Marseille, France;
11. Physiopathology Centre of Toulouse-Purpan, Toulouse University, CNRS, INSERM, UPS, Toulouse, France.

Corresponding author: Dr Harold Noël

Santé publique France, the French Public Health Agency

Infectious diseases Directorate

12 rue du Val d'Osne, 94415 Saint-Maurice Cedex, France

harold.noel@santepubliquefrance.fr; phone : +33 1 41 79 68 94 ; fax :+33 1 41 79 67 69

Abstract:*Objectives*

Clustered cases of urogenital schistosomiasis were reported in April 2014 among French and German tourists linked to exposure in the Cavu River, Southern Corsica, between 2011 and 2013.

We set up a national surveillance of autochthonous urogenital schistosomiasis documenting the largest possible number of cases to identify potential sites of transmission and to determine the extent of the outbreak in France and Corsica.

Methods

The early response consisted mostly in prohibiting swimming in the river, a nationwide serological screening of all persons exposed to the river between 2011 and 2013, and treating confirmed cases. Physicians were asked to report all patients with ≥ 1 positive anti-schistosome serological test. Cases were defined as a resident of France with serological evidence of schistosomiasis or schistosome eggs in urine and no history of contact with freshwater in known endemic areas. We documented symptoms, place and time of exposure to fresh water of cases. To estimate the outbreak size, we modelled the effect of the 2014 nationwide screening on the 2011-2015 time series of serodiagnosed schistosomiasis cases using a log-linear autoregression.

Results

In 2014, 106 autochthonous cases were reported, including 35 with a symptomatic infection. All patients had swum in the Cavu during summer 2013. Over 30,000 persons were likely screened for autochthonous schistosomiasis. The model-estimated outbreak size was 338 cases including 36 serodiagnosed in 2015.

Conclusion

Besides the 2013 outbreak, there is evidence of small-scale transmission in 2015 in Corsica. Early detection and control of recurrences requires community and medical awareness-raising.

Introduction

Human urogenital schistosomiasis is a parasitic disease caused by *Schistosoma haematobium*, a trematode of the genus *Schistosoma*, endemic in Africa and the Middle East.[1] *S. haematobium* has a two-host lifecycle with a clonal multiplication in freshwater mollusks belonging to the genus *Bulinus*, and a sexual stage within the human final host that can be infected through contact with contaminated freshwater. In Europe *S. haematobium* can theoretically be introduced in sites hosting *Bulinus truncatus* like were found in Corsica,[2, 3] Spain,[4] Portugal,[5] and Sardinia[6]. However no sustained transmission of the parasite has been reported since its elimination in Portugal in the 1950s.[5] [1][7, 8]

In France, over 2,000 cases of imported *Schistosoma* spp. infection are diagnosed each year (SpFrance unpublished data).

In April 2014, clustered cases of urogenital schistosomiasis were diagnosed in French and German families returning from Corsica, with no history of contact with freshwater in known schistosoma-endemic areas.[9-11] The cases reported exposures in 2011-2013 to the Cavu River, a popular tourist site near Sainte-Lucie de Porto-Vecchio, Southern Corsica. Presence of *Bulinus truncatus* was confirmed at the swimming site indicated by the families.

On 16 June 2014, the French Public Health Authorities issued a European alert and took the following measures to control the emergence of *S. haematobium* in Corsica and prevent occurrence of complicated urogenital schistosomiasis: (i) nationwide serological screening for urogenital schistosomiasis for all people with history of contact with water in the Cavu River between 2011 and 2013 and treatment of all infected persons; (ii) serological and parasitological screening of workers occupationally exposed to the Cavu (iii) closure of all swimming sites in the Cavu and putting up of signs not to urinate in rivers and lakes in Corsica.

We set up a surveillance system to determine the extent of the outbreak and to identify the foci of autochthonous transmission of *S. haematobium* in France and Corsica. In addition we assessed the compliance with screening of persons exposed to the Cavu.

Methods

Nationwide screening of persons exposed to the Cavu River

In May 2014, the French public health authorities issued a press release to advise persons with a history of contact with water in the Cavu anytime during the period 2011-2013 to seek medical attention and serological screening for urogenital schistosomiasis. Free call numbers were made available to the public to respond to questions on the disease, its transmission and treatment.

The French Directorate for Public Health informed all general practitioners, hospital physicians and medical parasitologists, as well as heads of diagnostic laboratories about the outbreak and asked physicians to screen all persons exposed to the Cavu anytime from 2011 to 2013, irrespective of the presence of symptoms.

In France, the routine serodiagnosis of schistosomiasis is based on one first-line serological test (usually ELISA, haemagglutination or indirect immunofluorescence) with a control of positive serology by Western Blot (WB). To increase the sensitivity of the screening, the French High Council for Public Health recommended the combination of two non-operator-dependent first-line serological tests: ELISA and haemagglutination followed by WB if ≥ 1 was positive. The recommended diagnostic work-up of patients with positive anti-schistosome serology included parasitological examination of urine, serum creatinine, haemogram and ultrasound examination of the urinary tract.

The regional health authority of Corsica approached individually the following professionals occupationally exposed to the Cavu to offer them screening: local water sports and activities instructors, leaders of children in the holiday centres near the river, professionals who monitor swimming water quality throughout Corsica.

Surveillance of autochthonous schistosomiasis haematobium

In France, urogenital schistosomiasis is not a notifiable infectious disease. For the investigation, we defined an autochthonous case as a person with laboratory evidence of *S. haematobium* infection

and no history of contact with freshwater in known endemic areas. Cases were classified as confirmed, probable and possible according to laboratory criteria detailed in Table 1.

Physicians were asked to report all patients with ≥ 1 positive anti-schistosome serological test to the health authorities of the region of residence of the patient. In addition we contacted the parasitology laboratories of the French university hospitals for active case-finding. We interviewed physicians and their patients using a questionnaire exploring laboratory diagnosis, symptoms and clinical signs, diagnostic work-up and lifetime exposure to freshwater in endemic areas throughout the world and in mainland France or Corsica in at least the 5 previous years.

For cases with a precise date of exposure, we defined the time of probable infection as the date of last contact with surface freshwater, respecting a minimum delay of symptom onset of 2 weeks for cases that had acute schistosomiasis (at least fever and eosinophilia $>0.5 \times 10^9/L$), and ≥ 6 weeks for cases with other clinical presentations. The precise locations of swimming sites, in particular in the Cavu, were determined directly with the patients, using sites denominations, direction and distance to nearby landmarks, patients' photographs or, whenever possible, using GPS coordinates of sites marked on Google maps[®] by patients.

Statistical analysis

We compared demographical, clinical and biological characteristics between possible, probable and confirmed cases. The numbers and percentages were calculated for each field excluding records with missing values. Data analyses were conducted in Stata 12 (StataCorp LP, College Station, TX, USA). For comparison of medians, a nonparametric equality-of-medians test was used. Chi-square and Fischer's exact tests were used to determine statistical significance as appropriate ($p < 0.05$) for categorical variables.

Estimation of the outbreak size

We used serology data from the national screening to estimate the outbreak size. In France, serodiagnosis of schistosomiasis is a specialized procedure not routinely performed in first-line

private diagnostic laboratories. Two laboratories centralize anti-schistosome serology testing for private laboratories throughout France. Both laboratories validate all positive ELISA or Indirect Haemagglutination Assay (IHA) test, by Western Blotting (*Schistosoma* WB IgG; LD BIO Diagnostics, Lyon, France). We obtained data on all anti-schistosome serology tests conducted during 2011-2015 including date of sampling, results (IHA, ELISA and WB), patient's place of residence and a unique anonymized identifier. When several tests were conducted for the same patient, data of the first instance were kept and subsequent duplicates were removed from the time series. No data was available on the origin of infection (imported vs. autochthonous).

We hypothesized that all cases diagnosed before the nationwide screening (the intervention) were imported. Based on a conservative hypothesis, we assumed that the effect of the intervention would result in a transient frequency increase of WB-positive cases that would overlay the time series of imported cases after June 15, 2014. The time series of WB-positive cases was analysed in R (R Core Team, 2013) with the software package 'tscount'.^[12] We modelled the weekly mean of the count time series, conditional on past observations, using a log-linear "integer-valued generalized autoregressive conditional heteroscedastic" (INGARCH) process.^[13] To assess the impact of the nationwide screening on the observed weekly number of cases, we introduced in the model a transient intervention effect of the form of a steep rise followed by an exponential decay.^[14] After fitting the model, the expected level of the time series in the absence of intervention was obtained by setting to zero the intervention parameter. Then, the difference between the observed and expected weekly numbers of cases, cumulated over the whole time series, was used as an estimate of the outbreak size. We approximated the standard error of this quantity using the delta method.^[15] Additional details are available in the supplementary material.

Funding Source and Ethical Approval

This work was done as part of the routine activities of Santé publique France. No specific funding was received for this work. The presented work was carried out with the approval of the French

Results

In June 2014, 28 professionals occupationally exposed to freshwater throughout Corsica were screened, including 15 who did not report any previous contact with the Cavu River. None tested positive for serum anti-schistosome antibodies or parasite eggs in urine.

From April 2014 to July 2015, 133 cases screened positive for *S. haematobium* infection were reported. Of these, 27 did not meet the criteria of the case definitions: 1 had a history of imported schistosomiasis, 7 reported exposures in endemic areas, and 19 had a single positive serological test or discordant serological tests and a negative WB.

In total, among the 106 cases that met the criteria for autochthonous urogenital schistosomiasis, 32 (30%) were confirmed—with direct parasitological or histological evidence of infection—, 62 (58%) were probable and 12(11%) were possible.

Most cases were males (sex ratio M/F: 1.4), with a median age at presentation of 15 years (range: 3-71) (table 2). Most cases occurred in asymptomatic persons (68/103, 66%) who presented for the nationwide screening. The most common symptoms were gross haematuria (19, 18%), dysuria (15, 15%) and pollakiuria (N=9, 9%). We identified one probable case of acute schistosomiasis with fever and eosinophilia $> 0.5 \times 10^9/L$ evidenced 1 month after swimming in the Cavu. One probable case reported bloody stools. Median time from the probable time of contamination to screening was 48 weeks (Interquartile range 40-56, N=83). The median time to first symptoms was 30 weeks (IQR 22-52, N=21).

Altogether confirmed cases were more likely to present with urogenital complaints (21/31, 68%) than probable and possible cases (14/72, 19%, $p=0.04$). At diagnosis, 4 patients had schistosomal obstructive uropathy and 6 had bladder polyposis or bladder wall thickening.

No patient reported occupational contact with freshwater. Thirty-one (29%) were residents of Corsica, the remaining 75 (71%) were tourists originating from 27 French districts. All 106 cases had exposure to the Cavu at some point during the summer 2013, including 85 (80%) in August alone. However, about 34% (36/106) of cases had also been exposed to the Cavu during the years

prior to 2013 or in 2014 (Table 2).

We obtained information on sites of exposure along the Cavu for 90 cases. Swimming sites were delineated in two main locations: “3 piscines” (54%, 49/90, approximately latitude 41°43'56.66"N and longitude 9°17'38.11"E), and near an “outdoor activity park” (38%, 34/90, 41°43'22.10"N-9°18'0.39"E) (Figure 2). Besides the Cavu, cases reported exposure to 24 other bodies of freshwater; the most frequent were two rivers of Southern Corsica: Osu (12%, 13/106) and Solenzara (11%, n=12/106).

There was a sharp increase in anti-schistosome serology testing in the French private laboratories immediately following the start of the nationwide screening, (Figure 1). As a result 38,310 individuals were serologically tested in 2014 versus 6,284, 5,974, and 7,599 in respectively 2011, 2012, and 2013. In 2015, this number pulled back to 12,465. In parallel, the number of WB-positive cases was 2,297 in 2011, 2,216 in 2012, 2,885 in 2013, 3,290 in 2014, and 2,570 in 2015. The log-linear INGARCH modelling of the count time series of WB-positive cases identified a single 11-week lagged intervention effect after the initiation of the nationwide screening ($p=0.0357$). The resulting overall increase in cases, that approximates the overall outbreak size, was estimated at 338 [95% Confidence Interval: 166-510], including 36 cases [95% CI: 18-53] diagnosed in 2015.

Discussion

The investigation of 106 urogenital schistosomiasis outbreak cases strongly suggests that the bulk of transmission was limited to the Cavu River. Indeed all 106 cases reported in the first year of surveillance were exposed to the Cavu in 2013. Exposure to the other two most frequently reported swimming sites in Corsica could have explained at most 12% of the outbreak cases.

Some cases were also exposed in 2014 or before 2013. Disputed serological evidence of infection was reported in few international patients exposed in 2014 to the Cavu[16]. Therefore we cannot rule out that before 2015 transmission took also place in 2014 or prior to 2013. But if so, it remained most likely limited.

Case reporting substantially underestimated the overall outbreak size estimated at 338 cases by modelling. The 36 cases serodiagnosed in 2015 may be attributed to individuals infected in 2013 that engaged late in the screening, imported schistosomiasis or to limited resumption of transmission in 2015. The report of an acute case of schistosomiasis acquired after bathing in the Cavu during the summer of 2015 substantiates the hypothesis of resumed transmission in 2015.[17] Compared to the previous years, over 30,000 additional persons were tested for schistosomiasis in 2014. With an estimated 22,759 tourists that visited the area near the Cavu during the 2010-2013 period (source: tourist office of Sainte-Lucie de Porto Vecchio), we believe that the overall compliance to the nationwide screening was good.

Serological testing proved important for the diagnosis of emerging schistosomiasis. Microscopic detection of parasite eggs in urine or in the urinary tract, the gold standard for urogenital schistosomiasis diagnosis, was positive for only 30% of the reported outbreak cases. [18, 19]

However before prescribing any serological test, physicians should allow enough time after exposure for the development of detectable levels of anti-schistosome antibodies.[20] Reported cases were tested >6 weeks and often >6 months after their last contact with freshwater.

With 66% of asymptomatic cases, the clinical picture observed in this outbreak was very similar to that classically depicted in patients infected in known urogenital schistosomiasis endemic areas. [21]

Introgressive hybrids of *S. haematobium* by *S. bovis* found in cases of the 2013 outbreak prompted the question of the existence of an animal reservoir near the Cavu.[22, 23] Indeed, *B. truncatus*, which presence in Corsica was first documented in 1962, served as intermediate host for *S. bovis*, which classically infects rodents and livestock.[2, 3] However phylogenetic analysis indicated that the introgressive hybridization took place most likely in Senegal where *S. haematobium/S. bovis* hybrids are prevalent.[23, 24] The negative results of early serological and parasitological investigations in rodents and livestock neighbouring the Cavu argue against the hypothesis that hybrids maintain their existence in a zoonotic cycle.[25] The documented longevity of adult vector

snails and winter conditions make the year-on-year survival of infected snails and the parasites that they host unlikely in Corsica. [26] Even though molecular evidence is lacking to formally link cases diagnosed in 2015 to the 2013 outbreak, it appears very likely that the parasite re-infested the Cava River at the beginning of the summer 2015 via human carriers that were not screened in 2014.

Recurrence of schistosomiasis might become a concern across Southern Europe as receptive sites can be assumed wherever bovine or human schistosomiasis used to be reported.[4-6]

Rapidly after the recognition of the emergence of autochthonous urogenital schistosomiasis, the French public health authorities engaged in sustained efforts to detect early as many cases as possible for prompt treatment and to control further transmission in Corsica in the following seasons. Following this outbreak, autochthonous urogenital schistosomiasis became a notifiable disease in mainland France and Corsica. Local actions were also implemented to raise public awareness and sanitation facilities were installed for swimmers near the Cava to prevent the development of a local human reservoir.

Screening and treatment of infected travellers and migrants from endemic areas remain at the forefront of control of the introduction of the parasite in Europe. However physicians should consider diagnosing schistosomiasis in patients with compatible symptoms and history of contact with freshwater in Corsica but also in other European countries where snail vectors are present.

Acknowledgments

Funding for this study was provided by Santé publique France and the French Ministry of Health.

We thank Eric Caumes Pitié-Salpêtrière University Hospital and all members the Schistosomiasis working group of the French High Council for Public Health. We also thank Henriette de Valk and Jean-Claude Desenclos from Santé publique France (Saint-Maurice, France).

References

- [1] B. Gryseels, K. Polman, J. Clerinx, L. Kestens, Human schistosomiasis, *Lancet* 368(9541) (2006) 1106-18.
- [2] S. Gretillat, [Epidemiology of Certain Trematode Diseases of Domestic Animals in Corsica (Bovine Bilharziosis and Bovine and Ovine Distomiasis). Observations Conducted during a Mission Accomplished during the Autumn of 1962], *Ann Parasitol Hum Comp* 38 (1963) 471-81.
- [3] J.M. Doby, B. Rault, S. Deblock, A. Chabaud, [Snails and bilharziasis in Corsica. Distribution, frequency and biology of "Bulinus truncatus"], *Ann Parasitol Hum Comp* 41(4) (1966) 337-49.
- [4] V.R. Martín, Contribución al estudio epizootiológico de la esquistosomiasis bovina ("Schistosoma bovis") en la provincia de Salamanca, *An Fac Vet León* (18) (1972) 151-214.
- [5] J. Fraga de Azevedo, J.B. da Silva, A.M. Coito, M.F. Coelho, A.T. Colaco, [Portuguese focus of schistosomiasis], *An Inst Med Trop (Lisb)* (5) (1948) 47.
- [6] E.H. Sadun, Intra-dermal and fluorescent antibody tests on humans exposed to *Schistosoma bovis* cercariae from Sardinia. , *Bull World Health Organ* 27 (1962) 810-4.
- [7] A.G. Ross, D. Vickers, G.R. Olds, S.M. Shah, D.P. McManus, Katayama syndrome, *Lancet Infect Dis* 7(3) (2007) 218-24.
- [8] S. Jaureguiberry, L. Paris, E. Caumes, Acute schistosomiasis, a diagnostic and therapeutic challenge, *Clin Microbiol Infect* 16(3) (2010) 225-31.
- [9] A. Berry, H. Moné, X. Iriart, G. Mouahid, O. Abbo, J. Boissier, J. Fillaux, S. Cassaing, C. Debuissou, A. Valentin, G. Mitta, A. Théron, J. Magnaval, Schistosomiasis haematobium, Corsica, France, *Emerg Infect Dis* (2014).
- [10] M. Holtfreter, H. Mone, I. Muller-Stover, G. Mouahid, J. Richter, Schistosoma haematobium infections acquired in Corsica, France, August 2013, *Euro. Surveill* 19(22) (2014).
- [11] J. Brunet, A.W. Pfaff, Y. Hansmann, G. Gregorowicz, B. Pesson, A. Abou-Bacar, E. Candolfi, An unusual case of hematuria in a French family returning from Corsica, *Int J Infect Dis* 31 (2015) 59-60.
- [12] T. Liboschik, R. Fried, K. Fokianos, P. Probst, tscount: Analysis of Count Time Series. R package version 1.3.3., 2016. <http://tscount.r-forge.r-project.org/>.
- [13] T. Liboschik, K. Fokianos, R. Fried, tscount: An R package for analysis of count time series following generalized linear models., *Journal of Statistical Software* (2016).
- [14] T. Liboschik, P. Kerschke, K. Fokianos, R. Fried, Modelling interventions in INGARCH processes, *International Journal of Computer Mathematics* 93(4) (2016) 17.
- [15] G.W. Oehlert, A Note on the Delta Method, *The American Statistician* 46(1) (1992) 27-29.
- [16] A. Berry, L. Paris, J. Boissier, E. Caumes, Schistosomiasis Screening of Travelers to Corsica, France, *Emerg Infect Dis* 22(1) (2016) 159.
- [17] A. Berry, J. Fillaux, G. Martin-Blondel, J. Boissier, X. Iriart, B. Marchou, J.F. Magnaval, P. Delobel, Evidence for a permanent presence of schistosomiasis in Corsica, France, 2015, *Euro Surveill* 21(1) (2016).
- [18] D.G. Colley, A.L. Bustinduy, W.E. Secor, C.H. King, Human schistosomiasis, *Lancet* 383(9936) (2014) 2253-64.
- [19] World Health Organization, WHO recommended surveillance standards. 2nd ed. WHO/CDS/CSR/ISR/99/2/EN. p 107 [cited 2015 July 22]. The World Health Organization, Geneva, 2015, p. 107.
- [20] P.F. Basch, Schistosomes: development, reproduction, and host relations, Oxford University Press, New- York, 1991
- [21] C.J. Whitty, D.C. Mabey, M. Armstrong, S.G. Wright, P.L. Chiodini, Presentation and outcome of 1107 cases of schistosomiasis from Africa diagnosed in a non-endemic country, *Trans R Soc Trop Med Hyg* 94(5) (2000) 531-4.
- [22] J. Boissier, H. Mone, G. Mitta, M.D. Bargues, D. Molyneux, S. Mas-Coma, Schistosomiasis reaches Europe, *Lancet Infect Dis* 15(7) (2015) 757-8.

- [23] H. Mone, M.C. Holtfreter, J.F. Allienne, R. Mintsá-Nguema, M. Ibikounle, J. Boissier, A. Berry, G. Mitta, J. Richter, G. Mouahid, Introgressive hybridizations of *Schistosoma haematobium* by *Schistosoma bovis* at the origin of the first case report of schistosomiasis in Corsica (France, Europe), *Parasitol Res* 114(11) (2015) 4127-33.
- [24] B.L. Webster, O.T. Diaw, M.M. Seye, J.P. Webster, D. Rollinson, Introgressive hybridization of *Schistosoma haematobium* group species in Senegal: species barrier break down between ruminant and human schistosomes, *PLoS Negl Trop Dis* 7(4) (2013) e2110.
- [25] Agence nationale de sécurité sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et du travail, , AVIS de l'Anses relatif aux "critères de levée d'interdiction et d'autorisation de la baignade dans la rivière du Cavu (Corse du Sud) suite à la survenue de cas de bilharziose uro-génitale" 2015.
- [26] S.W. Hasheesh, R.T. Mohamed, S.A. El-Monem, Biological and physiological parameters of *Bulinus truncatus* snails exposed to methanol extract of the plant *Sesbania sesban* plant, *Advances in Biological Chemistry* (1) (2011) 8.

Table 1 : Laboratory criteria for case definition of autochthonous schistosomiasis

Case definition	Laboratory criteria
possible case	Isolated positive serological screening test (ELISA, IFT or IHA and, no WB OR 2 discordant screening serological tests (ELISA, IFT or IHA), no WB
probable case	2 positive serological screening tests using different techniques(ELISA, IFT or IHA), no WB OR a positive serological test (ELISA, IFT or IHA) and a positive Western blot serological test
confirmed case	<i>S. haematobium</i> eggs by urine examination or histological examination of a biopsy

IHA: Indirect Haemagglutination Assay test; IFT: Immunofluorescence test; WB: Western Blot test

Table 2 : Summary description of demographics, clinical presentation and exposure of possible, probable and confirmed cases of autochthonous urogenital schistosomiasis; April 2014-July 2015, Corsica, France.

	Total (N = 106)	Possible cases	Probable cases	Confirmed cases
Demographics				
Males	61/106 (58%)	5/12 (42%)	36/62 (58%)	20/32 (63%)
Median age [IQR] ; n	17 [12-39] ;104	19[12-38] ;11	18 [13-40] ;61	15 [11-35] ;32
Residents of Corsica	31/106 (29%)	10/12 (83%)	13/62 (21%)	6/32 (19%)
Clinical manifestations (%)				
Presence of symptoms compatible with urogenital schistosomiasis	35/103 (34%)	4/12 (33%)	10/60 (17%)	21/31 (68%)*
Gross haematuria	19/103 (18%)	1/12 (8%)	2/60 (3%)	16/31 (52%)*
Dysuria	18/103 (17%)	2/12 (17%)	8/60 (13%)	8/31 (26%)
Pollakiuria	9/103 (9%)	1/12 (8%)	4/60 (7%)	4/31 (13%)
Abdominal pain or renal colic	5/103 (5%)	1/12 (8%)	1/60 (2%)	3/31 (10%)
Dyspareunia §	2/43 (5%)	1/7 (14%)	0 (0/24)	1/12 (8%)
Rectal bleeding §	1/60 (2%)	0/5	1/36 (3%)	0/19
Testicle pain §	3/60(5%)	0/5	1/36 (3%)	2/19 (11%)
Haemospermia §	1/60 (2%)	0/5	0/36	1/19 (5%)
Laboratory data (%)				
Microscopic haematuria	23/81 (28%)	0/11	2/41 (5%)	21/29 (72%)
Presence of eggs in urine %	32/106 (30%)	0/12	0/62	32/32 (100%)
Eosinophilia >0.5x10 ⁹ /L	9/33 (27%)	0/1	4/14 (29%)	5/18 (28%)
Year of exposure to the Cavu River (%)				
2014	8/106 (8%)	1/12 (8%)	6/62 (10%)	1/32 (3%)
2013	106/106 (100%)	12/12 (100%)	62/62 (100%)	32/32 (100%)
2012 and earlier	26/106 (25%)	5/12 (42%)	14/62 (23%)	7/32 (22%)
Reported swimming sites–Cavu River (%)				
“3 piscines”	49/90(54%)	8/10 (80%)	28/54 (52%)	13/26 (50%)
“outdoor activity park”	34/90 (38%)	2/10 (20%)	20/54 (37%)	12/26 (46%)
Downstream	14/90 (16%)	2/10 (20%)	9/54 (17%)	3/26 (12%)

*significantly more frequent among patients with confirmed infection than those with possible or probable infection

(Chi-square test, p<0.04)

§ among females

§ among males

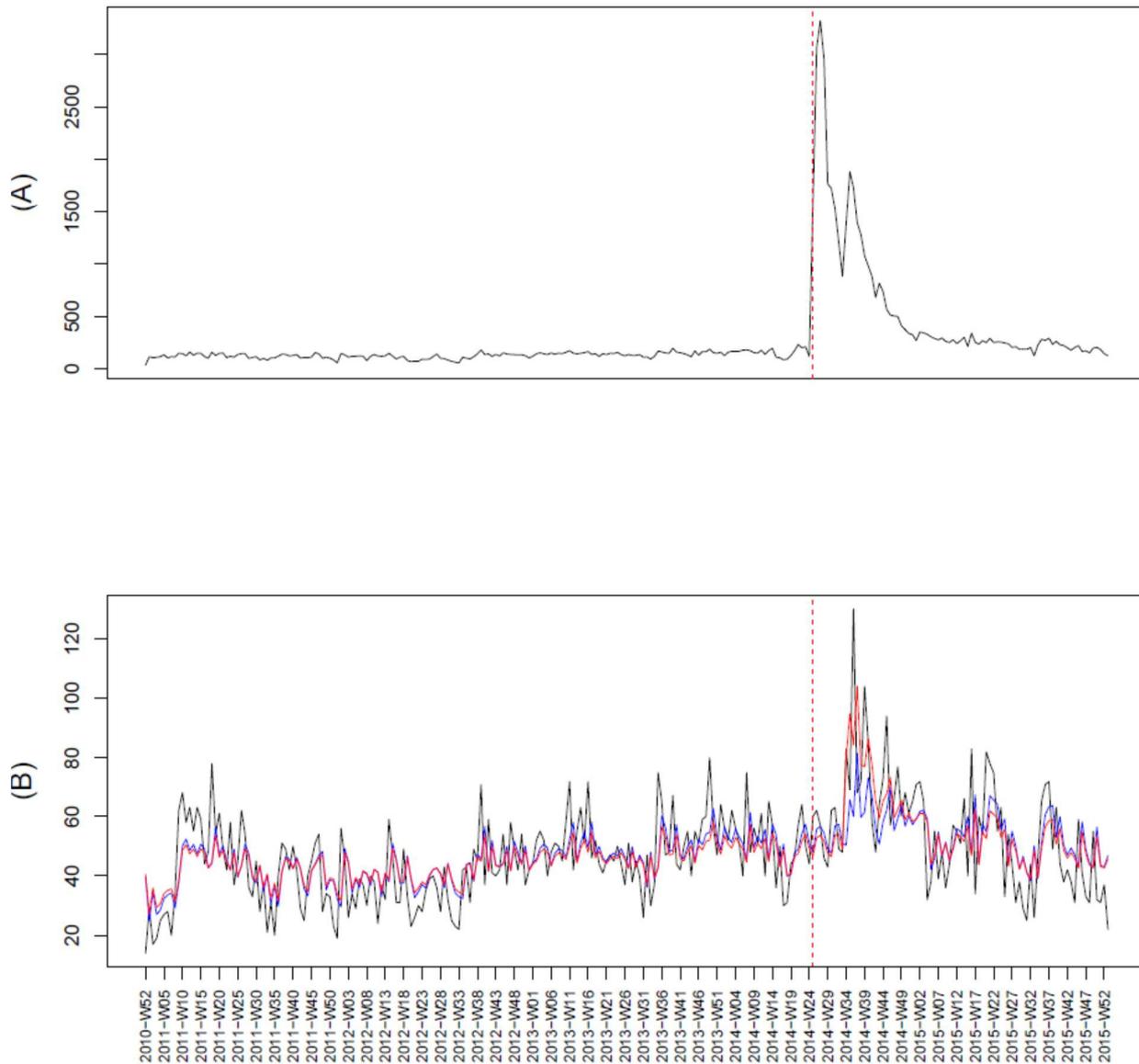


Fig. 1. Number of anti-schistosome serology test and *Schistosoma* Western Blot positive cases by week of sampling, France, 2011–2015. The curve in plot (A) delineates the observed weekly number of anti-schistosome serology tests. In plot (B) the black curve represents the observed number of patients with a positive Western-Blot (WB) test for *Schistosoma*. The solid red and blue lines represent the expected weekly number of WB-positive patients derived respectively from the fit of the INGARCH model with and without an intervention covariate accounting for the effect of the nationwide screening (starting after the vertical dashed red line week 2014–25).

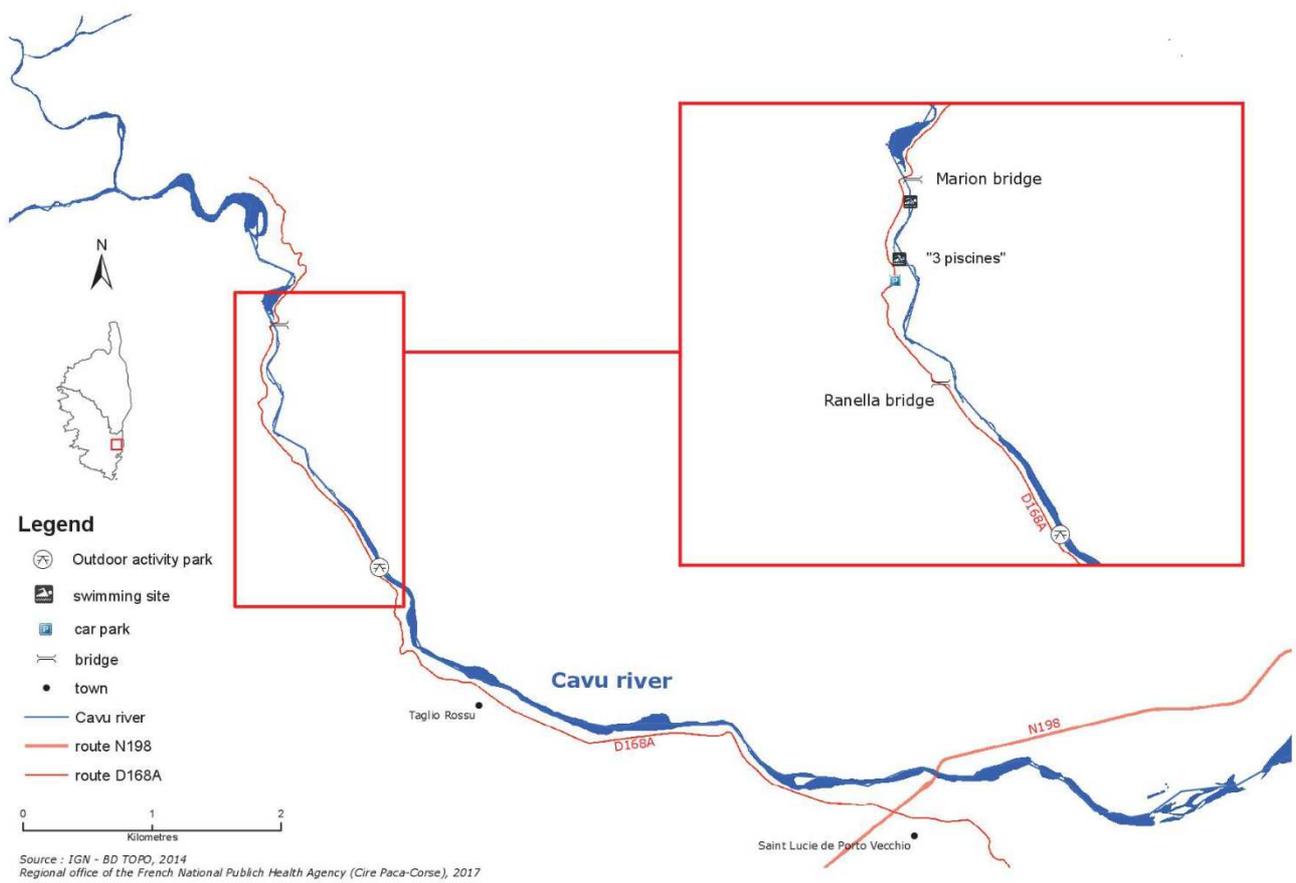


Fig. 2. Swimming sites in the Cavu River, Southern Corsica, France, 2014.

**Title: Large outbreak of urogenital schistosomiasis acquired in Southern Corsica:
monitoring the early signs of the endemicization?**

Supplementary material

1 Methods

1.1 Modelling the time series of weekly counts of Schistosoma Western blot positive cases before the intervention

In a first step we modeled the data collected before the start of the nationwide screening (the intervention), *i.e.* the first 181 weeks of the time series, from 1 January 2011 to 24 June 2014.

We analyzed this time series of counts with “integer-valued generalized autoregressive conditional heteroscedastic” (INGARCH) models [1], using the package `tscount` of the R software [2].

The number of WB-positive tests Y_t in each week t was supposed to follow either 1) a Poisson distribution, or 2) a negative binomial distribution of mean λ_t and dispersion ϕ , conditionally on past observations:

$Y_t|F_{t-1} \sim P(\lambda_t)$ or $Y_t|F_{t-1} \sim NB(\lambda_t, \phi)$, where F_{t-1} is the σ -field generated by $\{Y_{t-1}, Y_{t-2}, \dots\}$.

The mean λ_t was modelled as follows:

$$\log(\lambda_t) = \beta_0 + \sum_{k=1}^p \beta_k \log(Y_{t-i_k} + 1) + \sum_{\ell=1}^q \alpha_\ell \log(\lambda_{t-j_\ell}) + \eta^T X_t, \quad (1)$$

where β_0 is the intercept, the second and the third term enable to regress respectively on arbitrary lagged observations and lagged conditional means of the response, and the final term represent the linear effect of n time-varying covariates.

Model assessment.

For model selection, in addition to the Akaike's information criterion (AIC) and the Bayesian information criterion (BIC) we used several diagnostic plots included in the `tscount` package after model fitting:

- (i) the autocorrelation function of the response residuals. After fitting the time series models, we verified graphically the absence of residual autocorrelation by plotting the response residuals defined by: $r_t = Y_t - \lambda_t$ against its lagged values.
- (ii) the non-randomized probability integral transform (PIT, function `pit`), which will follow a uniform distribution if the predictive distribution is correct. We used the histogram plot developed by Czado et al [3] to identify underdispersion, showed by a U-shaped plot, or overdispersion, showed by an upside down U-shaped plot.
- (iii) and the marginal calibration (function `margcal`) defined as the difference of the average predictive cumulative distribution function (c.d.f.) and the empirical c.d.f. of the observations, that should be close to zero. As proposed by Christou and Fokianos, we compared the plot of the marginal calibration of the fitted models for values in the range of the original observations [4]. We compared model based deviations from zero.

1.2 Modelling the intervention(s)

We studied the effect of the national screening (intervention) on the weekly counts of WB-positive cases.

The model selected in step 1) is applied here to the whole time series and enhanced by incorporating terms that model the impact of s interventions.

The effect of the m^{th} intervention is modeled with the term $\omega_m \delta_m^{t-\tau_m} \mathbf{1}(t \geq \tau_m)$ [5], where ω_m is the size of the intervention, τ_m its occurrence time and δ_m its decay rate.

The resulting log-linear predictor is:

$$\log(\lambda_t) = \beta_0 + \sum_{k=1}^p \beta_k \log(Y_{t-i_k} + 1) + \sum_{\ell=1}^q \alpha_\ell \log(\lambda_{t-j_\ell}) + \eta^T X_t + \sum_{m=1}^s \omega_m \delta_m^{t-\tau_m} \mathbf{1}(t \geq \tau_m), \quad (2)$$

While the parameters ω_m are estimated alongside the other parameters of the model (e.g. β_0 , β_1 , etc...), τ_m and δ_m are constants fixed before the fitting procedure.

We assumed that the interventions provoke a temporary increase in the weekly number of WB-positive cases, followed by a decrease. Thus, the constants δ_m were chosen in the range (0,1), to model an exponentially decaying intervention effect (transient shift). Different values of δ_m were tested, specifically 0.7,0.8 and 0.9, a strategy recommended earlier [6]. For this purpose, we employed the function `interv_multiple` that uses an iterative detection procedure for detection of the effect of multiple interventions described by Liboschik et al [5]. We tested for external interventions effects each time point after the launching of the nationwide screening ($181 \leq \tau_m \leq 262$). For each value of δ_m , the procedure computed a score statistic for intervention effects occurring at each time point τ_m . The intervention effect with the lowest p-value was retained under the condition that this p-value was under 0.05. After removing the selected intervention effect, the procedure started over and the time series was tested for onward interventions until no significant intervention effect could be found.

1.3 Estimating the outbreak size

The outbreak size O was estimated as the cumulative difference, over the T weeks of the whole time series, of the means of the INGARCH models with and without the intervention covariates:

$$O = \sum_{t=1}^T \lambda_t - \sum_{t=1}^T (\lambda_t | \omega_m = 0, m = 1..s)$$

with

$$\lambda_t = \exp \left(\beta_0 + \sum_{k=1}^p \beta_k \log(Y_{t-i_k} + 1) + \sum_{\ell=1}^q \alpha_\ell \log(\lambda_{t-j_\ell}) + \eta^T X_t + \sum_{m=1}^s \omega_m \delta_m^{t-\tau_m} \mathbb{1}(t \geq \tau_m) \right)$$

and

$$\lambda_t | \omega_m = 0, m = 1..s = \exp \left(\beta_0 + \sum_{k=1}^p \beta_k \log(Y_{t-i_k} + 1) + \sum_{\ell=1}^q \alpha_\ell \log(\lambda_{t-j_\ell}) + \eta^T X_t \right)$$

We used the delta method [7] to approximate the variance of \hat{O} , using the estimated variance of $\hat{\beta}_0, \hat{\beta}_1, \dots, \hat{\beta}_p, \hat{\alpha}_1, \dots, \hat{\alpha}_q, \eta^T, \dots, \hat{\omega}_1, \dots, \hat{\omega}_s$.

2 Results

Models were fitted to the data of the 181 first weeks of the time series using a Poisson and a negative binomial conditional distribution as shown in Table S1.

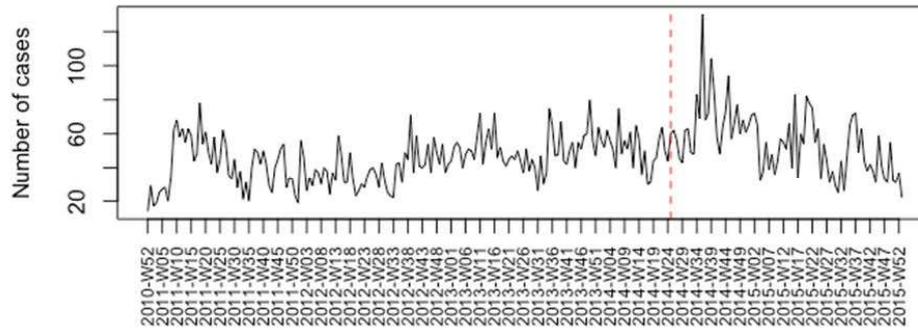


Figure S1. Weekly counts of Schistosoma Western Blot positive cases in France, 2011-2015

The vertical dashed red line represents the week of start of the nationwide screening (2014-06-24, week 2014-25).

Table S1. Summary of the results of model fitting on time series before the start of the nationwide screening for serological schistosomiasis in France, week 2010-52– week 2014-25.

Model characteristics

Distribution family	Poisson	Negative binomial
Link function	logarithmic	logarithmic
Log-likelihood	-776.080	-697.1535
BIC	1567.754	1415.101
AIC	1558.159	1402.307
Regression parameter		
β_0 : Intercept	2.075 [1.792-2.359] [§]	2.075[1.691-2.705]*
β_1 : 1 week-lagged observation	0.429 [0.352-0.506] [§]	0.429 [0.268-0.530]*
η_1 : linear trend	0.000991 [0.000548-0.00143] [§]	0.000991 [0.000307-0.00186]*
$\sigma^2 = \phi^{-1}$ overdispersion		0.0486 [0.0350-0.0648]*

[§] Standard errors and 95% confidence intervals were calculated by normal approximation. *Standard errors and 95% confidence intervals were calculated by parametric bootstrap with 500 replications.

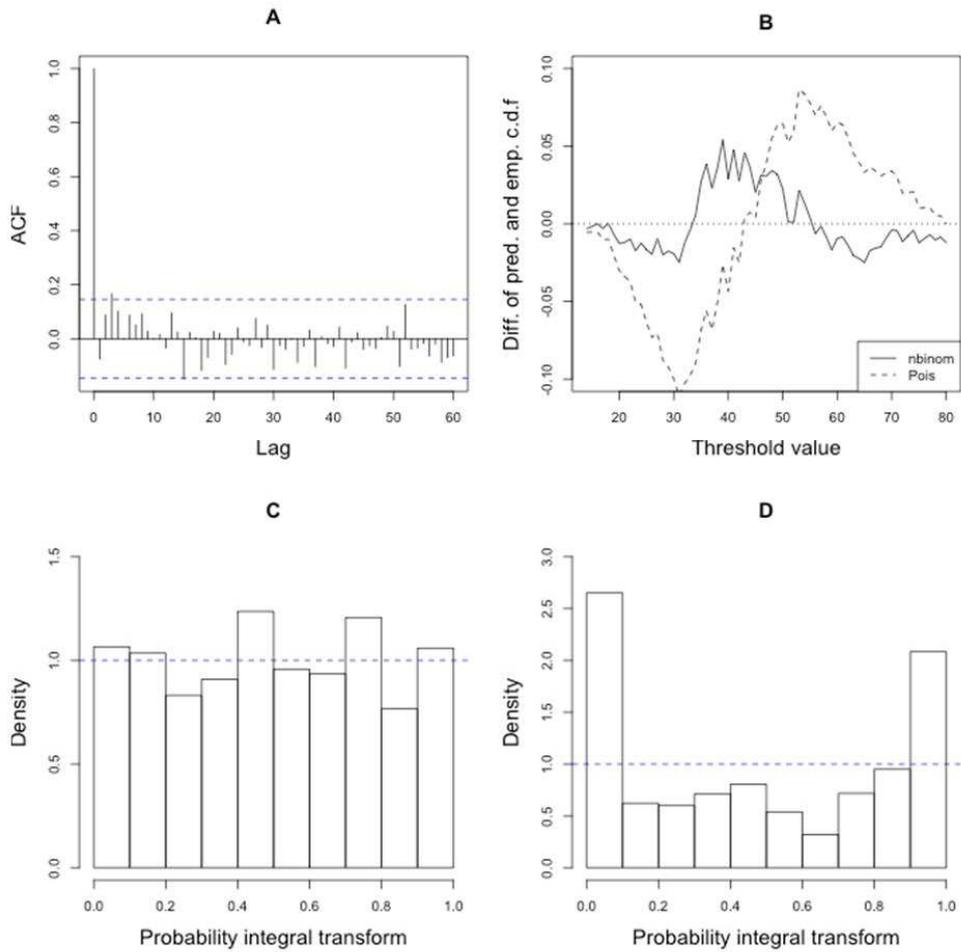


Figure S2. Diagnostic plots after model fitting to the weekly counts of WB-positive cases.

Both conditional distributions had strictly identical response residuals. As shown in the plot of the autocorrelation function (A), there was no maximum autocorrelation indicative of seasonal fluctuation or persisting serial correlation. The non-randomized probability integral transform of the Negative binomial model (C) shows the distribution approaches uniformity better. The marked U-shape of the PIT histogram of the Poisson model (D) is indicative of underdispersion. Finally the marginal calibration plot of the negative binomial model is close to zero while major deviations are observed for the Poisson model.

Table S2. Summary of the results of the intervention analysis, 1 January 2011-31 December 2015

Model characteristics	
Distribution family	Negative binomial
Link function	logarithmic
Log-likelihood	-1031.334
BIC	2072.668
AIC	2090.51
Regression parameter	
β_0 : Intercept	2.223 [1.867-2.722]*
β_1 : 1 week-lagged observation	0.399 [0.262- 0.493]*
η_1 : linear trend	0.000558 [0.000114-0.00110]*
ω_1 : intervention size	0.502 [0.285-0.767]*
τ_1 : time of occurrence of the intervention	191
δ_1 : decay rate	0.9
$\sigma^2 = \phi^{-1}$ overdispersion	0.0514 [0.0388-0.0638]*

*Standard errors and 95% confidence intervals were calculated by parametric bootstrap with 500 replications.

The intervention analysis identified a transient shift 11 weeks after the start of the nationwide screening for schistosomiasis (week 191). A covariate was included in the fitted negative binomial model to account for the intervention effect

$$Y_t | \mathcal{F}_{t-1} \sim \text{NegBinom}(\lambda_t, \phi = 19.47),$$

$$\lambda_t = 2.22 + 0.40 \log(Y_{t-1} + 1) + 0.00056 t + 0.50 \cdot 0.9^{t-191} \mathbf{1}(t \geq 191), \quad t = 1, \dots, 262$$

We went on to estimate the outbreak size O based by computing the cumulative difference of the means of the model with and without the covariate accounting for the identified significant intervention effect.

$$O = \sum_{t=1}^T \lambda_t - \sum_{t=1}^T (\lambda_t | \omega_1)$$

The estimated overall outbreak size was estimated at 338 cases [95% Confidence Interval: 166-510].

References

- [1] T. Liboschik, R. Fried, K. Fokianos, P. Probst, *tscount: Analysis of Count Time Series*. R package version 1.3.3., 2016. <http://tscount.r-forge.r-project.org/>.
- [2] R Core Team, *R: A language and environment for statistical computing*, 2016. <http://www.R-project.org/>.
- [3] C. Czado, T. Gneiting, L. Held, Predictive model assessment for count data, *Biometrics* 65(4) (2009) 1254-61.
- [4] V. Christou, K. Fokianos, On count time series prediction, *Journal of Statistical Computation and Simulation* 85(2) (2015) 357-373.
- [5] T. Liboschik, P. Kerschke, K. Fokianos, R. Fried, Modelling interventions in INGARCH processes, *International Journal of Computer Mathematics* 93(4) (2016) 17.
- [6] K. Fokianos, R. Fried, Interventions in log-linear Poisson autoregression, *Statistical Modelling* 12(4) (2012) 33.
- [7] G.W. Oehlert, A Note on the Delta Method, *The American Statistician* 46(1) (1992) 27-29.

Annexe 2: “Dengue serosurvey after a 2-month long outbreak in Nîmes, France, 2015: was there more than met the eye?”

Dengue serosurvey after a 2-month long outbreak in Nîmes, France, 2015: was there more than met the eye?

Tiphanie Succo^{1,2}, Harold Noël^{1,3}, Birgit Nikolay^{4,5,6}, Marianne Maquart⁷, Amandine Cochet¹, Isabelle Leparç-Goffart⁷, Olivier Catelinois², Henrik Salje^{4,5,6}, Camille Pelat³, Perrine de Crouy-Chanel³, Henriette de Valk³, Simon Cauchemez^{4,5,6}, Cyril Rousseau¹

1. The French Public Health Agency (Santé publique France), Regional unit (Cire) Occitanie, Saint-Maurice, France

2. These authors contributed equally to the study and writing of the article

3. The French Public Health Agency (Santé publique France), Saint-Maurice, France

4. Mathematical Modelling of Infectious Diseases Unit, Institut Pasteur, Paris, France

5. Centre National de la Recherche Scientifique, URA3012, Paris, France

6. Center of Bioinformatics, Biostatistics and Integrative Biology, Institut Pasteur, Paris, France

7. Institut de Recherche Biomédicale des Armées, National Reference Center for arboviruses, Marseille, France

Correspondence: Harold Noël (harold.noel@santepubliquefrance.fr)

Citation style for this article:

Succo Tiphanie, Noël Harold, Nikolay Birgit, Maquart Marianne, Cochet Amandine, Leparç-Goffart Isabelle, Catelinois Olivier, Salje Henrik, Pelat Camille, de Crouy-Chanel Perrine, de Valk Henriette, Cauchemez Simon, Rousseau Cyril. Dengue serosurvey after a 2-month long outbreak in Nîmes, France, 2015: was there more than met the eye?. *Euro Surveill.* 2018;23(23):pii=1700482. <https://doi.org/10.2807/1560-7917.ES.2018.23.23.1700482>

Article submitted on 14 Jul 2017 / accepted on 30 Nov 2017 / published on 07 June 2018

Background: Clusters of dengue cases have recently become more frequent in areas of southern France colonised by the vector mosquito *Aedes albopictus*. In July 2015, a 2-month outbreak of dengue virus serotype 1 (DENV-1) was reported in Nîmes. **Aim:** We conducted a serosurvey in the affected area at the end of the vector activity period to determine the true extent of dengue transmission. **Methods:** We collected capillary blood from consenting household members, and information on their medical and travel histories, and exposure to mosquito bites. Recent infections were identified using IgM and IgG anti-DENV ELISA, followed, when positive, by plaque reduction neutralisation tests on serum against DENV 1–4 and West Nile virus. The prevalence estimator was calibrated on reference demographic data. We quantified the spatial clustering of dengue cases within the affected community and inferred the transmission tree. **Results:** The study participation rate was 39% (564/1,431). Three of 564 participants tested positive for DENV-1 infection (after marginal calibration, 0.41%; 95% confidence interval: 0.00–0.84). The spatial analysis showed that cases were clustered at the household level. Most participants perceived the presence of mosquitoes as abundant (83%) and reported frequent mosquito bites (57%). We incidentally identified six past West Nile virus infections (0.9%; 95% CI: 0.2–1.6). **Conclusion:** This serosurvey confirms the potential for arboviral diseases to cause outbreaks – albeit limited for now – in France and Europe.

Introduction

Dengue is the most common vector-borne viral disease worldwide, affecting 390 million people in tropical and sub-tropical areas each year [1]. The clinical spectrum of dengue ranges from a mild, non-specific febrile

syndrome (classic dengue fever) to severe dengue with plasma leakage, haemorrhage or organ impairment [2]. In 20–97% of cases, dengue is clinically inapparent; this proportion varies considerably, across countries and years [3]. Asymptomatic infections may contribute significantly to virus transmission [4].

Aedes aegypti is the main vector of dengue virus in tropical areas [5]. Of more direct concern to continental Europe is a secondary vector, *Ae. albopictus*. Originally a tree-breeding mosquito of the forests of south-east Asia, *Ae. albopictus* has dramatically expanded its geographic distribution throughout the world in the past 40 years. Taking advantage of increasing global trade, *Ae. albopictus* spread to temperate regions in the late 1970s [6]. It was first reported in Europe in 1979 and has since been observed in France and 14 other countries along the Mediterranean. Given the recent establishment and rapid spread of *Ae. albopictus* in southern France, there is high potential for the emergence of arboviruses such as dengue virus (DENV), chikungunya and Zika viruses [7–10]. Limited local transmission of DENV was reported in southern France in 2010, 2013 and 2014, each cluster involving ≤ 2 cases [11–13]. Recently, from July to September 2015, a dengue outbreak occurred in the neighbourhood of Nîmes, Occitanie region [14]. Epidemiological investigations including door-to-door case finding conducted in August 2015 revealed seven autochthonous cases of dengue serotype 1 (DENV-1) that arose from a likely primary case over a 2-month period [14]. In France, a national surveillance and response plan aims to prevent and control local dissemination of dengue and other *Ae. albopictus*-transmitted viruses. However, little is known about the drivers and determinants of local transmission of dengue in the European

FIGURE 1

Map of the study area, dengue serosurvey, Nîmes, France, 2015



Source: Ign-BDTopo 2011; SOeS CORINE Land Cover 2015; Santé publique France, 2016.

setting, and the national response plan may not be fully effective.

In November 2015 we carried out a seroprevalence survey in order to determine the true extent of the dengue outbreak in Nîmes and the proportion of asymptomatic infections. We also reconstructed the transmission chain to characterise the spatial pattern of dengue transmission and to contribute to improving the performance of the French surveillance and response plan.

Methods

Study design

We conducted a cross-sectional population-based serosurvey in the area affected by dengue in Nîmes. The study population included all members of households located within a 150m radius around the residences of each case identified in the initial investigation.

The study area covers the range where vector control measures were applied in compliance with the French preparedness and response plan [15]. In addition, the 109 households within a 100m directly adjacent margin of the vector-control range were also eligible for inclusion (Figure 1). When >50% of the houses in a block fell within the study area, we included the entire block. Inclusion criteria were: (i) residing in the study area since 1 July 2015; (ii) an age of 2 years or older. Patients under anticoagulant therapy were excluded. In total, 512 households were eligible, comprising an estimated 1,471 individuals of whom 1,431 were at least 2 years old (estimates obtained from the French National Institute of Statistics and Economic Studies (INSEE, 'caroyages 200m' and RFL2010, 2013); <http://www.insee.fr/en/>).

All eligible members of all households within the study area were invited to participate in the study. Enrolment

TABLE 1

Distribution of age, sex and socio-professional category among study participants and reference populations, dengue serosurvey, Nîmes, France, 2015

Age group (years)	Participants		Reference population	
	Number	Percentage (%)	Number	Percentage (%)
2-3	8	1.4	20	1.4
4-5	5	0.9 ^a	38	2.7
6-10	33	5.9	104	7.3
11-14	27	4.8 ^a	109	7.6
15-17	13	2.3 ^b	73	5.1
18-24	56	10.0 ^c	53	3.7
25-64	352	62.9	887	62.0
65-74	46	8.2	110	7.7
≥75	20	3.6	37	2.6
Total	564	100.0	1,431	100.0
Sex				
Males	256	45.5	697	48.7
Socio-professional category of the householder				
Farmer	3	0.6	10	0.7
Tradesperson	36	6.6	77	5.4
Upper white-collar	13	2.4 ^c	183	12.8
Intermediate occupation	85	15.7	203	14.2
Lower white-collar	165	30.4 ^c	227	15.9
Blue-collar	164	30.3 ^c	294	20.6
Retired	69	12.7 ^c	307	21.5
Never worked	7	1.3 ^c	130	9.1
Total	542	100.0	1,431	100.0

The reference population was estimated for the 512 households eligible for study participation based on data from the French National Institute of Statistics and Economic Studies (INSEE, 'carroyages 200 m' and RFL2010, 2013).

^a Proportion significantly different from the reference population (chi-squared test, $p < 0.05$).

^b Proportion significantly different from the reference population (chi-squared test, $p < 10^{-2}$).

^c Proportion significantly different from the reference population (chi-squared test, $p < 10^{-4}$).

took place between 6 and 20 November 2015, over a period of 9 days excluding holidays and weekends, from 09:00 to 15:00 and 15:00 to 21:00. For unresponsive households, we carried out three additional visits on separate dates and at different times of the day. After four visits without response, the household was considered non-respondent.

Data and blood sample collection

Pairs of trained investigators, comprising at least one medical member of staff, interviewed the study participants, and collected capillary blood samples from fingertips on blotting paper (2-4 drops). They interviewed one adult per household (known henceforth as 'the householder') using a standardised questionnaire exploring household characteristics (address, demographics, vector-breeding sites, vegetation, protective measures such as window screens, air conditioning). In addition, the investigators interviewed each consenting household member (or parent for children) using a

questionnaire to collect clinical data (medical history, symptoms compatible with dengue infection since 1 July, vaccination against flaviviruses), travel history and recent itineraries, individual risk factors for mosquito bites and dengue infection, knowledge and perception of the disease and its prevention.

Laboratory analysis

Capillary blood samples were tested for serological evidence of dengue infection by in-house capture ELISA at the French National Reference Centre for Arboviruses (NRC) in Marseille [16]. Persons presenting IgM or IgG positive samples were requested to provide an additional blood sample by venepuncture, for plaque reduction neutralisation testing (PRNT) against DENV serotypes 1-4 and West Nile virus (WNV).

Case definitions

A case of recent infection was defined as a person testing positive for anti-DENV IgM and IgG. Samples with

TABLE 2

Participants' perception and behaviours regarding mosquito bites and their prevention, and household characteristics, dengue serosurvey, Nîmes, France, 2015

	Number	Percentage (%)
Housing characteristics		
Presence of a garden or terrace (n=269)	264	98.1
Mosquito nets at windows (n=280)	99	35.4
Use of air conditioning often or sometimes (n=279)	91	32.6
Reported presence of mosquito breeding sites in the garden or terrace ^a (n=269)	237	88.1
Windows open during the day often or sometimes (n=280)	155	55.4
Perception and behaviours regarding mosquito bites and their prevention		
Bitten by mosquito often or sometimes (n=533)	304	57.0
Presence of mosquitoes perceived as very abundant or abundant (n=533)	444	83.3
Use of insect repellent often or sometimes ^b (n=472)	248	52.5
Wearing long-sleeved shirts and long trousers often or sometimes ^b (n=468)	127	27.1

^a Automatic watering, ornamental pond, temporary swimming pool, non-covered rainwater collection basin.

^b Questions asked only of participants aged 15 years and older.

isolated IgG and a PRNT positive for DENV (serotype 1 to 4) were classified as past infections.

A symptomatic case was defined as a case of recent infection who had presented with a febrile illness with body temperature $\geq 38^\circ\text{C}$, with or without other symptoms, not explained by another medical condition, since 1 July 2015.

A case was classified as imported if the infected person had stayed in an area outside of continental France and Corsica, known at that time for being endemic or epidemic for dengue, in the 15 days preceding the date of onset of symptoms, or in the year before the interview for asymptomatic cases. Cases that did not meet the criteria of an imported case were classified as autochthonous.

The seven confirmed cases detected during the outbreak investigations conducted in August 2015 were all classified as autochthonous, recent dengue infections [14].

Data analysis

Demographic characteristics

We compared the study participants with the reference population (i.e. the 1,431 inhabitants of the neighbourhood aged at least 2 years) in terms of age, sex and socio-professional category using the chi-squared test. We used nine age groups (2–3 years, 4–5 years, 6–10 years, 11–14 years, 15–17 years, 18–24 years, 25–64 years, 65–74 years and 75 years and older) and the eight categories defined by INSEE (farmer, tradesperson, upper white-collar, intermediate occupation, lower white-collar, blue-collar, retired, and never worked) [17]. The marginal distribution of these three variables in the reference population was calculated

using information on two infra-communal areas covering the studied neighbourhood. These infra-communal areas, called IRIS (Ilots Regroupés pour l'Information Statistique) are grouped housing blocks created for the purpose of statistical information by INSEE [18].

Estimating prevalence of recent infections

Weights of the study participants, initially equal, were calibrated so that the estimated counts reflected the demographic structure of the reference population in terms of age structure and socio-professional category, as described above.

As the joint distribution of these two variables was not available, we applied a marginal calibration method using the marginal distributions obtained as specified in the previous paragraph. Specifically, we used the raking ratio method [19], implemented in the SAS macro CALMAR [20].

After calibration, the prevalence of recent dengue infections, \hat{p} , was estimated as follows:

$$\hat{p} = \frac{1}{N} \sum_{k=1}^K w_k$$

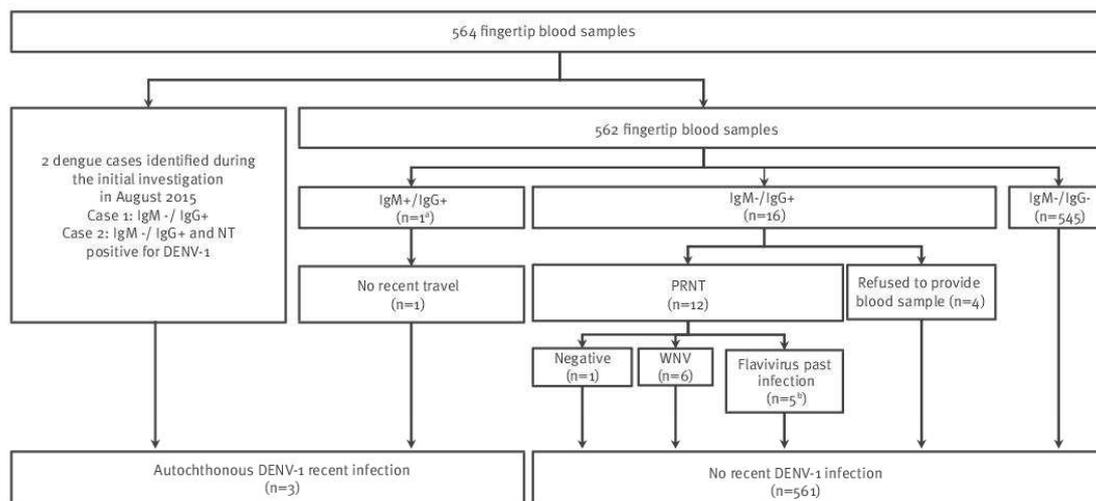
where N is the size of the reference population and w_k the weights of the K participants who met the criteria for a case of recent dengue infection.

The variance of \hat{p} was estimated as follows:

$$\hat{v}(\hat{p}) = \left(1 - \frac{n}{N}\right) \frac{\hat{p}(1-\hat{p})}{n-1}$$

FIGURE 2

Biological results and classification of cases, dengue serosurvey, Nîmes, France, 2015



DENV: dengue virus; NT: neutralisation test; PRNT: plaque reduction neutralisation testing; WNV: West Nile virus; +: positive; -: negative.

^a PRNT results: DENV recent infection of indeterminable serotype.

^b PRNT results: DENV past infection of indeterminable serotype (2 cases) or Flavivirus past infection (3 cases). All reported a history of travel in a dengue-endemic area. Six participants had IgG antibodies against WNV, confirmed by PRNT. We estimated the prevalence of past WNV infection at 0.9% (95% CI: 0.22–1.57).

No asymptomatic case was identified. The three cases presented a febrile illness with body temperature $\geq 38^\circ\text{C}$ ($n = 3$), retro-orbital pain ($n = 2$), skin rash ($n = 2$), headache ($n = 2$), myalgia ($n = 2$), arthralgia ($n = 2$), digestive disorders ($n = 1$) and asthenia ($n = 2$).

where n is the size of the sample of participants. Of note, $(1 - \frac{n}{N})$ is called the finite population correction factor.

Finally, we calculated the 95% confidence interval (CI) as follows:

$$95\% \text{ CI} = [\hat{p} \pm 1.96\sqrt{\hat{p}(1-\hat{p})}]$$

We used SAS version 9.3 (SAS Institute, Cary, North Carolina, United States) to perform the analyses.

Description of the spatial patterns of observed cases and inferring the transmission tree

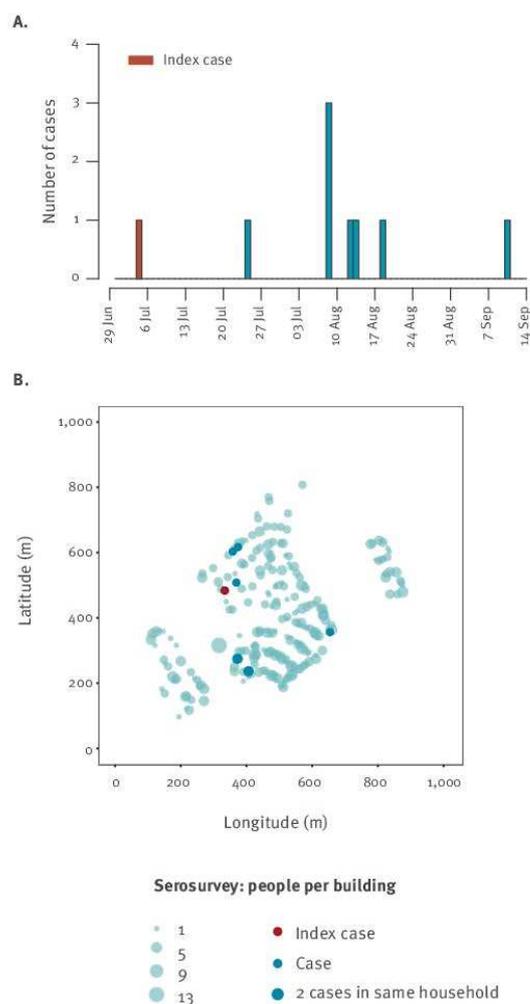
In this analysis, we used data from all cases identified through the seroprevalence survey and the seven confirmed cases identified through the outbreak investigation conducted in August 2015 [14]. Geographic coordinates of study participants' residences were located using ArcGIS 10.2.2 software (ESRI Inc). Nine non-infected individuals with missing household coordinates were excluded from the analysis.

We calculated the median, minimum and maximum distances between pairs of cases and pairs of non-infected individuals based on their household locations. We quantified spatial clustering at various distance ranges in the community (same household, 0–50 m, >50–100 m and >100–200 m) as the Relative Risk (RR) of two cases living within a distance range relative to two non-infected individuals living within that distance range [21]. Details of the spatial clustering measure we used are provided in the Supplement. Confidence intervals (95% CI) of the RRs were estimated using normal approximation with small sample adjustment implemented in the epitools package in R.

We developed a statistical model to characterise the spread of DENV in this population and reconstructed the most likely transmission tree. The model jointly analysed data on DENV cases and non-infected individuals in the community and made it possible to test whether the rate of person-to-person transmission declined with distance. We assumed that the serial interval (i.e. time between symptom onset in a case and symptom onset in the persons they infected) of DENV was distributed with a mean of 16 days and a variance of 40 days (based on information about the

FIGURE 3

Epidemic curve (A), spatial distribution of cases (B), dengue serosurvey, Nîmes, France, 2015



different infection stages). Technical details are provided in the Supplement. We estimated parameters of the model using Bayesian Markov chain Monte Carlo sampling and report the posterior median with 95% credible intervals (95% CrI). We performed sensitivity analysis on the assumed serial interval distribution and we investigated the effect of potential case under-detection (Supplement).

Ethical approval

The study was carried out with the approval of the French Commission for Data Protection (Commission Nationale de l'Informatique et des Libertés). Participation was voluntary. Signed informed consent was obtained from all participants or their legal guardian for children.

Results

Survey participation and description of the participants

In total, 55% (282/512) of households and 39% (564/1,431) of residents participated in the study. The median age was 45 years (min–max: 2–86 years), with a male-to-female sex ratio of 0.80 (242/303). Of the participating householders 0.6% (3/542) were classified as farmers, 7% (36/542) as tradespeople, 2% (13/564) as upper white-collar, 16% (85/542) as intermediate occupation, 30% (165/542) as lower white-collar, 30% (164/542) as blue-collar, 13% (69/542) as retired and 1% (7/542) as never worked. The sample differed from the study population in terms of socio-professional categories ($p < 0.0001$) and age groups ($p < 0.0001$). Their sex distributions did not differ ($p = 0.19$). The categories of 18–24 years old, and lower white- or blue-collar were over-represented (Table 1).

A large proportion of participants reported an abundant presence of mosquitoes in the neighbourhood (83%) and frequent mosquito bites (57%) (Table 2). Most participants' housing (98%) had a garden or terrace and its inhabitants frequently (88%) reported the presence of potential mosquito breeding sites (automatic watering, ornamental pond, temporary swimming pool, non-covered rainwater collection basin) (Table 2).

Dengue seroprevalence and proportion of asymptomatic infections

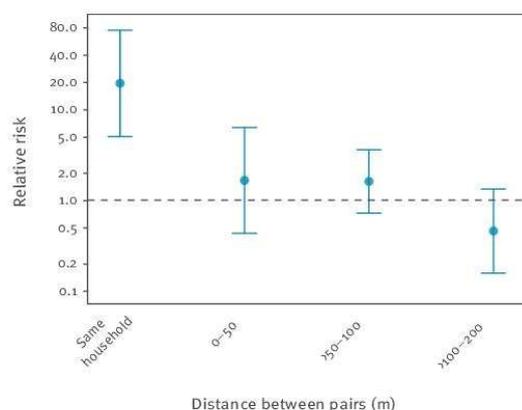
The serosurvey identified three cases of recent autochthonous dengue infection: one tested positive for both anti-DENV IgM and IgG; two tested positive for anti-DENV IgG (these two had already been diagnosed during the outbreak investigation conducted in August 2015) (Figure 2). Of the five cases identified through the outbreak investigation, three cases were absent at the time of study implementation. Two cases in a household of five people refused to participate in the serosurvey on the grounds that they had taken part in the initial investigation. In total, eight autochthonous cases were identified across the two investigations. After calibration, dengue prevalence was estimated at 0.4% (95% CI, 0.0–0.8).

Spatial case clustering and reconstructed transmission tree

Following the importation of a likely primary case with disease onset on 6 July 2015, eight autochthonous cases developed illness within 68 days (Figure 3 A). The median distance between any two DENV cases (266 m; interquartile range (IQR): 106–333 m; range: 0–384 m) was similar to that observed between any two non-infected individuals recruited in the study (271 m; IQR: 155–385 m; range 0–816 m; Wilcoxon rank-sum test $p = 0.064$) (Figure 3 B). The spatial distribution of cases and non-infected individuals in the studied area suggested clustering of cases at the household level, where the risk of two DENV cases living in the same household was 18.2 (95% CrI: 4.7–70.2) times higher

FIGURE 4

Spatial clustering of cases by household distance, dengue serosurvey, Nîmes, France, 2015



Spatial clustering was measured as the relative risk (RR) of two dengue virus cases living within a distance range compared to two non-infected individuals living within that distance range; where the risk of a pair being in that distance range was calculated as number pairs within the range/ number pairs within the range or further apart. A distance of 0 m represents individuals living in the same building but different households.

than the risk of two non-infected individuals living in the same household (Figure 4). There was no significant evidence for clustering at other distances in the study area of ca 800m².

We were able to identify the most likely infector (with >50% probability) for five of the eight autochthonous cases. The reconstructed transmission tree is shown in Figure 5. The estimated effective reproduction number R (number secondary cases caused by a case) was 0.98 (95% CrI: 0.46–1.74). Cases from the same household most likely belonged to the same generation since their symptom onset dates were very close (0 or 1 day delay). We did not find evidence for a decline in the transmission rate by geographic distance from a case.

Discussion

In order to determine the extent of the 2015 DENV-1 outbreak in Nîmes, we conducted a serosurvey that identified three recent autochthonous dengue cases, which, together with those already known, led to an estimated dengue seroprevalence of 0.4%. No asymptomatic infection was detected in the affected area. Dengue transmission by local *Ae. albopictus* mosquitoes remained limited overall to eight autochthonous cases clustered within households.

Similar low-seroprevalence estimates have been documented in other studies carried out in dengue-affected areas in high-income countries: 1% in 2004 in Texas, US, 3% in 2009 in Florida, US, and 0.6% in Croatia in 2012 [22–24].

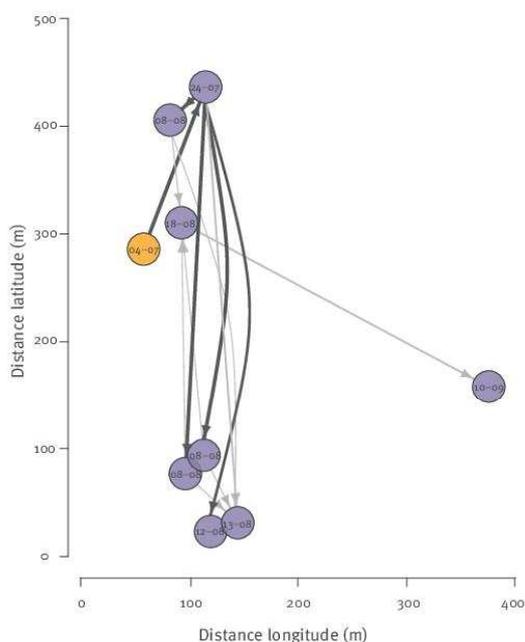
However, our study is not devoid of limitations inherent to field investigations. We cannot exclude the possibility that additional cases went undetected, since only 55% of the households and 39% of the inhabitants of the neighbourhood participated in the study. But with only one additional case identified by the serosurvey and nearly all of the cases captured by the initial investigation, this should marginally affect our estimate of dengue prevalence in the study area. Study participants had a different age and socio-professional make-up than the reference population. Though only partially, we set out to address the effect of non-response by calibrating our prevalence estimator on reference demographic data. We could not include five cases identified through the outbreak investigation, nor the households to which they belonged. The resulting underestimation of the prevalence of dengue should have remained limited because they represented only a couple of households, surrounded by other dengue-free households.

Our study highlighted a decline in dengue antibody titre 3 months after the onset of fever. Indeed, anti-dengue IgM were undetectable for the two cases already confirmed in August 2015. Theoretically this may have led to misclassification of cases of recent DENV infection among people with anti-DENV IgG but without IgM. This could have been overcome to some extent by carrying out serosurveys sooner after an outbreak. However, we chose to conduct our study in November, in the late-activity season of *Ae. albopictus* in southern France, to capture any potential residual transmission [25]. Four years after the establishment of *Ae. albopictus*, vector density has become high enough for dengue transmission in this neighbourhood of Nîmes, mostly composed of small properties with gardens. High vector density was also corroborated by our study findings with high levels of mosquito nuisance reported by the participants.

Physical barriers in the building and landscape features that surrounded the outbreak area, such as large roads, a nearby high school campus and stadium might have contributed to preventing a wider spread of the virus. Vector-control measures applied in the outbreak area in August and September 2015 most likely played a role in breaking the transmission chain, although the exact impact cannot be measured.

Seroprevalence data on the fifth limited dengue cluster observed in France since 2010 suggest that French *Ae. albopictus* may not be able to sustain explosive DENV transmission. A small number of dengue outbreaks transmitted by *Ae. albopictus* have been described worldwide in the last decade (Hawaii 2001, Gabon 2007, China 2014, Japan 2014) [26–29]. In Nîmes, transmission of DENV remained limited despite a 2-month long circulation of the virus, from July to September 2015. However, with 160 cases, the 2014 dengue outbreak in Tokyo, Japan, demonstrated that more intensive transmission is possible even in

FIGURE 5
Reconstructed transmission tree, dengue serosurvey, Nîmes, France, 2015



Shown are connections between cases with transmission probabilities ≥ 0.2 ; dark grey represents connections with probabilities ≥ 0.5 . The node labels indicate the onset date of disease and node locations represent geographic household locations. Overlapping nodes represent cases who lived in the same household. The index case is indicated in red.

temperate climates and that continued vigilance is needed in areas colonised by *Ae. albopictus* [29].

The spatial analysis showed that cases clustered at the household level. The two case-pairs in same households developed symptoms either on the same day or within one day; these household members therefore belonged most likely to the same generation of cases. The household clustering may be explained by the common exposure to an infected mosquito in the household. We did not find evidence for a spatial decline in the transmission hazard by distance from a case, estimated on the basis of household locations of cases and non-infected individuals. Several previous studies found evidence for small scale patterns in DENV transmission [30-32]. In our study, the lack of spatial transmission patterns may be due to the small number of observed DENV cases resulting in limited power to detect a significant decline in the transmission rate. The study area and the distances over which DENV cases occurred were also relatively small and spatial effects may have been more apparent if a wider area was investigated or affected. Moreover, though

households are generally considered as foci for DENV transmission, individuals may have acquired infections at other locations than their homes.

No asymptomatic cases were identified through the outbreak investigation and serosurvey [14]. Most cases could reasonably be placed on a transmission tree reconstructed only on the basis of time and place of occurrence of symptomatic cases. This suggests that the contribution, if any, of undetected asymptomatic cases was possibly not crucial in this outbreak. All in all, the eight locally acquired cases related to this outbreak reported fever $\geq 38^\circ\text{C}$ ($n = 8$), retro-orbital pain ($n = 4$), skin rash ($n = 5$), headache ($n = 7$), myalgia ($n = 4$), arthralgia ($n = 2$), digestive disorders ($n = 4$) and asthenia ($n = 6$). That no asymptomatic case was identified was unexpected. In the literature, the proportion of inapparent infections varies widely, from 20% to 97% in endemic areas [3]. The active case finding conducted during the initial investigation in August 2015, enhanced awareness and easy access to healthcare in the community might have led us to detect and classify as 'symptomatic' any pauci-symptomatic case that would have gone unnoticed elsewhere. The wide clinical spectrum of dengue complicates the determination of the frequency of asymptomatic cases as mentioned in a review of the literature on the extent of inapparent DENV infections [3].

Some studies suggest an association between the initial immunity and the clinical expression with a higher frequency of symptomatic dengue among non-immune people [33,34]. However, the factors associated with the clinical expression of dengue have not been clearly determined. It remains possible that in our study the number of DENV cases was too low to detect asymptomatic cases.

Our results incidentally evidenced low-level circulation of WNV in the study population. A WNV serosurvey, carried out in 2000, presented similar results among blood donors living inside and near Camargue, a regional nature park located 50 km from Nîmes, where WNV re-emerged among horses earlier the same year [35]. Our estimate of 0.9% falls between that of the prevalence of antibodies against WNV in blood donors living in Camargue at 1% and in contiguous regions at 0.2%.

Conclusion

Transmission of DENV during the 2015 outbreak in Nîmes remained of low intensity and clustered within households despite a high perceived density of *Ae. albopictus* and a 2-month long circulation period of the virus.

The potential for arboviral diseases to cause outbreaks in France should not be underestimated. The geographical distribution of *Ae. albopictus* is expanding steadily while climate change could increase the potential for outbreaks northward. The intensification of international travel increases the risk of DENV

introduction in the naïve population of mainland France. Moreover the competence of *Ae. albopictus* to transmit other major arboviruses has been demonstrated, in the field, for chikungunya virus and, in the laboratory, for Zika virus

More broadly, this risk is present in several other European countries where new areas are colonised by *Ae. albopictus* each year.

Our study suggests that surveillance and early outbreak investigation can successfully determine the extent of dengue emergence. Further serosurveys should be conducted around future outbreaks to monitor the evolution of the transmission dynamics of arboviral diseases in Europe. These studies could also further document the proportion of unapparent arboviral infections and their contribution to transmission, with the ultimate aim of adapting the control measures around autochthonous transmission.

Acknowledgements

Laboratoire d'Excellence 'Integrative Biology of Emerging Infectious Diseases' (grant n°ANR-10-LABX-62-IBEID).

We thank Béatrice Broche and Isabelle Esteve-Moussion (ARS Occitanie) for supporting the study implementation; Bruno Coignard, Marie-Claire Paty and Jean-Claude Desenclos (SpFrance) for finding funding and improving the manuscript; the staff of the National Reference Centre on Arboviruses (Institut de recherche biomédicale des armées, Marseille) for testing all samples.

We are also grateful to the investigators: Stéphanie Baud, Pascale Berthommé, Dominique Bouillin, Evelyne Dussere-Berard, Mohammed Elarouti, Laurence Laporte, Guy Laruche, Yannick Lecoine, Marie Mas, Jacqueline Maurel, Marie-Brigitte Moyano, Adeline Philippe, Olivier Puech, Purificación Queimano, Palma Rols, Axel Wiegandt (ARS Occitanie), Davide Tufo (ARS PACA, Marseille, France), Narimane Agoudjil, Siegfried Androllio, Constance Brossier, Sandrine Duron, Joffrey Marchi, Madjid Mokrane, Marc-Antoine Sanchez, Sébastien Sicard, Guillaume Velut (Centre d'épidémiologie et de santé publique des armées, Marseille), Frédéric Jourdain, Yvon Perrin (Centre National d'Expertise sur les vecteurs, Montpellier), François Clinard, Elodie Terrien (Cire Bourgogne-Franche Comté, Dijon), Véronique Servas (Cire Nouvelle Aquitaine, Bordeaux), Cécile Durand, Franck Golliot, Anne Guinard (Cire Occitanie, Toulouse), Alexis Armengaud, Caroline Six, Cyrielle Orenes, Florian Franke, Guillaume Heuzé, Sandra Giron (Cire PACA-Corse, Marseille), Didier Caire, Jean-Baptiste Ferré, Grégory L'Ambert, José Yuste (Interdepartmental Agreement for mosquito control on the Mediterranean coast, Montpellier), Elisabeth Couturier, Damien Pognon (SpFrance).

Finally we thank all study participants and their neighbourhood committee for making this possible.

Conflict of interest

None declared.

Authors' contributions

Tiphanie Succo and Harold Noël coordinated the study, drafted the initial draft of the manuscript and reviewed final document for accuracy.

Harold Noël drafted the study protocol, participated to the study implementation and data analysis.

Tiphanie Succo performed the analysis for estimating the seroprevalence. Perrine de Crouy-Chanel and Camille Pelat helped with the analysis and reviewed drafts of the manuscript.

Birgit Nikolay, Henrik Salje and Simon Cauchemez designed the spatial case clustering and transmission tree reconstruction analysis. Birgit Nikolay performed this analysis.

Henriette de Valk initiated the study and reviewed and contributed to drafts of the final study protocol and the manuscript for accuracy.

Marianne Maquart and Isabelle Leparç-Goffart conducted the virological analysis and reviewed the manuscript.

Amandine Cochet and Olivier Catelinois developed investigation tools and reviewed drafts of the manuscript.

Cyril Rousseau initiated the study, drafted the manuscript and reviewed the final version.

References

1. Bhatt S, Gething PW, Brady OJ, Messina JP, Farlow AW, Moyes CL, et al. The global distribution and burden of dengue. *Nature*. 2013;496(7446):504-7. <https://doi.org/10.1038/nature12060> PMID: 23563266
2. World Health Organization (WHO). Dengue: Guidelines for Diagnosis, Treatment, Prevention and Control: New Edition. Geneva: WHO; 2009. Available from: <http://www.who.int/trd/publications/documents/dengue-diagnosis.pdf>
3. Grange L, Simon-Loriere E, Sakuntabhai A, Gresh L, Paul R, Harris E. Epidemiological risk factors associated with high global frequency of inapparent dengue virus infections. *Front Immunol*. 2014;5:280. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2014.00280> PMID: 24966859
4. Duong V, Lambrechts L, Paul RE, Ly S, Lay RS, Long KC, et al. Asymptomatic humans transmit dengue virus to mosquitoes. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2015;112(47):14688-93. <https://doi.org/10.1073/pnas.1508114112> PMID: 26553981
5. Rigau-Pérez JG, Clark GG, Gubler DJ, Reiter P, Sanders EJ, Vorndam AV. Dengue and dengue haemorrhagic fever. *Lancet*. 1998;352(9132):971-7. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(97\)12483-7](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(97)12483-7) PMID: 9752834
6. Medlock JM, Hansford KM, Schaffner F, Versteir V, Hendrickx G, Zeller H, et al. A review of the invasive mosquitoes in Europe: ecology, public health risks, and control options. *Vector Borne Zoonotic Dis*. 2012;12(6):435-47. <https://doi.org/10.1089/vbz.2011.0814> PMID: 22448724
7. Liu-Helmersson J, Quam M, Wilder-Smith A, Stenlund H, Ebi K, Massad E, et al. Climate Change and Aedes Vectors: 21st Century Projections for Dengue Transmission in Europe. *EBioMedicine*. 2016;7:267-77. <https://doi.org/10.1016/j.ebiom.2016.03.046> PMID: 27322480
8. Delisle E, Rousseau C, Broche B, Leparç-Goffart I, L'Ambert G, Cochet A, et al. Chikungunya outbreak in Montpellier, France, September to October 2014. *Euro Surveill*. 2015;20(17):21108. <https://doi.org/10.2807/1560-7917.ES2015.20.17.21108> PMID: 25955774
9. Jupille H, Seixas G, Mousson L, Sousa CA, Failloux AB. Zika Virus, a New Threat for Europe? *PLoS Negl Trop Dis*. 2016;10(8):e0004901. <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0004901> PMID: 27505002
10. Rezza G, Nicoletti L, Angelini R, Romi R, Finarelli AC, Panning M, et al. CHIKV study group. Infection with chikungunya virus in Italy: an outbreak in a temperate region. *Lancet*. 2007;370(9602):1840-6. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(07\)61779-6](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(07)61779-6) PMID: 18061059
11. La Ruche G, Souarès Y, Armengaud A, Peloux-Petiot F, Delaunay P, Desprès P, et al. First two autochthonous dengue

- virus infections in metropolitan France, September 2010. *Euro Surveill.* 2010;15(39):19676. PMID: 20929659
12. Marchand E, Prat C, Jeannin C, Lafont E, Bergmann T, Flusin O, et al. Autochthonous case of dengue in France, October 2013. *Euro Surveill.* 2013;18(50):20661. <https://doi.org/10.2807/1560-7917.ES2013.18.50.20661> PMID: 24342514
 13. Giron S, Rizzi J, Leparc-Goffart I, Septfonds A, Tine R, Cadiou B, et al. (New occurrence of indigenous dengue cases in the Provence-Alpes-Côte d'Azur region, France, August-September 2014). Nouvelles apparitions de cas autochtones de dengue en région Provence-Alpes-Côte d'Azur, France, août-septembre 2014. *Bull Epidemiol Hebd (Paris).* 2015; (13-14):6.
 14. Succo T, Leparc-Goffart J, Ferré JB, Roiz D, Broche B, Maquart M, et al. Autochthonous dengue outbreak in Nîmes, South of France, July to September 2015. *Euro Surveill.* 2016;21(21):30240. <https://doi.org/10.2807/1560-7917.ES.2016.21.21.30240> PMID: 27254729
 15. Ministère des affaires sociales, de la santé et des droits des femmes, France. Instruction N° DGS/R1/2015/125 du 16 avril 2015 mettant à jour le guide relatif aux modalités de mise en oeuvre du plan anti-dissémination du chikungunya et de la dengue en métropole. [French Ministry of Social Affairs, Health and Women's Rights, France. Instruction N° DGS / R1 / 2015/125 of 16 April 2015 updating the implementation guide of the anti-dissemination plan for chikungunya and dengue fever in metropolitan France]. 2015. French. Available from: http://circulaire.legifrance.gouv.fr/pdf/2015/04/cir_39495.pdf
 16. D'Ortenzio E, Matheron S, Yazdanpanah Y, de Lamballerie X, Hubert B, Piorkowski G, et al. Evidence of Sexual Transmission of Zika Virus. *N Engl J Med.* 2016;374(22):2195-8. <https://doi.org/10.1056/NEJM1604449> PMID: 27074370
 17. The National Institute of Statistics and Economic Studies (Insee). Nomenclature des Profession et Catégories Socioprofessionnelles- PCS 2003. [Nomenclature of Occupation and Socio-professional Categories]. Paris: Insee. [Accessed 27 Feb 2017]. Available from: <https://www.insee.fr/fr/information/2400059>
 18. The National Institute of Statistics and Economic Studies (Insee). Ilots Regroupés pour l'Information Statistique (IRIS). Definition. [Aggregated geographical units for statistical information. Definition]. Paris: Insee. [Accessed 27 Feb 2017]. French. Available from: <https://www.insee.fr/fr/metadonnees/definition/c1523>
 19. Deville J-C, Särndal C-E, Sautory O. Generalized Raking Procedures in Survey Sampling. *J Am Stat Assoc.* 1993;88(423):1013-20. <https://doi.org/10.1080/01621459.1993.10476369>
 20. The National Institute of Statistics and Economic Studies (Insee). La macro SAS CALMAR. [The SAS CALMAR macro]. Paris: Insee. [Accessed 23 Feb 2017]. French. Available from: <https://www.insee.fr/fr/information/2021902>.
 21. Salje H, Cauchemez S, Alera MT, Rodríguez-Barraquer I, Thaisomboonsuk B, Srikiatkachorn A, et al. Reconstruction of 60 Years of Chikungunya Epidemiology in the Philippines Demonstrates Episodic and Focal Transmission. *J Infect Dis.* 2016;213(4):604-10. <https://doi.org/10.1093/infdis/jiv470> PMID: 26410592
 22. Radke EG, Gregory CJ, Kintziger KW, Sauber-Schatz EK, Hunsperger EA, Gallagher GR, et al. Dengue outbreak in Key West, Florida, USA, 2009. *Emerg Infect Dis.* 2012;18(1):135-7. <https://doi.org/10.3201/eid1801.110130> PMID: 22257471
 23. Brunkard JM, Robles López JL, Ramirez J, Cifuentes E, Rothenberg SJ, Hunsperger EA, et al. Dengue fever seroprevalence and risk factors, Texas-Mexico border, 2004. *Emerg Infect Dis.* 2007;13(10):1477-83. <https://doi.org/10.3201/eid1310.061586> PMID: 18257990
 24. Pem-Novosel I, Vilbic-Cavlek T, Gjenero-Margan I, Kaic B, Babic-Erceg A, Merdic E, et al. Dengue virus infection in Croatia: seroprevalence and entomological study. *New Microbiol.* 2015;38(1):97-100. PMID: 25821943
 25. Delaunay P, Hübiche T, Blanc V, Perrin Y, Marty P, Del Giudice P. [Aedes albopictus in metropolitan France]. *Ann Dermatol Venereol.* 2012;139(5):396-401; quiz 395, 402.
 26. Effler PV, Pang L, Kitsutani P, Vorndam V, Nakata M, Ayers T, et al. Dengue fever, Hawaii, 2001-2002. *Emerg Infect Dis.* 2005;11(5):742-9. <https://doi.org/10.3201/eid1105.041063> PMID: 15890132
 27. Paupy C, Ollomo B, Kamgang B, Moutailler S, Rousset D, Demanou M, et al. Comparative role of Aedes albopictus and Aedes aegypti in the emergence of Dengue and Chikungunya in central Africa. *Vector Borne Zoonotic Dis.* 2010;10(3):259-66. <https://doi.org/10.1089/vbz.2009.0005> PMID: 19725769
 28. Shen SQ, Wei HX, Fu YH, Zhang H, Mo QY, Wang XJ, et al. Multiple Sources of Infection and Potential Endemic Characteristics of the Large Outbreak of Dengue in Guangdong in 2014. *Sci Rep.* 2015;5(1):16913. <https://doi.org/10.1038/srep16913> PMID: 26593240
 29. Moi ML, Kobayashi D, Isawa H, Sasaki T, Saijo M, Kurane I, et al. Dengue Virus Isolation in Mosquito Aedes albopictus Captured During an Outbreak in Tokyo, 2014, by a Method Relying on Antibody-Dependent Enhancement Mechanism Using FcγR-Expressing BHK Cells. *Vector Borne Zoonotic Dis.* 2016;16(12):810-2. <https://doi.org/10.1089/vbz.2016.1982> PMID: 27911695
 30. Yoon IK, Getis A, Aldstadt J, Rothman AL, Tannitisupawong D, Koenraadt CJ, et al. Fine scale spatiotemporal clustering of dengue virus transmission in children and Aedes aegypti in rural Thai villages. *PLoS Negl Trop Dis.* 2012;6(7):e1730. <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0001730> PMID: 22816001
 31. Salje H, Lessler J, Endy TP, Curriero FC, Gibbons RV, Nisalak A, et al. Revealing the microscale spatial signature of dengue transmission and immunity in an urban population. *Proc Natl Acad Sci USA.* 2012;109(24):9535-8. <https://doi.org/10.1073/pnas.1120621109> PMID: 22645364
 32. Mammen MP, Pimgate C, Koenraadt CJ, Rothman AL, Aldstadt J, Nisalak A, et al. Spatial and temporal clustering of dengue virus transmission in Thai villages. *PLoS Med.* 2008;5(11):e205. <https://doi.org/10.1371/journal.pmed.0050205> PMID: 18986209
 33. Anderson KB, Gibbons RV, Cummings DA, Nisalak A, Green S, Libraty DH, et al. A shorter time interval between first and second dengue infections is associated with protection from clinical illness in a school-based cohort in Thailand. *J Infect Dis.* 2014;209(3):360-8. <https://doi.org/10.1093/infdis/jit436> PMID: 23964110
 34. Alera MT, Srikiatkachorn A, Velasco JM, Tac-AN IA, Lago CB, Clapham HE, et al. Incidence of Dengue Virus Infection in Adults and Children in a Prospective Longitudinal Cohort in the Philippines. *PLoS Negl Trop Dis.* 2016;10(2):e0004337. <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0004337> PMID: 26845762
 35. Charrel RN, de Lamballerie X, Durand JP, Gallian P, Attoui H, Biagini P, et al. Prevalence of antibody against West Nile virus in volunteer blood donors living in southeastern France. *Transfusion.* 2001;41(10):1320-1. <https://doi.org/10.1046/j.1537-2995.2001.41101320.x> PMID: 11606836

License and copyright

This is an open-access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution (CC BY 4.0) Licence. You may share and adapt the material, but must give appropriate credit to the source, provide a link to the licence, and indicate if changes were made.

This article is copyright of the authors, 2018.

Dengue serosurvey after a 2-month long outbreak in Nîmes, France, 2015: was there more than met the eye?

Supplementary material

This supplementary material is hosted by *Eurosurveillance* as supporting information alongside the article "Dengue serosurvey after a 2-month long outbreak in Nîmes, France, 2015: was there more than met the eye?" on behalf of the authors who remain responsible for the accuracy and appropriateness of the content. The same standards for ethics, copyright, attributions and permissions as for the article apply. *Eurosurveillance* is not responsible for the maintenance of any links or email addresses provided therein."

Spatial clustering of cases

We quantified spatial clustering at various distance ranges in the community (same household (0), >0-50, >50-100 and >100-200 meters) as the odds ratio (OR) of two cases living within a distance range relative to two non-infected individuals living within that distance range(1). The odds of two cases living within a specific distance range was calculated as the number of case pairs living within range/ number of case pairs living further apart. Likewise, the odds of two non-infected individuals living within that range was calculated as the number of non-case pairs living within range/ number of non-case pairs living further apart.

Statistical transmission model

We used a statistical model to infer the most likely transmission network, estimate the hazard of infection in the community and investigate spatial patterns in the infection hazard. Such models have been previously described in (2, 3).

The force of infection experienced by individual i at time t is

$$\lambda_i(t) = \sum_{j:t_j < t}^N \lambda_{j \rightarrow i}(t|x_j, x_i)$$

where the hazard that individual j infects individual i with disease onset on day d ($d > d_j$) at time t is

$$\lambda_{j \rightarrow i}(t|x_j, x_i) = \beta(x_i, x_j) \cdot f(t - t_i)$$

where $\beta(x_i, x_j)$ is the transmission rate between individual j and i , which in the simplest case is just the overall community transmission rate β . $f(t - t_i)$ is the probabilistic density of the serial interval, which is the distribution of the time between disease onset in a case and disease onset in generated cases.

We investigated two types of spatial dependency in infection hazard. First, we allowed for a change in the force of infection $\lambda_i(t)$ once a case occurred in the same household e.g., due to shared exposure to an infected mosquito already present in the house (co-primary infections). Second, we fitted a spatial distance kernel for changes in $\beta(x_i, x_j)$ based on a power law function and the geographic distance between individuals i and j .

For the within household increase, we allowed $\lambda_i(t)$ to change by Δ_λ once an individual developed disease in the same household

$$\lambda_i(t) = \sum_{j:t_j < t}^N \lambda_{j \rightarrow i}(t|x_j, x_i) + \Delta_\lambda$$

The increase in $\lambda_i(t)$ remained for a duration of d_λ days since a case in the household occurred. We fixed d_λ to 1, 2, 3 or 5 days and compared the model fit.

To investigate changes in the transmission rate by distance, we allowed $\beta(x_i, x_j)$ to vary by distance between individuals i and j using a power-law distance kernel $g(x_i, x_j)$ with kernel parameter α , the distance d_{ij} between individuals i and j in meters, and a maximum distance of 1000 meters

$$g(x_i, x_j) = \frac{1}{(1 + \frac{d_{ij}}{1000})^\alpha} \cdot A$$

where A is a correction factor that ensures that the kernel sums up to 1 over the maximum distance.

$$A = \frac{1 - \alpha}{1000 \cdot (2^{(1-\alpha)} - 1)}$$

$\beta(x_i, x_j)$ is then obtained by

$$\beta(x_i, x_j) = \beta \cdot g(x_i, x_j)$$

The effective reproduction number for individual j was calculated as

$$R_j = \sum_{i \neq j} \beta(x_i, x_j)$$

The probability of a household member being a co-primary case was calculated as

$$P_{co-primary} = 1 - \exp(-\Delta_\lambda \cdot d_\lambda)$$

We estimated model parameters based on a Markov chain Monte Carlo (MCMC) Bayesian framework. Parameters were updated using a Metropolis-Hastings algorithm that runs for 60,000 iterations with a burn-in of 10,000 iterations and every 10th sampled value is stored. Convergence was visually assessed. We provided parameter estimates as the posterior median and a 95% credible interval. Model comparison was done based on the Deviance Information Criterion (DIC).

Deriving the serial interval distribution

We estimated the serial interval distribution from the generation time distribution, which is comparable if onset of symptoms and onset of infectiousness in cases occurs simultaneously. The serial interval is defined as time between symptom onset in a case and symptom onset in generated cases and the generation time as time between infection of the case and infection of the generated case. To estimate the generation time distribution, we used information on different infection stages (incubation period, human to mosquito transmission, and mosquito infectiousness) as described in detail in (3). In brief, we used the following distributions to obtain an overall generation time distribution:

Human incubation period- We used a truncated exponential distribution with a mean incubation period duration of 3 days, a minimum duration of 1 day, and a maximum duration of 1 week.

Human to mosquito transmission- We assumed that symptoms appear simultaneously when individuals become viraemic. We used an exponential distribution with mean viraemia duration of 3 days and a maximum duration of 1 week.

Mosquito infectiousness- To estimate the duration of mosquito infectiousness we drew a mosquito lifespan from a truncated exponential distribution (mean 7.2 days, max 30 days). Subsequently we drew an age by which that mosquito was infected (random draw between 0 and the mosquito lifespan). We then drew the extrinsic incubation period from an exponential distribution with a mean of 2 days. The total mosquito infectiousness period was the mosquito lifespan minus the age of mosquito infection minus the extrinsic incubation period, where values <0 were considered as unsuccessful infections.

We then estimated the empirical serial interval distribution by simulating values for each transmission stage as explained above and weighted the probability of each generation time by the length of viraemia multiplied by the length of mosquito infectiousness to take into account that humans infectious for longer will infect more mosquitoes and mosquitoes infectious for longer will infect more individuals. The derived generation time distribution had a mean of 16 days and a variance of 40 days(4).

Estimated parameters from the transmission model

In the final model, we estimated the transmission rate β and the increase in the household force of infection once a case was observed Δ_λ assuming a serial interval distribution with a mean of 16 days and a variance of 40 days and a duration of force of infection increase of $d_\lambda=2$ (Model 1). The estimated parameters are provided in the Supplementary Table 1. When additionally including a distance kernel (Model 2), we did not find evidence for a decline in the transmission rate by geographic distance from a case. The estimated kernel parameter α was 6.5 (95%CI -6.2; 19.6), where $\alpha=0$ indicates an equal transmission rate at all distances and $\alpha<0$ an increase in the transmission rate by distance.

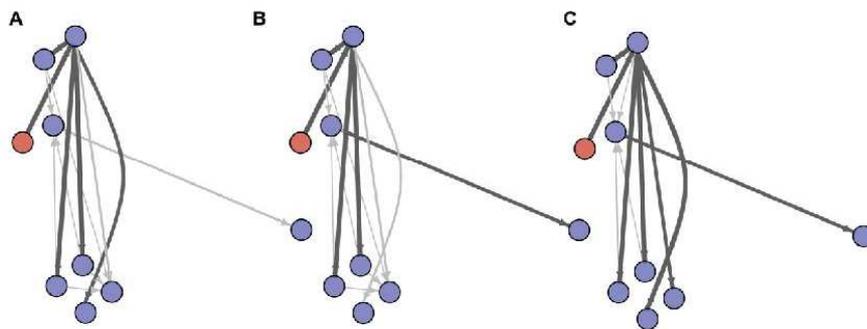
Estimated parameters	Model 1	Model 2
β (95% CI)	$1.3 \cdot 10^{-3}$ ($0.5 \cdot 10^{-3}$; $2.4 \cdot 10^{-3}$)	$1.0 \cdot 10^{-3}$ ($0.4 \cdot 10^{-3}$; $5.8 \cdot 10^{-3}$)

Δ_h (95% CI)	0.34 (8; 93)	0.33 (7; 93)
α (95% CI)	Not estimated	6.5 (-6.2; 19.6)
Calculated measures		
R (95% CI)	0.8 (0.3; 1.4)	0.6 (0.2; 3.4)
$P_{\text{co-primary}}$ % (95% CI)	49 (15; 84)	48 (14; 84)
DIC	167	168

Supplementary Table 1. Estimated transmission model parameters assuming a serial interval distribution with a mean of 16 days and a variance of 40 days and the duration of force of infection increase of $d_h=2$, dengue serosurvey, Nîmes, France, 2015. Model 1 estimated the transmission rate β and the increase in the household force of infection once a case was observed Δ_h ; Model 2 additionally included a distance kernel with parameter α .

Sensitivity analysis – Serial interval distribution

To explore whether results were robust to the assumed serial interval distribution, we reconstructed the transmission trees based on two alternative serial interval distributions: i) Weibull distributed with a mean of 14 days and variance of 40 days (Model 3), and ii) Weibull distributed with a mean of 17 days and variance of 37 days (Model 4). The transmission trees are shown in Supplementary Figure 1; estimated parameters are provided in the Supplementary Table 2.



Supplementary Figure 1. Comparing reconstructed transmission trees based on different serial interval distributions (A) mean 16 days and variance 40 days (Model 1), (B) mean 14 days and variance 40 days (Model 3), and (C) mean 17 days and variance 37 days (Model 4). Dengue serosurvey, Nîmes, France, 2015

Serial interval distribution	β (95% CI)	Δ_λ (95% CI)	DIC
Model 1 (mean 16 days; variance 40 days)	$1.3 \cdot 10^{-3}$ ($0.5 \cdot 10^{-3}$; $2.4 \cdot 10^{-3}$)	0.34 (8; 93)	167
Model 3 (mean 14 days; variance 40 days)	$1.3 \cdot 10^{-3}$ ($0.5 \cdot 10^{-3}$; $2.4 \cdot 10^{-3}$)	0.34 (8; 93)	167
Model 4 (mean 17 days; variance 37 days)	$1.3 \cdot 10^{-3}$ ($0.5 \cdot 10^{-3}$; $2.4 \cdot 10^{-3}$)	0.34 (8; 93)	166

Supplementary Table 2. Estimated transmission model parameters based on different assumed serial interval distributions and $d_\lambda=2$, dengue serosurvey, Nîmes, France, 2015.

Sensitivity analysis – Duration of household increase in the force of infection

We explored how different durations of d_λ affect the estimated change in the force of infection Δ_λ . The results of the sensitivity analysis are summarized in Supplementary Table 3. The models with $d_\lambda=1$ and $d_\lambda=2$ predicted best the observed proportion of co-primary cases among household members of cases of 40%.

d_λ (days)	Δ_λ (95% CI)	$P_{\text{co-primary}}$ % (95%CI)	DIC
1	0.37 (0.06; 1.27)	31 (6; 72)	181
2	0.34 (0.08; 0.93)	49 (15; 84)	167
3	0.25 (0.05; 0.68)	53 (14; 87)	169
5	0.16 (0.04; 0.43)	55 (18; 88)	171

Supplementary Table 3. Comparing models with different assumed durations of d_λ , dengue serosurvey, Nîmes, France, 2015

Sensitivity analysis- Case underreporting and survey participation

We further explored how the estimated effective reproduction number R may be affected by potential underreporting of cases and survey participation. We investigated two scenarios: i) Scenario 1 where 50% of all individuals (cases and non-cases) participated in the surveys (non-participating cases may have been missed) and ii) Scenario 2 where all cases were identified however only 50% of non-cases participated in the surveys. Therefore, we simulated DENV transmission using different parameter sets.

We first simulated DENV transmission among 1,084 individuals (twice the individuals included in the analysis dataset) with $\beta=1.1$ and a spatial kernel with $\alpha=40$ (median transmission distance of 20 meters) resulting in 24 cases. We subsequently i) randomly selected 50% of all individuals (survey scenario 1) or ii) selected all cases and only 50% of non-infected individuals (survey scenario 2). We then compared the reproduction number R of the index case calculated based on the true parameters (as used for the simulations) and

based on the estimated parameters. Based on true parameters, the reproduction number R of the index case was 0.5, in survey scenario 1 we estimated $R=0.6$ (95%CI 0.3; 1.1) and in survey scenario 2 $R=0.6$ (95%CI 0.4; 0.9). The kernel parameter α was slightly underestimated with a value of 30 (95%CI 19; 43) and 33 (95%CI 23; 45) for survey scenarios 1 and 2, respectively. For both simulated datasets, a significant spatial decline in the transmission rate was detected.

Second, we simulated DENV transmission among 1,084 individuals with $\beta=0.6$ and a spatial kernel with $\alpha=10$ (median transmission distance of 82 meters) resulting in 16 cases. Based on the parameters used for the simulation, the reproduction number R of the index case was 0.8; in survey scenario 1 we estimated $R=1.0$ (95%CI 0.4-1.9) and in survey scenario 2 $R=0.7$ (95%CI 0.4; 1.2). The estimated kernel parameter α was 1.6 (95%CI -8; 13) and 10 (95%CI 3; 18) in survey scenario 1 and 2, respectively. A significant spatial decline in the transmission rate was detected only for survey scenario 2 where all cases were detected. This seems to be mainly due to the number of cases, as when estimating α from a simulated dataset without omitting any individuals (592 individuals, $\beta=1.4$, $\alpha=10$, 10 cases), a significant spatial decline could also not be detected.

Asymptomatic cases

No asymptomatic dengue case was identified during the door-to-door surveys, while previous studies demonstrated that depending on the setting 20-94% of dengue cases did not develop symptoms (5). We estimated the maximum proportion of asymptomatic cases that would be consistent with the observation of zero asymptomatic cases out of the nine detected DENV cases. The number of asymptomatic DENV cases n follows a Binomial distribution $n \sim \text{Bin}(N, p_{as})$, where N is the number of total DENV cases and p_{as} the probability of a case being asymptomatic. We estimated the upper-bound of p_{as} that is consistent with the observation of nine symptomatic DENV and zero asymptomatic cases, based on a likelihood ratio test and a type 1 error $\alpha=5\%$. The upper bound for p_{as} lies between 19- 20%. If p_{as} was $>20\%$, it would be very unlikely that no asymptomatic cases occurred.

References

1. Salje H, Cauchemez S, Alera MT, Rodriguez-Barraquer I, Thaisomboonsuk B, Srikiatkachorn A, et al. Reconstruction of 60 Years of Chikungunya Epidemiology in the Philippines Demonstrates Episodic and Focal Transmission. *J Infect Dis.* 2016;213(4):604-10.
2. Cauchemez S, Donnelly CA, Reed C, Ghani AC, Fraser C, Kent CK, et al. Household transmission of 2009 pandemic influenza A (H1N1) virus in the United States. *N Engl J Med.* 2009;361(27):2619-27.
3. Salje H, Lessler J, Paul KK, Azman AS, Rahman MW, Rahman M, et al. How social structures, space, and behaviors shape the spread of infectious diseases using chikungunya as a case study. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2016;113(47):13420-5.

4. Aldstadt J, Yoon IK, Tannitisupawong D, Jarman RG, Thomas SJ, Gibbons RV, et al. Space-time analysis of hospitalised dengue patients in rural Thailand reveals important temporal intervals in the pattern of dengue virus transmission. *Trop Med Int Health*. 2012;17(9):1076-85.
5. Grange L, Simon-Loriere E, Sakuntabhai A, Gresh L, Paul R, Harris E. Epidemiological risk factors associated with high global frequency of inapparent dengue virus infections. *Front Immunol*. 2014;5:280.

Bibliographie

1. Bristol N. Obituary: William H. Stewart. *Lancet*. 2008(372):110p.
2. van Doorn HR. Emerging infectious diseases. *Medicine (Abingdon, England : UK ed)*. 2014;42(1):60-3.
3. Aminov RI. A brief history of the antibiotic era: lessons learned and challenges for the future. *Frontiers in microbiology*. 2010;1:134-.
4. Fenner F, Henderson DA, Arita I, Jezek Z, Ladnyi ID. *Smallpox and its eradication*: World Health Organization; 1988.
5. Spellberg B, Taylor-Blake B. On the exoneration of Dr. William H. Stewart: debunking an urban legend. *Infect Dis Poverty*. 2013;2(1):3.
6. Barre-Sinoussi F, Chermann JC, Rey F, Nugeyre MT, Chamaret S, Gruest J, et al. Isolation of a T-lymphotropic retrovirus from a patient at risk for acquired immune deficiency syndrome (AIDS). *Science*. 1983;220(4599):868-71.
7. Etienne L, Peeters M. Origine du VIH, une réussite émergente. *Virologie*. 2010;14(3):171-84.
8. Sousa JD, Müller V, Vandamme A-M. The epidemic emergence of HIV: what novel enabling factors were involved? *Future Virology*. 2017;12(11):685-707.
9. Millman AJ, Nelson NP, Vellozzi C. Hepatitis C: Review of the Epidemiology, Clinical Care, and Continued Challenges in the Direct Acting Antiviral Era. *Curr Epidemiol Rep*. 2017;4(2):174-85.
10. Gulland A. Zika virus is a global public health emergency, declares WHO. *BMJ*. 2016;352:i657.
11. Institute of Medicine Committee on Emerging Microbial Threats to H. In: Lederberg J, Shope RE, Oaks SC, Jr., editors. *Emerging Infections: Microbial Threats to Health in the United States*. Washington (DC): National Academies Press (US) Copyright 1992 by the National Academy of Sciences. All rights reserved.; 1992.
12. Morse SS. Factors in the emergence of infectious diseases. *Emerg Infect Dis*. 1995;1(1):7-15.
13. van Valen L. A new evolutionary law *Evolutionary Theory*. 1973;1:1-30.
14. Duffy S. Why are RNA virus mutation rates so damn high? *PLOS Biology*. 2018;16(8):e3000003.
15. USAID (U.S. Agency for International Development). Emerging pandemic threats 2016 [April 2019]. Available from: <https://www.usaid.gov/news-information/fact-sheets/emerging-pandemic-threats-program>.
16. Wolfe ND, Dunavan CP, Diamond J. Origins of major human infectious diseases. *Nature*. 2007;447(7142):279-83.
17. Cui JA, Chen F, Fan S. Effect of Intermediate Hosts on Emerging Zoonoses. *Vector Borne Zoonotic Dis*. 2017;17(8):599-609.
18. Report of the meeting of the WHO/VMI Workshop on Dengue modeling. Geneva: Immunization, Vaccines and Biologicals, World Health Organization; 2010.
19. Wilson AJ, Morgan ER, Booth M, Norman R, Perkins SE, Hauffe HC, et al. What is a vector? *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci*. 2017;372(1719).
20. Anderson RM, May RM. *Infectious Diseases of Humans: Dynamics and Control*: Oxford University Press; 1991.
21. Dabis F, Desenclos JC. *Epidémiologie de terrain : méthodes et applications*: Esher : John Libbey Eurotext; 2017.

22. Desenclos JC, Vaillant V, Delarocque Astagneau E, Campese C, Che D, Coignard B, et al. [Principles of an outbreak investigation in public health practice]. *Med Mal Infect.* 2007;37(2):77-94.
23. Morse SS, Mazet JA, Woolhouse M, Parrish CR, Carroll D, Karesh WB, et al. Prediction and prevention of the next pandemic zoonosis. *Lancet.* 2012;380(9857):1956-65.
24. Karesh WB, Dobson A, Lloyd-Smith JO, Lubroth J, Dixon MA, Bennett M, et al. Ecology of zoonoses: natural and unnatural histories. *Lancet.* 2012;380(9857):1936-45.
25. Holmes EC, Rambaut A, Andersen KG. Pandemics: spend on surveillance, not prediction. *Nature.* 2018;558(7709):180-2.
26. Fraser C, Riley S, Anderson RM, Ferguson NM. Factors that make an infectious disease outbreak controllable. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2004;101(16):6146-51.
27. Ten Bosch QA, Clapham HE, Lambrechts L, Duong V, Buchy P, Althouse BM, et al. Contributions from the silent majority dominate dengue virus transmission. *PLoS Pathog.* 2018;14(5):e1006965.
28. Institut de Veille Sanitaire. La veille et l'alerte sanitaires en France. Saint-Maurice, France: 2011.
29. Arrêté du 17 juin 1992, JORF n°140 du 18 juin 1992
30. Barboza P, Vaillant L, Le Strat Y, Hartley DM, Nelson NP, Mawudeku A, et al. Factors influencing performance of internet-based biosurveillance systems used in epidemic intelligence for early detection of infectious diseases outbreaks. *PLoS One.* 2014;9(3):e90536.
31. Paquet C, Daniel M, Knauper B, Gauvin L, Kestens Y, Dube L. Interactive effects of reward sensitivity and residential fast-food restaurant exposure on fast-food consumption. *Am J Clin Nutr.* 2010;91(3):771-6.
32. World Health Organization. International Health Regulations. Geneva, Switzerland: World Health Organization, 2005.
33. Weekly threats reports (Communicable disease threats reports) Solna, Sweden: European Centre for Disease Prevention and Control [16 April 2019]. Available from: <https://ecdc.europa.eu/en/threats-and-outbreaks/reports-and-data/weekly-threat>.
34. Madoff LC. ProMED-mail: an early warning system for emerging diseases. *Clin Infect Dis.* 2004;39(2):227-32.
35. Bijkerk P, Monnier AA, Fanoy EB, Kardamanidis K, Friesema IH, Knol MJ. ECDC Round Table Report and ProMed-mail most useful international information sources for the Netherlands Early Warning Committee. *Euro Surveill.* 2017;22(14).
36. Mykhalovskiy E, Weir L. The Global Public Health Intelligence Network and early warning outbreak detection: a Canadian contribution to global public health. *Canadian journal of public health = Revue canadienne de sante publique.* 2006;97(1):42-4.
37. Costello A, Dua T, Duran P, Gulmezoglu M, Oladapo OT, Perea W, et al. Defining the syndrome associated with congenital Zika virus infection. *Bull World Health Organ.* 2016;94(6):406-A.
38. Delfraissy JF, Yazdanpanah Y, Levy Y. REACTing: the French response to infectious disease crises. *Lancet.* 2016;387(10034):2183-5.
39. Fontanet A, Cao-Lormeau VM, Dub T, Mallet HP, Ghawche F. Association between Guillain-Barre syndrome and Zika virus infection - Authors' reply. *Lancet.* 2016;387(10038):2600.
40. Cauchemez S, Besnard M, Bompard P, Dub T, Guillemette-Artur P, Eyrolle-Guignot D, et al. Association between Zika virus and microcephaly in French Polynesia, 2013-15: a retrospective study. *Lancet.* 2016;387(10033):2125-32.
41. Hoen B, Schaub B, Funk AL, Ardillon V, Boullard M, Cabie A, et al. Pregnancy Outcomes after ZIKV Infection in French Territories in the Americas. *N Engl J Med.* 2018;378(11):985-94.
42. García G, Sierra B, Pérez AB, Aguirre E, Rosado I, Gonzalez N, et al. Asymptomatic dengue infection in a Cuban population confirms the protective role of the RR variant of the Fcγ₃ polymorphism. *Am J Trop Med Hyg.* 2010;82(6):1153-6.

43. Nakkhara P, Chongsuvivatwong V, Thammapalo S. Risk factors for symptomatic and asymptomatic chikungunya infection. *Transactions of The Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*. 2013;107(12):789-96.
44. Norman DC. Fever in the elderly. *Clin Infect Dis*. 2000;31(1):148-51.
45. Reich NG, Shrestha S, King AA, Rohani P, Lessler J, Kalayanarooj S, et al. Interactions between serotypes of dengue highlight epidemiological impact of cross-immunity. *J R Soc Interface*. 2013;10(86):20130414-.
46. Halstead SB, O'Rourke EJ. Dengue viruses and mononuclear phagocytes. I. Infection enhancement by non-neutralizing antibody. *J Exp Med*. 1977;146(1):201-17.
47. Manimunda SP, Sugunan AP, Rai SK, Vijayachari P, Shriram AN, Sharma S, et al. Short report: Outbreak of chikungunya fever, Dakshina Kannada District, South India, 2008. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*. 2010;83(4):751-4.
48. Endy TP, Anderson KB, Nisalak A, Yoon I-K, Green S, Rothman AL, et al. Determinants of inapparent and symptomatic dengue infection in a prospective study of primary school children in Kamphaeng Phet, Thailand. *PLoS neglected tropical diseases*. 2011;5(3):e975-e.
49. Balmaseda A, Standish K, Mercado JC, Matute JC, Tellez Y, Saborío S, et al. Trends in patterns of dengue transmission over 4 years in a pediatric cohort study in Nicaragua. *The Journal of infectious diseases*. 2010;201(1):5-14.
50. Wilson JM, Jungner YG. [Principles and practice of mass screening for disease]. *Bol Oficina Sanit Panam*. 1968;65(4):281-393.
51. Yoon IK, Alera MT, Lago CB, Tac-An IA, Villa D, Fernandez S, et al. High rate of subclinical chikungunya virus infection and association of neutralizing antibody with protection in a prospective cohort in the Philippines. *PLoS Negl Trop Dis*. 2015;9(5):e0003764.
52. Bustos Carrillo F, Collado D, Sanchez N, Ojeda S, Lopez Mercado B, Burger-Calderon R, et al. Epidemiological Evidence for Lineage-Specific Differences in the Risk of Inapparent Chikungunya Virus Infection. *J Virol*. 2019;93(4).
53. Memorial to Waldo R. Tobler (1930-2018): American Association of Geographers; [April 2019]. Available from: http://www.aag.org/cs/membership/tributes_memorials/sz/tobler_waldo.
54. Mammen MP, Pimgate C, Koenraad CJ, Rothman AL, Aldstadt J, Nisalak A, et al. Spatial and temporal clustering of dengue virus transmission in Thai villages. *PLoS Med*. 2008;5(11):e205.
55. Guzzetta G, Marques-Toledo CA, Rosa R, Teixeira M, Merler S. Quantifying the spatial spread of dengue in a non-endemic Brazilian metropolis via transmission chain reconstruction. *Nature communications*. 2018;9(1):2837.
56. Nsoesie EO, Ricketts RP, Brown HE, Fish D, Durham DP, Ndeffo Mbah ML, et al. Spatial and Temporal Clustering of Chikungunya Virus Transmission in Dominica. *PLoS Negl Trop Dis*. 2015;9(8):e0003977.
57. Salje H, Cauchemez S, Alera MT, Rodriguez-Barraquer I, Thaisomboonsuk B, Srikiatkachorn A, et al. Reconstruction of 60 Years of Chikungunya Epidemiology in the Philippines Demonstrates Episodic and Focal Transmission. *J Infect Dis*. 2016;213(4):604-10.
58. Salje H, Lessler J, Paul KK, Azman AS, Rahman MW, Rahman M, et al. How social structures, space, and behaviors shape the spread of infectious diseases using chikungunya as a case study. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2016;113(47):13420-5.
59. Cauchemez S, Donnelly CA, Reed C, Ghani AC, Fraser C, Kent CK, et al. Household transmission of 2009 pandemic influenza A (H1N1) virus in the United States. *N Engl J Med*. 2009;361(27):2619-27.
60. Kermack William O, McKendrick AG, Walker Gilbert T. A contribution to the mathematical theory of epidemics. *Proceedings of the Royal Society of London Series A, Containing Papers of a Mathematical and Physical Character*. 1927;115(772):700-21.
61. Sochacki T, Jourdain F, Perrin Y, Noel H, Paty M, de Valk H, et al. Imported chikungunya cases in an area newly colonized by *Aedes albopictus*: Mathematical assessment of the best public health strategy. *Eurosurveillance*. 2016;21(18).

62. Cunha RVD, Trinta KS. Chikungunya virus: clinical aspects and treatment - A Review. *Mem Inst Oswaldo Cruz*. 2017;112(8):523-31.
63. Borgherini G, Poubeau P, Jossaume A, Gouix A, Cotte L, Michault A, et al. Persistent arthralgia associated with chikungunya virus: a study of 88 adult patients on reunion island. *Clin Infect Dis*. 2008;47(4):469-75.
64. Gérardin P, Fianu A, Malvy D, Mussard C, Boussaïd K, Rollot O, et al. Perceived morbidity and community burden after a Chikungunya outbreak: the TELECHIK survey, a population-based cohort study. *BMC medicine*. 2011;9:5-.
65. Lumsden WH. An epidemic of virus disease in Southern Province, Tanganyika Territory, in 1952-53. II. General description and epidemiology. *TransRSocTropMedHyg*. 1955;49(1):33-57.
66. Weaver SC. Arrival of chikungunya virus in the new world: prospects for spread and impact on public health. *PLoS Negl Trop Dis*. 2014;8(6):e2921.
67. Weaver SC, Lecuit M. Chikungunya virus and the global spread of a mosquito-borne disease. *N Engl J Med*. 2015;372(13):1231-9.
68. Tsetsarkin KA, Weaver SC. Sequential adaptive mutations enhance efficient vector switching by chikungunya virus and its epidemic emergence. *PLoS Pathog*. 2011;7(12):e1002412.
69. Gay N, Rousset D, Huc P, Matheus S, Ledrans M, Rosine J, et al. Seroprevalence of Asian Lineage Chikungunya Virus Infection on Saint Martin Island, 7 Months After the 2013 Emergence. *Am J Trop Med Hyg*. 2016;94(2):393-6.
70. Appassakij H, Khuntikij P, Kemapunmanus M, Wutthanarungsan R, Silpapojakul K. Viremic profiles in asymptomatic and symptomatic chikungunya fever: a blood transfusion threat? *Transfusion*. 2012.
71. Paul SD, Singh KR. Experimental infection of *Macaca radiata* with Chikungunya virus and transmission of virus by mosquitoes. *Indian J Med Res*. 1968;56(6):802-11.
72. Calba C, Guerbois-Galla M, Franke F, Jeannin C, Auzet-Caillaud M, Grand G, et al. Preliminary report of an autochthonous chikungunya outbreak in France, July to September 2017. *Euro Surveill*. 2017;22(39).
73. Venturi G, Di Luca M, Fortuna C, Remoli ME, Riccardo F, Severini F, et al. Detection of a chikungunya outbreak in Central Italy, August to September 2017. *Euro Surveill*. 2017;22(39).
74. Manimunda SP, Sugunan AP, Rai SK, Vijayachari P, Shriram AN, Sharma S, et al. Outbreak of chikungunya fever, Dakshina Kannada District, South India, 2008. *Am J Trop Med Hyg*. 2010;83(4):751-4.
75. Samson D, Schoelles KM. AHRQ Methods for Effective Health Care Developing the Topic and Structuring Systematic Reviews of Medical Tests: Utility of PICOTS, Analytic Frameworks, Decision Trees, and Other Frameworks. In: Chang SM, Matchar DB, Smetana GW, Umscheid CA, editors. *Methods Guide for Medical Test Reviews*. Rockville (MD): Agency for Healthcare Research and Quality (US); 2012.
76. Sanchez J, Dohoo IR, Christensen J, Rajic A. Factors influencing the prevalence of *Salmonella* spp. in swine farms: a meta-analysis approach. *Prev Vet Med*. 2007;81(1-3):148-77.
77. Langan D, Higgins JPT, Jackson D, Bowden J, Veroniki AA, Kontopantelis E, et al. A comparison of heterogeneity variance estimators in simulated random-effects meta-analyses. *Res Synth Methods*. 2019;10(1):83-98.
78. Cochran WG. The combination of estimates from different experiments. *Biometrics*. 1954;10:101-29.
79. Higgins JP, Thompson SG, Deeks JJ, Altman DG. Measuring inconsistency in meta-analyses. *BMJ*. 2003;327(7414):557-60.
80. Higgins JPT, Green S. *Cochrane Handbook for Systematic Reviews of Interventions* Version 5.1.0 [updated March 2011]. Collaboration TC, editor 2011.
81. Thiberville SD, Moyon N, Dupuis-Maguiraga L, Nougairede A, Gould EA, Roques P, et al. Chikungunya fever: epidemiology, clinical syndrome, pathogenesis and therapy. *Antiviral Res*. 2013;99(3):345-70.

82. Staples JE, Breiman RF, Powers AM. Chikungunya fever: an epidemiological review of a re-emerging infectious disease. *Clin Infect Dis*. 2009;49(6):942-8.
83. Yactayo S, Staples JE, Millot V, Cibrelus L, Ramon-Pardo P. Epidemiology of Chikungunya in the Americas. *J Infect Dis*. 2016;214(suppl 5):S441-S5.
84. Ganesan VK, Duan B, Reid SP. Chikungunya Virus: Pathophysiology, Mechanism, and Modeling. *Viruses*. 2017;9(12).
85. Chastel C. [Asymptomatic infections in man: a Trojan horse for the introduction and spread of mosquito-borne arboviruses in non-endemic areas?]. *Bull Soc Pathol Exot*. 2011;104(3):213-9.
86. Leo YS, Chow AL, Tan LK, Lye DC, Lin L, Ng LC. Chikungunya outbreak, Singapore, 2008. *Emerg Infect Dis*. 2009;15(5):836-7.
87. Stewart-Ibarra AM, Ryan SJ, Kenneson A, King CA, Abbott M, Barbachano-Guerrero A, et al. The burden of dengue fever and chikungunya in southern coastal Ecuador: Epidemiology, clinical presentation, and phylogenetics from the first two years of a prospective study. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*. 2018;98(5):1444-59.
88. Sergon K, Njuguna C, Kalani R, Ofula V, Onyango C, Konongoi LS, et al. Seroprevalence of Chikungunya virus (CHIKV) infection on Lamu Island, Kenya, October 2004. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*. 2008;78(2):333-7.
89. Queyriaux B, Simon F, Oliver M, Boutin JP. Chikungunya and other arboviruses in tropical areas. *Medecine Tropicale*. 2008;68(5):478-81.
90. Gay N, Rousset D, Huc P, Matheus S, Ledrans M, Rosine J, et al. Seroprevalence of Asian lineage chikungunya virus infection on Saint Martin Island, 7 months after the 2013 emergence. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*. 2016;94(2):393-6.
91. Retuya TJA, Ting DL, Dacula BD, Lanada JM, Roque V, Hugo CT, et al. Chikungunya Fever Outbreak in an Agricultural Village in Indang, Cavite, Philippines. *Phil J Microbiol Infect Dis*. 1998;27(3):93-6.
92. Naveca FG, Claro I, Giovanetti M, de Jesus JG, Xavier J, Iani FCM, et al. Genomic, epidemiological and digital surveillance of Chikungunya virus in the Brazilian Amazon. *PLoS Negl Trop Dis*. 2019;13(3):e0007065.
93. Tsetsarkin KA, Chen R, Sherman MB, Weaver SC. Chikungunya virus: Evolution and genetic determinants of emergence. *Current Opinion in Virology*. 2011;1(4):310-7.
94. Ministerio del Poder Ciudadano para la Salud de N. Seroprevalencia y tasa de ataque clínica por chikungunya en Nicaragua, 2014-2015. *Rev panam salud pública*. 2017;41:e59-e.
95. Aubry M, Teissier A, Huart M, Merceron S, Vanhomwegen J, Mapotoeke M, et al. Seroprevalence of dengue and chikungunya virus antibodies, French Polynesia, 2014–2015. *Emerging Infectious Diseases*. 2018;24(3):558-61.
96. Ayu SM, Lai LR, Chan YF, Hatim A, Hairi NN, Ayob A, et al. Seroprevalence survey of Chikungunya virus in Bagan Panchor, Malaysia. *Am J Trop Med Hyg*. 2010;83(6):1245-8.
97. Bloch D, Roth NM, Caraballo EV, Munoz-Jordan J, Hunsperger E, Rivera A, et al. Use of Household Cluster Investigations to Identify Factors Associated with Chikungunya Virus Infection and Frequency of Case Reporting in Puerto Rico. *PLoS Negl Trop Dis*. 2016;10(10):e0005075.
98. Cortes-Escamilla A, Lopez-Gatell H, Sanchez-Aleman MA, Hegewisch-Taylor J, Hernandez-Avila M, Alpuche-Aranda CM. The hidden burden of Chikungunya in central Mexico: results of a small-scale serosurvey. *Salud publica de Mexico*. 2018;60(1):63-70.
99. Cunha RV, Trinta KS, Montalbano CA, Sucupira MV, de Lima MM, Marques E, et al. Seroprevalence of Chikungunya Virus in a Rural Community in Brazil. *PLoS Negl Trop Dis*. 2017;11(1):e0005319.
100. Cunha MS, Cruz NVG, Schnellrath LC, Medaglia MLG, Casotto ME, Albano RM, et al. Autochthonous Transmission of East/Central/South African Genotype Chikungunya Virus, Brazil. *Emerg Infect Dis*. 2017;23(10):1737-9.
101. Dias JP, Costa MCN, Campos GS, Paixão ES, Natividade MS, Barreto FR, et al. Seroprevalence of Chikungunya virus in 2 urban areas of Brazil 1 year after emergence. *Emerging Infectious Diseases*. 2018;24(4):617-24.

102. Galatas B, Ly S, Duong V, Baisley K, Nguon K, Chan S, et al. Long-Lasting Immune Protection and Other Epidemiological Findings after Chikungunya Emergence in a Cambodian Rural Community, April 2012. *PLoS Negl Trop Dis*. 2016;10(1):e0004281.
103. Gerardin P, Guernier V, Perrau J, Fianu A, Le RK, Grivard P, et al. Estimating Chikungunya prevalence in La Reunion Island outbreak by serosurveys: two methods for two critical times of the epidemic. *BMC Infect Dis*. 2008;8:99.
104. Gordon A, Gresh L, Ojeda S, Chowell G, Gonzalez K, Sanchez N, et al. Differences in Transmission and Disease Severity Between 2 Successive Waves of Chikungunya. *Clin Infect Dis*. 2018;67(11):1760-7.
105. Hennessey MJ, Ellis EM, Delorey MJ, Panella AJ, Kosoy OI, Kirking HL, et al. Seroprevalence and Symptomatic Attack Rate of Chikungunya Virus Infection, United States Virgin Islands, 2014-2015. *Am J Trop Med Hyg*. 2018;99(5):1321-6.
106. Kuan G, Ramirez S, Gresh L, Ojeda S, Melendez M, Sanchez N, et al. Seroprevalence of Anti-Chikungunya Virus Antibodies in Children and Adults in Managua, Nicaragua, After the First Chikungunya Epidemic, 2014-2015. *PLoS Neglected Tropical Diseases*. 2016;10(6).
107. Kumar NP, Suresh A, Vanamail P, Sabesan S, Krishnamoorthy KG, Mathew J, et al. Chikungunya virus outbreak in Kerala, India, 2007: a seroprevalence study. *MemInstOswaldo Cruz*. 2011;106(8):912-6.
108. Moro ML, Gagliotti C, Silvi G, Angelini R, Sambri V, Rezza G, et al. Chikungunya virus in North-Eastern Italy: a seroprevalence survey. *AmJ Trop MedHyg*. 2010;82(3):508-11.
109. Schwarz NG, Girmann M, Randriamampionona N, Bialonski A, Maus D, Krefis AC, et al. Seroprevalence of antibodies against chikungunya, dengue, and Rift Valley fever viruses after febrile illness outbreak, Madagascar. *Emerging Infectious Diseases*. 2012;18(11):1780-6.
110. Sergon K, Yahaya AA, Brown J, Bedja SA, Mlindasse M, Agata N, et al. Seroprevalence of Chikungunya virus infection on Grande Comore Island, Union of the Comoros, 2005. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*. 2007;76(6):1189-93.
111. Sissoko D, Moendandze A, Malvy D, Giry C, Ezzedine K, Solet JL, et al. Seroprevalence and risk factors of Chikungunya virus infection in Mayotte, Indian Ocean, 2005-2006: A population- based survey. *PLoS ONE*. 2008;3(8).
112. Srikiatkachorn A, Alera MT, Lago CB, Tac-An IA, Villa D, Fernandez S, et al. Resolution of a Chikungunya outbreak in a prospective Cohort, Cebu, Philippines, 2012–2014. *Emerging Infectious Diseases*. 2016;22(10):1852-4.
113. Succo T, Noel H, Nikolay B, Maquart M, Cochet A, Leparc-Goffart I, et al. Dengue serosurvey after a 2-month long outbreak in Nimes, France, 2015: was there more than met the eye? *Euro Surveill*. 2018;23(23).
114. Succo T, Leparc-Goffart I, Ferre JB, Roiz D, Broche B, Maquart M, et al. Autochthonous dengue outbreak in Nimes, South of France, July to September 2015. *Euro Surveill*. 2016;21(21).
115. Grange L, Simon-Lorriere E, Sakuntabhai A, Gresh L, Paul R, Harris E. Epidemiological risk factors associated with high global frequency of inapparent dengue virus infections. *Front Immunol*. 2014;5:280.
116. Radke EG, Gregory CJ, Kintziger KW, Sauber-Schatz EK, Hunsperger EA, Gallagher GR, et al. Dengue Outbreak in Key West, Florida, USA, 2009. *Emerg Infect Dis*. 2012;18(1):135-7.
117. Brunkard JM, Robles Lopez JL, Ramirez J, Cifuentes E, Rothenberg SJ, Hunsperger EA, et al. Dengue fever seroprevalence and risk factors, Texas-Mexico border, 2004. *EmergInfect Dis*. 2007;13(10):1477-83.
118. Pem-Novosel I, Vilibic-Cavlek T, Gjenero-Margan I, Kaic B, Babic-Erceg A, Merdic E, et al. Dengue virus infection in Croatia: seroprevalence and entomological study. *New Microbiol*. 2015;38(1):97-100.
119. Marini F, Caputo B, Pombi M, Tarsitani G, Della TA. Study of *Aedes albopictus* dispersal in Rome, Italy, using sticky traps in mark-release-recapture experiments. *MedVetEntomol*. 2010;24(4):361-8.

120. Valerio L, Marini F, Bongiorno G, Facchinelli L, Pombi M, Caputo B, et al. Blood-feeding preferences of *Aedes albopictus* (Diptera: Culicidae) in urban and rural settings within the province of Rome, Italy. *Parassitologia*. 2008;50(1-2):103-4.
121. Anderson KB, Gibbons RV, Cummings DA, Nisalak A, Green S, Libraty DH, et al. A shorter time interval between first and second dengue infections is associated with protection from clinical illness in a school-based cohort in Thailand. *J Infect Dis*. 2014;209(3):360-8.
122. Alera MT, Srikiatkachorn A, Velasco JM, Tac-An IA, Lago CB, Clapham HE, et al. Incidence of Dengue Virus Infection in Adults and Children in a Prospective Longitudinal Cohort in the Philippines. *PLoS Negl Trop Dis*. 2016;10(2):e0004337.
123. Kobayashi D, Murota K, Fujita R, Itokawa K, Kotaki A, Moi ML, et al. Dengue Virus Infection in *Aedes albopictus* during the 2014 Autochthonous Dengue Outbreak in Tokyo Metropolis, Japan. *Am J Trop Med Hyg*. 2018;98(5):1460-8.
124. Noel H, Ruello M, Maccary A, Pelat C, Sommen C, Boissier J, et al. Large outbreak of urogenital schistosomiasis acquired in Southern Corsica, France: monitoring early signs of endemicization? *Clin Microbiol Infect*. 2018;24(3):295-300.
125. Gryseels B, Polman K, Clerinx J, Kestens L. Human schistosomiasis. *Lancet*. 2006;368(9541):1106-18.
126. King CH. It's time to dispel the myth of "asymptomatic" schistosomiasis. *PLoS Negl Trop Dis*. 2015;9(2):e0003504.
127. Gretillat S. [Epidemiology of Certain Trematode Diseases of Domestic Animals in Corsica (Bovine Bilharziosis and Bovine and Ovine Distomiasis). Observations Conducted during a Mission Accomplished during the Autumn of 1962]. *Ann Parasitol Hum Comp*. 1963;38:471-81.
128. Doby JM, Rault B, Deblock S, Chabaud A. [Snails and bilharziasis in Corsica. Distribution, frequency and biology of "*Bulinus truncatus*".] *Ann Parasitol Hum Comp*. 1966;41(4):337-49.
129. Martín VR. Contribución al estudio epizootiológico de la esquistosomiasis bovina ("*Schistosoma bovis*") en la provincia de Salamanca. *An Fac Vet León*. 1972(18):151-214.
130. Fraga de Azevedo J, da Silva JB, Coito AM, Coelho MF, Colaco AT. [Portuguese focus of schistosomiasis]. *An Inst Med Trop (Lisb)*. 1948(5):47.
131. Sadun EH. Intradermal and fluorescent antibody tests on humans exposed to *Schistosoma bovis cercariae* from Sardinia. *Bull World Health Organ*. 1962;27:810-4.
132. Berry A, Moné H, Iriart X, Mouahid G, Abbo O, Boissier J, et al. Schistosomiasis haematobium, Corsica, France. *Emerg Infect Dis*. 2014.
133. Holtfreter M, Mone H, Muller-Stover I, Mouahid G, Richter J. *Schistosoma haematobium* infections acquired in Corsica, France, August 2013. *Euro Surveill*. 2014;19(22).
134. Boissier J, Grech-Angelini S, Webster BL, Allienne JF, Huyse T, Mas-Coma S, et al. Outbreak of urogenital schistosomiasis in Corsica (France): an epidemiological case study. *Lancet Infect Dis*. 2016;16(8):971-9.
135. Haut Conseil de la Santé Publique. relatif au dépistage et au traitement des infections à *Schistosoma haematobium*. 2014 04/23/2014. Report No.
136. Liboschik T, Fokianos K, Fried R. tscount: An R package for analysis of count time series following generalized linear models. *Journal of Statistical Software*. 2016.
137. Mone H, Holtfreter MC, Allienne JF, Mintsá-Nguema R, Ibikounle M, Boissier J, et al. Introgressive hybridizations of *Schistosoma haematobium* by *Schistosoma bovis* at the origin of the first case report of schistosomiasis in Corsica (France, Europe). *Parasitol Res*. 2015;114(11):4127-33.
138. Khalaf I, Shokeir A, Shalaby M. Urologic complications of genitourinary schistosomiasis. *World journal of urology*. 2012;30(1):31-8.
139. Berry A, Fillaux J, Martin-Blondel G, Boissier J, Iriart X, Marchou B, et al. Evidence for a permanent presence of schistosomiasis in Corsica, France, 2015. *Euro Surveill*. 2016;21(1).
140. Ramalli L, Mulero S, Noel H, Chiappini JD, Vincent J, Barre-Cardi H, et al. Persistence of schistosomal transmission linked to the Cavu river in southern Corsica since 2013. *Euro Surveill*. 2018;23(4).

141. Beltrame A, Zammarchi L, Zuglian G, Gobbi F, Angheben A, Marchese V, et al. Schistosomiasis Screening of Travelers from Italy with Possible Exposure in Corsica, France. *Emerg Infect Dis.* 2015;21(10):1887-9.
142. Berry A, Paris L, Boissier J, Caumes E. Schistosomiasis Screening of Travelers to Corsica, France. *Emerg Infect Dis.* 2016;22(1):159.
143. Agence nationale de sécurité sanitaire de l'alimentation de l'environnement et du travail. AVIS de l'Anses relatif aux "critères de levée d'interdiction et d'autorisation de la baignade dans la rivière du Cavu (Corse du Sud) suite à la survenue de cas de bilharziose uro-génitale" 2015.
144. Haut Conseil de la Santé Publique. relatif au dépistage de la bilharziose urogénitale dans les populations fréquentant les cours d'eau Cavu et Solenzara en Corse-du-Sud. 2019 02/28/2019. Report No.
145. Fonteneau L, Le Meur N, Cohen-Akenine A, Pessel C, Brouard C, Delon F, et al. Apport des bases médico-administratives en épidémiologie et santé publique des maladies infectieuses. *Revue d'Épidémiologie et de Santé Publique.* 2017;65:S174-S82.
146. von Elm E, Altman DG, Egger M, Pocock SJ, Gøtzsche PC, Vandenbroucke JP, et al. The Strengthening of Reporting of Observational Studies in Epidemiology (STROBE) statement: guidelines for reporting observational studies. *Bull World Health Organ.* 2007;85(11):867-72.
147. World Health Organization. Investing to overcome the global impact of neglected tropical diseases-Third WHO report on neglected tropical diseases. 2015. Available from:
http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/152781/1/9789241564861_eng.pdf?ua=1.
148. Carroll D, Watson B, Togami E, Daszak P, Mazet JA, Chrisman CJ, et al. Building a global atlas of zoonotic viruses. *Bull World Health Organ.* 2018;96(4):292-4.
149. Yong E. Science: Is It Possible to Predict the Next Pandemic? *The Atlantic.* 2017.

Titre : L'investigation d'épidémies comme source d'acquisition réactive de connaissances pour la maîtrise de la diffusion des maladies infectieuses émergentes vectorielles.

Mots clés : Infections émergentes ; Investigation d'épidémies ; Santé publique fondée sur la preuve

Résumé : Le chikungunya, la dengue et la bilharziose urogénitale sont des maladies vectorielles émergentes qui ont récemment trouvé des conditions favorables à leur transmission en France métropolitaine.

Santé publique France, l'Agence en charge de la surveillance de l'état de santé de la population française est en première ligne pour détecter et investiguer ces émergences afin d'orienter les mesures de leur prévention et de leur contrôle.

Postulant que chaque épidémie constitue une situation d'« expérimentation naturelle », l'objectif de cette thèse était de montrer comment chaque investigation d'épidémie apporte l'opportunité d'acquérir des connaissances scientifiques sur la contribution des cas asymptomatiques à l'introduction, la dissémination et l'endémisation des maladies vectorielles de façon réactive.

Notre méta-analyse d'études de séroprévalence per- et post-épidémiques suggère que,

contrairement à nos attentes, la lignée de virus chikungunya qui a émergé en 2004 dans l'Océan Indien était associée moins d'infections asymptomatiques que les autres. Dans une étude de séroprévalence de la dengue à Nîmes en 2015, nous avons montré que le potentiel de diffusion de la dengue en France restait actuellement limité. Les données du dépistage des personnes exposées au risque de bilharziose urogénitale en Corse montrant une fréquence élevée d'infections pré-symptomatiques, nous avons évoqué un risque d'endémisation de la maladie qui a justifié son inscription sur la liste des maladies à déclaration obligatoire.

Ce travail de thèse démontre qu'une approche pragmatique basée sur une veille sanitaire sensible associée à des investigations épidémiologiques de terrain précoces peut contribuer aussi bien à la lutte contre les émergences qu'à l'évolution des connaissances.

Title: Outbreak investigation as a source of reactive acquisition of knowledge for the control of the spread of emerging infectious vectorborne diseases.

Keywords : Emerging infectious diseases, Outbreak investigation, Evidence-based public Health

Abstract: Conditions recently proved favourable to transmission of emerging vector-borne diseases, chikungunya, dengue and urogenital schistosomiasis in mainland France.

Santé publique France, the Agency in charge of public health surveillance in France is at the forefront of detecting and investigating emerging infectious disease in order to guide prevention and control measures. Assuming that each outbreak constitutes a situation of "natural experimentation", the aim of this thesis was to show how outbreak investigations give the opportunity to acquire rapidly scientific knowledge on the contribution of asymptomatic cases to the introduction, dissemination and endemisation of vector-borne diseases.

Through a meta-analysis of per and post-epidemic seroprevalence studies,

we have shown that the chikungunya virus lineage that emerged in the Indian Ocean in 2004 is associated with a lower frequency of asymptomatic infections. In a dengue serosurvey in Nîmes in 2015, we showed that the diffusion potential of dengue in France is currently limited. Screening data of urogenital schistosomiasis in persons exposed in Corsica showed a high frequency of pre-symptomatic infections suggestive of a risk of endemisation of the disease that justified its inclusion on the list of mandatory notifiable diseases.

This thesis work shows that a pragmatic approach based on sensitive surveillance associated with early field outbreak investigations can significantly contribute to both emerging infections control and the advancement of knowledge.

