

Évaluation de l'efficacité des larvicides contre les espèces vectrices du virus du Nil occidental

RAPPORT D'ÉVALUATION

AUTEURS

Céline Campagna, Ph. D., chercheuse d'établissement
Onil Samuel, B. Sc., expert et conseiller scientifique
Marjolaine Dubé, B. Sc., statisticienne
Germain Lebel, M. A., M. Sc., conseiller scientifique
Steve Toutant, M. Sc., agent de planification, de programmation et de recherche
Direction de la santé environnementale et de la toxicologie

SOUS LA COORDINATION DE

Céline Campagna, Ph. D., chercheuse d'établissement
Direction de la santé environnementale et de la toxicologie

AVEC LA COLLABORATION DE

Richard Trudel, Ph. D., chargé de projet
Société de protection des forêts contre les insectes et les maladies (SOPFIM)

REVISION SCIENTIFIQUE

Marie-Eve Turcotte, conseillère scientifique
Direction des risques biologiques et de la santé au travail
Sonia Jean, chercheuse
Denis Hamel, statisticien
Bureau d'information et d'études en santé des populations

RÉVISION ET MISE EN PAGE

Véronique Paquet, agente administrative
Direction de la santé environnementale et de la toxicologie

REMERCIEMENTS

Cette étude a été commandée et financée par le ministère de la Santé et des Services sociaux (MSSS) dans le cadre du Plan d'intervention gouvernemental 2013-2015 pour la protection de la population contre le virus du Nil occidental (VNO). Les auteurs remercient Stéphanie Jodoin, chargée de projet VNO pour le MSSS, pour sa précieuse collaboration tout au long de l'étude. Les auteurs tiennent également à remercier le personnel technique et professionnel impliqué dans l'application de larvicides (SOPFIM, Conseillers forestiers Roy), dans la récolte et le dénombrement des moustiques (GDG Environnement), ainsi que dans l'analyse des moustiques (Laboratoire de santé publique du Québec). Les auteurs remercient également les services de l'environnement des villes de Montréal, de Laval et de Longueuil pour leur collaboration et le partage des données de puisards de rue. Les auteurs souhaitent remercier Marion Ripoche, Patrick Leighton, Antoinette Ludwig et Nicholas Ogden de l'Université de Montréal pour leurs précieux commentaires.

Ce document est disponible intégralement en format électronique (PDF) sur le site Web de l'Institut national de santé publique du Québec au : <http://www.inspq.qc.ca>.

Les reproductions à des fins d'étude privée ou de recherche sont autorisées en vertu de l'article 29 de la Loi sur le droit d'auteur. Toute autre utilisation doit faire l'objet d'une autorisation du gouvernement du Québec qui détient les droits exclusifs de propriété intellectuelle sur ce document. Cette autorisation peut être obtenue en formulant une demande au guichet central du Service de la gestion des droits d'auteur des Publications du Québec à l'aide d'un formulaire en ligne accessible à l'adresse suivante : <http://www.droitauteur.gouv.qc.ca/autorisation.php>, ou en écrivant un courriel à : droit.auteur@cspq.gouv.qc.ca.

Les données contenues dans le document peuvent être citées, à condition d'en mentionner la source.

Dépôt légal – 4^e trimestre 2018
Bibliothèque et Archives nationales du Québec
ISBN : 978-2-550-82416-9 (PDF)

© Gouvernement du Québec (2018)

Table des matières

Liste des illustrations	II
Liste des sigles et acronymes	III
Messages clés	1
Sommaire	1
1 Contexte	3
1.1 Cycle de transmission du VNO.....	3
1.2 État des connaissances sur l'efficacité des larvicides	4
1.2.1 Connaissances générales	4
1.2.2 L'expérience du Québec.....	4
1.3 Influence des facteurs météorologiques et environnementaux sur la transmission du VNO	4
2 Objectif	6
3 Méthodologie	6
3.1 Approche méthodologique	6
3.1.1 Périodes et territoires à l'étude.....	6
3.1.2 Traitements par larvicides.....	6
3.1.3 Sélection des parcelles à l'étude	6
3.1.4 Localisation des stations entomologiques	7
3.2 Collecte de données	8
3.2.1 Échantillonnage.....	8
3.2.2 Dénombrement et identification des moustiques.....	8
3.2.3 Détermination du statut infectieux.....	8
3.3 Analyses statistiques	8
3.3.1 Mesures entomologiques.....	9
3.3.2 Analyses de variance de l'abondance	10
3.3.3 Analyses de régression logistique sur le statut infectieux (> 0 vs 0).....	10
3.3.4 Analyses de sensibilité.....	11
4 Résultats	12
4.1 Abondance des <i>C. pipiens/restuans</i>	12
4.2 Abondance des <i>A. vexans</i>	12
4.3 Indice vectoriel des <i>C. pipiens/restuans</i>	15
4.4 Analyses de sensibilité.....	16
4.5 Portée et limites de la recherche	17
5 Principaux constats	18
6 Références	19

Liste des illustrations

Tableaux

Tableau 1	Facteurs environnementaux favorisant la transmission du VNO à l'humain et exemples d'indicateurs disponibles	5
Tableau 2	Catégorisation de l'environnement des parcelles	6
Tableau 3	Distribution des parcelles par catégories environnementales et traitement	7
Tableau 4	Description des pools de moustiques reçus et analysés pour l'infection au VNO, selon l'espèce	15
Tableau 5	Influence du traitement sur l'indice vectoriel (> 0 vs 0) des <i>C. pipiens/restuans</i>	16
Tableau 6	Effet de la catégorie environnementale sur l'indice vectoriel de <i>Culex pipiens/restuans</i>	16

Figures

Figure 1	Abondance moyenne des <i>C. pipiens/restuans</i> en fonction du traitement	12
Figure 2	Abondance moyenne en <i>C. pipiens/restuans</i> en fonction du traitement et de la catégorie environnementale	13
Figure 3	Abondance moyenne en <i>A. vexans</i> en fonction du traitement	14
Figure 4	Abondance moyenne en <i>A. vexans</i> en fonction du traitement et de la catégorie environnementale	14
Figure 5	Indice vectoriel moyen des <i>C. pipiens/restuans</i> en fonction du traitement	15

Cartes

Carte 1	Représentation cartographique du site expérimental de l'évaluation de 2014	7
Carte 2	Localisation de la station <i>HUB100</i>	9
Carte 3	Localisation des stations entomologiques situées en zone de traitement contre la nuisance de la ville de Laval	11

Liste des sigles et acronymes

ANOVA	Analyse de variance (<i>analysis of variance</i>)
ARMA	Covariance à moyenne mobile autorégressive (<i>autoregressive moving average</i>)
<i>A. vexans</i>	<i>Aedes vexans</i>
<i>Bsph</i>	<i>Bacillus sphaericus</i>
<i>Bti</i>	<i>Bacillus thuringiensis var. israelensis</i>
CDC	Centers for Disease Control and Prevention
CERFO	Centre d'enseignement et de recherche en foresterie
<i>C. pipiens/restuans</i>	Regroupement des moustiques des genres <i>Culex pipiens</i> et <i>Culex restuans</i>
INSPQ	Institut national de santé publique du Québec
LSPQ	Laboratoire de santé publique du Québec
MLE	Estimateur du maximum de vraisemblance (<i>maximum likelihood estimation</i>)
MSSS	Ministère de la Santé et des Services sociaux
NDVI	Indice de végétation par différence normalisé
RT-PCR	Réaction en chaîne par polymérase après transcription inverse (<i>reverse transcription polymerase chain reaction</i>)
SOPFIM	Société de protection des forêts contre les insectes et les maladies
TI	Taux d'infection
TIM	Taux d'infection minimum
VNO	Virus du Nil occidental

Messages clés

- À l'été 2014, le ministère de la Santé et des Services sociaux a effectué des activités d'épandage de larvicides dans le but d'évaluer leur efficacité à réduire l'abondance des moustiques vecteurs du virus du Nil occidental (VNO) et leur taux d'infection. L'Institut national de santé publique du Québec a été mandaté pour mener cette évaluation.
- L'été 2014 s'est révélé une saison relativement calme quant à l'abondance des moustiques collectés et l'infection des moustiques vecteurs du VNO. En effet, l'abondance moyenne des moustiques du genre *Culex pipiens* et *Culex restuans* était deux à trois fois plus faible en 2014 qu'en 2013. Ainsi, les résultats de cette étude ne peuvent pas être extrapolés pour prédire l'efficacité des larvicides lors d'une saison à plus forte activité zoonotique du VNO.
- Le traitement des gîtes naturels et artificiels par larvicides a réduit d'environ 23 % l'abondance moyenne par semaine de *Culex pipiens/restuans*, principal genre de moustique vecteur du VNO au Québec. Lorsque seules les semaines précédant habituellement la déclaration des premiers cas humains étaient considérées (du 10 août au 13 septembre 2014), la réduction de l'abondance de *Culex pipiens/restuans* était de 30 %. Le traitement n'a cependant pas influencé l'abondance des *Culex pipiens/restuans* infectés par le VNO.
- Le traitement par larvicides a diminué d'environ 60 % l'abondance des moustiques du genre *Aedes vexans*, mais uniquement dans les zones où leur reproduction est plus importante, soit où une faible proportion d'îlots de chaleur est observée. Par contre, la faible proportion de pools positifs (< 0,3 %) parmi les *Aedes vexans* collectés a empêché toute analyse concernant l'indice vectoriel pour cette espèce.

Sommaire

Contexte

Dans le but de soutenir la prise de décision et l'application du Plan d'intervention gouvernemental 2013-2015 pour la protection de la population contre le virus du Nil occidental (VNO), le ministère de la Santé et des Services sociaux (MSSS) a mandaté l'Institut national de santé publique du Québec (INSPQ) afin d'évaluer l'efficacité de l'application de larvicides dans la réduction de l'abondance des moustiques vecteurs du VNO et leur taux d'infection par le VNO.

Au Québec, les principaux vecteurs de la transmission du VNO à l'humain sont les moustiques du complexe *Culex pipiens* et *Culex restuans*. Ces insectes, majoritairement ornithophiles (attirés par les oiseaux), seraient responsables de l'amplification du VNO dans le cycle oiseau-moustique-oiseau, et se reproduisent tant dans les gîtes naturels qu'artificiels (p. ex. les puisards de rue). La seconde espèce vectrice du VNO en importance au Québec serait *Aedes vexans*. Le taux d'infection chez ceux-ci est bas, mais leur abondance relative est plus élevée. Ces derniers se reproduiraient en milieu urbain et semi-urbain, principalement dans les gîtes naturels.

L'efficacité des larvicides utilisés (soit le *Bacillus thuringiensis* var. *israelensis* [Bti], le *Bacillus sphaericus* [Bsph] et le méthoprène) pour réduire l'émergence des populations de moustiques adultes est bien documentée et ne fait aucun doute. Par contre, leur efficacité à réduire le risque d'infection par le VNO chez l'humain est peu documentée. Chez l'humain, les seules données d'efficacité concernent l'application simultanée de larvicides en traitement préventif et d'adulticides en situation d'éclosion. Les quelques études, dont certaines effectuées au Québec, n'ont pas permis de tirer des conclusions claires sur l'efficacité des larvicides utilisés seuls dans le but de réduire l'abondance des moustiques et le risque de transmission du virus à l'homme.

Plusieurs facteurs environnementaux peuvent favoriser la propagation du VNO ou ses déterminants par les moustiques en Amérique du Nord, dont les variations de température et des précipitations, la proximité des zones urbaines ou semi-urbaines, un faible drainage des terrains, la présence d'eau stagnante, de même

que le degré et le type de couverture végétale. Plus spécifiquement, les conditions météorologiques (température, précipitations et humidité) ont une influence tant sur le développement des moustiques et leur abondance que sur la réplication du virus et l'amplification du cycle infectieux.

Objectif

L'objectif de cette étude est d'évaluer l'efficacité de l'application préventive de larvicides à réduire l'abondance des moustiques, infectés ou non. Afin de vérifier l'atteinte de cet objectif, l'indice vectoriel et l'abondance moyenne des principaux vecteurs du VNO au Québec, soit *Culex pipiens* et *Culex restuans* (ci-après nommé « *C. pipiens/restuans* ») et *Aedes vexans* (ci-après nommé « *A. vexans* »), ont été mesurés.

Méthodologie

L'étude s'est déroulée de la première semaine de juin (semaine CDC 23) à la première semaine du mois d'octobre 2014 (semaine CDC 41). Le territoire à l'étude incluait une partie des villes de Laval, de Montréal, de Longueuil et de Saint-Jean-sur-Richelieu, toutes situées dans le sud du Québec. Ce territoire était composé de la zone d'intervention gouvernementale contre le VNO, traitée avec des larvicides, et d'une zone contrôle, non traitée. La zone d'intervention a été déterminée par le MSSS, en considérant la présence de cas humains déclarés infectés, les années précédentes, et la densité de population. La zone non traitée (contrôle) présentait des caractéristiques environnementales comparables à la zone d'intervention (traitée), et dans laquelle la présence de moustiques infectés par le VNO a été confirmée au cours des années antérieures.

L'ensemble du territoire à l'étude a été découpé en 100 parcelles de 4 kilomètres (50 traitées et 50 contrôles). Ces parcelles ont constitué les unités d'analyse. Chacune d'entre elles a été catégorisée en fonction de deux caractéristiques de leur environnement physique, ce dernier basé sur la proportion de la superficie de la parcelle couverte par des îlots de chaleur et la densité de puisards de rue. Pour chaque catégorie environnementale, le nombre de parcelles a été réparti également dans la zone d'intervention et dans la zone non traitée.

Les applications préventives de larvicides ont été effectuées de la semaine CDC 23 à la semaine CDC 35 de l'année 2014, inclusivement, et ce, selon les modalités du Plan d'intervention gouvernemental. Du méthoprène a été utilisé pour traiter les puisards de rue, à raison de trois applications au cours de l'été, et ce, à des intervalles de quatre semaines. Les gîtes naturels (p. ex. mares d'eau stagnante) ont été traités sur une base hebdomadaire, lorsque nécessaire, avec l'insecticide biologique *Bti*.

Deux stations entomologiques ont été positionnées dans chaque parcelle, pour un total de 200 stations. Chaque station était en service une nuit par semaine, et la récolte des moustiques s'est effectuée des semaines CDC 23 à 41, à l'aide d'un piège *CDC light trap*. Les échantillons récoltés étaient dénombrés par espèce et sexe. Les moustiques des genres *C. pipiens/restuans* et *A. vexans* étaient regroupés en pools, puis analysés pour leur statut d'infection au VNO.

Afin d'évaluer l'efficacité du traitement à réduire l'abondance de chacune des espèces de moustiques, des analyses de variance (ANOVA) en mesure répétée pour les périodes des semaines CDC 27 à 37 (*C. pipiens/restuans* et *A. vexans*) et CDC 33 à 37 (*C. pipiens/restuans* seulement) ont été effectuées. Les analyses concernant l'effet du traitement sur l'indice vectoriel, qui a dû être dichotomisé selon deux catégories (> 0 vs 0, ce qui équivaut à l'analyse des statuts infectieux), ont été effectuées par régression logistique en mesure répétée pour la période CDC 27 à 37 (*C. pipiens/restuans* seulement). Plusieurs analyses de sensibilité ont été effectuées afin de vérifier l'influence de certains facteurs sur les modèles statistiques utilisés.

Principaux résultats

Les résultats de l'étude démontrent que l'utilisation de larvicides lors de l'intervention gouvernementale contre le VNO en 2014 a réduit l'abondance des moustiques du genre *C. pipiens/restuans* d'environ 23 % (valeur-*p* = 0,047) sur la période d'analyse couvrant les semaines CDC 27 à 37, et d'environ 30 % (valeur-*p* = 0,005) pour la période d'analyse couvrant les semaines CDC 33 à 37. Ces semaines correspondent à la période critique de transmission du VNO entre les moustiques et les humains.

L'utilisation de larvicides a été très efficace pour réduire l'abondance des moustiques du genre *A. vexans*, mais uniquement dans les parcelles ayant une plus faible proportion d'îlots de chaleur ($\leq 28\%$), où la réduction était d'environ 61 % (valeur- $p < 0,001$). Dans les parcelles ayant une plus forte proportion d'îlots de chaleur, le traitement n'a pas eu d'effet sur l'abondance des *A. vexans*.

La saison 2014 du VNO a été de très faible intensité. En effet, la proportion de pools positifs était faible, ce qui a rendu plus ardues les analyses statistiques. Les résultats de l'étude suggèrent que le traitement par larvicides n'a pas eu d'effet sur l'indice vectoriel (> 0 vs 0) des *C. pipiens/restuans* pour les périodes d'analyse couvrant les semaines CDC 27 à 37 (valeur- $p = 0,646$) et 33 à 37 (valeur- $p = 0,383$). Il est cependant difficile de tirer des conclusions en raison de la faible prévalence du VNO chez les moustiques pendant la saison. Quant aux *A. vexans*, l'analyse de l'indice vectoriel n'a pas été possible en raison du trop faible nombre de pools positifs (0,28 %).

Les analyses de sensibilité ont démontré l'influence importante d'une parcelle située à Longueuil (près d'un parc industriel) sur l'abondance de *C. pipiens/restuans*. En effet, cette parcelle a affiché des valeurs extrêmes de *C. pipiens/restuans* tout au long de l'été. Lorsque cette parcelle était incluse dans les analyses, l'effet du traitement sur l'abondance des *C. pipiens/restuans* n'était plus significatif (valeur- $p = 0,135$) pour l'analyse des semaines CDC 27 à 37. Lorsque seules les semaines CDC 33 à 37 étaient considérées, soit une période critique au Québec pour la transmission du VNO à l'humain, l'effet du traitement était toujours significatif, mais le pourcentage de réduction quelque peu plus faible à environ 26 % (valeur- $p = 0,023$). L'inclusion de cette parcelle n'a pas influencé les résultats concernant l'efficacité du traitement par larvicides sur l'abondance d'*A. vexans*, ou sur l'indice vectoriel de *C. pipiens/restuans*.

1 Contexte

Dans le but de soutenir la prise de décisions et l'application du Plan d'intervention gouvernemental 2013-2015 pour la protection de la population contre le virus du Nil occidental (VNO), le ministère de la Santé et des Services sociaux (MSSS) a mandaté l'Institut national de santé publique du Québec (INSPQ) afin d'évaluer l'efficacité de l'application de larvicides dans la réduction de l'abondance des moustiques vecteurs du VNO.

L'utilisation des larvicides est reconnue efficace par les entomologistes pour réduire l'abondance des moustiques et, par le fait même, réduire le risque de transmission du VNO à l'humain (voir section 1.2). Par contre, bien que cette pratique soit abondamment utilisée dans le monde, aucune étude n'avait déjà évalué en 2014 l'efficacité d'une application de larvicides seuls, sans utilisation simultanée d'adulticides, pour prévenir le risque de propagation du VNO par les moustiques ou de transmission du VNO à l'humain.

1.1 Cycle de transmission du VNO

Au Québec, les principaux vecteurs de la transmission du VNO à l'humain sont les moustiques ornithophiles des genres *Culex pipiens* et *Culex restuans* (regroupés sous le nom de complexe *Culex pipiens/restuans* (ci-après « *C. pipiens/restuans* ») (Labbé *et al.*, 2006b). Ces insectes piqueurs seraient responsables de l'amplification du VNO dans le cycle enzootique oiseau-moustique-oiseau. Les oiseaux constitueraient le réservoir du VNO; dans le nord-est de l'Amérique, cela concerne particulièrement les espèces de passereaux. Ces espèces de moustiques sont particulièrement abondantes dans le sud du Québec, notamment dans les régions urbaines, où ils se reproduisent dans les puisards de rue et dans les mares d'eau stagnante, entre autres. Dans ce cycle, l'humain est un hôte accidentel.

D'autres moustiques, plus mammophiles qu'ornithophiles, peuvent à leur tour agir à titre de vecteurs du virus et transmettre l'infection à l'humain (Labbé *et al.*, 2007). Considérant leurs préférences alimentaires, ces moustiques sont généralement peu infectés, mais peuvent être tout de même très abondants en nombres absolus. La principale espèce

de ce genre au Québec est *Aedes vexans* (ci-après « *A. vexans* ») (Labbé *et al.*, 2006b). Ce moustique, très abondant dans tout le sud du Québec en période estivale, est considéré comme une véritable nuisance vu son niveau d'agressivité envers les humains, et possède une très importante capacité de dispersion géographique comparativement aux *C. pipiens/restuans* (Labbé *et al.*, 2006b).

1.2 État des connaissances sur l'efficacité des larvicides

1.2.1 CONNAISSANCES GÉNÉRALES

L'efficacité des larvicides pour réduire l'émergence des populations adultes de moustiques est bien documentée et ne fait aucun doute (Baker et Yan, 2010; Boisvert, 2005; Labbé *et al.*, 2006a; Micucci, 2004; Raval-Nelson *et al.*, 2005; SOPFIM, 2013; Stockwell *et al.*, 2006). Les produits larvicides homologués au Québec, tels que le *Bacillus thuringiensis var. israelensis* (*Bti*), le *Bacillus sphaericus* (*Bsph*) et le méthoprène, sont efficaces pour réduire, de manière significative, le nombre de larves de moustiques et, par extension, l'émergence de moustiques adultes. Cependant, l'efficacité de ces produits sur la diminution du risque d'infection par le VNO chez l'humain est peu documentée. Plusieurs facteurs rendent difficile l'interprétation des quelques études disponibles, notamment la multitude de facteurs biologiques, écologiques, météorologiques et sociaux impliqués dans la transmission de la maladie (Paz et Semenza, 2013; Reisen et Brault, 2007; Ruiz *et al.*, 2004). Par contre, l'application simultanée de larvicides, en traitement préventif, et d'adulticides, en situation d'éclosion, s'est avérée efficace pour ralentir la progression du nombre de cas humains de la maladie (Carney *et al.*, 2008; Macedo *et al.*, 2010; Ruktanonchai *et al.*, 2014).

Dans certains refuges nationaux des Florida Keys aux États-Unis, l'utilisation intensive du larvicide *Bti* de 2003 à 2010 a systématiquement réduit la population de moustiques (principalement *Aedes taeniorhynchus*, ciblé pour la nuisance), réduisant ainsi le recours aux adulticides en cours de saison (Hribar *et al.*, 2011). Dans ce cas, l'utilisation de larvicides pour le contrôle des moustiques a réduit l'abondance des moustiques, mais seulement après plusieurs années consécutives d'utilisation.

1.2.2 L'EXPÉRIENCE DU QUÉBEC

Au Québec, le gouvernement a tenté à deux reprises d'évaluer l'impact de l'application préventive de larvicides sur l'abondance des moustiques ciblés et le risque de transmission du VNO (Boisvert, 2005; Pinsonneault *et al.*, 2006). En général, l'abondance des *C. pipiens/restuans* était similaire entre les secteurs traités et non traités. Cependant, pour certaines stations d'échantillonnage seulement, l'abondance était supérieure dans les secteurs traités (Boisvert, 2005). Cette situation s'expliquerait par l'approche méthodologique de ces études : jumelage inadéquat des secteurs de comparaison et présence de gîtes de production larvaires non répertoriés ou non traités (Boisvert, 2005; Pinsonneault *et al.*, 2006). De plus, l'utilisation de données issues de la surveillance entomologique gouvernementale, plutôt que des données de recherche, a pu influencer les résultats de l'étude exploratoire (Pinsonneault *et al.*, 2006). Les auteurs n'avaient pas pris en compte le rôle des différents facteurs environnementaux influençant la transmission du VNO. Dans cette étude, l'utilisation de larvicides a par contre diminué l'abondance d'*A. vexans*, ainsi que le nombre de signalements de corvidés morts (Pinsonneault *et al.*, 2006).

1.3 Influence des facteurs météorologiques et environnementaux sur la transmission du VNO

Les conditions météorologiques (température, précipitations et humidité) ont une influence tant sur le développement et l'abondance des moustiques eux-mêmes que sur la répllication du virus dans les moustiques et l'amplification du cycle infectieux. Par conséquent, ces conditions affecteront aussi l'intensité de l'activité virale durant une saison et entre les saisons et, de ce fait, potentiellement le nombre et la localisation des cas humains (Paz et Semenza, 2013). Plusieurs facteurs environnementaux influenceraient la transmission du VNO aux humains (Ozdenrol *et al.*, 2013; Paz et Semenza, 2013; Tran *et al.*, 2014) :

- les variations de la température et des précipitations;
- l'abondance des moustiques et le nombre de pools positifs de moustiques;
- la proximité de zones urbaines ou semi-urbaines;

- un faible drainage des terrains (p. ex. une faible inclinaison des terrains);
- la présence d'eau stagnante;
- la présence de couvert végétal.

Par ailleurs, le rôle des précipitations est complexe et semble indirect, voire parfois inconsistant (Paz et Semenza, 2013). En effet, le cycle des précipitations pendant la saison estivale est difficile à caractériser parce qu'il varie en fonction des semaines ou des années, ou encore diffère en fonction du lieu. L'écosystème et certains facteurs physiques ont aussi une influence marquée sur l'abondance des moustiques du genre *C. pipiens/restuans* et sur l'activité zoonotique. Par exemple, en milieu urbain, l'abondance et l'activité du VNO chez les moustiques seraient favorisées dans les zones densément ou modérément peuplées, et où les infrastructures urbaines sont importantes (p. ex. densité de puisards de rue) et le couvert végétal est modéré (Paz et Semenza, 2013).

Lorsque représentées à l'aide d'un système d'information géographique, certaines données peuvent être utilisées pour élaborer des indicateurs des facteurs environnementaux ou météorologiques influençant la transmission du VNO. Le tableau 1 présente ces principaux facteurs retrouvés dans la littérature (Paz et Semenza, 2013) et les indicateurs déjà développés et disponibles pouvant y être associés afin de soutenir le développement d'un devis de recherche.

La considération de ces nombreux indicateurs dans un devis d'étude ou dans un outil d'aide à la décision peut être complexe. Au Québec, l'INSPQ et le Centre d'enseignement et de recherche en foresterie (CERFO) affilié au Cégep de Sainte-Foy ont développé un modèle de prédiction de la température de surface¹, dans le but d'identifier et de localiser les îlots de chaleur et de fraîcheur en milieu urbain (CERFO, 2013). Ce modèle intègre de nombreux facteurs environnementaux mentionnés au tableau 1, tels que : densité de la population, données météorologiques, indice de végétation par différence normalisé (NDVI), hauteur de la surface par rapport au niveau de la mer (MNA), indice d'imperméabilisation des surfaces et classes d'occupation du sol (CERFO, 2013).

Tableau 1 Facteurs environnementaux favorisant la transmission du VNO à l'humain et exemples d'indicateurs disponibles

Facteur environnemental	Indicateur disponible
Couvert végétal	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Indice de végétation par différence normalisé (NDVI)
Altitude du terrain	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Hauteur de la surface par rapport au niveau de la mer (MNA)
Distance par rapport à un point d'eau	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Indice de différence en eau normalisé (NDWI) ▪ Indice modifié de différence en eau normalisé (MNDWI) ▪ Distance par rapport à un point d'eau
Milieu urbain	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Densité de la population ▪ Densité de puisards de rue
Conditions météorologiques	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Température moyenne ▪ Degrés-jours cumulés ▪ Précipitations moyennes
Faible drainage des terrains (ou inclinaison plus faible des terrains)	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Indice d'imperméabilisation des surfaces (surface anthropique telle que route, stationnement, etc.) ▪ potentiel à capter et à stocker l'énergie solaire) ▪ Données topographiques
Zones urbaines ou présence de couvert végétal	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Classes d'occupation du sol (type d'environnement bâti, parcs, forêt)

Le cycle de développement des moustiques et celui de l'amplification du VNO semblent particulièrement sensibles à l'augmentation de la température. Ainsi, la présence d'îlots de chaleur urbains serait un indicateur intéressant de catégorisation des zones favorables au cycle zoonotique du VNO en milieu urbain. La densité de puisards de rue constitue un autre indicateur associé à la reproduction des moustiques du genre *C. pipiens/restuans* en milieu urbain (Baker et Yan, 2010; Labbé *et al.*, 2006b; SOPFIM, 2013).

¹ Financé en partie par le Fonds vert dans le cadre de l'action 21 du Plan d'action 2006-2012 sur les changements climatiques du gouvernement du Québec.

2 Objectif

L'objectif de cette étude est d'évaluer l'efficacité de l'application préventive de larvicides à réduire l'abondance des moustiques, infectés ou non. Afin de vérifier l'atteinte de cet objectif, l'indice vectoriel et l'abondance moyenne des principaux vecteurs du VNO au Québec, soit *C. pipiens/restuans* et *A. vexans*, ont été mesurés.

3 Méthodologie

3.1 Approche méthodologique

3.1.1 PÉRIODES ET TERRITOIRES À L'ÉTUDE

La période à l'étude s'étend de la première semaine de juin (semaine CDC 23²) à la première semaine du mois d'octobre 2014 (semaine CDC 41).

Le territoire à l'étude inclut une partie des villes de Laval, de Montréal, de Longueuil et de Saint-Jean-sur-Richelieu, au Québec (carte 1). Le territoire à l'étude est composé de la zone d'intervention gouvernementale contre le VNO (traitée par des larvicides) et d'une zone non traitée. La zone d'intervention a été déterminée par le MSSS selon les critères suivants : la présence de 5 cas humains d'infection par le VNO ou plus, survenus de 2002 à 2013, localisés à l'intérieur d'un cercle d'un rayon de 2 kilomètres (km) autour des cas humains. La zone d'intervention devait aussi présenter une densité de population de plus de 400 personnes par km (par aire de diffusion). La zone non traitée a été déterminée conjointement avec le MSSS, et devait présenter des caractéristiques environnementales comparables à la zone d'intervention, en plus d'avoir fait l'objet d'une confirmation de la présence de moustiques infectés par le VNO au cours des dernières années.

3.1.2 TRAITEMENTS PAR LARVICIDES

Les applications préventives de larvicides dans les gîtes naturels et artificiels ont été effectuées selon les modalités du Plan d'intervention gouvernemental (SOPFIM, 2013), de la première semaine de juin (semaine CDC 23) à la dernière semaine du mois d'août

2014 (semaine CDC 35). Dans les puisards de rue, considérés comme des gîtes hautement productifs de *C. pipiens/restuans*, des granules de méthoprène (0,8 – 1,0 g) ont été déposées à l'intérieur de chaque puisard, à raison de 3 applications au cours de l'été, et ce, à des intervalles de 4 semaines. Les gîtes naturels (mares d'eau stagnante) étaient traités sur une base hebdomadaire, lorsque nécessaire, avec l'insecticide biologique *Bti* (0,25 – 1,0 L/hectare). Les opérations d'application de larvicides ont été effectuées par une firme privée (Conseillers forestiers Roy). La supervision et la coordination des opérations ont été confiées à la SOPFIM, qui effectuait aussi les analyses de contrôle de la qualité des traitements. La première application de larvicides s'est déroulée, selon le site, du 1^{er} juin (semaine CDC 23) au 7 juillet 2014 (semaine CDC 27), inclusivement.

3.1.3 SÉLECTION DES PARCELLES À L'ÉTUDE

L'unité géographique d'analyse est une parcelle de 4 km², soit un carré mesurant 2 km par 2 km. Le dispositif expérimental utilisé pour cette étude est un dispositif en blocs, où chacun de ces blocs intègre certaines catégories environnementales pouvant expliquer l'hétérogénéité entre les parcelles (tableau 2).

Tableau 2 Catégorisation de l'environnement des parcelles

Proportion d'îlots de chaleur urbains	Densité de puisards de rue	
	≤ 409/km ²	> 409/km ²
≤ 28 %	Catégorie 1	Catégorie 2
> 28 %	Catégorie 3	Catégorie 4

Les catégories environnementales sont basées, d'une part, sur la proportion de la superficie de la parcelle couverte par des îlots de chaleur urbains qualifiés de « chaud » ou de « très chaud » et, d'autre part, sur la densité de puisards de rue par km – dans la parcelle. La division des catégories s'appuie sur l'algorithme de ruptures naturelles de fréquence (*Jenks' natural break*). Les données d'îlots de chaleur proviennent de la base de données ouverte du gouvernement du Québec³ (CERFO, 2013). Les données de la densité de puisards de rue proviennent des données géoréférencées pour les villes de Montréal, de Laval et de Longueuil. Pour la

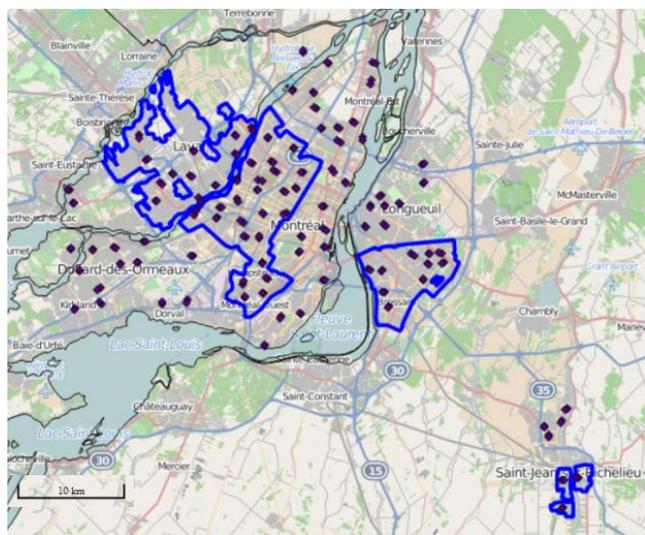
² Semaines épidémiologiques établies par les Centers for Disease Control and Prevention (CDC) et qui correspondent à une numérotation standardisée à l'échelle internationale. Pour consulter le calendrier 2014-2015 : <https://wwwn.cdc.gov/nndss/document/w2014-15.pdf>

³ <https://www.donneesquebec.ca/recherche/fr/dataset/ilots-de-chaleur-fraicheur-urbains-et-temperature-de-surface>

municipalité de Saint-Jean-sur-Richelieu, la moyenne du nombre de puisards par kilomètre – dénombrés par la SOPFIM lors des opérations d'application de larvicides en 2013 – a été utilisée.

Une catégorie environnementale a été attribuée à toutes les parcelles identifiées sur le territoire du site expérimental dans le but d'assurer la comparabilité des zones d'intervention et de la zone non traitée. Pour chaque parcelle attribuée à une catégorie environnementale située dans la zone d'intervention, une parcelle de même catégorie a été délimitée dans la zone non traitée, jusqu'à l'atteinte d'un total de 100 parcelles sélectionnées (50 : 50)⁴. Ainsi, la zone d'intervention initiale (section 3.1.1) a été agrandie pour obtenir, lorsque possible, une surface non fragmentée de traitement pouvant inclure plus de 50 parcelles traitées. La superficie totale de cette nouvelle zone d'intervention était de 260 km (carte 1). Pour éviter l'effet de bordure du traitement sur les zones non traitées, une bordure de 2 km (largeur d'une parcelle) située à l'extérieur du contour du périmètre de traitement a été exclue de la zone non traitée.

Carte 1 Représentation cartographique du site expérimental de l'évaluation de 2014



Les zones de traitement sont délimitées par le tracé bleu et la position des stations entomologiques par les points.

Source : © OpenStreetMap.

Le tableau 3 indique le nombre de parcelles attribuées par catégorie environnementale.

Tableau 3 Distribution des parcelles par catégories environnementales et traitement

Catégorie environnementale	Non traitée	Traitée	Total
Catégorie 1	15	11	26
Catégorie 2	11	14	25
Catégorie 3	9	9	18
Catégorie 4	15	16	31
Total	50	50	100

3.1.4 LOCALISATION DES STATIONS ENTOMOLOGIQUES

Dans chaque parcelle, deux stations entomologiques ont été positionnées afin de permettre une meilleure représentation de la diversité entomologique et de l'abondance des moustiques. L'hypothèse est que chaque station à l'intérieur d'une parcelle capture les moustiques de son environnement immédiat (ou proximal) et que les résultats des deux stations d'une même parcelle peuvent être différents. Au total, 200 stations entomologiques ont été positionnées en parts égales entre la zone d'intervention et la zone non traitée. Ces stations étaient espacées d'une distance minimale de 100 m et maximale de 300 m (distance de dispersion minimale des *C. pipiens/restuans*) (Ciota *et al.*, 2012).

Afin de s'assurer que des moustiques provenant des zones non traitées ne soient pas récoltés dans les pièges situés en zone traitée, une distance minimale de 1 km devait être respectée entre la bordure de traitement et les stations entomologiques. L'installation des stations entomologiques a été effectuée par une firme spécialisée (GDG Environnement) afin d'optimiser les captures et de considérer les facteurs logistiques assurant l'opération normale de la station (accès, risque de vol ou de vandalisme, etc.).

⁴ Le nombre de parcelles à l'étude a été déterminé à la suite de calculs de puissance statistique effectués lors de l'élaboration du devis. Le nombre de parcelles a été défini en fonction du dispositif expérimental retenu, en utilisant les données entomologiques de surveillance gouvernementale de la saison 2013 du VNO. Pour une puissance et un seuil respectivement fixés à 80 % et à 5 %, il a été déterminé que 100 parcelles permettraient de relever une différence de 50 % de l'efficacité du traitement.

3.2 Collecte de données

3.2.1 ÉCHANTILLONNAGE

Les données entomologiques ont été récoltées du 1^{er} juin, soit le début de la période de traitement par des larvicides, au 8 octobre 2014 (semaines CDC 23 à 41).

L'échantillonnage des moustiques adultes a été effectué à l'aide de pièges lumineux CDC, appâtés au CO₂ (*CDC miniature light trap/CDC-LT*). Chaque station était en activité une nuit par semaine, et ce, de 16 h à 18 h et de 6 h à 8 h le lendemain matin (soit pendant la période d'activité habituelle des moustiques ciblés). Chaque récolte (station/nuit) correspondait à un échantillon analysé individuellement. Chaque échantillon était déposé dans un contenant approprié, identifié et transporté sur glace sèche la journée même jusqu'au laboratoire d'identification de GDG Environnement. Les échantillons étaient alors conservés à -20 °C jusqu'à leur traitement.

3.2.2 DÉNOMBREMENT ET IDENTIFICATION DES MOUSTIQUES

Les moustiques femelles ont été identifiés et dénombrés par espèce. Au besoin, lorsque les moustiques étaient très abondants, le dénombrement a été effectué sur une fraction de l'échantillon (ratio de sous-échantillonnage, variant de 1 à 128). Les moustiques femelles des espèces *C. pipiens/restuans* et *A. vexans* étaient dénombrés dans l'échantillon (ou le sous-échantillon, le cas échéant) et rassemblés, par espèces et statuts (gestantes, nourries ou non nourries), en pools d'au maximum 50 moustiques, puis placés dans des piluliers. Un maximum de deux pools par espèce par échantillon était constitué pour la détermination du statut infectieux (uniquement pour les femelles moustiques de statut non nourries ou gestantes)⁵. Lorsque le nombre de 100 moustiques par espèce (2 x 50) n'était pas atteint lors du dénombrement, une procédure d'enrichissement était appliquée. Ainsi, des moustiques de la même espèce et provenant du reste de l'échantillon, s'il y a eu sous-échantillonnage, pouvaient être ajoutés au pool formé jusqu'à concurrence de 50 moustiques par pool.

3.2.3 DÉTERMINATION DU STATUT INFECTIEUX

Les pools de moustiques constitués pour la détermination du statut infectieux étaient expédiés par courrier prioritaire au Laboratoire de santé publique du Québec (LSPQ). L'analyse par réaction en chaîne par polymérase (RT-PCR) a permis de détecter, dans chaque pool, la présence du génome du VNO dans les préparations d'acides nucléiques extraites des moustiques. Cette technique est basée sur une méthode reconnue (Lanciotti *et al.*, 2000) et des protocoles de travail élaborés par le Laboratoire national de microbiologie de l'Agence de la santé publique du Canada, division des zoonoses et pathogènes spéciaux (H. Charest, LSPQ, communication personnelle, février 2014.). Les résultats des tests de détermination sont exprimés comme étant positifs, négatifs ou indéterminés.

3.3 Analyses statistiques

L'approche méthodologique retenue pour l'étude a été élaborée pour répondre aux exigences d'un cadre analytique de type « analyse de variance » (ANOVA) en mesures répétées. Dans ce modèle analytique, l'échantillon recueilli chaque semaine dans une parcelle représente la mesure répétée à cette parcelle. Lorsque l'utilisation de l'ANOVA n'était pas possible, une dichotomisation de la variable dépendante était effectuée et une régression logistique en mesures répétées était utilisée.

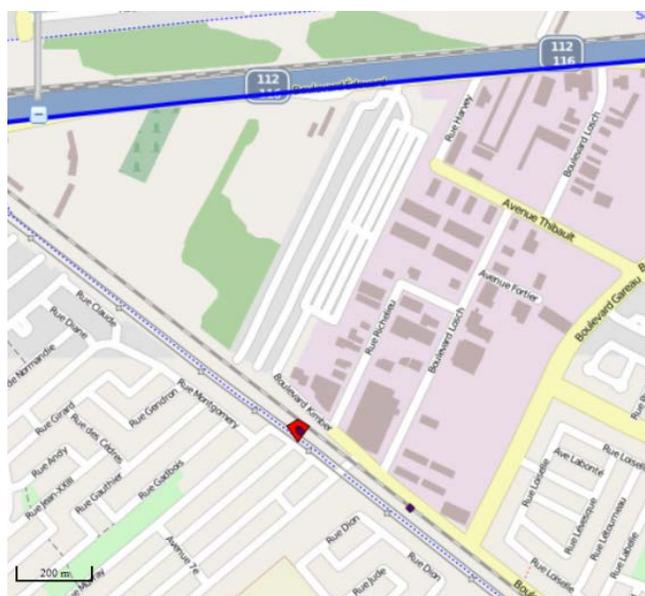
Toutes les analyses ont été effectuées à l'aide du logiciel SAS 9.3 (SAS Institute Inc., Cary, NC, USA). Pour être considérée comme traitée lors des analyses, une parcelle devait avoir reçu la première application de larvicides au moins une semaine avant la date d'échantillonnage⁶. Dans le cas contraire, elle était exclue pour les semaines problématiques. À noter qu'une parcelle pour laquelle des données provenaient d'une station problématique a été exclue des analyses statistiques principales. En effet, la station entomologique *HUB100*, située à Longueuil, a été identifiée à de nombreuses reprises par le MSSS comme problématique. Au cours de l'été, l'équipe d'applicateurs de larvicides a d'abord dû rechercher la présence de gîtes accessibles dans les environs de la

⁵ Les pools de type F (fed; « nourries ») ont été envoyés au Laboratoire de santé publique du Québec (LSPQ), mais n'ont pas été testés pour le VNO (incapacité d'exclure une contamination croisée par le sang présent dans l'abdomen de l'insecte).

⁶ Le cycle de développement des *Culex* peut varier d'une à trois semaines en période estivale, selon la température.

station (et d'autres stations des alentours), mais en a trouvé un seul, situé à 3,2 km de la station (S. Jodoin, communication personnelle, septembre 2014). Ensuite, bien que ce gîte ait été traité et suivi tout au long de la saison estivale, cette station a continué d'afficher des données d'abondance extrêmes. Cette station problématique était située à la limite du parc industriel Pilon, à Longueuil (carte 2), limitant ainsi le champ d'action de l'application des larvicides par l'équipe sur le terrain (la réglementation ne permet pas d'effectuer des traitements sur des terrains privés). Cette parcelle a par contre été réintroduite dans le cadre d'analyses de sensibilité.

Carte 2 Localisation de la station HUB100



Note : la station HUB100 est représentée par le polygone rouge.
Source : © OpenStreetMap.

La période d'analyse couvre les semaines CDC 27 à 37. Ce choix est dicté par le nombre de parcelles en zone traitée ayant reçu leur premier traitement avant la semaine CDC 27 (47/50). Avant la semaine 27, trop peu de parcelles pouvaient être considérées comme traitées. Ainsi, les 3 parcelles ayant reçu leur premier traitement à la semaine CDC 27 n'ont pas été considérées pour cette semaine. L'application du troisième traitement a commencé à la semaine CDC 32. Sachant que l'efficacité du traitement est d'environ 4 semaines et que l'abondance de moustiques a considérablement diminué à la semaine CDC 38, la fin de la période d'étude a été fixée à la semaine CDC 37.

À la lumière des résultats préliminaires, l'analyse de l'abondance des moustiques pour les semaines CDC 33 à 37 a aussi été effectuée, à la demande du Groupe expert VNO de l'INSPQ. Ce dernier considère cette période comme la période critique de transmission du VNO à l'humain, soit quelques semaines avant que les premiers cas humains infectés par le VNO soient déclarés.

3.3.1 MESURES ENTOMOLOGIQUES

Les mesures entomologiques (variables dépendantes) sont : l'abondance moyenne, le taux d'infection (TI) et l'indice vectoriel. Chacune de ces mesures a été déterminée pour chaque espèce. L'abondance moyenne a été déterminée pour chaque parcelle et pour chaque semaine. Elle se calcule en faisant la moyenne du nombre de moustiques récoltés à chacune des deux stations situées dans une parcelle. L'abondance à chacune des stations est quant à elle calculée en multipliant le nombre de moustiques dans le sous-échantillon par le ratio de sous-échantillonnage.

Le TI est calculé à partir du statut infectieux des pools (positif ou négatif; par parcelle/semaine ou par traitement/semaine) par la méthode du maximum de vraisemblance (*maximum likelihood estimates*) [MLE] développée par les Centers for Disease Control and Prevention (CDC) (Biggerstaff, 2015). Le taux d'infection par la méthode du maximum de vraisemblance (TI-MLE) est basé sur l'hypothèse voulant que le nombre de moustiques infectés dans chaque pool analysé respecte une distribution normale. Lorsque l'estimation par la méthode du maximum de vraisemblance n'est pas possible, habituellement lorsqu'un seul pool est analysé, le taux d'infection minimum (TIM) est utilisé pour estimer le TI. Le TIM est basé sur l'hypothèse qu'un seul moustique par pool est infecté par le VNO et il correspond au nombre de pools positifs divisé par le nombre total de moustiques analysés. Tous les pools de moustiques constitués de femelles gorgées de sang (c.-à-d. nourries) ont été exclus des calculs pour éviter la contamination croisée. Par ailleurs, tous les pools catégorisés comme « indéterminés » par le LSPQ ont aussi été exclus (n = 12).

L'indice vectoriel réfère à l'abondance estimée de moustiques infectés et est calculé selon la méthodologie décrite par les CDC (2013). Cet indice est obtenu en multipliant l'abondance moyenne par le TI

des mêmes moustiques échantillonnés sur un territoire donné et à un temps donné. Tout comme le TI, il peut se calculer par parcelle/semaine, par traitement/semaine, par traitement/catégorie/semaine. Lorsque l'analyse statistique devait s'effectuer pour les parcelles par semaine, le TI a été considéré comme une variable dichotomique (présence ou non d'un pool positif; voir section 3.3.2).

3.3.2 ANALYSES DE VARIANCE DE L'ABONDANCE

Des analyses distinctes ont été effectuées pour les *C. pipiens/restuans* et les *A. vexans*. Des graphiques temporels d'abondance moyenne selon le traitement et la catégorie environnementale ont d'abord été faits. La moyenne géométrique a été utilisée afin de prendre en compte la distribution des données et la présence de valeurs extrêmes.

Ensuite, la différence dans l'abondance de chaque espèce entre la zone d'intervention et celle non traitée a été estimée à l'aide d'une ANOVA, considérant des mesures répétées (semaine). Les données d'abondance moyenne par parcelle ont subi une transformation logarithmique ($\ln[\text{abondance moyenne} + 1]$) afin de respecter les postulats de normalité et d'homogénéité de la variance⁷. Dans le modèle, la parcelle a été considérée comme un effet aléatoire, tandis que le traitement, la semaine, la proportion d'îlots de chaleur ($\leq 28\%$, $> 28\%$) et de puisards ($\leq 409/\text{km}^2$, $> 409/\text{km}^2$) ont été considérés comme des effets fixes.

Les variables *densité de puisards* et *proportion d'îlots de chaleur*, ainsi que leurs interactions, ont d'abord été incluses dans le modèle. Elles étaient retirées une à une si leur valeur-*p* était supérieure à 10 %, en commençant par les variables ou les interactions ayant la valeur-*p* la plus élevée. Ce processus n'a pas permis d'inclure ces variables pour l'analyse de l'abondance des *C. pipiens/restuans*. Pour l'analyse de l'abondance d'*A. vexans*, la variable *îlots de chaleur* et son interaction avec le traitement ont été inclus.

3.3.3 ANALYSES DE RÉGRESSION LOGISTIQUE SUR LE STATUT INFECTIEUX (> 0 VS 0)

Quant à l'indice vectoriel, la proportion de pools positifs en 2014 était faible ($< 5\%$). Ainsi, seules les données de pools de *C. pipiens/restuans* ont été utilisées pour l'analyse de l'indice vectoriel. Pour *A. vexans*, le nombre de pools positifs était trop faible pour l'analyse statistique.

Puisque le nombre de pools positifs de *C. pipiens/restuans* ne permettait pas de respecter les postulats de l'ANOVA, une variable dichotomique (présence ou non d'un pool positif respectivement équivalent à un indice vectoriel > 0 ou égal à 0) a été utilisée afin d'effectuer une régression logistique sur des mesures répétées⁸. Afin d'éviter de se retrouver avec une semaine sans pool positif, les semaines CDC 27 à 29 ont été combinées tandis qu'aucun regroupement de semaines n'a été utilisé pour les semaines 30 à 37. L'analyse de la présence de pools positifs (> 0 vs 0) pour la période couvrant les semaines CDC 33 à 37 seulement a aussi été effectuée à la demande du Groupe expert VNO de l'INSPQ, comme expliqué précédemment. Dans ce cas, aucune combinaison de semaines n'était nécessaire.

La semaine CDC, le traitement, la proportion d'îlots de chaleur et la densité de puisards ont été considérés comme des facteurs fixes. Tout comme les modèles pour l'abondance, les variables *proportion d'îlots de chaleur* ou *densité de puisards* ont été incluses dans le modèle si leur seuil de signification (valeur-*p*) ou celui d'une de leurs interactions était inférieur à 10 %. Les variables étaient retirées une à une en ordre décroissant de leur valeur-*p*. Pour l'ensemble des analyses, le seuil de signification utilisé était de 5 %. Ce processus a mené à inclure les variables *îlots de chaleur* et *puisards*, ainsi que l'interaction entre ces deux variables.

⁷ Pour les deux espèces à l'étude, la procédure PROC MIXED a été utilisée. La covariance entre les mesures prises par semaine a été choisie de façon à minimiser les critères d'information d'Akaike (AIC) et de Schwarz (BIC). Pour les *Culex*, cette méthode a mené au choix d'une matrice de covariance autorégressive d'ordre 1 (AR(1)) tandis que pour les *A. vexans*, la matrice à moyenne mobile de type autorégressive (ARMA(1,1)) a été priorisée.

⁸ La procédure PROC GENMOD a été utilisée. La covariance entre les différents temps de mesure a été modélisée avec une structure autorégressive d'ordre 1 (AR(1)), celle-ci permettant de minimiser le critère de l'information de quasi-vraisemblance.

3.3.4 ANALYSES DE SENSIBILITÉ

Plusieurs scénarios pouvant avoir un impact sur l'interprétation des données ont été identifiés en cours de projet. Parmi ceux-ci, il faut noter la présence de certaines valeurs extrêmes pouvant être considérées comme des artefacts. Afin de valider les modèles d'analyse finaux, des tests de sensibilité ont été effectués en procédant à diverses exclusions.

Dans un premier scénario, la parcelle pour laquelle des données provenaient d'une station problématique (*HUB100*) a été réintroduite dans l'analyse.

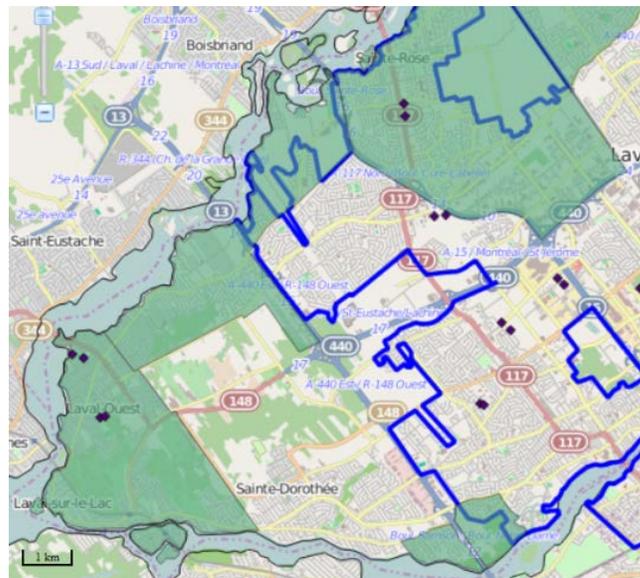
Dans un deuxième scénario, les parcelles situées sur le territoire d'intervention pour la nuisance de la ville de Laval ont été exclues. En effet, au cours de l'été, l'équipe de recherche a appris que, depuis de nombreuses années, des opérations d'application de larvicides visant le contrôle de la nuisance étaient réalisées dans les gîtes naturels de certains secteurs de Laval, et ce, à la demande de la Ville (GDG Environnement, communication personnelle). Étant donné que 3 parcelles (6 stations) à l'étude (2 en zone d'intervention et 1 en zone non traitée) étaient situées sur ce territoire, l'effet de l'exclusion de ces parcelles sur les résultats a été évalué (carte 3).

Dans un troisième scénario, les parcelles ($n = 27$) ayant reçu un premier traitement tardivement (semaines CDC 25 à 27) ont été exclues. En effet, seulement 36 % de la zone de traitement avait reçu la première application de larvicides en date du 14 juin 2014 (semaine CDC 24), ce qui pouvait influencer le cycle de développement des moustiques et le cycle d'amplification du VNO dans ces parcelles traitées tardivement.

Dans un quatrième scénario, la municipalité de Saint-Jean-sur-Richelieu a été exclue afin de valider si l'environnement rural autour de cette municipalité pouvait affecter les résultats.

Finalement, certaines semaines ont été retirées (par exemple, les semaines CDC 27 ou 28) dans le but de vérifier la stabilité des modèles statistiques.

Carte 3 Localisation des stations entomologiques situées en zone de traitement contre la nuisance de la ville de Laval



Note : les zones de traitement sont délimitées par le tracé bleu, les zones de traitement contre la nuisance de la ville de Laval en vert, et la position des stations entomologiques par les points.

Source : © OpenStreetMap et GDG environnement.

4 Résultats

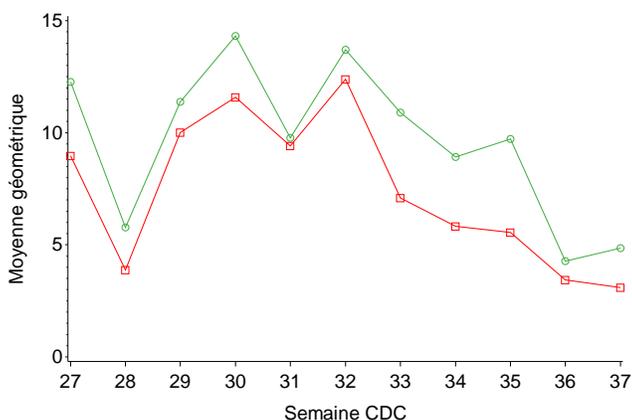
La section suivante présente les résultats obtenus en fonction de l'espèce et de la semaine de traitement.

4.1 Abondance des *C. pipiens/restuans*

Semaines CDC 27 à 37

L'abondance des *C. pipiens/restuans* par semaine est présentée à l'aide de courbes d'abondance moyenne. La figure 1 présente la différence entre l'abondance moyenne dans les parcelles des zones non traitées (zone contrôle) et traitées. Une des prémisses ayant orienté l'élaboration du devis de recherche voulait que les zones traitées et non traitées puissent être comparables sur la base de caractéristiques environnementales (p. ex. îlots de chaleur urbains et densité de puisards de rue). Les courbes d'abondance considérant les quatre catégories environnementales sont présentées à la figure 2.

Figure 1 Abondance moyenne des *C. pipiens/restuans* en fonction du traitement



Note : courbe et cercles verts = parcelles de la zone contrôle; courbe et carrés rouges = parcelles de la zone traitée.

Selon le modèle d'ANOVA à mesures répétées utilisé, le traitement par larvicides dans la zone traitée a significativement réduit l'abondance moyenne de *C. pipiens/restuans* comparativement aux parcelles de la zone contrôle (valeur- $p = 0,047$), équivalent à une baisse d'environ 23 %. La densité de puisards de rue et la proportion d'îlots de chaleur urbains n'ont pas été retenues dans le modèle. Semaines CDC 33-37

Lorsque seule la période des semaines CDC 33 à 37 – correspondante à la période critique de transmission du VNO entre les moustiques et les humains – était analysée, l'abondance de *C. pipiens/restuans* a été réduite d'environ 30 % par le traitement par larvicides (valeur- $p = 0,005$). Encore une fois, la densité de puisards de rue et la proportion d'îlots de chaleur urbains n'ont pas été retenues dans le modèle.

L'abondance en *C. pipiens/restuans* a été significativement réduite par le traitement par larvicides d'environ 23 % pour la période de l'étude, et d'environ 30 % lorsque seules les semaines de période critique de transmission à l'humain sont considérées.

En général, au cours de l'été 2014, l'abondance moyenne de moustiques du genre *C. pipiens/restuans* était faible, comparativement à celle observée en 2013 (jusqu'à 2 à 3 fois moindre (INSPQ, 2013).

4.2 Abondance des *A. vexans*

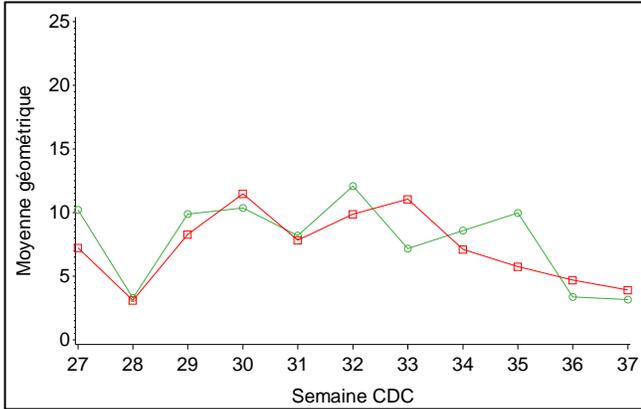
Semaines CDC 27-37

Les données d'abondance moyenne d'*A. vexans* par semaine sont présentées à la figure 3. La figure 4 montre que l'efficacité du traitement a pu être influencée par les catégories environnementales. Dans le modèle d'ANOVA utilisé, la présence d'îlots de chaleur a effectivement influencé l'efficacité du traitement (valeur- $p < 0,0001$). Lorsqu'on compare les parcelles des zones traitées à celles des zones contrôles dans les parcelles avec une plus grande proportion d'îlots de chaleur, la réduction de l'abondance d'*A. vexans* n'est pas significative (valeur- $p = 0,81$). Par contre, le traitement par larvicides s'est avéré significativement efficace pour réduire l'abondance de ce moustique d'environ 61 % dans les parcelles ayant une plus faible proportion d'îlots de chaleur (valeur- $p < 0,0001$).

Ces résultats peuvent s'expliquer par la plus grande présence de gîtes favorables à la reproduction d'*A. vexans* dans les zones urbaines plus vertes, plus fraîches et plus près de points d'eau (mares, étangs, fossés, etc.).

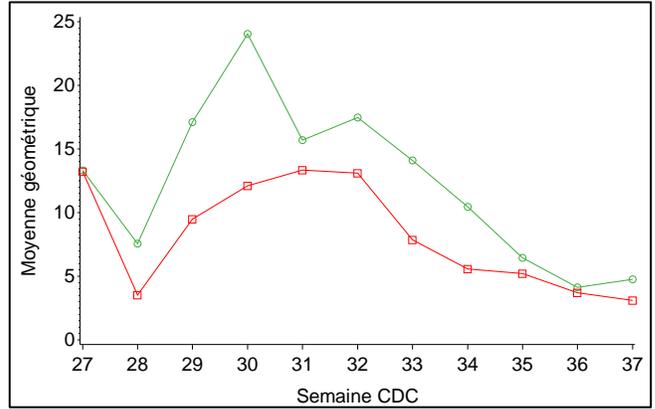
Figure 2 Abondance moyenne en *C. pipiens/restuans* en fonction du traitement et de la catégorie environnementale

a) Catégorie 1



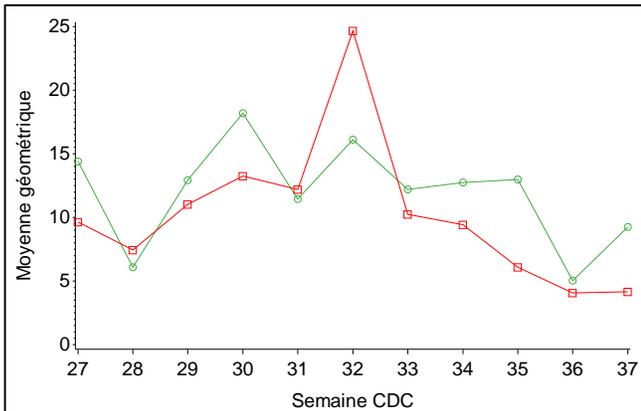
Notes : ≤ 28 % îlots de chaleur et ≤ 409 puisards de rue/km². Courbe et cercles verts = parcelles de la zone contrôlée. Courbe et carrés rouges = parcelles de la zone traitée.

b) Catégorie 2



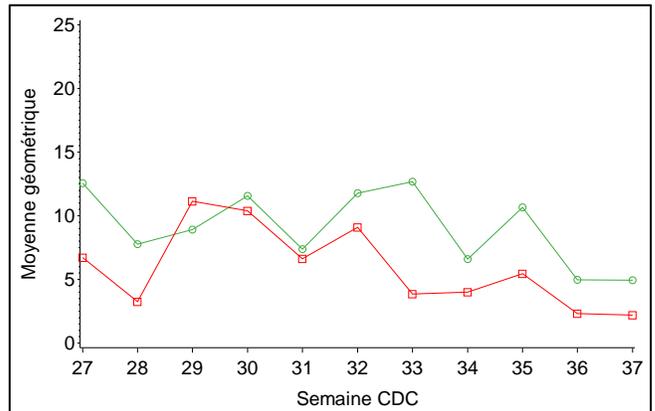
Notes : ≤ 28 % îlots de chaleur et > 409 puisards de rue/km². Courbe et cercles verts = parcelles de la zone contrôlée. Courbe et carrés rouges = parcelles de la zone traitée.

c) Catégorie 3



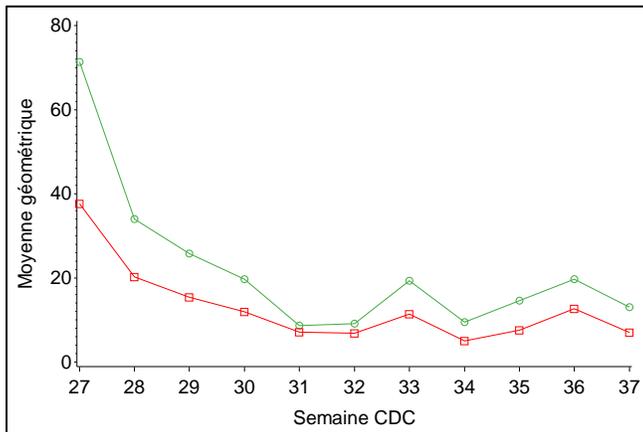
Notes : > 28 % îlots de chaleur et ≤ 409 puisards de rue/km². Courbe et cercles verts = parcelles de la zone contrôlée. Courbe et carrés rouges = parcelles de la zone traitée.

d) Catégorie 4



Notes : > 28 % îlots de chaleur et > 409 puisards de rue/km². Courbe et cercles verts = parcelles de la zone contrôlée. Courbe et carrés rouges = parcelles de la zone traitée.

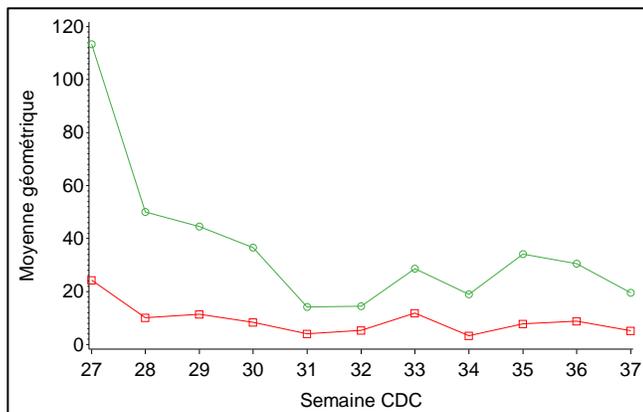
Figure 3 Abondance moyenne en *A. vexans* en fonction du traitement



Notes : courbe et cercles verts = parcelles de la zone contrôlée; courbe et carrés rouges = parcelles de la zone traitée.

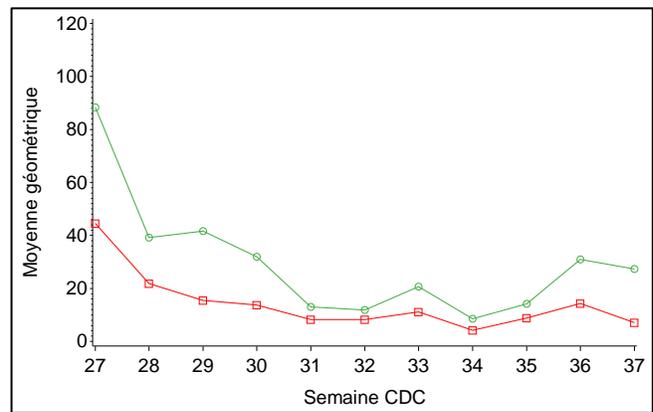
Figure 4 Abondance moyenne en *A. vexans* en fonction du traitement et de la catégorie environnementale

a) Catégorie 1



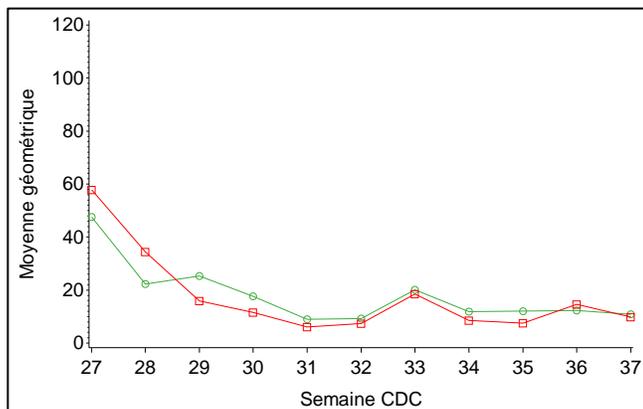
Notes : ≤ 28 % îlots de chaleur et ≤ 409 puisards de rue/km². Courbe et cercles verts = parcelles de la zone contrôlée. Courbe et carrés rouges = parcelles de la zone traitée.

b) Catégorie 2



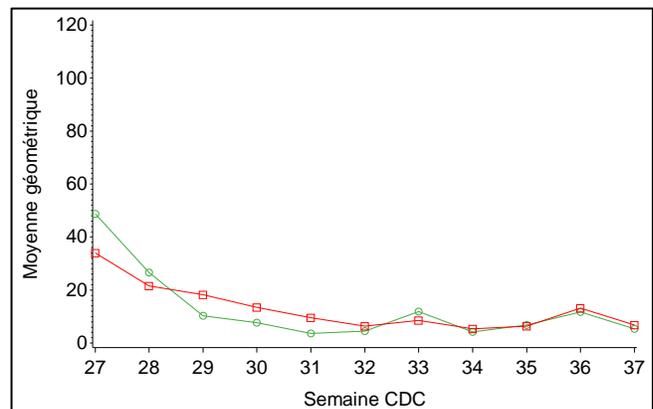
Notes : ≤ 28 % îlots de chaleur et > 409 puisards de rue/km². Courbe et cercles verts = parcelles de la zone contrôlée. Courbe et carrés rouges = parcelles de la zone traitée.

c) Catégorie 3



Notes : > 28 % îlots de chaleur et ≤ 409 puisards de rue/km². Courbe et cercles verts = parcelles de la zone contrôlée. Courbe et carrés rouges = parcelles de la zone traitée.

d) Catégorie 4



Notes : > 28 % îlots de chaleur et > 409 puisards de rue/km². Courbe et cercles verts = parcelles de la zone contrôlée. Courbe et carrés rouges = parcelles de la zone traitée.

Semaines CDC 33-37

Lorsque seule la période des semaines CDC 33 à 37 – correspondante à la période critique de transmission du VNO entre les moustiques et les humains – était analysée, les résultats étaient très semblables à ceux obtenus pour la période couvrant les semaines CDC 27 à 37. En effet, le traitement s'est avéré efficace à réduire significativement l'abondance d'*A. vexans*, d'environ 62 % (valeur- $p = 0,0004$), seulement dans les zones avec une plus faible proportion d'îlots de chaleur. Dans les zones avec une plus forte proportion d'îlots de chaleur, le traitement n'avait pas d'effet (valeur- $p = 0,86$).

L'abondance en *A. vexans* a été réduite significativement par le traitement par larvicides, seulement dans les parcelles où l'importance relative des îlots de chaleur urbains était faible (environ 61 % de réduction).

4.3 Indice vectoriel des *C. pipiens/restuans*

Le nombre de pools positifs au VNO a été faible au cours de la période estivale 2014. En effet, la proportion de pools positifs était de 1,04 % (119/11 413) pour l'ensemble des pools reçus au LSPQ, c'est-à-dire pour toutes les espèces confondues (Ouhoumanne *et al.*, 2015). La proportion de pools positifs pour les espèces *C. pipiens/restuans* et *A. vexans* était également relativement faible.

Le tableau 4 présente les statuts d'infection des pools pour ces deux espèces, selon la période d'analyse. Lorsque les données de pools sont converties en nombre de parcelles par semaine avec pools positifs, on remarque que la majorité des pools positifs sont observés pendant les semaines d'analyse CDC 27-37. Ainsi, pour cette période d'analyse, 91 des 1100 parcelles par semaine avaient des pools catégorisés positifs pour *C. pipiens/restuans*, comparativement à 93 sur 1900 pour l'ensemble de la saison.

Pour *A. vexans*, seulement 5 parcelles par semaine ayant eu des pools positifs pour l'ensemble de la saison sont observées pendant la période d'analyse. Compte tenu du faible nombre de pools positifs pour *A. vexans*, l'analyse de l'indice vectoriel pour cette

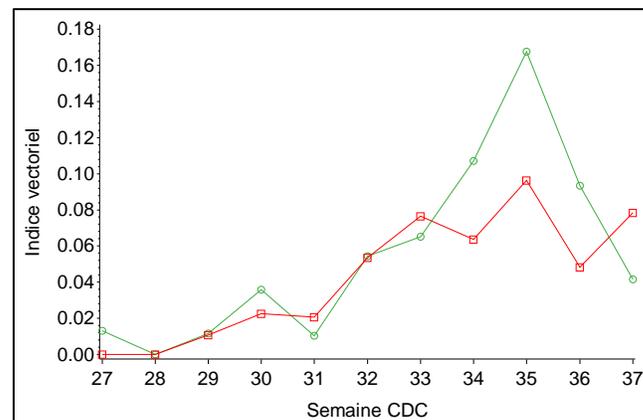
espèce n'a pas été possible. Afin de suivre l'évolution temporelle de l'infection au VNO chez les moustiques du genre *C. pipiens/restuans* selon la catégorie de traitement, l'indice vectoriel moyen par semaine et par traitement a été calculé. Il est présenté à la figure 5.

Tableau 4 Description des pools de moustiques reçus et analysés pour l'infection au VNO, selon l'espèce

Nombre de pools	<i>C. pipiens/restuans</i>	<i>A. vexans</i>
Période d'échantillonnage (CDC 23 à 41)		
Reçus	3067	3703
Analysés	3064	3651
Positifs	107 (3,5 %)	7 (0,19 %)
Négatifs	2948	3641
Indéterminés	9	3
Période d'analyse statistique (CDC 27 à 37)		
Reçus	2070	2552
Analysés	2067	2506
Positifs	105 (5,1 %)	7 (0,28 %)
Négatifs	1953	2499
Indéterminés	9	3
Période d'analyse statistique (CDC 33 à 37)		
Reçus	909	1113
Analysés	908	1080
Positifs	82 (9,0 %)	7 (0,65 %)
Négatifs	820	1070
Indéterminés	6	3

Note : les pools indéterminés sont comptabilisés dans les calculs de pourcentage.

Figure 5 Indice vectoriel moyen des *C. pipiens/restuans* en fonction du traitement



Note : courbe et cercles verts = parcelles de la zone contrôlée; courbe et carrés rouges = parcelles de la zone traitée.

Compte tenu du faible nombre de pools positifs, une régression logistique à mesures répétées a été effectuée sur une variable dichotomique (présence ou non d'un pool positif respectivement équivalent à un indice vectoriel > 0 ou égal à 0). Le traitement par larvicides n'a pas été statistiquement efficace pour réduire le risque d'observer des parcelles avec un indice vectoriel supérieur à 0 pour les *C. pipiens/restuans* (tableau 5), quelles que soient les semaines considérées dans l'analyse statistique.

Tableau 5 Influence du traitement sur l'indice vectoriel (> 0 vs 0) des *C. pipiens/restuans*

	Odd ratio	IC 95 % ^A	Valeur-p
Semaines 27 à 37			
Non traitée	1,0		
Traitée	0,87	[0,47 – 1,60]	0,65
Semaines 33 à 37			
Non traitée	1,0		
Traitée	0,77	[0,44 – 1,37]	0,38

^A IC 95 % : intervalle de confiance à 95 %.

Même si ce n'était pas l'objet de l'étude, lorsque l'influence du traitement par larvicides n'était pas considérée, la catégorie environnementale a joué un rôle sur l'indice vectoriel (tableau 6). En effet, un nombre plus élevé de pools positifs (indice vectoriel > 0) a été observé dans la catégorie environnementale 2, soit celle avec une densité de puisards élevée (> 409/km²) et une proportion plus faible d'îlots de chaleur urbains (≤ 28 %).

Tableau 6 Effet de la catégorie environnementale sur l'indice vectoriel de *Culex pipiens/restuans*

	Odd ratio	IC 95 % ^A	Valeur-p
Parcelles avec forte densité de puisards (> 409/km²)			
Ilots (≤ 28 %)	1,0		
Ilots (> 28 %)	0,41	[0,22 – 0,77]	0,006
Parcelles avec faible proportion d'îlots de chaleur (≤ 28 %)			
Puisards (≤ 409/km ²)	1,0		
Puisards (> 409/km ²)	3,16	[1,50 – 6,66]	0,002

^A IC 95 % : intervalle de confiance à 95 %.

Le traitement par larvicides n'a pas modifié, de manière statistiquement significative, l'indice vectoriel de *C. pipiens/restuans* au cours de la saison 2014.

4.4 Analyses de sensibilité

Premier scénario : inclusion de la parcelle extrême n° 25270

Pour valider les résultats, des analyses de sensibilité ont été effectuées selon différents scénarios. Dans un premier scénario, la parcelle présentant des valeurs extrêmes (n° 25270 à Longueuil) a été incluse aux analyses. Cette parcelle a présenté une abondance bien supérieure à toutes les autres au cours de l'été 2014 (section 3.3).

Cette inclusion a eu un impact important sur l'effet du traitement par larvicides pour réduire l'abondance de *C. pipiens/restuans*. En effet, le traitement par larvicides n'a pas eu d'effet significatif sur la réduction de l'abondance lorsque cette parcelle était présente dans l'analyse des semaines CDC 27 à 37 (valeur-p = 0,135, tendance de réduction d'environ 19 %). Lorsque les semaines CDC 33 à 37 ont été considérées, l'effet du traitement par larvicides a été réduit (valeur-p = 0,023, équivalente à une réduction d'environ 26 %).

Cette sensibilité démontre l'influence importante de cette parcelle extrême sur l'ensemble des résultats d'abondance de *C. pipiens/restuans*.

Dans le cas de l'analyse de l'abondance d'*A. vexans*, l'effet du traitement par larvicides a été très peu affecté. En effet, une réduction de 58 % a été observée dans les parcelles ayant une plus faible proportion d'îlots de chaleur (valeur-p < 0,0004). Quant aux parcelles à forte proportion d'îlots de chaleur urbains, aucun impact n'a été observé sur la réduction (valeur-p = 0,82).

L'inclusion de la parcelle n° 25270 n'a pas influencé les résultats des analyses de l'indice vectoriel (> 0 vs 0) de *C. pipiens/restuans*, que ce soit pour les semaines CDC 27 à 37 (valeur-p = 0,94) ou les semaines CDC 33 à 37 (valeur-p = 0,76).

Deuxième scénario : exclusion des zones traitées pour la nuisance à Laval

Dans un deuxième scénario, les parcelles situées sur le territoire d'intervention pour la nuisance de la ville de Laval ont été exclues.

L'exclusion des trois parcelles n'a pas influencé les résultats pour toutes les variables analysées. Lorsque seules les parcelles situées en zone non traitée ($n = 2$) ont été exclues, les résultats n'ont pas été modifiés.

Troisième scénario : exclusion des parcelles traitées tardivement

Dans un troisième scénario, les parcelles ayant reçu leur premier traitement tardivement (semaines CDC 25 à 27; $n = 27$) ont été exclues pour vérifier l'impact du traitement tardif sur l'abondance des moustiques et le statut infectieux (> 0 vs 0) au cours de la saison.

Cette exclusion n'a pas modifié les résultats.

Quatrième scénario : exclusion de Saint-Jean-sur-Richelieu

Dans un quatrième scénario, la municipalité de Saint-Jean-sur-Richelieu a été exclue afin de valider si l'environnement rural autour de cette municipalité pouvait affecter les résultats.

Cette exclusion n'a pas affecté les résultats.

Cinquième scénario : exclusion de certaines semaines

Finalement, certaines semaines d'analyse (p. ex. semaine CDC 27 ou 28) ont été retirées de l'analyse dans le but de vérifier que cela n'affectait pas les résultats des modèles.

Cette exclusion n'a influencé aucun des modèles.

4.5 Portée et limites de la recherche

Ce type d'étude comportait quelques limites à considérer dans l'interprétation des résultats. D'abord, l'influence de la parcelle n° 25270 à Longueuil sur l'abondance a été importante, ce qui sous-tend la présence d'autres sites larvaires non traités à proximité (voir sections 3.3 et 4.4). Les analyses de sensibilité démontrent la difficulté de rendre l'intervention en

situation réelle efficace, avec les bons et les mauvais côtés.

Une autre limite concerne la variation imprévisible du risque entomologique d'infection par le VNO dans le temps. Par exemple, si le cycle d'activité maximale du VNO 2011-2013 s'est terminé en 2013, à la suite de deux années particulièrement actives (2011 et 2012), cette situation pourrait expliquer le faible niveau d'activité du VNO au cours de l'année 2014. Cette situation a donc pu compromettre en partie l'atteinte des objectifs de l'étude, en particulier l'analyse de l'efficacité des larvicides à réduire l'indice vectoriel. Les données recueillies pourraient tout de même faciliter la prise de décision concernant les modalités de surveillance et d'intervention.

Les résultats de la présente étude reflètent uniquement la situation de l'écosystème étudié au cours de l'été 2014 et ne devraient pas permettre de généraliser les conclusions sur l'efficacité de l'application préventive des larvicides sur l'abondance des moustiques infectés par le VNO à l'ensemble du Québec. Pour cette raison, la poursuite de l'étude sur une deuxième ou même une troisième année permettrait d'obtenir des données plus complètes et plus probantes pour soutenir la prise de décisions. En effet, puisque tant l'abondance des moustiques que l'amplification du cycle infectieux du VNO sont dépendantes des conditions météorologiques et de l'écosystème – et que ce dernier est influencé par les conditions climatiques –, les chances que deux saisons estivales consécutives soient similaires au point de vue météorologique sont assez faibles.

Le choix de la zone d'intervention, traitée par larvicides, n'était ni aléatoire ni déterminé par les objectifs de l'étude. Cette situation a pu influencer les résultats des comparaisons entre les secteurs traités et les secteurs non traités. En effet, la zone d'intervention par larvicides a été identifiée comme zone « à risque » par le MSSS (en considérant la densité de la population et la survenue « anormalement élevée » de cas humains au cours des dernières années). Dans la présente étude, il est donc possible que l'efficacité des larvicides sur le nombre de moustiques infectés ait été influencée par d'autres caractéristiques, par exemple des facteurs influençant le risque plus élevé d'infection humaine par le VNO dans les secteurs ciblés par l'intervention du MSSS.

Par ailleurs, une grande variabilité a été observée dans la date de la première application du traitement par larvicides, influencée principalement par la logistique des équipes de traitement sur le terrain. Ainsi, dans certaines zones ciblées pour le contrôle larvaire des moustiques, la première application a été complétée la première semaine de juillet, comparativement à la deuxième semaine de juin pour d'autres zones. Il est donc possible qu'une génération de moustiques adultes ait pu s'installer avant le début des traitements tardifs dans certains secteurs. Bien qu'il soit difficile de cerner les impacts réels de cette situation, l'hypothèse d'une perte d'efficacité des traitements par larvicides à diminuer l'abondance de moustiques adultes ne peut être rejetée.

De plus, il est pertinent de se questionner sur l'impact de cette perte théorique d'efficacité du traitement sur le cycle d'amplification du virus. Lors d'un été caractérisé par une faible activité du VNO, comme ce fut le cas en 2014 partout en Amérique du Nord, l'impact ne devrait pas être important, bien que cette hypothèse ne puisse être vérifiée dans cette étude étant donnée l'absence de données de comparaison. Cependant, il importe de réfléchir à l'impact potentiel de la date effective de la première application lors d'une saison à haut risque et de l'importance d'optimiser les stratégies de traitement.

Certaines parcelles ont reçu leur dernière application de traitement vers la semaine CDC 32. Sachant que la durée d'efficacité théorique des larvicides est d'environ 4 semaines, les résultats entomologiques de ces stations auraient dû être attribués à la zone « non traitée » à partir de la semaine CDC 37, ce qui n'a pas été le cas.

Finalement, la firme engagée pour effectuer l'application de larvicides en était à sa première expérience d'intervention contre le VNO en 2014. Dans toute nouvelle expérience, une période d'adaptation et de rodage est nécessaire avant d'atteindre un niveau d'expertise optimal sur le terrain, tributaire du bon fonctionnement des opérations. Cette influence sur les résultats ne peut donc pas être exclue.

5 Principaux constats

- Au cours de l'été 2014, la proportion de pools de moustiques positifs au VNO a été très faible. Une situation similaire a été observée partout en Amérique du Nord.
- Le faible TI au VNO chez les moustiques a rendu difficile l'analyse de l'indice vectoriel.
- Le faible nombre de pools de moustiques infectés observés, tant dans la zone traitée que non traitée au cours de l'étude, a rendu difficiles les analyses visant à vérifier l'efficacité des traitements à réduire l'indice vectoriel.
- Le traitement par larvicides a réduit l'abondance des *C. pipiens/restuans* en zone d'intervention d'environ 23 %. Cette réduction atteint 30 % lors de la période critique de transmission du VNO entre les moustiques et les humains (semaines CDC 33 à 37).
- Dans le cas d'*A. vexans*, le traitement a été très efficace pour réduire l'abondance des moustiques d'environ 60 %, mais uniquement dans les zones à faible proportion d'îlots de chaleur. Ce résultat n'est pas surprenant étant donné que ce moustique se reproduit majoritairement dans les gîtes naturels en milieu urbain et semi-urbain.
- Au cours de l'été 2014, l'abondance en moustiques du genre *C. pipiens/restuans* a été relativement faible, comparativement à 2013.
- Les résultats pour *C. pipiens/restuans* ne permettent pas de confirmer les hypothèses de départ, soit que les différentes variables environnementales (présence d'îlots de chaleur et de puisards de rue) ont un effet sur l'abondance de moustiques et sur l'efficacité du traitement. Par contre, ces variables environnementales ont eu un effet sur l'indice vectoriel, indépendamment du traitement. Dans le cas d'*A. vexans*, la présence d'îlots de chaleur a une influence sur l'efficacité du traitement.
- Les catégories environnementales utilisées pour la détermination des parcelles ont permis de définir des secteurs comparables et de faciliter la comparaison entre les traitements pour l'analyse statistique.
- Les dates auxquelles les premiers traitements ont été complétés n'étaient pas uniformes entre les zones, la différence étant parfois de plusieurs semaines entre ces dernières. Il est donc possible que les résultats aient été influencés par cette situation.

6 Références

- Baker, S. L., Yan, N. D. (2010). Accumulated organic debris in catch basins improves the efficacy of S-methoprene against mosquitoes in Toronto, Ontario, Canada. *Journal of the American Mosquito Control Association*, 26(2), 172-182.
- Biggerstaff, B. J. (2015). PooledInfRate, Version 4.0: a Microsoft® Office Excel © Add-In to compute prevalence estimates from pooled samples, Centers for Disease Control and Prevention, Fort Collins, CO, U.S.A.
- Boisvert, M. (2005). Suivi des populations de moustiques adultes dans des zones traitées et non traitées de la région métropolitaine de Montréal. Été 2004, Société de protection des forêts contre les insectes et maladies.
- Carney, R. M., Husted, S., Jean, C., Glaser, C., Kramer, V. (2008). Efficacy of aerial spraying of mosquito adulticide in reducing incidence of West Nile virus, California, 2005. *Emerging Infectious Diseases*, 14(5), 747-754.
- Centers for Disease Control and Prevention (2013). West Nile virus in the United States: Guidelines for surveillance, prevention, and control. Fort Collins, Colorado.
- CERFO (2013). Identification et localisation des îlots de chaleur et de fraîcheur pour tout le Québec urbain. Note technique, 2013-01.
- Ciota, A. T., Drummond, C. L., Ruby, M. A., Drobnack, J., Ebel, G. D., Kramer, L. D. (2012). Dispersal of *Culex* mosquitoes (Diptera: Culicidae) from a wastewater treatment facility. *J Med Entomol.*, 49(1), 35-42.
- Hribar, L. J., Fussell, E. M., Leal, A. L. (2011). Larviciding offshore islands reduces adulticidal treatment of populated areas adjacent to national wildlife refuges. *Journal of the American Mosquito Control Association*, 27(4), 408-413.
- Labbé, Y., Aubé-Maurice, B., Vézina, A., Boivert, J., Gingras, D. (2006a). Revue des mesures de prévention et de protection contre le virus du Nil occidental. Étude d'impact stratégique du Plan d'intervention gouvernemental de protection de la santé publique contre le virus du Nil occidental. Rapport sectoriel 3. Institut national de santé publique du Québec.
- Labbé, Y., Bolduc, D., Chaussé, K., Aubé-Maurice, B., Douille-Fradet, M., Pinsonneault, L., Samuel, O., Valcke, M. (2006b). Étude d'impact stratégique du Plan d'intervention gouvernemental de protection de la santé publique contre le virus du Nil occidental: rapport principal. Institut national de santé publique du Québec. Repéré à <http://www.santecom.qc.ca/bibliothequevirtuelle/hyperion/9782550508908.pdf>
- Lanciotti, R. S., Kerst, A. J., Nasci, R. S., Godsey, M. S., Mitchell, C. J., Savage, H. M., ... Roehrig, J. T. (2000). Rapid detection of west nile virus from human clinical specimens, field-collected mosquitoes, and avian samples by a TaqMan reverse transcriptase-PCR assay. *J Clin Microbiol.*, 38(11), 4066-4071.
- Macedo, P. A., Schleier III, J. J., Reed, M., Kelley, K., Goodman, G. W., Brown, D. A., Peterson, R. K. D. (2010). Evaluation of efficacy and human health risk of aerial ultra-low volume applications of pyrethrins and piperonyl butoxide for adult mosquito management in response to West Nile virus activity in Sacramento County, California. *Journal of the American Mosquito Control Association*, 26(1), 57-66.
- Micucci, S. (2004). The effectiveness of methoprene for controlling mosquito populations in Ontario that can carry West Nile virus (Provisional abstract), Database of Abstracts of Reviews of Effects.
- Ouhoumanne, N., Back, C., Milord, F., Therrien, C. (2015). *Surveillance de l'infection par le virus du Nil occidental au Québec : saison 2014*. Institut national de santé publique du Québec. Repéré à www.inspq.qc.ca/publications/2030

- Ouhoumanne, N., Lowe, A.-M., Back, C., Lebel, G., Milord, F., Therrien, C., Lair, S., Picard, I. (2014). *Surveillance de l'infection par le virus du Nil occidental au Québec : saison 2013*. Institut national de santé publique du Québec. Repéré à www.inspq.qc.ca/publications/1904
- Paz, S., Semenza, J. C. (2013), Environmental drivers of West Nile fever epidemiology in Europe and Western Asia. A review. *Int J Environ Res Public Health*, 10(8), 3543-3562.
- Pinsonneault, L., Niyonsenga, T., Lebel, G. (2006). Mosquito control and corvidea surveillance: exploring spatial variations in mosquito abundance and corvidea counts in the province of Québec 2002-2003 (poster). American society for microbiology, National conference on West Nile Virus in the United States.
- Raval-Nelson, P., Soin, K., Tolerud, S. (2005). Analysis of *Bacillus sphaericus* in controlling mosquito populations in urban catch basins. *J Environ Health*, 67(7), 28-31, 56.
- Reisen, W., Brault, A. C. (2007). West Nile virus in North America: perspectives on epidemiology and intervention. *Pest. Manag Sci*, 63(7), 641-646.
- Ruiz, M., Tedesco, C., McTighe, T., Austin, C., Kitron, U. (2004), Environmental and social determinants of human risk during a West Nile virus outbreak in the greater Chicago area. *Int J Health Geogr*, 3(1), 8.
- Ruktanonchai, D. J., Stonecipher, S., Lindsey, N., McAllister, J., Pillai, S. K., Horiuchi, K., ... Hills, S. L. (2014). Effect of aerial insecticide spraying on west nile virus disease :North-Central Texas, 2012. *The American journal of tropical medicine and hygiene*, 91(2), 240-245.
- Société de protection des forêts contre les insectes et maladies (2013). Rapport des travaux d'application de larvicides en prévention. Saison 2013. Volet contrôle vectoriel du plan d'intervention gouvernemental contre le virus du Nil occidental
- Stockwell, P. J., Wessell, N., Reed, D. R., Kronenwetter-Koepel, T. A., Reed, K. D., Turchi, T. R., Meece, J. K. (2006). A field evaluation of four larval mosquito control methods in urban catch basins. *J Am Mosq. Control Assoc*, 22(4), 666-671.

www.inspq.qc.ca