REPUBLIQUE ALGERINNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

ECOLE NATIONALE SUPERIEURE VETERINAIRE – ALGER
المدرسة الوطنية العليا للبيطرة- الجزائر

MEMOIRE
EN VUE DE L'OBTENTION
DU DIPLOME DE MAGISTERE EN SCIENCES VETERINAIRES

OPTION **: Gestion des Maladies Infectieuses**

Thème

Contribution à une enquête de séroprévalence de la Fièvre du Nil de l'Ouest chez les chevaux dans les régions d' : Alger, Blida et Boumerdes

Présenté Par **:**

YOUNES BOUACIDA Nadia Soraya

Soutenu le : *24Juin 2014* ***Devant le jury :***

Président	HAMDI Taha Moussadek	Pr.	ENSV-Alger
Promotrice	AIT-OUDHIA Khatima	MCA.	ENSV-Alger
Examinateur	KHELEF Djamel	MCA.	ENSV-Alger
Examinatrice	SAHRAOUI Lynda	MAA.	ENSV-Alger
Examinateur	BITAM Idir	MCA.	Univ. Boumerdes

Année Universitaire 2013/2014

Remerciements et dédicaces :

Je remercie DIEU le tout puissant de m'avoir accordé, courage et volonté afin de mener ce travail à terme.

J'adresse mes remerciements les plus sincères à :

Monsieur le Professeur Hamdi M.M. d'avoir honoré en acceptant de présider le jury.
Madame Ait Oudia K. Maître de conférences A d'avoir accepté d'encadrer ce travail en témoignage de ma profonde reconnaissance.
Monsieur le Professeur Khalef D. d'avoir accepté d'être membre du jury et d'examiner mon travail.
Monsieur Bitam I. Maître de conférences A d'avoir accepté d'être membre du jury et d'examiner mon travail.
Madame Sahraoui Maître assistant d'avoir accepté d'être membre du jury et d'examiner mon travail.

Hommages respectueux à:
Madame Benefentki, Professeur en Médecine interne à l'hôpital de Rouiba,
Monsieur Hassini,
Monsieur Boudoukha, Directeur de l'INMV,

Je remercie énormément mes collègues pour leur complicité;
Aussi:
Dr.Taleb pour son grand esprit vétérinaire ;
Dr.Bezzaz Sihem vétérinaire, pour son aide et ses encouragements ;
Dr.Belkadi Souhila
Dr.Reguem Souad ;
M. Moustapha Sahbaoui de Caroubier ;

Un remerciement particulier aux responsables des clubs hippiques qui m'ont ouvert leurs portes et ainsi qu'aux personnes qui m'ont apporté leur aide.

CHP Caroubier, CEBlida ,CHP de Mohammadia et Centre équestre de Zeralda.

Je remercie et je dédie ce travail à mes chers et tendres parents pour leur patience et leur générosité, que DIEU me les garde.

Et en la mémoire de mes grands-parents qui m'ont appris écoute, observation et patience.

Je remercie aussi :

Mon frère Amine ;
Mon Amie et binôme sur le terrain avec qui j'ai partagé des moments et aventures inoubliables dans le monde équin et j'espère qu'il y en aura encore …… to be continued ;

Mon ami et frère Moustapha Kalafat pour toute son aide et de forts moments sur le terrain où les prélèvements sanguins sont devenus une vraie partie de plaisir ;

Kheireddine Khaled, qui me tarabustait pour mes retards abusifs et m'encourageait et me mettait la bonne pression pour que j'y avance ;

M. Abidat, qui m'a coaché au club, comme sur le terrain où un lien fort est né ;

Dr.Nazim Mohamed Berrarhi pour sa clairvoyance et son écoute ;
Dr.Newfel Bougandoura, pour ses orientations, conseils et échanges dans le monde équin ;
M.Fahed Chouli ; M.Mourad un pro des lames ;

Ainsi qu'à tout propriétaire ou éleveur ayant voulu contribué de près comme de loin.

Sincèrement, Soraya

Première partie : Étude bibliographique
Introduction 1
Problématique et Objectifs 2
I. Définition et réglementation 4
II. Historique et situation 4
II.1 Dans le monde 5
II.2 En Algérie 7
II.2.1 Chez les animaux 8
II.2.2 Chez l'homme 8
III. Biologie de l'infection 8
III. 1 Le virus 8
III.1.1 Aspects taxinomiques et classification 8
III.1.2 La structure et le génome 9
III.1.3 Le rôle de la protéine d'enveloppe E 11
III.1.4 Le rôle des autres protéines 11
III.1.5 Diversité et virulence 11
III.1.6 Les lignages 11
III.1.7 Propriétés physico-chimiques du virus 13
III.1.8 Le cycle de réplication virale 14
III.1.9 Pathogénèse 15
III.1.10 Physiopathologie de l'infection 16
III.1.10.1 Infection expérimentale 16
III.1.10.2 Tropisme tissulaire 16
III.2 Vecteurs 17
III.2.1 Les moustiques 18
II.2.1.1 Aspect taxonomique des moustiques 19
III.2.2 La transmission vectorielle et la notion de capacité vectorielle 21
III.3 Réservoirs 25
III.3.1 Voies de migration et Oiseaux migrateurs 26
III.3.2 Oiseaux migrateurs rencontrés en Algérie 27
III.4 Hôtes finaux-accidentels 28
III.5 Le cycle de transmission 28
III.6 Modes de transmission 30
III.6 .1 Piqûre de moustique 30
III.6 .2 Peros : 30
III.6 .3 Transmission occupationnelle 30
III.6 .4 Transplantation ou transfusion 30
III.6 .5 Voie trans-placentaire 31
III.6 .6 Voie lactée 31
III.6. 7 : Autres 31
IV. Symptomatologie 31
IV.1 Signes clinique 31
IV.1.1 Chez le cheval 31
IV.1.2 Chez les oiseaux 35
IV.1.3 Chez l'homme 35
IV.2 Lésions tissulaires anatomo-pathologiques 36
IV.2.1 Chez le cheval 36
IV.2.2 Chez les oiseaux 37
V. La réponse immunitaire dirigée contre le VNO chez le cheval 37
V.1 La réponse immunitaire à médiation humorale 37

V.2 La réponse immunitaire à médiation cellulaire 38
VI. Diagnostic de la maladie et le dépistage de l'infection 39
VI.1 Diagnostic épidémiologique 39
VI.2 Diagnostic clinique 39
VI.3 Diagnostic différentiel 39
VI.3 .1 Chez le cheval 39
VI.3 .2 Chez l'homme 39
VI.3 .3 Chez les oiseaux 39
VI.4 Diagnostic de laboratoire 39
VI.4.1 Identification de l'agent pathogène 40
VI.4.1.1 Culture 40
VI.4.1.2 Méthode de marquage immuno-histochimique (IHC) 40
VI.4.1.3 Mise en évidence du génome viral du virus West Nile 41
VI.4.2 Les épreuves sérologiques 41
VI.4.2.1 Méthodes ELISA 41
VI.4.2.2 La séroneutralisation 42
VII. Traitement & Prophylaxie médicale et sanitaire 43
VII.1Mesures Individuelles 43
VII. 1.1 Traitement symptomatique chez le cheval 43
VII.2 Mesures collectives de police sanitaire 44
VII.3 Prophylaxie sanitaire 44
VII.3.1. Mesures offensives 44
VII.3.2. Mesures défensives 44
VII. 3.2.1 Chez le cheval 44
VII. 3.2.2 Chez l'homme 44
VII.4 Prophylaxie médicale 45
VII.4.1 Vaccin chez le cheval 45
VII.4.2 Vaccin chez l'homme 46

Seconde partie : Étude expérimentale
Objectif de l'étude 47
I. Matériel et méthodes 47
I.1 Élaboration d'un questionnaire 47
I.1.1 Échantillon 48
I.2 Délimitation des zones 48
I.3 La récolte des prélèvements 49
I.3.1 La trousse de prélèvement *au sensu stricto* pour une prise de sang veineux 49
I.3.2 Réalisation de la prise de sang 50
I.4 Réalisation du test ELISA 53
I.4.1 Description et principe 53
I.4.1.1 Objet et domaine d'application 53
I.4.1.2 Références normatives 54
I.4.1.3 Composants du kit 54
I.4.1.4. Principe de la méthode 55
I.4.2 Mode opératoire 55
I.4.2.1 Validation du test 58
I.4.2.2 Interprétation 58
I.5 Calcul des statistiques 59
II. Résultats et discussion 59

II.1 La séroprévalence globale 59
II.2 La prévalence dans les régions étudiées 60
II.3 Influence des facteurs 63
II.3.1 Les facteurs intrinsèques 63
II.3.1.1 Selon le sexe 63
II.3.1.2 Selon l'âge 64
II.3.1.3 Selon la race 65
II.3.1.4 Selon les robes 67
II.3.2 Les facteurs extrinsèques 68
II.3.2.1 Selon le taux d'humidité 68
II.3.2.2 Selon la saison 70
II .3.2.3 Selon l'habitat 71
II .3.2.4 Selon la présence des oiseaux 73
II .3.2.5 Selon la mise en place de moyens de lutte anti-vectorielle 74
III. *Conclusion* 77
IV. Recommandations 78
IV. 1-Surveillance passive 78
IV. 2. Surveillance active 78
Références bibliographiques 79

Liste des figures

Figure 1 : Distribution géographique du virus West Nile 4
Figure 2 : Virus West Nile en microscopie électronique 9
Figure 3 : Schéma de la structure du virus West Nile 10
Figure 4 : Génome du virus West Nile 10
Figure 5: (a),(b) Analyse phylogénétique du virus West Nile 13
Figure 6: Cycle de réplication des *Flavivirus* 15
Figure 7 : Schéma montrant le cheminement du virus dans le corps d'un moustique vecteur. 21
Figure8 : La PIE varie selon la température 22
Figure 9: Insertion des pièces buccales dans un capillaire et repli du labium à la surface du tégument 24
Figure 10: Cycle de *Culex pipiens pipiens* 25
Figure 11 : Principales voies de migration mondiales des oiseaux dans le monde 27
Figure 12: Cycle de transmission du virus West Nile 29
Figure 13 : Courbes décrivant l'apparition des anticorps 38
Figure 14 (a,b): Zone (est, sud) 48
Figure 14 (c,d): Zone (centre, ouest) 49
Figure 15 : Répartition des chevaux infectés et non infectés 59
Figure 16: Répartition des chevaux en 4 zones 61
Figure 17: Répartition des chevaux séropositifs en 4 zones 61
Figure 18 : Répartition des chevaux selon le sexe 63
Figure 19: Répartition des chevaux séropositifs selon le sexe 63
Figure 20: Répartition des chevaux selon l'âge 64
Figure 21: Répartition des chevaux séropositifs selon l'âge 64
Figure 22: Répartition des chevaux selon les races 65
Figure 23 : Répartition des chevaux séropositifs selon la race 66
Figure 24 : Répartition des chevaux selon les robes 67
Figure 25 : Répartition des chevaux séropositifs selon les robes 67
Figure26: Répartition des chevaux selon les zones humides et moins humides 68
Figure27: Répartition des chevaux séropositifs selon les zones humides et moins humides 69
Figure 28 : Répartition des chevaux selon la saison 70
Figure 29 : Répartition des chevaux séropositifs selon la saison 70
Figure 30 : Répartition des chevaux selon leur habitat 71
Figure 31 : Répartition des chevaux séropositifs selon leur habitat 72
Figure 32 : Présence d'oiseaux dans le milieu de vie des chevaux 73
Figure 33 : Présence d'oiseaux dans le milieu de vie des chevaux séropositifs 73
Figure 34: Répartition des chevaux selon l'existence de moyens de lutte anti-vectorielle 75
Figure 35 : Répartition des chevaux séropositifs selon l'existence de moyens de lutte anti-vectorielle 75

Liste des tableaux

Tableau1: Nombre de cas signalés en Europe et dans les pays limitrophes de l'Europe de 2011 à 2013 6
Tableau 2 : Enquête sérologique West Nile, 1975, Djanet 8
Tableau 3 : Récapitulatif des enquêtes sérologiques menées entre 1973 et 1994. 8
Tableau 4: Symptomatologie lors d'infection expérimentale chez le cheval se traduit par 2 formes complémentaires mais le l'une de type myélitique subaigüe ou chronique, l'autre de type méningo-encéphalo-myélitique aigue ou subaigüe 33
Tableau 5 : Les intervalles d'interprétation en pourcentage 58

Liste des photos

Photo 1 **:** Femelle du culex au cours d'un repas sanguin 20
Photo2 : Cheval atteint de la maladie due au virus West Nile, avec un soutien permettant d'éviter les chutes. 32
Photo 3 : Symptômes neurologiques chez un cheval atteint de la fièvre du Nil occidental 32
Photo 4 (a) et (b) : Matériel utilisé 50
Photo 5: Asepsie et compression au niveau du sillon jugulaire 51
Photo 6: Prise d'un prélèvement veineux (veine jugulaire) 51
Photo 7: Tubes mis dans un porte-tubes 51
Photo 8 : (a) et (b) : Centrifugeuse et la mise en place des tubes à l'interieur de celle-c 52
Photo 9 : Séparation du sang en 2 phases le culot et le surnageant après centrifugation 52
Photo 10: Récolte du sérum avec une micropipette munie d'embout 52
Photo 11 : Mise du sérum dans les eppendorfs à l'aide de la micropipette. 53
Photo 12: Réactifs et plaque du kit ELISA Competition West NILE 54
Photo 13: Sera de chevaux 55
Photo 14 : Lavage avec une solution de lavage (1X) 56
Photo 15: Distribution du conjugué (1X) 56
Photo 16 : Plaque après incubation avec le substrat (solution de révélation), l'enzyme a modifié le chromogène substrat d'où son passage de l'incolore au bleu 57
Photo 17: Distribution de la solution d'arrêt en cours (modification de couleur du bleu au jaune dans les cupules) 57
Photo 18: Plaque avec la solution d'arrêt prête pour la lecture (plaque terminée) 57
Photo 19 : Lecture au spectrophotomètre /Lecteur ELISA 57

Liste des annexes

Annexe 1: Virus de la famille des *Flaviviridae*
Annexe 2: Comparaison entre *Culex pipiens* et *C.modestus*
Annexe 3 : Caractères éco-physiologique des membres du complexe *Cx.pipiens*
Annexe 4 : Questionnaire
Annexe 5 : La notice du kit « ID Screen West Nile competition ».
Annexe 6: Tableau d'Excel des 3 plaques.
Annexe 7: F I È VR E D E WE S T NI L E/ OIE

Liste des abréviations

Ac : Anticorps
ADN : Acide Désoxyribonucléique
ADE : Antibody-dependant enhancement
Ae: Aedes
A.M.M. : Autorisation de Mise sur le Marché
AN: Anautogène
A.Q.P.S. :Autre que pur-sang
ARN: Acide ribonucléique
ARNm : Acide ribonucléique messanger
AU: Autogène
Cm : Centimétre
CDC : Centers for Disease Control and Prevention
CPC : Virus Cacipacore
Cx: Culex
DC-SIGN: Dendritic Cell-Specific Intercellular adhesion molecule-3-Grabbing Non-integrin
DO : Densité Optique
DO-CN: Densité Optique du Contrôle Négatif
DO-CP : Densité Optique du Contrôle Positif
EEE : Encéphalite Équine de l'Est
EEV : Encéphalite Vénézuélienne
EHV-1 : Herpès virus équin de type 1 la rhinopneumonie
EJ : Encéphalite Japonaise
ELISA : Enzyme Linked Immunosorbent Assay (Test Immuno-Enzymatique)
ESL : Encéphalite de Saint Louis
Fc : Fragment Constant
FNO : Fièvre du Nil de l'ouest ou occidental
HPR : Peroxydase de Raifort
IC : Intervalle de confiance
ICTV : International Commitee on Taxonomy of Viruses (Comité International de Taxonomie des Virus)
Ig : Immunoglobulines
IgG : Immunoglobulines de classe G

IgM : Immunoglobulines de classe M
IHC : Immuno-histochimique
IHA : Inhibition de l'hémagglutination
I.M. Intra musculaire
IV : Intraveineuse
Km : Kilomètre
KOU : Virus Koutango
L : larve
L.C.R. : liquide Céphalo-rachidien
LT : Lymphocyte T
MDO : Maladie à Déclaration Obligatoire
MEMV : Méningo-encéphalo-myélite virale
ml :mililitre
mm : Millimètre
mm^3 : Millimètre cube
min: Minute
MRLC : Maladie Réputée Légalement Contagieuse
MVE :Encéphalite de la Vallée de Murray /Encéphalite de la Murray Valley (MVE)
nm : Nanomètre
µL: Microlitre
nRT-PCR :Reverse Transcriptase Polymerase Chain Reaction nichée
OIE :Organisation mondiale de la santé animale
PCR: Polymerase Chain Reaction (Réaction de polymérisation en chaîne)
Protéine C : Protéine de la capside,
PrM : protéine de pré-membrane du virus West Nile
Protéine E : Protéine d'enveloppe virale
Protéine NS :protéine non structurale
-NS1 : Protéine non structurale 1 du virus West Nile
-NS3 : Protéine non structurale 3 du virus West Nile
-NS5 : Protéine non structurale 5 du virus West Nile
pb : Paire de bases
PIE : Période d'incubation extrinsèque
Ppm : Partie par million
R.C.A : République centrafricaine
RE: Réticulum endoplasmique
RESPE : Réseau d'Epidémio-surveillance en Pathologie Equine
RT-PCR : Reverse Transcriptase Polymerase Chain Reaction
RIMH : Réponse immunitaire à médiation humorale
RIMC :Réponse immunitaire à médiation cellulaire
SNC : Système nerveux central
SNP : Système nerveux périphérique
TBEV : Virus de l'Encéphalite à Tiques
TMB : Solution de révélation
VERO : Cellules rénales de singe vert africain Cercopithecus aethiops
VNO : Virus du Nil Occidental

VUSU: Virus Usutu/ virus Usutu (USU),
VWN : Virus West Nile
WN: West Nile
WNF : West Nile Fever
YAO : Virus Yaounde.

PREMIERE PARTIE : ETUDE BIBLIOGRAPHIQUE

Introduction

Une maladie ancienne, aujourd'hui faisant la une, la fièvre du Nil de l'Ouest ou Occidental (FNO) connue aussi sous l'acronyme anglais de la West Nile Fever (WNF) est une zoonose vectorielle ré-émergente. Celle-ci occupant le devant de la scène scientifique et médiatique, est due à un arbovirus du genre *Flavivirus* appartenant à la famille des *Flaviviridae*. Il a été décrit pour la première fois en 1933 (Zeller *et al* 2001), isolé par la suite en 1937 à Omogo dans le district du Nil de l'Ouest au nord de l'Ouganda, à l'ouest du Nil Albert (Anderson *et al.* 1999) chez une femme souffrant d'une forte fièvre (Smithburn *et al.,* 1940).

C'est en 1942, qu'il a été établi que le virus présentait une parenté antigénique avec d'autres arbovirus qui causaient des encéphalites (l'Encéphalite de Saint Louis et l'Encéphalite Japonaise) (Smithburn *et al*., 1942).

Les premières éclosions ont été rapportées dans les années cinquante en Israël (Hubalek & Halouzka 1999). Durant cette même période , le cycle de transmission a été décrit où des arthropodes hématophages : moustiques ornithophiles et et synanthropes ,principalement ,du genre *Culex* en étaient responsables .Ces derniers s'infectent en piquant des oiseaux réservoirs et/ou amplificateurs et infectent à leur tour d'autres oiseaux , chevaux , hommes et d'autres mammifères conduisant à des manifestations allant d'une fièvre bénigne jusqu'à une méningo-encéphalite parfois mortelle .L'homme ,comme le cheval constituent des hôtes accidentels - des impasses au cycle- .

Cette maladie est entrain de se propager depuis quelques années dans les parties du monde avec des répercussions croissantes sur les santés animale et humaine. Elle a occasionné différentes épizooties de méningo-encéphalites chez l'homme ainsi que chez le cheval avec des conséquences graves dans le bassin méditerranéen, en Europe, en Asie et en Amérique du nord (Schuffenecker& Zeller 2004; Rossi *et al.* 2010), où des pertes humaines et animales ont déjà été rapportées et peut être à l'origine de véritables pertes sanitaire et économique.

D'après des sources historiques le virus pourrait avoir existé depuis l'Antiquité, Alexandre le Grand, est mort à Babylone en 323 avant Jésus Christ, en Mésopotamie.

Sa mort serait conséquente à une maladie fébrile ayant duré deux semaines où de nombreuses hypothèses ont été posées quant à son origine, de l'empoisonnement jusqu'au meurtre et autres maladies infectieuses. Elle est survenue en même moment où des signes

comportementaux inhabituels étaient observés chez des corbeaux et la mort de certaines espèces d'oiseaux. Aussi, il est suspecté qu'Alexandre le Grand soit mort d'une encéphalite au virus West Nile (Marr & Calisher, 2003).

Problématique

L'importance d'étudier les zoonoses vectorielles émergentes , n'est plus à démontrer d'un point de vue sanitaire, aussi bien pour l'homme que pour l'animal, donnant tout son sens à un nouveau concept à titre d'exemple celui qui a été établi à New York en 2004 "One World, One Health" qui est une marque de la Wildlife Conservation Society .Ce dernier met en avant une approche interdisciplinaire et transversale de la prévention des maladies épizootiques et prévoit de maintenir l'intégrité des écosystèmes en réduisant les risques de ces maladies .

L'absence de données des prévalences en Algérie de l'infection équine et avifaune au virus West Nile remontent à 1994, depuis ,elle est considérée comme une maladie à déclaration obligatoire (*Cf. Réglementation*) ,ainsi que celle d'une surveillance épidémiologique à l'heure où cette infection est entrain de regagner en activité dans le bassin méditerranéen, en Afrique du nord mais aussi dans les autres parties du globe où elle suscite un grand intérêt ,poussent à en savoir davantage sur la question . ***Qu'en est –il du statut sanitaire actuel de l'infection en Algérie ?***

-Quels sont les risques pour la santé publique liés à la fièvre de West Nile, ainsi que ceux liés à la santé animale?

- Le bouleversement climatique, les zones humides, le flux migratoire de l'avifaune et la diversité des vecteurs sont des facteurs prédisposants à l'émergence/ réémergence de cette arbovirose. ***Peut-on arriver à dire que c'est un phénomène qui évolue insidieusement sur le plan de la réémergence ?***

Les objectifs visés par cette étude sont de :

- ~ Évaluer le statut sanitaire en établissant une enquête de séroprévalence chez une population de chevaux.
- ~ Évaluer dans un proche avenir le statut sanitaire en établissant une enquête de séroprévalence chez une population d'oiseaux migratoires et sentinelles.

- ~ Avoir un aperçu sur la situation relative à cette arbovirose en Algérie par une recherche d'une éventuelle circulation à bas bruit du virus dans les régions étudiées afin de ''localiser'' des foyers à risque en pointant du doigt les paramètres prédisposants et favorisants.
- ~ Instaurer un dispositif de surveillance humaine et de diagnostic lors de suspicion ou d'atteinte nerveuse (méningite ou de fièvre d'origine inconnue) au niveau des services des maladies infectieuses.
- ~ Toucher les pouvoirs publics afin d'élargir les horizons en établissant des mesures de surveillance épidémiologique concernant les arboviroses émergentes et ré-émergentes en général et la West Nile en particulier afin de protéger la santé des populations humaine et équine.
- ~ Inciter à ce qu'il y ait des enquêtes menées conjointement par les ministères de la Santé, de l'Agriculture et le développement rural.

Suite à une étude bibliographique basée sur une revue exhaustive de la littérature sur ce sujet à partir d'articles scientifiques ,visant à soulever le voile sur la maladie de West Nile en Algérie et éventuellement sur la probabilité de la réémergence après une longue période de silence clinique, une étude expérimentale est présentée en exploitant des prélèvements de sérums équins provenant de chevaux des régions rurales et citadines d'Alger, de Boumerdes et Blida qui résulte de la collaboration de nombreux propriétaires de chevaux, de vétérinaires et aussi de clubs hippiques.

Cette étude vise à connaitre la prévalence de cette infection au niveau des populations équine et celle de la population avifaune résidente et migratrice ultérieurement et à prévenir une prochaine apparition afin de mettre en place des moyens prophylactiques en concordance avec notre pays.

L'ordre des chapitres est reproduit en s'inspirant de thèses et de publications.

I. Définition et réglementation

La fièvre du Nil de l'Ouest est une zoonose vectorielle due à un *Flavivirus* transmis par piqûre de moustique du genre *Culex* à partir d'oiseaux, provoquant des symptômes d'allure grippale pouvant évoluer vers des manifestations nerveuses de type méningites et méningo-encéphalites voire la mort chez le cheval comme l'homme.

Réglementation

La Fièvre du Nil occidental (West Nile) est une zoonose listée dans le *Code sanitaire pour les animaux terrestres* de l'Organisation mondiale de la santé animale (OIE) et elle doit être déclarée à l'OIE où elle est considérée comme une Maladie Réputée Légalement Contagieuse (MRLC) uniquement pour les équidés et une Maladie à Déclaration Obligatoire (MDO) uniquement pour les oiseaux.

En Algérie : La Fièvre du Nil occidental est considérée comme une maladie à déclaration obligatoire (Décret exécutif n° 95-66 du 22 Ramadhan 1415 correspondant au 22 Février 1995 fixant la liste des maladies animales à déclaration obligatoire et les mesures générales qui leurs sont applicables).

II. Historique et situation

Actuellement, le virus est présent sur tous les continents à l'exception de l'Antarctique faisant de lui le virus le plus répandu des *Flaviviridae* dans le monde après celui de la dengue (Kramer *et al.*, 2008), (www.pasteur.fr) , alors que son activité était méconnue en Amérique avant 1999 (Hubalek & Halouzka 1999).

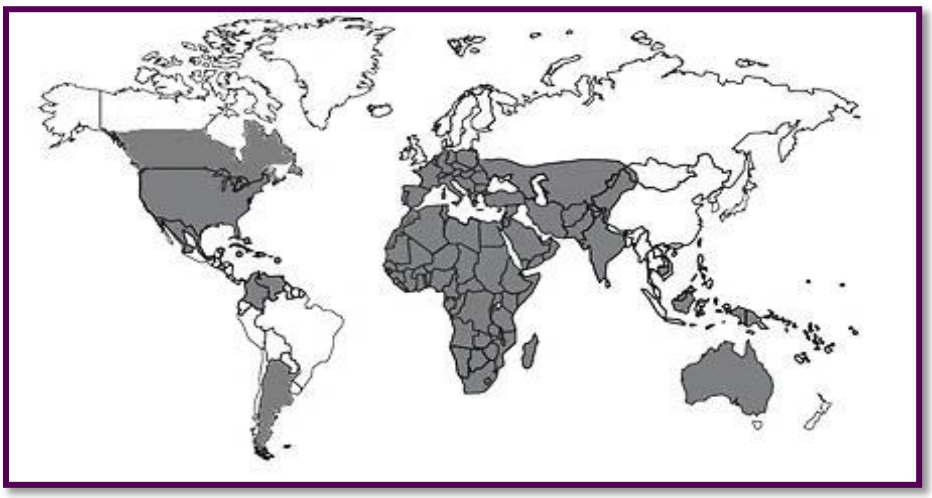


Figure 1 : Distribution géographique du virus West Nile (en gris) dans le monde (Kilpatrick, 2011), (*Extraite de la thèse de Fadila Amraoui ,2012*)

Au début, il était considéré comme responsable de formes bénignes de pathologies de type grippal jusqu'où les manifestations d'encéphalite humaine ont été rapportées en Israël en 1950.

D'autres cas d'encéphalites et de décès ont été rapportés par la suite (voir ci-dessous).

II.1 Dans le monde

-La première épidémie due au VNO/ WNV a été rapportée en Israël en 1951-1952 (Bernkopf *et al.,* 1953) où les premières manifestations neurologiques graves et des cas mortels ont été rapportées en1957 et en 1962 (Hayes, 1989).

-Le VNO a également sévi en France (1962; Joubert *et al.,* 1970) et en Afrique du Sud (1974, 1984-1986; McIntosh *et al.,* 1976; Jupp *et al.,* 1986).

-A partir de 1994, des premiers cas humains ont été rapportés en Algérie, en Tunisie (1997) et au Maroc (1996) (Triki *et al.,* 2001).

L'arbovirus révèle une pathogénicité plus importante et est à l'origine de plusieurs épisodes épidémiques observés chez l'homme et/ou les chevaux.

Dès lors, des cas humains et équins ont été recensés au Maroc et en Tunisie en 2003, 2010 et 2011 (Garbouj *et al.,* 2003; Schuffenecker *et al.*,2005; Ben Hassine *et al.,* 2011; ECDC 2011).

-En 1996, une épidémie a éclaté à Bucarest (Roumanie) 835 cas d'encéphalite dont 17 mortelles (Tsai *et al.* ,1998). (Épidémie récente d'ampleur significative) lors de laquelle 89% des patients hospitalisés présentaient une infection du S.N.C. (www.aphis.usda.gov/vs/nahss/equine/wnv).

-En 1999, 826 cas ont été rapportés dont 40 décès ont été rapportés dans les villes de Volzskii et Volvograd, en Russie (Platonov *et al.*, 2001)

- En 2000, 8 décès rapportés en Israël (Weinberger *et al*., 2001).

-Une situation différente a été observée au Maroc (1996), en Italie (1998) et en France (2000, 2003, 2004 et 2006) où le virus a touché essentiellement les chevaux (El Harrak *et al.,* 1997; Cantile *et al.,* 2000; Murgue *et al.,* 2001b; Zeller *et al*., 2004; Durand *et al.*, 2005).

-En 1999, le WNV est introduit à New York (USA), 62 cas d'encéphalite humaine (7 décès), 20 cas équins (9 décès) ainsi qu'une grande mortalité aviaire ont été observés (Novello, 2000; Garmendia *et al.*, 2001).

-En 2002, Soudan a été touché par cette fièvre (Schuffenecker & Zeller, 2004).

-En 2003, Maroc et Tunisie ont été touchés.

-En 2003, aux États-Unis (9858 cas humains, dont 2866 encéphalites et 264 décès, CDC Website)

-Continent américain et Canada (Pepperell *et al.*, 2003) jusqu'en Argentine (Morales et al., 2006) ont été touchés.

-En Europe, la présence des foyers sporadiques chez les chevaux (en 2006 en France, en 2008 en Hongrie, en 2010 en Roumanie / Bulgarie / Portugal, en 2011 en Espagne / Macédoine, en 2012 en Italie / Grèce / Croatie), et chez les oiseaux également (en 2004 en France, en 2008 en Hongrie, en 2011 en Macédoine, en 2012 en Italie /Autriche).

-En 2011, 712 et 110 cas ont été déclarés respectivement aux USA et Canada (CDC, 2011) et 303 cas sont recensés entre l'Europe et ses pays voisins (ECDC, 2011).

Tableau1: Nombre de cas signalés en Europe et dans les pays limitrophes de l'Europe de 2011à 2013 European Centre for Disease Prevention and Control (ECDC)/ www.ecdc.europa.eu

Pays	***Nombre de cas en 2011***	***Nombre de cas en 2012***	***Nombre de cas en 2013***
Albanie	2	0	-
Grèce	69	161	58
Hongrie	0	12	6
Italie	14	50	69
Roumanie	10	14	22
Algérie	0	1*	-
Croatie	0	5	1
Ex-République yougoslave de Macédoine	4	6	-
Israël	33	59	28
Kosovo	0	4	-
Monténégro	0	1	0
Territoires palestiniens occupés	0	2	-
Fédération de Russie	136	447	-
Serbie	0	70	200
Turquie	3		-
Tunisie	3	63	-
Ukraine	8	12	-
Total	282	907	387

(*) Le 4 octobre 2012, le CNR des arboviroses a diagnostiqué un cas d'infection au VNO par séroneutralisation importé d'Algérie. Le patient âgé de 74 ans ayant séjourné fin juin et début juillet à Alger, et du 24 août au 11 septembre à Jijel, à été hospitalisé en Septembre pour de la fièvre et des troubles cognitifs et est décédé en France.

II.2 En Algérie

L'isolement du virus a été effectué en 1968 à l'Institut Pasteur d'Alger à partir d'un broyat de pool de 215 moustiques du genre *Culex* prélevé à Djanet (wilaya d'Illizi extrême sud est d'Algérie) ; dans une première intention, c'était dans le but d'une enquête sur l'épidémie de peste équine survenue en Algérie en 1965 (A. Metallaoui, 2008).
Ce virus a été identifié par la suite à l'institut Pasteur de Dakar durant la même année (Travaux Estéban Pilo- Moron, Jean Vincent et Yannick le Corroler- Archives Institut Pasteur d'Alger). Depuis l'an 1968 à ce jour, toutes les tentatives d'isolement du virus chez les humains comme chez les animaux n'ont pas abouti.

En l'an 1975, 188 oiseaux, 19 rongeurs et un nombre indéterminé de vecteurs (genre *Culex*) ont servi pour une éventuelle tentative d'isolement du virus mais tous les résultats se sont révélés négatifs). Depuis cette même année jusqu'à ce jour il n'y a pas eu d'investigations ni une épidémio-surveillance établie de façon structurée concernant la FNO.

Dans les années 1973-1975-1976 des enquêtes sérologiques ont été menées chez les humains dans les régions du Sud et intermédiaires entre le Sud et le Nord du pays, mettant en évidence la circulation du virus sans pour autant il y ait de manifestations cliniques décrites.

En 1994: mise en évidence de la circulation virale chez une cinquantaine de personnes (50) dans la région de Timimoun (au Sud ouest de la wilaya d'Adrar) où des symptômes cliniques ont été décrits (fièvre-atteintes neurologiques parfois même le coma). De ce nombre, vingt (20) patients ont présenté des atteintes céphaliques et huit (8) en sont décédés.
Une sérologie a été réalisée sur dix huit personnes (18) conduisant à un résultat positif de 83,3% mais le virus n'a pas pu être isolé (tableau 3).

II.2.1 Chez les animaux

En 1975, une enquête sérologique a été menée sur des ânes sauvages, des oiseaux et des rongeurs dans l'oasis de la localité de Djanet.

Tableau 2 : Enquête sérologique West Nile, 1975, Djanet (Source : Revue medicopharmaceutique N°48, les arbovirus qui menacent l'Algérie)

Animaux	***Nombre de sera testés***	***Résultats (positifs)***	***Observations***
Ânes sauvages Oiseaux-Rongeurs	52 131	5 0	Non spécifique à WN

II.2.2 Chez l'homme

Tableau 3 : Récapitulatif des enquêtes sérologiques menées entre 1973 et 1994. - Source : Revue medicopharmaceutique N°48, les arbovirus qui menacent l'Algérie

Récapitulatif des enquêtes sérologiques			
Année	***Zone***	***Nombres de sérums testés***	***Résultat positifs***
1965	Nord de l'Algérie	281	0%
1973	Djanet (Illizi)	171	14,6%
1975	Illizi et Djanet Tamanrasset	48 143	58.3% 3,5%
1976	Biskra et Ouled Djellal	24 21	37,5% 19%
1994	Timimoun*	18	83.3%

(*) : Présence de signes cliniques : fièvre et atteintes nerveuses

III. Biologie de l'infection

III. 1 Le virus

III.1.1 Aspects taxinomiques et classification

Le virus de la fièvre du Nil occidental est appelé *West Nile virus* –il échappe (après une tentative avortée) à la dénomination linnéenne et est nommé par l'acronyme de son nom en anglais (Balenghien T., 2006).

Le VNO est un arbovirus, ce terme provient de la compression de l'expression anglaise « arthropod borne virus » (Bourassa 2000) et désignant tout virus transmis par piqûres d'arthropodes hématophages (moustiques, tiques) (Tsai 1999).

Il appartient à la famille des *Flaviviridae* du genre du *Flavivirus*, il est enveloppé, à ARN simple brin (monobrin), polarité positive (Lanciotti *et al.* 1999, Zeller 1999). C'est cette particularité qui confère au VNO, comme à plusieurs virus à ARN, une grande variabilité génétique et une capacité à s'adapter à son écosystème (Lecollinet & Zientara, 2010 ;Tsai 1999).

Sachant que la famille des *Flaviviridae* se divise en 3 genres (*Flavivirus, Pestivirus, Hepacivirus)*, elle compte 70 virus dont 13 les plus pathogènes ; dont un responsable d'un grand fléau à son époque parmi eux celui de la fièvre jaune qui a donné son nom *Flavi* du latin qui signifie jaune.

Pour les *Flavivirus* transmis par les moustiques, 7 sérogroupes ont été identifiés sur la base des réactions croisées observées au cours des tests d'inhibition de l'hémagglutination :

Le virus West Nile appartient au séro-complexe de l'encéphalite japonaise, comprenant également le virus de l'Encéphalite Japonaise (EJ), le virus de l'Encéphalite de la Vallée de Murray (MVE), le virus de l'Encéphalite de Saint Louis (ESL), les virus Usutu (USU), Koutango (KOU), Cacipacore (CPC) et Yaounde (YAO). (*Source: ICTV International Committee on taxonomy of Viruses)*. (Voir annexe 1)

III.1.2 La structure et le génome

Le VNO apparaît comme un virus à la surface irrégulière sous microscopie électronique (figure 2), de forme sphérique et d'une taille de 50 nm de diamètre.

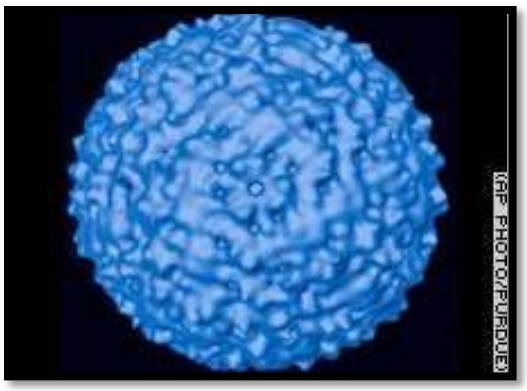


Figure2 : Virus West Nile en microscopie électronique
(Source: Site internet Bioquest: Community Resources for problem solving in biology)

Son génome est constitué d'une seule molécule d'ARN (non segmenté, linéaire), comporte un seul cadre ouvert de lecture d'environ 11 000 à 12 000 nucléotides et a deux régions non codantes aux extrémités 3' et 5' (Diamond *et al.*, 2009).

Il code pour une polyprotéine d'environ 3400 acides aminés dont les clivages co et posttraductionnels génèrent 3 protéines structurales : (-protéine C de la capside, protéine de pré-membrane prM et protéine E d'enveloppe virale) et 7 protéines non structurales (NS1, NS2A, NS2B, NS3, NS4A, NS4B, NS5) intervenant dans la réplication virale et qui jouent des rôles importants dans la transcription virale, la traduction, la maturation, et l'évasion immunitaire (Diamond *et al.*, 2009).

Cet ARN est lié aux protéines de la capside Cet le tout est entouré d'une enveloppe bicouche lipidique dans laquelle sont ancrées 180 copies des protéines M et E fortement glycosylées (Mukhopadhyay *et al.*, 2003).

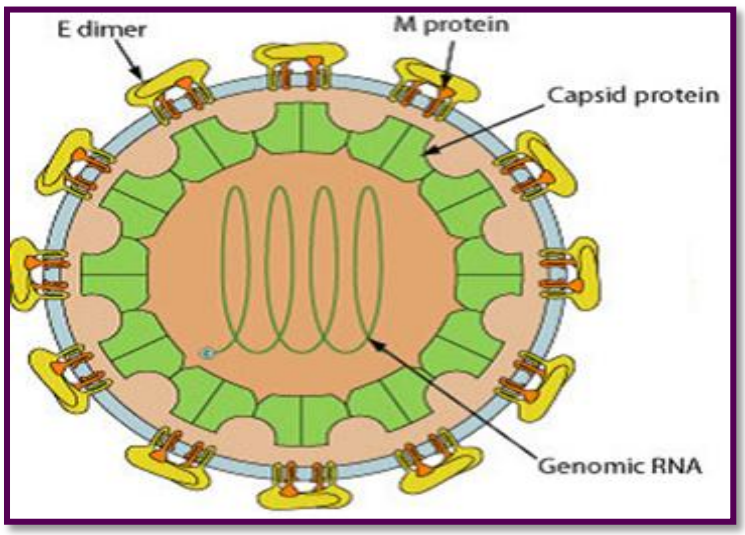


Figure3 : Schéma de la structure du virus West Nile (*Source : Lecollinet, 2011 cours de Virologie, ENVA* http://www.viralzone Phylogénie)

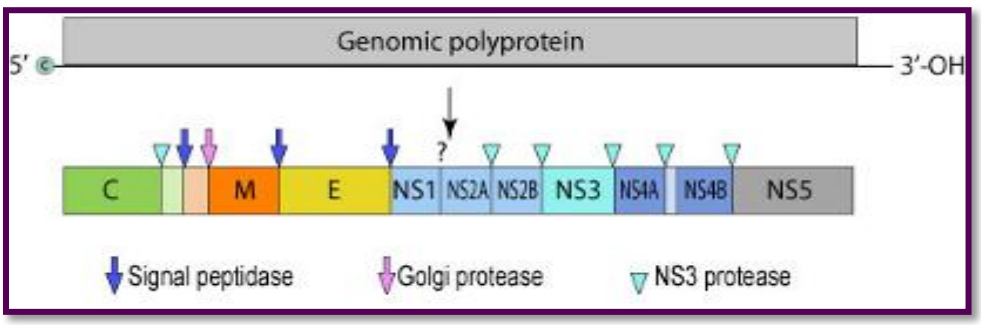


Figure 4 : Génome du virus West Nile
(Source : Lecollinet, 2011 cours de Virologie, ENVA http://www.viralzone Phylogénie)

III.1.3 Le rôle de la protéine d'enveloppe E

Le tropisme, l'attachement, la fusion cellulaire, la virulence, l'hémagglutination et l'antigénicité sont des particularités biologiques conférées par la protéine E chez les *Flavivirus*. Cette protéine contient 3 domaines :

-Le domaine central I, le domaine II (constitué par deux boucles et contenant une séquence très conservée parmi tous les *Flavivirus*, très immunogène) et le domaine III qui présente une analogie de structure avec la région constante des immunoglobulines, mais aussi il contient d'importants épitopes et motifs qui interagissent avec les récepteurs cellulaires lors d'attachement (Castillo-Olivares, 2004).

III.1.4 Le rôle des autres protéines

Les protéines des *Flavivirus* prM, NS1, NS3 et NS5 ont des propriétés antigéniques.

La protéine NS1 est glycosylée et exprimée à la surface des cellules infectées et peut être également sécrétée et est antigénique. D'ailleurs des anticorps monoclonaux et polyclonaux dirigés contre elle ont permis d'identifier les types, complexe et épitopes spécifiques des *Flavivirus*, elle est utilisée comme antigène dans la technique ELISA.

Les prM et NS3 peuvent être reconnues par des antisérums spécifiques de la souris et du cheval. (Castillo-Olivares, 2004).

III.1.5 Diversité et virulence

Les tests d'inhibition, d'hémagglutination et de séroneutralisation ont permis d'établir des relations antigéniques entre les *Flavivirus*.

Les souches qui comportent un résidu proline au niveau d'un acide aminé de la protéine (NS3-249), comme les souches nord-américaines, la souche hongroise de lignage 2 ayant émergé en 2004 (Brault *et al.*, 2007) et celle de 2010 en Grèce (Papa *et al.*, 2011), pourraient être associées à une virulence accrue pour les oiseaux.

III.1.6 Les lignages

À l'heure actuelle, des études phylogénétiques qui s'appuient sur le séquençage du génome viral d'un fragment de 255 pb du gène codant pour la glycoprotéine E et la comparaison des séquences obtenues, ont montré qu'il existait différentes souches du WNV qui sont variables génétiquement d'où un établissement de la notion de lignage et la mise en place d'un arbre phylogénétique (Castillo-Olivares, 2004).

À titre d'exemple, des isolats du WNV de différentes régions géographiques sont classés en deux lignages majeurs (1 et 2) qui présentaient 25 à 30% de différences nucléotidiques (Berthet *et al*., 1997; Lanciotti *et al.,* 2002) et plusieurs sous-clades ou clusters (Berthet *et al.,* 1997; Charrel *et al.,* 2003).

Actuellement, il en existe 8 lignages, cependant les lignages 1 et 2 restent les majoritaires.

Le lignage 1 : regroupe des souches qui sont les plus largement répandues, circulent de l'ouest au centre-est de l'Afrique, dans le bassin méditerranéen, au Moyen Orient, l'Europe du Sud et centrale, l'Amérique du Nord et l'Australie (virus Kunjin) (Campbell *et al.,* 2002; Calistri *et al.*2010) et est responsable des principales et des plus récentes épizooties .

Les virus de la lignée I sont subdivisés en 9 sous-types : 1, 2a, 2b, 2c, 3, 4,5, Kunv et India.

Les virus des sous-types 1, 2a et 2b ont respectivement 78 %, 72 % et 96 % de parenté génétique entre eux (Briese *et al.,* 1999).

Le lignage 2 : a une répartition géographique restreinte; il circule en Afrique sub-saharienne (Sénégal, Ouganda, R.C.A, Kenya) et Madagascar. Récemment, il a été retrouvé en Europe et plus précisément en Hongrie en 2004 et en Autriche en 2008 chez des oiseaux sauvages, en Roumanie, en Grèce et en Italie (Papa *et al*., 2011) , il s'agit probablement des oiseaux migrateurs venant d'Afrique en 2004 (Bakonyi *et al.* 2006).

Les virus de lignage 2 très virulents ont été responsables de plusieurs dizaines de cas d'infections neuroinvasives chez le cheval ou l'homme en Afrique du Sud en 2007-2008 (Venter & Swanepoel, 2010) et en Hongrie en 2008 (Kutasi *et al.* 2011) ; ils pouvaient induire des signes cliniques chez les chevaux et les humains (Venter *et al.,* 2009).

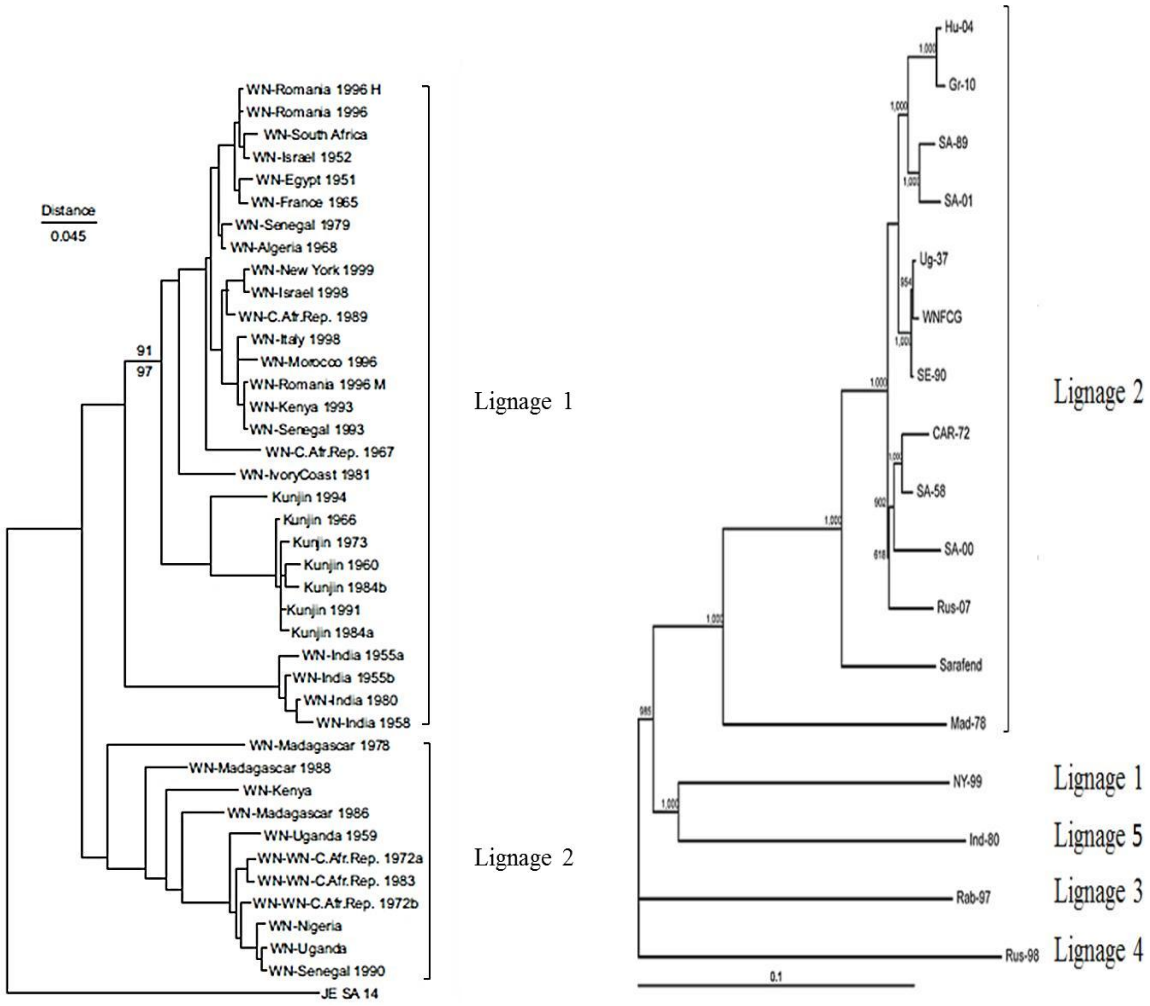
D'autres souches du VNO ont été isolées en Europe, présentant des différences génétiques considérables par rapport aux deux lignages 1 et 2 (Figure 5b; Lvov *et al.,* 2004) ;ainsi des isolats récents en République Tchèque en 1997 (virus Rabensburg) et du sud de la Russie (virus LEIV) issus respectivement de moustiques *Culex pipiens* et de tiques, pourraient constituer **les lignages 3 et 4** du WNV (Lecollinet & Zientara, 2010*).*

Le lignage 5 : correspond à une souche isolée en Inde en 1980 (Bondre *et al*., 2007), anciennement elle était incluse dans le lignage 1c.

Le lignage 6 : a été proposé pour le virus de Sarawak Kunjin.

Le lignage 7 : a été suggéré pour le virus africain Koutango, qui est proche du WNV (Mackenzie & Williams, 2009) ainsi **qu'un huitième (8) lignage** proposé pour des séquences

virales détectées chez des moustiques *Culex pipiens*, capturés dans le Sud de l'Espagne pendant l'été 2006 (Vazquez *et al.*, 2010).



(a) (b)

Figure 5: (a),(b) Analyse phylogénétique du virus West Nile (Lanciotti *et al.*, 1999; Papa et *al.*,2011).

III.1.7 Propriétés physico-chimiques du virus

Le VNO est sensible aux solvants des lipides et à la plupart des détergents comme le formaldéhyde à 3-8 %, le glutaraldéhyde à 2 %, le peroxyde d'hydrogène à 2-3 %, le chlore actif à 500-5 000 ppm, l'alcool, l'iode à 1 % et les phénol-iodophores (Burke, D. S., & Monath, T. P. 2001).

Il est inactivé par la chaleur (50 à 60 °C pendant au moins 30 minutes), la lumière ultra-violette et les rayons gamma (Burke, D. S., & Monath, T. P. 2001).
Il est constaté lors de l'ajout du tampon ELISA une diminution du titre par un facteur de 10 par période de 24 heures à une température de 28 °C (Mayo, D. R., & Beckwith III, W. H. 2002).

La survie du virus dans un cadavre est donc probablement de courte durée (à basse température).Sa résistance dans le milieu extérieur est donc théoriquement très faible. Cela est important pour l'épidémiologie mais également pour le diagnostic et la réalisation des prélèvements.

III .1.8 Le cycle de réplication virale

La première étape du cycle viral est l'attachement du virus sur la surface cellulaire où se produit une interaction entre la protéine d'enveloppe E et des récepteurs spécifiques de la surface cellulaire (Figure6).
Les récepteurs DC-SIGN, alphaVbeta3 integrin (Bogachek *et al.*, 2010) et laminin-binding protein (Bogachek *et al*., 2008) ont été rapportés comme potentiels récepteurs.

Une étape d'endocytose récepteur-dépendante conduit alors à l'internalisation de la particule virale dans une vésicule à clathrines (Chu & Ng, 2004). Une acidification de l'endosome survient entrainant un changement de conformation de la protéine E et induisant ainsi la fusion de l'enveloppe virale et de la membrane endosomale (Gollins & Porterfield, 1986).

La nucléocapside est libérée dans le cytoplasme de la cellule hôte et l'ARN génomique est décapsidé. Celui-ci est de polarité positive, fait office d'ARNm et est transcrit en une seule polyprotéine. La maturation protéolytique de la polyprotéine virale, puis de ces produits de clivage, génère les trois protéines structurales et les sept non-structurales.

L'ARN polymérase ARN-dépendante NS5 et les protéines virales NS3 et (Rice *et al.*,1986; Poch et al., 1989) se lient probablement à des protéines cellulaires afin de former un complexe de réplication réalisant la synthèse de brins d'ARN (-). Ces derniers servent à leur tour de matrice pour la synthèse de brins d'ARN (+) destinés à être traduits, ou à être encapsidés dans les virions en cours de maturation.

Les protéines de capside s'assemblent avec l'ARN viral pour former des nucléocapsides.Ces dernières nouvellement formées suivent un processus de bourgeonnement et sont internalisées dans la lumière du réticulum endoplasmique (RE).

La membrane du RE, dans laquelle sont ancrées les protéines E et prM, constituerait ainsi l'enveloppe des virions immatures. Ces derniers seraient ensuite transportés, dans des vésicules de sécrétion, vers l'appareil de Golgi.

Il a été démontré dans le réseau transgolgien, qu'une protéase cellulaire assure la maturation de l'enveloppe virale par le clivage de prM en M (Konishi & Mason, 1993). La libération des virions dans le milieu extracellulaire se ferait ensuite par exocytose au travers de la membrane plasmique (Mukhopadhyay *et al.*, 2005).

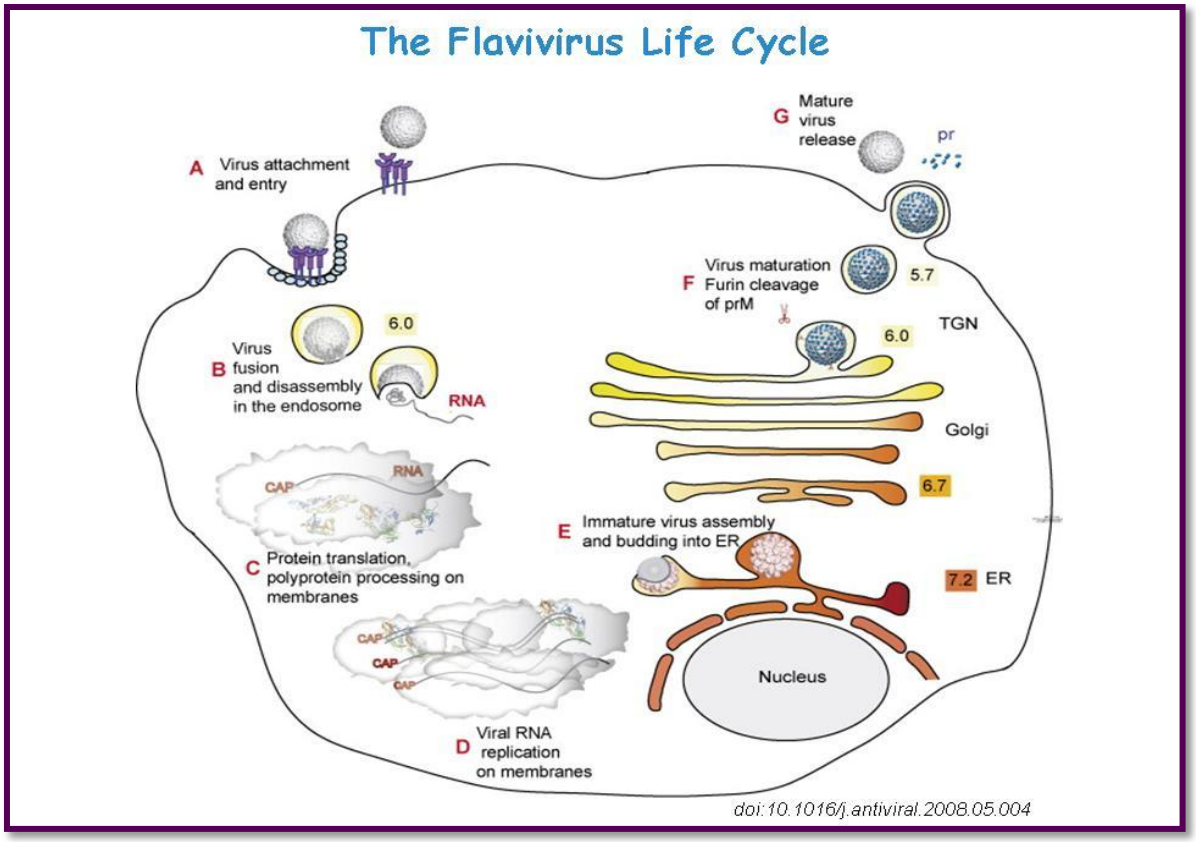


Figure 6: Cycle de réplication des *Flavivirus* (Samuel, 2002).

III.1.9 Pathogénèse

La plupart des souches de WN sont responsables d'affections bénignes ou inapparentes mais certaines sont neuropathogènes caractérisées par une neuroinvasivité et une neurovirulence plus importantes (Steele *et al*.,2000).

Chez l'arthropode hématophage, le virus réalise ses cycles de réplication sans provoquer de lésions cellulaires et n'altère pas pour autant la durée de vie de l'insecte.

Suite à une piqure de moustique, le *Flavivirus* infecte les kératinocytes (Lim *et al*.,2011) et les cellules dendritiques de Langerhans migrent aux ganglions lymphatiques où le virus se

réplique (Ho *et al.*, 2001),il se dissémine par la suite *via* la circulation sanguine et infecte le rein et la rate, où une deuxième réplication a lieu.

Selon le degré de virémie, le virus peut traverser la barrière hémato-encéphalique, atteindre le cerveau pouvant causer une méningo-encéphalite mais les mécanismes d'invasion du SNC ne sont pas clairs. Le virus pourrait franchir le SNC grâce à son pouvoir neuroinvasif, infectant le cerveau, les neurones puis la moelle épinière (Xiao *et al*., 2001).

Chez l'homme, la période d'incubation varie de 2 à 14 jours, l'infection conduit à un syndrome pseudo-grippal et les cas les plus sévères (1 % des personnes auront des troubles neurologiques de type méningites aigues ou encéphalites (Gallian *et al*., 2005).

Chez les équidés, l'infection varie d'un simple syndrome pseudo-grippal voire une encéphalite mortelle. Les signes neurologiques touchent approximativement 10 % des chevaux infectés.

Chez les oiseaux, l'infection reste le plus souvent asymptomatique à l'exception de certaines espèces telles que les oies et les corbeaux où les signes nerveux peuvent être périphériques comme centraux.

III.1.10 Physiopathologie de l'infection

Des études d'infection expérimentale par le WNV ont été menées en laboratoire chez différentes espèces animales pour expliquer sa physiopathologie.

III.1.10.1 Infection expérimentale

L'infection expérimentale a été menée chez le cheval, les mules, le mouton (Steele, Linn *et al*., 2000), l'âne (Schmidt & Mansouryn 1963), les chiens (Blackburn *et al.*, 1989),les cochons (Ilkal *et al.*, 1994), la souris et le hamster.

Chez le cheval, après l'inoculation du virus ,une virémie de faible niveau et de courte durée a été détectée jusqu'à 3-8jours (Oudar *et al*.,1971) avec une légère hyperthermie entre le 3ème- et 6ème jour .L'animal commence à produire des anticorps IgM entre le 7ème et le 10ème jour et persisteront moins de 3mois (Ostlund E.N. *et al.* ,2001) ;quant aux IgG seront produits à partir du 10ème jour post-infection et persisteront durant plusieurs années (OIE 2008).Ils seront mis en évidence par des techniques sérologiques (Ebel *et al*. 2005).

III.1.10.2 Tropisme tissulaire

Chez le cheval, le virus a un tropisme exclusivement pour le S.N.C. où un taux faible d'antigènes viraux est retrouvé dans le tissu cérébral avec d'importantes lésions

inflammatoires alors qu'aucun antigène n'a été détecté dans le S.N.P., ni dans les autres tissus (Dauphin & Zientara, 2003).

Lors d'inoculation sous cutanée par un arthropode positif chez une souris, le VNO migre vers les ganglions lymphatiques avoisinants et y s'y réplique, ensuite il sera transporté via les vaisseaux lymphatiques vers le flux sanguin ; pour arriver jusqu'à la rate où une haute virémie est constatée avant sa dissémination vers le S.N.C. (Xiao *et al.,* 2001). Ce transport est assuré par les cellules de Langhérans (Johnston *et al.*, 2000).

Vu qu'il n'y a pas eu de publication évoquant ce transport chez le cheval, une extrapolation des résultats resterait plausible étant donné que ces deux espèces animales sont mammifères.

Chez l'humain, les neurones sont la cible préférentielle dans le S.N.C., plus particulièrement les cellules de Purkinje, les cellules de la moelle épinière, les neurones du thalamus et du ganglion basal (Shrestha *et al.,* 2003). Les voies d'invasion neuronale par les *Flavivirus* ne sont pas précisément claires.

Selon une étude, il est dit que le WNV se propage par voie rétrograde et antérograde par transport axonal (Samuel et *al.*, 2007). Le transport axonal facilite l'entrée virale dans le SNC et la paralysie.

III. 2 Vecteur

La FNO est un exemple d'arbovirose émergente, le WNV a longtemps été considéré comme peu pathogène (Rodhain & Perez 1985).

Les espèces vectrices dites compétentes sont celles véritablement impliquées dans le cycle de transmission du virus (Lecollinet&Zientara , 2010), celles-ci doivent entrer en contact avec le virus, l'amplifier (Dauphin G., Zientara St., *et al*., 2004) afin de le transmettre aux hôtes par piqûre

Expérimentalement, la transmission verticale du virus a pu être observée chez le *Culex spp.* Aussi, l'isolement du virus a été fait chez les moustiques femelles hibernantes (Hayes E.B., *et al.* ,2005).

Le VNO a été isolé chez des tiques molles et dures ou d'autres arthropodes mais pour la plupart, leur capacité à transmettre le virus dans la nature n'est pas prouvée (Hubalek & Halouzka 1999, Hayes E.B.*et al.*, 2005).

La transmission trans-ovarienne du virus à la descendance (progénie) est connue pour certains *Flavivirus* avec des vecteurs du genre *Aedes* tandis qu'avec le *Culex*, ce dernier est considéré comme vecteur peu efficace (Goddard *et al.*, 2003); toutefois le phénomène de

persistance hivernale a été rapporté dans les conditions naturelles à New York (Nasci *et al.*, 2001).

Les Hippoboscidae ou les poux seraient impliqués dans la diffusion du virus (*West Nile Virus Infection.* The center for food security and public health. 2009).

La transmission expérimentale a pu démontrer que différentes espèces comme chez les *Argas* sp. (Abbassy *et al.* 1993, Hayes 1989, Hubálek 2000),*Ornithodoros savignyi, O.moubata, O. maritimus, Rhipicephalus sanguineus, R.rossicus, Dermacentor reticulatus* et *Haemophysalis leachii* (Nir *et al.*, 1967) peuvent être impliquées.

Récemment, le moustique-tigre (*Aedes albopictus*) qui est originaire d'Asie, pourrait être un vecteur important par son comportement invasif et agressif, il évolue de façon endémique dans certaines communes tessinoises proches de l'Italie depuis 2007(Kutlar, 2010 ; Schaffner, & Mathis, 2011)

III.2 .1 Les moustiques

Dés 1943, une transmission expérimentale du VNO par des moustiques a été réalisée (Philip & Smadel 1943) et leur rôle comme principaux vecteurs est accepté depuis les années 1950 (Taylor *et al.* 1956).

Les moustiques sont dulçaquicoles, i.e : ils vivent dans des gites d'eaux douces et saumâtres : ce sont de petits gîtes naturels (fossés, mares, flaques d'eau) ou artificiels (pneus remplis d'eau, bassins, réservoirs, pots de fleurs) concernant les stades préimaginaux.

Les adultes sont dits casaniers, i.e : ils s'éloignent peu des gîtes larvaires, d'ailleurs ils parcourent 500 à 1000 mètres en moyenne, avec une vitesse de vol de 500 à 800 mètres à l'heure (Moulinier C.,2003).

Actuellement, plus de 70 espèces de moustiques ont été trouvées naturellement infectées par le VWN, (Monini *et al.*, 2010), mais elles ne sont pas toutes impliquées dans sa transmission, toute espèce infectée donc positive au VNO n'est pas forcément vectrice.(Hubalek & Halouzka 1999).

Les espèces qui sont impliquées dans la transmission du VNO sont majoritairement ornithophiles et appartiennent principalement au genre *Culex* (à l'exception de *Culex modestus* Ficalbi).

En Afrique et au Moyen Orient, il s'agit de *Cx.univittatus* qui est le principal vecteur associé à *Cx. antennatus* et *Cx. pipiens* en Égypte (Taylor *et al*., 1956), de *Cx. pipiens* en Israël (Nir *et*

al., 1972) et *Culex theileri* en Afrique du Sud (McIntosh et al., 1967), de *Cx. modestus* et *Cx. pipiens* en Europe et Russie (Savage *et al.* 1999),de *Culex neavei* en Afrique du sud, à Madagascar et au Sénégal (Zeller, 2001),de *Culex tritaeniorhynchus* Giles et *Cx. quinquefasciatus* en Inde et au Pakistan (Akhter *et al.* 1982) ,de *Cx. tritaeniorhynchus*, *Cx. quinquefasciatus* et *Cx. vishnui* (Akhter *et al*., 1982,Hubalek & Halouzka 1999) en Asie,
de *Cx. tarsalis*, *Cx. pipiens*, *Cx. restuans*, *Cx. salinarius* et *Cx. erraticus* au Nord et au Sud des États-Unis, (Andreadis et al., 2004; Lukacik et al.,2006; Gujral et al., 2007),de *Cx. quinquefasciatus* associé à *Cx. nigripalpus* à l'Est des États-Unis et *Cx. tarsalis* à l'Ouest (Reisen *et al*., 2004; Hayes *et al*., 2005),de *Cx. nigripalpus*, *Cx. bahamensis* et *Cx. quinquefaciatus* sont des vecteurs principaux du VWN en Amérique centrale et aux Caraïbes (Lefrançois et al., 2006; Barrera et al., 2008),
Aedes japonicus, Aedes sollicitans, Aedes taeniorhincus etAedes vexans ont été également incriminés dans l'épisode Nord Américain.

III.2 .1 .1 Aspect taxinomique des moustiques

Règne : Animal
Sous règne : Métazoaires
Embranchement : Arthropodes
Sous embranchement : Hexapodes
Super classe : Protostomia
Classe : Insectes
Sous classe : Pterygota
Infra classe : Neoptera
Super ordre : Endopterygota
Ordre : Diptera
Sous ordre : Nematocera
Infra ordre : Culicomorpha
Famille : Culicidae :3500 espèces (Meigen, 1818).
Sous familles : Toxorhynchitinés*, Anophelinés et Culicinés
(*) : Ne sont pas hématophages

Les Culicidés ont pour nom commun "Moustiques" (ancien nom: "Cousins"). Ce sont des diptères primitifs de petite taille 3-10 mm.

Chez la sous famille des Culicinés , il existe 7genres : *Aedes*, *Anophèles*, *Coquilletidia*, *Culex*, *Culiseta*, *Uranotaenia* et *Ochlerotatus* (Trari *et al.*, 2002).

La différence chez les espèces est d'une part leur morphologie et d'autre part leur biologie.

Les moustiques sont des insectes à métamorphose complète, i.e. que les larves sont très différentes des adultes. Cependant le cycle de développement se caractérise par 2 périodes distinguo :

-Phase aquatique : œufs, des larves (L1-L2-L3-L4), une nymphe (le dernier stade avant l'émergence du moustique adulte).

-Phase aérienne : le moustique adulte vole, s'accouple et pique. Le cycle peut être unique ou multiple : jusqu'à 6-7 fois dans la saison.

Le **genre :***Culex* est retrouvé dans les régions méditerranéennes (TORAL Y CARO M., 2005), lors de fortes températures associées à un degré d'humidité élevé.

Ils sont retrouvés toute l'année dans les pays chauds tandis que dans les pays tempérés ils abondent particulièrement lors de fortes chaleurs en début d'été (Paz S., Albersheim I.,2008).

Il existe 800 espèces de *Culex* (Wall R., Shearer D., 1997), le *Culex pipiens pipiens* est capable de se développer partout dans le monde, excepté en Antarctique en raison du grand froid (Chemical and Biological Warfare Agents. 2009).

Généralement, une seule espèce de *Culex* par biotope est retrouvée, mais il arrive que plusieurs espèces cohabitent ensemble : *Culex pipiens pipiens* est fréquemment rencontré avec *Culiseta annulata* et *Culiseta longeareolata* (Ripert C., 2007).

Culex pipiens pipiens appartient à la Sous-famille : Culiciné, à la Tribu : Culicini.

Photo 1 : Femelle du *Culex* au cours d'un repas sanguin ((Thomas Balenghien , thèse d'Université sur les vecteurs du WNV, 2006)

III.2 .2 La transmission vectorielle et la notion de capacité vectorielle

Dans les conditions naturelles, le vecteur s'infecte sur un hôte virémique lors d'un repas sanguin, à son tour ce vecteur devient infectant et pourrait transmettre le virus à un hôte naïf. Alors que, dans des conditions de laboratoire et afin d'évaluer la compétence vectorielle qui est la capacité d'un arthropode de s'infecter, amplifier et transmettre le virus, il y a lieu de le rechercher dans la salive.

Le cycle a été reproduit en utilisant une méthode artificielle d'infection orale du vecteur à partir d'animaux utilisés comme donneurs ou receveurs.

Chez le moustique, juste après la prise d'un repas sanguin qui en contient le virus (Figure 7, site A), ce dernier se retrouve dans la lumière de l intestin moyen (Figure 7, site B) où les enzymes protéolytiques commencent à être excrétées et la formation de la matrice péritrophique qui est une membrane chitineuse (Figure 7, site C). Celle-ci entoure le bol alimentaire et protège l'épithélium intestinal des ases digestives .le virus doit pénétrer l'épithélium intestinal (Figure7, site D) avant qu'il n y ait la formation de cette membrane qui lui sera imperméable où il finira piégé dans le bol alimentaire et détruit.

Une fois arrivé aux cellules intestinales, la réplication virale s'effectue et les virions seront libérés dans la cavité générale et disséminés dans les différents organes à travers l'hémolymphe (Figure 7, site E). Le virus finit par infecter le corps gras, les tubes de Malpighi (Figure7, site F), les ovaires (Figure 7, site G), la chaine nerveuse centrale et les glandes salivaires (Figure7, site H).Une fois la barrière salivaire franchie, c'est dans la salive où il sera retrouvé et sera injecté lors d'une piqure de la femelle infectante (Sardelis *et al*., 2002). Il est à noter qu'une femelle infectée le restera toute sa vie.

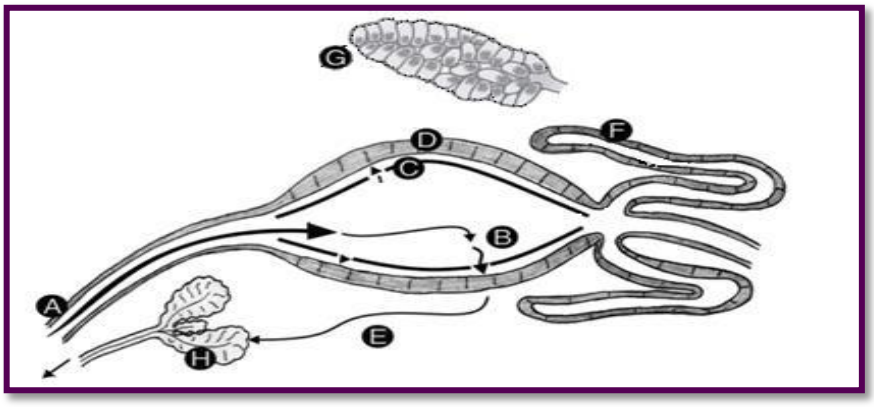


Figure 7: Schéma montrant le cheminement du virus dans le corps d'un moustique vecteur. Après ingestion (A), le virus se retrouve dans le bol alimentaire et doit infecter les cellules intestinales (B, C et D) pour être libéré par la suite dans la cavité générale (E) et infecter les organes secondaires (F, G) y compris les glandes salivaires (H) (Beerntsen *et al.*, 2000).

La période d'incubation extrinsèque (PIE) correspond chez le moustique, à toute cette durée nécessaire pour que le virus parvienne du début de son ingestion jusqu'à son arrivée dans la salive et par conséquent pour que la femelle devienne infectante après un repas sanguin infecté. La PIE peut aller de 5 à 15 jours (CDC 2001).
Cette période est un paramètre sensible à la température, car, quand la température d'incubation est élevée, la PIE diminue (Figure8) (Focks *et al.*, 1995).

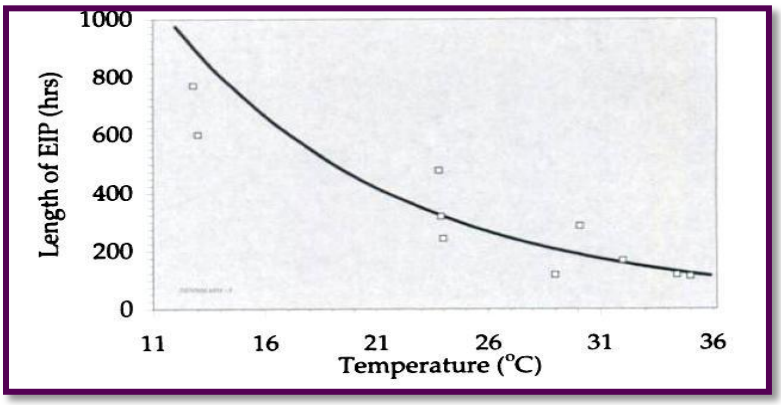


Figure 8: La PIE varie selon la température. (Focks *et al.*,1995).

En résumé, la capacité vectorielle dépend des interactions moustique-virus-environnement de part la densité du vecteur, ses préférences trophiques, sa durée de vie, sa PIE. (Macdonald, 1957) mais aussi de facteurs intrinsèques essentiellement d'origine génétique (Beerntsen *et al.*, 2000).

La compétence vectorielle dépend de la concentration virale dans le sang chez le réservoir et le moustique, mais aussi la préférence du moustique pour certains hôtes (host-feeding preferences) l'activité saisonnière et de la température. D'ailleurs, il a été illustré que quand il fait chaud, la réplication des *Flavivirus* chez le moustique est plus élevée (Komar N., 2003).

La femelle de *Culex pipiens pipiens* est zoophile, celle-ci pique préférentiellement à la tombée du jour et jusqu'à l'aube (Urquhart *et al.*, 1996), après l'accouplement afin d'obtenir les acides aminés nécessaires au développement des œufs (Ribeiro 1999). Elle repère son hôte par les mouvements, les formes les odeurs et les couleurs de celui-ci. L'odeur de substances chimiques telles que le gaz carbonique (variation et non la quantité), l'acide lactique, acétone ou d'autres composés phénoliques jusqu'à plusieurs kilomètres, est perçue par les antennes.

Par ailleurs, elles sont sensibles aux radiations infrarouges émises par les animaux à sang chaud (Andreo V., 2003) et les couleurs foncées (bleu foncé, noir) exercent un pouvoir attractif (Anderson S. L. *et al* 2010).

La femelle pique l'hôte en choisissant des zones fines, grâce à ses palpes maxillaire et les labelles pour le repérage thermique d'un capillaire sanguin, le labium se replie à la surface de la peau et les stylets pénètrent le capillaire (solenophagie) afin de le cathéteriser et dans lequel la salive est injectée à maintes reprises au cours du repas.

Cette salive a différentes actions :

-Lubrifie les pièces buccales.

-Fait adhérer les stylets entre eux au moment de la piqûre.

-Inhibe l'agrégation plaquettaire pour éviter l'obstruction de la trompe par un caillot.

-Contient une substance antihistaminique qui inhibe la vasoconstriction capillaire

-Contient une substance immunogène responsable d'une réaction cutanée secondaire à la piqûre laissant une lésion ronde prurigineuse de 2 cm de diamètre chez l'homme comme chez l'animal. (Prelaud P. 1991).

- Contient une substance anesthésiante pour limiter la réaction de l'hôte (Moulinier C., 2003 ;Toral y caro M., 2005).

L'aspiration sanguine se fait par un système de pressions-dépressions déclenché par les muscles céphaliques, thoraciques et le pharynx. Si le *Culex* est infecté par un agent pathogène, c'est à ce moment précis qu'il le transmet donc par la piqûre (Faraj C.*et al* , 2006 ; Kilpatrick A. *et al*.,2010).

Une fois rassasiée, la femelle se sert du labium comme d'un levier pour retirer ses stylets de la plaie. Elle devient surchargée et donc plus vulnérable et se repose pas loin du lieu du repas (Toral y caro M., 2005).

Le repas sanguin est digéré par des enzymes (la trypsine et la chymotrypsine- like), celles-ci sont codées par des gènes qui sont surexprimés.

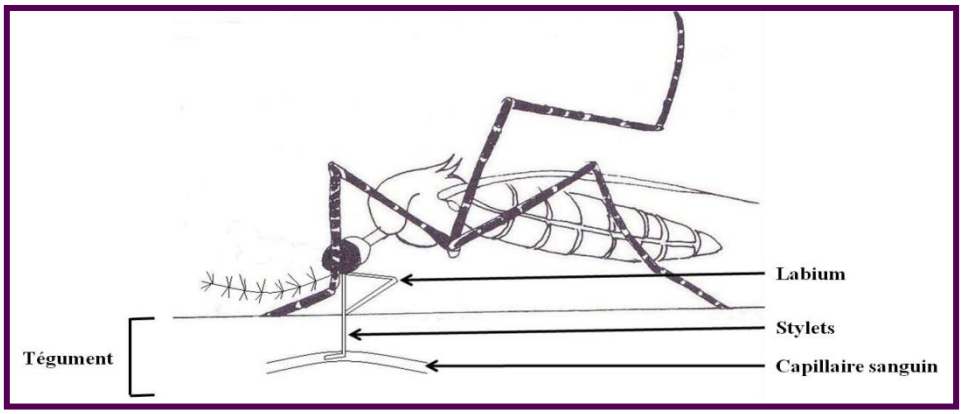


Figure 9: Insertion des pièces buccales dans un capillaire et repli du labium à la surface du tégument (Urquhart G. M. *et al*. 1996)

Il faut savoir que quelques semaines avant l'entrée en « diapause », la femelle *Culex* change de nourriture et ingère des sucs végétaux. Les gènes codant pour ces deux enzymes seront alors moins exprimés, et les gènes qui codent pour l'enzyme « fatty acid synthase »qui permet l'accumulation des stocks lipidiques nécessaires durant l'hiver, seront alors surexprimés. Ce phénomène est régi par la photopériode et sera inversé à la fin de la « diapause ». (Robich R. M., Denlinger D. L. 2005).

Il existe des facteurs qui influencent la transmission du VNO vers l'hôte au cours du repas sanguin du *Culex pipiens pipiens*.

Plus la température est élevée, plus le *Culex* peut transmettre le virus (Paz S.,Albersheim I. 2008) ; à 30°C, 90% des moustiques transmettraient le virus au cours du repas suivant la piqûre contaminante, alors qu'à 18°C seulement 30% (Kilpatrick A. *et al*.,2010).

Ceci pourrait s'expliquer par la multiplication des *Flavivirus* qui augmente lors d'augmentation des chaleurs (Komar N., 2003).

Cx. pipiens L. est le seul membre du complexe *Culex pipiens* qui est présent en Afrique du Nord avec ses deux formes. C'est un vecteur compétent pour plusieurs agents pathogènes touchant l'homme et/ou l'animal tel notamment le cas pour le VNO (Krida *et al*., 2010),le virus de la fièvre de la vallée de Rift (Moutailler *et al*., 2008) et de filaires (Abdul-Hamid *et al*.,2011).

Les deux formes auraient des préférences trophiques différentes, celles-ci seraient liées au déterminisme génétique, d'ailleurs la forme *pipiens* se nourrit principalement sur les oiseaux (ornithophile) tandis que la forme *molestus* sur les mammifères (mammophile)/ anthropophile (Vinogradova 2000).

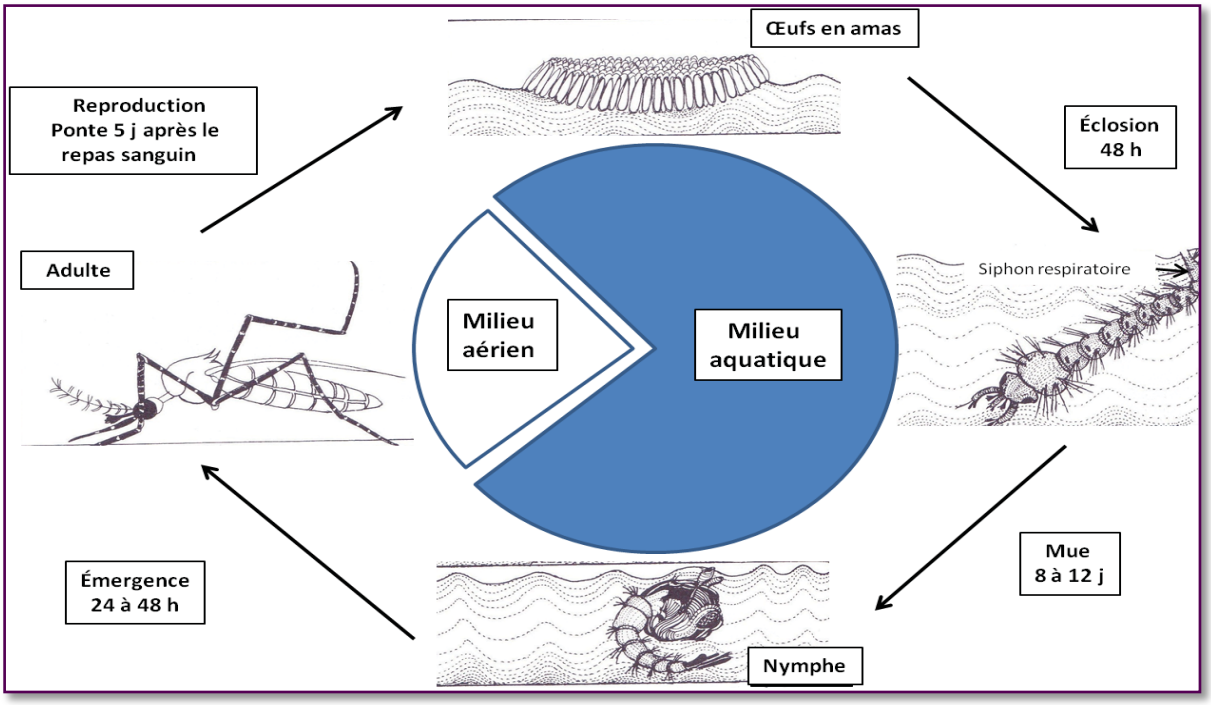


Figure 10 : Cycle de *Culex pipiens pipiens* (Urquhart et al.. 1996).

Les différences biologiques entre ces deux formes seraient liées à une adaptation écologique rapide à des gîtes épigés pour la forme *pipiens* et hypogés pour la forme *molestus* (Harbach *et al.* 1984).(Voir annexe 2)

Il existe d'autres membres de ce complexe qui ont des similitudes morphologiques mais quelques différences co-physiologiques : (Voir annexe 3).

III.3 Réservoirs

Les oiseaux résidents constituent des hôtes amplificateurs du virus (Zeller & Murgue, 2001) selon un cycle moustiques-oiseaux en zones de marécages mais aussi en zones sèches (Taylor *et al.* 1956, Hayes 1989) alors que les oiseaux migrateurs (passériformes - *Antichromusminutus*, *Tchagra australis*, *Coracopsis vasa*,... -, ardéiformes - aigrette -, pigeons, canards,…) assureraient aussi sa dissémination d'un pays à un autre, son introduction ou sa réintroduction périodique.(Hannoun *et al.*, 1969).

Chez l'oiseau réceptif au virus, la virémie s'installe 1 à 4 jours après infection.

Les titres de virémie atteignent des valeurs suffisantes afin de permettre l'infection lors de la prise d'un repas sanguin par le moustique (Taylor *et al.*, 1956).

La piqûre par un moustique positif reste le mode principal d'exposition.

Expérimentalement, des cas de transmission directe par voie alimentaire ou par contacts directs entre oiseaux ont été décrits (Genain *et al.*, 2010).

L'oiseau développe une immunité stérilisante tout au long de sa vie. Il est à savoir que la sensibilité des oiseaux à la maladie les fait utiliser comme sentinelles pour la surveillance d'une éventuelle épizootie.

Dans les années cinquante, en Égypte, chez 40% des 420 oiseaux de différentes espèces étudiées et principalement chez des corvidés et des moineaux ont montré la présence d'anticorps contre le VNO (Taylor *et al*. 1956, Lvov *et al*. 2002).

En Europe du Sud et de l'Est, les études menées dans les années 60 et 70, des isolements de virus ont été réalisés à partir d'oiseaux, chez la tourterelle des bois (*Streptopelia turtur*) et chez la fauvette épervière *(Sylvia nisoria*), en Slovaquie, à Chypre, ainsi qu'en Russie et en Ukraine.

D'ailleurs, lors de l'épidémie de New-York en 1999, il a été rapporté que de nombreux oiseaux (cigognes, oies, corbeaux, geais et oiseaux exotiques) sont morts de l'infection. Le WNV a été détecté aux États-Unis sur des animaux morts d'au moins 138 espèces (Komar, 2000).

Selon les auteurs, il en existe plus de 300 espèces d'oiseaux qui sont observées, dont une majorité liée aux milieux humides :
des Anatidés (oies, canards), des Ardéidés (hérons), des Charadriidés et Scolopacidés (chevaliers, pluviers, bécassines), des Laridés (mouettes, goélands, sternes), des Phalacrocoracidés (cormorans), des Phoenicoptéridés (flamants roses), des Podicipédidés (grèbes) et des Rallidés (foulques, poules d'eau et râles),

III.3.1 Voies de migration et Oiseaux migrateurs

Il existe 8 flux migratoires dont un qui englobe la méditerranée et qui a son impact sur la dissémination de la maladie lors de leurs déplacements de l'Europe vers l'Afrique et inversement, un bon nombre d'oiseaux migrateurs font systématiquement escale dans certaines zones côtières. D'ailleurs des études phylogéniques basées sur les nucléotides d'un fragment de gène de la glycoprotéine d'enveloppe (Murgue *et al.*, 2001) ont démontré qu'il y a eu introduction du VNO à partir des zones tropicales via les oiseaux migrateurs.

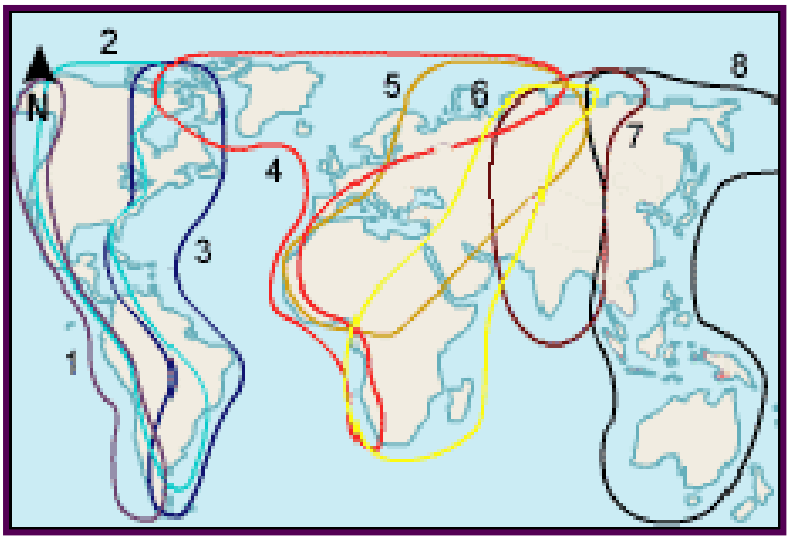


Figure 11 : Principales voies de migration mondiales des oiseaux dans le monde /Source : Ornithomedia.com.

1) Pacific Flyway, 2) Mississippi Flyway, 3) Atlantic Flyway, 4) Flux Atlantique Est, 5) Mer Noire-Méditerranée, 6) Afrique de l'Est-Asie de l'Ouest, 7) Asie centrale, 8) Asie de l'Est-Australie

III.3.2 Oiseaux migrateurs rencontrés en Algérie

Selon les observations faites sur site ,3 catégories ont pu être établies:

Les oiseaux migrateurs hivernants

Ils passent l'hiver, les premiers arrivés ont lieu vers fin août, le pic est atteint en décembre et les départs commencent début mars. (Les canards, les oies, les grues cendrées, les étourneaux, les sarcelles, les mouettes, les goélands, les buses …)

Les oiseaux nicheurs

Ils nichent au printemps, ils arrivent à la mi-mars pour repartir vers fin août, et hiverner au sud du Sahara. (La cigogne blanche, l'hirondelle, le Rossignol, la tourterelle des bois et certains rapaces …).

Les oiseaux migrateurs de passage

Ce sont des migrateurs qui ne font que passer et peuvent séjourner quelques jours voire quelques semaines selon les conditions météo

lors de la migration d'automne d'Europe et d'Asie vers l'Afrique ou de l'Afrique

vers l'Asie et l'Europe lors de la migration de printemps. (Les canards retardataires)

Autres

- ***Des oiseaux d'eau***

Ils sont rencontrés le plus souvent dans les zones humides, d'ailleurs le recensement hivernal est effectué vers la mi- janvier et est mené par une centaine de pays en Afrique, en Europe, en Asie et en Amérique.

- ***Des oiseaux sédentaires*** (Moineaux, Pies, Corneille, Garde Bœuf…)

-Le virus persiste de 20 à 100 jours dans les organes de canards et de pigeons inoculés expérimentalement (Hubalek & Halouzka 1999).

Outres les oiseaux, le rôle potentiel des amphibiens et des reptiles, les rongeurs comme hôtes amplificateurs serait susceptible et inexpliqué. Lors d'une expérience, la grenouille rieuse (*Rana ridibunda*) selon l'étude de (Kostyukov *et al.)* parue en 1986, affichait une virémie suffisamment élevée pour infecter *Culex pipiens* (Komar N., 2003).

III.4 Hôtes finaux-accidentels

Le cheval, l'homme ainsi que d'autres mammifères sont considérés comme hôtes sensibles, finaux (dead-endhosts) sans issue –culs de sacs épidémiologiques- (Zientara, 2002), car, la virémie n'est pas suffisante pour que le moustique soit infecté (Hayes E.B. *et al.* 2006). D'ailleurs, elle est estimée chez le cheval comme étant inférieure à 103 particules virales/ml (Bunning *et al.*, 2002).

L'apparition des cas humains et équins est en réalité liée à la circulation importante de vecteurs ornithophiles et mammophiles compétents (Lecollinet &Zientara , 2010).

Il a été rapporté que d'autres espèces animales peuvent être infectées par le virus telles que : les carnivores, les amphibiens et même les reptiles.

De par leur sensibilité au VNO, les chevaux sont considérés comme des révélateurs épidémiologiques à l'infection/la circulation par le VNO et permettent en santé publique, la révélation ou non de l'émergence de la maladie et mettre à disposition les moyens de prévention nécessaires.

III.5 Le cycle de transmission

L'encéphalite à virus West Nile sévit principalement dans les zones tempérées, de manière sporadique, ou enzootique.

C'est dans les années 1950 par des études menées en Égypte, que l'identification du cycle de transmission de virus a vu le jour, notamment les rôles des moustiques vecteurs ornithophiles, essentiellement du genre *Culex* révélés vecteurs biologiques et certaines populations d'oiseaux comme hôtes principaux réservoirs et amplificateurs (Zientara &Lecollinet , 2010).

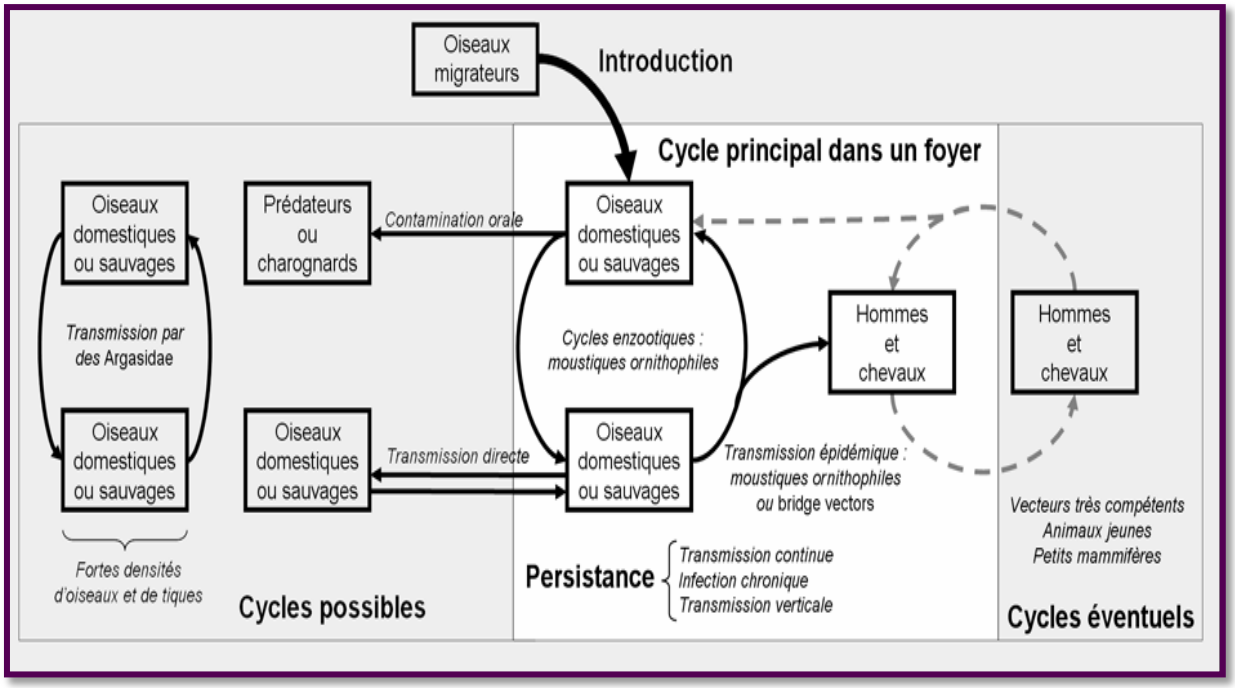


Figure 12: Cycle de transmission du virus West Nile (Thèse, Thomas Balenghien, 2006).

Le virus passe alors de la lumière du tube digestif à celle des glandes salivaires et, après les quelques jours nécessaires à cette évolution, le moustique devient infectant.

Lors d'un nouveau repas sanguin il peut, en injectant de la salive, transmettre le virus à un oiseau naïf dans ce cas le virus sera maintenu dans un cycle enzootique «oiseau-moustique-oiseau» favorisant ainsi l'amplification virale; comme il peut être transmis à un mammifère, parmi lesquels l'homme et le cheval sont des hôtes accidentels mais sensibles (pouvant développer la maladie) et qui constituent des ''culs de sac'' épidémiologiques ; c'est un cycle « accidentel » épizootique .(Lecollinet & Zientara 2009, Balenghien T., 2006).

Chez ces hôtes, la virémie est courte et de faible amplitude ; ils ne peuvent pas servir d'hôtes amplificateurs et ne permettent pas d'infecter des moustiques vecteurs potentiels (Bunning, 2002).

L'apparition de cas chez l'homme et le cheval est due à une circulation du virus dans l'avifaune, par le biais des vecteurs ornithophiles et mammophiles. (Zientara & Lecollinet, 2010).

Le VNO a la capacité d'infecter des mammifères, des reptiles, des rongeurs et amphibiens ; ceci a été démontré par la présence d'anticorps spécifiques chez ces espèces. (Taylor *et al.* 1956).

L'hypothèse que ces dernières pourraient jouer le rôle de réservoirs a été émise (Rodhain *et al.* 1985 cités par Hubalek, Hubalek *et al.* 1999).

Il a été rapporté que des alligators en Floride auraient été infectés en consommant de la viande chevaline infectée (Miller *et al.,* 2003).

Par ailleurs, certains amphibiens et reptiles ont été décrits comme hôtes amplificateurs (Kostyukov *et al.,* 1985; Klenk *et al.,* 2004).

III.6 Modes de transmission

Il existe différents modes de transmission et sont comme suit :

III.6 .1 Piqûre de moustique

Elle reste le principal mode de l'infection, cependant, il existe d'autres voies qui ont été mises en évidence.

III.6 .2 Per os

Les oiseaux prédateurs et les charognards peuvent être infectés par le VNO en ingérant des proies ou des carcasses d'animaux infectées tels que le grand duc et les corneilles d'Amérique (Komar *et al.,* 2003).

III.6 .3 Transmission occupationnelle

Les personnes travaillant au laboratoire sont sujets à risque de contracter l'infection (Pike 1976, Anonyme, 1980). Au cours de la saison 2002, dans un laboratoire aux États-Unis deux cas confirmés de transmission du VNO par inoculation percutanée accidentelle (CDC 2002).

III.6 .4 Transplantation ou transfusion

A titre d'exemple au Québec, depuis le début juillet 2003, des mesures restrictives ont été mises en place concernant les dons de sang, par test à la PCR et ceux qui s'avèrent positifs pour le VNO sont éliminés (Fortin *et al*., 2003).

C'est en août 2002, que ce mode a été décrit pour la première fois dans la littérature où quatre receveurs ont contracté le virus à la suite d'une transplantation d'organes qui provenaient d'un même donneur (CDC ,2002).

III.6 .5 Voie trans-placentaire

Un premier cas de transmission trans-placentaire et d'infection intra-utérine au VNO a été décrit à New York à l'automne 2002 (CDC 2002).

III.6 .6 Voie lactée

Le premier cas de transmission possible du VNO par allaitement maternel a aussi été décrit aux États-Unis à l'automne 2002. Le risque de transmission du VNO par le lait maternel est inconnu (CDC 2002).

Des transmissions en absence de vecteurs ont été observées chez des oiseaux en cages avec nécessité d'un contact très rapproché dans des conditions expérimentales (Banet-Noach *et al.* 2003).

III.6.7 Autres

Le VNO a été mis en évidence à plusieurs reprises dans la cavité oro-pharyngée et salive d'oiseaux infectés (Langevin *et al*. 2001, Komar *et al.* 2003), dans les fientes du poulet (Langevin et al. 2001), la dinde (Swayne *et al*.2000), le canard (Kuno 2001) et des écouvillons cloacaux de plusieurs espèces américaines infectées expérimentalement ou naturellement (Komar *et al*. 2003).

D'ailleurs la survie du virus à température ambiante chuterait de 99% au moins de 24heures (Langevin et al. 2001). Par ces modes d'excrétion, un nouvel oiseau est susceptible d'être infecté par voie orale, respiratoire, muqueuse ou cutanée (Kuno 2001).

Enfin, il pourrait être transmis chez les espèces insectivores, lors du comportement de défense vis-à-vis des moustiques ou de l'entretien mutuel du plumage

IV. Symptomatologie

IV.1 Signes clinique

IV. 1.1 Chez le cheval

C'est en Camargue, que la maladie se traduisant par un syndrome parésique postérieur et a été qualifiée depuis longtemps par les vétérinaires sous le nom de « lourdige», déjà usité au XIXe siècle (Hannoun *et al*., 1969).

Chez le cheval, le tropisme nerveux du virus ainsi que la réponse immunitaire face à ses effets pathogènes engendrés, conduisent à un tableau clinique non pathognomonique, ce dernier varie chez le cheval comme chez l'homme d'une forme asymptomatique, passant par un syndrome grippal voire une méningo-encéphalite mortelle.

L'incubation dure de 3 à 15 jours et la phase clinique chez le cheval peut aller de 5 et 30 jours, alors que sa rémission partielle ou complète peut s'étendre de plusieurs semaines voire plusieurs mois (Tritz *et al*., 2009).

Photo2 : Symptômes neurologiques chez un cheval atteint de la fièvre du Nil occidental Photo extraite du site (Office fédéral de la sécurité alimentaire et des affaires vétérinaires OSAV-confédération suisse)

Photo 3: Cheval atteint de la maladie due au virus West Nile, avec un soutien permettant d'éviter les chutes. (*Source : Université vétérinaire du Colorado)*

L'infection expérimentale chez le cheval se traduit par 2 formes complémentaires mais le plus souvent séparées, l'une de type myélitique subaigüe ou chronique, l'autre de type méningo-encéphalo-myélitique aigue ou subaigüe (Lapras & Florio al., 1968). (cf. tableau 4)

Tableau 4 : Symptomatologie lors d'infection expérimentale chez le cheval se traduit par 2 formes complémentaires l'une est de type myélitique subaigüe ou chronique, l'autre de type méningo-encéphalo-myélitique aigue ou subaigüe *(*Lapras & FLORIO al., 1968*).*

Symptomatologie	*Forme Myélitique*	*Forme Meningo-encéphalo-myélitique*
Fièvre		+++
Abattement		Par alternance
Paraplégie	oui	oui
Mydriase		++
Absence de sensibilité localisée	+++	++
Abolition des réflexes tendineux localisée		++
Diminution des réflexes palpébral et photomoteur	++	
Œdème au fond de l'œil	++	
Ataxie	++	+++
Hypermétrie		+++
Ptyalisme		++
Crise convulsive		+
Nystagmus		rare

Les manifestations cliniques lors d'infection naturelle chez les chevaux se traduisent comme suit :

-Une évolution diphasique de la température se traduisant par une hyperthermie initiale (38.5°C à 41°C) par intermittence qui peut être observée 3 à 6 jours post-infection et une seconde pouvant apparaitre 5 à 22 jours post-infection chez une majorité (près de 65%) des animaux développant des signes neurologiques (Tritz *et al.*, 2009).

-Des signes neurologiques descendants antéropostérieurs révèlent la pathogénicité exercée au niveau du S.N.C et S.N.P.par le VNO (Blitvich B.J., 2008) et se manifestent fréquemment comme suit :

-Des tremblements musculaires de la tête et de la région tricipitale, rigidité musculaire et contraction des lèvres, grincement des dents, une inappétence, une difficulté à déglutir, une cécité apparente, diminution des réflexes pupillaires, anisocorie, hyperesthésie, hypersensibilité au bruit (Snook *et al.,* 2001; Malkinson *et al.,* 2002) et rarement, hépatites sévères (Murgue *et al.,* 2001).

-Des troubles locomoteurs : une démarche en cercle, une ataxie, une parésie, une paralysie d'un ou deux membres (généralement les membres postérieurs) voire les 4, conduisant souvent au décubitus (Snook *et al.,* 2001).

- Des convulsions, la maladie peut évoluer vers un coma voire la mort.

Il est à noter qu'un pourcentage variable de chevaux ne guérissent jamais de l'infection et meurent naturellement ou sont euthanasiés pour des raisons d'éthique et de sécurité (Leblond *et al.* 2007).

Il faut savoir que les manifestations cliniques à l'encéphalite à West Nile varie d'un animal à l'autre selon la progression de la maladie, dépendent de l'âge, le statut immunitaire, la méthode d'élevage, la virulence de la souche, l'infection antérieure par d'autres *Flavivirus* (Autorino *et al.,* 2002) et sont souvent subcliniques .

Certains symptômes ne sont seulement observés qu'au début de la maladie et disparaissent au fur à et à mesure, tandis que d'autres apparaissent uniquement durant les stades finaux de la maladie ce qui requiert une attention particulière du propriétaire ou du vétérinaire praticien (Porter *et al.,* 2011). Ce dernier doit suspecter une infection au virus West Nile en face d'un équidé présentant une atonie ,une déficience proprioceptive et/ou un symptôme caractéristique d'une méningo-encéphalite associé ou non à une hyperthermie ,durant la période active des vecteurs ,et passer par des examens de laboratoire pour confirmer ou infirmer la donne (Lecollinet & Zientara, 2010)(Bull. Acad. Vét. France, 2012 /www.academie-veterinaire-defrance.org)

La convalescence peut durer 35 jours environ ; 9% des chevaux auront des séquelles neurologiques 2 mois plus tard. Cependant ces données viennent essentiellement des USA car par rapport au nombre et à la variabilité des cas équins (Tritz *et al.,* 2009).

Le taux de survie pour l'encéphalite à WNV est de 50 à 70 %, la majorité des chevaux récupèrent dans les 3 à 5 jours après l'installation des signes cliniques, donc impossibilité d'évaluer l'efficacité traitements mis en place. (Tritz *et al.,* 2009).

Il est à savoir de relever la viabilité du produit d'une jument qui a été infectée au 5ème mois de gestation et ayant manifesté une forme nerveuse (Snook *et al*., 2001)

Des séquelles à long terme peuvent y persister, dans moins de 20% des cas : une perte de poids, une perte de condition physique, une léthargie, une ataxie, des trébuchements et des déficits de nerfs crâniens ont été enregistrés lors de l'épizootie équine de grande ampleur qui a eu lieu aux États-Unis (Lecollinet, 2010).

IV.1. 2 Chez les oiseaux

Le plus souvent, les oiseaux ne sont pas sensibles, mais depuis 1998, en Israël que le VNO qui était considéré comme non pathogène pour les oiseaux l'est devenu, d'ailleurs, la période infectieuse se solde soit par sa mort soit par sa guérison.

Chez certaines espèces migratrices d'oiseaux, dont les cigognes blanches (*ciconia ciconia*), les goélands à iris blanc (*larus leucophtalmus*) et les vautours oricou (*torgos tracheoliotus*) (Murgue *et al*., 2001), mais aussi les oies domestiques et les corbeaux (Swayne *et al*., 2001) ont présenté des manifestations nerveuses se traduisant par une paralysie des ailes ,des pattes et une incapacité à se tenir debout voire mortalité (Lvov *et al*. 2004).

Le plus souvent, la maladie entraine une forme asymptomatique, sauf en Amérique du nord où un variant du virus avait occasionné (plus de 4000 cadavres de corvidés récoltés en 1999), en particulier les corneilles américaines (*Corvus brachirhyncos*) et les geais bleus (*Cyanocitta cristata*) (Steele *et al.*,2000).

De jeunes oies infectées par la souche NY99 ont montré des signes de dépression, d'amaigrissement, de torticolis ou d'opisthotonos (Swayne *et al.*, 2001).

Néanmoins, des signes tels que : (encéphalites chez des pigeons, des canards, des mouettes…) (Taylor *et al*., 1956), léthargie, plumage ébouriffé ,ataxie, posture anormale avec le port de tête anormal, hémorragies externes buccales ou cloacales ,paralysie des pattes et des ailes et une mort généralement rapide (en l'espace de 24 heures) ont apparu lors d'infections expérimentales (Komar *et al*., 2003).

IV.1. 3 Chez l'homme

La F.N.O.chez l'homme se traduit par des manifestations d'allure grippale et dans moins d'1% (1 cas sur 150), des cas par des troubles neurologiques impliquant le SNC tels que des encéphalites, méningites, encéphalomyélites ou méningo-encéphalomyélites, pouvant entrainer la mort (Platonov *et al.*, 2001). L'incubation peut durer entre 5 à 21 jours (Mondet,

2000) avec une fièvre d'apparition brutale durant en moyenne 3 jours, de céphalées ou frissons (Weiss *et al.*, 2001). Cette phase fébrile peut s'accompagner de troubles divers : gastro-intestinaux (vomissements, diarrhée), adénomégalie généralisée, éruptions cutanées maculo-papulaires auto-résolutives d'une semaine (Sejvar *et al.*, 2003), plus rarement, d'hépatites sévères (Cernescu *et al.*,2000) , de pancréatite et de myocardite (Weinberger *et al.* 2001).

Des signes nerveux pouvant être associés tels que des paralysies flasques qui apparaissent brutalement, se manifestant par une faiblesse musculaire de type poliomyélite généralement asymétrique dans les bras ou les jambes, sans douleur ni perte de sensibilité, une incontinence urinaire, une dysphagie ou une insuffisance respiratoire (Sejvar *et al.*, 2003). En cas de rémission, des séquelles nerveuses peuvent y persister avec une récupération incomplète de la mobilité des membres.

En fonction de la souche et le statut immunitaire du patient, le tableau clinique reste variant comme les cas des épisodes de WNF en Amérique, Roumanie, Israël et Russie, marqués par la mort des patients souffrant d'atteintes nerveuses (Weinberger *et al.*, 2001).

IV.2 Lésions tissulaires anatomo-pathologiques

IV.2.1 Chez le cheval

Les lésions varient selon le degré d'atteinte, elles ont été décrites lors de l'épizootie d'Italie en 1998, comme suit (Cantile & Del Piero, 2001) :

-Des images d'infiltration lymphocytaire dans les capillaires de l'encéphale et des méninges sont assez évocatrices en cas d'affection du SNC (Miller *et al.*, 2003) , présence de foyers inflammatoires éparpillés de microgliose sur la région de la moelle épinière et des ponts parfois sur le noyau basal, le thalamus et le mésencéphale ainsi que la présence d'hémorragie modérée à sévère.

-Une dégénérescence et une nécrose occasionnelle périvasculaires peut s'en suivre suite à ces infiltrations (Snook *et al.*, 2001).

- Une dégénérescence neuronale se traduirait par une chromatolyse centrale, un gonflement ou un rétrécissement cellulaire dans les cas les plus sévères

-C'est au niveau de la substance grise dans des sites inflammatoires que les antigènes viraux du WNV sont retrouvés.

IV.2.2 Chez les oiseaux

Il existe quelques lésions qui sont assez évocatrices mais non pathognomoniques : émaciation, splénomégalie, hépatomégalie, lésions cardiaques et encéphalites ; la sensibilité de l'examen post-mortem reste moyenne (68 %) car elle dépend de l'espèce concernée (très bonne chez les corneilles mais très faible chez les moineaux) et le pic de la période. (Edison *et al.*, 2001).

V. La réponse immunitaire dirigée contre le VNO chez le cheval

La production d'anticorps survient pour éliminer le virus du plasma et prévenir une dissémination future, tandis que la réponse immunitaire à médiation cellulaire (RIMC) intervient dans la clairance virale des tissus. (King *et al.;* 2007)

IV.1 La réponse immunitaire à médiation humorale

Les chevaux infectés naturellement développent une forte réponse en Ac neutralisants (Davidson *et al.*, 2005). Ces derniers reconnaissent des épitopes localisés préférentiellement au niveau de la glycoprotéine virale E.

Expérimentalement, chez la souris, il s'agit de l'épitope majeur T332 localisé sur la surface latérale du domaine III (protéine DIII) de la protéine E du VNO et joue une rôle majeur dans la réponse neutralisante (Beasley & Barret, 2002, Oliphant *et al.*, 2005).

Chez le cheval, cet épitope a un rôle important dans la réponse immunitaire, mais il n'est pas immunodominant.

La réponse en Ac neutralisants chez le cheval semble variable et polyclonale, avec des épitopes présents aussi bien sur le domaine DIII de la protéine E que sur d'autres protéines.

Ces Ac inhibent l'attachement viral, l'internalisation du virus et la réplication virale (Oliphant *et al.*, 2005).

Il y aussi les Ac Anti NS1 qui protègent de la maladie entrainée par le *Flavivirus* et peuvent être utilisés à des fins prophylactiques et thérapeutiques dans les modèles animaux (Falgout B *et al.*,1990).

Le mécanisme de protection fait intervenir la fixation du complément sur la partie constante (Fc) de l'Ac. Il se produit un phénomène chez les flavivirus connu ‘’ "Antibody-dependant enhancement of infection" ou ADE lorsque les complexes Ac-virus sont internalisés dans les cellules via le segment (Fc) des Ig *(*Peiris & Porterfield 1979).

La réponse en IgG persiste plus longtemps que la réponse en IgM, et ce en dépit de la variation du lignage du virus (Castillo-Olivares *et al.*, 2011).

Même si la RIMH est considérée comme importante, des précisions sont encore à explorer.

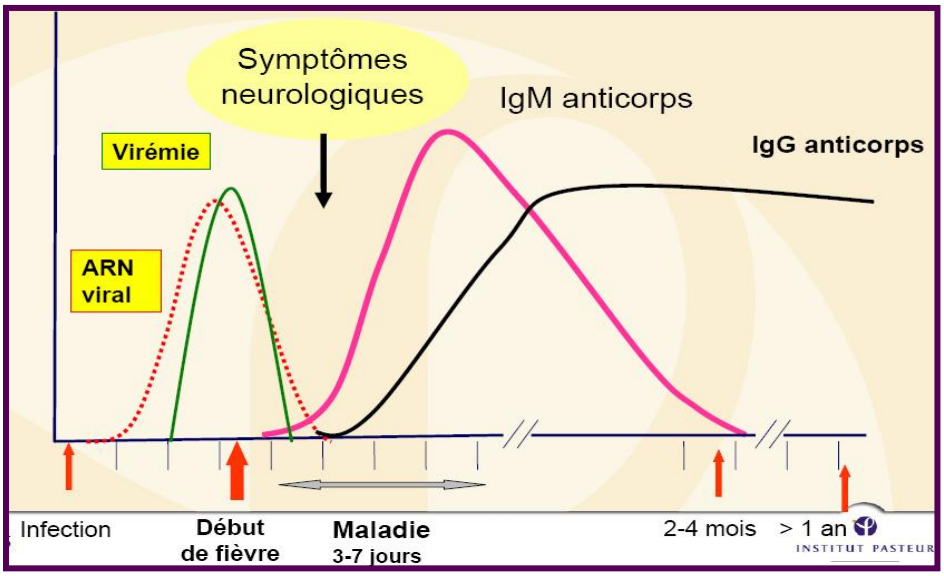


Figure 13 : Courbes décrivant l'apparition des anticorps (Institut Pasteur)

IV.2 La réponse immunitaire à médiation cellulaire

Le VNO stimule la production par le SNC d'une cytokine dont le rôle principal est l'activation cellulaire et la stimulation de la migration des leucocytes (Burteau *et al.*, 2007) nommée CCL5, qui recrute des LT exprimant le récepteur CCR5 ainsi que des macrophages qui ont un effet protecteur dans le SNC chez la souris comme chez l'humain. (Glass *et al.*, 2005).

D'autres cytokines telles que les interférons α ,ß, γ (IFN-α IFN-ß, IFN-γ) sont également produites (Keller *et al.*, 2006, Liu *et al.*, 2006, Sitati & Diamond, 2006).

Les LTCD8+ et LTCD4+ jouent un rôle dans la clairance virale des tissus, le contrôle de l'infection et la prévention de la persistance virale (Shresta & Diamond, 2004).

Les LTCD8+ peuvent avoir à la fois un effet protecteur et délétère dans le modèle murin *(*Wang *et al.*, 2003*).*

Il y a eu une seule étude sur la réponse cellulaire, laquelle a décrit les réponses lymphocytaires et les profils en cytokines induits chez des chevaux sains suite à la vaccination avec un virus inactivé (Davis *et al.*, 2008) , ces réponses sont augmentées par un rappel vaccinal.

V. Diagnostic de la maladie et le dépistage de l'infection

La précocité de la mise en place d'un diagnostic épidémiologique et clinique de suspicion dans le cadre de surveillance doit être appuyée par un diagnostic de laboratoire

V.1 Diagnostic épidémiologique

Un animal est considéré comme suspect quand celui-ci a séjourné pendant 3 semaines précédant l'apparition des symptômes dans une zone ou foyer à risque (Genain *et al.*, 2010).

V.2 Diagnostic clinique

La présence ou non de fièvre avec un trouble nerveux peut faire penser à la F.N.O., cependant les signes nerveux observés n'en sont pas pathognomoniques et peuvent être retrouvés lors d'une autre infection ou affection nerveuses de type encéphalite (Genain *et al.*, 2010) ou de type méningite.

V.3 Diagnostic différentiel

V.3.1 Chez le cheval

Toutes les encéphalites virales : l'Encéphalite Equine de l'Est (EEE), la forme neurologique de la rhinopneumonie (herpès virus équin EHV-1), le virus Borna, la rage, Encéphalite à tique (TBE), l'Encéphalite Vénézuélienne (EEV), l'Encéphalite Japonaise (EJ), (Snook *et al.*, 2001) ainsi que l'Encéphalite de St Louis (ESL) et l'Encéphalite de la Vallée de Murray (MVE) ; le botulisme, les myéloencéphalites à protozoaires (*Sarcocystis neurona* ou *Neospora hughesia*), le syndrome de Wobbler, l'encéphalose hépatique, un traumatisme ou une intoxication (Lecollinet *et al.*, 2008).

Pour cette raison, des tests multiplex ont été mis en place pour la recherche simultanée du WNV et du virus de l'encéphalomyélite équine de l'Est ou encore du WNV et de l'EHV-1 et du virus Borna (Minke et *al.*, 2008).

V.3.2 Chez l'homme

Les encéphalites virales, la dengue et le syndrome de Guillain Barré.

V.3.3 Chez les oiseaux

La maladie de Newcastle.

V. 4 Diagnostic de laboratoire

Lors de suspicion, le diagnostic de laboratoire est indispensable pour confirmer ou infirmer l'infection à cause de la symptomatologie non spécifique et semblable à celle observée dans d'autres affections nerveuses équines. (Dauphin & Zientara, 2004).

La virémie est un indicateur aux prémices d'une infection, au cours du premier volet fébrile dans les 3-5 jours , cependant il est rare de révéler sa présence ou même la présence du génome viral ARN à ce stade (Dauphin & Zientara, 2004),d'ailleurs, la virémie maximale obtenue après infection expérimentale n'excédait pas 10^3 particules virales/ml (Bunning *et al*., 2002).

V.4.1 Identification de l'agent pathogène

Le diagnostic virologique dans l'espèce équine.

V. 4.1 .1. Culture

Chez le cheval atteint d'encéphalite, les prélèvements préférentiels pour l'isolement du virus sont le cerveau et la moelle épinière cervicale voire même le L.C.R. (Ostlund E.N. .*et al* 2001).

Chez l'oiseau, divers prélèvements comprenant le cerveau, la rate, le cœur, le foie et les intestins peuvent être également utilisés avec succès (Steele K.E. *et al* 2000).

La propagation du virus se fait sur des cultures de cellules sensibles, telles que les cellules rénales du singe vert africain *Cercopithecus aethiops* (VERO), les cellules de rein de lapin (RK-13), ou des œufs embryonnés de poulet.

Lors d'une culture de cellules, il est nécessaire qu'il y ait plus d'un passage avant de pouvoir observer l'effet cytopathique /cytopathogéne (ECP) du virus (Castillo-Olivares, 2004).

Il faut savoir que l'inoculation intracérébrale aux souriceaux nouveaux nés est moins efficace pour l'isolement du virus à partir de tissus de mammifères à comparer avec les méthodes de culture de cellules, cependant il est rare d'isoler le virus à partir du sang.

Un marquage indirect par des anticorps fluorescents sera réalisé sur des cultures de cellules infectées ou des méthodes de détection de l'ARN seront utilisées (OIE, 2008), afin de confirmer l'isolement du VNO.

V.4.1.2 Méthode de marquage immuno-histochimique (IHC)

Les prélèvements de cerveau et de moelle épinière effectués sur des chevaux positifs à l'encéphalite de WNV ne donnent pas forcément une réponse positive avec cette technique ; où environ 50 % des cas sont faussement négatifs.

D'ailleurs la non mise en évidence d'antigènes du WNV dans le S.N.C.équin ne permet pas d'exclure que le cheval en soit atteint ; contrairement, chez les oiseaux, où cette méthode est fiable pour l'identification de l'infection du WNV sur les tissus aviaires après la fixation au formol (OIE, 2008).

V.4.1 .3. Mise en évidence du génome viral du VNO

La détection du génome viral (ARN) par la RT-PCR de transcription inverse couplée à une réaction d'amplification en chaîne par polymérisation est une technique rapide et plus sensible dans des échantillons de cerveau et de moelle épinière équins, frais et non fixés , en phase aiguë dans le sérum avant l'apparition des anticorps , dans le L.C.R. en phase encéphalique, dans des tissus d'oiseaux, des pools de moustiques ou des cultures cellulaires (Johnston *et al*., 2000).Elle demeure suffisamment sensible pour le tissu nerveux équin d'où la mise en place d'une RT-PCR nichée (nRT-PCR), qui est rapide (moins de 24 h) et très sensible (Johnson *et al.*, 2001) ;constituant ainsi la méthode de choix pour le dépistage et d'autres fins diagnostiques (*via* la surveillance passive notamment) (OIE, 2008).

Ce sont les régions de 445 et 248 pb du gène qui codent pour la protéine E du WNV qui sont amplifiées.

Une autre technique de nRT-PCR a été mise au point pour les pools de moustiques (Shi *et al*.,2001).

V.4.2 Les épreuves sérologiques

V.4.2.1 Méthodes ELISA

- ***Principe des tests ELISA***

L'outil de premier choix reste le diagnostic de la maladie FNO par la méthode ELISA ;le principe est basé sur la détection des anticorps dirigés contre la protéine E (immunogène principal, d'autres ELISA mettent en évidence les anticorps anti-NS1 par exemple).

Il est à noter qu'il existe des réactions croisées des anticorps IgG/M West Nile et IgG/M vis-à-vis des antigènes des *Flavivirus* du sérogroupe de l'Encéphalite Japonaise ou l'encéphalite Saint-Louis (et même parfois avec le virus de la dengue chez l'homme), ce qui limite la spécificité de la plupart des tests sérologiques (Dauphin & Zientara, 2007).

- ✓ ***ELISA de capture IgM***

Elle est utilisé pour déceler les anticorps découlant d'une exposition naturelle et récente au WNV, puisque les IgM équines spécifiques du WNV sont détectées à partir de 7 à 10 jours post-infection lorsque les premiers signes apparaissent, jusqu'à 3 mois après l'infection et qu'il est probable que le moustique soit encore présent dans la région et propage éventuellement le virus.

Les chevaux vaccinés ne développent qu'une réponse IgM très faible et fugace, dans les 2-3 semaines qui suivent la vaccination (Lecollinet, 2010).

- ✓ ***ELISA de capture IgG***

Les anticorps de type IgG dirigés contre le WNV sont décelables 2 semaines post-infection et y persistent pendant plusieurs années (OIE 2008), donc leur présence ne renseigne aucunement sur le moment précis auquel l'animal a été infecté ni sur la présence actuelle du WNV dans le milieu.

- ✓ ***Autres***

-Les tests ELISA basés sur des antigènes de virus inactivés ou recombinants sont rapides , et moins chers que d'autres méthodes sérologiques et sans manipulation du virus.

-Il existe des tests ELISA qui sont basés sur l'enrobage de particules virales infectieuses et dans ce cas, des manipulations doivent se faire obligatoirement dans un laboratoire de niveau de sécurité microbiologique 3 (Dauphin & Zientara,2007 ; Lecollinet, 2010).

V.4.2.2 La séroneutralisation

La difficulté à faire la différence entre le VNO et les autres *Flavivirus* et en particulier du même serocomplexe est une limite au test ELISA, c'est la raison pour laquelle la séroneutralisation, une technique de référence plus spécifique est utilisée pour confirmer (Minke et *al.,* 2008) un résultat positif au test ELISA (IgM ou IgG).

Elle nécessite la manipulation du virus, ce qui conduit au niveau de sécurité exigé en laboratoire (niveau de confinement 3).

Elle permet aussi d'établir le titre d'anticorps neutralisants dans un échantillon de sérum donné d'où la notion quantitative, chose qui n'est pas retrouvée avec un test ELISA. Il est nécessaire d'effectuer 2 prélèvements à un intervalle compris entre 1 à 3 semaine(s) afin de montrer une évolution du titre d'anticorps compatible avec une infection récente. Elle demande un peu plus de temps car les résultats définitifs ne seront obtenus qu'au bout de 3-4 jours.

L'inhibition de l'attachement des récepteurs à la surface cellulaire, de l'internalisation et/ou de la fusion avec les endosomes (Diamond *et al.,* 2008) sont les mécanismes qui mettent en place la neutralisation. Celle-ci est obtenue lorsque le nombre d'anticorps liés aux virions excède un certain seuil.

Chez la souris, selon des études (Oliphant & Diamond, 2007), cette propriété de neutralisation est liée à l'épitope T332 du domaine III de la protéine E, qui est reconnu par les

anticorps ayant la plus forte activité neutralisante in vivo et in vitro, car quand ces anticorps s y attachent , l'étape de l'infection virale est bloquée.

Chez le cheval, la réponse en anticorps neutralisants est variable et polyclonale et donc n'est pas associée qu'à cet épitope, celui-ci reste de ce fait important mais non dominant. (Sanchez *et al.*, 2007).D'autres épitopes de la protéine d'enveloppe peuvent intervenir.

Il faut tenir compte du statut vaccinal, lors d'interprétation des résultats pour le test ELISA IgG et la séroneutralisation (Minke et *al*., 2008).

VI. Traitement & Prophylaxie médicale et sanitaire

En raison de la pathogénicité du virus, des moyens doivent être mis en place face au risque sanitaire et aux enjeux économiques.

VI. 1 Mesures Individuelles

VI. 1.1Traitement symptomatique chez le cheval

À l'heure actuelle, il n'existe pas de traitement spécifique, seul un traitement symptomatique peut être préconisé.

-Une fluidothérapie en association avec des anti-inflammatoires non stéroïdiens (phénylbutazone, flunixine méglumine1,1 mg/kg toutes les 12 heures, en intraveineuse) pourrait diminuer la sévérité des tremblements musculaires et des fasciculations en quelques heures (Sellon & Long,2006).

-L'utilisation des corticoïdes (diméthylsulfoxyde) reste controversée à ce jour, ceci dit elle est employée en présence d'un cheval agressif en raison de(0,05-0,1 mg/kg chaque 24 heures /IV) avec du mannitol (0,25-2,0 g/kg chaque 24 heures/IV) .

-La Détomidine (0,02-0,04 mg/kg /IV ou IM) est efficace pour une tranquillisation prolongée. Pareillement, de faibles doses d'acépromazine (0,02 mg/kg/IV ou 0,05 mg/kg /IM) soulagent l'anxiété chez les chevaux couchés ou debout.

-Une couverture en antibiotiques sera mise en place et plus particulièrement en cas de corticothérapie afin d'éviter des complications bactériennes.

-L'administration d'interféron α est encore à discuter car il est dit que son administration activerait les cellules environnantes infectées et non infectées afin d'inhiber la synthèse protéique virale et d'autre part, de provoquer la décomposition de l'ARN viral.

-L'utilisation de la ribavirine est discutable, celle-ci s'incorpore en tant que nucléosides défectueux à la place des nucléosides corrects durant la réplication virale d'où l'inhibition de la multiplication virale.

-Le pronostic reste réservé face même à une sérothérapie dirigée contre le WNO en IV qui est recommandée aux États-Unis. (Sellon & Long, 2006).

-La mise des chevaux atteints dans un endroit semi-éclairé et au calme avec une litière épaisse et des murs capitonnés.

VI. 2 Mesures collectives de police sanitaire

-L'isolement et l'interdiction de tout mouvement d'équin suspect d'encéphalite virale.

-Le recensement des équidés suspects ou morts d'encéphalite virale, pour chaque espèce.

-Le traitement par insecticide autorisé des équidés présents et des locaux d'hébergement.

*(*Genain *et al.*, 2010,RESPE*)*

VI. 3 Prophylaxie sanitaire

VI. 3.1 Mesures offensives

-Faire des épandages d'insecticides en ciblant les gites larvaires des moustiques, car la lutte anti-vectorielle représente un coût écologique qui ne reste pas assez efficace (Artois, 2009).

-Désinfecter les vans.

VI. 3.2 Mesures défensives

Il faudra veiller sur les facteurs qui favorisent l'apparition et la transmission du virus :

VI. 3.2 .1 Chez le cheval

-Garder les chevaux à l'écurie le soir, en éteignant les lumières, le moment où le moustique est plus actif (Fort Dodge, 2009).

-Changer l'eau des abreuvoirs de façon quotidienne.

-Utiliser des répulsifs sur les chevaux et autour de leur environnement.

-Poser des moustiquaires aux portes des boxes (Genain *et al.*, 2010).

-Couvrir les poubelles ou tout autre conteneur de déchets.

-Limiter les eaux stagnantes, car elles constituent des gîtes pour les vecteurs.

-Mettre en quarantaine des équidés en provenance de zones infectées (Genain *et al.*, 2010).

VI. 3.2 .2 Chez l'homme

- Le port de vêtements vastes et longs
- Les répulsifs cutanés
- Les produits d'imprégnation des tissus
- L'utilisation de moustiquaires pré-imprégnées

VI.4 Prophylaxie médicale :

VI.4.1 Vaccin chez le cheval :

Il est à savoir que suite à la commercialisation du vaccin en 2003, des études ont été menées et ont démontré l'efficacité de la vaccination chez le cheval (Dauphin & Zientara, 2007).

Il existe des vaccins qui comportent des *Flavivirus* hétérologues entrainant une protection plus réduite en minimisant l'évolution de l'infection et la sévérité des symptômes (Dauphin & Zientara, 2007).

- **Aux États-Unis**

L'impact colossal de la FNO sur les chevaux aux États-Unis, a incité un intérêt au développement de vaccins.

Quatre vaccins sont actuellement disponibles avec A.M.M. (Dauphin & Zientara, 2007).

Il existe des vaccins chimériques exprimant les protéines de la membrane et de l'enveloppe (DeFilette *et al*., 2012).

1- Un vaccin inactivé adjuvé à virus entier disponible depuis 2001 (West Nile-Innovator®, Pfizer™) lequel a également obtenu une A.M.M. en Europe (Duvaxin WNV®, Pfizer™),utilisé en Europe (voir ci-dessous).

2-Le vaccin recombinant Recombitek equine WNV® nécessite une primo-vaccination avec 2 doses avec un intervalle de 5 semaines en I.M. , suivi d'un rappel annuel. Il protège contre la virémie à 100% et il induit également une réponse immunitaire cellulaire (Dauphin & Zientara, 2007).

3-Le vaccin ADN adjuvé composé des gènes codant pour les prM et E est disponible depuis 2008 mais il n'est pas commercialisé à cause de la cherté du prix (West Nile Innovator-DNA®, Pfizer™).

4- Un vaccin recombinant, basé sur un vecteur *Canarypox* virus vectorisé avec les gènes codant pour les protéines PrM et E, est commercialisé depuis 2004 (Recombitek equine WNV® Merial™).

- **En Europe**

Il existe un vaccin à virus inactivé dénommé WNV© délivré par Pfizer™, commercialisé depuis le 15 mai 2009. Ce vaccin dénommé Duvaxin ,il bénéficie d'une AMM européenne centralisée, délivrée le 21 novembre 2008 et de l'expérience de son utilisation aux États-Unis (Vandaële, 2009).

Une primo-vaccination nécessite deux injections (1ml) en IM espacées de 3à 5 semaines chez les chevaux âgés de six mois et plus, avec un rappel annuel.

Quant aux effets secondaires, il s'agit de ceux décrits habituellement avec les vaccins inactivés adjuvés : une réaction locale bénigne et/ou une fièvre transitoire de 48h, le vaccin peut d'ailleurs être utilisé chez les juments gestantes ou allaitantes.

Le vaccin entraîne la formation d'IgG, mais pas d'IgM, ce qui permet de différencier les animaux vaccinés (IgG sans IgM) de ceux qui ont été infectés assez récemment.

Le vaccin West-Nile peut être utilisé le même jour que d'autres vaccins classiques, en deux points d'injections séparés.

L'apparition de l'immunité a lieu 3 semaines après la seconde injection de primo-vaccination et dure une année.

Le vaccin protège des signes cliniques et de la mort (Vandaële, 2009).

En France

Depuis Juin 2009, la vaccination des chevaux contre la WNF est possible par A.M.M. (Vandaële, 2009).

Vu l'émergence de l'infection qui a lieu entre la fin de l'été et en début d'automne dans les zones humides fréquentées par les oiseaux et les moustiques, il est recommandé de vacciner les chevaux avant la saison d'activité des moustiques, i.e avant la période à risque pour le cheval (Fort Dodge, 2009).

VI.4.2 Vaccin chez l'homme

À l'heure actuelle, il n'existe pas de traitement spécifique chez l'homme contre le VNO ni de vaccin commercialisé, en dehors de ceux qui sont en cours (Petersen LR, Brault AC, Nasci RS, 2013) ; seul un traitement symptomatique est préconisé pour atténuer les signes cliniques.

DEUXIEME PARTIE : ETUDE EXPERIMENTALE

Objectif de l'étude

La F.N.O. est classée comme étant une maladie vectorielle d'intérêt tout comme la babésiose, l'Encéphalite arbovirale japonaise, l'Encéphalite de Saint Louis et l'Encéphalite équine de l'Est.

Afin de connaitre le statut sanitaire de cette zoonose vectorielle ré-émergente en Algérie à l'heure où celle-ci est signalée dans les pourtours du pays ,en Afrique du nord, ainsi qu'aux différents continents depuis des années , une enquête de séroprévalence a été menée sur des chevaux afin de lever le voile sur cette infection en coopération avec des praticiens vétérinaires, éleveurs et propriétaires.

Le choix des régions qui seront retenues sur la base des critères suivants :

-Présence de chevaux.

-Situées sur les couloirs de migration des oiseaux.

-Climat favorable (chaleur- humidité-Fortes précipitations).

-La séroprévalence *de l'infection de l'avifaune*: sur les espèces d'oiseaux sauvages plutôt sédentaires (canards colverts, oies blanches) -En cours-.

I. Matériel et méthodes

I.1 Élaboration d'un questionnaire (voir annexe 4).

-Le géoréférencement /Zone –Lieu / Humidité de la région.

-Date du prélèvement/ saison.

-Le (s) propriétaire(s).

-Le(s) vétérinaire(s).

-Les caractéristiques physiques du cheval (Nom, sexe, âge -ou année de naissance, race, robe, date d'acquisition).

-Les caractéristiques sanitaires du cheval (état général, vaccination, vermifugation, antécédents médicaux).

-L'habitat du cheval en stabulation ou semi stabulation (logement de jour et de nuit).

-L'activité du cheval, déplacements éventuels en zones humides.

-La présence de signes nerveux.

-La présence de vecteurs / de moyens de lutte anti-vectorielle.

-La présence d'oiseaux (sédentaire-migrateurs ou les deux à la fois)

I.1.1 Échantillon

Il est constitué de 209 chevaux répartis dans les clubs hippiques (Dergana, Caroubier, Mohammadia, Ouled Fayet, Zeralda et Blida) et chez des particuliers, portant sur les deux sexes, de différentes catégories d'âge, races confondues et sans choix particulier des robes.

I.2 Délimitation des zones

Situation de l'enquête : Une étude transversale de séroprévalence est réalisée sur une population de chevaux résidante, voir cartes ci-dessous (Figure14 : a,b,c,d); dans différentes régions d'Alger, Boumerdes, Blida, au niveau des centres équestres/clubs hippiques et chez des particuliers. La délimitation des zones d'étude est réalisée en quatre (4) en référence à leur situation géographique vis-à-vis de chaque commune.

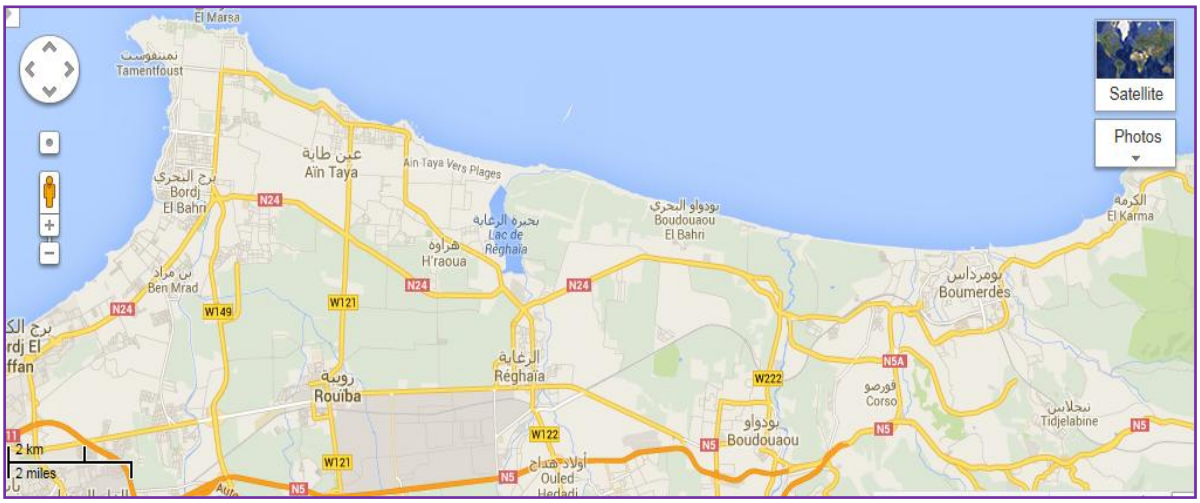


Figure 14 (a) : zone ''est''

Figure 14 (b) : Zone ''sud''

Figure 14 (c) : Zone ‘’ centre’’

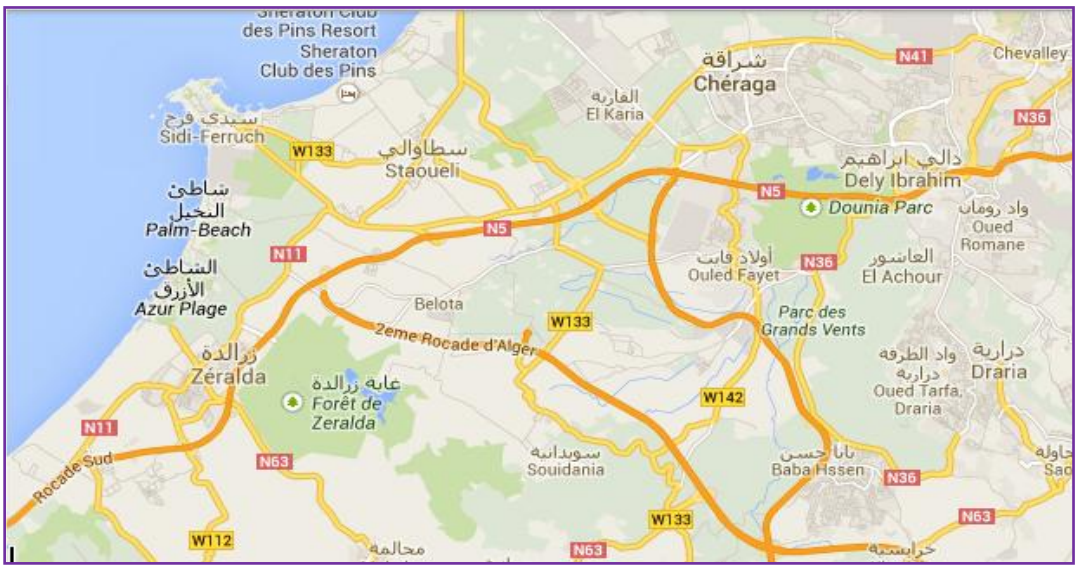


Figure 14 (d) : Zone ‘’ouest’’

I.3 La récolte des prélèvements

I.3.1 La trousse de prélèvement *au sensu stricto* pour une prise de sang veineux

- Une glacière contenant des poches -des pains de glaces/ blocs réfrigérants.
- Des compresses stériles.
- De l’alcool à 95 °.
- Un porte-aiguilles vacutainer / adaptateur.
- Des aiguilles à vacutainer.
- Des tubes secs de type vacutainer.
- Porte-tubes.

(a) (b)

Photo 4 : (a) et (b) : Matériel utilisé

I.3.2 Réalisation de la prise de sang

-La contention du cheval se fait à l'aide d'un simple licol, parfois un tord nez par un aide, le propriétaire ou un vétérinaire.

-Une compresse stérile est grandement imbibée d'alcool est passé sur la gouttière jugulaire en regard du site de ponction.

-Une compression avec le pouce est effectuée au niveau de la gouttière jugulaire afin de faire ressurgir la veine jugulaire, celle-ci est repérée et ponctionnée au tiers supérieur, à l'aide d'un adaptateur muni d'aiguille-vacutainer.

-La peau est piquée au niveau de la veine, biseau vers l'extérieur, à 40° en direction de la tête par rapport à la veine, une fois entrée, l'aiguille est redressée et insérée tout en gardant la compression.

-Le tube est alors glissé afin de le remplir de sang.

-La compression est alors relâchée, et une compression est exercée durant quelques secondes, le temps que l'hémostase se fasse à l'endroit du prélèvement.

-Un numéro pour chaque tube, est inscrit au feutre indélébile correspondant à chaque cheval.

-Ce numéro correspond à la fiche technique de chaque cheval.

Photo 5: Asepsie et compression au niveau du sillon jugulaire

Photo 6 : Prise d'un prélèvement veineux (veine jugulaire)

-Le tube est placé dans un porte-tubes à l'intérieur d'une glacière au frais à l'abri de la lumière pour décanter.

-Les tubes de sang sont transportés au niveau du laboratoire d'hématologie du service de médecine interne de l'hôpital de Rouiba, où ils subissent une centrifugation dans une centrifugeuse à une vitesse de 3000 tours/min durant 10 min voire plus par moment afin de récolter les sera.

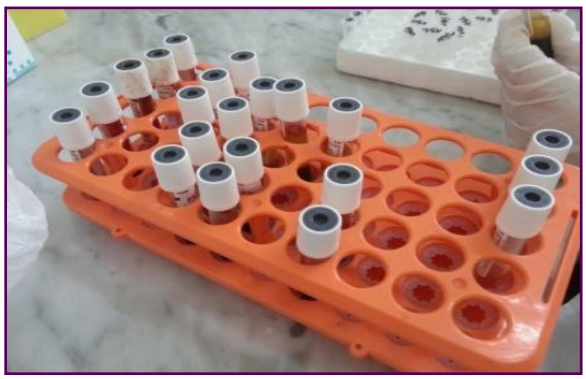
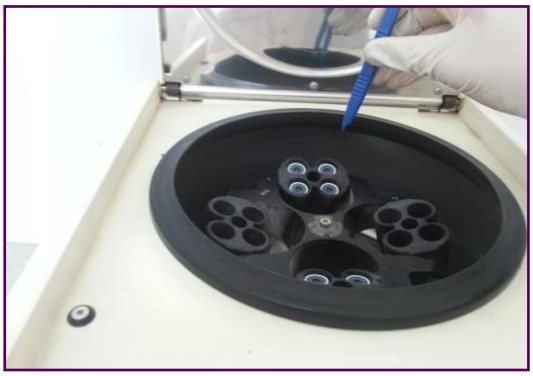


Photo 7 : Tubes mis dans un porte-tubes

(a)



(b)

Photo8: (a) et (b) : Centrifugeuse et la mise en place des tubes à l'interieur de celle-ci.

Photo 9: Séparation du sang en 2 phases le culot et le surnageant après centrifugation

Photo 10: Récolte du sérum avec une micropipette munie d'embout

Photo 11 : Mise du sérum dans les eppendorfs à l'aide de la micropipette.

-Deux phases sont constituées (le culot et la phase aqueuse) cette phase aqueuse correspond au sérum qui est récupéré à l'aide d'une micropipette dotée d'embout, et mis dans un eppendorf et congelé à -18°C.

I.4 Réalisation du test ELISA

-Des tests ELISA indirects sont réalisés sur tous les sera pour la détection des IgG anti-West Nile.

-*Définition des cas :* «Cheval positif » tout cheval dont le résultat de la sérologie IgG est positif

I.4.1 Description et principe

La technique ELISA : recherche des Ac de la F.N.O chez les équidés par ELISA « ID-Screen West Nile Compétition.

La sensibilité du test ELISA compétition a été estimée à 9/10 (90%) par rapport au test de SN, en incluant les résultats douteux en ELISA comme résultats positifs et la spécificité à 11/11 (100%).

I.4.1.1 Objet et domaine d'application

C'est un test sérologique qui est utilisé en première intention pour une surveillance sanitaire ou pour un certificat d'exportation d'un équidé. Le mode opératoire est dérivé de la notice d'utilisation du fabricant ID VET (*cf.* Annexe 5).

I.4.1.2 Références normatives

La technique ELISA fait partie des épreuves sérologiques recommandées par l'OIE. Aucun mode opératoire particulier n'est préconisé, la méthode d'analyse de la trousse commerciale « ID Screen® West Nile Competition » est donc compatible avec les recommandations.

I.4.1.3 Composants du kit ELISA West Nile competition

✓ ***Réactifs***

- Microplaques sensibilisées avec l'antigène purifié
- Conjugué concentré (10X)
- Contrôle positif
- Contrôle négatif
- Tampon de dilution 2
- Solution de lavage concentrée (20X)
- Solution de révélation (TMB)
- Solution d'arrêt (H2SO4 0.5M)

Photo 12: Réactifs et plaque du kit ELISA Competition West NILE (ID SCREEN ®)

-Le conjugué, les contrôles et la solution de révélation (TMB) doivent être stockés à 5°C (±3 °C).

-Les autres réactifs ainsi que les plaques peuvent être stockés entre +2°C et +26°C.

-La solution de lavage concentrée (20X) doit être diluée au 1/10 ème (1X) dans de l'eau distillée.

-Le conjugué concentré (10X) doit être dilué 1/10 ème (1X) en tampon de dilution 2.

I.4.1.4 Principe de la méthode

-Ce kit de diagnostic « ID Screen West Nile compétition » est destiné à la mise en évidence et l'identification des anticorps de chevaux et d'oiseaux dirigés contre la protéine d'enveloppe (Pr-E) par la méthode ELISA de compétition bloquant la phase solide.

-Les cupules des plaques ELISA sont sensibilisées avec un extrait d'antigène purifié du VNO.

-Tout échantillon/sérum à tester doit être dilué au ½ et distribué dans une cupule. Dans le cas de la présence d'un anticorps anti Pr-E, un complexe antigène-anticorps se formera lors de la phase d'incubation de 90 min à 21°C (*cf. mode opératoire*).

-Un conjugué anti Pr-E marqué à la peroxydase de Raifort (HPR) est distribué dans la cupule, celui-ci se fixera à la Pr-E restée libre formant ainsi un complexe antigène-anticorps-conjugué HPR.

-Après élimination du conjugué en excès par lavage, la réaction est révélée par une solution (TMB), et une coloration bleue s'en suit qui deviendra jaune en cas d'absence d'anticorps, tandis qu'il n'y aura pas de couleur en cas de présence d'anticorps dans le sérum à tester.

-Il est à noter que la lecture se fera à une longueur d'ondes de 450 nm.

I.4.2 Mode opératoire

1-Préparer les échantillons de sera (209) doivent être conservés entre +5°C +/- 3°C.

Photo 13: Sera de chevaux

2-Avant l'emploi, mettre tous les réactifs à température ambiante (21°C ±5 °C) , les homogénéiser dans un vortex ou par retournement (dissolution des cristaux pour la solution de lavage).

3-Utiliser des micropipettes dotées d'embouts à usage unique afin de distribuer :

- 50µl de tampon de dilution 2 dans chaque puits.
- 50µl de contrôle positif dans les cupules A1 et B1.
- 50µl de contrôle négatif dans les cupules C1 et D1.
- 50µl de chaque sérum à tester dans les cupules restantes.

4-Incuber à (21°C ±5 °C) pendant 90min ± 6min.

5-Laver manuellement 3 fois chaque cupule avec 300 µl de solution de lavage (1X) préparée préalablement tout en veillant à ce qu'il ne se produit pas un desséchement des cupules entre les lavages.

Photo 14 : Lavage avec une solution de lavage (1X)

6-Distribuer 100 µl de conjugué (1X) préparé préalablement dans chaque cupule.

Photo 15 : Distribution du conjugué (1X)

7- Incuber de nouveau, à (21°C ±5 °C) pendant 30min ± 3min.

8-Laver manuellement de nouveau, 3 fois chaque cupule avec 300 µl de solution de lavage (1X) préparée préalablement tout en veillant à ce qu'il ne se produise pas un desséchement des cupules entre les lavages.

9- Distribuer 100 µl de solution de révélation dans chaque cupule.

10-Incuber à (21°C ±5 °C) pendant 15min ± 2min dans l'obscurité.

Photo 16: Plaque après incubation avec le substrat (solution de révélation), l'enzyme a modifié le chromogène substrat d'où son passage de l'incolore au bleu

11-Distribuer 100 µl de solution d'arrêt dans chaque cupule pour arrêter la réaction.

Photo 17: Distribution de la solution d'arrêt en cours (modification de couleur du bleu au jaune dans les cupules)

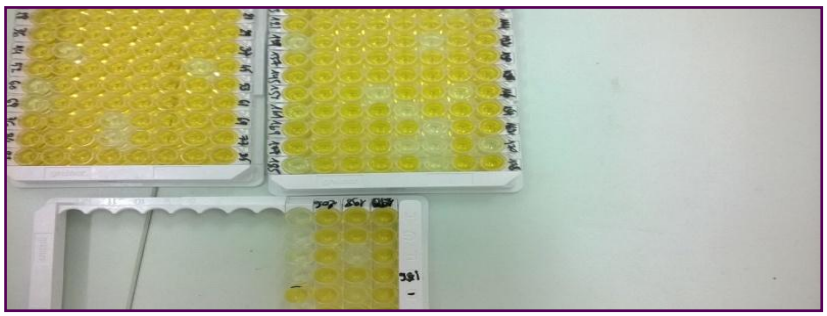


Photo 18: Plaque avec la solution d'arrêt prête pour la lecture (plaque terminée)

12-Mesurer la densité optique à 450 nm et enregistrer les densités optiques dans un lecteur d'ELISA (au spectrophotomètre) de microplaques à 96 puits. (Voir annexe 6)

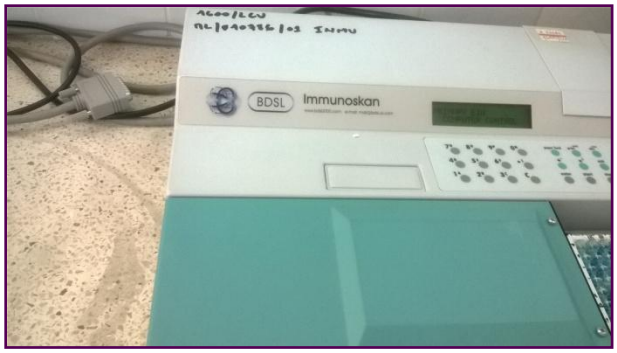


Photo 19: Lecture au spectrophotomètre /Lecteur ELISA (INMV, Alger ,Mai,2014)

I.4.2.1 Validation du test

Elle se fait si les critères décrits ci-dessous sont réunis :

-La valeur moyenne de densité optique (DO) des contrôles négatifs (DO_{CN}) est supérieure à 0.700 (70%). $DO_{CN} > 0.700$

-Le rapport de la valeur moyenne de densité optique (DO) des contrôles positifs (DO_{CP}) sur la valeur moyenne de densité optique des contrôles négatifs est inférieur à 0.300 (30%). $DO_{CP} / DO_{CN} < 0.300$.

- Le coefficient de variation des contrôles négatifs doit être inférieur à 10 %.

Si l'un de ces critères n'est pas respecté, les sera doivent être retestés.

I.4.2.2 Interprétation

La moyenne doit être calculée des valeurs de DO des 2 contrôles négatifs (DO CN) et des 2contrôles positifs (DO CP). A l'aide de ces deux valeurs, le pourcentage de négativité est calculé pour chaque échantillon selon la formule suivante :

Pour chaque sérum à tester, il faudra calculer le pourcentage S/N (S/N %) :

$(S/N\ \%) = DO_{sérum} / DO_{CN} * 100$

Tableau 5 : Les intervalles d'interprétation en pourcentage

Résultat	*Statut*
S/N % ≤ 40	Positif
40< S/N % ≤50	Douteux
S/N % > 50	Négatif

I.5 Calcul des statistiques

L'application du Khi2 d'indépendance avec le risque 0.05 pour le calcul d'une variable bi variée et le calcul d'Odds ration est effectué si la condition du taux de probabilité est inférieure à 0.05, ainsi l'Odds ratio est calculé avec un intervalle de confiance (IC) de 95% et le résultat obtenu est :

Inferieur à 1 : le paramètre étudié est un facteur protecteur.

Supérieur à 1 : le paramètre étudié est un facteur de risque.

II. Résultats & discussion

De prime abord, les résultats sont obtenus après lecture au spectrophotomètre au niveau du service bactériologie de l'institut national de médecine vétérinaire d'El Harrach, où ils ont été insérés dans un fichier de calcul Excel (Annexe 6) afin de déterminer les chevaux séropositifs à la FNO des négatifs (Figure15) selon certaines applications d'Excel , test Khi2 et la formule d'Odds ratio.

Ces résultats seront traités selon d'autres paramètres (sexe, âge, saison, race, robe, taux d'humidité) qui seront élucidés plus loin.

II.1 La séroprévalence globale

Sur une population composée de 209 chevaux, 26 d'entre eux sont séropositifs au test ELISA compétition à la FNO, ce qui représente un taux de prévalence d'environ 12%, ces proportions sont obtenues en application du logiciel Excel et du test du Khi2 démontrant que le test est significatif.

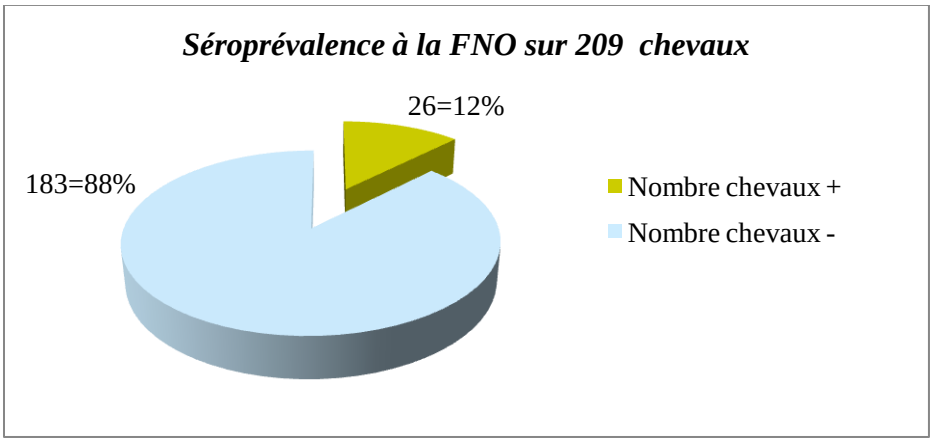


Figure 15 : Répartition des chevaux infectés et non infectés

Dans cette étude, le taux de séroprévalence est d'environ 12% vis-à-vis de la FNO sur cette population équine étudiée, il résulte de l'utilisation de la méthode sérologique de diagnostic ELISA.

Il faut savoir quel que soit le kit ELISA utilisé (comme avec tous les kits commerciaux disponibles actuellement), il a pour qualité première la sensibilité.

Pour la spécificité du test ELISA dit "de compétition" utilisé dans cette étude, il est supposé permettre en effet de diminuer l'apparition de réactions faussement positives par fixation non spécifique des Ac équins sur les protéines virales, car des réactions croisées peuvent survenir avec les virus du même sérocomplexe de la famille des *Flaviviridae*, genre : *Flavivirus*.

Afin de vérifier, il serait envisageable de confirmer un résultat positif au test ELISA IgG avec une méthode de référence plus spécifique.

Dans ce test ELISA, ce sont les Ig G qui sont mis en évidence, car ce sont les Ac qui peuvent persister jusqu'à plusieurs années (OIE 2008), aussi ni le moment précis, ni la quantité d'Ac présente dans un échantillon de sérum ne peuvent être connus , c'est la raison pour laquelle il faudra penser à associer la séroneutralisation au test ELISA IgG de compétition même si elle nécessite la manipulation du virus, ce qui exige un niveau de sécurité en laboratoire (niveau de confinement 3) ,chose qui n'est encore pas disponible en Algérie.

La séroneutralisation permet à cet égard d'établir le titre d'Ac neutralisants dans un échantillon de sérum d'où la notion quantitative, chose qui n'est pas retrouvée avec un test ELISA. .

Actuellement, l'effet exact du temps et du froid sur la conservation des Ac dirigés contre le VNO n'est pas connu et il est probable qu'ils provoquent des réactions faussement négative par altération des Ac.

II.2 La prévalence dans les régions étudiées

Les prélèvements ont été effectués sur une aire d'environ 7000 Km ² dans différentes communes de 3 wilayas comme suit :

- ✓ *W.d'Alger :*Reghaia , Rouiba, Dergana, Bordj el kiffen ex Fort de l'eau, Mohammadia, Caroubier,Ouled Fayet, Zeralda.
- ✓ *W.de Blida :* Mefteh, centre de Blida.
- ✓ *W.de Boumerdes :*Boudouaou marine, Corso, Figuier, Hammadi, Smaidia, Ouled Haddej

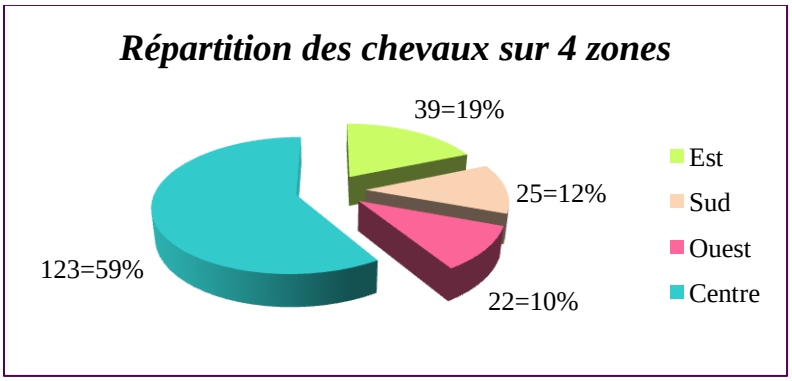


Figure 16: Répartition des chevaux en 4 zones

Toutefois, la répartition des chevaux a été faite en un partage en 4 zones (centre-est-ouest et sud) par rapport à la situation géographique de chaque commune et ce pour faciliter les statistiques avec le test de Khi2.

- En zone Centre : correspond à Bordj el kiffen ex Fort de l'eau, Mohammadia, Caroubier avec 123 chevaux soit 53% de l'échantillon.
- En zone Est : correspond à Reghaia ,Rouiba, Dergana,Ouled Haddej, Boudouaou marine, Corso, Figuier avec 39 chevaux soit 19 % de l'échantillon.
- En zone Ouest : correspond à Ouled Fayet et Zéralda avec 22 chevaux soit 10 % de l'échantillon.
- En zone Sud : correspond à Mefteh, Blida, Hammadi et Smaidia avec 25chevaux soit 12% de l'échantillon.

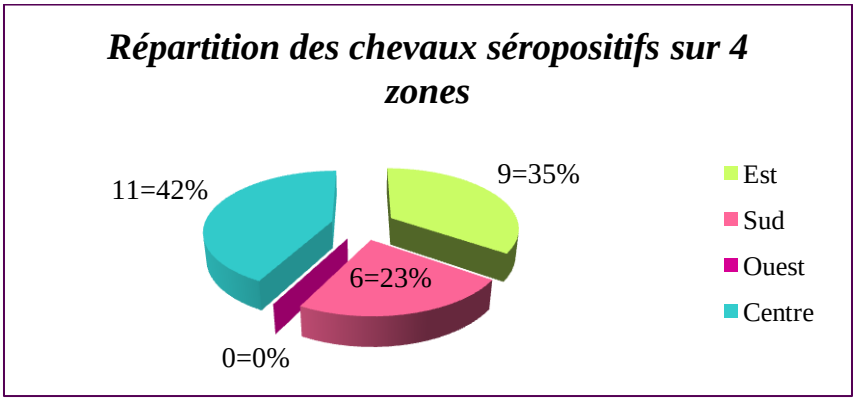


Figure17: Répartition des chevaux séropositifs en 4 zones.

La répartition des chevaux infectés sur les 4 zones est comme suit :

En zone Centre : 11 chevaux séropositifs soit 42% de l'échantillon.

En zone Est : 9 chevaux séropositifs soit 35 % de l'échantillon.

En zone Ouest : 0 chevaux séropositifs soit 0 % de l'échantillon.

En zone Sud : 6 chevaux séropositifs soit 23% de l'échantillon.

Un taux de probabilité de 0.008 inférieur à 0.05 est enregistré d'où la significativité du test, mais aussi la zone « Est » connait un taux de probabilité de 0.02 inférieur à 0.05 ($p=0.02<0.05$) dans cette enquête avec un Odds ratio de 2.27 compris dans un intervalle de (1,1-6,62) à IC de 95% constituant un facteur de risque ,donc cette zone favoriserait l'infection.

N.B :

Il est à noter que cinq (5) des chevaux compris dans la zone ‘’Est’’ ont été ramenés en Avril 2014 de Ghardaïa (en raison des événements de l’heure, manque de nourriture et destruction des écuries, etc.) et placés dans une écurie à Reghaia. Sur ces 5 chevaux, une jument est séropositive à la WNF.

Pour expliquer les résultats statistiques, il semblerait que l’infection à la WN dépend de la situation géographique. Dans cette étude, il apparait que la zone ‘’Est’’ est nettement plus touchée, en raison de la présence d’un biotope « idéal » pour le développement d’un cycle de West Nile .Tous les acteurs du cycle sont présents mais l’existence d’une particularité en comparaison avec les autres zones serait la proximité d’une zone du flux migratoire des oiseaux qui est : le lac de Reghaia.

II.3 Influence des facteurs

II.3.1 Les facteurs intrinsèques

II.3.1 Selon le sexe

Il faut savoir que la population étudiée est répartie selon le sexe comme suit :

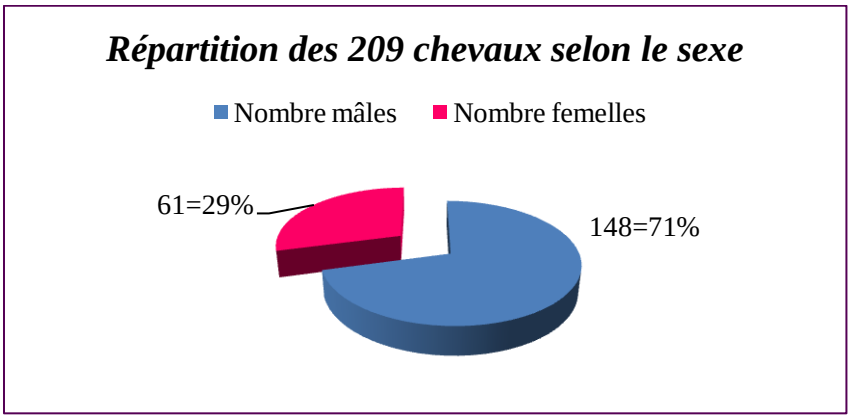


Figure 18 : Répartition des chevaux selon le sexe

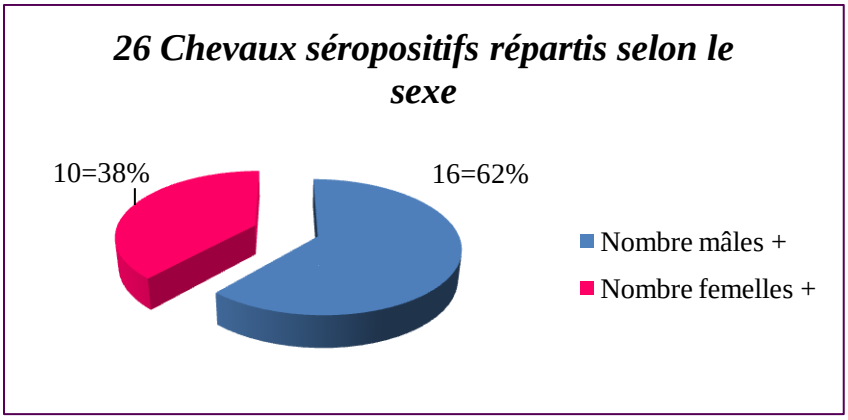


Figure19 : Répartition des chevaux séropositifs selon le sexe

Le pourcentage des mâles est nettement supérieur à celui des femelles 71% soit 148 mâles contre 29% soit 61 femelles, avec des taux de 62 % soit 16 mâles infectés et un taux de 38% soit 10 femelles infectées.

Il semblerait que le VNO n'est pas sélectif vis-à-vis des sexes dans cette étude. Les mâles comme les femelles peuvent le contracter , le test n'est pas significatif le sexe n'a pas une réelle influence en suivant le test du Khi2 ($p=0.26>0.05$).

L'absence de significativité au test du Khi 2 dans cette population, conclut à l'absence de différence de sensibilité d'où la nécessité d'une étude ultérieure avec un échantillon plus important et proportionnel qui pourrait apporter un plus pour confirmer ou infirmer si le sexe prédispose à une infection à la WN.

II.3.2 Selon l'âge

Dans cette enquête, l'échantillon des chevaux a été réparti en 3 catégories et ce pour faciliter les calculs statistiques sur Excel et en application du test du Khi2 :

-Catégorie 1 : chevaux dont l'âge se situe entre 0- 5 ans, représentant 19 sujets soit 19%.

-Catégorie 2 : chevaux dont l'âge dépasse 5 ans et est inférieur ou égal à 15 ans, représentant 148 sujets soit 71%.

-Catégorie 3 : chevaux dont l'âge dépasse les 15 ans, représentant 42 sujets soit 20%.

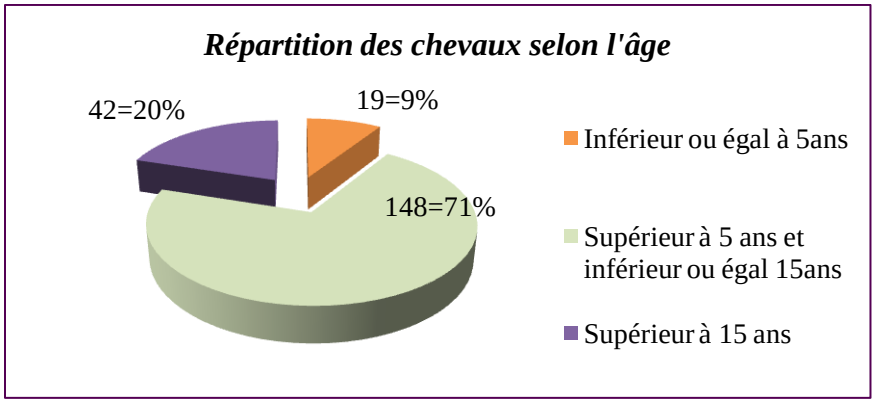


Figure 20: Répartition des chevaux selon l'âge

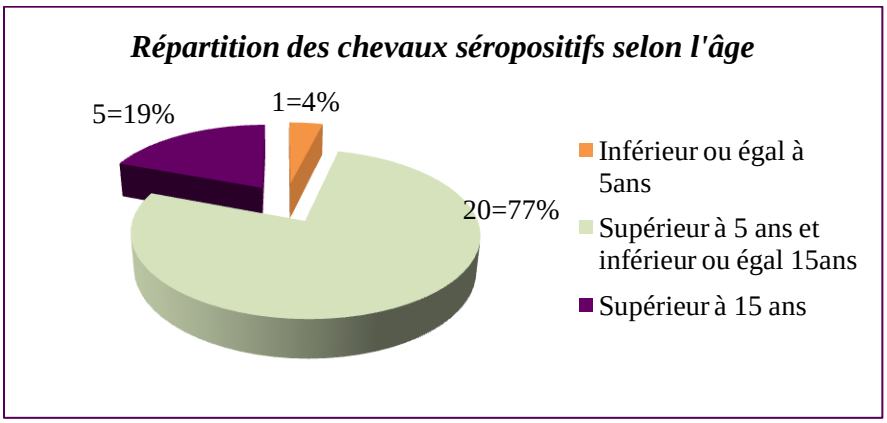


Figure 21: Répartition des chevaux séropositifs selon l'âge

Sur les 26 chevaux infectés :

-1cheval soit 4% appartient à la catégorie 1.

-20 chevaux soit 77% appartiennent à la catégorie 2.

-5 chevaux soit 19% appartiennent à la catégorie 3.

Il semblerait que le test n'est pas significatif et par conséquent, l'âge n'est pas un facteur prédisposant à l'infection et que tout cheval pourrait contracter le virus ($p=0.58>0.05$).

Selon la répartition des chevaux en 3 catégories d'âges décrites précédemment (cf. Résultats), il apparait que dans cette étude, l'âge ne serait pas un facteur prédisposant à une infection à la WNV.L'élargissement et un dispatching proportionnel dans une étude à intervenir ultérieurement serait préconisé.

II .3.3 Selon la race

Pour des raisons de calculs dans le test du Khi2 certaines races ont été réunies dans une même catégorie en raison de la petitesse du nombre d'effectif comme suit :

-**La catégorie ''autres''** : Trotteur et selle français :

-**La catégorie ''demi-sang''**: Anglo-barbe, anglo-arabe et demi sang :

Et la répartition s'est faite comme suit :

-83 chevaux Arabe-barbe soit 40%

-68 chevaux A.Q.P.S. soit 32%

-19 chevaux Barbe soit 9%

-13 chevaux Pur sang anglais soit 6%

-12 chevaux Pur sang arabe soit 6%

-8 chevaux Autres races soit 4%

-6 chevaux Demi-sang soit 3%

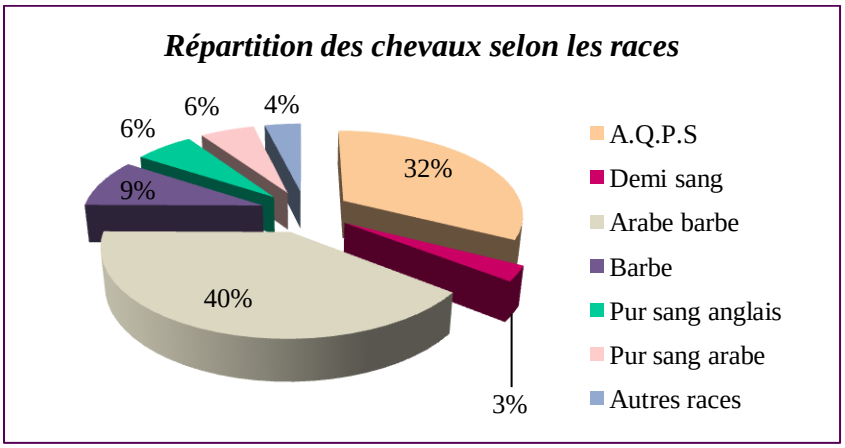


Figure 22: Répartition des chevaux selon les races

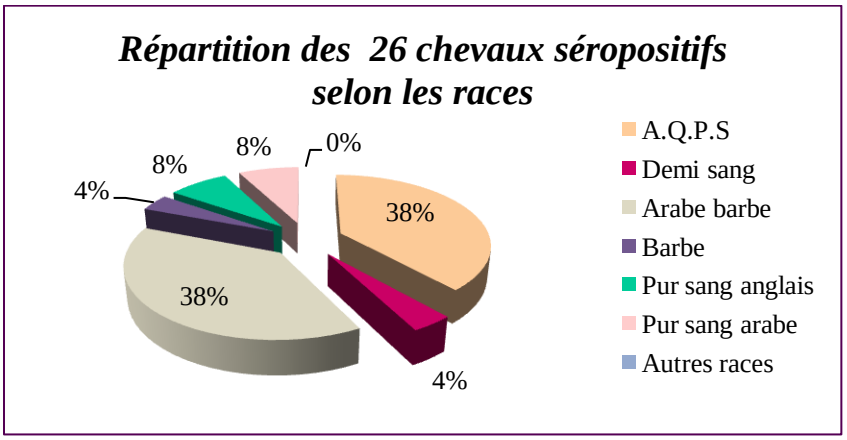


Figure 23 : Répartition des chevaux séropositifs selon la race

Les résultats des chevaux séropositifs répartis comme suit :

-10 chevaux Arabe-barbe soit 38%

-10 chevaux A.Q.P.S. soit 38%

-1 cheval Barbe soit 4%

-2 chevaux Pur sang anglais soit 8%

-2 chevaux Pur sang arabe soit 8%

-1 cheval Demi-sang soit 4%

-0 cheval pour Autres races soit 0%

Dans cette enquête, il semble que le facteur race ne prédisposerait pas à l'infection au VNO en suivant le test du Khi2, il n'y a pas de significativité ($p=0.83>0.05$)

L'enquête sur cet aspect démontre l'existence dans les races étudiées (A.Q.P.S-barbe-arabe barbe-pur sang arabe-pur sang anglais-demi sang et autres) certains sujets qui sont atteints du VNO.

Cependant, il semblerait qu'au visu des résultats, les purs-sangs arabes et anglais sont plus sensibles que les autres races même si statistiquement ça ne ressort pas vu la petitesse de l'effectif chez ces deux races ; un échantillon plus large serait enrichissant vis-à-vis de cette observation, ainsi que sur l'ensemble des races pour pouvoir prévoir si certaines en sont plus sensibles que d'autres.

II .3.4 Selon les robes

Pour des raisons de calculs dans le test du Khi2, certaines robes ont été regroupées dans une même catégorie en raison de la petitesse du nombre d'effectif comme suit :

-catégorie des Gris : gris-gris truité représentant 83 chevaux soit 40 % de l'échantillon.

-catégorie des Bai : bai brun-bai brun foncé 82 chevaux soit 39% de l'échantillon.

-catégorie des Alezan : représentant 40 chevaux soit 19% de l'échantillon

-catégorie autres : Rouan-Louvet-Isabelle 4 chevaux soit 2% de l'échantillon

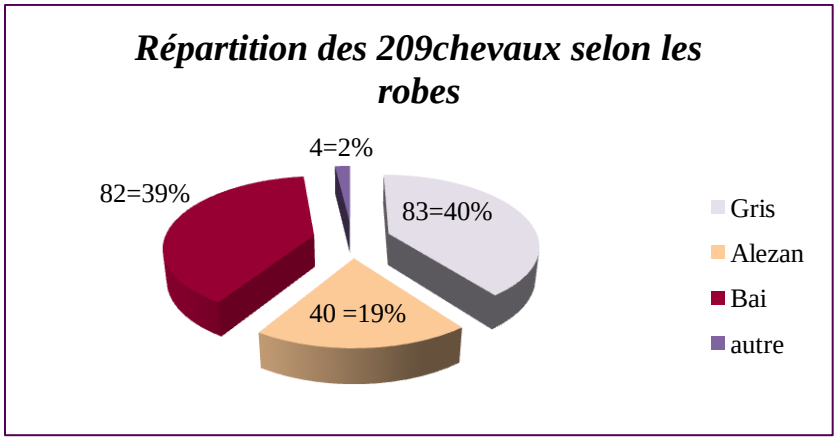


Figure 24 : Répartition des chevaux selon les robes

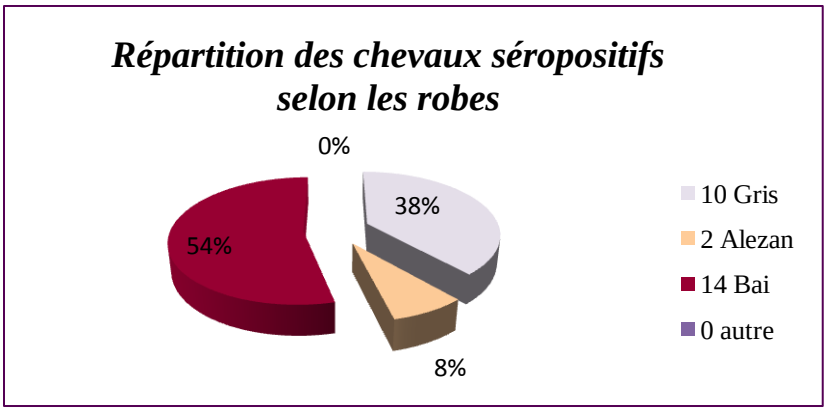


Figure 25 : Répartition des chevaux séropositifs selon les robes

Le nombre de chevaux infectés répartis selon les catégories de robes -citées plus haut- est comme suit :

- 10 chevaux soit 38 % de l'échantillon de la catégorie des Gris.
- 14 chevaux soit 54% de l'échantillon de la catégorie des Bai.
- 2 chevaux soit 8% de l'échantillon de la catégorie des Alezan.
- Aucun pour- autres-.

L'absence de significativité par le test du Khi 2 dans cet échantillon ($p=0.23 > 0.05$), se traduirait par le fait que le facteur robe ne prédispose pas à une infection à la WN.

Le facteur robe n'a rien révélé, aussi une étude ultérieure est à préconiser dans le but de définir s'il serait un facteur prédisposant à une infection WN.

II.3.2 Les facteurs extrinsèques

II.3.2.1 Selon le taux d'humidité

La répartition de l'échantillon s'est faite sur 2 aspects zones humides et zones moins humides par rapport aux communes précédemment décrites et se référant aux pourcentages mensuels et annuels des différentes stations (Reghaia-Dar el Beida et Tessala el merdja) selon l'Office National de la Météorologie, et sont comme suit :

-176 chevaux soit 84 % en zone humide.

-33 chevaux soit 16% en zone moins humide.

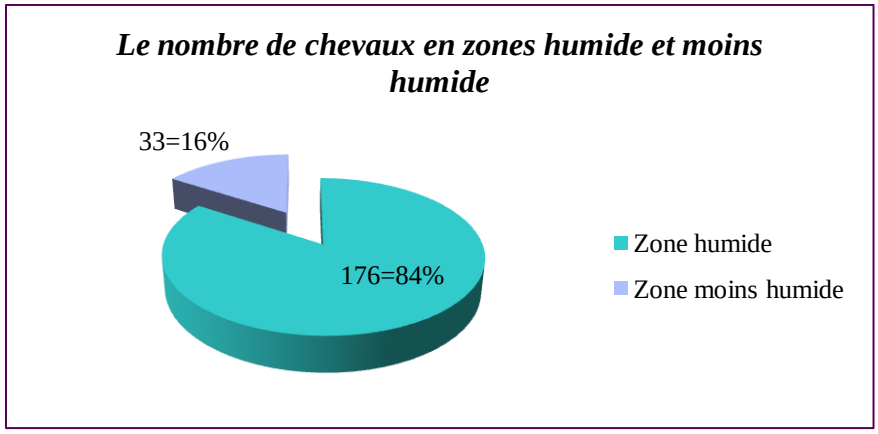


Figure 26: Répartition des chevaux selon les zones humides et moins humides

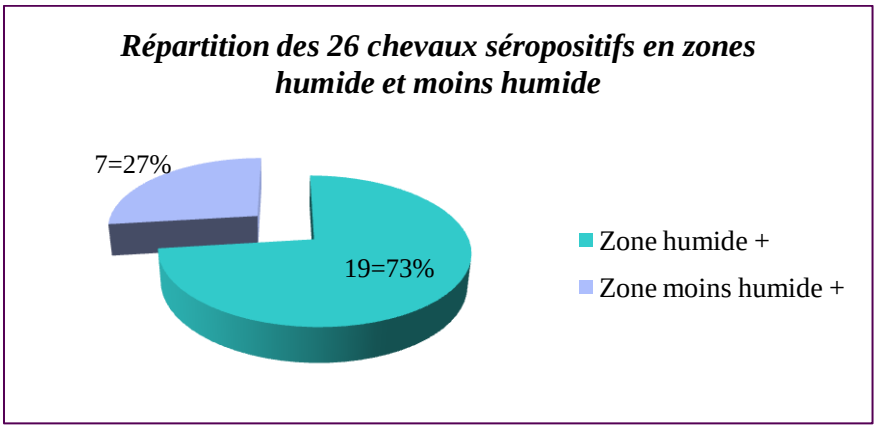


Figure27: Répartition des chevaux séropositifs selon les zones humides et moins humides

Sur les 26 chevaux séropositifs ; 19 soit 73 % ont été retrouvés dans les zones humides et 7 soit 27 % en zones moins humides.

En application du test du Khi2, dans cette étude, il semblerait que l'humidité n'influence pas pour autant sur l'infection de la FNO chez les chevaux, car les chevaux infectés sont aussi retrouvés en zones moins humides (p=0.0508>0.05).

Le *Culex* est retrouvé dans les régions méditerranéennes (Toral y caro M., 2005), lors de fortes températures associées à un degré d'humidité élevé.
Il s'avère que les chevaux peuvent être infectés en zones humides comme en zones moins humides donc le facteur humidité n'influe pas pour autant. Ceci pourrait s'expliquer par le fait que le moustique circule dans ces régions et s'est adapté à des variations d'humidité soit pour le développement ou pour la transmission du virus. contrairement aux idées reçues, que le moustique était retrouvée qu'en région humide, les cas positifs dans la région sud (dans cette enquête) correspondant à Smaidia, Hammadi,Mefteh et Blida ville ont montré le contraire.

Certes selon l'enquête, il y avait beaucoup plus de cas infectés en zone humide qu'en zone moins humide ceci dit, cette dernière n'est pas à écarter dorénavant et des études plus poussées seraient intéressantes pour vérifier cette possibilité en recherchant le type du *Culex* circulant est à préconiser ainsi que son évolution et évaluation de la PIE ou bien s'orienter vers un autre de type de vecteur. Il est à noter que le réchauffement climatique induit forcément une répercussion sur le biotope et par conséquent sur les paramètres évolutifs du *Culex* ou d'autres vecteurs.

II.3.2.2 Selon la saison

Les prélèvements ont été effectués de la période allant du 27/07/2013 jusqu'au 19/04/2014, tout au long des mois de Juillet, Août, Septembre, Octobre, Novembre 2013 et Avril 2014 en raison de la disponibilité et l'accessibilité à certains centres hippiques et propriétaires de chevaux, d'où l'établissement d'une répartition suivant 3 saisons comme suit :
-59 chevaux durant l'été soit 28% de l'échantillon.
-123 chevaux durant l'automne soit 59% de l'échantillon.
-27 chevaux durant le printemps soit 13 % de l'échantillon.

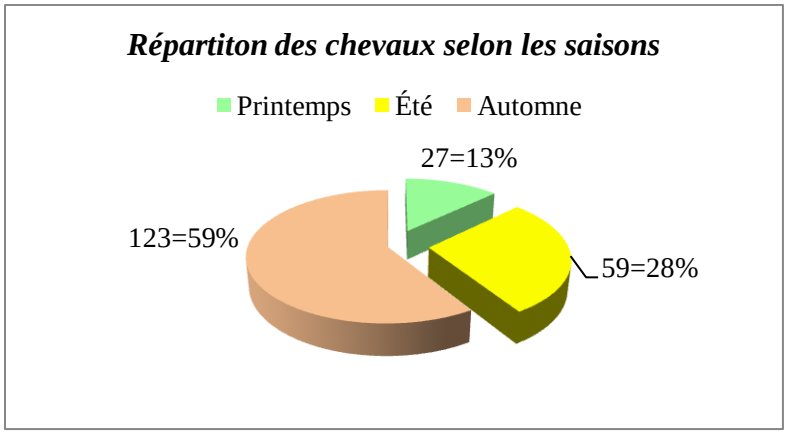


Figure 28 : Répartition des chevaux selon la saison

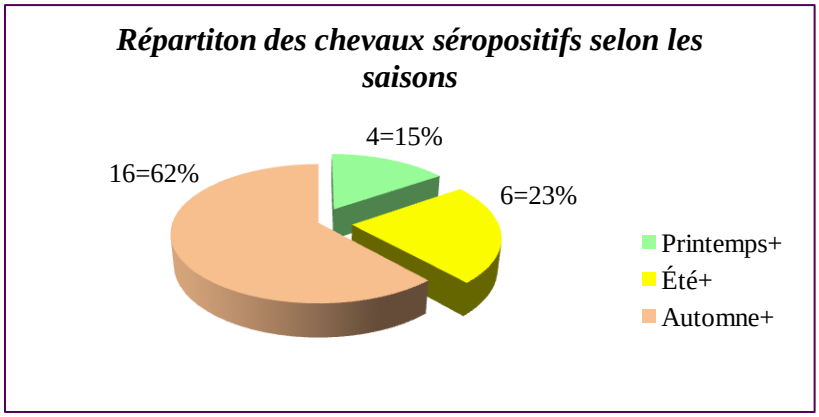


Figure 29 : Répartition des chevaux séropositifs selon la saison

Il a été constaté que :

-6 chevaux soit 23 % ont été révélés séropositifs à la FNO en été.

-16 chevaux soit 62% ont été révélés séropositifs à la FNO en automne.

-4 chevaux soit 15% ont été révélés séropositifs à la FNO en hiver.

Dans cette enquête et selon le test du Khi 2, il s'est avéré qu'aucune saison n'influerait sur les chevaux de façon significative vis-à-vis de l'infection au VNO ($p=0.79>0.05$).

Le fait que le cheval est révélé séropositif, n'exclut pas que le moustique ait une préférence saisonnière pour piquer l'hôte. Il se pourrait que les chevaux aient été contaminés en saison chaude comme froide de l(es)'an(s) précédent(s) et la présence des IgG expliquerait la séropositivité à la FNO car ces derniers peuvent persister sur plusieurs années selon l'OIE, 2008.

Ce qui est recommandé, c'est de faire une cinétique d'IgG chez le cheval à intervalle précis ou un autre test sérologique ''la séroneutralisation'' pour déterminer si réellement la saison est un facteur favorisant ou pas au développement de l'infection et en prenant en considération le vecteur et son évolution selon le paramètre température et taux d'humidité.

Il y a lieu de reconsidérer également le paramètre ''saison'' en faisant une enquête plus large et proportionnelle vis-à-vis des saisons.

II .3.2.3 Selon l'habitat

Environ la moitié de la population étudiée loge dans des box, tandis que l'autre restante se trouve dans des box paddock/ pré et des stalles paddock/ pré.

Cette seconde catégorie de chevaux passe une bonne partie de son temps dans la journée en liberté, ce qui expliquerait que les chevaux en seraient infectés.

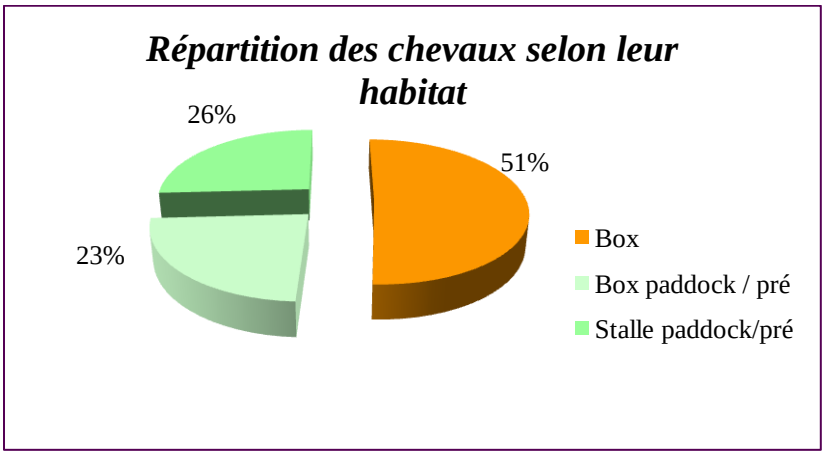


Figure 30: Répartition des chevaux selon leur habitat

Les proportions selon le logis sont comme suit :

-106 chevaux soit 51 % logeant strictement dans les boxes.

-49 chevaux soit 23 % logeant dans les boxes, paddock et dans les prés.

-54 chevaux soit 26 % logeant dans les stalles, paddock et dans les prés.

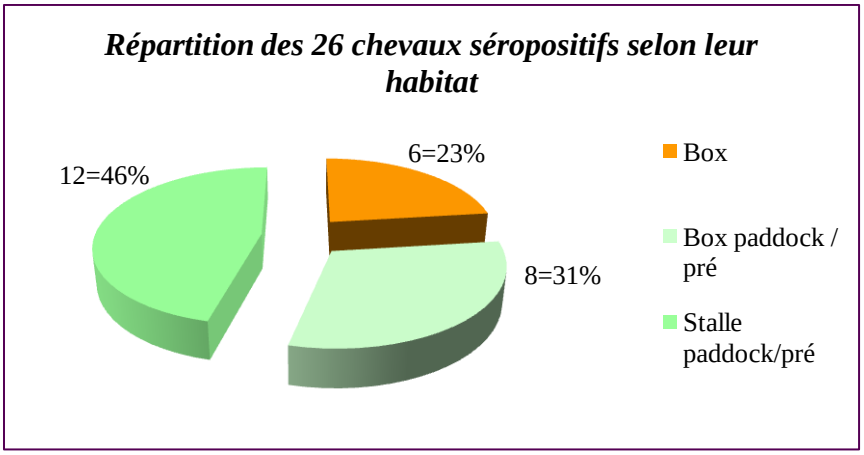


Figure 31 : Répartition des chevaux séropositifs selon leur habitat

-6 chevaux séropositifs soit 23 % logeant strictement dans les boxes.

-8 chevaux séropositifs soit 31 % logeant dans les boxes, paddock et dans les prés.

-12 chevaux séropositifs soit 46 % logeant dans les stalles, paddock et dans les prés.

Dans cette enquête et selon le test statistique utilisé Khi2, il semblerait que l'habitat n'a pas une réelle influence sur le risque d'infection ($p=0.32 > 0.05$).

Par contre, l'habitat en box constitue un facteur influençant l'infection chez les chevaux où un taux de probabilité ($p=0.0044< 0.05$) est enregistré, avec un Odds ratio de ($0.24 <1$) compris dans un intervalle de (0,09-0,64) à I.C. de 95%.Le box serait un facteur protecteur contre l'infection chez les chevaux selon l'application du Khi2 et le calcul du Odds ratio.

Aussi, l'habitat en stalles-paddock constitue un facteur influençant l'infection chez les chevaux avec un taux de probabilité de 0.01 ($p=0.01 < 0.05$), avec un Odds ratio de ($2, 87>1$) compris dans un intervalle de (1,23-6,69) à IC de 95%, donc l'habitat en stalles-paddock constitue un facteur de risque pour le cheval.

Le fait que les chevaux soient dans leurs boxes , ils sont à l'abri des piqûres à comparer avec ceux qui passent une partie de leur journée dans un paddock ou un pré où ils seraient sujets à un contact avec le vecteur , ceci dit ,un cheval qui est dans son box n'est pas forcément à l'abri du vecteur .

Les chevaux dans des boxes individuels sont moins sujets aux piqûres que ceux qui sont en groupe en stalle, cela s'expliquerait par le fait que le vecteur a plus de chance de véhiculer le virus car il profiterait du comportement grégaire de ces chevaux.

II .3.2.4 Selon la présence des oiseaux

Cette enquête, la répartition des chevaux a été faite selon la présence de 3 groupes d'oiseaux :

Groupe 1 : 41 chevaux représentant 20% qui vivent auprès d'oiseaux sédentaires.

Groupe 2 : 36 chevaux représentant 17 % qui vivent auprès d'oiseaux migrateurs.

Groupe 3: 132 chevaux représentant 63% qui vivent auprès d'oiseaux sédentaires/migrateurs.

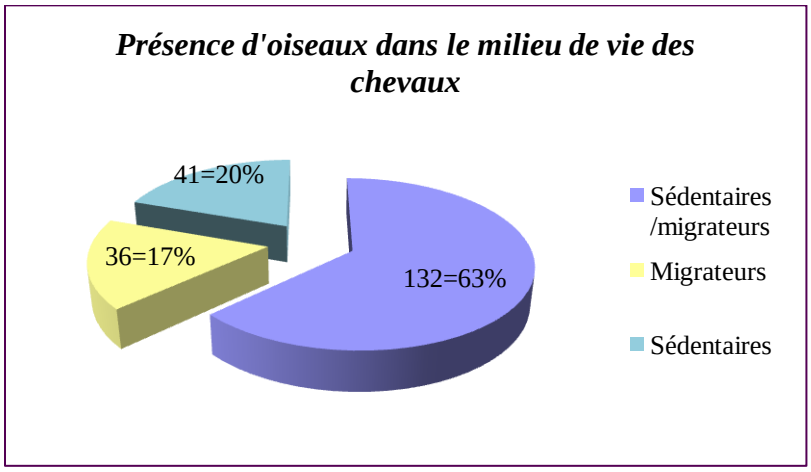


Figure 32 : Présence d'oiseaux dans le milieu de vie des chevaux

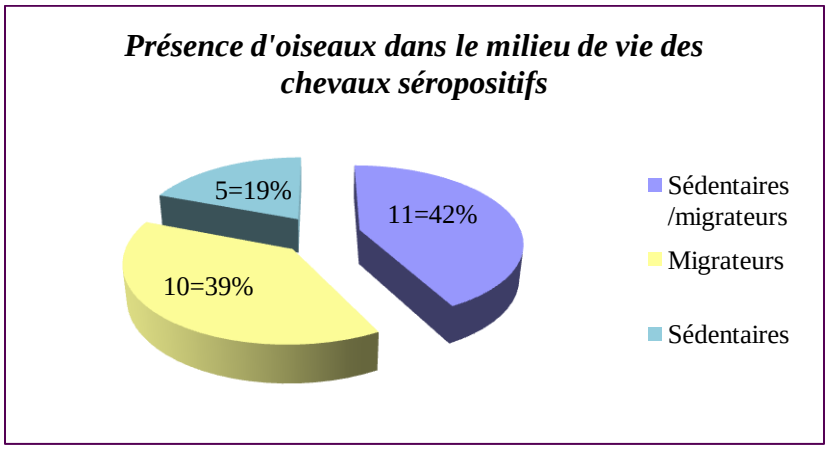


Figure 33 : Présence d'oiseaux dans le milieu de vie des chevaux séropositifs

Après le dépistage, les résultats se sont révélés comme suit :

Groupe 1 : 5 chevaux séropositifs représentant 19% qui vivent auprès d'oiseaux sédentaires

Groupe 2 : 10 chevaux représentant séropositifs 39 % qui vivent auprès d'oiseaux migrateurs

Groupe 3: 11chevaux représentant séropositifs 42% qui vivent auprès d'oiseaux sédentaires/migrateurs

Concernant ce paramètre, il semblerait qu'il y ait une significativité dans le test du Khi2 p=0.007 < 0.05 et par conséquent la présence d'oiseaux influe sur l'infection des chevaux. Mais, quelques précisions doivent être apportées :

La probabilité que les oiseaux sédentaires /migrateurs exercent une influence sur l'infection des chevaux représente un taux de probabilité de p=0.02<0.05, avec un Odds ratio de 0.37 compris dans un intervalle de (0,16-0,86) avec un IC de 95%, ce qui s'expliquerait par le fait que la présence d'oiseaux sédentaires en association aux migrateurs est un facteur protecteur, ainsi le moustique se limiterait à un cycle enzootique avec une propagation limitée du virus vers les mammifères.

Aussi, la probabilité que les oiseaux migrateurs exercent une influence sur l'infection des chevaux représente un taux de probabilité de p=0.0035<0.05, avec un Odds ratio de 3.77 compris dans un intervalle de (1,54-9,21) avec un IC de 95%, ce qui s'expliquerait le fait que la présence d'oiseaux migrateurs est un facteur à risque.

II .3.2.5 Selon la mise en place de moyens de lutte anti-vectorielle

Pour vérifier ce paramètre dans cette enquête, les chevaux ont été répartis par rapport à l'existence ou pas de moyens de lutte anti-vectorielle là où ils y vivent (*cf. Habitat*), en 2 groupes comme suit :

1èr groupe : représentant 123 chevaux infectés soit 59% de l'échantillon où les moyens de lutte anti-vectorielle sont existants (*cf. Habitat*).

2ème groupe : représentant 86 chevaux soit 41% de l'échantillon où les moyens de lutte anti-vectorielle sont absents (*cf. Habitat*).

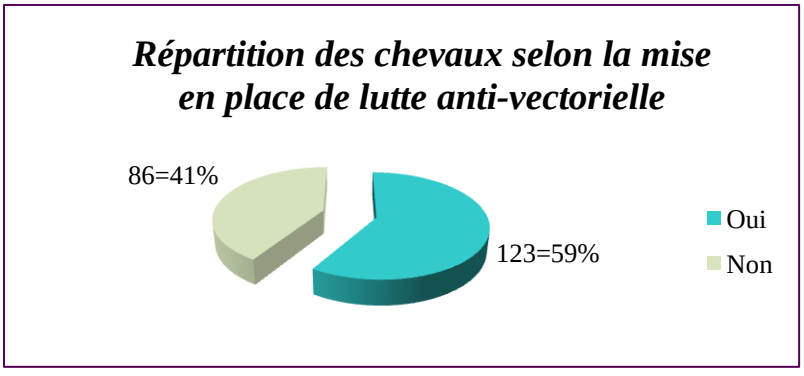


Figure 34: Répartition des chevaux selon l'existence de moyens de lutte anti-vectorielle

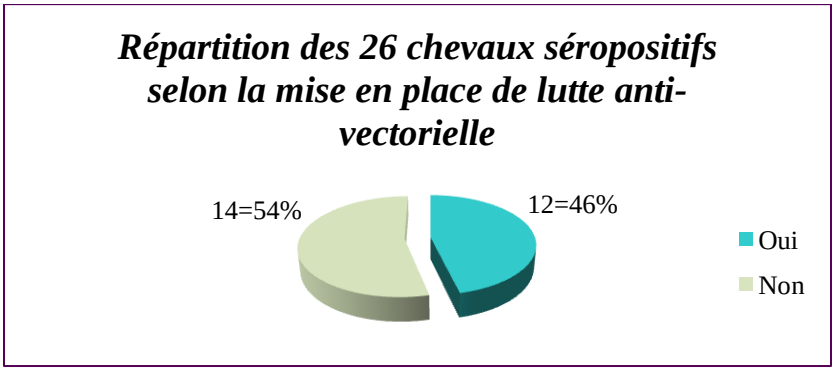


Figure 35 : Répartition des chevaux séropositifs selon l'existence de moyens de lutte anti-vectorielle

Les chevaux infectés sont répartis comme suit :

1èr groupe : représentant 12 chevaux infectés soit 46 % de l'échantillon où les moyens de lutte anti-vectorielle sont existants.

2ème groupe : représentant 14 chevaux infectés soit 54% de l'échantillon où les moyens de lutte anti-vectorielle sont absents.

Selon le test du Khi2, il semblerait que l'existence de moyens de lutte anti-vectorielle n'écarterait pas la possibilité quand à l'existence de chevaux infectés ($p=0.16>0.05$).

En dépit de la mise en place de moyens de lutte anti-vectorielle qui sont sur le terrain (des lampes fly-killer, chaux et des insecticides), celle-ci s'avèrerait insuffisante ou inefficace. D'ailleurs, sur les 26 chevaux séropositifs ,12 sont infectés soit un taux de 46% lors de mise de moyens de lutte contre 14 infectés soit un taux de 54% lors d'absence de moyens de lutte anti-vectorielle.

Ceci s'expliquerait par :

-La méconnaissance du type du *Culex* circulant et le choix de l'insecticide.

-Le non respect de la posologie d'insecticide employé (sous dosage le plus souvent), la fréquence irrégulière de son utilisation, les lampes grillées « Fly-killer» non remplacées et le mauvais échaudage dans les stalles ou boxes.

-Une résistance possible du *Culex* face à ses moyens de lutte anti-vectorielle.

III. Conclusion

Selon les résultats de cette enquête sérologique, la présence de la fièvre du Nil Occidental est confirmée par le test ELISA de ‘’competition’’ IgG, avec un taux de prévalence d’environ 12% sur une population de 209 chevaux dans les clubs hippiques et chez les particuliers.

Même si la prévalence paraît faible, le risque d'apparition d'une épidémie d’arbovirose émergente /ré-émergente n'est pas à mis à l’écart en raison du changement climatique.

Il semble que les chevaux séropositifs seraient présents dans des zones de proximité des flux migratoires, en présence d’oiseaux migrateurs, en zones humides et moins humides, dans des boxes et stalles paddock et même en présence de moyens de lutte anti-vectorielle.

Toutefois, les paramètres sexe, âge, race, robe sont à reconsidérer pour une étude ultérieure en élargissant davantage la population avec des proportions homogènes.

Les chevaux constituent en fait des révélateurs épidémiologiques de la circulation du VNO et du vecteur dans les régions étudiées.
Pour l’heure, cette maladie est entrain de prendre de l’ampleur dans le pourtour méditerranéen et dans d’autres régions du monde. Il y a observation d’un phénomène qui évoluerait à bas bruit dans le nord algérois chez ces révélateurs épidémiologiques, mais pas à conclure d’un caractère émergent de cette zoonose vectorielle.

Sur le plan vétérinaire, il parait donc essentiel, d’instaurer des moyens de diagnostic de routine pour l’identification de la WNF.

Sachant que le VNO entraîne des méningites et méningo-encéphalo-myélites chez le cheval comme chez l’homme, l’inscription du diagnostic sérologique dans le cadre de recherche obligatoire au niveau des services des maladies infectieuses des hôpitaux de notre pays est souhaitée afin que les mesures nécessaires soient prises pour la protection de la santé humaine et animale.

IV. Recommandations

IV. 1 Surveillance passive

La surveillance dans certains pays est soumise à une déclaration obligatoire des suspicions d'encéphalites équines par les vétérinaires sanitaires auprès des services concernés. La précocité de la détection d'une éventuelle circulation du virus permettrait de mettre un dispositif de surveillance des arboviroses émergentes et ré-émergentes dans les zones à risque.

Il peut s'agir d'un dispositif qui se base sur quatre maillons de la chaîne mis en œuvre en période d'activité du vecteur:

- ***Volet équin***

Une surveillance clinique des cas neuro-invasifs susceptibles d'être à WNV, de par les propriétaires et vétérinaires praticiens.

- ***Volet aviaire***

Une surveillance de la circulation du WNV chez les oiseaux sauvages et sentinelles (principalement les corvidés afin de détecter précocement une surmortalité ceci, pour le bien des santés animale et humaine.

- ***Volet entomologique***

Une surveillance de vecteurs en faisant un inventaire des espèces culicidiennes et une recherche du WNV sur des moustiques capturés autour des foyers équins et/ou humains; ainsi que l'établissement de mesures pour la lutte anti-vectorielle et minimiser la propagation du virus.

- ***Volet humain***

Ne pas écarter une éventuelle infection au VNO lors de cas de fièvre d'origine inconnue, d'infections neuro-invasives, méningites ou méningo-encéphalites en apportant les investigations nécessaires dans les services des maladies infectieuses des établissements hospitaliers en Algérie.

IV. 2 Surveillance active

-Des enquêtes sur le terrain basées sur le suivi sérologique régulier de sentinelles aviaires (oiseaux captifs, volailles domestiques ou oiseaux sauvages identifiés) ou équines doivent être menées pour connaitre la situation de l'infection.

-L'établissement, autour de chaque foyer, d'une zone de restriction des mouvements des chevaux sur un rayon défini avec une mise en quarantaine des chevaux suspects.

-La destruction des sources favorables au développement du vecteur (point d'eau stagnante) sans qu'il y ait des répercussions écologiques.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

-**Abbassy M.M., Osman M. et Marzouk A.S.**,1993.West Nile virus (Flaviviridae:Flavivirus) in experimentally infected Argas ticks (Acari: Argasidae). *Am J Trop Med Hyg* 48 (5): 726-37.

-**Abdel-Hamid YM, Soliman MI, Kenawy MA** , 2011. Mosquitoes (Diptera: Culicidae) in relation to the risk of disease transmission in El Ismailia governorate, Egypt.J Egypt Soc Parasitol 41: 109-118.

-**Akhter R, Hayes CG, Baqar S, Reisen WK** ,1982. West Nile virus in Pakistan. III. Comparative vector capability of *Culex tritaeniorhynchus*and eight other species of mosquitoes. Trans R Soc Trop Med Hyg 76(4): 449-453.

-**Anderson SL, Richards SL, Tabachnick WJ, Smartt CT**,2010.Effects of West Nile virus dose and extrinsic incubation temperature on temporal progression of vector competence in *Culex pipiens quinquefasciatus*. J Am Mosq Control Assoc 26: 103-107.

-**Anderson *et al.*** , 1999. Isolation of West Nile virus from mosquitoes, crows, and a Cooper's hawk in Connecticut. *Science* 286 (5448) : 2331-3.

-**Andreo S.,** 2003. L'effet anti-gorgement sur chien d'un shampoing à 0,07% de deltaméthrine sur un moustique du complexe *Culex pipiens*. Th. : Med.Vet. : Toulouse; 128.70, 63 pp.

-**Artois M.** ,2009.Cours de l'Unité de Santé Publique Vétérinaire, Vet Agro Sup Campus Vétérinaire de Lyon.

- Autorino G.L., Battisti A., Deubel V., Ferrari G., Forletta R., 2002. West Nile Virus epidemic in horses, Tuscany region, Italy, *Emerg. Infec. Dis.*, 8(12):1372-1378.

-**Bakonyi T., Ivanics E., Erdélyi K., Ursu K., Ferenczi E., Weissenböck H., Nowotny N.** ,2006. Lineage 1 and 2 strains of encephalitic West Nile virus, central Europe. Emerg Infect Dis 12(4):618-623.

-**Balenghien T.** ,2006. De l'identification des vecteurs du virus West Nile à la modélisation du risque d'infection dans le sud de la France. *Thèse de doctorat*, Université des Sciences des Technologies et de la Santé, Grenoble: 223p.

-**Banet-Noach C., Simanov L. et Malkinson M.** ,2003.Direct (non-vector) transmission of West Nile virus in geese. *Avian Pathol* 32 (5) : 489-94.

- Beasley D.W., Barrett A.D.,2002. Identification of neutralizing epitopes within structural domain III of the West Nile virus envelope protein. *J. Virol.*, 76(24):13097-13100.

-**Ben Hassine T., Hammami S., Elghoul H., Ghram A.** ,2011. Detection of circulation of West Nile virus in equine in the north-west of Tunisia. Bull Soc Pathol Exot 104: 266-271.

-**Bernkopf H., Levine S., Nerson R.** ,1953. Isolation of West Nile virus in Israel. J Infect Dis 93: 207-218.

-**Berthet FX., Zeller HG, Drouet MT, Rauzier J, Digoutte JP, Deubel V**,1997.Extensive nucleotide changes and deletions within the envelopeglycoprotein gene of Euro-African West Nile viruses. J Gen Virol 78: 22932297.

- Blackburn N.K., Reyers F., Berry W.L., Shepherd A.J.,1989. Susceptibility of dogs to West Nile. *J. Comp. Pathol*.,100(1):59-66.

-**Bogachek MV., Protopopova EV., Loktev VB, Zaitsev BN, Favre M, Sekatskii SK, Dietler G.**,2008. Immunochemical and single molecule force spectroscopy studies of specific interaction between the laminin binding protein and the West Nile virus surface glycoprotein E domain II. J Mol Recognit 21:55-62.

-**Bogachek MV, Zaitsev BN, Sekatskii SK, Protopopova EV, Ternovoi VA, Ivanova AV,Kachko AV, Ivanisenko VA, Dietler G, Loktev VB** ,2010.Characterization of glycoprotein E C-end of West Nile virus and evaluation of its interaction force with alphaVbeta3 integrin as putative cellular receptor. Biochemistry (Mosc) 75:472-480.

-**Bondre VP, Jadi RS, Mishra AC, Yergolkar PN, Arankalle VA**,2007. West Nile virus isolates from India: evidence for a distinct genetic lineage. J Gen Virol 88:875-884.
-**Bourassa, J.P**. 2000. *Le Moustique par solidarité écologique*. Montréal : Éd. Boréal, 244p.
-**Briese T., Jia X.Y., Huang C., Grady L.J. et Lipkin W.I.** ,1999. Identification of a Kunjin/West Nile-like flavivirus in brains of patients with New York encephalitis. *Lancet* 354 (9186): 1261-2.
-**Bunning *et al.***,2002. Experimental infection of horses with West Nile virus. *Emerg Infect Dis* 8 (4) : 380-6.
-**Burke, D. S., & Monath, T. P.** ,2001. *Flaviviruses* . In D. M. Knipe, & P. A. Howley (Eds.), (4th ed., pp. 1043-1125). Philadelphia, PA: Lippincott Williams & Wilkins.
- Burteau C. *et al.* ,2007. Les chémokines et leurs récepteurs : rôle dans lesinfections virales et dans les pathologies cancéreuses, *Biotechnologie, Agronomie, Société etEnvironnement*, 11(2)
- Cantile C, Del Piero F, Di Guardo G, Arispici M. ,2001. Pathologic and immunohistochemical findings in naturally occuring West Nile virus infection in horses. *Vet. Pathol*., 38(4):414-21.
- Castillo-Olivares J, Mansfield KL, Phipps LP, Johnson N, Tearle J, Fooks AR. ,2011. Antibody response in horses following experimental infection with West Nile Virus Lineages 1 and 2 *Transbound. Emerg. Dis.*, 58(3):206-12
- **Castillo-Olivares J., Wood J.** ,2004. West Nile virus infection of horses. *Vet Res*, 35(4):467-483.
-**CDC,**2001. Serosurveys for West Nile virus infection - New York and Connecticut counties, 2000. *Morbidity and Mortality Weekly Report*, 50(3) : 37-39.
-**CDC** ,2002. Update: investigations of West Nile virus infections in recipients of organ transplantation and blood transfusion-Michigan, 2002. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep*,51(39):879.
- **CDC** ,2002. Intrauterine West Nile virus infection New York, 2002. MMWR Morb Mortal Wkly Rep, 51(50): 1135-1136.
- **CDC** ,2002. Possible West Nile virus transmission to an infant through breast-feeding-Michigan, 2002. MMWR Morb Mortal Wkly Rep, 51(39): 877-878.
- Cernescu C., Nedelcu N.I., Tardei G., Ruta S., Tsai T.F.,2000. Continued transmission of West Nile virus to humans in southeastern Romania, 1997-1998, *J. Infect.Dis.*, 181(2):710712
-**Charrel RN, Brault AC, Gallian P, Lemasson JJ, Murgue B, Murri S, Pastorino B,Zeller H, de Chesse R, de Micco P, de Lamballerie X** ,2003. Evolutionary relationship between Old World West Nile virus strains.Evidence for viralgene flow between Africa, the Middle East, and Europe.Virology 315(2):381-388.
-**Chu JJ, Ng ML** ,2004. Infectious entry of West Nile virus occurs through a clathrinmediated endocytic pathway.J Virol 78:10543-10555.
- **Dauphin G., Zientara S.** ,2007. West Nile virus: recent trends in diagnosis and vaccinedevelopment. *Vaccine*, 25(30):5563-5576.
-**Dauphin G., Zientara S., Zeller H. et Murgue B.** ,2004. West Nile: worldwide current situation in animals and humans. *Comp Immunol Microbiol Infect Dis* 27 (5) : 343-55.
- Davidson A.H. et al.,2005. Immunologic responses to West Nile virus in vaccinated and clinically affected horses. *J. Am. Vet. Med. Assoc*., 226(2):240-245.
- Davis E.G., Zhang Y., *et al*.2008. Investigation of Antigen Specific Lymphocyte Responses in Healthy Horses Vaccinated with an Inactivated West Nile Virus Vaccine. *Vet. Immunol. Immunopathol*., 126(3-4): 293-330.
-**De Filette M, Ulbert S, Diamond M, Sanders NN** ,2012. Recent progress in West Nile virus diagnosis and vaccination.Vet Res 43(1): 16.

- **Diamond M.S., Pierson T.C., Fremont D.H.** ,2008. The structural immunology of antibody protection against West Nile virus. *Immunol Rev*, 225:212-225

-**Diamond MS, Mehlhop E, Oliphant T, Samuel MA** ,2009. The host immunologic response to West Nile encephalitis virus. Front Biosci 14: 3024-3034.

-**Ebel G.D., Rochlin I., Longacker J. et Kramer L.D.** ,2005. *Culex restuans* (Diptera: Culicidae) Relative Abundance and Vector Competence for West Nile Virus. *J Med Entomol* 42 (5) : 838-43.

-**ECDC**,2011.http://ecdc.europa.eu/en/activities/diseaseprogrammes/emerging_and_ vector_borne_diseases/Pages/West_Niles_fever_Risk_Maps.aspx (Accessed 26/05/2012).

-**Eidson, M., N. *et al*.** ,2001. Crow deaths as a sentinel surveillance system for West Nile virus in the Northeastern United states, 1999.*Emerg Infect Dis,* 7(4) : 615-620.

-**El Harrack M, Le Guenno B, Gounon P** ,1997. Isolement du Virus West Nile au Maroc. Virologie 1: 248-249.

-**Falgout B., Bray M., Schlesinger J.J., Lai C.J.** ,1990. Immunization of mice with recombinant vaccinia virus expressing authentic dengue virus nonstructural protein NS1 protects against lethal dengue virus encephalitis. *J. Virol*., 64(9):4356-4363.

-**Faraj C. *et al.* ,**2006. Cycle gonotrophique de *Culex pipiens* (*Diptera, Culicidae*), vecteur potentiel du virus West Nile, au Maroc : estimation de la durée en laboratoire.Bulletin de la Société de Pathologie Exotique :99, 119-121.

-**Focks DA, Daniels E, Haile DG, Keesling JE** ,1995. A simulation model of the epidemiology of urban dengue fever: literature analysis, model development, preliminary validation, and samples of simulation results. Am J Trop Med Hyg 53(5): 489-506.

-**Fort Dodge Santé Animale** ,2009. Le virus West Nile [http://www.westnile.eu] (consultéele 11 août 2010)

-**Gallian P., De Lamballerie X., De Micco P., Andreu G.** ,2005. West Nile virus: implication and generalities in blood transfusion. Transfusion Clinique etBiologique 12: 11-17.

-**Garbouj M., Bejaoui M., Aloui H., Ben Ghorbal M.** ,2003. La maladie du Nil occidental. Bulletin épidémiologique 3: 4-6.

-**Genain *et al*.,** 2010. Fiche technique la fièvre West Nile,*Bibliothèque des Haras Nationaux*

-**Glass W.G., *et al.* ,**2005 .Chemokine receptor CCR5 promotes leukocyte trafficking to the brain and survival in West Nile virus infection. *J. Exp. Med*., 202(8):1087-1098.

-**Goddard L.B., Roth A.E., Reisen W.K., Scott T.W**.,2003. Vertical transmission of West Nile Virus by three California Culex (Diptera: Culicidae) species. *J. Med. Entomol*.40(6):743-6.

-**Gollins SW., Porterfield JS.** ,1986.pH-dependent fusion between the flavivirus WesNile and liposomal model membranes. J Gen Virol 67:157-166.

-**Hannoun C. *et al*.,**1969. Epidemiology of West Nile infections in the South of France. In: Bárdoš V editor. Arboviruses of the California complex and the Bunya-mwera group. Bratislava Publ House SAS: 379-387.

-**Harbach RE, *et al*.,**1985. *Culex (Culex) pipiens* Linnaeus (Diptera,Culicidae)-concepts, type designations, and description. Proc Entomol Soc Wash 87: 1-24.

-**Hayes CG**.,1989. West Nile fever. In: The Arboviruses: Epidemiology and Ecology. Monath TP Ed 5: 59-88.

-**Hayes EB, Sejvar JJ, Zaki SR, Lanciotti RS, Bode AV, Campbell GL**,2005 .« *Virology, pathology, and clinical manifestations of West Nile virus disease »*, *Emerging Infect. Dis.*, vol. 11, n^{o} 8,.9–1174 .p

-**Ho LJ, Wang JJ, Shaio MF, Kao CL, Chang DM, Han SW, Lai JH** ,2001. Infection of human dendritic cells by dengue virus causes cell maturation and cytokineproduction. J Immunol 166: 1499-1506.

-**Hubalek Z. & Halouzka J.** , 1999. West Nile fever--a reemerging mosquito-borne viral disease in Europe.*Emerg Infect Dis* 5 (5) : 643-50.
- **ICTV International Committee on taxonomy of Viruses**, 2004. (Copyright 2002) Dernière actualisation 25 mai 2004 [http://www.ictvdb.org/Ictv/index.htm] (consultée le 10 septembre 2010)
- **Ilkal M.A., Prasanna Y., Jacob P.G., Geevarghese G., Banerjee K.** ,1994. Experimental studies on the susceptibility of domestic pigs to West Nile Virus followed by Japanese encephalitis virus infection and vice versa. *Acta Virol.,* 38(3):157-61.
-**Johnston *et al.*** ,2000. Langerhans cells migrate to local lymph nodes following cutaneous infection with an arbovirus. *J. Invest. Dermatol.,* 114 (3):560-568.
- **Keller *et al.*** ,2006. Resistance to alpha/beta interferon is a determinant of West Nile virus replication fitness and virulence. *J. Virol*., 80(19):9424-9434.
-**King *et al.*,** 2007. Immunopathology of flavivirus infections. *Immunol. Cell. Biol*., 85(1):33-42.
-**Kilpatrick AM., Fonseca DM, Ebel GD., Reddy MR., Kramer LD.**,2010.Spatial and temporal variation in vector competence of *Culex pipiens* and *Cx. Restuans* mosquitoes for West Nile virus. Am J Trop Med Hyg 83: 607-613.
-**Klenk K, Snow J, Morgan K, Bowen R, Stephens M, Foster F, Gordy P, Beckett S, Komar N, Gubler D, Bunning M** ,2004. Alligators as West Nile virus amplifiers.Emerg Infect Dis 10(12): 2150-2155.
-**Komar O.,*et al.***, 2003. West Nile virus transmission in resident birds,Dominican Republic. Emerg Infect Dis; 9: 1299-302.
-**Komar N.** ,2000. West Nile viral encephalitis. *Rev. Sci. Tech. OIE,* 19(1):166-176.
-**Kostyukov MA., *et al*.**,1985.The lake frog (*Rana ridibunda*) one of the food hosts of bloodsucking mosquitoes in Tadzhikistan a reservoir of the West Nile fever virus (russe). Med Parazitol Mosk 3: 49-50.
-**Krida G. *et al.*** ,2011.Assessment of the risk of introduction to Tunisia of the Rift Valley fever virus by the mosquito *Culex pipiens*. Bull Soc Pathol Exot 104(4): 250-259.
-**Kuno G**.,2001. Transmission of arboviruses without involvement of arthropod vectors. Acta Virol; 45:139-50.
-**Kutasi O., Bakonyi T., Lecollinet S., Biksi I., Ferenczi E., Bahuon C., Sardi S., Zientara S., Szenci O.**, 2011.Equine encephalomyelitis outbreak caused by a genetic lineage 2 West Nile virus in Hungary, *J. Vet. Intern. Med.*, 25(3):586-591
-**Lanciotti RS, Ebel GD, Deubel V, Kerst AJ, Murri S, Meyer R, Bowen M, McKinney N,Morrill WE, Crabtree MB, Kramer LD, Roehrig JT** ,2002. Complete genome sequences and phylogenetic analysis of West Nile virus strains isolated from the United States, Europe and the Middle East. Virology 298 (1): 96-105.
-**Lapras M., Florio R**., 1968. Étude électro-clinique de la méningo-encéphalo-myélite du cheval à arbovirus équino-humain (West Nile) isolé en Camargue. *Le Journal de Médecine de Lyon* 49(150):1432-1441
-**Leblond A., *et al*.,** 2007. West Nile virus outbreak detection usinsyndromic monitoring in horses. *Vector Borne Zoonotic Dis.*, 7(3):403-410
-**Lecollinet S.** ,2010. Communications personnelles lors du travail expérimental réalisé à l'ANSES.
-**Lecollinet S., Zientara S.** ,2010. Brève 2010, le virus West Nile gagne du terrain en Europe, *Bulletin épidémiologique, santé animale et alimentation* (41):19
- **Lecollinet S., *et al*.** ,2008. Surveillance de l'infection équine à virus West Nile en France. Bilan 2000-2007.

-**Lefrançois T, Blitvich BJ, Pradel J, Molia S, Vachiéry N, Martinez D** ;2006. West Nile virus in Guadeloupe: introduction, spread, and decrease in circulation level: 2002-2005. Ann N Y Acad Sci 1081: 206-215.
-**Lim PY, Behr MJ, Chadwick CM, Shi PY, Bernard KA** , 2011. Keratinocytes are cell targets of West Nile virus in vivo. J Virol 85(10): 5197-5201.
-**Liu *et al.*** , 2006. A single amino acid substitution in the West Nile virus nonstructural protein NS2A disables its ability to inhibit alpha/beta interferon induction and attenuates virus virulence in mice. *J.Virol*., 80(5):2396-404.
-**Lvov DK, *et al*.** 2004. West Nile virus and other zoonotic viruses in Russia: examples of emerging-reemerging situations. Arch Virol Suppl 18:85-96.
- **Mackenzie J.S., Williams D.T**., 2009. The zoonotic flaviviruses of south-ern, south-estern and estarn Asia, and Australasia : the potential for emergent viruses. *Zoonoses Public Health*,56:338356
-**Marr J.S. et Calisher C.H.,** 2003. Alexander the Great and West Nile virus encephalitis. *Emerg Infect Dis* **9** (12) : 1599-603.
-**Mayo, D. R., & Beckwith III, W. H**. ,2002. Inactivation of West Nile virus during serologic testing and transport. *Journal of Clinical Microbiology*, *40* (8), 3044-3046
-**Miller BR. *et al***.,2002. Isolation and genetic characterization of Rift valley fever virus from *Aedes vexans arabiensis*, Kingdom of Saudi Arabia. Emerging Infectious Diseases 8(12):1492-1494.
-**Minke Maarten J., Pronost S., Guiot A.L.** ,2008.Actualités diagnostiques et vaccinales grippé équine, herpèsvirose équine et fièvre de West Nile. Le Nouveau Praticien Vétérinaire équine, Hors-Séries Maladies infectieuses, vol 5-255 :122-127
-**Monini M., Falcone E., Busani L., Romi R., Ruggeri FM** ,2010. West Nile Virus: Characteristics of an African Virus Adapting to the Third Millennium World.
Open Virol J, 4, 42-51.
-**Moulinier C.**,2003. Parasitologie et mycologie médicales, éléments de morphologie et de biologie. Cachan : EM inter,. 796 pp.
-**Moutailler S.*et al***.,2008.Potential vectors of Rift Valley fever virus in the mediterranean Region. Vector Borne Zoonot Dis 8: 749-753.
-**Mukhopadhyay S., Kim BS., Chipman PR., Rossmann MG., Kuhn RJ.** ,2003. Structureof West Nile virus.Science 302: 248.
-**Mukhopadhyay S, Kuhn RJ, Rossmann MG** ,2005. A structural perspective of the flavivirus life cycle.Nat Rev Microbiol 3(1): 13-22.
-**Murgue B., Murri S., Triki H., Deubel V. et Zeller H. G**. ,2001. West Nile in the Mediterranean basin: 1950-2000. *Ann. N. Y. Acad. Sci.*, 951:117-126.
- **Nasci R.S.,*et al.*.** , 2001. West Nile virus in overwintering Culex mosquitoes, New York City, 2000. Emerg. I*nfect. Dis*., (4):742-744.
-**Nir Y. *et al.***,1967. Isolation of arboviruses from wild birds in Israel.Am J.Epidemiol86: 372-378.
-**Office International des Épizooties (OIE)** ,2008.Manuel des tests de diagnostic et des vaccins pour les animaux terrestres, chapitre 2.10.7
- Oliphant T., Diamond M.S., 2007.The molecular basis of antibody-mediated neutralization of West Nile virus, *Expert Opin Biol Ther*., 7(6):885-892
-**Oliphant T.et al.,**2005.Development of a humanized monoclonal antibody with therapeutic potential against West Nile virus. *Nat. Med.*, 11(5):522-30
- **Oudar J, Joubert L, Hannoun C, Corniou B**, 1971. Reproduction expérimentale de la méningo-encéphalomyélite du cheval par l'arbovirus West-Nile, Etude virologique et sérologique *Bull. Acad Vet. Fr.*, 44(3):147-158

-**Ostlund E.N., Crom R.L., Pedersen D.D., Johnson D.J., Williams W.O. et Schmitt B.J**. 2001.Equine West Nile encephalitis, United States. *Emerg Infect Dis* 7 (4) : 665-9.
-**Papa A, Bakonyi T, Xanthopoulou K, Vázquez A, Tenorio A, Nowotny N ,**2011. Genetic Characterization of West Nile Virus Lineage 2, Greece, 2010.Emerging Infectious Diseases 17(5): 920-922.
-**Paz S., Albersheim I.**, 2008.Influence of warming tendency on *Culex pipiens* population abundance and on the probability of West Nile fever outbreaks. EcoHealth, mars 2008, 5, 40-48.
-Peiris J.S., Porterfield J.S.,1979. Antibody-mediated enhancement of Flavivirus replication in macrophage-like cells lines, *Nature*., 282(5738):509-11.
-**Petersen LR, Brault AC, Nasci RS,** 2013.*West Nile Virus*, JAMA;310: 308-315.
-Platonov AE, *et al.* 2001. Outbreak of West Nile virus infection, Volgograd region, Russia, 1999.Emerg Inf Dis 7(1): 128-132
-**Poch O, Sauvaget I, Delarue M, Tordo N**,1989. Identification of four conservedmotifs among the RNA-dependent polymerase encoding elements. EMBO J8: 3867-3874.
-Porter R.S., et al., 2011.Clinical diagnosis of West Nile Fever in Equids by classification and regression tree (CART) analysis and comparative study of clinical appearance in three European countries. *Transbound. Emerg. Dis*.,58(3):197-205
-**Prelaud P.** 1991: Urticaire provoquee par une hypersensibilite aux piqures de moustiques chez un boxer, L'Action Veterinaire, 1189, 11-13.
-**Ribeiro, J.M.C.** 1999. Vector biology. In : Guerrant, R., D. Walker et P. Weller (eds). *Tropical*
infectious diseases. Philadelphia : Churchill Livingstone, 124-133.
-**Rice CM, Aebersold R, Teplow DB, Pata J, Bell JR, Vorndam AV, Trent DWBrandriss MW, Schlesinger JJ, Strauss JH** ,1986 . Partial N-terminal aminacid sequences of three nonstructural proteins of two flaviviruses. Virolog151:1-9.
-**Ripert C.,** 2007.Epidémiologie des maladies parasitaires, tome 4, affections provoquées ou transmises par les arthropodes. Cachan : EM inter, 2007. 581 pp
-**Rodhain F, Perez C**., 1985. Précis d'entomologie médicale et vétérinaire. Paris: Maloine 458 p.
-**Samuel M.A., Wang H., Siddharthan V., Morrey J.D., Diamond M.S.**,2007. Axonal transport mediates West Nile virus entry into the central nervous system and induces acute flaccid paralysis. *Proc. Natl. Acad. Sci*., 104(43):17140-17145.
- **Sánchez M.D.et al.,**2007. The neutralizing antibody response against West Nile virus in naturallyinfected horses. *Virology*, 359(2):336-348
-**Savage HM *et al.*,**1999. Entomologic and avian investigations of an epidemic of West Nile fever in Romania in 1996, with serological and molecular characterization of a virus isolate from mosquitoes. Am J Trop Med Hyg 61(4): 600-611.
-**Schuffenecker I, Peyrefitte CN, El Harrak M, Murri S, Leblond A, Zeller HG**, 2005. West Nile Virus in Morocco, 2003.Emerging Infectious Diseases 11: 306309.
-Schmidt J.R. et El Mansoury H.K.,1963. Natural and experimental infection of Egyptian equines with West Nile virus. *Ann Trop Med Parasitol* **57** : 415-27.
- Sellon D., Long M., (2006) Equine Infectious Diseases, Saunders Elsevier, 198-206
- **Shrestha B., Diamond M.S.,** 2004. Role of CD8+ T cells in control of West Nile virus infection. *J. Virol*., 78(15):8312-8321.
-**Shrestha B., Gottlieb D., Diamond M.S.,** 2003.Infection and injury of neurons by West Nile encephalitis virus, *J. Virol.*, 77(24):13203-13213.
-Sitati E.M., Diamond M.S.,2006. CD4+ T-cell responses are required for clearance of West Nile virus from the central nervous system. *J. Virol.*, 80(24):12060-12069.
-**Smithburn KC, Hughes TP, Burke AW, Paul JH** , 1940. A neurotropic virus isolated

from the blood of a native of Uganda. Am J Trop Med 20: 471-492.
-**Steele , K.E. *et al*.,** 2000. Pathology of fatal West Nile virus infections in native and exotic birds during the 1999 outbreak in New York City, New York. V*et. Pathol.*2000 (37):208-224.
-**Taylor RM, Work TH, Hurlbut HS, Rizk F**;1956. A study of the ecology of West Nile virus in Egypt. Am J Trop Med 5: 579-620.
-**Trari B, Dakki M, Himmi O, El Agbani MA**,2002. Les moustiques (Diptera: Culicidae) du Maroc. Revue bibliographique (1916-2001) et inventaire des espèces.
Bull Soc Pathol Exot 95(4): 329-334.
-**Triki H, Murri S, Le Guenno B, Bahri O, Hili K, Sidhom M, Dellagi K** ,2001. West Nile viral meningo-encephalitis in Tunisia. Medecine Tropicale 61: 487-490.
-**Tsai TF, Popovici F, Cernescu C, Campbell GL, Nedelcu NI** ,1998.West Nile encephalitis epidemic in southeastern Romania. Lancet 352: 767-771.
-**Toral y caro M**., 2005 Evaluation in vitro de l'efficacité du fipronil sur *Culex pipiens pipiens*.Th. : Med.Vet. : Toulouse; 099. 53 pp.
-**Tritz et al.,** 2009 Maladie du Nil Occidental ou de West Nile chez le cheval en 48 questions-réponses, *Réseau d'épidémio-surveillance en Pathologie Équine (RESPE)*
- **Urquhart G. M., ARMOUR J., DUNCAN J. L., DUNN A. M., JENNINGS F. W.,** 1996 Veterinary parasito logy. 2 nd edition. Oxford : Blackwell science. 307 pp.
- **Vandaële E**.,2009 .Le premier vaccin contre la maladie de West Nile en Europe, *Le PointVétérinaire*, 296:20-21
- **Vazquez A., Sanchez-Seco M.P., Ruiz S., Molero F., Hernandez L., Moreno J.,Magallanes A., Tejedor C.G., Tenorio A.**, 2010. Putative new lineage of west nile virus,Spain, *Emerg. Infect. Dis*., 16(3):549-552
-**Venter M., Swanepoel R.**, 2010. West Nile virus lineage 2 as a cause of zoonotic neurological disease in humans and horses in southern Africa, *Vector Borne Zoonotic Dis.*,10(7):659-664
-**Vinogradova EB**.,2000. *Culex pipiens pipiens* mosquitoes: taxonomy, distribution, ecology, physiology, genetics, applied importance and control. Pensoft,Sofia.
-**Wall R., Shearer D**., (1997) Veterinary entomology. London : Chapman & Hall,. 439 pp.
-**Wang Y., Lobigs M., Lee E., Müllbacher A.** ,2003.CD8+ T cells mediate recovery and immunopathology in West Nile virus encephalitis. *J. Virol.*, (24):13323-13334
-**Weinberger M, et al.,** (2001). West Nile fever outbreak, Israel, 2000: epidemiologic aspects. Emerg Infect Dis 7(4):686-691.
-**Weiss, D., D. Carr, J. Kellachan, C. Tan, M. Phillips, E. Bresnitz et M. Layton**., 2001. Clinical findings of West Nile virus infection in hospitalized patients, New York and New Jersey, 2000.*Emerg Infect Dis*, 7(4) : 654-658.
-**Xiao S.Y., Guzman H., Zhang H., Travassos da Rosa A.P., Tesh R.B.,** (2001) West Nile virus infection in the golden hamster (Mesocricetus auratus): a model for West Nile encephalitis. *Emerg. Infect. Dis.*, 7(4):714-721.
-**Zeller H.G, Murgue B.,** (2001) Rôle des oiseaux migrateurs dans l'épidémiologie duvirus West Nile. Med Mal Infect 31(Suppl 2): 168-174.
- **Zientara S.,** (2002) Infection à virus West Nile, situation épidémiologique, risques pour l'Homme et épizootie en France (2000-2001), *Bull. Acad. Vét. France*, 155:67-72

Autres:
-Source : revue medicopharmaceutique N°=48, les arbovirus qui menacent l'Algérie
-Source: ICTV International Committee on taxonomy of Viruses)
-West Nile Virus Infection. The center for food security and public health. 2009
-(Éd. Du Chêne, 2003)
-Université vétérinaire du Colorado
- Bull. Acad. Vét. France — 2012 - Tome 165 - N°1
-Chemical and Biological Warfare Agents. 2009
-Office fédéral de la sécurité alimentaire et des affaires vétérinaires OSAV-confédération suisse.
-OIE office international des épizooties

Sites:
-www.academie-veterinaire-defrance.org/
- www.aphis.usda.gov/vs/nahss/equine/wnv
-www. aramel.free.fr/INSECTES 15-3.shtml
-Site internet Bioquest: Community Resources for problem solving in biology
-CDC Website/ (CDC, 2011; PHAC, 2011)
- www.ecdc.europa.eu / European Centre for Disease Prevention and Control (ECDC)/
-www.ifrance.com/harachate/_private/moustique.html
- www.jle.com
-Ornithomedia.com.
-www.pasteur.fr/fr/institut-pasteur/presse/fiches-info/west-nile
- www.viralzone Phylogénie/ *ENVA*
-www.safetravel.ch

ANNEXES

Annexes :

Annexe 1: Virus de la famille des *Flaviviridae* (Extrait du livre Les protéases virales dans la famille des *Flaviviridae* , Décembre 2002, www.jle.com)

Genre	Groupe	Espèce
Flavivirus		
Vecteurs : tiques	**Virus de mammifères**	*Gadgets Gully virus* *Kadam virus* *Kyasanur Forest disease virus* *Langat virus* *Omsk hemorrhagic fever virus* *Powassan virus* *Royal Farm virus* *Tick-borne encephalitis virus* *Louping ill virus*
	Virus aviaires	*Meaban virus* *Saumarez Reef virus* *Tyuleniy virus*
	Virus de la fièvre jaune	*Banzi virus* *Bouboui virus* *Edge Hill virus* *Jugra virus* *Saboya virus* *Sepik virus* *Uganda S virus* *Wesselsbron virus* *Yellow fever virus*
	Virus de la dengue	*Dengue virus* *Kedougou virus*
Vecteurs : moustiques	**Virus de l'encéphalite japonaise**	*Cacipacore virus* *Koutango virus* *Japanese encephalitis virus* *Murray Valley encephalitis virus* *St. Louis encephalitis virus* *Usutu virus* *West Nile virus* *Yaounde virus*
	Virus Kokobera	*Kokobera virus*
	Virus Ntaya	*Bagaza virus* *Ilheus virus* *Israel turkey meningoencephalo-myelitis virus* *Ntaya virus* *Tembusu virus*
	Virus Spondweni	*Zika virus*
	Virus Aroa	*Aroa virus*
	Virus Entebbe bat	*Entebbe bat virus* *Yokose virus*
Vecteurs : non arthropodes	**Virus Modoc**	*Apoi virus* *Cowbone Ridge virus* *Jutiapa virus* *Modoc virus* *Sal Vieja virus* *San Perlita virus*
	Virus Rio Bravo	*Bukalasa bat virus* *Carey Island virus* *Dakar bat virus* *Montana myotis leukoencephalitis virus* *Phnom Penh bat virus* *Rio Bravo virus*
Pestivirus		Border disease virus *Bovine viral diarrhea virus 1* *Bovine viral diarrhea virus 2* *Classical swine fever virus*
Hepacivirus		*Hepatitis C virus*
Non classés		*GB virus A* *GB virus B* *GB virus C/Hepatitis G virus*

Annexe 2 : Comparaison entre *Culex pipiens* et *C.modestus*

Culex pipiens:	***Culex modestus:***
-L'adulte a une taille 3-6 mm de long, globalement brun clair. -Potentiellement actives toute l'année, les femelles hibernent de mi-octobre à mi-février, -*C. pipiens* sont moyennement compétents pour le WNV -N.B : Il s'agit à coup sûr d'*Aedes caspius*. Ce moustique est globalement roux, reconnaissable à ses bandes longitudinales claires sur le thorax, à ses pattes annelées de blanc et à son ornementation des tergites abdominaux en forme d'X. Cette espèce est largement répartie dans toute la région paléarctique.	-L'imago est sombre, de petite taille (d'où son nom) -Les femelles hibernent de mi-octobre à mi-février, dans la végétation serrée des roselières -En mars-avril, le développement larvaire est long (température basse) et les femelles disparaissent pratiquement en avril avant que les nouveaux adultes n'émergent. -Les populations de *C. modestus* atteignent alors des densités importantes en août et au début de septembre,avant de disparaître avec l'arrivée d'octobre. -*C. modestus*, principalement ornithophile -hautement « compétentes » pour le WNV -Les oiseaux sont piqués principalement par ces deux espèces : *Culex modestus* Ficalbi 1890 et *Culex pipiens* L. 1758(Balenghien T., 2006).

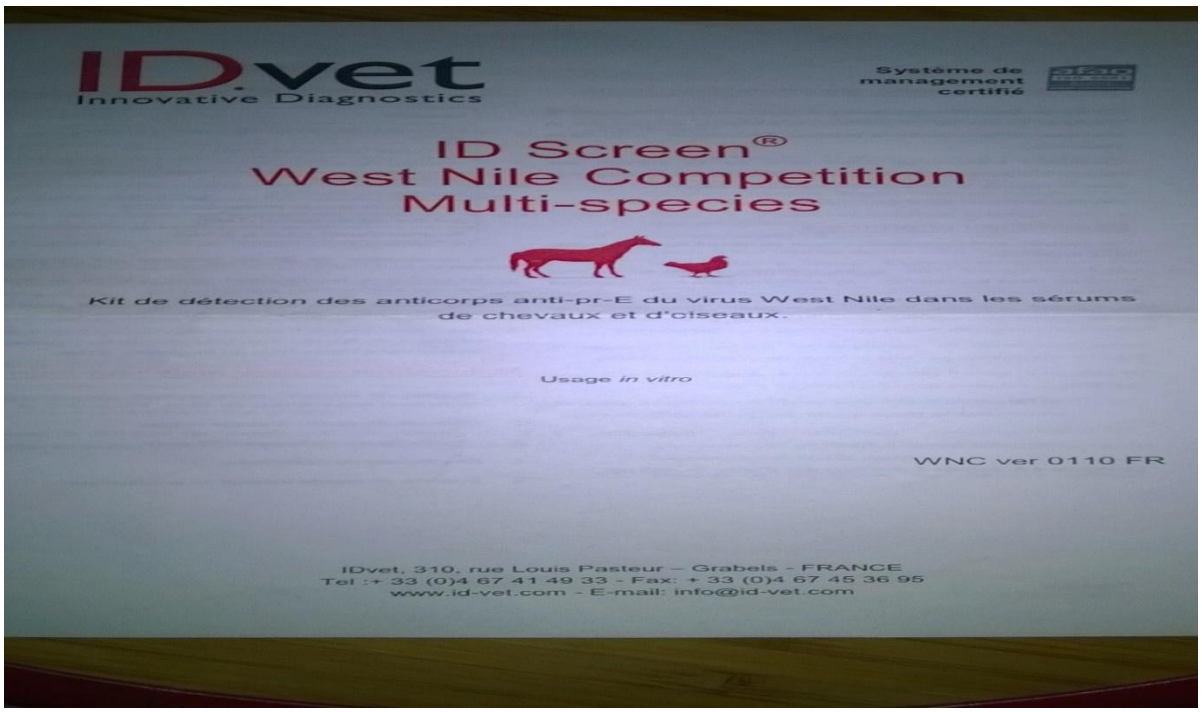
Annexe 3 : Caractères éco-physiologique des membres du complexe *Cx.pipiens* (Vinogradova 2003; Smith & Fonseca, 2004)

Membre du complexe	**Répartition géographique**	**Autogénie**	**Sténogame (S)/ Eurygame (E)**	**Diapause**
Cx. pipiens Linnaeus, 1758 avec 2 formes (Harbach *et al.* 1985) *Cx. pipiens* forme *pipiens*	Europe, au Nord et au Sud de l'Afrique, Asie non tropicale et régions tempérées de l'Amérique du Nord et du Sud (Harbach et al., 1985; Vinogradova, 2000; Vinogradova, 2003).	-	E	+
Cx. pipiens forme *molestus* Forskll,1775	Japon, Chine, Corée du Sud et Australie (Vinogradova, 2000).	+	S	-
Cx. quinquefasciatus Say, 1823	Région tropicale, subtropicale de l'Afrique et des Amériques et Sud-Est de l'Asie et de l'Australie (Fonseca et al., 2006).	-	S	-
Cx. pallens Coquillett 1898	Est de l'Oural à travers l'Asie tempérée (Fonseca et al., 2009)	-	S	+
Cx. globocoxitus Dobrotworsky 1953	Essentiellement en Australie.	?	?	-
Cx. australicus Dobrotworsky et Drummond, 1953	Essentiellement en Australie.	-	E	-
Cx. vagans Wiedemann 1828	Chine, Inde, Corée, Japon, et Russie.	-	E	+
Culex fatigans Wiedemann 1828	Nouvelle Zélande et dans les îles avoisinantes (Belkin, 1968).	?	?	-
Cx. pervigilans Von Bergroth 1889	Nouvelle Zélande et dans les îles avoisinantes (Belkin, 1968).	?	?	?
Cx. torrentium Martini, 1925	Espèce paléarctique, Europe et quelques régions asiatiques (Vinogradova, 2000)	-	E	+

Annexe 4 :**Questionnaire**

Types d'informations	Réponses
Date du prélèvement/ saison	
Lieu du prélèvement/ zone géographique	
Humidité de la région	
Propriétaire / Centre	
Vétérinaire	
Les caractéristiques physiques du cheval	Nom, âge, sexe, race, robe,
Le statut sanitaire du cheval	État général, vérmifugation , vaccination, antécédents médicaux
Habitat	Stabulation-semi stabulation (jour/nuit)
Activité et déplacements probables	Sportive (saut d'obstacle/endurance)-Fantasia Reproductive Aucune (plaisir)
Présence de signes nerveux	Oui /non
Présence de vecteurs	Oui /non
Lutte anti-vectorielle	Oui/non
Présence d'oiseaux	Sédentaire Sédentaire/migrateurs Migrateurs

Annexe 5 :La notice du kit « ID Screen West Nile competition ».



Annexe6: Tableau d'Excel des 3 plaques.

A	**0,244**	2,498	0,148	2,528	2,626	2,518	2,62	2,704	2,555	2,626	2,572	2,712
B	**0,241**	0,114	2,646	2,446	2,301	2,659	0,26	2,639	2,687	2,687	2,666	2,687
C	2,749	2,222	2,496	2,465	2,535	2,541	2,501	2,478	2,666	2,573	2,645	2,645
D	2,73	2,498	2,498	2,519	2,639	2,646	2,632	2,612	2,682	2,667	2,653	2,646
E	2,813	2,561	2,722	2,41	2,7	2,722	2,73	2,737	2,761	0,208	0,1	2,753
F	2,737	0,604	2,612	2,379	2,67	2,825	2,728	2,67	2,797	2,901	2,806	2,779
G	0,35	2,316	2,608	2,494	2,652	0,257	2,614	2,626	2,542	2,652	2,869	2,772
H	2,615	0,139	2,665	1,943	2,371	2,627	2,348	0,244	0,338	2,893	2,966	3,069

Plaque 1 : mesures de la densité optique après lecture au spectrophotomètre /filtre 450nm

contrôle +	0,2425	inf à 0,3
contrôle -	2,7395	sup à 0,7
c+ /c-	0,088519803	inf à 0,3
échantillon+	<= 40%	
échantillon-	>50%	
échantillon douteux	<40,<=50 %	
1er ech	102,6829713	

A	**0,2425**	91,18452272	5,402446	92,27961	95,85690819	91,91458	95,63789	98,704	93,265	95,8569	93,8857	98,99617
B		4,161343311	96,58697	89,28637	83,99342946	97,06151	9,490783	96,331	98,084	98,0836	97,317	98,08359
C	2,7395	81,10969155	91,11152	89,97992	92,53513415	92,75415	91,29403	90,454	97,317	93,9222	96,5505	96,55047
D	0,088519803	91,18452272	91,18452	91,95109	96,33144734	96,58697	96,07593	95,346	97,901	97,3535	96,8425	96,58697
E	102,6829713	93,48421245	99,3612	87,97226	98,55813105	99,3612	99,65322	99,909	100,78	7,59263	3,6503	100,4928
F	99,90874247	22,04781895	95,34587	86,84066	97,4630407	103,121	99,58022	97,463	102,1	105,895	102,427	101,4419
G	12,77605402	84,54097463	95,19985	91,03851	96,80598649	9,381274	95,41887	95,857	92,791	96,806	104,727	101,1863
H	95,45537507	5,073918598	97,28053	70,92535	86,54864026	95,89341	85,70907	8,9067	12,338	105,603	108,268	112,0277

Traitement des données de la plaque 1 sur Excel

A	0,147	1,697	1,619	1,84	2,088	2,242	2,025	2,082	2,101	2,194	0,173	2,182
B	0,14	2,185	0,383	2,044	1,97	2,181	2,203	0,411	2,174	2,165	2,321	2,194
C	2,172	2,11	2,195	2,038	0,167	2,148	2,343	2,285	2,087	0,113	0,124	0,194
D	1,981	1,998	2,14	1,848	1,995	2,068	2,102	2,156	0,228	1,916	0,206	2,177
E	2,259	2,398	2,041	2,09	2,152	2,199	2,193	0,218	2,273	2,222	2,351	2,42
F	1,945	2,183	2,02	2,136	1,986	1,838	2,067	2,157	2,265	2,134	2,238	2,355
G	2,437	2,206	2,174	2,121	2,073	1,966	2,002	2,057	2,111	1,878	2,128	2,165
H	2,258	1,997	2,291	2,13	0,151	1,947	2,157	2,155	0,826	2,296	2,328	0,237

Plaque 2 : mesures de la densité optique après lecture au spectrophotomètre /filtre 450nm

A	0,1435	81,7240549	77,96773	88,61064	100,5538165	107,9701	97,51987	100,26	101,18	105,659	8,33133	105,0807
B		105,2251385	18,4445	98,43487	94,87117746	105,0325	106,092	19,793	104,7	104,262	111,775	105,6586
C	2,0765	101,6132916	105,7067	98,14592	8,042379003	103,4433	112,8341	110,04	100,51	5,44185	5,97159	9,342644
D	0,06910667	96,21960029	103,058	88,99591	96,07512641	99,59066	101,228	103,83	10,98	92,2706	9,92054	104,8399
E	108,7888274	115,4827835	98,29039	100,6501	103,6359258	105,8993	105,6104	10,498	109,46	107,007	113,219	116,5423
F	93,66722851	105,1288225	97,27908	102,8654	95,64170479	88,51433	99,5425	103,88	109,08	102,769	107,778	113,412
G	117,3609439	106,2364556	104,6954	102,143	99,83144715	94,67855	96,41223	99,061	101,66	90,4406	102,48	104,262
H	108,7406694	96,17144233	110,3299	102,5765	7,271851673	93,76354	103,8767	103,78	39,778	110,571	112,112	11,41344

Traitement des données de la plaque 2 sur Excel

A	0,108	2,275	1,981	2,055
B	0,101	2,309	2,253	2,13
C	2,27	2,107	2,249	0,126
D	2,081	0,632	2,039	1,964
E	2,52	2,506	2,148	
F	2,361	0,101	2,316	
G	2,595	2,763	2,201	
H	2,471	2,34	2,107	

Plaque 3 mesures de la densité optique après lecture au spectrophotomètre /filtre 450nm

A	0,1045	104,5736612	91,05953	94,46104
B		106,1365203	103,5624	97,90853
C	2,1755	96,85129855	103,3785	5,791772
D	0,048034934	29,05079292	93,72558	90,2781
E	115,8354401	115,1919099	98,73592	
F	108,5267755	4,642610894	106,4583	
G	119,2829235	127,0052861	101,1721	
H	113,5830843	107,5614801	96,8513	

Traitement des données de la plaque 3 sur Excel

Annexe 7:

F I È VR E D E WE S T NI L E

Considérations générales

C HA P I T R E 8. 16.

Article 8.16.1.

La fièvre de West Nile est une maladie zoonotique causée par certaines souches du virus de West Nile qui sont transmises par des moustiques.

Aux fins de l'application des dispositions prévues par le présent chapitre, les espèces sensibles à l'infection par le virus de West Nile sont les équidés, les oies et les canards (à l'étude), ainsi que les oiseaux autres que les volailles.

Le virus de West Nile se maintient grâce à un cycle de transmission moustique/oiseau/moustique tandis que les êtres humains et les équidés sont des hôtes accidentels considérés comme des impasses pour son développement. La plupart des infections humaines se produisent par transmission naturelle du virus par les moustiques.

En ce qui concerne le commerce des a n i m a u x domestiques, les oies et les canards peuvent contribuer à la diffusion du virus de West Nile, car il existe une documentation démontrant que certaines espèces développent une virémie suffisante pour infecter les moustiques.

La surveillance de la fièvre de West Nile doit être conduite selon les dispositions prévues dans le chapitre X.X.

La présence d'un cas de fièvre de West Nile est définie comme suit :

1. le virus de West Nile a été isolé chez un an i m a l présentant des signes cliniques évoquant la maladie et susceptibles de ne pas être rattachés de façon certaine à une autre maladie, ou

2. de l'antigène ou de l'acide ribonucléique (ARN) viral, spécifiques du virus de West Nile, ont été détectés dans des prélèvements provenant d'un ou plusieurs an i m a u x manifestant des signes cliniques évoquant la m al ad i e et susceptibles de ne pas être rattachés de façon certaine à une autre maladie , ou épidémiologiquement reliés à une suspicion ou un f o y e r confirmé de fièvre de West Nile, ou

3. des anticorps dirigés contre le virus de West Nile ont été mis en évidence chez un ou plusieurs animaux manifestant des signes cliniques évoquant de la maladie et susceptibles de ne pas être rattachés de façon certaine à une autre maladie, ou épidémiologiquement reliés à une suspicion ou un foyer confirmé de fièvre de West Nile.

Aux fins de l'application des dispositions prévues par le Code terrestre, la période d'incubation de la fièvre de West Nile est fixée à 15 jours.

Les normes pour les épreuves de diagnostic et les vaccins sont fixées par le Manuel terrestre.

Lorsque l'autorisation d'importer ou de faire transiter par un territoire porte sur les marchandises visées dans le présent chapitre, à l'exception de celles précisées à l'article 8.16.2., les Autorités vétérinaires doivent imposer le respect des conditions ajustées à la situation sanitaire du pays ou de la zone d'exportation au regard de la fièvre de West Nile qui sont prescrites au même chapitre.

Marchandises dénuées de risque

Il est interdit aux Membres d'imposer des restrictions commerciales aux hôtes considérés comme des impasses épidémiologiques tels que les chevaux.

Lorsque l'autorisation d'importer ou de faire transiter par un territoire porte sur les marchandises énumérées ci-dessous ou tout produit élaboré à partir de ces marchandises, les Autorités vétérinaires s ne doivent imposer aucune condition liée à l'agent de la maladie quelle que soit la situation sanitaire du pays ou de la zone d'exportation au regard de la fièvre de West Nile :

1. œufs à couver ;
2. œufs de consommation ;

3. ovo produits ;
4. semence de volaille ;
5. v i a n de s fraiches de volaille et produits à base de viande de volaille ;
6. produits dérivés de volaille appelés à entrer dans la composition de produits destinés à l'alimentation animale ou destinés à l'usage agricole ou industriel ;
7. plumes et duvets de volailles ;
8. semence de chevaux ;
9. viande de cheval et produits à base de viande de cheval.

Article 8.16.3.

Pays ou zone indemne de fièvre de West Nile

1. Un pays ou une zone peut être considéré(e) indemne de fièvre de West Nile lorsque la fièvre de West Nile est inscrite parmi les maladie à déclaration obligatoire sur l'ensemble du territoire national, et

a) qu'aucun c as de fièvre de West Nile, là où l' i n f e c t i o n est apparue sur le territoire du Membre, n'y a été signalé au cours des 2 dernières années, ou

b) que les résultats issus d'un programme de su rv e i l l a n c e conforme aux dispositions prévues par le chapitre X.X. attestent l'absence du virus de West Nile dans le pays ou la zone au cours des 2 dernières années.

2. Un pays ou une zone indemne de fièvre de West Nile ne perdra pas son statut de pays ou zone indemne de la maladie consécutivement à l'importation à partir d'un pays infecté ou d'une zone infectée par le virus de West Nile :

a) d'animaux porteurs d'anticorps ;

b) de semence, d'ovules ou d'embryons ;

c) d'an i m a u x vaccinés contre la fièvre de West Nile au moins 30 jours avant leur expédition selon les normes fixées par le Manuel terrestre et identifiés comme tels dans le certificat d'accompagnement, ou

d) d'animaux non vaccinés si un programme de surveillance conforme aux dispositions prévues par le chapitre X.X. et ciblant la population d'origine a été mis en place au moins pendant les 30 jours ayant immédiatement précédé leur expédition et si aucune transmission du virus de West Nile n'a été mise en évidence.

Article 8.16.4.

Pays ou zone saisonnièrement indemne de fièvre de West Nile

1. Un pays ou une zone saisonnièrement indemne de fièvre de West Nile est un pays ou une zone où les résultats issus d'un dispositif de surveillance attestent l'absence de transmission du virus de West Nile ou de présence de moustiques doués de capacité vectorielle au regard dudit virus durant une période de l'année.

2. Aux fins de l'application des dispositions énoncées à l'article 8.16.6., la période durant laquelle le pays ou la zone est saisonnièrement indemne commence 21 jours après la dernière détection d'une transmission du virus (telle que révélée par le programme de surveillance ou d'une activité de moustiques doués de capacité vectorielle au regard dudit virus.

3. Aux fins de l'application des dispositions fixées par l'article 8.16.6., la période durant laquelle le pays ou la zone est saisonnièrement indemne s'achève :

a) au moins 21 jours avant la date la plus précoce à laquelle le virus peut reprendre son cycle de transmission d'après les données historiques, ou

b) immédiatement si les circonstances climatiques ou les données issues du programme de surveillance indiquent une reprise plus précoce de l'activité des moustiques doués de capacité vectorielle au regard du virus de West Nile.

4. Un pays ou une zone saisonnièrement indemne de fièvre de West Nile ne perdra pas son statut de pays ou zone saisonnièrement indemne de la maladie consécutivement à l'importation à partir de pays infectés ou zone infectée par le virus de West Nile :
a) d'animaux porteurs d'anticorps ;
b) de semence, d'ovules ou d'embryons ;
c) d'an i m a u x vaccinés, au moins 30 jours avant leur expédition, contre la fièvre de West Nile, conformément aux normes fixées par le Manuel terrestre et identifiés comme tels dans le certificat d'accompagnement, ou
d) d'animaux non vaccinés si un programme de surveillance ciblant la population d'origine a été mis en place au moins pendant les 30 jours ayant immédiatement précédé leur expédition, conformément aux dispositions prévues dans le chapitre X.X. et si aucune transmission du virus de West Nile n'a été mise en évidence.

Article 8.16.5.

Recommandations pour les importations en provenance de pays ou zones indemnes de fièvre de West Nile

Pour les canards (à l'étude), les oies et les oiseaux autres que les volailles
Les Autorités vétérinaires doivent exiger la présentation d'un certificat vétérinaire international attestant :
1. que les animaux ont été entretenus depuis leur naissance, ou au moins pendant les 30 jours ayant précédé leur chargement, dans un pays ou une zone indemne de fièvre de West Nile, ou

2. que les animaux ont été entretenus, au moins durant les 15 derniers jours, dans un pays ou une zone indemne de fièvre de West Nile, qu'ils ont été soumis à une épreuve d'identification de l'agent étiologique dont le résultat s'est révélé négatif et qui a été réalisée à partir d'un prélèvement de sang recueilli au moins 3 jours après le début de leur séjour, conformément aux normes fixées par le Manuel terrestre et qu'ils sont restés dans le pays ou la zone indemne de fièvre de West Nile jusqu'à leur chargement, ou
3. que les animaux :
a) ont été vaccinés, 30 jours avant leur introduction dans le pays ou la zone indemne de la maladie , contre la fièvre de West Nile, conformément aux normes fixées par le Manuel terrestre , et
b) ont été identifiés comme tels dans le certificat d'accompagnement, et
c) ont été entretenus, au moins durant les 15 derniers jours, dans un pays ou une zone indemne de fièvre de West Nile, et
d) sont restés dans un pays ou une zone indemne de fièvre de West Nile jusqu'à leur chargement ;
ET
4. en cas d'exportation à partir d'une zone indemne de fièvre de West Nile :
a) que les a n i m a u x n'ont pas transité par un pays infecté ou une zone i n f e c t é e par le virus de West Nile au cours de leur transport jusqu'au lieu de chargement , ou
b) que les animaux ont été protégés à tout moment contre les attaques de moustiques lors de leur transit par un pays infecté ou une zone infectée par le virus de West Nile, ou
c) que les animaux ont été vaccinés contre la fièvre de West Nile, conformément aux dispositions fixées par l'alinéa 3 ci-dessus.

Article 8.16.6.

Recommandations pour les importations en provenance de pays ou zones saisonnièrement indemnes de fièvre de West Nile

Pour les canards (à l'étude), les oies et les oiseaux autres que les volailles

Les Autorités vétérinaires doivent exiger la présentation d'un certificat vétérinaire international attestant que les animaux :
1. ont été entretenus depuis leur naissance, ou au moins pendant les 30 jours ayant précédé leur chargement, dans un pays ou une zone saisonnièrement indemne de fièvre de West Nile durant la période où celui-ci ou celle-ci l'était, ou
2. ont été entretenus, au moins pendant les 15 jours ayant précédé leur chargement, dans un pays ou une zone saisonnièrement indemne de fièvre de West Nile durant la période où celui-ci ou celle-ci l'était, ont été soumis, durant cette période, à une épreuve d'identification de l'agent étiologique dont le résultat s'est révélé négatif et qui a été réalisée à partir d'un prélèvement de sang recueilli au moins 3 jours après le début de leur séjour, conformément aux normes fixées
par le Manuel terrestre, et sont restés dans le pays ou la zone saisonnièrement indemne de fièvre de West Nile jusqu'à leur chargement, ou
3. ont été entretenus, au moins pendant les 15 jours ayant précédé leur chargement, dans un pays ou une zone saisonnièrement indemne de fièvre de West Nile durant la période où celui-ci ou celle-ci l'était, ont été vaccinés, 30 jours avant d'y être introduits, contre la fièvre de West Nile, conformément aux normes fixées par le Manuel terrestre , ont été identifiés comme tels dans le certificat d'accompagnement, et y sont restés jusqu'à la date de leur chargement ;
Et
4. en cas d'exportation à partir d'un pays ou d'une zone saisonnièrement indemne de fièvre de West Nile durant la période où celui-ci ou celle-ci l'était :
a) n'ont pas transité par un pays infecté ou une zone infectée par le virus de West Nile durant leur transport jusqu'au lieu de chargement, ou
b) ont été protégés à tout moment contre les attaques de moustiques durant leur transit par un pays infecté ou une zone infectée par le virus de West Nile, ou
c) ont été vaccinés contre la fièvre de West Nile, conformément aux dispositions fixées par l'alinéa 3 ci-dessus.

Article 8.16.7.
Recommandations pour les importations en provenance de pays ou zones infectés par le virus de West Nile
Pour les canards (à l'étude) et les oies
Les Autorités vétérinaires doivent exiger la présentation d'un certificat vétérinaire international attestant :
1. que les a n i m a u x ont été protégés contre les attaques de moustiques au moins pendant les 30 jours ayant précédé leur chargement, ou
2. qu'ils ont été soumis à une épreuve sérologique destinée à mettre en évidence la présence d'anticorps neutralisants dont le résultat s'est révélé positif et qui a été réalisée selon les normes fixées par le Manuel terrestre, ou
3. qu'ils ont été protégés contre les attaques de moustiques au moins pendant les 15 jours ayant précédé leur chargement et qu'ils ont été soumis, durant cette période, à une épreuve d'identification de l'agent étiologique dont le résultat s'est révélé négatif et qui a été réalisée à partir d'un prélèvement de sang recueilli au moins 3 jours après avoir été introduit dans la zone indemne de moustiques, conformément aux normes fixées par le Manuel terrestre, ou
4. qu'ils ont été vaccinés, au moins 3 jours avant leur chargement, contre le virus de West Nile, conformément aux normes fixées par le Manuel terrestre et qu'ils ont été identifiés comme tels dans le certificat d'accompagnement, ou
5. qu'ils n'ont pas été vaccinés contre le virus de West Nile et qu'un programme de surveillance ciblant la population d'origine a été mis en œuvre pendant les 3 mois ayant

immédiatement précédé leur chargement, conformément aux dispositions prévues dans le chapitre X.X et que la transmission du virus de West Nile n'y a pas été mise en évidence ;
ET
6. qu'ils ont été protégés contre les attaques de moustiques au cours de leur transport jusqu'au Lieu de chargement .

Article 8.16.8.

Recommandations pour les importations en provenance de pays ou zones infectés par le virus de West Nile

Les Autorités vétérinaires doivent exiger la présentation d'un certificat vétérinaire international attestant :

1. que les oiseaux ne présentaient, le jour de leur chargement, aucun signe clinique de fièvre de West Nile, et
2. que les oiseaux ont été maintenus, pendant les 30 jours ayant précédé leur chargement, dans une station de quarantaine dans un environnement à l'épreuve des moustiques et qu'un échantillon statistiquement valable d'oiseaux a été soumis, au moins 3 jours avant le début de leur entrée dans la station de quarantaine , à une épreuve d'identification de l'agent étiologique dont le résultat s'est révélé négatif et qui a été réalisée conformément aux normes fixées par le Manuel terrestre.

Article 8.16.9.

Protection des animaux contre les attaques de moustiques

Lors de la traversée, par les an i m au x, de pays infectés ou zones infectées par le virus de West Nile, les Autorités vétérinaires doivent s'appuyer sur des stratégies visant à protéger les animaux sensibles contre les attaques de moustiques pendant leur transport, en tenant compte de l'écologie locale des moustiques.

Les stratégies de gestion du risque potentiel comprennent :

1. le traitement des animaux par des insecticides avant et pendant le transport ;
2. la garantie que les v é hi c u l e s ne s'arrêtent pas en chemin à moins que les animaux ne soient maintenus derrière des moustiquaires ;
3. la surveillance des vecteurs aux points habituels d'arrêt et de déchargement pour obtenir des informations sur les variations saisonnières ;
4. l'intégration de pratiques de gestion contre les animaux nuisibles dans les installations, ainsi qu'aux points habituels d'arrêt et de déchargement ;
5. l'utilisation des circonstances historiques ou actuelles et/ou des données de modélisation concernant le virus de West Nile pour identifier les ports et voies de transport à faible risque.

2010 © OIE - Code sanitaire pour l es animaux terrestres

Summary

West Nile fever is a vector zoonosis caused by a *Flavivirus* transmitted by the bite of Culex mosquitoes from birds, resulting on flu-like symptoms and may develop into nervous like meningitis type and meningoencephalitis ,even death of horses as well humans.
To get an appreciation of health status, and in view of the lack of data on prevalence in Algeria of equine and birds WNV infection since 1994, a serological survey was conducted on 209 sera horses tested in ELISA "IgG competititon" resulting from a prevalence of 12% with equestrian clubs, stables and private owners in various areas of Algiers, Boumerdes and Blida.

Seropositive horses are present in nearby areas of migration of birds, wetlands and less humid ones , in boxes, stall-paddock and even in the presence of means of vector control.

However, the parameters sex, age, breed, color are to be reconsidered for future study by a more expanding population with homogeneous proportions.
These horses-revealing epidemiological- give evidence of WNV but not to conclude an emerging nature of WNF. Epidemiological measures should be introduced to protect human and animal health; hence other studies should be carried out on domestic and wild birds to assess the prevalence later on.

Keywords
West Nile Fever, *Flavivirus*, *Culex pipiens*, horse, migratory birds, seroprevalence.

Résumé

La fièvre du Nil de l'Ouest est une zoonose vectorielle due à un *Flavivirus* transmis par piqûre de moustique du genre *Culex* à partir d'oiseaux, entrainant des symptômes d'allure grippale pouvant évoluer vers des manifestations nerveuses de type méningites et méningo-encéphalites voire la mort chez le cheval comme l'homme.
Pour avoir une appréciation du statut sanitaire, en raison de l'absence de données des prévalences en Algérie de l'infection équine et avifaune au VNO depuis 1994,
une enquête sérologique a été menée sur 209 sera de chevaux testés à ELISA''Ig G competititon'' résultant d'une prévalence de 12% dans des clubs hippiques, écuries et chez des particuliers dans différentes communes des régions d'Alger, Boumerdes et Blida.

Les chevaux séropositifs sont présents dans des zones de proximité des flux migratoires d'oiseaux, en zones humides et moins humides, dans des boxes, stalles paddock et même en présence de moyens de lutte anti-vectorielle.

Toutefois, les paramètres sexe, âge, race, robe sont à reconsidérer pour une étude ultérieure en élargissant davantage la population avec des proportions homogènes.

Ces chevaux -révélateurs épidémiologiques- témoignent de la présence du VNO mais pas à conclure d'un caractère émergent de la FNO. Des mesures en épidemiosurveillance doivent être instaurées pour la protection de la santé humaine et animale, ainsi que d'autres études doivent être effectuées chez l'avifaune domestique et sauvage afin d'évaluer la prévalence ultérieurement.

Mots clés
Fièvre du Nil occidentale, *Flavivirus*, *Culex pipiens,* cheval, oiseaux migrateurs, séroprévalence.

ملخص

حمى غرب النيل هو حيواني المنشأ تسببه ناقلات الفيروسة المصفرة التي تنتقل عن طريق لدغة البعوض الكيولكس من الطيور، ويسبب أعراض تشبه الانفلونزا قد تتطور إلى مظاهر العصبية من نوع التهاب السحايا التهاب السحايا والدماغ و حتى الموت الخيول كبشر.

للحصول على التقدير من الحالة الصحية، وذلك بسبب عدم وجود بيانات عن انتشار العدوى الجزائر WNV الخيول والطيور منذ عام 1994،

وسيتم اختبار مسح مصلي أجري على 209 الخيول في ELISA مفتش competititon"" الناجمة عن انتشار 12٪ في نوادي الفروسية واسطبلات وبيوت خاصة في المناطق المشتركة مختلفة من الجزائر العاصمة وبومرداس و البليدة.

الخيول مصليا موجودة في المناطق القريبة من هجرة الطيور والأراضي الرطبة والرطبة أقل في ترويض واسطبلات والأكشاك حتى في وجود وسائل مكافحة النواقل.

ومع ذلك، فإن المعلمات الجنس والعمر والصنف، وإعادة النظر لون للدراسة في المستقبل المزيد من التوسع السكاني مع نسب متجانسة.

هذه الأدلة تكشف عن الحصان الوبائية لفيروس حمى النيل الغربي ولكن ليس لإبرام طبيعة الناشئة من FNO. وينبغي اتخاذ تدابير الوبائية لحماية صحة الإنسان والحيوان، وكذلك ينبغي إجراء دراسات أخرى في الطيور الداجنة والبرية لتقييم مدى انتشار في وقت لاحق.

الكلمات الرئيسية :
الفيروسة المصفرة حمى غرب النيل، النابصة الكيولكس، والحصان، والطيور المهاجرة والانتشار المصلي