

## ÉCOLE NATIONALE SUPÉRIEURE VÉTÉRINAIRE

### Projet de fin d'études

En vue de l'obtention du  
Diplôme de Docteur Vétérinaire

*Thème :*

**Mise en évidence de la circulation du virus de la Fièvre  
du Nil Occidental chez les chevaux et les oiseaux  
migrateurs au niveau du grand lac de Meniaa –  
Ghardaïa**

Soutenu le 18/07/2019

Présenté par :

**MEKHALDI Fella**

**KACI MAHAMMED Sabrina**

Devant le jury :

<b>Président</b>	KHELEF Djamel	Professeur	ENSV
<b>Promotrice</b>	AIT-LOUDHIA Khatima	Professeur	ENSV
<b>Examineur</b>	BAROUDI Djamel	MCA	ENSV
<b>Examineur</b>	SALHI Omar	MCB	ISV-Blida

**Année universitaire : 2018/2019**

# Dédicaces

A mes chers parents , en signe de profonde reconnaissance pour tous les sacrifices qu'il ont consentis pour moi . Que ce modeste travail soit pour eux un témoignage d'une grande affection .

A mon frère et mes sœurs pour leur soutien indéfectible dans la concrétisation de ce travail .

A tous ceux et celles qui , de près ou de loin , ont contribué à l'aboutissement de ce projet de fin d'études .

A tous , je dédie ce présent ouvrage .

**Sabrina.**

Je dédie ce travail qui n'aura jamais pu voir le jour sans les soutiens indéfectibles et sans limite de mes chers parents qui ne cessent de me donner avec amour le nécessaire pour que je puisse arriver à ce que je suis aujourd'hui. Que dieux vous protège et que la réussite soit toujours à ma portée pour que je puisse vous combler de bonheur , ainsi mes deux grandes – mères

Mon frère et sa femme,

Ma sœur Rosie

Mes oncles, mes tantes et leur famille.

Tous mes cousins et cousines.

Tous mes amis, mes collègues et tous ceux qui m'estiment.

A mes chiens d'amour Karli et cookie

**Fella .**

## **Remerciements**

Que tous ceux et celles qui nous ont apporté aide et assistance matérielle ou morale ,dans la concrétisation de notre projet trouvent tici l'expression de nos vifs remerciements .

Nous tenons ainsi à remercier l'ensemble des travailleurs de l'institut de Blida en particulier le professeur KAIDI et le Dr SALHI Omar pour leur précieuse collaboration.

Comme nous tenons spécialement à témoigner toute notre gratitude à notre promotrice la professeure AIT-OUDHIA Khatima pour son appui , ses conseil , son soutien , et sa disponibilité dont elle a fait preuve durant notre travail .

Aussi, nous ne pouvons pas ne pas lui exprimer toute notre profonde reconnaissance pour tout ce qu'elle nous a apporté comme savoir et savoir-faire au cours de nos nombreuses discussions ; ce qui nous a permis de mener à bien notre projet .Encore une fois mille mercis.

Enfin , notre reconnaissance va également à tous les membre du jury le professeur KHELEF Djamel , le Dr BAROUDI Djamel , et le Dr SALHI Omar pour leur participation active dans l'aboutissement de notre projet de fin d'étude.

## Liste des figures

<b>Figures NN. :</b>	<b>Pages</b>
<b>01 :</b> Structure du génome .....	<b>06</b>
<b>02 :</b> Schéma montrant le cheminement du virus dans le corps d'un moustique vecteur ....	<b>09</b>
<b>03 :</b> Cycle de transmission du virus West Nile.....	<b>10</b>
<b>04 :</b> Symptômes neurologiques chez un cheval atteint de la fièvre du Nil occidental....	<b>12</b>
<b>05 :</b> Carte géographique montrant la région d'étude.....	<b>18</b>
<b>06 :</b> Les oiseaux migrateurs concernés par l'étude.....	<b>20</b>
<b>07 :</b> Étapes de réalisation des prélèvements biologiques.....	<b>22</b>
<b>08 :</b> Technique de prélèvement des oiseaux migrateurs.....	<b>23</b>
<b>09 :</b> Les étapes de décantation du sérum.....	<b>23</b>
<b>10 :</b> Réactifs et plaque du kit ELISA Compétition West NILE (ID SCREEN ®).....	<b>25</b>
<b>11 :</b> Amener les réactifs et les sérums à T° ambiante... ..	<b>26</b>
<b>12 :</b> Numérotter les sérums .....	<b>26</b>
<b>13 :</b> Lavage avec une solution de lavage (1X).....	<b>27</b>
<b>14 a, b :</b> Distribution du conjugué (1X).....	<b>28</b>
<b>15 :</b> Distribution de la solution d'arrêt en cours... ..	<b>28</b>
<b>16 :</b> Lecture au spectrophotomètre /Lecteur ELISA (LBRA, Blida, Mars, 2019.....	<b>29</b>
<b>17 :</b> Taux d'infection des chevaux infectés et non infectés.....	<b>30</b>
<b>18 :</b> Taux d'infection des oiseaux séropositifs et négatifs selon l'âge.....	<b>32</b>
<b>19 :</b> Taux d'infection des oiseaux séropositifs et négatifs selon le sexe.....	<b>33</b>
<b>20 :</b> Taux d'infection des oiseaux séropositifs et négatifs selon la race .....	<b>34</b>
<b>21 :</b> Taux d'infection des oiseaux séropositifs et négatifs selon l'activité.....	<b>35</b>
<b>22 :</b> Taux d'infection des oiseaux séropositifs et négatifs selon l'habitat.....	<b>36</b>
<b>23 :</b> Séroprévalence globale à la WNF sur 88 oiseaux .....	<b>37</b>
<b>24 :</b> Taux d'infection des oiseaux séropositifs et négatifs pour l'espèce canard colvert.....	<b>37</b>
<b>25 :</b> Taux d'infection des oiseaux séropositifs et négatifs pour l'espèce oie sauvage .....	<b>38</b>
<b>26 :</b> Taux d'infection des oiseaux séropositifs et négatifs pour l'espèce grue cendrée.....	<b>38</b>

<b>27</b>	<b>:</b>	<b>Taux d'infection des oiseaux séropositifs et négatifs pour l'espèce canard sarcelle.....</b>	<b>39</b>
<b>28</b>		<b>Taux d'infection des oiseaux séropositifs et négatifs selon le sexe et l'âge chez l'espèce canard colvert.</b>	<b>39</b>
<b>29</b>		<b>Taux d'infection des oiseaux séropositifs et négatifs selon le sexe et l'âge chez l'espèce oie sauvage</b>	<b>40</b>
<b>30</b>		<b>Taux d'infection des oiseaux séropositifs et négatifs selon le sexe et l'âge chez l'espèce grue cendrée</b>	<b>41</b>
<b>31</b>		<b>Taux d'infection des oiseaux séropositifs et négatifs selon le sexe et l'âge chez l'espèce canardsarcelle</b>	<b>41</b>

## **Liste des tableaux**

<b>TABLEAUX NN. :</b>	<b>Pages</b>
<b>01 :</b> Nombre des animaux prélevés en fonction de l'âge , du genre et de la race .....	<b>.19</b>
<b>02 :</b> Nombre des animaux prélevés en fonction de l'activité et de l'habitat.....	<b>. 19</b>
<b>03 :</b> Nombre d'oiseaux prélevés en fonction de l'espèce , de l'âge et du genre.....	<b>20</b>
<b>04 :</b> Taux d'infection VNO par tranche d'âge .....	<b>.33</b>
<b>05 :</b> Taux d'infection du VNO selon le genre.....	<b>34</b>
<b>06 :</b> Taux d'infection du VNO selon la race.....	<b>34</b>
<b>07 :</b> Taux d'infection du VNO selon l'activité .....	<b>.35</b>
<b>08 :</b> Taux d'infection du VNO selon l'habitat.....	<b>.36</b>

# Abréviations

**AC** : Anticorps.

**ARN** : Acide ribonucléique.

**DO** : Densité Optique.

**DO CN** : Densité Optique du Contrôle Négatif.

**DOCP** : Densité Optique du Contrôle Positif.

**EEE** : Encéphalite Equine de l'Est.

**EJ** : Encéphalite Japonaise .

**ELISA** : Enzyme Linked Immuno Sorbent Assay ( Test Immuno – Enzymatique )

**FNO** : Fièvre du Nil de l' Ouest ou Occidental.

**IgM** : Immunoglobulines de classe M

**IgG** : Immunoglobulines de classe G

**LCR** : Liquide Céphalo Rachidien .

**MDO** : Maladie à Déclaration Obligatoire.

**MRLC** : Maladie Réputée Légalement Contagieuse .

**OIE** : Organisation mondiale de la santé animale .

**OSAV** : Office fédéral de la Sécurité Alimentaire et des Affaires Vétérinaire

**Pr E** : PROTEINE E : protéine d'enveloppe virale .

**Protéine Ns** : protéine non structurale :

**Ns 2A** : protéine non structurale 2A du virus West Nile.

**Ns 2B** : protéine non structurale 2B du virus West Nile.

**Ns 4B** : protéine non structurale 4B du virus West Nile .

**Ns 1** : protéine non structurale Ns 1 du virus West Nile.

**Ns 3** : protéine non structurale Ns 3 du virus West Nile .

**Ns 5** : protéine non structurale Ns 5 du virus West Nile.

**RT-PCR** : Reverse Transcriptase Polymerase Chain Reaction.

**TMB** : Solution de révélation .

**VNO** : Virus du Nil Occidental

**VWN** : Virus West Nile.

**WN** : West Nile .

**WNF** : West Nile Fever.

# Sommaire

**Introduction** .....01

**Problématique et objectifs** .....01

## Première partie : partie bibliographique

### **I. Généralités :**

I.1.définition .....02

I.2. réglementation .....02

I. 3 historique :.....02

I 3-a dans le monde .....02

I 3-b en Algérie.....04

### **II. Epidémiologie :**

II .1 Agent pathogène.....05

II.2.le vecteur .....06

II. 3 le réservoir .....07

II.4 le cycle .....08

II.5. La pathogénie.....11

### **III. La symptomatologie :**

III.1. chez l'homme.....11

III.2. chez le cheval.....11.

III.3. chez les oiseaux.....12

**IV. la réponse immunitaire**.....13

### **V. le diagnostic :**

V.1. diagnostic épidémiologique.....13

V.2. diagnostic différentiel .....14

V 3 diagnostic de laboratoire.....	14
<b>VI. le traitement.....</b>	<b>15</b>
<b>VII. Mesures prophylactiques :</b>	
VII 1 mesures sanitaires .....	15
VII 2 mesures médicales .....	16

## Deuxième partie : partie expérimentale

### **I. Matériels et méthode :**

I -1Région et durée d'étude.....	18
I -2 Climat de la région.....	18
I -3Matériel biologique.....	18
I -4Technique de capture des oiseaux migratoires.....	21
I- 5Technique de prélèvement du matériel biologique.....	21
I -6 ELISA.....	24
I -7Analyse statistique.....	30

### **II Résultats et discussion :**

II.1 La séroprévalence globale des chevaux .....	30
II.2 Les facteurs de risque chez les chevaux .....	32
II.2.1 Selon l'âge .....	32
II.2.2 Selon le sexe .....	33
II.2.3 Selon la race .....	34
II.2.4 Selon l'activité .....	35
II.2.5 Selon l'habitat.....	35
II.3 La séroprévalence chez les oiseaux.....	37

II.3.1 La séroprévalence globale .....	37
II.3.2 Par espèce d'oiseaux migrateurs .....	37
II.4 Facteurs de risque chez les oiseaux migrateurs.....	39
<b>III. Discussion.....</b>	<b>42</b>
<b>IV. Conclusion .....</b>	<b>45</b>
<b>V.Recommandations.....</b>	<b>46</b>

## INTRODUCTION

La Fièvre du Nil de l'Ouest ou occidental (FNO) maladie ancienne 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*. Ce virus a été décrit pour la première fois en 1933 isolé par la suite en 1937 à Omogo en Ouganda à l'ouest du Nil Albert chez une femme souffrant d'une forte fièvre.

Cependant, les premières éclosions ont été rapportées dans les années cinquante en Israël. Durant cette même période, le cycle de transmission a été décrit où des arthropodes hématophages moustiques principalement du genre *Culex* en étaient responsables. Ces derniers s'infectent en piquant des oiseaux réservoirs et/ou amplificateurs et infectant 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.

D'après des sources historiques, le virus pourrait avoir existé depuis l'antiquité et l'on rapporte que la mort d'Alexandre le Grand serait consécutive d'une encéphalite au virus West Nile. Elle est survenue au même moment où des signes comportementaux inhabituels étaient observés chez des corbeaux et la mort de certaines espèces d'oiseaux.

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.

En Algérie, on ne dispose pas de données de prévalences sur l'infection équine et avifaune au virus West Nile alors que, selon la réglementation cette maladie est considérée comme une maladie à déclaration obligatoire et aussi celle d'une surveillance épidémiologique car cette infection est en train de regagner en activité dans le monde où elle suscite un grand intérêt.

A ce titre, l'objectif de notre étude est, l'objectif de notre étude est d'actualiser le statut sanitaire actuel de l'infection chez le cheval et de mettre en évidence la circulation virale chez certains oiseaux migrateurs au niveau du grand lac de Menia.

# **PARTIE BIBLIOGRAPHIQUE**

## I. Généralités

### I.1. Définition

La fièvre du Nil de l'Ouest est une zoonose vectorielle due à un *Flavivirus* transmis par pique 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.

### I.2. Réglementation

La Fièvre du Nil Occidental 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 ou 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.

### I.3. Historique

#### I.3.a. Dans le monde

La première épidémie due au VNO a été rapportée en Israël en 1951-1952 (Bernkopf et al., 1953) ou les premières manifestations neurologiques graves et des cas mortels ont été reportés en 1957 et 1962 (Hayes, 1989)

#### - États-Unis :

Les plus importantes épidémies sont survenues en 2002- 2003. Sept contaminations dues à un don de sang virémique ont été rapportées depuis 2003.

Une expansion géographique progressive du virus est observée d'est en ouest durant ces sept dernières années.

#### - Canada :

La présence du virus a été identifiée chez des oiseaux en 2001. Les premiers cas humains sont survenus en 2002 en Ontario.

## Première partie : partie bibliographique.

---

Le nombre de cas humains le plus important au Canada a été observé en 2003 (1 494 cas). Depuis le nombre de cas est en nette diminution, la plupart des cas restent localisés dans le sud du pays. En 2006 : 110 cas humains ont été notifiés

### - *Mexique :*

Le virus a été identifié en 2002 (oiseaux et chevaux). En 2003, une étude sérologique menée dans 25 états a permis d'identifier les six premiers cas humains. En 2004, un cas humain symptomatique dans l'état de Sonora, proche de la frontière nord. Depuis 2005, pas de cas humains rapporté à ce jour.

### - *Les pays de l'ex union soviétique :*

Depuis les années 70, le West Nile a été observé en Azerbaïdjan, Biélorussie, Ukraine, et dans les Républiques d'Asie Centrale. La région de Volga et son delta semblent être l'une des zones les plus à risque (Plus de 56 espèces d'oiseaux sont impliqués dans la circulation virale). La plus importante épidémie date de 1999 avec 826 cas suspects dont 40 décès dans les régions de Volgograd, Astrakan et Krasnodar. Depuis le virus est endémique dans cette région.

En 2002 : 33 cas humains dans la région d'Astrakhan et en 2004 : premier cas humains ont été rapportés à l'ouest de la Sibérie, cependant le virus avait déjà été détecté chez les oiseaux en 2002. En 2005 : recrudescence de cas dans la région d'Astrakan (73 cas) et Rostov (15 cas).

Depuis le début de l'année 2009, six cas ont été notifiés dans la région de Rostov.

### - *L'Europe et le bassin méditerranéen :*

*Cas humains :* Les premières épidémies datent des années 50 en Israël et dans la région du delta du Nil en Egypte. Plusieurs pays européens ont signalé des cas humains : France (1962-65 et 2003), Hongrie (1970 et 2004), Roumanie (1996 et 2005) et Tchéquie (1997). Dans le Maghreb et le Moyen Orient, des épidémies ont été rapportées en : Algérie (1994), Maroc (1996), Tunisie (1997 et 2003). La circulation du WN semble être plus active ces dernières années en Israël avec des cas humains rapportés en : 2003 (40 cas, 4 décès), 2004 (10 cas, 1 décès) et 2005 (1 cas).

## Première partie : partie bibliographique.

---

*Epizootie (chevaux)* : Des cas chez les chevaux ont été identifiés en : Italie en Toscane (1998), Maroc (2003) et en France (2000, 2003, 2004 et 2006).

### - *L'Afrique* :

La 1<sup>ère</sup> grande épidémie de West Nile a eu lieu en 1974 en Afrique du Sud avec des cas notifiés dans la région de Karoo.

En dehors de l'épisode au Soudan en 2002 (31 cas humain dont 4 décès), il n'y a pas eu d'importante épidémie documentée récemment. Néanmoins, la circulation virale a été documentée et semble active dans plusieurs pays : Afrique de l'est (Djibouti, Ethiopie, Kenya, Ouganda et Soudan), Afrique centrale et de l'Ouest ( République Centre Africaine, Congo, Côte d'Ivoire, Cameroun et Sénégal) . Océan Indien (Madagascar) . En 1990, une étude sérologique a montré que 30% de la population présentait une sérologie positive

### **I.3.b.En Algérie :**

Le virus a été isolé pour la 1<sup>ère</sup> fois en Algérie en 1968 par l'institut pasteur d'Alger, à partir d'un broyat de vecteurs constitué d'un pool de 215 moustiques du genre *Culex* prélevé dans la région de Djanet, localité située à l'extrême sud-est de l'Algérie, dans le cadre d'une enquête sur l'épidémie de peste équine survenue en Algérie en 1965 .

Le virus de la fièvre du Nil occidental a été identifié par l'institut Pasteur de DAKAR durant la même année (Travaux Estéban Pilo- Moron, Jean Vincent et Yannick le Corrolier- Archives Institut Pasteur Alger). Depuis, toutes les tentatives d'isolement du virus n'ont pas abouti, que ce soit à partir des êtres humains ou à partir des animaux. En l'an 1975, un nombre indéterminé de vecteurs (genre *Culex*), 188 oiseaux et 19 rongeurs ont servi à une tentative d'isolement du virus mais en vain. 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 épidémiolo-surveillance de façon structurée concernant la FNO.

Dans les années 1973, 1975 et 1976, dans plusieurs régions du Sud et intermédiaires entre le Sud et le Nord, les enquêtes sérologiques menées chez les humains ont bien

## Première partie : partie bibliographique.

---

mis en évidence la circulation du virus de la fièvre du Nil occidental sans pour autant qu' il y ait des manifestations cliniques décrites.

En 1994, dans le Sud-ouest algérien (Timimoun, wilaya de Adrar), il a été décrit des symptômes pouvant être rattachés à un tableau clinique de la fièvre du Nil occidental (West Nile) sur une cinquantaine de personnes. Les malades ont présenté une forte fièvre associée à des symptômes neurologiques, quelques fois avec un état comateux . Vingt patients ont présenté des atteintes céphaliques, parmi ces personnes huit sont décédées. Toutefois , le virus n'a pas pu être isolé. La sérologie pratiquée sur (18) personnes a donné un résultat positif de 83,3%.

### II. Epidémiologie

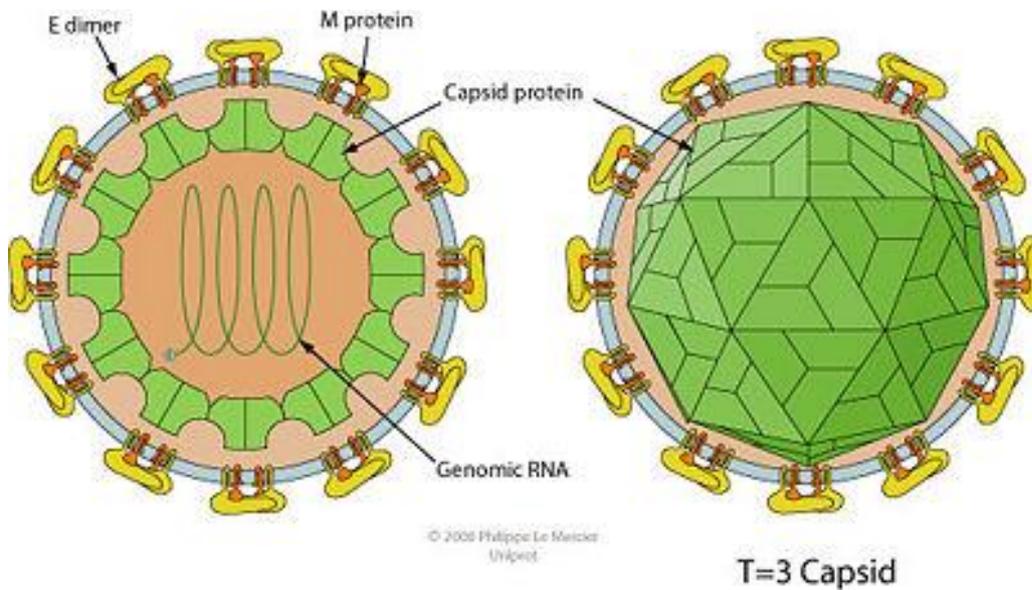
#### II.1. Agent pathogène

C'est un arbovirus apparentant à la famille des *flaviviridae*, genre *Flavivirus* à ARN positif simple brin , enveloppé ; ce qui lui confère comme à plusieurs virus à ARN une grande variabilité génétique et une capacité à s'adapter à son écosystème .Il est transmis par les moustiques, principalement ceux du genre *Culex*. A noter que le virus a également été occasionnellement isolé d'autres arthropodes, comme les tiques.

Identifiée pour la première fois chez une femme souffrant de fortes fièvres en Ouganda en 1937, à proximité du bord du Nil, d'où son nom.

Le génome est constitué :

- D'une seule molécule d'ARN
- Trois (3) protéines structurales (protéine C de la capsid, protéine de pré-membrane pm et protéine E d'enveloppe virale)
- Sept (7) protéines non structurales : (NS1, NS2A, NS2B,NS3,NS4B,NS5) intervenant dans la réplication virale et jouent un rôle important dans la transcription virale, la traduction, la maturation et l'évasion immunitaire .



**Figure 1 :** Structure du génome (ZIKA virus strain MR 766 ).

### II.2. Le vecteur

Les espèces vectrices dites compétentes sont celles véritablement impliquées dans le cycle de transmission au virus . Celles-ci doivent entrer en contact avec le virus , l'amplifier afin de le transmettre aux hôtes par pique.

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 hibernants . Le virus a aussi 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.

#### ➤ Les moustiques

Dès 1943 , une transmission expérimentale du VNO par des moustiques a été réalisée et leur rôle comme principaux vecteurs est accepté depuis les années 1950. Actuellement plus de 70 espèces de moustiques ont été trouvées naturellement infectées par le VWN mais elles ne sont pas toutes impliquées dans sa transmission . Toute espèce infectée donc positive au VNO n'est pas forcément vectrice.

Les espèces qui sont impliquées dans la transmission du VNO sont majoritairement ornithophile 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 .

- *Aspect taxonomique des moustiques*

Règne : animal

Sous règne : métazoaire

Embranchement : arthropodes

Sous embranchement : hexapodes

Classe : insectes

Ordre : diptera

Famille : culicidae

### **II.3. Le réservoir**

Le WNV a été isolé à partir de 198 espèces d'oiseaux impliquées dans la propagation du virus avec des rôles et sensibilités variés. Les oiseaux sont les principaux réservoirs et amplificateurs du virus et développent de forts titres viraux après inoculation du virus. Les moustiques s'infectent lorsqu'ils piquent un oiseau infecté et ingèrent ainsi le virus par le sang. Il faut savoir que les oiseaux sauvages sont des amplificateurs du virus West Nile (Zeller, Murgue, 2011).

L'infection peut engendrer une évolution mortelle chez un certain nombre d'individus. Cette sensibilité des oiseaux à la maladie fait des animaux sentinelles pour surveiller l'évolution de l'épizootie. Des titres élevés du virus dans le sang de ces oiseaux atteignent des valeurs suffisantes pour permettre l'infection de moustiques pendant leur repas sanguin. Cependant, la virémie est de courte durée.

Les oiseaux migrateurs (passériformes - *Antichromus minutus*, *Tchagra australis*, *Coracopsis vasa*,...-, ardéiformes - aigrette -, pigeons, canards,...) jouent un rôle essentiel dans la dissémination de ce virus d'un pays à un autre ou d'un hémisphère à l'autre.

Hôtes accidentels et révélateurs :

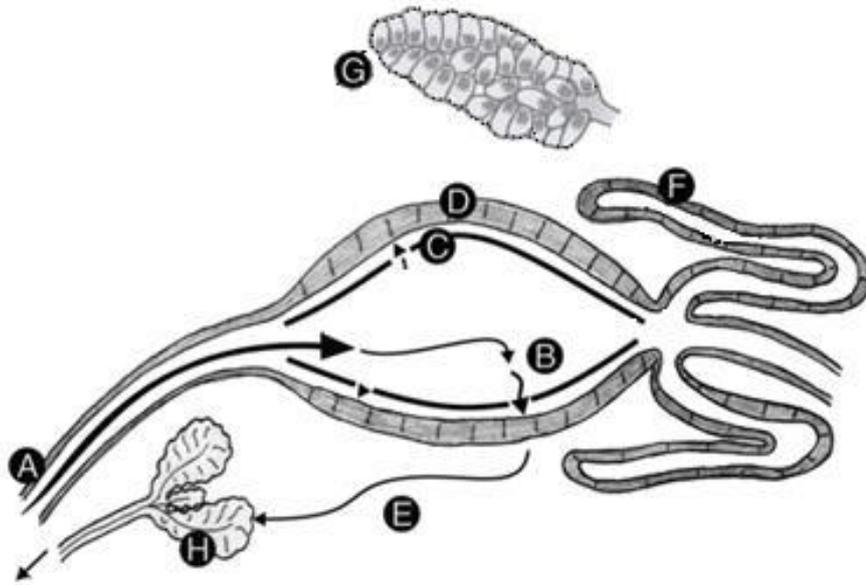
Il semble que la plupart des mammifères ne constitue qu'un cul-de-sac épidémiologique, à l'exception – d'après certains auteurs mais ceci mérite des études approfondies - des équidés et des primates, qui dans certaines circonstances pourraient jouer le rôle de réservoir du virus. Cependant, la virémie chez le cheval est probablement trop faible pour permettre l'infection de vecteurs.

### **II.4. Le Cycle**

Le VNO est transmis principalement par la pique de moustiques infectés qui ont eux même acquis le virus après avoir piqué des oiseaux infectés.

Après l'ingestion, par les moustiques femelles, de sang provenant d'oiseaux infectés, le virus se reproduit dans l'intestin et les glandes salivaires, il est ensuite transmis dans le fluide salivaire au cours des piqûres suivantes (Figure 2).

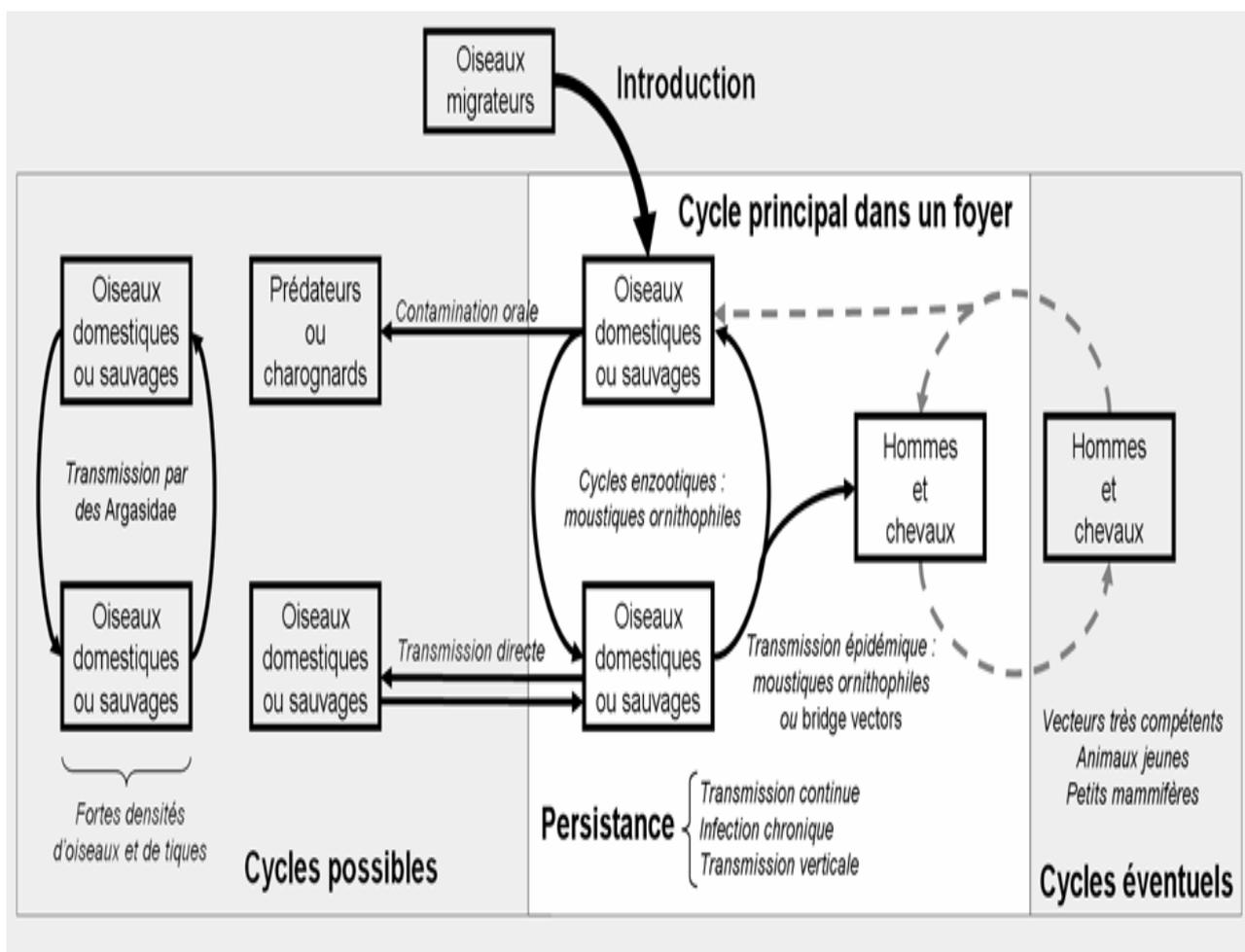
Chez le moustique, juste après la prise d'un repas sanguin qui en contient le virus (Figure 9, site A), ce dernier se retrouve dans la lumière de l'intestin moyen (Figure 3) où les enzymes protéolytiques commencent à être excrétées et la formation de la matrice péritrophique qui est une membrane chitineuse. Celle-ci entoure le bol alimentaire et protège l'épithélium intestinal des ascs digestives. Le virus doit pénétrer l'épithélium intestinal 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.



**Figure 2** : 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).

Les humains et les chevaux infectés tous deux hôtes accidentels, développent une virémie faible et de courte durée qui n'est pas suffisante pour infecter les moustiques après pique. En conséquence, ces hôtes ne sont pas en mesure de transmettre le virus aux moustiques et sont donc considérés comme les derniers hôtes (culs-de-sac épidémiologique) ne contribuant pas au cycle de transmission.

D'autres voies de transmission ont également été décrites mais sont très rares. Celles-ci comprennent la transfusion sanguine, la transmission verticale (de la mère à l'enfant pendant la grossesse), le lait maternel, la greffe d'organe, le contact de la conjonctive avec des sécrétions corporelles contaminées d'oiseaux infectés et des accidents de laboratoire avec des objets piquants ou tranchants.



**Figure 2 :** Cycle de transmission du virus West Nile.

Jusqu'à présent, on n'a signalé aucune transmission interhumaine du VNO par des contacts de la vie courante (directe ou indirecte, ni de transmission à des travailleurs de la santé ) lorsque les mesures de base de la lutte contre l'infection en milieu médical sont appliquées.

➤ **Incubation**

La période d'incubation du VNO se situe entre 2 et 6 jours, mais peut durer 14 jours, voire atteindre 21 jours chez les patients ayant subi une greffe d'organe d'un patient infecté .

➤ **Période de contagiosité**

Etant donné que la transmission interhumaine n'a jamais été décrite, il n'y a donc pas de période de contagiosité . Cependant, le risque de transmission lors de transfusion

## **Première partie : partie bibliographique.**

---

sanguine ou de don d'organe existe, bien que celui –ci soit faible et limité à une période de 6 jours post pique du moustique.

### **II.5.Pathogénie :**

Des analyses histo-pathologiques d'encéphales de chevaux malades ont montré une dégénérescence des cellules infectées du SNC (système nerveux central) et une nécrose du SNC avec une inflammation diffuse. Chez les chevaux, et contrairement aux oiseaux, le WNV a un tropisme exclusif pour le SNC; aucun antigène n'est détecté dans le système nerveux périphérique, ni dans les autres tissus. Les antigènes viraux sont présents en faible quantité dans le tissu cérébral alors que les lésions inflammatoires sont importantes. Un faible nombre de virions peut être suffisant pour stimuler une réponse immune très importante, ce qui correspond à un mécanisme immunopathologique. Enfin, les mécanismes de pénétration du virus dans le SNC et la pathophysiologie de l'encéphalite restent peu connus. Il est probable qu'une répllication virale se produise au niveau de la peau et des nœuds lymphatiques régionaux, suite à la piqûre infectante. Durant la phase virémique, on suppose que le virus envahit le neuroépithélium olfactif, puis il infecterait les neurones olfactifs par un transport axonal rétrograde. Une fois dans le SNC, il peut se disséminer rapidement dans tout le neuropil et se réplique dans des zones particulières du SNC. D

### **III. Symptomatologie :**

#### **III.1. Chez l'homme :**

La fièvre de West Nile chez l'homme se caractérise par un tableau clinique d'allure grippale. La période d'incubation varie de 3 à 6 jours avec une fièvre modérée à sévère, accompagnée de différents signes cliniques plus ou moins constants : maux de tête, myalgies, arthralgies, fatigue, conjonctivite, éruptions cutanées dans la moitié des cas, lymphadénopathies, nausées, douleurs abdominales. Des méningites aiguës ou des encéphalites avec un taux de mortalité de 5 à 20%

#### **III.2. Chez le cheval :**

Le WNV est un danger sanitaire de catégorie 1 chez le cheval dont les principaux signes cliniques d'atteinte neurologique due au virus de la fièvre de West Nile sont les suivants : perte d'appétit, dépression, ataxie, contractions musculaires, paralysie partielle, cécité apparente, mouvements d'appui de la tête, grincements de dents, désorientation, convulsions, une démarche en cercle et difficulté à avaler.

## Première partie : partie bibliographique.

---

L'affaiblissement, généralement localisé dans les membres postérieurs, est parfois suivi de paralysie. Dans certains cas, la maladie peut évoluer vers un coma et la mort. La présence de fièvre n'est pas systématique.



**Figure 3** : 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)

### III.3. Chez les oiseaux

En général, l'infection des oiseaux par le virus West Nile est asymptomatique. Cependant, des manifestations cliniques (notamment neurologiques) ont été observées lors d'infections naturelles chez des pigeons en Egypte, des corvidés aux USA en 1999 ou lors d'infections expérimentales (encéphalites chez des pigeons, des canards, des mouettes...).

### IV- La réponse immunitaire

#### ➤ Chez les chevaux

Les chevaux infectés naturellement développent une forte réponse en anticorps neutralisants .Ces derniers reconnaissent des épitopes localisés préférentiellement au niveau de la glycoprotéine E.

La réponse en AC neutralisants semble variable et polyclonale avec des épitopes présents aussi bien sur le domaine D3 de la protéine E que sur d'autres protéines. Ces AC inhibent l'attachement viral, l'internalisation du virus et la réplication virale.

#### ➤ Chez l'homme

La réponse immunitaire adaptative est indispensable au contrôle de l'infection .le transfert passif d'anticorps s'est révélé être une approche thérapeutique efficace chez certains patients atteints de troubles neurologiques graves.

Par ailleurs, les souris qui ne possèdent pas de lymphocytes B succombent rapidement après inoculation du WNV, ce qui prouve que les lymphocytes B jouent un rôle important dans le contrôle de l'infection et dissémination du virus dans le système nerveux central .Les souris déficientes en IgM sécrétées présentent également une réplication virale accrue cela montre l'importance des IgM sécrétées pour le contrôle précoce de la réplication virale.

De même, tous facteurs empêchant la mise en place de la réponse anticorps comme un défaut de présentation de l'antigène augmente les risques de développer les symptômes plus graves après infection par le WNV.

### IV. Le diagnostic

#### V.1. Diagnostic épidémiologique

Un animal est considéré comme suspect quand celui-ci a séjourné pendant trois semaines précédant l'apparition des symptômes dans une zone ou foyer à risque.

### V.2. Diagnostic différentiel

#### ➤ **Chez le cheval**

- Toutes les encéphalites virales , l'encéphalite équine de l'Est (EEE).
- La forme neurologique de la rhino-pneumonie
- Le virus Borna, la rage, l'encéphalite à tique
- L'encéphalite japonaise (EJ)

#### ➤ **Chez l'homme**

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

#### ➤ **Chez les oiseaux**

La maladie de Newcastle

### V.3. Le diagnostic de laboratoire

La confirmation biologique fait appel à des prélèvements de sérum ou de liquide céphalo-rachidien clair non purulent afin de mettre en évidence la présence du virus ou surtout la présence d'anticorps dirigés contre le virus

Plusieurs techniques de diagnostic sont possibles :

- Séroneutralisation ;
- Identification d'anticorps IgM anti-VWN dans le sérum ou dans le LCR par ELISA (si positif à confirmer par une des techniques suivantes) ;
- Isolement du VWN (par culture) dans le sang ou le LCR ;
- Détection de séquences virales VWN (par RT-PCR puis séquençage), dans le LCR ou le sérum.

Séroconversion ou multiplication par 4 du titre des anticorps IgG anti – VWN détectés par ELISA dans le sérum sur deux prélèvements consécutifs confirmés par test de neutralisation.

### V. Le traitement

#### ➤ Chez le cheval

A 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 stéroïdien
- La Détonidine
- Les corticoïdes : association au antibiotiques .

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

#### ➤ Chez l'homme

A ce jour, il n'existe pas de traitement anti viral spécifique contre VNO pour l'homme. La prise en charge des patients est donc centrée sur la surveillance et un traitement symptomatique de la forme clinique modérée.

### V. Mesures prophylactiques

#### VII.1. Mesures sanitaires

##### ➤ Chez le cheval

- *Mesures individuelles de police sanitaire*

La transmission par les moustiques à partir d'oiseaux sauvages infectés rend la lutte contre cette maladie délicate. Ce ne sont pas les chevaux malades, qui sont source de virus, mais les réservoirs. Pour limiter au maximum le contact avec les vecteurs et l'apparition d'un cas clinique :

- Garder les chevaux à l'écurie le soir, en éteignant les lumières, le moment où le moustique est plus actif.
- Rentrer autant que possible les chevaux systématiquement à l'aube et au crépuscule, périodes de forte activité des moustiques.
- Changer l'eau des abreuvoirs de façon quotidienne.
- Utiliser des répulsifs sur les chevaux et autour de leur environnement.

## Première partie : partie bibliographique.

---

- Poser des moustiquaires aux portes des box.
- Couvrir les poubelles ou tout autre conteneur de déchets.
- Mettre en quarantaine des équidés en provenance de zones infectées.
  
- **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 mort d'encéphalite virale pour chaque espèce
  - Le traitement par insecticide autorisé des équidés présents et de locaux d'hébergement.
  - Désinsectisation sur les équidés, suivi de tout l'effectif pendant la période à risque avec prise de température journalière pour un dépistage précoce des animaux hyperthermiques.
  - Désinsectisation des locaux, mise en place de pièges à moustiques dans les boxes et de moustiquaires (filets) au-dessus des boxes.
  - Désinsectisation des moyens de transport.
  - Limitation des eaux stagnantes (bâches, ornières, zones de piétinement, ...) ⇒ assèchement, interdiction d'accès.
  
- **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

### VII.1. Mesures médicales

#### ➤ Chez le cheval

La vaccination est possible et assure une bonne protection contre la maladie sur la majorité des chevaux. Protocole de vaccination : la primo vaccination, chez les

## Première partie : partie bibliographique.

---

chevaux âgés de 6 mois et plus, nécessite deux injections espacées de 3 à 5 semaines, puis rappels annuels.

### ➤ **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 ; seul un traitement symptomatique est préconisé pour atténuer les signes cliniques.

# **PARTIE ÉXPÉRIMENTALE**

### I. Matériels et méthodes

#### I.1. Région et durée d'étude

Notre expérimentation a été réalisée dans la wilaya de Ghardaïa, au niveau du lac de El Menia. El Menia ou El Ménéa (anciennement El-Goléa) est une commune de la wilaya de Ghardaïa en Algérie située à 267 km au sud-ouest de Ghardaïa.

#### I.2. Le climat de la région :

La wilaya de Ghardaïa possède un climat subtropical humide chaud sans saison sèche . Au mois de Juillet , la température moyenne est de 33.9° . Juillet est de ce fait le mois le plus chaud de l'année .Au mois de Janvier , la température moyenne est de 9.9°C .Janvier est de ce fait le mois le plus froid de l'année.

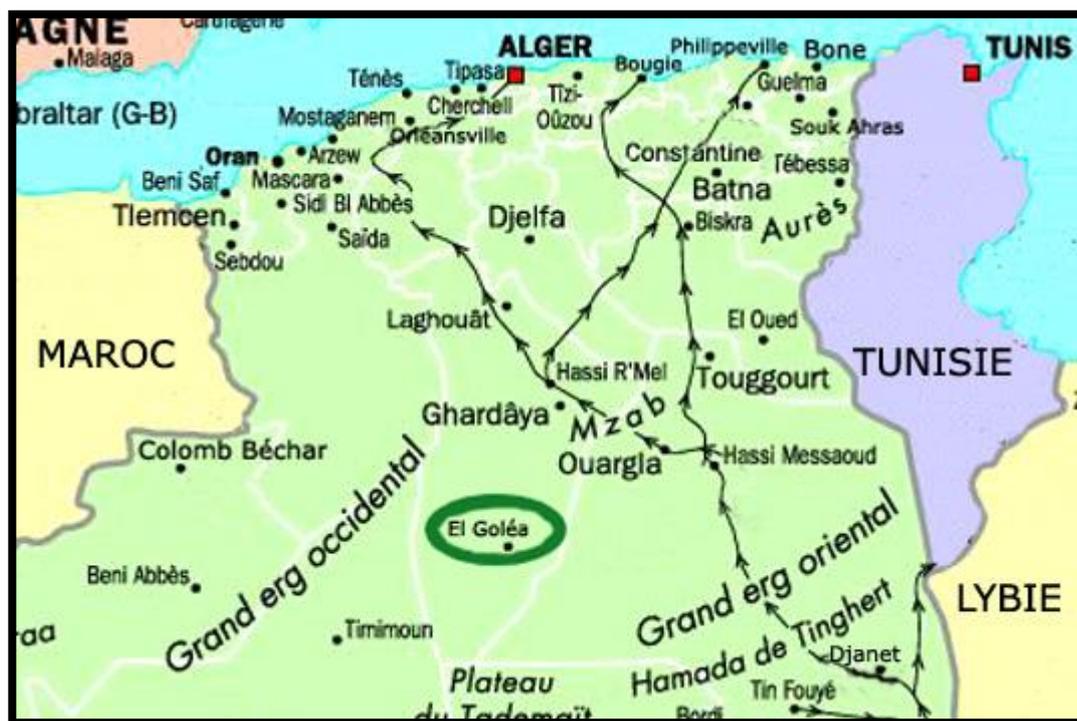


Figure 5 : Carte géographique montrant la région d'étude.

#### I.3. Matériel biologique

##### \* Chevaux

Notre étude a été réalisée durant une période de six (6) mois, de Septembre 2018 à Mars 2019. 100 échantillons de sang de chevaux ont été prélevés au niveau de la région d'étude.

## Deuxième partie : partie expérimentale.

L'échantillon comprenait 68 mâles et 32 femelles. Les animaux sont repartis en trois classes d'âges (Tableau 1). L'âge des équidés a été déterminé à partir de leur dentition (cf annexe II). Les équidés étudiés appartiennent aux principales races retrouvées le plus souvent dans la région, à savoir : Le Barbe et l'arabe-Barbe (Tableau 1)

**Tableau 1** : Nombre des animaux prélevés en fonction de l'âge, du genre et de la race

Désignation		Nombre
Age	<5	61
	[6,11]	23
	>11	16
Genre	Femelle	32
	Mâle	68
Race	Barbe	78
	Arabe-Barbe	22
Total	100	

Les chevaux appartiennent à des propriétaires privés et vivent dans des étables ou des boxes. Ils sont destinés à différentes activités : course, loisir et transport (Tableau 2)

**Tableau 2** : Nombre des animaux prélevés en fonction de l'activité et de l'habitat.

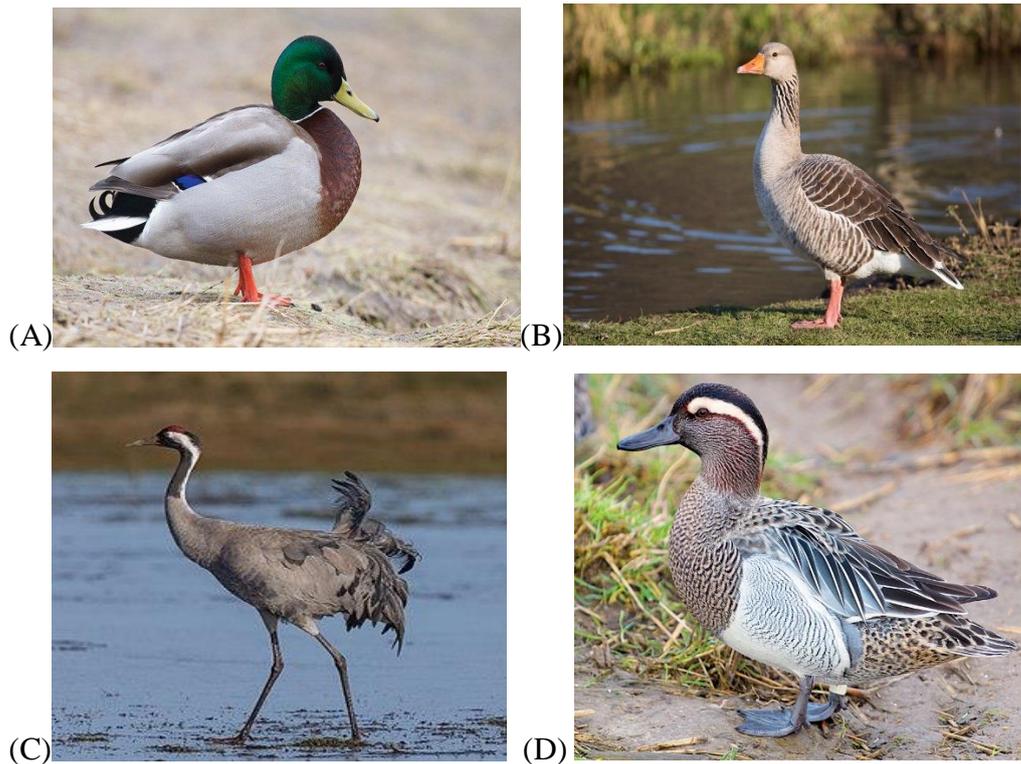
Désignation		Nombre
Activité	Course	10
	Loisir	90
Habitat	Box	12
	Etable	88
Total	100	

### \* Les oiseaux migrateurs

Les oiseaux migrateurs concernés par l'étude sont :

- A. **30** canards colvert (*Anas platyrhynchos*) ;
- B. **33** oies sauvages (*Anser anser*) ;
- C. **15** grues cendrées (*Grus grus*) ;
- D. **10** canards sarcelles (*Anas crecca*).

## Deuxième partie : partie expérimentale.



**Figure 6** : Les oiseaux migrateurs concernés par l'étude.

L'âge et le genre des oiseaux a été défini par les forestiers et les l'équipe de capture des oiseaux comme « juvénile » ou « adulte » en fonction de leur taille et surtout de leur plumage (Tableau 3).

**Tableau 3** : Nombre d'oiseaux prélevés en fonction de l'espèce, de l'âge et du genre

Espèce d'oiseau	Désignation		Nombre
	Age		
Canards colverts	Age	Juvénile	8
		Adulte	22
	Genre	Femelle	13
		Mâle	17
Oies sauvages	Age	Juvénile	12
		Adulte	21
	Genre	Femelle	18
		Mâle	15
Grues cendrées	Age	Juvénile	3
		Adulte	12
	Genre	Femelle	11
		Mâle	4

## Deuxième partie : partie expérimentale.

<b>canards sarcelles</b>	<b>Age</b>	Juvenile	2
		Adulte	8
	<b>Genre</b>	Femelle	1
		Mâle	9
<b>Total</b>	88		

### I.4. Technique de capture des oiseaux migrateurs

La période postnuptiale de mue de deux ou trois semaines où les anatidés, les grues et les oies perdent toutes les plumes du vol présente le moment propice de capture de ces espèces. Pendant cette période où ils sont incapables de voler, les oiseaux peuvent être “rassemblés” en les dirigeant entre les barrières vers les enclos construits près des sites de bagages.

Les caractéristiques spécifiques d’un enclospiège dépendent de la taille de l’espèce à capturer. Les instructions suivantes comprennent une gamme de spécifications pour les enclos et les ailes destinés aux petits oiseaux (grue, canard), et aux grandes espèces (oie).

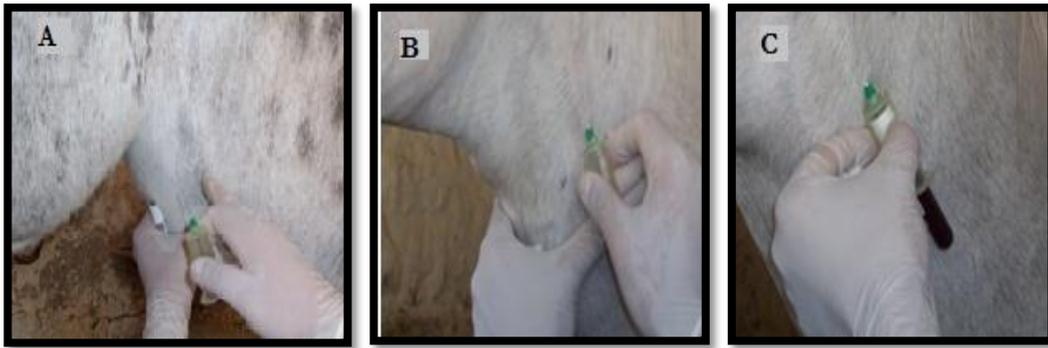
Les filets à canon sont utilisés pour la capture. L’installation d’un filet à canon est en général préparée à l’avance et l’équipe de capture est présent sur le site de capture (dans une cache près du site de capture) dans l’attente de l’arrivée des oiseaux ; parfois, il est besoin d’attirer les oiseaux vers les sites de piégeage avec des appâts ou des leurres. Le site de capture est préparé au moins sept à dix jours avant la tentative de capture.

### I .. Technique de prélèvement du matériel biologique

#### \* Chevaux

Les prélèvements ont été réalisés sur des animaux contentionnés par leurs propriétaires. Une compression manuelle est exercée à la base du cou puis une ponction veineuse à l’aide d’une seringue est effectuée pour recueillir le sang dans des tubes secs (système sous vide vacutainers) (figure 7).

## Deuxième partie : partie expérimentale.

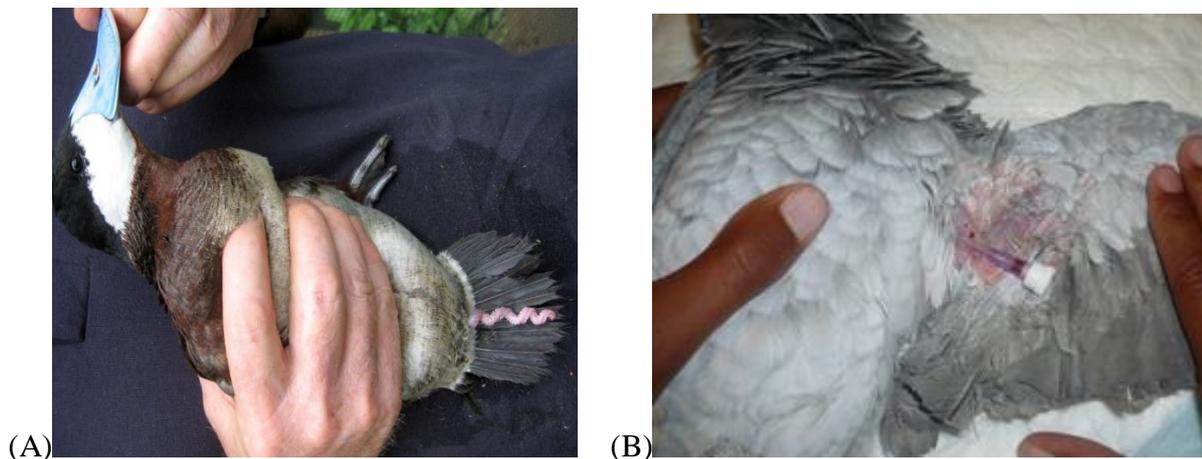


**Figure 7 :** Etapes de réalisation des prélèvements biologiques : (A) La perception tactile de la veine jugulaire. (B) Ponction veineuse à l'aide d'une aiguille 1.2 x 40 mm montée sur un porte-vacutainer. (C) Recueil du sang dans un tube sec stérile de 5 ml.

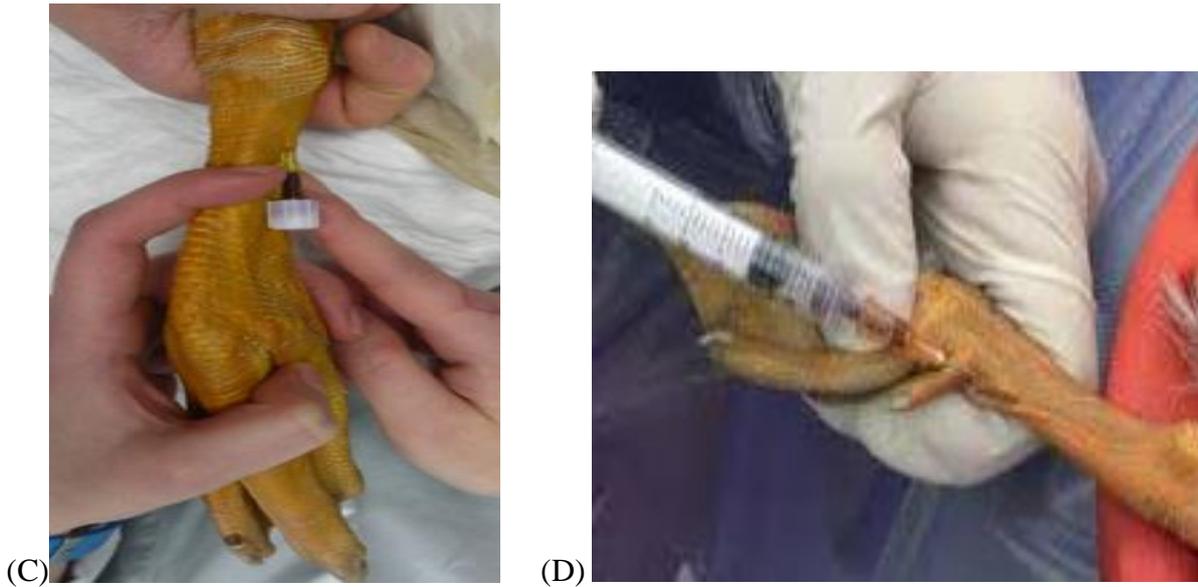
Les tubes ont été ensuite acheminés au laboratoire dans une glacière afin de récupérer les sérums après centrifugation à 3000 T/mn pendant 10 minutes. Les sérums ont été conservés dans des tubes éppendorfs à - 20°C jusqu' au moment de l'analyse sérologique.

### \* Oiseaux

Les prélèvements ont été effectués au niveau de la veine alaire pour les canards (colvert et sarcelle) ou sur la veine métatarsienne médiale chez l'oie et la grue (Figure 8) et réalisés directement sur le site de capture. Les oiseaux ont été choisis au hasard.



## Deuxième partie : partie expérimentale.



**Figure 8 :** Technique de prélèvement des oiseaux migrateurs. (A) Contention de l'oiseau ; (B) prélèvement au niveau de la veine alaire ; (C, D) prélèvement au niveau de la veine métatarsienne médiale.

Une fois les prélèvements sanguins récoltés dans des tubes secs préalablement identifiés (environ 2 ml/sujet afin de pouvoir exécuter les différentes analyses à partir du même sérum), ils ont été directement acheminés au laboratoire où ils ont subi le jour même une centrifugation (5000 tours/mn pendant 10 mn) en vue de récupérer les sérums qui ont été par la suite conservés dans des tubes Eppendorfs identifiés et congelés à  $-20^{\circ}\text{C}$  (Figure 9).



Sang avant centrifugation

Sang après centrifugation

Sérum dans des Eppendorf

**Figure 9 :** Les étapes de décantation du sérum.

### I.6. Test ELISA

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.

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 2).

La technique ELISA va permettre la recherche des Ac de la F.N.O chez les équidés. 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%).

#### ➤ Description du test

Le kit de diagnostic utilisé est un test ELISA indirect compétitif, il permet la détection des anticorps de chevaux et d'oiseaux dirigés contre la protéine d'enveloppe (pr-E) du virus West Nile dans le sérum de chevaux.

Les cupules sont sensibilisées avec un extrait purifié du virus de la West Nile. Les échantillons à tester ainsi que les contrôles, dilués sont distribués dans les cupules. Les anticorps anti-pr-E, s'ils sont présents, forment un complexe antigène-anticorps.

Un conjugué anti-pr-E marqué à la peroxydase (Po) est distribué dans les cupules. Il se fixe à l'anti-pr-E restée libre, formant un complexe antigène-anticorps-Po.

Après élimination du conjugué en excès par lavage, la réaction est révélée par une solution de révélation (TMB). La coloration qui en résulte est liée à la quantité d'anticorps spécifiques présents dans l'échantillon à tester :

- En absence d'anticorps dans l'échantillon, il apparaît une coloration bleue qui devient jaune après blocage.
- En présence d'anticorps dans l'échantillon, il n'apparaît pas de coloration.

## Deuxième partie : partie expérimentale.

La lecture est réalisée à une longueur d'onde de 450 nm.

### ➤ Composants du kit

- ~ 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 ( $H_2SO_4$  0.5M)



**Figure 10 :** Réactifs et plaque du kit ELISA Competition West NILE (ID SCREEN ®)

### ➤ Stockage du kit

Tous les réactifs du kit doivent être stockés à une température comprise entre 2 et 7°C et ne faut surtout pas être congelés. Les réactifs non ouverts restent stables jusqu'à la date d'expiration du kit. Passée cette date, le kit ne doit plus être utilisé.

## Deuxième partie : partie expérimentale.

### ➤ Matériel utilisé au laboratoire

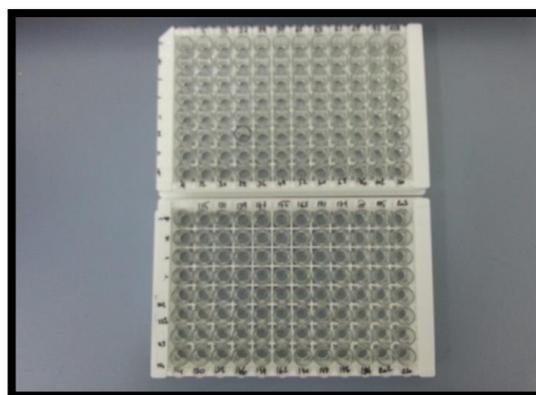
- 1- Micropipette monocanal et multicanaux munies d'un ajusteur de volumes.
- 2- Embouts jetables en plastique pour micropipettes.
- 3- Tubes à essai ou des plaques non revêtues d'antigènes.
- 4- Spectrophotomètre à absorbance avec un filtre à 620, 630 ou 650 nm.
- 5- Eau déminéralisée ou distillée.
- 6- Papier essuie-tout.
- 7- Récipient cylindrique gradué.
- 8- Un minuteur.
- 9- Un flacon de lavage.
- 10- Réservoirs pour pipette multicanaux.
- 11- Un dispositif multicanaux pour le lavage manuel ou un laveur automatique.

### ➤ Mode opératoire

1. Il faut, en premier lieu, amener les sérums, les réactifs et les microplaques à température ambiante ( $23 \pm 2^\circ\text{C}$ ) avant de commencer le test (figure 11).
2. Préparer les échantillons de sera (100) et les conservés entre  $+5^\circ\text{C} \pm 3^\circ\text{C}$ . Les homogénéiser dans un vortex ou par retournement (dissolution des cristaux pour la solution de lavage).
3. Préparer les microplaques en les retirant du sachet et en numérotant le haut de chaque bande afin de maintenir une bonne orientation (figure 12).



**Figure 11** : amener les réactifs et les sérums à  $T^\circ$  ambiante



**Figure 12** : numéroté les microplaques

4. Utiliser des micropipettes dotées d'embouts à usage unique afin de distribuer :
  - \* 50 $\mu\text{l}$  de tampon de dilution 2 dans chaque puits.

## Deuxième partie : partie expérimentale.

- \* 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.
5. Incuber à (21°C ±5 °C) pendant 90min ± 6min.
  6. 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 produise pas un dessèchement des cupules entre les lavages (figure 23).
  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 dessèchement des cupules entre les lavages (figure 13).
  9. Distribuer 100 µl de solution de révélation dans chaque cupule.



**Figure 13** : Lavage avec une solution de lavage (1X)

10. Incuber à (21°C ±5 °C) pendant 15min ± 2min dans l'obscurité.
11. Distribuer 100 µl de conjugué (1X) préparé préalablement dans chaque cupule (figure 14).



(a)

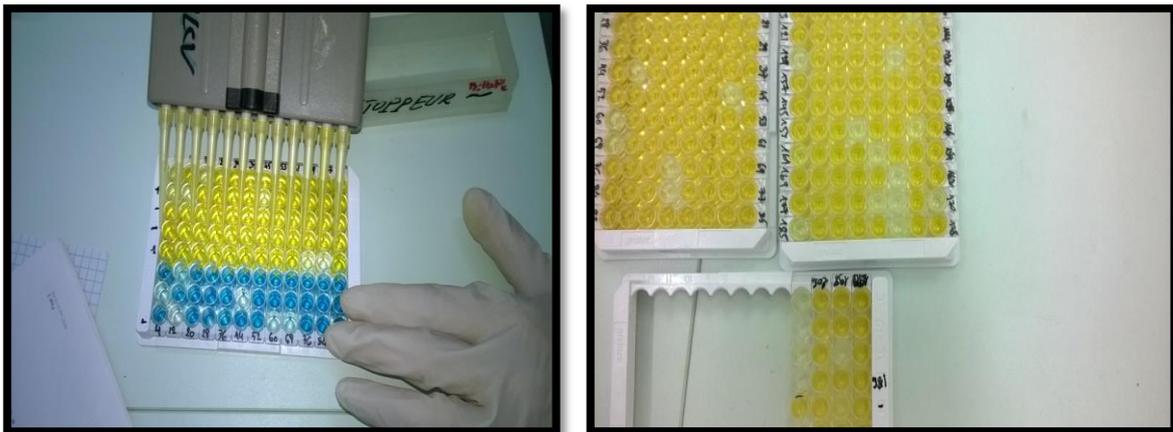
## Deuxième partie : partie expérimentale.



(b)

**Figure 14 a, b :** Distribution du conjugué (1X). 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

12. Distribuer 100  $\mu$ l de solution d'arrêt dans chaque cupule pour arrêter la réaction (figure 15).



**Figure 15 :** Distribution de la solution d'arrêt en cours (modification de couleur du bleu au jaune dans les cupules) ; Plaque avec la solution d'arrêt prête pour la lecture (plaque terminée)

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



**Figure 16** : Lecture au spectrophotomètre /Lecteur ELISA (LBRA, Blida, Mars, 2019)

### ➤ Lecture des résultats

Immédiatement après l'addition de la solution stop, la plaque est lue dans un spectrophotomètre. Définir la lecture de la densité optique (D.O) à des longueurs d'ondes de 450nm. Remettre les solutions à une température de 2-7°C.

### ➤ 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 re-testés.

### ➤ Interprétation

La moyenne doit être calculée des valeurs de DO des 2 contrôles négatifs (DO-CN) et des 2 contrôles 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 %) :

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

## Deuxième partie : partie expérimentale.

Résultat	Statut
$S/N \% \leq 40$	Positif
$40 < S/N \% \leq 50$	Douteux

### I.7. Analyse statistique

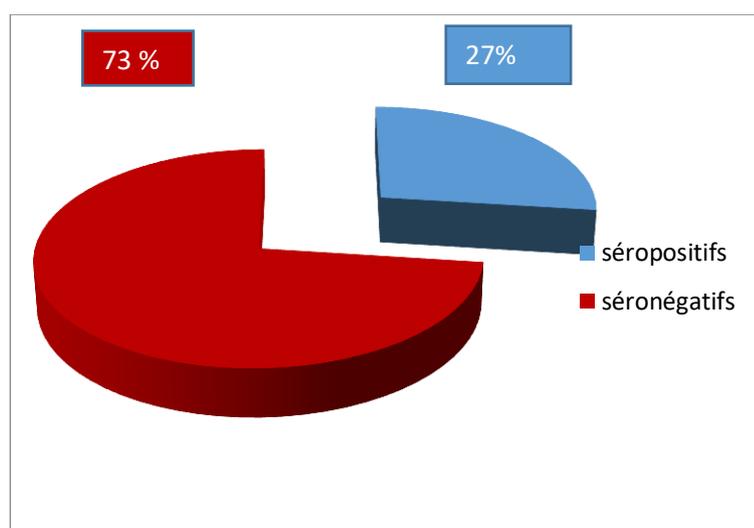
L'analyse statistique consiste en une analyse univariée complétée par une régression logistique ou une analyse multivariée. Le degré de signification des résultats est retenu pour un seuil de  $p < 0.05$ . Cette analyse est réalisée grâce au XLSTAT de 2014.

Le test du khi2 (pour les échantillons  $> 30$ ) et le test de Fisher exact (pour les échantillons  $< 30$ ) ont servi à vérifier si les différences observées entre les résultats positifs et négatifs d'une variable étaient significatives ou non. Une différence significative est définie par une valeur de  $p$  inférieure à 0.05, témoin d'une association potentielle entre les deux paramètres.

## II. RESULTATS ET DISCUSSION

### II.1. La séroprévalence globale des chevaux

Sur une population composée de 100 chevaux, 27 d'entre eux sont séropositifs au test ELISA compétition à la FNO, ce qui représente un taux de prévalence d'environ 27%, ces proportions sont obtenues en application du logiciel Excel et du test du Khi2 démontrant que le test est significatif.



**Figure 17 :** Taux d'infection des chevaux infectés et non infectés

## Deuxième partie : partie expérimentale.

---

La séroprévalence des chevaux est d'un taux de 27% c'est un taux augmenter par rapport aux études faites récemment, ce qui suggère une grande circulation virale, qui pourrait être dû à : Une forte présence du vecteur, à la grande sensibilité de chevaux et au test ELISA utilisé.

### \* **Présence du vecteur**

Le vecteur appartient à la famille des *Culicidae* qui comporte environ 3500 espèce dans le monde, on en a recensé plusieurs au niveau du lac de El Meniaa dans la wilaya de Ghardaïa. Cependant leur identification n'était pas notre objectif.

VNO a été détecté pour la première fois dans la région de Djanet dans une localité située à l'extrême sud-est de l'Algérie, et ce dans le cadre d'une enquête sur l'épidémie de peste équine survenue en 1965. Ce vecteur apprécie les eaux plutôt chaudes et stagnantes ou les mares ou fossés intra forestiers ombrés sont riches en feuilles mortes, ce qui rend le lac de El Meniaa un milieu en parfaite adéquation avec son habitat naturel puisqu'il constitue un confort climatique pour sa reproduction et sa pullulation.

### \* **Sensibilité des chevaux**

Les chevaux sont extrêmement sensibles, surtout pendant la période de poulinage ou beaucoup de femelles se regroupent au niveau du lac El Meniaa, pour ses grands pâturages et son confort climatique. Les femelles en période de gestation sont très sensibles et immunodéprimés ce qui rend l'infection par le virus plus facile.

Les petits infectés pendant la période de gestation acquièrent une forte immunité et développent des anticorps contre ce virus, alors que les femelles resteront infecter à vie.

### \* **Sensibilité du test ELISA**

Il faut savoir quel que soit le kit ELISA utilisé, 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 équine sur les protéines virales, car des réactions croisées peuvent survenir avec les virus du même sérocomplexe de la famille des *Flaviviridae*, genre : *Flavivirus*

Dans ce test ELISA, ce sont les IgG qui sont mis en évidence, car ce sont les Ac qui peuvent persister jusqu'à plusieurs années, 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

## Deuxième partie : partie expérimentale.

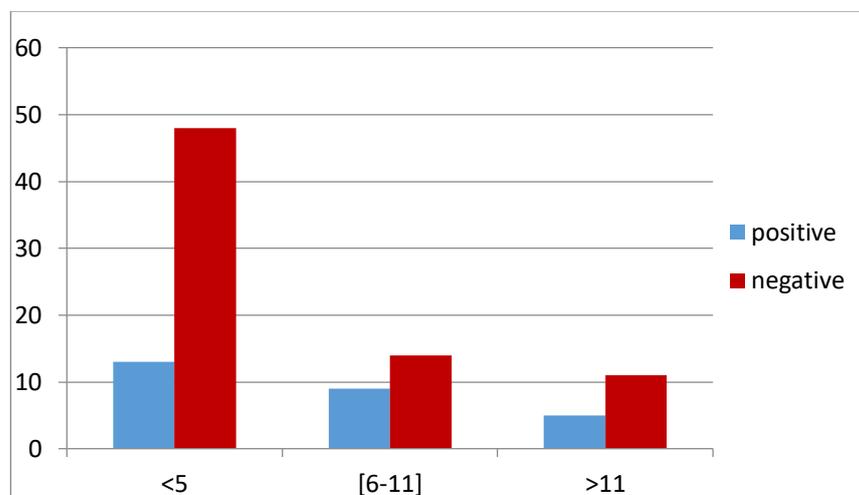
associer la séroneutralisation au test ELISA IgG de compétition même si elle nécessite la manipulation du virus vivant, ce qui exige un niveau de sécurité en laboratoire (niveau de confinement 3), chose qui n'est encore pas disponible en Algérie.

### II.2. Les facteurs de risques chez les chevaux

#### II.2.1. Selon l'âge

Dans cette étude, 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 est inférieur à 5 ans : 13 sujet sont séropositifs soit 21,31% (IC95% : 12,5-33,12)
- Catégorie 2 : chevaux dont l'âge est compris entre 6-11ans : 9 sujet sont séropositifs soit 39,13% (IC95% : 22,16-59,21)
- Catégorie 3 : chevaux dont l'âge dépasse les 11 ans : 5 sujet sont séropositifs soit 31,25% (IC95% : 14,16-55,60)



**Figure 18 :** Taux d'infection des chevaux séropositifs et négatifs selon l'âge

D'après les résultats statistiques 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 ( $p=0,24 > 0,05$ ). Il semblerait que la FNO atteigne le cheval à tout âge

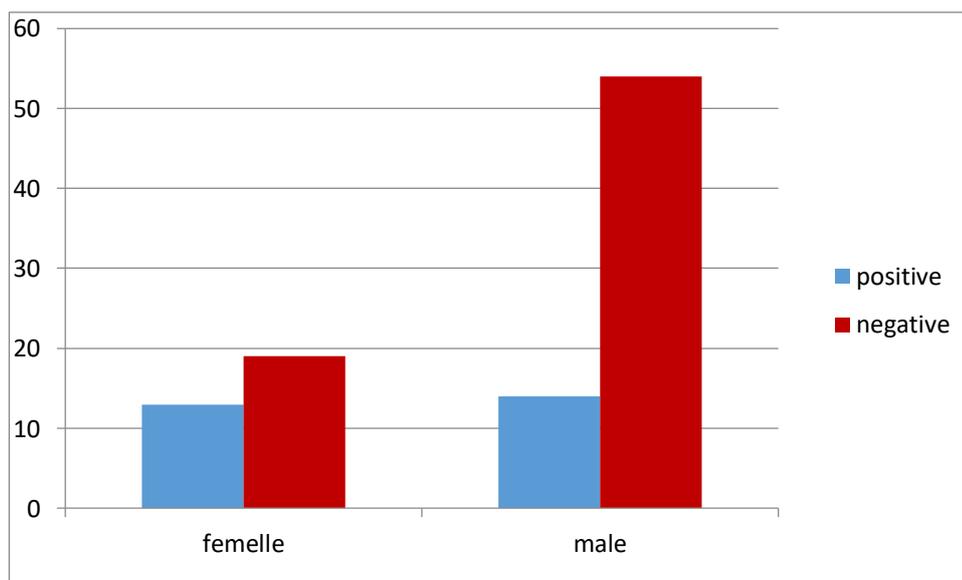
## Deuxième partie : partie expérimentale.

**Tableau n° 04:** taux d'infection du VNO par tranche d'âge

		Nombre	positive	négative	%	IC 95%	Khi2	P
Âge	<5	61	13	48	21,31%	12,5-33,12	2,8652	0,2386
	[6-11]	23	9	14	39,13%	22,16-59,21		
	>11	16	5	11	31,25%	14,16-55,60		

### II.2.2. Selon le sexe

Il faut savoir que la population étudiée est répartie selon le sexe comme suit : 13 femelles sont infectées soit 40,62% (IC95% : 25,52-57,74) contre 14 mâles infectés soit 20,58% (IC95% : 12,68-31,64)



**Figure 19 :** Taux d'infection des chevaux séropositifs et négatifs selon le sexe.

Etant donné la présence de significativité au test du Khi 2 dans cette population étudiée ( $p=0,03$ )

Il semblerait que la FNO est sélectif vis-à-vis des sexes dans cette étude, les femelles sont plus aptes à le contracter surtout pendant la période de gestation que les mâles, dans cette étude le sexe est un facteur prédisposant à une infection par le VNO.

## Deuxième partie : partie expérimentale.

**Tableau n° 05:** taux d'infection du VNO selon le genre

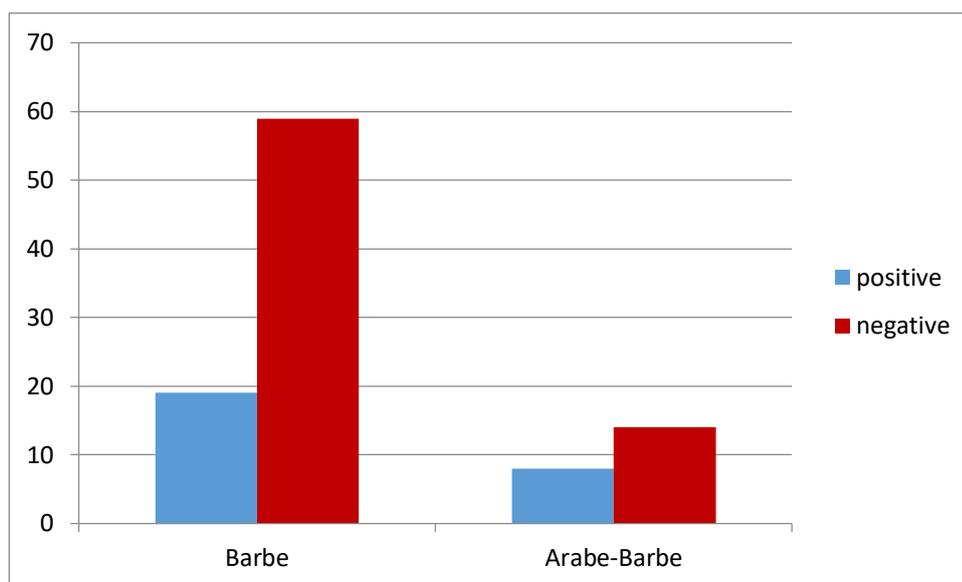
		Nombre	positive	négative	%	IC 95%	Khi2	P
Genre	femelle	32	13	19	40,62%	25,52-57,74	4,4323	0,0352
	male	68	14	54	20,58%	12,68-31,64		

### II.2.3. Selon la race

Dans cette population étudiée les chevaux sont répartis selon deux races : Arabe barbe et le barbe

La répartition se fait comme suit : 19 chevaux de race barbe sont infectés soit 24,35% (IC95% : 16,19-34,34) et 8 chevaux de race arabe barbe sont infectés soit 36,36% (IC95% : 19,73-57,05)

**Figure 20 :** Taux d'infection des chevaux séropositifs et négatifs selon la race



Il semblerait que la race ne constitue pas un facteur prédisposant à une infection par le VNO vu l'absence de significativité du test khi2 dans cette étude ( $p=0,26$ ) le barbe comme l'arabe barbe sont susceptibles de contracter le VNO

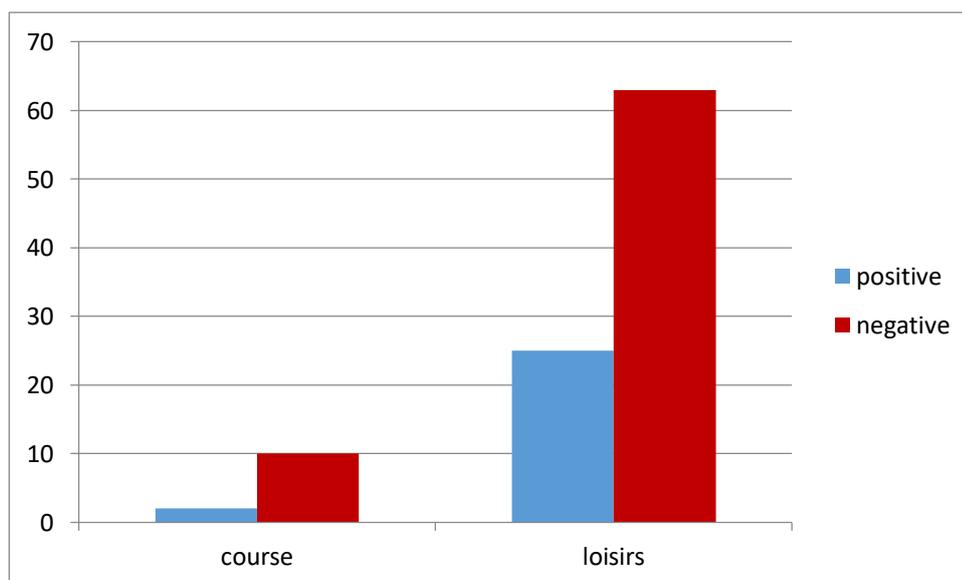
**Tableau n° 06:** taux d'infection du VNO selon la race

		Nombre	positive	négative	%	IC 95%	Khi2	P
Race	Barbe	78	19	59	24,35%	16,19-34,34	1,2547	0,2626
	AR-BR	22	8	14	36,36%	19,73-57,05		

### II.2.4. Selon l'activité

Les chevaux sont répartis selon deux catégories : Chevaux de course et Chevaux de loisirs

Sur un total de 12 chevaux de course, 2 uniquement sont infectés soit un taux de 16,66% (IC95% : 4,7-44,8). Et sur 88 chevaux de loisirs, 25 sont infectés par le VNO, soit 28,40% (IC95% : 20-38,58).



**Figure 21** : Taux d'infection des chevaux séropositifs et négatifs selon l'activité.

Vu l'absence de significativité du test khi2 ( $p=0,39 > 0,05$ ) on conclut que l'activité n'est pas un facteur prédisposant à une infection à la FNO, le cheval de course comme de loisirs peuvent contracter le VNO

**Tableau n° 07**: taux d'infection du VNO selon l'activité

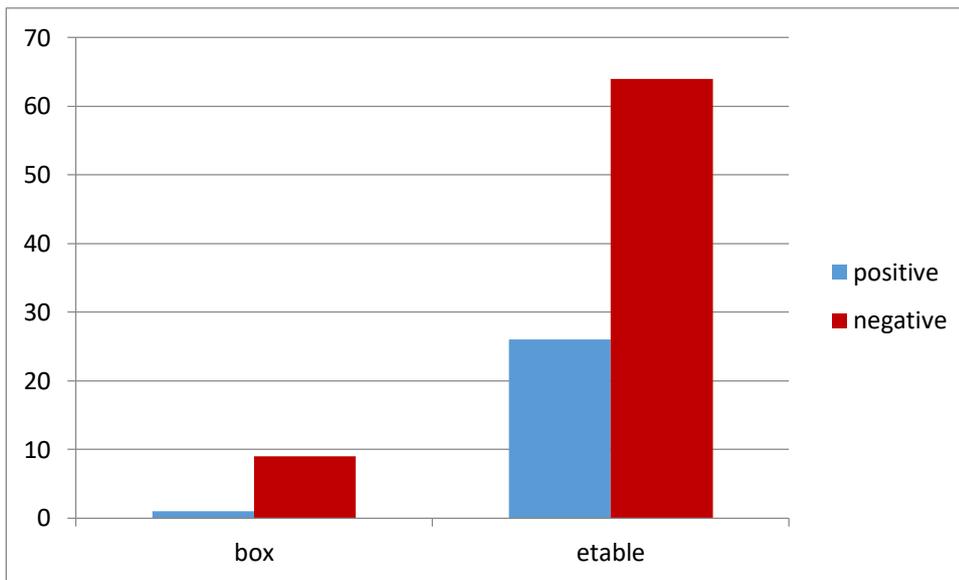
		Nombre	positive	négative	%	IC 95%	Khi2	P
Activité	Course	12	2	10	16,66%	4,7-44,8	0,7387	0,39
	Loisirs	88	25	63	28,40%	20-38,58		

### II.2.5. Selon l'habitat

Les chevaux sont hébergés dans deux catégories d'habitat : Box et étable. Sur les 10 chevaux vivant dans ses boxes, uniquement un seul est infecté soit un taux de 10% (IC95% : 1,7-40,4). Et

## Deuxième partie : partie expérimentale.

sur 90 chevaux vivant dans des étables, 26 sont infectés par le VNO, soit 28,88% (IC95% : 20,54-38,96).



**Figure 22** : Taux d'infection des chevaux séropositifs et négatifs selon l'habitat.

L'absence de significativité du test khi2( $p=0,20 > 0.05$ ) fait que l'habitat des chevaux ne constitue pas un facteur prédisposant à une infection par le VNO

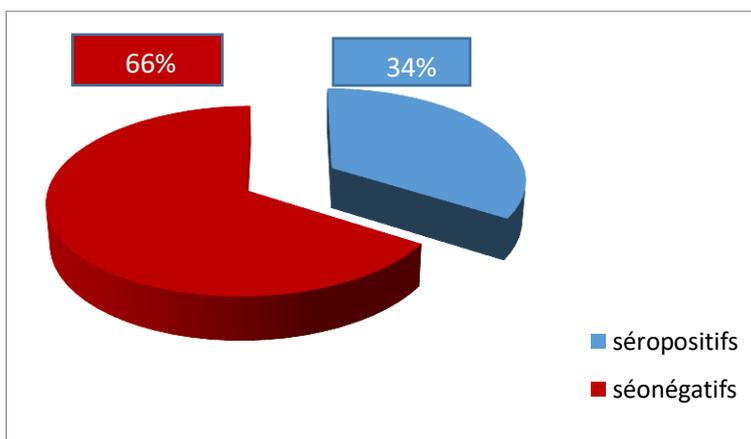
**Tableau n° 08:** taux d'infection du VNO selon l'habitat

		Nombre	positive	Négative	%	IC 95%	Khi2	P
Habitat	Box	10	1	9	10,00%	1,7-40,4	1,6292	0,2018
	Etable	90	26	64	28,88%	20,54-38,96		

### II.3. La séroprévalence chez les oiseaux

#### II.3.1. Séroprévalence globale

Sur un échantillon de 88 oiseaux, 30 parmi eux sont séropositifs au test ELISA à la FNO ce qui représente un taux de 34% (IC 95% : 28-44.2).



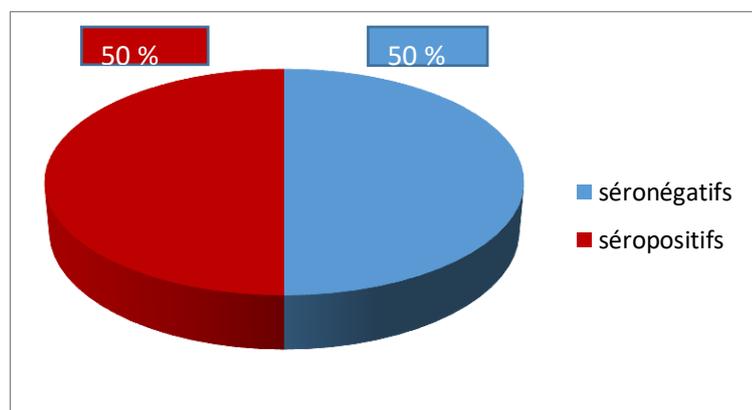
**Figure 23 :** Séroprévalence globale à la WNF sur 88 oiseaux

Le phénomène du flux migratoire des oiseaux a un impact important sur la propagation du virus chez ces oiseaux. Ceci représente d'après l'étude un taux assez élevé de 34 % de séroprévalence globale, suggérant une grande circulation du virus.

#### II.3.2. Séroprévalence par espèce d'oiseau migrateur

##### \* Canards colverts

Sur une population de 30 canards colverts, 15 (50%) sont séropositifs au test ELISA.

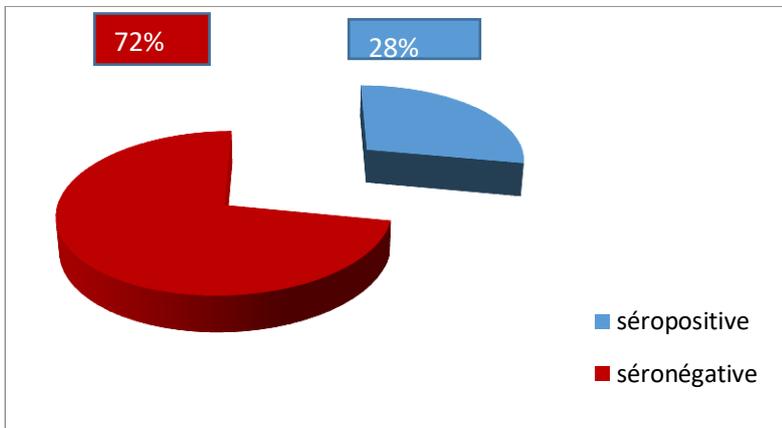


**Figure 24 :** Taux d'infection des oiseaux séropositifs et négatifs pour l'espèce canard colvert.

## Deuxième partie : partie expérimentale.

### \* Oies sauvages

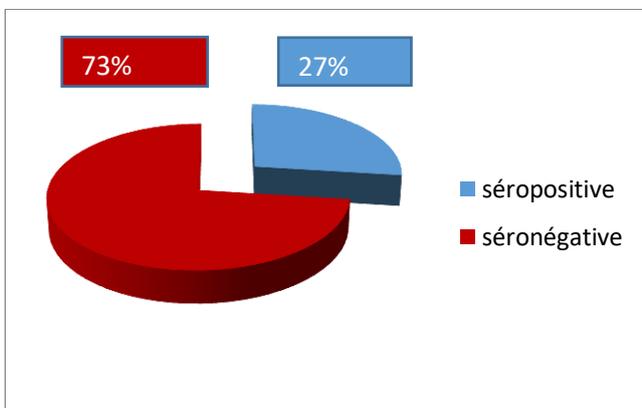
Sur une population de 33 oies sauvages, 9 (28%) sont séropositives au test ELISA.



**Figure 25 :** Taux d'infection des oiseaux séropositifs et négatifs pour l'espèce oie sauvage.

### \* Grues cendrées

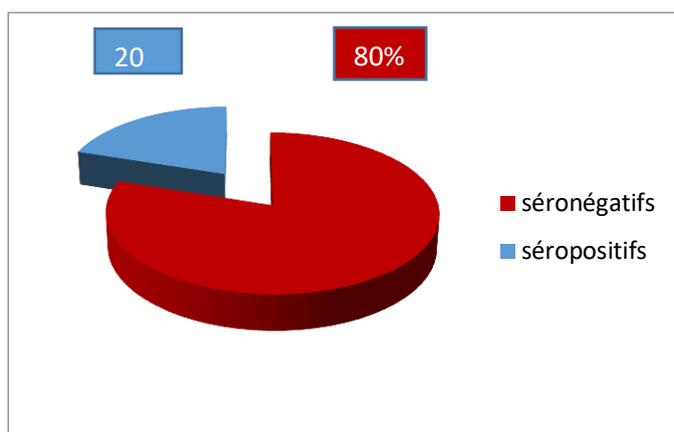
Sur une population de 15 grues cendrées, 4 (27%) d'entre-elles sont séropositives au test ELISA.



**Figure 26 :** Taux d'infection des oiseaux séropositifs et négatifs pour l'espèce grue cendrée.

### \* Canards sarcelles

Sur une population de 10 canards sarcelles, 2 (20%) entre eux sont séropositifs au test ELISA.



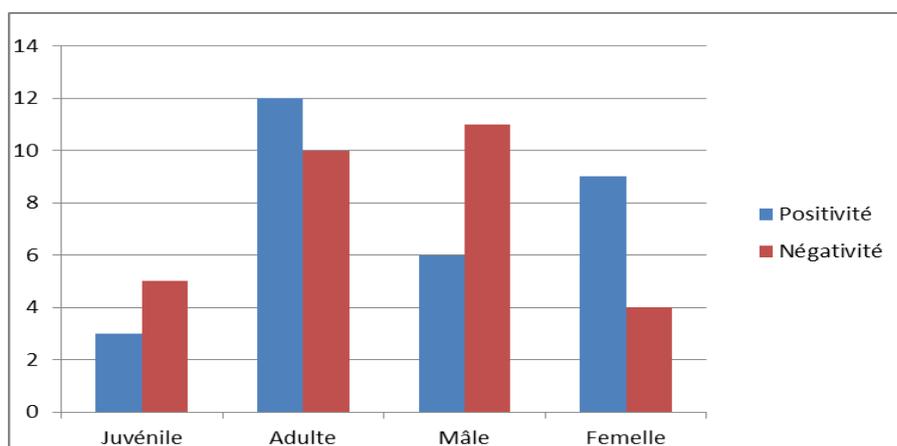
**Figure 27 :** Taux d'infection des oiseaux séropositifs et négatifs pour l'espèce canard sarcelle.

Parmi les 4 espèces examinées, l'espèce la plus dominante est celle des canards colverts qui sont les principaux réservoirs avec un taux considérable de 50% de séroprévalence globale.

### II.4. Facteurs de risque chez les oiseaux migrateurs

#### \* Canards colverts

- **Age :** Sur les 8 juvéniles, 3 sont séropositifs au test ELISA, ce qui représente un taux de 38% et sur les 22 adultes, 12 sont séropositifs, ce qui représente un taux de 55%.
- **Sexe :** Parmi les 13 femelles testées, on a 9 séropositives au test ELISA, ce qui représente un taux de 69%. Alors que 6 males parmi les 17 sont séropositifs, soit un taux de 35%.

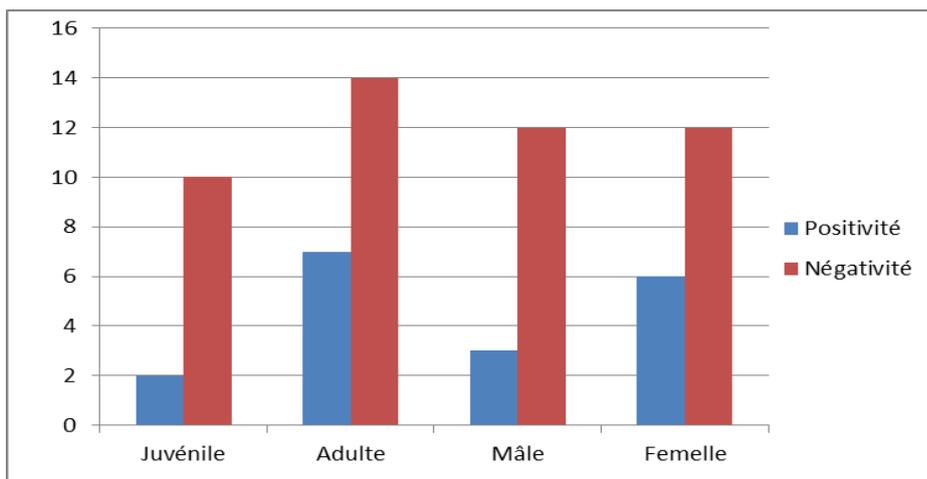


**Figure 28 :** Taux d'infection des oiseaux séropositifs et négatifs selon le sexe et l'âge chez l'espèce canard colvert.

## Deuxième partie : partie expérimentale.

### \* Les oies sauvages

- **Age** : on a 2 juvéniles séropositifs sur un total de 12 soit un taux de 16 % alors qu'on a 7 adultes séropositifs sur un total de 21 soit un taux de 33%.
- **Sexe** : Sur 18 femelles, 6 d'entre elles sont séropositives au test ELISA, ce qui représente un taux de 33%. Et 3 males parmi les 15 étudiés sont séropositifs, soit un taux de 20%.

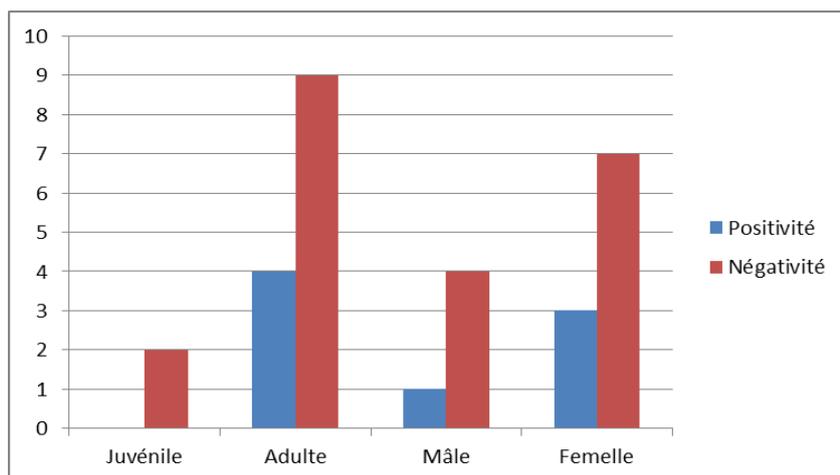


**Figure 29** : Taux d'infection des oiseaux séropositifs et négatifs selon le sexe et l'âge chez l'espèce oie sauvage.

### \* Les grues cendrées

- **Age** : On n'enregistre aucun séropositif sur les 2 juvéniles testés, donc un taux de 0% au test ELISA. En ce qui concerne les adultes, 4 d'entre elles sont séropositives, soit 30%.
- **Sexe** : On a 3 femelles séropositives pour 10 femelles examinées, soit un taux de 30%. Et pour les males en nombre de 5, un seul est séropositif, ce qui représente un taux de 20%.

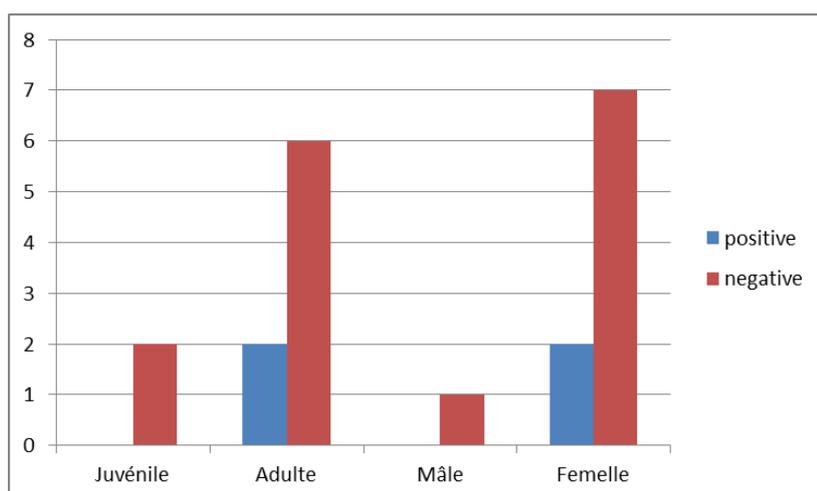
## Deuxième partie : partie expérimentale.



**Figure 30 :** Taux d'infection des oiseaux séropositifs et négatifs selon le sexe et l'âge chez l'espèce grue cendrée.

### \* Les canards sarcelles

- **Age :** On a 2 jeunes, aucun n'est séropositif au test ELISA, ce qui représente un pourcentage de 0% et 8 adultes, dont 2 parmi eux sont séropositifs au test, ce qui représente un taux de 25%
- **Sexe :** Sur un total de 9 femelles, 2 parmi elles sont séropositives au test ELISA soit 22 %, et un seul male qui n'est pas séropositif au test, ce qui représente un taux de 0%.



**Figure 31 :** Répartition des oiseaux séropositifs selon le sexe et l'âge chez l'espèce canard sarcelle.

## Deuxième partie : partie expérimentale.

---

En général pour toutes les espèces d'oiseaux migrateurs de l'étude, les femelles sont les plus touchées par rapport aux males. Ces résultats pourraient s'expliquer par la longue période de ponte et couvaion. Les femelles présentent un statut immunitaire plus faible en raison de la ponte et passent une plus longue période sur place pour la couvaion, coïncidant ainsi à une période d'abondance du vecteur.

Concernant le facteur âge, les adultes sont les plus atteints en raison de leurs migrations surtout pendant la période de mue qui les rends beaucoup plus susceptible à contracter le VNO.

### III. Discussion Générale

La fièvre du West Nile (FWN) est une arbovirose due à un virus de la famille des Flaviviridae , découvert pour la première fois en 1937 en Ouganda (Afrique), dans le sérum d'une jeune femme souffrant d'un syndrome fébrile bénin (Smithburn et coll., 1940). L'infection par le virus de West Nile est en général asymptomatique chez l'homme et chez le cheval, mais elle peut être exceptionnellement mortelle.

Depuis quelques années, l'infection par le virus suscite un regain d'intérêt avec l'apparition de flambées chez l'homme et les chevaux dans le bassin méditerranéen et l'Europe de l'Est, mais surtout suite à sa découverte en Amérique du nord en 1999 où le phénomène, a été fortement médiatisé (Zeller et Murgue, 2001).

La fièvre de West Nile est une zoonose. Il s'agit d'une maladie émergente puisque depuis quelques années, on assiste à une recrudescence du nombre de foyers un peu partout dans le monde et notamment en zones tempérées. Cette arbovirose est entretenue à l'état enzootique dans certains écosystèmes (foyers naturels) grâce à un cycle associant un réservoir (oiseaux sauvages) et un vecteur biologique arthropodien (moustiques) ornithophile. Un cycle oiseaux-tiques pourrait se substituer au cycle oiseaux-moustiques dans certaines régions (Afrique, Moyen Orient) en période chaude et sèche.

Le cycle de transmission du virus fait intervenir les moustiques, essentiellement du genre *Culex*, comme vecteurs biologiques et les oiseaux en tant que réservoirs et amplificateurs selon un cycle moustiques oiseaux en zones marécageuse mais aussi en zones sèches (Hayes 1989, Taylor et coll.,1956).

Dans notre étude, l'atteinte des chevaux et des oiseaux migrateurs relève de la circulation virale dans le site de l'étude et par conséquent en Algérie. La présence d'anticorps spécifiques chez des

## Deuxième partie : partie expérimentale.

---

vertébrés très variés, indique que ce virus a la faculté d'infecter de très nombreuses espèces (Taylor et coll., 1956).

Le cycle biologique peut se diviser en deux étapes :

- Un premier cycle : moustiques, oiseaux, ces derniers permettent l'amplification de la circulation virale.
- Une seconde phase révélatrice de cette amplification caractérisée par l'atteinte de l'hôte secondaire, principalement l'homme et les équidés.

Durant l'année 2016, la fièvre de West Nile a été diagnostiquée dans les wilayates du Centre d'Algérie (Younes-Bouacida et al., 2017). La symptomatologie était le plus souvent inexistante, cependant elle pouvait être dans certains cas caractérisée par un syndrome méningé constant associé le plus souvent à une fièvre et des signes d'atteinte encéphalique.

Des enquêtes réalisées entre 1974 ont pu mettre en évidence une abondance d'anticorps chez les équidés testés et donc témoigne d'une infection récente à l'époque.

A la fin des années 70, tous les pays du bassin méditerranéen où l'on recherchait la présence du virus de la FWN ou de ses stigmates se sont avérés infectés. Un sondage basé sur l'utilisation d'un échantillonnage représentatif d'équidés pris au hasard en vue d'une enquête sérologique et clinique a été réalisé. L'enquête clinique s'est avérée négative : aucun signe clinique n'a été observé par les enquêteurs et aucun propriétaire n'a observé de troubles pouvant faire penser à la FWN chez les équidés qu'il possède (Durand et al., 2002 ; Dufour & Hendrikx 2005).

Notre étude séro-épidémiologique menée, dans le grand lac de Ghardaia, a été dicté non seulement par le fait qu'elle a été touchée par les deux épidémies de 1974 et de 2016, mais pour ses caractéristiques climatiques et géographiques aussi.

Il ressort de cette étude que le virus a circulé dans le pays avant 1974. Cette circulation a été suivie par un silence épidémiologique dont la période ne peut être déterminée. Au moment de l'apparition des épidémies autour du bassin méditerranéen (1977 et 2003), aucune étude sur les animaux n'a été entreprise.

La séroprévalence des animaux testés en 2008 à Jendouba, zone frontalière avec l'Algérie située à 20 Km d'El Kala (classée parmi les trois zones marécageuses les plus importantes du bassin méditerranéen) prouvent qu'il y a eu une circulation virale pas très lointaine dans cette zone.

## Deuxième partie : partie expérimentale.

---

Dans les deux gouvernorats étudiés en 2007, les taux de séropositivité ont passé de 12% en 2016 (Younes-Bouacida, 2017) à 27% dans notre étude. Dans le gouvernorat de Bizerte la séroprévalence est passée de 9% en 2005 (bergaoui) à 58% en 2015 (Boubaker, 2018). Ces résultats sont en faveur de conclure à une période d'effervescence de la circulation virale dans ces zones.

L'hypothèse d'un foyer enzootique de la maladie dans la région de Mnéaa-Ghardaia, situé en zone humide et se propageant par l'intermédiaire d'oiseaux migrateurs reste envisageable.

La survenue d'une épizootie est probablement issue de la conjonction des facteurs climatiques particuliers et de l'introduction ou de la persistance du virus dans la zone atteinte.

Il serait nécessaire d'engager des études portant sur les mécanismes de persistance du virus et/ou sur les phénomènes de migration des oiseaux à l'origine de l'introduction de la maladie.

La situation géographique de l'Algérie lui confère une position charnière dans les systèmes de migration principalement des migrations transsahariennes entre l'Eurasie et l'Afrique tropicale (ISENMANN et MOALI, 2000). De ce fait, l'Algérie constitue une vaste zone d'hivernage et/ou d'estivage pour de nombreuses espèces d'origines différentes nichant en Eurasie. Pour d'autres espèces euro-asiatiques, l'Algérie sert d'ultime étape de transit ou de halte à la migration postnuptiale où les migrateurs reconstituent d'importantes réserves énergétiques (sous forme de graisses sous cutanées) avant la traversée de l'immense Sahara pour tout un cortège d'espèces qui hivernent en Afrique (ISENMANN et MOALI, 2000).

En plus de sa position géographique stratégique, et de son climat méditerranéen doux à pluies plus ou moins régulières le long de l'année, l'Algérie offre des possibilités d'hivernage et de nidification très importantes pour une large gamme d'oiseaux sédentaires et migrateurs. Ceci nous permet donc de comprendre la grande diversité biogéographique et systématique de l'avifaune que l'on y rencontre, mais également la grande transmission des maladies dites du Nord.

Par ailleurs, la diversité des paysages qui se succèdent du Nord au Sud de l'Algérie, constitue l'un des facteurs influençant la propagation de certaines pathologies vectorielles telle que la Fièvre du Nil Occidentale. Dans le cas de cette dernière, l'environnement peut exercer des influences à plusieurs niveaux : i) sur la biologie des hôtes, ii) sur celle des vecteurs et iii) sur

## **Deuxième partie : partie expérimentale.**

---

celle du pathogène ainsi que iv) sur les interdépendances entre ces trois populations. L'effet sur les seuls vecteurs est lui-même très complexe, intégrant des effets sur l'habitat (présence, abondance, disponibilité des gîtes larvaires ou de repos) et sur le cycle de développement (durée du développement larvaire, survie des stades, fréquence de piqûre, dispersion). L'environnement a donc une forte influence sur la dynamique des populations de vecteurs.

Travailler sur la maladie offre deux avantages : i) les données sur la maladie sont souvent plus faciles à recueillir que celles sur les vecteurs et ii) elles intègrent les facteurs liés à l'exposition des hôtes (Jackson et al., 2006 ; Linard et al., 2007).

Les zones humides telles que le Lac de Meneaa à Ghardaia, représentent donc des milieux de haute valeur écologique, grâce à leur position géographique, à leur attractivité, mais aussi grâce à leur régime de pluies hivernales qui les rendent toujours utilisables en absence de tout gel.

### **IV. Conclusion**

En conclusion, bien que notre étude soit ponctuelle, elle ne permet pas d'avoir une vision globale du passage et/ou de la circulation virale à l'échelle de l'Algérie, elles laissent penser que le virus aurait pu circuler dans les zones continentales du pays et que le taux de positivité est en croissance, donc en faveur d'une augmentation de la circulation virale actuellement. Seule une enquête nationale limitée dans le temps permet d'avoir une image globale de la situation dans le pays. Un réseau national de surveillance est indispensable pour suivre et décrire la maladie et la circulation virale au cours du temps.

Nos résultats attestent que l'Algérie est un important site d'hivernage et de passage pour de nombreuses espèces d'oiseaux, ceci s'explique par l'importance écologique de notre pays mais aussi par sa position médiane située entre les voies de migration classiques de Gibraltar (voie Ouest) et du détroit Sicilo-Tunisien (voie Est), ce qui permet donc à l'Algérie d'être à la fois une grande zone d'accueil et d'escale pour les oiseaux migrateurs transméditerranéens. La complexité de l'avifaune aquatique reprise en Algérie du point de vue origine, destination et voies de migration ont fait de l'Algérie un lieu stratégique au regroupement des oiseaux migrateurs et par conséquent à la propagation des maladies telle que la Fièvre du Nil Occidentale.

### V. Recommandations :

Le virus West Nile, arbovirus de la famille des Flaviviridae, est transmis à l'homme essentiellement par les piqûres d'insectes infectés. Compte tenu du cycle biologique du virus, la maladie est saisonnière et ne se manifeste cliniquement que pendant l'été et l'automne. Bien que des différences génétiques entre souches aient été mises en évidence, il semble que peu de divergences antigéniques sont décrites et que les souches partagent de nombreux épitopes, quelles que soient les régions du monde où elles sont isolées.

En première approximation, en période estivale, la quasi-totalité de l'hexagone est susceptible de permettre la circulation virale pendant des périodes plus ou moins longues ; cependant, compte tenu de l'histoire épidémiologique de ce virus dans le bassin méditerranéen, des conditions climatiques et écologiques, les départements limitrophes de ce bassin peuvent être considérés comme des zones particulièrement à risque de circulation virale.

Compte tenu des caractéristiques particulières de l'infection chez les équidés et les oiseaux domestiques, ces espèces sont des cibles intéressantes pour la mise en place d'un système de surveillance, dont l'objectif est essentiellement la détection la plus précoce possible de la circulation virale dans une région donnée, peut reposer sur la sensibilité du maillage vétérinaire existant (surveillance passive) ou sur la mise en place de systèmes d'alerte spécifiques visant à mettre en évidence la présence du virus (surveillance active).

#### 1. Surveillance passive

La surveillance dans certains pays est soumise à une déclaration obligatoire des suspicions d'encéphalites équine 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:

Ø 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.

## **Deuxième partie : partie expérimentale.**

---

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

Ø 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.

Ø 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.

### 2. Surveillance active

Ø 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 connaître la situation de l'infection.

Ø 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.

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

## **RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES**

## Références bibliographiques.

---

1. AsnisDS, ConettaR, WaldmanG, TeixeiraAA. The West Nile virus encephalitis outbreak in the United States (1999–2000): from Flushing, New York, to beyond its borders. *Ann NY Acad Sci* 2001 ; 951 : 161-171. [[CrossRef](#)][[Google Scholar](#)]
2. BakonyiT, IvanicsE, ErdelyiK, *et al.* Lineage 1 and 2 strains of encephalitic West Nile virus, central Europe. *Emerg Infect Dis* 2006 ; 12 : 618-623. [[PubMed](#)] [[Google Scholar](#)]
3. BarzonL, SquarzonL, CattaiM, *et al.* West Nile virus infection in Veneto region, Italy, 2008-2009. *Euro Surveill* 2009 ; 14 [[Google Scholar](#)]
4. BernkopfH, LevineS, NersonR. Isolation of West Nile virus in Israel. *J Infect Dis* 1953 ; 93 : 207-218. [[CrossRef](#)][[PubMed](#)] [[Google Scholar](#)]
5. BiggerstaffBJ, PetersenLR. A modeling framework for evaluation and comparison of trigger strategies for switching from minipool to individual-donation testing for West Nile virus. *Transfusion* 2009 ; 49 : 1151-1159.[[CrossRef](#)] [[PubMed](#)] [[Google Scholar](#)]
6. BinH, GrossmanZ, PokamunskiS, *et al.* West Nile fever in Israel 1999–2000: from geese to humans. *Ann NY Acad Sci* 2001 ; 951 : 127-142. [[CrossRef](#)] [[Google Scholar](#)]

Bolling, Bethany G, Christopher M Barker, Chester G Moore, W John Pape, and Lars Eisen. "Modeling/GIS, risk assessment, economic impact: Seasonal patterns for entomological measures of risk for exposure to Culex vectors and West Nile virus in relation to human disease cases in Northeastern Colorado." *Journal of medical entomology* 46, no. 6 (2009): 1519. Jones, Roderick C, Kingsley N Weaver, Shamika Smith, Claudia Blanco, Cristina Flores, Kevin Gibbs, Daniel Markowski, and John-Paul Mutebi. "Use of the vector index and geographic information system to prospectively inform West Nile virus interventions." *Journal of the American Mosquito Control Association* 27, no. 3 (2011): 315–9. Kwan, Jennifer L, Bborie K Park, Tim E Carpenter, Van Ngo, Rachel Civen, and William K Reisen. "Comparison of Enzootic Risk Measures for Predicting West Nile Disease, Los Angeles, California, USA, 2004-2010." *Emerging infectious diseases* 18, no. 8 (2012): 1298. Colborn, James M, Kirk A Smith, John Townsend, Dan Damian, Roger S Nasci, and John-Paul Mutebi. "West Nile Virus Outbreak in Phoenix, Arizona-2010: Entomological Observations and Epidemiological Correlations." *Journal of the American Mosquito Control Association* 29, no. 2 (2013): 123–132. Kilpatrick, A Marm, and W John Pape. "Predicting Human West Nile Virus Infections With Mosquito Surveillance Data." *American journal of epidemiology* (2013). Chung, Wendy M, Christen M Buseman, Sibeso N Joyner, Sonya

## Références bibliographiques.

---

M Hughes, Thomas B Fomby, James P Luby, and Robert W Haley. "The 2012 West Nile Encephalitis Epidemic in Dallas, Texas." JAMA 310, no. 3 (2013): 297–307. Epidemiology Division Dallas County Health and Human Services, 2013, « Guide for Epidemiologic Analysis of West Nile Virus Mosquito trap Data in Dallas County » 10 pp (<http://www.cityofirving.org/parks-and-recreation/pdf/fights-the-bite/guide-epidemiologicanalysis.pdf>) CDC, 2013 « West Nile Virus in the United States: Guidelines for Surveillance, Prevention, and Control » 69 pp (<http://www.cdc.gov/westnile/resources/pdfs/wnvGuidelines.pdf>)

7. BuschMP, CagliotiS, RobertsonEF, *et al.* Screening the blood supply for West Nile virus RNA by nucleic acid amplification testing. N Engl J Med 2005 ; 353 : 460-467. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)] [[Google Scholar](#)]
8. CalzolariM, BonilauriP, BelliniR, *et al.* Arboviral survey of mosquitoes in two northern Italian regions in 2007 and 2008. Vector Borne Zoonotic Dis 2010 ; 10 : 875-884. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)] [[Google Scholar](#)]
9. CDC. West Nile virus activity - Human disease cases reported. Centers for Disease Control, 2005-2009. Consultable sur : <http://www.cdc.gov/ncidod/dvbid/westnile/surv&control.htm>. [[Google Scholar](#)]
10. Centers for Disease Control Prevention (CDC). West Nile virus transmission via organ transplantation and blood transfusion: Louisiana. Morb Mortal Wkly Rep 2009 ; 58 : 1263-1267. [[Google Scholar](#)]
11. CharrelRN, BraultAC, GallianP, *et al.* Evolutionary relationship between Old World West Nile virus strains. Evidence for viral gene flow between Africa, the Middle East, and Europe. Virology 2003 ; 315 : 381-388. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)] [[Google Scholar](#)]
12. CharrelRN, de LamballerieX, DurandJP, *et al.* Prevalence of antibody against West Nile virus in volunteer blood donors living in southeastern France. Transfusion 2001 ; 41 : 1320-1321. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)] [[Google Scholar](#)]
13. CusterB, TomasuloPA, MurphyEL, *et al.* Triggers for switching from minipool testing by nucleic acid technology to individual-donation nucleic acid testing for West Nile virus: analysis of 2003 data to inform 2004 decision making. Transfusion 2004 ; 44 : 1547-1554. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)] [[Google Scholar](#)]

## Références bibliographiques.

---

14. GallianP, De LamballerieX, De MiccoP, AndreuG. West Nile virus (WNV): generalities and implications for blood transfusion. *Transfus Clin Biol* 2005 ; 12 : 11-17. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)] [[Google Scholar](#)]
  15. GublerDJ. Human arbovirus infections worldwide. *Ann NY Acad Sci* 2001 ; 951 : 13-24. [[CrossRef](#)][[Google Scholar](#)]
- Gujral, Indira B, Emily C Zielinski-Gutierrez, Adrienne LeBailly, and Roger Nasci. "Behavioral risks for West Nile virus disease, northern Colorado, 2003." *Emerging infectious diseases* 13, no. 3 (2007) : 419
16. HarringtonT, KuehnertMJ, KamelH, *et al.* West Nile virus infection transmitted by blood transfusion. *Transfusion* 2003 ; 43 : 1018-1022. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)] [[Google Scholar](#)]
  17. HayesCG. West Nile virus: Uganda, 1937, to New York City, 1999. *Ann NY Acad Sci* 2001 ; 951 : 25-37. [[CrossRef](#)][[Google Scholar](#)]
  18. HayesEB, GublerDJ. West Nile virus: epidemiology and clinical features of an emerging epidemic in the United States. *Annu Rev Med* 2006 ; 57 : 181-94. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)] [[Google Scholar](#)]
  19. HayesEB, KomarN, NasciRS, *et al.* Epidemiology and transmission dynamics of West Nile virus disease. *Emerg Infect Dis* 2005 ; 11 : 1167-1173. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)] [[Google Scholar](#)]
  20. HurlbutHS, RizkF, TaylorRM, WorkTH. A study of the ecology of West Nile virus in Egypt. *Am J Trop Med Hyg* 1956 ; 5 : 579-620. [[PubMed](#)] [[Google Scholar](#)]
  21. IwamotoM, JerniganDB, GuaschA, *et al.* Transmission of West Nile virus from an organ donor to four transplant recipients. *N Engl J Med* 2003 ; 348 : 2196-2203. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)] [[Google Scholar](#)]
  22. JoubertL, OudarJ, HannounC, *et al.* Épidémiologie du virus West Nile : étude d'un foyer en Camargue. IV. La méningo-encéphalomyélite du cheval. *Ann Inst Pasteur (Paris)* 1970 ; 118 : 239-247. [[PubMed](#)] [[Google Scholar](#)]
  23. JuppPG. The ecology of West Nile virus in South Africa and the occurrence of outbreaks in humans. *Ann NY Acad Sci* 2001 ; 951 : 143-152. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)] [[Google Scholar](#)]
  24. KomarN, LangevinS, HintenS, *et al.* Experimental infection of North American birds with the New York 1999 strain of West Nile virus. *Emerg Infect Dis* 2003 ; 9 : 311-322. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)] [[Google Scholar](#)]

## Références bibliographiques.

---

25. KramerLD, StyerLM, EbelGD. A global perspective on the epidemiology of West Nile virus. *Annu Rev Entomol* 2008 ; 53 : 61-81. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)] [[Google Scholar](#)]
26. KumarD, HumarA. Emerging viral infections in transplant recipients. *Curr Opin Infect Dis* 2005 ; 18 : 337-341. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)] [[Google Scholar](#)]
27. LanciottiRS, EbelGD, DeubelV, *et al.* Complete genome sequences and phylogenetic analysis of West Nile virus strains isolated from the United States, Europe, and the Middle East. *Virology* 2002 ; 298 : 96-105. [[CrossRef](#)][[PubMed](#)] [[Google Scholar](#)]
28. LanciottiRS, KerstAJ, NasciRS, *et al.* Rapid detection of west Nile Virus from human clinical specimens, field-collected mosquitoes, and avian samples by a TaqMan reverse transcriptase-PCR assay. *J Clin Microbiol* 2000 ; 38 : 4066-4071. [[PubMed](#)] [[Google Scholar](#)]
29. LanciottiRS, RoehrigJT, DeubelV, *et al.* Origin of the West Nile virus responsible for an outbreak of encephalitis in the northeastern United States. *Science* 1999 ; 286 : 2333-2337. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)] [[Google Scholar](#)]
30. MalkinsonM, BanetC, WeismanY, *et al.* Introduction of West Nile virus in the Middle East by migrating white storks. *Emerg Infect Dis* 2002 ; 8 : 392-397. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)] [[Google Scholar](#)]
31. MC, DiamondMS, NorrisPJ, BuschMP. Infection par le virus West Nile chez l'homme. II. Aspects physiopathologiques et réponses immunitaires. *Med Sci (Paris)* 2011 ; 27 : 382-386. [[CrossRef](#)] [[EDP Sciences](#)][[PubMed](#)] [[Google Scholar](#)]
32. McLeanRG, UbicoSR, DochertyDE, *et al.* West Nile virus transmission and ecology in birds. *Ann NY Acad Sci* 2001 ; 951 : 54-57. [[CrossRef](#)] [[Google Scholar](#)]
33. MoniniM, FalconeE, BusaniL, *et al.* West Nile virus: characteristics of an African virus adapting to the third millennium world. *Open Virol J* 2010 ; 4 : 42-51. [[PubMed](#)] [[Google Scholar](#)]
34. MONITOR. Human West Nile Virus clinical cases and asymptomatic infections in Canada. 2002-2010. Consultable sur : <http://www.eidgis.com/wnvmonitorca/>. [[Google Scholar](#)]
35. MoralesMA, BarrandeguyM, FabbriC, *et al.* West Nile virus isolation from equines in Argentina, 2006. *Emerg Infect Dis* 2006 ; 12 : 1559-1561. [[PubMed](#)] [[Google Scholar](#)]
36. MurgueB, MurriS, TrikiH, *et al.* West Nile in the Mediterranean basin: 1950–2000. *Ann NY Acad Sci* 2001 ; 951 : 117-126. [[CrossRef](#)] [[Google Scholar](#)]

## Références bibliographiques.

---

37. PlatonovAE. West Nile encephalitis in Russia 1999–2001: were we ready? Are we ready? *Ann NY Acad Sci* 2001 ; 951 : 102-116. [[CrossRef](#)] [[Google Scholar](#)]
38. RandolphSE, RogersDJ. The arrival, establishment and spread of exotic diseases: patterns and predictions. *Nat Rev Microbiol* 2010 ; 8 : 361-371. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)] [[Google Scholar](#)]
39. ReimannCA, HayesEB, DiGuseppiC, *et al.* Epidemiology of neuro-invasive arboviral disease in the United States, 1999–2007. *Am J Trop Med Hyg* 2008 ; 79 : 974-979. [[PubMed](#)] [[Google Scholar](#)]
40. Sanitaireldv. Surveillance du virus West Nile en France 2003. [http://www.invs.sante.fr/presse/2003/le\\_point\\_sur/west\\_nile\\_051103/](http://www.invs.sante.fr/presse/2003/le_point_sur/west_nile_051103/). [[Google Scholar](#)]
41. ScherretJH, PoidingerM, MackenzieJS, *et al.* The relationships between West Nile and Kunjin viruses. *Emerg Infect Dis* 2001 ; 7 : 697-705. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)] [[Google Scholar](#)]
42. StramerSL, CusterB, BuschMP, DoddRY. Strategies for testing blood donors for West Nile virus. *Transfusion* 2006 ; 46 : 2036-2037. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)] [[Google Scholar](#)]
43. TaylorRM, HurlbutHS, DresslerHR, *et al.* Isolation of West Nile virus from *Culex* mosquitoes. *J Egypt Med Assoc* 1953 ; 36 : 199-208. [[PubMed](#)] [[Google Scholar](#)]
44. TrawinskiPR, MackayDS. Meteorologically conditioned time-series predictions of West Nile virus vector mosquitoes. *Vector Borne Zoonotic Dis* 2008 ; 8 : 505-521. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)] [[Google Scholar](#)]
45. West Nile Virus Biovigilance Network. Consultable sur : <http://www.aabb.org/programs/biovigilance/Pages/wnv.aspx>. [[Google Scholar](#)]
46. Wikipedia. Carte du monde représentant les principales voies migratoires empruntées par les oiseaux. D'après D. Thompson et Byrkjedal, *Shorebirds*. Colin Baxter, 2001, 2007. Consultable sur : [http://fr.wikipedia.org/wiki/Fichier:Main\\_international\\_flyways\\_-\\_bird\\_migration-fr.svg](http://fr.wikipedia.org/wiki/Fichier:Main_international_flyways_-_bird_migration-fr.svg). [[Google Scholar](#)]

<https://www.inserm.fr/information-en-sante/dossiers-information/fievre-virus-nil-occidental-west-nile-virus>

## Références bibliographiques.

---

[https://www.medecinesciences.org/en/articles/medsci/full\\_html/2011/04/medsci2011274p375/medsci2011274p375.html](https://www.medecinesciences.org/en/articles/medsci/full_html/2011/04/medsci2011274p375/medsci2011274p375.html)

<http://www.infectiologie.com/UserFiles/File/medias/diaporamas/CEMI/2012/2012-CEMI-tolou.pdf>

[http://www.wrha.mb.ca/healthinfo/a-z/files/WNV\\_Symptom\\_fr.pdf](http://www.wrha.mb.ca/healthinfo/a-z/files/WNV_Symptom_fr.pdf)

<http://www.fao.org/3/a-ak151f.pdf>

<https://www.wiv-isp.be/matra/Fiches/WNV.pdf>

<http://www.oie.int/doc/ged/D14015.PDF>

## Résumé

La fièvre du Nil Occidental (FNO) est une maladie vectorielle, zoonotique et virale causée par le flavivirus (famille des flaviviridae) et transmise par des moustiques ,principalement genre du culex à partir d'animaux réservoirs (oiseaux). L'homme comme le cheval peuvent être piqués par un moustique infecté et contracter la maladie entraînant des symptômes d'allure grippale pouvant évoluer vers des manifestations nerveuses type méningites et méningo –encéphalomyélite.

Pour avoir une appréciation du statut sanitaire, en raison de l'absence de données de la prévalence en Algérie de l'infection équine et avifaune au VNO depuis 1994, une étude sérologique a été menée sur 100 chevaux et 88oiseaux testés à ELISA IgG compétition résultant d'une prévalence de 27% chez des chevaux et de 34% chez les oiseaux au niveau de la wilaya de Ghardaïa à proximité du lac d' El Meniaa .

Les chevaux séropositifs sont présents dans des zones à proximité des flux migratoires d'oiseaux en zones humides dans des box ou des étables.

Toutefois , les paramètres, âge, race, habitat, activité sont à considérer pour une étude ultérieure en élargissant la population avec des proportions homogènes.

Ces chevaux et oiseaux séropositifs sont considérés comme des révélateurs épidémiologiques témoignant de la présence du VNO en Algérie.

Des programmes de surveillance épidémiologiques et de prévention doivent être instaurés afin d'aider les autorités compétentes à prendre les mesures appropriées pour protéger la santé humaine et animale.

Mots clés :

Fièvre du Nil Occidental, zoonose, vectorielle , flavivirus , culex , cheval , oiseaux migrateurs séropositif..

**Summary :**

West Nile Fever (FNO) is a vector and viral zoonosis disease caused by flaviviruses (family flaviviridae) and transmitted by mosquitoes, mainly genus of culex from animal reservoirs (birds) man and horse can be stung by An infected mosquito and contracting the disease causes flu-like symptoms that can progress to nerve-like meningitis and meningoencephalomyelitis. Man and horse, however, are biological dead ends. To have an assessment of the health status, due to the absence of data on the prevalence in Algeria of equine and avifauna infection in WNV since 1994. A serological study was conducted on 100 horses and 88 birds tested at ELISA igG competition resulting from prevalence of 27% in equines and 34% in birds in the wilaya of Ghardaïa near the lake of el menia. HIV-positive horses are present in areas near migratory flows of birds in wetlands, in boxes or stables. Whenever the parameters, age, race, habitat, activity are to be considered for further study by expanding the population with homogeneous proportion. These seropositive horses and birds are considered as epidemiological revealers of the presence of WNV in Algeria. Epidemiological and prevention surveillance programs should be established to assist competent authorities to take appropriate measures to protect human and animal health.

Key words :

West Nil Fever , zoonosis , vector . flaviviruses , culex , horse , migrator birds , seropositive..

**ملخص:**

حمى غرب النيل هو مرض فيروسي(فلافي ريدي) ينتشر بواسطة البعوض الكولكس من المستودعات

الحيوانية(الطيور). تسبب البعوضة المصابة أعراضًا شبيهة بالأنفلونزا.

يمكن أن تتطور إلى التهاب السحايا او التهاب السحايا والدماع

للحصول على تقييم للحالة الصحية ، بسبب عدم وجود بيانات عن انتشار عدوى حمى غرب النيل WNV في الجزائر منذ عام 1994.

أجريت دراسة مصلية على 100 خيل و 88 طائر تم اختبارها عن طريق ELISA igG الناجمة عن انتشار 27% عند الخيول و34% عند الطيور في ولاية غرداية بالتحديد بحيرة المنيعية

.الخيول المصابة دو مصل ايجابي موجودة في المناطق قريبة من هجرة الطيور في مناطق رطبة او اقل رطوبة في ترويض واسطبلات .

لدا يجب مراعاة عدة عوامل منها السن والعرق والمسكن والنشاط في دراسات مقبلة اخرى و ذلك بزيادة عدد الافراد بنسب متجانسة.

تُعتبر هذه الخيول والطيور دو مصل ايجابي كواشف وبائية لوجود حمى غرب النيل WNV في الجزائر.

لدا يجب وضع برامج مراقبة للأوبئة والوقاية لمساعدة السلطات المختصة على اتخاذ الإجراءات المناسبة لحماية صحة الإنسان والحيوان.

**الكلمات الرئيسية:**

حمى غرب النيل, البعوض ,كولكس ,الطيور المهاجرة, الخيول ,مصل ايجابي