

INFECTION PAR LE VIRUS WEST NILE : ENQUÊTES SÉROLOGIQUES SUR DES CHEVAUX EN FRANCE ET EN AFRIQUE

O. CABRE, J.P. DURAND, A. PRANGÉ, J. GOMEZ, L. MAURIZI, H. TOLOU, B. DAVOUST

Med Trop 2005 ; 65 : 439-443

RÉSUMÉ • La trace sérologique d'une infection par le virus West Nile a été recherchée, durant l'année 2003, sur 190 chevaux entretenus à proximité de militaires français dans le Sud-Est de la France et en Afrique (Tchad, Côte d'Ivoire et Sénégal). Les anticorps IgG et IgM ont été recherchés par méthode ELISA. Des techniques d'immunoempreinte (western blot) et de séro-neutralisation ont été utilisées pour déterminer la spécificité des anticorps IgG. Au total, 79 % des chevaux (96) testés en Afrique se sont révélés séropositifs en IgG. Tous les chevaux séropositifs en IgG étaient négatifs en IgM. L'ensemble des chevaux militaires (94) du Sud-Est de la France était indemne d'infection par le virus West Nile. Notre étude a permis de révéler une circulation significative, mais non récente, du virus West Nile dans les trois pays africains.

L'intérêt d'utiliser le western blot, technique rapide et spécifique de confirmation, est souligné. Le western blot pourrait permettre de se dispenser de la technique de séroneutralisation.

MOTS-CLÉS • West Nile – Enquêtes sérologiques – Cheval – France – Afrique – Western blot.

WEST NILE VIRUS INFECTION: SEROLOGICAL INVESTIGATION AMONG HORSES IN FRANCE AND IN AFRICA

ABSTRACT • This study was carried out in 2003 to detect serological evidence of West Nile virus infection in 190 Army horses kept nearby French troops stationed in Southeast France and in Africa (Chad, Côte d'Ivoire and Senegal). Both IgG and IgM antibodies were searched for using an ELISA assay. Specificity of IgG antibodies was determined by western blot and plaque reduction seroneutralization. Finding showed that 79 % of the Army horses (n=96) tested in Africa presented specific IgG antibodies. All horses that were seropositive for IgG were seronegative for IgM. None of the Army horses (n=94) tested in the Southeast France were seropositive for West Nile virus. This study indicates that West Nile virus has circulated in all three African countries but not recently. It also underscores the value of western blotting as a rapid, specific confirmation technique that could eliminate the need to use plaque reduction seroneutralization.

KEY WORDS • West Nile – Serological investigation – Horse – France – Africa – Western blot.

La fièvre à virus West Nile est une arbovirose, causée par un flavivirus isolé pour la première fois en 1937 en Ouganda (1) et pouvant évoluer vers une encéphalite grave voire mortelle chez l'homme (2).

Le cycle épidémiologique de la maladie repose sur un réservoir principalement aviaire (oiseaux sauvages essen-

tiellement migrateurs) et sur une transmission vectorielle par des moustiques (appartenant principalement au genre *Culex*) (3).

L'infection de l'homme et des équidés, hôtes accidentels considérés comme des impasses épidémiologiques, est observée en cas d'amplification de la circulation virale lorsque les conditions écologiques locales sont favorables (4, 5).

D'abord connue en Afrique et observée en Camargue dans les années 60, l'infection par le virus West Nile a véritablement émergé en Europe et surtout sur le continent américain lors de ces dix dernières années (États-Unis depuis 1999, puis Canada en 2000 et Mexique en 2003) (6).

Elle est devenue un véritable enjeu de santé publique aux États-Unis où elle est à l'origine d'une épidémie/épi-zootie de très grande ampleur.

Au 1^{er} août 2004, 14 549 cas humains (dont 566 décès) (7) et 21 443 cas chez les chevaux (8) ont été recensés dans ce pays depuis le début de l'épidémie/épi-zootie en 1999.

Alors que la circulation virale est réputée enzootique et endémique en Afrique et en Asie (à l'exception d'épidémies décrites en Afrique du Sud en 1974 et en 1983), des épi-

• Travail de la Cellule vétérinaire des Éléments Français au Tchad (O.C., praticien confirmé du SSA, conseiller vétérinaire), N'Djamena, Tchad ; de l'Unité de Virologie et du Laboratoire de Diagnostic des Arboviroses (LDA) associé au Centre National de Référence (J.P. D., praticien certifié du SSA, chef du LDA ; A.P., praticien confirmé du SSA, LDA ; H.T., professeur agrégé du SSA, chef de l'Unité de Virologie), Institut de Médecine Tropicale du Service de Santé des Armées, Marseille, France ; de J.G., vétérinaire, Abidjan, Côte d'Ivoire ; de la Direction Interarmées du Service de Santé des Forces Françaises du Cap Vert (L.M., praticien confirmé du SSA, conseiller vétérinaire), Dakar, Sénégal ; de la Direction régionale du Service de santé des armées de Toulon (B.D., Praticien certifié du SSA, Chef du Bureau Vétérinaire), Toulon, France.

• Correspondance : Correspondance : O.CABRE, Service Technique et des Marchés Généraux du Commissariat de la Marine, BP 65, 83800 Toulon Armées - Tél : 04 94 02 11 28 - Fax : 04 94 02 06 66 • .

• Courriel : sertemarco@wanadoo.fr •

• Article reçu le 27/11/2004, définitivement accepté le 5/10/2005.

démies et épizooties sont régulièrement signalées depuis 1994 dans les pays du Maghreb (9).

En Europe, le virus West Nile a causé des épidémies en Roumanie (1996, 835 cas dont 17 décès) et en Russie (Volgograd en 1999, 826 cas dont 40 décès) et une épizootie en Italie (1998, 42 chevaux morts) (10).

Le virus a été également à l'origine d'une épidémie/épizootie en Israël en 1999 et en 2000 (471 cas humains, 37 décès) (11).

En France, après trois décennies de « silence viral » (épidémie/épizootie en Grande Camargue de 1962 à 1965, 500 chevaux infectés dont 50 morts, 19 cas humains), la maladie est réapparue en 2000 en Petite Camargue (76 chevaux infectés dont 21 morts, pas de cas humain rapporté).

Le virus s'est de nouveau manifesté dans le Var en octobre 2003 (sept cas d'infection chez l'homme et quatre chez le cheval) (10).

Dans le cadre de l'épidémiologie des risques zoonosiques, des enquêtes sérologiques sur l'infection par le virus West Nile ont été réalisées, durant l'année 2003, sur des chevaux entretenus à proximité de militaires français dans le Sud-Est de la France et dans trois pays africains (Tchad, Côte d'Ivoire et Sénégal).

MATERIELS ET METHODES

Modalités de prélèvements

La campagne de prélèvements s'est déroulée de décembre 2002 à décembre 2003 (Tableau I).

En France, les prélèvements ont été effectués dans trois centres équestres militaires situés dans trois départements du Sud-Est (Bouches-du-Rhône, Var et Vaucluse) dont deux ont été concernés par les épizooties de 2000 et 2003 (Bouches-du-Rhône et Var).

Les animaux prélevés sont des chevaux de race Selle Français et des poneys.

Au total, 94 chevaux ont été prélevés.

En Afrique, trois zones de stationnement de militaires français ont été choisies : N'Djamena (Tchad), Abidjan (Côte d'Ivoire) et Dakar (Sénégal).

Les prélèvements ont été réalisés dans cinq centres équestres, situés dans des enceintes militaires françaises (pour deux centres équestres situés respectivement à Abidjan et à

Dakar) ou à proximité directe de campements français (cela concerne le centre équestre de N'Djamena et deux centres équestres d'Abidjan).

Les animaux prélevés sont des chevaux de races locales variées.

Au total, 96 chevaux ont été prélevés en Afrique.

Les échantillons de sang ont été prélevés sur tube sec à la veine jugulaire, et centrifugés dans un délai maximum de 24 heures.

Les sérums collectés ont été transférés individuellement dans des cryotubes identifiés et congelés (à une température inférieure à -20°C).

Les prélèvements ainsi collectés ont été transportés sans rupture de la chaîne du froid au Laboratoire de diagnostic des arbovirus de l'Institut de médecine tropicale du Service de santé des armées (IMTSSA) situé à Marseille.

Protocole d'analyse

La présence d'anticorps dirigés contre le virus West Nile, dans les sérums collectés, a été révélée dans un premier temps par un test rapide, selon une technique ELISA par immuno-capture des IgG. L'antigène et les anticorps spécifiques du virus West Nile (ascites polyclonales de souris) utilisés ont été préparés au laboratoire à partir de la souche historique égyptienne Eg 101 (isolée en 1951 au Caire).

Les conditions pour qu'un sérum soit déclaré positif en ELISA IgG sont doubles :

- le rapport de la densité optique (D. O.) obtenue avec l'antigène West Nile sur celle de l'antigène négatif (cellules non infectées) doit être supérieur à 2,5 ;

- cette D.O. doit aussi être supérieure à 0,3.

Tous les sérums remplissant ces conditions ont été ensuite contrôlés :

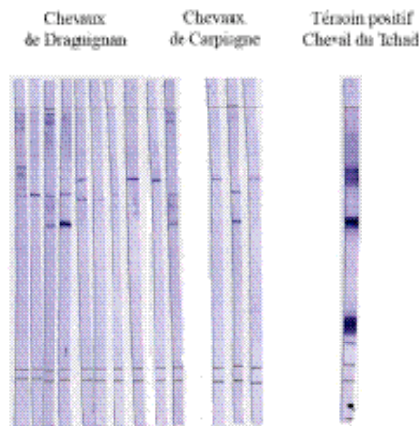
- par séroneutralisation (réduction de plages), méthode de référence pour la confirmation de la spécificité des anticorps. La technique utilisée est dérivée de celle décrite par de Madrid et Porterfield qui est la référence pour la fièvre jaune (12). Le virus utilisé est la souche Eg 101, les témoins positifs étant les ascites hyperimmunes du laboratoire (neutralisation supérieure ou égale à 90 % pour une dilution du sérum au 1/160) ;

- par une méthode d'immunoempreinte des anticorps IgG spécifiques des différentes protéines virales séparées en

Tableau I - Période et nombre de prélèvements par site

Pays	Ville (Département)	Période	Prélèvements (n)
France	Carpiagne (Bouches-du-Rhône)	Novembre 2003	26
	Draguignan (Var)	Octobre 2003	31
	Orange (Vaucluse)	Décembre 2003	37
Tchad	N'Djamena	Novembre 2003	30
Côte d'Ivoire	Abidjan	Décembre 2003	41
			(répartis dans 3 centres équestres)
Sénégal	Dakar	Décembre 2002, et avril 2003	25
Total			190

n = nombre de chevaux



Les sérums positifs africains ne figurent pas sur cette figure, ils sont tous identiques au témoin positif utilisé (sérum d'un cheval tchadien ayant présenté une méningoencéphalite avec une cécité rétroculaire en 2002, séroneutralisation positive au 1/160 avec la souche EG 101). Le "profil" complet en western blot est toujours le même, avec trois zones de protéines viraies reconnues par les anticorps IgG.
Les sérums équiens français testés faiblement positifs en ELISA, négatifs en séro-neutralisation, présentent des bandes atypiques, certaines correspondant à des anticorps reconnaissant une protéine de la zone de la protéine E commune aux flavivirus.

Figure 1 - Western blot de contrôle des chevaux positifs en ELISA IgG anti - West Nile (J.P. Durand).

électrophorèse (western blot), méthode alternative mise en place au sein du laboratoire de l'IMTSSA (Fig. 1) ;

- par immunocapture - ELISA afin de rechercher la présence éventuelle d'IgM anti - West Nile, anticorps précoces mais fugaces signant une infection récente, de spécificité plus étroite que les IgG.

RÉSULTATS

Les résultats de nos enquêtes sérologiques sont présentés dans le tableau II.

Il est apparu ainsi que les 94 chevaux militaires du Sud-Est de la France, entretenus dans trois unités de l'armée de terre situées dans les départements des Bouches-du-Rhône, du Var et du Vaucluse, étaient indemnes d'infection par le

virus West Nile (absence de confirmation des sérums faiblement positifs en IgG).

En revanche, 76 des 96 chevaux testés en Afrique (soit 79 %) se sont révélés séropositifs en IgG. Pour ces 76 chevaux, le western blot et la séroneutralisation ont confirmé que les anticorps détectés étaient bien spécifiques du virus West Nile, et non pas dirigés contre un virus apparenté présentant une antigénicité croisée.

Des séroprévalences particulièrement importantes (97 % et 92 %) ont été observées dans des centres équestres situés respectivement à N'Djamena et à Dakar.

À Abidjan, 59 % des animaux prélevés se sont avérés positifs.

D'une manière intéressante, la densité optique des cas positifs en ELISA se situait, pour les échantillons français entre 3 et 5 fois le bruit de fond (aucun cas confirmé en western blot), alors que celle des sérums africains (tous confirmés) était comprise entre 5 et 10 fois le bruit de fond. Tous les chevaux séropositifs en IgG étaient négatifs en ELISA IgM.

DISCUSSION

Les résultats obtenus ont permis de mettre en évidence, d'une part, l'absence de circulation du virus West Nile lors du dernier trimestre 2003 dans trois centres équestres militaires du Sud-Est de la France et, d'autre part, une circulation significative mais relativement ancienne (ayant permis la disparition des IgM dans le sérum des animaux) du virus West Nile dans trois pays d'Afrique Centrale et de l'Ouest.

L'absence de circulation virale dans les trois centres équestres français est à rapprocher de la situation épidémiologique de la région du Sud-Est de la France, à savoir :

- la survenue d'épizooties récentes dans deux des trois départements concernés (Bouches-du-Rhône en 2000 et Var en 2003) ;

- la mise en évidence d'une circulation du virus à bas bruit en Camargue (département des Bouches-du-Rhône compris) en 2001 et 2002 (13).

Tableau II - Résultats, par site, des enquêtes sérologiques sur l'infection par le virus West Nile chez des chevaux en milieu militaire (France - Tchad - Côte d'Ivoire - Sénégal).

Pays	Ville	Testés (n)	Séropositifs en ELISA IgG (n)	Séropositivité en IgG confirmée par WB et par SN (n)	Séropositifs en ELISA IgM	Séroprévalence (%)
France	Marseille	26	4	0	0	/
	Draguignan	31	9	0	0	/
	Orange	37	9	0	0	/
Tchad	N'Djamena	30	29	29	0	97
Côte d'Ivoire	Abidjan	41	24	24	0	59
Sénégal	Dakar	25	23	23	0	92

n = nombre de chevaux
WB = western blot
SN = séroneutralisation

L'enquête épidémiologique menée par l'Agence Française de Sécurité Sanitaire des Aliments (AFSSA) lors de l'épizootie du Var (2003) a révélé une séroprévalence en IgG de 34 % (n= 906 chevaux, situés dans 43 centres équestres ; résultats confirmés par dix séroneutralisations) et a fait apparaître que les écuries dont la séroprévalence est élevée sont situées dans deux zones connues pour être des sites de passage et/ou de nidification d'oiseaux migrateurs (10).

Nos résultats, de prime abord contradictoires, seraient en concordance avec l'hypothèse d'une existence de foyers de circulation virale bien circonscrits au sein d'une même zone géographique colonisée de façon temporaire (5, 10).

Si l'infection par le virus West Nile est classiquement considérée comme «endémique» en Afrique, surtout sahélienne, la situation précise de la maladie dans les trois pays africains objets de cette étude (Tchad, Côte d'Ivoire et Sénégal) était peu établie jusqu'à présent.

Des infections humaines dues au virus West Nile ont été rapportées au Sénégal, en République Centrafricaine et au Nigéria (3, 14), mais seule une épidémie survenue en 1998 dans un camp militaire de Kisangani (République Démocratique du Congo) est véritablement documentée (15). Deux facteurs auraient favorisé l'apparition de cette épidémie. Les fortes pluies qui l'ont précédée ont produit des inondations favorables à la reproduction du vecteur *Culex*. De plus, les militaires recrutés pour le camp provenaient de régions probablement non endémiques pour le virus West Nile ce qui les rendait probablement plus sensibles à la maladie (16).

Aucune donnée récente concernant la circulation du virus au Tchad, en Côte d'Ivoire et au Sénégal n'a été publiée à notre connaissance. Aucun nouvel isolement du virus ne semble avoir été réalisé en Afrique Centrale et de l'Ouest depuis 10 ans (17, 18), au contraire de l'Afrique du Nord qui est régulièrement concernée depuis le milieu des années 90 par des épidémies et des épizooties dues au virus West Nile. Une épidémie avec quelques cas mortels est survenue en Algérie en 1994 (19) tandis que des flambées ont été décrites en Tunisie en 1997 (20) et en 2003 (9). Le cas du Maroc, où des épizooties ont été observées sur une centaine de chevaux en 1996 (21) puis en 2003 (9), est tout particulièrement intéressant car ce pays se situe, comme le Sénégal et la Côte d'Ivoire, sur la branche la plus occidentale du système de migration d'oiseaux entre les zones paléarctiques et afro-éthiopiennes, allant de Scandinavie jusqu'au Golfe de Guinée. L'introduction du virus West Nile par les oiseaux migrateurs faisant escale sur le littoral marocain durant leur trajet du Sénégal vers l'Europe a été ainsi suspectée lors de l'épizootie de 1996 ; la séquence de la souche marocaine était très proche de celle isolée en 1993 de moustiques au Sénégal (21), pays dans lequel des études entomologiques ont confirmé une circulation virale régulière chez les moustiques et qui regroupe de larges colonies d'oiseaux migrants dans le sens sud-nord mais aussi ouest-est (14, 22).

La mise en évidence d'une infection significative d'équidés au Tchad, au Sénégal et en Côte d'Ivoire est une donnée d'épidémiologie allant en faveur de l'entretien en Afrique d'un cycle enzootique du virus entre les oiseaux migrateurs et les moustiques (circulation et ampli-

fication virale) mais selon une distribution spatiale qui serait très difficile à établir.

Il est très délicat d'établir la période de contamination des chevaux africains prélevés. En effet, les anticorps IgG peuvent perdurer pendant plusieurs années et la demi-vie des anticorps IgM reste imprécise chez le cheval (ils ont pu être détectés chez l'homme plus d'un an après les signes cliniques) (4, 10, 23).

Compte tenu de ces résultats, il convient de s'intéresser sur le niveau de risque pour les militaires français projetés en Afrique ainsi que pour les militaires stationnés dans le Sud-Est de la France.

Il semblerait que les souches isolées en France et en Afrique diffèrent de la souche «américaine» et soient moins virulentes que cette dernière (4, 10, 17).

C'est ce que suggèrent les résultats d'enquêtes d'épidémiologie : au contraire de la situation américaine, il n'a pas été noté de surmortalité aviaire en Europe, les cas d'infection humaine sont rares et la circulation virale est circonscrite géographiquement. Cependant, les souches européennes des années 1990 sont génétiquement très proches des souches américaines responsables de méningo-encéphalites graves puisqu'elles appartiennent à la même lignée génotypique (lignée 1) même si ces dernières y constituent un sous-type spécifique (5, 24).

En absence d'isolement récent, le génotype du virus ayant infecté les chevaux africains, sans provoquer semblait-il de maladie clinique, reste inconnu.

Compte tenu de l'absence de protection vaccinale possible, l'application des mesures de protection collective ou individuelle contre les piqûres de moustiques, par les militaires français projetés ou stationnés en Afrique, demeure fondamentale (10).

L'action du service de santé des armées s'inscrit dans l'acquisition de données épidémiologiques sur ce virus susceptibles d'orienter les mesures de protection et les programmes de recherche.

A ce titre, la surveillance passive et active des effectifs équins garde toute son importance afin notamment :

- de pouvoir mettre en évidence une circulation récente du virus (suivi sérologique régulier de chevaux séro-négatifs) ;

- d'isoler des virus chez des chevaux suspects morts ou euthanasiés (prélèvements cérébraux) afin de les typer.

Il est illusoire de faire de la séro-surveillance équine un outil de prédiction de l'apparition de la maladie chez l'homme. D'ailleurs, en France, cette surveillance active n'est plus recommandée compte tenu des fortes exigences liées à l'exploitation statistique des résultats et du fait que le cheval est un révélateur clinique tardif (10). Dans notre étude, des séroprévalences très importantes ont été observées sans aucun cas d'infection détecté chez les militaires français et sans expression clinique déclarée chez les chevaux. Il apparaît important de la compléter par des enquêtes épidémiologiques en population humaine.

Les tests immuno-enzymatiques ELISA sont les plus couramment utilisés pour évaluer le statut sérologique des animaux vis-à-vis du virus West Nile.

Le virus West Nile étant connu pour présenter des réactions croisées (surtout en IgG) avec de nombreux autres flavivirus appartenant comme lui au séro-groupe de l'encéphalite japonaise (23) ou à d'autres séro-groupes (dengue), il a été procédé à une confirmation des séropositifs (IgG) par immunoelectroblot (western blot) puis par séro-neutralisation qui est considérée comme la méthode de référence mais qui est lourde et lente (résultat en une semaine environ).

Le test ELISA s'est révélé souvent spécifique pour les chevaux africains (100 % des sérums déclarés positifs par la technique ELISA ont été confirmés par le western blot) à l'inverse des résultats produits pour les chevaux français (aucun des 22 chevaux classés « positifs douteux » n'a été confirmé après l'épreuve de western blot et de séro-neutralisation). Néanmoins, aucun autre arbovirus, parmi ceux couramment recherchés en diagnostic des arboviroses et pouvant expliquer une réaction croisée en ELISA avec le West Nile, n'a été mis en évidence chez ces chevaux français. On ne peut exclure, cependant, la circulation d'un flavivirus non pathogène, non identifié parmi ces effectifs équins, et qui pourrait être à l'origine de ces résultats faussement positifs. L'utilisation d'un antigène trop éloigné des souches circulant actuellement en France pourrait être une autre hypothèse, bien que des tests préliminaires aient indiqué que la communauté antigénique entre les différentes souches connues était suffisante.

Westem blot et séro-neutralisation ont montré une très bonne corrélation (100 %). Si ce résultat est confirmé dans d'autres études, il sera possible à l'avenir de se dispenser du test de séro-neutralisation pour la confirmation des sérologies West Nile. Ceci représente une avancée technique importante, eu égard à la lourdeur de ce test.

Compte tenu de sa grande spécificité, le western blot s'avère donc être une méthode intéressante pour la confirmation rapide (quelques heures) des infections à virus West Nile (25). Son utilisation dans ce cadre semble être encore limitée au Laboratoire de diagnostic des arboviroses de l'Institut de médecine tropicale du Service de santé des armées.

Remerciements • Les auteurs remercient pour leur collaboration : Mickaël BONI, Marc DESBORDES, Patrick GRAVIER, Philippe ORLANDINI, Coralie PORTELLI, David RINGOT, Yannick SANSON, Fabienne TOCK.

RÉFÉRENCES

- 1 - SMITHBURN KC, HUGHES TP, BURKE AW, PAUL JH - A neurotropic virus isolated from the blood of a native of Uganda. *Am J Trop Med Hyg* 1940; **20** : 471-492.
- 2 - ZIENTARA S, MURGUE B, ZELLER H *et Coll* - Maladie à virus West Nile en France. *Epidemiol Sante Anim* 2001; **39** : 113-120.
- 3 - HUBALEK Z, HALOUZKA J - West Nile fever : a reemerging mosquito-borne viral disease in Europe. *Emerg Inf Dis* 1999; **5** : 643-650.
- 4 - MURGUE B, MURRI S, ZIENTARA S *et Coll* - West Nile outbreak in horses in Southern France, 2000 : the return after 35 years later. *Emerg Inf Dis* 2001; **7** : 692-696.
- 5 - DURAND JP, SIMON F, TOLOU H - Virus West Nile : à nouveau en France chez l'homme et les chevaux. *Rev Prat* 2004; **54** : 703-710.
- 6 - ZELLER HG, SCHUFFENECKER I - West Nile virus : an overview of its spread in Europe and the Mediterranean basin in contrast to its spread in the Americas. *Eur J Clin Microbiol Inf Dis* 2004; **23** : 147-156.
- 7 - CENTERS FOR DISEASE CONTROL AND PREVENTION - West Nile Virus. Révisé août 2004, consulté août 2004, CDC, Atlanta, États-Unis. <http://www.cdc.gov/ncidod/dvbid/westnile>
- 8 - ANIMAL AND PLANT HEALTH INSPECTION SERVICE, UNITED STATES DEPARTMENT OF AGRICULTURE - West Nile Virus. Révisé août 2004, consulté août 2004, APHIS - USDA, Washington, États-Unis. <http://www.aphis.usda.gov/lpa/issues/wnv/wnv.html>
- 9 - ZIENTARA S, ZELLER H - Infection par le virus de la fièvre du Nil occidental. *Le Point Vétérinaire* 2005; **252** : 46-50.
- 10 - AGENCE FRANÇAISE DE SECURITE SANITAIRE DES ALIMENTS - Rapport sur la surveillance de l'infection à virus West Nile en France. Juin 2004, AFSSA, Paris, France, 48 p. [http://www.afssa.fr/ftp/afssa/Rapportdefinitif West Nile du 28.06.pdf](http://www.afssa.fr/ftp/afssa/Rapportdefinitif%20West%20Nile%20du%2028.06.pdf)
- 11 - WEINBERGER M, PITLIK SD, GANDACU D *et Coll* - West Nile fever outbreak, Israel 2000: epidemiologic aspects. *Emerg Inf Dis* 2001; **7** : 686-691.
- 12 - DE MADRID AT, PORTERFIELD JS - A simple micro-culture method for the study of group B arboviruses. *Bull World Health Organ* 1969; **113**-121.
- 13 - DURAND B, CHEVALIER V, POUILLOT R *et Coll* - West Nile outbreak in horses in southern France, 2000: results of a serosurvey. *Emerg Inf Dis* 2002; **8** : 777-782.
- 14 - ZELLER HG - West Nile : une arbovirose migrante d'actualité. *Med Trop* 1999; **59** : 490-494.
- 15 - NUR YA, GROEN J, HEUVELMANS H *et Coll* - An outbreak of West Nile fever among migrants in Kisangani, Democratic Republic of Congo. *Am J Trop Med Hyg* 1999; **61** : 885-888.
- 16 - INSTITUT NATIONAL DE SANTE PUBLIQUE DU QUEBEC - Epidémiologie et effets de l'infection par le virus du Nil Occidental sur la santé humaine. Mars 2002, INSPQ, Sainte-Foy, Québec, 86 p. <http://www.inspq.qc.ca/dossiers/vno/evaluation.asp>
- 17 - BRIESE T, RAMBAUT A, PATHMAJEYAN M *et Coll* - Phylogenetic analysis of a human isolate from the 2000 Israël West Nile virus epidemic. *Emerg Inf Dis* 2002; **8** : 528-531.
- 18 - CENTRE COLLABORATEUR OMS DE REFERENCE ET DE RECHERCHE SUR LES ARBOVIRUS - West Nile. Révisé Mars 2004, consulté Août 2004, CRORA, Paris, France. <http://www.pasteur.fr/recherche/banques/CRORA>
- 19 - LE GUENNO B, BOUGERMOUH A, AZZAM T, BOUAKAZ R - West Nile : a deadly virus ? *Lancet* 1996; **348** : 1315.
- 20 - TRIKI H, MURRI S, LE GUENNO B *et Coll* - West Nile viral meningo-encephalitis in Tunisia. *Med Trop* 2001; **61** : 487-490.
- 21 - EL HARRACK M, LE GUENNO B, GOUNON P - Isolement du virus West Nile au Maroc. *Virologie* 1997; **1** : 248-249.
- 22 - TRAORE-LAMIZANA M, ZELLER HG, MONDO M *et Coll* - Isolations of West Nile and Bagaza viruses from mosquitoes (*Diptera* : *Culicidae*) in Central Senegal (Ferlo). *J Med Entomol* 1994; **31** : 934-938.
- 23 - ROEHRIG JT, NASH D, MALDIN B *et Coll* - Persistence of virus-reactive serum immunoglobulin M antibody in confirmed West Nile virus encephalitis cases. *Emerg Inf Dis* 2003; **9** : 376-379.
- 24 - INSTITUT NATIONAL DE SANTE PUBLIQUE DU QUEBEC - Epidémiologie et effets de l'infection par le virus du Nil Occidental sur la santé humaine, mise à jour 2003 - Décembre 2003, INSPQ, Sainte-Foy, Québec, 74 p. <http://www.inspq.qc.ca/dossiers/vno/evaluation.asp>
- 25 - PRANGÉ A, COUISSINIER-PARIS P, DAVOUST B *et Coll* - Immunoblotting as a differential diagnosis for confirmation of West Nile infection. 7th Symposium of positive strand RNA viruses, 27 mai - 01 juin 2004, San Francisco, États-Unis.