

Détection de la circulation de virus West Nile chez les Équidés dans le nord-ouest de la Tunisie

Detection of circulation of West Nile virus in equine in the north-west of Tunisia

T. Ben Hassine · S. Hammami · H. Elghoul · A. Ghram

Reçu le 1^{er} mars 2011 ; accepté le 5 avril 2011
© Société de pathologie exotique et Springer-Verlag France 2011

Résumé Deux épidémies à virus West Nile (VWN) ont été observées dans la région du Sahel tunisien en 1997 et en 2003. Plusieurs cas de méningites et de méningoencéphalites ont été décrits chez l'Homme durant ces deux épidémies. Mais, aucun cas animal, ni clinique ni de séroconversion, n'a été rapporté. De plus, peu de données sont disponibles quant à la circulation de ce virus dans les autres régions du pays. Le but de la présente étude était de détecter une éventuelle circulation virale de VWN chez les Équidés dans certaines régions de la Tunisie où des épidémies n'ont pas été enregistrées auparavant. Un total de 133 Équidés a été prélevé dans six délégations appartenant à trois gouvernorats du nord-ouest de la Tunisie entre août et octobre 2008. Les Équidés qui se sont avérés négatifs en IgG au premier prélèvement ont fait l'objet d'un deuxième prélèvement ultérieur pour identifier de possibles séroconversions. L'analyse des IgG a été réalisée par Elisa compétitif. L'étude a permis de détecter une circulation virale dans la zone étudiée. Sur les 133 prélèvements testés en IgG lors de la première visite, 36 prélèvements étaient positifs ; soit une séroprévalence de l'ordre de 27,1 %. Une deuxième série de prélèvements a été réalisée sur 84 Équidés : le résultat s'était avéré négatif. Deux séroconversions ont été détectées entre les mois de septembre et d'octobre 2008. L'analyse a montré une association statistiquement significative entre la présence d'une zone humide à moins de 10 km et la séroprévalence. La pré-

sence de bovins semble être un facteur protecteur. **Pour citer cette revue : Bull. Soc. Pathol. Exot. 104 (2011).**

Mots clés Virus West Nile · Équidés · Séroprévalence · Séroconversion · Bizerte · Jendouba · El Kef · Lac d'Ichkeul · Tunisie · Maghreb · Afrique du Nord

Abstract Two outbreaks of West Nile Fever (WNV) were observed in the Sahel of Tunisia in 1997 and 2003. Several cases of meningitis and meningoencephalitis have been described in humans during these two outbreaks. However, no animal or clinical findings or seroconversion have been detected despite a high seroprevalence in human beings found around the affected areas. Few data are available regarding the spreading of this virus in other parts of the country. The purpose of this study was to detect a possible WNV spread in horses in some areas of Tunisia considered to be at risk for WNV but which had not been affected by previous outbreaks. A total of 133 equine blood samples were collected in six delegations from three governorates in the north-west of Tunisia. A second blood sampling was taken from animals that were tested negative after the first sampling for IgG to identify possible seroconversion. Detection of IgG was done using competitive ELISA. A significant viral spread was detected in the study area. Out of 133 samples tested for IgG during the first sampling, 36 samples were tested positive (27.1%). Two seroconversions were detected between September and October 2008 out of 84 samples tested. Statistical analysis showed a significant association between the presence of a wetland within 10 km and seroconversion. The presence of cattle seems to be a protective factor. **To cite this journal: Bull. Soc. Pathol. Exot. 104 (2011).**

T. Ben Hassine (✉) · S. Hammami
Centre national de veille zoonitaire,
Tunis, Tunisie
e-mail : benhassine@pasteur.tn

H. Elghoul
Société tunisienne d'aviculture,
Tunis, Tunisie

A. Ghram
Laboratoire de microbiologie,
institut Pasteur de Tunis, Tunisie

Keywords West Nile virus · Equine · Seroprevalence · Seroconversion · Bizerte · Jendouba · El Kef · Lac d'Ichkeul · Tunisia · Maghreb · Northern Africa

Introduction

Le virus de la fièvre de West Nile (FVN) est un arbovirus appartenant à la famille des Flaviviridae, genre Flavivirus [18]. Son cycle de multiplication naturel fait intervenir les oiseaux qui constituent le réservoir et les moustiques ornithophiles, essentiellement du genre *Culex*, en tant que vecteur. L'infection de l'Homme et du cheval se fait de façon accidentelle [17].

Depuis 1970, des sérologies positives liées à la présence du virus West Nile (VWN) ont été détectées en Tunisie chez des enfants originaires de l'île de Djerba [21]. En 1997, le VWN a été responsable d'une première épidémie de méningoencéphalite humaine en Tunisie. Les cas ont été localisés essentiellement dans le centre-est du pays, intéressant surtout les gouvernorats de Sfax, Mahdia et Monastir [13,27]. La souche responsable, appartenant à la lignée I, était très proche des souches virulentes isolées en Israël en 1998 et à New York en 1999 [1]. À la fin de l'été de 2003, une deuxième flambée de cas de méningoencéphalite et de méningite lymphocytaire à VWN a été enregistrée dans les gouvernorats côtiers de Monastir, de Mahdia et de Sousse, avec une extension géographique plus importante vers le sud de la Tunisie. Durant ces deux épidémies, aucun cas, ni clinique ni de séroconversion, n'a été rapporté chez les Équidés en Tunisie. Les études de séroprévalence réalisées chez les Équidés quelques années plus tard dans ces zones avaient montré un taux moyen de 30 % en IgG [3,4].

D'autres zones de la Tunisie (nord et nord-ouest), non touchées par ces deux épidémies, présentent un biotope favorable a priori à la circulation de VWN et donc une possibilité de circulation virale. Mais, peu de données sont disponibles quant à la réalité de la circulation du virus dans ces régions.

Le premier objectif de cette étude était de détecter une éventuelle circulation virale de VWN chez les Équidés dans ces régions. Le deuxième objectif était de formuler certaines hypothèses sur des facteurs de risque de séropositivité chez ces espèces.

Matériel et méthodes

Type d'étude et échantillonnage

L'étude réalisée était une étude transversale de séroprévalence à visée descriptive. Elle a été menée du 1^{er} août 2008 au 14 octobre 2008, période des deux épidémies enregistrées en Tunisie en 1997 et en 2003. Trois gouvernorats du nord-ouest de la Tunisie ont été choisis en fonction des conditions

climatiques et écologiques a priori favorables à l'apparition de la maladie : Bizerte, Jendouba et El Kef (Fig. 1).

Le gouvernorat de Bizerte est caractérisé par la présence du lac d'Ichkeul, principale zone humide de la Tunisie. Son importance écologique est comparable à celle des trois autres grands complexes humides de la Méditerranée occidentale : Camargue en France, Donana en Espagne et El Kala en Algérie. Le gouvernorat de Jendouba se situe à l'extrémité nord-ouest de la Tunisie. Il se distingue par le climat le plus pluvieux du pays avec des précipitations annuelles atteignant 1 000 mm sur le littoral et dépassant 1 500 mm à Aïn Drahem. La température moyenne se situe entre 5 et 10 °C en hiver et entre 25 et 30 °C en été. La ville de Tabarka se trouve à une trentaine de kilomètres de la zone humide d'El Kala en Algérie. Le gouvernorat du Kef comporte plusieurs barrages montagneux et se trouve à proximité de plusieurs zones humides du gouvernorat de Jendouba et de l'Algérie [11,12].

Le nombre d'Équidés nécessaire pour détecter une circulation virale a été calculé à partir d'une prévalence limite (PL) à 2 % et d'un risque d'erreur à 5 % pour un taux de sondage inférieur à 10 %. Faute de présence d'une base de sondage exhaustive des Équidés dans cette zone, le tirage au sort a été réalisé à partir d'une liste d'éleveurs possédant des Équidés. Cette liste est disponible chez le vétérinaire de chaque région concernée par l'étude. La population source a été définie par l'ensemble des Équidés nés, élevés et vivant toute l'année dans la zone définie précédemment, ou bien résidant en permanence dans la zone depuis au moins un an. Les 133 Équidés prélevés lors de la première visite sont composés de 93 ânes (A), 23 chevaux (C) et 17 mulets (M).

Prélèvements

Dix millilitres de sang ont été prélevés chez chaque animal. Les Équidés qui se sont avérés négatifs en IgG ont fait l'objet d'un deuxième prélèvement à un mois d'intervalle pour identifier des séroconversions probables. Les Équidés ont été identifiés, lors de la première visite, par des colliers pour faciliter leur repérage lors de la deuxième visite. La date de prélèvements ainsi que le numéro de l'animal ont été marqués sur les colliers. Chaque prélèvement a été accompagné d'une fiche d'enquête. Ce questionnaire regroupait des informations concernant chaque cheval : caractéristiques sanitaires, activités, âge et sexe. Les biotopes et la présence d'eau ont été décrits dans un rayon de 10 km autour de la zone considérée.

Analyses de laboratoire

La détection des anticorps IgG spécifiques du VWN a été effectuée par Elisa compétitif à l'aide du kit ID Screen[®]

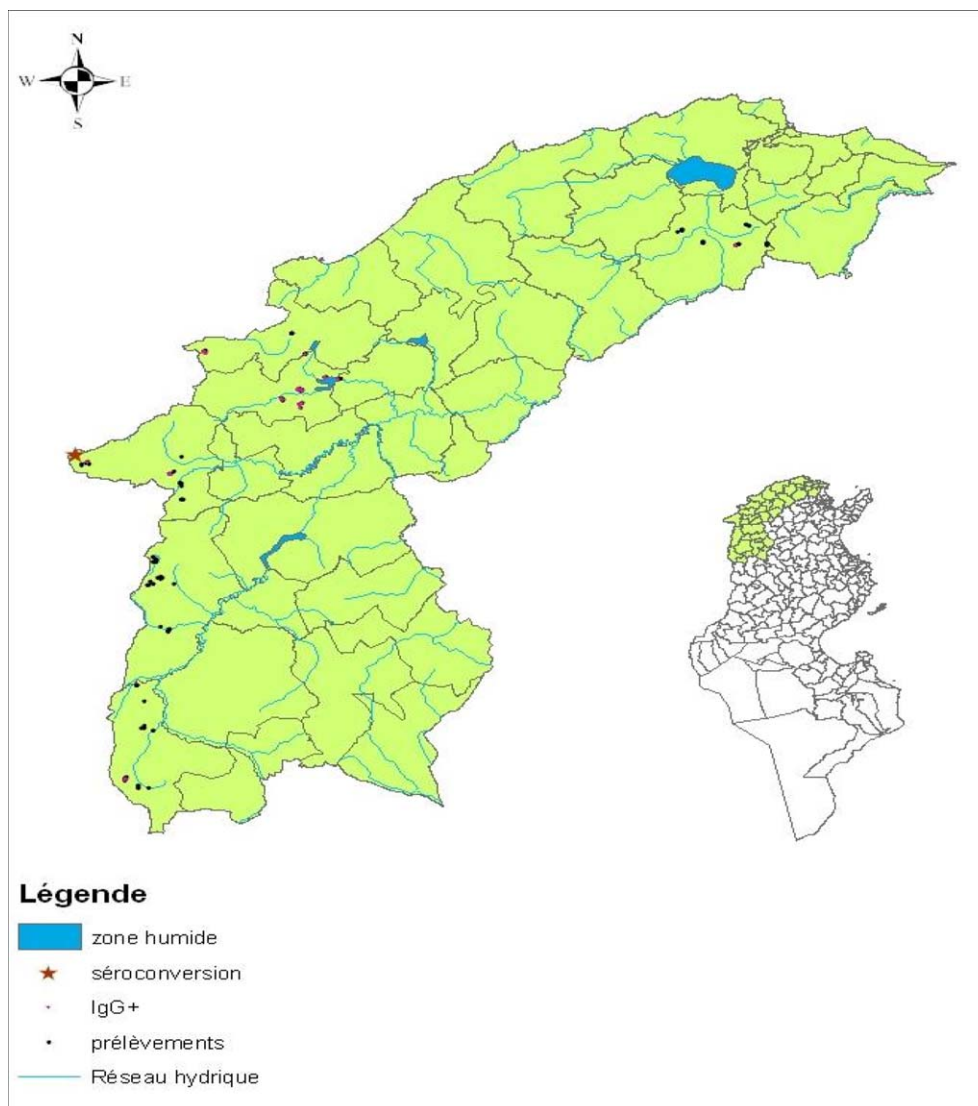


Fig. 1 Enquête sur la circulation du virus West Nile dans les gouvernorats de Bizerte, de Jendouba et d'El Kef / *Enquiry on the circulation of the West Nile virus in the Bizerte, Jendouba and El Kef governorates*

West Nile Competition à l'institut Pasteur de Tunis (IPT). La technique d'analyse utilisée se base sur la détection des anticorps anti-prM-E (protéines de prémembrane et d'enveloppe) spécifiques de VWN. Si des anticorps spécifiques de l'antigène prM-E sont présents dans l'échantillon (sérum équin), il y a formation d'un complexe immun, et l'intensité de la coloration est reliée à la concentration d'anticorps dans l'échantillon à tester. Les résultats sont exprimés en pourcentage S/N, rapport entre la densité optique de l'échantillon et la moyenne de la densité optique des contrôles négatifs. Un échantillon qui présente un pourcentage en S/N inférieur à 40 % est considéré positif. La sensibilité et la spécificité du test utilisé sont, respectivement, de 97,6 % et supérieure à 92,1 % [15].

Analyse statistique

Dans cette étude, un Équidé positif a été défini comme tout Équidé dont le résultat sérologique en IgG était positif. Une séroconversion a été définie comme tout Équidé présentant un résultat négatif lors du premier prélèvement et un résultat positif au deuxième.

Des tests de χ^2 , ou dans certains cas des tests exacts de Fisher, ont été réalisés afin de déterminer si les différences observées entre les groupes étaient significatives. Une valeur de p inférieure ou égale à 0,05 était considérée comme significative, indiquant une association potentielle. L'analyse multivariée a été réalisée au moyen d'une régression logistique à l'aide du logiciel ÉpiInfo™ 3.5.1. Les variables

incluses dans le modèle initial étaient, d'une part, celles pour lesquelles l'analyse bivariable donnait une valeur de p inférieure à 0,25 et, d'autre part, des variables considérées comme des facteurs de risque dans des études antérieures.

Résultats

Séroprévalence et séroconversion

L'étude a permis de détecter une circulation virale importante dans la zone d'étude. Sur 133 prélèvements testés en IgG lors de la première visite, 36 prélèvements ont été trouvés positifs, soit une séroprévalence de l'ordre de 27,1 %. Parmi les 97 Équidés dont le résultat s'est avéré négatif, 13 ont été perdus de vue. Sur les 84 Équidés négatifs prélevés une deuxième fois, deux ont présenté une séroconversion. Ces deux Équidés, appartenant à deux éleveurs différents, sont localisés dans la même région du gouvernorat de Jendouba (Fig. 1). La séroconversion a été observée entre le 2 septembre 2008, date du premier prélèvement et le 6 octobre 2008, date du deuxième prélèvement. Les deux Équidés présentant une séroconversion n'ont pas montré de signes cliniques évocateurs de la FWN.

Analyse bivariable et multivariée

L'analyse bivariable n'a pas montré une association statistiquement significative entre la séroprévalence et d'autres facteurs tels que l'âge, le logement et le sexe des Équidés. Pour l'identification de quelques facteurs de risque probables en tenant compte des facteurs de confusion, les variables incluses dans le modèle de régression logistique ont été la présence de zone humide dans un rayon de 10 km, l'espèce et la présence d'autres animaux tels que les volailles et les bovins (Tableau 1).

Comme le montre ce modèle et à niveau égal de toutes les variables incluses, il apparaît que :

- la présence d'une zone humide est un facteur de risque d'infection (OR = 36,75 ; IC 95 % : [7,7–174,4]) ;

- la présence de bovins est un facteur plutôt protecteur (OR = 0,3475 ; IC 95 % : [0,1–0,9]).

Discussion

Protocole

L'objectif de cette étude était de détecter une circulation virale de VWN dans des régions non touchées par des épidémies auparavant. Pour cela, les zones ciblées n'ont pas été tirées au hasard. Cette approche a permis de limiter le coût de l'étude et de cibler les zones à fort risque d'une circulation de virus. Faute de liste exhaustive des Équidés, le choix des animaux a été fait à partir d'un tirage au sort sur les propriétaires dans la zone d'étude.

Une première série de prélèvements a permis de détecter une circulation de VWN avec une probabilité de 95 %. Une deuxième série de prélèvements, à un mois d'intervalle, sur les Équidés séronégatifs, a permis de mettre en évidence deux séroconversions sur un total de 84 Équidés testés une seconde fois. L'absence des kits IgM sur le marché n'a pas permis la confirmation de ces deux séroconversions. En ce qui concerne le test Elisa utilisé et puisque sa sensibilité est satisfaisante, ce test peut détecter facilement les anticorps IgG anti-WN. En revanche, la spécificité de ce test est discutable, car des virus, comme ceux de l'encéphalite de Saint-Louis ou de l'encéphalite japonaise, peuvent réagir avec l'antigène du VWN [5]. Cependant, d'après la littérature ces maladies n'ont jamais été décrites en Afrique du Nord.

Résultats

L'enquête a permis de détecter une probable circulation récente de VWN dans la zone étudiée. Le taux de séroprévalence assez élevé trouvé (27,1 %) indique un contact certain des animaux avec le virus sauvage.

Avec le protocole utilisé, il n'a été possible d'obtenir qu'une estimation de la prévalence apparente et non celle d'une prévalence réelle. En effet, il n'était pas envisageable

Tableau 1 Régression logistique / *Logistic regression*

Term	Odds ratio	IC 95 %	Coefficient	SE	z statistic	p value
Zone humide	36,7554	[7,7459–174,4099]	3,6043	0,7945	4,5367	0,0000
Volaille	3,3283	[0,7985–13,8731]	1,2025	0,7283	1,6510	0,0987
Bovins	0,3438	[0,1193–0,9901]	–1,0678	0,5398	–1,9783	0,0479
Espèce (A/C)	2,7046	[0,6343–11,5324]	0,9949	0,7399	1,3446	0,1787
Espèce (M/C)	7,1289	[1,0763–47,2200]	1,9642	0,9646	2,0361	0,0417
Constant	–	–	–5,2042	1,1190	–4,6509	0,0000

A : âne ; C : cheval ; M : mulet.

de prélever tous les Équidés de la région. En plus, l'objectif de cette étude était qualitatif et non quantitatif. Ainsi, au cours du temps, une augmentation de la précision et de l'exactitude des enquêtes est nécessaire pour déterminer une estimation de la prévalence réelle. En effet, précision et exactitude sont indépendantes l'une de l'autre et augmenter l'une n'aura donc aucune incidence sur l'autre [26].

La mise en évidence d'une infection « significative » d'Équidés dans cette région est une donnée épidémiologique allant en faveur de l'entretien d'un cycle enzootique du virus entre les oiseaux migrateurs et les moustiques (circulation et amplification virale) selon une distribution spatiale qui serait très difficile à établir avec cette seule enquête. Les deux séroconversions détectées, sans signes cliniques en faveur de la maladie, permettent d'objectiver une circulation à bas bruit et un contact récent avec le VWN entre les mois de septembre et octobre 2008. L'effectif est néanmoins trop petit pour généraliser.

L'absence de troubles nerveux chez les Équidés montrant des séroconversions dans cette étude peut être due à une faible pathogénicité de la souche virale responsable. Au cours de l'épidémie de 1997, la souche virale identifiée était très proche des souches isolées en Israël en 1998 et à New York en 1999 et était considérée peu virulente pour les chevaux [27]. Alors que celle responsable de l'épidémie de 2003 n'a pas pu être identifiée. Des études plus approfondies du point de vue génétique permettront d'identifier la souche virale, d'étudier sa pathogénicité et de faire le lien avec d'autres souches qui circulent dans le bassin méditerranéen [25].

Les deux séroconversions détectées lors de cette enquête ont été signalées durant la même période de l'année que les deux précédentes épidémies. Cela peut être expliqué par plusieurs hypothèses.

La première s'appuie sur une introduction régulière du virus via les oiseaux migrateurs. En effet, la Tunisie se trouve sur le trajet d'importantes migrations d'oiseaux hivernants provenant des pays de l'Europe centrale et de l'Europe de l'Est vers la fin d'été et le début de l'automne de chaque année. Probablement, parce que leur passage ne coïncide pas avec une pullulation importante des moustiques vecteurs, le virus n'est pas transmis de façon significative à l'Homme ou à l'animal en Tunisie de façon régulière. Des perturbations climatiques favorables à une abondance des moustiques ont été enregistrées pendant les deux précédentes épidémies en Tunisie et sont en faveur de cette hypothèse. Certains travaux en France suggèrent aussi des conditions météorologiques particulières influençant les densités du vecteur, les années épizootiques, sans exclure d'autres facteurs [19,20].

La deuxième hypothèse est que le VWN peut se maintenir dans une zone donnée plusieurs années successives et en particulier passer l'hiver. Entre les années 1976 et 1977, des signes d'activité du VWN ont été mis en évidence chez des rongeurs sauvages et des microchiroptères dans plu-

sieurs régions de la Tunisie pour disparaître quelques années plus tard [7]. Ces micromammifères pourraient assurer la circulation du virus pendant quelque temps jusqu'à la réintroduction du virus par des oiseaux migrateurs. Après les épidémies ou épizooties de FWN en Israël en 1951 [14], en France en 1962 [16,22] et en Roumanie en 1996 [6], la circulation du virus a persisté les années suivantes. Les souches isolées dans le même foyer avec quelques années d'écart sont souvent très proches comme en Israël en 1998 et en 2000, à Volgograd en 1999 et en 2000 ou en France en 2000 et en 2004 [15,24], ce qui suggère la persistance temporaire de la souche localement. Si l'existence de ce phénomène est connue, ses mécanismes ne sont pas encore élucidés. Les différentes hypothèses sont :

- le maintien d'une transmission à bas bruit pendant l'hiver ;
- une infection chronique chez les oiseaux ;
- une persistance chez le vecteur [2].

Il est admis aussi que l'évolution de la séroprévalence en fonction des classes d'âge de la population à risque permet d'évaluer l'aspect enzootique de la circulation virale dans une région donnée : les individus les plus âgés ont plus de chance d'être séropositifs, puisque le temps passé en zone infectée est plus long [10]. Bien que cette enquête n'ait pas montré une différence significative de la séroprévalence en fonction de l'âge, on ne peut pas conclure à une endémisation ou non de la circulation virale dans cette zone chez les Équidés. D'autres études plus approfondies doivent donc être conduites.

Même si cette enquête n'est pas de type analytique, des hypothèses sur des facteurs de risques possibles peuvent être formulées. Il semble que la positivité est plutôt déterminée par des facteurs environnementaux, tels que la présence d'une zone humide ou non à une distance de moins de 10 km. Le choix de cette distance a été basé sur des critères épidémiologiques liés à la distance maximale parcourue par *Culex pipiens*, vecteur potentiel de la maladie en Tunisie. En effet, les espèces utilisant des gîtes artificiels, y compris *C. pipiens*, se dispersent peu autour de leur gîte de développement larvaire. Néanmoins, cette distance est très difficile à évaluer [2]. Souvent, les Équidés positifs se seraient trouvés « au mauvais endroit au mauvais moment » [8].

L'analyse multivariée a montré aussi une différence statistiquement significative entre la présence de bovins et la séropositivité chez les Équidés. La présence de bovins semble un facteur protecteur. Le cheptel bovin en Tunisie est d'environ 700 000 têtes dont la répartition est très différente selon les régions [9]. Le nombre le plus important se trouve au nord du pays avec 72 % contre 25 % au centre et 3 % seulement au sud. Or, les deux épidémies de 1997 et de 2003 ont été localisées essentiellement au centre et au sud du pays qui ont les plus faibles taux de bovins. Cette hypothèse

paraît donc intéressante à vérifier par d'autres enquêtes de type analytique. Mais, la répartition des bovins dépend aussi, entre autres facteurs de la localisation des zones humides, et donc la présence des bovins peut être tout simplement un facteur de confusion dans ce cas.

Conclusion

Les résultats montrent que le VWN circule dans certaines régions de la Tunisie sans signes cliniques évocateurs de la maladie chez les Équidés (séroconversion récente). Un taux de séroprévalence élevé en IgG (21,7 %) est en faveur d'un risque réel pour l'Homme. Un suivi régulier des animaux de ces régions paraît nécessaire et permettrait d'apprécier la persistance du virus. Dans l'état actuel des études réalisées en Tunisie, les conditions de résurgence du VWN restent à étudier et à comprendre. Les informations actuelles ne permettent pas d'expliquer l'épidémiologie de cette maladie qui pose de nombreuses questions scientifiques. Une détermination des zones à risque à travers une étude touchant un nombre représentatif des différents biotopes de la Tunisie serait d'un grand intérêt. Une surveillance des facteurs de risque pertinents permettrait de déclencher une alerte précoce et mettre en œuvre des mesures préventives. Cela sera possible par la compréhension des facteurs de risque environnementaux conduisant à l'introduction, à l'amplification et à la propagation du virus. Des hypothèses, tel que le rôle protecteur des bovins, doivent être vérifiées. Enfin, il ne faut pas oublier que « le micro-organisme, l'hôte et le vecteur constituent un système biologique complexe qui fonctionne dans un écosystème donné et qui doit être abordé comme un tout indissociable » [23].

Conflit d'intérêt : les auteurs déclarent ne pas avoir de conflit d'intérêt.

Références

- Bahri O, Dhifallah I, Ben Alaya-Bouafif N, et al (2010) Étude séroépidémiologique de la circulation du virus West Nile chez l'Homme en Tunisie. Bull Soc Pathol Exot
- Balenghien T (2007) De l'identification des vecteurs du virus West Nile à la modélisation du risque d'infection dans le sud de la France. Thèse de doctorat Inra-Cirad, 235 p
- Bergaoui R, Sghaier S, Ben Hassen S, Hammami S (2007) La maladie de West Nile chez les Équidés : enquête séroépidémiologique dans six régions de la Tunisie. Communication personnelle, 3^e Journées scientifiques de microbiologie
- Boubaker M (2008) Contribution à l'étude des maladies nerveuses de groupe chez les Équidés en Tunisie. Thèse de doctorat en médecine vétérinaire. Sidi Thabet, Tunisie, 180 p
- Bunning ML, Bowen RA, Cropp CB, et al (2002) Experimental infection of horses with West Nile virus. Emerg Infect Dis 8(4): 380–6
- Cernescu C, Nedelcu NI, Tardei G, et al (2000) Continued transmission of West Nile virus to humans in southeastern Romania 1997–1998. J Infect Dis 181(2):710–2
- Chastel C, Rogues G, Beaucourmu Saguez F, et al (1977) Enquête séroépidémiologique mixte arbovirus–arénavirus chez les petits mammifères de Tunisie. Bull Soc Pathol Exot Filiales 70(5):471–9
- Delfaud A (2004) Infection par le virus West Nile chez les Équidés en Camargue : bilan d'un suivi sérologique (2000–2003). Thèse de doctorat vétérinaire présentée à l'université Claude-Bernard, Lyon-I, 186 p
- Direction générale des services vétérinaires (DGSV) (2006) Rapport de la DGSV de La Tunisie sur l'effectif du cheptel animal
- Durand B, Dauphin G, Zeller H, et al (2005) Serosurvey for West Nile virus in horses in southern France. Vet Rec 157(22):711–3
- El Afsa M (1978) Écologie, phytosociologie, régénération et production des subéraies tunisiennes. Thèse de doctorat, université d'Aix-Marseille-III, faculté des sciences et techniques Saint-Jérôme, 230 p
- Ennajah A, Guibal F, Hanchi B, et al (2010) Croissance radiale du chêne-liège et climat en Tunisie. Sécheresse 21(1):34–41
- Feki I, Marrakchi C, Ben Hmida M, et al (2005) Epidemic West Nile virus encephalitis in Tunisia. Neuroepidemiology 24(1–2): 1–7. Epub 2004 Sep 23
- Goldblum N, Sterk VV, Paderski B (1954) West Nile fever; the clinical features of the disease and the isolation of West Nile virus from the blood of nine human cases. Am J Hyg 59(1):89–103
- Hogrefe WR, Moore R, Lape-Nixon M, et al (2004) Performance of immunoglobulin G (IgG) and IgM enzyme-linked immunosorbent assays using a West Nile virus recombinant antigen (preM/E) for detection of West Nile virus- and other flavivirus-specific antibodies. J Clin Microbiol 42(10):4641–8
- Joubert L, Oudar J, Hannoun C, et al (1970) Épidémiologie du virus West Nile : étude d'un foyer en Camargue. IV. La méningo-encéphalomyélite du cheval. Ann Inst Pasteur (Paris) 118(2):239–47
- Jourdain E (2007) Oiseaux sauvages et virus West Nile : étude écoépidémiologique en Camargue. Thèse de doctorat présentée devant l'université Joseph-Fourier, Grenoble-I, France, 321 p
- Kramer LD, Li J, Shi PY (2007) West Nile virus. Lancet Neurol 6(2):171–81
- Ludwig A (2004) Étude de corrélations entre facteurs climatiques et l'émergence de la fièvre de West Nile en Camargue. Master 2R MRES, Grenoble, Université J. Fourier, 73 p
- Ludwig A, Bicout DJ, Chalvet-Monfray K, Sabatier P (2005) Modélisation de l'agressivité de *Culex modestus*, vecteur potentiel de West Nile en Camargue, en fonction de données météorologiques. Environnement risques & santé 4(2):109–13
- Nabli B, Chippaux-Hyppolite C, Chippaux A, Tamalet J (1970) Enquête sérologique en Tunisie sur les arbovirus. Bull World Health Organ 42(2):297–303
- Panthier R (1968) Épidémiologie du virus West Nile : étude d'un foyer en Camargue. I. Introduction. Ann Inst Pasteur (Paris) 114(4):518–20
- Rodhain F (1985) Transmission vectorielle : aspects actuels des recherches et perspectives. Bull Inst Pasteur 83(3):221–43
- Schuffenecker I, Peyrefitte CN, el Harrak M, et al (2005) West Nile virus in Morocco, 2003. Emerg Infect Dis 11(2):306–9
- Sotelo E, Gutierrez-Guzmán AV, Del Amo J, et al (2011) Pathogenicity of two recent Western Mediterranean West Nile virus isolates in a wild bird species indigenous to Southern Europe: the red-legged partridge. Vet Res 42(1):11
- Toma B, Dufour B, Sanaa M, et al (2001) Épidémiologie appliquée à la lutte collective contre les maladies animales transmissibles majeures. 2^e édition AEEMA, 695 p
- Triki H, Murri S, Le Guenno B, et al (2001) West Nile viral meningo-encephalitis in Tunisia. Med Trop 61(6):487–90