



**HAL**  
open science

## Le virus West Nile

Samuel Voisin

► **To cite this version:**

| Samuel Voisin. Le virus West Nile. Sciences pharmaceutiques. 2020. hal-03298137

**HAL Id: hal-03298137**

**<https://hal.univ-lorraine.fr/hal-03298137v1>**

Submitted on 23 Jul 2021

**HAL** is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.



## AVERTISSEMENT

Ce document est le fruit d'un long travail approuvé par le jury de soutenance et mis à disposition de l'ensemble de la communauté universitaire élargie.

Il est soumis à la propriété intellectuelle de l'auteur. Ceci implique une obligation de citation et de référencement lors de l'utilisation de ce document.

D'autre part, toute contrefaçon, plagiat, reproduction illicite encourt une poursuite pénale.

Contact : [ddoc-thesesexercice-contact@univ-lorraine.fr](mailto:ddoc-thesesexercice-contact@univ-lorraine.fr)

## LIENS

Code de la Propriété Intellectuelle. articles L 122. 4

Code de la Propriété Intellectuelle. articles L 335.2- L 335.10

[http://www.cfcopies.com/V2/leg/leg\\_droi.php](http://www.cfcopies.com/V2/leg/leg_droi.php)

<http://www.culture.gouv.fr/culture/infos-pratiques/droits/protection.htm>



UNIVERSITÉ  
DE LORRAINE



FACULTÉ  
DE PHARMACIE

**UNIVERSITE DE LORRAINE  
2020**

---

**FACULTE DE PHARMACIE**

**T H E S E**

**Présentée et soutenue publiquement**

**Le 6 juillet 2020, sur un sujet dédié à :**

**Le virus West Nile**

**Pour obtenir**

**Le Diplôme d'Etat de Docteur en Pharmacie**

**Par Samuel VOISIN**

**Né(e) le 6 décembre 1992**

**Membres du Jury**

**Président :** M. Raphaël Duval, Doyen de la faculté de pharmacie à Nancy

**Juges :** M. Florian Gardeur, Pharmacien  
M. Laurent Faltot, Pharmacien  
M. Mihayl Varbanov, Maître de conférences en bactériologie et virologie.

**UNIVERSITÉ DE LORRAINE**  
**FACULTÉ DE PHARMACIE**  
**Année universitaire 2019-2020**

**DOYEN**

Raphaël DUVAL

**Vice-Doyen**

Julien PERRIN

**Directrice des études**

Marie SOCHA

**Conseil de la Pédagogie**

Présidente, Brigitte LEININGER-MULLER

Vice-Présidente, Alexandrine LAMBERT

**Collège d'Enseignement Pharmaceutique Hospitalier**

Présidente, Béatrice DEMORE

**Commission Prospective Facultaire**

Président, Christophe GANTZER

Vice-Président, Jean-Louis MERLIN

**Commission de la Recherche**

Présidente, Caroline GAUCHER

**Chargés de Mission**

**Communication**

Aline BONTEMPS

**Innovation pédagogique**

Alexandrine LAMBERT

**Référente ADE**

Virginie PICHON

**Référente dotation sur projet (DSP)**

Marie-Paule SAUDER

**Référent vie associative**

Arnaud PALLOTTA

**Responsabilités**

**Filière Officine**

Caroline PERRIN-SARRADO

Julien GRAVOULET

**Filière Industrie**

Isabelle LARTAUD,

Jean-Bernard REGNOUF de VAINS

**Filière Hôpital**

Béatrice DEMORE

Marie SOCHA

**Pharma Plus ENSIC**

Jean-Bernard REGNOUF de VAINS

**Pharma Plus ENSAIA**

Xavier BELLANGER

**Pharma Plus ENSGSI**

Igor CLAROT

**Cellule de Formation Continue et Individuelle**

Luc FERRARI

**Commission d'agrément des maîtres de stage**

François DUPUIS

**ERASMUS**

Mihayl VARBANOV

**DOYENS HONORAIRES**

**PROFESSEURS EMERITES**

Chantal FINANCE  
Francine PAULUS  
Claude VIGNERON

Jeffrey ATKINSON  
Max HENRY  
Pierre LEROY  
Philippe MAINCENT  
Claude VIGNERON

**PROFESSEURS HONORAIRES**

Jean-Claude BLOCK  
Pierre DIXNEUF  
Chantal FINANCE  
Marie-Madeleine GALTEAU  
Thérèse GIRARD  
Pierre LABRUDE  
Vincent LOPPINET  
Alain NICOLAS  
Janine SCHWARTZBROD  
Louis SCHWARTZBROD

**ASSISTANTS HONORAIRES**

Marie-Catherine BERTHE  
Annie PAVIS

**ENSEIGNANTS**

*Section CNU*

\*

*Discipline d'enseignement*

**PROFESSEURS DES UNIVERSITES - PRATICIENS HOSPITALIERS**

Danièle BENSOUSSAN-LEJZEROWICZ	82	<i>Thérapie cellulaire</i>
Béatrice DEMORE	81	<i>Pharmacie clinique</i>
Jean-Louis MERLIN	82	<i>Biologie cellulaire</i>

Jean-Michel SIMON	81	<i>Economie de la santé, Législation pharmaceutique</i>
Nathalie THILLY	81	<i>Santé publique et Epidémiologie</i>

### **PROFESSEURS DES UNIVERSITES**

Ariane BOUDIER	85	<i>Chimie Physique</i>
Christine CAPDEVILLE-ATKINSON	86	<i>Pharmacologie</i>
Igor CLAROT	85	<i>Chimie analytique</i>
Joël DUCOURNEAU	85	<i>Biophysique, Acoustique, Audioprothèse</i>
Raphaël DUVAL	87	<i>Microbiologie clinique</i>
Béatrice FAIVRE	87	<i>Hématologie, Biologie cellulaire</i>
Luc FERRARI	86	<i>Toxicologie</i>
Pascale FRIANT-MICHEL	85	<i>Mathématiques, Physique</i>
Christophe GANTZER	87	<i>Microbiologie</i>
Frédéric JORAND	87	<i>Eau, Santé, Environnement</i>
Isabelle LARTAUD	86	<i>Pharmacologie</i>
Dominique LAURAIN-MATTAR	86	<i>Pharmacognosie</i>
Brigitte LEININGER-MULLER	87	<i>Biochimie</i>
Patrick MENU	86	<i>Physiologie</i>
Jean-Bernard REGNOUF de VAINS	86	<i>Chimie thérapeutique</i>
Bertrand RIHN	87	<i>Biochimie, Biologie moléculaire</i>

### **MAITRES DE CONFÉRENCES DES UNIVERSITÉS - PRATICIENS HOSPITALIERS**

Alexandre HARLE	82	<i>Biologie cellulaire oncologique</i>
Julien PERRIN	82	<i>Hématologie biologique</i>
Loïc REPPEL	82	<i>Biothérapie</i>
Marie SOCHA	81	<i>Pharmacie clinique, thérapeutique et biotechnique</i>

### **MAITRES DE CONFÉRENCES**

Xavier BELLANGER <sup>H</sup>	87	<i>Parasitologie, Mycologie médicale</i>
Emmanuelle BENOIT <sup>H</sup>	86	<i>Communication et Santé</i>
Isabelle BERTRAND <sup>H</sup>	87	<i>Microbiologie</i>
Michel BOISBRUN <sup>H</sup>	86	<i>Chimie thérapeutique</i>
Cédric BOURA <sup>H</sup>	86	<i>Physiologie</i>
Sandrine CAPIZZI	87	<i>Parasitologie</i>
Antoine CAROF	85	<i>Informatique</i>
Sébastien DADE	85	<i>Bio-informatique</i>
Dominique DECOLIN	85	<i>Chimie analytique</i>
Natacha DREUMONT <sup>H</sup>	87	<i>Biochimie générale, Biochimie clinique</i>
Florence DUMARCAY <sup>H</sup>	86	<i>Chimie thérapeutique</i>
François DUPUIS <sup>H</sup>	86	<i>Pharmacologie</i>
Reine EL OMAR	86	<i>Physiologie</i>
Adil FAIZ	85	<i>Biophysique, Acoustique</i>

Anthony GANDIN	87	<i>Mycologie, Botanique</i>
Caroline GAUCHER <sup>H</sup>	86	<i>Chimie physique, Pharmacologie</i>
Stéphane GIBAUD <sup>H</sup>	86	<i>Pharmacie clinique</i>
Thierry HUMBERT	86	<i>Chimie organique</i>
Olivier JOUBERT <sup>H</sup>	86	<i>Toxicologie, Sécurité sanitaire</i>
<b>ENSEIGNANTS (suite)</b>	Section CNU	
	*	<i>Discipline d'enseignement</i>
Alexandrine LAMBERT	85	<i>Informatique, Biostatistiques</i>
Julie LEONHARD	86/01	<i>Droit en Santé</i>
Christophe MERLIN <sup>H</sup>	87	<i>Microbiologie environnementale</i>
Maxime MOURER <sup>H</sup>	86	<i>Chimie organique</i>
Coumba NDIAYE	86	<i>Epidémiologie et Santé publique</i>
Arnaud PALLOTTA	85	<i>Bio analyse du médicament</i>
Marianne PARENT	85	<i>Pharmacie galénique</i>
Caroline PERRIN-SARRADO	86	<i>Pharmacologie</i>
Virginie PICHON	85	<i>Biophysique</i>
Sophie PINEL <sup>H</sup>	85	<i>Informatique en Santé (e-santé)</i>
Anne SAPIN-MINET <sup>H</sup>	85	<i>Pharmacie galénique</i>
Marie-Paule SAUDER	87	<i>Mycologie, Botanique</i>
Guillaume SAUTREY	85	<i>Chimie analytique</i>
Rosella SPINA	86	<i>Pharmacognosie</i>
Sabrina TOUCHET	86	<i>Pharmacochimie</i>
Mihayl VARBANOV	87	<i>Immuno-Virologie</i>
Marie-Noëlle VAULTIER	87	<i>Mycologie, Botanique</i>
Emilie VELOT <sup>H</sup>	86	<i>Physiologie-Physiopathologie humaines</i>
Mohamed ZAIYOU <sup>H</sup>	87	<i>Biochimie et Biologie moléculaire</i>
<b>PROFESSEUR ASSOCIE</b>		
Julien GRAVOULET	86	<i>Pharmacie clinique</i>
<b>PROFESSEUR AGREGE</b>		
Christophe COCHAUD	11	<i>Anglais</i>

<sup>H</sup> Maître de conférences titulaire HDR

\* Disciplines du Conseil National des Universités :

*80 : Personnels enseignants et hospitaliers de pharmacie en sciences physico-chimiques et ingénierie appliquée à la santé*

*81 : Personnels enseignants et hospitaliers de pharmacie en sciences du médicament et des autres produits de santé*

*82 : Personnels enseignants et hospitaliers de pharmacie en sciences biologiques, fondamentales et cliniques*

*85 ; Personnels enseignants-chercheurs de pharmacie en sciences physico-chimiques et ingénierie appliquée à la santé*

*86 : Personnels enseignants-chercheurs de pharmacie en sciences du médicament et des autres produits de santé*

*87 : Personnels enseignants-chercheurs de pharmacie en sciences biologiques, fondamentales et cliniques*

*11 : Professeur agrégé de lettres et sciences humaines en langues et littératures anglaises et anglo-saxonnes*



# **SERMENT DE GALIEN**

**En présence des Maitres de la Faculté, je fais le serment :**

**D'honorer ceux qui m'ont instruit(e) dans les préceptes de mon art et de leur témoigner ma reconnaissance en restant fidèle aux principes qui m'ont été enseignés et d'actualiser mes connaissances**

**D'exercer, dans l'intérêt de la santé publique, ma profession avec conscience et de respecter non seulement la législation en vigueur, mais aussi les règles de Déontologie, de l'honneur, de la probité et du désintéressement ;**

**De ne jamais oublier ma responsabilité et mes devoirs envers la personne humaine et sa dignité**

**En aucun cas, je ne consentirai à utiliser mes connaissances et mon état pour corrompre les mœurs et favoriser des actes criminels.**

**De ne dévoiler à personne les secrets qui m'auraient été confiés ou dont j'aurais eu connaissance dans l'exercice de ma profession**

**De faire preuve de loyauté et de solidarité envers mes collègues pharmaciens**

**De coopérer avec les autres professionnels de santé**

**Que les Hommes m'accordent leur estime si je suis fidèle à mes promesses.**

**Que je sois couvert(e) d'opprobre et méprisé(e) de mes confrères si j'y manque.**

« LA FACULTE N'ENTEND DONNER AUCUNE APPROBATION,  
NI IMPROBATION AUX OPINIONS EMISES DANS LES  
THESES, CES OPINIONS DOIVENT ETRE CONSIDEREES  
COMME PROPRES A LEUR AUTEUR ».

# Remerciements :

J'adresse mes plus sincères remerciements :

## **A mon Directeur de thèse et Président du jury,**

- **Mr. DUVAL**

Je voulais vous remercier d'avoir accepté de diriger et de présider ma thèse, mais également pour vos conseils, votre disponibilité et votre sympathie à mon égard.

Vos conseils et votre expertise ont permis l'aboutissement de cette thèse, que ce travail témoigne de mon respect sincère.

Je vous remercie également pour les cours que vous nous avez données durant mes années étudiantes et pour les connaissances que vous nous avez transmises avec pédagogie et bienveillance.

# A mes juges,

## • Mr. GARDEUR

Je voulais te remercier de m'avoir formé et accueilli au cours de mon premier stage de 6 semaines et merci infiniment de m'avoir fait confiance.

Merci de m'avoir rassuré lors de ce premier stage qui fut pour moi une découverte, je ne connaissais pas du tout cet univers, ce milieu.

Je te remercie de l'honneur que tu me fais en acceptant de participer à mon jury de thèse.

Je te fais part de ma sincère gratitude et de mon profond respect.

Merci de m'avoir formé également pendant mes divers autres stages et de m'avoir transmis ta passion grâce à ta disponibilité et ton attention toujours bienveillante.

Nous avons commencé ensemble lors de mon stage de 2ème année, je suis heureux de finir avec toi avec cette thèse, je te remercie, je suis content de te connaître, ne change pas.

Je te remercie aussi pour cette matinée que vous avons passé à monter un lit dans un escalier en colimaçon et où j'ai pu découvrir le kéfir.

Merci à Léa, Elodie et Liliane bien sûr, pour leurs bienveillance, bonne humeur et conseils.

Grâce à toi j'ai pu rencontrer Laurent.

## • Mr. FALTOT

Nous nous sommes rencontrés grâce ou à cause de Florian, lorsqu'un été il ne pouvait m'accueillir dans son officine.

Etant un peu réservé je n'étais pas des plus ravis de cette nouvelle, mais j'ai franchi le pas, et je ne regrette rien. J'ai pu te découvrir, et comme Florian je te remercie de ta disponibilité et de ton attention toujours bienveillante à mon égard (même si j'y ai laissé du sang).

Merci de m'avoir permis de rencontrer l'amour de ma vie chez toi, malgré le fait qu'il soit impossible, pour moi l'âge n'est pas important, mais pour elle si.

Merci à Stéphanie, pour nos échanges, son sourire qui ne la quitte jamais, sa bonne humeur et ses conseils.

J'aurais bien mis mon fameux t-shirt, celui que tu aimes tant, et qui t'as particulièrement marqué pour te faire un clin d'œil, mais je ne pense pas qu'il soit des plus appréciés ici.

Je te remercie de l'honneur que tu me fais en acceptant de participer à mon jury de thèse.

Je te fais part de ma sincère gratitude et de mon profond respect.

- **Mr. VARBANOV**

Je voulais vous remercier d'avoir accepté de faire partie de mon jury pour cette thèse, votre domaine étant l'étude des virus et des bactéries comme le Professeur Duval, j'ai immédiatement pensé à vous.

Je vous remercie également pour les cours que vous nous avez donné durant mes années étudiantes, que ce soit en cours magistraux ou durant les différents TP et TD. Merci pour les connaissances que vous nous avez transmises avec pédagogie et bienveillance.

Merci également d'avoir été un bon camarade de classe sur la fin de mes études, toujours souriant et serviable.

# A ma famille

Je vous remercie d'avoir toujours été là, pour tout.

- **Papa, Maman, Alexis, Océane, Mémère, Robert, Tata.**

Je vous remercie d'avoir toujours été là pour moi, de m'avoir toujours soutenu, de m'avoir encouragé dans tout ce que l'on pouvait entretenir.

Voir la fierté dans vos yeux est pour moi la plus belle récompense, je vous remercie de m'avoir élevé et de m'avoir transmis de bonnes valeurs, la curiosité, la politesse, le respect.

Pour m'avoir permis de me construire, d'avoir fait ce que je suis aujourd'hui, malgré vos maladresses que je ne citerai pas ici, pour ne pas vous faire honte, et même si on ne se le dit pas, je sais que je pourrais toujours compter sur vous et inversement.

Merci pour votre écoute et votre soutien dans les moments de doute, pour les discussions téléphoniques, pour les sorties au match, pour les « bibines de seigneurs » etc. pour tous les bons moments que j'ai pu passer avec chacun d'entre vous. Tous ces moments sont très précieux pour moi.

Merci de m'avoir donné les moyens de suivre ce long cursus, il n'y aura jamais assez de « merci », ni de mots assez forts pour vous témoigner ma reconnaissance, sans vous je n'en serais pas là aujourd'hui.

Robert tu es pour moi, mon grand-père de cœur, merci de ta gentillesse et de ton soutien depuis le début, et pendant tout ce temps, merci de veiller sur mémère chaque jour. Merci de la rendre heureuse.

Je n'aurais pas pu avoir mieux sans vous, vous êtes pour moi exemplaire, pour toutes les belles choses que vous m'avez apportées.

Tata, je voulais également te remercier de ta présence, tu as toujours été là pour nous et ce depuis le début. Tu as également joué un rôle dans ma réussite, alors pour ça merci. J'aurai également voulu remercier tonton pour tout ce qu'il a fait, pour m'avoir prêté son livre sur les champignons qui m'as été utile pour réussir mes examens.

Je vous remercie, que cette thèse témoigne de mon amour, je vous aime.

## MERCI pour tout.

Alban, Brice, Léo, Matthieu, Virgile, Thomas , Philippe, Mélanie B, Marie D, Steven, William, Clara, Julien B, Jimmy, Jeffrey, Christian, Mélanie T, Ossama je voulais vous remercier d'avoir été là durant toute ma scolarité ou à certains moments de celle-ci que ce soit à Nancy à la fac, ou chez « castro » , « will » , « jimmojito » pour certaines soirées à thème, à l'hôtel de la Reine avec la clique ou à Reims.

Ces études furent longues, mais à vos côtés celles-ci ont parues plus courtes et agréables.

Pour avoir rendu ces années d'études si agréables et finalement trop courtes. Pour nos soirées mémorables Je vous remercie.

Une pensée pour tous les gens formidables que j'ai eu la chance de rencontrer et que j'ai pu oublier de citer.

- **Mme KALINOWSKY**

Merci d'avoir accepté de m'accueillir dans votre officine et de m'avoir fait confiance lors de mon stage de 6ème année, j'en garde un bon souvenir.

Merci également à Claire qui m'as pris sous son aile, et qui a su me transmettre sa passion pour les huiles essentielles, ainsi que pour sa bonne humeur au quotidien.

Et à Christine pour m'avoir inculqué sa phobie de l'ordre alphabétique.

- **Mme VUIART**

Merci de m'avoir accueilli dans votre officine et de m'avoir confié des tâches aussi nombreuses que diverses, me permettant de voir tous les aspects du métier de pharmacien.

Merci également à l'équipe, Pierre qui a toujours répondu présent lorsque j'en avais le besoin, qui m'as appris énormément de choses durant la période où j'ai été rémois, que ce soit professionnellement ou personnellement, toujours de bonne humeur, que dieu te garde et te protège.

Merci Arsène, Cynthia, aux 2 Catherine pour leur bonne humeur, conseils et aussi aux étudiants Ossama « oss l'enfoiré », Julien, Nathan, Adrien, Bérénice et Inès.

À mes maîtres en Pharmacie, Mr GARDEUR, Mr FALTOT, Mr. ALLARD, Mme KALINOWSKY et Mme VUIART, je vous suis extrêmement reconnaissant de m'avoir fait découvrir et aimer la Pharmacie.

Aux médecins, infirmières, aides-soignantes, secrétaires, autres professionnels et à « mes gars » que j'ai eu le plaisir de côtoyer lors de mon stage de 5<sup>ème</sup> année à Mercy et lors de ma formation.



## Sommaire

Sommaire .....	xv
Table des figures.....	xix
Table des tableaux.....	xxi
Liste des abréviations .....	xxiii
<b>Introduction</b> .....	1
<b>A. Vecteur du virus West Nile</b> .....	3
<b>1. Moustique adulte</b> .....	3
<b>2. Le vecteur</b> .....	6
<b>3. Réservoirs du virus</b> .....	11
<b>4. Acquisition de la virémie</b> .....	16
<b>5. Cycle de transmission</b> .....	17
<b>B. Virus West Nile</b> .....	21
<b>1. Agent pathogène</b> .....	21
<b>2. Structure et propriétés physico chimiques</b> .....	25
1. Structure génomique et antigénique .....	25
2. Les régions non codantes .....	26
<b>2.1 L'extrémité 5'</b> .....	26
<b>2.2 L'extrémité 3'</b> .....	26
<b>2.3 ARN subgénomique de Flavivirus</b> .....	26
3. Les protéines structurales .....	26
<b>3.1 La protéine C de capsid</b> .....	26
<b>3.2 La protéine M de membrane</b> .....	27
<b>3.3 La protéine E d'enveloppe</b> .....	29
Le domaine I (E-DI) .....	29
Le domaine II (E-DII) .....	29
Le domaine III (E-DIII) .....	29
4. Les protéines Non-Structurales .....	30
<b>4.1 La protéine NS1</b> .....	30
<b>4.2 Les protéines NS2A et NS2B</b> .....	30
<b>4.3 La protéine NS3</b> .....	31
<b>4.4 Les protéines NS4A, 2K et NS4B</b> .....	31
<b>4.5 La protéine NS5</b> .....	32
5. Entrée du virus dans les cellules humaines.....	33
<b>3. Pathogenèse</b> .....	35
<b>4. Etude clinique</b> .....	36
1. L'examen clinique .....	36

1.1 Période d'incubation .....	36
1.2 Période de contagion .....	37
1.3 Symptômes .....	37
<b>5. Mutations.....</b>	<b>38</b>
<b>7. Rôle de l'immunité innée.....</b>	<b>40</b>
1. Interaction du Virus West Nile avec le système TLR .....	40
2. Interaction du virus West Nile avec le système RLR .....	41
3. Autres réponses cytokines .....	41
4. Rôle des cellules immunitaires dans la réponse innée.....	42
5. Le rôle des lymphocytes T dans l'infection à Virus West Nile.....	42
<b>8. La réponse immunitaire humorale .....</b>	<b>43</b>
<b>9. Mécanismes d'évasion du virus West Nile au système immunitaire de l'hôte.....</b>	<b>43</b>
1. NS1.....	43
2. NS2A.....	44
3. NS4B.....	44
4. NS5.....	44
<b>10. Réponse immunitaire cellulaire .....</b>	<b>44</b>
<b>11. Déterminants génétiques de la maladie .....</b>	<b>47</b>
<b>C. Diagnostic de la pathologie .....</b>	<b>51</b>
<b>1. Diagnostic.....</b>	<b>51</b>
1. Critères de diagnostic.....	51
2. Diagnostic positif .....	53
2.1 Analyses biologiques directes .....	54
2.2 Analyses biologiques indirectes.....	54
2.3 Réaction croisée sérologique.....	56
2.4 Persistance des anticorps IgM.....	56
2.5 Persistance des IgG et des anticorps neutralisants .....	56
2.6 Essais sérologiques .....	57
2.7 Isolement du virus .....	57
2.8 Dépistage de sécurité du sang et des organes.....	57
2.9 La technique RT-PCR en temps réel .....	58
2.10 Le test de réaction de détection multiplex PCR-ligase.....	59
2.11 La technique basée sur la RT-PCR à l'échelle du génome .....	59
2.12 Le test de séroneutralisation par réduction des plages de lyse.....	59
2.13 Le test de dosage immuno-enzymatique (EIA) par détection des IgM spécifiques .....	60
2.14 Le test de dosages immuno-enzymatiques indirect IgG .....	60

2.15	<b>Le test de dosages immuno-enzymatiques bloquant les épitopes</b> .....	60
3	Diagnostic différentiel : .....	61
<b>D.</b>	<b>Traitement et piste thérapeutique</b> .....	63
1.	<b>Traitement</b> .....	63
2.	<b>Traitement curatif et conseils associés</b> .....	63
3.	<b>Approches thérapeutiques</b> .....	65
4.	<b>Traitement préventif</b> .....	65
1.	Protection contre les piqûres de moustiques.....	66
1.1	<b>On peut également leurs conseiller de porter des vêtements clairs</b> .....	66
1.2	<b>L'utilisation de répulsifs</b> .....	66
1.3	<b>Utilisation d'insecticide</b> .....	71
1.4	<b>Répulsives synthétiques</b> .....	77
1.5	<b>Huiles essentielles</b> .....	80
2.	Contrôler le vecteur (moustique) .....	81
2.1	<b>Utilisation de biocide</b> .....	81
2.2	<b>Utilisation de moustiquaire</b> .....	82
2.3	<b>Mesures d'appoint pour contrôler les vecteurs</b> .....	83
2.4	<b>Epannage aérien et utilisation de larvicide</b> .....	84
2.5	<b>Utilisation de microorganisme</b> .....	86
<b>E.</b>	<b>La situation épidémiologique</b> .....	89
1.	<b>Historique</b> .....	89
2.	<b>La veille sanitaire</b> .....	96
1	La surveillance Sanitaire .....	96
2	Le renforcement de la surveillance humaine .....	98
3	Le renforcement de la surveillance équine .....	99
-	La surveillance équine .....	99
4	Le renforcement de la surveillance de l'avifaune .....	100
-	.....	100
5	La surveillance entomologique .....	101
3.	<b>Surveillance des produits sanguins, et produits humains</b> .....	102
1.	Sécurité des produits sanguins labiles .....	102
-	Cette alerte sera gérée en trois temps .....	103
1.1	<b>Dans un premier temps</b> .....	103
1.2	<b>Dans un second temps</b> .....	103
1.3	<b>Dans un troisième temps</b> .....	104
4.	<b>Diverses documentations pour informer et signaler une infection à virus West Nile</b> ....	104
5.	<b>Surveillance épidémiologique de 2011 à 2017</b> .....	112

<b>6. Dispositif national de surveillance pérenne</b> .....	113
1. Dispositif de surveillance saisonnière .....	113
<b>7. L'évolution de l'épidémie</b> .....	113
1. L'évolution temporelle.....	113
2 La distribution spatiale .....	120
<b>F. Rôle du Pharmacien</b> .....	125
1. Rôle du pharmacien au niveau local .....	125
2. Conseil pour prise en charge des symptômes.....	126
1. En homéopathie (78,79) .....	126
2. En aromathérapie (78–83) .....	127
Conclusion.....	129
<b>G. Bibliographie</b> .....	131
<b>H. Annexe :</b> .....	141
<b>RESUME :</b> .....	150

## Table des figures

Figure 1 « Photographie de moustique Culex mâle à gauche et de moustique Culex femelle à droite (9). » ..	3
Figure 2 « Schéma représentant le mode de transmission du virus West Nile entre le vecteur et les différents hôtes (17). » .....	18
Figure 3 « Classification des différents virus du genre Flavivirus (22). » .....	23
Figure 4 « Schéma regroupant les différentes lignées du virus West Nile (23). ».....	24
Figure 5 « Structure de la particule virale WNV » (17). » .....	25
Figure 6 « Maturation des virions par clivage protéasique Furine-dépendant de prM/M (17). » .....	28
Figure 7 « Organisation génomique du WNV. (17) » .....	33
Figure 8 « Schéma représentant le mécanisme d'endocytose d'une particule virale et son évolution dans la cellule d'un hôte. (18) » .....	35
Figure 9 « Echelle temporelle de la contamination, montrant l'évolution clinique et le diagnostic biologique (5). » .....	37
Figure 10 « Représentation schématique des différentes voies d'entrée du virus West Nile dans le système nerveux central (17). » .....	46
Figure 11 « Incidence des cas neuro invasives dû à virus West Nile sur la période 1999 à 2018 en fonction de l'âge (29). » .....	48
Figure 12 « Graphique présentant l'évolution des IgM et des IgG, de la virémie et de l'ARN viral en fonction du temps (18). » .....	55
Figure 13 « Arbre décisionnel pour choisir un répulsif cutané chez enfant (1). » .....	75
Figure 14 « Arbre décisionnel pour choisir un répulsif cutané chez la femme enceinte (1). » .....	76
Figure 15 « Exemple de briquette de larvicide (50). » .....	87
Figure 16 « Incidence des formes neurologique par comté aux Etats-Unis de 1999 à 2004 (17). » .....	91
Figure 17 « Distributions des cas d'infections à virus West Nile chez les humains et les chevaux, rapportés dans l'union Européennes en 2016 (55). » .....	93
Figure 18 « Distributions des cas d'infections à virus West Nile chez les humains et les chevaux, rapportés dans l'union Européennes en 2017 (52). » .....	95

Figure 19 « Exemple de veille mis en place en 2016, circuit de signalement (58). » .....	105
Figure 20 « Conseils aux laboratoires pour l'envoi des échantillons de sang aux LCS à Marseille (60). »...	106
Figure 21 « Fiche de renseignements (61). » .....	107
Figure 22 « Distributions des cas d'infections à virus West Nile chez les humains et les chevaux, rapportés dans l'union Européennes en 2018 (58). » .....	116
Figure 23 « Incidence des maladies neuro invasives dû au virus West Nile en 2019 en fonction des différents états des Etats-Unis (67). » .....	117
Figure 24 « Recensement des cas d'infections aux Etats-Unis en fonction des états en 2019 (68). » .....	118

## Table des tableaux

Tableau I « Les différences entre les moustiques du type Anophèles, Aedes et Culex, concernant l’habitat, l’horaire des piqûres, le mode de piqûre, le type de vol et l’aspect de la piqûre (1). » .....	4
Tableau II « Liste des espèces de moustiques chez lesquelles le virus West Nile a été détecté sur la période 1999 à 2016 aux États-Unis (15). » .....	10
Tableau III « Liste des espèces d’oiseaux morts chez lesquelles le virus West Nile a été détecté sur la période 1999 à 2016 (16). » .....	12
Tableau IV « Facteurs de l’hôte modulant l’intégrité de la barrière hémato-encéphalique (17). ».....	46
Tableau V « Les différents outils de diagnostic de laboratoire en fonction des problèmes cliniques (34). ».	53
Tableau VII « Liste non exhaustif des répulsifs recommandés pour la protection contre les piqûres de moustiques et la posologie adaptée (43). » .....	68
Tableau VIII « Taux de mortalité attendue à 100% en fonction de la concentration, du temps et des molécules chimiques pour le test « bio-essai en bouteille » (44). » .....	72
Tableau IX « Nombre maximal d’utilisation par jour des différentes molécules répulsives cutanées dans des zones à risques de maladies à transmission vectorielle, en fonction de l’âge et de la population (39). » .....	74
Tableau X « Absorption, métabolisme et élimination chez le rat des différentes molécules de répulsif (1). » .....	79
Tableau XI « Symptômes d’intoxication aiguë chez le rat et les doses létales 50, par voie orale et par voie cutanée des différentes molécules de répulsif (1). » .....	80
Tableau XII « Molécules autorisées et non autorisées par l’ECHA (45). » .....	81
Tableau XIII « Liste des moustiquaires imprégnées recommandées par l’OMS depuis 2012 (1). » .....	83
Tableau XIV « Possibilité d’effectuer un traitement phytosanitaire en fonction de la vitesse moyen du vent en km/h (47). » .....	85
Tableau XV « Nombres des principaux épisodes d’infection à virus West Nile dans les pays de l’Union Européenne et les pays voisins, en fonction des années (54). » .....	93
Tableau XVI « Cas à Virus West Nile et décès associés, en fonctions des années et du caractère neuro-invasif de la maladie, de la période 1999 à 2016 (17). » .....	96

Tableau XVII « Cas à virus West Nile et mort associée en fonction du caractère neuro-invasif de la maladie et des donneurs de sang virémiques présumés en 2019 (77). » .....120



## Liste des abréviations

<b>AA</b>	Acides aminés
<b>AChE</b>	Enzyme acétylcholinestérase
<b>AMPs</b>	« Antimicrobial peptides » (Peptide antimicrobien)
<b>ANPEP</b>	« Alanyl aminopeptidase » (alanine aminopeptidase)
<b>ANSES</b>	Agence nationale de sécurité sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et du travail
<b>ARN</b>	Acide ribonucléique
<b>ARS</b>	Agence régionale de santé
<b>BHE</b>	Barrière hémato-encéphalique
<b>Bti</b>	Bacillus thuringiensis serotype israelensis
<b>CIRE</b>	Cellules d'intervention en région
<b>CNR</b>	Centre national de référence
<b>CSFs</b>	« colony-stimulating factors » ( facteurs de stimulation des colonies)
<b>DC-SIGN</b>	« Dendritic cell-Specific intercellular adhesion molecule-3-Grabbing Nonintegrin » (Molécule d'adhésion intercellulaire spécifique aux cellules dendritiques non-intégrine)
<b>DC-SIGNR</b>	« Dendritic cell-Specific intercellular adhesion molecule-3-Grabbing Nonintegrin Receptor » (Récepteur de la molécule d'adhésion intercellulaire spécifique aux cellules dendritiques non-intégrine)
<b>DDCSPP</b>	Direction Départementale de la Cohésion Sociale et de la Protection de la Population
<b>DDPP</b>	Directions départementales chargées de la protection des populations

<b>DGAI</b>	Direction générale de l'Alimentation
<b>DGS</b>	Direction générale de la Santé
<b>ECDC</b>	« European centre for disease prevention and control » (Centre européen de prévention et contrôle des maladies)
<b>ECHA</b>	« European chemical agency » (Agence européenne des produits chimiques)
<b>EDTA</b>	Acide éthylènediaminetétraacétique
<b>ELISA</b>	« Enzyme-Linked ImmunoSorbent Assay » (technique de dosage d'immunoabsorption par enzyme liée)
<b>EPA</b>	« Environmental Protection Agency » (Agence américaine de protection de l'environnement)
<b>ERO</b>	Espèces réactives de l'oxygène
<b>GTAase</b>	Guanosine TriPhosphate
<b>HLA</b>	« Human leukocyte antigen » (antigènes des leucocytes humains)
<b>IFA</b>	« immunofluorescence assays » (Test immunofluorescence)
<b>IFITM</b>	« interferon induced transmembrane protein » (protéine transmembranaire 1 induite par l'interféron)
<b>IgG</b>	Immunoglobuline de type G
<b>IgM</b>	Immunoglobuline de type M
<b>IHC</b>	Immunohistochimie
<b>INFLR</b>	« IFN- $\lambda$ receptor » (récepteur de l'interféron $\lambda$ )
<b>IR3535</b>	Butylacétylaminopropanoate d'éthyle

<b>IRF</b>	« Interferon regulatory factors » (facteurs régulateurs de l'interféron)
<b>KDa</b>	Kilo Dalton
<b>LCR</b>	Liquide céphalo-rachidien
<b>LCS</b>	Liquide céphalo-spinal
<b>LNR</b>	Laboratoire national de référence
<b>MAVS</b>	« Mitochondria antiviral-signaling protein » (La protéine de signalisation antivirale mitochondriale)
<b>MDA-5</b>	« Melanoma differentiation-associated protein 5 » (protéine 5 associée à la différenciation des mélanomes)
<b>MIA</b>	Microsphere-based immunoassays (immuno-essais sur billes)
<b>MyD88</b>	« Myeloid differentiation primary response 88 » (réponse primaire de différenciation myéloïde 88)
<b>NAbs</b>	Anticorps neutralisants
<b>NS</b>	Non structural
<b>NTPase</b>	Nucleotide Phosphatase
<b>OAS</b>	2'5'-Oligoadénylate Synthétase
<b>OFB</b>	Office français de la biodiversité
<b>OIE</b>	Organisation Mondiale de la Santé Animale
<b>OMS</b>	Organisation Mondiale de la Santé
<b>PAMP</b>	« Pathogen-associated molecular pattern » (Motif moléculaire associé aux pathogènes)
<b>PFU</b>	« Plaque forming units » ( <u>unité formant plages</u> )

<b>Pkr</b>	proteine kinase
<b>PMDRBO</b>	<i>P</i> -menthane-3,8-diol
<b>PMN</b>	« Polymorphonuclear <i>neutrophils</i> » ( <i>Polymorphonucléaires</i> neutrophile)
<b>PRNT</b>	Test de neutralisation par réduction de la plaque
<b>PSN</b>	Polymorphismes d'un seul nucléotide
<b>RFC1</b>	Replication Factor C Subunit 1
<b>RIG-I</b>	« Retinoic acid inducible gene I » (gène-I inducible par l'acide rétinoïque)
<b>RLRs</b>	« RIG-I like receptors » (récepteurs de type RIG-I)
<b>RNase L</b>	Ribonucléase L
<b>RTPase</b>	ARN Triphosphatase
<b>RT-PCR</b>	« Reverse Transcriptase-Polymerisation Chain Reaction » (La réaction de polymérisation en chaîne par transcription inverse)
<b>SCN1a</b>	« Sodium voltage-gated channel alpha subunit 1 » (canal sodium, voltage-dépendant, type I, sous-unité alpha)
<b>sfRNA</b>	« Subgenomic flaviviral RNA » (ARN sous-génomique de flavivirus)
<b>SNP</b>	« Single Nucleotide Polymorphism » (polymorphismes mononucléotidique)
<b>TLR</b>	« Toll-like receptors » (récepteurs de type Toll)
<b>Treg</b>	Lymphocytes T régulateurs
<b>TRIF</b>	« TIR containing adaptor-inducing IFN $\beta$ » (L'interféron $\beta$ induisant l'adaptateur contenant le domaine TIR)

**USDA** « United States Department of Agriculture » (Département de l'Agriculture des États-Unis)

**Xrn1** 5'-3' exoribonuclease 1

## **Introduction**

Le virus West Nile est un arbovirus, il est transmis par un arthropode hématophage et fait partie de la famille des *Flaviviridae* du genre *flavivirus* (1).

Le virus West Nile est une zoonose selon la Commission Européenne n°2009/312/EC (2,3). C'est une maladie infectieuse et qui est transmissible d'un animal à un Homme, mais la réciproque est vraie aussi. Cette maladie qui peut être transmise de l'Homme à l'animal, est quand même une zoonose. Cette infection par le virus West Nile est transmise à l'Homme *via* une piqûre du moustique, ce sont principalement les moustiques du genre *Culex*, qui vont inoculer ce pathogène en France (4).

Le virus West Nile a été isolé chez environ 75 espèces de moustiques à travers le monde dont (5) :

- *Aedes albopictus*
- *Aedes japonicus*
- *Aedes vexans*
- *Ochelrotatus triseriatus*

Ce virus est maintenu dans la nature *via* un cycle dit enzootique (cette maladie va toucher une ou plusieurs espèces animales et ce dans une même région), ce qui permet d'entretenir le virus dans un environnement restreint. Ce virus implique une transmission entre les moustiques et les oiseaux dans cet environnement (5). La survenue plus ou moins importante des moustiques dans une région peut être favorisée par plusieurs facteurs environnementaux : les pluies abondantes, les irrigations, les eaux stagnantes ou encore des températures extérieures élevées (5).

Pour commencer le cycle enzootique (5) :

- Un oiseau sain est piqué par un moustique porteur du virus West Nile.
- Cet oiseau devient également porteur du virus à la suite de cette piqûre.
- Si cet oiseau est piqué par un moustique sain, alors ce moustique sera également infecté, et pourra transmettre le virus à d'autres oiseaux.

Ce sont les oiseaux migrateurs qui permettent la dispersion du virus à travers plusieurs pays et ce bien que le virus dépende d'un cycle enzootique. Un oiseau migrateur sera infecté lorsqu'il volera au-dessus, ou s'arrêtera, dans une zone touchée par ce virus et le transmettra aux moustiques d'une autre région par la suite lors de sa migration. Les oiseaux ont le rôle d'animaux réservoirs pour ce virus (5).

Ce sont les moustiques femelles qui transmettent le virus West Nile à l'Homme après avoir piqué un oiseau porteur du virus. Les moustiques masculins ne piquant pas l'Homme (6).

Les humains et les chevaux ne peuvent pas transmettre le virus aux moustiques, ils sont considérés comme des impasses épidémiologiques. Ils ne présenteront pas une virémie suffisamment élevée, un moustique sain ne pourra pas se contaminer à la suite d'une piqûre. Cependant, même si les humains présentent une faible virémie, des infections par intermédiaire de produits de santé d'origine humaine ont déjà été signalées (contamination transplacentaire ou bien par allaitement maternel également) (3,5,7).

L'infection par le virus West Nile est asymptomatique dans 80% des cas, cela signifie qu'il ne provoque pas de symptômes chez la personne infectée. Cependant, ce virus sera symptomatique dans 19-20% des cas et pourra provoquer des symptômes pseudo-grippaux (de la fièvre, des maux de tête, douleurs musculaires, toux, gonflement de ganglions, détresse respiratoire et des courbatures) (5,8). Dans sa forme la plus grave (présente chez moins de 1% des personnes infectées) le virus pourra provoquer des atteintes neurologiques, dont la méningite, l'encéphalite, une paralysie aiguë, et pourra même s'avérer létal. À la suite de ces atteintes neurologiques graves, des complications peuvent survenir, comme des cas de Parkinson, des myalgies et des dépressions. Ces formes neurologiques vont principalement affecter les personnes fragiles immunitairement (dont les jeunes enfants et les personnes âgées). De rares cas d'hépatites, de pancréatites et de myocardites, ont pu être signalés (5,8).

Actuellement la meilleure méthode de ne pas se faire contaminer par le virus West Nile est de ne pas se faire piquer (5).

## A. Vecteur du virus West Nile

### 1. Moustique adulte

Il faut différencier les différents types de moustiques : *Culex*, *Anophèle* et *Aedes*. Ils vont chacun être responsable et vecteur de maladies différentes : *Anophèle* pour le paludisme et *Aedes* pour la dengue, le chikungunya et Zika. Les moustiques appartenant au genre *Culex* sont surnommés « moustiques domestiques ». Ils peuvent transmettre de nombreuses maladies *via* des virus, comme le virus West Nile, le virus Usutu ou le virus de l'encéphalite japonaise. Ces moustiques *Culex* mesurent entre 5 et 7 mm de long et ont des ailes qui dépassent légèrement de l'abdomen qui lui est brun et annelé. Le corps des femelles peut, et va se déformer, lorsqu'il va se gorger de sang après avoir piqué un hôte (Figure 1).

Le vecteur responsable de la transmission du virus West Nile est un moustique qui appartient à l'ordre des *diptères*, du sous-ordre des *nématocères*, et de la famille de *culicidae* (*Diptères* pour deux ailes, *nématocères* pour antennes longues, et *culicidae* pour corps fusiforme recouvert d'écailles) (1).

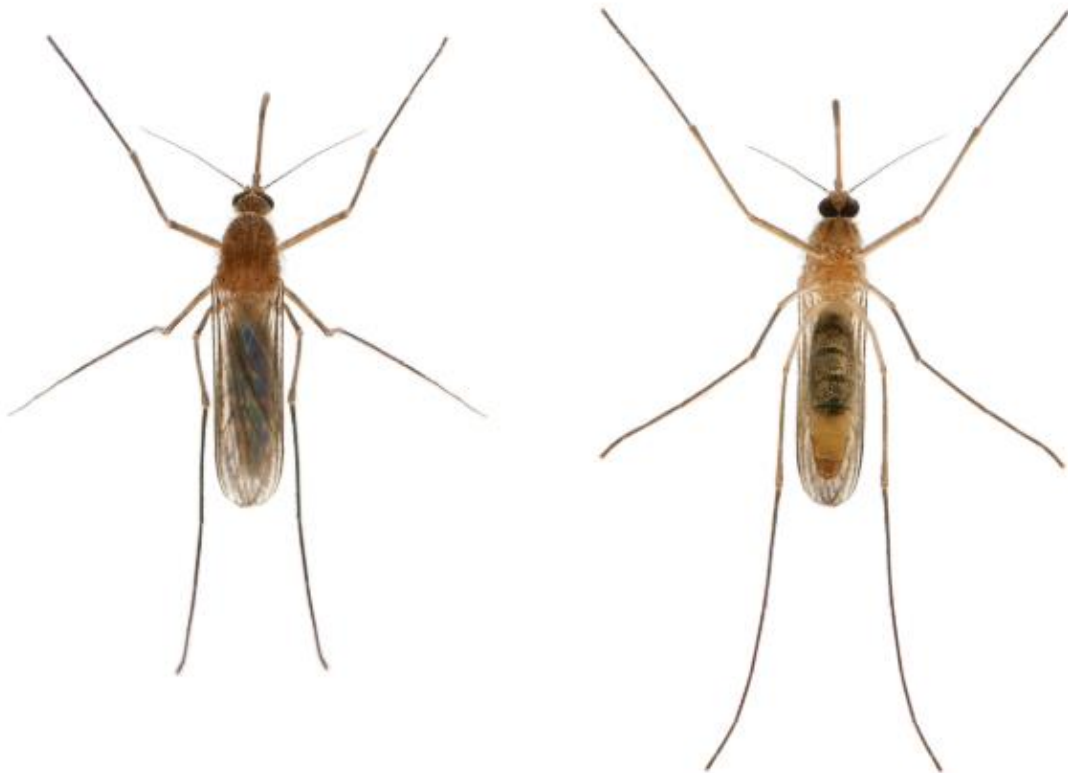


Figure 1 « Photographie de moustique *Culex* mâle à gauche et de moustique *Culex* femelle à droite (9). »



Ces moustiques vont apprécier les eaux chaudes et stagnantes à l'ombre mais également les mares et les fossés intra forestiers. Ils piquent lorsque la lumière du jour commence à décliner. Ils sont reconnaissables des *Anophèles* par leur vol bruyant et différenciables des *Aedes* par leurs horaires de piqûres. Il est primordial d'éliminer les gîtes larvaires de notre habitat et de notre environnement. Ces gîtes prennent vie dans la moindre source d'eau stagnante (gouttières, soucoupes, pneus), ce sont ces endroits que les femelles choisissent pour pondre leurs œufs (Tableau I) (1).

Tableau I « Les différences entre les moustiques du type *Anophèles*, *Aedes* et *Culex*, concernant l'habitat, l'horaire des piqûres, le mode de piqûre, le type de vol et l'aspect de la piqûre (1). »

<b>Différences</b>	<b><i>Anopheles</i></b>	<b><i>Aedes</i></b>	<b><i>Culex</i></b>
<b>Habitat préférentiel</b>	Préférentiellement rural mais également péri-urbain ou urbain surtout en Afrique	Variable selon les espèces, mais parfois strictement urbain	
<b>Horaire des piqûres</b>	Nocturne (mais espèces crépusculaires en Amérique du Sud)	Diurne	Nocturne
<b>Mode de piqûre</b>	En une fois	Harcèle son hôte jusqu'à avoir pris un repas complet	Ordinairement, en une fois
<b>Type de vol</b>	Silencieux	Bruyant	
<b>Aspect de la piqûre</b>	Non douloureuse, peu de signes inflammatoires	Sensible avec signes inflammatoires plus ou moins importants	

La classification des moustiques du genre *Culex pipiens* (10) :



## 2. Le vecteur

Le vecteur est un insecte hématophage. Il va se nourrir de sang et il va assurer la transmission d'un agent pathogène présent chez un hôte infecté vers un hôte sain lors d'un nouveau repas sanguin (1).

Le cycle de vie de ce vecteur est assez court. Après que la femelle a été fécondée, elle part à la recherche d'un repas sanguin afin de fournir les différents nutriments nécessaires à la maturation de ses œufs. À la suite de ce repas (trois jours après environ), la femelle est prête à pondre ses œufs. Elle cherche alors un lieu propice au développement de ses œufs, essentiellement des lieux humides, riches en matières organiques. En général ces lieux sont créés par l'Homme (piscine, pneu usagé, soucoupe de pot de fleur, poubelle etc.). La femelle n'aura besoin d'être fécondée qu'une seule fois pour pouvoir pondre à plusieurs reprises dans sa vie, elle dispose d'un système de stockage des spermatozoïdes. La femelle vit environ deux mois et elle va pondre environ 5 fois durant sa vie (1).

Il y a deux périodes durant le cycle de développement du moustique :

- Période en milieu aquatique
- Période aérienne
  
- La période aquatique est caractérisée par le développement de la larve et par le développement de la nymphe. Durant cette phase aquatique, l'eau doit avoir une température précise et être stagnante.
- La période aérienne est caractérisée par l'atteinte du stade final du moustique.

Avant d'atteindre leurs tailles adultes, les larves vont subir deux métamorphoses. Ce développement dure entre 6 et 12 jours, ce qui va influencer la durée du cycle ce sont les conditions environnementales (1).

Le moustique quatre stades de développement au cours de son évolution : œuf, larve, nymphe, adulte.

- Œufs : ils sont fusiformes et mesurent 1 mm environ, au moment de la ponte ils ont une couleur blanche assez claire et vont s'assombrir petit à petit avec le temps.

Ils sont pondus en surface du milieu aquatique. Le fait que ce milieu soit stagnant est primordial pour le bon développement de ces œufs. Les œufs ont une période d'incubation qui peut durer jusqu'à 48 h. Une fois cette période passée, les œufs vont éclore par la partie inférieure (1).

- Larves : elles ont quatre stades d'évolution, elles vont passer d'une taille de 2 mm à 12 mm. Elles respirent par un siphon qui se situe à l'extrémité de leur abdomen. Les larves vont se nourrir de matière organique présente dans l'eau par un phénomène de filtration de l'eau. L'évolution de la larve va dépendre de plusieurs facteurs, dont la température, s'il fait chaud, la transformation se fera rapidement en quelques jours (de 6 à 12 jours), mais s'il fait froid, l'évolution peut mettre plusieurs mois à se réaliser (1).
- Nymphe : ce stade d'évolution se situe entre le stade de larve et celui d'adulte. La larve va subir une lyse de ses muscles, le développement va se poursuivre avec l'élaboration d'un nouveau système. La mise en place de ce nouveau système va terminer le processus d'évolution et aboutir à la forme adulte du moustique. Le stade de nymphe dure peu de temps en général, il suffit de 1 à 2 jours. Pendant ce stade, la nymphe ne se nourrit pas, elle va tirer profit des réserves réalisées pendant le stade larvaire. La cuticule de la nymphe se fend longitudinalement et le moustique nouvellement adulte va se gonfler d'air pour s'extraire de son exuvie. Les nymphes restent à la surface de l'eau, mais elles peuvent plonger si elles sont en danger ou dérangées (1).
- Adulte : dans sa forme adulte le moustique mesure entre 5 et 20 mm, cela dépend de l'espèce. Cependant le mâle reste moins grand que la femelle et possède des antennes plumeuses, ce qui permet de différencier le sexe, sachant que seules les femelles piquent pour avoir du sang. Les mâles se nourrissent de jus de fruits ou encore du nectar de fleurs (1).

La phase aquatique est maintenant terminée. La phase aérienne va pouvoir commencer, durant cette phase le moustique adulte vole et va pouvoir s'accoupler. C'est durant la phase aérienne que les femelles vont pouvoir piquer d'autres espèces afin de se procurer le sang nécessaire à l'obtention des nutriments primordiaux à la maturation de ses œufs. Les premiers moustiques adultes prennent leur envol au printemps (en mars la plupart du temps), la température est clémente et leur permet de réaliser plusieurs cycles. Cependant, en septembre, les températures commencent à diminuer et l'espérance de vie des moustiques aussi, ils ne peuvent plus réaliser des cycles aussi facilement.

Dans les infections causées par un vecteur, il est important de prendre en compte deux notions, la compétence vectorielle et la capacité vectorielle (11).

- Compétence vectorielle : cette compétence va traduire la possibilité pour un arthropode de transmettre ou non son pathogène à une autre espèce (après avoir été infecté, et avoir développé le virus) (11).
- Capacité vectorielle : cette capacité va traduire l'efficacité de la transmission du virus, dépendant de plusieurs facteurs extrinsèques (de la population de moustique, du nombre de repas, de la durée du cycle, de l'agressivité du vecteur et de l'environnement), mais aussi de la compétence vectorielle (11).

Les principaux vecteurs du virus West Nile sont les moustiques qui appartiennent à la famille des *Culicidae* et au genre *Culex*. Cependant le virus a rarement été isolé sur d'autres arthropodes comme les tiques mais elles jouent plus un rôle de réservoir. Le virus peut se transmettre par le cycle (moustiques-oiseaux et oiseaux-moustiques), mais aussi par transmission verticale, c'est-à-dire de l'adulte à l'œuf (5).

Concernant les moustiques du genre *Culex*, les suivantes espèces sont impliquées (5) :

- En Amérique du Nord : *C. pipiens*, *C. restuans*, *C. salinarius*, *C. quinquefasciatus* et *C. tarsalis* ;
- En Afrique et au Moyen-Orient : *C. univittatus* ;
- En Asie : *C. vishnui* ;
- En Europe : *C. pipiens* (Moustique commun ou Maringouin domestique), *C. modestus* et *Coquillettidia richiardii*. Tous les trois ont des activités plutôt nocturnes.

Les moustiques sondent la peau de l'hôte qu'ils piquent à l'aide de leur trompe afin de localiser une source de sang. Le moustique doit lutter contre le système hémostatique de l'hôte, pour ce faire il va injecter au moins un vasodilatateur (qui va dilater les vaisseaux sanguins), un inhibiteur de la coagulation (car le sang est trop épais pour pouvoir être absorbé par le moustique) et un inhibiteur des plaquettes. Lorsque la femelle pique, elle injecte de la salive par l'*hypopharynx* qui contient des substances anesthésiantes et anticoagulantes mais elle comprend également des protéines immunomodulatrices, digestives et antimicrobiennes (1,12,13).

Une piqûre de moustique va se décomposer en 4 phases différentes (14) :

- La première phase consiste à l'exploration de la peau par le moustique. Elle se décompose en 2 éléments, le moment où le moustique se pose sur la peau et le moment où les stylets commencent à entrer dans la peau de la personne.

- La deuxième phase consiste au sondage. Cette phase consiste à l'apparition de sang dans les stylets.
- La troisième phase consiste pour le moustique à l'ingestion du sang.
- La quatrième phase consiste au retrait des stylets (14).

Les moustiques sont de mauvais indicateurs pour mesurer la circulation du virus en France métropolitaine. Ce virus est mal distribué, la probabilité de capturer un moustique porteur du virus est très faible, dans une zone endémique la probabilité est de 3 moustiques pour 1000. Cette méthode de surveillance coûte cher et est peu efficace pour rechercher un virus « au hasard ». Elle est déclenchée lorsque le virus a été détecté ou qu'une circulation virale est mise en évidence. Ces recherches permettent d'identifier les différentes espèces vectrices du virus West Nile (2). Pour qu'une pathologie d'origine vectorielle s'installe dans une zone qui est saine, plusieurs conditions doivent être remplies. Il faut que la population de vecteurs pouvant transmettre la pathologie soit dense, il faut également que ces vecteurs soient compétents qu'ils puissent transmettre la pathologie et qu'il y ait suffisamment d'hôtes susceptibles d'être contaminés. Si ces conditions sont réunies, un sujet virémique pourra alors provoquer la dissémination du virus. Il faut également que l'hôte ait une durée de vie supérieure à la période d'incubation (1).

Aux Etats-Unis, de nombreuses espèces de moustiques peuvent véhiculer le virus West Nile. Ce sont en général les moustiques du genre *Culex* qui sont porteurs, mais d'autres espèces peuvent cependant être porteuses de ce virus comme les *Aedes*, les *Anophèles* (Tableau II).

Tableau II « Liste des espèces de moustiques chez lesquelles le virus West Nile a été détecté sur la période 1999 à 2016 aux États-Unis (15). »



**Mosquito species in which West Nile virus has been detected, United States, 1999-2016**

Mosquito Species	Mosquito Species
Aedes aegypti	Culex erraticus
Aedes albopictus	Culex erythrothorax
Aedes atlanticus/tormentor	Culex nigripalpus
Aedes atropalpus	Culex pipiens
Aedes canadensis	Culex quinquefasciatus
Aedes cantator	Culex restuans
Aedes cinereus	Culex salinarius
Aedes condolecens*	Culex stigmatosoma
Aedes dorsalis	Culex tarsalis
Aedes dupreei	Culex territans
Aedes epactius	Culex thriambus
Aedes fitchii	Culiseta incidens
Aedes fulvus pallens	Culiseta impatiens
Aedes grossbecki	Culiseta inornata
Aedes infirmatus	Culiseta melanura
Aedes japonicus	Culiseta morsitans
Aedes melanimon	Culiseta particeps
Aedes nigromaculis	Deinocerites cancer
Aedes provocans	Mansonia titillans
Aedes sollicitans	Orthopodomyia signifera
Aedes squamiger	Psorophora ciliata
Aedes sticticus	Psorophora columbiae
Aedes stimulans	Psorophora ferox
Aedes taeniorhynchus	Psorophora howardii
Aedes triseriatus	Psorophora signipennis
Aedes trivittatus	Uranotaenia sapphirina
Aedes vexans	
Anopheles atropos	
Anopheles barberi	
Anopheles bradleyi/crucians	
Anopheles franciscanus	
Anopheles freeborni	
Anopheles hermsi	
Anopheles punctipennis	
Anopheles quadrimaculatus	
Anopheles walkeri	
Coquillettidia perturbans	
Culex apicalis	
Culex bahamensis	
Culex coronator	

\* This species was detected in 2003 in Monroe County, FL; but was not reported to ArboNET

### 3. Réservoirs du virus

Les oiseaux et les moustiques vont constituer le réservoir naturel du virus West Nile mais ils auront aussi le rôle d'hôtes amplificateurs de ce virus. Les oiseaux migrateurs vont s'avérer être les réservoirs principaux pour la transmission et la migration du virus hors des zones endémiques. Le cycle est réciproque, un moustique infecté va infecter un oiseau sain et un oiseau porteur va infecter un moustique sain. Les Hommes et les chevaux sont considérés comme des impasses épidémiologiques (Figure 2)(5). Le nombre d'oiseaux porteurs du virus augmente à chaque cycle, le maintien de la transmission du virus est variable selon les espèces. Une liste non exhaustive des espèces d'oiseaux répertoriées aux Etats-Unis durant les années 1999 à 2016 a été réalisée afin de pouvoir identifier les espèces les plus impactées par ce virus West Nile (Tableau III.1, III.2, III.3 et III.4). Les oiseaux ne seront que porteurs du virus en général, mais certaines espèces dites « plus sensibles » comme les rapaces ou les corvidés pourront, elles, développer les symptômes typiques de cette maladie (léthargie, dépression, paralysie, ataxie) (5).





**Species of dead birds in which West Nile virus has been detected, United States, 1999-2016**

<b>Bird species/Common name</b>	<b>Native/Exotic/Captive</b>	<b>Bird species/Common name</b>	<b>Native/Exotic/Captive</b>
Abyssinian Ground-Hornbill	Exotic-Captive	Boat-tailed Grackle	Native
Acorn Woodpecker	Native	Bobolink	Native
African Grey Parrot	Exotic-Captive	Boreal Owl	Native-Captive
African Penguin	Exotic-Captive	Brewer's Blackbird	Native
American Coot	Native	Broad-winged Hawk	Native
American Crow	Native	Bronzed Cowbird	Native
American Dipper	Native	Bronze-winged Duck	Exotic-Captive
American Goldfinch	Native	Brown Thrasher	Native
American Kestrel	Native	Brown-headed Cowbird	Native
American Robin	Native	Budgerigar	Exotic-Captive
American White Pelican	Native	Bufflehead	Native-Captive
Anna's Hummingbird	Native	Bullock's Oriole	Native
Ash-throated Flycatcher	Native	Burrowing Owl	Native
Bald Eagle	Native	Bushtit	Native
Baltimore Oriole	Native	Cackling Goose	Native
Band-tailed Pigeon	Native	Cactus Wren	Native
Bank Swallow	Native	California Condor	Native
Barn Owl	Native	California Gull	Native
Barn Swallow	Native	California Quail	Native
Barred Owl	Native	California Towhee	Native
Belted Kingfisher	Native	Canada Goose	Native
Black Phoebe	Native	Canada Warbler	Native
Black Skimmer	Native	Canary-winged Parakeet	Exotic-Captive
Black Vulture	Native	Canvasback	Native-Captive
Black-billed Magpie	Native	Carolina Chickadee	Native
Black-capped Chickadee	Native	Carolina Wren	Native
Black-capped Lory	Exotic-Captive	Caspian Tern	Native
Black-chinned Hummingbird	Native	Cassin's Finch	Native
Black-chinned Sparrow	Native	Cattle Egret	Native
Black-crowned Night Heron	Native	Cedar Waxwing	Native
Black-headed Grosbeak	Native	Chestnut-backed Chickadee	Native
Blackpoll Warbler	Native	Chihuahuan Raven	Native
Black-throated Blue Warbler	Native	Chilean Flamingo	Exotic-Captive
Black-throated Gray Warbler	Native	Chimney Swift	Native
Black-whiskered Vireo	Native	Chinese Goose	Exotic-Captive
Blue Jay	Native	Chipping Sparrow	Native
Blue-crowned Conure	Exotic-Captive	Chukar	Introduced
Blue-eared Pheasant	Exotic-Captive	Cinereus Vulture	Exotic-Captive
Blue-streaked Lory	Exotic-Captive	Cinnamon Teal	Native
Blythe's Tragopan	Exotic-Captive	Clapper Rail	Native

Tableau III bis « Liste des espèces d'oiseaux morts chez lesquelles le virus West Nile a été détecté sur la période 1999 à 2016 (16). »

Bird species/Common name	Native/Exotic/Captive	Bird species/Common name	Native/Exotic/Captive
Clark's Grebe	Native	Glaucous-winged Gull	Native
Clark's Nutcracker	Native	Golden Eagle	Native
Cliff Swallow	Native	Golden-crowned Sparrow	Native
Cockatiel	Exotic-Captive	Gouldian Finch	Exotic-Captive
Cockatoo	Exotic-Captive	Gray Catbird	Native
Common Black-Hawk	Native	Gray-cheeked Thrush	Native
Common Canary	Exotic-Captive	Great Black-backed Gull	Native
Common Goldeneye	Native-Captive	Great Blue Heron	Native
Common Grackle	Native	Great Crested Flycatcher	Native
Common Ground-Dove	Native	Great Egret	Native
Common Loon	Native	Great Gray Owl	Native-Captive
Common Merganser	Native-Captive	Great Horned Owl	Native
Common Moorhen	Native	Greater Flamingo	Exotic-Captive
Common Murre	Native	Greater Prairie-Chicken	Native
Common Nighthawk	Native	Greater Roadrunner	Native
Common Peafowl	Exotic-Captive	Greater Sage-Grouse	Native
Common Raven	Native	Greater Scaup	Native
Common Yellowthroat	Native	Greater White-fronted Goose	Native
Cooper's Hawk	Native	Great-tailed Grackle	Native
Costa's Hummingbird	Native	Green Heron	Native
Crimson-fronted Parakeet	Exotic-Captive	Green-winged Teal	Native-Captive
Crimson Rosella	Exotic-Captive	Guanay Cormorant	Exotic-Captive
Dark-eyed Junco	Native	Gyrfalcon	Native-Captive
Dickcissel	Native	Hairy Woodpecker	Native
Domestic Chicken	Exotic-Captive	Hammond's Flycatcher	Native
Double-crested Cormorant	Native	Harris' Hawk	Native
Downy Woodpecker	Native	Hawaiian Goose (Nene)	Exotic-Captive
Dusky Lory	Exotic-Captive	Hermit Thrush	Native
Eastern Bluebird	Native	Herring Gull	Native
Eastern Kingbird	Native	Hooded Crow	Exotic-Captive
Eastern Phoebe	Native	Hooded Merganser	Native
Eastern Screech-Owl	Native	Hooded Oriole	Native
Eastern Towhee	Native	Hooded Warbler	Native
Elegant Crested Tinamou	Exotic-Captive	House Finch	Native
Elf Owl	Native	House Sparrow	Introduced
Emperor Goose	Native-Captive	House Wren	Native
Emu	Exotic-Captive	Humboldt Penguin	Exotic-Captive
Eurasian Collared-Dove	Introduced	Impeyan Pheasant	Exotic-Captive
Eurasian Jay	Exotic-Captive	Inca Dove	Native
Eurasian Wigeon	Native	Inca Tern	Exotic-Captive
European Goldfinch	Exotic-Captive	Kentucky Warbler	Native
European Starling	Introduced	Killdeer	Native
Evening Grosbeak	Native	Lark Sparrow	Native
Ferruginous Hawk	Native	Laughing Gull	Native
Field Sparrow	Native	Lazuli Bunting	Native
Fish Crow	Native	Least Bittern	Native
Flammulated Owl	Native	Least Tern	Native
Fox Sparrow	Native	LeConte's Thrasher	Native
Gila Woodpecker	Native	Lesser Goldfinch	Native

Tableau III ter « Liste des espèces d'oiseaux morts chez lesquelles le virus West Nile a été détecté sur la période 1999 à 2016 (16). »

Bird species/Common name	Native/Exotic/Captive	Bird species/Common name	Native/Exotic/Captive
Lesser Nighthawk	Native	Pine Siskin	Native
Lesser Scaup	Native	Pinyon Jay	Native
Lewis' Woodpecker	Native	Piping Plover	Native
Limpkin	Native	Prairie Falcon	Native
Lincoln's Sparrow	Native	Puna Teal	Exotic-Captive
Loggerhead Shrike	Native	Purple Finch	Native
Long-eared Owl	Native	Purple Gallinule	Native
Macaw	Exotic-Captive	Purple Martin	Native
MacGillivray's Warbler	Native	Pygmy Nuthatch	Native
Mallard	Native	Rainbow Lorikeet	Exotic-Captive
Merlin	Native	Red Crossbill	Native
Mexican Jay	Native	Red Lory	Exotic-Captive
Micronesian Kingfisher	Exotic-Captive	Red-bellied Woodpecker	Native
Mississippi Kite	Native	Red-breasted Goose	Exotic-Captive
Monal Pheasant	Exotic-Captive	Red-breasted Nuthatch	Native
Mottled Duck	Native	Red-breasted Sapsucker	Native
Mountain Bluebird	Native	Red-crowned Parrot	Exotic-Captive
Mountain Chickadee	Native	Red-eyed Vireo	Native
Mountain Quail	Native	Red-headed Woodpecker	Native
Mourning Dove	Native	Red-shouldered Hawk	Native
Muscovy Duck	Native-Captive	Red-tailed Hawk	Native
Mute Swan	Introduced	Red-winged Blackbird	Native
Nashville Warbler	Native	Ring-billed Gull	Native
Northern Bobwhite	Native	Ringed Turtle-Dove	Introduced
Northern Cardinal	Native	Ring-necked Pheasant	Introduced
Northern Flicker	Native	Rock Pigeon	Introduced
Northern Goshawk	Native	Rock Wren	Native
Northern Harrier	Native	Rose-breasted Grosbeak	Native
Northern Hawk-Owl	Native-Captive	Rough-legged Hawk	Native
Northern Mockingbird	Native	Ruby-throated Hummingbird	Native
Northern Parula	Native	Ruddy Duck	Native
Northern Pintail	Native-Captive	Ruddy Turnstone	Native
Northern Saw-whet Owl	Native	Ruffed Grouse	Native
Northern Waterthrush	Native	Rufous Hummingbird	Native
Nutmeg Mannikin	Exotic-Captive	Rusty Blackbird	Native
Nuttall's Woodpecker	Native	Sandhill Crane	Native
Oak Titmouse	Native	Satyr Tragopan	Exotic-Captive
Olive-sided Flycatcher	Native	Savannah Sparrow	Native
Orange-crowned Warbler	Native	Scarlet Ibis	Exotic-Captive
Orchard Oriole	Native	Scarlet Tanager	Native
Osprey	Native	Scissor-tailed Flycatcher	Native
Ovenbird	Native	Sharp-shinned Hawk	Native
Pacific Parrotlet	Exotic-Captive	Short-eared Owl	Native
Pacific-slope Flycatcher	Native	Smew	Exotic-Captive
Pale-headed Rosella	Exotic-Captive	Snow Goose	Native-Captive
Palm Tanager	Exotic-Captive	Snowy Egret	Native
Pelagic Cormorant	Native	Snowy Owl	Native-Captive
Peregrine Falcon	Native	Society Finch	Exotic-Captive
Pied-billed Grebe	Native	Song Sparrow	Native

Tableau III quater « Liste des espèces d'oiseaux morts chez lesquelles le virus West Nile a été détecté sur la période 1999 à 2016

(16). »

Bird species/Common name	Native/Exotic/Captive	Bird species/Common name	Native/Exotic/Captive
Sora	Native	Yellow-billed Duck	Exotic-Captive
Spotted Owl	Native-Captive	Yellow-billed Magpie	Native
Spotted Towhee	Native	Yellow-crowned Night-Heron	Native
Steller's Jay	Native	Yellow-rumped Warbler	Native
Swainson's Hawk	Native	Yellow-throated Warbler	Native
Swainson's Thrush	Native	Zebra Finch	Exotic-Captive
Swallow-tailed Kite	Native	Zenaida Dove	Exotic-Captive
Swamp Sparrow	Native		
Tawny Owl	Exotic-Captive		
Tennessee Warbler	Native		
Thayer's Gull	Native		
Thick-billed Parrot	Exotic-Captive		
Townsend's Warbler	Native		
Tree Swallow	Native		
Tricolored Blackbird	Native		
Tufted Titmouse	Native		
Tundra Swan	Native		
Turkey Vulture	Native		
Varied Thrush	Native		
Varied Tit	Exotic-Captive		
Veery	Native		
Violet-necked Lorikeet	Exotic-Captive		
Virginia Rail	Native		
Warbling Vireo	Native		
Wedge-tailed Eagle	Exotic-Captive		
Western Bluebird	Native		
Western Kingbird	Native		
Western Meadowlark	Native		
Western Sandpiper	Native		
Western Screech-Owl	Native		
Western Scrub-Jay	Native		
Western Tanager	Native		
Whip-poor-will	Native		
White-breasted Nuthatch	Native		
White-crowned Pigeon	Native		
White-crowned Sparrow	Native		
White-faced Ibis	Native		
White-tailed Kite	Native		
White-winged Dove	Native		
Whooping Crane	Native-Captive		
Wild Turkey	Native		
Willow Flycatcher	Native		
Wilson's Warbler	Native		
Winter Wren	Native		
Wood Duck	Native-Captive		
Wood Thrush	Native		
Yellow Warbler	Native		
Yellow-bellied Sapsucker	Native		
Yellow-billed Cuckoo	Native		

## 4. Acquisition de la virémie

Après que le moustique a acquis le virus à la suite d'un repas sanguin sur un hôte porteur, celui-ci va se répliquer dans son intestin et plus précisément dans les épithéliums de l'intestin moyen. Après la réplication, le virus va traverser l'hémolymphe pour pouvoir atteindre les glandes salivaires. Le virus va s'y accumuler ce qui va augmenter la virémie de la salive à partir de laquelle le moustique pourra transmettre le virus à des hôtes lors de repas sanguin (13). Cependant, l'intestin du moustique peut jouer un rôle de barrière face à l'infection du virus, ce serait dû à la présence de protéines, de chitines et d'une réponse immunitaire. La matrice péritrophique serait responsable de cette « effet barrière » et jouerait un rôle dans la réduction de l'invasion du virus dans l'épithélium de l'intestin moyen. Cette matrice est constituée de microfibrilles de chitine intégrée dans une matrice de protéoglycanes, cette matrice est semi-perméable aux agents extérieurs. Le virus provoque une infection persistante dans les cellules intestinales du moustique, cependant celui-ci développe une réponse immunitaire face à ce pathogène (13).

Une étude sur des moustiques *Culex pipiens* a montré qu'au cours d'une infection par le virus West Nile, 26 gènes sont altérés dans l'intestin moyen, 21 gènes étaient régulés positivement et 5 gènes étaient régulés négativement après un repas sanguin sur un hôte porteur (13).

Une autre étude plus récente a mis en évidence une lectine de type C qui facilite l'entrée du virus dans les cellules. Elle va lier le virion avec un homologue du récepteur CD 45 du moustique à la surface de la cellule (13).

La réponse antivirale des moustiques se compose de deux voies (13) :

- La voie immunitaire innée
  - Cette voie comprend les voies de signalisation (Toll, JAK-STAT et IMD)
  - Les voies Toll et IMD vont aboutir à l'expression de peptides antimicrobiens (AMP) qui sont induites par NF-KB.
- La voie d'interférence ARN
  - Cette voie est un mécanisme de régulation cellulaire et permet d'envisager des thérapies dans l'avenir.  
Cette voie permet de cibler spécifiquement un gène et de provoquer son extinction, sans modifier le génome.  
La voie d'interférence ARN permet de détruire des ARNm après leur transcription, et avant que ceux-ci ne soient traduits, sans modifier la séquence primaire.  
La destruction de l'ARNm a lieu dans le cytoplasme.

## 5. Cycle de transmission

Le cycle de transmission du virus est directement lié à la période d'activité et de vie des moustiques vecteurs de cette maladie, plusieurs espèces peuvent transmettre le virus. Certaines espèces vont avoir une activité printanière et d'autres auront une activité plus estivale. La période d'activité totale pour l'ensemble des vecteurs est assez large et couvre la période de mars à novembre. Les oiseaux migrateurs ont un rôle important dans la dissémination intra et inter continental du virus (de l'Afrique aux zones tempérées d'Europe et d'Asie). Plusieurs facteurs vont favoriser la prolifération et le développement des vecteurs (3).

La virémie permet d'exprimer la présence d'un virus de manière quantitatif et qualitatif dans le sang de l'hôte, ce qui permet de définir la charge virale chez cet hôte. C'est cette virémie qui doit être prise en compte pour comprendre le caractère de transmission du virus. Elle va permettre d'expliquer pourquoi une espèce d'oiseaux peut contaminer un moustique ou non, plus la virémie est élevée plus l'oiseau a une quantité élevée de virus dans le sang. Lorsque la virémie chez un oiseau est élevée, celui-ci va transmettre le virus plus rapidement et facilement qu'un oiseau avec une faible virémie. Plus la virémie est importante et plus le nombre de moustiques pouvant être infectés est important, même des moustiques qui seraient moyennement compétents lors d'une piqûre de ces oiseaux. La réciproque est vraie aussi, si des moustiques sont fortement compétents, ils pourront transmettre le virus à des oiseaux qui développeront une faible virémie (17). Pour transmettre un virus il faut soit des oiseaux développant une grande virémie ou des moustiques ayant une grande compétence à transmettre le virus. La compétence d'un moustique est définie comme l'aptitude qui permet au moustique de transmettre un pathogène à une « proie » à la suite de l'ingestion dudit pathogène (17).

De nombreuses espèces d'oiseaux ne développeront pas de symptômes après avoir été piquées par un moustique porteur du virus. Ces oiseaux resteront cependant réservoirs et porteurs de ce virus et pourront le transmettre à d'autres moustiques sains. De nombreuses espèces d'oiseaux seront quant à elles extrêmement sensibles à ce virus, comme les corbeaux et les geais par exemple, et pourront mourir à la suite d'une infection (5). Le virus West Nile était endémique à l'Afrique initialement. Il est aujourd'hui réparti sur l'ensemble de la planète, en Asie, en Europe, en Amérique, en Australie et au Moyen-Orient (5).

Après analyse des repas, il s'avère que les moustiques se nourrissent essentiellement en piquant les oiseaux, les autres mammifères comme les Hommes et les chevaux ne sont piqués qu'occasionnellement. Les chevaux et les humains sont considérés comme les derniers hôtes et vont développer une virémie relativement faible et de courte durée à la suite d'une piqûre infectante : ce qui ne leur permettra pas de transmettre le virus à des moustiques qui pourraient venir les piquer. Les humains et les chevaux sont exclus du cycle de transmission du virus, du fait qu'ils ne peuvent pas le transmettre (Figure 2) (5).

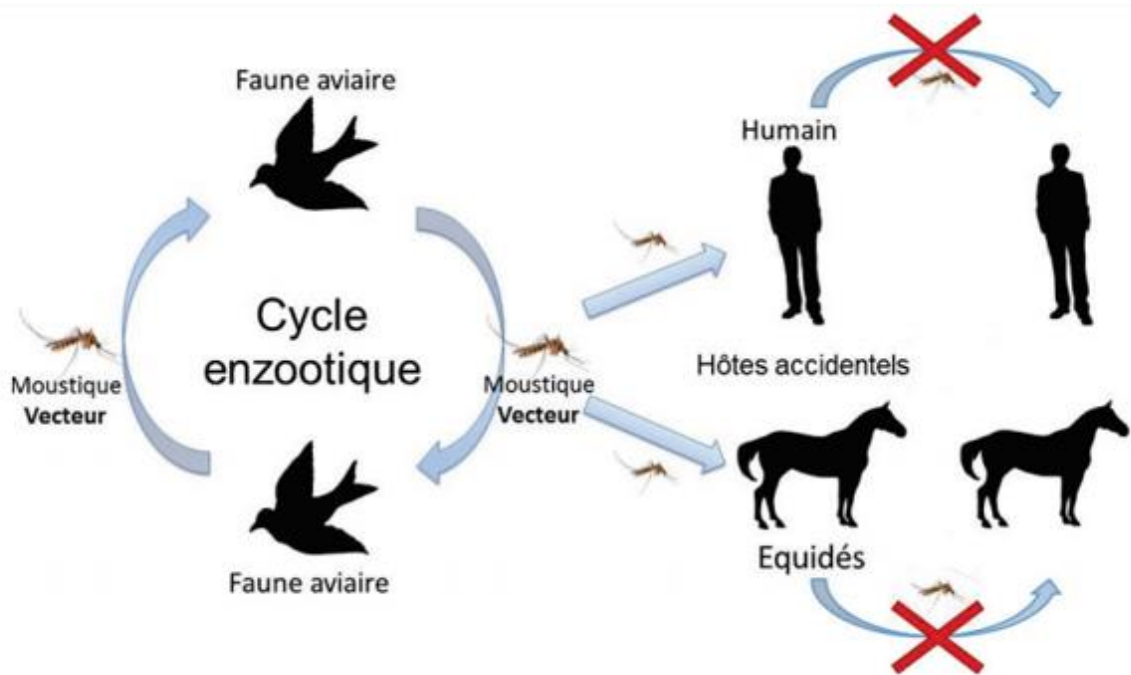


Figure 2 « Schéma représentant le mode de transmission du virus West Nile entre le vecteur et les différents hôtes (17). »

Sur ce schéma, on peut voir le mode de transmission du virus, les moustiques porteurs vont infecter les oiseaux qui sont le réservoir naturel de la maladie. Ils vont eux même infecter des moustiques sains, qui eux sont vecteurs de ce virus, les chevaux et les Hommes sont des impasses épidémiologiques.

Le cycle de transmission se déroule *via* des interactions moustique-oiseau et oiseau-moustique, cependant certains cas de transmission plus rares ont été enregistrés (des transmissions *via* produits humains, transfusion sanguine, lait maternel, greffe d'organe, transmission verticale, accidents de laboratoires avec des objets piquants ou tranchants infectés). En dehors de ces cas particuliers de transmission du virus, aucune transmission interhumaine n'a été signalée à la suite de contact de la vie courante (5).

Le génome de ce virus, comme beaucoup d'autres virus à ARN, est très variable, il existe de nombreuses lignées différentes, réparties à travers le monde. La diversité de ce virus est d'autant plus importante et problématique, au-delà de la difficulté rencontrée pour trouver un traitement adéquat pour traiter cette maladie. L'action des oiseaux migrateurs et le trafic d'animaux porteurs orchestré par les humains, permettent à différentes variantes de ce virus de coexister et d'évoluer. La coexistence de plusieurs lignées du virus peut avoir des répercussions différentes. Les souches du virus West Nile co-circulantes dans un même lieu peuvent soit se supprimer ou s'amplifier, entraînant des symptômes cliniques plus ou moins graves. Cet aspect de la maladie reflète l'importance de limiter et de prendre le contrôle de la dissémination de ce virus (18,19).

L'épidémiologie du virus peut être séparée en deux phases distinctes (18) :

- La première phase comporte le cycle moustique-oiseau, ce cycle permet au virus de persister dans l'environnement. L'action des deux protagonistes est

importante. L'oiseau va permettre la dissémination et l'amplification du virus et le moustique quant à lui va permettre d'infecter de nouveaux oiseaux.

- La deuxième phase se déroule lorsque des événements permettent la cohabitation des moustiques porteurs avec des oiseaux migrateurs et des oiseaux locaux et sédentaires. Des catastrophes climatiques, de fortes pluies, des inondations, des sécheresses, aboutissent à la prolifération des moustiques. La cohabitation de toutes ces espèces à un même endroit permet une amplification virale très importante et une transmission locale du virus.

Le milieu rural est plus propice au développement et à la prolifération des moustiques avec des zones laissées en friche ou des zones de rejet de déchets qui ne sont pas traités. Les gîtes présentant une densité larvaire élevée sont les piscines mal entretenues et les pneus. En milieu rural et pendant les périodes de sécheresse, les plans d'eau deviennent des lieux favorables pour le développement et la croissance des moustiques. Ces milieux deviennent riches en matières organiques qui vont se décomposer. En période de sécheresse et de fortes chaleurs les moustiques se développent plus vite, il faudra compter une semaine en été pour que l'embryon se développe contre plusieurs mois en hiver. La sécheresse peut, par la suite, forcer la migration de ces oiseaux, entraînant une prolifération du virus dans d'autres régions. Durant ces périodes de fortes chaleurs, la prolifération du virus est très importante. Les moustiques se développent plus vite, du fait des fortes chaleurs, des sols riches en matières en décomposition. Les moustiques se concentrent dans ces lieux où le contact avec d'autres animaux comme les oiseaux qui viennent se désaltérer dans ces lieux humides (20).

Il faut également faire attention à ce que dans certaines régions/pays défavorisés, les habitants ne stockent pas d'eau à l'intérieur des maisons (cela pourrait devenir un gîte pour les moustiques à l'intérieur même des maisons). Les principaux freins au traitement des gîtes larvaires par les particuliers sont le manque de connaissances vis-à-vis de ce virus ou des manières de comment et de quels sites traiter pour éviter la prolifération des moustiques. Le faible degré d'inquiétude des personnes à être infectées par le virus West Nile augmente la négligence des particuliers à traiter les gîtes larvaires (20).





## **B. Virus West Nile**

### **1. Agent pathogène**

Le virus West Nile est un arbovirus qui fait partie de la famille des *Flaviviridae*, cette famille comprend 4 genres (13,21) :

- Les *Flavivirus*, genre auquel le virus West Nile appartient, mais aussi les virus de la dengue et de la fièvre jaune. Ce genre compte plus de 70 virus différents (Figure 3).
- Les *hépacivirus*, espèce auquel les virus responsables des hépatites B et C appartiennent.
- Les *pestivirus*.
- Les *pégivirus*.

Ce virus est un *arbovirus*, un virus à ARN positif, il est transmis par des arthropodes hématophages (2). Il peut être inactivé par différents moyen physico-chimique, la chaleur à une température comprise entre 50 et 60°, la lumière ultraviolette, les rayons gamma mais également par les désinfectants (5).

Huit lignées génétiques du virus West Nile ont été décrites :

- Lignée 1, comporte les souches du virus West Nile qui vont être responsables de la majorité des épidémies humaines et équine (18).

Cette lignée est originaire d'Afrique de l'ouest en Ouganda, mais elle a également été isolée au Moyen-Orient, en Europe de l'Est, en Amérique du Nord et en Australie (11).

C'est cette lignée qui a été à l'origine de la majorité des épidémies à travers le monde et ceux jusqu'en 2008, elle peut être divisée en 3 clusters :

- Les isolats de l'Inde
  - Le virus Kunjin isolé en Australie
  - Les virus isolés en Europe, Afrique et au Moyen-Orient
- La lignée 2, est originaire d'Afrique sous saharienne, certains cas ont été isolés à Madagascar, jusqu'en 2004. Cette lignée était limitée à ces régions, elle fut introduite en Europe *via* les oiseaux migrateurs (11,18).  
Récemment en 2012, un virus appartenant à cette lignée a été isolé en Hongrie, provoquant des atteintes neurologiques (encéphalite) chez des humains et des chevaux (17).

- La lignée 3, cette lignée est constituée des souches appelés Rabensburg. Elle est présente en République Tchèque et en Autriche (11,17).  
Cette lignée a été identifiée chez des moustiques (*Culex pipiens*), elle a aussi été retrouvée dans le sud de la Moravie, à la suite d'inondations (18).
- La lignée 4, cette lignée est constituée des souches appelés LEIV-98. Elle a été isolée sur une tique en Russie dans la région du Caucase, elle a également été isolée sur des moustiques et des grenouilles entre 2002 et 2006 à Volgograd (11,17,18).
- La lignée 5, cette lignée a été isolé en Inde (11,17,18).
- La lignée 6, cette lignée aurait été proposée pour le virus Sarawak kunjin, ce virus est endémique à l'Océanie, il a été isolé en Australie en 1960 (17,18).
- La lignée 7, cette lignée aurait été proposée pour le virus Africain Koutango, qui est proche du virus West Nile (17,18).
- La lignée 8, cette lignée aurait été proposée pour des séquences virales détectées chez des moustiques *Culex pipiens*, capturés dans le sud de l'Espagne pendant l'été 2006 (17,18).

La lignée 1 est constituée de trois clades et de plusieurs clusters. Les clades sont des groupements de plantes ou d'animaux qui ont une origine et une organisation commune. Les clusters sont des groupes ayant au moins deux gènes qui appartiennent à un même ensemble et qui vont coder une protéine similaire ou identique (17).

- Le clade 1a comprend :
  - Le cluster des souches responsables des épidémies en Israël et en Amérique du nord.
  - Le cluster des souches ayant circulées en Europe et en Russie dans les années 1990.
  - Le cluster des souches responsables des épidémies en Italie en 1998 et 2008.
  - Le cluster des souches de la république Centrafricaine dans les années 1980 et d'Egypte dans les années 1950 (11,17).
- Le clade 1b (virus kunjin) est endémique en Océanie (11,17).
- Le clade 1c, Ce clade est présent en Inde, mais des chercheurs ont proposé de le classer directement en lignage 5 (17).

Les souches du virus West Nile à l'origine des épidémies en Amérique du Nord en 1999, sont semblables à celle présentes en Israël à plus de 99,7%. Ce qui suggère que ces souches

originaires du Moyen-Orient sont à l'origine de ces épidémies Américaine. Elles auraient gagné ce continent *via* les oiseaux migrateurs (17).

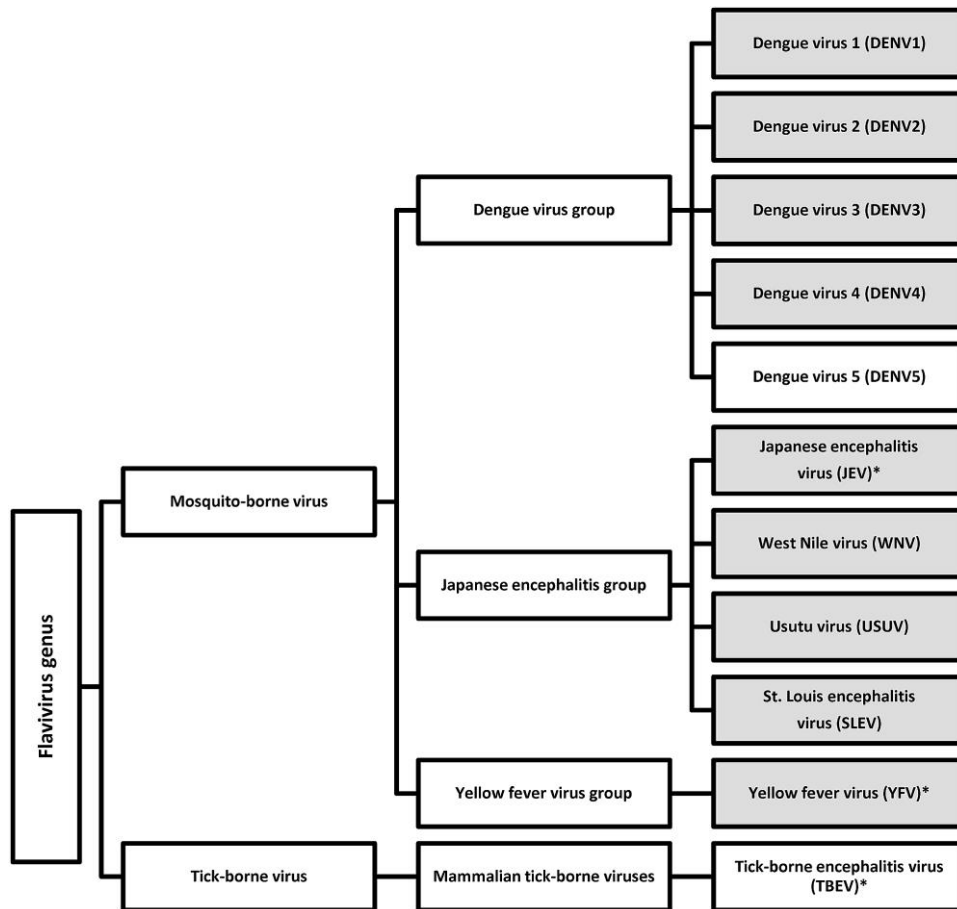


Figure 3 « Classification des différents virus du genre Flavivirus (22). »

Cette figure met en évidence les différents sérogroupes du genre Flavivirus des arbovirus utilisés, ceux qui sont véhiculés par les moustiques et ceux qui sont véhiculés par les tiques. Elle met aussi en évidence les différents groupes de virus pour les moustiques et tiques. Le virus West Nile est un Flavivirus transporté par les moustiques et fait partie du groupe des « encéphalites japonaises ».

Les souches du virus West Nile ont été identifiées par des tests sérologiques à l'aide de tests de séroneutralisation ou de tests d'immunofluorescence indirecte. Un test sérologique est un test qui permet d'établir un diagnostic, *via* l'étude du sérum et de ce qu'il peut contenir. On recherche en général des anticorps et des antigènes spécifiques d'une maladie ou d'un pathogène en particulier comme les bactéries, les virus ou alors les parasites. Lorsque l'on recherche l'agent pathogène, on parlera de diagnostic direct, et lorsque l'on recherche la réponse immunitaire, on parlera de diagnostic indirect (18).

Le virus West Nile présente une grande diversité génétique. Lors de l'analyse phylogénétique on va étudier le génome entier si celui-ci est disponible. Sinon on va essentiellement s'intéresser à l'alignement des séquences génomiques de la région qui va coder les protéines de l'enveloppe E ou encore la polymérase NS5. Ces analyses permettent d'étudier la diversité qu'il peut y avoir à travers le monde dans des zones géographiques diverses. Ce qui permet de classer les espèces de virus au sein du virus West Nile comme les lignées génétiques et les clades (17,18).

Les souches du virus West Nile, sont très variables génétiquement, elles sont classées dans 8 lignées différentes (Figure 4).

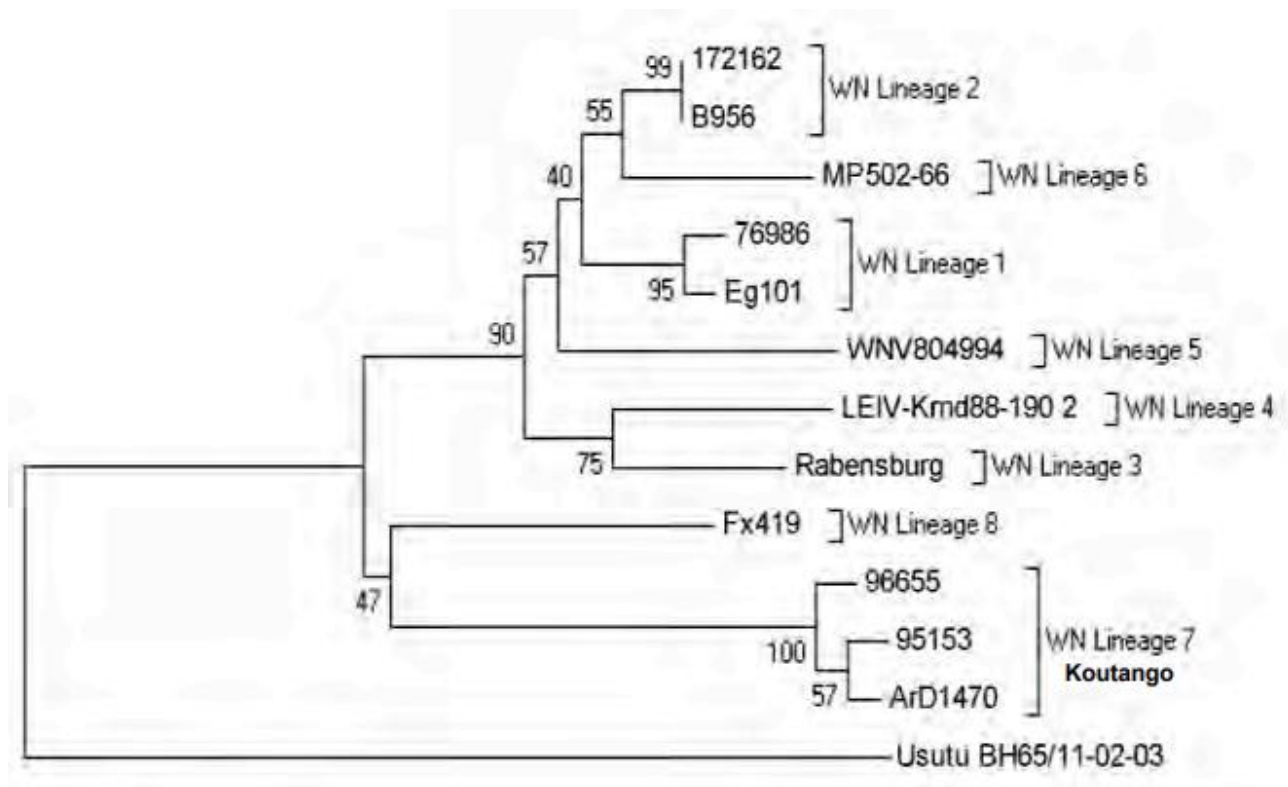


Figure 4 « Schéma regroupant les différentes lignées du virus West Nile (23). »

Le virus West Nile possède un génome ARN. Il a la possibilité de s'adapter à l'environnement qui l'entoure et peut évoluer rapidement en fonction de celui-ci. Les souches de ce virus s'adaptent au climat hivernal doux de certains pays méditerranéens comme l'Espagne ou l'Italie. Elles ont su se maintenir localement plusieurs années et à passer l'hiver à la fin des années 2000. Les oiseaux migrateurs ont un rôle important dans la transmission et la dissémination du virus West Nile (18).

Le virus peut, sous certaines conditions, établir des cycles endémiques (18) :

- Si la transmission virale se fait à bas bruit (c'est-à-dire que le virus produit peu ou pas de symptôme) pendant l'hiver.
- Si les oiseaux maintiennent une certaine virémie ou infection virale chronique.
- S'il existe une certaine persistance du virus chez le vecteur.
- Si le virus est transmis verticalement à la descendance.

Il existe ce phénomène de transmission verticale chez le genre *Culex*, mais aussi *Aedes* (18).

## 2. Structure et propriétés physico chimiques

### 1. Structure génomique et antigénique

Le virus West Nile est un virion de 45 à 50 nm de diamètre, enveloppé et contenant un génome à ARN simple brin de sens positif (Figure 5) (2,18,24).

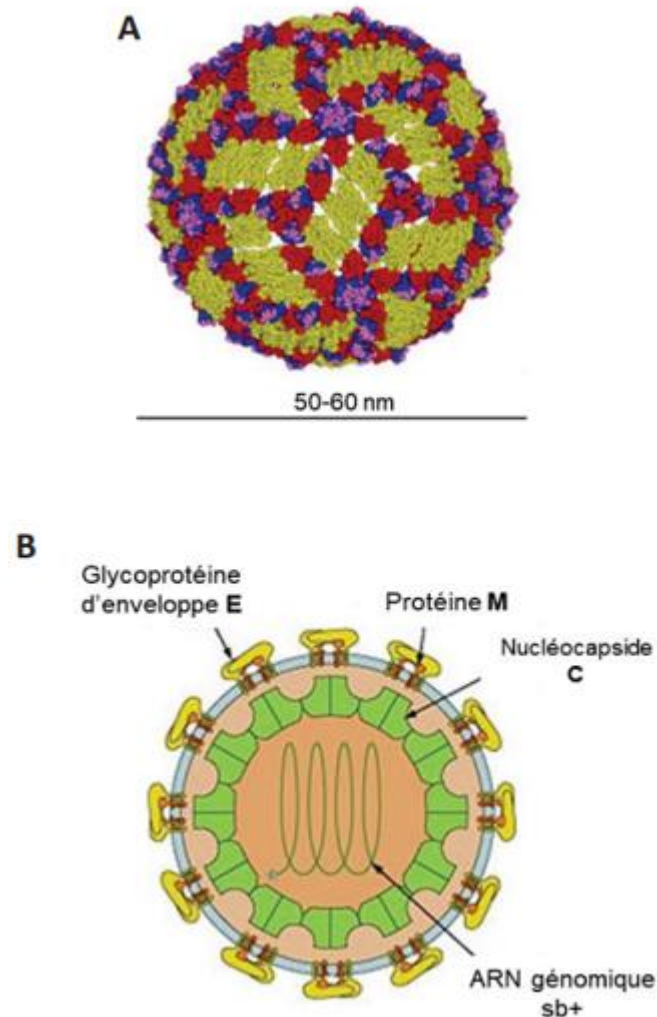


Figure 5 « Structure de la particule virale WNV » (17). »

Sur cette figure nous pouvons observer en A la modélisation structurale d'une particule virale du virus West Nile. En B les différents composants de cette particule virale, avec les différentes protéines structurales du virus (protéine E, M et C), et l'ARN génomique en coupe transversale.

Le génome ne possède qu'un seul cadre de lecture qui mesure environ 11kB, à son extrémité 3', il ne possède pas de queue de polyadénylation. Ce génome va coder 10 protéines, 3 seront « structurales » (les protéines C, E et M) et 7 autres qui seront non structurales (NS1, NSA2, NS2B, NS3, NS4A, NS4B et NS5) (Figure 7) (13,18,25).

Les protéines non structurales vont servir à la réplication ainsi qu'à la pathogenèse du virus et les protéines structurales vont quant à elles servir à la composition du virion (24). Les régions non

codantes 5' et 3' du génome, constituées de 100 et 600 nucléotides vont former des structures tige-boucle permettant de faciliter les processus de réplication, de transcription, de traduction et d'encapsidation. La polyprotéine virale est clivée au cours d'une étape post-traductionnelle et produit les trois protéines de structure (13,18).

## 2. Les régions non codantes

### 2.1 L'extrémité 5'

L'extrémité 5' non traduite à une coiffe (m7G ppA) qui va être reconnue par les protéines du complexe d'initiation. Les protéines eIF4B et eIF4F qui sont des facteurs eucaryotes d'initiation de la traduction, qui vont permettre de recruter des sous-unités ribosomales pour débiter la traduction de l'ARN viral (17). L'extrémité 5' du génome va coder pour les protéines structurales nécessaires à l'entrée, à la fusion du virus et à l'encapsidation du génome viral lors de l'assemblage (13).

### 2.2 L'extrémité 3'

L'extrémité 3' à une structure en épingle, elle va servir de promoteur pour la synthèse du brin d'ARN positif. Cette extrémité à une séquence appelée « séquence de cyclisation » qui va permettre aux extrémités 3' et 5' d'interagir entre elles, ce qui va être important pour la réplication (17).

### 2.3 ARN subgénomique de *Flavivirus*

Chez les *Flavivirus* et donc chez le virus West Nile, un ARN subgénomique (sfRNA) dérivant de l'extrémité 3' est produit. Cet ARN subgénomique est le produit d'une dégradation incomplète de l'ARN génomique viral, par l'enzyme 5'-3' exoribonuclease cellulaire (Xrn1). En étant produite, cette ARN subgénomique va inactiver l'action de l'enzyme Xrn1, cette inactivation va offrir une meilleure stabilité à de nombreux ARN messagers. Cet ARN subgénomique est impliqué dans la pathogénicité du virus. Il va inhiber l'activité des interférons de type I, ainsi que l'activité de la voie de l'ARN interférence, qui ont toutes deux une activité antivirale (17).

## 3. Les protéines structurales

### 3.1 La protéine C de capsid

Cette protéine C est associée au génome viral pour former la nucléocapside. Elle sera enveloppée pour être protégée, cette nucléocapside donne une forme sphérique à cette particule virale. La protéine C à une taille de 105 aa lorsqu'elle est mature et est riche en résidus arginine et lysine. Initialement son précurseur à une taille de 123 aa et il sera présenté par une séquence

hydrophobe au réticulum endoplasmique. Cette séquence hydrophobe sera clivée par l'action de la protéase NS2B-NS3, donnant ainsi la forme mature de la protéine C (17). L'ARN virale va se fixer à la protéine C, celle-ci possède deux régions. La N-terminal et la C-terminal qui ont des résidus chargés, ceci va permettre une interaction entre la protéine et l'ARN. Pour exercer ses fonctions lors de l'infection, la protéine C doit être phosphorylée par la protéine kinase C, elle a des rôles concernant l'apoptose (17,18).

### 3.2 La protéine M de membrane

Cette protéine est produite pendant la maturation des particules virales, c'est un fragment de la protéine précurseur prM, elle est ancrée dans la membrane virale. prM va servir de protéine chaperonne pour l'enveloppe pendant la maturation des virions et va empêcher la fusion lors de la sécrétion. La protéine M et son précurseur prM vont être impliqués dans le maintien ainsi que dans le changement de la conformation de la protéine d'enveloppe. Le précurseur prM sera clivé au cours de la maturation, dans la vésicule de l'appareil de Golgi pour donner la protéine M qui sera non glycosylée, et qui aura un poids moléculaire de 8 kDa et six ponts disulfures. Le précurseur prM sera présenté au réticulum endoplasmique par le domaine C-terminal de la protéine C qui est hydrophobe, son extrémité N-terminal quant à lui porte des sites de glycosylation ainsi que 6 résidus cystéine communs à tous les Flavivirus (Figure 6) (17,18).



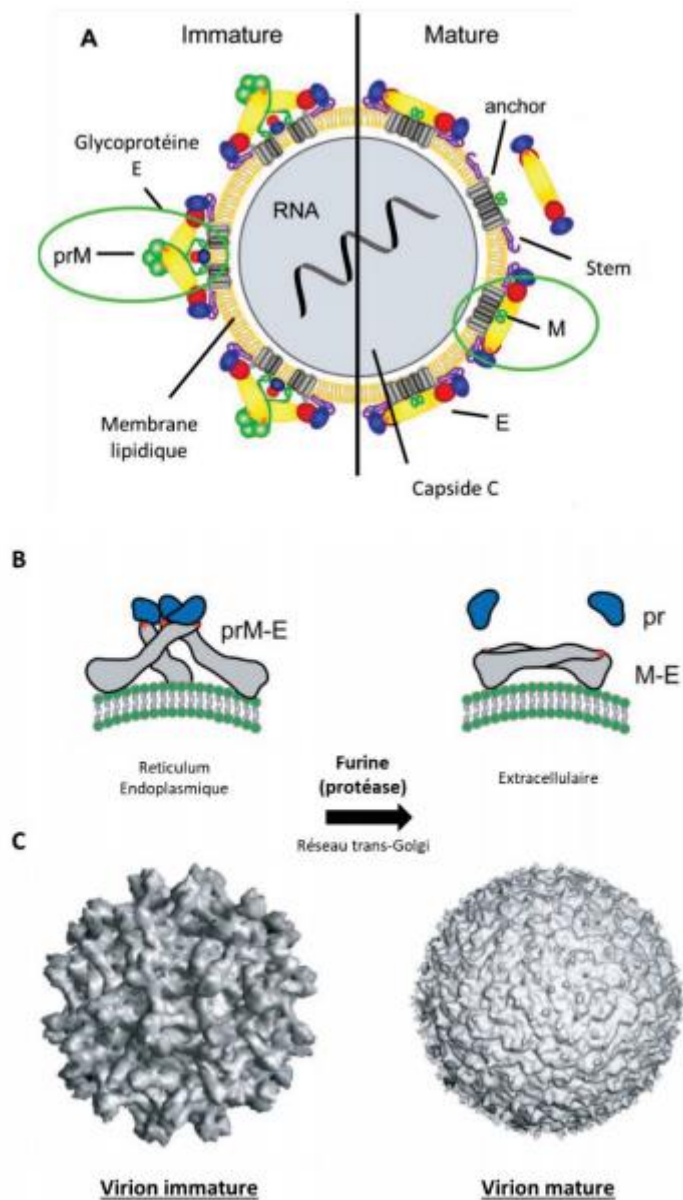


Figure 6 « Maturation des virions par clivage protéasique Furine-dépendant de prM/M (17). »

« A, Schéma d'une particule de Flavivirus avant et après maturation.

B, représentation schématique du clivage de prM par la protéase cellulaire furine. Le peptide de fusion (point rouge) porté par la protéine E est exposé après clivage.

C, reconstruction par Cryo-EM des particules de Flavivirus immatures (avant clivage de prM) et matures (après clivage de prM). Synthèse personnelle adaptée de (Perera and Kuhn, 2008; Vratsikh et al., 2013).

La forme prM, en interagissant avec la protéine E, participe au repliement correct de celle-ci (Konishi and Mason, 1993; Lorenz et al., 2002). Parce que prM camoufle le peptide fusion porté par la protéine E, sa principale fonction est de prévenir le réarrangement pH-dépendant de E lors du transport des particules immatures dans la voie sécrétoire. Un clivage protéasique furine-dépendant de prM en deux fragments, pr et M, dans le réseau trans-Golgi, induit la conversion des particules immatures en particules matures infectieuses (Mukhopadhyay et al., 2003; Stadler et al., 1997). Suite au clivage, les hétérodimères prM-E se dissocient, relarguant le fragment pr, et les homodimères de protéines E se forment, conférant une apparence « lisse » à la surface du virion. Le peptide de fusion est ainsi exposé. »

### 3.3 La protéine E d'enveloppe

La protéine E est la principale protéine de surface du virion, elle a un poids moléculaire d'environ 50 kDa, elle est codée par le gène viral de l'enveloppe. Elle aura un rôle important dans la reconnaissance des récepteurs, ainsi que dans leurs fixations et la fusion avec la membrane plasmique dans l'endosome. Cette protéine a 12 résidus de cystéine qui vont former six ponts disulfures, qui seront conservés chez l'ensemble des *Flavivirus*. Ils ont un rôle important dans la conformation de la protéine E et dans sa structure. Dans sa forme initiale cette protéine est riche en feuillet, et va s'assembler en homodimères qui seront disposés de manière antiparallèle (17,18).

La protéine E est divisée en sous unité, chacune de ses sous-unités sera composée de 3 domaines structuraux et fonctionnels :

#### Le domaine I (E-DI)

- Il possède 8 feuillets  $\beta$ , et deux grandes boucles d'insertion qui seront responsables de la forme du domaine DII.
- Il porte des épitopes essentiellement spécifiques aux types et sous-types de virus (17).

#### Le domaine II (E-DII)

- Il sera impliqué dans la formation et dans la stabilisation du dimère. Il possède également un peptide de fusion, pour la fusion entre la membrane du virus et la membrane de l'endosome de la cellule hôte.
- Il porte des épitopes de groupe et de sous-groupes présent chez les *Flavivirus*, ce qui va entraîner des réactions immunitaires croisées (17).

#### Le domaine III (E-DIII)

- Il va former une structure de 10 feuillets  $\beta$ , qui va présenter un repliement semblable à celui des immunoglobulines. Il possède aussi des motifs de fixation aux récepteurs cellulaires.
- Il aura également un rôle dans les différentes étapes de reconnaissance et d'adhésion du virus West Nile à la surface de la cellule hôte.
- Il va porter les différents épitopes de neutralisation virale (17).
- Il porte des épitopes essentiellement spécifiques aux types et sous-types de virus.

Lors de la fusion avec l'endosome, il y a une diminution du pH, qui va changer la conformation de la protéine E, cette fusion est dite pH-dépendante. Lors de son changement de conformation, la protéine E va s'organiser en trimère. Cette nouvelle disposition va libérer le peptide de fusion, qui sera présenté à la membrane endosomale (17).

Les épitopes présents sur le domaine (E-DI) et sur le domaine (E-DII), ont de faibles propriétés immunogènes en comparaison avec ceux présent sur le domaine (E-DIII). C'est sur le domaine (E-DIII) que la majorité des anticorps neutralisant sont retrouvés. Pour avoir une action neuro-invasive du virus West Nile, la glycosylation de la protéine E est essentielle, cette protéine est importante pour l'assemblage du virus ainsi que son infectiosité (17).

## 4. Les protéines Non-Structurales

### 4.1 La protéine NS1

Cette protéine est dite non structurale, et est multifonctionnelle avec un poids variant de 46-55 kDa en fonction de sa glycosylation. Elle est synthétisée en même temps que la protéine E. Pendant la synthèse de la polyprotéine, la région peptidique qui correspond à NS1 est localisée dans le lumen du réticulum endoplasmique. Il y aura les peptidases de la cellule hôte qui vont cliver les différentes jonctions E/NS1 et NS1/NS2A. Après le clivage, la protéine NS1 se retrouve sous forme monomérique, puis va subir plusieurs glycosylations dans le réticulum endoplasmique pour former des homodimères (17,18).

La protéine NS1 à plusieurs formes oligomériques et peut être localisée à différentes localisations dans la cellule (17) :

- Associée à la membrane interne de la cellule (mNS1)
- Associée à la surface de la cellule (forme dimérique)
  - Cette association est fortement immunogène, ainsi que la forme sécrétée, elles vont induire une forte production d'anticorps contre cet antigène (17).

La protéine NS1 peut avoir une forme hexamérique qui sera plus riche en lipide, et qui sera sécrétée par la cellule infectée (sNS1). Cette forme hexamérique est impliquée dans l'évasion à la réponse immunitaire de l'hôte, mais aussi à la dérégulation ou la suractivation de celle-ci, ce qui est paradoxal (25). Cette protéine est requise pour la réplication de l'ARN viral lors de l'infection par le virus West Nile. Elle va stabiliser le complexe de réplication (constitué par l'ensemble des protéines non-structurales et de l'ARN viral) localisé dans le réticulum endoplasmique (17).

### 4.2 Les protéines NS2A et NS2B

La protéine NS2A est une protéine hydrophobe membranaire qui pèse environ 22 kDa, elle est impliquée dans l'assemblage des particules virales. La protéine est obtenue après le clivage cytosolique de NS2A/NS2B à la suite de l'action du couple NS2B/NS3. Cette protéine NS2A nouvellement formée aura un rôle dans la réplication de l'ARN et sera incorporée dans la nucléocapside. NS2A aurait un rôle dans l'inhibition de la réponse des interférons de type I, ainsi

qu'un rôle dans l'apoptose lors d'une infection par le virus West Nile. Avec l'interaction des protéines non structurales virales NS3 et NS5, ainsi que la région 3'UTR de l'ARN viral, elle sera intégrée au sein du complexes de réplication (17,18).

NS2B est quant à elle une petite protéine d'environ 14 kDa et est associée à la membrane du réticulum endoplasmique et localisée au niveau des complexes de réplication. Cette protéine à un rôle dans le recrutement d'autres protéines virales. NS2B forme un précurseur avec NS3, et agit comme son cofacteur, qui sera libéré après l'action de la protéase virale NS3. La protéase est activée à la suite de la formation du précurseur NS2B/NS3 (17,18).

### 4.3 La protéine NS3

La protéine NS3 est multifonctionnelle et a un poids moléculaire d'environ 70 kDa. Elle est impliquée dans la réplication de l'ARN virale, dans le clivage de la polyprotéine *flavivirale*, et a un rôle dans la maturation des protéines C de capsid et de NS4A. Cette protéine a une activité sérine protéase à sa région N-terminale et des activités hélicase (NTPase et ATPase) à sa région C-terminal (25). Elle a une activité RTPase qui va permettre la déphosphorylation de la partie 5' de l'ARN viral pendant la transcription, elle précède l'ajout de la coiffe(17,18).

NS3 va cliver plusieurs jonctions :

- NS2A/NS2B
- NS2B/NS3
- NS3/NS4A
- NS4B/NS5

NS3 induit l'apoptose à la suite de l'activation de la caspase 8 (17).

### 4.4 Les protéines NS4A, 2K et NS4B

La protéine NS4A est une protéine hydrophobe qui a un poids moléculaire d'environ 16 kDa. Elle est située au sien du complexe de réplication et a un rôle dans la réplication de l'ARN virale (17,18).

La protéine NS4B est une protéine hydrophobe qui a un poids moléculaire d'environ 27 kDa. Elle est située au sien du complexe de réplication virale. La protéine NS3 et l'ARN double brin vont également partie de ce complexe de réplication virale. Une Mutation de sa région C-terminale diminue la vitesse de la réplication de l'ARN synthétisé ainsi que sa quantité. NS4B est impliquée dans l'échappement à la réponse immunitaire de l'hôte, cette protéine va inhiber la voie des interférons de type I (17,18).

Ces deux protéines NS4A et NS4B sont séparées par le peptide 2K. Il va être utilisé comme une séquence signal pour initier la translocation de la protéine NS4B dans la lumière du réticulum endoplasmique. Ce peptide a un rôle dans la synthèse de l'ARN viral. Le clivage entre ces deux

protéines et ce peptide est important pour induire les réarrangements des membranes cytoplasmiques, par la protéine NS4A et ainsi former les vésicules pour la réplication. Le clivage entre 2K/NS4B est assuré par la sérine protéase de NS3 qui est activé à la suite de la formation du précurseur NS2B/NS3. Cette sérine protéase est situé en amont du domaine 2K transmembranaire (17,18).

#### 4.5 La protéine NS5

La protéine NS5 est multifonctionnel et a un poids moléculaire d'environ 103 kDa. Cette protéine est conservée chez l'ensemble des virus du genre Flavivirus. Elle est nécessaire à la réplication du génome virale, elle est ARN polymérase-ARN-dépendante. La réplication se fait dans un complexe où interviennent des protéines virales et des protéines cellulaires (17). Elle a en plus de son activité polymérase, une activité méthyltransférase, qui va permettre les méthylations N7 et 2'-O à l'extrémité 5' pour former une structure Cap1 (25). NS5 participe également comme d'autres protéines non structurales à l'évasion à la réponse innée de l'hôte. Récemment cette protéine non structurale a démontré son rôle dans l'évasion à la réponse innée de l'hôte avec la souche NY99. En perturbant la voie de signalisation JAK-STAT, et en empêchant l'expression des gènes de la lignée des interférons de type I (17). L'association de NS3 avec NS5 révèle être majeure comme composant des complexes de réplication, pour la réplication de l'ARN viral (17,18,25). NS5 va utiliser le brin d'ARN positif pour former un brin d'ARN négatif, qui servira à la synthèse de nouveaux brins d'ARN positifs. Ces nouveaux brins d'ARN seront utilisés pour synthétiser de nouvelles protéines virales où seront encapsidés dans de nouvelles particules virales (25).

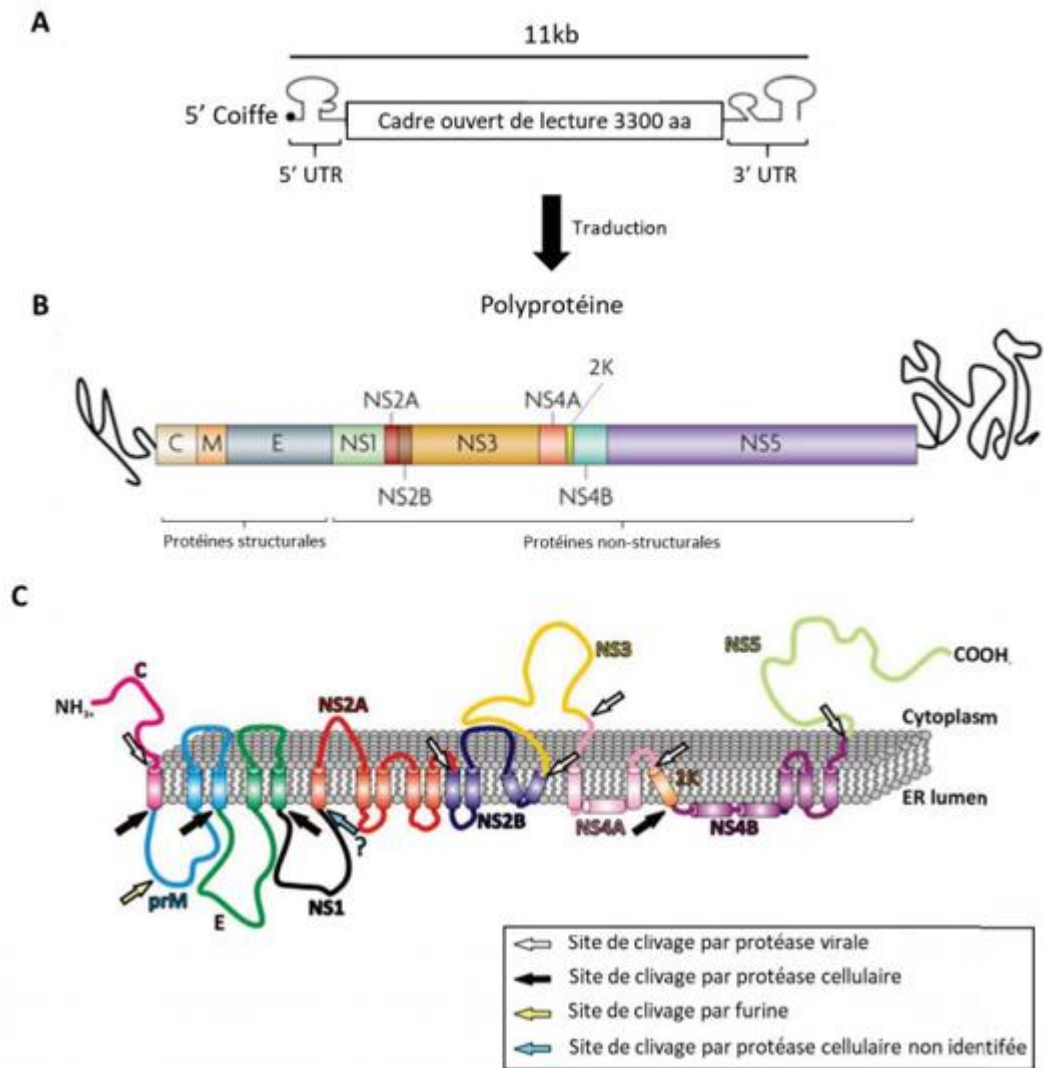


Figure 7 « Organisation génomique du WNV. (17) »

« A, Représentation schématique du génome de WNV.

B, représentation schématique de la polyprotéine obtenue après traduction de l'ARN viral.

C, Représentation schématique de la topologie membranaire prédictive de la polyprotéine virale à partir d'analyses biochimiques et cellulaire. La polyprotéine est ensuite clivée par des protéases virales et cellulaires afin de former l'ensemble des protéines virales. Synthèse personnelle inspirée de (Assenberg et al., 2009 ; Guzman et al., 2010 ; Liu et al., 2010) »

## 5. Entrée du virus dans les cellules humaines

Le virus entre dans les cellules humaines par endocytose. L'endocytose est un mécanisme qui permet à de petites particules comme les virus de pénétrer à l'intérieur de plus grandes cellules. La cellule de l'hôte va englober le virus par invagination de la membrane cytoplasmique, ce qui forme une vésicule qui finit par se détacher pour rejoindre le cytosol (Figure 8). Le virus a besoin, pour entrer dans une cellule, d'une liaison avec l'un des récepteurs spécifiques à la surface de cette cellule hôte, pour déclencher le cycle. Le virus peut s'attacher à la membrane de la cellule hôte, si ses glycoprotéines d'enveloppes reconnaissent les récepteurs membranaires de la cellule (17).

Plusieurs molécules sont reconnues comme étant des récepteurs au virus West Nile :

- Les héparines sulfates
- TLR3 (toll-like receptor)
- DC-sign (récepteur à lectine de type C)
- Les TIM (T-cell Ig mucin domain) et Tam
- Les intégrines de type  $\alpha\beta 3$  (17)

D'autres mécanismes permettent de faire entrer le virus à l'intérieur des cellules hôtes. L'enveloppe virale comprend des phosphatidylsérines et des phosphatidyléthanolamines, qui vont pouvoir interagir avec les récepteurs aux phosphatidylsérines de la cellule hôte, au moment du bourgeonnement, à partir de la membrane du réticulum endoplasmique (17).

Ces récepteurs aux phosphatidylsérines sont les récepteurs :

- TIM en particulier TIM1 et TIM4

À la suite de sa liaison à la membrane de la cellule, le virus West Nile entre par endocytose, il est maintenant dans un endosome. Le contenu de cet endosome va subir un processus d'acidification qui dépend de l'ATP et de l'ATPase membranaire. L'abaissement du pH, va provoquer la fusion de l'enveloppe virale avec la membrane de l'endosome, grâce à la protéine E qui porte un peptide de fusion. L'abaissement du pH engendre une modification de la conformation de la protéine E du virus West Nile, qui expose le peptide de fusion. Ce peptide va rapprocher la membrane virale et la membrane endosomales, ce qui va former un pore qui permettra de faire sortir la nucléocapside virale dans le cytoplasme. Cette nucléocapside nouvellement relâchée va être dégradée, permettant de libérer le génome du virus dans le cytoplasme. L'ARN du virus West Nile est de polarité positive, il va être traduit pour synthétiser une polyprotéine qui sera à l'origine de différentes protéines virales. Elles auront un rôle pour la transcription et la réplication du génome virale (Figure 7) (17).

La réplication du génome viral se déroule au sein d'un ensemble de protéines virales qui est appelé Complexe de réplication, il est constitué des protéines (17) :

- NS1
- NS2A et NS2B
- NS3
- NS4A et NS4B
- NS5

Ce complexe sera en interaction avec différentes protéines de la cellule hôte.

Pour réaliser la réplication virale, le complexe de réplication a également besoin d'un anti-génome qui est un brin d'ARN négatif. Cet anti-génome va servir de matrice pour synthétiser un nouveau brin d'ARN positif. Ce nouveau brin d'ARN viral positif va s'assembler avec des protéines

de capsid, pour donner naissance à de nouvelles particules virales. Elles vont acquérir une enveloppe à la suite de leurs bourgeonnements au niveau du réticulum endoplasmique, grâce aux protéines prM (qui permet un maintien de la protéine E) et E (qui permet d'éviter une exposition du peptide fusion). Le bourgeonnement donne naissance à des particules virales immatures avec un aspect hérissé. Cet aspect est dû à l'insertion de plusieurs hétérodimères prM et E à la surface de l'enveloppe virale. Elles deviendront matures et infectieuses après avoir subi une étape de maturation dans le trans-Golgi, durant cette étape un clivage des hétérodimères prM va avoir lieu. Ce clivage va donner un aspect lisse à ces virions (17,18).

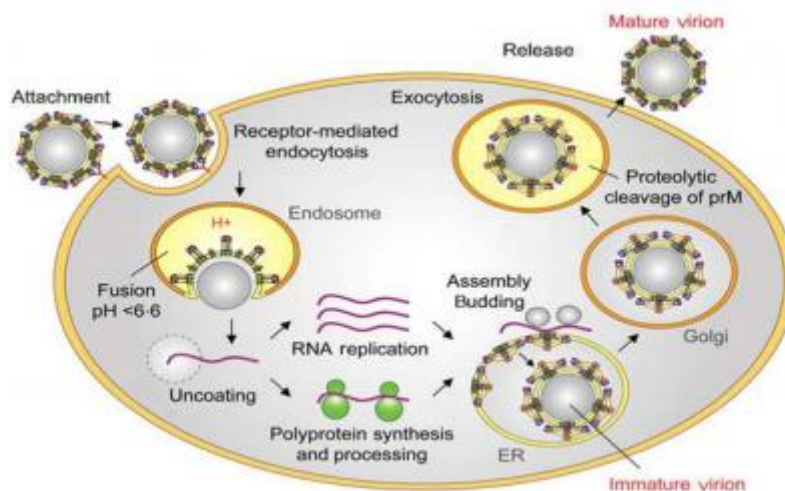


Figure 8 « Schéma représentant le mécanisme d'endocytose d'une particule virale et son évolution dans la cellule d'un hôte. (18) »

### 3. Pathogénèse

La pathogénèse du virus pour les formes graves de l'infection (au sein système nerveux central) n'est pas bien comprise actuellement. On sait que le moustique injecte le virus avec sa salive, s'il est porteur (5). Le moustique infecté va piquer un hôte, à la suite de cette piqûre le virus va se répliquer localement dans les cellules de Langerhans de la peau. Le virus va toucher et infecter plusieurs cellules du corps humain (les cellules endothéliales vasculaires, les fibroblastes ou encore les cellules du système réticulo-endothélial) (2). L'inoculation de la salive se fait entre les compartiments extravasculaires de la peau, plus précisément dans le derme et l'épiderme. À la suite de cette inoculation, le virus va se répliquer dans les fibroblastes et dans les kératinocytes (13). La réplication est suivie par la migration du virus dans les ganglions lymphatiques, sous la forme de petite particules virales, elles seront libres ou transportées par des cellules migratrices du derme. Ces particules seront répliquées dans les macrophages des ganglions lymphatiques après migration, et seront évacuées par un canal lymphatique en direction des vaisseaux sanguins. Le virus va à la suite de cette évacuation, infecter et se multiplier dans les monocytes circulants. Ce qui permet une dissémination plus facile du virus à travers tout l'organisme et d'atteindre plusieurs organes cibles : le système nerveux central et les tissus hépatiques. C'est la phase de virémie, une



réponse immunitaire humorale et cellulaire sera engendrée. Pendant cette phase virémique, le virus pourrait envahir le neuroépithélium olfactif et se disséminer dans des zones particulières du système nerveux central (13). Le virus peut persister chez l'hôte s'il peut échapper à la reconnaissance du système immunitaire et s'il est capable d'infecter les cellules cibles. Les antigènes viraux sont présents en faible quantité dans les tissus cérébraux. Cependant les inflammations sont très importantes au sein de ces tissus, une faible quantité de virions est suffisante pour initier une réponse du système immunitaire (26). Chez les chevaux, aucun antigène n'est détecté dans le système nerveux périphérique, il y a un tropisme pour le système nerveux central.

La neuropathogénèse du virus West Nile dépend de trois critères (17) :

- La charge virale dans le sang.
- La capacité du virus à entrer dans le système nerveux.
  - Cette capacité est principalement effectuée par les différentes protéines de structures, mais essentiellement les N-glycosylations de la protéine E.
- La capacité du virus à se propager à l'intérieur des cellules du système nerveux, que ce soit dans les neurones, les cellules gliales ou encore les cellules myéloïdes (17).

Certains chercheurs émettent la possibilité, que le virus West Nile puisse persister dans les reins après infection, ainsi que dans les urines, mais les tests utilisés pour mesurer la quantité d'ARN dans les urines peut présenter des différences de résultats (27) :

- La performance des tests utilisés peut impacter le résultat.
- Les cohortes étudiées peuvent entraîner une incidence différente du virus West Nile dans les urines.
- L'excrétion d'ARN du virus West Nile peut être intermittente.

La persistance du virus dans le cerveau, le liquide céphalorachidien et dans le sang a déjà été signalée par le passé après infection chez certaines personnes sensibles (nouveau-nés, personnes âgées, personnes immunodéprimées) (27).

## **4. Etude clinique**

### **1. L'examen clinique**

#### **1.1 Période d'incubation**

La période d'incubation est la période qui se déroule entre la contamination d'un hôte par un agent pathogène extérieur et l'apparition des premiers symptômes qui lui sont associés. Le virus West Nile a une période d'incubation qui dure en général de 2 à 6 jours, mais cette période peut

durer 14 jours (4,5,26). Cette période d'incubation peut durer jusqu'à 21 jours, si un patient a subi une greffe d'organe et que le donneur a été infecté par le virus (Figure 9).

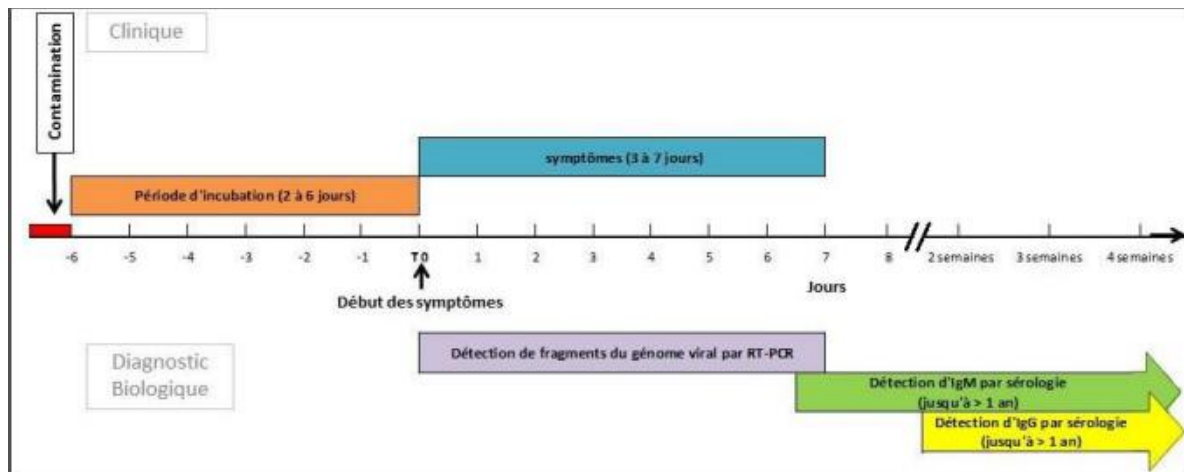


Figure 9 « Echelle temporelle de la contamination, montrant l'évolution clinique et le diagnostic biologique (5). »

Cette figure montre l'évolution temporelle du virus West Nile à partir de la contamination chez un l'Homme. La période d'incubation dure 2 à 6 jours, à la suite de cette période d'incubation les symptômes débutent pour une durée de 3 à 7 jours. C'est au début des symptômes que l'on peut détecter des fragments du génome viral par RT-PCR. On détecte les IgM et IgG par la suite.

## 1.2 Période de contagion

Les contacts de la vie courante, ne permettent pas de transmettre le virus chez l'Homme. Il n'y a donc pas de période de contagiosité, pour ce virus (5). Dans le cas des transfusions sanguines ou des greffes d'organes, si le donneur a été infecté, une période de contagiosité existe, elle est de 6 jours en général. Ce risque reste relativement faible, mais reste possible (5).

## 1.3 Symptômes

Dans 80% des cas une infection par le virus West Nile reste asymptomatique, c'est-à-dire que le patient ne développera pas de symptômes. Dans 20% des cas, l'infection peut s'exprimer de façon paucisymptomatique c'est-à-dire que le patient va exprimer très peu de symptômes. Ils vont se caractériser par un syndrome pseudo grippal, de la fièvre, des maux de tête, de la fatigue, des éruptions cutanées, une myalgie, des nausées, des vomissements, et un gonflement des ganglions lymphatiques. Dans moins de 1% des cas, l'infection va toucher le système nerveux central. Des encéphalites, des méningites, des pertes de mémoire, des paralysies, de fortes fièvres, des raideurs de la nuque, des pertes de la vision et des engourdissements ont été enregistrées à la suite d'une infection (4,11,28). Un syndrome sévère de type poliomyélite peut survenir. La méningite causée par le virus West Nile, ne peut pas être différenciée d'une méningite classique causée par un autre virus. Les symptômes seront les mêmes à savoir de la fièvre, des maux de tête, des vomissements, une rigidité de la nuque, une intolérance à la lumière et aux bruits. De nombreuses causes peuvent être à l'origine d'une méningite : bactéries, virus, champignons. La plupart des patients ayant développé une méningite due au virus West Nile, se rétablissent complètement. Cependant ils

peuvent garder des symptômes durant plusieurs semaines ou mois après avoir été infectés (comme de la fatigue, des malaises et des faiblesses musculaires). L'encéphalite causée par le virus West Nile et plus grave que la méningite. Elle va se manifester par une fièvre, une altération de l'état mental, des convulsions, et des déficits neurologiques focaux ou des troubles du mouvement (tremblements ou parkinsonisme) (28). Les patients ayant développé une encéphalite ou une poliomyélite à la suite d'une infection par le virus West Nile vont garder dans la plupart des cas, des déficits neurologiques résiduels. Le taux de létalité global est plus élevé chez les personnes ayant développé une encéphalite et/ou une poliomyélite à virus West Nile (environ 10%) que chez les personnes ayant développé une méningite. Les patients infectés peuvent développer une paralysie flasque aiguë qui sera identique cliniquement et pathologiquement à une poliomyélite associée à un poliovirus. Les cellules de la corne antérieure seront atteintes. Cette paralysie flasque pourra évoluer vers une paralysie respiratoire qui nécessitera une ventilation respiratoire. La poliomyélite causée par le virus West Nile, est souvent caractérisée par une parésie isolée qui est une diminution de la motricité d'une région qui se caractérise par la paralysie d'un membre. Elle peut survenir sans fièvre et sans symptôme viral apparent. Un syndrome de Guillain-Barré (*i.e.* le système immunitaire du patient attaque les nerfs périphériques, qui peut évoluer jusqu'à la paralysie de patients) et une radiculopathie (*i.e.* pathologie qui touche une ou plusieurs racines nerveuses) ont été recensés et peuvent être distingués de la poliomyélite, par des manifestations cliniques et par des tests électrophysiologiques. Les personnes âgées et les personnes immunodéficientes sont plus susceptibles de développer des symptômes neurologiques pouvant entraîner la mort. Parmi ces personnes, environ 50% vont garder des séquelles post-maladie importantes, durant l'année qui suit leur infection. Ces mêmes personnes seront plus susceptibles de décéder dans les trois ans qui suivent l'infection. Le taux de mortalité chez les personnes de plus de 70 ans ayant développé une infection au virus, varie de 15 à 29% (19,28).

## 5. Mutations

Jusque dans les années 1990, en Europe, le virus ne semblait pas se maintenir dans l'environnement. Cette tendance s'est inversée vers la fin des années 90, et des épidémies se sont développées dans certaines régions. Le maintien du cycle de transmission réciproque entre oiseaux et moustiques, suggérant un passage à l'endémicité. En Amérique du Nord, le virus a su s'implanter, se maintenir dans l'environnement et se répandre sur de vastes distances (11).

Plusieurs hypothèses peuvent expliquer ce phénomène (11) :

- Les oiseaux d'Amérique n'ayant pas été en contact avec les premières lignées du virus West Nile, ils n'ont pas développé les mêmes caractéristiques que les oiseaux européens. Ce qui a facilité la transmission et la diffusion du virus.

- Avec les années, le virus a évolué, plusieurs souches ont vu le jour. Il a gagné en capacité répliquative, il est devenu plus résistant à l'environnement, et plus virulent au contact des nouvelles espèces de moustiques et d'oiseaux.
- Le virus résiste à l'environnement grâce aux moustiques qui survivent l'hiver ou par transmission verticale.

La virulence du virus de la lignée 2 est due à des mutations, elles ont déjà été décrites pour les virus de lignée 1. Ce sont des substitutions qui touchent la protéine non structurale 3 (NS3), en position 249, où l'acide aminé (Thréonine) est remplacé par une proline (18).

La glycosylation de la protéine E, est aussi un facteur important dans la pathogénicité du virus. Les virus ayant subi ces glycosylations aux positions 154 et 156 sont responsables d'épidémies graves (18).

## 6. Réponse inflammatoire

La réponse inflammatoire chez l'Homme à la suite de l'infection par le virus West Nile, a montré une augmentation des taux des chimiokines et des interférons  $\alpha$ . Cette augmentation précède l'apparition des IgM qui sont le marqueur d'une infection. Cette augmentation met en évidence le rôle du système immunitaire dans la lutte contre le virus West Nile (25).

La réponse immunitaire passe par les interférons, ce qui permet le contrôle de la prolifération et la diffusion du virus. Les interférons de type I, ont un rôle important dans le contrôle du virus. La sécrétion de ces interférons fait intervenir les IRF-3 et IRF-7 (interferon regulatory factors), en réponse à l'activation des différents récepteurs de l'ARN viral (25). Des études ont montré que chez la souris dépourvue de récepteurs de l'interféron  $\alpha$  et  $\beta$ , le virus est létal. Les interférons de type I ont démontré une activité contre ce virus (25). L'activation de différents récepteurs de l'ARN viral dont les TLR-3 (endosomaux toll-like) et les récepteurs TLR-7 et TLR-8, vont provoquer la sécrétion d'interféron de type I. L'ARN viral double brin va aussi provoquer la sécrétion des gènes RIG-I (retinoic acid inducible gene) et MDA-5 (human melanoma differentiation associated gene 5) (25). Les neurones, les fibroblastes et les cellules myéloïdes utiliseraient IRF-3 pour combattre le virus West Nile. Les TLR-3 vont servir à la reconnaissance de l'ARN viral double brin lors de sa répllication dans les cellules infectées, alors que les TLR-7 et TLR-8 vont servir à la reconnaissance de l'ARN simple brin (25).

Des études chez des souris ont été réalisées pour établir le rôle de TLR-3. Dans ces deux études les souris ont été déficientes en TLR-3, malgré la similitude dans les conditions de test, il y a eu des résultats différents. Dans la première étude, les souris ayant une déficience en TLR-3 ont montré de meilleur taux de survie, que les souris témoins non déficientes pour TLR-3 après avoir été infectées par le virus West Nile (25). Dans cette première étude le virus serait fortement présent en

périphérie, mais il ne parviendrait pas à pénétrer dans le cerveau à la suite d'une réponse inflammatoire diminuée, due à l'absence de TLR-3 qui ne provoque pas de perméabilité de la BHE. Dans la deuxième étude, le virus serait également fortement présent en périphérique. Cette fois il pénétrerait dans le cerveau et se répliquerait dans les neurones. Ce qui provoque la mort de ces souris déficientes en TLR-3, sans perméabilisation de la BHE (25). Chez une souris présentant une déficience en TLR3, la virémie est plus importante.

Nous serions amenés à penser qu'une virémie plus élevée provoquerait la mort prématurée des souris, mais la cytokine TNF- $\alpha$  a pour effet d'augmenter la perméabilité de la BHE. La diminution du taux de cytokine TNF- $\alpha$ , permet à la souris d'être plus résistante à une infection du système nerveux central. Mais cela reste une théorie, puisque la quantité de TNF- $\alpha$  présente dans le sérum de la souris est trop faible. On peut difficilement déduire de manière significative le lien entre une déficience en TNF- $\alpha$  et une augmentation de la perméabilité de la BHE et donc de l'entrée du virus dans le système nerveux (17).

## **7. Rôle de l'immunité innée**

La réponse innée est nécessaire au contrôle de la réplication virale. À la suite de la détection du pathogène, ce sont principalement les interférons qui interviennent pour la réponse innée. Cette réponse est également importante pour initier la réponse immunitaire adaptative à la suite de l'inflammation (17).

### **1. Interaction du Virus West Nile avec le système TLR**

Les récepteurs Toll sont présents à la surface des cellules ou présents à la surface des membranes des endosomes. Ce système TLR va reconnaître les motifs spécifiques d'un pathogène (PAMP). La reconnaissance d'un motif va initier la réponse antivirale. Chacun des TLR a un domaine qui reconnaît le motif d'un pathogène, et un domaine cytoplasmique (TIR) qui va activer la voie de signalisation. Lorsque le virus a été reconnu, le domaine cytoplasmique (TIR) va activer différentes protéines comme MyD88 (myeloid differentiation factor 88) ou la protéine TRIF (TIR containing adaptor-inducing IFN  $\beta$ ). Ces protéines MyD88 et TRIF vont, à leur tour, activer des facteurs de transcription comme IRF-3 (Interferon regulatory factor 3) et également NF- $\kappa$ B. En plus de la production de ces facteurs de transcription, des molécules pro-inflammatoires seront produites comme les interférons de type I (17).

DC-SIGN et DC-SIGNR sont des récepteurs impliqués dans l'engagement de la réponse innée de l'hôte infecté et dans l'attachement cellulaire. Ils vont interagir avec TLR3 pour moduler une réponse induite lors d'une infection par le virus West Nile. DC-SIGN va reconnaître la protéine E du virus West Nile, et provoquer une diminution de la production de l'expression de TLR3 chez les macrophages *via* la voie STAT-1. Ce mécanisme de reconnaissance de la protéine E par DC-SIGN est déficient chez les personnes âgées. Cette déficience aura pour conséquence d'augmenter le

niveau de TLR3 chez les macrophages, ainsi que les niveaux en cytokine, ce qui augmenterait la perméabilité de la BHE (17).

Les TLR7 quant à eux reconnaissent les ARN simples brins, avec la voie IL-23 dépendante ils modulent la migration des cellules immunitaires. Parmi ces cellules immunitaires on retrouve les cellules de Langerhans, cette migration s'effectue vers les cellules infectées (17).

## **2. Interaction du virus West Nile avec le système RLR**

Les récepteurs RLRs (RIG-I like receptors) peuvent également reconnaître les PAMPs. Ces récepteurs sont des hélicases qui vont reconnaître l'ARN simple brin et l'ARN double brin qui est synthétisé pendant la réplication du virus. Les récepteurs RLRs sont représentés par les protéines RIG-I, LGP2 et MDA5, au niveau intracellulaire. Les récepteurs RIG-I et MDA5 en plus de reconnaître l'ARN viral nouvellement synthétisé, vont reconnaître deux domaines qui vont activer les caspases et le recrutement de MAVS (mitochondrial antiviral-signaling protein). L'interaction entre les RLRs et MAVS va activer les facteurs de transcription NF- $\kappa$ B et IRF3. Cette activation met en place la réponse antivirale, et permet de contrôler l'infection par le virus West Nile. Sans ce facteur protéique MAVS, la réponse inflammatoire est altérée, et la réponse immunitaire en est alors affectée. Les personnes présentant un déficit en MAVS sont plus sensibles à une infection par le virus West Nile (17).

Les sérines/thréonines protéines kinases (PKR), sont des protéines qui ont un rôle dans la résistance à l'infection par le virus West Nile. Ce sont les interférons de type I et III qui vont induire l'expression de ces sérines/thréonines protéines kinases. Elles seront initialement sous forme de monomère, qui sera activé par la suite par de nombreux ligands dont les ARN double brin viraux. Après son activation, ce monomère se phosphoryle et se dimérise pour obtenir la forme activée de l'enzyme. Ces protéines vont agir sur la traduction du génome virale, en phosphorylant le facteur eIF2 $\alpha$  initiant la traduction. Cette phosphorylation va empêcher la synthèse de protéines virales (17).

## **3. Autres réponses cytokines**

Les cytokines sont des protéines qui vont être sécrétées par les cellules, elles ont un rôle dans la réponse immunitaire et inflammatoire. Les cytokines sont représentées par plusieurs types de molécules (17) :

- Les interférons (IFNs)

L'interféron de type II, IFN- $\gamma$ , va être impliqué dans la protection de l'hôte lors d'une infection par le virus West Nile. Les lymphocytes que cet interféron va activer vont limiter la dissémination du virus, et réduire la réplication virale (17).

L'interféron de type III, IFN- $\lambda$ , va être impliqué dans l'inhibition de l'infection. Il va interagir avec IFNLR qui est son récepteur pour déclencher une cascade de signalisation, qui sera médiée par JAK-STAT. Cette cascade de signalisation va induire l'expression de plusieurs gènes qui ont une activité antivirale et une activité immunomodulatrice. L'interaction avec un autre récepteur, le récepteur IFNLR1, va induire une modulation des jonctions cellulaires endothéliales. Ce qui va augmenter l'intégrité de la BHE, cette augmentation permet de diminuer l'entrée du virus, au sein du système nerveux centrale (17).

- Les interleukines (17)

Certaines interleukines sont pro-inflammatoires comme les interleukines IL-1 $\beta$ , IL-6 et IL-8 et d'autres sont anti-inflammatoires, comme les interleukines IL-4 et IL-10.

Le facteur d'inhibition de la migration des macrophages augmente la perméabilité de la BHE et favorise la neuroinvasion par induction de cytokines pro inflammatoires. De plus ce facteur d'inhibition semble induire l'expression de différentes métalloprotéases de matrice (1 et 9), qui facilitent l'entrée du virus dans le système nerveux.

- Les chimiokines, elles permettent la migration la migration et le recrutement des cellules immunitaires.
- Les facteurs de nécrose tumorales (comme les TNF- $\alpha$  par exemple)
- Les CSFs (colony-stimulating factors)

#### **4. Rôle des cellules immunitaires dans la réponse innée**

Les cellules immunitaires dont les phagocytes (monocytes, macrophages) jouent un rôle dans la réponse innée, en plus de leurs rôles dans la réponse adaptative. Les cellules myéloïdes vont induire une réponse inflammatoire *via* la production de cytokines, permettant un contrôle de l'infection. Les polynucléaires neutrophiles vont servir de site d'amplification au virus au début de l'infection. Plus tard ces polynucléaires vont contribuer à éliminer l'infection virale après détection de chimiokines, ce qui est paradoxale (17).

#### **5. Le rôle des lymphocytes T dans l'infection à Virus West Nile**

Lorsque des cellules infectées sont détectées, des lymphocytes T cytotoxiques sont sécrétées et prolifèrent. Les cellules infectées possèdent à leur surface des complexes d'histocompatibilités majeur de classe I. Parmi les lymphocytes T, les lymphocytes T CD4+ ont un rôle important dans le contrôle de l'infection. Ils vont contribuer à l'activation et la sensibilisation des lymphocytes B, à la sensibilisation des lymphocytes T CD8+, mais aussi à la production de cytokines, et avoir un effet cytotoxique. Les lymphocytes TCD8+, ont un rôle dans le contrôle de

l'infection mais aussi dans l'élimination du virus West Nile, notamment au niveau du système nerveux centrale (17).

## **8. La réponse immunitaire humorale**

Les anticorps sont principalement dirigés contre les protéines E et prM lors de l'infection par le virus West Nile. Ils reconnaissent aussi pour certains anticorps, la protéine non structurale NS1 que ce soit la forme circulante dans le sang ou bien la forme qui est fixée à la surface des cellules. Le domaine (E-DIII) de la protéine E possèdent des épitopes fortement immunogènes contre les anticorps. Les anticorps neutralisants cibles la plupart des épitopes qui sont localisés au niveau de ce domaine (E-DIII). Les anticorps anti-DIII bloquent l'interaction entre les récepteurs cellulaires et la protéine E qui est présente en surface du virion, empêchant l'entrée du virus dans la cellule. Des anticorps dirigés contre NS1 protègent l'individu d'une dose létale injectée de virus West Nile (17). La réponse immunitaire adaptative par l'utilisation d'anticorps contre le virus West Nile semble être une approche thérapeutique efficace chez les patients qui présenteraient des troubles neurologiques. Il a été montré que chez les souris, une déficience en lymphocyte B (SCID, RAG1, b-/-) était rapidement mortelle après une infection par le virus West Nile. Cela permet de mettre en évidence l'utilité et l'importance des lymphocytes B pour lutter contre ce virus. Ils permettent le contrôle et la limitation de la dissémination du virus dans le système nerveux. Chez les souris présentant une déficience en IgM sécrétées, une réplication accrue du virus a également été montrée. Comme les lymphocytes B, les IgM ont un rôle important dans le contrôle de la réplication du virus, ainsi que dans sa dissémination (25). Les facteurs qui empêchent la mise en place de cette réponse immunitaire, augmentent le risque de développer chez les personnes sensibles la survenue des symptômes les plus graves après infection (25).

## **9. Mécanismes d'évasion du virus West Nile au système immunitaire de l'hôte**

Les protéines non structurales ont un rôle important dans l'évasion du virus West Nile au système immunitaire de l'hôte. Ils vont inhiber la phosphorylation de JAK1 et de TYK2, mais également l'activation de STAT1 et STAT2 qui sont des facteurs de transcription. Sans l'activation de ces facteurs de transcription, la synthèse d'IFN- $\alpha$  est entravée (17).

### **1. NS1**

- Cette protéine va participer à l'évasion à la réponse immune de l'hôte, que ce soit sa forme intracellulaire ou bien sa forme sécrétée. Cette évasion est possible par le blocage de la réponse des interférons de type I et en inhibant l'activation du complément, la sécrétion de cytokine induite par les TLR3 et en bloquant la transduction du signal (17).



## 2. NS2A

- Cette protéine va inhiber la transcription des gènes qui sont contrôlés par l'interféron  $\beta$  (IFN- $\beta$ ) (17).

## 3. NS4B

- Cette protéine va empêcher la phosphorylation de STAT1 et de STAT2, ainsi que la translocation vers le noyau (17).

## 4. NS5

- Cette protéine va inhiber la phosphorylation de JAK1 et de TYK2, ce qui va bloquer le signal des interférons (17).

Le virus West Nile peut retarder l'activation des IRF3 et permettre à la production virale d'être mise en place et de se multiplier sans difficulté dans la cellule, avant que l'action des interférons ne soit mise en place et limite l'activité du virus. Lorsque le virus West Nile infecte des macrophages, ceux-ci vont induire la production de l'interleukine 8 (IL-8). Cette infection va inhiber l'expression des interleukines  $1\beta$  (IL- $1\beta$ ) et des interférons de type I, à cause de l'interférence qu'il existe avec la voie JAK/STAT (qui se révèle importante dans l'activation des macrophages). Ce mécanisme est plus efficace chez un hôte jeune, ce mécanisme est dépendant de l'âge, ainsi que du système immunitaire (17).

Le virus West Nile va arrêter le processus de transcription ainsi que le processus de traduction dans les cellules saines chez l'hôte. Cependant le virus n'arrête pas le processus de traduction et de transcription des protéines virales (24). L'arrêt de ces processus dans les cellules saines va provoquer une diminution de la synthèse d'IFN  $\alpha/\beta$ , qui va affecter le système immunitaire de l'hôte. L'organisme de l'hôte aura du mal à lutter contre cette infection. L'infection par le virus West Nile, va conduire à l'activation de l'apoptose de la cellule hôte. Cette voie est importante pour le développement de la pathogénèse neuronale chez les organismes infectés (17,24).

## 10. Réponse immunitaire cellulaire

Les patients recevant un traitement immunosuppresseur en vue de traiter une pathologie, vont développer des symptômes neurologiques graves après une infection par le virus West Nile. Les lymphocytes T s'avèrent être également importants pour lutter contre l'infection au virus (25). Depuis 1999, la neuropathologie provoquée par le virus West Nile est renseignée après avoir réalisé l'autopsie de quatre patients décédés des suites de leur infection. Durant cette infection les patients ont décrit des épisodes fébriles et une faiblesse musculaire. Après examen du tronc cérébral et des tissus cérébraux, de nombreux nodules microgliaux ont été retrouvés, principalement constitués de lymphocytes T CD8+, mais aussi des lymphocytes et des histiocytes. Les cellules inflammatoires

auraient une double activité : éliminer le virus du cerveau mais également contribuer à l'immunopathogénèse. A la suite de la destruction des neurones infectés, ces cellules secrèteront des cytokines inflammatoires toxiques pour les cellules voisines à la cellule infectée. Ce serait la destruction de ces neurones et la réaction inflammatoire dûes à l'entrée du virus qui provoqueraient des symptômes plus sévères (25).

Chez les souris, des études ont permis de mettre en évidence l'utilité des lymphocytes T CD4+ et CD8+ dans l'élimination du virus, qu'ils soient situés en périphérie ou dans le système nerveux. Chez certaines souris déficientes en lymphocytes T CD8+, des chercheurs ont transféré ces lymphocytes afin d'en étudier le résultat et voir si cela s'avérait utile. Ce transfert a permis de contrôler l'infection et une action cytotoxique de ces lymphocytes vis-à-vis des peptides immunodominants du virus West Nile (25). Les lymphocytes T CD4+ sont quant à eux utiles pour la mise en place d'anticorps en début d'infection. Ils vont également sécréter des cytokines antivirales et immunomodulatrices, qui seront très importantes pour l'activation des lymphocytes T CD8. Les lymphocytes T CD4+ régulateurs (CD4+, CD25+, Fowp3+ ou Treg) sont immunosuppresseives, ils ont un rôle protecteur concernant l'infection par le virus West Nile. Les patients ayant un taux élevés en lymphocytes T CD4+ régulateurs ont moins de symptômes, que les patients ayant une déficience de ces lymphocytes (25).

Les Treg ont été le sujet de nombreuses études, elles ont permis de montrer que les Treg avaient un rôle protecteur lors d'infection par ce virus. Des études chez les souris ont permis de mettre en évidence qu'une déficience en Treg était associée à un taux de mortalité plus élevé par rapport à des souris témoins (25).

Les récepteurs Toll-like (TLR) et les ARN hélicases sont essentiels pour reconnaître les profils moléculaires associés au virus West Nile. Cette reconnaissance va permettre l'activation précoce des voies immunitaires innées pour un contrôle du virus (13).

La réponse précoce est médiée par les macrophages. Une souris qui présente une déficience en macrophages à un taux de mortalité plus élevé qu'une souris témoin, mais également une virémie plus élevée. Les macrophages sont un composant majeur des différents tissus du système nerveux enflammé et sont considérés comme étant des protecteurs contre le virus et son infection. Les macrophages contrôlent l'infection par le virus West Nile par l'expression constitutive de gènes immunitaires innés (RIG-I, MDA5, PKR RNaseL) et par des mécanismes effecteurs directs. Ils produisent des espèces réactives de l'oxygène (ERO) et des interférons de type I qui ont un rôle essentiel dans la résistance au virus West Nile (13). La perméabilité de la BHE est importante pour la résistance à l'infection. Certains éléments diminuent cette perméabilité, ce qui permet au virus d'avoir une meilleure pénétration (Tableau IV) (Figure 10).

Tableau IV « Facteurs de l'hôte modulant l'intégrité de la barrière hémato-encéphalique (17). »

Facteurs de l'hôte	Effets sur intégrité de la BHE
<b>Cytokines pro-inflammatoires (TNF-<math>\alpha</math>, IL-1<math>\beta</math>, IL-6, MIF)</b>	Déstabilisation BHE
<b>Matrix metalloprotéinase 9 (MMP-9)</b>	Augmentation perméabilité BHE
<b>Semaphorine 7A</b>	Augmentation perméabilité BHE en favorisant la production de TNF- $\alpha$
<b>IFNs de type I (IFN-<math>\alpha</math> et IFN-<math>\beta</math>)</b>	Favorise intégrité BHE via activation des interactions de Rac1 et RhoA entraînant l'inhibition indirecte des effets de TNF- $\alpha$ et IL-1 $\beta$
<b>IFN-<math>\lambda</math></b>	Modulation de la localisation des protéines de jonctions serrées des cellules endothéliales => augmentation intégrité et diminution du passage de virus à travers la BHE
<b>Récepteurs de type TAM (Tyro3, Axl et Mertk)</b>	Augmentation intégrité BHE
<b>Molécules d'adhésion cellulaire, CAMs (ICAM-1, VCAM-1 et Sélectine-E)</b>	Augmentation de l'expression des CAMs qui induit l'adhésion et la migration transendothéliale des leucocytes

Ce tableau présente les facteurs de l'hôte qui ont un effet sur l'intégrité de la BHE (barrière hémato-encéphalique), soit en la déstabilisant ou en augmentant sa perméabilité ou son intégrité.

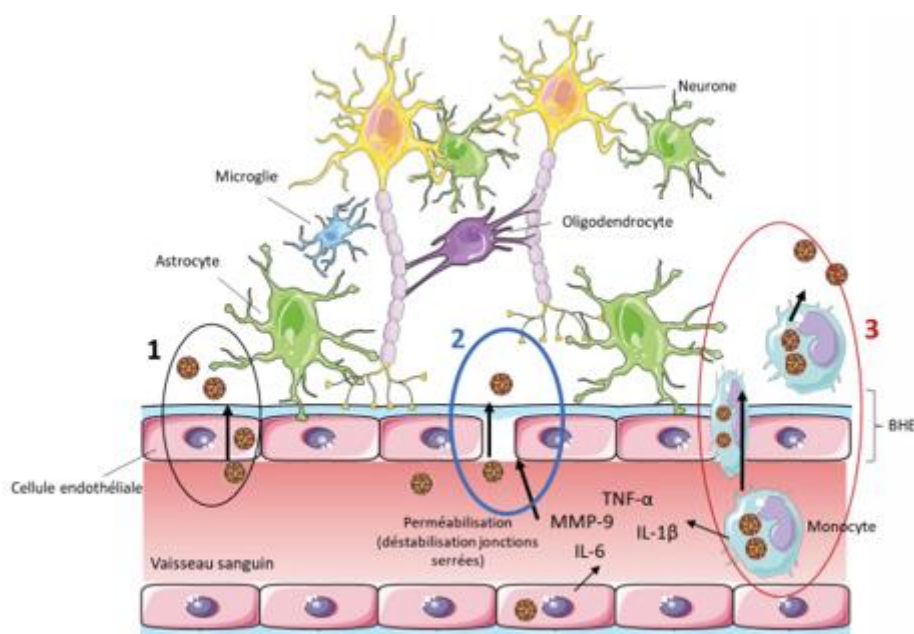


Figure 10 « Représentation schématique des différentes voies d'entrée du virus West Nile dans le système nerveux central (17). »

« 1. Attachement/ infection des cellules endothéliales de la Barrière hémato-encéphalique puis entrée dans le système nerveux central.

2. Les cytokines pro-inflammatoires sécrétées par les cellules locales infectées (cellules endothéliales, monocytes, ...) déstabilisent l'intégrité de la Barrière hémato-encéphalique. Ceci permet au virus de rentrer plus facilement dans le système nerveux central.

3. Entrée du virus West Nile dans le système nerveux central par le mécanisme de « cheval de Troie » via l'infection de monocytes ou macrophages qui sont capables de traverser la Barrière hémato-encéphalique. »

La réplication précoce du virus West Nile est inhibée par la protéine transmembranaire inductible par l'interféron (IFITM) (13).

Les lymphocytes T CD8+ jouent un rôle dans la réponse aux infections. Les lymphocytes T reconnaissent plusieurs régions peptidiques des protéines du virus, avec un sous-ensemble de 8 peptides qui prédominent. Ce sont les lymphocytes T CD8+ qui présentent le plus de réponses spécifiques. Ces lymphocytes T CD8+, se développent rapidement et migrent vers le site d'infection dans le système nerveux central, ils sont importants pour contrôler la charge virale. Les réponses des lymphocytes T mémoires au virus West Nile sont dues en majorité aux lymphocytes T CD8, après examen des réponses immunitaires (13).

Les cellules polymorphonucléaires (PMN) jouent un rôle dans l'infection, elles sont recrutées sur le site inoculé avec le virus. Si on épuise le stock de ces cellules (PMN) avant une infection au virus, le recrutement de nouvelles cellules (PMN) sur le site d'inoculation est associé à une réplication du virus. Cependant si le stock de ces cellules (PMN) est épuisé après l'infection au virus, la virémie et la mortalité sont plus élevées, d'après des tests chez des souris (13).

Des études sur les cellules dendritiques ont montré que l'expression de l'interféron de type I en réponse au virus, est plus faible dans les cellules des personnes âgées que dans celles des personnes plus jeunes. La réponse immunitaire innée est essentielle comme défense antivirale immédiate. Elle met en place la régulation des interférons de type I, mais aussi pour la génération d'une réponse prolongée efficace à médiation cellulaire T et B (13).

Les souris présentant une déficience en lymphocytes T  $\gamma\delta$ , ont une virémie ainsi qu'une mortalité plus élevée par rapport à des souris témoins. Ces lymphocytes T  $\gamma\delta$  augmentent rapidement après l'infection. Les cellules T $\gamma\delta$  sont essentielles pour contrôler l'infection au virus, mais également pour la réponse immunitaire adaptative. Elles vont faciliter la maturation des cellules dendritiques et fournir un lien entre les réponses immunitaires innées et adaptatives contre les infections au virus (13).

Les personnes qui ont été infectées par le virus West Nile, vont acquérir une immunité face au virus qui devrait les protéger le reste de leur vie. Cependant une réinfection est toujours possible. L'immunité diminue avec le temps, et des problèmes de santé diminuant l'immunité peuvent survenir, rendant une personne à nouveau sensible à une infection par le virus West Nile (5).

## **11. Déterminants génétiques de la maladie**

De nombreux facteurs de risques peuvent avoir une incidence sur le développement et la gravité d'une infection par le virus West Nile. En effet les personnes âgées (Figure 11), diabétiques ou ayant de l'hypertension, et présentant un déficit immunitaire auraient plus de risques de développer des symptômes plus graves (5,13,25).

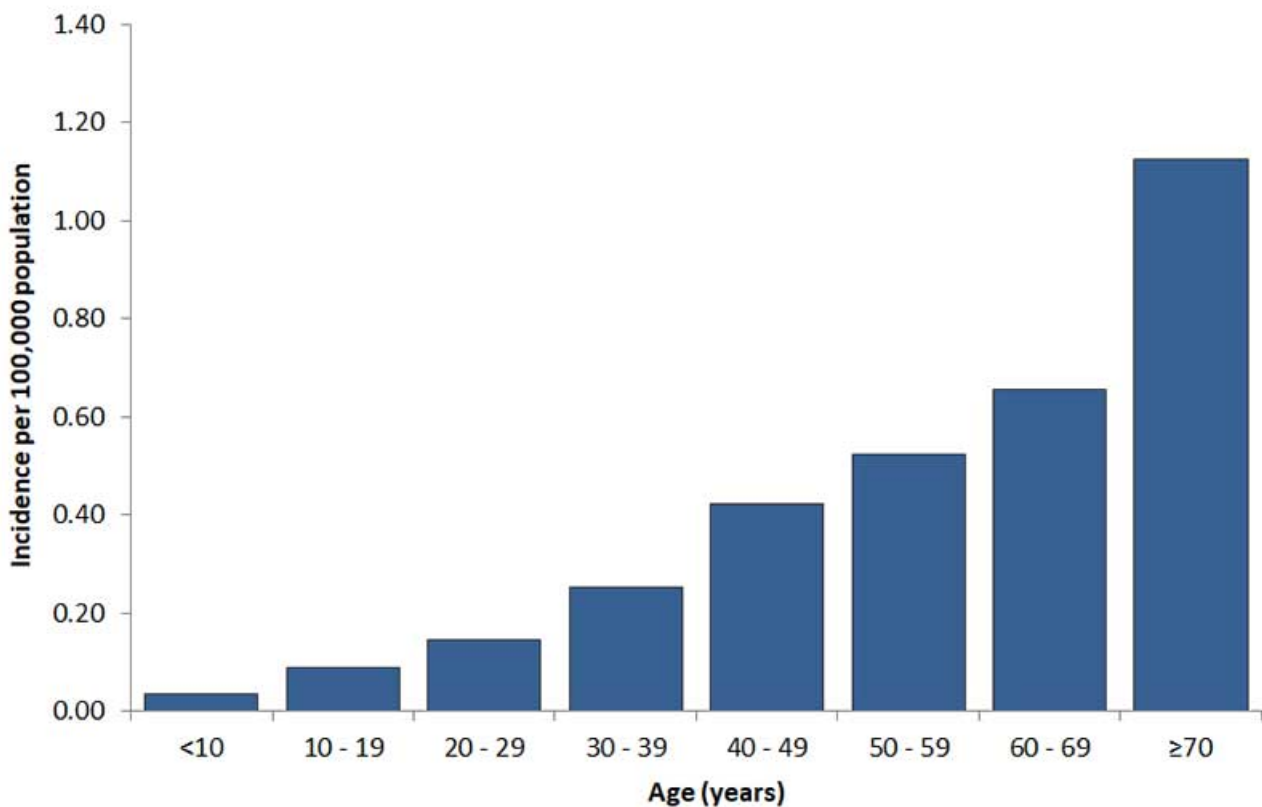


Figure 11 « Incidence des cas neuro invasives dû à virus West Nile sur la période 1999 à 2018 en fonction de l'âge (29). »

Ce graphique met en évidence l'incidence moyenne des maladies neuro-invasives par groupe d'âge, durant la période 1999-2018. On remarque que le nombre de cas augmente proportionnellement avec l'âge. Ce qui confirme que les personnes sensibles (personnes âgées, jeunes enfants, personnes immunodéficientes) sont plus susceptibles de développer une forme neurologique.

Des mutations génétiques peuvent également s'avérer être un facteur de risque pour développer des désordres neurologiques graves (comme la mutation dans le gène du récepteur chimiokines CCR5 ou encore OAS1) (25). Certains facteurs génétiques de l'hôte humain, vont influencer la gravité de l'infection et la réponse immunitaire innée mise en place pour lutter contre celle-ci (2). Certains antigènes des leucocytes humains (HLA) (HLA-A68 et HLA-C08) sont associés à un risque d'évolution plus grave de l'infection. Les antigènes (HLA) (HLA-B40 et HLA-C03) sont quant à eux associés à une meilleure résistance à l'infection (13).

Les polymorphismes d'un seul nucléotide (PSN) constituent les variations génétiques mineurs les plus courantes chez l'Homme, et se produisent dans l'intégralité de l'ADN d'une personne. Chacun de ces (PSN) représente une variation dans l'ADN d'un seul nucléotide, par exemple un nucléotide cytosine qui est remplacé par un nucléotide thymine. En général ces (PSN) sont sans danger et sans effet pour l'Homme que ce soit pour la santé ou le développement. Des études dans le cadre du virus West Nile, auraient mis en évidence des (PSN) localisés dans des régulateurs de la fonction immunitaire, mais aussi dans des éléments de la voie d'interféron (13).

- IRF3 est un facteur régulateur d'interféron, il a un rôle dans la réponse immunitaire innée face à une infection. Le polymorphisme d'un seul nucléotide (PSN) est associé à une infection symptomatique.
- MX-I est induit par les interférons et une GTPase, MX-I a un rôle dans l'inhibition de la réplication virale. Le polymorphisme d'un seul nucléotide (PSN) est également associé à une infection symptomatique.
- Le gène de l'oligoadénylate synthétase 1B (OAS-1) est un gène régulé par l'interféron qui est dans la dégradation de l'ARN. Le polymorphisme d'un seul nucléotide (PSN) de ce gène est associé à risque accru d'infection initiale, mais aussi un risque accru de développer une forme neurologique de la maladie.
- RNase L est une endoribonucléase qui a une activité antiproliférative, et qui dégrade l'ARN simple brin. Le polymorphisme d'un seul nucléotide (PSN) de cette enzyme aura un rôle antiprolifératif des interférons.
- Une étude génomique menée sur plus de 1500 patients symptomatiques (présentant une forme bénigne ou grave de la maladie) a montré que le polymorphisme d'un seul nucléotide (PSN) des gènes de RFC1, SCN1a et ANPEP est associé à une maladie neurologique plus grave.
- La suppression de CCR5, entraîne une aggravation de l'infection, en raison de la fonction réduite des voies CCR5 chez les patients infectés (13).



## **C. Diagnostic de la pathologie**

### **1. Diagnostic**

#### **1. Critères de diagnostic**

Avant de lancer les tests de diagnostic pour déterminer si un patient est infecté ou non par le virus West Nile, il est important de déterminer certains critères de diagnostic clinique. Ces tests seront réalisés pour toutes personnes présentant de la fièvre associée à une encéphalite et/ou méningite dans une zone où le virus circule. La recherche de ce virus doit être envisagée chez les personnes présentant une maladie neurologique (fébrile ou aiguë), et qui ont pu être en contact avec des moustiques porteurs (28). La recherche doit également être réalisée chez les personnes ayant subi une transplantation d'organe ou une transfusion sanguine en particulier en été dans les zones où le virus circule. Le diagnostic doit être envisagé chez les nourrissons d'une mère qui a été infectée par le virus durant la grossesse, l'allaitement ou chez les nourrissons dont la mère possède des anticorps au virus West Nile (28). Si une mère est infectée pendant la grossesse et que cette infection est diagnostiquée, une échographie du fœtus est réalisée afin de mettre en évidence des anomalies structurelles qui pourraient survenir. Ce genre de recherche ne doit pas être envisagée avant la 2<sup>ème</sup> semaine d'infection de la mère, sauf indication contraire, en cas de symptômes graves. Le risque qu'une mère transmette le virus à son fœtus pendant la grossesse est faible, tout comme le fait de le transmettre durant l'allaitement, mais cela reste possible. En 2002 une femme a contracté une encéphalite à la suite d'une transfusion sanguine, le donneur avait été infecté par le virus West Nile. Des analyses ont montré la présence du virus dans le lait maternel de cette femme peu de temps après la transfusion. Elle allaitait son nourrisson depuis sa naissance, environ 3 semaines après, l'enfant a été diagnostiqué positif au virus. Il est peu probable que cet enfant ait été infecté à la suite d'une piqûre de moustique, son exposition avec le milieu extérieur était minimale. Le nourrisson n'a cependant pas présenté de symptômes et est resté en bonne santé, les avantages de l'allaitement sont bien établis. Une infection par le virus West Nile chez la femme allaitante ne justifie pas son arrêt et n'est pas recommandé (28,30,31). La plupart des femmes ayant été infectées durant leur grossesse, ont accouché sans problèmes, sans anomalies ou sans signes d'infection. Les femmes enceintes doivent quand même prendre des précautions vis-à-vis de cette maladie, en utilisant des répulsifs autorisés et considérés comme sûrs par l'EPA (Environmental Protection Agency). Quelques cas de nouveau-nés touchés par le virus West Nile ont été recensés, mais le lien n'est pas clair. Les femmes enceintes ne sont pas plus sensibles à ce virus que n'importe quelle autre personne, elles n'ont pas plus de risques d'être infectées (31). D'autres méthodes permettent de mettre en évidence une éventuelle infection, comme l'analyse du liquide amniotique, l'analyse des villosités chorales, ainsi que l'analyse du sérum fœtal.



Si une mère infectée pendant la grossesse fait une fausse couche, il est conseillé de tester tous les produits de la conception (placenta et cordon ombilical). Afin de documenter les effets de cette infection sur l'issue de la grossesse, si cela peut être réalisé (30).

Pour confirmer une infection par le virus West Nile, le patient doit être positif à l'un des quatre critères suivants (5) :

- Isolement du virus West Nile dans le sang ou dans le liquide céphalo-rachidien.
- Détection d'acide nucléique du virus West Nile dans le sang ou dans le liquide céphalo-rachidien.
- Présence d'anticorps IgM spécifique au virus West Nile dans le liquide céphalo-rachidien.
- Présence d'un titre élevé d'anticorps IgM antiviral West Nile, détection d'anticorps IgG antiviral West Nile et confirmation de ces anticorps par neutralisation.

Les résultats relevés doivent prendre en compte le statut vaccinal relatif aux *Flavivirus*.

Il existe deux liens épidémiologiques permettant d'expliquer un nouveau cas d'infection à ce virus (5) :

- Le premier lien, est la transmission du virus de l'animal à l'Homme.
- Le deuxième lien est la transmission interhumaine, qui reste rare, par transmission verticale (des parents vers l'enfant), ou par transfusion sanguine, greffes d'organe.

Suivant les résultats de ces tests, on peut classer les cas dans deux catégories différentes, la première étant « infection probable » et la deuxième étant « infection confirmée » (5).

- Infection probable de maladie neuro-invasive :
  - Présence d'anticorps IgM spécifiques pour le virus West Nile dans le liquide céphalo-rachidien ou dans le sérum, sans avoir réalisé d'autres tests.
- Infection Confirmée de maladie neuro-invasive, si l'un ou plusieurs de ces critères sont positifs :
  - Isolement du virus ou présence d'anticorps ou d'acide nucléique spécifique au virus dans le sang, le liquide céphalo-rachidien, un tissu.
  - Modification importante des titres d'anticorps spécifique du virus.
  - Présence d'anticorps IgM spécifiques du virus avec la présence d'anticorps neutralisants également spécifiques du virus dans un même échantillon ou dans un échantillon réalisé à un autre moment.

- Présence d'anticorps IgM spécifiques du virus dans le liquide céphalo-rachidien avec ou sans hyperleucocytose, et avec un résultat négatif pour des anticorps IgM spécifiques pour d'autres arbovirus.

La société Grifols, a mis au point des automates (tigris ou panther), qui permettent de différencier et de détecter les deux lignées du virus West Nile présentes en France (30).

Un Test immuno-enzymatique en microplaque (ELISA) peut être réalisé pour la détection qualitative des anticorps IgG contre le Virus du Nil Occidental dans le sérum humain (32) (Annexe 1).

## 2. Diagnostic positif

La sérologie reste le test de référence pour effectuer le diagnostic d'une infection par le virus West Nile. La virémie va se résoudre en général au bout de 13 jours, mais l'ARN viral peut rester dans le sang jusqu'à 40 jours après l'infection. Le virus peut persister à bas bruit dans l'organisme, et ce, même après l'apparition des anticorps et après l'élimination apparente de l'infection (ce qui pourrait expliquer d'éventuelles rechutes tardives). On peut réaliser des analyses biologiques directes qui permettront de détecter le virus et son génome et des analyses biologiques indirectes qui permettront de détecter les anticorps (pour mettre en évidence une infection par le virus West Nile) (Tableau V) (2).

Tableau V « Les différents outils de diagnostic de laboratoire en fonction des problèmes cliniques (34). »

Problème clinique (échantillon biologique)	Outils de laboratoire suggérés
Diagnostic des patients suspectés d'être infectés par le VNO: maladie neuroinvasive et fièvre du VNO (sérum et / ou plasma, sang total, LCR, urine).	Il est conseillé de hiérarchiser l'ordre des tests comme suit: MAC-EIA, EIg Ig indirect, EIA, IF, isolement du virus, RT-PCR, RT-PCR en temps réel, PRNT 90
Évaluation de la séroprévalence (sérum et / ou plasma)	PRNT 50 ; IgG indirecte EIA, IF; Epitope bloquant l'EIE
Dépistage des dons de sang et d'organes (sérum ou plasma)	NATs [MAC-EIA et IF (IgG et IgM) sont suggérés pour effectuer le suivi sérologique des donneurs positifs pour le NAT et comme test supplémentaire précoce en cas de positivité du NAT non confirmée]
Évaluation post mortem (biopsie tissulaire)	Immunohistochimie

Dans ce tableau sont regroupés différents outils de laboratoire qui permettent de détecter la présence du virus West Nile chez un patient, en fonction de différents problèmes cliniques.

## 2.1 Analyses biologiques directes

Pour les patients qui ont développé les symptômes neurologiques de la maladie, on réalise une mise en culture du liquide céphalo-rachidien pour isoler le virus. Cette méthode, bien qu'efficace reste longue, il faut plus d'une semaine afin d'avoir les premiers résultats, et elle doit être effectuée dans un laboratoire de haute sécurité (P3). Cette méthode est limitée, malgré qu'elle soit sensible et fonctionnelle (5). Pendant la phase de virémie, avec un échantillon de sérum d'une personne infectée, on peut détecter des fragments du génome virale par RT-PCR. Cette méthode est limitée par le fait que la phase de virémie reste relativement courte, environ 7 jours après l'infection. Lorsque les symptômes neurologiques se manifestent, les possibilités de détecter le virus, *via* cette technique, sont relativement faibles. Cette méthode de détection par RT-PCR, doit être envisagée comme une méthode complémentaire à la sérologie (2,5).

## 2.2 Analyses biologiques indirectes

Le test ELISA est un test immuno-enzymologique. Il permet de détecter les anticorps IgM spécifiques du virus West Nile à partir d'un échantillon de sérum ou de liquide céphalo-rachidien d'un patient infecté. Les IgM sériques peuvent rester dans le sang plus d'un an après l'infection, et peuvent être détectées à partir du huitième jour après le début de l'apparition des symptômes (2,3,5,33). Ce test est sensible mais peu spécifique, il ne permet pas de différencier les différents types de *Flavivirus*. L'augmentation des titres en anticorps IgG spécifiques, permet également de mettre en évidence une infection par le virus West Nile de manière indirecte. On réalise des tests sur des échantillons prélevés à deux semaines d'intervalles. Les IgG surviennent 2 à 3 semaines après l'infection, la concentration maximale est atteinte vers le 21<sup>ème</sup> jour, et vont persister plusieurs années dans l'organisme du patient (2,3,5,35). Comme l'augmentation des IgG est lente et progressive, il est important de faire des prélèvements et des tests à plusieurs jours d'intervalles, pour mettre en évidence une infection récente. Ces IgG fournissent une protection à long terme (Figure 12) (5). Des tests ELISA se basant sur la détection de la protéine non structurale 1 (NS1) dans le sang existent également. Ces tests permettent de différencier une infection par le virus West Nile et une infection causée par un autre *Flavivirus*. La protéine NS1 a une forme hexamérique, elle est riche en lipide et est sécrétée de la cellule infectée (sNS1). Il existe également des kits qui sont disponibles, permettant de détecter la protéine sNS1 des *Flavivirus* (17).

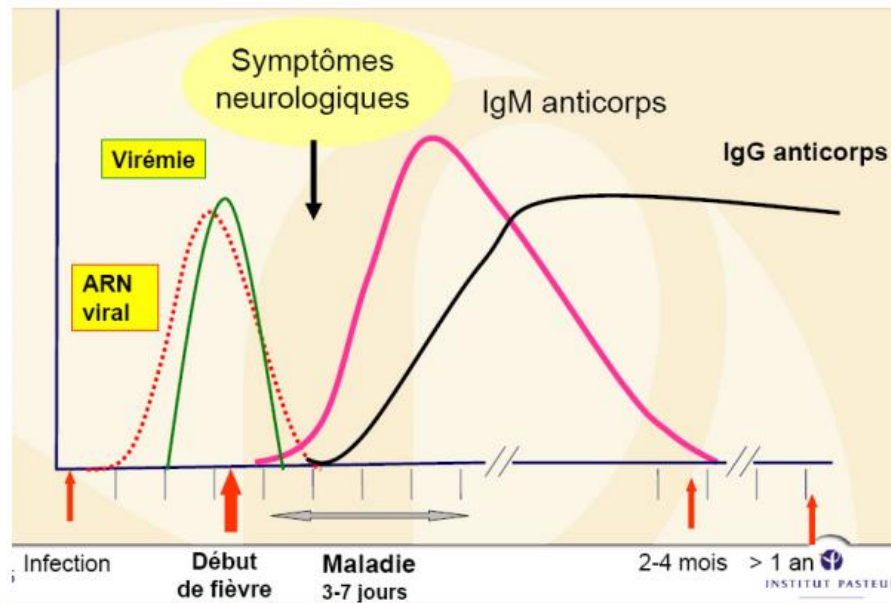


Figure 12 « Graphique présentant l'évolution des IgM et des IgG, de la virémie et de l'ARN viral en fonction du temps (18). »

Cette figure nous montre l'évolution des IgM et des IgG dans le temps début le début de l'infection. On remarque que les IgM commencent à apparaître au pic de la virémie, et que les IgG apparaissent lorsque l'ARN viral est au plus faible.

Les anticorps pouvant être retrouvés à la suite d'une infection par le virus West Nile, sont dirigés contre les protéines structurales E et M, et la protéine non structurales NS1 (2). Les IgM sont des immunoglobulines qui vont être synthétisées lors du premier contact de l'organisme avec l'un des antigènes du virus. Le contact de cet antigène avec l'organisme va entraîner une réponse immunitaire visant à l'éliminer. Les IgM spécifiques du virus West Nile apparaissent entre 3 et 9 jours après les premiers symptômes et vont persister dans l'organisme jusqu'à 6 mois après l'infection. Ils disparaissent progressivement par la suite, cependant chez 17% des patients ayant été infectés, ils seraient toujours détectables après un an. Le prélèvement du sérum chez un patient ayant développé les symptômes de la maladie peut montrer, dans les 8 jours qui suivent, une absence d'IgM spécifiques au virus West Nile. Cette absence n'exclut pas le diagnostic, il sera nécessaire de refaire un prélèvement d'échantillon et de réaliser un nouveau test. Les IgG sont des immunoglobulines qui vont être synthétisées lors d'un contact avec un antigène ou lors d'un second contact avec le même antigène, c'est une réponse mémoire. Elles représentent environ 80% des anticorps circulants dans l'organisme. Les IgG protègent l'organisme contre les différents pathogènes extérieurs (bactéries, virus, champignons, toxines). Les IgG sont généralement détectées peu de temps après les IgM, après 2 à 3 semaines et elles persistent dans l'organisme plusieurs années après une infection symptomatique ou asymptomatique. Chez les patients qui vont développer des symptômes neurologiques, les IgM et les IgG, seront détectables précocement dans le liquide céphalo-rachidien, et ce dès les premiers jours de symptômes (2,3,5).

On peut avec des tests, appelés « test de neutralisation par réduction de la plaque » (PRNT), déterminer de manière spécifique quel *Flavivirus* est responsable de telle pathologie (2,35). Ces tests peuvent confirmer s'il y a eu un changement du titre en anticorps neutralisant spécifiques du

virus West Nile pour une infection aiguë, en utilisant des échantillons de sérum qui ont 2-3 semaines d'intervalle. Ces tests sont effectués dans des laboratoires de référence (35).

- D'autres tests de dépistages du virus West Nile peuvent être réalisés :

L'immunohistochimie (IHC) peut détecter l'antigène du virus West Nile dans des tissus fixés au formol (34).

### 2.3 Réaction croisée sérologique

L'immunité croisée, fait intervenir le phénomène dit de « réaction croisée », un anticorps est généralement spécifique à une sorte d'antigène particulier. Cependant dans certaines familles de pathogène, ces antigènes peuvent avoir des similitudes. Bien que ces antigènes soient différents, un anticorps dit « cross-réactif » peut interagir avec un autre antigène qui a des similitudes avec l'antigène qui lui est spécifique. Les antigènes des virus d'une même famille vont avoir des épitopes communs et/ou des structures similaires. Dans les zones où plusieurs *Flavivirus* (virus West Nile, Dengue, encéphalite japonaise) co-existent, il peut s'avérer nécessaire de réaliser plusieurs tests sérologiques afin de comparer les résultats et d'identifier le virus responsable de la pathologie (3,36).

### 2.4 Persistance des anticorps IgM

Les IgM sont généralement le marqueur d'une nouvelle infection aiguë, ces IgM spécifiques peuvent être détectées plusieurs mois après une infection aiguë. Dans ces cas précis la présence d'IgM spécifiques, ne signifie pas que ces patients sont de nouveau malades (la présence de ces immunoglobulines met en évidence une infection antérieure). Pour montrer qu'il s'agit d'une nouvelle infection, il faut étudier le titre des anticorps IgM, on réalise deux échantillons, un pendant la phase aiguë et un autre pendant la phase de convalescence. On étudie les résultats, si le titre d'anticorps augmente plus de 4 fois, le virus est probablement responsable d'une maladie récente. Les antécédents cliniques et épidémiologiques doivent également être pris en compte (2).

### 2.5 Persistance des IgG et des anticorps neutralisants

Les IgG spécifiques et les anticorps neutralisant, comme les IgM, peuvent être détectés dans l'organisme plusieurs mois/années après que le patient ait contracté une infection. La présence de ces IgG et anticorps neutralisants chez un patient, signifie qu'il a été infecté par le virus West Nile. L'absence d'IgM spécifique, montre que l'infection n'est pas récente et d'autres pistes sont à explorer (2).

## 2.6 Essais sérologiques

Le test ELISA est le test de référence pour détecter les anticorps IgM et IgG, mais on peut également utiliser les tests d'immuno-essais sur billes et d'immunofluorescence. On utilise le test de neutralisation par réduction de la plaque (PRNT), comme test de confirmation, il permet de détecter les anticorps neutralisants spécifiques (2). L'Institut Pasteur s'est associé au programme transversal de Recherche DEVA, afin de développer une puce ADN qui servira d'outil de diagnostic, est qui permettra de caractériser le génome de plusieurs virus dont le virus West Nile, à partir d'un liquide biologique tel que le sang ou le sérum sanguin. Des protocoles PCR permettant de différencier les lignées du virus West Nile ont été développés (37).

## 2.7 Isolement du virus

Pour isoler le virus West Nile, on réalise des cultures cellulaires à partir de cellules de mammifères (*Vero E6*, *RK-13*, *AP61* ou *C6/36*) ou de cellules de moustiques infectés. Le virus West Nile ne peut pas être isolé facilement à partir d'un liquide biologique (sang, sérum sanguin, liquide céphalo-rachidien). Ces cultures cellulaires doivent être réalisées dans des laboratoires de biosécurité de niveau 3. Pour faciliter l'isolement du virus, on collecte les échantillons dans des conditions stériles et dans un milieu qui contient des antibiotiques avant de les réfrigérer à 4°C. Les cellules les plus sensibles au virus doivent être inoculées rapidement après le prélèvement. Si l'on ne peut pas réaliser une inoculation dans les plus brefs délais, on veillera à ce qu'elle soit réalisée au plus tard dans les 24h. Il faudra attendre environ 7 jours avant l'apparition de l'effet cytopathogène. Cet effet est provoqué par l'invasion virale, entraînant une modification structurale de la cellule hôte (34).

## 2.8 Dépistage de sécurité du sang et des organes

Lors de transfusion sanguine et de greffe d'organes/tissus, des transmissions du virus West Nile ont été recensées. Il faut s'assurer de la sécurité biologique du sang et des organes. Pour y parvenir une politique de dépistage a été mise en place dans les zones où le virus est présent. Dans 80% des infections les patients infectés restent asymptomatiques, mais l'ARN est détectable dans le sang. Pour détecter l'ARN dans le sang, il faut utiliser des tests avec une sensibilité très élevée. Actuellement il existe trois tests commerciaux qui le permettent, ces tests détectent des génomes du virus West Nile à de faibles niveaux (environ 100 copies/mL) (34,38).

- Le premier test utilise la réaction en chaîne de la polymérase (PCR).
- Le second test utilise la réaction d'amplification à médiation par la transcriptase (TMA) (34).
- Le troisième test utilise la réaction par amplification par déplacement de brin (SDA) (38).

Ces tests sont automatisés, ce qui permet de tester des centaines d'échantillons de sérum sanguin par jour, en gardant de hautes performances. Ces tests ont une sensibilité analytique de 9,8 équivalents du génome/mL, avec un intervalle de confiance [(IC)95% :6,5-27,3] en utilisant la PCR. Une sensibilité analytique de 40,3 équivalents du génome/mL, avec un intervalle de confiance [(IC 95% :35,1-47,8)] est retrouvée en utilisant la TMA, pour la lignée 1 du virus West Nile. Même si la spécificité de ces méthodes reste élevée, il peut y avoir des réactions faussement positives avec des virus appartenant à la même famille que le virus West Nile. On suppose, que les échantillons des personnes ayant des symptômes, ont une charge virale supérieure aux échantillons des personnes asymptomatiques. Il faut alors utiliser des moyens de diagnostic ayant une sensibilité différente, afin de ne pas ignorer une potentielle infection chez les personnes asymptomatiques (34).

On peut utiliser la RT-PCR et l'amplification à base de séquence d'acide nucléique pour obtenir des résultats rapides avec de bonnes performances cliniques. Cette technique (RT-PCR) a une sensibilité qui dépend de la séquence cible utilisée pour la détection du virus West Nile. Un test qui utilise des amorces ciblant le gène C (3') et le gène prM (5'), a détecté un ARN viral équivalent à environ 0,1 unité de formation de plaque (PFU). La technique RT-PCR imbriquée est une variante de la technique PCR classique. Avec celle-ci on peut augmenter jusqu'à 10 fois le seuil de détection de l'ARN. Elle possède cependant certains défauts, elle est plus sujette à la contamination et nécessite un temps plus long de traitement ainsi qu'une implication plus importante du personnel travaillant. La technique du RT-PCR est capable d'identifier la plupart des *Flavivirus*. Elle peut différencier la maladie due au virus West Nile des autres infections causées par des *Flavivirus* (34).

## 2.9 La technique RT-PCR en temps réel

Permet de détecter le virus West Nile sur plusieurs types d'échantillons différents qu'ils soient humains ou animaux. La RT-PCR en temps réel, présente des avantages par rapport à la technique RT-PCR imbriquée, elle est plus rapide et plus fiable. Mais elle présente certains inconvénients, les amplicons obtenus sont généralement courts et ne conviennent pas pour le séquençage et la caractérisation moléculaire. Depuis ces 10 dernières années, ont été proposés des tests qui se basent sur les sondes TaqMan, elles sont très sensibles, la limite de détection est approximativement de 0,1 unité de formation de plaque (PFU). Cependant elles sont incapables de détecter les variants génomiques émergents du virus West Nile. D'autres tests basés sur le SYBR Green sont tout aussi sensibles mais moins spécifiques. Les souches du virus West Nile changent d'une région du monde à l'autre, de nouvelles méthodes de diagnostics ont vu le jour pour tenter d'être plus spécifiques, sur plus de lignées différentes (34).

## 2.10 Le test de réaction de détection multiplex PCR-ligase

Ce test se base sur l'amplification de trois régions génomiques différentes du virus. Elle se base sur une séquence de la protéine non structurale 2 (NS2), et sur deux séquences de la protéine non structurale 5 (NS5). Cela permet de diminuer le risque d'avoir un résultat faussement négatif, en fonction des variantes génomique du virus (34).

## 2.11 La technique basée sur la RT-PCR à l'échelle du génome

Cette technique permet de différencier les lignées différentes du virus West Nile. Plus les techniques utilisées s'améliorent et la détection des arbovirus se fait précocement et plus elles deviennent une réalité pratique. Ces techniques auront un meilleur potentiel de diagnostic différentiel et la surveillance épidémiologique sera plus rapide et plus rentable (34). Les protocoles histochimiques permettent de détecter les antigènes du virus West Nile. Ils ne sont utilisés que pour améliorer la certitude d'un diagnostic clinique, lorsque les données du laboratoire sont minimales. La spécificité de ces protocoles dépend de la qualité et de la spécificité de l'antisérum utilisé. La sensibilité dépend quant à elle de la quantité de virus présente dans les tissus et de sa qualité (34).

## 2.12 Le test de séroneutralisation par réduction des plages de lyse

Cette technique est le test de référence pour détecter et mesurer les anticorps pouvant neutraliser le virus. Ce test à une bonne sensibilité, mais reste encombrant et plus long que certains autres tests. Pour réaliser ce test nous avons besoin d'une suspension de virus, et d'une solution d'anticorps à tester qui sera diluée et mélangée à la suspension virale. On incube ensuite ce mélange afin de permettre aux anticorps d'interagir avec le virus, on répartit ce mélange sur une culture cellulaire. On déterminera la concentration du virus par le nombre de plaques infectées. Les anticorps dirigés contre le virus West Nile, peuvent être « cross-réactif », ils vont interagir avec les antigènes d'autres *Flavivirus*. La protéine E des *Flavivirus* est l'un des polypeptides immunogènes les plus importants, il est responsable de la synthèse des anticorps neutralisants (NAbs). Compte tenu de la réactivité antigénique croisée entre les différents *Flavivirus* et la diversité des activités neutralisantes des sous-classes d'IgG humaines. Les PRNT<sub>90</sub> et PRNT<sub>50</sub> nécessitent une évaluation des anticorps neutralisants (NAbs) contre un groupe de virus apparentés. Etant donné la complexité de la réactivité croisée des anticorps dans la famille des *Flavivirus*. Les titres des anticorps neutralisants (NAbs) contre le virus West Nile devraient être systématiquement plus élevés que ceux dirigés contre les virus de contrôle dans le panel (34).



### 2.13 Le test de dosage immuno-enzymatique (EIA) par détection des IgM spécifiques

Cette technique permet la détection des réponses immunitaires résultant d'une infection virale aiguë. Ce test utilise des plaques recouvertes d'anticorps anti-antigènes IgM humains et des plaques recouvertes du virus West Nile isolé à partir du cerveau de souris infectées expérimentalement. Pour le dépistage on utilise un sérum dilué 400 fois, ce test a une sensibilité d'environ 91,7% et une spécificité d'environ 99,2%. Des modifications ont été proposées en vue d'améliorer la sensibilité, la spécificité et les performances cliniques. Pour améliorer les performances de ce test, l'utilisation d'épitopes situés sur le domaine III de la protéine E, l'utilisation des particules pseudo-virales de prM et de la protéine E, ainsi que l'utilisation des protéines non structurales 1, 3 et 5 (NS1, NS3 et NS5) a été proposé (34).

### 2.14 Le test de dosages immuno-enzymatiques indirect IgG

Ce test permet de détecter les IgG spécifiques du virus West Nile, cette méthode est standardisée. Elle détermine le statut immunitaire d'un patient infecté qu'il soit asymptomatique ou symptomatique. Cependant, ce test présente un inconvénient, sa spécificité clinique est limitée par les réactions croisées qui peuvent exister avec les virus de la famille des *Flavivirus* (2). Ce dosage des IgG peut être combiné avec le dosage immuno-enzymatique des IgM spécifiques, car les IgM persistent dans l'organisme plusieurs semaines/mois. Les patients détectés positif à ce test, doivent être évalués et confirmés par un test de séroneutralisation (PRNT), ou en étudiant l'augmentation des titres de ses IgG au cours de l'infection. La spécificité de ce test est d'environ 93% et la sensibilité d'environ 98%, deux tests sont disponibles dans le commerce, « focus diagnostics » disponible au Etats-Unis et « Euroimmun » disponible en Allemagne. Ces tests permettent d'estimer la durée de l'infection en évaluant l'avidité de la réponse immunitaire. Si l'on teste le sérum d'un patient au bout de 30 jours après le début de son infection, l'avidité mesurée est inférieure à 40%. Si l'on teste le sérum d'un patient au bout de 180 jours, l'avidité mesurée est supérieure à 60% (34).

### 2.15 Le test de dosages immuno-enzymatiques bloquant les épitopes

Ce test est une variante du test de dosage des IgG vu précédemment. Il utilise la compétition entre les sérums testés et les anticorps neutralisant comme méthode. Ce test est utilisé pour diagnostiquer une infection humaine, mais il n'est applicable que pour des patients qui n'ont jamais été exposés à d'autres *Flavivirus* que le virus West Nile (34).

### 3 Diagnostic différentiel :

Les réactions croisées, peuvent être responsables de réactions faussement positives lors de test sérologique visant à établir un diagnostic (2).

L'un des symptômes d'une infection par le virus West Nile (dans les formes graves) est l'encéphalite ou la méningite. Cependant d'autres virus peuvent être à l'origine de ces maladies, le virus de l'herpès simplex, un entérovirus ou un autre arbovirus par exemple. Il faut prendre en compte ces virus lors d'un cas d'encéphalite ou de méningite avec suspicion d'infection par le virus West Nile. Le virus *Toscana* appartient à la famille des *Bunyaviridae*, il est transmis par les phlébotomes. Il est endémique au sud de la France, les patients ayant été piqués par un moustique porteur de ce virus vont principalement être asymptomatiques et dans de plus rares cas, développer une méningite. Les infections au virus *Toscana* peuvent être un diagnostic différentiel à une infection par le virus West Nile neuro-invasive (39).



## **D. Traitement et piste thérapeutique**

### **1. Traitement**

Actuellement aucune mesure chimioprophylactique n'est disponible pour les personnes ayant été exposé au virus West Nile. Il n'existe pas non plus de traitement antiviral pour traiter une infection par ce virus. La prise en charge d'un patient infecté se limite à la surveillance de ses symptômes et à leurs traitements. La prise en charge se fera en milieu hospitalier pour les formes les plus graves (atteinte neurologique), ou à domicile pour les formes moins graves (5). Dans le cas des atteintes neurologiques, la prise en charge nécessite le contrôle des maux de tête, des nausées/vomissements, des éventuelles déshydratations. Si le patient développe les symptômes d'une encéphalite, il doit faire l'objet d'une surveillance en raison du développement d'une pression intracrânienne et/ou de crises convulsives. Une insuffisance respiratoire neuromusculaire aiguë peut se développer rapidement et une assistance ventilatoire prolongée peut s'avérer nécessaire (5). En milieu hospitalier, les patients reçoivent des soins visant à traiter les symptômes et à aider l'organisme à combattre le virus, plutôt que de s'attaquer à lui directement. La transmission interhumaine étant relativement rare, et existante que dans certains cas particuliers, l'isolement des patients infectés par le virus West Nile n'est pas nécessaire (3).

### **2. Traitement curatif et conseils associés**

Actuellement aucun vaccin ou traitement n'est disponible pour traiter efficacement une infection par le virus West Nile. Cependant il existe quatre vaccins pour les chevaux qui sont autorisés par l'USDA (United States Department of Agriculture) (13) :

- Deux sont des souches de virus West Nile entières et inactivées.
- Un est un vaccin à vecteur recombinant de varicelle vivante non répliatif.
- Un est un vaccin chimérique à *Flavivirus* inactivé.

L'immunisation passive a été utilisée dans de nombreux cas, mais elle présente certaines limites (le transfert accidentel d'agents pathogènes à diffusion hématogène, la qualité des antisérums des donneurs qui peut varier, les réactions allergiques et le coût de ces traitements). De nombreuses molécules sont à l'étude actuellement pour l'élaboration d'un vaccin ou d'un traitement (5,13).

Il n'existe actuellement aucun vaccin à visée humaine pour traiter le virus West Nile (Un vaccin ChimeriVax-West Nile WN01 est disponible depuis 2006 pour les chevaux). La production de ce genre de traitement est compliquée, plusieurs paramètres doivent être pris en compte (25) :

- Protéger les personnes vulnérables.
- La sévérité des symptômes qui touchent des centaines de personnes ainsi que les conséquences au long terme.
- Les coûts associés à la recherche et au développement de ce vaccin.
- Les pertes financières causées par les infections aux chevaux (25).

Différentes approches ont été étudiées afin de diminuer le nombre de cas chaque année (25) :

- Des souches virales inactivées.
- Des vaccins qui sont utilisés en temps normal pour des virus de la même famille comme le vaccin pour traiter l'encéphalite japonaise, dû à une immunité croisée.
- Des vaccins ADN qui vont stimuler une réponse humorale et une réponse cellulaire.
- Des vaccins qui utiliseraient des souches virales chimériques qui utilisent la technologie ChimeriVax. Ils utiliseraient le virus de la fièvre jaune YFV 17D, chez lequel les gènes qui codent pour les protéines de la membrane ont été remplacé par les gènes WNV NY99.
- Un vaccin ChimeriVax-West Nile WN01 et WN02 qui lui est en cours de développement, en vue d'être appliqué à l'Homme.
- Le vaccin WN02 possèdent des mutations dans le gène qui code pour l'enveloppe du virus et cette mutation a pour but de diminuer la virulence du virus et sa réactivité.
- Ce vaccin a montré un développement d'anticorps neutralisant jusqu'à 90 jours après la vaccination. Il développe des lymphocytes CD4+/ CD8+ qui sécrète des interférons  $\gamma$  et des lymphocytes T CD8+ (25).

Un candidat vaccin a été mis au point par l'Institut Pasteur, ce vaccin utiliserait une souche vaccinale recombinante du virus de la rougeole. En effet la souche vaccinale Schwarz du virus de la rougeole, produit l'antigène protecteur du virus West Nile (cet antigène protecteur est important il détermine la mise en place de l'immunité et la mémoire immunitaire). Cette souche vaccinale est utilisée pour le vaccin vivant pédiatrique contre la rougeole et il a été couramment utilisé et prouvé sans risques depuis des années. Des expériences ont été réalisées afin de tester un vaccin mixte, qui utilise la souche de Schwarz et l'antigène protecteur du virus. Les animaux ayant été vaccinés avec ce vaccin mixte ne décèdent pas suite à une injection mortelle de virus West Nile, ce qui n'est pas le cas des animaux témoins qui eux décéderont d'une pathologie neurologique. Ces résultats sont importants pour les chercheurs, ils permettent de lancer de nouvelles recherches quant à l'utilisation du vaccin de la rougeole comme un vecteur de vaccin recombiné (4).

### 3. Approches thérapeutiques

Actuellement il n'y a pas de traitement définitif pour soigner une infection par le virus West Nile, plusieurs pistes ont été envisagées (25) :

- Des agents antiviraux à large spectre qui vont empêcher la réplication virale comme la ribavirine. Cependant la ribavirine aurait pour effet d'augmenter le taux de mortalité à forte dose à cause des effets immunosuppresseurs, qui peuvent être fatales dans le cas d'une infection par le virus West Nile (17,25).

La ribavirine est un antiviral, indiqué dans le traitement du virus de l'hépatite C, on l'utilise aussi dans les fièvres hémorragiques d'origine virale.

Mais cette molécule inhibe la synthèse de l'ARN virale et de sa coiffe. Lorsqu'elle est métabolisée, cette molécule devient un analogue de l'adénosine ou de la guanosine qui pourra être incorporée dans l'ARN virale pendant sa réplication.

L'incorporation de ces nucléosides va provoquer des mutations, engendrant des ARN non viables. Ces mutations sont provoquées par l'ARN polymérase ARN dépendante (17).

- L'utilisation d'interféron- $\alpha$ , qui permettrait de diminuer le développement des différents symptômes neurologiques (25).
- Transfert passif d'immunoglobulines, des anticorps dirigés spécifiquement contre le virus West Nile. Ce transfert aurait montré une réelle amélioration des atteintes neurologiques, chez les patients atteints des formes les plus graves.

Ces immunoglobulines sont obtenues à partir de plasma ou de sérum de patients qui vivent dans des régions endémiques du virus (c'est-à-dire une région où le virus est présent en permanence). Ce transfert a montré chez les souris que l'on pouvait contrôler l'infection même après contamination, lorsque le virus se multiplie dans le cerveau (25).

### 4. Traitement préventif

Pour lutter contre ces vecteurs différentes méthodes sont disponibles. La méthode physique qui correspond à traiter l'environnement en détruisant les gîtes larvaires. La méthode chimique qui correspond à utiliser des insecticides à différents stades de développement de la larve, ainsi que les méthodes biologiques et génétiques. En fonction du vecteur et du contexte épidémiologique la méthode utilisée change. Différentes molécules sont utilisées, elles sont regroupées en plusieurs familles chimiques (pyréthrinoïdes, organophosphorés etc.), ces molécules diffèrent par leurs modes d'action (1).

D'autres méthodes de lutte anti-vectorielle doivent être utilisées en complément des méthodes chimiques (utilisées seules elles vont présenter une sélection favorable à l'émergence de vecteurs résistants) (1) :

- La méthode biologique consiste à utiliser les prédateurs des différents types de larve (Des insectes entomophages, des parasites ou encore des poissons) (1).
- Certains microorganismes vont produire des toxines à tropisme intestinal. Les toxines vont provoquer des lésions intestinales en s'attaquent à la muqueuse intestinale. Ces microorganismes sont les Bti (Bacillus thuringiensis serotype israelensis) et ont une action larvicide (1,40).
- La méthode génétique consiste, quant à elle, à lâcher des moustiques mâles stériles et à manipuler génétiquement des moustiques femelles pour les rendre inapte à transmettre une maladie. Cette méthode est en développement, mais à un coût élevé (1).

Les traitements préventifs servent à éviter les piqûres des moustiques, il va y avoir 3 mesures de protection :

## 1. Protection contre les piqûres de moustiques

Pour se protéger des piqûres de moustiques, il faut comprendre le mode d'action des moustiques et le moment de la journée où ceux-ci sont actifs, afin de réduire ses activités extérieures à ce moment-là. Le moustique vecteur du virus West Nile est actif au crépuscule, il faut alors prévenir les patients de réduire leurs sorties à ces moments-là (sans protection adéquate) (5).

### 1.1 On peut également leurs conseiller de porter des vêtements clairs

Porter des vêtements clairs permet aux personnes de localiser rapidement et facilement un moustique. Ces vêtements auront pour fonction de limiter la surface d'exposition cutanée. Il faut les choisir longs de préférence, chemise ou t-shirt à manches longues, prendre un pantalon que l'on peut mettre dans les chaussettes pour éviter une potentielle entrée des moustiques. Mettre des vêtements longs et d'autant plus important si l'on décide d'aller se promener ou de travailler dans les espaces plus propices à une forte population de moustiques, comme la forêt ou proche de point d'eau (lac, rivière).

### 1.2 L'utilisation de répulsifs

Un répulsif est une substance qui va servir à éloigner les moustiques et les insectes en perturbant leurs sens olfactifs sans les tuer (1,12).

Un répulsif doit avoir différentes caractéristiques pour être considéré comme idéal (14) :

- Il doit être efficace contre de nombreux insectes.
- Il doit pouvoir être appliqué sur la peau sans provoquer des effets indésirables.
- Il ne doit pas abîmer les vêtements, les moustiquaires et les matières plastiques.
- Il peut être utilisé en association avec une crème solaire.

- Il n'a pas d'odeur désagréable.
- Il ne s'élimine pas facilement dans le cadre d'une utilisation normale.
- Il peut être utilisé par l'ensemble de la population et est stable chimiquement et non toxique.
- Il présente une efficacité prouvée, et à faible coût (14).

Un répulsif peut être appliqué sur la peau, sur les parties du corps qui ne seraient pas couvertes par un vêtement, il faut faire attention à ne pas l'appliquer sur les yeux ou sur les muqueuses. On peut également utiliser un répulsif qui sera à appliquer sur les vêtements pour avoir une meilleure protection que les vêtements seuls.

- Les molécules évaluées efficaces et sans risques en France sont (41,42) :

- Le NN-diethyl-m-toluamide (DEET)
- Le R3535 ou EBAAP
- La picaridine ou icaridine
- Le PMDRBO
- IR3535
- Huile de citron eucalyptus (OLE) ou PMD

Les répulsifs ont une durée d'action qui varie de 4 à 8 heures. Cette variation est due à plusieurs paramètres liés ou non au répulsif (la concentration en molécules actives, les conditions d'utilisation). Le répulsif doit être appliqué sur la peau au moins 30 minutes après l'application de la protection solaire et l'application renouvelée en cas de baignade (Tableau VI.1, VI.2, VI.3) (42).

Ces tableaux regroupent une liste non exhaustive des répulsifs recommandés pour se protéger des piqûres de moustiques.



Tableau VI « Liste non exhaustive des répulsifs recommandés pour la protection contre les piqûres de moustiques et la posologie adaptée (43). »

Substance active et concentration		Nom commercial et présentation (liste non exhaustive, donnée à titre indicatif et ne constituant pas une recommandation officielle des produits)	Nombre maximal d'application(s) quotidienne(s)				
			A partir de 6 mois et tant que l'enfant ne marche pas	Dès que l'enfant marche et jusqu' à 24 mois	> 24 mois à 12 ans	> 12 ans	Femmes enceintes
DEET (N,N-diéthyl-mtoluamide)	20%	Derm'Alpes King <sup>®</sup> gel insectifuge	1	2	2	3	3
	30 % à 50%	Biovectrol <sup>®</sup> Tropic 2 ; 50% Care Plus <sup>®</sup> anti-insect DEET 30 à 50% Insect Ecran <sup>®</sup> zones infestées adultes (spray 50%) Moustifluid <sup>®</sup> zones à hauts risques (spray), 30% Aptonia <sup>®</sup> spray antimoustique	X	X	Utilisable uniquement si risque de maladie vectorielle. Posologie en fonction des préconisations du fabricant	Posologie en fonction des préconisations du fabricant	Utilisable uniquement si risque de maladie vectorielle. Posologie en fonction des préconisations du fabricant

Tableau VI bis « Liste non exhaustif des répulsifs recommandés pour la protection contre les piqûres de moustiques et la posologie adaptée (43). »

Substance active et concentration		Nom commercial et présentation (liste non exhaustive, donnée à titre indicatif et ne constituant pas une recommandation officielle des produits)	Nombre maximal d'application(s) quotidienne(s)				
			A partir de 6 mois et tant que l'enfant ne marche pas	Dès que l'enfant marche et jusqu' à 24 mois	> 24 mois à 12 ans	> 12 ans	Femmes enceintes
IR3535 (N-acétyl-Nbutyl-β-alaninate d'éthyle)	20%	Apaisyl® répulsif moustique Marie Rose® spray Anti-moustique 2en1 Marie Rose® spray répulsif antimoustique 8h Moustifluid® lotion zone tempérée, Moustifluid® jeunes enfants, Moustirol® antimoustiques	1	2	2	3	3
	25%	Cinq sur Cinq® zones tempérées (lotion) Cinq sur Cinq Tropic enfants (lotion) Manouka® lotion (ou roll-on) zone tropicale Moustifluid® zone tropicale et à risque lotion haute protection Moustifluid® lotion haute protection zones tropicales et à risques	X	X	2	3	X
	30%	Stopiq® bouclier extrême	X	X	2	3	X
	35%	Cinq sur Cinq®Tropic (lotion)	X	X	2	3	X

Tableau VI Ter « Liste non exhaustif des répulsifs recommandés pour la protection contre les piqûres de moustiques et la posologie adaptée (43). »

Substance active et concentration		Nom commercial et présentation (liste non exhaustive, donnée à titre indicatif et ne constituant pas une recommandation officielle des produits)	Nombre maximal d'application(s) quotidienne(s)				
			A partir de 6 mois et tant que l'enfant ne marche pas	Dès que l'enfant marche et jusqu' à 24 mois	> 24 mois à 12 ans	> 12 ans	Femmes enceintes
KBR3023 (Carboxylate de Secbutyl 2-(2-hydroxyéthyl) pipéridine-1 / Icaridine	20%	Apaisyl <sup>®</sup> répulsif moustiques haute protection Centaura <sup>®</sup> (spray) Insect écran <sup>®</sup> familles Moskito guard <sup>®</sup> (spray)	X	X	2	3	3
	25%	Doctan <sup>®</sup> ultra Insect Ecran <sup>®</sup> spécial tropiques (spray) Mousticologne <sup>®</sup> special zones infestées (lotion) Moustidose <sup>®</sup> lait répulsif famille (lait) Moustikologne <sup>®</sup> protection extrême (lotion)	X	X	2	3	X
PMDRBO (mélange de cis- et trans-p-menthane-3,8 diol)	19 à 20 %	Anti-pique PuresSENTIEL <sup>®</sup> (spray) Biovectrol <sup>®</sup> naturel (spray) Mousticare <sup>®</sup> spray peau, spray famille, lingettes répulsives, Phytosun aroms <sup>®</sup> répulsif moustiques (spray),	1	2	2	3	X
	25%	Mosi-guard <sup>®</sup> naturel (spray et stick) Mousticare <sup>®</sup> zones infestées (spray), Spray peau	1	2	2	3	X

### 1.3 Utilisation d'insecticide

Un insecticide est une substance qui va tuer les moustiques, sans pour autant les repousser, on peut être piqué sous insecticide. La plupart des insecticides sont des organophosphates ou des carbamates qui vont inhiber l'enzyme acétylcholinestérase (AChE). L'utilisation d'insecticides pour tuer les moustiques vecteurs de maladies (West Nile, Zika, Dengue ou Chikungunya) fait partie d'un programme pour assurer la gestion des moustiques. On peut appliquer les insecticides à la main, par camion ou par voie aérienne lors d'épandage, mais l'utilisation répétée de ces produits chimiques va entraîner une résistance chez les moustiques. Cette résistance provoque une réduction globale de la capacité d'un insecticide à tuer un moustique (42). Lorsqu'une résistance est déclarée pour une population de moustiques et une molécule donnée, l'utilisation conforme aux instructions de cette molécule n'entraîne qu'une réponse partielle ou pas de réponse. La résistance peut être spécifique à un produit mais elle peut évoluer vers une certaine classe de produit. Les programmes de gestion des moustiques doivent inclure un élément de gestion de ces résistances afin de les éviter ou les retarder le plus possibles. Idéalement une surveillance annuelle de l'état de résistance permettra de (44) :

- Fournir des données de base pour planifier le programme et sélectionner les pesticides.
- Détecter une résistance à un stade précoce, pour mettre en place une gestion rapide.
- Surveiller les effets des différentes stratégies de contrôle de la résistance aux insecticides.

Cette surveillance est essentielle pour déterminer les causes d'une potentielle résistance et la défaillance des contrôles. Un test a été mis au point afin de savoir si l'une des molécules actives d'un insecticide est capable ou non de tuer un moustique. Ce test est un dosage biologique, il est simple, rapide et économique, les résultats peuvent aider à choisir un insecticide par rapport à un autre pour la pulvérisation. Aux États-Unis, on peut commander gratuitement des kits de résistance aux insecticides, en envoyant simplement un message électronique à l'adresse [USBottleAssayKit@cdc.gov](mailto:USBottleAssayKit@cdc.gov), et en demandant un formulaire de commande. Les kits de résistance comprennent des bouteilles, un insecticide et un manuel d'utilisation (44).

Comment fonctionne le bio-essai en bouteille (44) :

- On place une dose d'insecticide connue (dose diagnostique) au sein d'une bouteille, on place ensuite les moustiques capturés dans cette bouteille et on observe pendant 2 heures.
- Le test doit durer deux heures, sauf si tous les moustiques sont morts avant.

- La résistance des moustiques est déterminée par le pourcentage de moustique mort durant le test (c'est le taux de mortalité) à l'heure prédéfinie pendant les deux heures (Tableau VII).

Tableau VII « Taux de mortalité attendue à 100% en fonction de la concentration, du temps et des molécules chimiques pour le test « bio-essai en bouteille » (44). »

Chimique	Concentration finale / bouteille µg / bouteille	100% de mortalité attendue (minutes)					
		<i>Ae. colonie aegypti rex</i>	<i>Ae. colonie d' albopictus LC</i>	<i>Cx. colonie de molestus</i>	<i>Cx. Papiens NY / colonie de Chicago</i>	<i>Cx. colonie BFS / KNWR de tarsalis</i>	<i>Cx. colonie de quinque SEABRING</i>
Chlorpyrifos	20	45	45	45	90	60	45
Deltaméthrine	0,75	30	30	120+	45	À déterminer	60
Etofenprox	12.5	15	30	105	15	60	30
Fenthion	800	À déterminer	À déterminer	30	75	45	45
Malathion	400	15	30	30	45	45	45
Naled	2,25	30	30	30	45	45	45
La perméthrine	43	dix	dix	30	30	30	30
Prallethrin	0,05	120+	120+	120+	60	120+	60
Pyrèthre	15	15	30	120+	45	30	45
Resméthrine	30	5	dix	30	15	dix	30
Sumethrin	20	dix	45	120	30	30	45

Ce tableau exprime le temps pour atteindre la mortalité 100% attendue, en fonction de la concentration en µg/ bouteille et du produit chimique utilisé.

Certains pièges sont utilisés pour empêcher la transformation des œufs en larves. Ce sont des réservoirs qui contiennent de l'eau, mais également des insecticides. La femelle moustique peut pondre dans ce réservoir mais la présence d'insecticide empêche l'éclosion des œufs (1).

Certains répulsifs sont également insecticides, et certains insecticides sont également répulsifs. Ces produits sont actifs sur tous les arthropodes, mais sont inefficaces sur les hyménoptères. Les répulsifs cutanés n'ont une action que de quelques heures, (Tableau VIII) il faut veiller à les réappliquer au cours de la journée, plusieurs facteurs sont à prendre en compte pour avoir une durée maximale de ces répulsifs cutanés (1) :

- La concentration en substances répulsives.
- La forme du répulsif utilisé (spray, crème etc.).
- La nature de la molécule utilisée.
- Le volume utilisé de répulsif.
- La température extérieure.
- La sudation.
- L'application ou non d'un écran de protection.

Le gène ACE-1 est impliqué dans la résistance des insecticides. Depuis quelques années de nouveaux insecticides sont capable d'inhiber l'enzyme acétylcholinestérase et d'autres sont en cours d'études. Pour permettre de se préparer au mieux aux résistances qui pourraient être développées contre les insecticides déjà disponibles sur le marché (5).

Tableau VIII « Nombre maximal d'utilisation par jour des différentes molécules répulsives cutanées dans des zones à risques de maladies à transmission vectorielle, en fonction de l'âge et de la population (39). »

Catégorie d'âge et de population	Nombre maximum d'applications par jour	Substance active	Concentration
De 6 mois à l'âge de la marche	1	DEET (1)	10 à 30%
	1	Mélange de cis- et trans-pmenthane-3,8 diol (PMDRBO) =citrodiol (2)	20 à 30%
	1	IR3535 (2)	20%
De l'âge de la marche à 24 mois	2	DEET	10 à 30 %
	2	Mélange de cis- et trans-pmenthane-3,8 diol (PMDRBO) =citrodiol	20 à 30 %
	2	IR3535	20%
De 24 mois à 12 ans	2	DEET	20 à 30%
	2	Picaridine (2)	20 à 30%
	2	Mélange de cis- et trans-pmenthane-3,8 diol (PMDRBO) =citrodiol	20 à 30%
	2	IR3535	20 à 35%
Plus de 12 ans	3	DEET	20 à 50%
	3	Picaridine	20 à 30%
	3	Mélange de cis- et trans-pmenthane-3,8 diol (PMDRBO) =citrodiol	20 à 30%
	3	IR3535	20 à 35%
Femmes enceintes	3	DEET	30%
	3	Picaridine	20 %
	3	Mélange de cis- et trans-pmenthane-3,8 diol (PMDRBO) =citrodiol	20 %
	3	IR3535	20 %

Ce tableau répertorie le nombre d'utilisation maximal d'une substance active et la concentration à laquelle celles-ci doivent être utilisées, en fonction de l'âge des personnes ou si elles sont enceintes, pour assurer une sécurité.

Les jeunes enfants et les femmes enceintes représentent un risque. En effet en fonction de l'âge de l'enfant et du statut enceinte ou non d'une femme, certaines mesures peuvent être adaptées pour répondre au mieux à la demande. Il faut prendre en compte le risque de développer une infection par le virus West Nile s'ils sont dans une zone à risque (Figure 13 et 14).

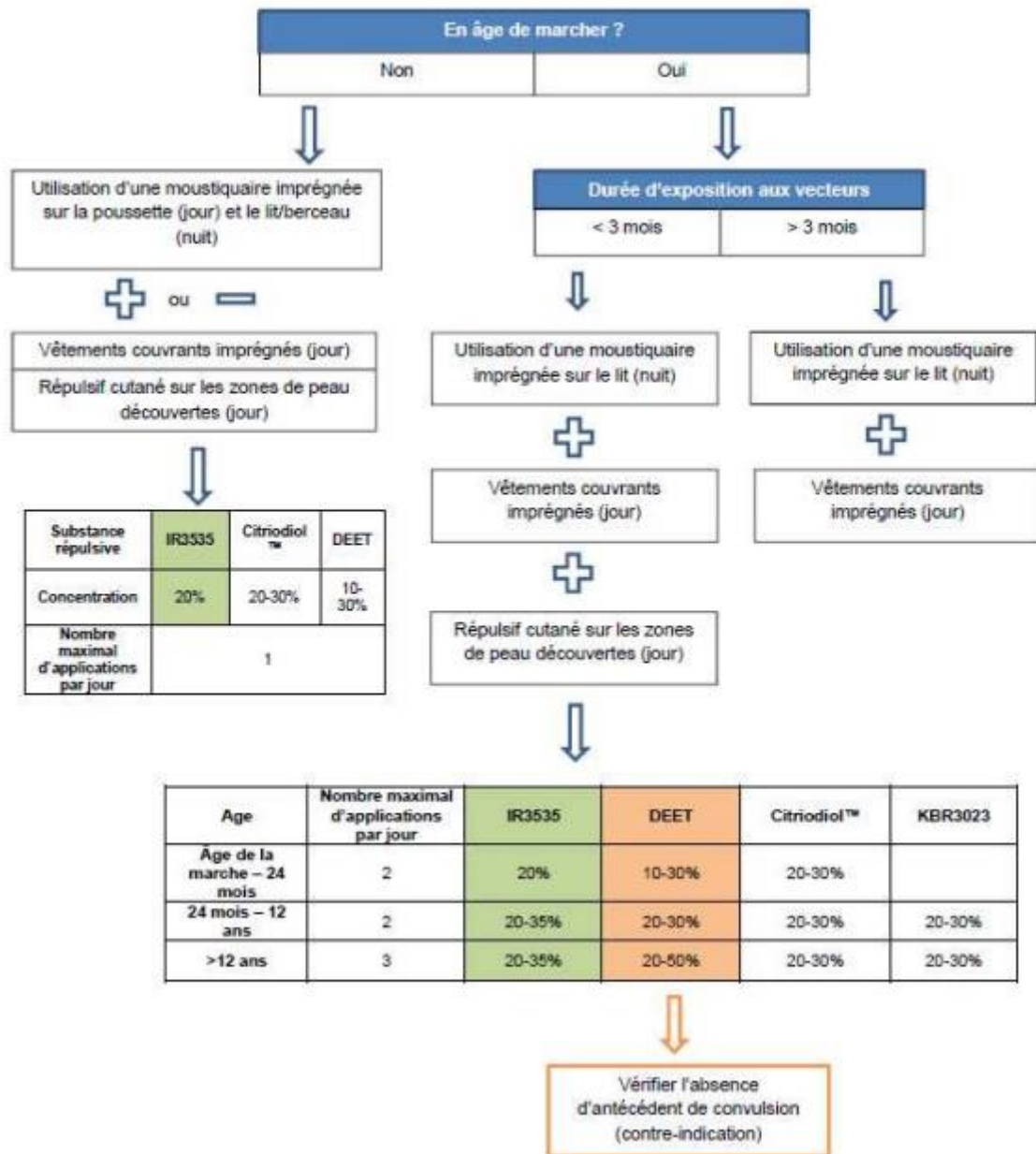


Figure 13 « Arbre décisionnel pour choisir un répulsif cutané chez enfant (1). »

Cette figure est un arbre décisionnel qui nous permet de choisir au mieux le moyen de protection pour un bébé ou un enfant, en fonction des réponses que l'on choisit.



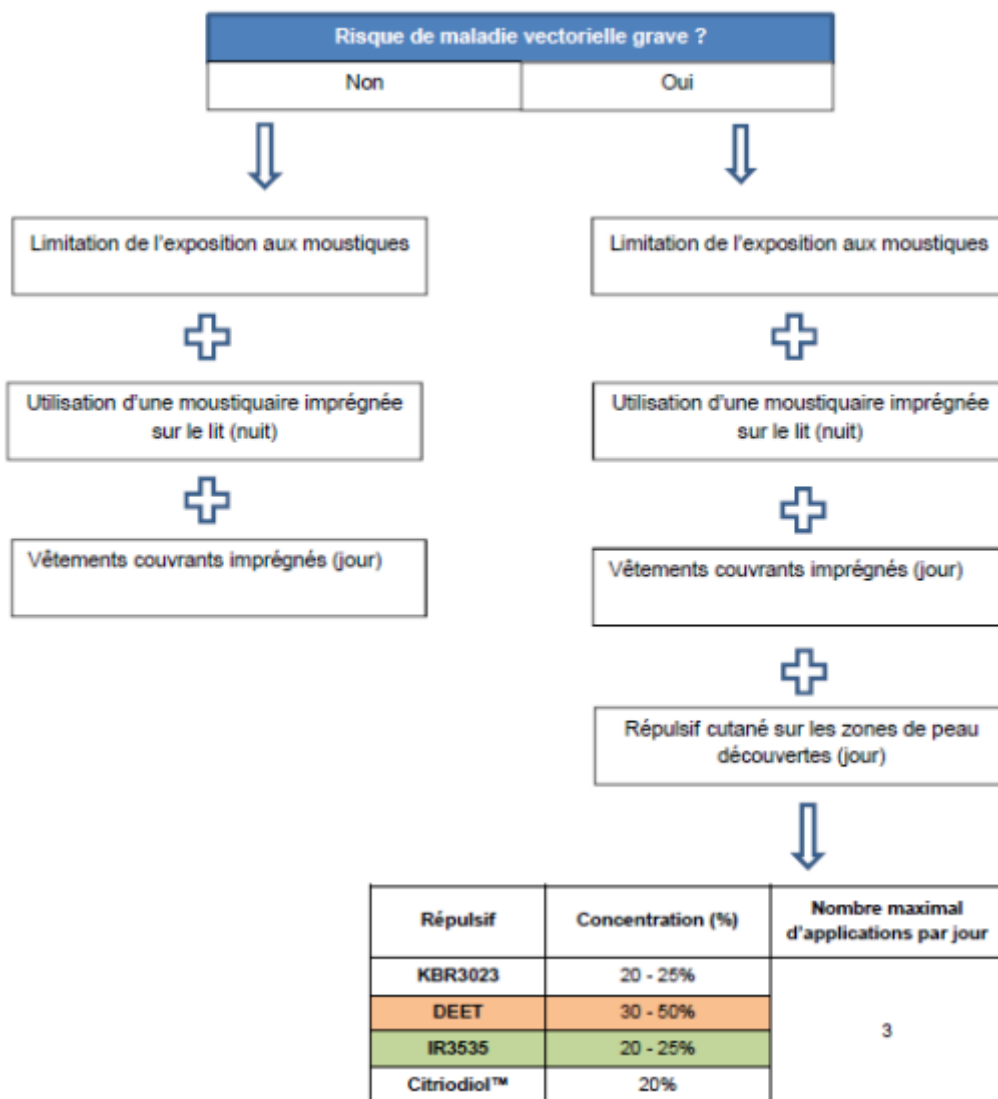


Figure 14 « Arbre décisionnel pour choisir un répulsif cutané chez la femme enceinte (1). »

Cette figure est un arbre décisionnel qui nous permet de choisir au mieux le moyen de protection pour une femme enceinte, en fonction des réponses que l'on choisit.

Concernant les répulsifs synthétiques il en existe d'origines naturelles et d'autres d'origines synthétiques (1) :

- Répulsifs synthétiques synthétisés à partir d'huiles essentielles d'origines naturelles :
  - Le PMD (proviens de l'huile essentielle d'eucalyptus citronné)
    - Il faut faire attention aux effets secondaires, ils peuvent être épiléptogènes chez les jeunes enfants, dû à la présence de terpènes.
  - La perméthrine (provient du chrysanthème), il s'agit d'un insecticide avec des propriétés répulsives. Elle peut être utilisée pour imprégner les vêtements et les moustiquaires (pour cette utilisation il sera dosé à 4%).

- IR3535 (analogue de la bêta-alanine), elle peut être utilisée chez l'enfant et la femme enceinte. Ce répulsif est dosé entre 20 et 35%, c'est une alternative au DEET et à l'icaridine, malgré le fait qu'il soit un peu moins efficace.

#### 1.4 Répulsives synthétiques

- Icaridine ou Picaridine, cette substance est dosée entre 20 et 25 %. Elle est relativement peu nocive, mais le recul est assez faible du fait de la faible utilisation de cette substance.
- DEET ou le N, N-diéthyl-3-méthylbenzamide, cette substance de synthèse est celle de référence. Elle a prouvé son efficacité et son profil toxicologique est le plus complet parmi les répulsifs existants. Elle a un large spectre d'action contre les moustiques. Il est utilisé à des concentrations variant de 20 à 50%, ce qui va impacter la concentration de cette substance et la forme du répulsif utilisé. Chez l'enfant une concentration de 20 à 35% sera utilisée, contre une concentration de 50% sera utilisée chez les adultes.

À la suite d'une expertise européenne cette molécule a subi une restriction d'usage pour les enfants de moins de 2 ans. Dans les cas d'urgences ou risque de contamination élevée, l'usage de cette molécule reste possible et recommandé. La balance bénéfice/risque de cette molécule face aux symptômes d'une infection par le virus West Nile le permet. Cependant l'usage du DEET doit être le plus court possible et à une concentration minimale et efficace. Il faut respecter scrupuleusement le nombre maximum d'application recommandé par jour et les conditions pratiques d'usage chez l'enfant (14). Cette substance agit aussi comme insecticide, elle va provoquer une perturbation de la transmission synaptique cholinergique chez le moustique. Avec cette substance, l'acétylcholinestérase ne va pas complètement hydrolyser l'acétylcholine dans le système nerveux central, ce qui va induire une accumulation d'acétylcholine. Une accumulation d'acétylcholine dans le système nerveux va provoquer chez le moustique une hyperexcitabilité des différentes cellules de ce système nerveux qui peut être létale. Ces effets peuvent être retrouvés chez les êtres humains (effets indésirables). Cette substance aurait aussi comme effet d'augmenter la concentration de calcium intracellulaire ce qui peut induire différents effets comme une altération des fonctions neuronales et de l'activité synaptique (1).

- Pyréthriñoïde, cette substance de synthèse va être recommandée et utilisée pour imprégner les vêtements et les moustiquaires. Elle est peu volatile et offre une protection de longue durée. Elle est également utilisée à faible dose, peu absorbée par la peau, et rapidement métabolisée.

Cette substance possède également une activité insecticide, elle va augmenter le temps d'ouverture des canaux sodiques jusqu'au seuil de déclenchement des potentiels d'action. Cette activité insecticide va se traduire par divers effets neurotoxiques comme des paralysies et des convulsions pouvant entraîner la mort de l'insecte. Deux types de Pyréthriñoïde peuvent être utilisés, ceux du type I et ceux du type II. Les pyréthriñoïdes du type I vont induire des tremblements appelés syndromes T (tremors). Les pyréthriñoïdes du type II vont induire une salivation, une paralysie et des convulsions appelé syndromes CS (choreoathetosis/salivation) (1).

L'âge minimum pour l'utilisation des répulsifs est de 6 mois. Cependant si le risque de transmission d'une maladie vectorielle est fort, on peut utiliser un répulsif à partir de 3 mois. A 3 mois il est préférable d'utiliser des méthodes physiques (14).

Plusieurs raisons sont énoncées quant à l'utilisation des répulsifs qu'à partir de 6 mois :

- L'absorption cutanée chez le nourrisson est plus importante avant 6 mois, le rapport dose absorbée/surface corporelle est plus grande.
- Les substances liposolubles sont plus facilement distribuées dans le système nerveux central supérieure.
- Les enzymes hépatiques sont maturées à partir de 6 mois, comme la filtration glomérulaire (14).

En dehors des zones à risques de maladies à transmission vectorielle grave, l'ANSM recommande l'usage de l'IR3535 chez les femmes enceintes et les jeunes enfants (à la suite d'évaluations européennes en cours des différentes substances répulsives). Des tests chez les rats ont permis de mettre en lumière le profil cinétique des différentes molécules actives qui peuvent être utilisées chez l'Homme et leurs effets à la suite d'une intoxication aiguë. (Tableau IX et X). Il est important de respecter les doses préconisées afin de prévenir des effets secondaires qui pourraient en découler (39).

Tableau IX « Absorption, métabolisme et élimination chez le rat des différentes molécules de répulsif (1). »

Substance active	Absorption cutanée	Absorption orale	Distribution	Métabolisme	Élimination
<b>DEET</b>	17% chez l'animal, 6-8% chez l'homme (ou 4 à 5 fois plus faible chez l'homme que chez rat*); pic plasmatique 4h après exposition (1g/kg chez le rat)	80 à 90% chez le rat ; pic plasmatique 1h après exposition (200 mg/kg chez rat)	ND	Complet par CYP450 (PO ou voie cut.) selon 2 voies majeures : hydroxylation en méta du groupement méthyle du noyau aromatique ; N-désalkylation du groupement N-éthyle	Élimination rapide : urinaire (10-15%) (74-91% chez le rat) et fécale : 3-7% chez le rat. $\frac{1}{2}$ vie d'élimination : 2,5h
<b>IR3535</b>	40% en 48h chez le rat	ND	ND	Transformation en forme acide	Urinaire ( $\frac{1}{2}$ vie plasmatique < 1 h)
<b>KBR3023</b>	1,7 - 3,8%	ND	ND	Environ 15 métabolites	ND
<b>Deltaméthrine</b>	0,23 à 3,6% chez le rat** ; pic plasmatique 1-2h après exposition chez l'homme	75% chez le rat**	Dans tous les tissus, mais de façon plus importante dans les graisses (chez rat, souris, vache)	Oxydation, hydrolyse des esters, $\alpha$ -cyano transformé en thiocyanate, $\pm$ conjugaison => métabolites inactifs	Urinaire (métabolites conjugués) (51-59%) et fécale (10-26%) chez l'homme 96h après exposition. $\frac{1}{2}$ vie de 10 à 13,5h chez l'homme.

Ce tableau montre le profil cinétique sur un rat (absorption, distribution, métabolisme et élimination) des substances actives (DEET, IR3535, KBR3023, Deltaméthrine) utilisées chez l'Homme.

Tableau X « Symptômes d'intoxication aiguë chez le rat et les doses létales 50, par voie orale et par voie cutanée des différentes molécules de répulsif (1). »

Substance répulsive	Symptômes intoxication aiguë	DL50 (PO)	DL50 (voie cut.)
<b>DEET</b>	Chez rat PO 1h après exposition: pilo-érection, augmentation des vocalises, altération de l'activité motrice, augmentation du temps de réponse à un stimulus thermique (disparition 24h après). Chez chien voie cut. : hypersalivation, agitation, incoordination motrice, dépression (disparition 19h après)	Rat : 2170 – 3664 mg/kg (1892 mg/kg)	Rat : >5g/kg Lapin : >2g/kg
<b>IR3535</b>	ND	Rat : > 5 g/kg	ND
<b>KBR3023</b>	Irritations oculaires	Chez rat et souris 4740-4743 mg/kg	Chez rat : > 5g/kg
<b>PMD</b>	Chez rat : irritations cutanées modérées. Chez lapin : irritations oculaires sévères	Rat : > 5g/kg	ND
<b>EHD**</b>	Chez rat PO : Perte de poids, démarche instable, prostration, larmolement. Chez rat voie cut. : inflammation, érythème, œdème, desquamation.	Rat : 2710-9281 mg/kg	Rat : 8960-10251 mg/kg
<b>Deltaméthrine*</b>	PO : Syndrome CS (hypersalivation, diarrhée, asthénie, incoordination motrice, hypotonie, tremblements, mouvements choréiformes, convulsions, dyspnée, paralysie des muscles respiratoires, voire mort). Voie cut. : érythèmes, irritations modérées	Souris : 19 mg/kg (solvant huileux). Rat : 95 et 130 mg/kg (solvant huileux) / >4g/kg (solvant aqueux)	Rat : >800 mg/kg. Lapin : >2g/kg

Ce tableau montre les symptômes à la suite d'une intoxication aiguë des substances actives utilisées, ce tableau montre également les dose létale 50 par voie orale et par voie cutané.

### 1.5 Huiles essentielles

Il faut mettre en garde contre les huiles essentielles dites répulsives. Leur action reste discutée et n'ont pas l'efficacité et la rémanence des répulsifs de synthèse. La durée d'action des huiles essentielles est d'environ 20 minutes contre quelques heures pour les répulsifs de synthèse. Certaines de ses huiles essentielles sont autorisées par l'ECHA (european chemicals agency) (Tableau XI) et d'autres non. En plus de son action discutée et de sa durée d'action relativement faible, les composants de ces huiles essentielles ne sont pas dénués d'effets secondaires (1) :

- Irritations cutanées
- Risques allergiques
- Photosensibilisation

Tableau XI « Molécules autorisées et non autorisées par l'ECHA (45). »

Substances actives listées sur le site de l'ECHA (autorisées)	Exemples de substances actives non listées sur le site de l'ECHA (non autorisées)
Huile essentielle de menthe	Huile essentielle de citronnelle
Huile essentielle de lavande	Linalol
Citronellal	Huile essentielle de l'arbre à thé australien
Extrait de margousier	Huile essentielle de neem
Géranol	Huile essentielle de géranium
Lavandin oil (extrait de Lavandula hybrida)	Huile essentielle d'Eucalyptus citronné
Citriodiol	Huile essentielle de Lemongrass
Extrait de Chrysanthemum cinerariaefolium	Huile essentielle d'Ylang-ylang
	Huile essentielle de menthe poivrée

Ce tableau répertorie des huiles essentielles qui sont autorisées par l'ECHA à gauche et d'autres non-autorisées à droite. Seuls les produits figurant dans la colonne de gauche sont présentés comme substances actives ayant des propriétés répulsives.

## 2. Contrôler le vecteur (moustique)

### 2.1 Utilisation de biocide

Un biocide est un produit chimique ou éléments traités avec un ou plusieurs produits chimiques afin de lutter contre des vecteurs de maladies ou de simples nuisibles à l'encontre de l'homme. Le règlement de l'UE n°528/2012 dicte les règles nécessaires à la mise sur le marché de ces produits dits biocides, ils doivent remplir deux conditions (45) :

- Le biocide doit contenir des substances actives qui sont approuvées pour l'usage pour lesquelles elles sont utilisées. Un contrôle est réalisé à l'échelle européenne pour évaluer les risques pour l'Homme, les animaux et l'environnement, mais également pour voir si ce produit est réellement utile contre les nuisibles qui en sont la cible.
- Le biocide ne doit pas présenter de risques que ce soit pour l'environnement, les animaux ou les humains, et être efficace aux doses utilisées.

Un contrôle est effectué au niveau national pour en estimer les risques (45).

Si un produit obtient une autorisation, il est considéré comme sûr et efficace. En dehors des produits répulsifs, insecticides ou de protection mécanique (vêtements), on peut utiliser des produits qui vont servir à imprégner des tissus (vêtements, rideaux, moustiquaires), en vue de leur conférer des propriétés répulsives ou insecticides. Ces biocides sont absorbés dans les fibres, ils s'évaporent lentement, ce qui permet d'augmenter la rémanence du produit appliqué. Le biocide le plus généralement appliqué est le pyréthrianoïde. L'efficacité de ces produits (comme pour les produits répulsifs et insecticides) va dépendre du produit utilisé, de sa concentration, mais aussi des espèces de moustiques qui vont être en contact. Cette méthode de protection a plusieurs avantages :

- Une meilleure persistance du produit dans le temps.
- Un coût inférieur.
- Une sécurité supérieure aux autres moyens de protection classique.
- Un contact avec la peau est fortement réduit par rapport à une application cutanée.

En complément de ce moyen de protection (imprégnation des tissus), le patient doit utiliser un répulsif sur les parties cutanées découvertes (46).

## **2.2 Utilisation de moustiquaire**

La moustiquaire est un bon moyen de protection physique. Elle constitue une barrière efficace contre les moustiques ou les insectes qui sévissent principalement la nuit (12). Il est recommandé d'utiliser une moustiquaire imprégnée industriellement avec la pyréthrianoïde qui va agir comme répulsif et insecticide.

Mais on peut réaliser une imprégnation de moustiquaire soit même (14) :

- La première étape consiste à mettre des gants de protection pour pouvoir manipuler le produit chimique.
- La deuxième étape consiste à mesurer le volume d'eau qui sera nécessaire pour imprégner la moustiquaire. Ce volume d'eau dépend de la matière de la moustiquaire, si elle est en matière synthétique un faible volume d'eau de l'ordre de 0,5 litre sera nécessaire, si elle est en coton un volume plus grand de l'ordre de 2 litres sera nécessaire (La taille est également un critère à prendre en compte).
- La troisième étape consiste à mélanger l'eau avec le produit chimique.
- La quatrième étape consiste à plonger la moustiquaire dans ce mélange une quinzaine de minutes. Une fois ce laps de temps écoulé on doit essorer la moustiquaire légèrement, en faisant attention à ne pas essorer trop fort ce qui pourrait entraîner une perte d'insecticide.
- La dernière étape consiste à faire sécher la moustiquaire à l'air libre, à plat et à l'ombre de préférence pour ne pas avoir de perte de matière et d'altération (14).

La moustiquaire imprégnée de pyréthrinoïdes (perméthrine, deltaméthrine), reste le moyen de protection prioritaire pour les bébés et les jeunes enfants dans des zones à risques pour la nuit. En journée (ou lorsque les bébés et les jeunes enfants sont hors de leurs berceau/lits) le moyen de protection le plus adapté est le port de vêtements couvrants et imprégnés si possible avec un insecticide pyréthrinoïde. De nombreuses moustiquaires sont recommandées par l’OMS depuis 2012 (Tableau XII) (14).

Tableau XII « Liste des moustiquaires imprégnées recommandé par l’OMS depuis 2012 (1). »

Nom commercial	Type de produit	Statut de la recommandation OMS
DawaPlus® 2.0	Deltaméthrine fixée sur du polyester	Provisoire
Duranet®	Alpha-cyperméthrine incorporée dans du polyéthylène	Provisoire
Interceptor®	Alpha-cyperméthrine fixée sur du polyester	Provisoire
LifeNet®	Deltaméthrine incorporée dans du polypropylène	Provisoire
MAGNet™	Alpha-cyperméthrine incorporée dans du polyéthylène	Provisoire
Netprotect®	Deltaméthrine incorporée dans du polyéthylène	Provisoire
Olyset®	Perméthrine incorporée dans du polyéthylène	Complet
Olyset® Plus	Perméthrine avec PBO* incorporée dans du polyéthylène	Provisoire
PermaNet® 2.0	Deltaméthrine fixée sur du polyester	Provisoire
PermaNet® 2.5	Deltaméthrine fixée sur du polyester et avec une bordure renforcée	Provisoire
PermaNet® 3.0	Combinaison de deltaméthrine fixée sur du polyester et avec une bordure renforcée (panneaux latéraux) et de deltaméthrine avec PBO* incorporé dans du polyéthylène (toit)	Provisoire
Royal Sentry®	Alpha-cyperméthrine incorporée dans du polyéthylène	Provisoire
Yorkool® LN	Deltaméthrine fixée sur du polyester	Complet

Ce tableau répertorie toutes les moustiquaires imprégnées que l’OMS recommande depuis 2012.

Les moustiquaires de fenêtres et/ou de portes peuvent être posées en complément des vêtements imprégnés, offrant une protection maximale autant pour les enfants que pour les adultes. En complément d’appoint des méthodes de protection personnelle, on peut utiliser des aérosols de confort pour une utilisation domestique, des insecticides à diffusion continue sous formes de plaquette chauffante sur prise électrique ou liquide comme les diffuseurs électriques d’intérieur.

### 2.3 Mesures d’appoint pour contrôler les vecteurs

En mesures d’appoint, la climatisation ou la ventilation peut s’avérer utile en complément d’une bonne étanchéité des locaux et de l’usage d’insecticides (12,41). Pour l’extérieur on peut utiliser des serpentins fumigènes mais leur utilisation doit rester limité dans le temps. Ils sont déconseillés en présence d’enfants, de personnes âgées, d’asthmatiques et de toutes autres personnes susceptibles de souffrir de troubles respiratoires. Les pièges lumineux attractifs doivent être écartés des méthodes de protection d’appoint extérieur, ils ne procurent pas une protection



suffisante (comme les appareils sonores à ultrasons, les bracelets anti-insectes, la vitamine B1, l'homéopathie, les raquettes électriques, les rubans, les papiers et les autocollants gluants sans insecticides) (12). L'élimination des sites de reproduction, de ponte et de développement larvaire, permet de limiter la prolifération des vecteurs et du virus indirectement (5). La lutte antivectorielle s'effectue en fonction du niveau de risque d'infection par zone ou lieu potentiellement infecté. Dans les zones sans précédent d'infection ou en absence de circulation du virus, on va promouvoir l'élimination et le contrôle des gîtes larvaires d'origine « humaine » à proximité des habitations. Dans les zones où le virus circule, la cellule nationale d'aide à la décision propose des mesures de lutte antivectorielle en adéquation avec les risques identifiés. Dans un premier temps on va promouvoir l'élimination et le contrôle des gîtes larvaires d'origine « humaine » à proximité des habitations (46). Ensuite d'autres méthodes vont être utilisées pour faire face à la circulation du virus.

#### ***2.4 Epannage aérien et utilisation de larvicide***

Si cela est nécessaire, on va appliquer des larvicides et envisager des traitements adulticides locaux, limités à la zone infectée. Le traitement se fera dans une zone où la population adulte est supérieure aux niveaux habituels sur des sites d'activités humaine. L'utilisation d'adulticides ne doit être envisagée que dans les situations d'urgence et doit être une mesure exceptionnelle qui sera mise en place suivant des protocoles précis toujours en vigueur. Dans les zones où le risque d'infection est élevé, il est primordial d'intensifier les opérations de contrôle vis-à-vis des vecteurs adultes et des foyers de larves. Si une zone infectée s'étend à un territoire plus grand, ou si le nombre de cas d'infection augmente au sein d'une zone géographique, il sera envisagé de réaliser un épandage aérien. Si un épandage aérien a lieu dans une zone à risque, la population devra en être informée et être informé des mesures de précaution à prendre face à ce dispositif et comment s'en protéger au mieux. Il est conseillé aux personnes vivant à proximité de lieux d'épandage de ne pas ouvrir leurs fenêtres pendant quelques heures suivant le traitement et de ne pas boire les eaux à proximité. Un épandage ne doit pas être réalisé à moins de 5 mètres des habitations et à moins de 10 mètres des habitations pour les molécules les plus toxiques. Le vent doit être inférieur à 19km/h pour éviter une prolifération trop importante des molécules potentiellement dangereuse pour l'Homme dans l'air (Tableau XIII) (47).

Tableau XIII « Possibilité d'effectuer un traitement phytosanitaire en fonction de la vitesse moyenne du vent en km/h (47). »

**Tableau de l'échelle de Beaufort appliqué aux possibilités de traitements phytosanitaires :**

Degré Beaufort	Observations	Vitesse moyenne du vent (Km/h)	Possibilités de traitements phytosanitaires
0	On ne sent pas le vent	Moins de 1	Bonnes conditions de traitement (précautions par temps chaud : risque accru de volatilisation des produits)
1	On sent très peu le vent	1 à 5	Bonnes conditions de traitement
2	Les girouettes tournent	6 à 11	Bonnes conditions de traitement
3	Les feuilles et les rameaux sont sans cesse agités	12 à 19	Augmentation du risque de dérive des embruns de pulvérisation, prendre des précautions en particulier avec les herbicides en cas de cultures avoisinantes sensibles, il est recommandé, si on ne peut différer le traitement, d'utiliser des moyens permettant de limiter la dérive
4 à 12	Le vent soulève la poussière, les cheveux sont dérangés. Les petites branches plient.	20 et plus	Ne pas traiter en pulvérisation ou poudrage

Ce tableau de l'échelle de Beaufort, exprime la possibilité de réaliser un épandage aérien de produits phytosanitaires en fonction de la vitesse moyenne du vent (km/h).

La pulvérisation aérienne ne constitue pas la méthode absolue pour lutter contre les vecteurs. Cette méthode permet uniquement de réduire le nombre de vecteurs pouvant transmettre le virus dans une zone étendue. Cette méthode reste le plus efficace pour traiter de grandes zones, mais la population doit continuer à utiliser des méthodes de protection individuelle, la pulvérisation ne permet d'éradiquer l'intégralité des vecteurs. L'épandage aérien ne pollue pas l'eau lorsqu'il est réalisé conformément aux instructions et ne cause pas de dommages à long terme à l'environnement ou à l'écosystème local (48).

Le Naled, appartient à la famille des organophosphorés, c'est une substance active qui possède un effet insecticide. Il est utilisé depuis les années 1950, lors de pulvérisations aériennes ou terrestres pour lutter contre les moustiques. Cette substance n'est pas détectable dans le sol, les plantes ou les animaux à la suite de son utilisation, il est classé dans le groupe E par l'EPA (Environmental Protection Agency), il est prouvé non cancérigène pour l'Homme (il n'y a pas de corrélation entre l'utilisation de cette substance et les cancers chez l'Homme). Une petite quantité est utilisée lors de la pulvérisation aérienne, environ deux cuillères à soupe pour la taille d'un terrain de foot. Les gouttelettes de substance flottent dans l'air et tuent les moustiques qui rentrent en contact (48). A forte dose Naled et les autres organophosphorés peuvent stimuler le système nerveux de manière excessive, ce qui provoque des nausées, des vertiges, des confusions, et/ou des intoxications sévères qui peuvent aboutir à des convulsions ou une mort par paralysie respiratoire (49). Le Naled se dégrade immédiatement en contact des surfaces, dans l'eau et au soleil, cela a été mis en évidence lors d'une utilisation à Porto Rico pour tenter de contrôler une prolifération de dengue. Le Naled crée lors de sa dégradation le Dichlorvos chimique (DDVP) en petite quantité. Il n'a pas été démontré dangereux ou à l'origine de problème de santé chez l'Homme, il n'y a pas d'accumulation au sein des tissus mammaire ou du lait maternel (48). La gestion de la

prolifération des moustiques est importante au quotidien pour éviter qu'elle ne devienne incontrôlable. Cette gestion l'est encore plus à la suite de catastrophes naturelles telles que les ouragans et les inondations. Ces catastrophes engendrent de nombreux foyers d'eaux stagnantes dans les zones sinistrées, qu'il est important de gérer (48).

### **2.5 Utilisation de microorganisme**

On peut utiliser une bactérie pour tuer des larves de moustiques, cette bactérie est la *Bacillus thuringiensis* de la sous espèce *Israelensis* (Bti). Elle est naturellement présente dans les sols et produit des toxines qui se montrent efficaces contre les larves de moustiques lorsque celles-ci les avalent (48). La bactérie va, durant son étape de sporulation, produire une protéine cristallisée qui sera toxique pour les larves de moustiques. Lorsque les larves se nourrissent, des cristaux microscopiques de toxines sont ingérés, au contact du milieu alcalin de l'appareil digestif et sous l'action des enzymes digestives spécifiques, les cristaux s'hydrolysent et se dissolvent. Des sous-unités sont alors formées à la suite de cette hydrolyse et de cette dissolution, elles vont se fixer sur les récepteurs spécifiques de l'épithélium intestinal de la larve. Lorsque le tube digestif de la larve est paralysé, des pores apparaissent très vite et mettent en communication les différentes cavités de l'abdomen. La mort de la larve survient alors dans les 24 heures qui suivent. Cette bactérie se montre particulièrement efficace contre les larves de moustiques mais elle ne peut pas être appliquée par voie aérienne, elle sera appliquée à l'aide d'un pulvérisateur à dos ou montée sur un camion. Cette bactérie existe aussi sous la forme de briquettes de petite taille (Figure 15) que l'on place dans des zones d'eau stagnante qui sont difficiles à vider comme les fontaines, les bassins d'ornement, les fosses septiques ou encore les piscines creusées (48). Cette bactérie n'a aucun effet sur les abeilles, les poissons, les oiseaux, les mammifères et les humains même après exposition directe ou indirecte. L'acidité de l'estomac des humains et des mammifères empêche l'activation de la toxine. La toxine insecticide secrétée par la bactérie Bti est rapidement biodégradée dans l'environnement sous l'action des rayons solaires et des microorganismes environnementaux. Après plus de 20 ans d'utilisation régulière de cette bactérie, aucun phénomène de résistance n'a été recensé (40,48).

## LARVICIDES KILL YOUNG MOSQUITOES



**Dunks are one type of larvicide you can use to kill larvae that hatch from mosquito eggs.**

You can also use larvicides that are liquids, tablets, pellets, granules, and briquettes.

[www.cdc.gov](http://www.cdc.gov)

CS267364A

December 16, 2016

Figure 15 « Exemple de briquette de larvicide (50). »

Cette figure montre une briquette de larvicide utilisée pour tuer les larves.



## E. La situation épidémiologique

### 1. Historique

Le virus West Nile a été découvert et isolé pour la première fois en 1937, en Afrique et plus précisément en Ouganda. Il est maintenant répandu dans toute l'Europe, en Amérique et au Moyen-Orient. Il est considéré comme le deuxième *Flavivirus* le plus répandu au monde après le virus de la Dengue. C'est en 1960 que le virus a été reporté pour la première fois en Europe, en France, au Portugal, à Chypre et en Israël. Dans les années 1950 à 1980 l'Israël, a décrit de nombreux moyens de transmission du virus, avec dans certains cas des atteintes du système nerveux qui ont été mortelles (17).

En 1963, en Camargue dans le sud de la France, 19 cas humains ont été recensés, des cas d'infection chez les chevaux ont également été rapportés. On a isolé la même souche du virus chez les moustiques, les hommes et les chevaux. C'est l'espèce *Culex modestus* qui fut responsable de la transmission du virus cette année-là (17).

Dans les années 1990 les pays du pourtour méditerranéen ont vu augmenter le nombre d'infection par le virus West Nile (17).

Pendant la saison 1996-1997, la Roumanie a connu un épisode important d'infection, comme la Russie sur la saison 1999-2000. Dans ces deux pays plus de 800 cas sévères et des dizaines de morts ont été déclarés, ce sont les personnes les plus sensibles qui ont été touchées : les enfants, personnes âgées et immunodéficients (17).

En 1998 une virulence augmentée a été observée en Israël, puis en 2000 plusieurs virulences ont été observées chez les humains et chez les chevaux (17).

Après analyse de ce virus et de son génome viral, il en retourne une quasi-similitude entre la souche de ce virus (la souche NY99) et la souche isolée en Israël en 1998, à 99,8% pour les protéines et les nucléotides. L'émergence de cette souche aux Etats-Unis serait la conséquence des échanges commerciaux avec l'Israël, le trafic d'oiseaux infectés par le virus mais également le transport de moustiques infectés involontairement (17).

Les Etats-Unis ont connu leur première épidémie au virus West Nile en 1999. Cette épidémie a débuté avec l'apparition de nombreuses encéphalites humaines et des décès ont également été recensés cette année. Une forte mortalité aviaire durant cette période a permis aux chercheurs d'isoler le virus et de le caractériser (17). La même année, toujours aux Etats-Unis et plus précisément, à New-York aux Etats-Unis les premiers cas sont recensés. 3 ans plus tard en 2002, c'est du territoire des Etats-Unis qui est touché par le virus, infectant 4156 personnes, et provoquant 284 décès (17).

Avant 2000, le Centre National de Référence des Arbovirus, a mis en place une surveillance au niveau national en France, pour la déclaration obligatoire des cas d'infection équine et humaine par virus West Nile (2).

En 2000, en Camargue, 76 cas d'infections neurologiques équines, causés par le virus West Nile ont été recensés. Cependant aucun cas humain n'a été enregistré cette année-là (2).

En 2001 une nouvelle épidémie est détectée aux Etats-Unis, touchant 21 états cette année-là et l'intégralité des Etats-Unis en 2004. C'est la souche de la lignée 2 originaire de l'Europe, qui en est responsable. La propagation du virus a été plus rapide qu'en 1999, cette accélération est principalement due à l'apparition d'un nouveau génotype du virus West Nile. Ce nouveau génotype a permis de diminuer la période d'incubation du virus chez les moustiques (17).

En 2002 ce nouveau génotype a remplacé en quasi-totalité le génome de la souche NY99 du virus (17). Cette même année, le virus se propagera au Canada, au Mexique, aux Antilles et en Amérique du Sud (2).

De 2001 à 2002, la Camargue a connu une faible circulation du virus, peu de cas ont été recensés. En 2001, un canard a été infecté et en 2002 un canard et un cheval ont été infectés (2).

En 2003, dans le Var, un cas d'atteinte neurologique (méningo-encéphalite) humaine et un cas d'encéphalite équine ont été rapportés cette année-là. Ces deux cas ont eu lieu dans la même zone. La découverte de ces deux cas dans le Var a poussé la recherche active d'autres cas potentiellement présents dans cette région. Au final, 7 cas humains et 4 cas équins furent découverts (2). Une étude sérologique a été réalisée en 2003 par technique ELISA et confirmée par neutralisation sur une population de 2024 donneurs de sang. Les donneurs ont été prélevés entre le 14 août et le 27 septembre. Cette étude a permis de mettre en évidence 9 porteurs d'anticorps d'IgG et 1 porteur d'IgM (51).

En 2002, aux Etats-Unis, 5812 cas d'atteintes neurologiques ont été recensés, dont 548 décès (17).

En 2003, aux Etats-Unis, 9862 cas d'infection par le virus West Nile ont été recensés. Cela reste la plus grande épidémie à virus West Nile jamais enregistrée, 2866 de ces personnes infectées ont développées une encéphalite. Parmi les patients atteints de troubles neurologiques 264 sont décédés (Figure 16).

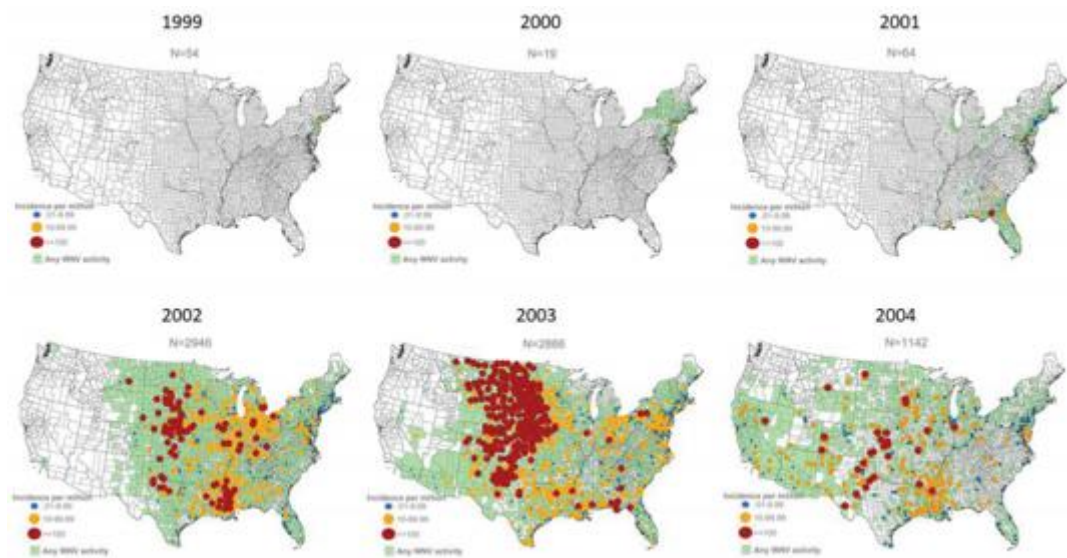


Figure 16 « Incidence des formes neurologique par comté aux Etats-Unis de 1999 à 2004 (17). »

Cette cartographie permet de voir l'évolution des cas neurologiques aux Etats-Unis par comté, sur la période de 1999 à 2004. On remarque que les cas ont commencé à l'Est pour gagner l'Ouest avec le temps. Durant l'année 2003 le territoire américain a été particulièrement touché. En 2004, l'ensemble du territoire américain est touché.

En 2004, afin d'assurer la surveillance et la gestion des infections et pour organiser ce système interministériel, le « guide de procédures de lutte contre la circulation du virus West Nile en France métropolitaine » a été mis en place (39).

En 2004, la lignée 2 est retrouvée en Hongrie, cette lignée était considérée comme moins dangereuse que la lignée 1. Les populations humaine et animale étaient naïves vis-à-vis de ces souches jusqu'alors inconnues en Europe. La lignée 2 n'a causé que quelques cas en Europe sur la période 2004 à 2007 (17,52).

En 2004, aux Etats-Unis, 2470 cas d'infection ont été recensés, parmi ces cas 88 sont décédés (51).

En 2004, en Camargue, 32 cas équins sont recensés, avec de multiples séroconversions aviaires, aucun cas humain n'a été enregistré cette année-là (2).

En 2006, dans les Pyrénées Oriental, 5 cas d'infection équines ont été recensés (2).

En 2007, aux Etats-Unis, 3630 cas d'infection ont été recensés, dont 1217 cas qui développeront des atteintes neurologiques. Parmi les patients atteints de troubles neurologique 124 sont décédés (58).

En 2008, aux Etats-Unis, 1356 cas d'infection ont été recensés, dont 700 cas qui développeront des atteintes neurologiques. Parmi les patients atteints de troubles neurologique 44 sont décédés (58).



En 2008, l'Europe enregistre de nouveaux cas d'infections humaines et équine, en Italie, en Roumanie et en Hongrie. En Autriche des cas d'infection aviaires ont été signalés, en plus des cas humains et équine. C'est en 2008 que le lignée 2 a « explosé » en Hongrie, de nombreux cas de maladies neuro-invasives ont été décrites chez les humains, les chevaux et chez les oiseaux, ce lignage s'est répandu jusqu'à l'Est de l'Autriche (17).

En 2009, une nouvelle épidémie a éclaté en Hongrie et en Autriche (17). En Europe, 663 cas d'infection ont été recensés, dont la moitié développera des atteintes neurologiques. Parmi les patients atteints de troubles neurologiques 30 sont décédés.

Depuis 2010, la lignée 2 du virus West Nile, va pour la première fois être identifiée dans plusieurs états de l'Europe (Grèce, Roumanie, Italie, Espagne) mais aussi la Russie, Israël et la Turquie et toucher des humains (17,52). En 2010, la Grèce a connu une épidémie touchant 262 personnes, principalement dans la région de la Macédoine, parmi ces 261 cas, 191 développeront des atteintes neurologiques et 34 en décéderont (2).

De 1999 à 2010, sur le continent Américain plus de 1.8 millions de personnes ont été infectées, plus de 12000 personnes ont développé une forme neurologique, et plus de 1300 sont décédées (59).

En 2012, en Europe, 4500 cas d'infection ont été recensés, parmi ces cas, 183 sont décédés. Cette même année, les autorités américaines ont confirmé le retour du virus West Nile sur l'ensemble du territoire. Depuis 2012, en particulier dans les Balkans, on assiste à une recrudescence de cas humains infectés par le virus West Nile. L'ECDC (European Centre for Disease prevention and Control), a considéré l'Italie comme étant un pays endémique, du fait que des cas d'infections ont été recensés pendant trois années consécutives. En 2012, en Belgique, une femme de 73 ans a développé les symptômes neurologiques associés à une infection par le virus West Nile, après être allée en Grèce (5).

En 2015, en France, 1 cas humain a été enregistré à Nîmes, ainsi que 49 cas équine répartis entre la Camargue et l'Hérault (53).

De 2011 à 2017 le nombre de cas et le nombre de pays touchés a augmenté dans toute l'Europe (Tableau XIV), (Figure 17 et 18).

Tableau XIV « Nombres des principaux épisodes d'infection à virus West Nile dans les pays de l'Union Européenne et les pays voisins, en fonction des années (54). »

Année	Union européenne	Pays voisins	Principaux épisodes dans les pays de l'Union européenne
2011	128	212	Grèce (100 cas), Italie (14 cas)
2012	242	693	Grèce (161 cas), Italie (50 cas)
2013	228	557	Grèce (86 cas), Italie (69 cas), Hongrie (31 cas), Roumanie (24)
2014	74	136	Italie (24 cas), Roumanie (23), Grèce (15 cas)
2015	108	193	Italie (60 cas), Serbie (28 cas), Roumanie (19 cas), Hongrie (18 cas)
2016	214	267	Roumanie (93 cas), Italie (68 cas), Hongrie (43)
2017	204	84	Roumanie (66 cas), Italie (57 cas), Serbie (49 cas), Grèce (48 cas), Hongrie (21 cas)

Ce tableau présente les principaux épisodes de virus West Nile dans les pays de l'Union européenne sur la période 2011-2017.

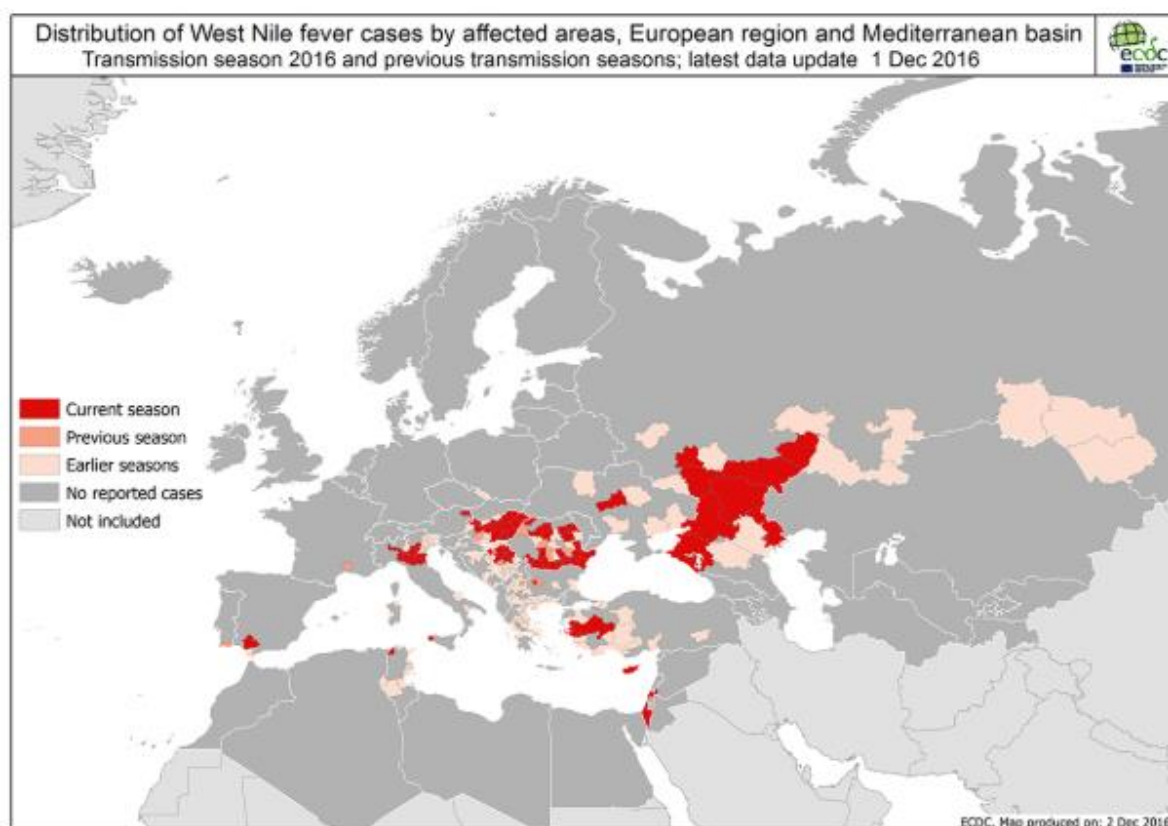


Figure 17 « Distributions des cas d'infections à virus West Nile chez les humains et les chevaux, rapportés dans l'union Européennes en 2016 (55). »

Cette carte présente la distribution des cas d'infection par le virus West Nile humains et équins à travers l'Europe en 2016, en rouge les pays les plus touchés.

De 1999 à 2016 aux États-Unis, de nombreux cas d'infections neuro-invasives ont été signalés par les médecins et le nombre de mort associé à ces cas (Tableau XV).

Durant la saison 2017, 204 cas humains ont été notifiés dans les Etats membres de l'Union Européenne (52) :

- 66 cas en Roumanie.
- 57 cas en Italie.
- 48 cas en Grèce.
- 21 cas en Hongrie.
- 5 cas en Croatie.
- 4 cas en Autriche.
- 2 cas en France.
- 1 cas en Bulgarie.

Certains pays en dehors de l'Union Européenne ont également signalé des cas d'infections par le virus West Nile :

- 49 cas en Serbie.
- 29 cas en Israël.
- 5 cas en Turquie.

Durant la période 2017, 26 décès à la suite d'une infection par le virus West Nile ont été signalés :

- 14 décès en Roumanie.
- 5 décès en Grèce.
- 2 décès en Serbie et en Hongrie.
- 1 décès en Turquie, en Italie et Croatie.

Au cours de la saison 2017, 83 foyers chez les équidés ont été signalés.

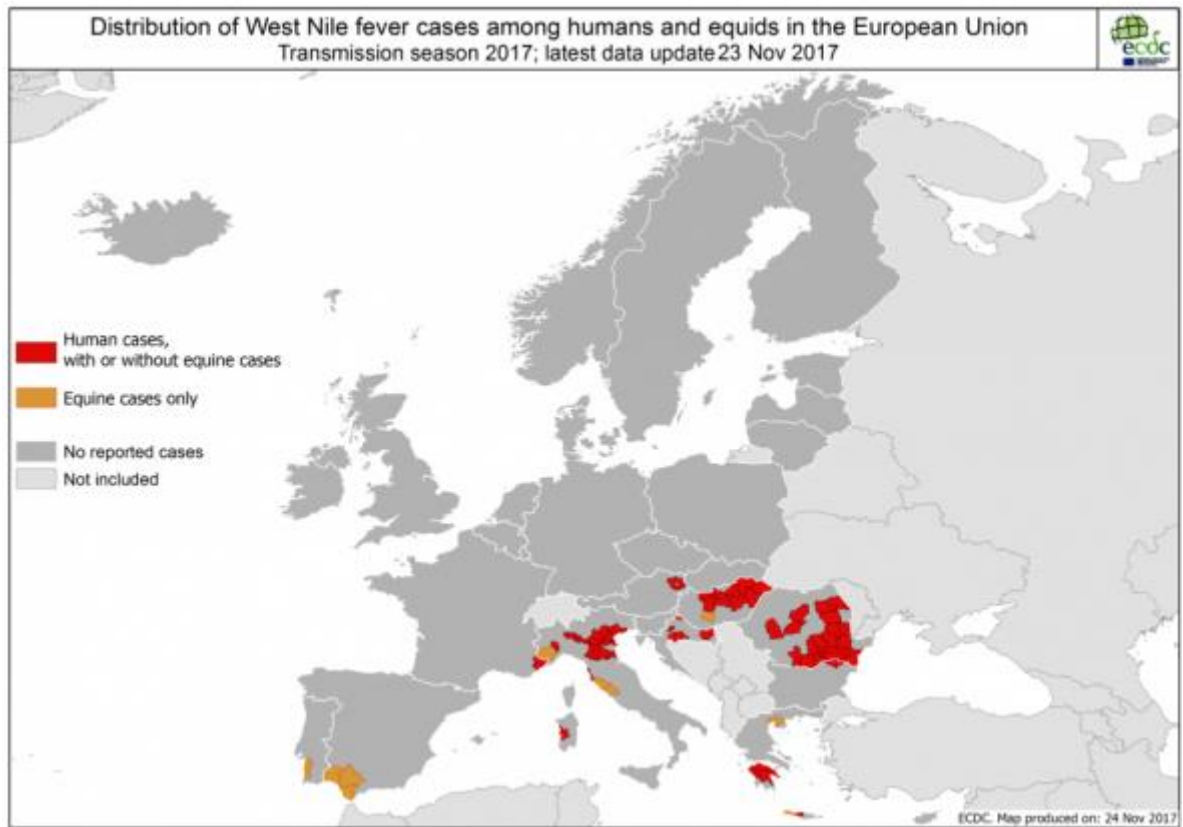



Figure 18 « Distributions des cas d'infections à virus West Nile chez les humains et les chevaux, rapportés dans l'union Européennes en 2017 (52). »

Cette carte présente la distribution des cas d'infection par le virus West Nile humains et équins à travers l'Europe en 2017, en rouge les pays les plus touchés.

Tableau XV « Cas à Virus West Nile et décès associés, en fonctions des années et du caractère neuro-invasif de la maladie, de la période 1999 à 2016 (17). »



Year	Neuroinvasive disease			Non-neuroinvasive disease			Total		
	Cases	Deaths		Cases	Deaths		Cases	Deaths	
	No.	No.	(%)	No.	No.	(%)	No.	No.	(%)
1999	59	7	(12)	3	0	(0)	62	7	(11)
2000	19	2	(11)	2	0	(0)	21	2	(10)
2001	64	10	(16)	2	0	(0)	66	10	(15)
2002	2,946	276	(9)	1,210	8	(1)	4,156	284	(7)
2003	2,866	232	(8)	6,996	32	(<1)	9,862	264	(3)
2004	1,148	94	(8)	1,391	6	(<1)	2,539	100	(4)
2005	1,309	104	(8)	1,691	15	(1)	3,000	119	(4)
2006	1,495	162	(11)	2,774	15	(1)	4,269	177	(4)
2007	1,227	117	(10)	2,403	7	(<1)	3,630	124	(3)
2008	689	41	(6)	667	3	(<1)	1,356	44	(3)
2009	386	32	(8)	334	0	(0)	720	32	(4)
2010	629	54	(9)	392	3	(1)	1,021	57	(6)
2011	486	42	(9)	226	1	(<1)	712	43	(6)
2012	2,873	270	(9)	2,801	16	(1)	5,674	286	(5)
2013	1,267	111	(9)	1,202	8	(<1)	2,469	119	(5)
2014	1,347	87	(6)	858	10	(1)	2,205	97	(4)
2015	1,455	142	(10)	720	4	(<1)	2,175	146	(7)
2016	1,309	105	(8)	840	1	(<1)	2,149	106	(5)
<b>Total</b>	<b>21,574</b>	<b>1,888</b>	<b>(9)</b>	<b>24,512</b>	<b>129</b>	<b>(&lt;1)</b>	<b>46,086</b>	<b>2,017</b>	<b>(4)</b>

Source: ArboNET, Arboviral Diseases Branch, Centers for Disease Control and Prevention

Ce tableau présente les cas de Virus West Nile et les décès qui y sont associés, en fonctions des années et du caractère neuro-invasif de la maladie, de la période 1999 à 2016. Sur cette période 46 086 cas ont été enregistrés et 2017 morts ont été recensés.

## 2. La veille sanitaire

### 1 La surveillance Sanitaire

La surveillance sanitaire de la population doit permettre de détecter la circulation du virus West Nile, le plus tôt possible. La surveillance se fait grâce aux signalements des cas humains ou animaux qu'ils soient infectés ou suspectés de l'être. La surveillance réalisée s'intéresse aux hôtes et aux vecteurs qui transmettent le virus (des surveillances humaine, équine, aviaire et entomologique sont réalisées) (56).

La surveillance repose sur un dispositif national et un dispositif de surveillance renforcée qui seront mis en place dans les zones géographiques où le risque de circulation du virus est élevé. Une surveillance nationale des cas équins existe, dans le cadre des déclarations obligatoires des

encéphalites équine. Une surveillance clinique nationale existe aussi pour les cas humains ou pour lesquels le diagnostic de chaque cas doit être signalé à Santé Publique France par le CNR. Les régions du pourtour méditerranéen sont les plus concernées par la circulation du virus West Nile. Ces régions ont connu de nombreuses épidémies et elles regroupent les conditions géographiques et climatiques propices à la prolifération du vecteur de la maladie. Le dispositif est activé durant une certaine période qui commence le 1<sup>er</sup> juin et qui se termine le 31 octobre. Cette période couvre l'activité des moustiques vecteurs de la maladie, ce dispositif permet une surveillance humaine et entomologique. Il est prolongé jusqu'en novembre pour assurer la surveillance des cas de mortalités aviaires (56). La détection des cas d'encéphalites équine par les vétérinaires est le point essentiel de la surveillance animale, cette surveillance s'inscrit dans le cadre des déclarations obligatoires. La Direction Départementale de la Cohésion Sociale et de la Protection de la Population (DDCSPP) veille à la bonne réactivité du réseau d'épidémiosurveillance sur l'ensemble du territoire. Les DDCSPP assistent aux réunions d'informations des vétérinaires sanitaires. En cas de détection d'infections humaines ou équine et/ou de confirmation de foyers, des enquêtes de séroprévalence sont organisées. En cas de suspicions d'encéphalites équine, une déclaration est déposée auprès des DDCSPP par les vétérinaires. Des prélèvements sanguins sont réalisés et envoyés dans des laboratoires pour le diagnostic du virus West Nile, des analyses sérologiques de premières intentions sont également réalisées. Ces laboratoires sont agréés par le ministère de l'agriculture et de la pêche. En cas d'analyse sérologique positive pour le virus West Nile, des examens de confirmation sont réalisés dans un laboratoire national de référence (LNR) de l'ANSES (Agence Nationale de Sécurité Sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et du travail). Des prélèvements d'encéphale pourront être transmis au laboratoire pour réaliser des analyses virologiques, la direction générale de l'alimentation (DGAI) sera informée de ces cas positifs (56).

La surveillance aviaire repose sur la surveillance et la détection de la mortalité des oiseaux, elle vise à identifier les souches responsables de cette mortalité. Elle est menée dans les départements du pourtour méditerranéen où le risque d'infection est le plus élevé. L'isolement des souches virales sera réalisé en collaboration avec le centre national de référence (CNR) des arbovirus. Sur ces oiseaux du pourtour méditerranéen, sera réalisé un prélèvement complémentaire de l'encéphale par le laboratoire départemental d'analyses vétérinaires, et il sera transmis au laboratoire national de référence, pour la recherche du virus West Nile. La mortalité aviaire fait également l'objet d'une surveillance pour la détection du virus de l'influenza aviaire depuis 2005. Cette surveillance n'est pas réalisée uniquement pour détecter le virus West Nile (2). La surveillance aviaire repose sur le réseau SAGIR qui est un réseau de surveillance de la santé de la faune sauvage. Ce réseau est basé sur un partenariat entre l'OFB, l'ANSES, la DGAL, les DDCSPP, les fédérations départementales des chasseurs et des laboratoires (laboratoire de toxicologie de l'Ecole nationale vétérinaire de Lyon et des LVD). Pour éviter de surcharger les laboratoires d'analyses avec des centaines de prélèvements, le nombre de demandes d'analyses a été limité à 3 oiseaux par espèce et par épisodes de mortalité. Ces demandes concernent la période de juin à novembre,

et ces analyses sont limitées aux départements du pourtour méditerranéen. Les cadavres d'oiseaux à analyser sont choisis selon des critères prédéfinis par le programme de surveillance aviaire. Dans les autres départements, aucune surveillance particulière n'est menée vis-à-vis de la mortalité aviaire, à moins d'une suspicion d'infection. La surveillance de ces cas permet d'estimer l'importance de l'activité virale et donc du risque pour la santé humaine et animale dans une zone donnée (56).

Il y a trois niveaux de risque qui peuvent être identifiés dans le cas des infections par le virus West Nile (2,42,46) :

- Le niveau 1 va concerner la mortalité aviaire due au virus West Nile.
- Le niveau 2 va concerner les cas d'infections ou de mortalité équine due au virus West Nile.
- Le niveau 3 va concerner les cas d'infections humains due au virus West Nile.

La stratégie d'intervention dépend du niveau de risque observé et s'articule autour de quatre volets (56) :

- Le renforcement de la surveillance afin de déterminer l'étendue et l'importance de la circulation virale.
- L'information du public sur les mesures de protection individuelle à adopter.
- La mise en œuvre de mesures de lutte antivectorielle destinées à contrôler les populations de moustiques.
- La sécurisation des approvisionnements sanguins et des dons d'organes.

Le renforcement du dispositif de surveillance passe par une information et une sensibilisation des acteurs de la santé humaine et animale. Elle passe aussi par des investigations spécifiques autour des infections au virus, menées essentiellement dans les départements du pourtour méditerranéen (56).

## **2 Le renforcement de la surveillance humaine**

La surveillance humaine et l'investigation autour des cas se déroule en 3 niveaux (2,38,46) :

- Niveau 1 : Information des établissements de soins et des médecins libéraux de la zone concernée par l'émergence virale, pour assurer une vigilance spécifique.  
Cette information est distribuée par la ou les Agences Régionales de Santé (ARS) concernées.

- Niveau 2 et 3 : Mise en alerte des établissements hospitaliers du pourtour méditerranéen (information et sensibilisation) par la ou les agences ARS. Pour le niveau 3, une enquête épidémiologique est réalisée par l'ARS dans ces mêmes départements, avec l'appui Santé Publique France, le but est d'identifier les zones d'expositions potentielles (2).

L'enquête épidémiologique réalisée dans les départements du pourtour méditerranéen, a pour objectif d'identifier les zones les plus à risques d'une potentielle exposition au virus. En cas de circulation du virus, une enquête dans les autres départements voisins sera réalisée. Ces enquêtes seront menées par l'ARS. Une recherche des cas rétrospectifs et des cas prospectifs sera mise en place dans les hôpitaux localisés dans une zone à risque (39). Une surveillance humaine est lancée sur l'ensemble du territoire français pour détecter les cas humains qui auraient séjourné dans une zone de transmission du virus mais qui seraient hospitalisés dans un autre département (en raison du fort tourisme dans les régions du pourtour méditerranéen) (39). Le centre national de référence (CNR) réduira les délais de traitement des prélèvements adressés dans le cadre de la surveillance humaine (39). La surveillance à l'infection par le virus West Nile cible essentiellement les infections neuro-invasives. Si un laboratoire reçoit un prélèvement de LCR (liquide céphalo-rachidien) pouvant être infecté par le virus West Nile, il doit le signaler à l'ARS dont il dépend et envoie le prélèvement au CNR des arbovirus. Si le CNR confirme un cas d'infection, il doit informer le laboratoire qui a envoyé l'échantillon, l'ARS, Santé Publique France et la DGS (Direction Générale de la Santé). À la suite de cette déclaration l'ARS va réaliser une enquête épidémiologique sur une période de trois semaines avant que les symptômes de l'infection n'apparaissent, afin de déterminer l'origine de l'infection (2).

### **3 Le renforcement de la surveillance équine**

- La surveillance équine et investigations autour des cas se déroule en 3 niveaux (2,39,56) :
  - Niveau 1 : Information des vétérinaires de la zone identifiée à risque, afin d'assurer une vigilance spécifique vis-à-vis des cas équins, cette information est donnée par les DDCSPP (2,39,56).
  - Niveaux 2 et 3 : Mise en alerte des vétérinaires de la zone identifiée à risque, élargie aux zones voisines, afin de détecter les nouveaux cas équins le plus rapidement possible, et mesurer l'importance et l'étendue de la circulation virale (2,39,56).



Des enquêtes de séroprévalence chez les équidés pourront être réalisées par les DDCSPP, pour caractériser l'intensité de l'activité virale. Ces enquêtes doivent permettre de confirmer ou d'infirmer le caractère autochtone d'une infection, de préciser l'étendue de l'épidémie et mettre en évidence le caractère récent ou ancien des contaminations. La surveillance équine est basée sur la déclaration obligatoire des cas d'encéphalites équines et de la recherche du virus dans ces cas. Cette surveillance s'inscrit dans le cadre réglementaire de déclaration obligatoire des encéphalites virale des équidés et s'applique à tout le territoire (39). Les DDPP (directions départementales chargées de la protection des populations) veille à cette surveillance sur l'ensemble du territoire, notamment lors des réunions d'information des vétérinaires sanitaires. En cas de confirmation de foyers d'infection par le virus West Nile chez les humains, chevaux ou oiseaux, des enquêtes de séroprévalence pourront être organisées autour de la zone probable de contamination des cas. En cas de suspicions d'encéphalites équines, le vétérinaire doit en faire la déclaration. Il doit réaliser des prélèvements sanguins qui seront envoyés à un laboratoire préalablement agréé par le ministère chargé de l'agriculture, pour un diagnostic par analyse sérologique. Les cas d'encéphalites avec hyperthermie chez les chevaux doivent être déclarés au DDPP. Si ces encéphalites n'ont pas d'autres causes qu'une infection par le virus West Nile, le DDPP va ensuite transmettre ce cas à la DGAI. Si un cas d'infection chez l'un des chevaux est avéré, la DDPP réalise une enquête épidémiologique pour déterminer l'origine de l'infection et pour avertir les potentiels propriétaire d'élevages aux alentours (2). Si ce cas suspecté est positif et que des IgM et IgG sont retrouvées, des examens sérologiques de confirmation seront réalisés par le LNR de l'ANSES (on peut également envoyer des prélèvements d'encéphale).

#### **4 Le renforcement de la surveillance de l'avifaune**

- La surveillance de l'avifaune passe également par 3 niveaux comme le renforcement de la surveillance humain et équins (2,39,56) :

- Niveaux 1, 2 et 3 : Mise en alerte, par l'ONCFS (en collaboration avec les DDCSPP concernées, les directions régionales de l'environnement (DIREN) et les directions départementales de l'équipement et de l'agriculture (DDEA)), du réseau SAGIR, des organisations impliquées dans la gestion ou l'étude de la faune sauvage (fédérations de chasseurs, organisations naturalistes) ou gestionnaires des milieux naturels protégés (2,39).

Ce dispositif de surveillance est activé par l'ONCFS, en collaboration avec les DDCSPP, dans les départements autres que ceux du pourtour méditerranéen, si des cas équins et humains sont détectés (39).

## 5 La surveillance entomologique

Cette surveillance est mise en place en cas de circulation virale (infection aviaire, équine, humaine). Elle permet d'identifier l'activité virale et de délimiter la zone correspondante, pour identifier les espèces de moustiques responsables de la transmission du virus et ainsi cibler les opérations de contrôle. Cette surveillance a pour but d'estimer et de limiter les risques liés aux vecteurs (2,39).

L'évaluation de ce risque vectoriel est basée sur quatre points différents (39):

- La présence et la densité de la faune anthropophile (capture de moustiques adultes, prélèvements larvaires).
- Le potentiel de développement des populations de moustiques en fonction des surfaces, de la proximité de gîtes larvaires potentiels et de l'avancement de la saison.
- La présence d'habitations humaines, de sites d'activités humaines et la densité des populations présentes, conditionnent le choix et la pertinence des méthodes de contrôle (mesure du risque lié à l'utilisation d'adulticides).
- La présence d'hôtes réservoirs ou disséminateurs pouvant être infectieux (oiseaux) (39).

Cette surveillance repose sur l'inventaire des espèces de moustiques présentes dans la zone infectée. On réalise un prélèvement et une identification des différents stades immatures du vecteurs dans les gîtes larvaires potentiels. Ces gîtes sont repérés pendant des visites et/ou sur des photos aériennes. Une cartographie des gîtes larvaires potentiels sera réalisé. La capture d'adultes piqueurs se fait à l'aide de pièges au CO<sub>2</sub>, ces pièges permettent de capturer des moustiques imagos (stade final d'un individu). Les moustiques capturés sont identifiés, groupés par espèces monospécifiques et congelés à (-80°C). Ce qui va permettre par la suite de rechercher le génome du virus West Nile par RT-PCR et/ou l'isolement du virus par mise en culture. S'il n'y a pas de circulation visible du virus West Nile dans une zone sans précédent épizootique, la réduction du risque se fera par la suppression ou le contrôle des gîtes larvaires d'origine anthropique à proximité des habitations (37,56).

Il y aura 3 niveaux (56) :

- Niveau 1 et niveau 2 : faire un diagnostic du risque pour l'Homme, selon le risque :
  - Réduire le risque d'infection en supprimant les gîtes larvaires d'origine humaine à proximité des habitations.

- Appliquer des traitements adulticides si les populations d'adultes sont supérieures aux niveaux habituels sur les sites à activité humaine.
- Communiquer à la population les mesures de réduction des sources domestiques et les précautions élémentaires de protection individuelle.
- Niveau 3 : faire un diagnostic du risque pour l'Homme, selon le risque :
  - Intensifier les opérations de contrôle des moustiques adultes dans les zones à risques d'infections élevés. Considérer l'épandage par voie aérienne en cas d'extension de la zone infectée ou la multiplication des cas d'infection.
  - Promouvoir la réduction des sources de prolifération des moustiques domestiques, la protection individuelle. Il faut informer sur les protections à prendre face aux opérations de traitement adulticide.

### **3. Surveillance des produits sanguins, et produits humains**

#### **1. Sécurité des produits sanguins labiles**

La sécurité des produits sanguins labiles (produits issus d'un don de sang et destinés à être transfusés à un autre patient), repose sur la sélection des donneurs de sang. On recherche chez eux des contre-indications aux dons, des facteurs de risques, des infections virales majeures, tout ce qui pourrait interdire le don de sang. Le virus West Nile persiste dans le sang humain seulement quelques jours, la virémie est brève. Le risque de transmission transfusionnelle est limité, le seul risque est de prélever un donneur pendant la courte période de virémie. Certains donneurs sont asymptomatiques mais ils restent potentiellement virémiques. Ce sont les donneurs qui ont résidé ou qui résident dans une zone infectée, où des cas d'infections humaines ont été enregistrés. Pour les éléments et les produits du corps humain, il faut tenir compte des alertes de la surveillance métropolitaine mais aussi des alertes faisant référence à des cas d'infections humaines dans d'autres pays (Il faut surveiller que les potentiels donneurs n'en reviennent pas). Pour les médicaments dérivés du sang, le risque de transmission du virus est nul, les procédés de préparation inactivent le virus (56,57).

Certaines mesures existent en cas d'alerte en France métropolitaine (56) :

- Niveaux 1 et 2 : Absence d'alerte pour les éléments et produits du corps humain.
- Niveau 3 : Alerte pour les éléments et produits du corps humain, elle sera déclenchée par la survenue d'un cas humain confirmé en métropole.

Par mesure de précaution, aucune collecte de sang n'est programmée en Camargue du 1<sup>er</sup> juillet au 31 octobre. Cette décision a été prise indépendamment d'une alerte, elle est motivée d'un seul point de vue organisationnel, c'est pour éviter de devoir suspendre et/ou annuler les collectes en cas d'alerte dans cette zone (plusieurs épidémies ont déjà sévi dans cette région). En cas d'alerte pour les éléments et produits du corps humain, une cellule d'aide à la décision sera mise en place. En fonction des alertes, des mesures transfusionnelles spécifiques vis-à-vis du virus seront émises (11,56).

*Cette alerte sera gérée en trois temps*

### **1.1 Dans un premier temps**

L'alerte est émise, à titre de précaution. Des mesures conservatoires sont mises en place dès la déclaration du premier cas humain confirmé, pour permettre de déterminer la zone géographique à risque (56).

Deux types de mesures sont à envisager :

- Une suspension de collecte dans la zone infectée, sous réserve de sa faisabilité.

En pratique, cette mesure pourrait concerner les zones où la suspension n'impacte pas l'approvisionnement en produits sanguins labiles, du moins pas de manière significative.

- Un maintien des collectes accompagné de la mise en place de mesures adaptées pour assurer la sécurité et une qualification du virus par dépistage génomique viral.

La qualification du virus par dépistage génomique sert à prévenir tous risques de transmission transfusionnel par les dons de sang.

Dans les deux cas (suspension de collecte ou maintien de collecte de sang), les produits sanguins qui ont été prélevés avant l'alerte et encore stockés feront l'objet d'un contrôle rétrospectif (par un dépistage génomique) pour assurer la sécurité des patients. Les donateurs de sang, ayant séjourné ou résidé dans une zone à fort risque d'infection seront exclus de tous dons pendant une période de 28 jours. Ils pourront cependant être habilités à donner leur sang sous condition de réaliser un test de dépistage du génome virale (DGV) unitaire et qu'il soit négatif (11).

### **1.2 Dans un second temps**

A distance de l'alerte initiale, les mesures prises vis-à-vis de l'infection seront redéfinies, en fonction de la zone géographique concernée. Si la zone géographique concernée est peu étendue, une mesure de suspension de collecte limitée à cette zone peut être énoncée, si cela ne l'a pas été fait précédemment. Cependant si la zone n'est pas correctement définie, si elle est trop étendue ou

trop fortement peuplée, les collectes pourraient être maintenues (reprises avec des contrôles du sang ou initiées par un test de dépistage du génome virale spécifique) (56).

### **1.3 Dans un troisième temps**

L'alerte prend fin, comme les mesures spécifiques au virus West Nile qui assurent la sécurité transfusionnelle des dons de sang. La veille sanitaire a pour but d'identifier et de limiter les formes graves de la maladie (encéphalite, méningite), ces formes témoignent d'une circulation virale importante. Elle vise à déterminer les zones à risques élevés, ce qui permettra de mettre en place des moyens de protection pour la population. La surveillance des chevaux et des oiseaux, permet de mettre en évidence un potentiel foyer de reproduction des moustiques (56).

### **4. Diverses documentations pour informer et signaler une infection à virus West Nile**

Plusieurs documents sont distribués à l'intention des médecins, des laboratoires, ainsi qu'aux patients. Ces documents ont pour but de renseigner et d'aider au mieux à la prise en charge des patients qui pourraient être atteints par le virus West Nile :

- (Figure 19), circuit de signalement des infections neuro-invasives à virus West Nile et Toscana (58).
- (Figure 20), conseils aux laboratoires pour l'envoi des échantillons de sang total et de LCS au CNR des arbovirus à Marseille (60).
- (Figure 21), fiche de renseignements des arboviroses à compléter et à envoyer avec les échantillons (61).
- (Figure 22), dépliant donné aux patients pour les renseigner sur ce qu'est cette pathologie, comment la prévenir et quoi faire en cas de suspicion (62).



Figure 19 « Exemple de veille mis en place en 2016, circuit de signalement (58). »

Cette figure rappelle qu'il faut penser à une infection par le virus West Nile et Toscana et montre le circuit de signalement à réaliser entre le 1<sup>er</sup> juin et le 31 octobre dans les départements du pourtour méditerranéen. En cas de LCS (liquide céphalo-spinal) clair, il est notifié d'adresser un prélèvement de LCS clair et de sang total sur EDTA (acide éthylène diamine tétra-acétique) au CNR des Arbovirus. Le CNR informe l'ARS et la Santé Publique France en cas de cas positif.

**Conseils aux laboratoires pour l'envoi des échantillons  
de sang total et de LCS au CNR DES ARBOVIRUS A MARSEILLE**

- 1) Envoyer les échantillons accompagnés de la fiche de renseignement du CNR remplie aussi complètement que possible. Mentionner les numéros de téléphone ou de fax auxquels le CNR pourra envoyer les résultats.
- 2) Echantillons → dans des tubes bien fermés et portant un code identifiant pour le laboratoire identique à celui de la fiche de signalement :
  - LCS : 500 µl au minimum dans un tube de 2 ml maximum
  - Sang total : 1 tube EDTA de 5 ml stérile
- 3) Ne pas congeler les échantillons mais les conserver strictement à +4°C.
- 4) Expédier les échantillons à l'aide d'emballages conformes à la réglementation pour le transport d'échantillon à visée diagnostique selon vos modalités habituelles avec l'étiquetage spécifique (ci-dessous) à utiliser pour cette surveillance West Nile-Toscana ou contacter le CNR des arbovirus à Marseille qui vous précisera la démarche à suivre.

**Adresse physique du CNR des arbovirus pour livraison par transporteur :**

ERRIT  
CNR des Arbovirus  
Institut de Recherche Biomédicale des Armées

HIA LAVERAN  
34, boulevard LAVERAN  
13013 MARSEILLE

Tél. : 04.91.61.79.10 / Fax : 04.91.61.75.53 / Email : [CNRarbovirus@irba.fr](mailto:CNRarbovirus@irba.fr)

**ETIQUETTE de TRANSMISSION**

**A joindre au prélèvement remis au transporteur habituel**

**ERRIT  
CNR des Arbovirus  
Institut de Recherche Biomédicale des Armées**

**HIA LAVERAN  
34, boulevard LAVERAN  
13013 MARSEILLE**

Figure 20 « Conseils aux laboratoires pour l'envoi des échantillons de sang aux LCS à Marseille (60). »

Cette figure montre les démarches à suivre en cas de cas positifs au virus West Nile après analyse dans un laboratoire. Le laboratoire doit envoyer le prélèvement au CNR des Arbovirus à Marseille, avec la fiche de renseignement rempli (Figure 22). Il faut au minimum 500 µL de LCS dans un tube de 2 mL maximum, et pour le sang 1 tube EDTA de 5 mL et stérile. Il ne faut pas congeler les échantillons.

## FICHE DE RENSEIGNEMENTS ARBOVIROSES

V : 01/02/2019

<b>Laboratoire déclarant :</b>  <b>Service clinique de provenance ou Médecin prescripteur :</b>	<p style="text-align: center;"><b>IDENTIFICATION PATIENT</b></p> <b>Nom de naissance :</b> ..... <b>Nom marital :</b> ..... <b>Prénom(s) :</b> ..... <b>Date de naissance :</b> ..... M F <b>Lieu de résidence :</b> .....												
<b>INFORMATION PREALABLE DU PATIENT</b>													
<input type="checkbox"/> Cocher la case si le patient (ou pour les mineurs : le(s) titulaire(s) de l'autorité parentale / pour les majeurs sous tutelle : le tuteur) <b>s'oppose</b> à l'utilisation secondaire des prélèvements et des données collectées à des fins de recherche sur les arbovirus. <i>En vertu du Code de la Santé Publique et de la Loi Informatique et Liberté, le patient doit être informé de l'utilisation possible des échantillons biologiques collectés et des données associées (dans le respect de la confidentialité) par le CNR des Arbovirus et ses partenaires à des fins de recherches, en vue d'améliorer le diagnostic et les connaissances générales sur les arbovirus. Toute recherche en matière de génétique humaine est exclue de cette démarche.</i>													
<b>DATE DE DEBUT DES SIGNES :</b> ..... <b>DATE de prélèvement:</b> .....													
<b>SIGNES CLINIQUES OU BIOLOGIQUES :</b> <table style="width: 100%; margin-top: 10px;"> <tr> <td style="width: 33%;">Fièvre <input type="checkbox"/></td> <td style="width: 33%;">Céphalées <input type="checkbox"/></td> <td style="width: 33%;">Eruption cutanée <input type="checkbox"/></td> </tr> <tr> <td>Arthralgies <input type="checkbox"/></td> <td>Myalgies <input type="checkbox"/></td> <td>Douleurs retro-orbitaires <input type="checkbox"/></td> </tr> <tr> <td>Méningés <input type="checkbox"/></td> <td>Neurologiques <input type="checkbox"/></td> <td>Hémorragiques <input type="checkbox"/></td> </tr> <tr> <td>Rénaux <input type="checkbox"/></td> <td>Hépatiques <input type="checkbox"/></td> <td></td> </tr> </table> Autres symptômes ? : ..... <b>GROSSESSE :</b> oui non si oui, semaines d'aménorrhée : ..... sem.		Fièvre <input type="checkbox"/>	Céphalées <input type="checkbox"/>	Eruption cutanée <input type="checkbox"/>	Arthralgies <input type="checkbox"/>	Myalgies <input type="checkbox"/>	Douleurs retro-orbitaires <input type="checkbox"/>	Méningés <input type="checkbox"/>	Neurologiques <input type="checkbox"/>	Hémorragiques <input type="checkbox"/>	Rénaux <input type="checkbox"/>	Hépatiques <input type="checkbox"/>	
Fièvre <input type="checkbox"/>	Céphalées <input type="checkbox"/>	Eruption cutanée <input type="checkbox"/>											
Arthralgies <input type="checkbox"/>	Myalgies <input type="checkbox"/>	Douleurs retro-orbitaires <input type="checkbox"/>											
Méningés <input type="checkbox"/>	Neurologiques <input type="checkbox"/>	Hémorragiques <input type="checkbox"/>											
Rénaux <input type="checkbox"/>	Hépatiques <input type="checkbox"/>												
<b>SEJOURS AU COURS DU MOIS PRECEDENT L'APPARITION DES SYMPTOMES :</b> oui non													
- En France → préciser Département : ..... du ..... au ..... - Hors Métropole → préciser Pays : ..... du ..... au .....													
<b>VACCINATIONS :</b> <table style="width: 100%; margin-top: 5px;"> <tr> <td><input type="checkbox"/> Fièvre Jaune (YF) Date : .....</td> <td><input type="checkbox"/> Encéphalite Japonaise (EJ) Date : .....</td> </tr> <tr> <td><input type="checkbox"/> Encéphalite à tiques (TBE) Date : .....</td> <td></td> </tr> </table>		<input type="checkbox"/> Fièvre Jaune (YF) Date : .....	<input type="checkbox"/> Encéphalite Japonaise (EJ) Date : .....	<input type="checkbox"/> Encéphalite à tiques (TBE) Date : .....									
<input type="checkbox"/> Fièvre Jaune (YF) Date : .....	<input type="checkbox"/> Encéphalite Japonaise (EJ) Date : .....												
<input type="checkbox"/> Encéphalite à tiques (TBE) Date : .....													
<b>RECHERCHE DE PALUDISME :</b> Positive Négative Non réalisée													
<b>ARBOVIROSES SUSPECTÉES et COMMENTAIRES :</b> ..... .....													

*Le CNR des Arbovirus se réserve le droit de réaliser toutes les analyses pertinentes au vu des informations renseignées et du contexte épidémiologique.*

**Prélèvements :**

- Plasma sur tube EDTA ou sérum sur tube sec avec gel : expédié à +4°C ou à T. ambiante par défaut.
- Buvard : minimum 2 spots de 50 µl expédié à T. ambiante.
- Urine et sperme : 1 ml expédié à +4°C.
- LCR (500 µl) : expédié congelé ou à +4° C par défaut.

**CNR DES ARBOVIRUS – IRBA Unité Virologie**

**Courriels :**  
[isabelle.leparcqoffart@gmail.com](mailto:isabelle.leparcqoffart@gmail.com)  
[mqalla.irba@gmail.com](mailto:mqalla.irba@gmail.com)  
[gildagrand.irba@gmail.com](mailto:gildagrand.irba@gmail.com)  
[drouilleaumedurand@gmail.com](mailto:drouilleaumedurand@gmail.com)

**Adresse de livraison :**  
 CNR sur les Arbovirus - Laboratoire 114  
 IHU Méditerranée Infection  
 19-21 boulevard Jean Moulin  
 13005 MARSEILLE

**Attention :** Les résultats sont rendus **uniquement par fax** au laboratoire nous transmettant les analyses.

Figure 21 « Fiche de renseignements (61). »





LE POINT SUR

RISQUES INFECTIEUX

→ Lutte anti-vectorielle

# La Fièvre du Nil occidental

→ Le virus West Nile

## Un virus connu depuis longtemps et qui s'étend sur la planète

Le virus du Nil occidental a été isolé pour la première fois en 1937, dans le district West Nile, en Ouganda et en France, en Camargue en 1964. Il a été détecté à plusieurs reprises jusqu'en 2006 sur le pourtour méditerranéen provoquant quelques cas chez l'homme et chez des chevaux. Des épidémies sont régulièrement signalées en Europe, Afrique du Nord au Moyen Orient, et en Amérique du nord.



## Un virus essentiellement transmis par les moustiques

Les oiseaux constituent le réservoir principal du virus. La transmission du virus se fait par l'intermédiaire de piqûres de moustiques principalement du genre *Culex* (moustique «commun»), dont **l'activité est essentiellement nocturne.**

Les moustiques s'infectent uniquement auprès d'oiseaux contaminés et peuvent transmettre le virus à d'autres oiseaux, à l'homme ou au cheval. Les hommes et les chevaux infectés, hôtes accidentels, ne peuvent pas transmettre le virus aux humains qui les côtoient, ni aux moustiques.

De rares cas d'infection par transfusion sanguine et dons d'organe ont été décrits aux Etats-Unis.

ars  
Agence Régionale de Santé  
Occitanie



Figure 22 « Dépliant donné aux patients (62). »

## → La maladie : Fièvre du Nil occidental

Une infection habituellement inapparente ou sans gravité mais de très rares atteintes neurologiques.

- L'infection passe inaperçue dans 80% des cas chez l'homme.
- Dans 20% des cas elle ressemble à la grippe (fièvre, maux de tête, courbatures).
- Dans des cas très rares, la maladie est grave et peut se manifester par des manifestations neurologiques (méningite, méningo-encéphalite) : fièvre élevée, convulsions, paralysies...
- La durée d'incubation de la maladie est de 3 à 15 jours après la piqûre de moustique.

**En cas de doute, n'hésitez pas à consulter un médecin.**

### Les mesures de prévention collective

#### Un dispositif de surveillance sur le pourtour méditerranéen

- Les hôpitaux signalent et prennent en charge les cas humains ;
- Les populations de moustiques sont surveillées ;
- Les signes d'infection sont recherchés chez certaines espèces d'oiseaux ;
- Les vétérinaires déclarent les cas d'encéphalite chez les chevaux.



#### Une démoustication ciblée

- En cas de présence de virus sur le territoire, une démoustication ciblée et adaptée sera réalisée.



Figure 22 bis « Dépliant donné aux patients (62). »

## → Précautions à prendre

La protection individuelle repose sur la prévention des piqûres de moustiques, principalement le soir et la nuit.

Les mesures de protection reconnues comme efficaces :

### Le soir à l'extérieur

- Le port de vêtements amples et clairs couvrant bras et jambes ;
- L'application d'un produit répulsif sur les zones de peau découverte, en respectant les contre-indications\* ;
- L'imprégnation des vêtements avec un produit insecticide spécial pour tissu dans les zones particulièrement riches en moustiques.

### La nuit dans les habitations

- L'utilisation de diffuseurs insecticides ;
- L'utilisation de moustiquaires (de lits, aux fenêtres...) dans les zones particulièrement riches en moustiques.

**De manière générale, pour lutter contre les moustiques, il est important d'éliminer les sources d'eau stagnantes.**

*(\*) Précautions à prendre pour l'utilisation de répulsifs cutanés :*

- évitez d'en appliquer sur les mains des jeunes enfants (irritant pour les yeux et la bouche) ;
- chez les femmes enceintes, se limiter à l'imprégnation des vêtements.

DEMANDEZ CONSEIL A VOTRE PHARMACIEN

Figure 22 ter « Dépliant donné aux patients (62). »



## POUR EN SAVOIR PLUS

Circulaire interministérielle N°DGS/RI1/DGAL/DGAL/2012/360 du 1<sup>er</sup> octobre 2012 relative aux mesures visant à limiter la circulation du virus West Nile en France métropolitaine.

Vous pouvez contacter les Agences régionales de santé :

### **ARS Corse**

Quartier Saint Joseph  
CS 13 003  
20700 Ajaccio Cedex 9  
Tél. : 04 95 51 98 98

### **ARS PACA**

132 Bd de Paris  
CS 50039  
13331 Marseille Cedex 03  
Tél. : 04 13 55 80 10

### **ARS Languedoc Roussillon**

Parc Club du Millénaire  
1025 rue Henri Becquerel  
CS 30001  
34067 MONTPELLIER Cedex 2  
Tél. : 04 67 07 20 07

Vous pouvez aussi contacter les services vétérinaires de votre région.

### Sites Internet

[www.sante.gouv.fr](http://www.sante.gouv.fr)

[www.invs.sante.fr](http://www.invs.sante.fr)

[www.agriculture.gouv.fr](http://www.agriculture.gouv.fr)

[www.anses.fr](http://www.anses.fr)

[www.eid-med.org](http://www.eid-med.org)

<http://west-nile.cirad.fr>

Figure 22 quater « Dépliant donné aux patients (62). »

Ces 4 figures représentent un dépliant à visée informative qui est adressé aux patients et qui explique ce qu'est la maladie (comment elle est transmise aux personnes, les symptômes attendus, comment prévenir les piqûres de moustiques vecteurs, les précautions à prendre, ainsi que de nombreuses adresses permettant d'en savoir plus sur ce virus).

## 5. Surveillance épidémiologique de 2011 à 2017

Durant la période 2011-2017, l'Institut Pasteur a coordonné le programme PREDEMICS, il rassemblait 17 instituts à travers l'Europe, spécialisés en recherche et en santé publique. Le programme PREDEMICS visait à fournir la préparation, la prévision et la prévention des virus zoonotiques émergents à potentiel pandémique en utilisant des approches multidisciplinaires. Il étudiait le virus du chikungunya, le virus Ebola, le virus de la grippe, le virus de l'hépatite E, le virus de l'encéphalite japonaise, le virus Zika, le Lyssavirus et le virus West Nile. Le principal but de ce programme était la compréhension des mécanismes complexes des relations entre le virus et son hôte (63). L'Institut Pasteur a également été engagé dans le programme EUROWESTNILE durant la période 2011-2014, avec pour objectif, d'étudier la virulence des différentes souches du virus West Nile en Europe (6).

Ils ont travaillé sur huit modules de travail (EUROWESTNILE) (64) :

- Obtenir une biobanque sur les différentes souches du virus West Nile. Qu'elle soit disponible dans chaque pays participant et qu'elle répertorie les différents génomes.
- Développer de nouveaux modèles animaux pour la recherche sur la pathogénicité et sur la neuro-invasivité des différentes souches du virus West Nile détectées en Europe.
- Développer des clones infectieux avec les souches du virus West Nile et leurs recombinaisons pour pouvoir les utiliser dans des études de génétique inverse et élaborer une stratégie de vaccination.
- Caractériser les vecteurs impliqués dans la transmission du virus West Nile, aux oiseaux, humains, chevaux, dans les diverses zones où le virus est présent.
- Caractériser la compétence vectorielle.
- Caractériser les interactions écologiques virales entre le virus West Nile et les autres virus fréquemment détectés chez les moustiques vecteurs.
- Développer des kits prototypes pour diagnostiquer et surveiller le virus West Nile, ils doivent être capables de détecter n'importe quelles lignées du virus et être spécifiques sans provoquer de réactions croisées avec d'autres *Flavivirus*.
- Développer des modèles mathématiques intégrant des données sur le virus et ses interactions avec d'autres virus.

## 6. Dispositif national de surveillance pérenne

Ce dispositif consiste à surveiller et à déclarer les cas cliniques équins dans le cadre de la déclaration obligatoire des encéphalites équine. Le Centre National de Référence (CNR) doit signaler les cas humains qu'il identifie dans le cadre de son activité à Santé Publique France. La gestion du risque lié au virus, implique les secteurs de la santé humaine, de la santé animale et de l'environnement à différents niveaux (départemental, régional, national). Elle implique aussi les agences sanitaires, les laboratoires de référence et les centres d'expertises (39).

### 1. Dispositif de surveillance saisonnière

- Dans les zones où les moustiques vecteurs sont présents et actifs, ce dispositif permet de surveiller les cas humains suspects (39).

- Zones géographiques concernées : les départements du pourtour méditerranéen où ont eu lieu de précédentes épidémies et où sont réunies des conditions géographiques et climatiques propices à la circulation du virus.
- Période d'activation du dispositif : du 1er juin au 31 octobre de chaque année, période d'activité des moustiques vecteurs, pour la surveillance humaine et entomologique.
- En cas de diagnostic positif un signalement doit être effectué à l'ARS par le laboratoire d'analyse.

## 7. L'évolution de l'épidémie

### 1. L'évolution temporelle

En 2018, la lignée 2 du virus West Nile est apparue pour la première fois en France. Une endémisation de cette lignée est principalement apparue dans les Alpes-Maritimes à la suite de son importation (par des oiseaux migrateurs) d'Italie où cette lignée avait déjà été signalée. De nombreux cas ont été recensés dans la France en 2018 (32) :

- 27 cas dans le pourtour méditerranéen (22 dans les Alpes maritimes, 1 cas dans les Bouches-du-Rhône et dans le Vaucluse et 2 cas en Haute-Corse).
- 1 cas à la suite d'un don du sang.
- 2 cas à la suite d'une greffe.
- 13 cas équins ont aussi été recensé par Maisons-Alfort, dont 7 cas dans le Gard, 5 cas en Haute-Corse et 1 cas dans les Bouches-du-Rhône.

- 4 cas chez les oiseaux ont été recensés, 1 cas en Corse du sud et 3 cas dans les Alpes maritimes (32).

Le laboratoire de santé animale de Maisons-Alfort a été désigné par l'Union Européenne comme laboratoire de référence communautaire en santé animale et publique (2).

Les manifestations d'infections ont commencé le 7 juillet dans les Alpes Maritimes, et le 25 septembre en Corse. Elles se répartissent en 16 formes fébriles, 6 formes neuro-invasives et 2 formes asymptomatiques, touchant des patients âgés de 17 à 79 ans (53).

Le 13 décembre 2018, 1503 cas humains ont été notifiés dans les Etats membres de l'Union Européenne (63) :

- 576 cas en Italie.
- 311 cas en Grèce.
- 277 cas en Roumanie.
- 215 cas en Hongrie.
- 53 cas en Croatie.
- 27 cas en France.
- 20 cas en Autriche.
- 15 cas en Bulgarie.
- 5 cas en République tchèque.
- 3 cas en Slovaquie.
- 1 cas à Chypre.

Certains pays en dehors de l'Union Européenne ont également signalé des cas d'infections par le virus West Nile :

- 415 cas en Serbie.
- 128 cas en Israël.
- 23 cas en Turquie.
- 14 cas au Kosovo.

181 cas des décès à la suite d'une infection par le virus West Nile ont été signalés :

- 47 décès en Grèce.
- 46 décès en Italie.
- 43 décès en Roumanie.
- 35 décès en Serbie.
- 3 décès au Kosovo et en Turquie.
- 2 décès en Bulgarie.

- 1 décès en République tchèque et en Hongrie.

Au cours de la saison 2018, 285 foyers chez les équidés ont été signalés :

- 149 cas en Italie.
- 91 cas en Hongrie.
- 15 cas en Grèce.
- 13 cas en France.
- 9 cas en Espagne.
- 2 cas en Autriche, en Roumanie et en Allemagne.
- 1 cas en Slovénie et au Portugal.

La directive 2014/110/UE de la Commission Européenne, informe que pour chaque personne qui revenant d'une zone à risque d'infection par le virus West Nile et souhaitant donner son sang doit au préalable attendre 28 jours ou présenter un test d'amplification des acides nucléiques négatif, afin de montrer que l'on n'a pas contracté la maladie (66). En 2018, de nombreux cas humains et équins ont été recensés dans les régions du pourtour méditerranéen (Figure 25).

En 2018, aux Etats-Unis, 2544 cas d'infection par le virus West Nile ont été enregistrés cependant le nombre de décès restent stables [137]. Durant cette année, de nombreux cas neuro-invasifs ont été recensés sur l'ensemble du territoire (Figure 24 et 25) (Tableau XVI). Au Canada, 392 cas d'infection par le virus West Nile ont été enregistrés, parmi ces 392 cas on dénombre 200 atteintes neurologiques et 26 décès (32).



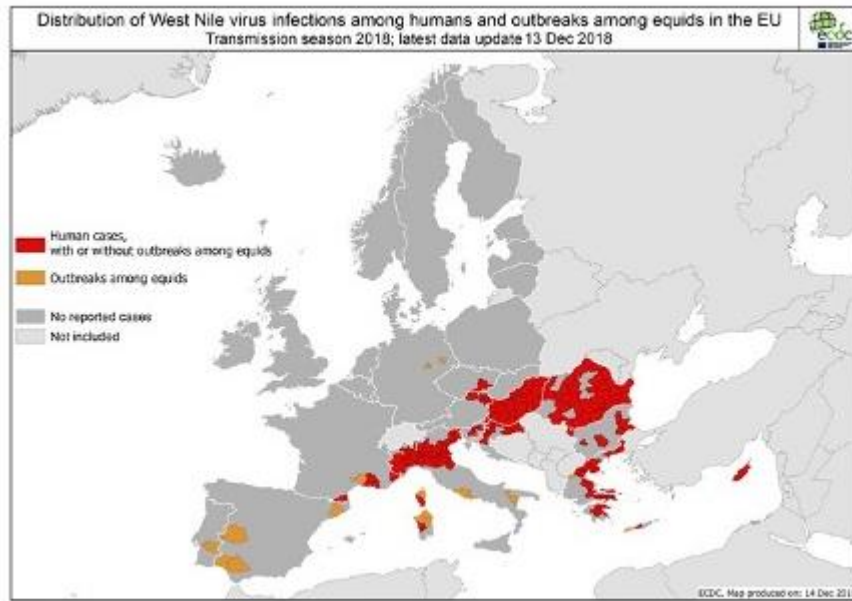


Figure 22 « Distributions des cas d'infections à virus West Nile chez les humains et les chevaux, rapportés dans l'union Européennes en 2018 (58). »

Cette figure montre la distribution des cas d'infection à virus West Nile humains et équins à travers l'Europe au 13 décembre 2018. Exprimé en couleur rouge les endroits où des cas humains ont été recensés avec ou sans cas équins, en orange les cas équins, en gris foncé les cas non rapportés, et en gris clair les régions non incluses dans l'étude.

## Incidence des maladies neuroinvasives du virus du Nil occidental par État - États-Unis, 2019 (au 7 janvier 2020)

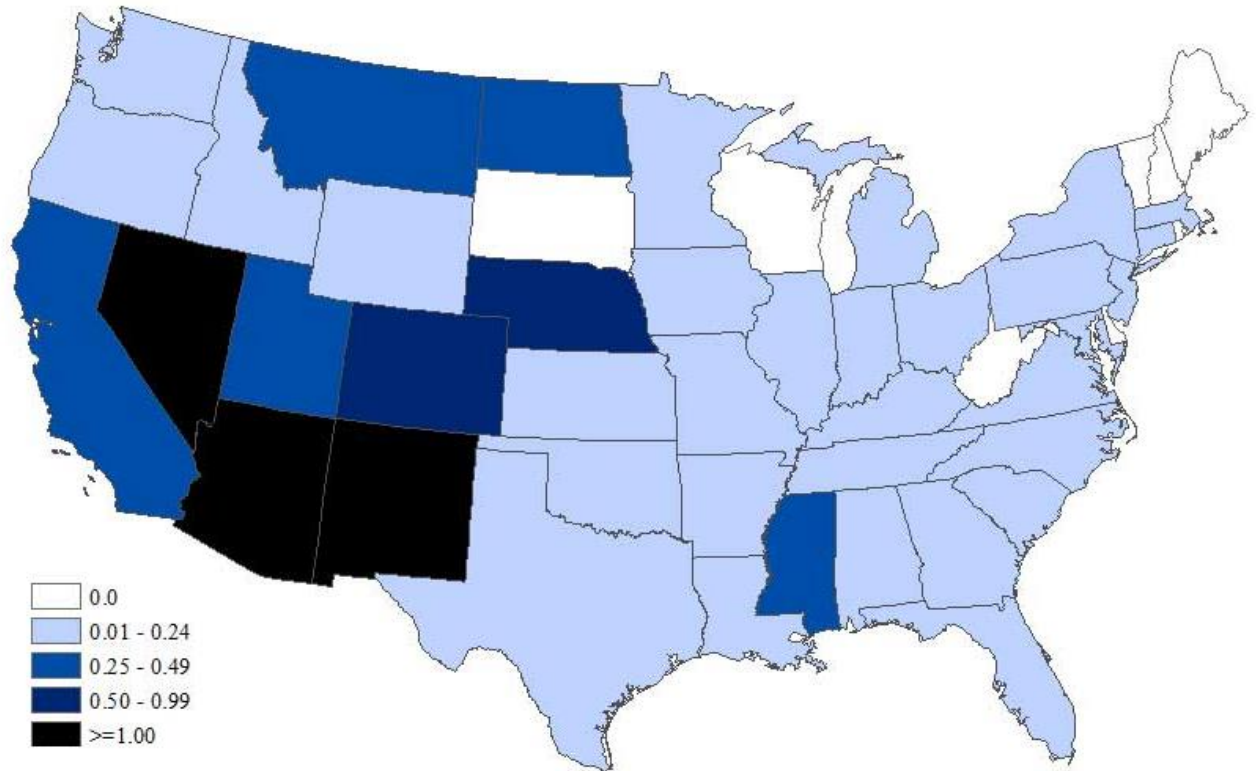


Figure 23 « Incidence des maladies neuro invasives dû au virus West Nile en 2019 en fonction des différents états des Etats-Unis (67). »

Cette figure montre l'incidence des cas neuro-invasives humaines dans les différents états des États-Unis causé par le virus West Nile en 2018, avec des nuances de 0.01 à 0.24, 0.25 à 0.49, 0.5 à 0.99 et plus de 1 pour 100 de population.

## Activité du virus du Nil occidental par État – États-Unis, 2019 (au 7 janvier 2020)

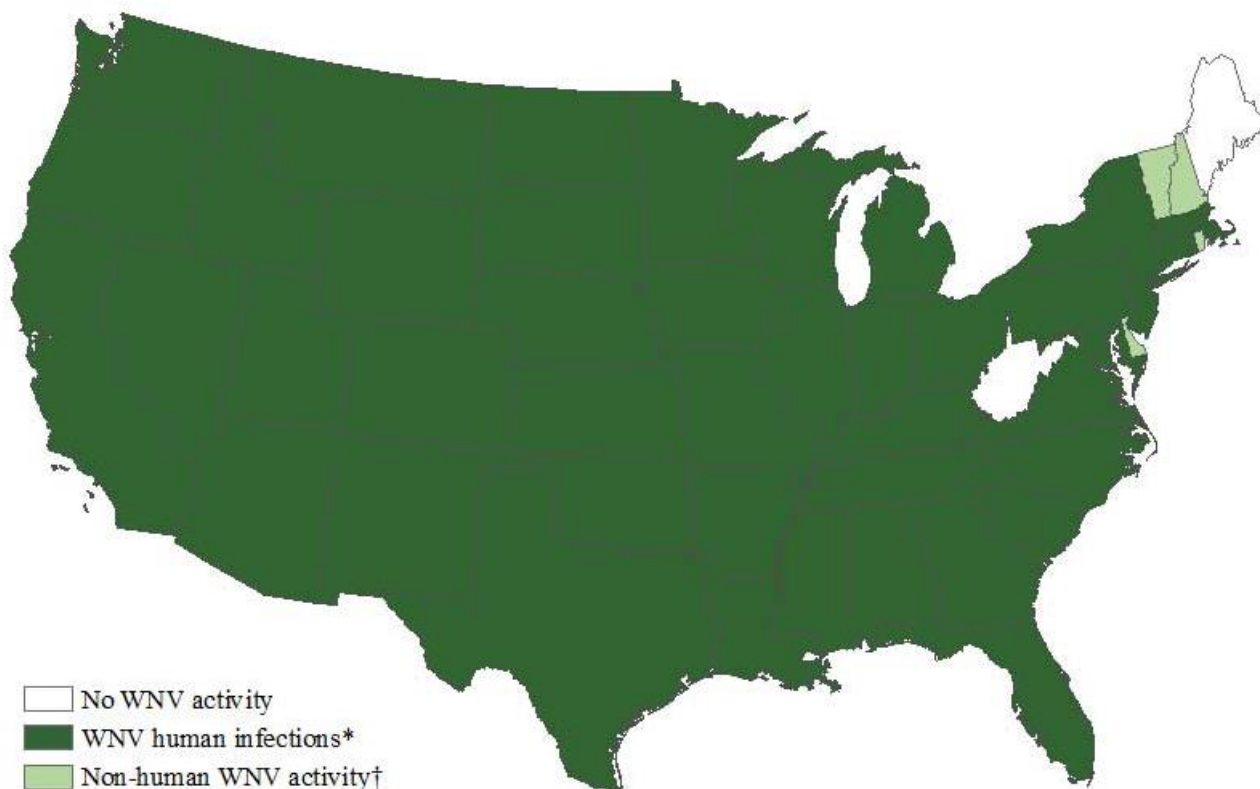


Figure 24 « Recensement des cas d'infections aux Etats-Unis en fonction des états en 2019 (68). »

Cette figure présente l'activité du virus West Nile sur le territoire américain en 2018, en vert les territoires sur lesquels des cas d'infections humaines ont été enregistrées par piqûre de moustique ou par don de sang.

L'ECDC (European Centre for Disease prevention and Control) a recensé les cas d'infection par le virus West Nile pour la saison 2019 en Europe et dans les pays voisins de l'Europe, durant cette période 414 cas humains ont été reportés, dont 42 décès (69–74) :

- 218 cas en Grèce dont 29 décès.
- 62 cas en Roumanie dont 6 décès.
- 33 cas en Hongrie.
- 28 cas en Italie dont 4 décès.
- 23 cas en Serbie dont 1 décès.
- 16 cas à Chypre dont 1 décès.
- 10 cas en Israël.
- 7 cas en Turquie.
- 5 cas en Macédoine du Nord dont 1 décès.
- 4 cas en Bulgarie
- 4 cas en Autriche

- 2 cas en France
- 1 cas en Slovaquie et Hongrie

Durant cette même période et hors de l'Europe on déclare cinq nouveaux cas d'infection en Macédoine, aucun cas n'avait été déclaré auparavant.

Durant cette période 61 foyers d'infection chez les équidés ont été recensés :

- 20 cas en Grèce.
- 15 cas en Allemagne.
- 8 cas en Italie.
- 7 cas en Hongrie.
- 6 cas en France.
- 3 cas en Autriche.
- 2 cas en Espagne.
- 4 cas à New York (75).
- 9 cas à Los Angeles, dont 1 mort (76).

## 2 La distribution spatiale

Tableau XVI « Cas à virus West Nile et mort associée en fonction du caractère neuro-invasif de la maladie et des donneurs de sang virémiques présumés en 2019 (77). »

### Cas de maladie du virus du Nil occidental \* et donneurs présumés de sang virémique par État - États-Unis, 2019 (au 7 janvier 2020)

Etat	Cas de maladies neuroinvasives †	Cas de maladies non neuroinvasives	Nombre total de cas	Des morts	Donneurs de sang virémiques présumés ‡
Alabama	3	2	5	0	0
Alaska	0	1	1	0	1
Arizona	137	37	174	18	23
Arkansas	sept	2	9	1	1
Californie	143	73	214	6	16
Colorado	51	70	121	sept	11
Connecticut	1	0	1	0	0

Tableau XVI bis « Cas à virus West Nile et mort associée en fonction du caractère neuro-invasif de la maladie et des donneurs de sang virémiques présumés en 2019 (77). »

Etat	Cas de maladie neuroinvasive †	Cas de maladies non neuroinvasives	Nombre total de cas	Des morts	Donneurs de sang virémiques présumés ‡
District de Colombie	sept	0	sept	0	0
Floride	2	0	2	0	1
Géorgie	9	5	14	1	2
Idaho	4	sept	11	0	6
Illinois	18	6	24	0	0
Indiana	4	0	4	1	0
Iowa	1	4	5	0	1
Kansas	3	3	6	0	2
Kentucky	1	0	1	0	0
Louisiane	11	9	20	2	3
Maryland	2	1	3	0	0
Massachusetts	2	3	5	0	3

Tableau XVI Ter « Cas à virus West Nile et mort associée en fonction du caractère neuro-invasif de la maladie et des donneurs de sang virémiques présumés en 2019 (77). »

Etat	Cas de maladie neuroinvasive †	Cas de maladies non neuroinvasives	Nombre total de cas	Des morts	Donneurs de sang virémiques présumés ‡
Michigan	11	1	12	1	5
Minnesota	1	2	3	0	1
Mississippi	12	3	15	0	1
Missouri	3	0	3	0	0
Montana	3	0	3	0	1
Nebraska	17	11	28	1	4
Nevada	33	11	44	1	5
New Jersey	6	2	8	0	0
Nouveau Mexique	30	dix	40	4	3
New York	14	2	16	1	1
Caroline du Nord	1	0	1	0	0

Tableau XVI Quater « Cas à virus West Nile et mort associée en fonction du caractère neuro-invasif de la maladie et des donneurs de sang virémiques présumés en 2019 (77). »

Etat	Cas de maladie neuroinvasive †	Cas de maladies non neuroinvasives	Nombre total de cas	Des morts	Donneurs de sang virémiques présumés ‡
Dakota du nord	2	sept	9	0	0
Ohio	3	0	3	1	0
Oklahoma	5	2	sept	0	0
Oregon	6	3	9	0	0
Pennsylvanie	5	1	sept	0	0
Caroline du Sud	1	0	1	0	0
Dakota du Sud	0	11	11	0	0
Tennessee	3	0	3	0	0
Texas	23	sept	30	3	4
Utah	14	sept	21	2	0
Virginie	4	2	6	1	0
Washington	3	2	5	0	3
Wisconsin	0	2	2	0	2
Wyoming	1	2	3	0	0
<b>Totaux</b>	<b>607</b>	<b>310</b>	<b>917</b>	<b>51</b>	<b>100</b>

Ces 4 tableaux montrent les cas d'infections par le virus West Nile et les morts associées en fonction du caractère neuro-invasif de la maladie et des donneurs de sang virémiques présumés en 2018 dans les états des États-Unis. Le caractère neuro-invasif est pris en compte. On répertorie les cas neuro-invasifs ou non, et le nombres de donneurs de sang virémiques présumés (ce sont des personnes qui sont asymptomatiques au moment du don de sang et qui présentent un sang positif au virus).





## F. Rôle du Pharmacien

### 1. Rôle du pharmacien au niveau local

Le pharmacien a un rôle au niveau local, il doit :

- Conseiller les voyageurs vis-à-vis de la protection à utiliser et dans quelles circonstances et comment les utiliser.
- Il doit informer la population sur comment lutter efficacement contre les gîtes larvaires.
- Lorsqu'au comptoir une personne nous fait part de sa volonté de partir dans une zone à risque de maladies vectorielles, le Pharmacien a pour rôle d'indiquer au patient qu'il est important de consulter un médecin travaillant dans un centre de vaccination international ou généraliste, afin de voir avec lui les risques encourus, et les solutions.

L'idéal est de consulter le médecin 1 à 2 mois avant le départ programmé, afin de pouvoir suivre un protocole de soin qui peut être long (1).

Ce rôle va être d'autant plus important si un patient est allergique à la piqûre d'un moustique.

Pour éviter la prolifération des moustiques, le pharmacien doit rappeler qu'il faut éliminer les lieux de pontes qui sont constitués par les eaux stagnantes. Il faut par conséquent couvrir les citernes, vider les soucoupes des pots de fleurs, éliminer les flaques d'eau stagnante, supprimer les pneus et tous lieux pouvant faire stagner de l'eau. Les moustiques sont attirés par l'odeur des substances qui composent notre sueur (l'acide lactique, l'acide urique et l'ammoniaque), par la chaleur que notre corps émet et par le CO<sub>2</sub> rejeté par notre organisme (12). Lorsque l'on a une activité extérieure, il faut faire attention à notre tenue, et ne pas exposer notre peau à proximité d'un point d'eau, là où les moustiques prolifèrent. Il est plus judicieux de porter des chaussures fermées et des vêtements longs et clairs pour repérer les moustiques. Cependant les habits n'excluent pas le risque d'être piqué mais cela reste rare. Il faut aussi conseiller aux patients d'utiliser des insecticides, des répulsifs cutanés ou des répulsifs pour les vêtements, des moustiquaires imprégnées que l'on place au-dessus des lits ou devant les fenêtres et tout autre moyen qui vont les protéger contre les moustiques (42).

Le pharmacien va former les patients à la bonne utilisation des répulsifs afin qu'ils les utilisent de la manière la plus optimale possible. Dans un premier temps, le pharmacien doit savoir dans quelle zone les patients se rendent, s'il s'agit d'une zone faiblement infectée ou s'il s'agit d'une zone fortement infectée. Il faut appliquer le répulsif sur une peau propre et saine. Il faut l'appliquer suivant l'activité du patient, il faut savoir s'il va se baigner, faire du sport ou mettre de la crème solaire (41,42). Il ne faut pas utiliser de répulsif sur une peau blessée, irritée, ou sur le visage de manière directe à cause du risque de projection dans les yeux, il est préférable de l'appliquer avec

l'intermédiaire des mains et d'éviter les muqueuses et les yeux. Bien rappeler au patient de se laver les mains après avoir manipulé un répulsif et de se laver avant d'aller dormir afin d'éliminer le répulsif qu'il pourrait rester. Le pharmacien peut également s'appuyer et distribuer des brochures à l'intention des patients pour leur rappeler les conseils à appliquer.

En cas de piqûre, il faut évaluer sa gravité et sa localisation, elle peut être due à un moustique ou à un autre insecte. Le pharmacien doit se laver les mains au savon puis à la solution hydroalcoolique et porter des gants (78). Certaines piqûres nécessiteront une réorientation vers un spécialiste. Si la piqûre examinée est sans gravité, un simple nettoyage du siège de la piqûre suffira, on utilisera de l'eau et du savon, et on appliquera une solution antiseptique pour désinfecter. Après le nettoyage et la désinfection de la piqûre, on proposera à la personne une crème composée de corticoïdes si elle n'est pas allergique (ou composée d'antihistaminique), si des démangeaisons se font sentir (12). Si la piqûre est à la main, on conseillera à la personne de retirer ses bagues qui risqueraient de bloquer et de compresser sa circulation sanguine en cas d'œdème. On pourra évoquer le statut vaccinal de la personne, pour vérifier qu'elle soit bien à jour dans ses vaccins, essentiellement pour le vaccin antitétanique, et la réorienter en cas de besoin (78).

## **2. Conseil pour prise en charge des symptômes**

Pour traiter la douleur à la suite d'une piqûre, on peut conseiller le paracétamol et du repos associé à de la vitamine C en cas de symptômes grippaux. Chez un patient allergique, le pharmacien doit s'assurer que le patient a à disposition une trousse d'urgence en cas de piqûre, et qu'il sache l'utiliser. La trousse doit contenir de l'adrénaline auto-injectable, un antihistaminique, un corticoïde et un antalgique. L'homéopathie et/ou la phytothérapie peut être utilisées comme alternative (78) :

### **1. En homéopathie (78,79)**

- Apis mellifica 15 CH pour la réaction inflammatoire avec œdème, douleurs et sensibilité au toucher. La posologie sera de 5 granules toutes les heures, à espacer suivant l'amélioration des symptômes.
- Echinacea angustifolia 5 CH pour éviter la surinfection. La posologie sera de 5 granules à prendre deux fois par jour.
- Ledum palustre 5 CH pour les piqûres avec gonflements et démangeaisons. La posologie sera de 3 granules toutes les 15 minutes, à espacer suivant l'amélioration des symptômes.
- On peut utiliser une teinture mère de Ledum palustre. La posologie sera de 3 gouttes à prendre trois fois par jour.
- On peut aussi utiliser un mélange de teinture mère de Ledum palustre, de Calendula et d'Apis mellifica en volume égale.
- Arnica montana 5 CH pour les ecchymoses. La posologie sera de 3 granules toutes les 15 minutes, à espacer suivant l'amélioration des symptômes.

- Urtica urens 5 CH pour les démangeaisons et sensations de brûlures avec plaques et/ou gonflement rouge ou rosé. La posologie sera de 3 granules toutes les 15 minutes, à espacer suivant l'amélioration des symptômes.
- Cantharis 5 CH pour les cloques avec sensations de brûlures qui sont améliorées par le froid. La posologie sera de 3 granules toutes les 15 minutes, à espacer suivant l'amélioration des symptômes.
- On peut également utiliser le Dapis et l'homéoplasmine en cas de piqûre de moustique pour aider à soulager la douleur.

## 2. En aromathérapie (78–83)

- L'huile essentielle de Lavande aspic pour l'activité antibactérienne et analgésique. Le pharmacien devra déconseiller l'utilisation de cette huile essentielle aux enfants de moins de 7 ans, aux femmes enceintes et allaitantes, ainsi qu'aux personnes épileptiques et asthmatiques.
- L'huile essentielle de Lavande fine pour l'activité antiseptique et cicatrisante. On pourra utiliser cette huile essentielle chez les enfants à partir de 3 mois, chez les femmes enceintes de plus de 4 mois, chez les femmes allaitantes, mais déconseillée aux personnes épileptiques et asthmatiques.
- L'huile essentielle de Tea tree pour l'activité antiseptique et anti-inflammatoire. On pourra utiliser cette huile essentielle chez les enfants à partir de 3 ans, chez les femmes enceintes de plus de 4 mois, chez les femmes allaitantes, mais déconseillée aux personnes épileptiques et asthmatiques.
- L'huile essentielle d'Eucalyptus citronné pour l'activité anti-inflammatoire. Elle peut également être utilisée comme répulsif de moustiques. On pourra utiliser cette huile essentielle chez les enfants à partir de 3 ans, mais le pharmacien devra déconseiller cette huile essentielle aux femmes enceintes et allaitantes, ainsi qu'aux personnes épileptiques et asthmatiques.
- L'huile essentielle de Menthe poivrée pour l'activité anti-démangeaison et anesthésique. Le pharmacien doit déconseiller cette huile essentielle aux enfants de moins de 12 ans, aux femmes enceintes et allaitantes, ainsi qu'aux personnes épileptiques et asthmatiques.
- L'huile essentielle de Camomille romaine pour l'activité anti-démangeaison et anti-allergique. On pourra utiliser cette huile essentielle chez les enfants à partir de 3 ans et chez les femmes enceintes de plus de 4 mois, mais déconseillée aux personnes épileptiques et asthmatiques.
- Si l'on mélange 3 gouttes d'huiles essentielles de Lavande aspic ou de Géranium avec de l'huile d'amande douce, on obtient un mélange qui permet de soulager et d'apaiser la réaction d'inflammation dû aux piqûres.
- Il faudra tapoter la piqûre avec l'une des huiles essentielles toutes les 15 secondes pendant 2 à 3 minutes.

- On peut réaliser un mélange d'huiles essentielles qui sera plus complet pour la prise en charge de la piqûre :

Ce mélange contient :

- 3 gouttes d'huile essentielle de Lavande aspic,
- 1 goutte d'huile essentielle de Menthe poivrée,
- 2 gouttes d'huile essentielle d'Eucalyptus citronné,
- 2 gouttes d'huile essentielle de Géranium rosat et
- 2 gouttes d'huile essentielle de Tea tree.

La posologie de ce mélange est 1 à 2 gouttes sur la piqûre toutes les 3 minutes, jusqu'à ce que les symptômes disparaissent. On pourrait utiliser de l'huile essentielle de Citronnelle mais celle-ci étant irritante il est préférable de la remplacer par de l'huile essentielle d'Eucalyptus citronné.

Les huiles essentielles sont plus efficaces lorsqu'elles sont appliquées pures sur la piqûre. Il faut faire attention à l'âge du patient, en dessous de 7 ans, on va recommander de diluer une huile essentielle dans une huile végétale à environ 20%.

## Conclusion

Le virus West Nile a commencé principalement à être reconnu depuis 1999, année de son introduction aux Etats-Unis, même s'il était déjà connu avant. Ce virus est devenu la première cause d'encéphalite d'origine arbovirale aux Etats-Unis. Le virus s'est implanté sur l'ensemble du territoire. Il est intéressant d'un point de vue « émergence virale ». Il a pu être étudié pendant plusieurs années, des mesures de prévention, de surveillance et de diagnostic ont été développés et mises en place afin de contrôler son évolution. Cependant les solutions thérapeutiques restent encore actuellement limitées, les soins sont principalement prophylactiques et ceux prodigués pour les symptômes. Bien que des solutions existent pour les chevaux, chez les Hommes elles sont toujours en développement. En Europe, le virus West Nile, n'est responsable que d'épidémies localisées aux pays du pourtour méditerranéen et à l'Europe de l'Est. Depuis 2008 le virus a gagné de nouvelles régions en Europe : en 2008 Emilie-Romagne une région d'Italie, en 2010 la Sicile, la Bulgarie et le Molise, en 2011 l'Albanie, la Sardaigne et la Macédoine. Le système de surveillance en Europe repose principalement sur la surveillance équine. En effet les chevaux sont considérés comme reflétant la circulation virale, des surveillances humaines et des moustiques existent aussi, mais sont moins sensibles. Les vétérinaires doivent donc conserver une vigilance particulière dans les zones à risques. En France le virus circule dans les départements du pourtour méditerranéen, il est surveillé et des cellules de crises sont en place pour parer à une éventuelle épidémie de grande ampleur à travers le territoire. L'épidémiologie de ce virus étant encore partiellement connue, les flambées épidémiques restent difficiles à prévoir et à contrôler. L'étude du cycle de transmission du virus est difficile, de nombreux critères rentrent en compte. Les critères écologiques avec les différentes espèces d'oiseaux qu'ils soient sédentaires ou migrateurs dans une région donnée, la biologie des insectes, les facteurs climatiques, hydrologiques, la relation entre populations hôtes et populations cibles. Le diagnostic des infections par le virus West Nile, se base essentiellement sur des preuves cliniques ainsi que sur des données de laboratoires. Elles sont obtenues par intermédiaire de procédures standardisées et contrôlées. Le laboratoire a besoin d'informations provenant du patient testé (symptômes et caractéristiques cliniques) et d'informations démographiques pour orienter les tests. Plusieurs tests sont souvent nécessaires pour confirmer ou infirmer une infection par ce virus. L'évolution et la diversité des souches en circulation nécessitent fréquemment une révision des dosages moléculaires. Les pharmaciens ont un rôle à jouer dans le contrôle de cette infection. Ils peuvent prodiguer les premiers soins en cas de nécessité, orienter vers des produits pouvant limiter le contact avec les moustiques et informer sur les gestes à faire pour limiter les contacts et les piqûres.



## G. Bibliographie

1. GOISLARD C. Les répulsifs anti-moustiques à l'officine [Internet]. Thèse de doctorat en pharmacie. Angers : Université d'Angers ; 2012, 121 p.
2. HOSY F-H. Evolution du virus West Nile en Europe et dans le bassin méditerranéen depuis 2000. Thèse pour doctorat vétérinaire. Créteil : Faculté de Créteil ; 2014, 120 p
3. SANTE PUBLIQUE FRANCE. West Nile virus [En ligne]. Disponible sur : <https://www.santepubliquefrance.fr/maladies-et-traumatismes/maladies-a-transmission-vectorielle/west-nile-virus> (page consultée le 06/03/2020)
4. JAMMA C, PEVROLO N. Fièvre du Nil occidental : Un candidat-vaccin contre le virus West Nile [En ligne]. Disponible sur : <https://www.pasteur.fr/fr/fievre-du-nil-occidental-candidat-vaccin-contre-virus-west-nile> (page consultée le 06/03/2020)
5. AViQ (Agence pour une vie de Qualité). Virus du Nil occidental [En ligne]. Disponible sur : <https://www.wiv-isp.be/matra/Fiches/WNV.pdf> (page consultée le 06/03/2020)
6. INSTITUT PASTEUR. West Nile [En ligne]. Disponible sur : <https://www.pasteur.fr/fr/centre-medical/fiches-maladies/west-nile> (page consultée le 06/03/2020)
7. OMS (Organisation mondiale de la santé). West Nile virus [En ligne]. Disponible sur : <https://www.who.int/fr/news-room/fact-sheets/detail/west-nile-virus> (page consultée le 06/03/2020)
8. INSERM (Institut national de la santé et de la recherche médical). Fièvre à virus du Nil occidental (West Nile Virus) [En ligne]. Disponible sur: <https://www.inserm.fr/information-en-sante/dossiers-information/fievre-virus-nil-occidental-west-nile-virus> (page consultée le 06/03/2020).
9. COL A. Le virus Usutu, découvert récemment par des chercheurs de l'Inserm de Montpellier, est transmissible à l'homme par la piqûre d'un moustique *Culex*, le plus répandu en France. Comment le reconnaître ? Et surtout, comment s'en protéger ? [En Ligne]. Disponible sur : <https://www.pourquoidocteur.fr/Articles/Question-d-actu/26012-Virus-Usutu-reconnaitre-moustique-culex-s-en-proteger> (page consultée le 06/03/2020)
10. INPN (Inventaire National du Patrimoine Naturel). *Culex pipiens* Linnaeus, 1758 - Moustique commun, Maringouin [En ligne]. Disponible sur : [https://inpn.mnhn.fr/espece/cd\\_nom/225136/tab/taxo](https://inpn.mnhn.fr/espece/cd_nom/225136/tab/taxo) (page consultée le 21/04/2020)



11. ASSAL A, BUSCH MP, LANTERI MC, NORRIS PJ. Le virus West Nile - I. La conquête de l'Ouest. Med SCI (Paris). 2011 ;27(4) : pp 375-381.
12. passeportsante. Conseils anti-moustiques pour soigner une piqûre et éviter de se faire piquer [En Ligne]. Disponible sur: [https://www.passeportsante.net/fr/Actualites/Dossiers/DossierComplexe.aspx?doc=guide\\_anti\\_moustiques\\_page2\\_do](https://www.passeportsante.net/fr/Actualites/Dossiers/DossierComplexe.aspx?doc=guide_anti_moustiques_page2_do) (page consultée le 06/03/2020)
13. COLPITTS TM, CONWAY MJ, FIKRIG E, MONTGOMERY RR. West Nile Virus : Biology, Transmission, and Human Infection. Clinical Microbiology Reviews. 2012 ;25(4) : pp 635- 648.
14. BECHINI L. Piqûres de moustiques, un risque sanitaire à ne pas négliger. Thèse en doctorat de pharmacie. Marseille : Université de Marseille ; 2017, 134 p
15. CDC (Centers for Disease Control and prevention). Mosquito species in which West Nile virus has been detected, United States, 1999-2016 [En Ligne]. Disponible sur : <https://www.cdc.gov/westnile/resources/pdfs/MosquitoSpecies1999-2016.pdf> (page consultée le 06/03/2020)
16. GROUND-HORNBILL A, CROW A, GOLDFINCH A, ROBIN A, HUMMINGBIRD A, FLYCATCHER A, et al. Species of dead birds in which West Nile virus has been detected, United States, 1999-2016 [En Ligne]. Disponible sur : <https://www.cdc.gov/westnile/resources/pdfs/BirdSpecies1999-2016.pdf> (page consultée le 06/03/2020)
17. FURNON W. La protéine non-structurale NS1 du virus West Nile : étude fonctionnelle et cible potentielle de nouvelles molécules antivirales. Thèse de doctorat en virologie. Lyon Université de Lyon ; 2018, 305 p.
18. BARGAOUI R. Épidémiologie de la fièvre West Nile en Tunisie. Thèse de doctorat en virologie. Montpellier : Université de Montpellier II ; 2012, 182 p
19. CAMPBELL GL, GUBLER DJ, LANCIOTTI RS, MARTIN AA. West Nile virus. The Lancet. 2002 ;2(9) : pp 519-529.
20. KONE P, LAMBERT L, Institut national de santé publique du Québec D des risques biologiques environnementaux et occupationnels Staff. Épidémiologie du Virus du Nil Occidental en Zone Rurale Au Québec. [En Ligne]. Disponible sur : [https://www.inspq.qc.ca/pdf/publications/549-Epidemiologie\\_VNO\\_rural.pdf](https://www.inspq.qc.ca/pdf/publications/549-Epidemiologie_VNO_rural.pdf) (page consultée le 06/03/2020)
21. ICTV (Comité international de taxonomie des virus). Taxonomie des virus : version 2019 [En ligne]. Disponible sur : <https://talk.ictvonline.org/taxonomy/> (page consultée le 05/06/2020)

22. BEERSMA M, CLETON N, FRANCO L, GODEKE GJ, GOEIJENBIER M, JIMENEZ-CLAVERO M, JOHNSON B, KOOPMANS M, NIEDRIG M, PAPA A, REIMERINK J, REUSKEN C, SAMBRI V, TAMI A, VAN DOORN H, VELASCO-SALAS Z. Spot the Difference-Development of a Syndrome Based Protein Microarray for Specific Serological Detection of Multiple Flavivirus Infections in Travelers. PLoS Neglected Tropical Disease. 2015 ; (9)
23. FALL G. Diversité génétique du virus West Nile [En ligne]. Disponible sur : <http://www.pathexo.fr/docfiles/06 - diversite genetique du virus west nile.pdf> (page consultée le 06/03/2020)
24. JOSE J, KUHN RJ, SNYDER JE. A structural and functional perspective of alphavirus replication and assembly. Future Microbiology. 2009, 4(7), pp.837-856.
25. BUSCH MP, DIAMOND MS, LANTERI MC, NORRIS PJ. Infection par le virus West Nile chez l'homme - II. Aspects physiopathologiques et réponses immunitaires. Med SCI (Paris). 2011 ;27(4) : pp 382-386.
26. GUILLET J. Les mécanismes d'échappement viraux. Med SCI (Paris). 2000 ;16(8-9) : p874.
27. CDC (Centers for Disease Control and prevention). Possible Persistence of West Nile Virus Infection [En ligne]. Disponible sur : <https://www.cdc.gov/westnile/healthcareproviders/healthCareProviders-PersistentInfections.html> (page consultée le 06/03/2020)
28. CDC (Centers for Disease Control and prevention). Clinical Evaluation & Disease [En ligne]. 2018. Disponible sur : <https://www.cdc.gov/westnile/healthcareproviders/healthCareProviders-ClinLabEval.html> (page consultée le 06/03/2020)
29. CDC (Centers for Disease Control and prevention). Final Annual Maps & Data for 1999-2018 [En ligne]. Disponible sur : <https://www.cdc.gov/westnile/statsmaps/finalmapsdata/index.html> (page consultée le 06/03/2020)
30. CDC (Centers for Disease Control and prevention). Lignes directrices provisoires pour l'évaluation des nourrissons nés de mères infectées par le virus du Nil occidental pendant la grossesse [En ligne]. Disponible sur : <https://www.cdc.gov/mmwr/preview/mmwrhtml/mm5307a4.htm#box1> (page consultée le 06/03/2020)
31. CDC (Centers for Disease Control and prevention). Mother to Baby during Pregnancy, Delivery, or Breast Feeding [En ligne]. Disponible sur : <https://www.cdc.gov/westnile/transmission/pregnancy.html> (page consultée le 06/03/2020)

32. HCSP (Haut Conseil de la Santé Publique). West Nile : mesures pour la sécurité transfusionnelle et des greffes [En ligne]. Disponible sur : <https://www.hcsp.fr/explore.cgi/avisrapportsdomaine?clefr=721> (page consultée le 06/03/2020)
33. FOCUS Diagnostics. West Nile virus IgG DxSelect, test immuno-enzymatique en microplaque (ELISA), code produit EL0300G [En ligne]. Disponible sur : [https://www.focusdx.com/pdfs/pi/OUS/EL0300G\\_F.pdf](https://www.focusdx.com/pdfs/pi/OUS/EL0300G_F.pdf) (page consultée le 06/03/2020)
34. CAPOBIANCHI MR, CAVRINI F, CHARREL R, DONOSO-MANTKE O, ESCADAFAL C, SAMBRI V, et al. Diagnosis of West Nile Virus Human Infections : Overview and Proposal of Diagnostic Protocols Considering the Results of External Quality Assessment Studies. Viruses. 2013 ,5(10), pp2329-2348.
35. CDC (Centers for Disease Control and prevention). Diagnostic Testing [En ligne]. Disponible sur : <https://www.cdc.gov/westnile/healthcareproviders/healthCareProviders-Diagnostic.html> (page consultée le 06/03/2020)
36. LECOLLINET S, BECK C, ZIENTARA S. LE VIRUS WEST NILE : DIAGNOSTIC, SURVEILLANCE ET ÉVOLUTION ÉPIDÉMIOLOGIQUE EN EUROPE. Bul de l'AC Vét de France. 2012;(1) :35.
37. INSTITUT PASTEUR. Dengue [En Ligne]. Disponible sur : <https://www.pasteur.fr/fr/centre-medical/fiches-maladies/dengue> (page consultée le 06/03/2020)
38. HAS (Haute Autorité de Santé). Test d'amplification des acides nucléiques pour le diagnostic biologique de l'infection par le virus du Nil occidental - Rapport d'évaluation technologique [En ligne]. Disponible sur : [https://www.has-sante.fr/jcms/c\\_2913452/fr/test-d-amplification-des-acides-nucleiques-pour-le-diagnostic-biologique-de-l-infection-par-le-virus-du-nil-occidental-rapport-d-evaluation-technologique](https://www.has-sante.fr/jcms/c_2913452/fr/test-d-amplification-des-acides-nucleiques-pour-le-diagnostic-biologique-de-l-infection-par-le-virus-du-nil-occidental-rapport-d-evaluation-technologique) (page consultée le 06/03/2020)
39. Le ministre des affaires sociales et de la santé, Le ministre de l'écologie, du développement durable et de l'énergie, Le ministre de l'agriculture, de l'agroalimentaire et de la forêt. CIRCULAIRE INTERMINISTERIELLE N°DGS/RI1/DGALN/DGAL/2012/360 du 1er octobre 2012 relative aux mesures visant à limiter la circulation du virus West Nile en France métropolitaine. [En ligne]. Disponible sur: [https://solidarites-sante.gouv.fr/IMG/pdf/CIRCULAIRE\\_INTERMINISTERIELLE\\_du\\_1er\\_octobre\\_2012\\_West\\_Nile\\_virus.pdf](https://solidarites-sante.gouv.fr/IMG/pdf/CIRCULAIRE_INTERMINISTERIELLE_du_1er_octobre_2012_West_Nile_virus.pdf) (page consultée le 06/03/2020)
40. BRIGADE VERTE DU HAUT-RHIN. Fiche technique sur le Bti [En ligne]. Disponible sur : <http://brigade-verte.fr/wp-content/uploads/2012/02/Fiche%20technique%20BTI%20BRV.pdf> (page consultée le 06/03/2020)

41. CDC (Centers for Disease Control and prevention. Avoid bug bites) [En ligne]. Disponible sur : <https://wwwnc.cdc.gov/travel/page/avoid-bug-bites> (page consultée le 06/03/2020)
42. MINISTERE DES SOLIDARITES ET DE LA SANTE. Fièvre du Nil occidental ou infection par le virus West Nile [En ligne]. Disponible sur : <https://solidarites-sante.gouv.fr/soins-et-maladies/maladies/maladies-infectieuses/article/fievre-du-nil-occidental-ou-infection-par-le-virus-west-nile> (page consultée le 06/03/2020)
43. Ministère des affaires sociales de la santé et des droits des femmes. Recommandations d'utilisation des répulsifs et biocides contre les moustiques [En ligne]. Disponible sur: [https://solidarites-sante.gouv.fr/IMG/pdf/tableau\\_des\\_recommandations\\_repulsifs\\_anti\\_moustiques\\_311215.pdf](https://solidarites-sante.gouv.fr/IMG/pdf/tableau_des_recommandations_repulsifs_anti_moustiques_311215.pdf) (page consultée le 06/03/2020)
44. CDC (Centers for Disease Control and prevention). Insecticide Resistance [En ligne]. Disponible sur : <https://www.cdc.gov/zika/vector/insecticide-resistance.html> (page consultée le 06/03/2020)
45. DGCCRF (Direction générale de la concurrence, de la consommation et de la répression des fraudes). Produits anti-moustiques [En ligne]. Disponible sur : [https://www.economie.gouv.fr/files/files/directions\\_services/dgccrf/documentation/fiches\\_pratiques/fiches/produits-anti-moustiques.pdf](https://www.economie.gouv.fr/files/files/directions_services/dgccrf/documentation/fiches_pratiques/fiches/produits-anti-moustiques.pdf) (page consultée le 06/03/2020)
46. TREGOAT J-J. Protection sanitaire, maladies, toxicomanie, épidémiologie, vaccination, hygiène. Rev Francoph Lab. 2006 ;2006(380) : pp53-54.
47. GENERATIONS FUTURES. Victimes des pesticides [En Ligne]. Disponible sur : <https://victimes-pesticides.fr/riverains/> (page consultée le 06/03/2020)
48. CDC (Centers for Disease Control and prevention). Information on Aerial Spraying [En ligne]. Disponible sur : <https://www.cdc.gov/westnile/vectorcontrol/aerial-spraying.html> (page consultée le 06/03/2020)
49. BONNARD N, BRONDEAU M-T, JARGOT D, MIRAVAL S, PILLIERE F, SCHNEIDER O. Dichlorvos [En ligne]. Disponible sur: [http://www.inrs.fr/publications/bdd/fichetox/fiche.html?refINRS=FICHETOX\\_116&section=pathologieToxicologie#tab\\_toxiExperi](http://www.inrs.fr/publications/bdd/fichetox/fiche.html?refINRS=FICHETOX_116&section=pathologieToxicologie#tab_toxiExperi) (page consultée le 06/03/2020)
50. CDC (Centers for Disease Control and prevention). Integrated Mosquito Management [En Ligne]. Disponible sur : [https://www.cdc.gov/westnile/vectorcontrol/integrated\\_mosquito\\_management.html](https://www.cdc.gov/westnile/vectorcontrol/integrated_mosquito_management.html) (page consultée le 06/03/2020)

51. MINISTERE DE LA SANTE. Guide de procédures de lutte contre la circulation du virus West Nile en France métropolitaine [En Ligne]. Disponible sur : <https://solidarites-sante.gouv.fr/fichiers/bo/2005/05-08/a0080028a.pdf> (page consultée le 06/03/2020)
52. BECK C. Bilan Europeen 2017 des cas équins et humains de fièvre West Nile [En ligne]. Disponible sur: <https://www.plateforme-esa.fr/article/bilan-europeen-2017-des-cas-equins-et-humain-de-fievre-west-nile> (page consultée le 06/03/2020)
53. SANTE PUBLIQUE FRANCE. Une recrudescence importante du virus West Nile en Europe en 2018 [En Ligne]. Disponible sur : /maladies-et-traumatismes/maladies-a-transmission-vectorielle/west-nile-virus (page consultée le 06/03/2020)
54. RAMALLI L. Évaluation du dispositif de surveillance saisonnière des infections neuroinvasives à virus west nile, 2017 [En Ligne]. Disponible sur : <https://www.santepubliquefrance.fr/regions/provence-alpes-cote-d-azur-et-corse/documents/rapport-synthese/2019/evaluation-du-dispositif-de-surveillance-saisonniere-des-infections-neuroinvasives-a-virus-west-nile-2017> (page consultée le 21/04/2020)
55. ECDC (European Centre for Disease prevention and Control). West Nile fever in Europe in 2016 [En Ligne]. Disponible sur : <https://www.ecdc.europa.eu/en/publications-data/west-nile-fever-europe-2016> (page consultée le 21/04/2020)
56. TREGOA J-J. Protection sanitaire, maladies, toxicomanie, épidémiologie, vaccination, hygiène. Rev Francoph Lab. 2009 ;2006(380) : p35.
57. BAROTI-TOTH K, DOBROTA AM, DOMANOVIC D, GOSSNER CM, LIESHOUT-KRIKKE R, MAYR W et al. West Nile and Usutu Virus Infections and Challenges to Blood Safety in the European Union. Emerg Infect Dis. 2019 ; 25(6) : pp 1050-1057.
58. ARS (Agence Régionale de Santé). Surveillance épidémiologique de la fièvre à virus West-Nile [En Ligne]. Disponible sur : <http://www.occitanie.ars.sante.fr/surveillance-epidemiologique-de-la-fievre-virus-west-nile-0> (page consultée le 06/03/2020)
59. CHEVALIER V, PAZ S, SEMENZA J, SUDRE B, TRAN A. La fièvre de West Nile dans le bassin méditerranéen [En ligne]. Disponible sur : [https://be.anses.fr/sites/default/files/BEP-mg-BE66-art17\\_0.pdf](https://be.anses.fr/sites/default/files/BEP-mg-BE66-art17_0.pdf) (page consultée le 05/05/2020)
60. ARS (Agence Régionale de Santé). Conseils laboratoire envoi échantillon [En Ligne]. Disponible sur : <https://www.occitanie.ars.sante.fr/system/files/2017-07/Conseils%20Labo%20Envoi%20Echantillon.pdf> (page consultée le 06/03/2020)

61. CNR (centre national de référence). Fiche de renseignements [En Ligne]. Disponible sur : <http://cnr-arbovirus.fr/doc/VIR-EN-002-V4-FICHE%20DE%20RENSEIGNEMENTS-VersionINTERNET.pdf> (page consultée le 06/03/2020)
62. SANTE.GOUV. Dépliant West Nile [En Ligne]. Disponible sur : [https://solidarites-sante.gouv.fr/IMG/pdf/depliant\\_west\\_nile\\_2015\\_page\\_a\\_page.pdf](https://solidarites-sante.gouv.fr/IMG/pdf/depliant_west_nile_2015_page_a_page.pdf) (page consultée le 06/03/2020)
63. CORDIS. Preparedness, Prediction and Prevention of Emerging Zoonotic Viruses with Pandemic Potential using Multidisciplinary Approaches [En ligne]. Disponible sur : <https://cordis.europa.eu/project/id/278433/reporting> (page consultée le 06/03/2020)
64. CORDIS. Final Report Summary - EUROWESTNILE (European West Nile collaborative research project) [En Ligne]. Disponible sur : <https://cordis.europa.eu/project/id/261391/reporting/fr> (page consultée le 06/03/2020)
65. ECDC (European Centre for Disease prevention and Control). Epidemiological update : West Nile virus transmission season in Europe, 2018 [En Ligne]. Disponible sur : <https://www.ecdc.europa.eu/en/news-events/epidemiological-update-west-nile-virus-transmission-season-europe-2018> (page consultée le 06/03/2020)
66. HENGY C. Évolution de l'épidémie d'infection à virus West Nile 2018 [En Ligne]. Disponible sur: <https://www.mesvaccins.net/web/news/13049-evolution-de-l-epidemie-d-infection-a-virus-west-nile-chez-l-homme-et-les-equides-en-europe> (page consultée le 06/03/2020)
67. CDC (Centers for Disease Control and prevention). Incidence des maladies neuroinvasives du virus du Nil occidental par État 2019 [En Ligne]. Disponible sur : <https://www.cdc.gov/westnile/statsmaps/preliminarymapsdata2019/incidencestate-2019.html> (page consultée le 06/03/2020)
68. CDC (Centers for Disease Control and prevention). Activité du virus du Nil occidental par État 2019 [En Ligne]. Disponible sur : <https://www.cdc.gov/westnile/statsmaps/preliminarymapsdata2019/activitybystate2019.html> (page consultée le 06/03/2020)
69. MORVAN J. Augmentation des infections à virus West Nile : mise à jour début septembre 2019 [En ligne]. Disponible sur: <https://www.mesvaccins.net/web/news/14382-augmentation-des-infections-a-virus-west-nile-mise-a-jour-debut-septembre-2019> (page consultée le 06/03/2020)
70. MORVAN J. Situation des infections à virus West Nile en Europe : le point au 22 Aout 2019 [En ligne]. Disponible sur: <https://www.mesvaccins.net/web/news/14315-situation-des-infections-a-virus-west-nile-en-europe-le-point-au-22-aout-2019> (page consultée le 06/03/2020)

71. MORVAN J. Situation épidémiologique des infections à virus West Nile chez l'homme dans l'Union européenne, fin juillet 2019 [En ligne]. Disponible sur : <https://www.mesvaccins.net/web/news/14144-situation-epidemiologique-des-infections-a-virus-west-nile-chez-l-homme-dans-l-union-europeenne-fin-juillet-2019> (page consultée le 06/03/2020)
72. HENGY C. État de la transmission du virus West Nile dans l'union européenne, fin septembre 2019 [En ligne]. Disponible sur: <https://www.mesvaccins.net/web/news/14478-etat-de-la-transmission-du-virus-west-nile-dans-l-union-europeenne-fin-septembre-2019> (page consultée le 06/03/2020)
73. HENGY C. Surveillance épidémiologique des infections à virus West Nile en Europe [En ligne]. Disponible sur : <https://www.mesvaccins.net/web/news/14546-surveillance-epidemiologique-des-infections-a-virus-west-nile-en-europe> (page consultée le 06/03/2020)
74. ECDC (European Centre for Disease prevention and Control). Weekly updates : 2019 West Nile virus transmission season [En ligne]. Disponible sur : <https://www.ecdc.europa.eu/en/west-nile-fever/surveillance-and-disease-data/disease-data-ecdc> (page consultée le 06/03/2020)
75. MORVAN J. Premiers cas humains d'infection à virus West Nile à New York [En Ligne]. Disponible sur : <https://www.mesvaccins.net/web/news/14424-premiers-cas-humains-d-infection-a-virus-west-nile-a-new-york> (page consultée le 06/03/2020)
76. MORVAN J. Etats-Unis : Los Angeles 2019 [En ligne]. Disponible sur : <https://www.mesvaccins.net/web/news/14506-etats-unis-los-angeles-rapporte-le-premier-cas-fatal-d-infection-a-virus-west-nile-pour-2019> (page consultée le 06/03/2020)
77. CDC (Centers for Disease Control and prevention). Cas de maladie du virus du Nil occidental par État 2019 [En Ligne]. Disponible sur : <https://www.cdc.gov/westnile/statsmaps/preliminarymapsdata2019/disease-cases-state-2019.html> (page consultée le 06/03/2020)
78. Matthieu R. Prévention et prise en charge des piqûres d'hyménoptères en France métropolitaine : Rôle du pharmacien d'officine. Thèse de doctorat en pharmacie. Angers : Université d'Angers, 2014, 96 p
79. CHENEL M-C, ROUX A-M. Comment soigner les piqûres d'insectes avec l'homéopathie [En ligne]. Disponible sur : <http://pharmacieetnature.com/68-piqures-prevention-et-remedes.htm> (page consultée le 06/03/2020)

80. DE LA CHARIE T. Quelles huiles essentielles utiliser chez les enfants ? [En ligne]. Disponible sur : <https://www.compagnie-des-sens.fr/huiles-essentielles-enfants/> (page consultée le 06/03/2020)
81. DE LA CHARIE T. Comment utiliser les huiles essentielles chez les bébés ? [En ligne]. Disponible sur : <https://www.compagnie-des-sens.fr/huiles-essentielles-bebes/> (page consultée le 06/03/2020)
82. DE LA CHARIE T. Les huiles essentielles en diffusion pour les femmes enceintes, les enfants et les bébés [En ligne]. Disponible sur : <https://www.compagnie-des-sens.fr/utilisateurs-huiles-essentielles-diffusion/> (page consultée le 06/03/2020)
83. DE LA CHARIE T. Les huiles essentielles pour les femmes enceintes [En ligne]. Disponible sur : <https://www.compagnie-des-sens.fr/huiles-essentielles-grossesse/> (page consultée le 06/03/2020)





## **H. Annexe :**

Annexe 1 : la détection qualitative des anticorps IgG contre le Virus du Nil Occidental dans le sérum humain

# West Nile Virus IgG DxSelect™

(Français)

Test immuno-enzymatique en microplaque (ELISA)

Code Produit EL0300G

Rev. K



Test immuno-enzymatique en microplaque (ELISA) pour la détection qualitative des anticorps IgG contre le Virus du Nil Occidental dans le sérum humain

## Pour diagnostic *in vitro*

### UTILISATION PRÉVUE

Le test Immuno Enzymatique de dosage (ELISA) du Virus du Nil Occidental de la société Focus Diagnostics est dédié à la détection qualitative dans le sérum humain des anticorps IgG contre le virus du Nil Occidental. En complément du test ELISA d'Immucapture des IgM du VNO de Focus Diagnostics, le test est recommandé pour dépister les personnes présentant des symptômes de méningite et d'encéphalite, comme une aide de diagnostic en laboratoire d'une infection par le VNO. Les résultats positifs doivent être confirmés par un test de neutralisation ou en utilisant les directives actuelles du CDC pour le diagnostic des encéphalites liées au Virus du Nil Occidental.<sup>1</sup> Ce test n'est pas prévu pour une auto-détection et ce test n'est ni approuvé par la FDA ni approuvé pour le dépistage du sang ou du plasma des donneurs. Les performances de ce test n'ont pas été établies pour les procédures avec automates.

**Attention: Des réactions croisées dans le test IgG ont été reportées avec certains échantillons contenant des anticorps contre le cytomégalo virus (CMV). Les résultats positifs doivent être présentés avec un avertissement sur ce risque de possible réaction croisée avec le CMV et les bunyavirus (virus de LaCrosse)**

**RÉSUMÉ EXPLICATIF DU TEST** La plupart des personnes qui sont infectées par le Virus du Nil Occidental (WNV, West Nile virus) ne présente aucun symptôme de maladie déclarée. Les experts estiment que 20% des personnes qui sont infectées développeront la fièvre du Nil : dans les cas bénins, les symptômes sont fièvre, maux de tête et douleurs physiques, dans certains cas accompagnés d'éruptions cutanées sur les parties hautes du corps ou d'un gonflement des ganglions lymphatiques.<sup>2</sup> Ces symptômes modérés durent généralement quelques jours. Environ 1 cas d'infection au WNV sur 150 (<1%) entraîne une méningite ou une encéphalite.<sup>2</sup> Les taux de mortalité des patients hospitalisés lors des derniers épisodes allaient de 4 à 14 %.<sup>3</sup> L'âge est le facteur de risque le plus important pour la mortalité, et les patients âgés de plus de 70 ans présentent un risque particulièrement élevé. Le taux de mortalité pour le WNV est similaire à celui des virus de l'encéphalite de St. Louis (SLE, St. Louis encephalitis virus) ou de l'encéphalite équine de l'Ouest (WWE, Western equine encephalitis) (5-15%), mais bien plus faible que celui du virus de l'encéphalite équine de l'Est (EEE, Eastern equine encephalitis) (30-70%), et plus élevé que celui du virus de La Crosse (LAC) (<1%).<sup>4,5</sup>

Le WNV est un arbovirus. Les arbovirus sont des maladies zoonotiques, et se transmettent par des cycles complexes impliquant un vertébré (oiseaux par ex.) et un arthropode (moustique par ex.).<sup>3</sup> Les hommes et les animaux domestiques peuvent développer les signes cliniques de la maladie mais sont généralement des hôtes tangentiels ou "cul-de-sac" car ils ne développent pas une virémie significative. Les contaminations de personne à personne sont rares. Les infections aux arbovirus peuvent être prévenues de deux manières: des mesures personnelles pour se protéger des moustiques et des mesures de santé publique pour réduire la population de moustiques infectés dans l'environnement.<sup>2</sup>

Le WNV peut être détecté par différents moyens : la culture de l'organisme, la détection de l'antigène viral ou de l'acide nucléique viral dans du liquide céphalo-rachidien, du tissu, du sang ou tout autre fluide corporel. Même si une culture positive ou une détection d'acide nucléique sont des méthodes très spécifiques, les experts ne recommandent pas leur utilisation à grande échelle à cause de leur sensibilité modérée.<sup>2</sup>

La CDC déclare que bien que la réponse humaine à l'infection par le WNV n'ait pas été étudiée en détail, les hypothèses suivantes sont raisonnables en se basant sur l'expérience des autres flavivirus et sur les conclusions préliminaires des observations empiriques faites pendant les épidémies de 1999 et 2000 :

- Anticorps IgG dans le sérum: Trois semaines après l'infection (et souvent plus tôt), pratiquement toutes les personnes infectées devraient présenter des anticorps sériques IgG contre le WNV détectables par test immuno-enzymatique (EIA, enzymatic immunoassay) et ce pendant 500 jours ou plus.<sup>6</sup>
- Anticorps IgM dans le sérum: Le huitième jour de l'infection, la grande majorité des personnes infectées devrait avoir un taux d'anticorps sériques IgM contre le WNV détectable. Dans la plupart des cas, ce taux sera détectable pendant au moins 1 à 2 mois suivant le début de la maladie. Dans certains cas, il le sera 500 jours ou plus.<sup>6</sup>

Des résultats positifs sont susceptibles de survenir chez des personnes vaccinées contre les flavivirus (fièvre jaune, encéphalite japonaise, dengue), infectées par d'autres flavivirus ou précédemment infectées par le WNV. Parce que des arbovirus très proches sont susceptibles de présenter une réactivité sérologique croisée, il peut être parfois important en termes d'épidémiologie de tenter de définir exactement le virus infectant en pratiquant un test de séro-neutralisation par réduction des plaques en utilisant une batterie appropriée de flavivirus très proches.

### PRINCIPE DU TEST

Dans le test ELISA IgG pour le Virus du Nil Occidental de Focus Diagnostics, les micropuits de la microplaque en polystyrène sont recouverts avec un antigène recombinant du Virus du Nil Occidental. Les échantillons dilués de sérum ainsi que les contrôles sont incubés dans les puits pour permettre aux anticorps IgG anti-WNV (si présents dans l'échantillon) de réagir avec l'antigène. Après un lavage permettant de retirer le matériel non-spécifique, un anticorps anti-IgG humain conjugué à la peroxydase est ajouté pour réagir avec les IgG humaines liées à l'antigène. L'excès d'anticorps conjugué est retiré par lavage. Le substrat de l'enzyme et le chromogène sont ensuite ajoutés, permettant à la coloration de se développer. Le changement de coloration est quantifié par lecture spectrophotométrique de la densité optique (OD, optical density), après ajout du réactif d'arrêt. Les lectures de OD des échantillons sont comparées à celles de l'étalon pour déterminer les résultats.

**MATERIELS FOURNIS**

<p><b>Puits d'Antigène IgG , 96 puits</b>  <i>IgG Antigen Wells, 96 wells</i>                  12 barrettes sécables de huit micropuits en polystyrène avec cadre de fixation. Chaque puits est recouverte d'antigène recombinant pour le WNV. Chaque barrette peut être séparée en puits individuelles si besoin. Afin d'éviter la condensation, porter les barrettes à température ambiante avant d'ouvrir l'emballage scellé.</p>	<table border="1" style="display: inline-table; border-collapse: collapse;"> <tr> <td style="padding: 2px;">REF</td> <td style="padding: 2px;">EL0351</td> <td style="padding: 2px;">Ag</td> </tr> </table>	REF	EL0351	Ag	
REF	EL0351	Ag			
<p><b>IgG Conjugué, 16 ml</b>  <i>IgG Conjugate, 16 mL</i>                  Un flacon d'IgG chèvre anti-humain purifié par affinité et conjugué à la peroxydase (dirigé contre le fragment Fc). Comprend protéines, tampon et conservateurs.</p>	<table border="1" style="display: inline-table; border-collapse: collapse;"> <tr> <td style="padding: 2px;">REF</td> <td style="padding: 2px;">EL0304</td> <td style="padding: 2px;">CONJ</td> <td style="padding: 2px;">IgG</td> </tr> </table>	REF	EL0304	CONJ	IgG
REF	EL0304	CONJ	IgG		
<p><b>Contrôle positif, 0.3 ml</b>  <i>Positive Control, 0.3 mL</i>                  Un flacon de sérum humain. Contient 0.1% d'azide de sodium comme conservateur. Requier une dilution avant usage (voir section Préparation des échantillons, des contrôles et de l'étalon ci-dessous).</p>	<table border="1" style="display: inline-table; border-collapse: collapse;"> <tr> <td style="padding: 2px;">REF</td> <td style="padding: 2px;">EL0311</td> <td style="padding: 2px;">CONTROL</td> <td style="padding: 2px;">+</td> </tr> </table>	REF	EL0311	CONTROL	+
REF	EL0311	CONTROL	+		
<p><b>Contrôle négatif, 0.3 ml</b>  <i>Negative Control, 0.3 mL</i>                  Un flacon de sérum humain. Contient 0.1% d'azide de sodium comme conservateur. Requier une dilution avant usage (voir section Préparation des échantillons, des contrôles et de l'étalon ci-dessous).</p>	<table border="1" style="display: inline-table; border-collapse: collapse;"> <tr> <td style="padding: 2px;">REF</td> <td style="padding: 2px;">EL0312</td> <td style="padding: 2px;">CONTROL</td> <td style="padding: 2px;">-</td> </tr> </table>	REF	EL0312	CONTROL	-
REF	EL0312	CONTROL	-		
<p><b>Etalon de calibrage, 0.3 ml</b>  <i>Cut-Off Calibrator, 0.3 mL</i>                  Un flacon de sérum humain. Contient 0.1% d'azide de sodium comme conservateur. Requier une dilution avant usage (voir section Préparation des échantillons, des contrôles et de l'étalon ci-dessous).</p>	<table border="1" style="display: inline-table; border-collapse: collapse;"> <tr> <td style="padding: 2px;">REF</td> <td style="padding: 2px;">EL0306</td> <td style="padding: 2px;">CONTROL</td> <td style="padding: 2px;">CAL</td> </tr> </table>	REF	EL0306	CONTROL	CAL
REF	EL0306	CONTROL	CAL		
<p><b>Diluant de l'échantillon, 100 ml</b>  <i>Sample Diluent, 100 mL</i>                  Un flacon de PBS contenant des protéines, des surfactants et des conservateurs.</p>	<table border="1" style="display: inline-table; border-collapse: collapse;"> <tr> <td style="padding: 2px;">REF</td> <td style="padding: 2px;">EL1608</td> <td style="padding: 2px;">DIL</td> <td style="padding: 2px;">SPE</td> </tr> </table>	REF	EL1608	DIL	SPE
REF	EL1608	DIL	SPE		
<p><b>Tampon de lavage 10X, 100 ml</b>  <i>10X Wash Buffer, 100 mL</i>                  Un flacon de surfactant dans du PBS avec des conservateurs. Préparer une solution de lavage 1X avant usage.</p>	<table border="1" style="display: inline-table; border-collapse: collapse;"> <tr> <td style="padding: 2px;">REF</td> <td style="padding: 2px;">EL0405</td> <td style="padding: 2px;">BUF</td> <td style="padding: 2px;">WASH</td> </tr> </table>	REF	EL0405	BUF	WASH
REF	EL0405	BUF	WASH		
<p>Pour préparer une solution de lavage 1X, mélanger 100 ml de tampon de lavage 10X à 900 ml d'eau distillée (ou désionisée) et rincer tous les cristaux. Utiliser seulement de l'eau de la plus haute qualité pour reconstituer le tampon de lavage. <b>Certaines sources d'eau désionisée contiennent des éléments pouvant perturber le test.</b> Mélanger jusqu'à dissolution de tous les cristaux.</p>					
<p><b>Solution de Substrat, 16 ml</b>  <i>Substrate Reagent, 16 mL</i>                  Un flacon de tampon contenant du tetraméthylbenzidine (TMB) et du peroxyde d'hydrogène. La solution de substrat peut prendre une coloration légèrement bleue après conservation au froid, cependant, elle devrait reprendre une coloration ambrée après réchauffement à température ambiante. Une couleur bleue foncée indique une contamination avec la peroxydase. Si cela arrive, utiliser une nouvelle bouteille.</p>	<table border="1" style="display: inline-table; border-collapse: collapse;"> <tr> <td style="padding: 2px;">REF</td> <td style="padding: 2px;">EL0009</td> <td style="padding: 2px;">SUBS</td> <td style="padding: 2px;">TMB</td> </tr> </table>	REF	EL0009	SUBS	TMB
REF	EL0009	SUBS	TMB		
<p><b>Solution d'arrêt, 16 ml</b>  <i>Stop Reagent, 16 mL</i>                  Un flacon d'acide sulfurique 1M.</p>	<table border="1" style="display: inline-table; border-collapse: collapse;"> <tr> <td style="padding: 2px;">REF</td> <td style="padding: 2px;">EL0105</td> <td style="padding: 2px;">SOLN</td> <td style="padding: 2px;">STOP</td> </tr> </table>	REF	EL0105	SOLN	STOP
REF	EL0105	SOLN	STOP		
<p><b>Ruban Adhésif</b>                  Deux rouleaux de ruban adhésif</p>					

**MATERIELS REQUIS MAIS NON FOURNIS**

1. Eau distillée ou désionisée
2. Bouteille de lavage (250-500ml) ou laveur automatique
3. Epruvette graduée de 1 l
4. Tubes en verre borosilicate 12 x 75 mm ou équivalent
5. Micropipettes 10 et 100 µl avec cônes jetables
6. Pipette de 1 ml ou distributeur automatique
7. Pipette de 5 ml
8. Chronomètre
9. Serviettes en papier ou papier absorbant
10. Evier
11. Vortex ou équivalent
12. Lecteur de microplaques (longueur d'onde réglée à 450 nm)

**STOCKAGE ET DELAIS DE VALIDITE**

1. Le kit et ses réactifs sont stables jusqu'à la fin du mois de la date de péremption indiquée lorsqu'ils sont stockés entre 2 et 8°C.
2. Ne pas utiliser le kit au-delà de la date de péremption.
3. Ne pas exposer les réactifs à une lumière intense pendant leur stockage ou leur utilisation.
4. Tous les réactifs doivent être amenés à température ambiante avant utilisation.

**MISES EN GARDE ET PRÉCAUTIONS**

1. Ce test ne peut être utilisé qu'à but de diagnostic *in vitro*.

2. Tous les produits sanguins doivent être considérés comme potentiellement infectieux. Tous les réactifs de ce kit contenant des sérums ou du plasma humain (ainsi que les contrôles) ont été testés et confirmés négatifs pour l'Hépatite B, l'Hépatite C et le HIV 1/2 par des méthodes approuvées par la FDA. Toutefois, comme aucune méthode connue n'offre 100% d'assurance que les produits dérivés du sang ne soient infectieux pour ces derniers ou tout autre agent, tous les contrôles, les échantillons de sérum et les équipements ayant été en contact avec les échantillons doivent être considérés comme potentiellement infectieux et décontaminés ou éliminés avec les précautions d'usage pour les déchets biologiques. La CDC et le National Institute of Health recommandent que les agents potentiellement infectieux soient manipulés dans un environnement de niveau de sécurité 2.<sup>7</sup>
3. Les Puits d'Antigènes IgG sont produits avec des antigènes du Virus du Nil Occidental de manière recombinante. Après ajout d'échantillons de patients ou de contrôles, les barrettes doivent être considérées comme potentiellement infectieuses et manipulées en conséquence.
4. De l'azide de sodium à une concentration de 0.1% est présent dans certains réactifs comme agent antibactérien. Afin d'éviter la formation de sels métalliques d'azide explosifs dans les canalisations contenant du plomb ou du cuivre, ces réactifs (voir Matériels fournis, ci-dessus) doivent être éliminés à l'évier uniquement sous forme diluée et accompagnés d'un écoulement important d'eau. Utiliser des évacuations dépourvues de cuivre ou de plomb dans la mesure du possible. Décontaminer régulièrement les évacuations avec 10% de soude (attention : caustique) attendre 10 minutes, puis laisser couler un grand volume d'eau.
5. Ne pas remplacer ou mélanger les réactifs provenant de différents kits ou provenant d'autres fournisseurs.
6. Utiliser uniquement le protocole fourni ici. Des temps d'incubation ou des températures différents de ceux spécifiés ici peuvent donner des résultats erronés.
7. Des contaminations entre les échantillons de différents patients peuvent être la cause de résultats erronés. Ajouter les échantillons de patients et manipuler les barrettes avec précaution afin d'éviter les mélanges de sérum entre des puits adjacents. Transvaser avec précaution.
8. La contamination bactérienne des échantillons de sérum ou des réactifs peut produire des résultats erronés. Utiliser des méthodes aseptiques afin d'éviter les contaminations bactériennes.
9. Effectuer les tests à température ambiante (soit approximativement entre 20 to 25°C).
10. Utiliser des procédures correctes de pipetage, respecter le mode opératoire de pipetage durant toute la durée du test afin d'assurer des valeurs optimales et reproductibles.
11. La solution d'arrêt contient de l'acide sulfurique. Tout contact avec la peau ou les yeux doit être évité. En cas de contact, rincer abondamment à l'eau.
12. Ce test ne doit être pratiqué qu'avec du sérum. L'utilisation possible de sang, de plasma ou de tout autre échantillon n'a pas été établie.
13. L'azide de sodium inhibe l'activité du conjugué. Un cône de pipette propre doit être utilisé pour l'ajout du conjugué de manière à ce que l'azide de sodium ne soit pas apporté à partir des autres réactifs.
14. Les sérums hyper-lipémiques, inactivés par la chaleur, hémolysés, ictériques ou contaminés ne doivent pas être testés.

#### PRÉLÈVEMENT ET PRÉPARATION DES ÉCHANTILLONS

Le sérum constitue l'échantillon. Aucun essai n'a été effectué pour tester la compatibilité du test avec d'autres types d'échantillons. Les performances du test n'ont pas été établies pour des sérums hyper-lipémiques, inactivés par la chaleur, hémolysés, ictériques, ou contaminés. On ne sait pas si de tels échantillons donnent des résultats erronés.

#### Collecte des échantillons et manipulations

Les échantillons de sang doivent être prélevés stérilement par des personnes qualifiées en utilisant une technique de ponction veineuse approuvée. Laisser les échantillons de sang coaguler à température ambiante avant de les centrifuger. Transférer stérilement le sérum dans un récipient fermé stérile pour stockage. Le sérum ainsi séparé ne doit pas être conservé plus de 8 heures à 22°C. Si le test ne doit pas être effectué dans les 8 heures, conserver les échantillons entre 2 et 8°C. Si le test n'est pas réalisé dans les 48 heures ou si les échantillons doivent être expédiés, congeler les échantillons à -20°C ou en dessous.<sup>8</sup> Décongeler et homogénéiser les échantillons avant utilisation.

#### Préparation des échantillons, des contrôles et de l'étalon

Diluer chaque échantillon, le contrôle et l'étalon au 1:101. Par exemple, étiqueter les tubes et distribuer 1ml de diluant de l'échantillon dans chaque tube. Ajouter 10 µl de l'échantillon, du contrôle ou de l'étalon dans chacun des tubes correspondant contenant 1ml de diluant de l'échantillon et bien homogénéiser en vortexant.

#### PROCÉDURE DU TEST

L'efficacité du test n'a pas été établie pour des modes opératoires différents de ceux décrits ci-dessous. Des modes opératoires différents tels que temps d'incubation, volume, température ou autres peuvent conduire à des résultats non valides.

1. Porter tous les réactifs à température ambiante avant utilisation. Sortir du stockage au froid le paquet de barrettes recouvertes d'antigène. Afin d'éviter la condensation, porter les barrettes à température ambiante avant d'ouvrir l'emballage en aluminium. Si la totalité de la plaque ne doit pas être utilisée replacer les bandes non utilisées dans leur emballage en aluminium, avec le dessiccateur et refermer hermétiquement. Conserver le matériel non utilisé entre 2 et 8°C. (Note: A la fin du test, ne pas jeter le cadre de fixation pour l'utilisation des barrettes restantes).
2. Remplir chaque puits avec le tampon de lavage 1X (voir la section Matériels fournis) et laisser tremper 5 minutes. Rejeter le liquide de lavage par inversion ou aspiration et secouer vigoureusement pour retirer le liquide résiduel. Retourner les puits vides sur du papier absorbant pour retirer le liquide résiduel.
3. Distribuer 100 µl de diluant d'échantillon dans le puits correspondant au "blanc" et 100 µl de chaque échantillon, contrôle ou étalon dilué (voir préparation des échantillons, du contrôle et étalon ci-dessus) dans leur puits correspondant. (Note: Pour les tests comportant plus de 48 échantillons, il est recommandé de placer au préalable 250 µl de chaque échantillon dilué dans une microplaque de titration vide aux emplacements correspondants à ceux du test ELISA. Les échantillons pourront ainsi être transférés efficacement aux puits d'antigène à l'aide d'une pipette 100 µl multicanaux).
4. Recouvrir les plaques d'un film adhésif (ou les placer dans un incubateur humide) et incuber pendant 60 ± 1 minutes à température ambiante (20 à 25°C).
5. Retirer le film adhésif (ou retirer les puits de l'incubateur humide), et vider le contenu des puits dans un évier ou dans un récipient à déchets approprié.
6. Laver chaque puits en faisant ruisseler du tampon de lavage 1X puis vider le contenu des puits dans un évier ou dans un récipient à déchets approprié.
7. Répéter les lavages (étape 6) 2 fois de plus.
8. Secouer vigoureusement les puits d'antigène pour retirer la solution de lavage 1X. Sécher les puits d'antigène face vers le bas sur du papier absorbant propre pour retirer le tampon de lavage 1X résiduel.
9. Distribuer 100 µl de Conjugué enzymatique à tous les puits en utilisant une pipette multicanaux (8 à 12 canaux).
10. Recouvrir les plaques d'un film adhésif (ou les placer dans un incubateur humide) et incuber pendant 30 ± 1 minutes à température ambiante (20 à 25°C).
11. Répéter les étapes de lavage 5 à 8.
12. Pipéter 100 µl de solution de substrat dans tous les puits en utilisant une pipette multicanaux (8 à 12 canaux). Commencer le chronométrage du temps d'incubation avec l'addition de la solution de substrat au premier puits. (Note: ne jamais mélanger avec du matériel utilisé avec le conjugué.)
13. Incuber pendant 10 ± 1 minutes à température ambiante (20 à 25°C).
14. Stopper la réaction en ajoutant 100 µl de Solution d'arrêt dans chaque puit en utilisant une pipette 100 µl multicanaux (8 ou 12 canaux). Ajouter la solution d'Arrêt de la même manière que la solution de substrat (ordre, vitesse). Dans le puits positif pour l'anticorps la couleur devrait virer du bleu au jaune.
15. Sécher délicatement à l'aide d'un papier absorbant la paroi extérieure du fond des puits afin de retirer les gouttelettes qui pourraient interférer avec la lecture au spectrophotomètre. Ne pas frotter avec le papier absorbant, ce qui pourrait griffer la surface optique des puits. (Note: les grosses bulles à la surface du liquide peuvent altérer la qualité de lecture de OD)

16. Mesurer l'absorbance de chaque puits dans l'heure après arrêt de la réaction. Régler la longueur d'onde du spectrophotomètre à 450 nm. Faire le zéro de l'appareil avec le "blanc" ou corriger manuellement chaque valeur de OD en soustrayant la valeur du "blanc".

**IgG ELISA Mode opératoire (version abrégée)**

1. Diluer les échantillons au **1:101** dans le Diluant d'échantillon (ex : 10 µl + 1000 µl).
2. Tremper les puits **5 minutes** avec **solution de lavage 1X**, vider.
3. **100 µl d'échantillon** pendant **60 minutes**, vider.
4. Laver 3 fois.
5. **100 µl de Conjugué** pendant **30 minutes**, vider.
6. Laver 3 fois.
7. **100 µl de Solution de substrat** pendant **10 minutes**.
8. **100 µl de Solution d'Arrêt**, lire à  $\lambda = 450$  nm.

Lire la section **PROCÉDURE DU TEST** pour les détails importants

**CONTRÔLE DE QUALITE**

Chaque série de mesures doit comporter l'étalon et les deux contrôles. Si plusieurs plaques sont effectuées, chaque plaque doit comporter l'étalon et les deux contrôles. Jusqu'à ce que l'utilisateur soit habitué à l'utilisation du kit, il est recommandé de pratiquer les échantillons, les contrôles et l'étalon en duplicats et l'étalon devrait être fait en duplicats deux fois pour un nombre total de quatre puits. Si des puits seuls sont utilisés, l'étalon devrait être fait en triplicat. Inclure au minimum un puits blanc (contenant le diluant d'échantillon) pour le calibrage des appareils.

L'étalon a été formulé pour donner un maximum de différence entre les sérum positifs et négatifs. Bien que la valeur d'absorbance puisse varier d'une série à l'autre et entre les laboratoires, la valeur moyenne des puits de l'étalon doit être comprise entre 0.100 et 0.700 unité de OD. Les OD de tous les répliquats d'étalon ne devraient pas varier de plus de 0.1 unité d'absorbance par rapport à la moyenne.

Rapporter les résultats sous forme d'index relatifs à l'étalon. Pour calculer l'index, diviser la valeur de densité optique (OD) des échantillons et des contrôles par la moyenne de la valeur de densité optique de l'étalon.

1. Les valeurs de l'index des contrôles positifs devraient être entre 1.5 et 3.5.
2. Les valeurs de l'index des contrôles négatifs devraient être inférieurs à 0.8.

**Si l'étalon ou les contrôles ne sont pas dans cette gamme de valeur, les résultats des tests pour les patients doivent être considérés comme non valides et le test doit être répété.**

Les contrôles positifs et négatifs sont destinés à surveiller une éventuelle défaillance des réactifs. Le contrôle positif ne doit pas être utilisé comme un indicateur de la précision de l'étalon, et ne garantit que la qualité des réactifs. Les conditions de contrôle qualité doivent être effectuées selon les directives locales, d'état et/ou fédérales ou selon les directives d'agrément et les standards de votre laboratoire. Aux Etats-Unis, les autorités de contrôle recommandent que les usagers se réfèrent aux référentiels NCCLS C24-A et 42 CFR 493.1256 pour le guide des bonnes pratiques.

**INTERPRETATION DES RESULTATS**

Pour calculer les valeurs de l'index, diviser les valeurs de densité optique (OD) de l'échantillon par la moyenne des valeurs d'absorbance de l'étalon. L'ordre de grandeur de la valeur de l'index au-dessus de l'étalon n'indique pas la quantité totale d'anticorps présent.

**Développement de l'étalon.** Lors du développement du test, l'étalon a été établi pour légèrement favoriser la spécificité par rapport à la sensibilité en utilisant 217 sérums différents constitués de trois groupes différents: 1) 136 sérums soumis au test du Virus du Nil Occidental et positifs avec un test WNV-IgG ELISA maison (un test ELISA IgG fait à partir d'un antigène natif du WNV<sup>8,9</sup>); 2) 61 sérums soumis à un test du WNV et négatifs avec un test WNV IgG ELISA maison; et 3) 20 donneurs de sang. L'IgG pour le Virus du Nil Occidental de Focus a été positif dans 90.4% des cas (122/135) des sérums positifs au WNV IgG ELISA maison, négatif dans 100% des cas (61/61) des échantillons négatifs au WNV IgG ELISA, et négatif dans 100% (20/20) des échantillons de donneurs de sang.

Index IgG	Interprétation (Résultats IgG seulement)
≥ 1.50	<b>IgG Positif.</b> Une valeur d'index ≥ 1.50 indique que les anticorps IgG contre le WNV ont été détectés. La présence d'anticorps IgG laisse présumer que le patient était ou est actuellement infecté (ou exposé) au Virus du Nil Occidental ou à un autre flavivirus. Un patient peut être positif à cause d'une réaction croisée avec le CMV et/ou les bunyavirus (Par ex. LAC). Les résultats positifs doivent être présentés avec un avertissement sur ce risque de possible réaction croisée avec le CMV et les bunyavirus. Ces maladies doivent être exclues pour confirmer le diagnostic. Les résultats IgG positifs doivent être confirmés par un test de séro-neutralisation par réduction des plaques, ou en suivant les directives récentes de la CDC pour le diagnostic de l'encéphalite du Nil Occidental.
< 1.50 et ≥ 1.30	<b>IgG équivoque.</b> Une valeur d'index ≥ 1.30 et < 1.50 est considérée comme un résultat équivoque. Il est recommandé que les échantillons avec des résultats équivoques soient testés à nouveau en utilisant une méthode différente; Ou le patient peut être re-prélevé deux semaines au moins après et retesté par la même méthode.
< 1.30	<b>IgG Négatif.</b> Une valeur d'index <1.30 indique que les anticorps IgG contre le WNV n'ont pas été détectés. L'absence d'anticorps IgG laisse présumer que le patient n'a pas été infecté par le WNV ou par un autre flavivirus. Cependant, l'échantillon a pu être prélevé avant que les anticorps n'aient été détectables, ou le patient peut être immunodéprimé. Si une infection est suspectée, un autre échantillon devrait être prélevé 7-14 jours plus tard et testé à nouveau. Suivre les directives de la CDC pour le diagnostic de l'encéphalite du Nil Occidental.

Si les résultats du test ELISA IgM de Focus pour le Virus du Nil Occidental sont aussi disponibles pour le même échantillon, alors interpréter comme indiqué :

Résultat IgM	Résultat IgG	Interprétation combinée (IgM & IgG)
Pos	Pos	<b>Laisse supposer que le patient a récemment été ou est actuellement infecté.</b> La présence d'anticorps IgM indique que le patient a récemment ou est actuellement infecté par le WNV ou un autre flavivirus. Cependant, il a été montré que des IgM anti-WNV peuvent persister plus de 500 jours.
	Neg	<b>Se référer aux résultats ci-dessus pour des résultats positifs pour les IgM anti-WNV.</b>
Neg	Pos	<b>Laisse supposer que le patient a dans le passé été infecté par (ou exposé au) WNV.</b> La présence d'IgG sans IgM laisse supposer que le patient a, dans le passé, été infecté ou exposé au WNV ou à un autre flavivirus.

	Neg	<b>Laisse supposer que le patient n'a pas été infecté (ou exposé) au WNV.</b> L'absence d'anticorps IgG et IgM laisse supposer que le patient n'a pas été récemment infecté (ou exposé) au WNV ou à un autre flavivirus.
--	-----	--

**LIMITES**

1. L'efficacité de ce test n'a pas été établie pour le dépistage à l'échelle d'une population. Les tests ne doivent être pratiqués que sur des patients présentant des symptômes cliniques de méningite ou d'encéphalite.
2. L'efficacité de ce test n'a pas été établie pour écarter d'autres maladies manifestant les mêmes symptômes, par exemple l'encéphalite à virus Herpes simplex ou à enterovirus, les méningites d'origine bactérienne, les cas d'encéphalite non infectieuses ou d'encéphalites post-infectieuses.
3. L'efficacité de ce test n'a pas été établie pour des échantillons autres que du sérum, ou pour une détermination visuelle des résultats, ou pour le suivi thérapeutique du virus du Nil Occidental.
4. Pour évaluer le patient tous les résultats de ce test et les autres données sérologiques doivent être mis en corrélation avec l'historique clinique, avec les données épidémiologiques et toutes les autres données à disposition du médecin traitant. Les résultats positifs doivent être confirmés par un test de neutralisation, ou en utilisant les directives du CDC concernant le diagnostic des encéphalites à WNV.<sup>1</sup>
5. La prévalence de l'infection affectera les valeurs prédictives du test.
6. Le test peut se révéler positif avec des personnes qui ne sont pas actuellement infectées par le Virus du Nil Occidental. Du fait de la réaction croisée avec les flavivirus les personnes vaccinées contre les autres flavivirus (ex., virus à encéphalite japonaise, virus de la dengue, virus de la fièvre jaune) ou infectées avec d'autres flavivirus peuvent présenter des résultats positifs. Ces maladies et/ou vaccination doivent être écartées avant confirmation du diagnostic.
7. Le test peut être négatif avec des personnes actuellement infectées par le WNV. Les échantillons prélevés très tôt après l'infection n'auront pas d'anticorps détectables.
8. Une réaction croisée a pu être observée chez certains patients possédant des anticorps contre les cytomégalovirus (CMV) et les bunyavirus (par ex. LAC). Les résultats positifs doivent être considérés avec précaution du fait de cette réactivité croisée avec les CMV et les bunyavirus tels que le virus de La Crosse.

**VALEURS ATTENDUES**

La prévalence des anticorps anti-WNV dépend de l'âge, de la situation géographique, de la méthode de test utilisée et d'autres facteurs. Une enquête de surveillance sérologique menée à New York en 2000 trouva que 0.2% (5/2433) des personnes testées possédaient des anticorps indiquant une infection récente au WNV, et que 1.1% (2/176) des personnes se plaignant de récents maux de tête ou de fièvre avaient des anticorps indiquant une récente infection au WNV.<sup>11</sup> Deux enquêtes de surveillance sérologique menées à New York en 1999 et 2000 montraient que approximativement 1 infection sur 150 (<1%) avait pour conséquence une encéphalite ou une méningite. Les résultats de New York sont en accord avec ceux décrits dans une enquête de surveillance sérologique conduite en Roumanie en 1996 où 1:140 à 1:320 des infections conduisaient à une encéphalite ou une méningite.<sup>2</sup>

**Prévalence dans des échantillons non testés pour les flavivirus (n = 476)**

Focus a validé la réactivité du test avec 476 échantillons recueillis en Amérique du Nord pendant le mois d'août 2003. Les échantillons ont été transmis à un laboratoire situé en Californie du Sud pour un test contre les virus n'appartenant pas à la famille des flavivirus (ex., tests pour d'autres maladies infectieuses). L'échantillon comprenait 63.7% de femmes et 34.9% d'hommes et 1.4% des échantillons provenaient de personnes dont le sexe n'a pas été précisé.

**Prévalence des IgG dans les échantillons soumis à un test pour les virus n'appartenant pas à la famille des Flavivirus (n = 476)**

Age	Neg	Eqv	Pos	% Positive	95%IC
0 à 9	20	0	4	16.7% (4/24)	4.7-37.4%
10 à 19	25	2	2	6.9% (2/29)	0.9-22.8%
20 à 29	63	4	3	4.3% (3/70)	0.9-12.0%
30 à 39	76	1	5	6.1% (5/82)	2.0-13.7%
40 à 49	69	1	8	10.3% (8/78)	4.5-19.2%
50 à 59	47	1	3	5.9% (3/51)	1.2-16.2%
60 à 69	32	1	6	15.4% (6/39)	5.9-30.5%
70 à 79	28	1	5	14.7% (5/34)	5.0-31.1%
80+	15	1	2	11.1% (2/18)	1.4-34.7%
inconnus	41	2	8	15.7% (8/51)	7.0-28.6%
Total	416	14	46	9.7% (46/476)	7.2-12.7%

**CARACTÉRISTIQUES DES PERFORMANCES Site d'étude 1: Réactivité du test Focus avec des Patients présentant une Encéphalite/Méningite (n = 300)**

Un laboratoire d'analyse du Département d'Etat localisé dans le Nord Est des Etats-Unis a évalué la réactivité du test pour des patients ayant une encéphalite/méningite (n = 300). Les patients étaient soupçonnés d'avoir une encéphalite ou une méningite d'origine virale. Pour l'encéphalite d'origine virale les critères comprenaient: 1) fièvre; 2) état mental altéré et/ou tout autre preuve d'implication des zones corticales 3) pléocytose du Fluide Cérébro Spinal (FCS) avec prédominance des lymphocytes et/ou concentration élevée en protéines et coloration Gram et cultures négatives.<sup>12</sup> Pour la méningite d'origine virale les critères comprenaient: 1) fièvre; 2) maux de tête, raideur du cou et/ou tout autres signes de méningite 3) pléocytose du Fluide Cérébro Spinal (FCS) avec prédominance des lymphocytes et/ou concentration élevée en protéines et coloration Gram et cultures négatives.<sup>12</sup> Les sérums ont été successivement soumis au laboratoire, archivés et annotés de manière anonyme. Les méthodes de référence utilisées sont celles de la CDC utilisant un test d'Immucapture IgG ELISA contre le WNV, et un test de séro-neutralisation par réduction des plaques (PRNT) pour le WNV.

Sur les 300 patients présentant des signes d'encéphalite/méningite, 37 patients ont été classés comme confirmés positifs pour l'encéphalite liée au WNV (symptômes de méningite/encéphalite, CDC IgG ELISA WNV positif, et WNV PRNT positif), 210 patients avait un résultat de test présomptif (CDC IgG ELISA WNV) et 53 patients n'ont pas été classés parce que les résultats du test CDC IgG ELISA WNV n'étaient pas concluants ou équivoques. Le test IgG ELISA de Focus a été positif dans 97.3% (36/37) des cas confirmés de patient à encéphalite liée au WNV (incluant 1 résultat équivoque avec le test Focus calculé comme négatif). Sur les 210 patients qui présentaient des résultats présomptifs aux tests, 4 furent classés comme potentiellement positifs pour les encéphalites à flavivirus (CDC IgG WNV positif, PRNT négatif), 1 fut classé comme cas confirmé de dengue (CDC IgG ELISA WNV positif, dengue PRNT positif), et 205 furent classés comme des patients présumés négatifs (CDC IgG ELISA WNV négatifs). Le test Focus IgG ELISA a été positif dans 100% (4/4) des cas présumés positifs à l'encéphalite à WNV, et positif avec le patient positif pour la dengue. Le test Focus IgG ELISA a été négatif dans 99.0% (203/205) des patients reconnus négatifs (incluant 1 cas calculé comme équivoque avec le test Focus). Les 53 patients non classés ont été exclus des calculs.

**Site d'étude 1: Réactivité du test Focus avec des patients présentant des signes d'encéphalite/méningite (n = 300)\***

Echantillons déclarés par le test de référence	Résultats du test IgG ELISA WNV de Focus				
	Neg	Eqv	Pos	Total	%
Sensibilité clinique (symptômes encépha-lite ou méningite, CDC IgG ELISA positifs et WNV PRNT positifs)	0	1	36	37	97.3% (36/37) 95%IC 85.8-99.9%
cas présomptifs CDC IgG ELISA	203	1	6	210	Positif 100% (5/5) 95%IC 47.8-100%  Négatif 99.0% (203/205) 95%IC 96.5-99.9%

\* excluant 53 résultats CDC IgG ELISA (49 indéterminés et 4 équivoques).

† un des échantillons présumé positif était un cas de dengue PRNT positif et les 4 autres présumés positifs étaient négatifs avec le WNV, dengue et SLE PRNT.

**Site d'étude 2: Réactivité du test Focus avec les WNV PRNT Positifs (n = 75)**

Un laboratoire clinique situé dans le mid-west des Etats-Unis a validé la réactivité du test ELISA avec 75 sérums rétrospectifs qui avaient été prédéterminés positifs (par Focus) par un test ELISA avec un antigène natif du WNV et confirmés positifs pour le WNV par un test de séro-neutralisation par réduction des plaques (PRNT). Les sérums ont été successivement soumis au laboratoire, archivés et annotés de manière anonyme. Le test IgG ELISA de Focus a été positif avec 36.0% (27/75) des 75 PRNT positifs (en calculant 4 équivoques comme négatifs), et négatifs pour 44 échantillons.

**Site d'étude 2: Réactivité du test Focus avec les WNV PRNT Positifs (n = 75)**

Echantillons déclarés par le test de référence	Résultats du test IgG ELISA WNV de Focus				
	Neg	Eqv	Pos	Total	%
Sensibilité sérologique positive (PRNT au WNV positif)	44	4	27	75	36.0% (27/75) 95%IC 25.2-92.3%

**Site d'étude 3: Réactivité du test Focus avec des échantillons négatifs à un test d'immunofluorescence indirecte (IFA) au WNV (n = 157)**

Un laboratoire clinique situé dans le sud ouest des Etats-Unis a validé la réactivité avec 157 anciens échantillons négatifs en immunofluorescence pour le WNV.<sup>12</sup> Le test IgG ELISA de Focus a été négatif dans 96.8% des cas (152/157) avec les échantillons négatifs en immunofluorescence pour le WNV (incluant deux échantillons équivoques calculés comme positifs), et positif avec trois échantillons.

**Site d'étude 3: Réactivité du test Focus avec des échantillons négatifs à un test d'immunofluorescence indirecte (IFA) au WNV (n = 157)**

Echantillons déclarés par le test de référence	Résultats du test IgG ELISA WNV de Focus				
	Neg	Eqv	Pos	Total	%
Négatifs par l'IFA WNV	152	2	3	157	95.6% (152/157) 95% IC 91.1-98.2%

**Site d'étude 4: Réactivité du test Focus avec des patients suspectés d'avoir une Encéphalite/Méningite (n = 50)**

Focus a validé la réactivité du test avec 50 sérums de patients suspectés d'encéphalite/méningite. Un laboratoire gouvernemental a fourni les anciens sérums de manière anonyme. Un échantillon a été confirmé positif par PRNT au WNV, et les 49 autres étaient considérés comme négatifs (CDC ELISA) pour les différents arbovirus présents en Amérique du Nord (LAC, EEE, SLE et WNV). Le test Focus IgG ELISA a été négatif dans 95.9% (47/49) des échantillons négatifs pour le WNV et positif avec le cas confirmé positif pour le WNV par PRNT.

**Site d'étude 4: Réactivité du test Focus avec des patients suspectés d'avoir une Encéphalite/Méningite (n = 50)**

Echantillons déclarés par le test de référence	Résultats du test IgG ELISA WNV de Focus				
	Neg	Eqv	Pos	Total	%
Sensibilité sérologique (CDC IgG ELISA positifs et WNV PRNT positifs)	0	0	1	1	100% (1/1) 95% IC NA
Négatifs avec le test CDC IgG ELISA	47	0	2	49	95.9% (47/49) 95% IC 86.0-99.5%

**Site d'étude 4: Réactivité du test Focus avec des échantillons négatifs pour les flavivirus (n = 476)**

Focus a validé la réactivité du test IgG ELISA avec 476 échantillons recueillis en Amérique du Nord pendant le mois d'août 2003. Les échantillons ont été soumis à un laboratoire clinique situé en Californie du Sud pour un test contre les virus n'appartenant pas à la famille des flavivirus (ex., test pour d'autres maladies infectieuses). Les échantillons positifs ont été testés avec le test IgG ELISA contre le WNV de la CDC. Le test IgG ELISA de Focus pour le WNV a été négatif avec 96.8% (426/440) des tests négatifs réalisés avec le test IgG ELISA de la CDC (incluant 14 équivoques calculés comme positifs), et a été dans 100% des cas (21/21) positif avec les échantillons déclarés positifs par le test ELISA de la CDC. Quinze échantillons indéterminés avec le test IgG ELISA de la CDC ont été exclus des calculs de performance.



## Site d'étude 4: Réactivité du test Focus avec des échantillons négatifs pour les flavivirus (n = 476)\*

Echantillons déclarés par le test de référence	Résultats du test IgG ELISA WNV de Focus				
	Neg	Eqv	Pos	Total	%
Positifs par le test ELISA IgG de la CDC	0	0	21	21	100% (21/21) 95%IC 83.9-100%
Négatifs par le test ELISA IgG de la CDC	426	14	0	440	96.8% (426/440) 95% IC 94.7-98.3%

\* exclut 15 échantillons indéterminés avec le test IgG ELISA de la CDC

## Réaction croisée

Focus (Site d'étude 4) et un laboratoire du Département d'Etat à la Santé (DOH) situé dans le Nord-Est des Etats-Unis (Site 1) ont validé les réactions croisées du test ELISA avec des sérums (n = 75) positifs pour d'autres pathogènes susceptibles de générer des réactions croisées. Le DOH a testé les sérums positifs pour l'encéphalite de St. Louis, et Focus a testé les autres. Les sérums ont été archivés et annotés de manière anonyme. Les résultats de ces études sont résumés dans le tableau ci-dessous:

## Focus réaction croisée

Echantillons déclarés par le test de référence	Résultats du test ELISA IgG WNV de Focus					
	Site	Neg	Eqv	Pos	Total	% Positifs
virus de la Dengue (infections secondaires)	4	1	0	19	20	95.0% (19/20) 95%IC 75.1-99.9%
virus de l'encéphalite japonaise	4	14	3	3	20	30.0% (6/20) 95%IC 11.9-54.3%
virus de l'encéphalite de St. Louis	1	9	1	11	21	57.1% (12/21) 95%IC 34.0-78.2%
virus de la fièvre jaune	4	11	4	5	20	45.0% (9/20) 95%IC 23.1-68.5%
Alphavirus (virus de Sindbis & de l'encéphalite équine de l'est)	4	15	0	2	17	11.8% (2/17) 95%IC 0.1-36.4%
Bunyavirus (Jamestown Canyon & La Crosse)	1	12	2	1	15	20.0% (3/15) 95%IC 4.3-48.1%
Herpes simplex virus type 1	4	55	0	5	60	8.3% (5/60) 95%IC 2.8-18.4%
Epstein-Barr virus	4	11	0	1	12	8.3% (1/12) 95%IC 0.2-38.5%
Cytomegalovirus	4	16	0	4	20	20.0% (4/20) 95%IC 5.7-43.7%
Echovirus/Poliovirus	4	18	1	1	20	10.0% (2/20) 95%IC 1.2-31.7%
<i>Borrelia burgdorferi</i> (maladie de Lyme)	4	17	1	2	20	15.0% (3/20) 95%IC 3.2-37.9%

## Reproductibilité

Les études de reproductibilité comprennent les reproductibilités Inter-lot, Inter/Intra-test, et Inter-laboratoires. Pour chaque étude, deux échantillons ont été divisés en deux lots et annotés comme s'ils provenaient de sources différentes, constituant alors des duplicats masqués. Focus (Site d'étude 4) a validé la reproductibilité Inter-lot du test ELISA en testant cinq échantillons à trois jours différents avec trois lots différents. Pour un lot, les échantillons ont été testés en triplicats. Pour les deux autres lots, ils ont été testés en duplicats. Chacun des trois lots de test ELISA avait un lot d'antigène et de puits différents. Focus (Site d'étude 4) a validé la reproductibilité Inter/Intra-test en testant sept échantillons en triplicats, une fois par jour, pendant trois jours, pour un total de 63 points. Un laboratoire du Département d'Etat à la Santé situé dans le Nord-Est des Etats-Unis (Site d'étude 1), un laboratoire clinique situé dans le mid-west des Etats-Unis (Site d'étude 2), et Focus (Site d'étude 4), ont validé la reproductibilité Inter-laboratoires du test ELISA. Chacun des trois laboratoires a testé sept échantillons en triplicats à trois différents jours.

## Reproductibilité

Echantillon	Inter- & Intra-test			Inter-lot		Inter-Lab	
	Index moyen	Intra-test %CV	Inter-test %CV	Index moyen	Index %CV	Index moyen	Index %CV
G6*	0.23	12.2	18.2	0.30	13.1	0.32	11.6
G2*	0.29	21.2	17.3	0.34	7.5	0.35	22.5
G5	0.65	7.9	21.3	0.73	7.2	0.69	19.0
G7*	1.14	3.5	18.2	1.30	5.7	1.21	14.1
G1*	1.22	3.2	17.1	1.36	7.0	1.25	16.4
G4	2.44	1.0	16.2	2.79	4.1	2.47	12.8
G3	2.98	3.9	17.3	3.37	4.1	3.10	12.6

\* Il y avait deux paires de duplicats masqués (même échantillon, identification de l'échantillon différente): G2 et G6 sont une paire masquée, et G1 et G7 constituent la seconde paire masquée.

#### RÉFÉRENCES

- Centers for Disease Control and Prevention (CDC). Epidemic/Epizootic West Nile Virus in the United States: Guidelines for Surveillance, Prevention and Control. 3rd Ed. 2003. p. 25.
- Petersen LR, Marfin AA. West Nile virus: a primer for the clinician. *Ann Intern Med.* 2002 Aug 6;137(3):173-9.
- Campbell GL, Marfin AA, Lanciotti RS, Gubler DJ. West Nile virus. *Lancet Infect Dis* 2002 Sep;2(9):519-29.
- CDC. Information on Arboviral Encephalitides [online], 2001 July 13. Available from: <http://www.cdc.gov/ncidod/dvbid>
- CDC. Eastern Equine Encephalitis -- United States, 1989. *Morb Mortal Wkly Rep.* 1989 Sep 15;38(36):619-20, 625-6.
- Roehrig JT, Nash D, Maldin B, Labowitz A, Martin DA, Lanciotti RS, Campbell GL. Persistence of virus-reactive serum immunoglobulin m antibody in confirmed west nile virus encephalitis cases. *Emerg Infect Dis* 2003 Mar;9(3):376-9.
- CDC-NIH Manual. (1999) Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories. 4<sup>th</sup> ed. And National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS). Protection of Laboratory Workers from Instruments, Biohazards and Infectious Disease Transmitted by Blood, Body Fluids and Tissue (NCCLS M29-A).
- NCCLS. Procedures for the Handling and Processing of Blood Specimens; Approved Guideline (NCCLS H18-A2). 2<sup>nd</sup> ed. (1999).
- Prince HE, Hogrefe WR. Detection of West Nile Virus (WNV)-Specific Immunoglobulin M in a Reference Laboratory Setting during the 2002 WNV Season in the United States. *Clin Diagn Lab Immunol.* 2003 Sep;10(5):764-8.
- Prince HE, and Hogrefe WR. Performance Characteristics of an In-House Assay System Used To Detect West Nile Virus (WNV)-Specific Immunoglobulin M during the 2001 WNV Season in the United States. *Clin Diagn Lab Immunol.* 2003 Jan;10(1):177-9.
- Serosurveys for West Nile Infection - New York and Connecticut Counties, 2000. *Morb Mortal Wkly Rep.* 2001 Jan 26;50(3):37-9.
- New York State Department of Health. New York State West Nile Virus Response Plan. 2001 May. p. 44.
- Malan AK, Stipanovich PJ, Martins TB, Hill HR, Litwin CM. Detection of IgG and IgM to West Nile virus. Development of an immunofluorescence assay. *Am J Clin Pathol.* 2003 Apr;119(4):508-15.

#### REPRÉSENTANT AUTORISÉ

mdi Europa GmbH, Langenhagener Str. 71, 30855 Langenhagen-Hannover, L'Allemagne

#### INFORMATION COMMANDES

Téléphone: (800) 838-4548 (États-Unis uniquement) (565) 240-6500 (International)

Fax: (562) 240-6510

#### ASSISTANCE TECHNIQUE

Téléphone: (800) 838-4548 (États-Unis uniquement) (562) 240-6500 (International)

Fax: (562) 240-6526

Visiter notre site internet à: [www.focusdx.com](http://www.focusdx.com)



PIEL0300G-FR

Rev. K

Date de rédaction: 16 Octobre 2012



Cypress, California 90630 USA

N° d'identification :

**TITRE**

LE VIRUS WEST NILE

Thèse soutenue le

Par

**RESUME :**

Le virus West Nile a été identifié pour la première fois en 1937 en Ouganda, il est transmis essentiellement par des moustiques du genre *Culex* sp. C'est un arbovirus de la famille des *Flaviviridae* infectant les oiseaux. Ce virus fait parler de lui dans les pays du pourtour méditerranéen depuis les années 1990. En 1999 ce virus fait son apparition en Amérique du Nord, il se répand sur l'ensemble du territoire nord-américain durant les dix années qui vont suivre. Ce virus va devenir la principale cause d'encéphalites arbovirales aux Etats-Unis. La sévérité des symptômes et sa transmission *via* transfusion et transplantations d'organes ont nécessité la mise en place de tests de dépistages et des réseaux de surveillance, pour mieux comprendre la biologie, l'écologie et l'épidémiologie de ce virus. En Europe, les épidémies sont plus limitées, mais la récurrence de ces épidémies dans certaines régions est inquiétante. L'infection est souvent asymptomatique, mais des symptômes grippaux et des désordres neurologiques plus graves pouvant entraîner la mort peuvent survenir. Des études sont réalisées afin de mettre au point des solutions thérapeutiques qui sont actuellement absentes et des mesures prophylactiques.

**MOTS CLES : VIRUS, WEST NILE, VIRUS WEST NILE, FLAVIVIRUS, FLAVIVIRIDAE, SURVEILLANCE EPIDEMIOLOGIQUE, BASSIN MEDITERRANEEN.**

Directeur de thèse	Intitulé du laboratoire	Nature
		Expérimentale <input type="checkbox"/>
		Bibliographique <input type="checkbox"/>
		Thème <input type="checkbox"/>

**Thèmes**

1 – Sciences fondamentales  
3 – Médicament  
5 - Biologie

2 – Hygiène/Environnement  
4 – Alimentation – Nutrition  
6 – Pratique professionnelle