

UNIVERSITE MOHAMMED V - RABAT  
FACULTE DE MEDECINE ET DE PHARMACIE - RABAT-

ANNEE: 2016

THESE N°: 48

ETUDE DE LA PREVALENCE DES ANTICORPS ANTI VIRUS  
WEST NILE CHEZ LES DONNEURS DE SANG  
AU CENTRE DE TRANSFUSION SANGUINE DE L'HOPITAL MILITAIRE  
D'INSTRUCTION MOHAMMED V DE RABAT - MAROC

THÈSE

Présentée et soutenue publiquement le : .....

PAR

Mr. Yassine EL HARRAK

Né le 29 Juillet 1989 à Rabat

Médecin Interne du CHU Ibn Sina de Rabat

Pour l'Obtention du Doctorat en Médecine

MOTS CLES : West Nile Virus – Donneurs de sang– Anticorps – Prévalence.

JURY

<b>Mr. M. MRABET</b> Professeur de Médecine Préventive Santé Publique et Hygiène	}	<b>PRESIDENT &amp; RAPPORTEUR</b>
<b>Mr. A. BELMEKKI</b> Professeur d'Hématologie Biologique		<b>JUGES</b>
<b>Mr. H. HARMOUCHE</b> Professeur de Médecine Interne		
<b>Mr. M. RABHI</b> Professeur de Médecine Interne		
<b>Mme. O. FASSI FIHRI</b> Professeur d'Immunologie et de Virologie		
<b>Mme. C. LOTFI</b> Chef du Département de Virologie à Biopharma		

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ

سبحانك لا علم لنا إلا ما علمتنا

إننا أنت العليم الحكيم

سورة البقرة: الآية: 31

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ



## UNIVERSITE MOHAMMED V DE RABAT

### FACULTE DE MEDECINE ET DE PHARMACIE - RABAT

#### DOYENS HONORAIRES :

<b>1962 – 1969</b>	<b>: Professeur Abdelmalek FARAJ</b>
1969 – 1974	: Professeur Abdellatif BERBICH
1974 – 1981	: Professeur Bachir LAZRAK
1981 – 1989	: Professeur Taieb CHKILI
1989 – 1997	: Professeur Mohamed Tahar ALAOUI
1997 – 2003	: Professeur Abdelmajid BELMAHI
2003 – 2013	: Professeur Najia HAJJAJ - HASSOUNI

#### ADMINISTRATION :

<i>Doyen</i>	: Professeur Mohamed ADNAOUI
<i>Vice Doyen chargé des Affaires Académiques et estudiantines</i>	Professeur Mohammed AHALLAT
<i>Vice Doyen chargé de la Recherche et de la Coopération</i>	Professeur Taoufiq DAKKA
<i>Vice Doyen chargé des Affaires Spécifiques à la Pharmacie</i>	Professeur Jamal TAOUFIK
<i>Secrétaire Général</i>	: Mr. El Hassane AHALLAT

#### 1- ENSEIGNANTS-CHERCHEURS MEDECINS

##### ET PHARMACIENS

#### PROFESSEURS :

##### Mai et Octobre 1981

Pr. MAAZOUZI Ahmed Wajih	Chirurgie Cardio-Vasculaire
Pr. TAOBANE Hamid*	Chirurgie Thoracique

##### Mai et Novembre 1982

Pr. BENOSMAN Abdellatif	Chirurgie Thoracique
-------------------------	----------------------

##### Novembre 1983

Pr. HAJJAJ Najia ép. HASSOUNI	Rhumatologie
-------------------------------	--------------

##### Décembre 1984

Pr. MAAOUNI Abdelaziz	Médecine Interne – <i>Clinique Royale</i>
Pr. MAAZOUZI Ahmed Wajdi	Anesthésie -Réanimation
Pr. SETTAF Abdellatif	pathologie Chirurgicale

##### Novembre et Décembre 1985

Pr. BENJELLOUN Halima	Cardiologie
Pr. BENS Aid Younes	Pathologie Chirurgicale
Pr. EL ALAOUI Faris Moulay El Mostafa	Neurologie

**Janvier, Février et Décembre 1987**

Pr. AJANA Ali  
Pr. CHAHED OUZZANI Houria  
Pr. EL YAACOUBI Moradh  
Pr. ESSAID EL FEYDI Abdellah  
Pr. LACHKAR Hassan  
Pr. YAHYAOUI Mohamed

Radiologie  
Gastro-Entérologie  
Traumatologie Orthopédie  
Gastro-Entérologie  
Médecine Interne  
Neurologie

**Décembre 1988**

Pr. BENHAMAMOUCHE Mohamed Najib  
Pr. DAFIRI Rachida  
Pr. HERMAS Mohamed

Chirurgie Pédiatrique  
Radiologie  
Traumatologie Orthopédie

**Décembre 1989**

Pr. ADNANOUI Mohamed  
Pr. BOUKILI MAKHOUKHI Abdelali\*  
Pr. CHAD Bouziane  
Pr. OUZZANI Taïbi Mohamed Réda

Médecine Interne – **Doyen de la FMPR**  
Cardiologie  
Pathologie Chirurgicale  
Neurologie

**Janvier et Novembre 1990**

Pr. CHKOFF Rachid  
Pr. HACHIM Mohammed\*  
Pr. KHARBACH Aïcha  
Pr. MANSOURI Fatima  
Pr. TAZI Saoud Anas

Pathologie Chirurgicale  
Médecine-Interne  
Gynécologie -Obstétrique  
Anatomie-Pathologique  
Anesthésie Réanimation

**Février Avril Juillet et Décembre 1991**

Pr. AL HAMANY Zaïtounia  
Pr. AZZOUZI Abderrahim  
Pr. BAYAHIA Rabéa  
Pr. BELKOUCHI Abdelkader  
Pr. BENCHEKROUN Belabbes Abdellatif  
Pr. BENSOUDA Yahia  
Pr. BERRAHO Amina  
Pr. BEZZAD Rachid  
Pr. CHABRAOUI Layachi  
Pr. CHERRAH Yahia  
Pr. CHOKAIRI Omar  
Pr. KHATTAB Mohamed  
Pr. SOULAYMANI Rachida  
Pr. TAOUFIK Jamal

Anatomie-Pathologique  
Anesthésie Réanimation – **Doyen de la FMPO**  
Néphrologie  
Chirurgie Générale  
Chirurgie Générale  
Pharmacie galénique  
Ophtalmologie  
Gynécologie Obstétrique  
Biochimie et Chimie  
Pharmacologie  
Histologie Embryologie  
Pédiatrie  
Pharmacologie – **Dir. du Centre National PV**  
Chimie thérapeutique

**Décembre 1992**

Pr. AHALLAT Mohamed  
Pr. BENSOUDA Adil  
Pr. BOUJIDA Mohamed Najib  
Pr. CHAHED OUZZANI Laaziza  
Pr. CHRAIBI Chafiq  
Pr. DAOUDI Rajae  
Pr. DEHAYNI Mohamed\*

Chirurgie Générale  
Anesthésie Réanimation  
Radiologie  
Gastro-Entérologie  
Gynécologie Obstétrique  
Ophtalmologie  
Gynécologie Obstétrique

Pr. EL OUAHABI Abdessamad  
Pr. FELLAT Rokaya  
Pr. GHAFIR Driss\*  
Pr. JIDDANE Mohamed  
Pr. TAGHY Ahmed  
Pr. ZOUHDI Mimoun

**Mars 1994**

Pr. BENJAAFAR Noureddine  
Pr. BEN RAIS Nozha  
Pr. CAOUI Malika  
Pr. CHRAIBI Abdelmjid  
Pr. EL AMRANI Sabah  
Pr. EL AOUAD Rajae  
Pr. EL BARDOUNI Ahmed  
Pr. EL HASSANI My Rachid  
Pr. ERROUGANI Abdelkader  
Pr. ESSAKALI Malika  
Pr. ETTAYEBI Fouad  
Pr. HADRI Larbi\*  
Pr. HASSAM Badredine  
Pr. IFRINE Lahssan  
Pr. JELTHI Ahmed  
Pr. MAHFOUD Mustapha  
Pr. MOUDENE Ahmed\*  
Pr. RHRAB Brahim  
Pr. SENOUCI Karima

**Mars 1994**

Pr. ABBAR Mohamed\*  
Pr. ABDELHAK M'barek  
Pr. BELAIDI Halima  
Pr. BRAHMI Rida Slimane  
Pr. BENTAHILA Abdelali  
Pr. BENYAHIA Mohammed Ali  
Pr. BERRADA Mohamed Saleh  
Pr. CHAMI Ilham  
Pr. CHERKAOUI Lalla Ouafae  
Pr. EL ABBADI Najia  
Pr. HANINE Ahmed\*  
Pr. JALIL Abdelouahed  
Pr. LAKHDAR Amina  
Pr. MOUANE Nezha

**Mars 1995**

Pr. ABOUQUAL Redouane  
Pr. AMRAOUI Mohamed  
Pr. BAIDADA Abdelaziz  
Pr. BARGACH Samir  
Pr. CHAARI Jilali\*

Neurochirurgie  
Cardiologie  
Médecine Interne  
Anatomie  
Chirurgie Générale  
Microbiologie

Radiothérapie  
Biophysique  
Biophysique  
Endocrinologie et Maladies Métaboliques  
Gynécologie Obstétrique  
Immunologie  
Traumato-Orthopédie  
Radiologie  
Chirurgie Générale- **Directeur CHIS**  
Immunologie  
Chirurgie Pédiatrique  
Médecine Interne  
Dermatologie  
Chirurgie Générale  
Anatomie Pathologique  
Traumatologie – Orthopédie  
Traumatologie- Orthopédie **Inspecteur du SS**  
Gynécologie –Obstétrique  
Dermatologie

Urologie  
Chirurgie – Pédiatrique  
Neurologie  
Gynécologie Obstétrique  
Pédiatrie  
Gynécologie – Obstétrique  
Traumatologie – Orthopédie  
Radiologie  
Ophtalmologie  
Neurochirurgie  
Radiologie  
Chirurgie Générale  
Gynécologie Obstétrique  
Pédiatrie

Réanimation Médicale  
Chirurgie Générale  
Gynécologie Obstétrique  
Gynécologie Obstétrique  
Médecine Interne

Pr. DIMOU M'barek\*  
Pr. DRISSI KAMILI Med Nordine\*  
Pr. EL MESNAOUI Abbes  
Pr. ESSAKALI HOUSSYNI Leila  
Pr. HDA Abdelhamid\*  
Pr. IBEN ATTYA ANDALOUSSI Ahmed  
Pr. OUAZZANI CHAHDI Bahia  
Pr. SEFIANI Abdelaziz  
Pr. ZEGGWAGH Amine Ali

**Décembre 1996**

Pr. AMIL Touriya\*  
Pr. BELKACEM Rachid  
Pr. BOULANOUAR Abdelkrim  
Pr. EL ALAMI EL FARICHA EL Hassan  
Pr. GAOUZI Ahmed  
Pr. MAHFOUDI M'barek\*  
Pr. MOHAMMADI Mohamed  
Pr. OUADGHIRI Mohamed  
Pr. OUZEDDOUN Naima  
Pr. ZBIR EL Mehdi\*

**Novembre 1997**

Pr. ALAMI Mohamed Hassan  
Pr. BEN SLIMANE Lounis  
Pr. BIROUK Nazha  
Pr. CHAOUIR Souad\*  
Pr. ERREIMI Naima  
Pr. FELLAT Nadia  
Pr. HAIMEUR Charki\*  
Pr. KADDOURI Noureddine  
Pr. KOUTANI Abdellatif  
Pr. LAHLOU Mohamed Khalid  
Pr. MAHRAOUI CHAFIQ  
Pr. OUAHABI Hamid\*  
Pr. TAOUFIQ Jallal  
Pr. YOUSFI MALKI Mounia

**Novembre 1998**

Pr. AFIFI RAJAA  
Pr. BENOMAR ALI  
Pr. BOUGTAB Abdesslam  
Pr. ER RIHANI Hassan  
Pr. EZZAITOUNI Fatima  
Pr. LAZRAK Khalid \*  
Pr. BENKIRANE Majid\*  
Pr. KHATOURI ALI\*  
Pr. LABRAIMI Ahmed\*

Anesthésie Réanimation – **Dir. HMIM**

Anesthésie Réanimation  
Chirurgie Générale  
Oto-Rhino-Laryngologie  
Cardiologie - **Directeur ERSM**  
Urologie  
Ophtalmologie  
Génétique  
Réanimation Médicale

Radiologie  
Chirurgie Pédiatrie  
Ophtalmologie  
Chirurgie Générale  
Pédiatrie  
Radiologie  
Médecine Interne  
Traumatologie-Orthopédie  
Néphrologie  
Cardiologie

Gynécologie-Obstétrique  
Urologie  
Neurologie  
Radiologie  
Pédiatrie  
Cardiologie  
Anesthésie Réanimation  
Chirurgie Pédiatrique  
Urologie  
Chirurgie Générale  
Pédiatrie  
Neurologie  
Psychiatrie  
Gynécologie Obstétrique

Gastro-Entérologie  
Neurologie – **Doyen Abulcassis**  
Chirurgie Générale  
Oncologie Médicale  
Néphrologie  
Traumatologie Orthopédie  
Hématologie  
Cardiologie  
Anatomie Pathologique

**Janvier 2000**

Pr. ABID Ahmed\*  
Pr. AIT OUMAR Hassan  
Pr. BENJELLOUN Dakhama Badr.Sououd  
Pr. BOURKADI Jamal-Eddine  
Pr. CHARIF CHEFCHAOUNI Al Montacer  
Pr. ECHARRAB El Mahjoub  
Pr. EL FTOUH Mustapha  
Pr. EL MOSTARCHID Brahim\*  
Pr. ISMAILI Hassane\*  
Pr. MAHMOUDI Abdelkrim\*  
Pr. TACHINANTE Rajae  
Pr. TAZI MEZALEK Zoubida

Pneumophtisiologie  
Pédiatrie  
Pédiatrie  
Pneumo-phtisiologie  
Chirurgie Générale  
Chirurgie Générale  
Pneumo-phtisiologie  
Neurochirurgie  
Traumatologie Orthopédie  
Anesthésie-Réanimation  
Anesthésie-Réanimation  
Médecine Interne

**Novembre 2000**

Pr. AIDI Saadia  
Pr. AIT OURHROUI Mohamed  
Pr. AJANA Fatima Zohra  
Pr. BENAMR Said  
Pr. CHERTI Mohammed  
Pr. ECH-CHERIF EL KETTANI Selma  
Pr. EL HASSANI Amine  
Pr. EL KHADER Khalid  
Pr. EL MAGHRAOUI Abdellah\*  
Pr. GHARBI Mohamed El Hassan  
Pr. HSSAIDA Rachid\*  
Pr. LAHLOU Abdou  
Pr. MAFTAH Mohamed\*  
Pr. MAHASSINI Najat  
Pr. MDAGHRI ALAOUI Asmae  
Pr. NASSIH Mohamed\*  
Pr. ROUIMI Abdelhadi\*

Neurologie  
Dermatologie  
Gastro-Entérologie  
Chirurgie Générale  
Cardiologie  
Anesthésie-Réanimation  
Pédiatrie  
Urologie  
Rhumatologie  
Endocrinologie et Maladies Métaboliques  
Anesthésie-Réanimation  
Traumatologie Orthopédie  
Neurochirurgie  
Anatomie Pathologique  
Pédiatrie  
Stomatologie Et Chirurgie Maxillo-Faciale  
Neurologie

**Décembre 2000**

Pr. ZOHAIR ABDELAH\*

ORL

**Décembre 2001**

Pr. ABABOU Adil  
Pr. BALKHI Hicham\*  
Pr. BENABDELJLIL Maria  
Pr. BENAMAR Loubna  
Pr. BENAMOR Jouda  
Pr. BENELBARHDADI Imane  
Pr. BENNANI Rajae  
Pr. BENOUACHANE Thami  
Pr. BEZZA Ahmed\*  
Pr. BOUCHIKHI IDRISSE Med Larbi  
Pr. BOUMDIN El Hassane\*  
Pr. CHAT Latifa  
Pr. DAALI Mustapha\*  
Pr. DRISSI Sidi Mourad\*

Anesthésie-Réanimation  
Anesthésie-Réanimation  
Neurologie  
Néphrologie  
Pneumo-phtisiologie  
Gastro-Entérologie  
Cardiologie  
Pédiatrie  
Rhumatologie  
Anatomie  
Radiologie  
Radiologie  
Chirurgie Générale  
Radiologie

Pr. EL HIJRI Ahmed  
Pr. EL MAAQILI Moulay Rachid  
Pr. EL MADHI Tarik  
Pr. EL OUNANI Mohamed  
Pr. ETTAIR Said  
Pr. GAZZAZ Miloudi\*  
Pr. HRORA Abdelmalek  
Pr. KABBAJ Saad  
Pr. KABIRI EL Hassane\*  
Pr. LAMRANI Moulay Omar  
Pr. LEKEHAL Brahim  
Pr. MAHASSIN Fattouma\*  
Pr. MEDARHRI Jalil  
Pr. MIKDAME Mohammed\*  
Pr. MOHSINE Raouf  
Pr. NOUINI Yassine  
Pr. SABBAH Farid  
Pr. SEFIANI Yasser  
Pr. TAOUFIQ BENCHEKROUN Soumia

**Décembre 2002**

Pr. AL BOUZIDI Abderrahmane\*  
Pr. AMEUR Ahmed \*  
Pr. AMRI Rachida  
Pr. AOURARH Aziz\*  
Pr. BAMOU Youssef \*  
Pr. BELMEJDOUB Ghizlene\*  
Pr. BENZEKRI Laila  
Pr. BENZZOUBEIR Nadia  
Pr. BERNOUSSI Zakiya  
Pr. BICHA Mohamed Zakariya\*  
Pr. CHOHO Abdelkrim \*  
Pr. CHKIRATE Bouchra  
Pr. EL ALAMI EL FELLOUS Sidi Zouhair  
Pr. EL HAOURI Mohamed \*  
Pr. EL MANSARI Omar\*  
Pr. FILALI ADIB Abdelhai  
Pr. HAJJI Zakia  
Pr. IKEN Ali  
Pr. JAAFAR Abdeloihab\*  
Pr. KRIOUILE Yamina  
Pr. LAGHMARI Mina  
Pr. MABROUK Hfid\*  
Pr. MOUSSAOUI RAHALI Driss\*  
Pr. MOUSTAGHFIR Abdelhamid\*  
Pr. NAITLHO Abdelhamid\*  
Pr. OUJILAL Abdelilah  
Pr. RACHID Khalid \*

Anesthésie-Réanimation  
Neuro-Chirurgie  
Chirurgie-Pédiatrique  
Chirurgie Générale  
Pédiatrie  
Neuro-Chirurgie  
Chirurgie Générale  
Anesthésie-Réanimation  
Chirurgie Thoracique  
Traumatologie Orthopédie  
Chirurgie Vasculaire Périphérique  
Médecine Interne  
Chirurgie Générale  
Hématologie Clinique  
Chirurgie Générale  
Urologie  
Chirurgie Générale  
Chirurgie Vasculaire Périphérique  
Pédiatrie

Anatomie Pathologique  
Urologie  
Cardiologie  
Gastro-Entérologie  
Biochimie-Chimie  
Endocrinologie et Maladies Métaboliques  
Dermatologie  
Gastro-Entérologie  
Anatomie Pathologique  
Psychiatrie  
Chirurgie Générale  
Pédiatrie  
Chirurgie Pédiatrique  
Dermatologie  
Chirurgie Générale  
Gynécologie Obstétrique  
Ophtalmologie  
Urologie  
Traumatologie Orthopédie  
Pédiatrie  
Ophtalmologie  
Traumatologie Orthopédie  
Gynécologie Obstétrique  
Cardiologie  
Médecine Interne  
Oto-Rhino-Laryngologie  
Traumatologie Orthopédie



Pr. RAISS Mohamed  
Pr. RGUIBI IDRISSE Sidi Mustapha\*  
Pr. RHOU Hakima  
Pr. SIAH Samir \*  
Pr. THIMOU Amal  
Pr. ZENTAR Aziz\*

Chirurgie Générale  
Pneumophtisiologie  
Néphrologie  
Anesthésie Réanimation  
Pédiatrie  
Chirurgie Générale

**Janvier 2004**

Pr. ABDELLAH El Hassan  
Pr. AMRANI Mariam  
Pr. BENBOUZID Mohammed Anas  
Pr. BOUGHALEM Mohamed\*  
Pr. BOULAADAS Malik  
Pr. BOURAZZA Ahmed\*  
Pr. CHAGAR Belkacem\*  
Pr. CHERRADI Nadia  
Pr. EL FENNI Jamal\*  
Pr. EL HANCHI ZAKI  
Pr. EL KHORASSANI Mohamed  
Pr. EL YOUNASSI Badreddine\*  
Pr. HACHI Hafid  
Pr. JABOURIK Fatima  
Pr. KHABOUZE Samira  
Pr. KHARMAZ Mohamed  
Pr. LEZREK Mohammed\*  
Pr. MOUGHIL Said  
Pr. OUBAAZ Abdelbarre\*  
Pr. TARIB Abdelilah\*  
Pr. TIJAMI Fouad  
Pr. ZARZUR Jamila

Ophtalmologie  
Anatomie Pathologique  
Gastro-Entérologie  
Anesthésie Réanimation  
Stomatologie et Chirurgie Maxillo-faciale  
Neurologie  
Traumatologie Orthopédie  
Anatomie Pathologique  
Radiologie  
Gynécologie Obstétrique  
Pédiatrie  
Cardiologie  
Chirurgie Générale  
Pédiatrie  
Gynécologie Obstétrique  
Traumatologie Orthopédie  
Urologie  
Chirurgie Cardio-Vasculaire  
Ophtalmologie  
Pharmacie Clinique  
Chirurgie Générale  
Cardiologie

**Janvier 2005**

Pr. ABBASSI Abdellah  
Pr. AL KANDRY Sif Eddine\*  
Pr. ALAOUI Ahmed Essaid  
Pr. ALLALI Fadoua  
Pr. AMAZOUZI Abdellah  
Pr. AZIZ Nouredine\*  
Pr. BAHIRI Rachid  
Pr. BARKAT Amina  
Pr. BENHALIMA Hanane  
Pr. BENYASS Aatif  
Pr. BERNOUSSI Abdelghani  
Pr. CHARIF CHEFCHAOUNI Mohamed  
Pr. DOUDOUH Abderrahim\*  
Pr. EL HAMZAOUI Sakina\*  
Pr. HAJJI Leila  
Pr. HESSISSEN Leila  
Pr. JIDAL Mohamed\*

Chirurgie Réparatrice et Plastique  
Chirurgie Générale  
Microbiologie  
Rhumatologie  
Ophtalmologie  
Radiologie  
Rhumatologie  
Pédiatrie  
Stomatologie et Chirurgie Maxillo Faciale  
Cardiologie  
Ophtalmologie  
Ophtalmologie  
Biophysique  
Microbiologie  
Cardiologie  
Pédiatrie  
Radiologie

*(mise en disponibilité)*

Pr. LAAROUSSI Mohamed  
Pr. LYAGOUBI Mohammed  
Pr. NIAMANE Radouane\*  
Pr. RAGALA Abdelhak  
Pr. SBIHI Souad  
Pr. ZERAIDI Najia

**Décembre 2005**

Pr. CHANI Mohamed

**Avril 2006**

Pr. ACHEMLAL Lahsen\*  
Pr. AKJOUJ Saïd\*  
Pr. BELMEKKI Abdelkader\*  
Pr. BENCHEIKH Razika  
Pr. BIYI Abdelhamid\*  
Pr. BOUHAFS Mohamed El Amine  
Pr. BOULAHYA Abdellatif\*  
Pr. CHENGUETI ANSARI Anas  
Pr. DOGHMI Nawal  
Pr. ESSAMRI Wafaa  
Pr. FELLAT Ibtissam  
Pr. FAROUDY Mamoun  
Pr. GHADOUANE Mohammed\*  
Pr. HARMOUCHE Hicham  
Pr. HANAFI Sidi Mohamed\*  
Pr. IDRIS LAHLOU Amine\*  
Pr. JROUNDI Laila  
Pr. KARMOUNI Tariq  
Pr. KILI Amina  
Pr. KISRA Hassan  
Pr. KISRA Mounir  
Pr. LAATIRIS Abdelkader\*  
Pr. LMIMOUNI Badreddine\*  
Pr. MANSOURI Hamid\*  
Pr. OUANASS Abderrazzak  
Pr. SAFI Soumaya\*  
Pr. SEKKAT Fatima Zahra  
Pr. SOUALHI Mouna  
Pr. TELLAL Saida\*  
Pr. ZAHRAOUI Rachida

**Octobre 2007**

Pr. ABIDI Khalid  
Pr. ACHACHI Leila  
Pr. ACHOUR Abdessamad\*  
Pr. AIT HOUSSA Mahdi\*  
Pr. AMHAJJI Larbi\*  
Pr. AMMAR Haddou\*  
Pr. AOUMI Sarra

Chirurgie Cardio-vasculaire  
Parasitologie  
Rhumatologie  
Gynécologie Obstétrique  
Histo-Embryologie Cytogénétique  
Gynécologie Obstétrique

Anesthésie Réanimation

Rhumatologie  
Radiologie  
Hématologie  
O.R.L  
Biophysique  
Chirurgie - Pédiatrique  
Chirurgie Cardio – Vasculaire  
Gynécologie Obstétrique  
Cardiologie  
Gastro-entérologie  
Cardiologie  
Anesthésie Réanimation  
Urologie  
Médecine Interne  
Anesthésie Réanimation  
Microbiologie  
Radiologie  
Urologie  
Pédiatrie  
Psychiatrie  
Chirurgie – Pédiatrique  
Pharmacie Galénique  
Parasitologie  
Radiothérapie  
Psychiatrie  
Endocrinologie  
Psychiatrie  
Pneumo – Phtisiologie  
Biochimie  
Pneumo – Phtisiologie

Réanimation médicale  
Pneumo phtisiologie  
Chirurgie générale  
Chirurgie cardio vasculaire  
Traumatologie orthopédie  
ORL  
Parasitologie

Pr. BAITE Abdelouahed*	Anesthésie réanimation
Pr. BALOUCH Lhousaine*	Biochimie-chimie
Pr. BENZIANE Hamid*	Pharmacie clinique
Pr. BOUTIMZINE Nourdine	Ophtalmologie
Pr. CHARKAOUI Naoual*	Pharmacie galénique
Pr. EHIRCHIOU Abdelkader*	Chirurgie générale
Pr. ELABSI Mohamed	Chirurgie générale
Pr. EL MOUSSAOUI Rachid	Anesthésie réanimation
Pr. EL OMARI Fatima	Psychiatrie
Pr. GANA Rachid	Neuro chirurgie
Pr. GHARIB Nouredine	Chirurgie plastique et réparatrice
Pr. HADADI Khalid*	Radiothérapie
Pr. ICHOU Mohamed*	Oncologie médicale
Pr. ISMAILI Nadia	Dermatologie
Pr. KEBDANI Tayeb	Radiothérapie
Pr. LALAOUI SALIM Jaafar*	Anesthésie réanimation
Pr. LOUZI Lhoussain*	Microbiologie
Pr. MADANI Naoufel	Réanimation médicale
Pr. MAHI Mohamed*	Radiologie
Pr. MARC Karima	Pneumo phtisiologie
Pr. MASRAR Azlarab	Hématologique
Pr. MOUTAJ Redouane *	Parasitologie
Pr. MRABET Mustapha*	Médecine préventive santé publique et hygiène
Pr. MRANI Saad*	Virologie
Pr. OUZZIF Ez zohra*	Biochimie-chimie
Pr. RABHI Monsef*	Médecine interne
Pr. RADOUANE Bouchaib*	Radiologie
Pr. SEFFAR Myriame	Microbiologie
Pr. SEKHSOKH Yessine*	Microbiologie
Pr. SIFAT Hassan*	Radiothérapie
Pr. TABERKANET Mustafa*	Chirurgie vasculaire périphérique
Pr. TACHFOUTI Samira	Ophtalmologie
Pr. TAJDINE Mohammed Tariq*	Chirurgie générale
Pr. TANANE Mansour*	Traumatologie orthopédie
Pr. TLIGUI Houssain	Parasitologie
Pr. TOUATI Zakia	Cardiologie

#### **Décembre 2007**

Pr. DOUHAL ABDERRAHMAN	Ophtalmologie
------------------------	---------------

#### **Décembre 2008**

Pr ZOUBIR Mohamed*	Anesthésie Réanimation
Pr TAHIRI My El Hassan*	Chirurgie Générale

#### **Mars 2009**

Pr. ABOUZAHIR Ali*	Médecine interne
Pr. AGDR Aomar*	Pédiatre
Pr. AIT ALI Abdelmounaim*	Chirurgie Générale
Pr. AIT BENHADDOU El hachmia	Neurologie
Pr. AKHADDAR Ali*	Neuro-chirurgie

Pr. ALLALI Nazik  
 Pr. AMAHZOUNE Brahim\*  
 Pr. AMINE Bouchra  
 Pr. ARKHA Yassir  
 Pr. AZENDOUR Hicham\*  
 Pr. BELYAMANI Lahcen\*  
 Pr. BJIJOU Younes  
 Pr. BOUHSAIN Sanae\*  
 Pr. BOUI Mohammed\*  
 Pr. BOUNAIM Ahmed\*  
 Pr. BOUSSOUGA Mostapha\*  
 Pr. CHAKOUR Mohammed \*  
 Pr. CHTATA Hassan Toufik\*  
 Pr. DOGHMI Kamal\*  
 Pr. EL MALKI Hadj Omar  
 Pr. EL OUENNASS Mostapha\*  
 Pr. ENNIBI Khalid\*  
 Pr. FATHI Khalid  
 Pr. HASSIKOU Hasna \*  
 Pr. KABBAJ Nawal  
 Pr. KABIRI Meryem  
 Pr. KARBOUBI Lamya  
 Pr. L'KASSIMI Hachemi\*  
 Pr. LAMSAOURI Jamal\*  
 Pr. MARMADE Lahcen  
 Pr. MESKINI Toufik  
 Pr. MESSAOUDI Nezha \*  
 Pr. MSSROURI Rahal  
 Pr. NASSAR Ittimade  
 Pr. OUKERRAJ Latifa  
 Pr. RHORFI Ismail Abderrahmani \*  
 Pr. ZOUHAIR Said\*

Radiologie  
 Chirurgie Cardio-vasculaire  
 Rhumatologie  
 Neuro-chirurgie  
 Anesthésie Réanimation  
 Anesthésie Réanimation  
 Anatomie  
 Biochimie-chimie  
 Dermatologie  
 Chirurgie Générale  
 Traumatologie orthopédique  
 Hématologie biologique  
 Chirurgie vasculaire périphérique  
 Hématologie clinique  
 Chirurgie Générale  
 Microbiologie  
 Médecine interne  
 Gynécologie obstétrique  
 Rhumatologie  
 Gastro-entérologie  
 Pédiatrie  
 Pédiatrie  
 Microbiologie  
 Chimie Thérapeutique  
 Chirurgie Cardio-vasculaire  
 Pédiatrie  
 Hématologie biologique  
 Chirurgie Générale  
 Radiologie  
 Cardiologie  
 Pneumo-phtisiologie  
 Microbiologie

**PROFESSEURS AGREGES :**

**Octobre 2010**

Pr. ALILOU Mustapha  
 Pr. AMEZIANE Taoufiq\*  
 Pr. BELAGUID Abdelaziz  
 Pr. BOUAITY Brahim\*  
 Pr. CHADLI Mariama\*  
 Pr. CHEMSI Mohamed\*  
 Pr. DAMI Abdellah\*  
 Pr. DARBI Abdellatif\*  
 Pr. DENDANE Mohammed Anouar  
 Pr. EL HAFIDI Naima  
 Pr. EL KHARRAS Abdennasser\*  
 Pr. EL MAZOUZ Samir  
 Pr. EL SAYEGH Hachem

Anesthésie réanimation  
 Médecine interne  
 Physiologie  
 ORL  
 Microbiologie  
 Médecine aéronautique  
 Biochimie chimie  
 Radiologie  
 Chirurgie pédiatrique  
 Pédiatrie  
 Radiologie  
 Chirurgie plastique et réparatrice  
 Urologie

Pr. ERRABIH Ikram  
Pr. LAMALMI Najat  
Pr. LEZREK Mounir  
Pr. MALIH Mohamed\*  
Pr. MOSADIK Ahlam  
Pr. MOUJAHID Mountassir\*  
Pr. NAZIH Mouna\*  
Pr. ZOUAIDIA Fouad

### **Mai 2012**

Pr. AMRANI Abdelouahed  
Pr. ABOUELALAA Khalil\*  
Pr. BELAIZI Mohamed\*  
Pr. BENCHEBBA Driss\*  
Pr. DRISSI Mohamed\*  
Pr. EL ALAOUI MHAMDI Mouna  
Pr. EL KHATTABI Abdessadek\*  
Pr. EL OUAZZANI Hanane\*  
Pr. ER-RAJI Mounir  
Pr. JAHID Ahmed  
Pr. MEHSSANI Jamal\*  
Pr. RAISSOUNI Maha\*

### **Février 2013**

Pr. AHID Samir  
Pr. AIT EL CADI Mina  
Pr. AMRANI HANCHI Laila  
Pr. AMOUR Mourad  
Pr. AWAB Almahdi  
Pr. BELAYACHI Jihane  
Pr. BELKHADIR Zakaria Houssain  
Pr. BENCHEKROUN Laila  
Pr. BENKIRANE Souad  
Pr. BENNANA Ahmed\*  
Pr. BENSEFFAJ Nadia  
Pr. BENSghIR Mustapha\*  
Pr. BENYAHIA Mohammed\*  
Pr. BOUATIA Mustapha  
Pr. BOUABID Ahmed Salim\*  
Pr. BOUTARBOUCH Mahjouba  
Pr. CHAIB Ali\*  
Pr. DENDANE Tarek  
Pr. DINI Nouzha\*  
Pr. ECH-CHERIF EL KETTANI Mohamed Ali  
Pr. ECH-CHERIF EL KETTANI Najwa  
Pr. ELFATEMI Nizare  
Pr. EL GUERROUJ Hasnae  
Pr. EL HARTI Jaouad

Gastro entérologie  
Anatomie pathologique  
Ophtalmologie  
Pédiatrie  
Anesthésie Réanimation  
Chirurgie générale  
Hématologie  
Anatomie pathologique

Chirurgie Pédiatrique  
Anesthésie Réanimation  
Psychiatrie  
Traumatologie Orthopédique  
Anesthésie Réanimation  
Chirurgie Générale  
Médecine Interne  
Pneumophtisiologie  
Chirurgie Pédiatrique  
Anatomie pathologique  
Psychiatrie  
Cardiologie

Pharmacologie – Chimie  
Toxicologie  
Gastro-Entérologie  
Anesthésie Réanimation  
Anesthésie Réanimation  
Réanimation Médicale  
Anesthésie Réanimation  
Biochimie-Chimie  
Hématologie  
Informatique Pharmaceutique  
Immunologie  
Anesthésie Réanimation  
Néphrologie  
Chimie Analytique  
Traumatologie Orthopédie  
Anatomie  
Cardiologie  
Réanimation Médicale  
Pédiatrie  
Anesthésie Réanimation  
Radiologie  
Neuro-Chirurgie  
Médecine Nucléaire  
Chimie Thérapeutique

Pr. EL JOUDI Rachid*	Toxicologie
Pr. EL KABABRI Maria	Pédiatrie
Pr. EL KHANNOUSSI Basma	Anatomie Pathologie
Pr. EL KHLouFI Samir	Anatomie
Pr. EL KORAICHI Alae	Anesthésie Réanimation
Pr. EN-NOUALI Hassane*	Radiologie
Pr. ERREGUIG Laila	Physiologie
Pr. FIKRI Meryim	Radiologie
Pr. GHANIMI Zineb	Pédiatrie
Pr. GHFIR Imade	Médecine Nucléaire
Pr. IMANE Zineb	Pédiatrie
Pr. IRAQI Hind	Endocrinologie et maladies métaboliques
Pr. KABBAJ Hakima	Microbiologie
Pr. KADIRI Mohamed*	Psychiatrie
Pr. LATIB Rachida	Radiologie
Pr. MAAMAR Mouna Fatima Zahra	Médecine Interne
Pr. MEDDAH Bouchra	Pharmacologie
Pr. MELHAOUI Adyl	Neuro-chirurgie
Pr. MRABTI Hind	Oncologie Médicale
Pr. NEJJARI Rachid	Pharmacognosie
Pr. OUBEJJA Houda	Chirurgie Pédiatrique
Pr. OUKABLI Mohamed*	Anatomie Pathologique
Pr. RAHALI Younes	Pharmacie Galénique
Pr. RATBI Ilham	Génétique
Pr. RAHMANI Mounia	Neurologie
Pr. REDA Karim*	Ophthalmologie
Pr. REGRAGUI Wafa	Neurologie
Pr. RKAIN Hanan	Physiologie
Pr. ROSTOM Samira	Rhumatologie
Pr. ROUAS Lamiaa	Anatomie Pathologique
Pr. ROUIBAA Fedoua*	Gastro-Entérologie
Pr. SALIHOUN Mouna	Gastro-Entérologie
Pr. SAYAH Rochde	Chirurgie Cardio-Vasculaire
Pr. SEDDIK Hassan*	Gastro-Entérologie
Pr. ZERHOUNI Hicham	Chirurgie Pédiatrique
Pr. ZINE Ali*	Traumatologie Orthopédie

#### **Avril 2013**

Pr. EL KHATIB Mohamed Karim*	Stomatologie et Chirurgie Maxillo-faciale
Pr. GHOUNDALE Omar*	Urologie
Pr. ZYANI Mohammad*	Médecine Interne

***\*Enseignants Militaires***

## 2- ENSEIGNANTS – CHERCHEURS SCIENTIFIQUES

### PROFESSEURS / PRs. HABILITES

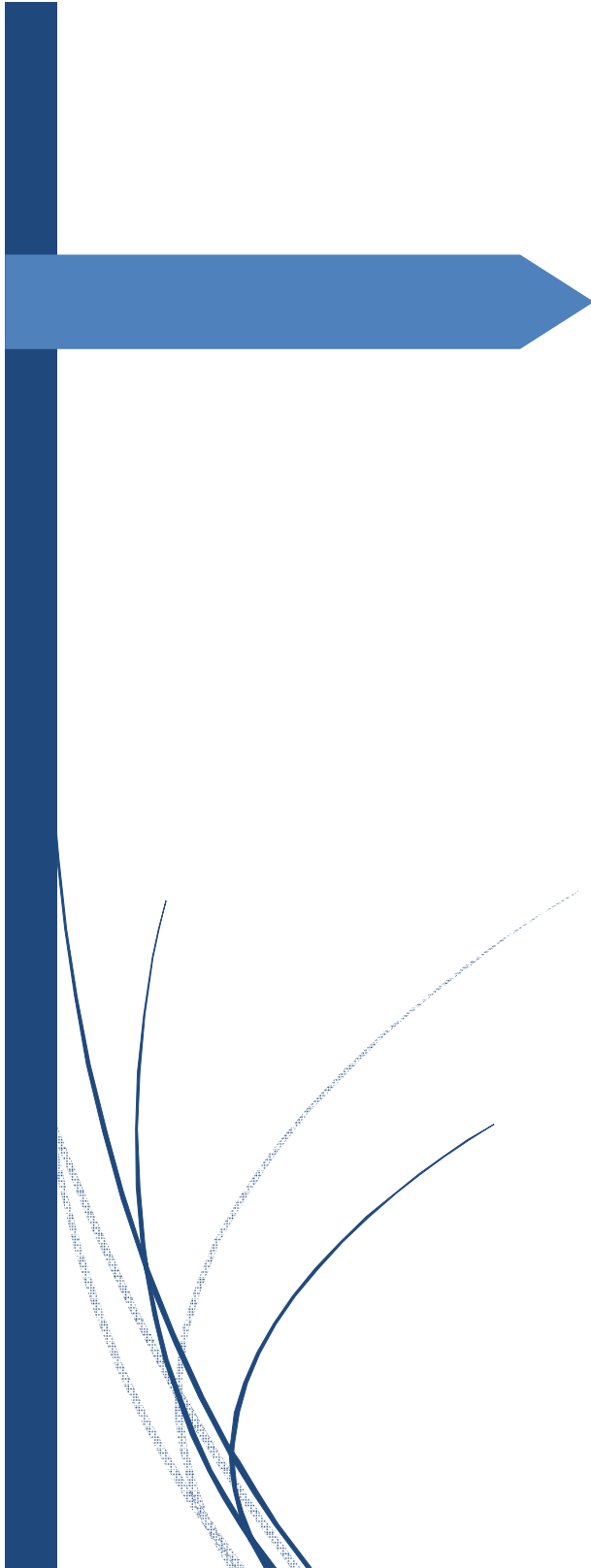
Pr. ABOUDRAR Saadia	Physiologie
Pr. ALAMI OUHABI Naima	Biochimie – chimie
Pr. ALAOUI KATIM	Pharmacologie
Pr. ALAOUI SLIMANI Lalla Naïma	Histologie-Embryologie
Pr. ANSAR M'hammed	Chimie Organique et Pharmacie Chimique
Pr. BOUHOUCHE Ahmed	Génétique Humaine
Pr. BOUKLOUZE Abdelaziz	Applications Pharmaceutiques
Pr. BOURJOUANE Mohamed	Microbiologie
Pr. BARKYOU Malika	Histologie-Embryologie
Pr. CHAHED OUAZZANI Lalla Chadia	Biochimie – chimie
Pr. DAKKA Taoufiq	Physiologie
Pr. DRAOUI Mustapha	Chimie Analytique
Pr. EL GUESSABI Lahcen	Pharmacognosie
Pr. ETTAIB Abdelkader	Zootechnie
Pr. FAOUZI Moulay El Abbes	Pharmacologie
Pr. HAMZAOUI Laila	Biophysique
Pr. HMAMOUCHE Mohamed	Chimie Organique
Pr. IBRAHIMI Azeddine	Biologie moléculaire
Pr. KHANFRI Jamal Eddine	Biologie
Pr. OULAD BOUYAHYA IDRISSE Med	Chimie Organique
Pr. REDHA Ahlam	Chimie
Pr. TOUATI Driss	Pharmacognosie
Pr. ZAHIDI Ahmed	Pharmacologie
Pr. ZELLOU Amina	Chimie Organique

*Mise à jour le 09/01/2015 par le*

*Service des Ressources Humaines*

- 9 JAN 2015





# *Dédicaces*



*A mon très cher père,*

*Source inépuisable d'amour, d'inspiration,  
de tendresse et de sacrifice,  
je peine à exprimer toute l'affection et le respect que je te porte.  
Ce travail n'aurait jamais pu voir le jour sans ton aide  
et tes précieuses indications. Je t'aime.*

*Mon père,  
Et mon idole souveraine,  
Homme de valeur et de bon conseil,  
Docteur rayonnant de mille feux tel un grand soleil,  
Illuminant de sa sagesse les chemins du savoir.  
En ce jour si spécial,  
Le temps s'arrête pour chanter ta bonté sans égale.  
Haute est mon estime pour toi,  
Admirable est ton image pour moi,  
Rien ne saurait égaler mon amour,  
Rien ne saurait égayer mes journées,  
Autre qu'un sourire fier de ta part,  
Koenig ! Je suis honoré de t'appeler Papa.*

*A ma très chère mère*

*Aucune parole, aussi profonde soit-elle, ne saurait exprimer toute  
l'étendue de l'amour et l'affection que je te porte.*

*Tu m'as toujours été d'un bon réconfort et d'un soutien  
encore plus grand. Tes prières et ta bénédiction  
ont fait de moi l'homme que je suis devenu. Je t'aime.*

*Ma mère,*

*Ange venu des cieux,*

*Reine de ce domaine gracieux,*

*Iliade chantant l'amour dans ses vers.*

*Aujourd'hui je t'offre cette ode,*

*Ma mère, ma reine, mon émeraude.*

*Hissons les couleurs,*

*A cette duchesse pleine de douceur,*

*J'étais enfant et tu m'as entouré de tendresse,*

*Jeune, je vivais dans tes bras de princesse,*

*A tout âge, j'ai été bercé par ton sourire charmant,*

*Je suis fier de t'appeler Maman.*

*A ma chère sœur Asmaa,*

*En témoignage de toute l'affection et des profonds  
sentiments fraternels que je te porte. Tu as toujours  
été d'un grand soutien pour moi.*

*Je te souhaite un bonheur éternel, beaucoup  
de santé et un amour inégalé et inégalable.*

*Je t'aime.*

*A cet être qui enchante ma vie,*

*Sœur, confidente et amie,*

*Munie d'un grand cœur en or,*

*Avec un beau sourire plein de réconfort,*

*Annihile tout chagrin et toute langueur.*

*A la mémoire de mes grand-mères Amina et Khadija Benabdelouahab,  
mon cousin Youssef Boulaiche et ma sœur Maha,*

*Votre présence a toujours été d'une grande valeur pour moi.*

*Vos encouragements m'ont constamment bercé tout  
au long de ces années. Votre disparition nous a tous énormément  
touché. Que Dieu ait votre âme en sa sainte miséricorde.*

*A mes tantes et oncles, à mes cousines et cousins ;*

*Mes 2<sup>ème</sup>s parents, et mes premiers amis. En témoignage de mes  
sentiments et nos souvenirs partagés, je vous dédie ce travail  
et vous souhaite beaucoup de bonheur, de santé et d'amour.*

*A mon beau-frère Mohammed Kadiri ;*

*Je te dédie ce travail et te remercie pour ton soutien,  
ton aide et ta présence. Je te souhaite tout le bonheur du monde,  
et beaucoup de courage pour ta spécialité.*

*A mes chers amis Amine Tounsi et Yahia Nachef ;*

*15 ans déjà... Je vous dédie ce travail en guise de remerciement pour toutes ces années passées ensemble et tous nos souvenirs forgés. Je vous suis reconnaissant pour tout le soutien dont vous m'avez fait preuve, toute l'aide nécessaire et tous les bons conseils que vous m'avez offert.*

*A mes ami(e)s Othmane El Houadfi, Aida Saoud,*

*Mariyam El Haddad, Rabab Ouidan et Zineb Idrissi ;*

*Pour tous les instants de joie, tous les bons moments vécus ensemble, pour l'amitié fidèle et inconditionnelle dont vous avez toujours fait preuve, je vous remercie. Je vous souhaite beaucoup de bonheur et de succès dans votre vie professionnelle et familiale.*

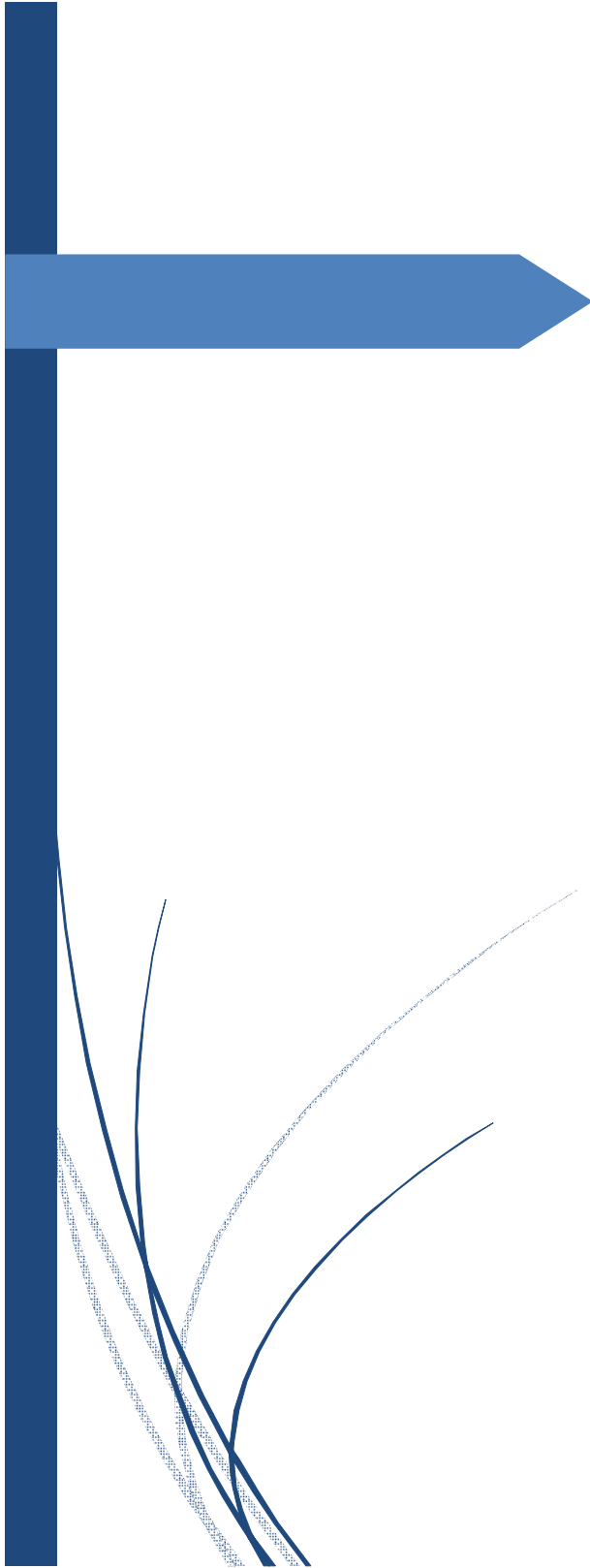
*A mes professeurs : Pr Zeggwagh, Pr Abidi et Pr Dendane ;*

*A mes ami(e)s internes : Aicha, Mouna, Sofia, Amine et Oussama ; et à toute l'équipe du service de la Réanimation Médicale ;*

*Mon passage de 6 mois en tant qu'interne dans ce service et avec ces amis a fait de moi un meilleur homme.*

*Je salue toutes ces grandes personnes et je vous dédie ce travail.*

*A vous tous... Cette thèse est aussi la vôtre...*



# *Remerciements*

*A notre maître, Rapporteur et Directeur de thèse,  
Monsieur le Professeur M. MRABET;  
Professeur de médecine préventive santé publique et hygiène,  
chef de service d'hygiène et médecine des collectivités*

*Nous sommes très sensibles et fiers de l'honneur que vous nous faites de mener à bien cette thèse. Vous avez généreusement accepté de nous accompagner dans ce travail dès le premier jour.*

*Nous vous sommes très reconnaissants pour toute l'attention que vous avez montrée, toute la bienveillance avec laquelle vous avez entouré ce travail, votre continuelle disponibilité, vos conseils et vos judicieuses indications. Nous vous exprimons notre grande admiration pour vos qualités morales, humaines et professionnelles.*

*A notre maître et juge de thèse,  
Monsieur le Professeur A. BELMEKKI,  
Professeur d'hématologie biologique, chef du Centre de Transfusion  
Sanguine des Forces Armées Royales à l'HMIMV de Rabat*

*Nous sommes très touchés de vous compter parmi les membres  
de notre jury. Votre amabilité et votre bonté, jointes à vos qualités  
professionnelles, seront pour nous un bon guide. Veuillez retrouver  
l'expression de notre gratitude pour l'honneur que vous nous faites  
en acceptant de juger ce travail.*



*A notre maître et juge de thèse,  
Monsieur le Professeur H. HARMOUCHE,  
Professeur de médecine interne*

*C'est avec un vrai honneur et un respect inégalé que nous avons sollicité  
vos hautes compétences pour juger ce travail  
et c'est avec beaucoup de bienveillance et d'obligeance  
que vous avez accepté. Vos valeurs humaines et professionnelles  
ont toujours été pour nous un bel exemple. Veuillez trouver  
dans ce travail l'expression de notre gratitude et notre grande estime.*

*A notre maître et juge de thèse,  
Monsieur le Professeur M. RABHI,  
professeur de médecine interne*

*Vous avez accepté de juger ce travail avec une spontanéité et une affabilité émouvantes. C'est pour nous un grand honneur de vous voir siéger parmi les membres du jury et de soumettre notre thèse à votre haute compétence. Nous tenons à vous exprimer nos chaleureux remerciements et notre profond respect. Veuillez trouver ici l'expression de notre grande estime et notre sincère reconnaissance.*

*A notre maître et juge de thèse  
Madame le Professeur O. FASSI FIKRI,  
Professeur d'immunologie et de virologie,  
directeur de l'Institut Agronomique  
et Vétérinaire Hassan II de Rabat*

*Un travail sur le virus du Nil Occidental ne pourrait se dérouler  
sans l'avis de l'un des plus imminents spécialistes du domaine.  
Veuillez accepter mes sincères remerciements et ma reconnaissance  
éternelle d'avoir spontanément accepté de juger ce travail et de siéger  
parmi les membres du jury. Votre bonté d'âme et votre compétence  
professionnelle sont et seront toujours gratifiants.*

*A notre maître et juge de thèse*  
*Mme C. LOTFI, chef du département de virologie*  
*à la société d'état BIOPHARMA*

*Je tiens à vous présenter mes sincères remerciements et ma profonde reconnaissance pour tous les efforts fournis afin de mener à bien ce travail. Vous vous êtes montrées de bons conseils, d'un dévouement sans égal et d'une disponibilité sans fin. Votre amabilité et votre modestie couronnent un grand esprit scientifique. Veuillez trouver ici l'expression de ma grande estime et de ma haute considération.*

*Pr. N. TOUIL, professeur habilité*

*à l'Ecole Royale du Service de Santé Militaire*

*Tout au long de cette thèse, vous vous êtes toujours montrée présente, ambitieuse et d'une aide précieuse. Vous n'avez ménagé ni votre temps ni vos efforts pour vous préoccuper des moindres détails de ce travail.*

*Votre humilité, votre dynamisme et votre esprit scientifique resteront toujours dans ma mémoire. Veuillez trouver dans ce travail l'expression de ma modeste reconnaissance et de mon profond respect.*

*Pr. R. HADEF, professeur d'immunologie, laboratoire d'hématologie*

*et d'immuno-hématologie, Ex-chef du Centre*

*de Transfusion Sanguine à l'HMIMV*

*J'aimerais vous exprimer ma sincère gratitude de nous avoir ouvert les portes du Centre de Transfusion Sanguine des FAR et de nous avoir offert tout le matériel et l'information nécessaire à la bonne collecte des prélèvements. Vous vous êtes toujours montrés bienveillants à notre*

*égard, et vous vous êtes dévoué à la réussite de cette collecte. Je tiens à remercier également Dr. Redouane KARKAR d'avoir accepté de nous*

*aider à remplir les fiches de renseignements des donneurs de sang, et*

*ainsi d'avoir contribué à la réussite de ce travail.*

*Dr Jamal MALIK, Directeur du laboratoire national  
d'analyse biologique BIOFARMAMA et toute l'équipe  
du laboratoire de virologie et de biologie moléculaire*

*Je tiens à vous présenter mes chaleureux remerciements  
et ma profonde gratitude de m'avoir offert un lieu de privilège  
et de renommée pour réaliser les analyses nécessaires à l'élaboration  
de ce travail. Vous m'avez offert tout ce dont j'avais besoin,  
tant sur le plan technique, que sur le plan humain. Votre simplicité  
et votre spontanéité, associées à une maîtrise professionnelle inouïe,  
ne cesseront de réveiller mon admiration.*

*Dr Jalal EL KASOUATI, médecin spécialiste du service  
d'hygiène et santé des collectivités à l'HMIMV*

*J'ai trouvé en vous un bon appui pour réaliser l'étude statistique  
nécessaire à l'interprétation des données de ce travail.*

*Je tiens à vous remercier chaleureusement  
pour votre aide précieuse à l'accomplissement de mes recherches.*

## LISTE DES ABREVIATIONS

<b>ADN</b>	: Acide désoxyribonucléique
<b>ARN</b>	: Acide ribonucélique
<b>ARNm</b>	: ARN messenger
<b>CDC</b>	: Centers for Disease Control and Prevention (Centres de contrôle et de prévention des maladies)
<b>ECP</b>	: Effet cytopathogène
<b>ELISA</b>	: Enzym-Linked-Immuno-Sorbent Assay
<b>FWN</b>	: Fièvre du West Nile
<b>IHA</b>	: Inhibition de l'hémagglutination
<b>Ig</b>	: Immunoglobulines
<b>LCR</b>	: Liquide Céphalo-Rachidien
<b>OIE</b>	: Organisation Mondiale de la Santé Animale (Ex- Office International des Epizooties)
<b>OMS</b>	: Organisation Mondiale de la Santé
<b>ONSSA</b>	: Office National de Sécurité Sanitaire des produits Alimentaires
<b>RIMH</b>	: Réponse Immunitaire par Médiation Humorale
<b>RIMC</b>	: Réponse Immunitaire par Médiation Cellulaire
<b>RT-PCR</b>	: Reverse Transcriptase Polymerase Chain Reaction
<b>SN</b>	: Séroneutralisation
<b>SNC</b>	: Système nerveux central
<b>VIH</b>	: Virus de l'Immunodéficience Humaine
<b>WNV</b>	: West Nile Virus (Virus du Nil Occidental)

## LISTE DES FIGURES

**Figure 1** : Structure du virus West Nile

**Figure 2** : Structure du génome du virus

**Figure 3.** Arbre phylogénétique des souches de virus West Nile basé sur l'analyse complète du génome des lignages 1 and 2 du WNV

**Figure 4** : Mode multiplication du WNV

**Figure 5** : Cycle de transmission du virus West Nile.

**Figure 6** : Cinétique des anticorps anti-WNV

**Figure 7** : Lésions microscopiques du thalamus gauche et de la corde cervicale spinale : Hémorragies sévères, multifocales aiguës incluant la substance grise.

**Figure 8** : Lésions microscopiques observées chez le cheval: Prolifération focale gliale, périvasculite non suppurative et encéphalite causée par une infection à virus West Nile de lignage 2, coloration hématoxyline-eosine, Observation au microscope optique x 200

**Figure 9** : Etapes de la réaction PCR

**Figure 10** : Principe de la technique ELISA compétitive

**Figure 11** : Principe du test de séroneutralisation sur culture cellulaire par observation de l'effet cytopathogène

**Figure 12** : Répartition de la FWN dans le monde



**Figure 13** : Répartition de l'échantillon par tranche d'âge

**Figure 14** : Répartition par âge des échantillons de donneurs de sang

**Figure 15** : Origine géographique des donneurs de sang concernés par l'étude

**Figure 16** : Représentation des donneurs de la zone d'épidémie

**Figure 17** : Prévalence de la séropositivité selon les tranches d'âge

**Figure 18** : Répartition sur le territoire national des échantillons positifs en WNV

**Figure 19** : Prévalence des donneurs positifs selon les zones géographiques

**Figure 20** : Prévalence de la séropositivité selon la zone d'épidémie

**Figure 21** : Prévalence des donneurs de sang positifs selon le mode de vie

**Figure 22** : Prévalence des positifs issus de la zone d'épidémie selon l'âge

**Figure 23** : Prévalence des donneurs positifs provenant du monde rural selon les zones géographiques

**Figure 24** : Prévalence des donneurs positifs du monde rural en zone d'épidémie

**Figure 25** : Prévalence des donneurs positifs provenant du monde rural de la zone d'épidémie selon les tranches d'âge

**Figure 26** : Nombre des donneurs de sangs présumés virémiques par semaine de dons – Etats-Unis, 2003 (CDC, 2004)

## LISTE DES TABLEAUX

**Tableau 1** : Répartition des donneurs de sang selon l'âge

**Tableau 2** : Résultat global de l'analyse par le test de séroneutralisation

**Tableau 3** : Prévalence de la séropositivité chez les personnes dépistées selon les tranches d'âges

**Tableau 4** : Prévalence des donneurs positifs selon les zones géographiques

**Tableau 5** : Prévalence des sérums positifs selon la proximité de la zone d'épidémie

**Tableau 6** : Prévalence des positifs selon le mode de vie : urbain ou rural

**Tableau 7** : Répartition des donneurs de sang issus de la zone d'épidémie selon l'âge

**Tableau 8** : Répartition des donneurs de sang du monde rural selon les 3 zones géographiques

**Tableau 9** : Prévalence des donneurs positifs du monde rural en zone d'épidémie

**Tableau 10** : Répartition des donneurs provenant du monde rural de la zone d'épidémie selon les tranches d'âge

**Tableau 11** : Tableau récapitulatif des covariables avec l'indice  $p$  respectif

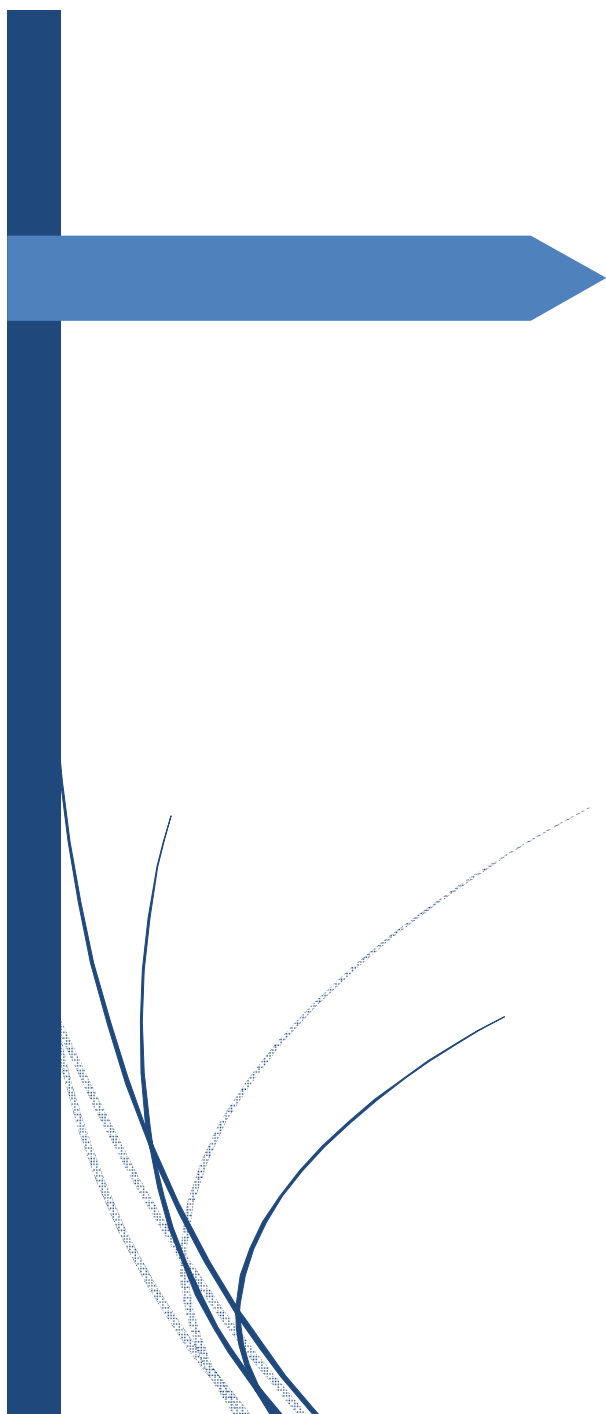
# SOMMAIRE

<b>INTRODUCTION</b> .....	1
<b>CHAPITRE I : REVUE BIBLIOGRAPHIQUE</b> .....	7
<b>A-DEFINITION</b> .....	8
<b>B-CHAINE EPIDEMIOLOGIQUE</b> .....	9
1-Agent pathogène .....	9
a-Classification.....	9
b-Structure et génome .....	9
c-Lignages.....	12
d- Propriétés biologiques.....	15
$\alpha$ -Multiplication in vitro .....	15
$\beta$ -Multiplication in vivo : .....	15
e- Caractères physico-chimiques .....	17
2-Réservoir du virus.....	18
3- La transmission.....	20
a- Les vecteurs du virus .....	20
b- Les espèces hôtes.....	21
c- Cycle de transmission.....	23
4- Facteurs favorisant : .....	28
a-Facteurs écologiques.....	28
1. La température.....	28
2. Photopériode.....	29

3. Pluviométrie .....	29
4. L'humidité .....	30
5. Le vent : .....	30
6. Les ressources trophiques .....	30
7. La végétation .....	31
b-Réceptivité .....	33
5- Sujet réceptif : .....	34
a- Pathogénie .....	34
b- Symptômes cliniques : .....	34
$\alpha$ - Chez l'Homme .....	35
$\beta$ - Chez le cheval : .....	37
$\beta$ -1- Forme aiguë, neurologique, typique.....	37
$\beta$ -2- Formes fébriles de type grippal.....	38
$\Omega$ - Chez les oiseaux .....	38
c- Immunité.....	39
$\alpha$ -Pouvoir antigène:.....	39
$\beta$ -Immunité : .....	40
$\beta$ -1- La réponse immunitaire à médiation humorale .....	40
$\beta$ -2-La réponse immunitaire à médiation cellulaire .....	42
d- Lésions .....	44
$\alpha$ -Lésions macroscopiques .....	44
$\beta$ -Lésions microscopiques.....	45
e- Diagnostic .....	48
$\alpha$ -Diagnostic épidémio-clinique .....	48

$\beta$ -Diagnostic biologique non spécifique chez l'Homme .....	49
$\Omega$ - Diagnostic biologique spécifique du WNV .....	49
$\Sigma$ -Diagnostic du WNV selon l'OMS (OMS, Fact sheets, 2011).....	59
f- Traitement.....	60
g- Prophylaxie.....	62
$\alpha$ - Mesures offensives .....	62
$\beta$ - Mesures défensives .....	63
$\Omega$ - Vaccination.....	65
6- Aspects épidémiologiques.....	66
a-Répartition géographique .....	66
$\alpha$ - Répartition mondiale .....	66
$\beta$ - La Fièvre du West Nile au Maroc .....	68
b- Epidémies récentes.....	70
<b>CHAPITRE II : MATERIEL &amp; METHODE .....</b>	<b>73</b>
B-POPULATION DE L'ETUDE .....	74
C-METHODES.....	75
1-Questionnaire.....	75
2-Les tests biologiques .....	76
3-Déroulement de l'étude.....	78
4-Saisie des données et analyse statistique .....	78
<b>CHAPITRE III : RESULTATS .....</b>	<b>79</b>
A-POPULATION ETUDIEE .....	80
B- RESULTAT GLOBAL : .....	85

C- RESULTATS SELON LES FACTEURS DE RISQUE : UNI VARIABLE .....	86
D- RESULTATS SELON LA COMBINAISON DES FACTEURS : MULTI- VARIABLE .....	95
E-TABLEAU RECAPITULATIF DES COVARIABLES : .....	101
<b>CHAPITRE IV : DISCUSSION</b> .....	102
<b>CONCLUSION</b> .....	111
<b>RESUMES</b> .....	114
<b>ANNEXES</b> .....	118
<b>REVUES BIBLIOGRAPHIQUES</b> .....	122



# *Introduction*

La fièvre du Nil occidental ou West Nile Fever (FVN) est l'une des maladies virales les plus répandues au Monde. Il s'agit d'une zoonose touchant l'homme et plusieurs espèces animales comme les équidés, les camelidés et les oiseaux. L'agent responsable est un arbovirus, appartenant au genre flavivirus et au complexe antigénique de l'encéphalite japonaise, de la famille des Flaviviridae.

Le virus West Nile (WNV) fut l'un des premiers virus responsables des arboviroses à être documenté. Il a été isolé pour la première fois en 1937 par Smithburn et Burke à partir du sérum d'une femme adulte atteinte d'un syndrome fébrile bénin, habitant le district du West Nile en Ouganda (145). En 1953, il a été retrouvé chez des oiseaux (corvidés et colombiformes) dans la région du delta du Nil en Egypte, mettant en évidence l'écologie de cette arbovirose. Ensuite, des cas de la maladie chez des chevaux ont été notés en Egypte (151) et en France dans le début des années soixante. Les cas équins de la fièvre du West Nile sont la première manifestation de la circulation du virus sur le terrain.

Les plus grandes flambées épidémiques ont été localisées sur les principales voies de migration des oiseaux. Le virus n'était pas considéré pathogène pour ces espèces mais, en 1997, une souche plus virulente a provoqué en Israël la mort d'oiseaux de différentes espèces avec des signes d'encéphalite et de paralysie.



À l'origine, le WNV était présent dans toute l'Afrique, dans certaines parties de l'Europe, au Moyen-Orient, en Asie occidentale et en Australie. Depuis son introduction aux États-Unis en 1999, il s'est propagé et il est désormais largement installé au Canada et au Venezuela.

Depuis le milieu des années 90, 3 inquiétants aspects épidémiologiques du WNV ont émergés dans le monde (124) :

-l'augmentation de la fréquence de survenue des épidémies chez les chevaux et les humains (Maroc et Roumanie en 1996, Tunisie en 1997, Italie en 1998, Russie, Etats-Unis et Israël en 1999, Israël, France et Etats-Unis en 2000) ;

-une flambée apparente des cas sévères de maladie chez les humains (infection confirmée : Roumanie 393 cas, Russie 942 cas, Etats-Unis 62 cas en 1999 et 21 en 2000, Israël 417 cas en 2000) ;

-une mortalité importante chez les oiseaux concomitante aux épidémies d'encéphalites dues au WNV chez les humains.

Chez l'Homme, la maladie est souvent asymptomatique. Cependant, environ 30% des personnes infectées développent des signes allant d'un syndrome grippal à des encéphalites. De même, dix pour cent des chevaux infectés par le WNV présentent des troubles neurologiques (29, 132).

Les études phylogénétiques basées sur l'analyse des séquences nucléotidiques ont montré que les isolats du WNV de différentes régions géographiques sont classés en deux lignages majeures (1 et 2), présentant 25 à 30% de différences nucléotidiques (16, 86). Le lignage 1 regroupe des souches

qui circulent en Afrique de l'Ouest, Moyen Orient, Europe de l'Est, Amérique du Nord et Australie. Le lignage 2 ayant une répartition géographique restreinte et circule en Afrique sub-saharienne et Madagascar. Récemment, il a été retrouvé en Europe et plus précisément, en Hongrie, en Grèce et en Italie (7, 8, 119).

En 1999, la souche virale du WNV appartenant au lignage 1 (présente en Tunisie et en Israël) a été introduite en Amérique du Nord, provoquant une flambée spectaculaire de grande ampleur et s'est répandue à travers le continent pour atteindre la côte Ouest en 3 ans (133).

L'apparition du WNV en Amérique du Nord, avec des cas d'encéphalites humaines et équine, semble représenter une étape importante dans l'évolution de ce virus (80, 122). Plusieurs pays tels que la France, le Portugal, le Mexique et Israël ont rapporté des cas humains de l'infection par le WNV en 2003 et 2004. En octobre 2003, un cas humain de méningo-encéphalite due au WNV a été rapporté dans le département du Var dans le sud-est de la France. Il s'agit du premier cas humain depuis 1964 (97). Le total des cas humains en France en 2003 s'établit à 6 cas confirmés et 1 cas probable.

En 2002, durant une nouvelle épidémie en Amérique du Nord, le virus est déclaré transmissible par les dons de sang imposant ainsi sa recherche systématique par amplification du génome viral (RT-PCR) chez les donneurs de sang et d'organes dès 2003 (65). Ce dépistage a permis d'éliminer 818 dons de sang virémiques entre juin et décembre 2003 (30, 40). Malgré ce dépistage, six cas de la fièvre du WN en 2003 et au moins un cas en 2004, dus à la transfusion, ont été toutefois documentés aux Etats-Unis, indiquant que de faibles concentrations des composants d'un sang infectieux pourraient échapper à ce screening (66, 96). La présence des anticorps anti-WNV a également été

retrouvée chez des donneurs de sang de la région centrale d'Anatolia en Turquie en 2010, venant ainsi soulever l'hypothèse du risque de transmission du virus par la transfusion sanguine (47).

Dès lors, le virus WN a pris de l'importance. Outre la transmission vectorielle par la piqûre de l'insecte du genre *Culex*, une contamination par le don de sang et le don d'organes est possible pour l'Homme. L'éclosion de nouvelles zones d'épidémies jamais identifiées auparavant, bien aidé par le réchauffement climatique, faisaient craindre une propagation rapide et inquiétante de ce virus (124).

Par ailleurs, entre 1999 et 2010, 1.8 million de personnes ont été infectées à travers le monde par le virus, avec une morbidité à type de méningo-encéphalite chez plus de 12000 cas et une mortalité dans 1308 cas (77).

Au Maroc, les premiers cas de l'infection par le virus du Nil Occidental ont été signalés chez des équidés en 1996 dans la région du Nord-Ouest, notamment les provinces de Kenitra et de Larache (152) faisant 42 morts chez les équidés et un cas de décès humain rapporté par El Harrak et al. (43). Après un silence épidémiologique de 7 ans, la FWN est réapparue en 2003 (141) occasionnant la mort de 5 chevaux parmi 9 cas infectés et en 2010 la mort de 8 chevaux parmi 17 infectés, au Nord-Ouest du pays (110). En octobre et novembre 2015, 3 cas de la Fièvre du West Nile ont été rapportés chez les équidés (Unpublished Data, ONSSA, 2015). Cette dernière manifestation du virus avait la particularité de survenir en dehors de la période d'épidémie habituelle, qui s'étale de juillet à septembre de chaque année.

La circulation du virus de la Fièvre West Nile a été rapportée aussi en 2008 chez des oiseaux sauvages au Nord-Est de Kenitra (53).

Avec ces épizooties successives, le Maroc est devenu un pays endémique. Sa position privilégiée sur le trajet des oiseaux migrateurs permet une introduction facile et efficace du virus.

Chez l'homme, le décès d'une personne a été attribué à la maladie en 1996 (43). Il s'agissait d'une femme âgée habitant une zone rurale de la province de Kenitra. Plusieurs syndromes grippaux ont été également signalés dans l'entourage de cette personne, ainsi que chez les vétérinaires ayant pris en charge les chevaux malades. La circulation virale a été mise en évidence, par la suite, chez les humains dans les localités de Meknès, Rabat et Kenitra, par des enquêtes sérologiques qui ont objectivé des prévalences respectives de 4,7 , 12 et 18,8% (44), laissant penser que la majorité des transmissions ont eu lieu sur le littoral atlantique et que ces transmissions sont de nature, très probablement, vectorielle.

La preuve de la circulation du WNV chez des humains au Maroc nous amène à soulever la problématique des autres moyens de transmission non vectorielle de ce virus, essentiellement par le biais de la transfusion sanguine et le don d'organes ; transmission qui a été établie en Amérique du Nord, région jadis indemne de la maladie.

L'objectif de notre étude est d'étudier la prévalence des anticorps anti-WNV chez les donneurs de sang marocains au centre de transfusion sanguine de l'Hôpital Militaire d'Instruction Mohammed V de Rabat.



*Chapitre I :  
Revue  
bibliographique*

## **A-DEFINITION**

La fièvre West Nile est une maladie commune à plusieurs espèces, c'est une arbovirose émergente, le plus souvent asymptomatique, transmise à l'homme par les moustiques hématophages du genre *Culex*. Elle peut toutefois se manifester par un syndrome de type pseudo-grippal. Après 3 à 15 jours d'incubation, des complications peuvent survenir et l'infection peut évoluer vers une méningo-encéphalite. La mortalité dépend de la virulence de la souche, du statut immunitaire et de l'âge des patients **(20)**.

Les oiseaux, qu'ils soient sauvages ou domestiques, constituent le réservoir principal du virus. Les oiseaux migrateurs jouent un rôle essentiel dans sa dissémination, en permettant notamment son passage de l'Afrique vers les zones tempérées de l'Europe. Les moustiques s'infectent auprès des oiseaux, amplifient le virus et peuvent contaminer l'homme et les équidés lors de leur repas sanguin sur ces derniers. Ce virus a émergé, depuis une vingtaine d'années, dans les régions tempérées d'Europe et d'Amérique du Nord et présente des risques sérieux pour la santé humaine et animale (équidés) et, depuis 1998, pour les oiseaux **(81)**.

## **B-CHAINE EPIDEMIOLOGIQUE**

### **1-Agent pathogène**

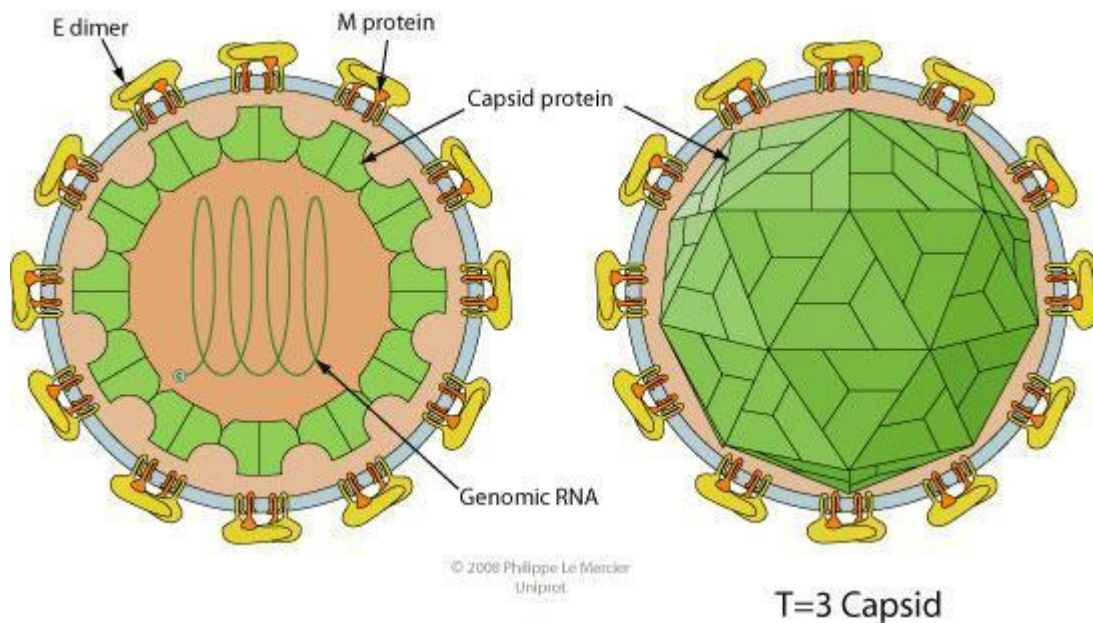
#### **a-Classification**

Le WNV est un arbovirus, appartenant au genre *Flavivirus* de la famille des *Flaviviridae*. Le genre *Flavivirus*, avec plus de 69 membres, inclut les agents pathogènes comme le virus de l'encéphalite japonaise, le virus de Wesselsbron et le virus Zika. Ce genre inclut également de nombreux agents pathogènes majeurs pour l'homme comme la fièvre jaune ou la dengue.

Les membres de ce genre sont regroupés en raison de similitudes au niveau de leur génome, déterminé grâce aux séquençages partiels ou totaux, et parce qu'ils partagent des épitopes de neutralisation communs. La plupart des membres de ce genre sont entretenus naturellement grâce à des cycles de transmission de type arthropode - vertébré - arthropode. Ce sont donc des virus responsables des arboviroses, mais quelques-uns sont transmis par des rongeurs ou des chauves-souris (certaines encéphalites à tiques) (52).

#### **b-Structure et génome**

Le virus West Nile est un virus enveloppé, d'environ 40-45 nm de diamètre, de forme sphérique. Tout comme les autres *Flavivirus* (figure 1), l'enveloppe lipidique très adhérente comporte des spicules glycoprotéiques de surface. Le génome consiste en un ARN<sup>+</sup> monocaténaire qui se situe dans une nucléocapside à symétrie icosaédrique.



**Figure 1** : Structure du virus West Nile

(Source: Microbe Wiki, the student-edited microbiology resource)

Les protéines virales interviennent dans la structure, l'expression, la régulation virale et leur rôle est conservé au sein des différents Flavivirus.

La taille de cet ARN génomique est de 11,3 kb. Il code pour 10 protéines virales. Les virions contiennent trois protéines qui sont codées à partir de l'extrémité 5' du génome et les 7 autres protéines, qui sont non structurales, sont codées à partir de l'extrémité 3'. Les 3 protéines structurales sont celles de la nucléocapside (C), celle d'un précurseur de protéines transmembranaires (prM) et celle des spicules glycoprotéiques de surface (E) (figure 2).



De nombreuses propriétés biologiques des Flavivirus, telles que le tropisme, l'attachement et la fusion cellulaire, la virulence, l'hémagglutination et l'antigénicité sont associées à la protéine d'enveloppe E.

Quant aux sept protéines non structurales, elles varient selon leur poids, leur taille et leur fonction. Parmi ces dernières, nous pouvons trouver par exemple:

-la protéine NS5 : il s'agit de l'ARN polymérase,

-la protéine NS3 : elle a des fonctions d'hélicase, de protéase et elle participe également au complexe de l'ARN polymérase (52).

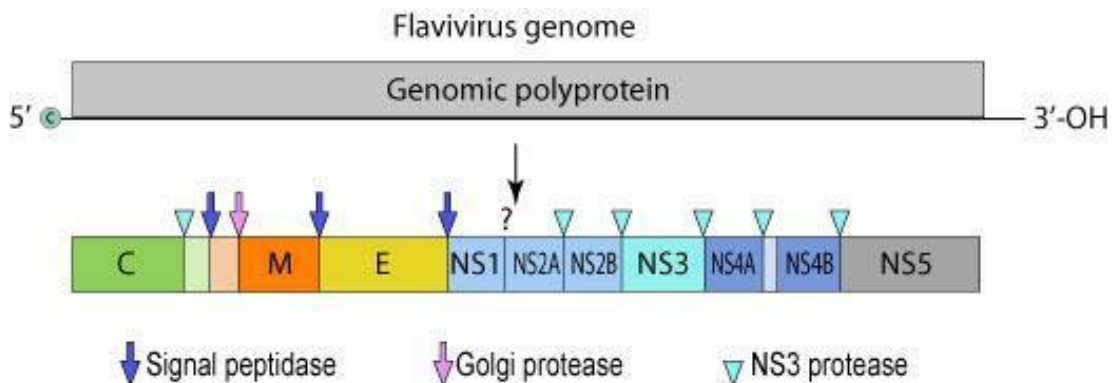


Figure 2 : Structure du génome du virus

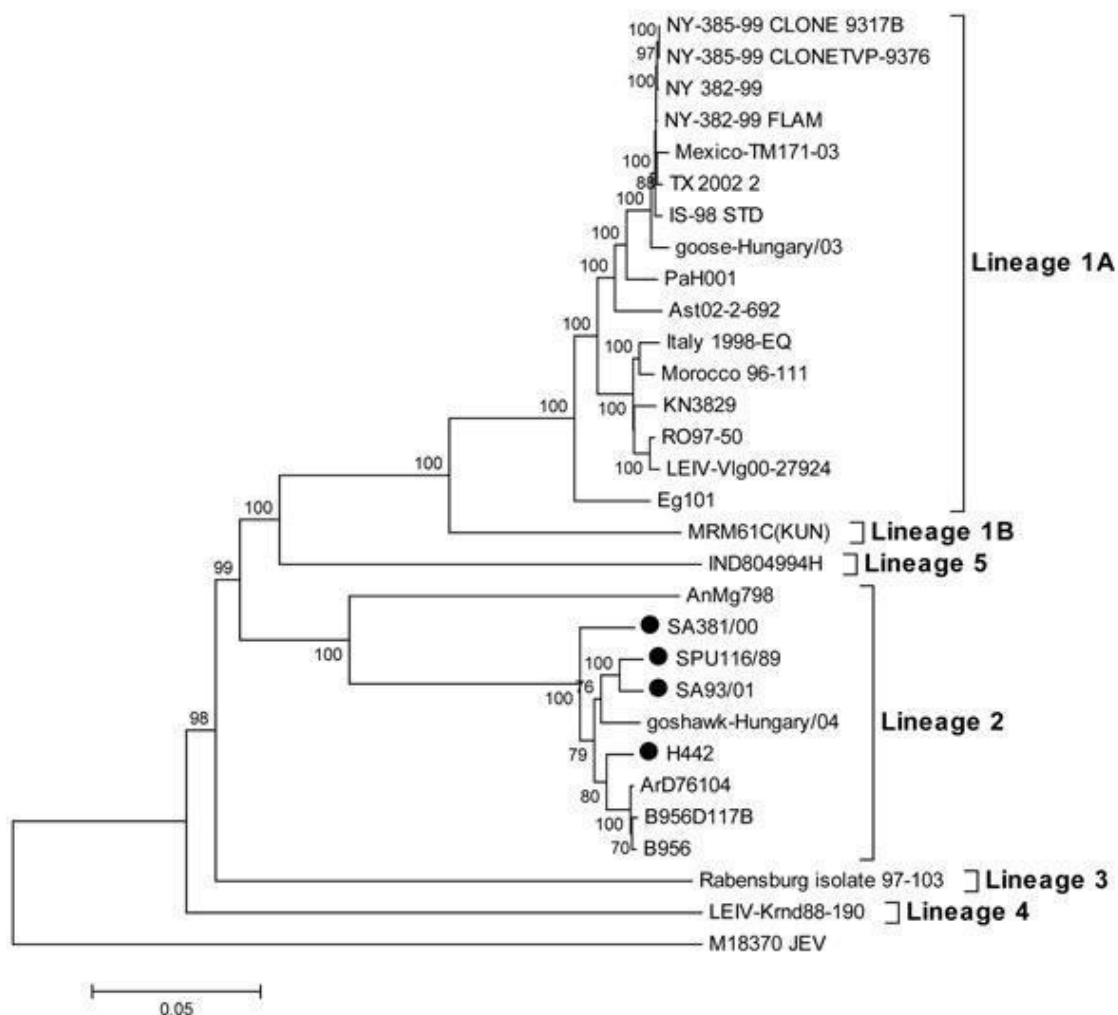
Source: wordpress.com: ([http://flavivirus.files\)/2011/03/flavivirus\\_genome.jpg?w=522&h=155](http://flavivirus.files)/2011/03/flavivirus_genome.jpg?w=522&h=155)

### **c-Lignages**

L'identification et la classification des différentes souches du WNV ont été réalisées en utilisant les tests de séroneutralisation et d'immunofluorescence indirecte, mais l'analyse de la séquence nucléotidique du génome viral (à partir des gènes codant les protéines E ou NS5, ou le génome viral complet) a permis d'identifier plus clairement les relations/distances entre les souches virales et de définir la notion de lignage de virus (avec des différences nucléotidiques d'au moins 20-30% entre lignages) **(29)**.

Ainsi, des analyses phylogénétiques basées sur l'analyse des séquences nucléotidiques d'un fragment de 255 pb du gène codant pour la glycoprotéine E, ont montré que les isolats du WNV de différentes régions géographiques sont classés en deux lignages majeurs (1 et 2), présentant 25 à 30% de différences nucléotidiques **(16, 86)** et en plusieurs sous-clades ou clusters **(16, 33, 87, 137, 138)**.

Le lignage 1 regroupe des souches qui circulent en Afrique de l'Ouest, Moyen Orient, Europe de l'Est, Amérique du Nord et Australie. Le lignage 2 a une répartition géographique restreinte; il circule en Afrique sub-saharienne et Madagascar, récemment, il a été retrouvé en Europe et plus précisément, en Hongrie, en Grèce et en Italie **(7, 8, 119)**. D'autres souches du WNV ont été isolées et présentent des différences génétiques considérables par rapport aux deux lignages 1 et 2 **(94)**; le lignage 3 inclût le virus Rabensburg isolé en République Tchèque en 1997 **(8)**, le lignage 4 est représenté par une seule souche isolée en Russie **(8)** et le lignage 5 correspond à une souche isolée en Inde en 1980 **(17)**.



**Figure 3.** Arbre phylogénétique des souches de virus West Nile basé sur l'analyse complète du génome des lignages 1 and 2 du WNV. (45)

Les souches de virus sont nommées selon les règles suivantes : des lettres correspondant au lieu où la souche a été isolée (Exemple : It=Italie, Ro=Roumanie, Ken=Kenya, Tu=Tunisie, Hu=Hongrie, NY=New York, Is=Israël, Tx=Texas, Eg=Egypte, Chin=Chine, Ind=Inde, Rus=Russie, Rab=Rabensburg, Car=République d'Afrique Centrale, SA=Afrique du Sud, Ug=Uganda), 2 numéros correspondant à l'année d'isolement (ex:00=2000, 96=1996) et le numéro d'accès GenBank. Les séquences obtenues à partir des échantillons de Hongrie en 2008 sont dans le rectangle. Le virus de l'Encéphalite Japonaise (JEV), un Flavivirus proche du West Nile, a été utilisé pour constituer la racine de l'arbre phylogénétique.

Les différentes souches de WNV diffèrent en virulence et pouvoir neuro-invasif. Etant donné que les souches neuro-invasives appartenaient plutôt au lignage 1, les souches de lignage 2 étaient auparavant considérées comme moins virulentes. Cependant des études récentes ont montré que des souches de lignage 2 très virulentes et neuro-invasives ont été détectées en Afrique du Sud **(157)** et qu'elles étaient capables d'induire des signes cliniques chez les chevaux et les humains **(156)**. Ces différences de virulence dans les souches circulantes de virus West Nile ont été avancées pour expliquer en partie les situations épidémiologiques différentes entre les Etats-Unis et l'Europe ou l'Amérique Centrale et du Sud, en particulier les souches comportant un résidu proline au niveau d'un acide aminé critique de la protéine non structurale 3 (NS3-249), comme les souches nord-américaines, la souche hongroise de lignage 2 ayant émergé en 2004 **(18)** et la souche ayant sévi en Grèce en 2010 **(119)**, pourraient être associées à une virulence accrue pour les oiseaux.

## **d- Propriétés biologiques**

### **$\alpha$ -Multiplication in vitro**

Le WNV se multiplie bien in vitro et provoque des effets cytopathiques sur de nombreux types de cellules de mammifères: les cellules Véro (Cellules épithéliales extraites du rein de singe vert africain), les cellules BHK-21 (Baby hamster kidney : rein de hamster nouveau-né), les fibroblastes embryonnaires de poussin et de canard et les cellules PS Clone D (52). Ce virus se multiplie également sur des cellules de moustiques mais sans provoquer d'effet cytopathique, ce qui témoigne à la fois, de leur réceptivité et de leur résistance vis-à-vis de ce virus. Les cellules concernées sont les cellules C6/36, dérivées de *Aedes albopictus* et les cellules AP-61, dérivées de *Aedes pseudoscutellaris* ainsi que des cellules dérivées de *Aedes aegypti* (122). Le WNV se multiplie aussi sur des cultures de cellules primaires et sur des lignées de cellules humaines et murines appartenant aux lignées des monocytes et macrophages.

### **$\beta$ -Multiplication in vivo :**

La réplication virale se passe dans le cytoplasme de la cellule hôte en étroite association avec le réticulum endoplasmique (Figure 4). Le WNV infectieux s'attache aux cellules cibles (neurones, monocytes, macrophages), puis pénètre dans celle-ci par fusion avec la membrane cytoplasmique de la cellule hôte soit par le dépôt de la nucléocapside dans le cytoplasme ou la formation d'une vésicule (endosome) par l'invagination de la membrane cytoplasmique. Il y a réplication de l'ARN viral et synthèse des protéines en plusieurs copies par l'utilisation des mécanismes de réplication de la cellule hôte, l'assemblage et la libération des virus matures de la cellule infectée se fait par bourgeonnement (60).

Le virus a un neurotropisme marqué **(21)**. Le mécanisme par lequel le WNV franchit la barrière hémato-encéphalique demeure inconnu. La dissémination du virus se fait, en partie, par voie hématogène. Le changement de la perméabilité des cellules endothéliales par le médiateur TNF- $\alpha$  (Tumor Necrosis Factor alpha) pourrait faciliter l'entrée du virus dans le SNC. D'autres mécanismes pourraient contribuer à l'infection du SNC par le WNV, comme le transport passif via les cellules épithéliales du plexus choroïde ; l'infection des neurones olfactifs and sa diffusion vers le bulbe olfactif ; un transport en « cheval de Troie » durant lequel le WNV est transporté par les cellulaires immunitaires qui passent par le SNC ; et un transport axonal rétrograde direct depuis les neurones périphériques infectés. Bien que le mécanisme exact du neurotropisme du WNV chez l'Homme nécessite des études supplémentaires, une variation des concentrations des cytokines qui peut moduler la perméabilité de la barrière hémato-encéphalique, l'infection des monocytes et des cellules épithéliales du plexus choroïdes ont déjà été documentées chez un modèle animal **(134)**.

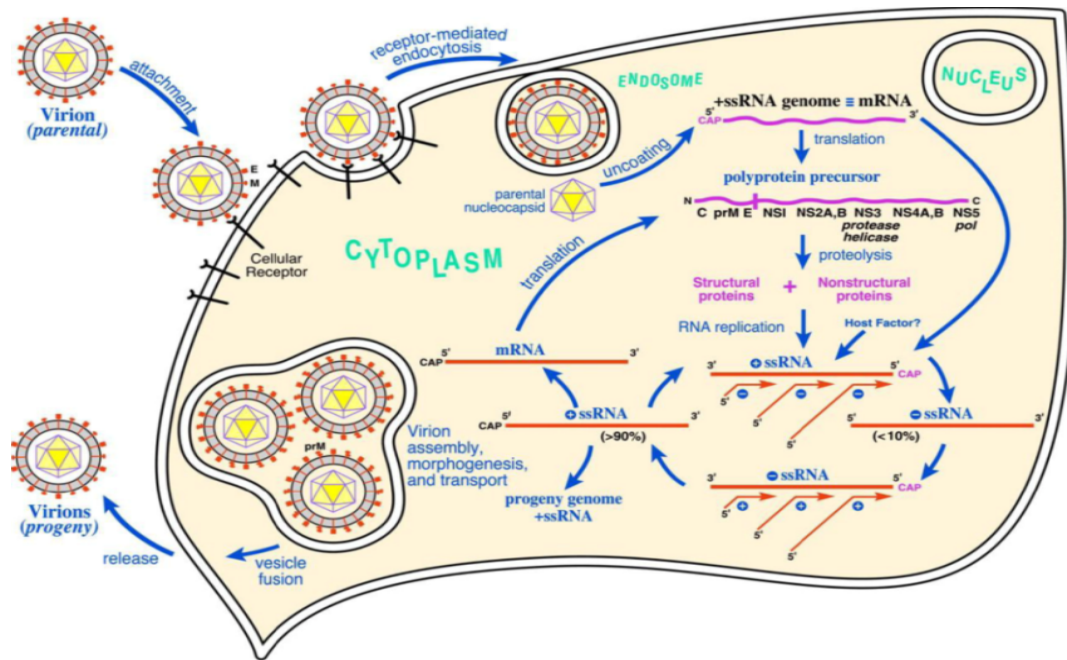


Figure 4 : Mode multiplication du WNV

(Source : <http://www.intechopen.com/source/html/43242/media/image4.png>)

### e- Caractères physico-chimiques

A l'instar des autres Flavivirus, le virus West Nile est peu stable dans l'environnement et il est facilement inactivé par la chaleur, par la lumière et par des désinfectants contenant des détergents ou des solvants lipidiques, c'est-à-dire tous les désinfectants communs. Les prélèvements organiques susceptibles de le contenir doivent être conservés à  $-70^{\circ}\text{C}$  (52).

## **2-Réservoir du virus**

Après la découverte du WNV, les premiers travaux ont été conduits en Egypte. En couplant les volets entomologiques, humain et animal, les études ont révélé l'implication des moustiques du genre *Culex* comme vecteurs principaux et des oiseaux comme principaux hôtes amplificateurs qui développent une virémie suffisante pour permettre l'infection des moustiques lors de la prise du repas de sang. Après une période d'incubation extrinsèque, le moustique peut infecter d'autres oiseaux.

Les oiseaux représentent ainsi les hôtes amplificateurs et naturels du virus. Les oiseaux résidents assurent l'amplification locale alors que les oiseaux migrateurs assureraient l'introduction, la dissémination ou la réintroduction périodique. Chez l'oiseau réceptif au virus, une virémie se met en place environ 1 à 4 jours après infection. Le niveau de virémie varie selon les espèces d'oiseaux et sa durée est de l'ordre de quelques jours. Le mode principal d'exposition est la piqûre par un moustique infecté. Cependant, des cas de transmission directe par voie alimentaire ou par contacts directs entre oiseaux ont été décrits expérimentalement **(57)**. L'oiseau va ensuite développer une immunité stérilisante qui reste présente pendant toute la vie de l'animal. En Europe, la mortalité des oiseaux suite à l'infection par le WNV est rare. En Israël et aux Etats-Unis lors de l'épidémie de New-York en 1999, de nombreux oiseaux sont, toutefois, morts de l'infection. Le WNV a été détecté aux Etats-Unis sur des oiseaux morts d'au moins 138 espèces **(81)**.



Le réservoir aviaire du virus est constitué d'oiseaux domestiques et d'oiseaux sauvages migrateurs de la famille des ardéiformes (hérons, aigrettes, pigeons....) et des passeriformes (moineaux, corneilles, corbeaux,....). L'infection demeure généralement inapparente malgré une virémie de longue durée à des titres élevés.

Néanmoins, lors des épizooties américaines, certaines espèces se sont révélées réceptives dans les conditions naturelles et ont développé la maladie. Aux Etats Unis, la mortalité chez les oiseaux, les corvidés notamment, apparaît comme un indicateur précoce de la présence du WNV dans une zone donnée, les cas équités de la FWN signifient que la transmission a eu lieu.

Parmi les oiseaux migrateurs du Maroc, réservoirs potentiels du virus, on peut citer les hirondelles, les pluviers, les hérons, les mouettes et les canards. A titre indicatif, on évalue à 309 le nombre d'espèces migratrices rencontrées au Maroc, dont 80 espèces aquatiques (**50**).

Les migrations d'oiseaux semblent être le mécanisme principal de dissémination. Des similarités antigéniques qui existent entre les souches de WNV des pays d'Afrique et d'Europe, peuvent être attribuées à la circulation du virus entre ces pays par l'intermédiaire des oiseaux. De même que la souche isolée au Maroc en 1996 présente une grande similitude génomique avec la souche isolée du *Culex* spp au Sénégal en 1993.

Les migrations d'oiseaux, peuvent être aussi le mécanisme majeur de l'introduction du virus dans des zones tempérées où l'hiver est trop froid pour permettre la transmission du virus par les moustiques d'une année à l'autre. Toutefois, l'introduction du virus dans le nouveau monde serait plus liée aux activités commerciales.-

### **3- La transmission**

#### **a- Les vecteurs du virus**

Le WNV est transmis par les moustiques au sein des populations d'oiseaux. Plus rarement, il peut être transmis aux hôtes accidentels et sensibles comme l'homme et le cheval.

Les espèces impliquées dans la transmission du WNV appartiennent essentiellement au genre *Culex*. En Afrique et au Moyen Orient, le principal vecteur est *Culex univittatus* associé à *Culex antennatus*, *Culex pipiens* et *Culex theileri* en Afrique du Sud (**100, 107, 151**). En Europe et Russie, les principaux vecteurs sont *Cx. pipiens* et *Cx. modestus* (**15, 104, 137**) et en Asie, il s'agit de *Cx. tritaeniorhynchus*, *Cx. quinquefasciatus* et *Cx. vishnui* (**120**). Aux États-Unis, les espèces qui jouent un rôle dans la transmission du WNV sont *Cx. tarsalis*, *Cx. pipiens*, *Cx. restuans*, *Cx. salinarius* et *Cx. erraticus* au Nord (**5,62, 93**) et au Sud, *Cx. quinquefasciatus* associé à *Cx. nigripalpus* à l'Est et *Cx. tarsalis* à l'Ouest (**66, 128**). *Cx. nigripalpus*, *Cx. bahamensis* et *Cx. quinquefasciatus* sont des vecteurs principaux du WNV en Amérique centrale et aux Caraïbes (**10, 89**).

Les moustiques ingèrent le virus lors d'un repas sanguin chez les oiseaux et s'infectent dès lors. Après un passage à travers la barrière intestinale, le virus doit se répliquer localement puis atteindre les glandes salivaires pour pouvoir être transmis lors d'un repas sanguin ultérieur. Cette étape indispensable, dite période extrinsèque, est liée directement aux conditions climatiques (température, hygrométrie) qui sont des facteurs déterminants en terme

d'activité des vecteurs et de durée de transmission. Les espèces dites compétentes sont les espèces véritablement impliquées dans le cycle de transmission du virus **(163)**.

La multiplication du WNV chez les moustiques et la dynamique des populations de ces insectes sont fortement dépendantes des conditions climatiques, principalement de température et d'hygrométrie. Les foyers de la FWN apparaissent selon un mode saisonnier à la fin de l'été ou en automne, dans les régions tempérées d'Europe **(161)**. La persistance du virus au cours de l'hiver n'a jamais été mise en évidence en Europe, mais elle ne peut être exclue. Elle pourrait résulter du maintien d'une transmission à bas bruit pendant l'hiver, d'une infection chronique chez les oiseaux ou de la persistance du virus chez le vecteur **(163)**.

La transmission par des vecteurs autres que les moustiques a été suspectée car le WNV a été détecté chez des Cératopogonidés (diptères siphonaptères tels que les puces) et chez divers ectoparasites des oiseaux : Hippoboscidés **(49)**, tiques dures, tiques molles et autres acariens nidicoles **(68, 95, 105, 106)**. Les tiques, en particulier, sont considérées comme des vecteurs potentiels **(95, 105)**.

### **b- Les espèces hôtes**

Le virus West Nile a été isolé, dans la nature, à partir de différents genres d'oiseaux et de mammifères et cela dans différentes régions du globe. Des enquêtes sérologiques indiquent la présence d'anticorps à WNV chez l'homme, chez une grande variété d'espèces d'oiseaux sauvages et domestiques, chez des mammifères sauvages comme des lémuriens, des chimpanzés, des rongeurs, des

chauves-souris et chez des mammifères domestiques comme des chameaux, des chevaux, des chèvres, des vaches, des moutons et des porcs. Des études récentes ont également rapporté des infections chez des lapins sauvages, des chiens domestiques et des amphibiens **(122)**. Pourtant, chacune de ces espèces n'occupe pas la même place dans le cycle de transmission du WNV : certaines sont des réservoirs, et d'autres, des hôtes accidentels.

Aux Etats-Unis, l'infection a été décrite chez plus de 29 espèces de mammifères. A la différence de ce qui est observé chez les oiseaux, ces espèces ne développent généralement pas une virémie d'un niveau suffisant pour permettre la transmission du virus à des vecteurs compétents.

Le rôle des autres espèces animales dans l'amplification virale a été étudié et la présence d'anticorps vis-à-vis du virus WN a été rapportée chez de nombreux mammifères domestiques ou sauvages **(68)**. En revanche, les isollements sont rares **(15, 68, 151)**.

Les infections expérimentales sur différentes espèces ont montré que la virémie développée après inoculation du virus est en général faible chez les mammifères **(20, 139, 151)**. Ceux-ci sont donc considérés comme moins importants que les oiseaux dans le maintien du cycle de transmission du virus du West Nile **(68)**. Toutefois, des études récentes sur des rongeurs **(154)** et des lagomorphes **(153)** laissent penser que le rôle des mammifères dans la circulation du virus a peut-être été sous-estimé. La circulation du WNV a aussi été montrée chez les reptiles et les amphibiens **(15, 107)**. Les investigations menées jusqu'à présent ont montré qu'une virémie suffisante pour infecter des

moustiques vecteurs est observée chez certaines espèces mais pas chez d'autres **(79, 81, 102)**. Certains reptiles et amphibiens pourraient donc aussi avoir un rôle significatif dans l'amplification du virus WN.

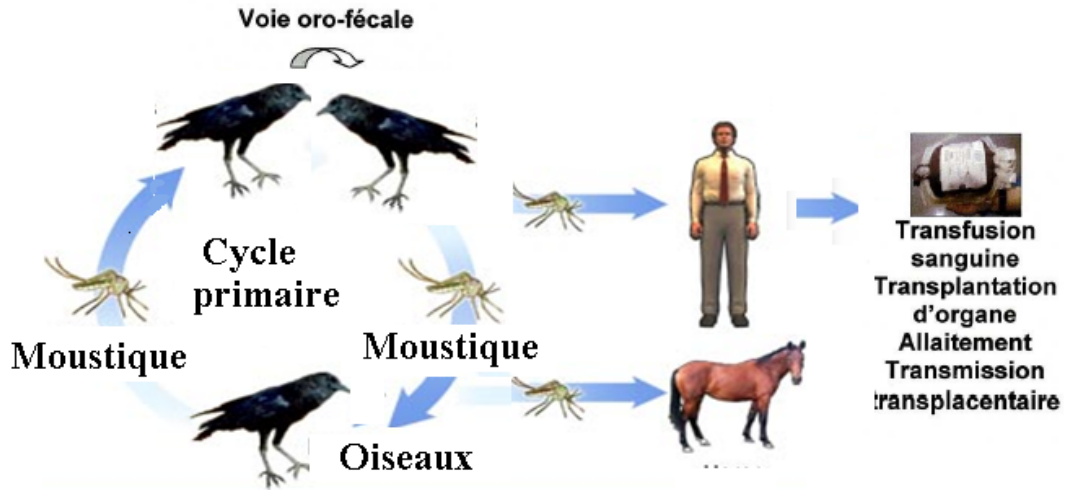
L'apparition de cas chez l'homme et le cheval est liée à une circulation importante du virus dans l'avifaune, via des vecteurs ornithophiles et mammophiles, capables de s'infecter à partir d'oiseaux virémiques et de piquer ultérieurement un hôte sensible **(163)**.

Chez le cheval, le niveau de virémie a été déterminé comme inférieur à 103 particules virales/ml et est trop faible pour permettre l'infection des vecteurs **(20)**. Le cheval ou l'homme constituent ainsi des hôtes sans issue, des culs-de-sac épidémiologiques **(164)**. Cependant, en termes de santé publique, les chevaux, par leur sensibilité au WNV, peuvent servir de sentinelles du niveau d'amplification du virus. Ils sont considérés à juste titre comme des révélateurs épidémiologiques de la circulation du virus et peuvent permettre de prévenir les autorités sanitaires vétérinaires et médicales de l'imminence possible du passage du virus à l'homme.

### **c- Cycle de transmission**

Le virus est maintenu dans un cycle endémique «oiseau-moustique-oiseau». Cependant il existe des infections dites «cul de sac» ou accidentelles chez le cheval et l'homme. Chez ces derniers, la virémie est insuffisante pour permettre par la suite l'infection du moustique **(151)**.

D'autres cycles de transmission ont été toutefois décrits impliquant certains amphibiens ou reptiles comme hôtes amplificateurs **(79, 82)**.



**Figure 5** : Cycle de transmission du virus West Nile. (162)

--

Le cycle biologique peut se diviser en deux étapes :

- un premier cycle moustiques-oiseaux, ces derniers permettant l'amplification de la circulation virale.
- une seconde phase révélatrice de cette amplification est caractérisée par l'atteinte des hôtes secondaires que sont l'homme et le cheval principalement.

L'amplification nécessite des moustiques et des oiseaux compétents et des conditions climatiques favorables.

La compétence vectorielle est l'aptitude d'un arthropode à être infecté par un pathogène, à assurer son développement et à le transmettre efficacement à un nouvel hôte sensible **(130, 160)**. Elle est évaluée au laboratoire, varie en fonction de divers facteurs, intrinsèques et extrinsèques, comme par exemple la température **(41)**.

D'autres facteurs pourraient également jouer un rôle clé dans l'amplification du virus WN, en particulier si celle-ci ne repose pas uniquement sur un cycle primaire oiseau-moustique-oiseau. La possibilité d'une transmission d'oiseau à oiseau en l'absence de moustiques a été mise en évidence pour différentes espèces en conditions de laboratoire **(81, 101)**. En conditions naturelles, cette transmission non vectorielle pourrait s'avérer particulièrement importante pour les espèces qui vivent en communauté **(9, 158)**. Elle implique que le virus soit excrété par les individus infectés (fèces, salive, sécrétions naso-pharyngées, fluides oculaires), qu'il survive dans l'environnement, et qu'il infecte un nouvel hôte par voie orale, respiratoire, muqueuse ou cutanée **(84)**. La possibilité pour le virus WN d'être transmis directement d'un moustique à un autre, sans passage par la circulation sanguine de l'hôte, a été montrée expérimentalement sur un modèle souris **(67)**. Ce mécanisme de transmission non systémique avait déjà été décrit pour les tiques **(88)**.

Chez l'homme, outre la transmission vectorielle prouvée et reconnue, d'autres moyens de transmission non vectorielle ont été suspectés ou identifiés **(66)**. En 2002, une transmission trans-placentaire a été documentée pour la première fois. Une femme de 40 ans, ayant contracté la maladie à la 27<sup>ème</sup> semaine de grossesse, a donné naissance à un nouveau-né souffrant d'une chorio-rétinite et d'importantes lésions tissulaires cérébrales. Une probable transmission par allaitement a également été rapportée aux Etats-Unis en 2003 ; L'ARN viral a été détecté dans le lait maternel chez une femme de 40ans, infectée par le WNV via la transfusion sanguine, et des anticorps IgM ont été retrouvés chez le nourrisson, sain à la naissance **(66)**.

En 2002, aux Etats-Unis, un cas d'encéphalite due au WNV est survenu peu de temps après une transfusion sanguine. Les analyses biologiques menées chez le donneur du sang transfusé avaient découvert des anticorps de classe IgM anti-WNV chez ce dernier. La même année, 23 personnes auraient acquis le WNV à travers des composants sanguins prélevés de 16 dons de sangs virémiques, et jusqu'à 500 dons positifs au WNV ont pu être recueillis. En réponse à ces données, les agences de collecte de sang ont mis en place, en 2003, des tests d'amplification génomique pour dépister les dons de sang virémiques. Entre juin et mi-septembre 2003, 0,05% d'environ 2,5 millions de dons de sangs testés sont revenus positifs au WNV. Pratiquement 90% des donneurs de sang virémique sont restés asymptomatiques et seulement 2 personnes ont développé des signes de méningo-encéphalite au WNV. Malgré ce dépistage intensif, 2 cas de transmission de virus via la transfusion sanguine



ont été identifiés en 2003. Les 2 donneurs ont été testés une deuxième fois et les 2 avaient présenté une séroconversion **(61)**.

La détection des particules ARN du WNV par des tests individuels de la RT-PCR démontre que des dons de sangs virémiques peuvent échapper au screening habituel à la RT-PCR par pool, et confirme ainsi la transmission du WNV par la transfusion sanguine. La RT-PCR par pool pourrait ne pas détecter tous les dons de sangs infectés par le virus, permettant ainsi sa dissémination à de faibles concentrations **(96)**.

Durant la saison d'épidémie WNV dans la région de New York en 2010, entre le 1<sup>er</sup> Juillet et le 31 Octobre, 20 dons de sangs virémiques ont été identifiés, avec une fréquence globale de 0,0129% **(56)**.

Les patients immunodéprimés ayant bénéficié d'un don d'organes semblent avoir un risque plus élevé pour développer une forme sévère de la maladie **(71)**. En effet, à Toronto, au Canada, le risque estimé de développer une maladie neuro-invasive chez ces malades est approximativement 40 fois plus grand que chez la population générale **(83)**.

En 2002, au Wisconsin, des employés de laboratoire ont contracté la fièvre du WN. Les hypothèses d'une inoculation percutanée ou d'une contamination par aérosol ont été soulevées sans pouvoir les confirmer ou les infirmer **(30, 108)**.

## 4- Facteurs favorisant :

### a-Facteurs écologiques

L'épidémiologie de la FWN est liée à la capacité et la dynamique vectorielles, elles-mêmes influencées par des facteurs environnementaux:

#### 1. La température

Il existe une échelle de températures « permissives » pour le fonctionnement du système vecteur/virus, et une fourchette plus fine pour laquelle le virus est transmis plus efficacement. Une augmentation de la température entraîne un métabolisme plus important et un taux de survie journalier plus grand du vecteur, un raccourcissement de la durée de vie des stades pré imaginaires, une augmentation du nombre de repas de sang et de pontes, ainsi qu'une diminution du temps de développement à l'intérieur du moustique (130). La recherche de l'hôte par les femelles est reliée à une certaine température au crépuscule. Lorsque cette température diminue, l'activité des femelles diminue.

Turell (1998) (19) a montré expérimentalement l'importance de la température sur la capacité vectorielle d'*Aedes fowleri* pour le virus de la fièvre de la vallée du Rift ; les conditions optimales de transmission du virus étant obtenues aux plus hautes températures testées. Par contre, la température ne paraît pas avoir d'influence sur le taux d'infection d'*Aedes fowleri* par le virus. Plus tard, il a montré qu'au contraire le taux d'infection des femelles adultes *Culex pipiens* d'origine égyptienne par le virus FVR augmentait de manière significative avec la température (19). Les œufs d'*Aedes* qui n'éclosent pas subissent un phénomène de diapause induit par des conditions particulières, essentiellement une baisse des températures.

**MacHaffey (1972)** a étudié plus précisément les facteurs influençant le pourcentage d'entrée en diapause d'œufs d'*Aedes vexans* dans l'état de Washington (USA). Il a montré qu'à 32°C, la photopériode n'a pas d'influence sur l'entrée en diapause des œufs, alors qu'à 25°C, le pourcentage d'entrée en diapause augmente si la photopériode diminue. Il a également observé que des températures basses entraînaient une augmentation de ce pourcentage. L'éclosion des œufs en diapause est favorisée par une diminution soudaine des températures, comme cela se passe souvent lors d'une pluie.

## **2. Photopériode**

Chez quelques espèces anautogènes (espèces de moustiques où les femelles nécessitent un repas de sang pour la formation des œufs), comme les souches hématophages de *Culex pipiens pipiens*, l'exposition à certaines photopériodes conduit les femelles moustiques à entrer en diapause et stoppe du même coup leur développement ovarien.

## **3. Pluviométrie**

Elle conditionne la présence, la taille et la persistance des gîtes de pontes et des gîtes larvaires. Les œufs d'*Aedes* embryonnés en diapause sont connus pour nécessiter plusieurs séries d'hydratation et de déshydratation pour pouvoir éclore après une longue période d'assèchement, et particulièrement *Aedes vexans*. Le stimulus d'éclosion des œufs le plus efficace est la désoxygénation de l'eau de pluie qui se réalise au moment où celle-ci entre en contact avec le sol.

#### **4. L'humidité**

A une haute température, une forte humidité tend à augmenter le taux de survie et la capacité de dispersion active du vecteur mais elle favorise aussi le développement de bactéries ou de champignons pathogènes pour celui-ci. Une faible humidité, au contraire, diminue le taux de survie du vecteur mais peut entraîner une augmentation du nombre de prises de repas de sang dans certains cas.

#### **5. Le vent :**

Il permet le déplacement passif des moustiques, en particulier des *Culex*, sur de longues distances.

#### **6. Les ressources trophiques**

La présence de nourriture conditionne la présence des moustiques adultes. La nécessité pour les femelles hématophages de trouver un hôte entraîne leur dispersion active à partir de leur gîte d'origine. Cette dispersion sera plus ou moins importante suivant la facilité avec laquelle la femelle va trouver son hôte. Chaque espèce présente ses préférences trophiques. Ainsi, *Aedes vexans* se nourrit préférentiellement sur les gros mammifères : bovins, moutons, chevaux, ainsi que sur l'homme et, dans une moindre mesure, sur les poulets (**Fontenille, 1989**).

La distance parcourue dépend également de l'âge des femelles et de l'accès à de la nourriture sucrée, source d'énergie. Pour des femelles *Aedes vexans* à la recherche d'un hôte, des distances de 15 kilomètres parcourues en une nuit ont été rapportées.

## **7. La végétation**

Le cycle de développement des moustiques du genre *Mansonia* nécessite la présence de végétation aquatique. En effet, leurs larves vivent fixées par leur siphon respiratoire aux tiges et racines des plantes aquatiques. Elles y prélèvent l'air nécessaire à leur respiration au niveau des vaisseaux aérifères.

Une étude a montré que le développement des *Culex pipiens* était favorisé lorsque leur gîte larvaire se situait dans des biotopes riches en feuilles mortes, qui forment une litière riche en matières organiques. En effet, un tel milieu favorise la multiplication de bactéries qui, avec les particules organiques, constituent l'alimentation des larves. Une augmentation de la biomasse végétale favorisera une augmentation de la taille des larves, puis des adultes, entraînant une meilleure fécondité des femelles, ainsi qu'une augmentation du taux de survie des mâles et des femelles. Une augmentation de l'apport organique favorise aussi une diminution du temps de développement larvaire et une augmentation du nombre de moustiques adultes.

Le biotope le plus favorable pour les épidémies de la FWN comprend des zones marécageuses lieux de passage et de résidence d'oiseaux migrateurs et niches larvaires d'arthropodes vecteurs. Dans le bassin méditerranéen, cette situation se rencontre à titre d'exemple dans le delta du Nile, le delta du Danube, le delta du Rhône ou le delta de Guadalquivir en Andalousie.

La zone de l'épizootie marocaine, le Gharb, est une plaine parcourue par plusieurs rivières (Oued Loukkos, O. Sebou et O. Bourgreg) avec lagunes (Merja Zerga notamment), un important réseau d'irrigation et de nombreuses dayats (étangs) en saison des pluies. C'est une plaine à climat maritime humide avec des précipitations automnales et hivernales abondantes. La pluviométrie d'une année normale varie entre 370 mm et 578 mm. La température maximale journalière en été est de 30°C. En hiver la température minimale journalière est de 5°C. Cette plaine offre des conditions propices pour le séjour des oiseaux migrateurs dans la direction Sud→Nord→Sud et Est→Ouest→Est au printemps et à la fin de l'été-début automne. Ces périodes correspondent justement aux périodes d'éclosion des épizooties de 1996, 2003 et 2010. Cette plaine constitue un site privilégié d'étude de la FWN **(50)**.

Ainsi, le système biologique hôtes–virus–vecteurs est extrêmement complexe et varie en fonction des souches virales, des populations d'hôtes, des populations de vecteurs et de l'environnement. La contribution relative des oiseaux (individus, espèces ou groupes d'espèces) au cycle de transmission du virus WN est très mal connue et varie, tout comme celle des vecteurs, en fonction de la zone géographique considérée **(130)**.

## **b-Réceptivité**

Les infections WN les plus graves sont clairement associées à un âge avancé **(118)** et aux antécédents du patient, transplantation d'organes **(83)** et diabète. Un facteur génétique semble également augmenter la susceptibilité à la maladie ; une mutation du gène CCR5 donne une certaine protection contre le VIH, mais conduit à une plus grande susceptibilité aux complications les plus graves au cours de l'infection par le virus WN. Les porteurs de deux copies mutées du CCR5 représentaient 4 à 4,5 % d'un échantillon de personnes souffrant de la maladie, tandis que la fréquence du gène dans la population générale n'est que de 1% **(58, 59)**.

Récemment, le potentiel infectant de la salive des moustiques pour la transmission du virus WN a été démontré **(140)**. Les moustiques inoculent leur salive dans la peau tout en aspirant le sang. La salive des moustiques est un cocktail pharmacologique de molécules, principalement des protéines, qui peuvent affecter la constriction vasculaire, la coagulation sanguine, l'agrégation plaquettaire, l'inflammation et l'immunité. Il est devenu clair que la salive de moustiques modifie la réponse immunitaire d'une manière qui peut être favorable au virus **(159)**.

## **5- Sujet réceptif :**

### **a- Pathogénie**

Lors de la piqûre d'un moustique infecté, le WNV est déposé dans les tissus extravasculaires. La salive des moustiques contiendrait des composants (protéines) qui modulent les premières étapes de l'infection en altérant la réponse immunitaire au site de pique de l'hôte. Au lieu d'une dissémination rapide du WNV dans le courant sanguin, le virus se développe dans les tissus sous-cutanés puis une migration vers les nodules lymphatiques via les canaux lymphatiques. La neuropathogénie du WNV a été étudiée avec un modèle souris. La réplication virale est observée au bout de 12 à 24 heures dans les tissus lymphoïdes secondaires. Le pic de virémie est observé 4 à 6 jours après l'infection. Le WNV est détecté dans plusieurs sites du cerveau et les parties inférieures et supérieures de la moelle épinière, 4 jours après l'inoculation. Cette neuro-invasion et la neuro-virulence facilitées par la protéine E de l'enveloppe du virus, causent une encéphalo-myélite aigue et souvent fatale au bout de 9 à 10 jours post-infection **(32)**.

### **b- Symptômes cliniques :**

Tous les flavivirus appartenant au même groupe antigénique dit de l'encéphalite japonaise y compris le WNV sont connus cliniquement par une forte fièvre et surtout des atteintes neurologiques. La symptomatologie varie selon les parties du système nerveux touchées : méninges, cerveau et moelle épinière. Les principales manifestations sont l'altération de l'état de conscience, la paralysie flasque et les troubles moteurs **(131)**.



## **$\alpha$ - Chez l'Homme**

L'infection par le WNV peut se manifester de trois façons différentes sur les humains. La première est une infection asymptomatique chez la grande majorité des gens qui ne présentent aucun trouble apparent (80 % des cas passent inaperçus). La seconde est un discret syndrome fébrile, semblable à la grippe. La troisième enfin, est une maladie neuro-invasive appelée méningite ou encéphalite WN (146).

Dans la seconde éventualité, l'épisode fébrile apparaît après une période d'incubation de 3 à 6 jours. Il se caractérise par la survenue, accompagnée de maux de tête et de dos, de frissons, de sueurs, de douleurs musculaires, d'adénopathies cervicales, d'une toux, et de symptômes respiratoires. En plus de ce syndrome grippal, il existe parfois une brève éruption cutanée et certains patients présentent des symptômes gastro-intestinaux avec des nausées, des vomissements, une perte d'appétit ou des douleurs abdominales, ainsi qu'une diarrhée. Tous les symptômes sont spontanément résolutifs en 7 à 10 jours, mais la fatigue peut se prolonger pendant plusieurs semaines et les adénopathies persister jusqu'à deux mois. Dans moins de 15 % des cas, des complications telles que méningites, encéphalites ou autres peuvent survenir.

L'encéphalite, qui est la forme la plus grave, se manifeste par des symptômes similaires aux précédents mais aussi par une baisse de la vigilance, pouvant aller jusqu'à un état comateux. Les réflexes ostéo-tendineux sont d'abord vifs, puis abolis. Il existe également des troubles extrapyramidaux. La récupération est marquée par une longue période de convalescence avec une grande fatigue.

La survenue de flambées récentes a conduit à une étude plus approfondie de la maladie et d'autres formes, plus rares, ont été identifiées. La moelle épinière peut être touchée, avec apparition d'une myélite antérieure avec ou sans encéphalite **(142)**. L'association avec le syndrome de Guillain-Barré a été identifiée **(3)** et parmi d'autres effets rares, on a observé une chorioretinite multifocale qui possède une spécificité à 100 % pour l'identification d'une infection par le WNV chez les patients atteints d'encéphalite **(1)**, une hépatite, une myocardite, une néphrite, une pancréatite et une splénomégalie **(99, 113, 123)**.

Aux États-Unis, les personnes de tous les âges semblent être sensibles à l'infection par le WNV, mais l'incidence de la maladie neuro-invasive et le décès augmente avec l'âge surtout chez les sujets de 60 à 89 ans, et est légèrement plus élevée chez les patients de sexe masculin. En 2002, l'âge médian des cas de maladies neuro-invasives était de 64 ans (intervalle de 1 mois à 99 ans), comparativement à un âge médian de 49 ans (extrêmes 1-97 ans) pour les cas de West Nile. Sur les 2.942 cas de maladies neuro-invasives, 276 (9%) ont été mortels.

De 2002 à 2004, 1.051 cas de maladie du WNV chez les enfants de moins de 19 ans ont été signalés aux États-Unis, 317 (30%) avaient une maladie neuro-invasive et 106 (34%) d'entre eux étaient âgés de moins de 10 ans (CDC, données inédites; rapporté le 8 Juin, 2005). Deux patients pédiatriques (0,6%) atteints d'infection neuro invasive par le WNV sont morts: un nourrisson et un garçon de 14 ans avec un dysfonctionnement immunitaire.

### **β- Chez le cheval :**

Chez le cheval, la virémie est faible et limitée, alors que la période d'incubation est en général de trois à six jours, mais peut atteindre quinze jours (54). Dans de nombreux cas, la contamination par un moustique infecté ne se traduira par aucun signe clinique mais uniquement par une séroconversion. Ce n'est que lorsque le virus atteint le système nerveux central que les signes cliniques vont se manifester. Il semble que de nombreux facteurs conditionnent l'intensité du tableau clinique tels que l'âge, le mode d'élevage, l'état d'entretien, la virulence de la souche virale, la susceptibilité génétique de l'hôte et les infections antérieures par d'autres Flavivirus (149, 162). Par conséquent, la symptomatologie chez le cheval varie d'une forme asymptomatique à une méningo-encéphalite mortelle en passant par un simple syndrome grippal.

#### **β-1- Forme aiguë, neurologique, typique**

Cette forme évolue en plusieurs périodes : l'incubation est en général de 3 à 6 jours pouvant atteindre 15 jours. Le tableau clinique comprend une fièvre biphasique, qui évolue sur deux ou trois semaines : le premier pic thermique est suivi par une rémission de quelques jours qui précède l'apparition d'un deuxième pic thermique. Ce dernier correspond à la phase d'état de la maladie, c'est-à-dire à la localisation névraxique du virus.

Dans ce cas la maladie peut évoluer vers deux syndromes neurologiques :

1. **Un syndrome de type myélitique**, qui se caractérise surtout par une incoordination motrice et la parésie du train postérieur, ce qui attire l'attention du propriétaire de l'animal. Il présente alors une démarche ébrieuse et

lourde, avec trébuchements, ataxie, des déplacements en rond difficiles et une faiblesse des membres, l'examen des réflexes montre des perturbations importantes : la sensibilité cutanée est particulièrement ou totalement abolie.

2. **Un syndrome encéphalomyélitique** : les signes nerveux apparaissent dès le début, avec vacillements du train postérieur, le cheval peut tomber dès qu'il doit tourner et il est souvent ataxique.

### **β-2- Formes fébriles de type grippal**

#### **1. Formes frustes:**

Elles sont caractérisées par des troubles locomoteurs bénins, rapidement résolutifs et sans séquelles.

#### **2. Formes inapparentes:**

Ces formes ne peuvent être mises en évidence que grâce aux stigmates neurologiques qui succèdent à une virémie silencieuse.

### **Ω- Chez les oiseaux**

L'évolution de l'infection chez les oiseaux est encore mal connue. Même lorsqu'ils sont virémiques, ils présentent rarement des signes cliniques. La maladie engendre souvent une forme asymptomatique. En effet, le virus a été considéré comme non pathogène pour les oiseaux jusqu'en 1998 où, en Israël certaines espèces d'oiseaux migrateurs, dont des cigognes, mais aussi des oiseaux domestiques (oies) ont présenté des atteintes nerveuses avec mortalité **(94)**. Aux Etats Unis, des mortalités ont été rapportées chez de très nombreuses espèces d'oiseaux résidents, dont principalement les corvidés (tout particulièrement les geais bleus), mais aussi chez des rapaces **(148)**, précédant de très près la survenue des premiers cas humains.

Cette même notion pourrait jeter la lumière sur la mort, en 323 avant J-C, d'Alexandre le Grand. Son arrivée à Babylone a coïncidé avec un incident incompris, une nuée de corbeaux présentant un comportement inhabituel, et mourant ultérieurement à ses pieds. Cette attitude mystérieuse pourrait être la traduction d'une maladie neurologique aviaire. Plus tard, Alexandre décède d'une encéphalite. Tout laisse supposer qu'il s'agissait d'une encéphalite due au virus du Nil Occidental (98).

Toutefois, dans la nature, un grand nombre de ces oiseaux possèdent des anticorps neutralisants, ce qui indique que beaucoup d'entre eux survivent à l'infection (2).

### **c- Immunité**

#### **$\alpha$ -Pouvoir antigène:**

Le pouvoir antigénique est caractérisé par l'existence d'antigènes de groupe, communs aux membres du complexe antigénique de l'encéphalite japonaise, et d'antigènes spécifiques révélés notamment par des tests d'IHA et de neutralisation.

Comme la grande majorité des arbovirus, le virus West Nile :

1. Est hémagglutinant et hémadsorbant sur globules rouges de poulet et d'oie et suscite la formation d'anticorps inhibant l'hémagglutination.
2. Entraîne la synthèse d'anticorps fixant le complément.
3. Provoque la formation d'anticorps neutralisants permettant le diagnostic sérologique tardif par réaction de séroneutralisation sur souris et sur cultures cellulaires.

### **β-Immunité :**

Les réponses humorale et cellulaire assurent une protection contre les diverses infections occasionnées par les flavivirus. Les effecteurs de l'immunité comprennent les lymphocytes T cytotoxiques, les anticorps neutralisants et non neutralisants ainsi que les anticorps à effet cytotoxique **(29)**.

Pour le WNV, il ressort des études de King et al. en 2007, que la réponse immunitaire à médiation humorale (RIMH) est requise pour éliminer le virus du plasma et prévenir une dissémination future, alors que la réponse immunitaire à médiation cellulaire (RIMC) intervient dans la clairance virale des tissus.

#### **β-1- La réponse immunitaire à médiation humorale**

La réponse humorale est importante dans le contrôle de l'infection virale et de la dissémination. Pour le WNV, le tableau clinique de la maladie est accentué chez une souris à laquelle il manque des cellules de type B fonctionnelles, une situation qui peut être contrecarrée par le transfert passif d'anticorps provenant d'une souris de type sauvage immunisée **(39)**.

Des études sérologiques ont montré que les chevaux infectés naturellement développaient une forte réponse en anticorps neutralisants **(36)**. L'essentiel de ce contrôle est supporté par les anticorps neutralisants **(78)**, qui reconnaissent des épitopes localisés préférentiellement au niveau de la glycoprotéine virale E. Ces anticorps inhibent l'attachement viral, l'internalisation du virus et sa réplication **(112)**.

La protéine non-structurale 1 (NS1) est une protéine sécrétée qui est très conservée parmi les flavivirus. Les anticorps Anti NS1 protègent de la maladie

induite par le flavivirus et peuvent être utilisés à des fins prophylactiques et thérapeutiques dans les modèles animaux **(48)**.

Le mécanisme de protection fait intervenir la fixation du complément sur la partie constante (Fc) de l'anticorps. Un phénomène immunopathologique impliquant la réponse humorale aux flavivirus, connu comme "Antibody-dependant enhancement of infection" ou ADE, peut intervenir. Il se produit lorsque les complexes anticorps-virus sont internalisés dans les cellules via le segment Fragment Constant (Fc) des Immunoglobulines **(121)**.

Une étude réalisée en 2006 précise les modalités de la réponse contre le WNV chez des chevaux infectés naturellement **(135)**, en mesurant la réponse en anticorps durant une infection naturelle et en précisant les épitopes contre lesquels est dirigée cette réponse. Chez la souris un épitope majeur T332 localisé sur la surface latérale du domaine III (protéine DIII) de la protéine E du WNV joue un rôle majeur dans la réponse neutralisante **(11, 112)**.

Chez le cheval, il en ressort que si cet épitope joue un rôle important dans la réponse immunitaire, il n'est pas immunodominant. Ainsi la réponse en anticorps neutralisants chez le cheval apparaît comme variable et polyclonale, avec des épitopes présents aussi bien sur le domaine DIII de la protéine E que sur d'autres protéines. En ce qui concerne la différence entre la RIMH suite à l'infection par un virus à lignage 1 ou à lignage 2, il a été montré que l'infection expérimentale entraîne une réponse avec un profil en anticorps sériques similaire en utilisant les techniques de séroneutralisation et ELISA. La réponse neutralisante en anticorps IgG persiste plus longtemps que la réponse spécifique IgM, il n'y a pas de différence suite à une infection par un virus de lignage 1 ou

un virus de lignage 2, puisque les sérums d'animaux infectés présentent une activité neutralisante comparable lors d'infection par l'un ou l'autre lignage **(28)**.

Le rôle de la réponse immunitaire à médiation humorale est considéré comme important, permettant d'éliminer le virus du sérum, les caractéristiques précises de cette réponse restent encore à explorer.

#### $\beta$ -2-La réponse immunitaire à médiation cellulaire

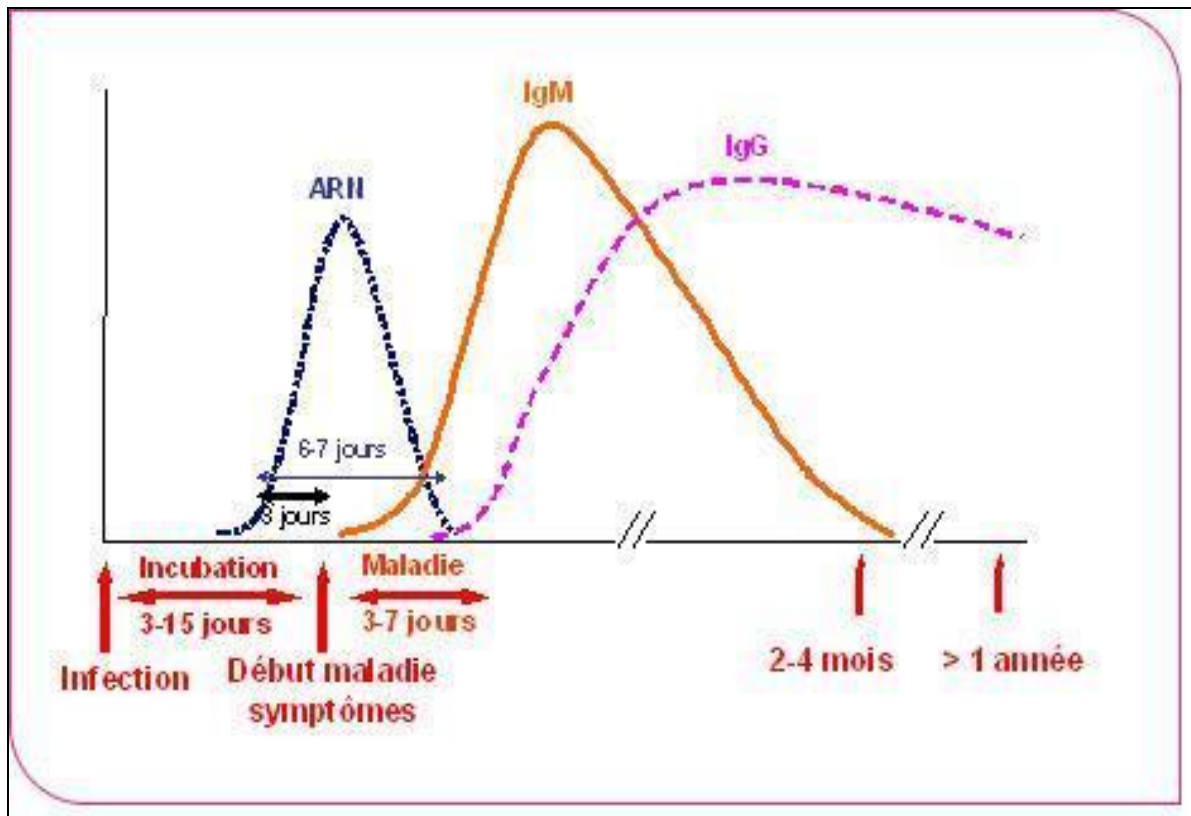
Le WNV induit la production par le système nerveux central (SNC) d'une chémokine, cytokine dont le rôle principal est l'activation cellulaire et la stimulation de la migration des leucocytes **(22)** nommée CCL5, qui recrute des lymphocytes T exprimant le récepteur CCR5 ainsi que des macrophages qui ont un effet protecteur dans le SNC aussi bien chez la souris que chez l'homme **(58)**. D'autres cytokines telles que les interférons alpha, bêta et gamma (IFN-a IFN-b, IFN-g) sont également produites **(76, 92, 144)**.

Il existe une seule étude sur la réponse cellulaire, qui a décrit les réponses lymphocytaires et les profils en cytokines induits chez des chevaux sains suite à la vaccination avec un virus inactivé **(37)**. L'étude montre que les chevaux sains présentent une réponse antigénique spécifique cellulaire, caractérisée par la production par les lymphocytes CD4+ et CD8+ d'IFN-g, par une prolifération cellulaire et par l'expression d'interleukine 4 (IL-4) par les lymphocytes CD4+. En général, les réponses observées étaient augmentées par un rappel vaccinal.



Le temps d'incubation chez les équidés varie de 3 à 15 jours. Après inoculation du virus, l'animal produit des anticorps IgM au bout de 8 à 10 jours, ils persisteraient moins de 3 mois (117). Les anticorps de classe IgG sont produits à partir du dixième jour post-infection.

Chez l'homme, la cinétique de l'évolution des anticorps anti-WNV est la même, représenté par la figure ci-dessous.



**Figure 6 : Cinétique des anticorps anti-WNV (161)**

#### **d- Lésions**

Il a été observé, dans les cas mortels de méningo-encéphalite chez les chevaux, une généralisation des lésions au niveau du cerveau et de la moelle épinière, avec une inflammation diffuse, de petites hémorragies, des manchons péri-vasculaires et une dégénérescence des neurones **(122)**.

Chez l'homme, le WNV a un tropisme positif pour les tissus dans lesquels les cellules réticulo-endothéliales sont prédominantes. Cependant, la maladie est le résultat d'une dégénérescence des cellules infectées dans le système nerveux central. Des faits similaires ont été décrits chez les primates et les chevaux. Chez les oiseaux, le tropisme est positif pour le rein et le cœur, mais d'autres tissus peuvent être infectés **(81)**.

#### **$\alpha$ -Lésions macroscopiques**

L'état général des chevaux lors de l'autopsie est bon en général. Nous pouvons toutefois noter que, sauf dans les formes très fébriles où nous pouvons trouver parfois un ictère ou un sub-ictère et, de temps en temps, une dégénérescence des cellules hépatiques, aucune lésion viscérale ne peut être observée. Au contraire, l'hypertrophie ganglionnaire localisée et parfois généralisée, est quasi constante. Dans les formes très graves, nous pouvons voir des lésions septicémiques avec congestion généralisée. L'aspect macroscopique reste donc très décevant **(122)**.

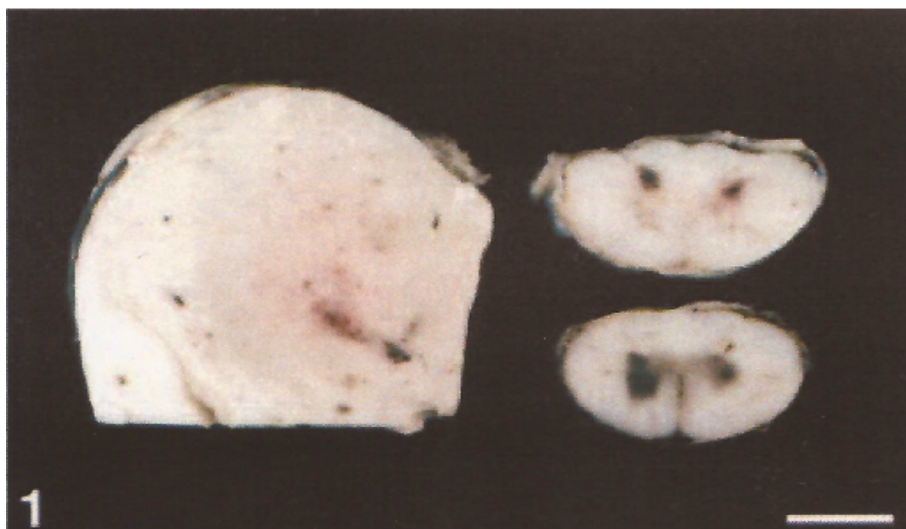
### **β-Lésions microscopiques**

Elles sont plus intéressantes, même si peu d'entre elles sont réellement spécifiques. L'unicité des lésions névrauxiques dans les formes aiguës se définit par une poliomyélite avec atteinte des cornes ventrales, motrices, de la moelle épinière, surtout intense dans les segments postérieurs.

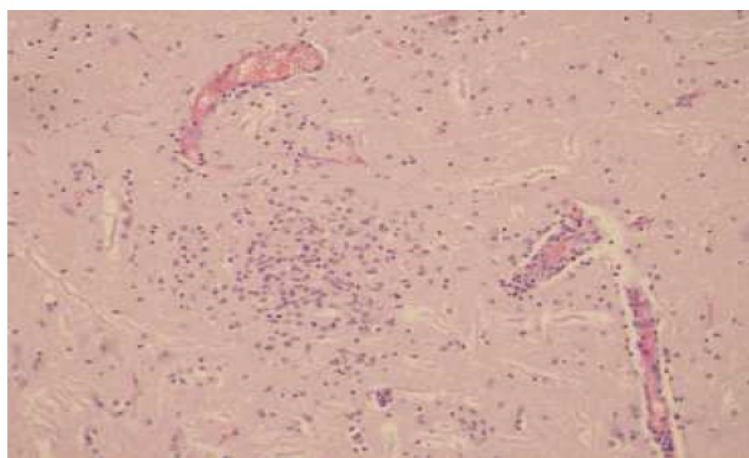
En revanche, le cerveau présente en général des lésions discrètes, constituées soit par de l'œdème en région méningée et sous-méningée, ainsi que dans la couche des cellules de Purkinje du cervelet, soit par une péri vascularité lymphocytaire; il s'agit d'une myélite aiguë atteignant, à la fois la substance grise et la substance blanche, avec une certaine prédilection pour les cornes ventrales, l'intensité des lésions médullaires contraste avec la discrétion des lésions cérébrales **(122)**.

Les résultats de l'examen clinique et neuropathologique des chevaux soumis à l'épizootie d'Italie en 1998 montrent que l'infection était caractérisée par une polyencéphalomyélite lymphocytaire légère à modérée avec implication des branches ventrales et latérale de la moelle épinière thoracique et lombaire, avec parfois une hémorragie modérée à sévère **(25)**: une lymphocytose et une inflammation monocytaire avec des foyers éparpillés de microgliose furent observées sur la région de la moelle allongée et des ponts et dans une moindre mesure sur le noyau basal, le thalamus et le mésencéphale (figure 7).

Pour les chevaux ayant subi l'épisode de New-York en 2001, les résultats microscopiques observés étaient semblables à ceux observés chez les chevaux italiens. Dans les zones les plus sévèrement affectées, une dégénérescence neuronale était proéminente et caractérisée par une chromatolyse centrale, un gonflement cellulaire ou un rétrécissement cellulaire. Chez les chevaux américains, les lésions étaient présentes au niveau du noyau basal, de la substance grise au niveau du thalamus, des cornes ventrales et latérales de la moelle épinière spinale. Une diapédèse leucocytaire, avec une hémorragie périvasculaire modérée à sévère, une dégénérescence et une nécrose occasionnelle de la paroi des vaisseaux avec présence de neutrophiles ont été mises en évidence. Au niveau des sites inflammatoires, les antigènes viraux du WNV étaient principalement localisés au niveau de la substance grise. L'absence d'antigène au niveau des tissus extra-neuraux indique que chez le cheval l'infection est limitée à l'atteinte du système nerveux central. Il est important de noter que les différentes variantes génétiques du WNV peuvent exprimer différents tropismes tissulaires, selon les espèces atteintes si ce sont des mammifères ou des oiseaux.



**Figure 7** : Lésions microscopiques du thalamus gauche et de la corde cervicale spinale : Hémorragies sévères, multifocales aiguës incluant la substance grise. *Source: (25)*



**Figure 8** : Lésions microscopiques observées chez le cheval: Prolifération focale gliale, périvasculite non suppurative et encéphalite causée par une infection à virus West Nile de lignage 2, coloration hematoxyline-eosine, Observation au microscope optique x 200 (85).

## **e- Diagnostic**

Le diagnostic de l'infection WN se base sur l'examen épidémio-clinique et des tests de laboratoire qui mettent en évidence une réaction immunitaire consécutive à l'exposition aux antigènes viraux.

### **$\alpha$ -Diagnostic épidémio-clinique**

Toute affection nerveuse avec ou sans hyperthermie survenant chez un équidé séjournant ou ayant séjourné dans les trois semaines précédentes dans une zone à risque et exposé à des piqûres de moustiques doit faire suspecter une FWN.

Cette maladie s'intègre aussi bien dans les arboviroses à syndrome pseudo grippal, que dans celles à tropisme viscéral ou neurologique (encéphalites et encéphalomyélites). Cela montre que la FWN se caractérise par l'absence de signes spécifiques, ce qui complique davantage le diagnostic, en dehors de la notion de localisation géographique, sachant que d'autres maladies non virales, ou dues à des virus n'appartenant pas au groupe des arbovirus, associent le même tableau clinique. Ainsi dans certains cas nous pouvons seulement observer un état fébrile isolé, qui sera assez rapidement résolutif (122).

Des études précédentes sur le diagnostic clinique de la FWN ont révélé que la maladie évolue, en général chez l'homme et le cheval, suivant deux phases qui retracent l'évolution pathogénique. Dans un premier temps, le virus se multiplie dans le sang avec de l'hyperthermie, l'anémie et la leucopénie consécutive sans doute à l'atteinte médullaire. Dans un deuxième temps, la localisation du virus est encéphalique, puis myélitique. Le virus sera donc isolable tout d'abord à partir du sang, puis à partir du système nerveux des malades.

## **β-Diagnostic biologique non spécifique chez l'Homme**

La numération formule sanguine (NFS) est normale ou peut montrer une légère hyperleucocytose. Dans le cas d'une atteinte du SNC, le LCR obtenu après une ponction lombaire, montre généralement une hyperprotéinorachie associée à une pléiocytose à prédominance lymphocytaire.

Un taux important de plasmocytes retrouvé dans le LCR pourrait servir à poser précocement le diagnostic d'une encéphalite due au WNV (27).

## **Ω- Diagnostic biologique spécifique du WNV**

### **Ω-1- Diagnostic direct du WNV**

#### **-Isolement et identification du virus**

Le WNV peut être isolé à partir de divers prélèvements (sang et LCR) et sur plusieurs types de cellules. Il peut être isolé à partir de plusieurs espèces de moustiques, oiseaux, équidés et l'homme. Cependant, Les tentatives visant à détecter le virus de chevaux vivants, cliniquement malades ne sont pas généralement couronnée de succès en raison de la virémie passagère.

Les échantillons destinés à l'isolement du virus comprennent le cerveau (en particulier le cerveau postérieur) et la moelle épinière de chevaux morts (117), une variété de tissus d'oiseaux y compris le cerveau, le cœur ou foie peut être utilisé avec succès (148). Le WNV peut également être isolé à partir de moustiques. En général, les isolats de virus sont obtenus plus facilement à partir d'échantillons aviaires et dans une moindre mesure à partir de moustiques et chevaux.

Chez l'Homme, le virus peut être isolé à partir de deux prélèvements biologiques : le sang et le liquide céphalo-rachidien par ponction lombaire. Cependant, et en raison de la virémie passagère, l'isolement du virus dans le sang peut se révéler décevante.

Le virus peut être propagé dans des cultures cellulaires sensibles, tels que le rein de lapin (RK-13), les cellules rénales du singe vert d'Afrique (Vero) ou de cellules rénales de porc. L'isolement primaire dans des œufs embryonnés ou des lignées de cellules d'insectes (C6/36) suivi de passages dans des cellules de mammifère peut également être utilisé. Le passage sur culture cellulaire permet d'observer l'effet cytopathique (ECP).

Le virus peut être identifié par le test de neutralisation utilisant des sérums spécifiques, par technique ELISA ou encore par détection de séquences d'ARN spécifique au WNV par RT-PCR **(80)**.

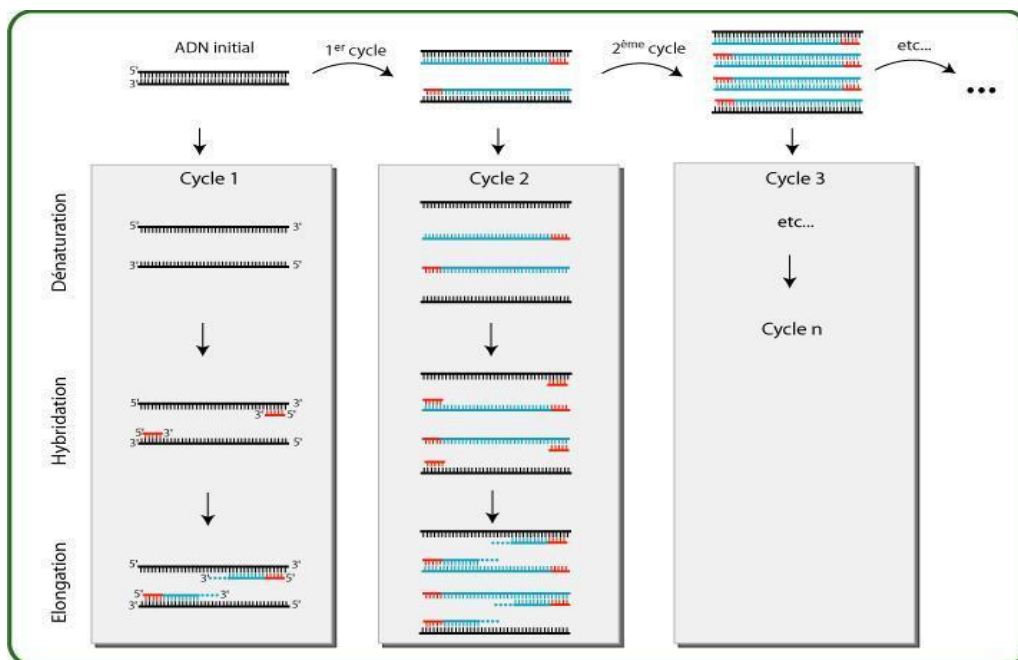
#### **- RT-PCR**

Les méthodes de diagnostic direct pour la détection des acides nucléiques utilisent la PCR (Polymérase Chain réaction). Cette dernière peut être utilisée soit individuellement sur un seul échantillon, soit par pool de 5 (mélange de 5 échantillons). Plusieurs variantes de la PCR ont été décrites pour l'identification du WNV et certains sont disponibles sous forme de kits commerciaux.

La PCR est utilisée dans le but d'amplifier in vitro une région spécifique d'un acide nucléique donné. Pour initier le processus de synthèse, l'ADN polymérase a besoin d'une amorce, deux oligonucléotides servant d'amorces sont choisies pour être chacun complémentaire d'un des brins de l'ADN cible et



sont positionnées de part et d'autre de la région à amplifier. Après la séparation des deux brins d'ADN, les amorces se fixent sur le brin d'ADN matrice dont elles sont complémentaires. Elles vont orienter la synthèse vers la région d'intérêt. Cette synthèse ayant lieu de façon simultanée sur chacun des deux brins aboutit à la duplication de la séquence initiale. Les produits d'amplification néo synthétisés vont à leur tour devenir des matrices et fixer des amorces qui seront étendues par l'ADN polymérase. Une réaction en chaîne s'établit par la répétition de cycles de dénaturation/hybridation/élongation se traduisant par une accumulation exponentielle du fragment d'ADN cible (127). Les produits PCR, sont analysés sur gel d'agarose à l'aide du bromure d'ethidium, la migration sur gel s'effectue en présence de marqueurs de poids moléculaires.



**Figure 9** : Etapes de la réaction PCR

### **- La RT-PCR (Reverse Transcriptase PCR) :**

La RT-PCR est une étape qui emploie la technique PCR classique, mais la molécule de base est un ARN qui sera retro-transcrit en ADNc (complémentaire) à l'aide de la Transcriptase inverse (72).

### **- la RT-PCR en temps réel :**

La PCR en temps réel utilise le principe de base de la PCR classique avec pour différence une amplification mesurée tout au long de la réaction, donc en temps réel. Dans un thermocycleur, durant chaque cycle d'amplification, la quantité d'ADN est mesurée grâce à un marqueur fluorescent dont l'émission est directement proportionnelle à la quantité d'amplicons produits. Ceci permet d'obtenir une cinétique de la réaction et donc la quantification de l'ADN alors que la PCR classique ne donne que la mesure finale.

Les réactifs nécessaires :

#### **1. Les amorces :**

Le choix des amorces est une étape importante lors de la mise au point d'une PCR. Elles doivent avoir une taille de 20 à 30 nucléotides, être complémentaires des bornes de fragments à amplifier, être composées de 40 à 60 % de Guanine-Cytosine, ne pas posséder de zones polypurines ou de polypurimidine, ne pas avoir de structure secondaire, de complémentarité entre elles ou d'autocomplémentarité et enfin leur  $T_m$  (Température d'hybridation) doit être élevée.

## **2. les sondes :**

Pour la PCR en temps réel on ajoute un oligonucléotide en même temps que les amorces. Cet oligonucléotide est complémentaire d'une séquence interne du fragment d'ADN à amplifier situé entre les deux amorces (appariement de l'oligonucléotide et des deux amorces au cours de l'étape d'hybridation à son extrémité 5' se trouve un fluorochrome (reporter) et à son extrémité 3' on trouve un groupement quencher (extincteur qui absorbe toute émission de fluorochrome).

Lorsque le fluorochrome et le quencher sont proches, la fluorescence est absorbée par le quencher durant l'étape d'élongation de la PCR, il y aura séparation du fluorochrome de la sonde suite à l'activité 5'-3' exonucléase de la polymérase thermostable et il y aura alors émission de la fluorescence car le fluorochrome s'éloignera du groupement quencher.

L'intensité de la fluorescence est directement proportionnelle à la quantité d'ADN amplifié au cours de la réaction de la PCR. On peut suivre ainsi l'amplification de la séquence cible en temps réel.

Il existe plusieurs types de fluorochrome par exemple :

- -FAM : fixé en 5' de la sonde, a son pic d'absorption vers 530 nm
- -ROX : présent dans le Taqman Buffer, a son pic d'absorption vers 600 nm.

La technique RT-PCR recommandée par l'OIE dans le manuel terrestre 2013 (111) est basée sur la méthode développée par Eiden et al., (2010) (42) pour l'identification du lignage 1 et du lignage 2 du WNV. La procédure qui a été légèrement modifiée notamment en ce qui concerne le choix des amorces et les sondes.

Après une incubation de transcription inverse, suivie par 45 cycles d'amplification, les échantillons avec des valeurs de Ct (Cycle Threshold ou cycle seuil) de 37 ou moins sont considérées comme positifs pour le WNV. Les valeurs de Ct de 37,1 à 42 indiquent que ces échantillons sont considérés comme suspects, et doivent être analysés. Des valeurs supérieures à 42 montrent qu'ils sont négatifs.

Pour que la PCR soit valide, les valeurs de Ct des contrôles positifs et négatifs doivent se situer dans la fourchette prévue.

Les amorces et la sonde correspondante à la région NS2A du génome du WNV recommandées par l'OIE pour la RT-PCR :

3. Amorces sens: GGG-CCT-TCT-GGT-CGT-GTT-C
4. Amorces inverse : GAT-CTT-GGC-YGT-CCA-CCT-C
5. Sonde: FAM-CCA-CCC-AGG-AGG-TCC-TTC-GCA-A-BHQ

**- La PCR nichée :**

Cette variante de la technique PCR dite « nested-PCR », se pratique comme la PCR avec le couple d'amorces externes pour dix cycles d'amplification. A cette étape on ajoute un excès d'une ou de deux amorces internes avant de prolonger l'amplification pour encore 25 cycles environ. Cette procédure permet le plus souvent d'obtenir l'amplification spécifique d'un seul fragment.

Les amorces spécifiques sont essentielles dans les techniques de PCR car elles seules vont déterminer le fragment à amplifier. Lorsqu'il existe des séquences homologues cette spécificité n'existe plus et la technique doit être modifiée pour mieux cibler le fragment à amplifier.

On utilise deux couples d'amorces. Des amorces externes dont la spécificité peut permettre d'amplifier à la fois un petit nombre de séquences homologues et des amorces internes permettant d'amplifier spécifiquement une des séquences révélées par le couple d'amorces externes.

La région cible est la région E du WNV et Les amorces spécifiques conseillées par l'OIE (**111**) sont :

Amorces externes:

1. 1401F: ACC-AAC-TAC-TGT-GGA-GTC
2. 1845R: TTC-CAT-CTT-CAC-TCT-ACA-CT

Amorces internes:

1. 1485F: GCC-TTC-ATA-CAC-ACT-AAA-G
2. 1732R: CCA-ATG-CTA-TCA-CAG-ACT

### **Ω-2- Diagnostic sérologique indirect**

L'exposition aux antigènes du WNV donne lieu à une réponse immunitaire décelable par diverses techniques :

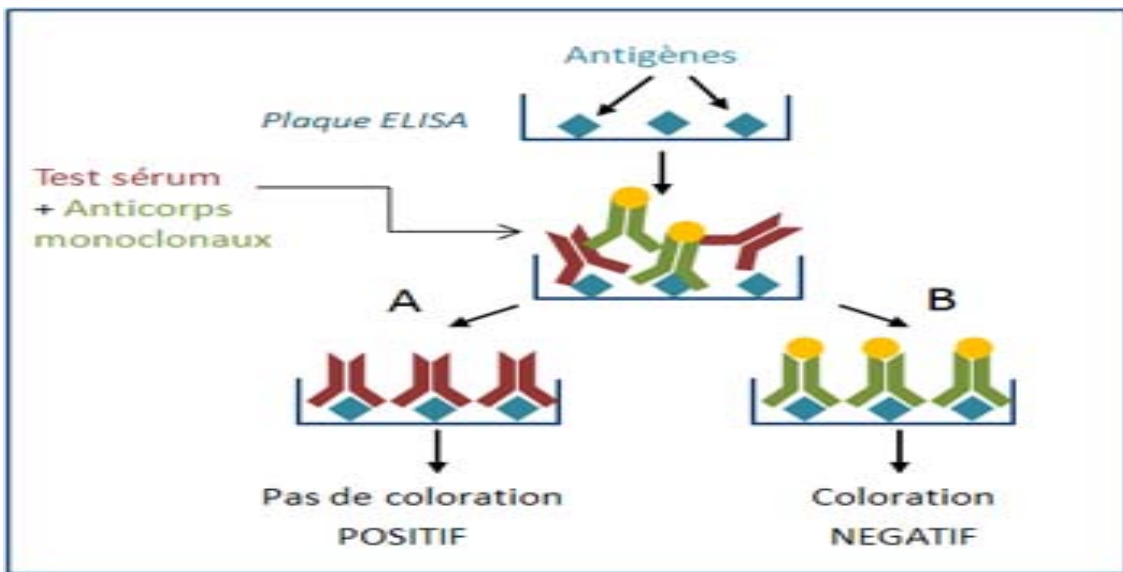
#### **- Test de fixation du complément :**

Le système du complément est un groupe de 35 protéines connues du sérum dont l'activation concourt à de nombreux effets biologiques participant au maintien de l'immunité innée. La méthode de fixation du complément permet de détecter la présence d'anticorps vis-à-vis d'un antigène donné. La méthode consiste à pré-incuber le sérum à tester avec l'antigène en présence d'une quantité minimale de complément purifié obtenu chez le cobaye : il peut alors se former des complexes immuns s'il existe des anticorps spécifiques. Puis, des hématies recouvertes d'anticorps anti-hématies sont ajoutées. L'absence d'hémolyse indique alors que tout le complément a été fixé par les complexes immuns du couple antigéniques.

Les anticorps fixant le complément apparaissent précocement dans la seconde semaine de la maladie, le pic de concentration étant atteint à la troisième semaine pour commencer à diminuer sept mois après le début de la maladie. Il s'agit d'une méthode sensible et spécifique, mais la technique est longue et délicate (114).

### - Technique ELISA :

L'ELISA (Enzym-Linked-Immuno-Sorbent Assay), est une technique qui permet de détecter et de doser les anticorps dirigés contre un antigène défini. Un conjugué anticorps-enzyme permet la révélation (114).



**Figure 10** : Principe de la technique ELISA compétitive

Pour le diagnostic d'une infection à WNV, il existe deux variantes de test ELISA selon le type d'anticorps recherchés :

1. Le test ELISA indirect sur IgG donne des résultats positifs avec des sérums prélevés plus de 20 jours après le début de l'infection, pas de réaction positive si les sérums sont prélevés durant la première semaine de la maladie. Des réactions faussement positives peuvent apparaître en raison de la présence de facteurs rhumatoïdes dans les sérums.

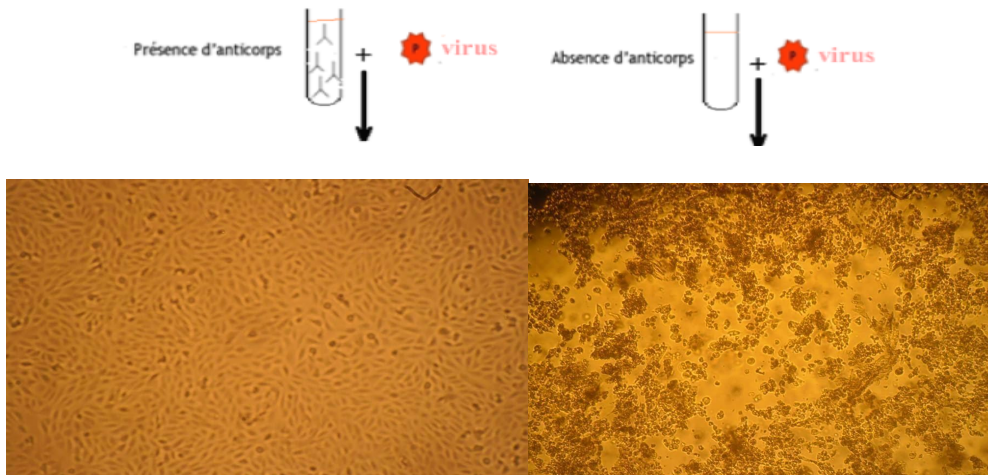
2. Le test ELISA par micro capture consiste à fixer sur la plaque d'ELISA un anticorps anti IgM d'équidés qui fixera les anticorps de classe IgM présents dans le prélèvement. Ce test est à la fois sensible et spécifique en ce qui concerne le WNV. Les IgM sont recherchés dans le but de savoir si l'infection est récente, alors que les IgG témoignent d'une infection ancienne.

Une limite des tests ELISA réside dans leur difficulté à différencier le WNV des autres flavivirus, en particulier les virus du même séro-complexe. Pour cette raison, la technique de référence est la séroneutralisation. Elle est plus spécifique **(103)** et utilisée pour confirmer un résultat positif au test ELISA (IgM ou IgG) et si nécessaire des anticorps dirigés contre des Flavivirus apparentés peuvent être recherchés dans le sérum.

**- Méthode de neutralisation :**

L'exposition au WNV donne lieu à la production d'anticorps capables de reconnaître l'enveloppe virale et neutraliser le virus. La technique sur culture cellulaire (figure 11) est largement utilisée pour identifier les souches virales **(114)**. Elle permet d'autre part d'obtenir un titre en anticorps, non disponible avec le test ELISA. C'est une technique plus longue, qui implique la manipulation du virus et donc entraîne la nécessité du respect de règles d'hygiène et de sécurité passant par un travail en zone confinée de niveau 3. Les résultats définitifs sont obtenus au bout de 3-4 jours.





**Figure 11** : Principe du test de séroneutralisation sur culture cellulaire par observation de l'effet cytopathogène : à gauche absence d'ECP, à droite présence d'ECP.

### **$\Sigma$ -Diagnostic du WNV selon l'OMS (OMS, Fact sheets, 2011)**

Le virus du Nil Occidental peut être diagnostiqué à l'aide de l'un de ces tests :

- Séroconversion des anticorps IgG (ou augmentation sensible des titres en anticorps) dans deux séries d'échantillons prélevés à une semaine d'intervalle par immuno-enzymologie.
- IgM par ELISA.
- Essais de neutralisation.
- Détection virale par RT-PCR
- Isolement du virus en culture.

Chez les malades présentant une symptomatologie compatible avec la FWN, il est recommandé d'utiliser un test sérologique de type ELISA pour la des anticorps anti-WNV de classe IgM dans le sang. Un résultat positif chez une personne avec des symptômes cliniques de la maladie a une haute valeur prédictive pour le diagnostic positif de la FWN. Un test négatif, n'élimine toutefois pas l'infection.

Chez les malades qui présentent une méningite, une encéphalite ou une paralysie aigue flasque, une recherche des anticorps de classe IgM dirigés contre le WNV est recommandée dans le LCR, aussi bien que dans le sang. L'utilisation des techniques d'identification directe du virus, comme la PCR, prend sa valeur chez les patients immunodéprimés, qui pourraient ne pas développer les anticorps IgM (125).

#### **f- Traitement**

Le traitement est symptomatique pour les syndromes pseudo grippaux. Pour les méningo-encéphalites, il repose sur une prise en charge hospitalière avec traitement symptomatique en service de réanimation si besoin.

Il n'existe pas de traitement spécifique contre les flavivirus, seul un traitement symptomatique de soutien reposant sur une fluidothérapie associée à des anti-inflammatoires non stéroïdiens (phénylbutazone, flunixin méglumine) et du DMSO (diméthylsulfoxyde) permet d'atténuer les symptômes.

A l'heure actuelle, un certain nombre de molécules a été retenu comme candidat pour le traitement de la fièvre du West Nile, dont principalement :

- La Ribavirine : il s'agit d'un anti-viral à large spectre indiqué dans plusieurs viroses. Son mécanisme d'action consiste à entrer en compétition, en tant qu'analogue de la guanosine, pour inhiber l'inosine monophosphate déshydrogénase (IMPDH). Cette action entraîne la déplétion du tapis cellulaire de guanosine **(91)**. La Ribavirine inhibe l'activité anti-WNV sur les cellules infectées à des doses élevées **(4, 38, 73)**.

- Interféron- $\alpha$  (INF- $\alpha$ ) : c'est un élément important du système de l'immunité innée antivirale. Son utilisation a été testé avec succès sur quelques cas d'infection à WNV **(74, 90)**.

- La sérothérapie : Une amélioration clinique a été remarquée chez des patients présentant des infections neuro-invasives à WNV traitées par des immunoglobulines issus de donneurs de sangs israéliens **(63, 64, 136, 143)**. En raison du caractère endémique de la Fièvre du West Nile en Israel, le sérum des donneurs de sang contient des titres très élevés d'anticorps neutralisants anti-WNV **(13, 14)**.

Chez le cheval, la flunixin méglumine administrée à une dose de 1,1 mg/kg toutes les 12 heures, par voie intraveineuse, rapidement après l'installation de la maladie, semble diminuer la sévérité des tremblements musculaires et des fasciculations en quelques heures. L'utilisation des corticostéroïdes est controversée.

En Israël, un traitement expérimental a été soulevé chez les souris de laboratoire. Les rongeurs, initialement infectés par des souches du WNV, ont bénéficié d'une administration intraveineuse d'immunoglobulines anti-WNV provenant de donneurs de sang sain. La guérison des souris infectées dépendaient de la durée et de la dose d'immunoglobulines administrée **(13)**.

### **g- Prophylaxie**

La FWN est une placée dans le groupe des méningo-encéphalomyélites virales des équidés et est inscrite comme telle sur la liste des maladies réputées contagieuses dans de nombreux pays. La lutte contre cette maladie est nécessaire en raison de la pathogénicité du virus pour l'homme et le cheval et des risques sanitaires et des enjeux économiques importants qu'elle entraîne.

La transmission par les moustiques à partir d'oiseaux sauvages infectés rend la lutte contre la maladie délicate. Ce ne sont pas les chevaux malades qui sont source de virus, mais les réservoirs du virus **(57)**.

### **α- Mesures offensives**

Les insecticides sont un moyen simple et efficace pour réduire les populations de moustiques, la lutte anti vectorielle vis à vis des larves et des adultes peut être utilisée, cependant elle présente un coût écologique, qui n'est pas forcément signe d'efficacité **(6)**. Afin de contrôler l'origine principale des moustiques, il faut se concentrer sur la destruction des zones de reproduction (gîtes larvaires) et réduire ainsi le nombre de larves par épandage d'insecticides. La désinsectisation des moyens de transport des chevaux peut aussi être employée.

## **β- Mesures défensives**

Dans Les zones où les facteurs favorisant l'apparition du virus sont réunis, tels que la présence d'oiseaux migrateurs et l'existence de climat et de zones humides favorables à la multiplication des moustiques, des mesures défensives doivent être prises :

### **- Protection contre le vecteur chez l'homme**

Les mesures de protection individuelle revêtent une importance majeure dans la réduction du risque de transmission du virus West Nile. En l'absence de moyens permettant d'éradiquer totalement ce risque, une protection optimale est apportée par l'utilisation combinée des moyens de protection suivants :

1. port de vêtements adéquats, amples et longs ;
2. utilisation de répulsifs cutanés : leur durée de protection varie de 4 à 8 heures selon la nature et la concentration de la substance active et les conditions d'utilisation (sudation, température et humidité ambiantes, usage concomitant d'une crème solaire...). L'application doit être renouvelée après une baignade ; l'utilisation de crèmes solaires (anti UV) diminue l'efficacité de protection des répulsifs. Un répulsif ne devrait être appliqué sur la peau qu'au moins 30 minutes après une crème de protection solaire.

3. vérification de l'étanchéité des portes et fenêtres,
4. utilisation de moustiquaires, de préférence imprégnées : moustiquaires de lit, de porte ou de fenêtre, (en particulier moustiquaire de berceau)
5. imprégnations de tissus : rideaux, vêtements,
6. limitation des activités en extérieur aux heures où les moustiques sont les plus actifs.

#### **- Protection contre le vecteur chez le cheval**

Dans les écuries, il faut changer l'eau des abreuvoirs ou de tout autre récipient d'eau au moins tous les quatre jours, ou de préférence si possible tous les jours. Il faut laisser les couvercles sur les poubelles et autres conteneurs. Il faut limiter l'exposition des chevaux au vecteur, garder si possible le cheval à l'écurie le soir, lorsque les moustiques sont plus actifs, il faut éteindre les lumières la nuit (55).

On peut également utiliser des répulsifs en zone infectée que l'on applique sur les chevaux et des moustiquaires peuvent être posées aux portes des boxs (57).

## **Ω- Vaccination**

### **-Chez l'Homme**

Aucune vaccination n'est actuellement disponible contre le virus du Nil Occidental chez les hommes.

### **-Chez les équidés**

Aux Etats-Unis, quatre vaccins sont actuellement disponibles avec A.M.M. (35).

- un vaccin inactivé adjuvé à virus entier disponible depuis 2001 (West Nile-Innovator®, Pfizer™) lequel a également obtenue une A.M.M. en Europe (Duvaxin VWN®, Pfizer™)

- un vaccin recombinant, basé sur un vecteur Canarypox virus vectorisé commercialisé depuis 2004 (Recombitek equine VWN® Merial™). Les gènes codant pour les protéines prM et E ont été insérés dans le vecteur Canarypox. C'est ce vaccin qui a été utilisé lors de l'épizootie de 2010 par les autorités sanitaires marocaines pour la vaccination de chevaux dans les foyers de FWN déclarés.

- un vaccin vivant chimérique recombiné non adjuvé commercialisé en 2008 utilisant comme base un virus atténué de la fièvre jaune (YF17D), dont les gènes structuraux ont été remplacés par ceux du VWN (PreveNile®, Intervet™). Ce vaccin exprime les protéines prM et E dans le vecteur viral atténué de la fièvre jaune.

- un vaccin ADN adjuvé incluant les gènes codant pour prM et E, disponible depuis 2008 mais dont le prix de revient est trop élevé et donc non commercialisé (West Nile Innovator-DNA®, Pfizer™)

## **6- Aspects épidémiologiques**

### **a-Répartition géographique**

#### **$\alpha$ - Répartition mondiale**

Le virus circule de façon endémique en Afrique et en Asie. Dans le reste du monde, notamment en Europe et en Amérique, il provoque régulièrement des épidémies **(163)**. L'émergence inattendue du virus en 1999 en pleine ville de New York, associant des cas humains d'encéphalite mortelle et une mortalité aviaire importante puis la diffusion rapide sur le continent américain, a entraîné un regain d'intérêt pour cette virose. En 10 ans et rien qu'aux Etats-Unis, la propagation du WNV a entraîné plus de 29 000 cas humains dont 1157 décès, associés à au moins 25 000 cas équins **(126)**.

Le WNV a été reconnu comme un agent pathogène humain en Afrique au cours de la première moitié du 20<sup>ème</sup> siècle. Bien que plusieurs épidémies de fièvre WN aient été décrites, l'encéphalite due à ce virus chez les humains a été rarement observée avant 1996. Depuis, des épidémies d'encéphalites ont été signalées en Roumanie, Russie, Israël, Amérique du Nord, France, Tunisie, Italie et Grèce.

Pendant les années 1960, La Fièvre du West Nile a été rapportée chez des chevaux en Egypte et en France **(118, 139)**. Depuis 1996, des épizooties de WNV équine avec encéphalites ont été signalées en Argentine, Canada, France, Israël, Italie, Maroc, Espagne et États-Unis. En 2011, une épizootie d'encéphalite équine de Kunjin virus, a été signalée en Australie.

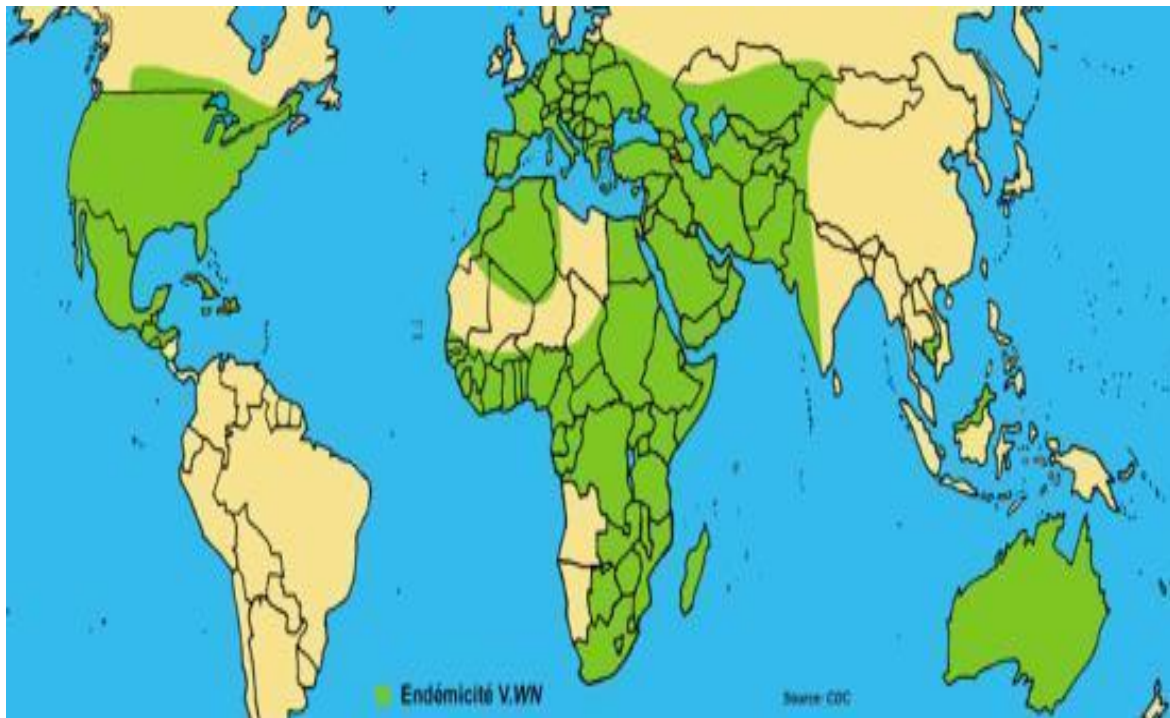


L'apparition de la maladie chez les oiseaux, les animaux et les humains et la surveillance des moustiques pour l'activité du WNV a démontré que la répartition du virus s'est considérablement élargie y compris en Amérique, en Europe et au bassin méditerranéen.

Cette endémisation du virus en Méditerranée est particulièrement nette en Italie où, chaque année depuis 2008, date de la réémergence du virus dans ce pays **(23)**, des cas de fièvre de WN chez l'homme sont diagnostiqués dans les régions du Nord de l'Italie (Vénétie, Lombardie et Emilie-Romagne) où co-circulent, depuis 2012, les deux lignées du virus WN **(26)**.

En effet, la lignée 1 a été responsable de la majorité des foyers identifiés en Europe avant que, en 2004, ne soit isolée en Hongrie la lignée 2 qui s'est depuis étendue à toute l'Europe de l'Est et à une partie de l'Europe du sud **(8)**. La surveillance des équidés en 2013 a révélé des cas principalement en Italie, Grèce et Espagne, dans des zones où le virus avait déjà été isolé en 2012 **(OIE ,2012)**.

Cette implantation du WNV est aussi associée en 2013 à une extension de son aire de répartition à d'autres régions d'Europe. Elle est particulièrement visible dans les Balkans avec, en Serbie par exemple, 302 cas humains en 2013 pour 69 cas diagnostiqués en 2012. Néanmoins, le nombre de cas humains cumulés par année au niveau des pays européens et des pays voisins n'est pas en faveur d'une augmentation de l'incidence en 2013.



**Figure 12** : Répartition de la FWN dans le monde

Source : <http://www.astrium.com/Virose-west-nile.html>

### **β- La Fièvre du West Nile au Maroc**

Le Maroc a connu trois épisodes d'infections dues au WNV. Le premier foyer est survenu en août 1996 (43). Des symptômes nerveux ont été signalés dans un élevage de chevaux dans la province de Benslimane, puis l'épizootie s'est propagée à des provinces voisines au centre et au nord-ouest. Entre août et novembre, 94 cas cliniques ont été enregistrés chez les équidés faisant 42 morts. Un seul cas humain d'encéphalite mortelle attribuée au virus WN a été rapporté à la même époque.

Les deux autres épisodes se sont produits après un même silence épidémiologique de sept ans (en 2003 et 2010), dans les mêmes provinces et aux

mêmes périodes de l'année. En 2003, entre septembre et octobre, 9 cas équins avec des troubles neurologiques ont été observés dans la région du Gharb, au nord-est de Kenitra. Plus tard, en 2010, entre le 20 juillet et le 17 août, seize foyers équins ont été identifiés, essentiellement dans la région de Benslimane : sur 111 chevaux, 17 ont présenté des signes cliniques et 8 sont morts **(110)**.

Les souches qui circulent au Maroc ont une parenté génétique avec celles identifiées dans l'ouest du bassin méditerranéen et elles se caractérisent par une virulence importante pour les équidés. Le séquençage des isolats marocains de 1996 et 2003 montre une similitude nucléotidique de 98.9% **(141)**.

Une enquête sérologique chez le dromadaire a été menée sur 1392 sérums pour estimer les variations de prévalence des maladies virales entre 2003 et 2009 et sur différents sites au sud du Maroc a montré que la séroprévalence a augmenté au fil du temps de 10 à 13% **(155)**.

**b- Epidémies récentes**

<b>Année</b>	<b>Pays</b>	<b>Cas</b>	<b>Décès</b>
1999	États-Unis	149 cas	18 décès
1999	Canada	1 cas	1 décès
2000	Israël	417 cas	33 décès
2001	Canada	10 cas	0 décès
2002	États-Unis	4 156 cas	284 décès
2002	Canada	416 cas	0 décès
2003	États-Unis	9 858 cas	264 décès
2003	Canada	1494 cas	14 décès
Août 2003	France (Var)	7 cas	0 décès
2004	Canada	26 cas	2 décès
2004	États-Unis	2 539 cas	100 décès
2005	États-Unis	3 000 cas	119 décès
2005	Canada	239 cas	12 décès
2006	États-Unis	4 269 cas	177 décès
2007	États-Unis	3 623 cas	124 décès
Août 2010	Grèce	60 cas	4 décès
Août 2010	Russie	140 cas	6 décès
Juillet 2012	Texas (États-Unis)	1 868 cas	20 décès
Juil.-sept. 2012	Tunisie	15 cas	1 décès

**Aux États-Unis** 13 cas en 2002 ont été contractés par transfusion sanguine. Le coût en soins de santé liés au virus en 2002 était estimé à 200 millions de dollars. Le premier cas humain de la maladie a été détecté en juin 2003 et un autre a été également identifié le même mois suite à une transfusion de sang infecté. Au cours de la flambée de 2003, 9 862 cas et 264 décès ont été signalés par les CDC. Au moins 30 % de ces cas ont été jugés graves, impliquant une méningite ou une encéphalite. En 2008, dans les données de surveillance du virus WN signalées aux CDC, sur un total de 28 États on a noté 236 cas de maladies humaines dues au virus. La totalité des 137 patients pour lesquels on disposait de données étaient de sexe masculin, l'âge médian des patients était de 48 ans. Les dates du début de la maladie sont réparties du 17 janvier au 14 août. Deux cas ont été mortels. En 2012, le virus du Nil occidental a fait 20 morts parmi 1 868 personnes atteintes

**Canada :** En 2007, 445 Manitobains ont confirmé des cas de virus WN, deux personnes sont mortes et une troisième est décédée mais la cause du décès n'a pas été confirmée et le virus est seulement soupçonné. La Saskatchewan a signalé 826 cas et trois décès. La propagation des moustiques infectés par le virus du Nil occidental en Colombie-Britannique a été signalée pour la première fois en 2009.

**Israël :** En 2000, le CDC a constaté qu'il y avait 417 cas confirmés, avec 326 hospitalisations. La mortalité s'élevait à 33 décès. Les tableaux cliniques principaux étaient l'encéphalite (57,9 %), la maladie fébrile (24,4 %) et la méningite (15,9 %).

**Roumanie :** En 1996-1997, environ 500 cas se sont déclarés en Roumanie avec un taux de létalité de près de 10 %.

**Tunisie:** de 2010 à 2012, les gouvernorats de Jendouba, Kébili, Monastir, Tataouine et Gabès ont connu des cas d'infection : 15 cas confirmés, dont un décès au 5 octobre 2012 **(46)**.



## *Chapitre II :*

# *Matériel & Méthode*

## **A-SITE DE L'ETUDE**

Il s'agit d'une étude épidémiologique descriptive et transversale, qui a été menée durant les mois de juillet, août et septembre 2013 au centre de transfusion sanguine (CTS) des Forces Armées Royales (FAR) situé à l'hôpital militaire d'instruction Mohammed V de Rabat. Ce dernier se place parmi les grandes structures hospitalières du pays, accueillant les différentes spécialités médico-chirurgicales, avec une capacité litière de 710 lits. Concernant son centre de transfusion, il reçoit les donneurs de sangs des différentes casernes et garnisons installées dans la zone de desserte, allant de Larache à El Jadida au sud, et de la région du Gharb à celle de Meknès à l'est.

## **B-POPULATION DE L'ETUDE**

Pour des raisons de faisabilité, nous nous sommes intéressés aux donneurs de sangs lors de la collecte de sang, effectuée de façon bihebdomadaire, au niveau du CTS des FAR.

Ainsi, nous avons inclus dans notre étude tout sujet éligible au don de sang provenant des différents sites susmentionnés, et ayant donné son accord et son consentement éclairés pour l'étude.

Ont été exclus de cette étude les sujets non éligibles au don de sang pour des raisons de pathologie chronique, de syndrome anémique clinique, ou toute autre affection contre indiquant le don de sang temporaire ou définitif (les sujets ayant effectué un séjour récent en zone tropicale et en zone d'endémie palustre...), et les sujets qui se sont présentés au don en dehors de la période de l'étude.



## **C-METHODES**

### **1-Questionnaire**

Le support de notre étude était un questionnaire individuel anonyme respectant la confidentialité des personnes interrogées. Il a été confectionné à partir de questionnaires des études semblables, consultés dans notre revue de la littérature. Nous avons ainsi pu déterminer les différentes dimensions que doit comporter notre anamnèse, à savoir :

- les caractéristiques sociodémographiques des donneurs de sang tels que le sexe, l'âge, le lieu de résidence, l'occupation, le niveau d'instruction, et enfin la mobilité qui correspondait à la réalisation de déplacements fréquents ou à des migrations hors de la ville d'étude ou du pays.
- Les facteurs de risque exposant à l'infection par le virus West Nile, à savoir le contact avec le cheval, l'activité de pêche en eau douce, le travail au lever ou au coucher du soleil, proximité des points d'eau ou marécages.
- Le type de résidence : appartement, maison traditionnelle, villa, bidonville.
- La présence des animaux à proximité, ou de gîtes d'eau dans l'entourage.
- Activités professionnelles et loisirs nécessitant une présence à l'air libre, surtout le soir et au petit matin.
- L'exposition aux piqûres d'insectes pendant l'été et leur nature.
- L'usage d'un anti-moustique (moustiquaire, répulsif, produit chimique ou autre) à la maison.(Voir annexe 1)

Le questionnaire a été adapté à l'environnement et au contexte socio-professionnel marocain. Il a été évalué et validé lors d'une petite enquête pilote traitant 10 donneurs de sang provenant de la même formation.

## **2-Les tests biologiques**

A côté du questionnaire et pour chaque donneur interrogé, un échantillon de sang a été pris à partir des fonds de tubes de prélèvements qui ont été utilisés pour la qualification immunologique et sérologique de chaque poche de sang prélevée, après l'accord du donneur et du médecin chef responsable du CTS des FAR de Rabat.

Les prélèvements de sang ont été acheminés à 4°C, au laboratoire National BIOPHARMA. Les échantillons ont été numérotés, centrifugés selon les cas, mis dans des tubes Eppendorf, étiquetés et conservés à -80°C jusqu'à utilisation.

BIOPHARMA est une société d'Etat, agissant comme laboratoire de référence vétérinaire pour la Fièvre du West Nile. C'est dans ce laboratoire que le diagnostic de l'infection WN a été réalisé en 1996, 2003 et 2010 et les virus responsables isolés et identifiés (43). Les enquêtes sérologiques antérieures sur la population humaine ont également été réalisées dans ce laboratoire (44).

Les directives actuelles du CDC recommandent l'usage de tests sensibles et spécifiques pour le diagnostic des encéphalites liées au WNV. Ainsi, sur les prélèvements sanguins collectés pour cette étude, et conformément aux règles de bonnes pratiques du laboratoire, nous avons opté pour le choix de 2 tests, à savoir le test de séroneutralisation en première ligne, complété par le test immuno-enzymatique de type ELISA capture en seconde ligne.

Commençons par le test de séroneutralisation. Nous avons cherché à dépister les anticorps de classe IgG par la séroneutralisation sur culture cellulaire, microméthode utilisant 100 doses infectieuses du virus West Nile pour la détection des anticorps neutralisants dans les échantillons de sérums. C'est la technique décrite par l'organisation mondiale de la santé animale (OIE) pour le diagnostic du WNV et valable pour toutes les espèces (109). La souche virale utilisée est la souche Maroc Bouznika 96. Cette souche dénommée « Mor.1996 EQ » a été identifiée et séquencée par le laboratoire Biopharma (43) isolée sur cellules BHK puis adaptée sur cellules VERO à partir du cerveau d'une jument qui a succombé à la maladie au cours de l'épizootie qu'a connu le Maroc en 1996. Un sérum était considéré positif lorsque son titre était supérieur ou égal à 1,02 log DN. Les sérums douteux bénéficient d'un 2<sup>ème</sup> essai pour confirmer ou infirmer le résultat.

Les échantillons pour lesquels nous avons dépisté un titre élevé en anticorps (entre 1,46 log DN et 1,5 log DN), ainsi que d'autres jugés à risque selon les résultats de la première analyse par séroneutralisation, ont fait l'objet d'un deuxième test de type ELISA capture à la recherche des anticorps de classe IgM, témoins d'une infection probablement récente.

Sur les sérums, nous avons utilisé la trousse (Kit ID Screen West Nile IgM Capture), développé au niveau du laboratoire italien IZPS de Teramo (Annexe 2).

Les sérums positifs en IgM prennent une coloration bleue, devenant jaune après l'addition de la solution d'arrêt. En absence d'anticorps (soit un sérum négatif en IgM), aucune coloration n'apparaît.

### **3-Déroulement de l'étude**

Préalablement à la mise en place de l'étude, l'autorisation du médecin chef de l'hôpital a été obtenue, ainsi que celle du chef de service du CTS des FAR.

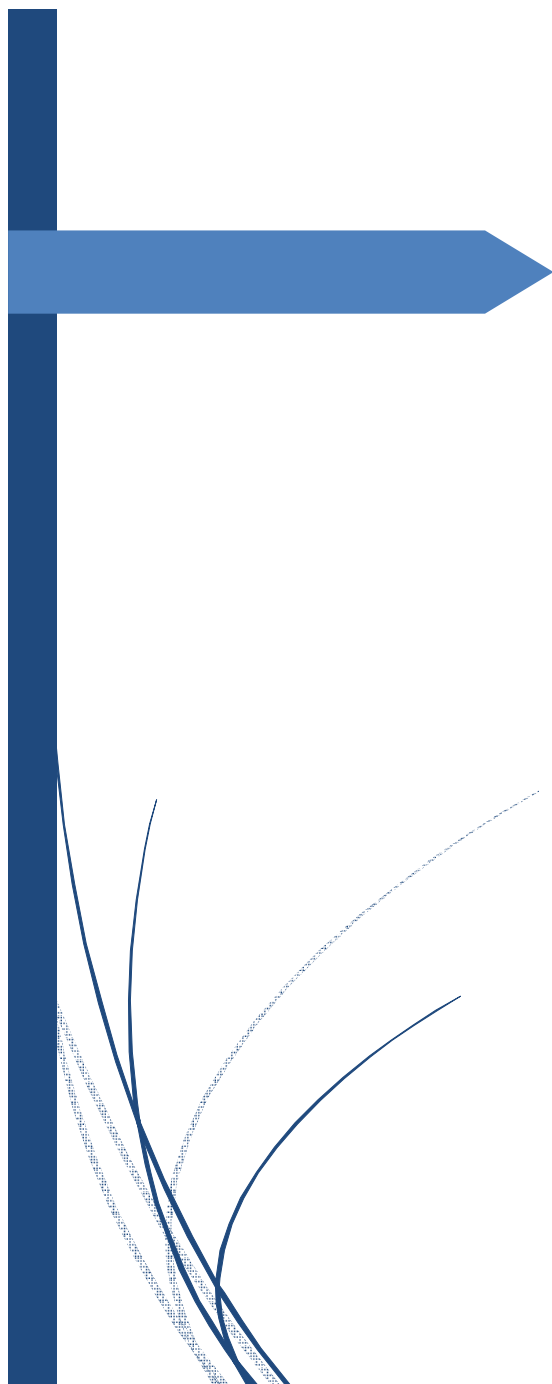
Pour chaque donneur et après son accord, l'enquêteur a expliqué le thème et les objectifs de l'étude avant de lui attribuer le questionnaire. Chaque donneur de sang répondait de façon individuelle et libre et pouvait solliciter les éclaircissements de l'enquêteur devant toute ambiguïté.

### **4-Saisie des données et analyse statistique**

La saisie des données de l'ensemble des réponses aux questionnaires a été effectuée au moyen du logiciel Microsoft Excel 2013 après avoir confectionné un masque de saisie.

L'analyse statistique a été réalisée grâce aux logiciels EpiData Analysis et SPSS 12.0.

Les variables qualitatives ou catégorielles ont été exprimées en pourcentage et comparées par le test d'indépendance du Khi-carré de Pearson. Les variables quantitatives ont été exprimées en moyenne +/- un écart type. Une différence n'est considérée statistiquement significative que lorsque le  $p$  est  $\leq 0,05$ .



## *Chapitre III : Résultats*

## **A-POPULATION ETUDIEE**

L'étude a porté sur 622 donneurs de sang provenant du Centre de Transfusion Sanguine de l'Hôpital Militaire d'instruction Mohammed V.

La grande majorité des donneurs de sang qui se sont présentés durant la période de l'étude était des jeunes recrues (80%), n'ayant pas encore eu l'occasion d'assurer des missions sur un territoire étranger.

### **- Répartition des échantillons selon l'âge :**

L'âge des donneurs de sang se situait dans un intervalle de 17 ans pour les plus jeunes et 51 ans pour le plus âgé, avec un âge moyen de 22,7 (+/- 5). La majorité des donateurs avait moins de 26 ans au moment du don (514) soit un taux de 82.63% (Figure 13).

**Tableau 1** : Répartition des donneurs de sang selon l'âge

17- 26 ans	26 – 34 ans	≥ 34ans
514 (83%)	81 (13%)	27 (4%)

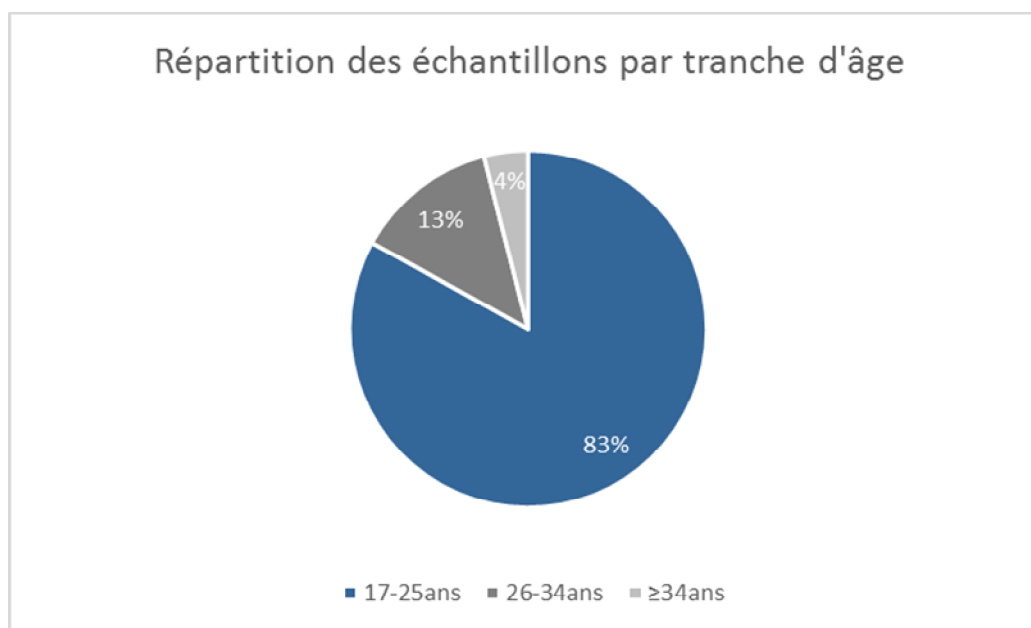


Figure 13 : Répartition de l'échantillon par tranche d'âge

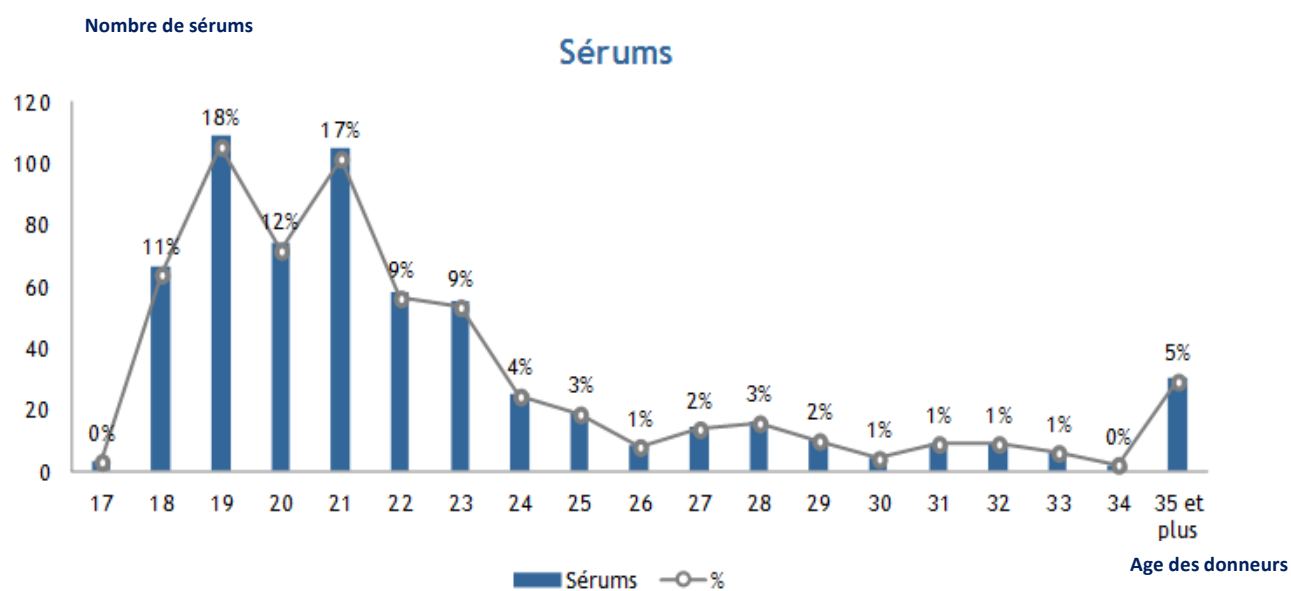


Figure 14 : Répartition par âge des échantillons de donneurs de sang

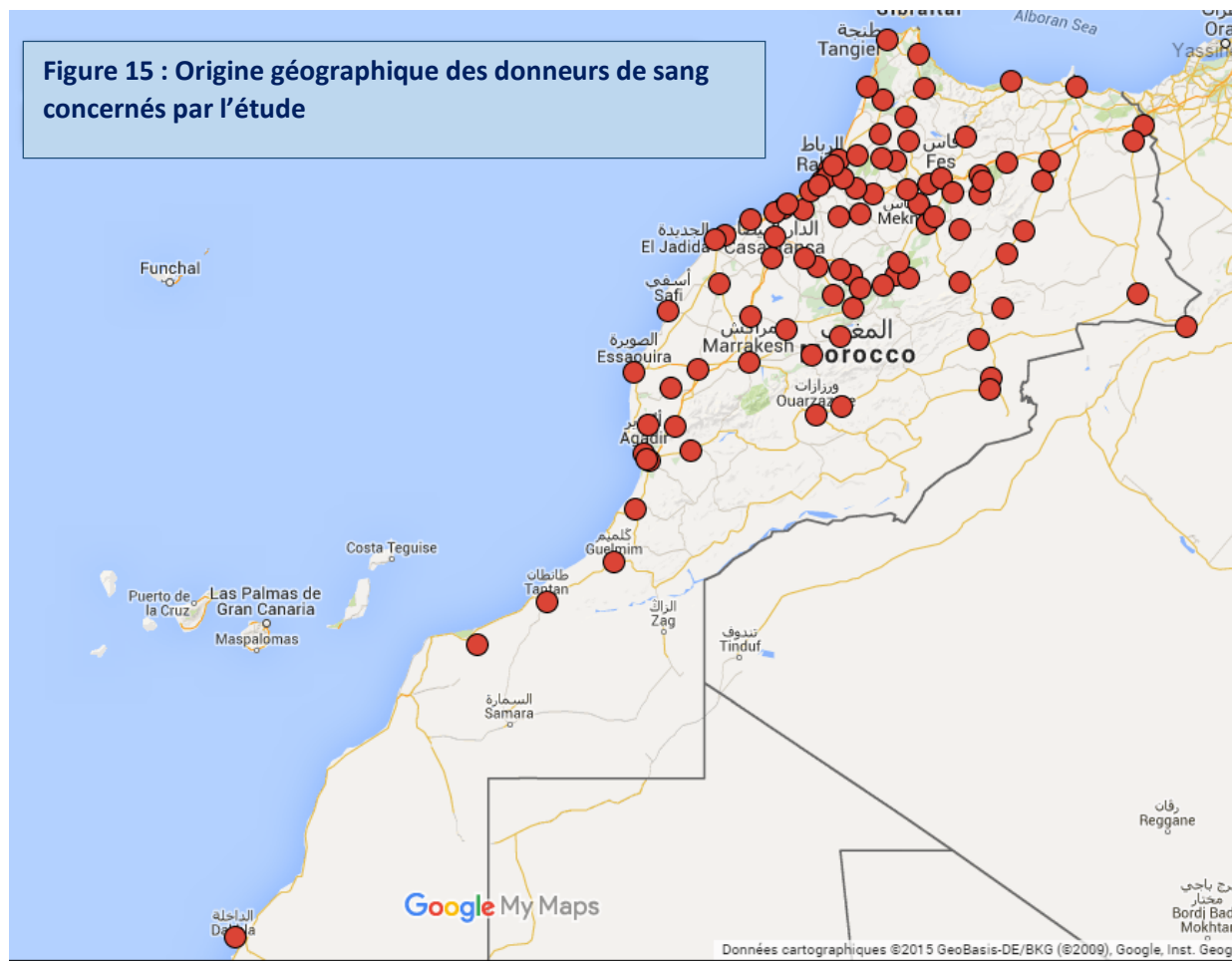
**- Répartition des échantillons selon le sexe :**

Seules 14 femmes ont fait partie de la population sélectionnée dans cette enquête contre 608 donneurs de sexe masculin, avec une sex-ratio de 304 H/7F.

**- Répartition des échantillons selon l'origine géographique :**

La carte rapportée en figure 15 illustre l'origine géographique des donneurs de sang concernés par cette enquête. L'origine des donneurs de sang montre une distribution uniforme sur l'ensemble des provinces du Royaume.



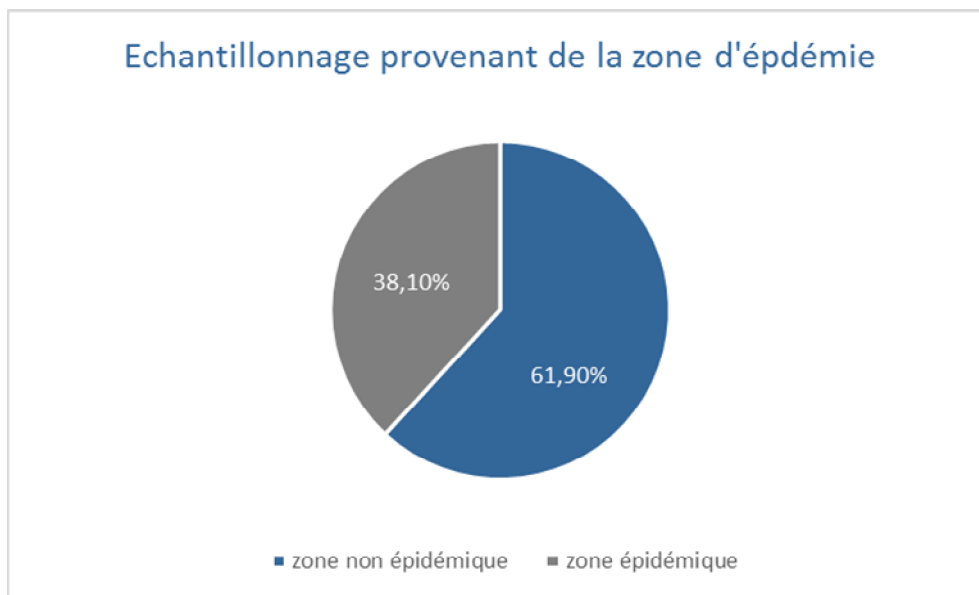


### **- Répartition des échantillons selon l'activité nocturne :**

Seuls 6 donneurs de sang ont déclaré avoir des activités nocturnes régulières en pratiquant la pêche en eau douce, facteur favorisant l'exposition aux vecteurs. Les 6 personnes proviennent de zones indemnes de circulation virale et de ce fait ce paramètre n'a pas été retenu pour l'analyse.

### **- Répartition des échantillons en fonction de la zone d'épidémie :**

Les échantillons couvrent l'ensemble du territoire national. Ainsi, 38% des donneurs de sang proviennent de la zone d'épidémie où la maladie a déjà été déclarée chez les équidés : littoral atlantique nord entre Larache et El Jadida.



**Figure 16 :** Représentation des donneurs de la zone d'épidémie

## **B- RESULTAT GLOBAL :**

Sur les 622 personnes dépistées à la recherche des anticorps de classe IgG anti-WNV, par la technique de séroneutralisation sur sérum, 34 échantillons se sont avérés positifs, soit une prévalence globale de 5.46%.

**Tableau 2 :** Résultat global de l'analyse par le test de séroneutralisation

<b>Séroneutralisation</b>	<b>Positive</b>	<b>Négative</b>
Nombre de sérums	34 (5,46%)	588 (94,54%)

La recherche des anticorps de classe IgM, par technique ELISA, a été effectuée sur 75 échantillons. Elle n'a pas mis en évidence la présence de ce type d'anticorps qui témoigne que l'infection est récente.

## **C- RESULTATS SELON LES FACTEURS DE RISQUE : UNI VARIABLE**

### **1- Facteur Âge :**

L'échantillonnage a concerné des individus entre 17 et 51 ans. L'âge moyen était de 22,7 ans avec un intervalle de plus ou moins 5ans. Les donneurs ont été répartis en 3 catégories selon leur âge. La première classe comprenait les sujets âgés entre 17 et 25 ans compris, la 2ème entre 26 et 34 ans et la 3ème concernait les personnes dont l'âge était supérieur ou égal à 35 ans. Les donneurs ayant un âge inférieur ou égal à 25 ans (au nombre de 514) représentent 83% environ des donneurs concernés par l'enquête.

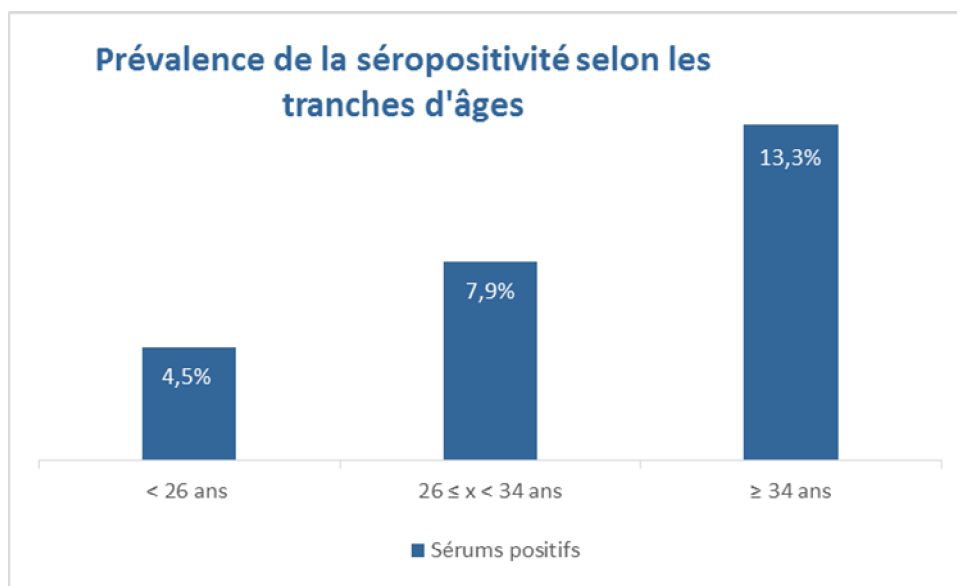
Sur les 514 personnes dépistées et dont l'âge était inférieur ou égal à 25ans, 23 sont séropositifs au test de séroneutralisation, soit une prévalence de 4,5% (un donneur sur 22). Chez les plus de 34ans, la prévalence est de 13,3% (un donneur sur 7).

**Tableau 3 :** Prévalence de la séropositivité chez les personnes dépistées selon les tranches d'âges

<b>Personnes dépistées</b>	<b>Total</b>	<b>Sérums Négatifs</b>	<b>Sérums Positifs</b>	<b>P</b>
Âge				0,04
17 – 25 ans	514	491 (95,5%)	23 (4,5%)	
26 – 34 ans	78	71 (91%)	7 (9%)	
≥ 34 ans	30	26 (86,7%)	4 (13.3%)	

Avec un  $P$  à 0,04, la différence créée par la variable de l'âge est statistiquement significative.

Les résultats par classe d'âge sont représentés par ce graphique (figure 17) qui montre que la prévalence augmente avec l'âge jusqu'à atteindre 13,3% pour les plus de 34 ans.



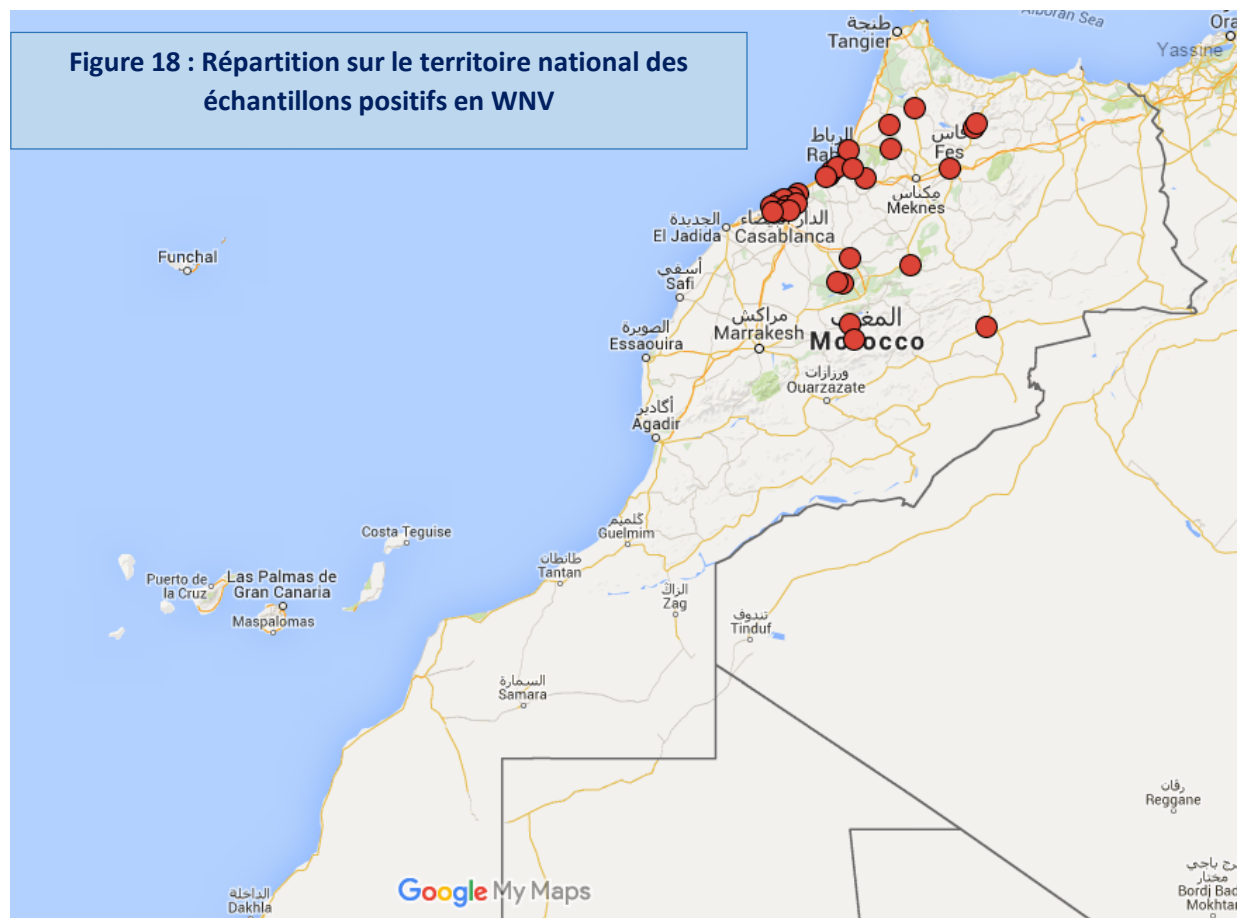
**Figure 17 :** Prévalence de la séropositivité selon les tranches d'âge

## **2- Facteur Sexe :**

Seules 14 femmes faisaient partie de l'échantillonnage contre 608 donateurs de sexe masculin. Le taux de positivité chez les femmes est nul pour une valeur de 5.6% de sérums positifs chez les hommes.

### 3- Origine géographique :

Sur la carte globale du pays, on remarque que la majorité des positifs provienne du littoral atlantique nord soit 24 sujets ou 71%.



Selon une étude antérieure réalisée sur les variables climatiques associées avec l'occurrence de la fièvre du Nile Occidental au Maroc et la prévalence de l'infection chez le cheval, le Maroc a été divisé en 3 régions **(12)**. Les régions d'origine des donneurs ont été ainsi divisées en 3 groupes : Zone A : Littoral Atlantique.

Zone B : Littoral méditerranéen, Atlas et Pré Atlas.

Zone C : Plaines intérieures.

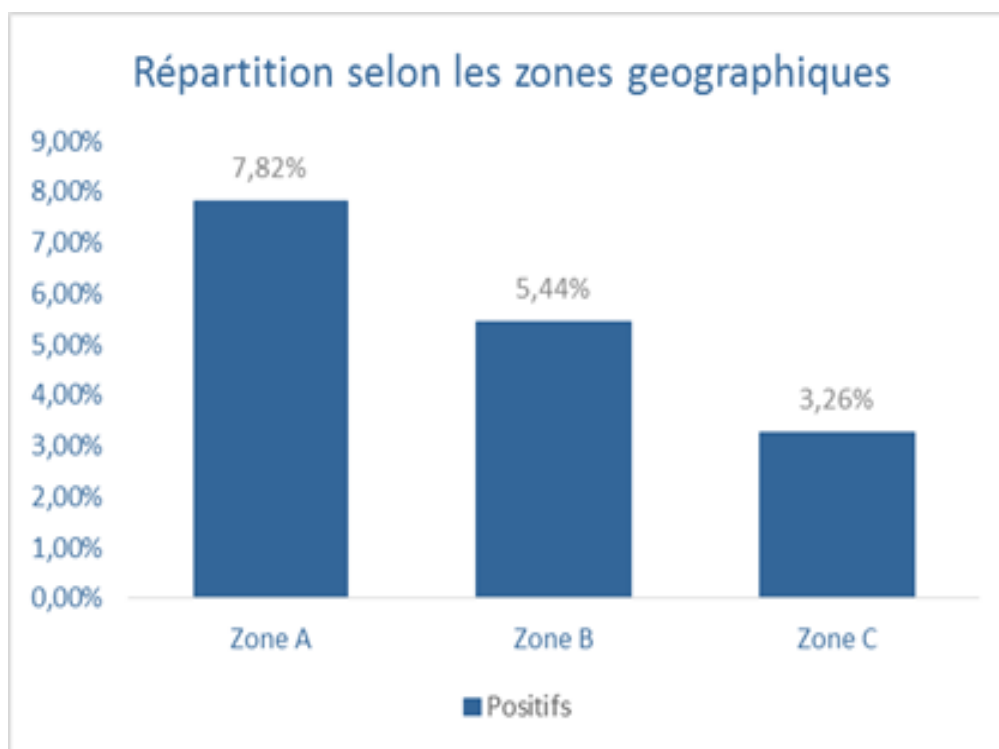
**Tableau 4** : Prévalence des donneurs positifs selon les zones géographiques

---

<b>Séroneutralisation</b>	<b>Négative</b>	<b>Positive</b>	<b>P</b>
<hr/>			
Zone géographique			
A	210 (92,1%)	18 (7,9%)	0,083
B	139 (94,6%)	8 (5,4%)	
C	239 (96,8%)	8 (3,2%)	

---

La différence créée par la variable de l'origine géographique selon les 3 zones n'est pas statistiquement significative.



**Figure 19** : Prévalence des donneurs positifs selon les zones géographiques

Le littoral atlantique représente la zone à haut risque, très probablement à cause de sa situation sur le trajet des oiseaux migrateurs, hôtes du WNV. On constate que la prévalence baisse nettement au fur et à mesure que l'on s'éloigne de la côte atlantique.



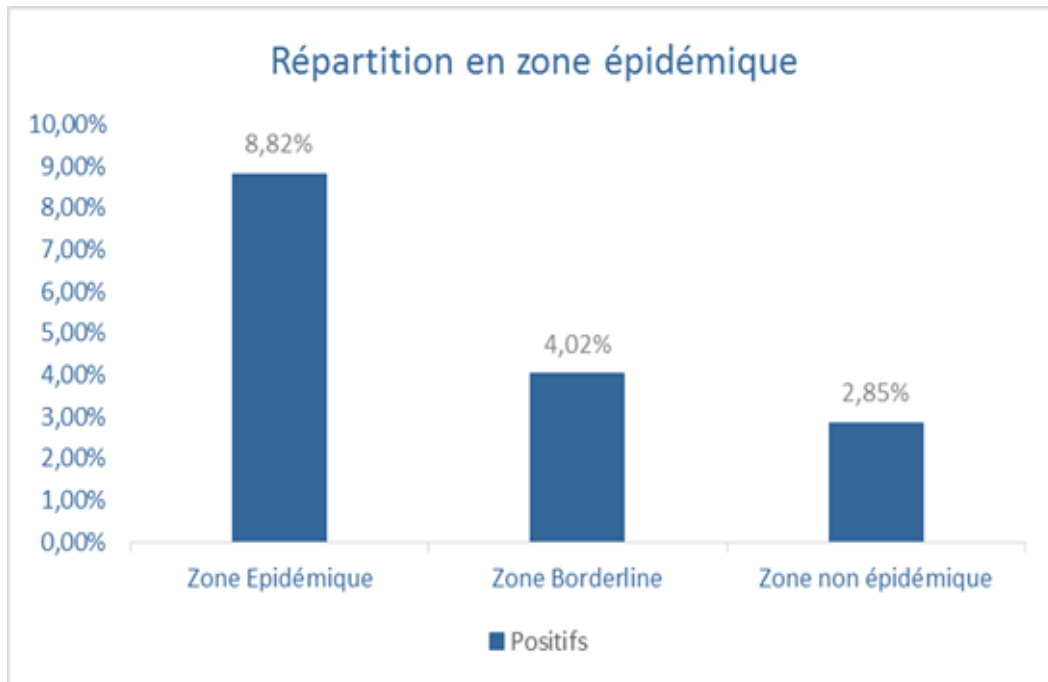
#### **4- Zone d'épidémie :**

Les origines géographiques ont été également classées selon la proximité ou l'éloignement de la zone d'épidémie de la maladie enregistrée chez les chevaux dans les années précédentes. Ainsi, nous avons pu délimiter une zone d'épidémie, une zone borderline et une zone lointaine.

**Tableau 5 :** Prévalence des sérums positifs selon la proximité de la zone d'épidémie

<b>Séroneutralisation</b>	<b>Négative</b>	<b>Positive</b>	<b>P</b>
Zone épidémique			0,011
Non	205 (97,2%)	6 (2,8%)	
Borderline	169 (96%)	7 (4%)	
Oui	214 (91,1%)	21 (8,9%)	

La variable de l'origine géographique en zone d'épidémie est statistiquement significative pour influencer et favoriser l'infection par le WNV.



**Figure 20 :** Prévalence de la séropositivité selon la zone d'épidémie

La zone d'épidémie représente les provinces où la maladie a déjà été signalée chez les chevaux : Littoral atlantique entre Larache et Settat. Nous remarquons que la prévalence diminue considérablement tant qu'on s'éloigne de cette zone. Les provinces épidémiques au WNV au Maroc présentent une prévalence 3 fois supérieure que les régions non épidémiques; presque un donneur sur 10 a déjà été au contact du virus dans cette zone (8,9%).

## **5- Origine rurale ou urbaine :**

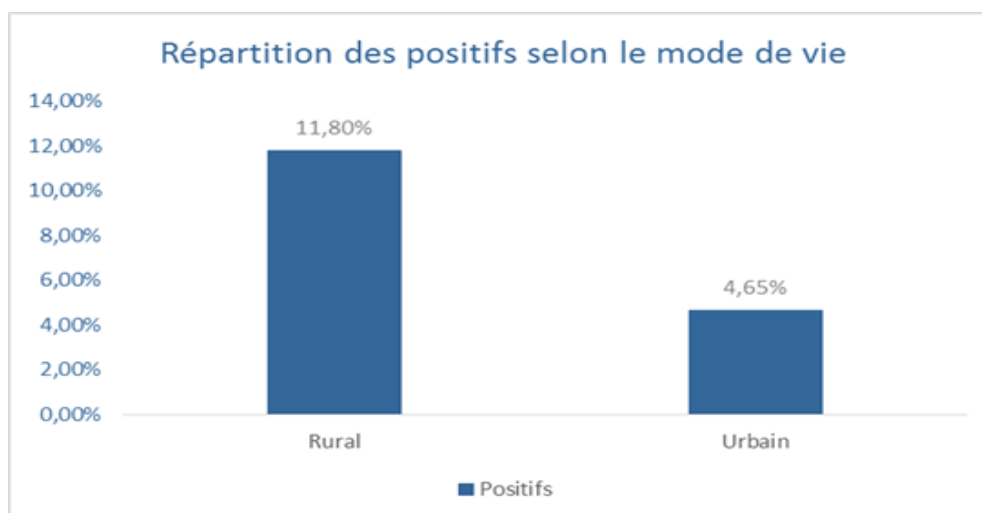
Cette information a été vérifiée selon un autre critère, le contact ou non avec le cheval. Ainsi, nous avons une idée plus précise sur l'habitat du donneur, sur son mode de vie principalement extérieur, et sur sa mobilité. Ces trois facteurs favorisent l'exposition au vecteur et ainsi l'acquisition du WNV.

Globalement, sur les 85 échantillons analysés et qui proviennent du monde rural, 10 sont positifs soit 11,7%. Sur les 537 prélèvements d'origine urbaine analysés, 24 sont positifs, soit un taux de 4,65%.

**Tableau 6 :** Prévalence des positifs selon le mode de vie : urbain ou rural

<b>SN</b>	<b>Négative</b>	<b>Positive</b>	<b><i>P</i></b>
Origine			<
Urbaine	514 (95,35%)	24 (4,65%)	0,01
Rurale	75 (88,2%)	10 (11,8%)	

La variable est statistiquement significative. L'origine rurale influencerait considérablement l'incidence et la prévalence de la Fièvre du West Nile.



**Figure 21** : Prévalence des donneurs de sang positifs selon le mode de vie

Ainsi, les donneurs du milieu rural sont beaucoup plus exposés à l'infection par le virus du Nile Occidental que les donneurs d'origine urbaine ( $\times 2.5$  fois).

## 6- Activités nocturnes des donneurs :

Sur les 622 personnes ayant fait don de leur sang, seuls 6 individus déclarent avoir des activités nocturnes. Ces activités se résument pour la plupart à la pêche en eau douce la nuit.

La recherche des actions nocturnes dans l'anamnèse des donneurs de sang vise à révéler leur exposition au vecteur de la maladie, le moustique *Culicidae*. Les donneurs positifs au test de séroneutralisation à la recherche d'anticorps IgG ne rapportent pas d'activités nocturnes.

Ce facteur de risque n'est donc pas significatif. Ceci s'explique par la nécessité de la présence d'oiseaux pour la transmission de la maladie, état non favorisé par la pêche.

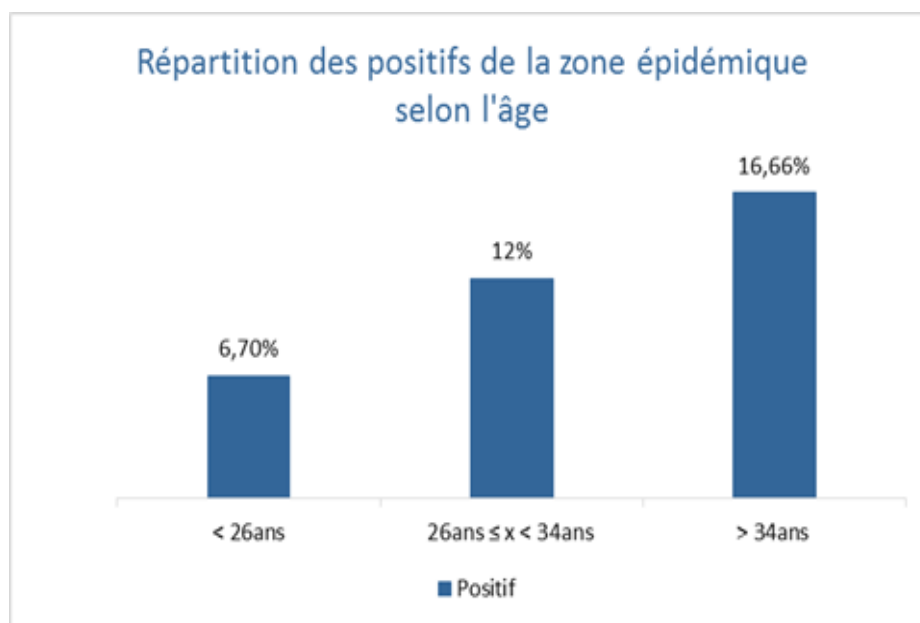
## **D- RESULTATS SELON LA COMBINAISON DES FACTEURS : MULTI-VARIABLE**

Cette analyse veille à déterminer la prévalence de la maladie dans des zones d'endémie avec la sommation d'un ou plusieurs facteurs de risque.

### **1- Facteur âge en zone d'épidémie :**

**Tableau 7 :** Répartition des donneurs de sang issus de la zone d'épidémie selon l'âge

SN	Négative	Positive	P
Zone épidémique			0,19
Total : 235			
< 26 ans	150 (93,3%)	11 (6,7%)	
26 < x < 34 ans	44 (88%)	6 (12%)	
≥ 34 ans	20 (83,34%)	4 (16,66%)	



**Figure 22 :** Prévalence des positifs issus de la zone d'épidémie selon l'âge

Les résultats de cette enquête montrent que les donateurs de plus de 34 ans sont à pratiquement 17% séropositifs en zone d'endémie (un sujet sur 6). Ce risque diminue chez les jeunes. En effet, à partir de l'âge de 26 ans, au moins un donneur sur huit ( $\frac{1}{8}$ ) a déjà été infecté par le WNV dans ces zones.

## 2- Origine rurale selon les zones géographiques :

L'analyse des résultats selon les 3 zones (A, B et C) prédéfinies montre :

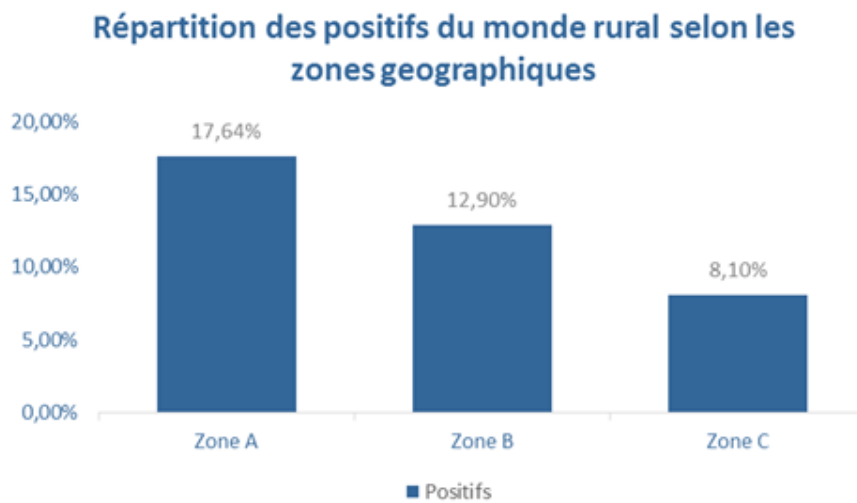
**Tableau 8** : Répartition des donneurs de sang du monde rural selon les 3 zones géographiques

SN	Négative	Positive	P
Origine rurale			0,62
Total : 85			
Zone A	14 (82,36%)	3 (17,64%)	
Zone B	27 (87,10%)	4 (12,90%)	
Zone C	34 (91,90%)	3 (8,10%)	

Zone A : Littoral Atlantique ;

Zone B : Littoral méditerranéen, Atlas et Pré-Atlas ;

Zone C : Plaines intérieures.



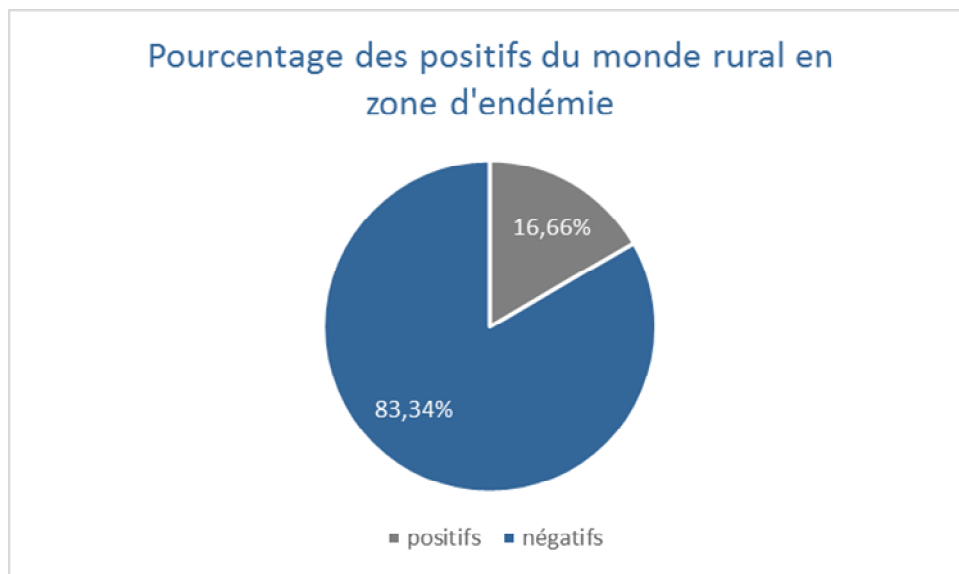
**Figure 23** : Prévalence des donneurs positifs provenant du monde rural selon les zones géographiques

On constate alors que la séroprévalence est maximale chez les donneurs de sang d'origine rurale sur le littoral atlantique : un sujet sur cinq a déjà été infecté par le WNV, même au plus jeune âge dans cette zone (83% des donneurs ont moins de 26 ans).

### **3- Origine rurale dans la zone d'épidémie :**

**Tableau 9 :** Prévalence des donneurs positifs du monde rural en zone d'épidémie

SN	Négative	Positive
Origine rurale en zone d'épidémie		
Total des sérums : 24	20 (83,34%)	4 (16,66%)



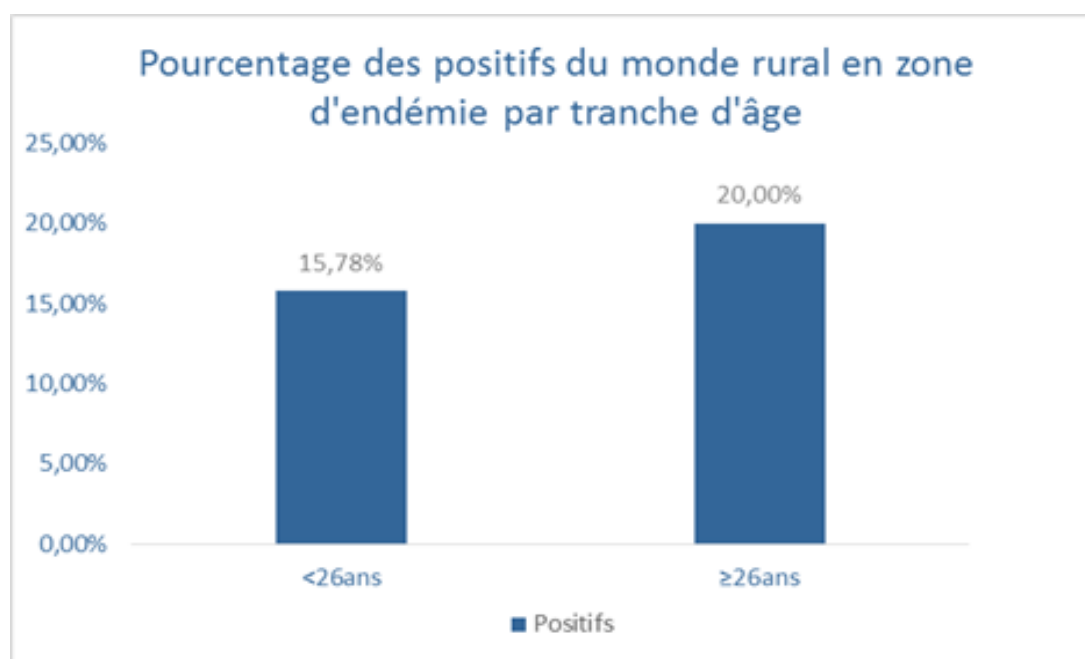
**Figure 24 :** Prévalence des donneurs positifs du monde rural en zone d'épidémie



#### 4- Âge et origine rurale en zone d'épidémie

**Tableau 10** : Répartition des donneurs provenant du monde rural de la zone d'épidémie selon les tranches d'âge

SN	Négative	Positive	P
Origine rurale en zone d'épidémie			0,33
<26	16 (84,22%)	3 (15,78%)	
26 < x < 34 ans	1 (50%)	1 (50%)	
≥ 34 ans	4 (80%)	1 (20%)	



**Figure 25** : Prévalence des donneurs positifs provenant du monde rural de la zone d'épidémie selon les tranches d'âge

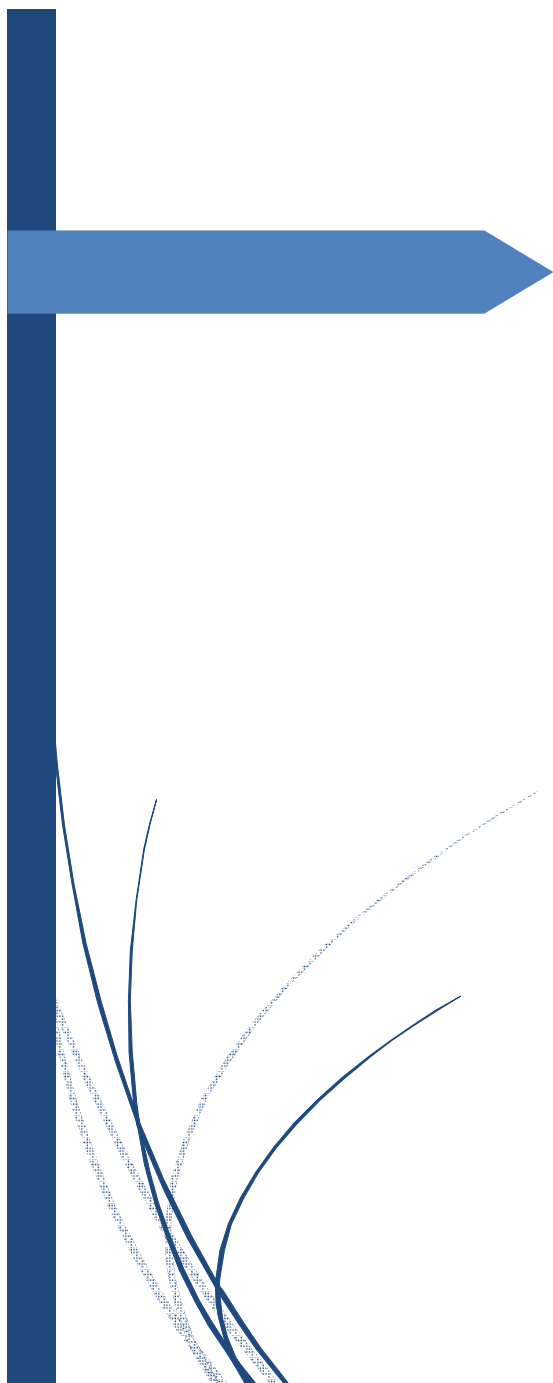
La séroprévalence est maximale chez les donneurs d'origine rurale en zone d'endémie. Ce taux augmente avec l'âge jusqu'à atteindre 20%, c'est à dire un individu sur cinq de plus de 26 ans, a déjà contracté le virus WN dans les zones rurale d'endémie de la WN, ce qui représente un taux très élevé.

## **E-TABLEAU RECAPITULATIF DES COVARIABLES :**

**Tableau 11 :** Tableau récapitulatif des covariables avec l'indice p respectif

Covariables	<i>P</i>
Âge	0,04
Zones géographiques (A, B, C)	0,083
Zone d'épidémie	0,011
Origine rurale	< 0,01
Âge en zone d'épidémie	0,19
Origine rurale dans les zones géographiques	0,62
Âge et origine rurale en zone d'épidémie	0,33

---



## *Chapitre IV :*

### *Discussion*

Nous avons entrepris cette étude afin d'évaluer la prévalence des anticorps anti-WNV chez les donneurs de sang. Nous avons choisi de travailler sur les donneurs de sang militaires du fait que la majorité des donneurs proviennent de la zone d'endémie du WNV qui est le littoral atlantique marocain.

Concernant la répartition selon l'origine géographique de nos donneurs de sang, elle montre une distribution relativement uniforme sur les provinces du royaume. Ceci est probablement dû au fait que le CTS de Rabat est le plus grand CTS des FAR de par sa capacité de recrutement des donneurs de sang. En effet, sa zone de desserte concentre un nombre important d'écoles et d'instituts de formation des Force Armées Royales, lieux de recrutement des bacheliers issus des différentes régions du royaume.

La prévalence en anticorps de classe IgG, recherchés par la technique de séroneutralisation, dans notre étude, a révélé un taux de 5,46%, taux relativement moyen par rapport à ceux rapportés dans la littérature, et qui vont de 0,54% en Turquie (47) à 24% en Egypte (147).

La technique de dépistage utilisée est la technique de séroneutralisation, qualifiée comme sensible et spécifique du WNV, ce qui signifie que les donneurs de sang positifs en IgG ont bel et bien eu un contact avec le virus WN ; sans pour autant pouvoir prédire si les donneurs sont virémiques ou pas. La recherche des anticorps IgM par la technique ELISA n'est ni sensible ni spécifique. La méthode ELISA détecte l'ensemble des Flavivirus et ne permet pas de différencier entre le WNV et les autres membres du groupe. L'usage de

ce test donnerait sûrement des faux positifs au Maroc, car l'existence d'autres flavivirus a déjà été signalée, notamment le virus Usutu **(53)**. Tous nos sérums testés par la technique ELISA sont revenus négatifs. Pour pouvoir se prononcer sur le risque virémique du don de sang, le seul examen biologique fiable est la recherche directe du virus par la détection du génome viral en utilisant la PCR par pool ou individuellement, comme ce qui se fait actuellement aux Etats-Unis, et comme ce qui se fait pour le VIH et les virus des hépatites en Occident et aux Etats-Unis. Malheureusement, pour des raisons de coût très élevé, il ne nous a pas été possible de réaliser la détection du génome viral WN dans cette étude.

Le taux de prévalence de notre étude sur les donneurs de sang se rapproche du taux de prévalence de l'étude de El Rhaffouli et al. **(44)** qui a travaillé sur une population civile, en bon état de santé apparente, choisie aléatoirement et provenant de 3 régions du Maroc (Meknès, Rabat, Kenitra), et qui a trouvé des taux respectifs de 4,5, 12 et 18,8%. Il demeure cependant inférieur à celui révélé dans d'autres pays endémiques comme l'Egypte où des séroprévalences de 24% ont été rapportées **(147)**. Quant aux autres pays d'endémie WN, le taux révélé par notre étude dépasse de loin celui rapporté en Turquie (0,54%) **(47)** et s'approche de celui rapporté en Tunisie -Monastir- durant la période des méningo-encéphalites en 2003 **(129)**.

L'analyse de notre population de donneurs de sang et la prévalence de notre étude en fonction d'un certain nombre de facteurs de risques décrits et soulevés par plusieurs auteurs font ressortir les associations statistiques suivantes :

➤ **En analyse uni-variée :**

- **Âge :** Les sujets de moins de 25 ans présentent un taux de positivité de 4.5%, ce qui voudrait dire qu'à l'échelle du pays, un donneur sur 22 contracte l'infection virale avant 25 ans. Pour les personnes de plus de 34 ans, pratiquement 14% ont déjà acquis la maladie ou l'infection, soit potentiellement un donneur sur 7. Les plus âgés auraient vécu plus de saisons et donc ont eu plus d'une occasion pour être en contact avec le WNV, ce qui expliquerait le taux élevé chez ces personnes.
- **Origine géographique :** La majorité des cas positifs proviennent du littoral atlantique nord soit 24 sujets sur 34 ou 71%. La prévalence baisse nettement au fur et à mesure que l'on s'éloigne de la côte atlantique.
- **Appartenance à la zone d'épidémie WN :** Cette zone présente une prévalence 3 fois supérieure que le reste du pays ; presque un donneur sur 10 a déjà été au contact du virus dans cette zone (8,8%). En effet, la région Nord-Ouest est l'une des zones les plus humides du royaume avec la présence de marécages et de nombreux cours d'eau dont le plus important fleuve du Maroc, Oued Sebou. Cette région comprend également 2 réserves naturelles d'oiseaux sauvages (Lac Sidi Boughaba et Merja Zerga), idéalement situées sur le trajet de migration entre l'Europe et l'Afrique sub-saharienne. Ces conditions sont très favorables à la survie et à la multiplication des vecteurs, et ainsi influent positivement sur l'introduction et la circulation du WNV.

- Origine rurale : Les donneurs du milieu rural semblent beaucoup plus exposés à l'infection par le virus du WN que les donneurs d'origine urbaine ( $\times 2.5$  fois) comme le montre les résultats de cette enquête. Benjelloun (2015) (12) rapporte une prévalence globale de 30,8% chez les chevaux au Maroc après l'analyse de 870 échantillons par SN entre mai et juin 2011. Il s'agit d'un taux extrêmement élevé et qui peut expliquer cette forte prévalence en zone rurale au Maroc.
  - Sexe : ne permet pas de tirer des conclusions claires car notre échantillonnage est fait en majorité d'hommes, avec une sex-ratio de 304 H/7F. Cette donnée est due à la nature du recrutement en milieu militaire. Les hommes seraient plus exposés au WNV en raison de leurs activités socio-économiques telles que le travail à l'extérieur, les loisirs à l'air libre et la mobilité fréquente. Le mode d'habillement pourrait également être en cause. En effet, les hommes adoptent un style vestimentaire moins protecteur que les vêtements traditionnels portés par les femmes.
- **En analyse multi-vairée :**
- Âge en zone d'épidémie : A partir de l'âge de 26 ans, au moins un donneur sur huit ( $\frac{1}{8}$ ) a déjà été infecté par le WNV alors que pour les donneurs de sang de plus de 34 ans, un sujet sur 6 pratiquement est séropositif (16,6%).



- Origine rurale dans les zones géographiques : La séroprévalence est maximale chez les individus d'origine rurale sur le littoral atlantique: 1 sujet sur 5 ayant déjà contracté l'infection même au plus jeune âge.
- Âge et origine rurale en zone d'épidémie : La séroprévalence peut atteindre 20% chez les donneurs de plus de 26ans, du milieu rural en zone endémique, soit un donateur sur cinq a déjà contracté le virus.

En définitive, nous pouvons dire que cette étude, et malgré la modestie de ses résultats, a permis de confirmer la circulation du virus WN parmi les personnes qualifiées de bonne santé et sollicitées au don de sang dans notre contexte. Certes, elle a concerné une population bien particulière, celle des jeunes recrues en majorité, qui par définition est une population sélectionnée. C'est la raison pour laquelle les résultats de cette étude ne peuvent être généralisés sur l'ensemble de la population marocaine. Il y a donc lieu de compléter cette étude de séroprévalence des anticorps anti-WNV par d'autres études de grandes envergures dans les centres de transfusion sanguine du royaume, incluant à la fois des centres civils et militaires, pour que la décision de qualification du don de sang dans le domaine infectieux et immunologique soit une décision nationale ; elle ne doit exclure aucun centre de transfusion sanguine, qu'il soit civil ou militaire.

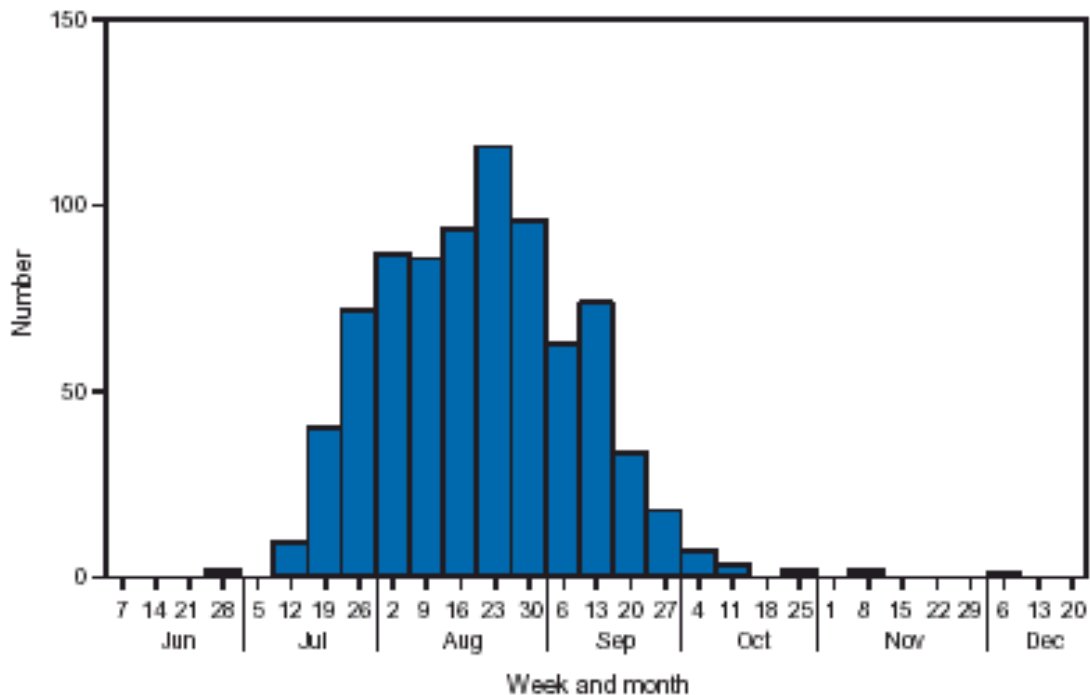
Néanmoins, et malgré l'absence de la détection du génome viral dans notre étude, une approximation du risque réel de la transmission du WNV via la transfusion sanguine peut être faite à partir d'une modélisation mathématique. L'âge moyen de la population étudiée, qui est de 22,5ans, suppose que la

période active d'un donneur de sang est de 10 ans, entre 17 et 26 ans. Lors d'une infection, la virémie aurait une durée moyenne de 2 semaines, soit une probabilité annuelle de 2/56 (ou 1/28) de transmission virale par donneur. Le taux révélé par cette enquête et qui est de 4,5% chez les jeunes de moins de 26 ans, divisé par les 10 ans d'activité moyenne d'un donneur et par 1/28 qui est le nombre de semaine de virémie par an donnerait un taux de 0,016%, soit 16 donneurs virémiques sur 100 000. Ce risque augmente d'une manière significative dans les régions endémiques sur le littoral atlantique nord pour atteindre 0,048% chez la population rurale, et durant la période épidémique qui va de juillet à septembre de chaque année. Environ 48 sujets sur 100 000 donneurs de sang sont en état de virémie. Ces taux calculés de la prévalence de la virémie chez les donneurs de sang marocains seraient largement supérieurs à ceux déclarés aux Etats-Unis en 2004 et en 2012 (respectivement 13 et 12,9 pour 100 000 donneurs de sangs). Dans ce pays, la recherche systématique par la détection du génome viral du WNV a été instaurée suite à ces résultats.

Par conséquent, il est vivement souhaitable de :

- Compléter cette étude par d'autres études de séroprévalences plus larges, incluant un plus grand nombre de donneurs de sang et plusieurs centres régionaux de transfusion sanguine à travers le Royaume, afin d'évaluer avec précision cette prévalence en fonction de chaque région.

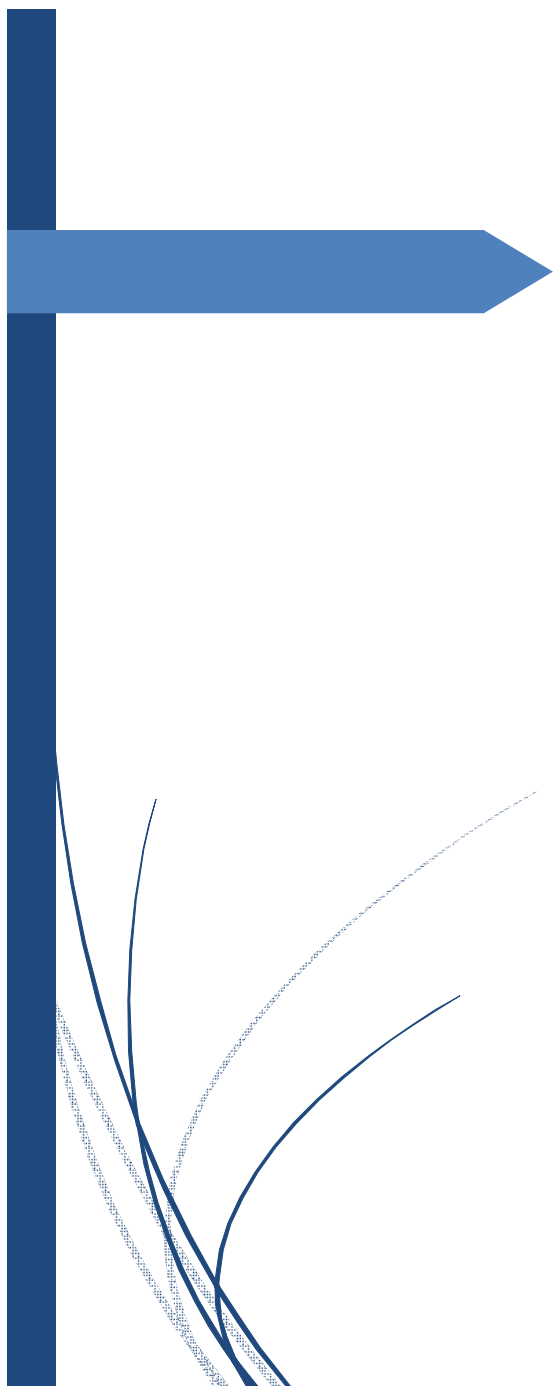
- Penser à évaluer la virémie chez les donneurs les plus à risque de contracter le WNV (provenance de la zone d'endémie, milieu rural, exposition aux piqûres d'insecte) et chez les sujets ayant des anticorps spécifiques du WNV.
- Assurer un système efficace de surveillance et d'alerte des cas humains pour la recherche active virologique et sérologique chez tout malade ayant un contexte épidémio-clinique évocateur ; ainsi que par la surveillance épidémiologique et virologique des épizooties aviaires et équine.
- Sensibiliser davantage les professionnels de santé de l'émergence imminente de ce virus sur notre territoire et de la dangerosité des atteintes chez les sujets âgés et immunodéprimés. L'infection est méconnue des médecins. Nous n'y pensons presque jamais.
- Sensibiliser les autorités sanitaires de la voire la nécessité, de réduire ou de suspendre la récolte des dons de sang provenant de la zone à risque durant la saison épidémique, comme l'indique cette figure (Figure 26), publiée par le CDC. En effet, le nombre des donneurs de sangs présumés virémiques atteint un pic entre mi-juillet et mi-septembre.



**Figure 26 :** Nombre des donneurs de sangs présumés virémiques par semaine de dons – Etats-Unis, 2003 (CDC, 2004)

- Plaidoyer auprès des autorités sanitaires pour évaluer ce risque et rendre son dépistage obligatoire pour tout don de sang ou d'organe dans notre pays.

Ainsi, outre la transmission vectorielle naturelle, les résultats de ce travail prouvent que l'hypothèse d'une transmission du virus du Nil Occidental par la transfusion sanguine au Maroc est plausible. Le risque d'une contamination, par un sang infecté, des receveurs n'est pas négligeable et dépasse celui révélé par des études plus large aux Etats Unis d'Amérique. Son impact sur la santé publique ne doit en aucun cas être sous-estimé et le Maroc devra, par conséquent, prendre les mesures nécessaires pour minimiser ce risque.



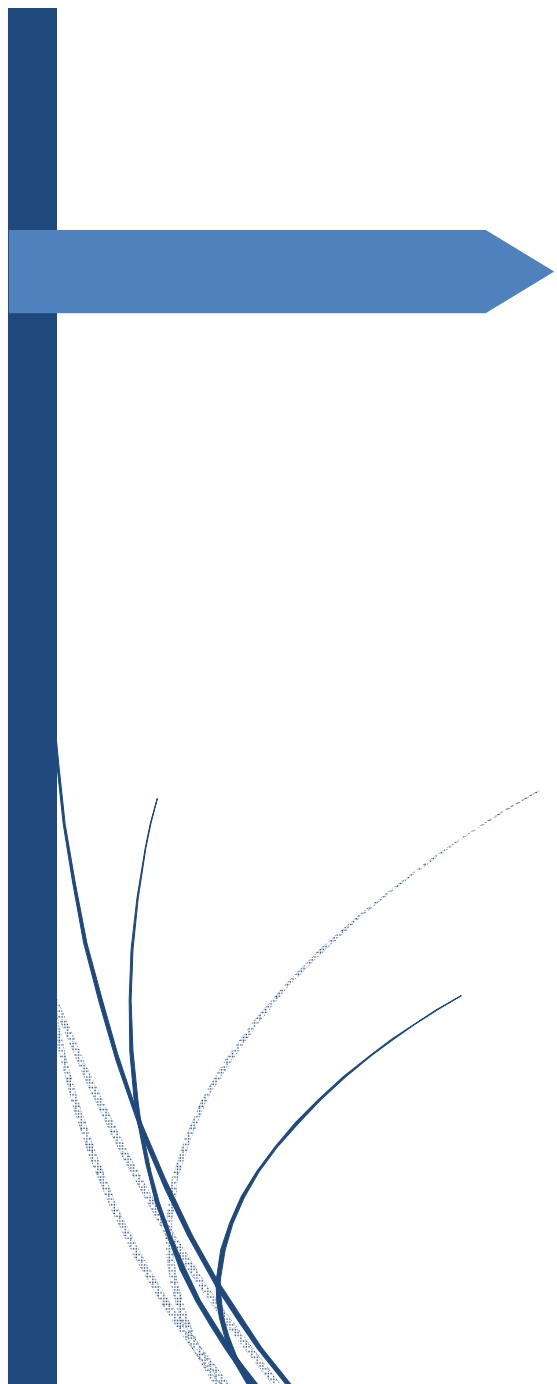
## *Conclusion*

Dans cette étude, nous avons essayé de calculer le risque de transmission du virus West Nile par l'intermédiaire des donneurs de sang. Pour cela, nous avons réalisé une enquête sérologique sur une population de 622 donneurs de sang, analysé les sérums par le test de neutralisation qui est spécifique du virus et déterminé la prévalence de la maladie chez les donneurs.

Les résultats montrent une prévalence globale pour le Maroc de 5,4%. Chez la population jeune de moins de 25 ans, qui représente plus de 80% des donneurs, la prévalence est de 4,5%. Cependant, en zones rurales dans les régions où le virus a été déclaré auparavant, la prévalence est 2,5 fois plus élevée que la moyenne nationale. Ces données confirment les résultats de plusieurs auteurs qui rapportent que l'infection par le virus West Nile est très répandue au Maroc vu les conditions climatiques favorables à l'insecte vecteur et aux oiseaux en tant que hôte intermédiaire. Ce virus touche aussi les chevaux avec une prévalence qui dépasse les 30%.

En se basant sur ces données, nous avons tenté un calcul approximatif et trouvé que le risque de transmission du virus WN au Maroc avoisine 0,016% soit 16 sujets contaminés pour 100 000 donneurs de sang. Ce risque augmente d'une manière significative dans les régions endémiques sur le littoral atlantique nord pour atteindre 0,048% pour la population rurale. Environ 48 sujets sur 100 000 donneurs sont en état de virémie, ce qui constitue un risque plus élevé que celui rapporté aux Etats Unis, qui est de l'ordre de 13 sujets pour 100 000 donneurs de sang.

Au vu de ces résultats, il est recommandé d'instaurer au Maroc un système de dépistage systématique de ce virus chez les donneurs de sang, ou de sursoir à la collecte de sang en zones d'endémie pendant la saison à risque, de juillet à septembre, afin de prévenir le risque de transmission du virus. Il est aussi recommandé d'approfondir cette étude par l'utilisation d'un échantillonnage plus élevé incluant les donneurs de sang civils et l'application de méthodes directes de dépistage de la virémie telles que la PCR.



## *Résumés*



## RESUME

**Titre :** Etude de la prévalence des anticorps anti-Virus West Nile chez les donneurs de sang du centre de transfusion sanguine de l'hôpital militaire d'instruction de Rabat, Maroc.

**Auteur :** Yassine El Harrak.

**Mots clés :** West Nile Virus – Donneurs de sang – Anticorps – Prévalence.

La FWN est une zoonose commune à l'Homme et à plusieurs espèces animales, due à un virus à ARN. Son réservoir naturel est l'oiseau. La transmission naturelle est vectorielle. La flambée épidémique de 2002 aux USA a objectivé la transmission via la transfusion sanguine.

Le Maroc a connu 4 épizooties. La circulation virale chez les humains a été identifiée en 2012. La contamination des humains nous incite à explorer les autres moyens de transmission.

Dans cette étude, nous avons réalisé une enquête sérologique pour la recherche des anticorps IgG anti-WNV par séroneutralisation, et IgM par ELISA, chez les donneurs de sang du CTS de l'HMIMV de Rabat entre juillet et septembre 2013. Le dépistage a concerné 622 personnes. Les résultats ont confirmé la présence des anticorps neutralisants, avec une prévalence globale de 5,46%. Cette prévalence atteint 8,82% dans la zone d'épidémie équine. Elle peut grimper jusqu'à 11,8% chez les donneurs du milieu rural, et jusqu'à 13,3% chez les personnes de plus de 34 ans. Cette prévalence serait maximale chez les donneurs de plus de 26 ans provenant du milieu rural de la zone d'épidémie : 20%.

Ces résultats confirment la circulation du virus parmi les donneurs de sang marocains. Une transmission par la transfusion sanguine est donc possible. Il serait recommandé d'instaurer au Maroc un dépistage systématique du WNV chez les donneurs de sang, de sursoir à la collecte en zone d'épidémie pendant la saison à risque, et d'approfondir cette étude par l'utilisation d'un échantillonnage plus large et par l'application de méthodes directe comme la PCR.

## **ABSTRACT**

**Title :** Study of the prevalence of West Nile Virus antibodies in blood donors in the Blood Transfusion Center of the Military Hospital of Rabat, Morocco.

**Author :** Yassine El Harrak

**Key words :** West Nile Virus – Blood donors – Antibodies – Prevalence.

West Nile fever is a zoonosis common to humans and animals, caused by an RNA virus. Birds are the natural reservoir. Vector transmission was once the only documented. The 2002 outbreak in the USA highlighted the evidence of transmission by blood transfusion, imposing the systematic screening among blood donors.

Morocco experienced four epizootics of WNV. Evidence of viral circulation among humans was identified in 2012. The human contamination encourages us to explore other transmission roads.

In this study, we performed a serological surveys in the Blood Transfusion Center of the Military Hospital Mohammed V in Rabat, between July and September 2013. We used neutralization test for IgG antibodies detection and ELISA technique for IgM. The screening involved 622 persons. The results confirmed the presence of IgG WNV antibodies, with an overall prevalence of 5.46%. It may reach 8.82% in the epidemic areas where the disease has been reported in horses. The prevalence is around 11.8% in the rural population. Age is determinant, 13.3% of the population over 34 years old have already been in contact with the virus. The prevalence is the highest among people over 26 years old, from the rural area of the epidemic region, 20%.

The results of the study highlight the potential risk of transmission of WNV by blood transfusion. It's therefore recommended to establish a screening system of this virus among blood donors in Morocco, avoid blood collection in epidemic areas during the risk season. The analysis should use a direct screening methods. our results would be confirmed in a wider population.

## ملخص

العنوان : دراسة انتشار الأجسام المضادة لفيروس حمى النيل الغربي عند المتبرعين بالدم في مركز تحاقن الدم التابع للمستشفى العسكري الجامعي محمد الخامس بالرباط، المغرب.  
من طرف : ياسين الحراق.

الكلمات الأساسية : فيروس حمى النيل الغربي - تحاقن الدم - مسح مصلي - مضادات الأجسام.

تعتبر حمى النيل الغربي من الأمراض المستحدثة. هو مرض مشترك بين الحيوان والانسان. سببه فيروس من فصيلة فلافيفيروس. مستودعه الطبيعي الطيور.

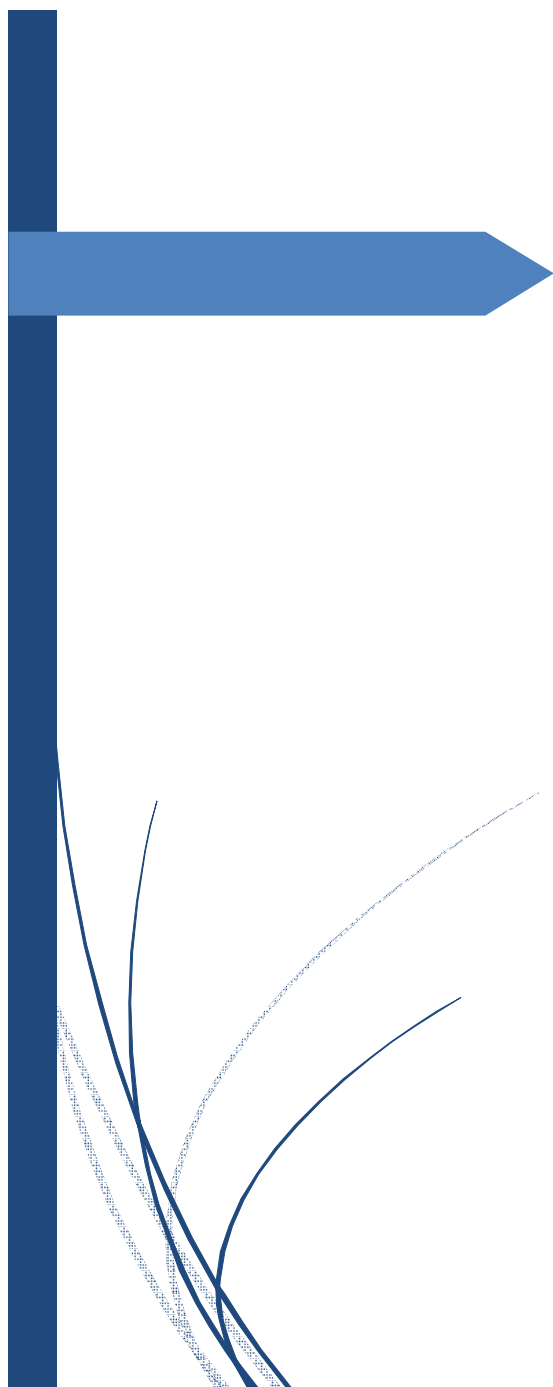
اندلع المرض سنة 1999 في الولايات المتحدة الأمريكية كاشفا عن طريقة جديدة لانتقال الفيروس. ثبت انتقال الفيروس عام 2002 عن طريق حقن الدم، مما أدى إلى فرض الفحص المنهجي للمتبرعين بالدم في الولايات المتحدة الأمريكية.

شهد المغرب أربع جوائح مرضية لحمى النيل الغربي مما أدى إلى نفوق عدد كبير من الخيول.

خلال مسح مصلي أجري سنة 2012، تم التأكد من تنقل الفيروس إلى السكان. ارتأينا القيام بهذه الدراسة لاستكشاف وسائل أخرى لانتقال الفيروس.

في هذه الدراسة، قمنا بمسح مصلي لتواجد مضادات حيوية عند المتبرعين في مركز تحاقن الدم التابع للمستشفى العسكري الدراسي بالرباط، سنة 2013 بين يوليوز و شتنبر. شمل الفحص 622 متبرع. أكدت التحاليل وجود أجسام مضادة لفيروس حمى النيل الغربي بمعدل انتشار 5.46% إجمالي. و تصل نسبة الإصابة إلى 8.82% في المناطق التي شهدت جوائح وبائية عند الخيول في السنوات الماضية. و يمكن ان ترتفع النسبة لتصل إلى 11.8% عند سكان المناطق الريفية. مؤشر العمر لديه أيضا تأثير على ظهور المرض، حيث أن 13.3% من المتبرعين الذين تزيد أعمارهم عن 34 سنة، سبقت لهم الإصابة بالفيروس. لوحظت أعلى نسبة، و هي 20%، عند المتبرعين من 26 سنة فأكثر المنتسبين إلى المناطق القروية المعروفة بانتشار الفيروس فيها.

تؤكد هذه الدراسة تواجد فيروس حمى النيل الغربي عند المتبرعين بالدم في المغرب، مع فرضية انتقاله عن طريق تحاقن الدم. سيكون من المستحسن فرض نظام الفحص المستمر لهذا الفيروس بين المتبرعين بالدم أو إرجاء جمع الدم في مناطق الوباء خلال موسم الخطر.



## *Annexes*

ANNEXE I : FICHE DE RECUEIL DES DONNEURS DE SANGS

**Fiche de Recueil**

**Identité du donneur**

Numéro du donneur CTS/FAR : .....

Nom et Prénom : .....

Age : .....

Sexe : .....

Grade & ancienneté de Service : .....

**Facteurs de risque**

Notion de séjour en Opex 5 opération militaire à l'extérieur (Afrique).....

Non  
 Oui :

Lieu de séjour :  
Durée de séjour :

Origine Géographique:.....

Urbaine  
 Rurale

Type de résidence:.....

Appartement  
 Maison traditionnelle  
 Villa  
 Bidon ville

Présence d'animaux, gîtes d'eau dans l'entourage

Non  
 Oui :

Volailles  
Chevaux  
Oiseaux migrateurs

Activités professionnelles et loisirs (pêche, chasse etc.)

Cette activité exige-t-elle du donneur de travailler hors de chez lui

Non  
 Oui: Combien d'heures ?

Activité aux horaires de haut risque d'exposition: lever et coucher du soleil

La nature d'exposition aux piqûres d'insectes pendant l'été

Quantification de piqûres

Usage des anti-moustiquaires à domicile

Le donneur utilise-t-il un répulsif quand il est dehors ?

Non  
 Oui:

1

## ANNEXE 2 : TESTE ELISA

8. Add 50 µl of the Conjugate 1X to each well.
9. Incubate 30 min ± 3 min at 21°C (± 5°C).
10. Wash each well 3 times with approximately 300 µl of the Wash Solution. Avoid drying of the wells between washings.
11. Add 100 µl of the Substrate Solution to each well.
12. Incubate 15 min ± 2 min at 21°C (± 5°C) in the dark.
13. Add 100 µl of the Stop Solution to each well in order to stop the reaction.
14. Read and record the OD at 450 nm.

**Validation**

For each sample and the controls, calculate the corrected OD:

$$OD_{corrected} = OD_{mean column} - OD_{all columns}$$

The test is validated if

- ✓ the mean value of the Positive control OD (OD<sub>PC</sub>) is greater than 0.350

$$OD_{PC} > 0.350$$

- ✓ the ratio of the mean values of the Positive and Negative controls (OD<sub>PC</sub> and OD<sub>NC</sub>) is greater than 3.

$$OD_{PC} / OD_{NC} > 3$$

**Interpretation**

For each sample, calculate the S/P percentage (S/P%) as follows using the corrected sample and control values:

$$S/P \% = \frac{OD_{Corrected sample} - OD_{Corrected NC}}{OD_{Corrected PC} - OD_{Corrected NC}} \times 100$$


*Note 1: if the corrected OD is negative, use the absolute value in the above formula.*


*Note 2: if the sample control well OD (odd column) is greater than the positive control OD (OD<sub>PC</sub>), the result cannot be interpreted.*

Samples presenting an S/P %:

- Less than or equal to 35% are considered negative.
- Between 36% and 45% are considered as doubtful
- Greater than or equal to 46 % are considered positive.


Result	Status
S/P % ≤ 35%	NEGATIVE
36% < S/P% < 45%	DOUBTFUL
S/P % ≥ 46%	POSITIVE



Certified management system 

### ID Screen<sup>®</sup>

### West Nile IgM Capture



Kit for the detection of anti-West Nile Virus IgM antibodies in equine serum or plasma

For in vitro use

WNIGM ver 0111 GB

IDvet, 310, rue Louis Pasteur – Grabels - FRANCE  
Tel : + 33 (0)4 67 41 49 33 - Fax : + 33 (0)4 67 45 36 95  
www.id-vet.com - E-mail: info@id-vet.com

**General Information**

The West Nile Virus (WNV), which causes encephalitis in infected humans and horses, is maintained in nature by a mosquito vector and a bird reservoir host. This test allows for the detection of anti-prE IgM antibodies in horse sera.

This kit is an **IgM Antibody Capture ELISA (MAC)**. It is specific for the detection of IgM antibodies and therefore allows for detection of recent infections.

**Description and Principle**

Wells are coated with anti-horse IgM polyclonal antibody.

Samples to be tested and controls are added to the microwells. IgM antibodies are captured on the plate.

Plates are washed and a West Nile Virus antigen is added to the microwells. It fixes to the anti-WNV IgM captured on the plate.

After washing in order to eliminate the excess antigen, a monoclonal antibody anti-WN prE conjugated to HRP is added. It fixes to the antigen previously captured on anti-WN IgM antibodies. After washing in order to eliminate the excess conjugate, the substrate solution (TMB) is added.

The resulting coloration depends on the quantity of specific antibodies present in the sample to be tested.

- in the presence of antibodies, a blue solution appears which becomes yellow after addition of the stop solution.

- in the absence of antibodies, no coloration appears.

The microplate is read at 450nm.

**Kit Components**

Reagents*
Microplates coated with anti-horse IgM antibody
WNV antigen (ready-to-use)
Anti-WNV prE HRP conjugate (10X)
Positive Control
Negative Control
Serum Dilution Buffer
Conjugate Dilution Buffer
Wash Concentrate (20X)
Substrate Solution
Stop Solution (H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> 0.5 M)

\* Quantities supplied are indicated on the kit label.

1. The conjugate, the controls and the substrate solution must be stored at 5°C (± 3°C).
2. The other reagents can be stored between +2°C and +26°C.
3. Components bearing the same name (wash solution, dilution buffers) can be used for the entire iDvet product range.

**Materials required but not provided**

1. Mono or multi-channel micropipettors capable of delivering volumes of 10 µl, 100 µl, and 200 µl.
2. Disposable tips.
3. 96-well microplate reader.
4. Distilled or deionized water.
5. Manual or automatic wash system.

**Precautions**

1. Do not pipette by mouth.
2. The substrate solution can be irritating to the skin.
3. The stop solution (H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 0.5M) can cause serious burns (R35). In the event of contact with skin or eyes, wash immediately and abundantly with water and consult a doctor (S26).
4. Do not expose the substrate solution to bright light nor to oxidizing agents.
5. Decontaminate all reagents before elimination.

**Sample Preparation**

In order to avoid differences in incubation times between samples, it is possible to prepare a 96-well plate containing the test and control samples, before transferring them into an ELISA microplate using a multi-channel pipette.

**Wash Solution Preparation**

If necessary, bring the Wash Concentrate (20X) to room temperature (21°C ± 5°C) and mix thoroughly to ensure that the Wash Concentrate is completely solubilized.

Prepare the Wash Solution (1X) by diluting the Wash Concentrate (20X) in distilled/deionized water.

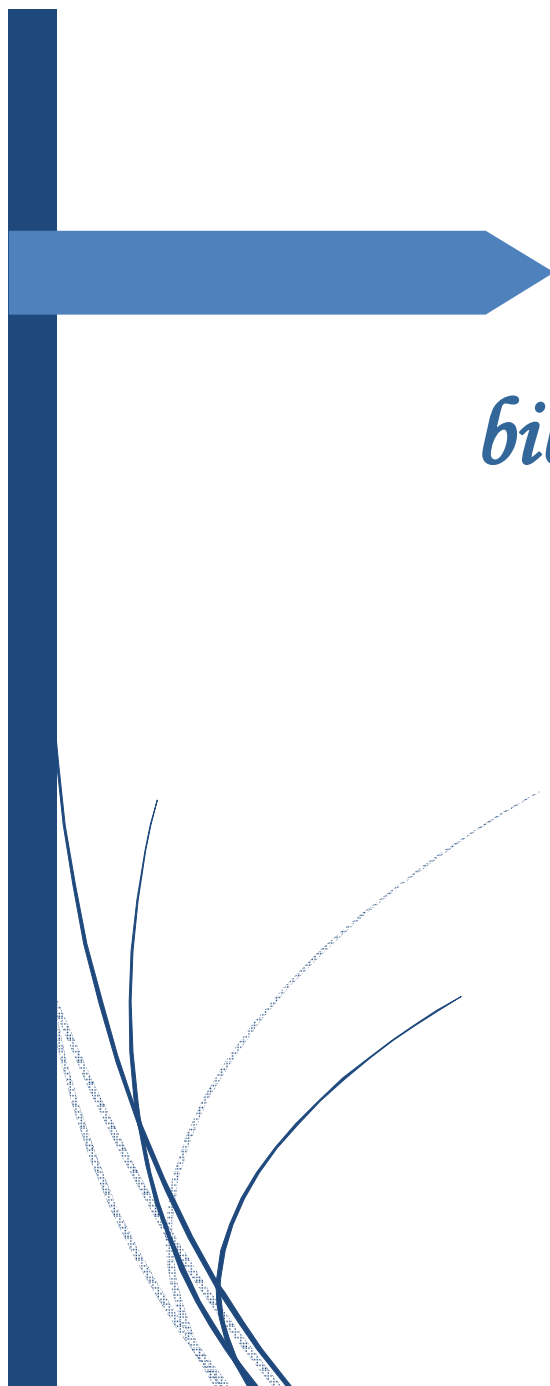
**Testing Procedure**

Allow all reagents to come to room temperature (21°C ± 5°C) before use. Homogenize all reagents by inversion or Vortex.

1. Add:
  - 190 µl of Dilution Buffer 13 to each well.
  - 10 µl of the Negative Control to wells A1,B1 and A2,B2.
  - 10 µl of the Positive Control to wells C1, D1 and C2,D2.
  - 10 µl of each sample to be tested to the remaining wells. Each sample must be deposited twice in adjacent even and odd-numbered wells – please refer to Figure 1 below).
2. Incubate 1h ± 5 min at **37°C (± 2°C)**.
3. Wash each well 3 times with approximately 300 µl of the Wash Solution. Avoid drying of the wells between washings.
4. Add 50 µl of the ready to use Ag West Nile to the **even-numbered columns**. Add 50µl of Dilution Buffer 13 to the odd-numbered columns.
5. Incubate overnight (16-20h) at 21°C (± 5°C)
6. Prepare the Conjugate 1X by diluting the Conjugate 10X to 1/10 in the Dilution Buffer 11.
7. Wash each well 3 times with approximately 300 µl of the Wash Solution. Avoid drying of the wells between washings.

	D13	WN-Ag	D13	WN-Ag	D13	WN-Ag	D13	WN-Ag	D13	WN-Ag	D13	WN-Ag
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	NC	NC	S6	S6	S13	S13	S21	S21	S29	S29	S37	S37
B	NC	NC	S6	S6	S14	S14	S22	S22	S30	S30	S38	S38
C	PC	PC	S7	S7	S15	S15	S23	S23	S31	S31	S39	S39
D	PC	PC	S8	S8	S16	S16	S24	S24	S32	S32	S40	S40
E	S1	S1	S9	S9	S17	S17	S25	S25	S33	S33	S41	S41
F	S2	S2	S10	S10	S18	S18	S26	S26	S34	S34	S42	S42
G	S3	S3	S11	S11	S19	S19	S27	S27	S35	S35	S43	S43
H	S4	S4	S12	S12	S20	S20	S28	S28	S36	S36	S44	S44

Figure 1: Plate map. Samples are deposited in duplicate in adjacent even and odd-numbered wells. NC=negative control, PC=positive control, S=sample, D=dilution buffer, WN-Ag= West Nile antigen.



*Revue*  
*bibliographique*



- [1] **Abroug F, Ouanes-Besbes L, Letaief M et al.** *A cluster study of predictors of severe West Nile virus infection.* 2006. *Mayo Clin. Proc.*, vol. 81, no 1, , p. 12–6
- [2] **Acha PN and Szyfres B (Eds.).** **Zoonoses and Communicable Diseases Common to Man and Animals.** 1989. Pan American Health Organization; Washington, D.C
- [3] **Ahmed S, Libman R, Wesson K, Ahmed F, Einberg K.** *Guillain-Barré syndrome: An unusual presentation of West Nile virus infection.* 2000. *Neurology*, vol. 55, no 1, p. 144–6.
- [4] **Anderson JF, Rahal JJ.** *Efficacy of interferon alpha-2b and ribavirin against West Nile virus in vitro.* 2002. *Emerg Infect Dis.* 2002 Jan;8(1):107-8.
- [5] **Andreadis TG, Anderson JF, Vossbrinck CR, Main AJ.** *Epidemiology of West Nile virus in Connecticut: a five-year analysis of mosquito data 1999-2003.* 2004. *Vector Borne Zoonotic Dis* 4(4): 360-378.
- [6] **Artois M.** *Cours de l'Unité de Santé Publique Vétérinaire.* 2009. Vet Agro Sup Campus Vétérinaire de Lyon
- [7] **Bagnarelli P, Marinelli K, Trotta D, Monachetti A, Tavio M, Del Gobbo R, Capobianchi MR, Menzo S, Nicoletti L, Magurano F, Varaldo PE.** *Human case of autochthonous West Nile virus lineage 2 infection in Italy, September 2011.* 2011. *Euro Surveill* 16 (43).

- [8] **Bakonyi T, Ivanics E, Erdélyi K, Ursu K, Ferenczi E, Weissenböck H, Nowotny N.** *Lignage 1 and 2 strains of encephalitic West Nile virus, central Europe.* 2006. *Emerg Infect Dis* 12(4):618-623.
- [9] **Banet-Noach C, Malkinson M, Brill A, Samina I, Yadin H, Weisman Y, Pokamunski S, King R, Deubel V and Stram Y.** *Journal Virus Genes.* 2003.
- [10] **Barrera R, Hunsperger E, Muñoz-Jordán J L, Amador M, Diaz A, Smith J, Bessoff K, Beltran M, Vergne E, Verduin M, Lambert A, Sun W.** *First isolation of West Nile Virus in the Caribbean.* 2008. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 78(4), 666-668.
- [11] **Beasley DW, Barrett AD.** *Identification of neutralizing epitopes within structural domain III of the West Nile virus envelope protein.* 2002. *Journal of Virology*, 76(24):13097-13100.
- [12] **Benjelloun A, El Harrak M, Calistri P, Lotfi C, Kabbaj H , Conte AM, Ippoliti C, Danzetta ML , Belkadi B.** *West Nile Virus in Morocco : Serosurvey in horses.* 2015.
- [13] **Ben-Nathan D, Lustig S, Tam G, Robinzon S, Segal S, Rager-Zisman B.** *Prophylactic and therapeutic efficacy of human intravenous immunoglobulin in treating West Nile virus infection in mice.* 2003. *J Infect Dis.* 2003 Jul 1;188(1):5-12. Epub 2003 Jun 23.

- [14] **Ben-Nathan D, Gershoni-Yahalom O, Samina I, Khinich Y, Nur I, Laub O, Gottreich A, Simanov M, Porgador A, Rager-Zisman B, Orr N.** *Using high titer West Nile intravenous immunoglobulin from selected Israeli donors for treatment of West Nile virus infection.* 2009. BMC Infect Dis. 2009 Feb 17;9:18. doi: 10.1186/1471-2334-9-18.
- [15] **Berezin VV.** *Investigation of the ecology of arboviruses in river deltas of the Caspian and Azov Sea basins.* 1971. Translation from Russian by NAMRU3-T1160. Unpublished Thesis, Moska, SSRR, Inst Polio Virus Entsef Akad Nauk: 37.
- [16] **Berthet FX, Zeller HG, Drouet MT, Rauzier J, Digoutte JP, Deubel V.** *Extensive nucleotide changes and deletions within the envelope glycoprotein gene of Euro-African West Nile viruses.* 1997. J Gen Virol 78: 2293-2297.
- [17] **Bondre VP, Jadi RS, Mishra AC, Yergolkar PN, Arankalle VA.** *West Nile virus isolates from India: evidence for a distinct genetic lineage.* 2007. J Gen Virol 88: 875-884.
- [18] **Brault AC, Huang CY, Langevin SA, Kinney RM, Bowen RA, Ramey WN, Panella NA, Holmes EC, Powers AM, Miller BR.** *A single positively selected West Nile viral mutation confers increased virogenesis in American crows.* 2007. Nat Genet 39, 1162–1166
- [19] **Brubaker JF, Turell MJ.** *Effect of environmental temperature on the susceptibility of Culex pipiens (Diptera: Culicidae) to Rift Valley fever virus.* 1998. J Med Entomol; 35:918–921.

- [20] **Bunning ML, Bowen RA, Cropp CB, Sullivan KG, Davis BS, Komar N, Godsey MS, Baker D, Hettler DL, Holmes DA, Biggerstaff BJ, Mitchell CJ.** *Experimental infection of horses with West Nile virus.* 2002. *Emerg. Infect. Dis.* 8 380–386.
- [21] **Burke SA, Wen L, King NJ.** *Routes of inoculation and the immune response to a resolving genital flavivirus infection in a novel murine model.* 2004. *Immunol. Cell. Biol.*,82(2):174-183.- 123 -
- [22] **Burteau C, Willems L, Kett R.** *Les chémokines et leurs récepteurs : rôle dans les infections virales et dans les pathologies cancéreuses.* 2007. *Biotechnologie, Agronomie, Société et Environnement*, 11(2)
- [23] **Calistri P, Giovannini A, Savini G, Monaco F, Bonfanti L, Ceolin C, Terregino C, Tamba M, Cordioli P, Lelli R.** *West Nile Virus transmission in 2008 in north-eastern Italy.* 2009. *Zoonoses public Health*, 57 (3), 211–219.]
- [24] **Calistri P, Ippoliti C, Candeloro L, Benjelloun A, El Harrak M, Belkadi B, Danzetta ML, Di Sabatino D, Conte AM.** *Analysis of climatic and environmental variables associated with the occurrence of West Nile virus in Morocco.* 2013. *Preventive Veterinary Medicine.* Volume 110, Issues 3–4, 1 July 2013, Pages 549–553
- [25] **Cantile C, Del Piero F, Di Guardo G, Arispici M.** *Pathologic and immunohistochemical findings in naturally occurring West Nile virus infection in horses.* 2001. *Vet.Pathol.*, 38(4):414-21.

- [26] **Capelli G, Ravagnan S, Montarsi F, Ciocchetta S, Cazzin S, Bonfanti L, Di Gennaro A, Portanti O, Mulatti P, Monne I, Cattoli G, Cester G, Russo F, Savini G, Marangon S.** *Further evidence of lineage 2 West Nile Virus in Culex pipiens of North-Eastern Italy.* 2013.
- [27] **Carson PJ, Steidler T, Patron R, Tate JM, Tight R, Smego RA Jr.** *Plasma cell pleocytosis in cerebrospinal fluid in patients with West Nile virus encephalitis.* 2003. Clin Infect Dis. 2003 Jul 1;37(1):e12-5. Epub 2003 Jun 23.
- [28] **Castillo-Olivares J, Mansfield KL, Phipps LP, Johnson N, Tearle J, Fooks AR.** *Antibody response in horses following experimental infection with West Nile Virus Lineages 1 and 2 Transbound.* 2011. Emerg. Dis., 58(3):206-12
- [29] **Castillo-Olivares J, Wood J.** *West Nile virus infection of horses.* 2004. Vet Res, 35(4): 467-483.
- [30] **CDC West Nile Virus Statistics, Surveillance, and Control.** Centers for Disease Control and Prevention [cited 2004 Jul 30].
- [31] **CDC: Centers for Disease Control and Prevention.** *West Nile Virus Screening of Blood Donations and Transfusion-Associated Transmission --- United States, 2003.* April 9, 2004 / 53(13);281-284.
- [32] **Chambers TJ, Diamond MS.** *Pathogenesis of flavivirus encephalitis.* 2003. Adv virus Res, 60: 273-342.

- [33] **Charrel RN, Brault AC, Gallian P, et al.** *Evolutionary relationship between Old World West-Nile virus strains. Evidence for viral gene flow between Africa, the Middle East, and Europe.* 2003. *Virology* 315 : 381-8.
- [34] **Chinikar S, Shah-Hosseini N, Mostafavi E, Moradi M, Khakifirouz S, Jalali T, Goya MM, Shirzadi MR, Zainali M, Fooks AR.** *Seroprevalence of west nile virus in Iran.* 2013. Arboviruses and Viral Haemorrhagic Fevers Laboratory (National Reference Lab), Pasteur Institute of Iran, Tehran, Iran. *Vector Borne Zoonotic Dis.* 2013 Aug; 13(8):586-9. doi: 10.1089/vbz.2012.1207. Epub 2013 May 22
- [35] **Dauphin G, Zientara S.** *West Nile virus: recent trends in diagnosis and vaccine development.* 2007. *Vaccine*, 25(30):5563-5576.
- [36] **Davidson AH, Traub-Dargatz JL, Rodeheaver RM, Ostlund EN, Pedersen DD, Moorhead RG, Stricklin JB, Dewell RD, Roach SD, Long RE, Albers SJ, Callan RJ, Salman M.** *Immunologic responses to West Nile virus in vaccinated and clinically affected horses.* 2005. *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, 226(2):240-245.
- [37] **Davis EG, Zhang Y, Tuttle J, Hankins K, Wilkerson M.** *Investigation of Antigen Specific Lymphocyte Responses in Healthy Horses Vaccinated with an Inactivated West Nile Virus Vaccine.* 2008. *Vet. Immunol. Immunopathol.*, 126(3-4): 293-330

- [38] **Day CW, Smees DF, Julander JG, Yamshchikov VF, Sidwell RW, Morrey JD.** *Error-prone replication of West Nile virus caused by ribavirin.* 2005. *Antiviral Res.* 2005 Jul;67(1):38-45.
- [39] **Diamond MS, Shrestha B, Marri A, Mahan D, Engle M.** *B cells and antibody play critical roles in the immediate defense of disseminated infection by West Nile encephalitis virus.* 2003. *J. Virol.*, 77(4):2578-86.
- [40] **Dodd RY, Foster GA, Stramer SL.** *Keeping Blood Transfusion Safe From West Nile Virus: American Red Cross Experience, 2003 to 2012.* Epub 2015 Mar 22.
- [41] **Dohm DJ, O'Guinn ML, Turell MJ.** *Effect of environmental temperature on the ability of Culex pipiens (Diptera: Culicidae) to transmit West Nile virus.* 2002. *J. Med. Entomol.* 39 221–225.
- [42] **Eiden M, Vina-Rodriguez A, Hoffmann B, Ziegler U & Groschup MH.** *Two new real-time quantitative reverse transcription polymerase chain reaction assays with unique target sites for the specific and sensitive detection of lineages 1 and 2 West Nile virus strains.* 2010. *J. Vet. Diagn. Invest.*, 22, 748–753.
- [43] **El Harrak M, Le Guenno B, Le Gounon, P.** *Isolation of West Nile virus in Morocco.* 1997. *Virologie.* 1:248–9 [cited 2011 May 20]. [http://www.jle.com/fr/revues/bio\\_rech/vir/e-docs/00/03/F8/1C/article.md?type=text.html](http://www.jle.com/fr/revues/bio_rech/vir/e-docs/00/03/F8/1C/article.md?type=text.html)

- [44] **El Rhaffouli H, El Harrak M, Lotfi C , EL Boukhrissi F, Bajjou T, Laraqui A, Hilali F, Kenfaoui M, Lahlou-Amine I.** *Serologic Evidence of West Nile Virus Infection among Humans, Morocco.* 2012. Emerging Infectious Diseases • www.cdc.gov/eid • Vol. 18, No. 5, May 2012
- [45] **Elizabeth MB, Markotter W, Wolfaardt M, Paweska JT, Swanepoel R, Palacios G, Nel LH, Venter M.** *Genetic Determinants of Virulence in Pathogenic Lignage 2 West Nile Virus Strains.* 2008. Emerging infectious diseases Volume 14, Number 2.
- [46] **EpiSouth Weekly Epi Bulletin No 238** [archive] 3 au 9 octobre 2012[PDF], consulté le 2 novembre 2012.
- [47] **Ergünay K, Saygan MB, Aydoğan S, Menemenlioğlu D, Turan HM, Özkul A, Dürdal U.** *West Nile Virus Seroprevalence in Blood Donors from Central Anatolia, Turkey.* 2010. Vector-Borne and Zoonotic Diseases.
- [48] **Falgout B, Bray M, Schlesinger JJ, Lai CJ.** *Immunization of mice with recombinant vaccinia virus expressing authentic dengue virus nonstructural protein NS1 protects against lethal dengue virus encephalitis.* 1990. J. Virol., 64(9):4356-4363.
- [49] **Farajollahi A, Crans WJ et al.** *Detection of West Nile Viral RNA from an Overwintering Pool of Culex pipiens pipiens (Diptera: Culicidae) in New Jersey, 2003.* 2005. Journal of medical entomology 42: 490- 494.



- [50] **Fassi-Fihri O.** *Fièvre du Nil Occidental: Historique et situation épidémiologique au Maroc.* 2008. Organisation des nations unies pour l'alimentation et l'agriculture ed, p. 10.
- [51] **Fassil H, El Harrak M, Marie JL.** *Aspects épidémiologiques de l'infection à virus du West Nile.* 2012. *Medecine et Sante Tropicales*, 22 : 123-125.
- [52] **Fenner FJ, Gibbs EPJ, Murphy FA, Rott R, Studdert MJ** And White DO. *Flaviviridae in veterinary virology.* 1993. Academy Press, 441-456.
- [53] **Figuerola J, Baouab RE, Soriguer R, Fassi-Fihri O, Llorente F, Jimenez-Clavero MA.** *West Nile virus antibodies in wild birds, Morocco, 2008.* 2009. *Emerg Infect Dis.*, 15 : 1651–3.
- [54] **Flinois JL.** Conduite à tenir face à la fièvre de West Nile. 2000. *Sem vét.* N° 988 du 07/10/2000, 14.
- [55] **Fort Dodge Santé Animale.** Le virus West Nile [<http://www.westnile.eu>] (consultée le 11 août 2010) - 126 -
- [56] **Francis RO, Strauss D, Williams JD, Whaley S, Shaz BH.** *West Nile virus infection in blood donors in the New York City area during the 2010 seasonal epidemic.* 2012 Dec;52(12):2664-70. doi: 10.1111/j.1537-2995.2012.03639.x. Epub 2012 Apr 9.
- [57] **Genain, JL, Grosbois F, Zientara S.** Fiche technique la fièvre West Nile, Bibliothèque des Haras Nationaux. 2010.

- [58] **Glass WG, Lim JK, Cholera R, Pletnev AG, Gao JL, Murphy PM.** *Chemokine receptor CCR5 promotes leukocyte trafficking to the brain and survival in West Nile virus infection.* 2005. *J. Exp. Med.*, 202(8):1087-1098.
- [59] **Glass WG.** *CCR5 deficiency increases risk of symptomatic West Nile virus infection.* 2006. *Journal of Experimental Medicine*, vol. 203, no 1, 40–january 23 2006, p. 35.
- [60] **Gollins SW, Portefield JS.** *Flavivirus infection enhancement in macrophages: an electron microscopic study of viral cellular entry.* 1985. *J Gen virol*, 66(pt): 1969-82.
- [61] **Gould LH and Fikrig E.** *West Nile virus: a growing concern?* 2004. *J Clin Invest.* 2004 Apr 15; 113(8): 1102–1107.
- [62] **Gujral IB, Zielinski-Gutierrez EC, LeBailly A, Nasci R.** Behavioral risks for West Nile virus disease, northern Colorado, 2003. 2007. *Emerg Infect Dis* 13(3): 419-425.
- [63] **Haley M, Retter AS, Fowler D, Gea-Banacloche J, O'Grady NP.** *The role for intravenous immunoglobulin in the treatment of West Nile virus encephalitis.* 2003. *Clin Infect Dis.* 2003 Sep 15;37(6):e88-90. Epub 2003 Aug 27.

- [64] **Hamdan A, Green P, Mendelson E, Kramer MR, Pitlik S, Weinberger M.** *Possible benefit of intravenous immunoglobulin therapy in a lung transplant recipient with West Nile virus encephalitis.* 2002. *Transpl Infect Dis.* 2002 Sep;4(3):160-2.
- [65] **Harrington T, Kuehnert MJ, Kamel H, Lanciotti RS, Hand S, Currier M, Chamberland ME, Petersen LR, Marfin AA.** *West Nile virus infection transmitted by blood transfusion.* 2003. *Transfusion.* 2003 Aug;43(8):1018-22.
- [66] **Hayes EB, Komar N, Nasci RS, Montgomery SP, O'Leary DR, Campbell GL.** *Epidemiology and Transmission Dynamics of West Nile Virus Disease.* 2005. *Emerg Infect Dis* 11(8): 1167-1173.
- [67] **Higgs S, Snow K, Gould EA.** *The potential for West Nile virus to establish outside of its natural range: a consideration of potential mosquito vectors in the United Kingdom.* 2004. *Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.*, 98(2):82-7
- [68] **Hubalek Z, Halouzka J.** *West Nile fever: a reemerging mosquito-borne viral disease in Europe.* 1999. *Emerg. Infect. Dis.* 5 643–650.
- [69] **Hurlbut HS, Rizk F, Taylor RM, Work TH.** *A study of the ecology of West Nile virus in Egypt.* 1956. *Am J Trop Med Hyg* 5: 579-620.
- [70] **Hurlbut HS.** *West Nile virus infection in arthropods.* 1956. *Am J Trop Med Hyg* 5: 76-85.

- [71] **Iwamoto M, Jernigan DB, Guasch A, Trepka MJ, Blackmore CG, Hellinger WC, Pham SM, Zaki S, Lanciotti RS, Lance-Parker SE, DiazGranados CA, Winquist AG, Perlino CA, Wiersma S, Hillyer KL, Goodman JL, Marfin AA, Chamberland ME, Petersen LR.** *Transmission of West Nile virus from an organ donor to four transplant recipients.* 2003. N Engl J Med. 2003 May 29;348(22):2196-203.
- [72] **Jones H.** *Methods in biology molecular: plant gene transfer and expression protocols.* 1995. Vol 29. Humanapress Inc. P: 25, 258.
- [73] **Jordan I, Briese T, Fischer N, Lau JY, Lipkin WI.** *Ribavirin inhibits West Nile virus replication and cytopathic effect in neural cells.* 2000. J Infect Dis. 2000 Oct;182(4):1214-7. Epub 2000 Aug 22.
- [74] **Kalil AC, Devetten MP, Singh S, Lesiak B, Poage DP, Bargenquast K, Fayad P, Freifeld AG.** *Use of interferon-alpha in patients with West Nile encephalitis: report of 2 cases.* 2005. Clin Infect Dis. 2005 Mar 1;40(5):764-6. Epub 2005 Feb 7.
- [75] **Kalluri S, Gilruth P, Rogers D, Szczur M.** *Surveillance of Arthropod Vector-Borne Infectious Diseases Using Remote Sensing Techniques: A Review.* 2007. PLoS Pathog 3(10): e116. doi:10.1371/journal.ppat.0030116.
- [76] **Keller BC, Fredericksen BL, Samuel MA, Mock RE, Mason PW, Diamond MS, Gale MJ.** *Resistance to alpha/beta interferon is a determinant of West Nile virus replication fitness and virulence.* 2006. J. Virol., 80(19):9424-9434.

- [77] **Kilpatrick, A.** *Globalization, land use, and the invasion of West Nile virus.* Science 2011, 21, 323–327.
- [78] **King NJ, Getts DR, Getts MT, Rana S, Shrestha B, Kesson AM.** *Immunopathology of flavivirus infections.* 2007. Immunol. Cell. Biol., 85(1):33-42
- [79] **Klenk K, Snow J, Morgan K, Bowen R, Stephens M, Foster F, Gordy P, Beckett S, Komar N, Gubler D, Bunning M.** *Alligators as West Nile virus amplifiers.* 2004. Emerg Infect Dis 10(12): 2150-2155.
- [80] **Komar N.** *West Nile viral encephalitis.* 2004. Rev. Sci. Tech. OIE, 19(1):166-176.
- [81] **Komar N, Langevin S, Hinten S, Nemeth N, Edwards E, Hettler D, Davis B, Bowen R, Bunning M.** *Experimental infection of North American birds with the New York 1999 strain of West Nile virus.* 2003. Emerg. Infect. Dis. 9 (2003) 311–322.
- [82] **Kostyukov MA, Gordeeva EE, Bulychev VP, Hemova NV, Daniyarov OA, Tuktaev T.M.** *The lake frog (Ranaridibunda) one of the food hosts of blood-sucking mosquitoes in Tadzhikistan a reservoir of the West Nile fever virus.* 1985. Med ParazitMosk 3: 49-50.
- [83] **Kumar D, Prasad GV, Zaltzman J, Levy GA, Humar A.** *Community-acquired West Nile virus infection in solid-organ transplant recipients.* 2004. Transplantation. 77:399–402. DOI:PubMed

- [84] **Kuno G.** *Persistence of arboviruses and antiviral antibodies in vertebrate hosts: its occurrence and impacts.* 2001. *Rev. Med. Virol.* 11 165–190.
- [85] **Kutasi O, Bakonyi T, Lecollinet S, Biksi I, Ferenczi E, Bahuon C, Sardi S, Zientara S, Szenci O.** *Equine encephalomyelitis outbreak caused by a genetic lineage 2 West Nile virus in Hungary.* 2011. *J. Vet. Intern. Med.*, 25(3):586-591
- [86] **Lanciotti RS, Ebel GD, Deubel V, Kerst AJ, Murri S, Meyer R, Bowen M, McKinney N, Morrill WE, Crabtree MB, Kramer LD, Roehrig JT.** *Complete genome sequences and phylogenetic analysis of West Nile virus strains isolated from the United States, Europe and the Middle East.* 2002. *Virology* 298 (1): 96-105.
- [87] **Lanciotti RS, Roehrig JT, Deubel V, Smith J, Parker M, Steele K, Crise B, Volpe KE, Crabtree MB, Scherret JH, Hall RA, MacKenzie JS, Cropp CB, Panigrahy B, Ostlund E, Schmitt B, Malkinson M, Banet C, Weissman J, Komar N, Savage HM, Stone W, McNamara T, Gubler DJ.** *Origin of the West Nile virus responsible for an outbreak of encephalitis in the northeastern United States.* 1999. *Science* 286(5448):2333-2337.
- [88] **Lawrie CH, Uzcategui NY, Gould EA, Nuttall PA.** *Ixodid and argasid tick species and West Nile virus.* 2004. *Emerging Infectious Diseases*, 10, 653–657.

- [89] **Lefrançois T, Blitvich BJ, Pradel J, Molia S, Vachiéry N, Martinez D.** *West Nile virus in Guadeloupe: introduction, spread, and decrease in circulation level: 2002-2005.* 2006. *Ann N Y Acad Sci* 1081: 206-215. 97
- [90] **Lewis M, Amsden JR.** Successful treatment of West Nile virus infection after approximately 3 weeks into the disease course. 2007. *Pharmacotherapy.* 2007 Mar;27(3):455-8.
- [91] **Leyssen P, Balzarini J, De Clercq E, Neyts J.** *The predominant mechanism by which ribavirin exerts its antiviral activity in vitro against flaviviruses and paramyxoviruses is mediated by inhibition of IMP dehydrogenase.* 2005. *J Virol.* 2005 Feb;79(3):1943-7.
- [92] **Liu WJ, Wang XJ, Clark DC, Lobigs M, Hall RA, Khromykh AA.** *A single amino acid substitution in the West Nile virus nonstructural protein NS2A disables its ability to inhibit alpha/beta interferon induction and attenuates virus virulence in mice.* 2006. *J. Virol.,* 80(5):2396-404.
- [93] **Lukacik G, Anand M, Shusas EJ, Howard JJ, Oliver J, Chen H, Backenson PB, Kauffman EB, Bernard KA, Kramer LD, White DJ.** *West Nile virus surveillance in mosquitoes in New York State, 2000-2004.* 2006. *J Am Mosq Control Assoc* 22(2): 264-271.

- [94] **Lvov D, Lvov DK, Kovtunov AL, Butenko AM, Zhukov AN et al.** *West Nile fever in southern Russia-Epidemiological.clinical.genetic peculiarities (1999-01)*. 2002. Proceedings XIIthintcong Virology, Paris July 27th-August 1st 2002, 46.
- [95] **Lvov DN, Usachev VE, Voronina AG.** *West Nile virus and other zoonotic viruses in Russia: examples of emerging-reemerging situations*. 2004. Arch VirolSuppl 18: 85-96.
- [96] **Macedo de Oliveira A, Beecham BD, Montgomery SP, Lanciotti RS, Linnen JM, Giachetti C, Pietrelli LA, Stramer SL, Safranek TJ.** *West Nile virus blood transfusion-related infection despite nucleic acid testing*. 2004. Transfusion. 2004 Dec;44(12):1695-9.
- [97] **Mailles A, Dellamonica P, Zeller H, Durand JP, Zientara S, Goffette R, et al.** *Human and equine infections in France, August–September 2003*. Eurosurveillance Weekly. 2003;7:10/23/2003.
- [98] **Marr SJ & Calisher CH.** *Alexander the Great and West Nile Virus Encephalitis*. 2003. Emerging Infectious Diseases • www.cdc.gov/eid • Vol. 9, No. 12, December 2003.
- [99] **Mathiot CC, Georges AJ, Deubel V.** *Comparative analysis of West Nile virus strains isolated from human and animal hosts using monoclonal antibodies and cDNA restriction digest profiles*. 1990. Res. Virol., vol. 141, no 5, 1990, p. 533–43)



- [100] **McIntosh BM, Jupp PG, Dickinson DB, McGillivray GM, Sweetnam J.** *Ecological studies on Sindbis and West Nile viruses in South Africa. I. Viral activity as revealed by infection of mosquitoes and sentinel fowls.* 1967. Afr J Med Sci 32(1): 1-14.
- [101] **McLean RG, Ubico SR, Docherty DE, Hansen WR, Sileo L, McNamara TS.** *West Nile virus transmission and ecology in birds.* 2001. Ann. N. Y. Acad. Sci. 951 (2001) 54–57.
- [102] **McLean RG, Ubico SR, Bourne D, and Komar N.** *West Nile virus in livestock and wildlife.* 2002. Curr. Top. Microbiol. Immunol. 267: 271-308
- [103] **Minke MJ, Pronost S, Guiot AL.** *Actualités diagnostiques et vaccinales grippe équine, herpès-virose équine et fièvre de West Nile.* 2008. Le Nouveau Praticien Vétérinaire équine, Hors-Séries Maladies infectieuses, vol 5-255 :122-127
- [104] **Mouchet J, Rageau J, Laumond C, Hannoun C, Beytout D, Oudar J, Corniou B, Chippaux A.** *Epidémiologie du virus West Nile: étude d'un foyer en Camargue V. Le vecteur : Culex modestus Ficalbi Diptera; Culicidae.* 1970. Ann Inst Pasteur (Paris) 118(6): 839-855.
- [105] **Mumcuoglu KY, Banet-Noach C, Malkinson M, Shalom U, Galun R.** *Argasid ticks as possible vectors of West Nile virus in Israel.* 2005. Vector Borne Zoonotic Dis. 5 (2005) 65–71.

- [106] **Murgue B, Zeller H, Deubel V.** *The ecology and epidemiology of West Nile virus in Africa, Europe and Asia.* 2002. *Curr. Top. Microbiol. Immunol.* 267 (2002) 195–221.
- [107] **Nir Y, Avivi A, Lasovski Y, Margalit J, Goldwasser R.** *Arbovirus activity in Israel.* 1972. *Isr J Med Sci* 8(10): 1695-1701.
- [108] **Nir Y, Beemer A, Goldwasser RA.** *West Nile virus infection in mice following exposure to a viral aerosol.* 1965. *Br J Exp Pathol.* 1965;46:443–9. PubMed
- [109] **OIE 2013, WEST NILE FEVER, OIE Terrestrial Manual p1-12**
- [110] **OIE,** Immediat notification ref : 9615 date : 17/08/2010 , Follow-up repôrt N°1 20/07/2010, Follow-up repôrt N°2 20/07/2010 , Follow-up repôrt N°3 20/07/2010 [http://www.oie.int/wahis\\_2/public/wahid.php/Diseaseinformation/Diseasehome](http://www.oie.int/wahis_2/public/wahid.php/Diseaseinformation/Diseasehome)
- [111] **OIE, West Nile Disease, OIE Terrestrial Manual 2013, CHAPTER 2.1.20.** . Accessed November 2013.
- [112] **Oliphant T, Engle M, Nybakken GE, Doane C, Johnson S, Huang L, Gorlatov S, Mehlhop E, Marri A, Chung KM, Ebel GD, Kramer LD, Fremont DH, Diamond MS.** *Development of a humanized monoclonal antibody with therapeutic potential against West Nile virus.* 2005. *Nat. Med.*, 11(5):522-30- 131 -

- [113] **Omalu BI, Shakir AA, Wang G, Lipkin WI, Wiley CA.** *Fatal fulminant pan-meningo-polioencephalitis due to West Nile virus.* 2003. *Brain Pathol.*, vol. 13, no 4, 2003, p. 465–72
- [114] **Omilabu SA, Olaleye OD, Aina Y, Fagbani AH.** *West Nile complement fixing antibodies in Nigerian domestic animals and humans.* 1990. *J.Hyg. Epidemiol. Microbiol. Immunol.*34 (1990) 357-363.
- [115] **OMS, Fact sheets,** 2011.
- [116] **Ostlund EN, Andersen JE & Andersen M.** *West Nile encephalitis.* 2000. *Vet. Clin. North Am., Equine Pract.*, 16, 427–441.
- [117] **Ostlund EN, Crom RL, Pedersen DD, Johnsson DJ, Williams WO, Schmitt BJ.** *Equine West Nile encephalitis, United States.* 2001. *Emerg Infect Dis.* 2001;7:665–669. [PMC free article] [PubMed]
- [118] **Panthier R, Hannoun C, Beytout D et Mouchet J.** *Epidémiologie du virus West Nile : étude d'un foyer en Camargue.* 1968. III.-Les maladies humaines. *Ann. Inst. Pasteur (Paris)*, 115(3):435-445.
- [119] **Papa A, Bakonyi T, Xanthopoulou K, Vázquez A, Tenorio A, Nowotny N.** *Genetic Characterization of West Nile Virus Lignage 2, Greece, 2010.* 2011. *Emerging Infectious Diseases* 17(5): 920-922
- [120] **Pavri KM, Singh KR.** *Isolation of West Nile Virus from Culex fatigans Mosquitoes from Western India.* 1965. *Indian J Med Res* 53: 501-505.

- [121] **Peiris JS, Porterfield JS.** *Antibody-mediated enhancement of Flavivirus replication in macrophage-like cells lines.* 1979. *Nature.*, 282(5738):509-11.
- [122] **Peiris JSM, Amerasinghe FP.** *West Nile fever in handbook of zoonoses.* 1994. Beran GW, Steele JH (eds). Second edition section B, *virl.CRCPress.Inc*, 139-148
- [123] **Perelman A, Stern J.** *Acute pancreatitis in West Nile Fever.* 1974. *Am. J. Trop. Med. Hyg.*, vol. 23, no 6, 1974, p. 1150–2
- [124] **Petersen LR, Roehrig JT.** *West Nile Virus: A reemerging global pathogen.* 2001. *Rev Biomed* 2001; 12:208-216.
- [125] **Petersen LR, MD, MPH.** *Clinical manifestations, diagnosis, and treatment of West Nile virus infection.* 2002.
- [126] **Pradier S, Lecollinet S & Leblond A.** *West Nile virus epidemiology and factors triggering change in its distribution in Europe.* 2012. *Rev. sci. tech. Off. int. Epiz.*, 2012, 31 (3), 829-844
- [127] **Primrose S, Twyman R, Old R, Enjoud LD.** *Principes de génie génétique.* 2004. De Boeck. P: 9,276.
- [128] **Reisen WK, Lothrop HD, Chiles RE, Madon MB, Cossen C, Woods L, Husted S, Kramer V, Edman JD.** *West Nile Virus in California.* 2004. *Emerg Infect Dis* 10(8): 1369-1378.

- [129] **Riabi S, Gallian P, Gaaloul I, Simon S, Harrath R, Hassine M, de Micco P, Aouni M.** *Prevalence of IgG antibodies against West Nile virus in blood donors during the 2003 outbreak in Tunisia.* 2010. Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene 2010 Jul; 104(7): 507-9. Epub 2010 Mar 30.
- [130] **Rodhain F, Petter J, Albignac R, Coulanges P, and Hannoun C.** *Arboviruses and lemurs in Madagascar: experimental infection of lemur fulvus with yellow fever and West Nile viruses.* 1985. Am J. Trop. Med. Hyg.34:816-822
- [131] **Salomon T.***Flavivirus encephalitis.* 2004. N Engl J Med, 351 (4) : 370-8.
- [132] **Sambri V, Capobianchi M, Charrel R, Fyodorova M, Gaibani P, Gould E, Niedrig M, Papa A, Pierro A, Rossini G et al.** *West Nile virus in Europe: Emergence, epidemiology, diagnosis, treatment, and prevention.* 2013. Clin. Microbiol. Infect. 2013, 19, 699–704.
- [133] **Sampson Barbara A.,** Corinne Ambrosi, Aglae Charlot, Kaki Reiber, Joseph F. Veress, Vernon Armbrustmacher. *The pathology of human West Nile virus infection.*
- [134] **Samuel MA and Diamond MS.** *Pathogenesis of West Nile Virus Infection: a Balance between Virulence, Innate and Adaptive Immunity, and Viral Evasion.* 2006. J Virol. 2006 Oct; 80(19): 9349–9360.

- [135] **Sanchez MD, Pierson TC, DeGrace MM, Mattei LM, Hanna SL, Del Piero F & Doms RW.** *The neutralizing antibody response against West Nile virus in naturally infected horses.* 2007. *Virology* 359, 336–348. CrossRefMedline.
- [136] **Saquib R1, Randall H, Chandrakantan A, Spak CW, Barri YM.** *West Nile virus encephalitis in a renal transplant recipient: the role of intravenous immunoglobulin.* 2008. *Am J Kidney Dis.* 2008 Nov;52(5):e19-21. doi: 10.1053/j.ajkd.2008.03.042. Epub 2008 Aug 3.
- [137] **Savage HM, Ceianu C, Nicolescu G, Karabatsos N, Lanciotti R, Vladimirescu A, Laiv L, Ungureanu A, Romanca C, Tsai TF.** *Entomologic and avian investigations of an epidemic of West Nile fever in Romania in 1996, with serological and molecular characterization of a virus isolate from mosquitoes.* 1999. *Am J Trop Med Hyg* 61(4): 600-611.
- [138] **Scherret JH, Poidinger M, Mackenzie JS, Broom AK, Deubel V, Lipkin WI, Briese T, Gould EA, Hall RA.** *The relationships between West Nile and Kunjin viruses.* 2001. *Emerg Infect Dis* 7(4): 697-705.
- [139] **Schmidt JR, El Mansoury HK.** *Natural and experimental infection of Egyptian Equines with West Nile Virus.* 1963. *Ann. Trop. Med. Parasitol.*, 57:415-27.

- [140] **Schneider BS, McGee CE, Jordan JM, Stevenson HL, Soong L, Higgs S.** *Prior exposure to uninfected mosquitoes enhances mortality in naturally-transmitted West Nile virus infection.* 2007. PLoS ONE, vol. 2, no 11
- [141] **Schuffenecker I, Peyrefitte CN, El Harrak M, Murri S, Leblond A, Zeller HG.** *West Nile virus in Morocco, 2003.* 2005. Emerg Infect Dis. 2005 Feb;11(2):306-9.
- [142] **Sejvar JJ, Haddad MB, Tierney BC et al.** *Neurologic manifestations and outcome of West Nile virus infection.* 2003. JAMA, vol. 290, no 4, 2003, p. 511–5
- [143] **Shimoni Z, Niven MJ, Pitlick S, Bulvik S.** *Treatment of West Nile virus encephalitis with intravenous immunoglobulin.* 2001. Emerg Infect Dis. 2001 Jul-Aug;7(4):759.
- [144] **Sitati EM, Diamond MS.** *CD4+ T-cell responses are required for clearance of West Nile virus from the central nervous system.* 2006. J. Virol., 80(24):12060-12069.
- [145] **Smithburn KC, Hughes TP, Burke AW, Paul JH.** *A neurotropic virus isolated from the blood of a native of Uganda.* 1940. Am. J. Trop. Med. Hyg., 20: 471-492
- [146] **Smithburn KC, Jacobs HR.** *Neutralization-tests against neurotropic viruses with sera collected in central Africa.* 1942. Journal of Immunology, vol. 44, 1942, p. 923

- [147] **Soliman A, Mohareb E, Salman D, Saad M, Salama S, Fayez C, Hanafi H, Medhat I, Labib E, Rakha M, El-Sayed N, Yingst S, Tjaden J, Earhart K.** *Studies on West Nile virus infection in Egypt.* 2010. *Journal of Infection and Public Health*; 3(2):54-9.
- [148] **Steele KE, Linn MJ, Schoepp RJ, Komar N, Geisbert TW, Manduca RM, Calle PP, Raphael BL, Clippinger TL, Larsen T, Smith J, Lanciotti RS, Panella NA, McNamara TS.** *Pathology of fatal West Nile virus infections in native and exotic birds during the 1999 outbreak in New York City, New York.* 2000. *Vet. Pathol.*, 37(3):208-24
- [149] **Steinman A, Banet C, Sutton GA, Yadin H, Hadar S, Brill A.** *Clinical description of equine West Nile encephalomyelitis during the outbreak of 2000 in Israel.* 2002. *Vet Rec* 2002;151:47-9.
- [150] **Steinman A, Banet-Noach C, Tal S, Levi O, Sinnanov L, Perk S, Malkinson M, Shpigel N.** *West nile virus infection in crocodiles.* 2003. *Emerg infect Dis*, 9(7) :887-9.
- [151] **Taylor RM, Work TH, Hurlbut HS, Rizk F.** *A study of the ecology of West Nile virus in Egypt.* 1956. *Am J Trop Med* 5: 579-620.
- [152] **Tber A.** *West-Nile fever in horses in Morocco.* *Bulletin OIE* 1996 , 11 : 867-9.



- [153] **Tiawsirisup S, Kinley JR, Tucker BJ, Evans RB, Rowley WA & Platt KB.** *Vector competence of Aedes vexans (Diptera: Culicidae) for West Nile virus and potential as an enzootic vector.* 2008. *Journal of Medical Entomology*, 45, 452–457.
- [154] **Tonry J, SHU-YUAN XIAO, SIIRIN M, HONGLI C, AMELIA PA, TRAVASSOS DA ROSA and TESH RB.** *Persistent shedding of West Nile Virus in urine of experimentally infected hamsters.* 2005. *The American journal of tropical medicine and hygiene.*
- [155] **Touil, N. Cherkaoui, Z. Lmrabih, C. Loutfi, B. Harif and M. El Harrak.** *Emerging Viral Diseases in Dromedary Camels in the Southern Morocco.* 2012. *Transboundary and Emerging Diseases.* 59 (2012) 177–182
- [156] **Venter M, Human S, Zaayman D, Gerdes GH, Williams J, Steyl J, Lemana PA, Paweska JT, Setzkorn H, Rous G, Murray S, Parker R, Donnellan C, Swanepoel R.** *Lignage 2 west nile virus as cause of fatal neurologic disease in horses, South Africa, Vector Borne Zoonotic.* 2009. *Dis.*, 15(6):877-884
- [157] **Venter M, Swanepoel R.** *West Nile virus lignage 2 as a cause of zoonotic neurological disease in humans and horses in southern Africa, Vector Borne Zoonotic.* 2010. *Dis.*, 10(7):659-664
- [158] **Ward MP.** *Epidemic West Nile virus encephalomyelitis: A temperature-dependent, spatial model of disease dynamics.* 2005. *Prev. Vet. Med.* 2005, 71, 253–264.

- [159] **Wasserman HA, Singh S, Champagne DE.** *Saliva of the Yellow Fever mosquito, Aedes aegypti, modulates murine lymphocyte function.* 2004. *Parasite Immunol.*, vol. 26, no 6–7, 306–p. 295 ,2004
- [160] **Weaver SC, Barrett AD.** *Transmission cycles, host range, evolution and emergence of arboviral disease.* 2004. *Nat Rev Microbiol* 2: 789-801. 105
- [161] **Zeller HG, Schuffenecker I.** *West Nile virus: an overview of its spread in Europe and the Mediterranean basin in contrast to its spread in the Americas.* 2004. *Eur. J. Clin.Microbiol. Infect. Dis.*, 23(3):147-56.
- [162] **Zientara S, Baldet T, Durand B, Lagneau C, Lamballerie X, Murgue B, Reiter P, Zeller H.** *Rapport sur la surveillance de l'infection à virus West Nile en France.* 2004. AFSSA, 48.
- [163] **Zientara S, Lecollinet S.** *Le virus West Nile, sa diffusion limitée en Europe par comparaison avec sa rapide implantation en Amérique du Nord, Les maladies infectieuses- 135 - exotiques : risque d'importation et d'exportation en Europe.* 2010. *Rapports de l'académie de médecine (2010)*, Publications Médecine Science, Flammarion, 179-193
- [164] **Zientara S.** 2002. *Infection à virus West Nile, situation épidémiologique, risques pour l'Homme et épizootie en France (2000-2001).* 2002. *Bull. Acad. Vét. France* 155 : 67–72.

## *Serment d'Hippocrate*

*Au moment d'être admis à devenir membre de la profession médicale, je m'engage solennellement à consacrer ma vie au service de l'humanité.*

- *Je traiterai mes maîtres avec le respect et la reconnaissance qui leur sont dus.*
- *Je pratiquerai ma profession avec conscience et dignité. La santé de mes malades sera mon premier but.*
- *Je ne trahirai pas les secrets qui me seront confiés.*
- *Je maintiendrai par tous les moyens en mon pouvoir l'honneur et les nobles traditions de la profession médicale.*
- *Les médecins seront mes frères.*
- *Aucune considération de religion, de nationalité, de race, aucune considération politique et sociale ne s'interposera entre mon devoir et mon patient.*
- *Je maintiendrai le respect de la vie humaine dès la conception.*
- *Même sous la menace, je n'userai pas de mes connaissances médicales d'une façon contraire aux lois de l'humanité.*
- *Je m'y engage librement et sur mon honneur.*

# قسم أبقراط

بسم الله الرحمن الرحيم

أقسم بالله العظيم

في هذه اللحظة التي يتم فيها قبولي عضوا في المهنة الطبية أتعهد علانية:

- < بأن أكرس حياتي لخدمة الإنسانية .
- < وأن أحترم أساتذتي وأعترف لهم بالجميل الذي يستحقونه .
- < وأن أمارس مهنتي بوانزع من ضميري وشر في جاعلا صحة مريض هدي الأول .
- < وأن لا أفشي الأسرار المعهودة إلي .
- < وأن أحافظ بكل ما لدي من وسائل على الشرف والتقاليد النبيلة لمهنة الطب .
- < وأن أعتبر سائر الأطباء إخوة لي .
- < وأن أقوم بواجبي نحو مرضاي بدون أي اعتبار ديني أو وطني أو عرقي أو سياسي أو اجتماعي .
- < وأن أحافظ بكل حزم على احترام الحياة الإنسانية منذ نشأتها .
- < وأن لا أستعمل معلوماتي الطبية بطرق يضر بحقوق الإنسان مهما لاقيت من تهديد .
- < بكل هذا أتعهد عن كامل اختيار ومقسما بشري في .

والله على ما أقول شهيد .

**دراسة انتشار الأجسام المضادة لفيروس حمى النيل الغربي  
عند المتبرعين بالدم في مركز تحاقن الدم  
التابع للمستشفى العسكري الجامعي محمد الخامس بالرباط - المغرب**

## أطروحة

قدمت ونوقشت علانية يوم : .....

من طرفه

**السيد: ياسين الحراق**

المزداد في 29 يوليوز 1989 بالرباط

طبيب داخلي بالمركز الاستشفائي الجامعي ابن سينا بالرباط

### لنيل شهادة الدكتوراه في الطب

الكلمات الأساسية: فيروس حمى النيل الغربي - تحاقن الدم - مسح مصلي - مضادات الأجسام.

#### تحت إشراف اللجنة المكونة من الأساتذة

رئيس ومشرف

أعضاء

السيد: مصطفى المرابط  
أستاذ في الوقاية الطبية والصحة المجتمعية  
السيد: عبد القادر بلمكي  
أستاذ في علم الدم البيولوجي  
السيد: هشام هرموش  
أستاذ في الطب الباطني  
السيد: منصف الراحي  
أستاذ في الطب الباطني  
السيدة: وفاء الفاسي الفهري  
أستاذة في علم الفيروسات وعلم المناعة  
السيدة: شفيقة لطفي  
رئيسة قسم علم الفيروسات في شركة بيوفارما