

## Épizootie de West Nile en Camargue (France) en 2015 et renforcement des réseaux de surveillance et de contrôle du virus

C. Bahuon <sup>(1)</sup>, C. Marcillaud-Pitel <sup>(2)</sup>, L. Bournez <sup>(3)</sup>, A. Leblond <sup>(2,4,5)</sup>, C. Beck <sup>(1)</sup>, J. Hars <sup>(6)</sup>, I. Leparc-Goffart <sup>(7)</sup>, G. L'Ambert <sup>(8)</sup>, M.-C. Paty <sup>(9)</sup>, L. Cavalerie <sup>(10)</sup>, C. Daix <sup>(2)</sup>, P. Tritz <sup>(2,11)</sup>, B. Durand <sup>(12)</sup>, S. Zientara <sup>(1)</sup> & S. Lecollinet <sup>(1)\*</sup>

- (1) UPE, UMR 1161 Virologie, Institut national de la recherche agronomique (INRA), Agence nationale de sécurité sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et du travail (ANSES), École nationale vétérinaire d'Alfort (ENVA), Laboratoire de référence de l'Union européenne (EU-RL) pour les maladies équine, 14 rue Pierre et Marie Curie, 94700 Maisons-Alfort (France)
- (2) Réseau d'épidémiosurveillance en pathologie équine (RESPE), rue Nelson Mandela, 14280 Saint-Contest (France)
- (3) Agence nationale de sécurité sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et du travail (ANSES), Direction des Laboratoires, Unité de coordination et d'appui à la surveillance, 14 rue Pierre et Marie Curie, 94700 Maisons-Alfort (France)
- (4) Institut national de la recherche agronomique (INRA), Épidémiologie animale UR 346, Route de Theix, 63122 Saint-Genès-Champanelle (France)
- (5) VetAgro Sup, Pôle équin, 1 avenue Bourgelat, BP 83, 69280 Marcy-l'Étoile (France)
- (6) Office national de la chasse et de la faune sauvage (ONCFS), Unité sanitaire de la faune, 38610 Gières (France)
- (7) Institut de recherche biomédicale des armées (IRBA), HIA Laveran, 34 boulevard Laveran, 13013 Marseille (France)
- (8) EID Méditerranée, 165 avenue Paul-Rimbaud, 34184 Montpellier Cedex 4 (France)
- (9) Institut de veille sanitaire, 12 rue du Val d'Osne, 94415 Saint-Maurice Cedex (France)
- (10) Ministère de l'agriculture, de l'agroalimentaire et de la forêt, DGAI, Bureau de la santé animale, 251 rue de Vaugirard, 75732 Paris Cedex 15 (France)
- (11) Clinique vétérinaire de Faulquemont, 19 rue de Créhange, 57380 Faulquemont (France)
- (12) Agence nationale de sécurité sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et du travail (ANSES), Laboratoire de santé animale, Unité d'épidémiologie, 22 rue Pierre et Marie Curie, 94700 Maisons-Alfort (France)

\* Contact auteurs : sylvie.lecollinet@anses.fr



*Les désignations et dénominations utilisées et la présentation des données figurant dans cet article ne reflètent aucune prise de position de l'OIE quant au statut légal de quelque pays, territoire, ville ou zone que ce soit, à leurs autorités, aux délimitations de leur territoire ou au tracé de leurs frontières.*

*Les auteurs sont seuls responsables des opinions exprimées dans cet article. La mention de sociétés spécifiques ou de produits enregistrés par un fabricant, qu'ils soient ou non protégés par une marque, ne signifie pas que ceux-ci sont recommandés ou soutenus par l'OIE par rapport à d'autres similaires qui ne seraient pas mentionnés.*

## Mots clés

Camargue – épizootie – équidés – Réseau d'épidémiologie-surveillance en pathologie équine (RESPE) – surveillance – virus de West Nile.

## Introduction

L'infection à virus West Nile est une maladie non contagieuse, transmise principalement par la piqûre de moustiques infectés (du genre *Culex*). Le virus West Nile se maintient au sein d'un cycle moustique-oiseau-moustique, mais peut accidentellement être transmis à des mammifères hôtes. Parmi ces hôtes, les équidés et les humains sont les plus sensibles à l'infection ; ils peuvent développer une méningo-encéphalite sévère.

L'introduction et la circulation du virus West Nile ont été mises en évidence à de multiples reprises depuis les années 1960 dans le sud de l'Europe et sur le pourtour méditerranéen. Cependant l'activité du virus s'est accrue de façon spectaculaire au cours des cinq dernières années, associée à sa propagation en direction de l'est, vers des territoires où sa présence n'avait jusque-là jamais été enregistrée [1]. En 2015, 106 cas neuro-invasifs ont été signalés chez l'homme dans des pays de l'Union européenne<sup>1</sup>, soit une situation similaire à celle observée en 2014, à l'exception du fait que l'activité du virus a été principalement signalée dans les pays de l'ouest du bassin méditerranéen (en France, en Italie et au Portugal chez des humains et des équidés, ainsi qu'en Espagne chez des équidés seulement).

En France, le tout premier foyer d'infection à virus West Nile a été signalé en 1962, en Camargue, une zone naturelle humide située au sud d'Arles et formant un triangle délimité par les deux bras principaux du delta du Rhône et par la Méditerranée [2]. Plus récemment, des épizooties de West Nile ont été signalées dans cette même région en 2000 et 2004, ainsi que dans deux départements également situés en bordure de Méditerranée, le Var et les Pyrénées Orientales, respectivement en 2003 et 2006 [3].

Après plus de dix ans de silence épidémiologique en Camargue, le virus West Nile est réapparu au cours de l'été 2015 en périphérie de la zone, ce qui confirme que la Camargue crée des conditions favorables à la multiplication de ce virus.

Cet article présente l'épizootie de West Nile observée en France en 2015. L'accent est mis sur l'efficacité dont fait preuve le Réseau français d'épidémiologie-surveillance en pathologie équine (RESPE) pour détecter au plus tôt les cas de West Nile chez le cheval, de même que sur l'importance d'un suivi global et coordonné couvrant à la fois les populations humaines, les populations animales (outre les populations équines) et les populations de vecteurs, ainsi que sur l'importance de mener des actions concertées de contrôle du virus West Nile.

## Matériel et méthodes

### **Déclaration des suspicions d'infection à virus West Nile chez les équidés via le Réseau français d'épidémiologie-surveillance en pathologie équine et les Services vétérinaires locaux**

La surveillance du virus West Nile chez les équidés en France repose sur la surveillance clinique des syndromes neurologiques. Les vétérinaires praticiens sont invités à signaler aux Services vétérinaires locaux (SV) toute suspicion clinique de West Nile. Ils reçoivent l'appui du réseau RESPE pour l'identification de l'agent causal.

Le RESPE est un système de surveillance passive fonctionnant sur la base des déclarations de 594 vétérinaires sentinelles volontaires répartis dans 92 départements à travers toute la France. Il existe en outre un sous-réseau du RESPE pour les syndromes neurologiques, spécialisé dans la surveillance de la maladie neuro-invasive à virus West Nile et de la forme neurologique de l'infection à herpèsvirus équin 1 (EHV-1).

1 *European Centre for Disease Prevention and Control (ECDC): [ecdc.europa.eu/en/healthtopics/west\\_nile\\_fever/West-Nile-fever-maps/pages/index.aspx](http://ecdc.europa.eu/en/healthtopics/west_nile_fever/West-Nile-fever-maps/pages/index.aspx) (consulté le 11 décembre 2015)*





## Déclaration des suspicions d'infection à virus West Nile chez l'homme

La surveillance des infections à virus West Nile chez l'homme au niveau de la France est du ressort du laboratoire national de référence pour les arbovirus (en l'occurrence l'Institut de recherche biomédicale des armées – IRBA, à Marseille).

Dans les zones à risque au regard du virus West Nile (c'est-à-dire les départements du pourtour méditerranéen), une surveillance saisonnière renforcée s'applique chaque année entre le 1<sup>er</sup> juin et le 31 octobre, afin de détecter d'éventuels cas de maladie neuro-invasive à virus West Nile chez l'homme. Toute suspicion – tout(e) patient(e) âgé(e) de plus de 15 ans présentant des signes cliniques de méningite ou d'encéphalite d'origine virale – doit être déclarée aux autorités sanitaires locales et faire l'objet d'un dépistage du virus West Nile.

En outre, si une infection à virus West Nile est détectée chez l'homme ou chez l'animal (équidés ou oiseaux), une opération de surveillance active, en amont comme en aval, est immédiatement déclenchée. En 2015, dès la notification des deux premiers cas de West Nile chez des équidés, une enquête rétrospective a été diligentée dans les hôpitaux des départements des Bouches-du-Rhône et du Gard afin d'être en mesure de déceler une éventuelle suspicion chez des patients qui n'auraient pas été testés pour le virus West Nile.

## Surveillance du virus West Nile chez les oiseaux sauvages

Dans les départements du littoral méditerranéen où il existe un risque de circulation du virus West Nile, le réseau SAGIR (un réseau de surveillance épidémiologique des maladies et des intoxications dans la faune sauvage associant l'Office national de la chasse et de la faune sauvage – ONCFS – et la Fédération nationale des chasseurs – FNC) [5] procède, de mai à octobre, au suivi de la mortalité chez les oiseaux sauvages décrits comme les plus sensibles à l'infection à virus West Nile en Europe et dans le Nouveau Monde [4].

## Surveillance des vecteurs

À des fins d'identification et de suivi de la pullulation des moustiques, des captures ont été effectuées par l'Entente interdépartementale pour la démoustication du littoral méditerranéen (EID Méditerranée) au moyen de pièges à CO<sub>2</sub>. Trente-trois de ces pièges-appâts [6] ont été utilisés pour prélever des spécimens le long du littoral méditerranéen entre mi-avril et mi-octobre 2015. Cette opération s'est déroulée dans le cadre des programmes réguliers de surveillance des vecteurs sur le territoire français.

## Méthodes de diagnostic du virus West Nile

Les échantillons de sérum prélevés sur les équidés suspects ont été soumis, en première instance, à des épreuves sérologiques, dans les laboratoires vétérinaires locaux ainsi qu'à l'Agence nationale de sécurité sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et du travail (ANSES) [7] : épreuve ELISA de compétition (IDScreen® West Nile Competition Multi-species, IDvet, Montpellier, France) pour la recherche d'anticorps anti-virus West Nile, et épreuve ELISA de capture d'anticorps IgM (MAC) (IDScreen® West Nile IgM Capture, IDvet) pour la détection des IgM. L'infection à virus West Nile a finalement été confirmée par l'ANSES au moyen d'une épreuve de neutralisation virale – épreuve prescrite par le *Manuel des tests de diagnostic et des vaccins pour les animaux terrestres* de l'OIE [8]. A été considéré comme cas confirmé tout cheval cliniquement suspect se révélant positif aux tests ELISA pour la détection des anticorps IgM anti-virus West Nile et, en début d'épizootie, positif également à l'épreuve de neutralisation virale pour le virus West Nile.

Des échantillons d'ARN provenant d'organes d'oiseaux sauvages suspectés d'être atteints de fièvre de West Nile ont été analysés à l'ANSES par RT-PCR en temps réel [9] pour rechercher la présence d'ARN génomique du virus West Nile. Les tests de diagnostic réalisés à l'IRBA sur des prélèvements humains appliquent un protocole identique de RT-PCR en temps réel pour la détection du génome du virus West Nile [9] et utilisent des tests ELISA maison (ELISA indirect de recherche des IgG et ELISA MAC). Les échantillons de moustiques ont été analysés à l'IRBA pour la détection du génome du virus West Nile.

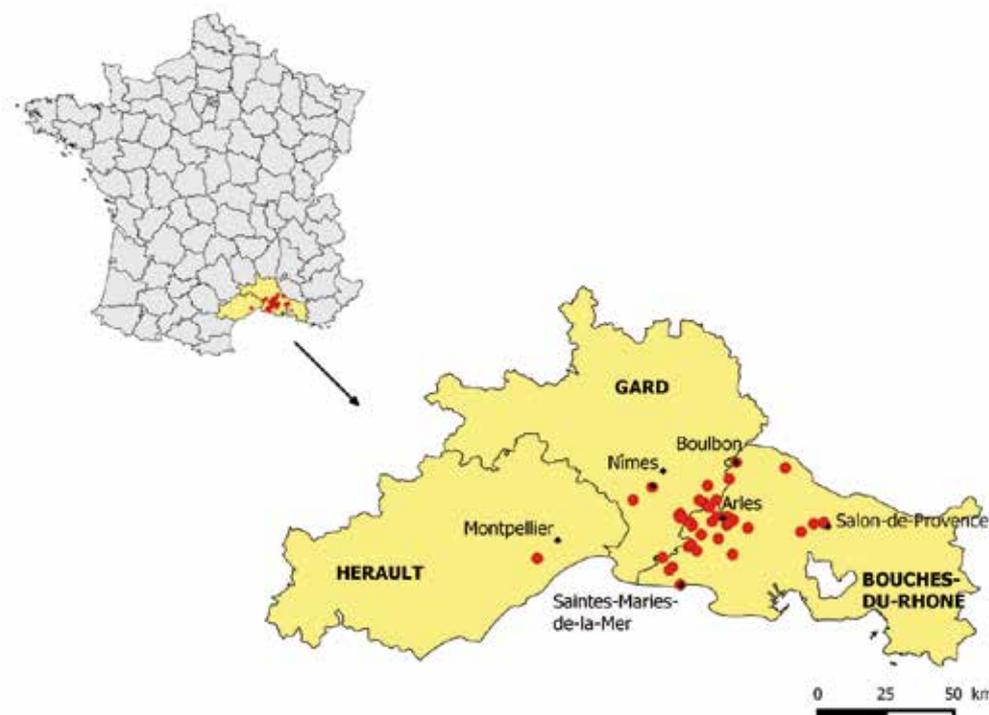
## Résultats

### L'épizootie de West Nile en 2015

Dans ces trois départements français, 65 animaux ont présenté une méningo-encéphalite. Les épreuves sérologiques ont écarté le virus West Nile comme agent causal chez 24 d'entre eux (4 animaux avec uniquement des IgG et 20 animaux sans réponse immunitaire anti-virus West Nile).

Au total, 49 équidés se sont avérés infectés par le virus West Nile (positifs aux épreuves ELISA de compétition et ELISA MAC). Chez 41 d'entre eux l'affection se présentait sous une forme neuro-invasive et chez 3 autres sous une forme fébrile. Une infection asymptomatique a été diagnostiquée chez 5 équidés, soit dans le cadre d'un dépistage systématique auquel ont été





**Fig. 1**  
Répartition des foyers de virus West Nile chez les équidés dans le sud-est de la France en 2015, à la date du 30 octobre

soumis tous les équidés dans trois foyers connus, soit dans le cadre de l'examen rétrospectif de sérums équinés collectés dans le voisinage de foyers. Les cas d'infection neuro-invasive ont été observés entre le 11 août et le 30 octobre ; 6 animaux sont morts ou ont été euthanasiés au vu d'une sévère atteinte neuro-invasive et d'un décubitus prolongé, soit un taux de létalité de 14,6 % (6/41).

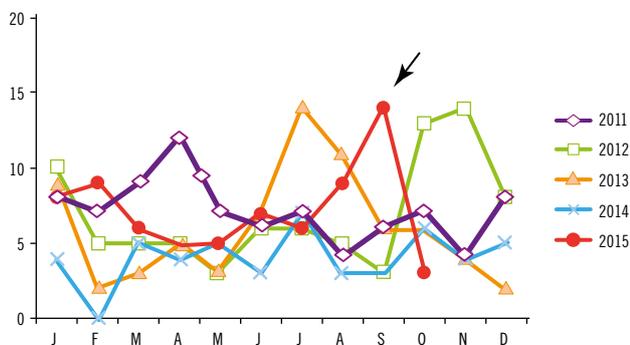
#### Rapidité de la détection des cas d'infection à virus West Nile chez le cheval

En 2015, les cas d'infection à virus West Nile ont été rapidement détectés par le RESPE. Dès la confirmation des deux premiers cas, le réseau RESPE a informé chaque vétérinaire sentinelle de la circulation du virus West Nile en France, incitant les vétérinaires praticiens à accroître leur vigilance vis-à-vis des affections neurologiques chez les chevaux et à signaler tout cas suspect au SV. Selon toute vraisemblance, l'augmentation du nombre de déclarations en septembre 2015 (Fig. 2, flèche) reflète cette vigilance accrue exercée par les vétérinaires en pratique équine.

#### Coordination et renforcement des activités de surveillance du virus West Nile en France

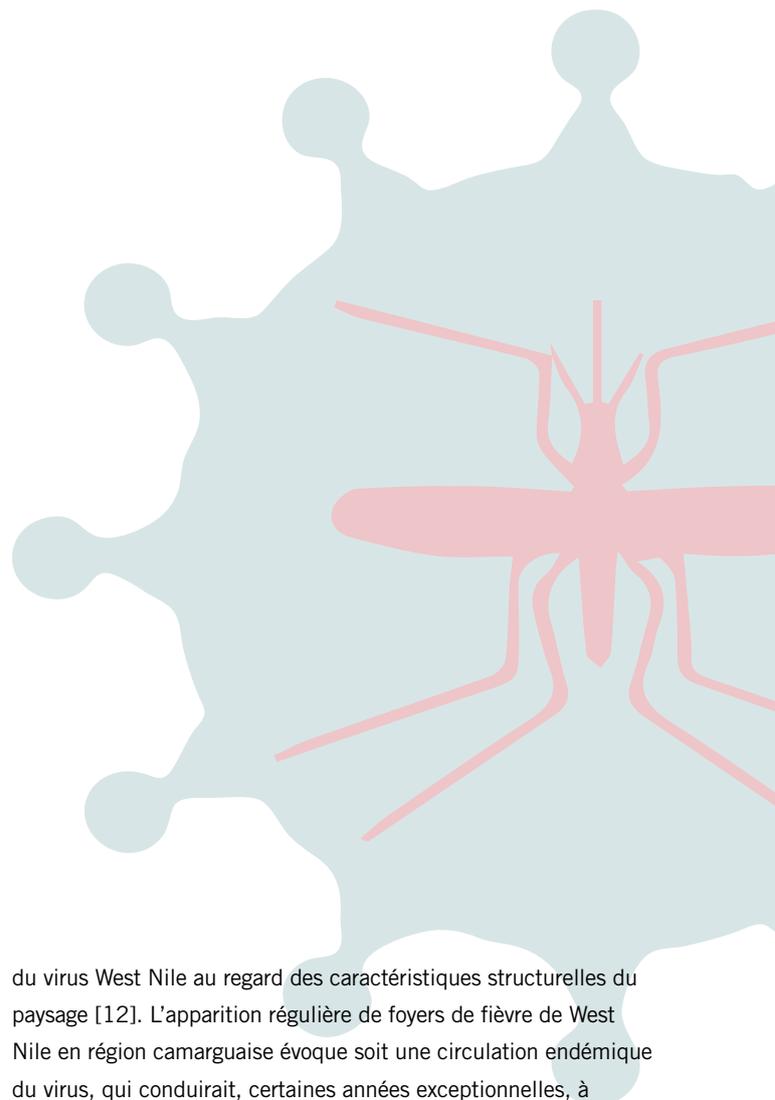
Dès confirmation des premiers cas d'infection à virus West Nile chez des équidés, les Services vétérinaires publics français (Direction générale de l'alimentation – DGAI) ont transmis ces informations aux nombreux acteurs impliqués dans la surveillance du virus, que ce soit chez les équidés, chez l'homme, dans l'avifaune sauvage ou dans les populations de vecteurs. La surveillance a été renforcée chez les animaux ; la DGAI, la Société nationale des groupements techniques vétérinaires (SNGTV) et l'ONCFS/FNC ont demandé aux vétérinaires et au réseau SAGIR d'accroître leur vigilance – respectivement chez les chevaux et dans l'avifaune – vis-à-vis des manifestations induites par le virus West Nile ainsi qu'en présence de cas de mortalité.

Les informations concernant les foyers équinés de virus West Nile ont été partagées et mises à la disposition des protagonistes de la surveillance du virus West Nile sur la plateforme ESA (plateforme nationale de surveillance épidémiologique en santé animale : [www.plateforme-esa.fr](http://www.plateforme-esa.fr)) ainsi que sur le site internet du RESPE ([www.respe.net](http://www.respe.net)), avec mise à jour une à deux fois par semaine. Par ailleurs, la surveillance du virus West Nile a été rapidement renforcée chez l'homme et chez les vecteurs (moustiques) sous la direction du Ministère de la santé (Direction générale de la santé – DGS).



**Fig. 2**  
**Nombre mensuel d'équidés présentant une atteinte neurologique déclarés**  
**auprès du sous-réseau du RESPE pour les syndromes neurologiques**  
**(2011–2015)**

Un nombre exceptionnellement élevé de cas neurologiques a été signalé en septembre 2015 (flèche)



## Discussion

En France en 2015 la saison de transmission du virus West Nile s'est caractérisée par des cycles de multiplication intense et localisée associés à des cas d'infection neuro-invasive chez des équidés. Au total, 49 cas d'infection à virus West Nile ont été confirmés chez des équidés (résultat IgM positif), dont 41 cas de méningo-encéphalite ; il s'agit de la troisième plus importante épizootie de fièvre de West Nile signalée en France. Le taux de létalité observé lors de cette épizootie (14,6 %) s'avère beaucoup plus faible que les taux habituellement signalés (20 à 57 %) [10]. Ce résultat pourrait être dû au faible pouvoir pathogène des souches de virus West Nile en circulation (études en cours). Il est intéressant de noter qu'aucune mortalité anormale n'a été observée en Camargue en 2015 dans l'avifaune, situation similaire à celle déjà signalée en France lors des derniers épisodes de West Nile ainsi qu'à celle observée dans d'autres pays d'Europe lors de foyers dus à des souches virales de la lignée 1 [11]. De plus, aucune forme neuro-invasive sévère n'a été décrite chez l'homme.

L'épizootie de 2015 s'est déroulée dans les zones que Pradier *et al.* avaient évaluées à haut risque de circulation

du virus West Nile au regard des caractéristiques structurelles du paysage [12]. L'apparition régulière de foyers de fièvre de West Nile en région camarguaise évoque soit une circulation endémique du virus, qui conduirait, certaines années exceptionnelles, à l'émergence du virus chez les équidés et l'homme, soit des introductions irrégulières du virus qui génèreraient des foyers de maladie de façon plus systématique. Le maintien du virus West Nile en l'absence de cas équin ou humains a été mis en évidence de façon fort intéressante à travers deux enquêtes sérologiques menées en 2007 et en 2009-2010 dans l'avifaune camarguaise [13, 14], appuyant la première hypothèse.

La surveillance du virus West Nile chez les équidés a permis la détection précoce des cas d'infection en 2015 ; cette détection précoce avait également été vérifiée lors des précédentes épizooties de West Nile apparues en France. En Europe, la modélisation de la circulation du virus West Nile a montré que la surveillance clinique des chevaux est un système rentable et pertinent [15] ; la détection des premiers cas cliniques de West Nile chez les chevaux, découlant de la déclaration de tous les sujets suspects, ne devrait précéder que de quelques jours – deux semaines au



maximum – l'identification du virus chez les moustiques ou la constatation d'une séroconversion chez les oiseaux ou les chevaux. Toutefois, dans la pratique, dans les pays où le virus West Nile est endémique, tels la Grèce ou l'Italie, la détection précoce s'effectue habituellement par la surveillance des vecteurs ou d'oiseaux sentinelles [16, 17].

En 2015 le réseau RESPE a joué un rôle majeur dans la détection des deux premiers cas équin de West Nile, alors que la majorité des suspicions cliniques déclarées par les vétérinaires sentinelles ont été enregistrées hors RESPE, directement par les SV locaux. Les deux systèmes de déclaration ont montré leur complémentarité lors de cette épizootie. Le RESPE s'est révélé utile pour maintenir un niveau minimal de vigilance en zone camarguaise. En outre, le sous-réseau du RESPE pour les syndromes neurologiques devrait permettre, grâce à une surveillance syndromique, un suivi plus efficace et plus rapide des agents pathogènes endémiques ou émergents associés à des encéphalites [18].

La réémergence du virus West Nile en France n'est pas surprenante, de nombreux pays européens ayant signalé une recrudescence de foyers depuis 2010 [19]. Cette augmentation du nombre de foyers a généralement été associée à l'endémisation du virus dans les pays du sud de l'Europe tels que la Grèce ou l'Italie [20, 21]. On peut donc s'attendre à ce que de nouveaux foyers de West Nile soient signalés en France dans les prochaines années ; le système français de surveillance du West Nile devra être ajusté en conséquence, toujours dans une optique collaborative.

## Remerciements

Les auteurs expriment leur reconnaissance à toutes les personnes impliquées dans la surveillance du virus West Nile en France, et remercient les laboratoires vétérinaires locaux, les vétérinaires praticiens, les fédérations locales de chasse et les services de l'Office national de la chasse et de la faune sauvage (ONCFS) ainsi que les personnes faisant partie du groupe de suivi du virus West Nile.

doi:10.20506/bull.2016.1.2503

## Références

1. Bahuon C. & Lecollinet S. (2015). – Des saisons de transmission du virus West Nile contrastées en Europe – situation épidémiologique fin 2014. *Bull. Épidémiol. Santé Animale-Alimentation*, **67**, 19–22.
2. Joubert L., Oudar J., Hannoun C., Beytout D., Corniou B., Guillon J.C. & Panthier R. (1970). – Epidemiology of the West Nile virus: study of a focus in Camargue. IV. Meningo-encephalomyelitis of the horse. *Ann. Inst. Pasteur*, **118**, 239–247.
3. Lecollinet S.H.J., Armengaud A., Capek I., Leblond A., Schaffner F. & Zientara S. (2013). – Le Virus du Nil Occidental. Chapitre 7: La surveillance du virus en France. Quae Ed.
4. Perez-Ramirez E., Llorente F. & Jimenez-Clavero M.A. (2014). – Experimental infections of wild birds with West Nile virus. *Viruses*, **6**, 752–781. doi:10.3390/v6020752.
5. Decors A., Hars J., Faure E., Quintaine T., Chollet J.Y. & Rossi S. (2014). – Le réseau Sagir : un outil de vigilance vis-à-vis des agents pathogènes exotiques. *Bull. Épidémiol. Santé Animale-Alimentation*, **66**, 35–39.
6. L'Ambert G., Ferré J.B., Schaffner F. & Fontenille D. (2012). – Comparison of different trapping methods for surveillance of mosquito vectors of West Nile virus in Rhone Delta, France. *J. Vect. Ecol.*, **37**, 269–275. doi:10.1111/j.1948-7134.2012.00227.x.
7. Beck C., Desprès P., Paulous S., Vanhomwegen J., Lowenski S., Nowotny N., Durand B., Garnier A., Blaise-Boisseau S., Guitton E., Yamanaka T., Zientara S. & Lecollinet S. (2015). – A High-Performance Multiplex Immunoassay for Serodiagnosis of Flavivirus-Associated Neurological Diseases in Horses. *Biomed. Res. Int.*, 13 pp. doi:10.1155/2015/678084.
8. Organisation mondiale de la santé animale (OIE) (2015). – Chapitre 2.1.20. West Nile fever (NB : Version adoptée en mai 2013). *Manual of Diagnostic Tests and Vaccines for Terrestrial Animals*. Paris, OIE.
9. Linke S., Ellerbrok H., Niedrig M., Nitsche A. & Pauli G. (2007). – Detection of West Nile virus lineages 1 and 2 by real-time PCR. *J. Virol. Meth.*, **146**, 355–358. doi:10.1016/j.jviromet.2007.05.021.





10. Pradier S., Lecollinet S. & Leblond A. (2012). – L'épidémiologie du virus West Nile et les facteurs favorisant les changements de sa distribution en Europe. *Rev. Sci. Tech. Off. Int. Epiz.*, **31** (3), 829–844. doi:10.20506/rst.31.3.2167.
11. Jourdain E., Schuffenecker I., Korimbocus J., Reynard S., Murri S., Kayser Y., Gauthier-Clerc M., Sabatier P. & Zeller H.G. (2007). – West Nile virus in wild resident birds, Southern France, 2004. *Vector Borne Zoonotic Dis.*, **7**, 448–452. doi:10.1089/vbz.2006.0592.
12. Pradier S., Leblond A. & Durand B. (2008). – Land cover, landscape structure, and West Nile virus circulation in southern France. *Vector Borne Zoonotic Dis.*, **8**, 253–263. doi:10.1089/vbz.2007.0178.
13. Balanca G., Gaidet N., Savini G., Vollot B., Foucart A., Reiter P., Boutonnier A., Lelli R. & Monicat F. (2009). – Low West Nile virus circulation in wild birds in an area of recurring outbreaks in Southern France. *Vector Borne Zoonotic Dis.*, **9**, 737–741. doi:10.1089/vbz.2008.0147.
14. Vittecoq M., Lecollinet S., Jourdain E., Thomas F., Blanchon T., Arnal A., Lowenski S. & Gauthier-Clerc M. (2013). – Recent circulation of West Nile virus and potentially other closely related flaviviruses in Southern France. *Vector Borne Zoonotic Dis.*, **13**, 610–613. doi:10.1089/vbz.2012.1166.
15. Chevalier V., Lecollinet S. & Durand B. (2011). – West Nile virus in Europe: a comparison of surveillance system designs in a changing epidemiological context. *Vector Borne Zoonotic Dis.*, **11**, 1085–1091. doi:10.1089/vbz.2010.0234.
16. Bellini R., Calzolari M., Mattivi A., Tamba M., Angelini P., Bonilauri P., Albieri A., Cagarelli R., Carrieri M., Dottori M., Finarelli A.C., Gaibani P., Landini M.P., Natalini S., Pascarelli N., Rossini G., Velati C., Vocale C. & Bedeschi E. (2014). – The experience of West Nile virus integrated surveillance system in the Emilia-Romagna region: five years of implementation, Italy, 2009 to 2013. *Eurosurveillance*, **19**. doi:10.2807/1560-7917.ES2014.19.44.20953.
17. Chaskopoulou A., Dovas C.I., Chaintoutis S.C., Kashefi J., Koehler P. & Papanastassopoulou M. (2013). – Detection and early warning of West Nile Virus circulation in Central Macedonia, Greece, using sentinel chickens and mosquitoes. *Vector Borne Zoonotic Dis.*, **13**, 723–732. doi:10.1089/vbz.2012.1176.
18. Henning K. (2004). – What is syndromic surveillance? *Morb. Mort. Weekly Rep.*, **53** (Suppl), 7–11.
19. Beck C., Jimenez-Clavero M.A., Leblond A., Durand B., Nowotny N., Leparco-Goffart I., Zientara S., Jourdain E. & Lecollinet S. (2013). – Flaviviruses in Europe: complex circulation patterns and their consequences for the diagnosis and control of West Nile disease. *Int. J. Environ. Res. Public Health*, **10**, 6049–6083. doi:10.3390/ijerph10116049.
20. Barzon L., Pacenti M., Franchin E., Squarzon L., Lavezzo E., Cattai M., Cusinato R. & Palu G. (2013). – The complex epidemiological scenario of West Nile virus in Italy. *Int. J. Environ. Res. Public Health*, **10**, 4669–4689. doi:10.3390/ijerph10104669.
21. Hernández-Triana L.M., Jeffries C.L., Mansfield K.L., Carnell G., Fooks A.R. & Johnson N. (2014). – Emergence of West Nile virus lineage 2 in Europe: a review on the introduction and spread of a mosquito-borne disease. *Front. Public Health*, **2**:271. doi:10.3389/fpubh.2014.00271.

