REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE

MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE

UNIVERSITE DR. YAHIA FARES DE MEDEA

FACULTE DES SCIENCES

Mémoire de Fin d'Etude

Présentée pour obtenir le diplôme de **Master** En **biologie**

Spécialité : ***Biologie et pathologie cellulaire***

Par :

- **REBIAI Maroua**
- **BEN HAMANI Marwa**

Thème :

Etude sérologique de l'influenza aviaire faiblement pathogène

Devant le Jury composé de :

Dr. **SALHI Omar**	MCA	Univ- BLIDA	Promoteur
Mr. **BACHENE M . S**	MCA	Univ- MEDEA	Co- Promoteur
Dr. **KAABOUB E**	M.C.B	Univ-MEDEA	Examinateur
Dr. **MESSAI CH.R**	M.C.A	Univ- Alger	Examinateur

Année universitaire
2020-2021

REMERCIEMENTS

Nous aimerions en premier lieu remercier Dieu le tout puissant et miséricordieux qui nous a donné la force, la volonté, la patience et le courage durant ces longues années d'étude, pour accomplir ce travail modeste et d'avoir éclairé le chemin de la réussite. En second lieu, nous remercions chaleureusement notre promoteur Dr SALHI pour ses précieux conseils et son aide durant toute la période du travail, pour ses orientations, sa patience et sa disponibilité. Nos vifs remerciements vont également aux membres du jury. Pour l'intérêt qu'ils ont porté à notre recherche en acceptant d'examiner notre travail et de l'enrichir par leurs propositions. Nous tenons à exprimer nos sincères remerciements à tous les professeurs qui nous ont enseigné et qui par leur compétence nous ont soutenu dans la poursuite de nos études. Enfin, nous tenons également à remercier toutes les personnes qui ont participé de près ou de loin à la réalisation de ce travail.

Dédicaces

Parfois dire merci n'est pas suffisant pour exprimer ce que l'on peut ressentir Tous les mots ne sauraient exprimer la gratitude, l'amour, le respect, la reconnaissance, pour toutes les personnes que j'aime…….

Je dédie ce travail :

A Ma chère maman ***Zohra***
A Mon cher père ***Mustapha***

Qui on tousjour a mes côtés de me soutenir et de m'épauler pour que je puisse atteindre mon objectif

A mon frère bachir,
A mes sœurs Romaissa et Hiba,
A mes beaux frères Moslim et Sofien

Pour ses soutiens moral et leur conseil précieux tout au long de mes études

A ma chère bénome ***Maroua Rebiai***

pour sa entente et sympathie et sa compréhension tout au long de ce projet

A mes chères amis Houda ,Iman, Yousra, Anfel,

pour leur supporter toujours

Sont oublié tout ma famille yahiaoui et ben hamani

MARWA BEN HAMANI

Dédicaces

Je dédié ce modeste travail aux personnes les plus chères dans ce monde.

A mes parents ; pour leur amour, leur soutiens et leurs présence permanente a mes cotés et leurs inquiétudes pour ma réussite. A ma chère ***MAMAN*** *qui m'as donné la vie ; la tendresse ; l'amour et le courage et les conseils qui m'ont conduit à la réussite de tous ce que je fais. Tous ce que je peux t'offrir ne pourra exprimer l'amour et la reconnaissance que je te porte. A mon cher* ***PÈRE*** *l'épaule solide ; l'oeil attentif compréhensif ; et la personne la plus digne de mon estime et de mon respect. Je t'offre ce modeste travail pour te remercier pour tes sacrifices et pour l'affection dont tu m'as toujours entourée.*

Aucune dédicace ne saurait exprimer mes sentiments ; que dieu vous préserve et vous procure santé et longue vie.

A mes chères frères ***ISHAK*** *et* ***IDRISS****, et a ma jolie sœur* ***ZINEB*** *, qui m'encouragent dans toute ma vie, et A tout le reste de la famille* ***REBIAI*** *, et la famille* ***BELLABED*** *sans exception, ainsi qu'à tous mes amis et Surtout mes chers amis* ***YOUSRA*** *,****ANFEL*** *et* ***IMEN*** *qui me soutiennent.*

A ma chère binôme ***BEN HAMANI MARWA*** *pour sa soutien, sa entente et sa présence tout au long de ce projet*

A tous ce que je n'ai pas cités, et à ceux que j'aime et qui m'aiment

REBIAI Maroua.

Sommaire

LISTE DES TABLEAUX

LISTE DES FIGURES

LISTE DES ABRÉVIATIONS

RÉSUMÉ

ABSTARCT

ملخص

Introduction :.....1

Partie1 : Etude bibliographique

Chapitre I : L'influenza aviaire faiblement pathogène

I. Historique :.....3

II. Définition : 4

III. Le virus de l'Influenza aviaire :.....4

1. L'agent pathogène :.....4

2. Propriétés du virus :.....5

3. Structure des virus influenza A : 7

4.cycle de réplication de virus : 9

IV. Etiologie : 11

V. physiopathologie : 13

1. Réponse immunitaire :.....13

a.Virus.....14

b. Infection à H9N2 :.....14

c.Lyse CTL des cellules cibles : 14

d.Prolifération :.....15

VI. Epidémiologie : 15

1. Le virus de l'influenza aviaire faiblment pathogène :.....15

a. Variation antigénique de l' influenza aviaire faiblement pathogène : 15

b.Variation génétique de l'influenza aviaire faiblement pathogène : 16

c.Réattribution du génome :.....17

2.La transsmision d'influenza aviaire faiblement pathogéne : 17

a.Transmission aux populations cibles : 18
VII. Les signes cliniques : 19
1.Singes clinique chez les poulet : 19
2. Signes clinique chez les oiseaux : 20
3.Signes cliniques chez l'avifaune sauvage : 20
4.Signe clinique chez Dindes (Meleagris gallopavo) : 21

Chapitre 2 : Diangnostic et prophilaxie

I. Diagnostic 25
Moyens diagnostiques : 25
a) Choix des échantillons : 25
b) Isolement du virus : 25
c) Méthodes moléculaires : 26
d) Test sérologique : 26
La technique d'ELISA : 26
1.Définition : 26
2.Histoire : 26
3.Principe du test ELISA 27
a. Le test ELISA indirect : 27
b. Le test ELISA direct : 29
c. Sandwich ELISA : 30
d. ELISA COMPÉTITIF : 31
II.Prévention : 32
a. Potentiel pandémique : 33
b. Action de l'OMS 34
III.Traitement : 34

Partie 2 : Partie expérimentale

I.Objectif 36
II. Matériels et méthodes : 36
A. Enquête du terrain : 36
1.Lieu et période d'étude : 36
1.1 Matériels *:* 36
1.1.1 Modalités du recueil des données : 36
1.1.2 Mise en forme et saisie des données : 36

1.1.3 Paramètres étudiés :.....37
b. Etude sérologique :.....37
1. Région et durée d'étude :.....37
2. Animal :.....38
3. Etude clinique (Diagnostic clinique) :.....39
4. Echantillonnage (Prélèvements) :.....39
5. Méthode de laboratoire (Sérologie) :.....41
6. Facteurs de risque :.....46
7. Analyses statistiques :.....47
III.Résultats :.....48
1.Enquête du terrain :.....48
2. Etude sérologique :.....67
3. Etude de la fiabilité de diagnostic :.....67
4. Les facteurs influençant l'apparition de IAFP :.....68
I.V Discussion :.....70
1.Etude sérologique :.....70
2. Les facteurs influençant l'apparition de la maladie de l'influenza aviaire faiblement pathogène IAFP :.....71
Conclusion :.....72
Références bibliographiques

Liste des tableaux

Tableau 1 : Critères de l'interprétation des titres d'anticorps obtenus sur ELISA. 45
Tableau 2: Caractéristiques des élevages étudiés. 46
Tableau 3 : La région d'étude 48
Tableau 4 : L'expérience du vétérinaire 49
Tableau 5 : L'importance de l'activité avicole chez la clientèle 49
Tableau 6: Le suivi d'élevage de poulet de chair 50
Tableau 7 : La fréquence de consultation du poulailler 51
Tableau 8 : Les souches de poulet de chair les plus rencontrées. 51
Tableau 9: Les maladies les plus fréquentes en élevage de poulet de chair 52
Tableau 10: Les maladies d'origine virale les plus fréquentes 53
Tableau 11 : L'apparition de la l'influenza aviare faiblement pathogéne durant cette année 54
Tableau 12: La fréquence de l'apparition de l'influenza aviaire faiblement pathogène 55
Tableau 13 :L'élevage le plus touché 56
Tableau 14: Les manifestations sur le plan clinique 57
Tableau 15 : Taux de morbidité 58
Tableau 16 : Manifestations accompagnées de mortalité 59
Tableau 17 : Le taux de manifestations accompagnées de mortalité 59
Tableau 18: Les raisons qui peuvent causer cette pathologie 60
Tableau 19: La saison ou période dans L'ifluenza aviaire faiblement pathogene est plus fréquente. 61
Tableau 20: La tranche d'âge la plus touchée 62
Tableau 21: La base de diagnostic de l'IAFP 63
Tableau 22: L'existence d'un protocole de vaccination 64
Tableau 23 : Le protocole de vaccination 65
Tableau 24: Cas de rechute après vaccination 66
Tableau 25 : Etude sérologique 67
Tableau 26 : Sensibilité (%) et spécificité (%), avec intervalle de confiance à 95% (IC) et prévalence réelle du test sur la base des signes cliniques et lésionnels pour la détection de IAFP. 67
Tableau 27: Effet de facteurs de risque pour IAFP. 68

Listes des figures

Figure 1 : Virus de l'Influenza aviaire : schéma et micrographie électronique (Whitworth et al., 2010)..... 7
Figure 2 : structure d'une particule virale de virus influenza A.(**Damien Garrido 2018)**..... 8
Figure 3: cycle de réplication des virus influenza A vRNP, RNP virale; cRNP, RNP complémentaire; HA, hémagglutinine; M1, protéine de matrix; M2, protéine de membrane; NA , neuraminidase; NEP, protéine d'export nucléaire; NP, nucléoprotéine; NS1, protéine non structurale; PB1, PB2 et PA, ARN polymérase virale. D'après (Krammer et al., 2018).. 10
Figure 4: Représentation schématique de l'écosystème et de la problématique étudiée 18
Figure 5: l'avifaune sauvage(anon2021)..... 21
Figure 6 : Dindes âgées de 28 jours, infectées naturellement par le virus influenza aviaire faiblement pathogène (IAFP) H7N1 et se trouvant en phase aiguë de la maladie. Les oiseaux atteints sont abattus et présentent un plumage ébouriffé et une conjonctivite.(I. Capua et C. Terregino2013)..... 23
Figure 7: Dindonneau âgé de 28 jours, infecté naturellement par IAFP H7N1 et présentant une conjonctivite sévère et un gonflement des sinus sous-orbitaires. (I. Capua et C. Terregino2013)..... 23
Figure 8 :Dinde infectée expérimentalement par IAFP H7N3 et présentant une conjonctivite et un gon_ ement des sinus sous-orbitaires. (I. Capua et C. Terregino2013)..... 24
Figure 9: Dindonneaux âgés de 28 jours, infectés naturellement par IAFP H7N1 et présentant une attitude prostrée. L'emphysème sous-cutané se manifeste par une peau ballonnée au niveau de la tête. (I. Capua et C. Terregino2013) 24
Figure 10 :principe du test Elisa indirect (Zuchuat, 2014)..... 28
Figure 11 : Mécanisme d'oxydation du substrat en un composé chromogénique par l'enzyme (peroxydase) (Zuchuat, 2014) 28
Figure 12: principe du test Elisa idirect (berthold.com))ne réactivité c'anticorpssecondaire . 29
Figure 13 : le principe de sandwich ELISA (Hosseini, et al., 2018)..... 30
Figure 14 : principe de ELISA COMPÉTITIF. (berthold.com)..... 31
Figure 15 : Carte géographique montre les régions d'étude. 38
Figure 16: Les élevages prélevés..... 39
Figure 17: Technique de prélèvement. 40
Figure 18 : Les étapes de décantation du sérum..... 41
Figure 19 : Kit ELISA utilisé. 42

Figure 20: Lecteur ELISA. 42
Figure 21: La région d'étude 48
Figure 22 :L'expérience du vétérinaire 49
Figure 23 : L'importance de l'activité avicole chez la clientèle 50
Figure 24: Le suivi d'élevage de poulet de chair 50
Figure 25 : La fréquence de consultation du poulailler 51
Figure 26: Les souches de poulet de chair les plus rencontrées. 52
Figure 27 : Les maladies les plus fréquentes en élevage de poulet de chair 53
Figure 28: Les maladies d'origine virale les plus fréquentes. 54
Figure 29 : L'apparition de l'influenza aviaire faiblement pathogène durant cette année 55
Figure 30: La fréquence de l'apparition de la IAFP 56
Figure 31 : L'élevage le plus touché 57
Figure 32 : Les manifestations sur le plan clinique 58
Figure 33 : Taux de morbidité 58
Figure 34: Manifestations accompagnées de mortalité 59
Figure 35: Le taux de manifestations accompagnées de mortalit 60
Figure 36: Les raisons qui peuvent causer cette pathologie 61
Figure 37: La saison ou période dans la IAFP est plus fréquente 62
Figure 38 : La tranche d'âge la plus touchée 63
Figure 39 : La base de diagnostic de L'ifluenza aviaire faiblement pathogene 64
Figure 40 : L'existence d'un protocole de vaccination 65
Figure 41: Le protocole de vaccination 66
Figure 42: Cas de rechute après vaccination 66
Figure 43: Effet de facteurs de risque pour IAFP (B. Souche, C. Hygiène). 69

Liste des abréviation

IAFP : influenza aviaire faiblement pathgène .

IAHP : influenza aviaire hautement pathgène

ND : maladie de newcastel

L'ADN : **a**cide **d**ésoxyribo**n**ucléique.

ARN : acide **r**ibo**n**ucléique.

ARN m : **a**cide **r**ibo**n**ucléique messagers

ARN c : **a**cide **r**ibo**n**ucléique complémentaires

HnNn : l'hémagglutinine (H) et la neuraminidase (N).

NP : nucléoprotéine .

RNP : ribonucléoprotéine.

PA, PB1, PB2 : protéines.

NS1 : protéine non structurelle .

NS2 : protéine de transport .

VIA : virus influenza aviaire.

ICM : immunité à médiation cellulaire.

ANOVA : **an**alysis **o**f **va**riance.

Résumé

La présente étude a été menée dans le but d'évaluer l'état sérologique et épidémiologique de la maladie de l'Influenza aviaire faiblement pathogène (H9N2) en élevage de poulet de chair dans la région de Médéa (7 élevages / 280 sérums) par la méthode ELISA et d'évaluer l'influence de certains facteurs de risque associés à chaque maladie.

Nos résultats montrent que : Parmi tous les élevages étudiés 57.14% ont montré une positivité sérologique). Les élevages de Cobb 500 étaient significativement plus séropositifs de 64 % ($p = 0,04$) que les autres souches. Néanmoins, les élevages ayant une bonne hygiène étaient significativement moins séropositifs à la maladie de 32% ($p = 0,03$).

L'enquête sérologique menée dans le cadre de cette étude a fourni un cadre important sur la maladie de l'Influenza aviaire faiblement pathogène qui est une pathologie dominante chez les poulets de chair. Ainsi, de nombreux facteurs sont responsables de l'apparition de cette maladie.

Mots clés : Sérologique ; épidémiologique ; Influenza aviaire faiblement pathogène (H9N2) ; poulets de chair, Médéa

Summary

This study was conducted to assess the serological and epidemiological status of Low pathogenic avian influenza (H9N2) disease in broiler chicken farms in the Medea region (7 farms / 280 serums) using the ELISA method and to assess the influence of certain risk factors associated with each disease.

Our results show that: Of all the farms studied, 57.17% showed serological positivity). Cobb 500 farms were significantly 64% more seropositive ($p = 0.04$) than the other strains. However, farms with good hygiene were significantly less seropositive to the disease by 32% ($p = 0.03$).

The serological survey conducted as part of this study provided an important framework for Low pathogenic avian influenza, which is a dominant disease in broilers. Many factors are responsible for the development of this disease.

Keywords: Serological; epidemiological; Low pathogenic avian influenza (H9N2); broiler chickens, Medea

ملخص

أجريت هذه الدراسة لتقييم الحالة المصلية والوبائية لمرض إنفلونزا الطيور منخفضة الضراوة نفي تربية دجاج التسمين في منطقة المدية (7 مزرعة /280 أمصال) باستخدام طريقة ELISA. و تقييم تأثير بعض عوامل الخطر المرتبطة بكل مرض.

تظهر نتائجنا ما يلي: من بين جميع المزارع التي شملتها الدراسة ، أظهر 57.14٪ الإيجابية المصلية). كانت مزارع كوب 500 أكثر إيجابية من المصل بنسبة 64% من سلالات أخرى. ومع ذلك ، كانت المزارع ذات النظافة الجيدة أقل بنسبة 32% (ع = 0.03).

قدمت الدراسة المسحية التي أجريت كجزء من هذه الدراسة إطارًا مهمًا لمرض نيوكاسل ، وهو أحد مسببات الأمراض السائدة في دجاج التسمين. هناك العديد من العوامل المسؤولة عن ظهور هذا المرض.

كلمات مفتاحية: المصلية ؛ علم الأوبئة. إنفلونزا الطيور منخفضة الضراوة. الفراريج ، المدية

Introduction

Introduction :

En Algérie, la filière avicole « chair » a connu depuis 1980 un développement notable,soutenu par une politique incitative. Cependant, les pratiques d'élevage accusent un retardtechnologique considérable par rapport aux pays industrialisés, ceci retentissant nonseulementsur la productivité des ateliers avicoles, mais aussi et surtout sur la santé publique.En effet, laproblématique de la filière avicole sur le plan sanitaire reste toujours tributaire des conditionsd'élevage en général, et plus particulièrement de l'hygiène des bâtiments. La barrière sanitaire auniveau des élevages est tellement faible, qu'elle est à l'origine de taux de mortalités excessifs,d'utilisation abusive des produits vétérinaires et de la propagation de diverses pathologies.(Kaci, et al., 2001).

L'aviculture joue un rôle socio-économique important dans l'économie des pays en développement. En revanche, elle se pratique dans des conditions d'élevage très sommaires, constituant le lit des infections, ce qui est à l'origine de la faible productivité.
Notamment le secteur de poulet de chair qui est à la fois le plus grand et le plus efficace au monde ainsi que la plus grande industrie de production de viande.

En effet, ce secteur est très important pour un nombre toujours croissant de pays, l'Algérie étant l'un d'entre eux. Cette production de poulet de chair est cependant menacée par un certain nombre de maladies infectieuses notamment virales, causant des pertes économiques énormes pour ce secteur.

Le développement de la production avicole en Algérie fait face à de nombreuses contraintes zootechniques et sanitaires, face auxquelles les vétérinaires avicoles doivent être particulièrement vigilants. Parmi ces contraintes les infections virales occupent une place prépondérante dont la maladie de l'influenza aviaire faiblement pathogène (IAFP).

Donc, est-il nécessaire de mieux connaître l'impact des maladies virales, en particulier leur incidence sur la production, pour une optimisation de ce secteur d'activité.

Notre travail est consacré à une étude séro-épidémiologique de la maladie de l'influenza aviaire faiblemnt pathogène (IAFP). en élevage de poulet de chair, en utilisant la méthode ELISA et d'évaluer l'influence de certains facteurs de risque associés à cette maladie. Dans la perspective est l'amélioration de la productivité à travers l'amélioration de la santé.

Sur un plan plus spécifique, il s'agit de relever la présence des contraintes pathologiques d'origine virale en appréciant le statut immunitaire des oiseaux afin de mettre en place une prise en charge adéquate de ces pathologies.

Il comporte :

- une partie bibliographique composé de deux chapitre .le 1er chapitre donné une définiton de cette maladie , epidimiologie ,pathogénésité ainsi que les différente symptomes causé par IAFP et un 2éme chapitre concernet le diagnostic et prophylaxie .
- une partie expérimentale composée par problématique ,objectif, matériel et méthode , Discussion et se termine par une conclusion .

Partie bibliographique

Chapitre I :

L'influenza aviaire faiblement pathogène

I. Historique :

- en **671** : mortalité massive de différentes volailles en Angleterre .

- en **1286** : mortalité subite des oiseaux sur tout le territoire autrichien, « les oiseaux petits et grands tombaient morts et c'est à peine si l'on pouvait encore voir une pie, une corneille ou un autre oiseau » écrit un chroniqueur de Magdeburg

- en 1**578** : épizootie frappant les poules à Paris ;

- en **1614** : épidémie mortelle chez les hommes en Bohème, contemporaine d'une épizootie chez les poules qui « se réunissaient à 6 ou 7, mettaient les têtes ensembles, tombaient à terre et mouraient »(Heusinger 1853).

-en **1656** : « énorme mortalité de pélicans aux Antilles »(Heusinger 1853)

- en **1714** : les pigeons de Paris sont atteints de « petite vérole » et on ordonne leur abattage général « parce qu'on croyait qu'ils transportaient le virus chez les hommes et les brebis» (Heusinger 1853).

-de **1718 à 1721** : les oies sont particulièrement touchées en 1718 et 1719 en Silésie et la maladie s'étend aux cigognes en 1721

- en **1769** : mortalité générale des oies dans le Hanovre

- en **1774** : selon la Gazette de la santé (février), 600 oies seraient mortes aux bords de la Meurthe en Lorraine, après avoir présenté des symptômes de diarrhée et des vertiges

-en **1789** : épizootie grave chez les poules en Italie du Nord (Heusinger 1853). Les symptômes décrits sont ceux d'une maladie infectieuse, les lésions affectant les appareils respiratoire et digestif.

-de **1830 à 1831** : série d'épisodes de mortalité aviaire (attribuée au choléra humain) dans toute l'Europe. Les cas les plus graves commencent dans le Duché de Poznen en Pologne.

Une excellente description en est faite (Heusinger 1853): « les premières attaquées furent, en général, les oies, puis les canards et les dindons, les dernières les poules. Il y en avait qui avaient la diarrhée, ils commençaient à boiter ne purent plus marcher, se reposaient sans pouvoir se relever et moururent subitement ; on dit que la maladie s'est également montrée sur les canards sauvages du lac de Golpo ». En 1831, la maladie est observée en Moravie et en Silésie : « les poules, les canards et les oies furent subitement attaquées , devinrent tristes, ne mangèrent plus, la tête s'enfla, devint bleue et bientôt la mort entra »

-en **1841** : « une quantité inouïe de canards sauvages, la plupart morts, furent rejetés par la mer aux côtes du départ des Landes , la masse totale des oiseaux pris pouvait monter à 20 000 » (Heusinger 1853). En ce qui concerne les oiseaux sauvages, les chroniqueurs

s'embarrassaient peu de descriptions cliniques : toute mortalité d'oiseaux sauvages était le résultat d'une bataille rangée entre eux ! Les dates de toutes ces batailles ont été relevées par Fleming (Fleming 1871).

-En **1878**, en Italie, la description d'une épizootie dz « peste des poules » évoluant d'une forme peu virulente vers une forme beaucoup plus grave correspondrait à l'évolution d'une souche de VIA de faiblement pathogène à hautement pathogène. La maladie se propage à toute la Lombardie et devient la « peste aviaire» car elleatteint d'autres espèces de volailles. Elle se propage ensuite à l'Allemagne et à la France par la voie des échanges commerciaux. La maladie a été ensuite décrite sur les autres continents, mais des confusions ont probablement eu lieu entre la peste aviaire vraie et la pseudo peste aviaire ou maladie de Newcastle.

Ce n'est qu'en 1955 qu'a été isolé le premier virus influenza A aviaire. C'est pourquoi seules les épizooties apparues depuis 1955 (la première datant de 1959) sont reconnues comme certaines. Toutes les souches responsables d'épizooties chez les volailles depuis 1959 appartenaient à un sous-type H5 ou à un sous-type H7.(et ceci a été pris en compte pour définir les souches de VIA à déclaration obligatoire Par ailleurs, l'existence de différentes formes cliniques d'influenza aviaire, variant d'une forme fruste à des formes aiguës ou suraiguës de maladie, a conduit à distinguer des souches faiblement pathogènes (FP ou LP) et des souches hautement pathogènes (HP). Les souches HP ont été le plus souvent responsables d'épizooties très graves chez les volailles (Anonyme 2018).

II. Définition :

La grippe aviaire est une maladie virale qui sévit chez les oiseaux, et dont le taux de mortalité est très élevé chez les oiseaux d'élevage (poulet, oies, etc.). Si la plupart des virus aviaires n'infectent pas l'homme.

III. Le virus de l'Influenza aviaire :

1. L'agent pathogène :

Il existe 4 types de virus grippaux: A, B, C et D:

- Les virus grippaux du type A infectent l'homme et de nombreux animaux. L'émergence d'un nouveau virus grippal A très différent, capable d'infecter les individus et d'induire une transmission interhumaine durable, peut provoquer une pandémie de grippe.

- Les virus grippaux du type B ne circulent que dans les populations humaines et entraînent des épidémies saisonnières. Selon des données récentes, les phoques peuvent également être infectés.
- Les virus grippaux du type C peuvent infecter l'homme et le porc mais ces infections sont généralement bénignes et sont rarement notifiées.
- Les virus grippaux de type D touchent principalement les bovins et on sait qu'ils infectent les êtres humains et causent des maladies.

Les **virus grippaux du type A** sont les plus importants en termes de santé publique car ils peuvent entraîner une pandémie de grippe. Ils sont classés en sous-types selon la combinaison de 2 protéines de surface – l'hémagglutinine (H) et la neuraminidase (N). Il existe 18 sous-types d'hémagglutinine et 11 sous-types de neuraminidase. Selon l'hôte d'origine, les virus grippaux du type A sont classés comme virus aviaires, virus porcins ou autres virus animaux.

Par exemple, les virus des sous-types A(H5N1) et A(H9N2) sont des virus aviaires (de la «grippe du poulet») tandis que les virus des sous-types A(H1N1) et A(H3N2) sont des virus porcins (de la «grippe du porc»). Tous ces virus grippaux du type A qui infectent les animaux sont différents des virus grippaux humains et ils ne se transmettent pas facilement d'une personne à l'autre.(anon 2021)

2. Propriétés du virus :

- **Classification :**

Le virus de l'Influenza aviaire est un Influenza virus A de la famille des Orthomyxoviridae (Whitworth et al., 2010 ; ANON., 2002). L'Influenza aviaire fait partie de la liste des maladies réglementées en France. Les sous-types H5 et H7 ainsi que tout virus Influenza A hautement pathogène (indice de pathogénie supérieur à 1,2) sont considérés comme danger sanitaire de première catégorie (OIE, The Center for Food Security and Public Health, 2016) et soumis à déclaration obligatoire.

- **Morphologie :**

Il s'agit d'un virus enveloppé de 80 à 120 nm de diamètre. Il comprend huit segments d'ARN monobrins négatifs codant pour dix protéines virales : deux glycoprotéines de surface, l'hémagglutinine et la neuraminidase, deux protéines de matrice M1 et M2, une nucléoprotéine NP, un complexe polymérase constitué de trois protéines PA, PB1, PB2, une protéine non structurelle NS1 et une protéine de transport NS2 (Rutvisuttinunt et al., 2013).

Le génome a une taille totale de 13.6 kilobases (Rutvisuttinunt et al., 2013). La surface externe est recouverte de glycoprotéines virales ayant une activité hémagglutinante et de fusion, noté HA, ou une activité neuraminidase, notée N (Figure 1). La glycoprotéine HA, et dans une moindre mesure la glycoprotéine N, sont les cibles de la réponse immunitaire. Les différents sous-types du virus se caractérisent par la combinaison d'une hémagglutinine et d'une neuraminidase. Il existe au sein de l'espèce Influenza A dix-huit hémagglutinines et onze neuraminidases différentes (Liu et al., 2018). Il y a généralement peu ou pas de protection croisée entre les sous-types. Chaque sous-type comprend plusieurs souches qui différent par mutation, recombinaison ou réarrangement de gènes (Whitworth et al., 2010). 16 Pour nommer une souche du virus de l'Influenza aviaire, on utilise la nomenclature officielle qui comprend : l'espèce virale de l'Influenza, l'espèce hôte à partir de laquelle la souche a été isolée, l'origine géographique, le numéro de référence désigné par le laboratoire, l'année d'isolement et le sous-type du virus. Par exemple, la souche H9N2 détectée dans une étude aux Emirats Arabes Unis entre 2000 et 2003 était très proche de la souche A/Quail/Hong Kong/G1/97 (H9N2): c'est-à-dire un virus Influenza A de sous-type H9N2 isolé chez la caille à Hong Kong en 1997 (Aamir et al., 2007).

- **Propriétés biologiques :**

La transmission du virus a lieu par contact direct avec un individu infecté ou par contact indirect via les sécrétions respiratoires ou une contamination fécale (Whitworth et al., 2010). La survie du virus dans l'environnement dépend de l'humidité, de la température et de la salinité. Il peut survivre plusieurs mois dans un habitat frais et humide, environnement souvent fréquenté par les oiseaux d'eau, principaux hôtes du virus de l'Influenza aviaire. Dans des fèces, le virus peut survivre jusqu"à 105 jours (OIE, 2012)

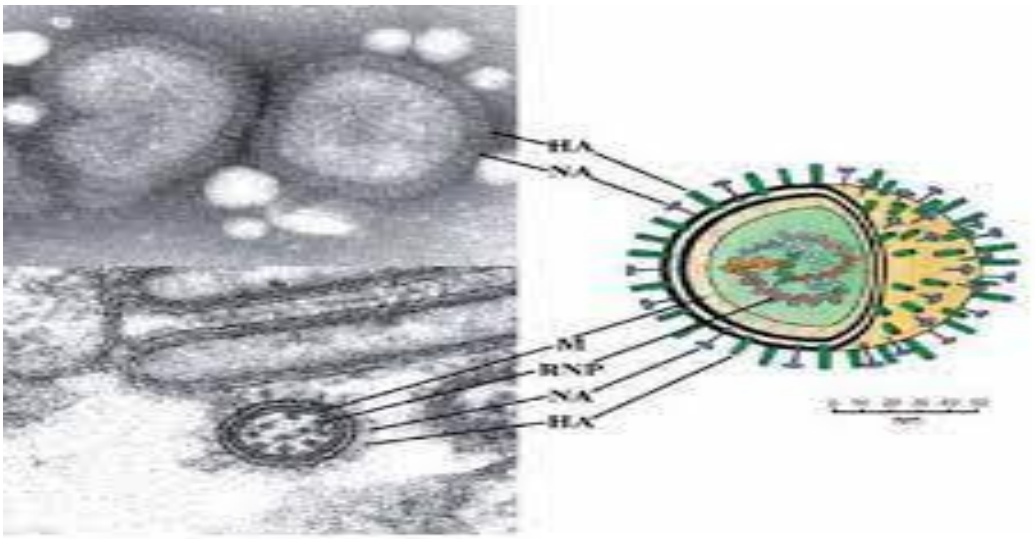


Figure 1 : Virus de l'Influenza aviaire : schéma et micrographie électronique (Whitworth et al., 2010)

HA : glycoprotéine à activité hémagglutinante ;
NA : glycoprotéine à activité neuraminidase ;
M : matrice ;
RNP : ribonucléoprotéine

3. Structure des virus influenza A :

Tous les virus influenza sont des virus enveloppés contenant un génome à ARN simple brin négatif segmenté. On dénombre huit segments génomiques pour les virus influenza A et B contre sept chez les virus influenza C et D (Krammer et al., 2018). Comme le montre la **Figure 8**, les segments génomiques des virus influenza A codent pour les différentes sous-unités de l'ARN polymérase virale (PB1, PB2 et PA), les glycoprotéines de surface (l'hémagglutinine HA et la neuraminidase NA,) la nucléoprotéine virale (NP), les protéines de matrice 1 (M1) et 2 (M2) et les protéines non structurales 1 (NS1) et 2 (NS2 ou NEP pour nuclear export protein).

En fonction de la souche, les virus influenza A peuvent également coder pour un ensemble de protéines accessoires, y compris les protéines PB1-F2 et PA-X, qui agissent comme des facteurs de virulence (Klemm et al.,2018). Dans la particule virale (le virion), les différents segments d'ARN simple brin sont repliés autour des nucléoprotéines NP formant des ribonucléopréotéines (RNP) de structure hélicoïdale. Chacune de ces RNP contient aussi un

46 exemplaire du complexe de l'ARN polymérase virale. La protéine M1 tapisse la face interne du virion et est impliquée dans le maintien de sa structure. Ensemble, avec la protéine NEP, M1 est également impliqué dans l'export nucléo-cytoplasmique des RNPs. La protéine M2 est un canal à proton intégré dans l'enveloppe du virion qui permet l'acidification de l'intérieur de la particule virale, nécessaire à la libération des RNPs dans le cytosol. La protéine NS1 est une protéine multifonctionnelle avec des rôles dans l'échappement à la réponse immunitaire antivirale et la réplication virale (Marc, 2014). La glycoprotéine HA est un homotrimère, chaque monomère étant composé de deux sous-unités HA1 et HA2 provenant du clivage protéolytique d'un précurseur HA0. La sous-unité HA1 (le domaine globulaire) possède un site de liaison aux acides sialiques présentant les récepteurs viraux. La sous unité HA2 constitue la tige de chaque monomère HA et contient le peptide de fusion qui assure la fusion de l'enveloppe virale avec la membrane de l'endosome de la cellule cible. La protéine NA est un homotétramère possédant une activité sialidase, ce qui lui confère la capacité de cliver les acides sialiques de la cellule hôte liés à l'hémagglutinine afin de libérer les virions néo-produits. En raison du taux d'erreur élevé de l'ARN polymérase virale, les propriétés antigéniques des deux glycoprotéines de surface HA et NA sont extrêmement variables. On peut distinguer 16 sérogroupes de protéines HA et 9 sérogroupes de protéines NA, qui existent en plusieurs combinaisons et sont utilisés pour classer les virus influenza A en tant que sous-types (Fouchier et al., 2005)

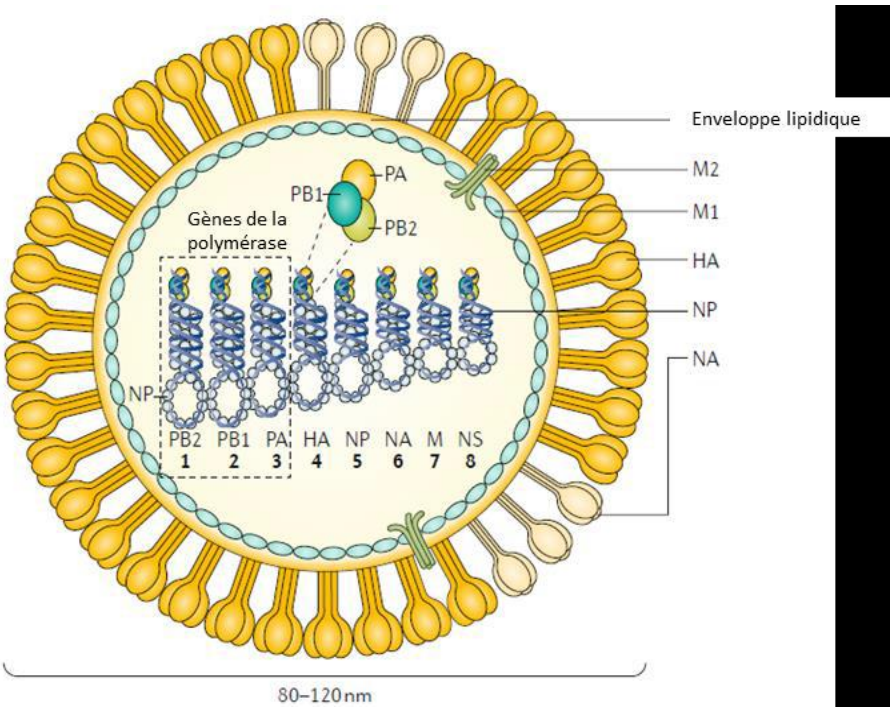


Figure 2 : structure d'une particule virale de virus influenza A.(**Damien Garrido 2018)**

On retrouve les huit segments d'ARN simple brin négatif codant pour les protéines virales citées ci-dessus et le complexe de l'ARN polymérase virale. L'enveloppe lipidique provient de la membrane plasmique des cellules de l'hôte. Elle est recouverte des protéines HA, NA, M2, et est tapissée par la protéine M1 sur sa face interne. Chaque particule virale a une taille comprise entre 80 et 120 nm. D'après (Krammer et al., 2018).

4.cycle de réplication de virus :

Les acides sialiques conjugués aux glycoprotéines cellulaires représentent les principaux récepteurs des virus influenza A. Plus précisément, l'hémagglutinine (le domaine globulaire HA1) reconnaît des acides sialiques de typeN-acétylneuraminique, liés par une liaison de type α2,3 ou α2,6 au galactose d'un glycane. Le type de liaison terminale (α2,3 ou α2,6) participe à la restriction d'espèce et détermine aussi le tropisme tissulaire des virus influenza A (de Graaf and Fouchier, 2014).

L'endocytose des particules virales est médiée par la liaison entre l'hémagglutinine et le récepteur de la cellule hôte. La protéine M2 est alors activée par la baisse du pH au sein de la vésicule d'endocytose et va à son tour acidifier l'intérieur des particules virales. L'acidification entraîne aussi un remaniement structural de l'hémagglutinine, qui provoque la fusion de la membrane endosomale avec l'enveloppe virale. Ensuite, les RNPs sont dirigées vers le noyau cellulaire grâce à un signal de localisation nucléaire présent dans les protéines NP. Dans le noyau cellulaire, les ARN viraux de polarité négative sont transcrits en ARN messagers (ARNm) ou ARN complémentaires (ARNc) de polarité positive par l'ARN polymérase virale. Les ARNc servent de matrice pour la synthèse de nouveaux ARN viraux de polarité négative. Les ARNm sont exportés dans le cytoplasme où ils sont ensuite traduits en protéines virales par la machinerie cellulaire. Les protéines HA, NA et M2, en passant par l'appareil de Golgi, intègrent la membrane plasmique des cellules, tandis que les protéines M1 et NEP exportent les RNPs du noyau vers le cytoplasme. Les RNPs s'associent alors avec les protéines virales d'enveloppe grâce à la protéine M1 pour former des particules virales bourgeonnantes à la surface des cellules infectées. L'activité sialidase de la protéine NA libère les virions néo-formés.

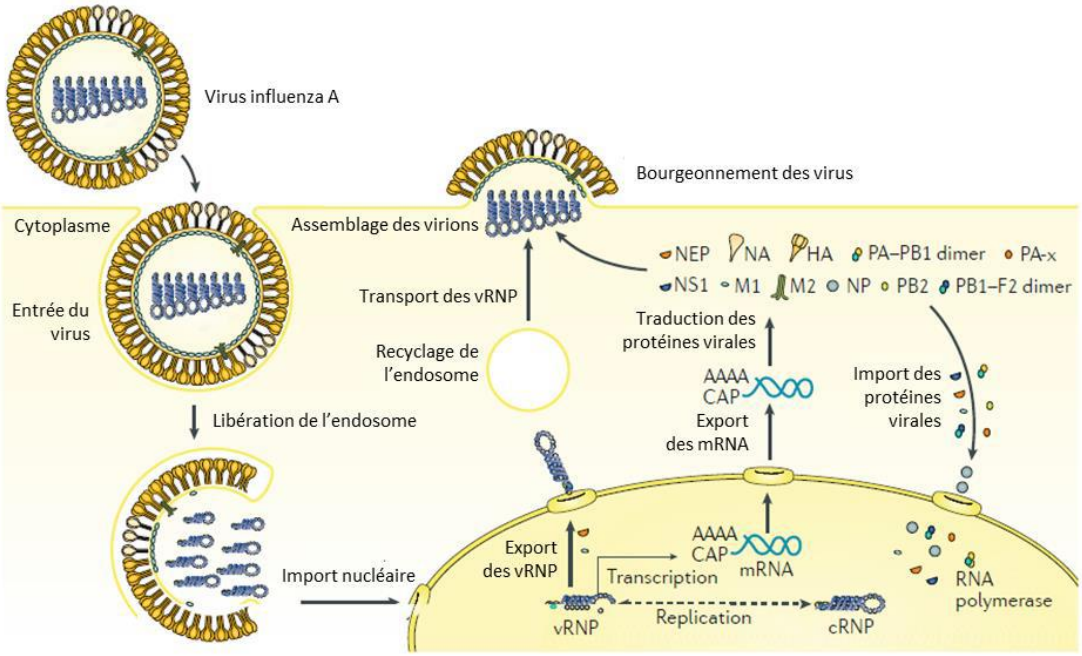


Figure 3: cycle de réplication des virus influenza A vRNP, RNP virale; cRNP, RNP complémentaire; HA, hémagglutinine; M1, protéine de matrix; M2, protéine de membrane; NA , neuraminidase; NEP, protéine d'export nucléaire; NP, nucléoprotéine; NS1, protéine non structurale; PB1, PB2 et PA, ARN polymérase virale. D'après (Krammer et al., 2018).

vRNP, RNP virale

cRNP, RNP complémentaire;

HA : hémagglutinine;

M1 :protéine de matrix;

M2 : protéine de membrane;

NA : neuraminidase;

NEP : protéine d'export nucléaire;

NP : nucléoprotéine;

NS1 : protéine non structurale;

PB1, PB2 et PA :ARN polymérase virale.

D'après (Krammer et al., 2018)

IV. Etiologie :

La grippe aviaire est une infection provoquée par des **virus grippaux de type A**, et en particulier par les sous-types H5, H7 et H9. Cette infection peut toucher presque toutes les espèces d'**oiseaux**, sauvages ou domestiques. Elle est généralement **asymptomatique chez les oiseaux sauvages**, mais peut devenir fortement contagieuse et entraîner une mortalité extrêmement élevée dans les **élevages industriels** de poulets et de dindes, d'où son nom de « peste aviaire » ou d' « Ebola du poulet ». Le virus de la grippe aviaire peut parfois infecter d'autres espèces animales comme le porc et d'autres mammifères, dont l'homme.(anonyme2019).

- **pathogénicité** *:*

Le terme **pathogénicité** est une mesure de la probabilité d'un virus à causer la maladie. Ainsi, le virus de la grippe aviaire peut être hautement pathogène ou faiblement pathogène. Différents sous-types du virus peuvent entraîner une affection bénigne ou au contraire une affection extrêmement contagieuse et dangereuse qui peut se propager très rapidement.

Les virus influenza ont la capacité de modifier constamment leurs gènes. Ce processus s'appelle **mutation** et peut s'effectuer de deux façons :

- un gène entier d'un sous-type peut se transformer en un autre sous-type;
- un gène existant peut se modifier à l'intérieur d'un sous-type.

Ce sont ces gènes qui détermineront si le virus causera une infection bénigne ou, au contraire mortelle, chez la personne ou l'animal infecté. Le virus aviaire qui infecte les oiseaux peut se présenter sous au moins 15 sous-types différents et, en général, il n'affecte que la population des oiseaux. Le sous-type le plus dangereux est le H5N1.

Lorsque le virus est détecté parmi les humains, on dit que le virus a franchi la barrière des espèces. Cela signifie que le virus a subi une mutation telle, qu'il peut maintenant causer la maladie chez l'humain. Étant donné que les humains n'ont pas de protection naturelle ou d'immunité contre le virus, ils ont toutes les probabilités de devenir très rapidement malades et même de mourir à la suite des complications de la grippe aviair (MediResource Inc. 1996 – 2021)

- **pathogénicité :influenza aviaire hautement pathogéne et Influenza aviaire faiblement pathogène :**

Les sous-types AIV sont classés en fonction de leur pathogénicité inhérente, à savoir influenza aviaire hautement pathogène (IAHP), comme l'IAHP H5N2, et influenza aviaire faiblement pathogène (IAFP), comme le LPAI H4N6. Cette pathogénicité repose sur comportement dans la volaille domestique, de sorte que l'infection IAHP provoque généralement des maladies graves et mort, mais les signes cliniques de l'IAFP vont de l'espèce infectée, l'âge et la souche du virus. Il convient de noter qu'il est possible pour avoir des souches avec la même nomenclature; par exemple, à la fois LPAI et HPAI. Des souches de H5N2 ont été identifiées. Il incombe aux chercheurs, aux cliniciens et aux étudiants comprendre l'importance d'identifier la sauvagine et certain oiseaux de rivage ont les hôtes naturales de l'IAFP, ce qui est normal infection commensale de la sauvagine, le plus souvent des oiseaux juvéniles. Les sous-types de l'IAFP englobent la gamme complète des AH (1 à 16) et des AN (1 à 9). Occasionnellement, les souches d'IAFP se répandent provenant du compartiment de la sauvagine et infectent les volailles terrestres, comme les poulets ou dindons. De tels événements entraînent généralement une infection légère ou asymptomatique et peuvent être de peu ou pas de conséquences cliniques. Cependant Les IPA des sous-types H5 et H7 sont sujets à la mutation chez les volailles terrestres et susceptibles de devenir souches hautement pathogènes . L'axiome est que tous les virus de l'IAHP actuellement connus sont limités aux sous-types H5 et H7 (bien que tous les H5 et H7 ne soient pas hautement pathogènes; en fait, la plupart sont des IAFP virus de l'IAHP peuvent causer une mortalité élevée des troupeaux, jusqu'à Le sous-type H5 ou H7 est détecté chez la volaille, on l'appelle souvent « aviaire à déclaration obligatoire « influenza» en raison de cette possibilité d'évoluer vers une forme plus les détections doivent être signalées aux autorités réglementaires fédérales et de l'État, qui peut prendre les mesures nécessaires pour prévenir la propagation de la maladie.

Les volailles commerciales aux États-Unis font l'objet d'une surveillance rigoureuse pour les IAFP/IAHP à déclaration obligatoire; l'infection est habituellement détectée par sérologie de routine surveillance des infections subcliniques ou des maladies cliniques et des pertes de production (p. ex.,perte de poids et léthargie chez les poulets à griller et les dindons, réduction de la production d'œufs en pondeuses,des troupeaux commerciaux affichant des signes clinique scohérents avec AIV peut être immédiatement dépeuplé pour prévenir la propagation. LPAI est le plus souvent détectés par la sérosurveillance de routine, et même si le virus peut être détecté par réaction en chaîne de la polymérase (PCR) selon le moment de l'infection —

c'est souvent impossible d'isoler le virus. Avec l'IAHP, les oiseaux meurent souvent avant les anticorps peut être généré; par conséquent, le diagnostic est souvent par PCR, l'isolement du virus et l'antigènetests de capture L'infection par l'IAFP des volailles terrestres est en grande partie confinée aux voies respiratoires, sauf siexacerbée; chez la sauvagine, elle est largement subclinique et confinée aux intestins12.Ce tropisme tissulaire résulte de la présence d'enzymes spécifiques à l'HA pour fendre la protéine hémagglutinine (une étape essentielle pour l'infection virale de la cellule) après fixation à la cellule dans le tractus intestinal ou respiratoire aviaire. Comme mentionné à plus tôt, un important tropisme cellulaire et de pathogénicité déterminant des AIV est le séquence et les types d'acides aminés associés au site de clivage HA. Si un seul l'acide aminé de base est stratégiquement situé au point de clivage dans l'AH cela restreint l'enzyme ou les enzymes (et par conséquent les types de cellules) qui peuvent se fendre avec succès la protéine HA pour permettre la fusion avec la membrane de la cellule hôte et cycle de réplication. Les virus IAFP possèdent un seul acide aminé de base au point de clivage à l'intérieur de leur protéine HA; cela ne permet l'action que par des enzymes trouvées dans l'intestin de la sauvagine. En revanche, les virus de l'IAHP ont de multiples acides aminés de base situés dans la région de clivage, ce qui permet une gamme d'enzymes de plusieurs types de cellules pour Par conséquent, les virus de l'IAHP sont de nature systémique et peut infecter plusieurs systèmes organiques, alors que les virus de l'IAFP sont limités à un seul organe systèmes Pour répondre à la définition réglementaire de l'IAHP , l'HA virale doit d'abord être séquencée pour déterminer la composition de la région de clivage. Si plusieurs acides aminés de base sont détecté dans cette région, le virus par définition est considéré comme IAHP de sa manifestation clinique. La plupart des virus de l'IAHP sont en effet hautement pathogènes, mais certains peuvent avoir un comportement subclinique selon l'espèce et les caractéristiques inhérentes du virus. (josanne H et all 2011)

V. physiopathologie :

1. Réponse immunitaire :

L'immunité à médiation cellulaire (ICM) est antigène spécifique. immunité médiée par les lymphocytes T et a été. suggéré d'être un facteur important pour le développement. de la protection chez les poulets vaccinés contre les virus. Maladies(Sharma JM). Les sous-ensembles de lymphocytes T : CD4 . les cellules auxiliaires et les cellules cytotoxiques CD8 constituent les. principales cellules de la réponse CMI. Pour la grippe,. Les CTL CD8 jouent un rôle crucial dans le contrôle des virus infectieux provenant des poumons des souris (

Brincks EL, et al) (Topham DJ, Tripp RA, et al). Un certain nombre des études récentes ont fourni des preuves que CMI a dirigé. contre les épitopes viraux conservés parmi les virus de la grippe A. tels que ceux de la nucléoprotéine (NP). et l'hémagglutinine (HA), peuvent contribuer à la protection contre la grippe (Haghighi HR, et al) (Singh S, et al). En fait, le virus de la grippe propre à l'AN. Les CTL générés par la vaccination ou introduits. par le transfert adoptif améliorent la clairance virale et. mener à la récupération de l'hôte et à la protection contre la mort (Ada GL, Jones PD). Les objectifs de cette étude étaient de déterminer le. niveau de CMI réactive croisée contre des isolats homologues et. hétérologues de IAFP.

a.Virus

Virus de l'IA faiblement pathogènes du H9N2 (A/Chicken/NJ/12220/97) et sous type H7N2 (A/turquie/Virginia/4259/02) ont été propagées dans les cavités allantoïques de 9-11 jour de l'embryon SPF œufs de poulet. Titres viraux ont été déterminé comme décrit précédemment (Swayne DE , et al).

b. Infection à H9N2 :

Des poulets de deux semaines (6 par groupe) ont été vaccinés via la route intranasale avec 107 EID50 de H9N2 AI inoculum du virus ou de la peau dans un volume de 0,2 ml (1/2 de chaque nare) à l'âge de 2 semaines. Le poulet était surveillé quotidiennement.

pour les signes cliniques de la maladie et la perte de poids surveillée à 2, 4 et 7 jours après l'inoculation (p.i.) suivant H9N2 infection primaire. Le poids moyen a été comparé par ANOVA utilisant le test Tukey (SigmaStat).

c.Lyse CTL des cellules cibles :

Des lymphocytes spléniques ont été prélevés chez des personnes infectées par B2/B2 et contrôler les poulets, trois par poule, 10 jours après l'infection comme décrit précédemment(Kapczynski DR) . Poumon apparié CSM cellules ont été obtenues comme décrit précédemment et utilisées comme cellules cibles pour l'essai CTL (Seo SH, Webster RG) . Les cellules pulmonaires avec H9N2 ou H7N2 AI à un MOI de 2 pour 16 heures avant le test. L'activité de CTL a été l'essai non radioactif CytoTox96 (Promega) avec Pourcentage de cellules lysées déterminé par la détection du lactate cytosolique déshydrogénase dans les surnageants provenant du contrôle et cellules cibles infectées.

d.Prolifération :

La prolifération des lymphocytes comme mesure de la mémoire cellulaire a été réalisée avec almarBlue™ (Invitrogen) décrit précédement , en utilisant H9N2inactivé par BPL (5µg /ml) ou H7N2 (5 µg/ml) (Kapczynski DR). Le mitogène de la cellule T, la concanavaline A (5 µg/ml) a été utilisé comme témoin positif.

VI. Epidémiologie :

1. Le virus de l'influenza aviaire faiblment pathogène :

a. Variation antigénique de l' influenza aviaire faiblement pathogène :

virus chez les oiseaux sauvages Les virus de l'influenza aviaire faiblement pathogènes peuvent être classés sur la base des propriétés antigéniques de deux glycoprotéines exprimé à la surface des particules virales: hémagglutinine (HA) et neuraminidase (NA). En milieu sauvage oiseaux du monde entier, IAFP représentant 16 HA (H1 à H16) et 9 NA (N1 à N9) ont des sous-types antigéniques ont été détectés, et ceux-ci sont trouvés dans la majorité des combinaisons possibles (également appelées sous-types, p. ex., H1N1, H16N3) (Fouchier R.A., Munster V..,et al.,2005) (World Health Organization (WHO) (1980)). La plupart des sous-types été trouvé dans le monde entier, bien que certains (p. ex., H14, H15) ne semblent être détectés que rarement, ou seulement dans des zones particulières (Kawaoka Y., Yamnikova S., Chambers T.M.,et al., (1990)) (Krauss S., Walker D., Pryor S.P.,et al ., (2004)) (Rohm C., Zhou N.,et al.,.(1996)).

La plupart des combinaisons de L'HA et l'AN ont été détectées chez les oiseaux sauvages, bien que certains sont relativement rares; par exemple, le sous-type H8 est détectés sporadiquement et principalement en combinaison N4 (Krauss S., Walker D., Pryor S.P.,et al ., (2004)) (Munster V.J., Baas C,. et al. (2007).

Les sous-types antigéniques étaient classés sur la base de tests de double immunodiffusion avec des sérumes animaux hyperimmunisés (World Health Organization (WHO) (1980)) mais d'autres tests tels comme le test d'inhibition de l'hémagglutination et Un essai d'inhibition de la neuraminidase peut être utilisé pour la caractérisation antigénique de routine du IAFP(European Union (EU) (2006)), (Webster R.G., Cox N. & .,et al. (2002)),(World Organisation for Animal Health (OIE) (2005)). Aujourd'hui, plusieurs laboratoires s'appuient sur tests de diagnostic et de séquençage pour déterminer IAFP sous-types (European Union (EU) (2006)), (Hoffmann E., Stech J.,et al., (2001))(Spackman E. & Suarez D.L. (2008)),(Tsukamoto K.,

Ashizawa H., Nakanishi K.,et al., (2008)) ,(Webster R.G., Cox N.,et al (2002)),(World Organisation for Animal Health (OIE) (2005)).

b.Variation génétique de l'influenza aviaire faiblement pathogène :

virus chez les oiseaux sauvagesGénétiquement, le IAFP peut être divisé en deux lignées, les lignées de virus eurasiens et américains. C'est probablement le résultat à long terme écologique et géographique la séparation des oiseaux sauvages, et donc des virus, du les hémisphères de l'Est et de l'Ouest (Schafer J.R., Kawaoka Y.,et al (1993)) (Suarez D.L, Perdue M.L. (1998)). huit segments de gènes du IAFP, cette distinction entre On peut faire des lignées eurasienne et américaine (Dugan V.G., Chen R.,*et al.* (2008)), (Krauss S., Obert C.A.,*et al.* (2007)),(Obenauer J.C., Denson J., *et al.* (2006)). Cependant, les populations d'oiseaux d'Amérique du Nord et d'Eurasie ne sont pas complètement séparés; plusieur les espèces d'oiseaux de rivage se croisent entre les hémisphères pendant migration ou aires de reproduction qui comprennent les deux Russie et nord-ouest de l'Amérique du Nord (Del Hoyo J., Elliot A.,et al. (1996)). La plupart espèces d'oiseaux de rivage avec des aires de reproduction dans le Far russe est l'hiver en Asie du Sud-Est et en Australie, mais certains les espèces hivernent le long de la côte ouest des Amériques. De même, la plupart des espèces ayant des aires de reproduction en Alaska hiver dans les Amériques, mais certains peuvent hiverner en Asie(Gill R.E., Butler R.W., et al (1994)) (Winker K., McCracken K.G., *et al.* (2007)). Le chevauchement dans la répartition des profonde comme celle des oiseaux de rivage, mais des espèces comme Le Canard pilet (Anas acuta) est commun dans les deux régions du Nord l'Amérique et l'Eurasie (Del Hoyo J., Elliot A.,et al. (1996)) et pourrait également pont intercontinental pour IAFP. En effet, IAFP mélange de gènes des lignées américaine et eurasienne ont été isolés, ce qui indique que la spéciation allopatrice est seulment partiel(Kishida N., Sakoda Y., et al(2008)), (Krauss S., Obert C.A., et al. (2007)),(Liu J.H., Okazaki K.,(2004)), (Makarova N.V., Kaverin N.V., (1999)),(Wahlgren J., Waldenstrom J. et al(2008)),

(Wallensten A., Munster V.J., (2005)) ,Néanmoins le détection de IAFP avec des gènes de la lignée américaine dans L'Eurasie et vice versa est encore un phénomène relativement rare, et l'isolement géographique partiel des hôtes du IAFP semble suffisant pour faciliter l'évolution divergente de pools de gènes (Dugan V.G., Chen R., et al. (2008)) (Krauss S., Obert C.A., et al. (2007)) (Obenauer J.C., Denson J.,. et al. (2006)).

c.Réattribution du génome :

La nature segmentée du génome du virus de la grippe permet l'évolution par un processus connu sous le nom de génétique réassortiment, le mélange de gènes de deux ou plusieurs virus de la grippe. Des études récentes indiquent que « sublineages » ne persistent pas, mais sont fréquemment réassignés avec d'autres virus(Hatchette T.F., Walker D.,)(2004)) (Macken C.A., Webby R.J.,et al. (2006)). Par conséquent, les sous-types n'ont pas nécessairement la même constitution génétique, même au cours d'une seule année ou d'une seule espèce hôte. prévalence de la LPAIV chez certaines espèces d'oiseaux sauvages et détection d'infections concomitantes chez des oiseaux individuels (Dugan V.G., Chen R., *et al.* (2008)), (Sharp G.B., Kawaoka Y.,et al (1997)) appuient la notion selon laquelle le réassortissement se produit fréquemment dans la nature. Les projets en cours de séquençage complet du genome(Nguyen D.C., Uyeki T.M.,et al*et al.* (2005)). commencent à fournir des renseignements sur la fréquence dans le réservoir d'oiseaux sauvages. Une analyse de 167 génomes de virus complets ont révélé une proportion élevée de sous-types mixtes. De plus, les taux élevés de réassignation ont été signalés, conduisant à la conclusion que Les IAFP ont des « constellations génomiques » transitoires (Dugan V.G., Chen R., et al. (2008)).

2.La transsmision d'influenza aviaire faiblement pathogéne :

De nombreux facteurs peuvent contribuer à la propagation des virus de l'IA notamment la mondialisation et les échanges commerciaux internationaux (légaux et illégaux), les pratiques de commercialisation (marchés aux oiseaux vivants), les pratiques d'élevage ainsi que la présence des virus chez les oiseaux sauvages. Les oiseaux sauvages peuvent normalement être porteurs des virus de l'infl uenza aviaire dans leur système respiratoire ou intestinal sans généralement présenter les signes de la maladie. Les oiseaux sauvages sont connus pour être des réservoirs de virus de l'IA, pour la plupart faiblement pathogènes (Anonyme2020)

Persistance et survie des virus Influenza Les virus de la forme IAFP se transmettent donc essentiellement par voie oro-fécale (Swayne and Suarez 2000). Ces virus Influenza sont résistants dans le milieu extérieur sous certaines conditions d'humidité et de température

(Lowen, Mubareka et al. 2007). Il a été démontré que ces virus restent infectieux dans l'eau des étangs pour des durées pouvant aller jusqu'à quatre jours pour une température de 22°C et jusqu'à 30 jours pour une température de 0°C (Webster, Yakhno et al. 1978). Les niveaux de prévalence élevés décrits dans les populationsd'oiseaux d'eau laissent à penser que l'eau de surface de ces étangs pourrait jouer un rôle non négligeable dans la transmission de ces virus.

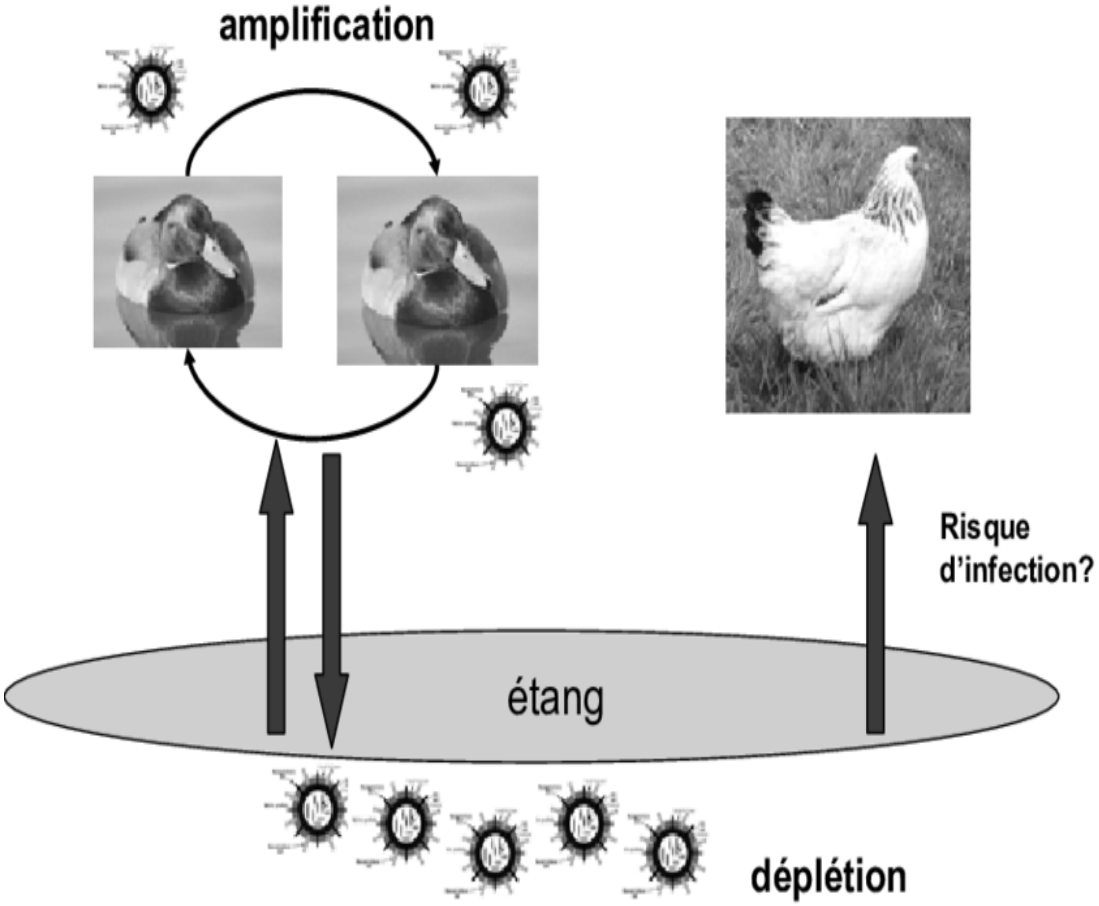


Figure 4: Représentation schématique de l'écosystème et de la problématique étudiée

a. Transmission aux populations cibles :

L'utilisation d'habitats communs entre les populations aviaires sauvages et domestiques accroît le risque d'échange des virus et autres agents pathogènes. Les contacts peuvent être directs ou indirects. Les élevages de plein air occupent un large nombre d'habitats qui sont aussi utiles aux espèces sauvages. Celles ci peuvent aussi bien être plutôt sédentaires, semi-migratrices ou migratrices sur de très grandes distances. Les espèces qui peuvent constituer le lien pour les virus entre l'avifaune sauvage et domestique doivent présenter les

caractéristiques suivantes : elles doivent être sensibles, être capables d'excréter les virus et être fréquemment en contact étroit avec l'avifaune domestique (ou l'homme).

1. Le contact peut être direct :

Les espèces concernées seront celles qui se nourrissent ou nichent dans les même biotopes que les espèces domestiques, par exemple les moineaux, corbeaux et corneilles, pigeons, canards et hérons. Des études dans le Sud Est Asiatique ont montré que la présence de canards sauvages retrouvés dans les rizières augmentait l'incidence de la maladie dans les élevages de poulets aux alentours (Chen, Smith et al. 2005).

2.Le contact peut aussi être indirect :

Notamment, l'approvisionnement en eau des élevages est un point clé dans la transmission indirecte des virus de la population sauvage à la population domestique. De même, la nourriture stockée dans un bâtiment annexe de l'élevage reste parfois accessible à l'avifaune sauvage et devient de ce fait source de contamination pour les virus Influenza. Enfin tout le matériel zootechnique des élevages peut aussi être une source de contamination pour l'avifaune domestique.

VII. Les signes cliniques :

Les signes cliniques sont peu **spécifiques** et par exemple proches de ceux de la maladie de Newcastle. Si l'infection n'est pas totalement asymptomatique, dans le cas d'une influenza « faiblement pathogène », avec des variantes selon la souche virale et le degré de résistance immunitaire des oiseaux infectés :

- Parfois, aucun signe clinique
- Éternuements
- Toux
- Écoulements nasaux et oculaires
- OEdème autour des yeux
- Diminution de la production (pondeuses)

1.Singes clinique chez les poulet :

Chez les galiformes ,on peut noter des signe cutané(oedéme ,congestion voire hémorragie puis nécrose au niveeau de la crete,des barbillons et des pattes ,des symptomes respiratoire rales ,toux,jetage,sinusite (jeanne Brugére-picoux 2006)

2. Signes clinique chez les oiseaux :

La virulence de la souche dépend de l'hémagglutinine, selon les acides aminés présents au niveau du site de clivage. Jusqu"à présent, seuls deux sous types ont généré par mutation dans la région du site de clivage des souches hautement pathogènes pour les volailles: H5 et H7.

On peut aussi définir une souche hautement pathogène par son indice de pathogénie après inoculation intraveineuse du virus qui sera supérieur à 1.2 (OIE, 2015).

Lorsqu'une volaille domestique est infectée par un virus Influenza aviaire faiblement pathogène, elle peut répondre de différentes façons. Soit la réponse immunitaire de l'hôte répond efficacement à l'infection et permet l'élimination du virus, soit il y a un échappement à la réponse immunitaire et une adaptation à l'hôte par réassortiment lors de co-infections ou par glissement antigénique. Dans le cas des virus H5 et H7, les mutations successives peuvent entrainer l'apparition de souches hautement pathogènes (OIE, 2016).

- Souches faiblement pathogènes :

On observe une infection sub-clinique à modérée. Les poulets présentent des signes respiratoires, entériques et reproductifs bénins (OIE, 2016). On note

-une réduction de l'activité, de l'appétit et de la consommation d'eau,

-une diminution de la production et de la qualité des oeufs.

-Les signes respiratoires se manifestent par de la toux

- des éternuements et du jetage.

- Ils peuvent aussi avoir de la diarrhée

- des signes neurologiques (tremblements).

Les gibiers (faisans, cailles) peuvent présenter les mêmes symptômes ou une forme asymptomatique de la maladie. De la même façon, les canards présentent des formes le plus souvent sub-cliniques, avec parfois une sinusite.

3.Signes cliniques chez l'avifaune sauvage :

L'infection a été confirmée chez au moins 105 espèces (Śmietanka et al., 2012). Elle est particulièrement commune chez les oiseaux de l'ordre des Ansériformes (canards, oies,cygnes), des Charadriiformes et dans une moindre mesure des Passériformes (OIE ,2016 ; Caron et al., 2014 ; Alexander, 2000 ;Causey, Edwards, 2008).

- Souches faiblement pathogènes :

La majorité des oiseaux sauvages ne présentent pas de signes cliniques suite à l'infection (Śmietanka et al., 2012). Il a parfois été observé une diminution des capacités de recherche de nourriture et de migration.

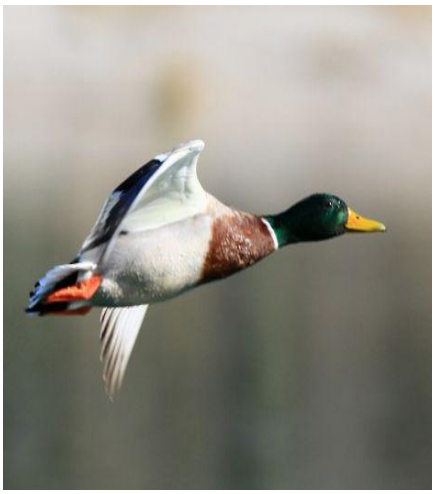




Figure 5: l'avifaune sauvage(anon2021)

4.Signe clinique chez Dindes (Meleagris gallopavo) :

Les dindes sont extrêmement sensibles à l'IA. Les signes cliniques révèlent des lésions importantes sur les organes respiratoire, digestif, urinaire et reproducteur. Au _ l des années, aussi bien dans l'hémisphère occidental qu'oriental, les dindes ont été affectées par divers sous-types, principalement les sous-types H1, H5, H7, H6 et H9.

Chez les dindes de chair, la gravité des constatations cliniques et *post-mortem* peut varier de manière signi_ cative, avec une mortalité pouvant atteindre plus de 90 %. Cette variabilité peut être liée à l'âge des oiseaux atteints et aux facteurs environnementaux tels que les conditions d'hygiène de l'exploitation, la qualité de l'air et de la ventilation,la température ambiante et la présence d'autres agents infectieux. L'état clinique et la mortalité semblent être aggravés lorsque le troupeau est simultanément infecté par *Mycoplasma* spp. ou lorsque des bactéries telles que *Riemerella anatipestifer, Pasteurella multocida* ou *Escherichia coli* sont responsables d'infections secondaires. De la même façon, le taux de mortalité peut être augmenté par la présence d'infections secondaires ou contemporaines provoquées par des pathogènes tels que le virus de l'entérite hémorragique (HEV), le paramyxovirus aviaire de

type 2 (APMV2), les virus vaccinaux de la maladie de Newcastle (MN), les adénovirus pneumovirus aviaires et les réovirus. La gravité des signes cliniques ainsi que la capacité de récupération sont toutes deux liées à l'âge. En général, les signes cliniques sévères régressent chez les oiseaux de plus de 40 jours et la plupart des oiseaux atteints guérissent en l'espace d'une semaine, à compter du début de la maladie. Chez les oiseaux de moins de 40 jours, l'état clinique évolue souvent en un syndrome respiratoire plus grave et peut être associé à une mortalité supérieure à 20 %. Dans certains cas, les oiseaux survivants peuvent demeurer émaciés et n'atteignent pas un poids optimal.L'apparition des signes cliniques est généralement associée à une dépression, un plumage ébouriffé (Fig. 6.1), une apathie et une absence de glougloutounements à l'intérieur de la batterie d'élevage. Les oiseaux sont immobiles et les plus jeunes se regroupent sous les lampes de chauffage.

La consommation de nourriture décroît rapidement et des signes cliniques respiratoires apparaissent peu après. Ces signes cliniques commencent par une détresse respiratoire caractérisée tout d'abord par des râles et des crépitements et qui se transforme ensuite en dyspnée sévère accompagnée de gon_ ement des sinus sous-orbitaires (Fig. 6.2) et de conjonctivite (Fig. 6.3). Dans certains cas, l'atteinte respiratoire peut s'aggraver au point d'entraîner une rupture des sacs aériens et un emphysème cutané (Fig. 6.4).

Chez les jeunes oiseaux, une diarrhée verdâtre ou jaunâtre peut apparaître avec présence d'aliments non digérés dans les matières fécales. Cet état est généralement associé à une mortalité plus élevée, une récupération plus difficile et une prise de poids médiocre. Les dindes reproductrices sexuellement matures présentent souvent des formes plus bénignes du syndrome(Ilaria Capua et Calogero Terregino).



Figure 6 : Dindes âgées de 28 jours, infectées naturellement par le virus influenza aviaire faiblement pathogène (IAFP) H7N1 et se trouvant en phase aiguë de la maladie. Les oiseaux atteints sont abattus et présentent un plumage ébouriffé et une conjonctivite.(I. Capua et C. Terregino2013).

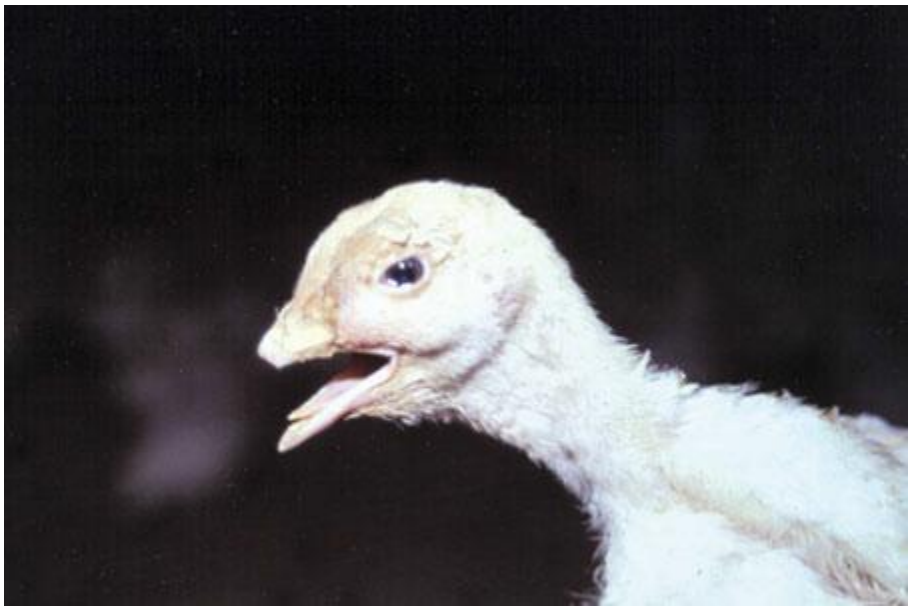


Figure 7: Dindonneau âgé de 28 jours, infecté naturellement par IAFP H7N1 et présentant une conjonctivite sévère et un gonflement des sinus sous-orbitaires. (I. Capua et C. Terregino2013).



Figure 8 :Dinde infectée expérimentalement par IAFP H7N3 et présentant une conjonctivite et un gon_ ement des sinus sous-orbitaires. (I. Capua et C. Terregino2013).



Figure 9: Dindonneaux âgés de 28 jours, infectés naturellement par IAFP H7N1 et présentant une attitude prostrée. L'emphysème sous-cutané se manifeste par une peau ballonnée au niveau de la tête. (I. Capua et C. Terregino2013).

Chapitre II

Diagnostic et prophylaxie

I. Diagnostic :

Moyens diagnostiques :

Les signes cliniques dus à une infection par le virus de l'Influenza aviaire ne sont pas pathognomoniques. C'est pourquoi, le diagnostic passe nécessairement par la détection du virus en laboratoire. Plusieurs moyens diagnostiques sont à disposition, notamment l'isolement viral et la RT-PCR en temps réel (Reverse Transcriptase Polymerase Chain Reaction) (OIE, 2015).

a) Choix des échantillons :

Sur les oiseaux vivants, les prélèvements de choix sont les écouvillons cloacaux et oropharyngés. Lorsque les prélèvements par écouvillons sont difficiles à réaliser, il est possible de récupérer des fientes fraiches. Sur les oiseaux morts, on peut aussi réaliser des écouvillons sur différents organes (trachée, poumons, sacs aériens, intestins, rate, reins,cerveau, foie, coeur). L'analyse des échantillons peut ensuite se faire en pools ou séparément(OIE, 2015).

b) Isolement du virus :

Il s'agit du gold standard en terme de test diagnostique, bien que la méthode soit chronophage. On inocule le produit à tester dans le sac allantoïque de trois à cinq oeufs de poules embryonnés de trois à onze jours. On réalise ensuite une incubation à 37°C pendant deux à sept jours. Le fluide allantoïque est ensuite récupéré et testé pour l'activité d'hémagglutination. Cette activité peut être due à un virus Influenza A mais aussi à un Paramyxovirus, c'est pourquoi on utilise souvent la RT-PCR afin de confirmer l'infection par le virus de l'Influenza aviaire, et de déterminer le sous-type. On peut aussi identifier le soustype avec des tests d'inhibition de l'hémagglutination (OIE, 2015).

L'OIE défini le pouvoir pathogénique d'un virus Influenza aviaire selon trois moyens diagnostiques :

- Une suspension de fluide allantoïque infectée et diluée au dixième est inoculée par voie intraveineuse chez huit poulets de 4 à 8 semaines. Le virus est considéré comme hautement pathogène s'il est létal pour six à huit poulets, au bout de dix jours d'incubation.
- Un virus est hautement pathogène si l'index de pathogénie est supérieur à 1.2. Pour le calculer, une suspension de fluide allantoïque infectée et diluée au dixième est inoculée par voie intraveineuse à dix poulets âgés de six semaines. Les poulets sont examinés toutes les 24 heures pendant dix jours et à chaque observation ils sont scorés entre 0 et 3 (0 : absence de signe clinique ; 1 : signes cliniques modérés ; 2 : signes cliniques sévères ; 3 : mort). L'index

est la moyenne des scores par oiseau et par observation sur les dix jours Tous les virus H5 et H7 peuvent être considérés comme hautement pathogènes si la séquence en acides aminés de l'hémagglutinine est similaire à celle des virus connus comme étant hautement pathogènes. La détermination de la séquence du site de clivage est devenue la méthode de choix pour connaitre le pouvoir pathogénique d'un virus Influenza A. Les virus hautement pathogènes présentent de multiples acides aminés basiques au niveau du site de clivage alors que les virus faiblement pathogènes n'en présentent qu'un en première positionet un en troisième ou quatrième position (Li et al., 2017).

c) Méthodes moléculaires :

La RT-PCR en temps réel permet d'identifier rapidement l'ARN viral. C'est une méthode très sensible mais il faut faire attention aux risques de contaminations croisées entre les échantillons à tester. La sensibilité et la spécificité de la RT-PCR en temps réel sont similaires à celles de l'isolement viral, à partir des écouvillons trachéaux et oropharyngés. Par contre, la sensibilité est plus faible lorsque les échantillons sont des écouvillons cloacaux, des fèces ou des organes du fait de la présence d'inhibiteurs de la PCR, induisant des faux négatifs. Il est possible d'identifier le sous-type viral par PCR en utilisant des amorces spécifiques, en séquençant les produits d'amplification (OIE, 2015).

d) Test sérologique :

Il s'agit de tests ELISA ou de test d'inhibition de l'hémagglutination (IHA)

La technique d'ELISA :

1.Définition :

ELISA est le sigle anglais pour Enzyme Linked Immuno Sorbent Assay. Ce terme regroupe les tests utilisant un marqueur enzymatique lié de façon covalente à un anticorps ou à unantigène. A partir d'un substrat chromogène, incolore, spécifique de l'enzyme couplée, celle-ci est capable de catalyser une réaction générant un produit coloré. La densité optique (DO)est proportionnelle à la quantité de substrat ayant réagi.(Baco, 2011)

2.Histoire :

La technique d'ELISA a été conceptualisée et développée par deux scientifiques suédois, **Peter Perlmann** (investigateur principal) et **Eva Engvall** à l'Université de Stockholm en **1971**.

A la fin des années 60, **Stratis Avrameas** et **GB Pierce** mettent au point la technique d'immunoenzymologie, technique d'analyse par réaction entre antigènes et anticorps et utilisant comme marqueur des enzymes.

3.Principe du test ELISA

La technique ELISA est une technique **immuno-enzymatique** de détection qui permet de visualiser une réaction antigène-anticorps grâce à une réaction colorée produite par l'action sur un substrat d'une enzyme préalablement fixée à l'anticorps. (Anonyme 2020)

a. Le test ELISA indirect :

Ce test permet de détecter ou doser des anticorps .

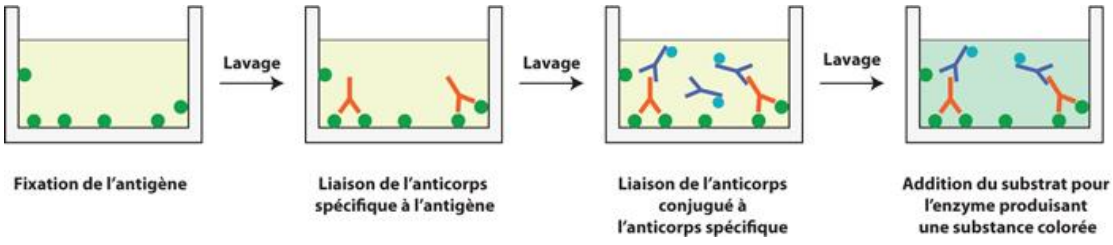
Le test comporte quatre étapes principales :

- **Fixation de l'antigène :** L'antigène connu, spécifique à l'anticorps recherché, est incubé sur une plaque de microtitration. L'antigène va se fixer de manière électrostatique au fond des puits. Ils sont ensuite lavés pour enlever les antigènes non fixés.>

- **Fixation de l'anticorps à doser :** On incube notre échantillon à doser (sérum contenant l'anticorps), ainsi que nos standards (solution contenant des concentrations connues d'anticorps). Les anticorps spécifiques vont se fixer aux antigènes. Un lavage des puits est nécessaire pour enlever les anticorps non fixés.

- **Fixation de l'anticorps de détection :** On incube ensuite un anticorps secondaire couplé à une peroxydase. C'est un anti IgG qui va donc reconnaître l'anticorps primaire. Un lavage des puits est nécessaire pour enlever les anticorps secondaires non fixés.

1. **Révélation :** On incube un substrat spécifique à l'enzyme qui, si la réaction est positive (présence de l'anticorps recherché), va être transformé et induire une coloration bleue. L'intensité de la coloration est proportionnelle à la quantité d'enzyme présente et donc à la concentration d'anticorps recherchés



Dans cette expérience, les anticorps à titrer sont des IgG anti-BSA. L'antigène sera donc la BSA (albumine de sérum bovin). L'enzyme conjugée à l'anticorps secondaire est une peroxydase.

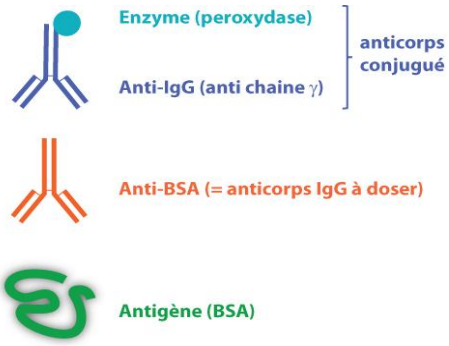


Figure 10 :principe du test Elisa indirect (Zuchuat, 2014)

❖ **Pyroxydase :**

La peroxydase est une enzyme de type oxydase, permettant la dégradation des peroxydes. L'oxydation de divers substrats permet d'obtenir un composé chromogénique comme produit final.(Zuchuat, 2014)

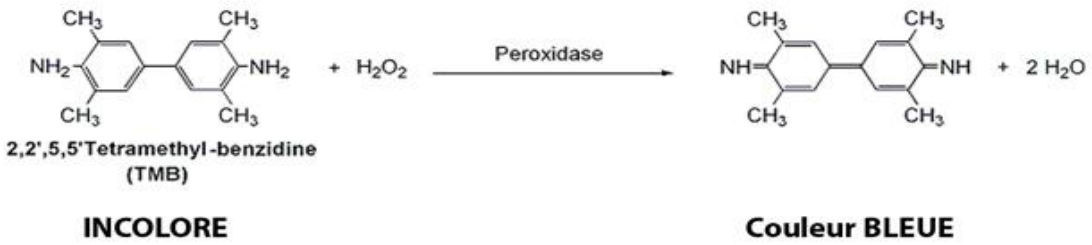


Figure 11 : Mécanisme d'oxydation du substrat en un composé chromogénique par l'enzyme (peroxydase) (Zuchuat, 2014)

- **Les avantages et les incovénients de l'ELISA indirect :**
  - Les avantages :

- **Flexibilité** : l'anticorps secondaire peut être utilisé à condition qu'il corresponde à l'espèce hôte de l'anticorps primaire et qu'une grande variété d'anticorps secondaires marqués soit disponible dans le commerce .
- **Sensibilité** : plus d'un anticorps marqué peut se lier à l'anticorps primaire car chaque anticorps primaire contient plusieurs épitopes
- **Immunoréactivité maximale** : aucun marqueur n'interfère avec les sites de l'anticorps primaire
- **Économique** : moins d'anticorps marqués sont nécessaire .

  - Les incovénients :

Flux de travail plus complexe : une étape d'incubation supplémentaire est nécessaire pour l'anticorps secondaire.

Potentiel de réactivité croisée : signal non spécifique dû à une réactivité croisée avec l'anticorps secondaire. (berthold.com)

b. Le test ELISA direct :

L'ELISA direct est généralement utilisé pour analyser une réponse immunitaire à un antigène, par exemple pour la coloration immunohistochimique de cellules ou de tissus. Cette méthode ELISA nécessite un antigène déposé sur une plaque à puits multiples. Pour la détection, on utilise un anticorps directement conjugué à une enzyme. Le déroulement de cette méthode est relativement simple et ne nécessite que quelques étapes

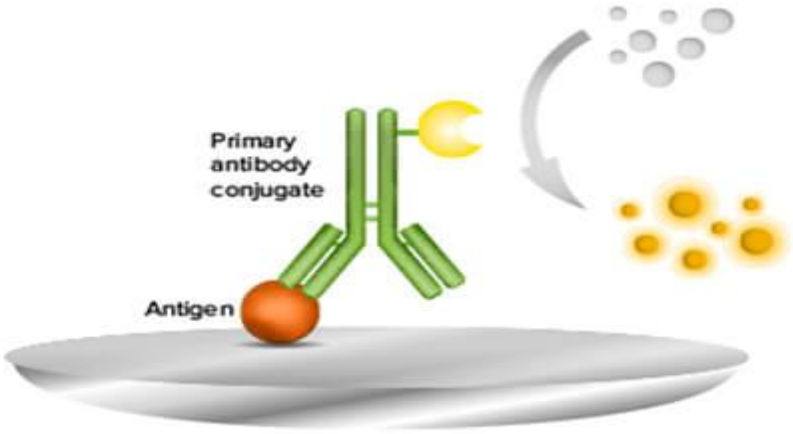


Figure 12: principe du test Elisa idirect (berthold.com)

- **Les avantages et les incovénients de l'ELISA direct :**
  - Les avantages :

- Simple et rapide : un seul anticorps nécessaire et un procédé en quelques étapes seulement
- Moins de possibilités d'erreurs : nombre relativement faible d'étapes de pipetage par rapport aux autres méthodes ELISA et, en raison de la nécessité d'un seul anticorps, pas de risque de réactivité croisée des anticorps

  - les incovénients :

- **Sensibilité limitée** :pas d'étape d'amplification du signal
- **La mise au point du test prend du temps** :chaque cible de test nécessite un anticorps primaire conjugué spécifique, ce qui rend le test relativement coûteux
- **Risque de réactivité limitée de l'anticorps** :la fixation de l'enzyme à l'anticorps peut limiter la disponibilité spatiale des sites sur l'anticorps qui devraient se fixer à l'antigène (berthold.com) .

c. Sandwich ELISA :

Le test en sandwich, comme son nom l'indique, "enveloppe" l'analyte d'intérêt entre les anticorps primaires et secondaires des deux côtés . Cette stratégie offre un meilleur contrôle de la spécificité du test car la première biomolécule immobilisée (anticorps primaire) peut être hautement purifiée. Néanmoins, si l'analyte en question n'interagit pas avec l'anticorps primaire, l'anticorps secondaire a une chance de se coupler à l'anticorps primaire et de produisent un signal faux positif (Hosseini, et al., 2018).

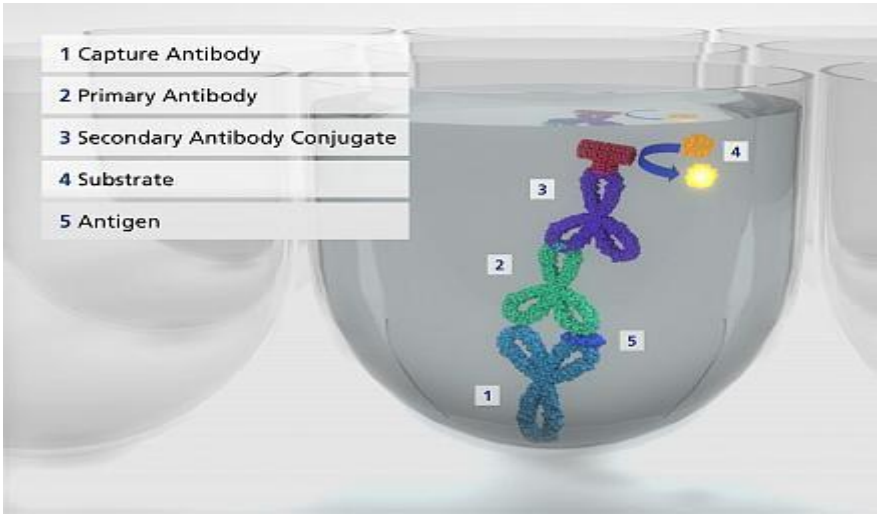


Figure 13 : le principe de sandwich ELISA (Hosseini, et al., 2018)

- **Les avantages et les incovénients de l'ELISA en sandwich**
  - Avantages de l'ELISA en sandwich :
  - **Flexibilité et sensibilité** : des méthodes de détection directes et indirectes peuvent être utilisées
  - **Haute spécificité :** deux anticorps sont utilisés pour détecter l'antigène
  - **Convient aux échantillons complexes :** la purification de l'antigène avant la mesure n'est pas nécessaire
  - Inconvénients de l'ELISA en sandwich :
  - **Flux de travail complexe** :nécessite plus d'étapes d'incubation que les autres types d'ELISA
  - **Nécessite davantage d'optimisation** :la réactivité croisée entre les différents anticorps utilisés doit être vérifiée (berthold.com)

d. ELISA COMPÉTITIF :

La technique utilise une protéine à rechercher immobilisée sur un support plastique et un anticorps spécifique conjugué à une enzyme qui est révélé par l'addition d'un substrat qui se colore

Ce système de révélation est mis en compétition par une mise en présence préalable d'un échantillon à doser avec l'anticorps conjugué ,L'anticorps conjugué est alors bloqué par la protéine recherchée et n'est donc pas révélé sur le support plastique. Ce système fonctionne à l'envers dans le sens où plus il y a de protéine présente moins il y a de coloration (berthold.com)

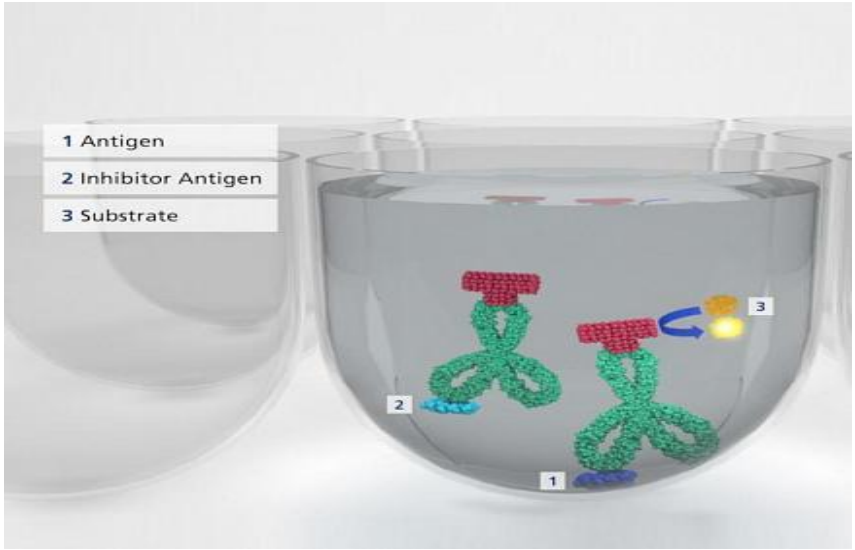


Figure 14 : principe de ELISA COMPÉTITIF. (berthold.com)

- **Les avantages et les incovénients de l'ELISA COMPÉTITIF :**
  - Les avantages :
    - **La plus grande flexibilité :** peut être basée sur le format ELISA direct, indirect ou sandwich
    - **Spécificité maximale** : l'antigène est spécifiquement capturé et détecté
    - **Très robuste** : minimise les effets de la dilution de l'échantillon et les effets de la matrice de l'échantillon
  - les incovénients :
    - **Plutôt long** :protocole très complexe
- Les inconvénients du type de test de détection choisi s'appliquent (berthold.com)

II.Prévention :

Hormis le traitement antiviral, la prise en charge en santé publique comporte l'application de **mesures individuelles de protection** telles que les suivantes:

- Se laver systématiquement les mains et les sécher correctement.
- Respecter une bonne hygiène respiratoire: se couvrir la bouche et le nez lorsque l'on tousse ou éternue, utiliser des mouchoirs en papier et les jeter avec soin.
- Placer en auto isolement précoce les personnes qui ne se sentent pas bien, qui sont fiévreuses et qui présentent d'autres symptômes de la grippe.
- Éviter les contacts proches avec des malades.
- Éviter de se toucher les yeux, le nez ou la bouche.

Les agents de santé exécutant des actes générant des aérosols doivent appliquer les précautions aériennes. Durant les épidémies il faut appliquer les précautions standard contre les gouttelettes et pour éviter le contact, et mettre à disposition et utiliser les équipements de protection individuelle adaptés.

Les voyageurs qui se rendent dans des pays où sévissent des flambées de grippe aviaire et les habitants de ces pays doivent, dans la mesure du possible, éviter de visiter des marchés de volailles vivantes, de pénétrer dans des zones où peuvent s'effectuer des abattages de volailles ou de toucher des surfaces apparemment contaminées par des déjections de volailles ou d'autres animaux. Il faut respecter les bonnes pratiques de sécurité sanitaire des aliments et d'hygiène alimentaire, par exemple se laver les mains à l'eau et au savon. Les voyageurs de

retour de régions affectées doivent prévenir les services de santé locaux en cas de symptômes faisant présumer une infection par un virus grippal zoonotique.

Un traitement prophylactique préexposition ou postexposition par des antiviraux est possible mais dépend de plusieurs facteurs, par ex. des facteurs individuels, le type d'exposition et le risque associé à l'exposition.

a. Potentiel pandémique :

Les pandémies de grippe sont des épidémies qui affectent une grande partie du monde en raison de l'émergence d'un nouveau virus. Elles sont imprévisibles, mais des épisodes récurrents peuvent avoir des conséquences sanitaires, économiques et sociales dans le monde entier. Une pandémie de grippe se produit lorsqu'un nouveau virus grippal apparaît capable de provoquer une transmission interhumaine soutenue et que la population humaine est peu ou pas immunisée contre ce virus. Avec l'essor du commerce mondial et des voyages internationaux, une épidémie localisée peut se transformer rapidement en pandémie, laissant peu de temps pour préparer une riposte de santé publique.

La circulation de certains sous-types de virus aviaires, tels que le A(H5) et le A(H7N9) dans la volaille sont un problème de santé publique car ces virus entraînent en général des manifestations graves chez l'homme et ils ont la capacité de muter et ainsi de se transmettre plus facilement d'une personne à l'autre.

À ce jour, on estime que la transmission interhumaine de ces virus est rare et qu'elle survient en cas de contact très proche et prolongé entre un patient très malade et les personnes qui s'en occupent, par exemple les membres de sa famille, mais qu'il n'y a pas de transmission interhumaine durable.

On ignore si les virus grippaux aviaires et les autres virus grippaux zoonotiques qui circulent actuellement entraîneront une pandémie à l'avenir. Cependant, la diversité des virus grippaux aviaires et des autres virus grippaux zoonotiques qui ont provoqué des infections chez l'homme est inquiétante et il faut renforcer la surveiller des populations animales et humaines, étudier de près chaque cas d'infection chez l'homme et établir une planification sur la base du risque de pandémie.

b. Action de l'OMS

L'OMS, dans son rôle de chef de file sur les questions de santé publique internationale, surveille très étroitement la grippe aviaire et les autres grippes zoonotiques dans le cadre de son système mondial de surveillance de la grippe et de riposte (GISRS).

En collaboration avec l'Organisation mondiale de la santé animale (OIE) et l'Organisation des Nations Unies pour l'alimentation et l'agriculture (FAO), elle effectue la surveillance à l'interface homme-animal, évalue les risques associés et coordonne la réponse aux flambées de grippe zoonotique et aux autres menaces pour la santé publique.

Sur la base des résultats de l'évaluation des risques, l'OMS fournit des orientations, met au point et ajuste des stratégies de surveillance, de préparation et de riposte face à la grippe, saisonnière, zoonotique ou pandémique, et informe les États Membres en temps voulu des résultats des évaluations des risques et des recommandations en matière d'interventions afin de renforcer l'état de préparation et la riposte à l'échelle nationale et mondiale.

III.Traitement :

Les données dont on dispose tendent à prouver que certains **antiviraux**, notamment les inhibiteurs de la neuraminidase (oseltamivir, zanamivir), peuvent réduire la durée de réplication du virus et améliorer les chances de survie. Toutefois, des études complémentaires sont nécessaires. Des cas de résistance à l'oseltamivir ont été rapportés.

- Pour les cas présumés et confirmés, des inhibiteurs de la neuraminidase doivent être prescrits aussi vite que possible (idéalement dans les 48 heures suivant l'apparition des symptômes) pour maximiser les effets thérapeutiques. Toutefois, compte tenu de la forte mortalité actuellement associée à l'infection par les virus des sous-types A(H5) et A(H7N9) et des données indiquant une réplication prolongée du virus dans ces maladies, l'administration de ce médicament doit aussi être envisagée chez les patients qui consultent à un stade plus tardif de l'évolution de la maladie.
- Le traitement est recommandé pour une durée de 5 jours au minimum, toutefois il peut être prolongé jusqu'à ce que l'on observe une amélioration clinique satisfaisante.
- Les corticoïdes ne devraient pas être administrés systématiquement, à moins qu'ils ne soient indiqués pour d'autres raisons (par exemple pour le traitement de l'asthme et d'autres affections spécifiques) car leur utilisation a été associée à une élimination

virale prolongée et à une immunosuppression entrainant une surinfection bactérienne ou fongique.

- Les virus grippaux les plus récents de type A(H5) et A(H7N9) sont **résistants aux antiviraux** appartenant à la classe des adamantanes (par exemple l'amantadine et la rimantadine) dont l'administration par monothérapie n'est donc pas recommandée.

On peut constater chez les patients dans un état critique la présence d'une co-infection par des agents pathogènes bactériens

Partie Expérimentale

I.Objectif :

Notre travail est consacré à une étude séro-épidémiologique de la maladie de l'influenza aviaire faiblement pathogène (H9N2) en élevage de poulet de chair, en utilisant la méthode ELISA et d'évaluer l'influence de certains facteurs de risque associés à cette maladie. Dans la perspective est l'amélioration de la productivité à travers l'amélioration de la santé.

II. Matériels et méthodes :

A. Enquête du terrain :

1.Lieu et période d'étude :

Cette enquête a été réalisée au niveau de la Wilaya de Médéa durant la période qui s'étale de mois de Janvier jusqu'au mois d'Avril 2021.

1.1 Matériels :

Les informations ont été recueillies par le biais d'un questionnaire tiré à 20 exemplaires destiné aux vétérinaires praticiens.

1.1.1 Modalités du recueil des données :

Comme modalités de travail, l'enquête a été réalisée par des rencontres directes avec les vétérinaires praticiens de la région de Médéa. Chacun de ces derniers est composé de 23 questions dont la majorité au système de choix multiples, ce système présente l'intérêt de permettre une meilleure compréhension et contrôle de cette maladie et l'utilité du traitement et la prévention dans la filière avicole.

Nous avons préféré de se déplacer nous même chez les vétérinaires de la région pour récupéré les questionnaires distribués, ceux-ci ont bien voulu répondre a nos questions et même discuter de notre enquête.

1.1.2 Mise en forme et saisie des données :

Après collecte des questionnaires remplis par des vétérinaires praticiens, nous les avons classés selon les réponses obtenues pour chacun des paramètres traités.

L'ensemble des données recueillies ont été saisies et stockées dans un fichier Microsoft Excel.

1.1.3 Paramètres étudiés :

Nous avons concentré durant notre enquête sur des points bien précis :

- La région d'étude.
- L'expérience vétérinaire.
- L'importance de l'activité avicole chez la clientèle.
- Les suivis d'élevage de poulet de chair.
- La fréquence de consultation du poulailler.
- Les souches les plus rencontrées de poulet de chair.
- Les maladies les plus fréquentes de poulet de chair.
- Les maladies d'origine virale les plus fréquentes.
- L'apparition de l'influenza aviaire faiblement pathogène durant cette année.
- La fréquence de l'apparition de l'influenza aviaire faiblement pathogène.
- L'élevage le plus touché.
- Les manifestations sur le plan clinique.
- Les manifestations sur le plan lésionnel.
- Le taux de morbidité.
- Les manifestations accompagnées de mortalité.
- Le taux Les manifestations accompagnées de mortalité.
- Les symptômes observés dans un élevage atteint.
- Les raisons qui peuvent causer cette pathologie.
- La saison ou période ou l'influenza aviaire faiblement pathogène est plus fréquente.
- La tranche d'âge la plus touché.
- La base de diagnostic de l'influenza aviaire faiblement pathogène.
- L'existence d'un protocole de vaccination.
- Le protocole de vaccination.
- Cas de rechute de vaccination.

b. Etude sérologique :

1. Région et durée d'étude :

Notre expérimentation a été réalisée dans des fermes commerciales de poulet de chair situées dans la régions de Médéa (Médéa , Benislimane, Ksar El-Boukhari , Berrouaghia)

(Figure 15).

L'étude s'étend sur une période de 8 mois, d'octobre 2020 jusqu'à Mai 2021.

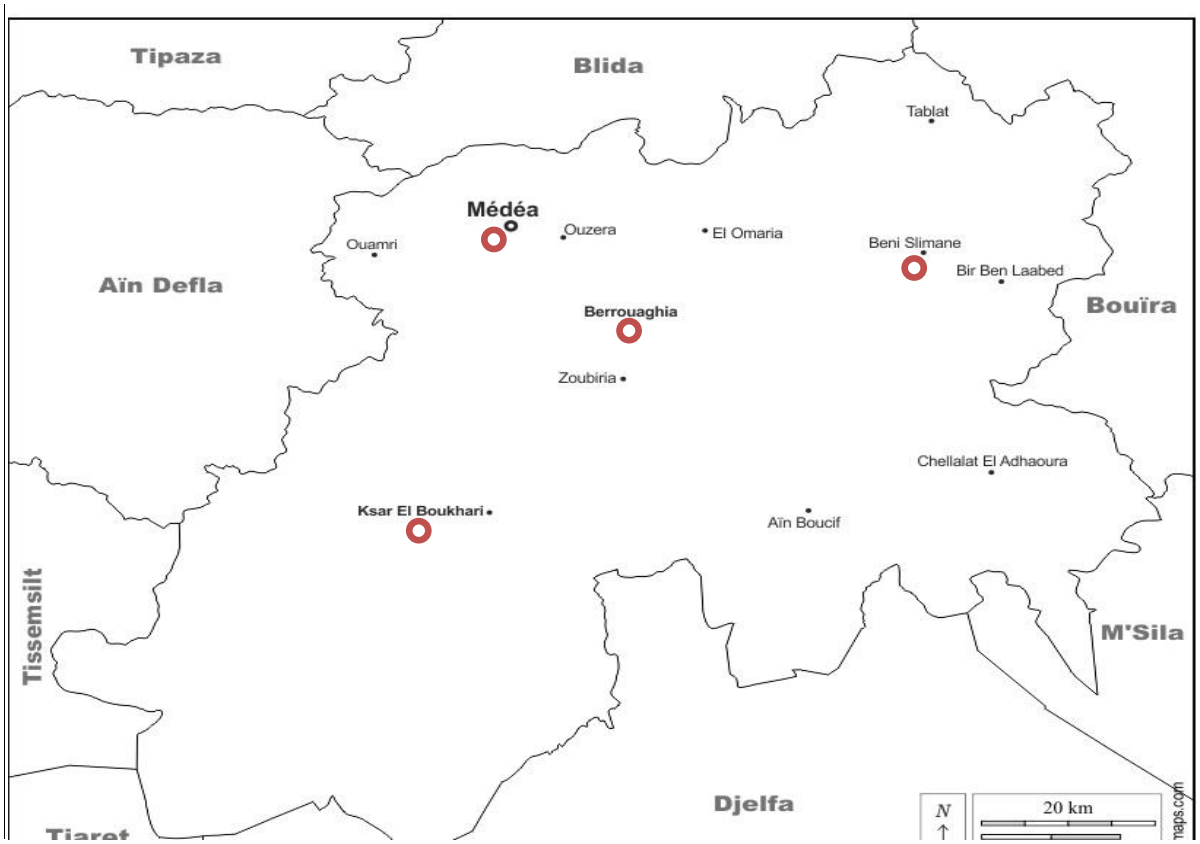


Figure 15 : Carte géographique montre les régions d'étude.

2. Animal :

Les sujets sont prélevés dans sept (7) élevages avicoles privés de type poulet de chair. Les sujets sont originaires des centres de production de poulet de chair privés (couvoirs privés).

Ces élevages de poulets de chair sont de différentes souches (Arbor acres, Cobb 500, Hubbard F15) âgés de trois (3) à huit (8) semaines et contenant de 3 000 à 10 000 sujets/élevage (Figure16).



Figure 16: Les élevages prélevés.

3. Etude clinique (Diagnostic clinique) :

Le diagnostic clinique a été établi sur la base des antécédents cliniques relevés par responsables des exploitations, y compris les vétérinaires chargés de suivi, les signes cliniques et les lésions sont enregistrés lors de l'autopsie des poulets atteints.

4. Echantillonnage (Prélèvements) :

Les échantillons ont été prélevés au hasard à partir des poulets de chair suspectés cliniquement affectés d'une des maladies virales tel que : la maladie de l'influenza aviaire faiblement pathogène et montrant des lésions caractéristiques à l'examen nécrosique (autopsie).

Un total de 280 échantillons a été soumis aux analyses sérologiques au sein du laboratoire SNV/Université de Médéa.

Après le signalement d'un cas suspect par l'un des vétérinaires chargé du suivi, nous nous sommes déplacés dans un délai de 1-2 jours pour effectuer la première série de prélèvements et remplir la fiche de prélèvement.

Concernant le protocole de prélèvement, pour chaque élevage, nous avons fait deux séries de prélèvements, une dite prélèvement précoce faite dès le début de l'infection

(l'apparition des premiers signes cliniques), 1 à 2 jours au maximum, et l'autre tardive se fera 2-3 semaines plus tard (pour mettre en évidence une éventuelle séroconversion).

Les prélèvements ont été effectués au niveau de la veine alaire et réalisés directement dans l'élevage (20 échantillons/élevage) , afin de garantir la représentativité des échantillons, les prélèvements de sang ont été réalisés au hasard au sein d'un lot.

Une fois les prélèvements sanguins récoltés dans des tubes secs préalablement identifiés (environ 3 ml/sujet afin de pouvoir exécuter les différentes analyses à partir du même sérum), ils ont été directement acheminés au laboratoire où ils ont subi le jour même une centrifugation (5000 tours/mn pendant 10 mn) en vue de récupérer les sérums qui ont été par la suite conservés dans des tubes Eppendorf identifiés et congelés à -20 °C .

Une fois le nombre de sérums prévus atteint (400 Sérums), les prélèvements on fait l'objet des examens sérologiques.



Figure 17: Technique de prélèvement.



Sang avant centrifugation | Sang après centrifugation | Sérum dans des Eppendorf identifiés

Figure 18 : Les étapes de décantation du sérum.

5. Méthode de laboratoire (Sérologie) :

Une technique Elisa indirecte a été effectuée en utilisant des kits de la société ID.vet Innovative Diagnostics (Montpellier, France) : ID Screen H9N2 Indirect (pour la maladie de IAFP) (Figure 20).

Les groupes de prélèvements effectués à différentes dates et provenant des différents bâtiments d'élevages ont été simultanément analysés avec le même kit afin d'assurer la comparabilité des résultats fournis par le test et de bien interpréter la cinétique des anticorps (Ac) ; les sérums ont été dilués au 1/500e puis chargés sur des plaques ELISA pour commencer la réaction immuno-absorbante comme indiqué dans les manuels du fabricant.

La lecture des plaques Elisa a été faite à l'aide d'un spectrophotomètre ELx800 (DIALAB GmbH, Wiener Neudorf, Autriche) muni d'un filtre de 450 nm. La densité optique (DO) obtenue a été transformée en titre d'anticorps (Figure 20).

La transformation des DO, les tests de validité, les titres moyens, et le coefficient de variation (CV) ont été calculés automatiquement par bande et par série de prélèvements à l'aide d'un logiciel fourni par le laboratoire (IDSoft^{TM}, Montpellier, France).



Figure 19 : Kit ELISA utilisé.



Figure 20: Lecteur ELISA.

- **Information générale :**

Ce kit de diagnostic est destiné à la mise en évidence d'anticorps dirigés contre le virus de la maladie de IAFP .

Il permet d'apprécier la quantité d'anticorps spécifique présents dans les sérums de poules.

- **Composants du kit**

- **Réactifs :**

- Microplaques sensibilisées avec l'antigène l'influenza aviaire faiblement pathogène purifié
- Contrôle positif
- Contrôle négatif
- Tampon de dilution 14
- Conjugué concentré (10X)
- Tampon de dilution 3
- Solution de lavage concentrée (20X)
- Solution de révélation
- Solution d'arrêt (0.5M).

1. Le conjugué, les contrôles, et la solution de révélation doivent être stockés à 5°C (+/- 3°C)

2. Les autres réactifs peuvent être stockés entre +2°C et +26 °C.

3. Les composants portant la même dénomination (solution de lavage, diluants) peuvent être utilisés dans l'ensemble de la gamme IDvet.

- **Matériel nécessaire :**

1. Pipettes de précision mono ou multicanaux capables de délivrer des volumes de 5µl, 10µl, 100µl, 200µl.

2. Embout de pipette à usage unique.

3. Lecteur de microplaque à 96 puits.

4. Eau distillée ou désionisée.

5. Système de lavage manuel ou automatique.

- **Préparation des échantillons :**

Pour réduire la différence des temps d'incubation entre les échantillons, il est possible de préparer une microplaque de 96 puits contenant les échantillons à tester et les échantillons de contrôle, puis de les transfère dans la plaque ELISA avec pipette multicanaux.

- **Préparation de la Solution de lavage :**

Si nécessaire, ramener la solution de lavage concentrée **(20X)** à température ambiante (21°C + /-5°C) et bien agiter pour assurer la dissolution des cristaux.
Préparer la solution de lavage **(1X)** par dilution de la solution de lavage **(20X)** dans de l'eau distillée /désionisée.

- **Mode opératoire :**

Ramener tous les réactifs à température ambiante (21°C +/- 5°C) avant l'emploi et les homogénéiser par retournement ou au vortex.

1. Les échantillons sont dilués au 1/500 en **Tampon de dilution 14.** Dans une pré-plaque de pré-dilution, ajouter
- 245 µl de **Tampon de dilution 14** dans chacun des puits.
- 5 µl du **Contrôle Négatif** dans les cupules A1 et B1.
- 5 µl du **Contrôle Positif** dans les cupules C1 et D1.
- 5 µl d'échantillons à tester dans les cupules restantes

2. Dans la plaque ELISA, ajouter
- 90 µl de **Tampon de dilution 14.**
- 10 µl des **échantillons pré-dilués** ci-dessus.

3. Couvrir la plaque et incuber **30 minutes (+/-3min)** à température ambiante (21°C+/-5°C).
4. Préparer le **Conjugué 1X** en diluant **conjugué concentré 10X** au 1/10^{éme} en **Tampon de dilution 3.**
5. Laver 3 fois chaque cupule avec environs 300 µl de solution **de lavage 1X.** Eviter le dessèchement des cupules entre les lavages.
6. Distribuer 100 µl de **Conjugué anti-poule-HRP 1X** dans chaque cupule.
7. Couvrir la plaque et incuber **30 minutes (+/-3 min)** à température ambiante (21°C +/-5°C).

8. Laver 3 fois chaque cupule avec environ 300µl de solution **de lavage 1X.** Eviter le dessèchement des cupules entre lavages.

9. Distribuer 100 µl de **Solution de révélation** dans chaque cupule.

10. Incuber **15 min (+/- 2 min)** à température ambiante (21°C +/- 5°C) à l'obscurité.

11. Distribuer 100 µl de Solution d'arrêt dans chaque cupule pour arrêter la réaction. Ajouter la solution d'arrêt dans le même ordre qu'en étape #9.

12. Mesurer et enregistre les densités optiques à 450nm.

- **Validation :**

Le test est validé si :

- ✓ La valeur moyenne de densité optique des contrôles positifs (DO_{CP}) est supérieure à 0.250.

$$\mathbf{DO_{CP} > 0.250}$$

- ✓ Le rapport entre la moyenne des Contrôles Positifs (DO_{CP}) et la moyenne des Contrôles Négatifs (DO_{CN}) est supérieure à 3.

$$\mathbf{DO_{CP} / DO_{CN} > 3}$$

- **Interprétation**

Pour chaque échantillons, calculer le S/P et le titre en anticorps ;

1-Calcul du rapport S/P

$$S/P = \frac{DO_{\text{échantillon}} - DO_{CN}}{DO_{CP} - DO_{CN}}$$

2- Calcul du titre en anticorps

$$\mathbf{Log_{10}}(\text{titre}) = 0.97 \times \mathbf{log_{10}}(s/p) + 3.449 \quad \text{titre} = 10^{\log_{10}(\text{titre})}$$

- **Les résultats sont interprétés de la façon suivante (Tableau n°01):**

Tableau 1 : Critères de l'interprétation des titres d'anticorps obtenus sur ELISA.

Valeur de S/P	Titre en anticorps ELISA	Statut immunitaire NDV
S/P $\leq$ 0.3	Titre $\leq$ 993	Négatif
S/P > 0.3	Titre > 993	Positif

6. Facteurs de risque :

A chaque prélèvements, les données zootechniques et sanitaires sont relevées, soit en interrogeant l'éleveur, soit le vétérinaire chargé du suivi d'élevage, soit par l'observation directe. Les informations collectées donnent lieu à une fiche signalétique identifiant l'élevage et une fiche de suivi caractérisant l'évolution de l'état général de l'élevage.

A côté des données précédentes, l'éleveur indique si la maladie s'est manifestée sur les bandes en présence ou sur les bandes précédentes. Cet élément est un indicateur de la pression virale sauvage propre à l'élevage.

Lors de notre enquête, les paramètres qui sont pris en considération : la région, le climat, la saison, l'âge d'apparition, la densité, la souche, l'hygiène, le protocole de vaccination qui a été relevé (âge de vaccination, type de vaccin et mode d'administration du vaccin) (Tableau 2)

Tableau 2: Caractéristiques des élevages étudiés.

Paramètres	Classe	Nombre d'élevage	Pourcentage (%)
Région	Béni Slimane	5	25
	Médéa	6	30
	Ksar El-Boukhari	9	45
Saison	Automne	3	15
	Eté	15	75
	Printemps	2	10
Age (jours)	≤30	6	30
	>30	14	70
Densité	>10	8	40
	≤10	12	60
Souche	Arbor acres	10	50
	Cobb 500	4	20
	Hubbard F15	6	30
Hygiène	Bonne	6	30
	Moyenne	5	25

	Mauvaise	9	45
Prtocole de Vaccination*	1	7	35
	2	8	40
	3	5	25
Mortalité	<10	4	20
	≥10	16	80
Protocol de vaccination, 1: primo-vaccination sans rappel; 2: primo-vaccination avec un rappel; 3: primo-vaccination avec deux rappel.			

7. Analyses statistiques :

Tout d'abord, des statistiques descriptives ont été utilisées pour caractériser les élevages selon les différents facteurs. Ainsi, des analyses statistiques ont été effectuées avec SAS (version 9.1.3 ; SAS Institute Inc., Cary, NC).

Avant d'ajuster l'analyse statistique, l'examen des distributions des titres en anticorps par l'utilisation de (PROC UNIVARIATE, Shapiro-Wilk test) a indiqué que la plupart d'entre eux ne pouvaient pas être considérés comme normalement distribués. Si la variable ne correspond pas à la distribution normale, des ajustements tels que les transformations logarithmique, carrée, racine carrée sont des outils possibles.

Le titre en anticorps de chaque maladie à travers le temps a été analysé en ajustant un modèle linéaire général mixte utilisant la procédure MIXTE du SAS pour évaluer la séropositivité entre le premier et le second prélèvement de sérum.

Ensuite, l'effet de la probabilité de la séropositivité a été évalué à l'aide de modèles multivariables à effets mixtes (PROC GENMOD), en utilisant une distribution normale et des fonctions de liaison logarithmique, et les élevages comme un effet aléatoire.

Les variables offertes au modèle comprenaient la région, le protocole de vaccination, la saison, la souche, le climat, l'hygiène, la densité et l'âge. Les variables âge, densité, saison, climat et hygiène ont été dichotomisées sur : ≤ vs.>30 jours pour les groupes d'âge ; ≤ vs. >10 sujets/m2 groupes pour la densité ; automne vs. été et printemps pour la saison et groupes sec vs. humide pour le climat.

Avant l'inclusion dans le modèle mixte, la sélection initiale des variables a été effectuée à l'aide d'une procédure manuelle par étapes, les variables significatives (P < 0,1) restant dans le modèle. Cette procédure a été répétée pour chaque maladie.

La sensibilité et la spécificité de la détection des maladies en fonction des signes cliniques et nécrosiques a été calculée à l'aide de l'évaluation du test de diagnostic de Win Episcope 2.0.

Enfin, Un tracé de lignes empilées de changements de titre en anticorps (graphes) a été généré en utilisant Prism 5.01 (GraphPad Software, Inc. La Jolla, CA USA)

III.Résultats :

1.Enquête du terrain :

1 – Quelle est la région d'étude ?

Les 20 vétérinaires que nous avons interrogés sont répartis sur 04 communes de la Wilaya de Médéa

Tableau 3 : La région d'étude

Paramètres	Nombres de réponse	Pourcentage (%)
Médéa	8	40%
Ksar Elboukhari	5	25%
Beni Slimane	4	20%
Berrouaghia	3	15%

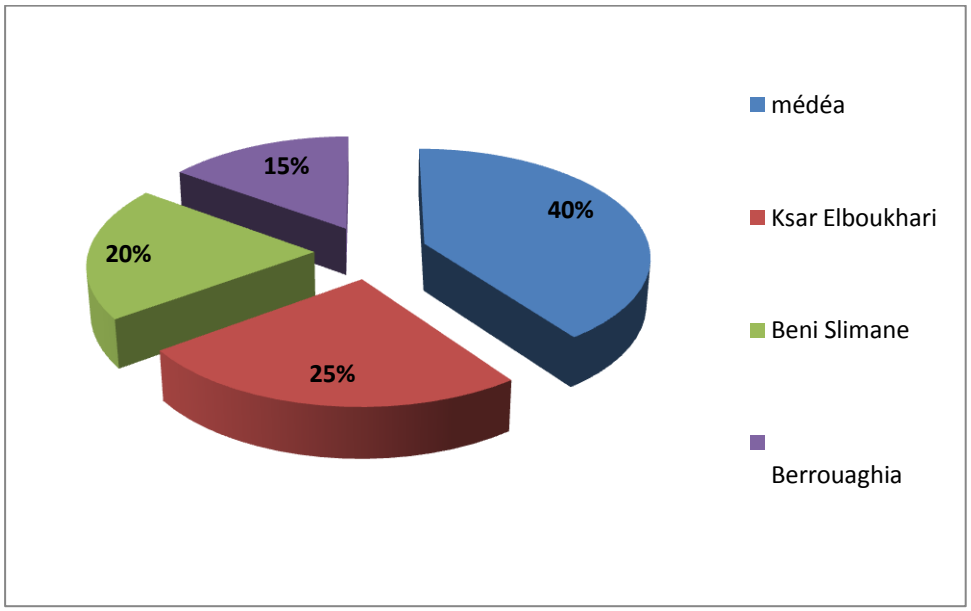


Figure 21: La région d'étude

2 – Quelle est votre expérience ?

D'après les vétérinaires questionnés, nous avons observé que 50 % des vétérinaires présente une expérience moins de 5 ans alors que 30% des vétérinaires ont une expérience allant de 5 à 10 ans et 20 % parmi eux présentent une expérience supérieure à 10 ans

Tableau 4 : L'expérience du vétérinaire

Paramètres	Nombres de réponse	Pourcentage (%)
0 – 5 ans	10	50%
5 – 10 ans	6	30%
10 – 15 ans	4	20%

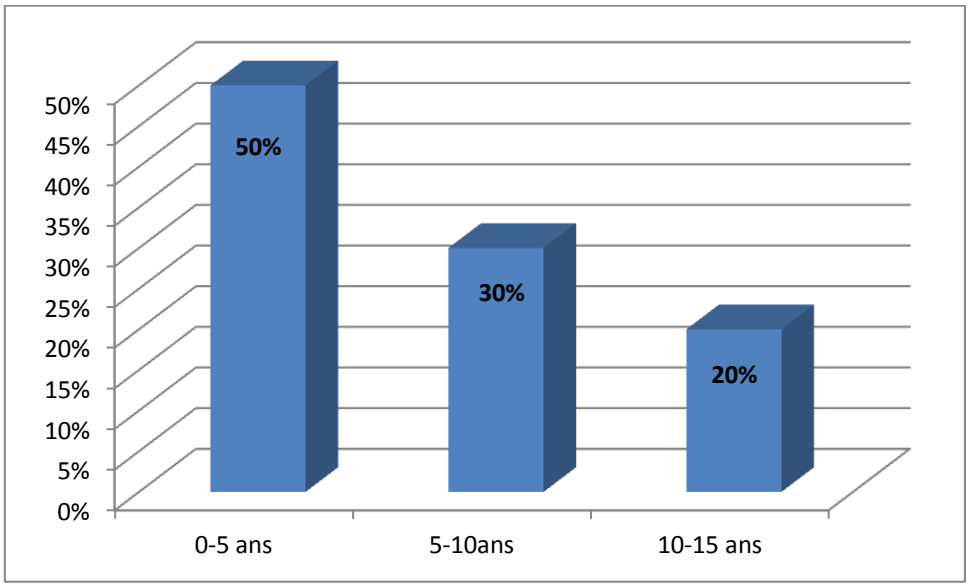


Figure 22 :L'expérience du vétérinaire

3 – Quelle est l'importance de l'activité avicole chez votre clientèle ?

L'Enquête montre que l'activité avicole chez les vétérinaires questionnée est une activité principale (60%) par rapport à un pourcentage de 40% qui révèle qu'elle est secondaire.

Tableau 5 : L'importance de l'activité avicole chez la clientèle

Paramètres	Nombres de réponse	Pourcentage (%)
Activité principale	12	60%
Activité secondaire	08	40%

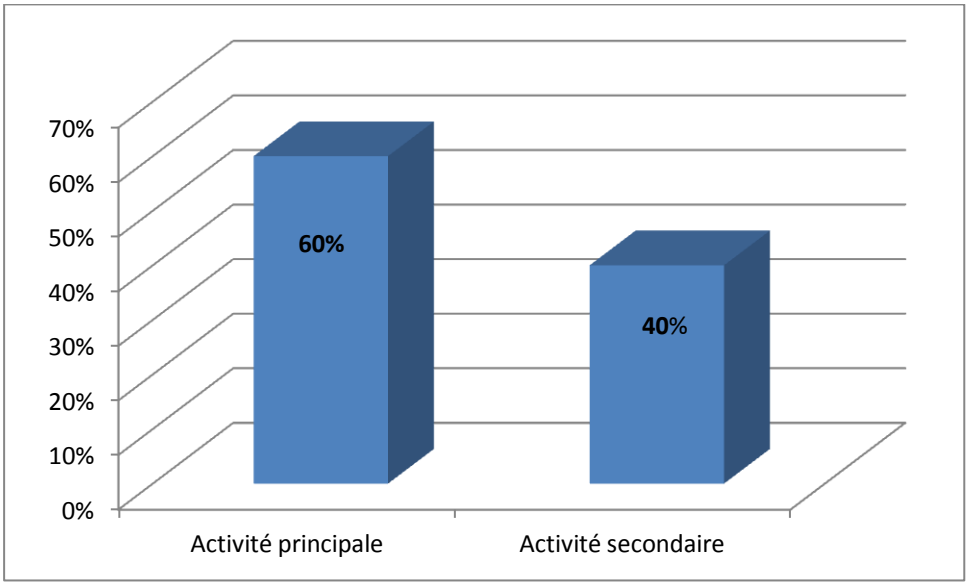


Figure 23 : L'importance de l'activité avicole chez la clientèle

4 – Vous faites des suivis d'élevage de poulet de chair ?

Notre enquête montre que 90 % font le suivi d'élevage de poulet chair, par rapport à 10% qui ne le font pas.

Tableau 6: Le suivi d'élevage de poulet de chair

Paramètres	Nombres de réponse	Pourcentage (%)
Oui	18	90%
Non	02	10%

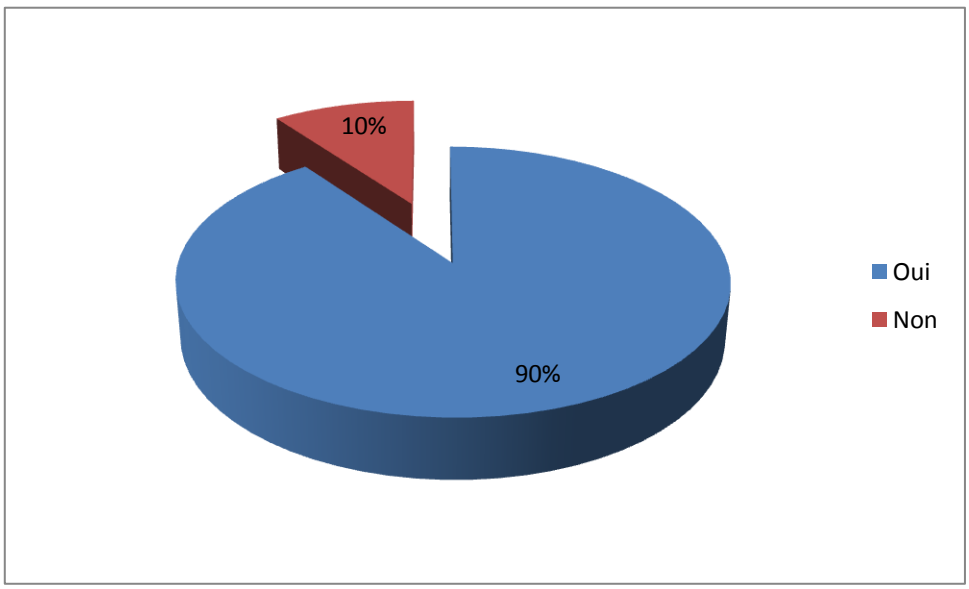


Figure 24: Le suivi d'élevage de poulet de chair

5 – Quelle est la fréquence de consultation du poulailler ?

D'après les résultats obtenus, on a constaté que 90% des vétérinaires visitent les poulaillers lors des maladies, alors que 10% des vétérinaires sont intervient de façon hebdomadaire.

Tableau 7 : La fréquence de consultation du poulailler

Paramètres	Nombres de réponse	Pourcentage (%)
Quotidienne	0	0%
Hebdomadaire	2	10%
Lors de maladies	18	90%
Autres	0	0%

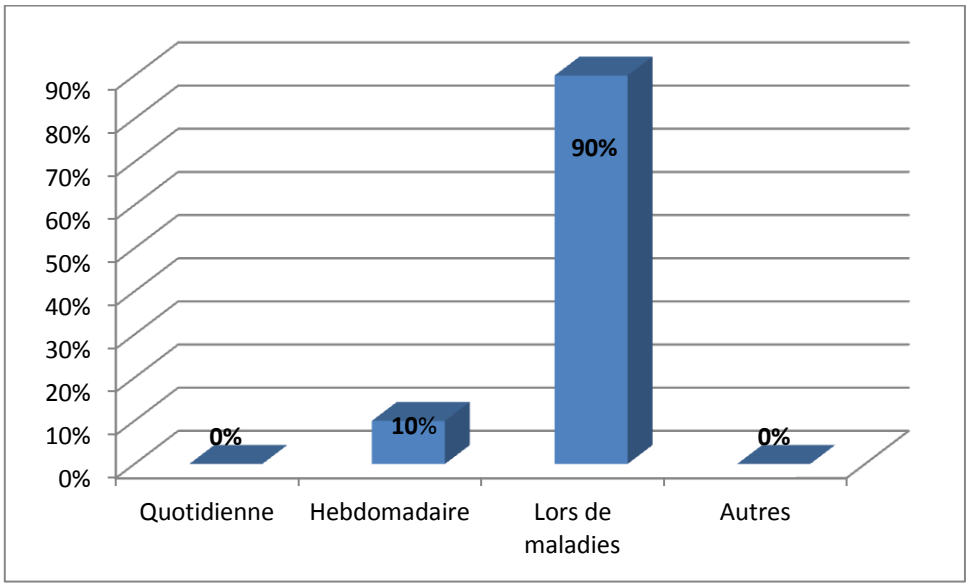


Figure 25 : La fréquence de consultation du poulailler

6 – Quelles sont les souches les plus rencontrées de poulet de chair ?

Nos résultats montrent que les souches de poulet de chair les plus rencontrées sont comme suit : ISA F 15 (40 %), Arboracres (70%) et Cobb 500 (50%).

Tableau 8 : Les souches de poulet de chair les plus rencontrées.

Paramètres	Nombres de réponse	Pourcentage (%)
ISA F 15	08	40%
Arboracres	14	70%
Cobb 500	10	50%

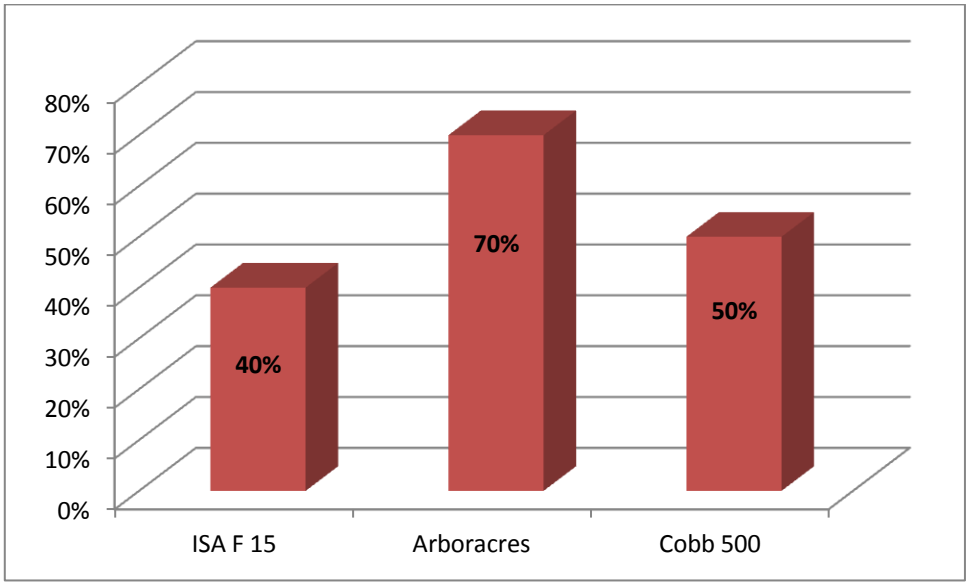


Figure 26: Les souches de poulet de chair les plus rencontrées.

7 – Quelles sont les maladies les plus fréquentes en élevage de poulet de chair ?

D'après les résultats obtenus de notre enquête, les maladies d'origine bactérienne sont les plus fréquentes (80%) puis les maladies virales avec un pourcentage de 70%, alors que les les maladies liées à la nutrition et les maladies d'origine parasitaires et sont moins fréquentes avec un taux de 50% - 40%

Tableau 9: Les maladies les plus fréquentes en élevage de poulet de chair

Paramètres	Nombres de réponse	Pourcentage (%)
Les maladies bactériennes	16	80%
Les maladies parasitaires	08	40%
Les maladies liées à la nutrition	10	50%
Les maladies virales	12	60%

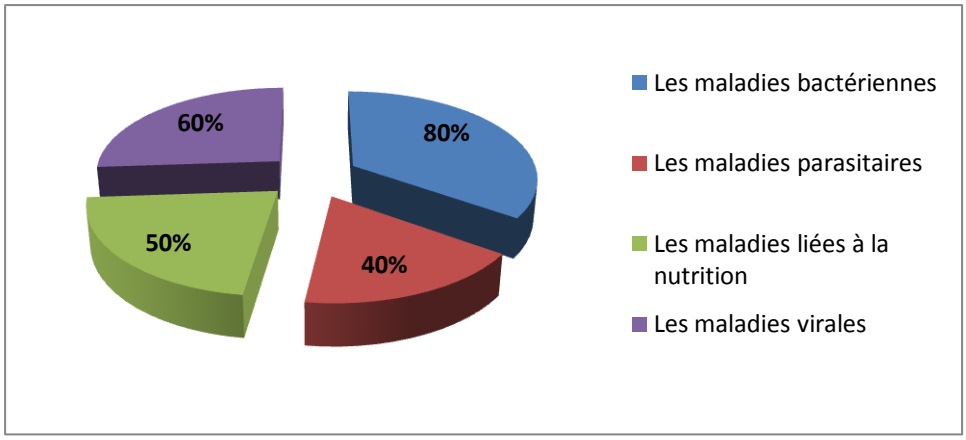


Figure 27 : Les maladies les plus fréquentes en élevage de poulet de chair

8 – Quelles sont les maladies d'origine virale les plus fréquentes ?

Suite au résultats obtenus de notre enquête, la bronchite infectieuse est la maladie la plus fréquente avec un pourcentage de 90%, et la maladie de Newcastle (70%), par contre la maladie de Gumboro est moins fréquente avec un pourcentage de 50% , l'influenza aviaire faiblement pathogène (40%) et la laryngotrachéite infectieuse (10%), et enfin l'absence de la variole aviaire et la maladie de Marek (0%).

Tableau 10: Les maladies d'origine virale les plus fréquentes

Paramètres	Nombres de réponse	Pourcentage (%)
La maladie de Newcastle	14	70%
La bronchite infectieuse	18	90%
La maladie de Gumboro	10	50%
la maladie de Marek	0	0%
Influenza aviaire faiblement pathogène	08	40%
Variole aviaire	0	0%
Laryngotracheite infectieuse	2	10%

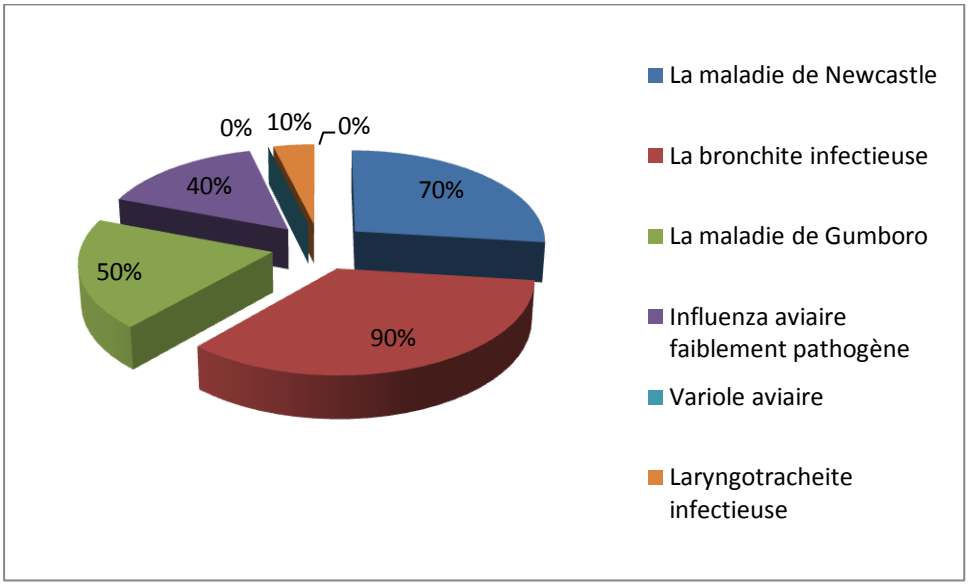


Figure 28: Les maladies d'origine virale les plus fréquentes.

9 – Avez-vous rencontre durant l'année des cas de l'influenza aviare faiblement pathogéne?

Selon l'enquête réalisée, 70% des vétérinaires ont répondu qu'ils ont déjà rencontré l'influenza aviare faiblement pathogéne faut sur le terrain durant cette année alors que 30% restante ont répondu qu'ils n'en ont pas la rencontré.

Tableau 11 : L'apparition de la l'influenza aviare faiblement pathogéne durant cette année

Paramètres	Nombres de réponse	Pourcentage (%)
Oui	14	70%
Non	06	30%

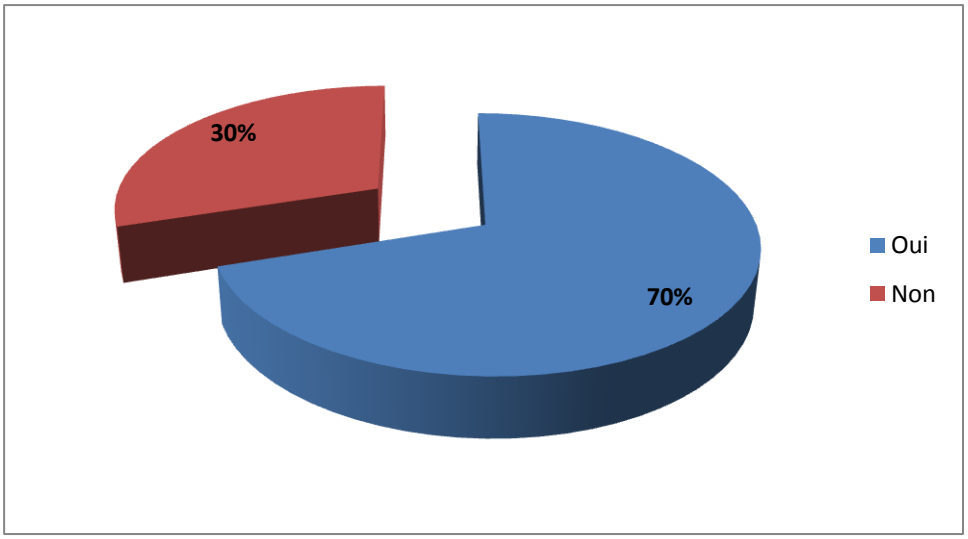


Figure 29 : L'apparition de l'influenza aviaire faiblement pathogène durant cette année

10 –Quelle est la fréquence de l'apparition de l'influenza aviaire faiblement pathogène ?

D'après les résultats obtenus de notre enquête, aucun vétérinaire n'a répondu que l'apparition de l'influenza aviaire faiblement pathogène sur le terrain est très fréquente, 70% ont répondu qu'elle est fréquente et 30% ont répondu qu'elle est rare

Tableau 12: La fréquence de l'apparition de l'influenza aviaire faiblement pathogène

Paramètres	Nombres de réponse	Pourcentage (%)
Très fréquente	0	0%
Fréquente	14	70%
Rare	06	30%

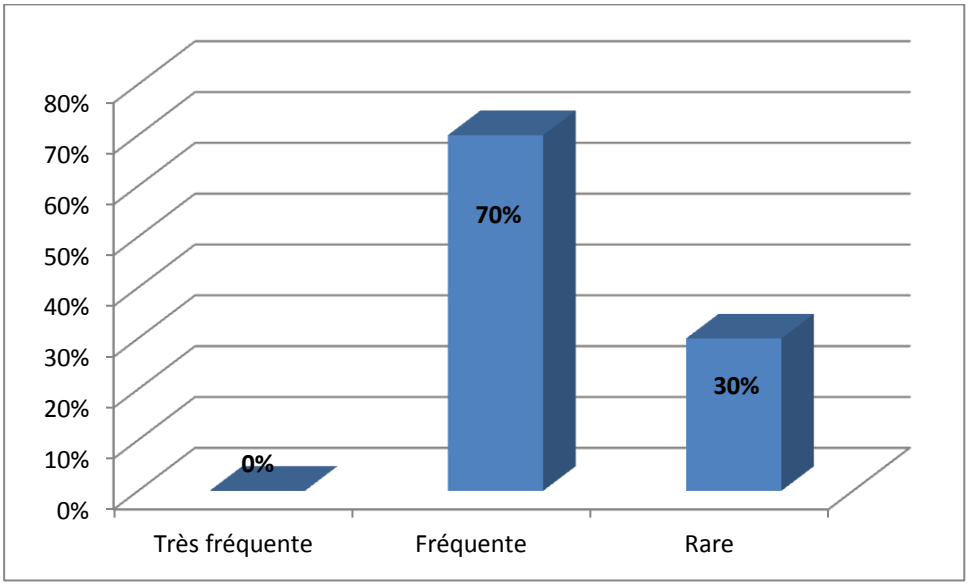


Figure 30: La fréquence de l'apparition de la IAFP

11 –Quel est l'élevage le plus touché ?

L'enquête réalisée a révélé que l'élevage le plus touché et l'élevage du poulet de chair avec un pourcentage de 100% alors que ne touche pas l'élevage de la poule pondeuse , la poule future pondeuse et l'élevage des reproducteurs chair

Tableau 13 :L'élevage le plus touché

Paramètres	Nombres de réponse	Pourcentage (%)
Reproduction-chair	0	0%
Poulet de chair	20	100%
Poule future pondeuse	0	0%
Poule pondeuse	0	0%

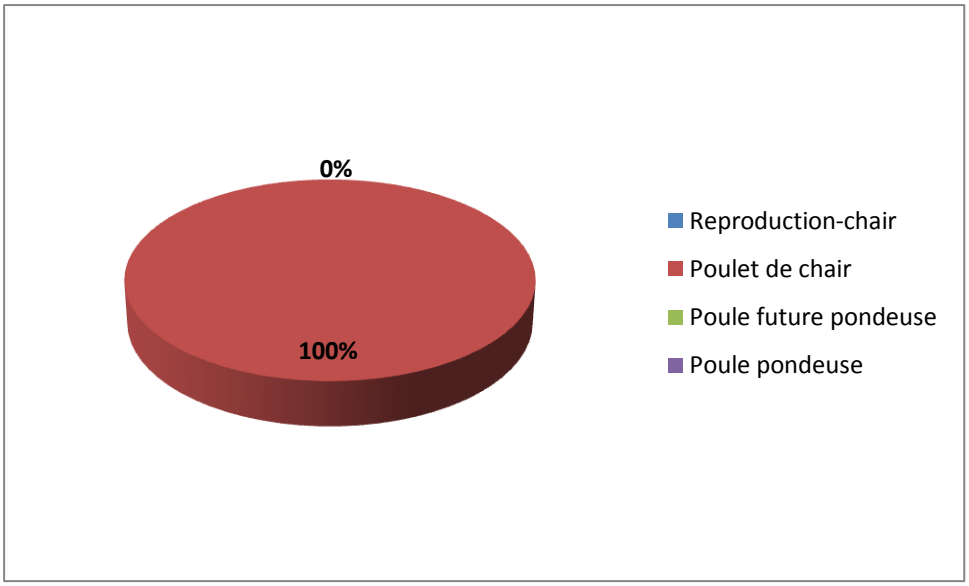


Figure 31 : L'élevage le plus touché

12 – Comment se manifeste-elle sur le plan clinique ?

Après la présente étude il ressort que sur le plan clinique 100% des signes sont à prédominance respiratoires

Tableau 14: Les manifestations sur le plan clinique

Paramètres	Nombres de réponse	Pourcentage (%)
Signes respiratoires	20	100%
Signes à tropisme rénale	0	0%
Signes nerveux	0	0%
Signes digestives	0	0%
Autre	0	0%

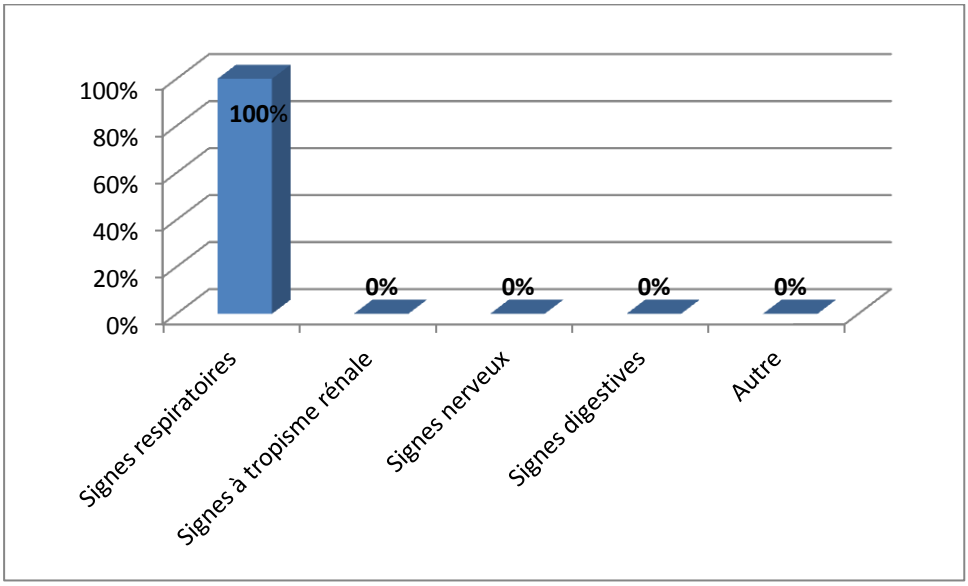


Figure 32 : Les manifestations sur le plan clinique

13 – Quel est le taux de morbidité ?

D'après notre enquête, 70 % des vétérinaires estiment que le taux de morbidité en cas de Gumboro est varie soit entre 0-50% alors que 30% estiment que le taux de morbidité et entre 50-100%

Tableau 15 : Taux de morbidité

Paramètres	Nombres de réponses	Pourcentage (%)
0-50 %	14	70%
50-100 %	06	30%

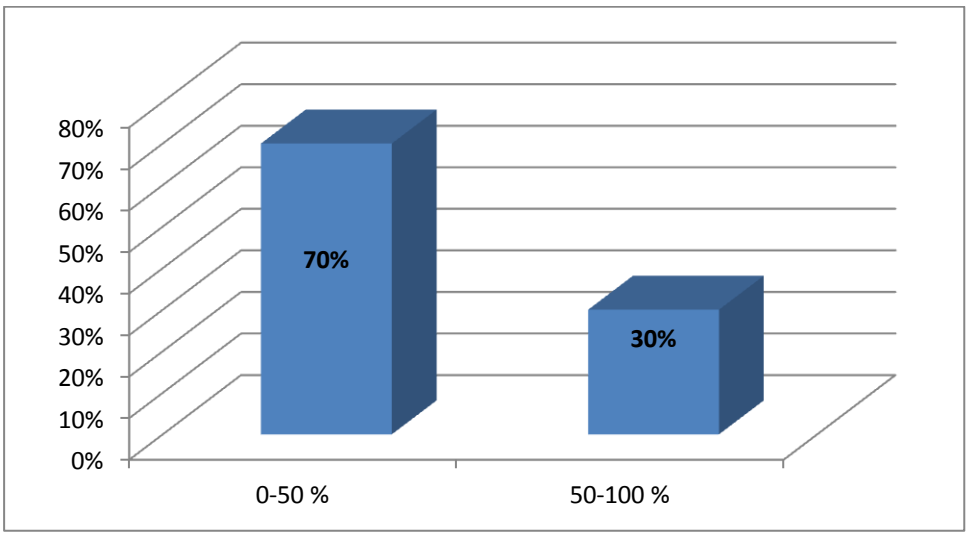


Figure 33 : Taux de morbidité

14 – Est-ce que ces manifestations sont accompagnées de mortalité ?

Les résultats de notre enquête montrent que la totalité des vétérinaires questionnés estiment que les manifestations cliniques sont toujours accompagnées de mortalité

Tableau 16 : Manifestations accompagnées de mortalité

Paramètres	Nombres de réponse	Pourcentage (%)
Oui	20	100%
Non	0	0%

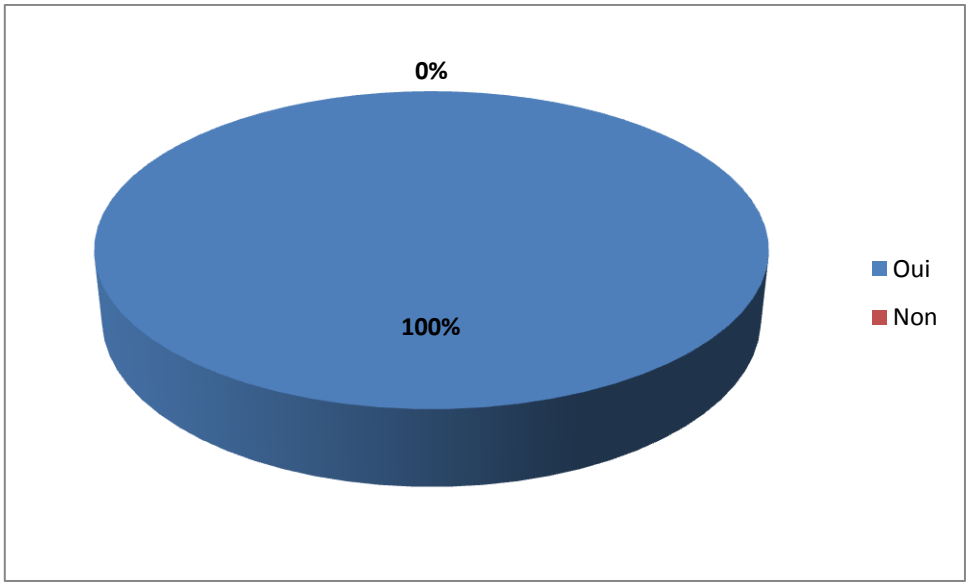


Figure 34: Manifestations accompagnées de mortalité

***Si oui, quel est son taux ?**

Selon les informations fournies par cette enquête, 80% des vétérinaires ont répondu que le taux de mortalité varié entre 0 à 30 % dans les élevages atteints par la IAFP , 20% ont dit qu'il est varié entre 30 à 70 %

Tableau 17 : Le taux de manifestations accompagnées de mortalité

Paramètres	Nombres de réponses	Pourcentage (%)
0-30	16	80%
30-70	04	20%
70-100	0	0%

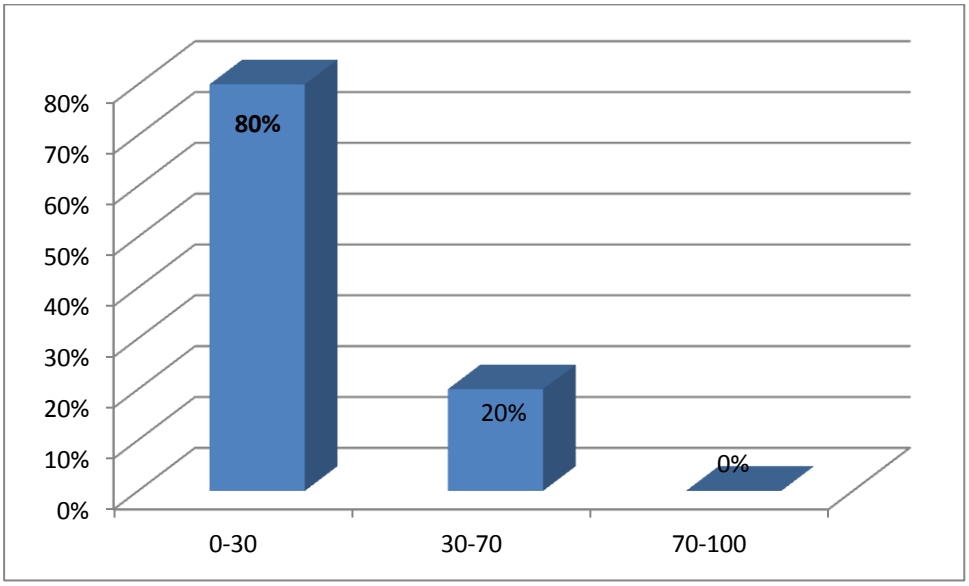


Figure 35: Le taux de manifestations accompagnées de mortalit

15 – Quelles sont les raisons pouvant causer cette pathologie ?

Les résultats représentés ci-dessus montrent que la souche et le programme vaccinaux non adaptés présente les causes principales de la maladie avec un pourcentage de 70%, puis l'échec vaccinal causent la maladie avec un pourcentage de 50% ,tant dis qu'autres causes présentent 10%,

Tableau 18: Les raisons qui peuvent causer cette pathologie

Paramètres	Nombres de réponse	Pourcentage (%)
Echec vaccinal	10	50%
Souche vaccinale non adaptée	14	70%
Programme vaccinal non adapté	14	70%
Autres	3	15%

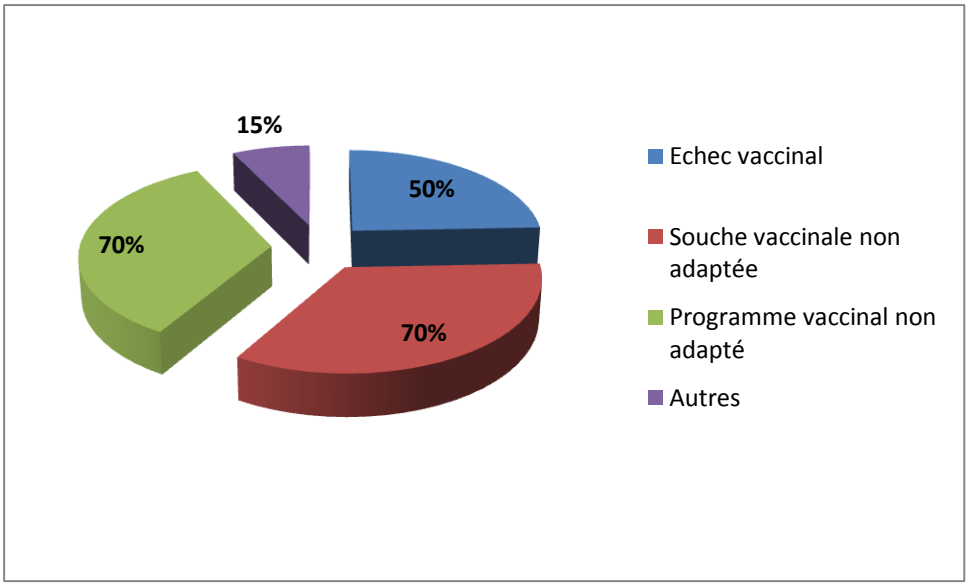


Figure 36: Les raisons qui peuvent causer cette pathologie

19 – Dans quel saison ou période est-elle plus fréquente ?

Les résultats montrent que l'apparition de cette maladie est plus élevée dans l'Hiver avec un pourcentage de 60%, 50% pendant le printemps et 40% pendant l'été, et 30% pendant l'Automne.

Tableau 19: La saison ou période dans L'ifluenza aviaire faiblement pathogene est plus fréquente.

Paramètres	Nombres de réponse	Pourcentage (%)
Automne	06	30%
Hiver	12	60%
Printemps	10	50%
Eté	08	40%

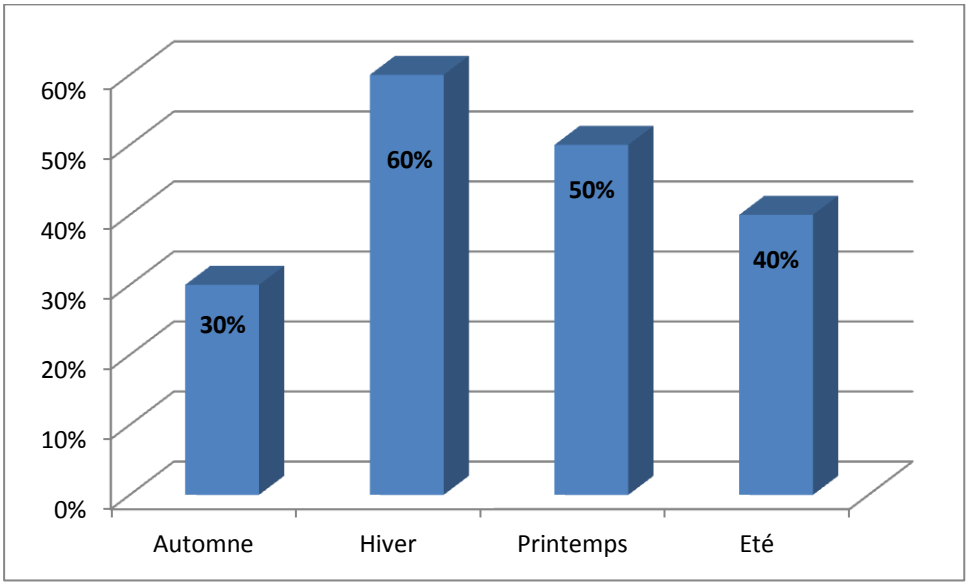


Figure 37: La saison ou période dans la IAFP est plus fréquente

20 – Quelle est la tranche d'âge la plus touchée ?

Selon les praticiens interrogés pour la présente étude, il ressort que la tranche d'âge la plus touchée lors de L'ifluenza aviaire faiblement pathogene est la phase de croissance 60% puis la phase de démarrage 20% et enfin la phase finition 10 %

Tableau 20: La tranche d'âge la plus touchée

Paramètres	Nombres de réponse	Pourcentage (%)
Phase de démarrage	04	20%
Phase de croissance	12	60%
Phase de finition	10	10%

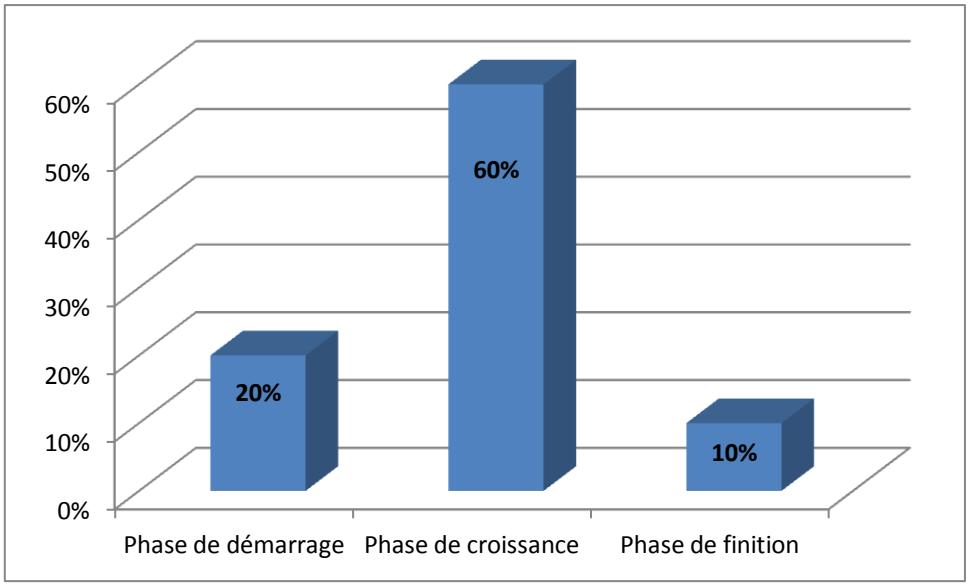


Figure 38 : La tranche d'âge la plus touchée

21 – Le diagnostic de L'ifluenza aviaire faiblement pathogene est basé sur quoi ?

D'après ces résultats, on trouve que 80% des vétérinaires se basent sur les signes cliniques pour le diagnostic de cette maladie, 40% d'entre eux sollicitent le laboratoire.

Tableau 21: La base de diagnostic de l'IAFP

Paramètres	Nombres de réponse	Pourcentage (%)
Diagnostic clinique	16	80%
Diagnostic de laboratoire	04	40%

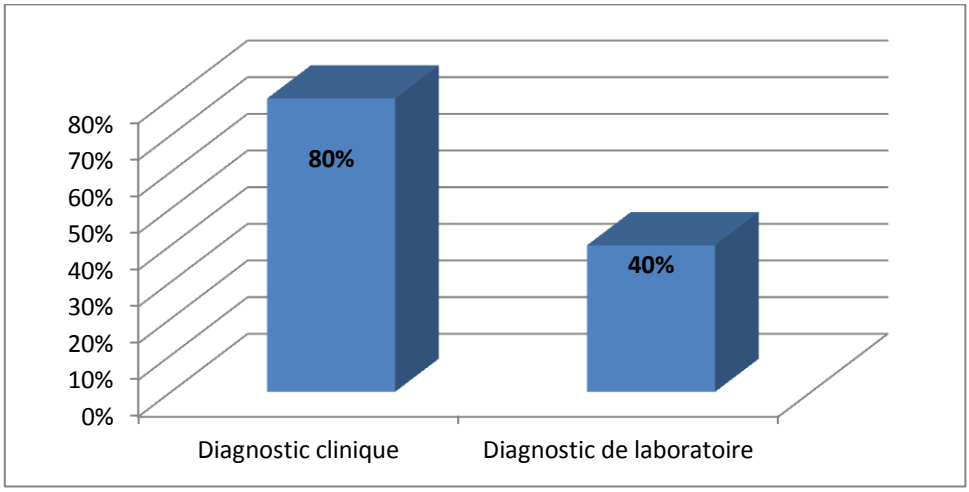


Figure 39 : La base de diagnostic de L'ifluenza aviaire faiblement pathogene .

22 – Est-ce qu'il existe un protocole de vaccination ?

Nous remarquons d'après ces résultats que la totalité des vétérinaires praticiens utilisent un protocole de vaccination contre la maladie de L'ifluenza aviaire faiblement pathogene .

Tableau 22: L'existence d'un protocole de vaccination

Paramètres	Nombres de réponse	Pourcentage (%)
Oui	20	100%
Non	0	0%

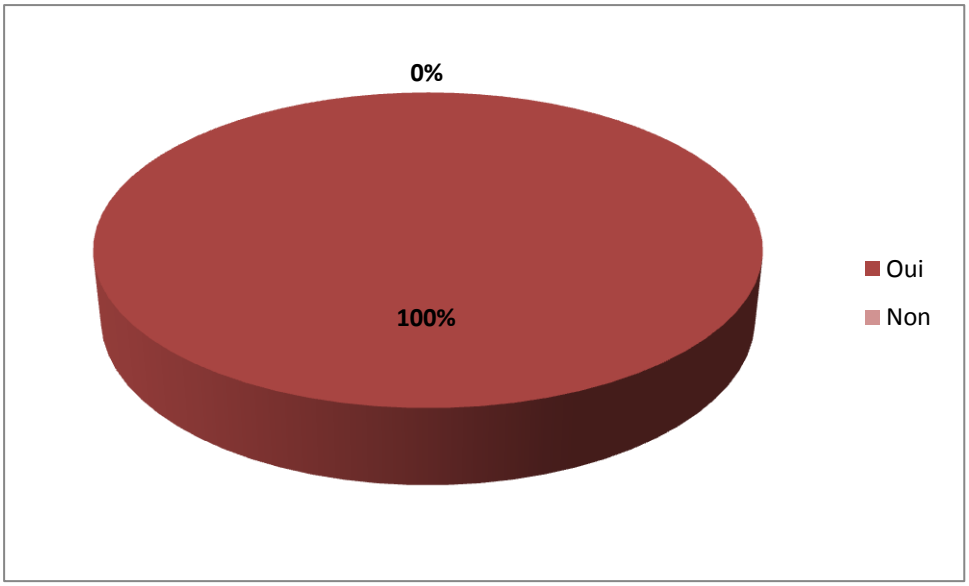


Figure 40 : L'existence d'un protocole de vaccination

***Si oui, les quels ?**

Les résultats obtenus montrent que 70% des vétérinaires questionnés utilisent le protocole personnel pour leur vaccination, et 60% ont utilisent le protocole national, tandis que les autres (15%) ont recours au laboratoire

Tableau 23 : Le protocole de vaccination

Paramètres	Nombres de réponse	Pourcentage (%)
Protocole national	12	60%
Protocole personnel	14	70%
Recours au laboratoire	3	15%

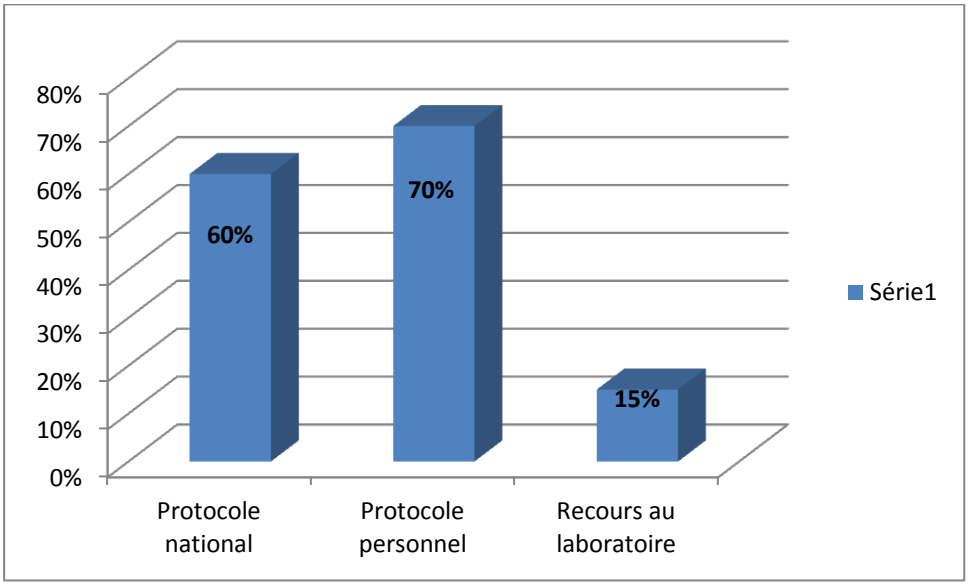


Figure 41: Le protocole de vaccination

23 – Est-ce qu'il y avait rechute après vaccination ?

D'après les vétérinaires interrogés, 65% disent qu'il y aura rechute après vaccination, alors que les 35 % déclarent son absence.

Tableau 24: Cas de rechute après vaccination

Paramètres	Nombres de réponse	Pourcentage (%)
Oui	13	65%
Non	07	35%

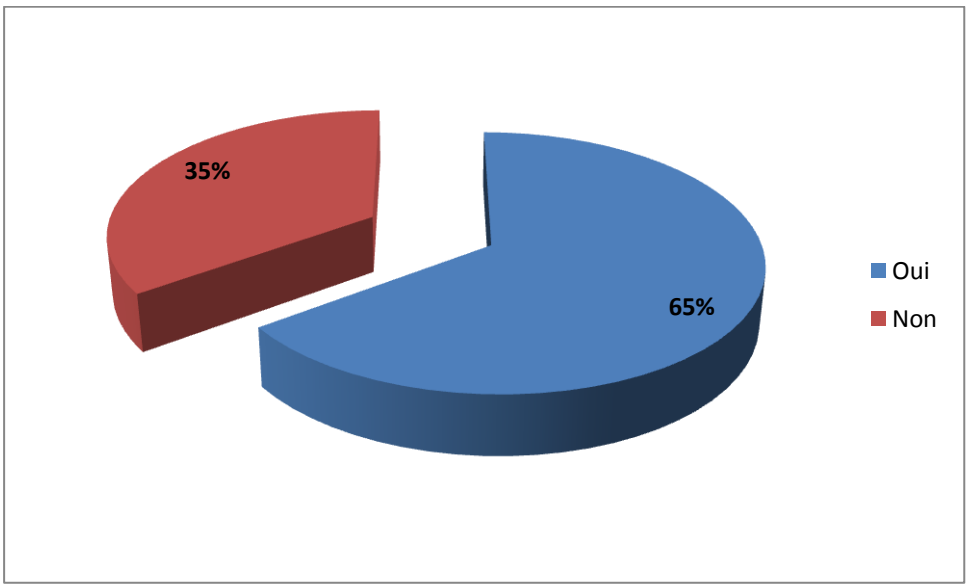


Figure 42: Cas de rechute après vaccination

2. Etude sérologique :

Le tableau(25) présente les résultats des titres en anticorps pour IAFP. Parmi les 7 élevages, 4 (57.14%) ont été testés positifs à la maladie De l'influenza aviaire faiblment pathogène ; comme ils ont été montré un faible CV et une différence significative (p <0,0001) dans le titre en anticorps entre le premier et le deuxième échantillon (LSM ± SE, 1854.26vs 4397.82± 262.16, CV (29-48%), et qui présentent des signes spécifiques (cliniques et lésionnels) et un taux de mortalité variable (32-45%) (Tableau 25).

Tableau 25 : Etude sérologique

Pathologie	Titres d'anti-corps		CV (%)	SE	P	Seropositivité (%)
	Moy 1	Moy 2				
IAFP	1854.26	4397.82	29-48	262.16	<0.0001	63.33

3. Etude de la fiabilité de diagnostic :

D'après nos résultats, nous avons observé que l'utilisation de signes nécropsiques et cliniques pour diagnostiquer la maladie de IAFP était adaptée à nos résultats sérologiques (Tableau 26), conduisant à une très grande spécificité (75%).

En d'autres termes, tous les élevages suspectés avoir la maladie, IAFP avaient des anticorps spécifiques. Cependant, les sensibilités étaient de 65,0, pour les IAFP.

Donc pour cette maladie, le diagnostic clinique et nécropsique ont été particulièrement fiables.

Tableau 26 : Sensibilité (%) et spécificité (%), avec intervalle de confiance à 95% (IC) et prévalence réelle du test sur la base des signes cliniques et lésionnels pour la détection de IAFP.

Pathologie	Sensitivité (%) (95%CI)	Specificité (%) (95%CI)	Prévalence (%) (95%CI)
IAFP	65	75	54

4. Les facteurs influençant l'apparition de IAFP :

Les facteurs influençant la séropositivité de IAFP ont été représentés respectivement dans les tableaux(27).

Nos résultats montrent que les élevages avec la souche Cobb 500 ont été significativement plus séropositive de 64% (OR = 1,64, p = 0,04) par rapport aux souches Hubbard-F15. Cependant, cette différence n'était pas évidente entre Arbor acres et Hubbard-F15strain (p = 0,729).

Alors que les élevages ayant une bonne hygiène étaient significativement moins séropositive de 32% (OR = 0,68, p = 0,03) par rapport à une mauvaise hygiène.

Par contre, il n'y avait aucun effet significatif du protocole de vaccination, de la saison, du climat, de la densité et de l'âge (Tableau 27).

Tableau 27: Effet de facteurs de risque pour IAFP.

Facteurs	Classe	Prévalence	Estimation	SE	OR	95% CI	P
Protocol de vaccination*	1	21.0	-0.39	0.25	0.67	0.41-1.10	0.11
	2	47.3	-0.08	0.20	0.92	0.61-1.39	0.70
	3	31.5	Réf				
Saison	Automne	21.0	0.07	0.18	1.08	0.75-1.54	0.66
	Printemps	10.5	-0.09	0.21	0.90	0.59-1.38	0.66
	Eté	68.4	Réf				
Souche	Arbor acres	36.8	-0.05	0.16	0.94	0.67-1.3	0.72
	Cobb 500	21.0	0.57	0.25	1.64	1.07-2.9	**0.04**
	ISA	42.1	Réf				
Hygiène	Bonne	15.7	-0.29	0.24	0.68	0.46-1.19	**0.03**
	Moyenne	26.3	0.12	0.19	1.13	0.77-1.67	0.51
	Mauvaise	57.8	Réf				

Densité (sujet/m²)	>10	57.8	0.06	0.19	1.07	0.73-1.56	0.72
	≤10	42.2	Réf				
Age (jour)	>30	73.6	-0.01	0.15	0.98	0.71-1.34	0.90
	≤30	26.316	Réf				
*protocole de vaccination, 1: primo-vaccination sans rappel;2: primo-vaccination avec un rappel; 3: primo-vaccination avec deux rappels.							

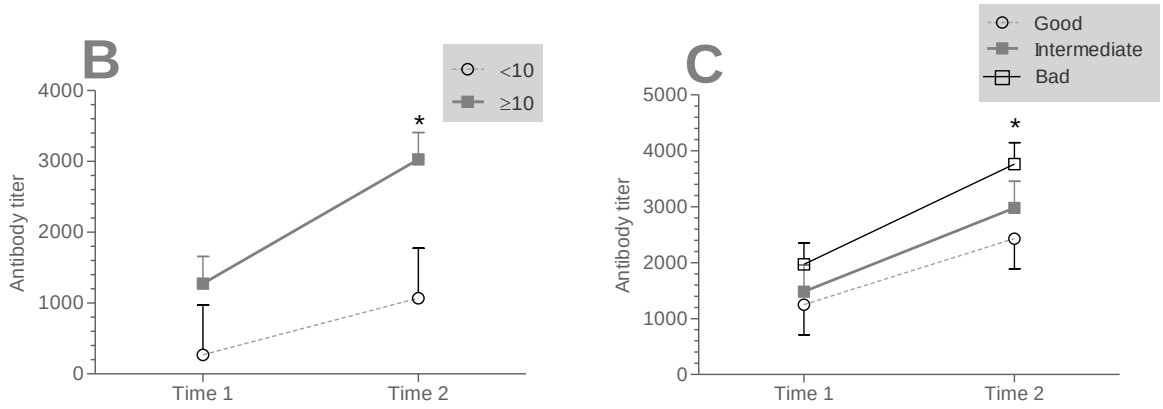


Figure 43: Effet de facteurs de risque pour IAFP (B. Souche, C. Hygiène).

I.V Discussion :

1.Etude sérologique :

Dans cette étude, nous nous sommes concentrés sur une étude séro-épidémiologique des principales infections virales aviaires à travers une enquête et l'analyse des échantillons en laboratoire en utilisant la méthode ELISA pour un but d'évaluer le statut immunitaire en analysant la prévalence sérologique de IAFP en élevage de poulets de chair dans le Nord d'Algérie.

Les résultats de la présente étude ont largement confirmé nos prévisions. Les élevages échantillonnés sont suspectés d'être infectés par iafp , qui expriment des symptômes cliniques et des lésions typiques avec une morbidité et une mortalité élevées. La vaccination utilisée est un vaccin vivant pour tous les élevages. Nos résultats d'analyse sérologique montrent que les élevages échantillonnés présentent une séropositivité de 63,33% pour IAFP .

En effet, le statut immunitaire en réponse aux maladies virales est estimé en mesurant la réponse sérologique objectivée par la détection d'anticorps spécifiques produits soit en réponse à une infection, soit après la vaccination (Picault et al., 1993 ; Fournier et al., 1995 ; Brigitte et al., 1997). D'autre part, les bandes protégées doivent avoir une moyenne de titre supérieur que le seuil de protection pour toutes les dates de l'analyse, sans être très élevé par rapport à celles résultant de la vaccination ou en l'absence de toutes sortes de signes cliniques spécifiques (Gardin et al, 2002).

En revanche, nos élevages échantillonnés étaient suspectés d'être infectés IAFP , sur la base de signes cliniques et nécropsiques typiques, et présentaient une morbidité et une mortalité élevées avec un taux élevé de titres d'anticorps. En effet, des épidémies ou des flambées ont été signalées dans les populations vaccinées malgré le fait que la vaccination est largement appliquée (Alexander, 2003 ; van Boven et al, 2008). Ainsi, les manifestations cliniques et lésionnelles des sujets atteints peuvent aider à diagnostiquer une maladie virale, mais une analyse en laboratoire (diagnostic de laboratoire) est nécessaire pour la confirmer (Banda, 2002 ; Hasan et al, 2010).

Bien que, le test ELISA ne permette pas la distinction entre les anticorps post-vicinaux et les anticorps post-infectieux en cas de vaccination avec le vaccin inactivé en tenir compte l'absence de signes cliniques, sachant que au cours de notre expérimentation tout les élevages prélevés ont été vaccinés avec un vaccin vivant qui produit un taux bas des titres

d'anticorps en le comparant avec un passage viral. Donc, l'absence ou la présence de signes cliniques et le type de vaccin utilisé doivent être pris en compte (van den Berg et al, 2000).

Dans la présente étude, nous avons prélevé des échantillons appariés pour déterminer l'état sérologique d'une maladie virale tel que IAFP , le premier échantillon a été prélevé au début de l'infection (l'apparition des signes cliniques), le deuxième deux à trois semaines plus tard. En effet, l'apparition d'anticorps entre deux sérums successifs (généralement échantillonnés dans un intervalle de 10 à 21 jours) indique que le premier contact avec le virus a eu lieu vers la période où le premier prélèvement a été effectué (De Wit, 2000 ; Lopez, 2006). En effet, une concentration d'anticorps obtenue augmentant entre 02 sérums collectés, cela indique que nous avons eu une stimulation du système immunitaire qui pourrait être due à une infection récente ou à une réactivation virale symptomatique, en l'absence de vaccination, la présence d'anticorps spécifiques contre un virus indique que le virus a infecté le poulet à un moment donné (Alexander et al, 2004)..

Cependant, l'interprétation des résultats de ces tests sérologiques est compliquée par le fait que les anticorps infectieux sont induits par les vaccins ne peuvent être différenciés et qu'il existe peu de données disponibles sur leur performance et les modalités d'interprétation des résultats (Auvigne et al, 2013).

2. Les facteurs influençant l'apparition de la maladie de l'influenza aviaire faiblement pathogène IAFP :

En ce qui concerne les facteurs affectant l'IAFP, les élevages avec la souche Cobb 500 ont été significativement plus séropositifs de 78% par rapport à la souche Hubbard-F15. Cependant, cette différence n'était pas évidente entre Arbor acres et Hubbard-F15strain. Certaines races ou souches sont intrinsèquement résistantes ou moins affectées par un agent pathogène qui peut être mortel pour d'autres sujets de la même espèce (Zekarias et al., 2002). En effet, Les poulets locaux semblent être un peu plus résistants à l'IAFP que les oiseaux exotiques (Tewari et al, 1992).

En revanche, Ratanasethakul (1989) a déclaré que les races de poulet indigènes locales sont plus résistantes à l'IAFP comparativement aux poulets de chair importés et aux races de souche, même Lee (1989) a déclaré que les oiseaux indigènes locaux ont une résistance supérieure à l'IAFP par rapport à la race commerciale. Martin (1992) a également estimé qu'il pourrait y avoir une certaine différence dans la susceptibilité chez les races de volailles autochtones dans le monde entier.

Alors que, une enquête sérologique réalisée pour déterminer les taux de prévalence des anticorps pour l'IAFP dans différentes races de poulets élevés dans différents systèmes n'a montré aucune tendance spécifique de la race (Ezeokoliet al, 1984). De même, Higgins et Shortridge (1988) ont indiqué qu'il n'y avait aucune différence dans la sensibilité au IAFP entre les races locales dans les petites exploitations locales et les races importées.

Ces divergences d'opinion sur la sensibilité relative des races indigènes et commerciales sont notées; à l'heure actuelle, l'importance de la sensibilité de la race dans l'épidémiologie de la maladie de L'influenza aviaire faiblement pathogéne Chez les volailles n'est pas claire (Awan et al., 1994).

Par conséquent, les élevages ayant une bonne hygiène étaient significativement moins séropositifs de 26% par rapport à celles dont l'hygiène est mauvaise. Il est clair que de bonnes mesures d'hygiène et de biosécurité visant à prévenir l'introduction de virus dans les fermes avicoles et à réduire ses pertes économiques (Ghaniei et al, 2012, Alexander et al, 2004).

En effet, la variabilité de la virulence de virus de IAFP pour les poulets et l'utilisation presque universelle des vaccins signifie que, si des mesures strictes de contrôle d'hygiène doivent être appliquées peuvent empêcher l'introduction d'une telle infection (Aldous et al, 2001; Dortmans et al., 2012).

Conclusion

Conclusion :

L'enquête sérologique menée dans cette étude a fourni une importante portée sur les maladies virales dominantes chez les poulets de chair et a révélé que la séroprévalence de l'IAFP est de 57%.

Les manifestations cliniques et les découvertes post mortem des oiseaux atteints peuvent aider à diagnostiquer une maladie, mais un diagnostic de laboratoire est nécessaire pour confirmer la maladie.

En autre, les résultats suggèrent également que les facteurs de risque liés à la biosécurité et aux pratiques agricoles semblent jouer un rôle important dans la gravité de la maladie observée dans les fermes touchées. Si ces facteurs sont atténués, la gravité des problèmes de la maladie de l'influenza aviaire faiblement pathogène dans les fermes sera grandement réduite.

L'enquête sérologique montre que H9N2 représente toujours un problème pour l'élevage avicole malgré la vaccination systématique, ce qui pourrait témoigner d'échecs vaccinaux sur le terrain. Nombreux sont les facteurs qui contribuent à l'aggravation des infections virales, toutefois, il serait possible de limiter ses dégâts en améliorant les conditions d'élevage.

En fin, l'aviculture joue un rôle socio-économique important dans l'économie des pays en développement. En revanche, elle se pratique dans des conditions d'élevage sommaires, constituant le lit des infections, ceci, est à l'origine de la faible productivité. Un meilleur contrôle et une meilleure conduite de cet élevage permet une optimisation de ce secteur d'activité.

Recommandations :

En tenant compte des résultats obtenus dans ce travail, certaines recommandations sont émises envers les autorités en charge de l'élevage, aux praticiens vétérinaires et aux éleveurs.

- Renforcer la surveillance épidémiologique au niveau des exploitations villageoises, des marchés de volailles, des frontières;
- Accroître les efforts d'amélioration et de soutien accordés au secteur de l'aviculture traditionnelle;
- Élargir l'étude de la séroprévalence des pathologies virales aviaires les plus rencontrées.

Conclusion

- La nécessité de mener des analyses sérologiques pour tout vétérinaire souhaitant vérifier la validité de son protocole face au contexte épidémiologique particulier de chaque élevage. En effet, vacciner sans contrôler revient, selon l'expression suivante " conduire un véhicule avec des yeux bandés" ;
- Il souligne également la nécessité de l'utilisation de vaccins plus efficaces contre les virus sauvages hyper virulents fortement suspectés sur le terrain et aussi par le renforcement de la protection par l'ajout d'un rappel vaccinal
- **Désinfectez** régulièrement votre poulailler. Nettoyez le sol souillé chaque semaine pour **éliminer les déjections**.
- Nettoyez, brossez **tous les accessoires** chaque semaine à l'eau de Javel.
- **Renouvelez l'eau** dans les abreuvoirs tous les jours.
- **Lavez les perchoirs** tous les quinze jours.
- Changez la paille ou le foin des nids au moins une fois par mois. **Renouvelez la litière souillée.**
- **Vermifugez** régulièrement vos volailles, au minimum deux fois par an.
- **Observez attentivement le plumage** de vos poules pour y traquer tout signe de parasites.
- **Isolez en quarantaine** chaque nouvelle poule que vous souhaitez intégrer à votre élevage (lire aussi : Acheter des poules de qualité). Aménagez un espace à part pour maintenir ces animaux le temps nécessaire.
- **Retirez toute poule blessée** ou qui vous semble malade pour éviter qu'elle ne contamine les autres volailles en les côtoyant de trop près.
- Une fois par an, de préférence en été, **récurez votre poulailler** avec des cristaux de soude.
- Sensibiliser, encadrer, et former les petits aviculteurs ;
- Promouvoir l'application effective des mesures de biosécurité en aviculture traditionnel

Références bibliographiques

Références bibliographiques

-Ada GL, Jones PD: The immune response to influenza infection. Curr Top Microbiol Immunol 1986

-Aldous et al, 2001; Dortmans et al., 2012

-Alexander et al, 2004.

Alexander, 2003 ; van Boven et al, 2008.

-ALEXANDER, Dennis J, 2000. A review of avian influenza in different bird species. In :*Veterinary Microbiology*. mai 2000. Vol. 74, n° 1‑ 2, p. 3‑ 13. DOI 10.1016/S0378-1135(00)00160-7.

-ALEXANDER, Dennis J, 2000. A review of avian influenza in different bird species. In

-AMIR, U.B., WERNERY, Ulrich, ILYUSHINA, N. et WEBSTER, R.G., 2007.Characterization of avian H9N2 influenza viruses from United Arab Emirates 2000 to 2003. In : Virology. avril 2007. Vol. 361, n° 1, p. 45-55.

-Anonyme 2012

-Anonyme *MediResource Inc. 1996 – 2021*

-ANONYME www.wikipedia.org 2021

-Anonyme2019 ..www.pasteur.fr

-Auvigne et al, 2013

-Awan et al., 1994

-Baco, 2011

-Banda, 2002 ; Hasan et al, 2010

-Beach (194), Banerjee et al (1994) et Alexander (1997).

-berthold.com

-Birds. In : *The Journal of Infectious Diseases*. 15 février 2008. Vol. 197, n° s1, p. S29‑ S33.CARON, A., GROSBOIS, V., ETTER, E., GAIDET, N. et DE GARINE-WICHATITSKY, CAUSEY, Douglas et EDWARDS, Scott V., 2008. Ecology of Avian Influenza Virus

-Birds. In : *The Journal of Infectious Diseases*. 15 février 2008. Vol. 197, n° s1, p. S29‑ S33.DOI 10.1086/524991.

- Brincks EL, et al: CD8 T cells utilize TRAIL to control influenza virus infection. J Immunol 2008

-capua *et al.* 2000 l'influenza aviaire hautement pathogène à virus H5N1 d'origine asiatique , Février 2008

Références bibliographiques

-CARON, A., GROSBOIS, V., ETTER, E., GAIDET, N. et DE GARINE-WICHATITSKY,M., 2014. Bridge hosts for avian influenza viruses at the wildlife/domestic interface: An ecoepidemiological framework implemented in southern Africa. In : *Preventive Veterinary Medicine*. décembre 2014. Vol. 117, n° 3- 4, p. 590- 600.DOI

-CAUSEY, Douglas et EDWARDS, Scott V., 2008. Ecology of Avian Influenza Virus in

-Chen, Smith et al. 2005.

-Control of Communicable Diseases Manual 20th Edition.American Public Health Association (2015). APHA Press, Washington

-Copyright © 2018 Elsevier B.V. or its licensors or contributors. ScienceDirect ® is a registered trademark of Elsevier B.V. Terms and conditions apply.

-Copyright © 2018 Elsevier B.V. or its licensors or contributors. ScienceDirect ® is a registered trademark of Elsevier B.V. Terms and conditions apply.

-De Wit, 2000 ; Lopez, 2006)

-Del Hoyo J., Elliot A. & Sargatal J. (eds) (1996). – Handbook of the birds of the world. Lynx Edicions, Barcelona.

-Disease, 2011 ScienceDirect is Elsevier's leading information solution for researchers.framework implemented in southern Africa. In : *Preventive Veterinary*

-Disease, 2011 ScienceDirect is Elsevier's leading information solution for researchers.DOI 10.1016/j.prevetmed.2014.09.014. DOI 10.1086/524991.

-Dr. KACEM N.S test ELISA 2020

-Dugan V.G., Chen R., Spiro D.J., Sengamalay N., Zaborsky J., Ghedin E., Nolting J., Swayne D.E. *et al.* (2008). – The evolutionary genetics and emergence of avian influenza viruses in wild birds. *PLoS Pathog.*, **4**, e1000076.

-Dugan V.G., Chen R., Spiro D.J., Sengamalay N., Zaborsky J.,Ghedin E., Nolting J., Swayne

-D.E. *et al.* (2008). – Theevolutionary genetics and emergence of avian influenza viruses in wild birds. *PLoS Pathog.*, **4**, e1000076.

-European Union (EU) (2006). – Diagnostic manual for avian influenza. Available,,at:http://eur-lex.europa.eu/LexUriServ/site/en/oj/2006/l_237/l_23720060831en00010027.Pdf (accessed in September 2008).

-Ezeokoliet al, 1984

- Fleming 1871. Contribution à l'analyse du risque de survenue d'une épizootie d'influenza aviaire en dombes Delphine Doctrinal Delphine Doctrinal. Contribution à l'analyse du risque

de survenue d'une épizootie d'Influenza Aviaire en Dombes. Autre [q-bio.OT]. Université Joseph-Fourier - Grenoble I, 2009

-Fouchier R.A., Munster V., Wallensten A., Bestebroer T.M., Herfst S., Smith D., Rimmelzwaan G.F., Olsen B. & Osterhaus A.D. (2005). – Characterization of a novel influenza A virus hemagglutinin subtype (H16) obtained from black-headed gulls. *J. Virol*

-Gardin et al, 2002).

-Ghaniei et al, 2012, Alexander et al, 2004

-Gill R.E., Butler R.W., Tomkovich P.S., Mundkur T. & Handel C.M. (1994). – Conservation of North Pacific shorebirds. *Trans. N. Am. Wildl. nat. Res. Conf.*, **59**, 63-78.

-Haghighi HR, et al: Identification of a dual-specific T cell epitope of the hemagglutinin antigen of an h5 avian influenza virus in chickens. PLoS One 2009

-Hatchette T.F., Walker D., Johnson C., Baker A., Pryor S.P. & Webster R.G. (2004). – Influenza A viruses in feral Canadian ducks: extensive reassortment in nature. *J. gen. Virol.*, **85**, 2327-2337.

-Heusinger 1853, mémoire : Contribution à l'analyse du risque de survenue d'une épizootie d'influenza aviaire en dombes Delphine Doctrinal Delphine Doctrinal. Contribution à l'analyse du risque de survenue d'une épizootie d'Influenza Aviaire en Dombes. Autre [q-bio.OT]. Université Joseph-Fourier - Grenoble I, 2009.

-Hoffmann E., Stech J., Guan Y., Webster R.G. & Perez D.R.(2001). – Universal primer set for the full-length amplification of all influenza A viruses. *Arch. Virol.*, **146**, 2275-2289.

-Hosseini, et al., 2018

http://content.sciendo.com/view/journals/pjvs/15/2/article-p323.xml

http://content.sciendo.com/view/journals/pjvs/15/2/article-p323.xml.

http://www.oie.int/fileadmin/Home/fr/Health_standards/tahm/2.03.04_AI.pdf.

https://www.oie.int

-Ilaria Capua et Calogero Terregino .caractéristique cliniques et anatomopathologiques des infections à virus ifluenza aviaire directives pour la visite des exploitation et diagnostic différentie Coordonné par I. Capua et D.J. Alexander, *In_ uenza aviaire et maladie de Newcastle* ISBN : 978_2_287_99336_7 © Springer-Verlag Paris 2013 **.**

-Ilaria Capua et Calogero Terregino Coordonné par I. Capua et D.J. Alexander, *Infuenza aviaire et maladie de Newcastle* In : *Polish Journal of Veterinary Sciences* [en ligne]. 1 janvier 2012. Vol. 15, n° 2. *Influenza*. février 2016. S.l. : s.n.

-Josanne H. Verhagen, ... Ron A.M. Fouchier, in Genetics and Evolution of Infectious M., 2014. Bridge hosts for avian influenza viruses at the wildlife/domestic interface: An ecoepidemiological *Medicine*. décembre 2014. Vol. 117, n° 3‑ 4, p. 590‑ 600.

-Josanne H. Verhagen, ... Ron A.M. Fouchier, in Genetics and Evolution of Infectious

-Kaci, et al., 2001

-Kapczynski DR: Evaluating the cell-mediated immune response of avian species to avian influenza viruses. Methods Mol Biol 2008

-Kawaoka Y., Yamnikova S., Chambers T.M., Lvov D.K. & Webster R.G. (1990). – Molecular characterization of a new hemagglutinin, subtype H14, of influenza A virus. *Virology*,

-Kishida N., Sakoda Y., Shiromoto M., Bai G.R., Isoda N., Takada A., Laver G. & Kida H. (2008). – H2N5 influenza virus isolates from terns in Australia: genetic reassortants between those of the Eurasian and American lineages. *Virus Genes*, **37**, 16-21.

-Kotani et al (1987), Crespo et al (1999), Talha et al (1999), Pazhanivel et al (2002), Hasan (2010) et Mohammed (2013).

-Krauss S., Obert C.A., Franks J., Walker D., Jones K., Seiler P., Niles L., Pryor S.P., *et al.* (2007). – Influenza in migratory birds and evidence of limited intercontinental virus exchange. *PLoS Pathog.*, **3**, e167.

-Krauss S., Obert C.A., Franks J., Walker D., Jones K.,Seiler P., Niles L., Pryor S.P., *et al.* (2007). – Influenza in migratory birds and evidence of limited intercontinental virus exchange. *PLoS Pathog.*, **3**, e167.

-Krauss S., Walker D., Pryor S.P., Niles L., Chenghong L., Hinshaw V.S. & Webster R.G. (2004). – Influenza A viruses of migrating wild aquatic birds in North America. *Vectorborne zoon. Dis.*

-Krauss S., Walker D., Pryor S.P., Niles L., Chenghong L., Hinshaw V.S. & Webster R.G. (2004). – Influenza A viruses of migrating wild aquatic birds in North America. *Vectorborne zoon. Dis.*, **4**, 177-189.

-Liu J.H., Okazaki K., Bai G.R., Shi W.M., Mweene A. & Kida H. (2004). – Interregional transmission of the internal protein genes of H2 influenza virus in migratory ducks from North America to Eurasia. *Virus Genes*, **29**, 81-86.

-LIU, Junli, YAO, Lu, ZHAI, Feifei, CHEN, Yuqing, LEI, Jing, BI, Zhenwei, HU, Jianhua, XIAO, Qian, SONG, Suquan, YAN, Liping et ZHOU, Jiyong, 2018. Development and application of a triplex real-time PCR assay for the simultaneous detection of avian influenza

virus subtype H5, H7 and H9. In : Journal of Virological Methods. février 2018. Vol. 252, p. 49-56. DOI 10.1016/j.jviromet.2017.11.005.

- Lowen, Mubareka et al. 2007.

-Macken C.A., Webby R.J. & Bruno W.J. (2006). – Genotype turnover by reassortment of replication complex genes from avian influenza A virus. *J. gen. Virol.*, **87**, 2803-2815.

-Makarova N.V., Kaverin N.V., Krauss S., Senne D. &Webster R.G. (1999). – Transmission of Eurasian avian H2 influenza virus to shorebirds in North America. *J. gen. Virol.*, **80** (12), 3167-3171.

-Munster V.J., Baas C., Lexmond P., Waldenstrom J., Wallensten A., Fransson T., Rimmelzwaan G.F., Beyer W.E. *et al.* (2007). – Spatial, temporal, and species variation in prevalence of influenza A viruses in wild migratory birds. *PLoS Pathog.*, **3**, e61.

-Nguyen D.C., Uyeki T.M., Jadhao S., Maines T., Shaw M., Matsuoka Y., Smith C., Rowe T. *et al.* (2005). – Isolation and characterization of avian influenza viruses, including highly pathogenic H5N1, from poultry in live bird markets in Hanoi, Vietnam, in 2001. *J. Virol.*, **79**, 4201-4212.

-Obenauer J.C., Denson J., Mehta P.K., Su X., Mukatira S., Finkelstein D.B., Xu X., Wang J. *et al.* (2006). – Large-scale sequence analysis of avian influenza isolates. *Science*, **311**, 1576-1580.

-Obenauer J.C., Denson J., Mehta P.K., Su X., Mukatira S., Finkelstein D.B., Xu X., Wang J. *et al.* (2006). – Large-scale sequence analysis of avian influenza isolates. *Science*, **311**, 1576-1580.

-OIE et THE CENTER FOR FOOD SECURITY AND PUBLIC HEALTH, 2016. Avian Influenza. février 2016. S.l. : s.n

-OIE et THE CENTER FOR FOOD SECURITY AND PUBLIC HEALTH, 2016. *Avian Influenza*. février 2016. S.l. : s.n.

-OIE, 2012. Newcastle disease (infection with Newcastle disease virus). In : Manual of diagnotic tests and vaccines for terrestrial animals (mammals, birds and bees) [en ligne]. S.l. : s.n.p.555-574.Disponibleàl'adresse :http://www.oie.int/fileadmin/Home/eng/Health_standards /tahm/2.03.14_NEWCASTLE_DIS. pdf.

-OIE, 2015. Avian Influenza (infection with avian influenza viruses). In : *Manual of diagnotic*

-OLSZEWSKA, M., MINIAS, P., KACZMAREK, K., JANISZEWSKI, T. et KLESZCZ, A., p. 1‑ 21 RUTVISUTTINUNT, Wiriya, CHINNAWIROTPISAN, Piyawan, SIMASATHIEN,

Sriluck, SHRESTHA, Sanjaya K., YOON, In-Kyu, KLUNGTHONG, Chonticha et FERNANDEZ, Stefan, 2013. Simultaneous and complete genome sequencing of influenza A and B with high coverage by Illumina MiSeq Platform. In : Journal of Virological Methods. novembre 2013. Vol. 193, n° 2, p. 394-404. DOI 10.1016/j.jviromet.2013.07.001

-OLSZEWSKA, M., MINIAS, P., KACZMAREK, K., JANISZEWSKI, T. et KLESZCZ,A.,2012,Avian influenza viruses in wild birds at the Jeziorsko reservoir in Poland in 2008-2010. In : *Polish Journal of Veterinary Sciences* [en ligne]. 1 janvier 2012. Vol. 15, n° 2. [Consulté le 7 octobre 2018]. DOI 10.2478/v10181-011-0150-4. Disponible à l'adresse : p. 1‑ 21. Disponible à l'adresse : http://www.oie.int/fileadmin/Home/fr/Health_standards/tahm/2.03.04_AI.pdf.

-Picault et al., 1993 ; Fournier e

-Rohm C., Zhou N., Suss J., Mackenzie J. & Webster R.G. (1996). – Characterization of a novel influenza hemagglutinin, H15: criteria for determination of influenza A subtypes. *Virology*, **217**, 508-516.

- Schafer J.R., Kawaoka Y., Bean W.J., Suss J., Senne D. &Webster R.G. (1993). – Origin of the pandemic 1957 H2 influenza A virus and the persistence of its possibleprogenitors in the avian reservoir. *Virology*, **194**, 781-788.

-Seo SH, Webster RG: Cross-reactive, cell-mediated immunity and protection of chickens from lethal H5N1 influenza virus infection in Hong Kong poultry markets. J Virol 2001

-Sharma JM: Introduction to poultry vaccines and immunity. Adv Vet Med1999,

-Sharp G.B., Kawaoka Y., Jones D.J., Bean W.J., Pryor S.P., Hinshaw V. & Webster R.G. (1997). – Coinfection of wild ducks by influenza A viruses: distribution patterns and biological significance. *J. Virol.*, **71**, 6128-6135.

-Singh S, et al: Avian influenza viral nucleocapsid and hemagglutinin proteins induce chicken CD8+ memory T lymphocytes. Virology 2010,

-ŚMIETANKA, K., MINTA, Z., WŁODARCZYK, R., WYROSTEK, K., JÓŹWIAK, M.,

-Spackman E. & Suarez D.L. (2008). – Detection and identification of the H5 hemagglutinin subtype by real-time RT-PCR. *Meth. molec. Biol.*, **436**, 27-33.

-Suarez D.L. & Perdue M.L. (1998). – Multiple alignment comparison the non-structural genes of influenza A viruses. *Virus Res.*, **54**, 59-69.

-Swayne and Suarez 2000

-Swayne DE, Senne DA, Beard CW: Avian Influenza. In A laboratroy manual for the isolation and identification of avian pathogens. Kennett Square: American Association of Avian Pathologists;Swayne DE 1996

tests and vaccines for terrestrial animals (mammals, birds and bees) [en ligne]. S.l. : s.n.

-Tewari et al, 1992

- THÈSE IMPACT DES VIRUS INFLUENZA AVIAIRE FAIBLEMENT PATHOGENS SUR LA REPENSE IMMUNE DE POULET ET REPENSE AUX ESCCHERICHIA COLIPATHOGENES AVIAIRES présentée par : Damien Garrido Soutenue le : 17 décembre 2018

-Topham DJ, Tripp RA, Doherty PC: CD8+ T cells clear influenza virus by perforin or Fas-dependent processes. J Immunol 1997,

-Tsukamoto K., Ashizawa H., Nakanishi K., Kaji N., Suzuki K., Okamatsu M., Yamaguchi S. & Mase M. (2008). – Subtyping of avian influenza viruses H1 to H15 on the basis of hemagglutinin genes by PCR assay and molecular determination of pathogenic potential. *J. clin. Microbiol.*, **46**, 3048-3055.

van den Berg et al, 2000).

-*Veterinary Microbiology*. mai 2000. Vol. 74, n° 1‑ 2, p. 3‑ 13. DOI 10.1016/S0378-

Wahlgren J., Waldenstrom J., Sahlin S., Haemig P.D., Fouchier R.A., Osterhaus A.D., Pinhassi J., Bonnedahl J. *et al.* (2008). – Gene segment reassortment between American and Asian lineages of avian influenza virus from waterfowl in the Beringia area. *Vector-borne zoon. Dis.*, **8** (6), 783-790.

-Wallensten A., Munster V.J., Elmberg J., Osterhaus A.D.,Fouchier R.A. & Olsen B. (2005). – Multiple gene segment reassortment between Eurasian and American lineages of influenza A virus (H6N2) in Guillemot (*Uria aalge*). *Arch. Virol.*, **150**, 1685-1692.

Webster R.G., Cox N. & Stohr K. (2002). – WHO manual on animal influenza diagnosis and surveillance.

Available.at:http://www.who.int/vaccine_research/diseases/influenza/WHO_manual_on_animal-diagnosis_and_surveillance_2002_5.pdf (accessed in September 2008).

-Webster R.G., Cox N. & Stohr K. (2002). – WHO manual on animal influenza diagnosis and surveillance.Available

http://www.who.int/vaccine_research/diseases/influenza/WHO_manual_on_animal diagnosis_and_surveillance_2002_5.pdf (accessed in September 2008).

- Webster, Yakhno et al. 1978.

Références bibliographiques

-WHITWORTH, Darrell, NEWMAN, Scott, MUNDKUR, Taej et HARRIS, Phil, 2010. Oiseaux Sauvages Et Influenza Aviaire Une Introduction a La Recherche Appliquee Sur Le Terrain Et Les Techniques D'echantillonnage Epidemiologique. S.l. : Food & Agriculture Org. ISBN 978-92-5-205908-0.1135(00)00160-7. 2012. Avian influenza viruses in wild birds at the Jeziorsko reservoir in Poland in 2008-2010.

-Winker K., McCracken K.G., Gibson D.D., Pruett C.L., Meier R., Huettmann F., Wege M., Kulikova I.V. *et al.* (2007). – Movements of birds and avian influenza from Asia into Alaska. *Emerg. infect. Dis.*, **13**, 547-552.

-World Health Organization (WHO) (1980). – A revision of the system of nomenclature for influenza viruses: a WHO memorandum. *Bull. WHO*.

-World Organisation for Animal Health (OIE) (2005). – Manual of diagnostic tests and vaccines for terrestrial animals. Available at :
http://www.oie.int/eng/normes/mmanual/A_00037.htm (accessed in September 2008).

-World Organisation for Animal Health (OIE) (2005). – Manual of diagnostic tests and vaccines for terrestrial animals. Available at :
http://www.oie.int/eng/normes/mmanual/A_00037.htm (accessed in September 2008)

-Zekarias et al., 2002.

-Zuchuat, *2014.*