

N° d'ordre :

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

People's Democratic Republic of Algeria

وزارة التعليم العالي و البحث العلمي

Ministry of Higher Education and Scientific Research



معهد العلوم البيطرية
**Institute of Veterinary
Sciences**

جامعة البليدة 1
University Blida-1



Projet de fin d'étude dans le but d'obtention du :

Diplôme de docteur vétérinaire

Thème :

**Séroprévalence de l'Influenza aviaire faiblement pathogène sous type
H9N2 dans des élevages de poulet de chair de la région centre algérien.**

Présenté par :

Dikhai Habiba

Présenté devant le jury :

Présidente :	Hammami N	MCA	ISV Blida
Examineur :	Salhi Omar	MCA	ISV Blida
Promoteur :	Lounas Abdelaziz	MCA	ISV Blida

Année universitaire **2023/2024**

Remerciements :

Avant tout je remercie le bon dieu de m'avoir aidé et de m'avoir donné la foi et la force pour achever ce modeste travail.

Un grand merci à **Mme Hamami N** qui m'a fait l'honneur de présider le jury.

Je remercie également **Dr Salhi** qui a accepté d'examiner et de discuter ce travail.

Je tiens à exprimer toute ma reconnaissance à mon directeur de mémoire **Dr Lounas**, Je le remercie de m'avoir encadré, orienté et conseillé.

Mes sincères remerciements s'adressent à tous les enseignants d'ISV Blida qui m'ont enseigné tout au long de ces années.

Dédicace :

Je dédie ce travail

À mes chers parents,

Les piliers de ma vie, Merci pour votre amour inconditionnel, vos sacrifices, vos encouragements constants et votre foi en moi. Je suis qui je suis grâce à vous.

À mon frère,

Pour les rires partagés, la présence rassurante que tu m'offres chaque jour et ton soutien moral tout au long de mes études.

À mes amis,

Ma deuxième famille, je vous dédie ce travail en souvenir de tous les moments inoubliables que nous avons partagés. Merci pour votre amitié sincère, votre joie de vivre et votre présence réconfortante dans ma vie.

À toute ma famille,

Je vous dédie ce travail en reconnaissance de l'amour qui nous unit et de la force que vous me donnez chaque jour. Merci pour votre soutien, vos encouragements et votre présence précieuse dans ma vie.

Je vous aime tous plus que les mots ne sauraient le dire.

Avec toute ma gratitude et mon affection,

Dikhai Habiba

Résumé :

La séroprévalence fait référence à la mesure de la présence d'anticorps spécifiques dans un échantillon de population à un moment donné. Dans le contexte de l'influenza aviaire, la séroprévalence est utilisée pour déterminer le niveau d'exposition des populations d'oiseaux à ce virus dans une région donnée.

L'objectif de ce travail c'est d'évaluer le niveau d'exposition des élevages de poulet de chair dans le centre d'Algérie à ce virus en détectant la présence d'anticorps dirigés contre celui-ci dans le sang des sujets étudiés.

Mots clés : Influenza aviaire, séroprévalence, poulet de chair.

ملخص:

الانتشار المصلي هو تقييم وجود الأجسام المضادة الخاصة ضمن عينة من السكان في لحظة زمنية محددة. في سياق إنفلونزا الطيور، تُستخدم الانتشار المصلي لتحديد مدى تعرض مجموعات الطيور لهذا الفيروس في منطقة معينة. هدف هذه الدراسة هو تقييم مستوى تعرض مزارع تربية الدواجن في الجزائر لهذا الفيروس من خلال كشف وجود الأجسام المضادة الموجهة ضده في دم الأفراد المدروسين. الكلمات الرئيسية: إنفلونزا الطيور، السيروبيدولوجيا، تربية الدواجن.

Abstract:

Seroepidemiology involves assessing the presence of specific antibodies within a population sample at a specific time. In the context of avian influenza, seroprevalence helps determine the extent of bird population exposure to the virus within a particular region. This study aims to evaluate the level of exposure of broiler chicken farms in Algeria to the virus by detecting antibodies directed against this virus in the blood of the subjects studied.

Keywords : Avian influenza, seroprevalence, broiler chicken.

Abréviation

AI/ IA : influenza aviaire.

VIA : virus influenza aviaire.

FIDA : le Fonds international de développement agricole.

FAO: Food and Agriculture Organization.

HPAI / IAHP : Influenza aviaire hautement pathogènes.

LPAI / IAHP : Influenza aviaire faiblement pathogènes.

APMV-1 : Paramyxovirus de type 1.

APMV-9 : Paramyxovirus de type 9.

CV : Coefficient de Variabilité.

DO : Densité Optique.

ELISA: Enzyme Linked Immuno Sorbent Assay.

GMT : Moyenne Géométrique des Titres.

IB : Bronchite Infectieuse.

IBDV : Virus Bursite Infectieuse.

IHA : Inhibition de l'hémagglutination.

MT : Moyenne des Titres.

ND : Newcastle Disease.

Ag : Antigène.

Nég : négatif.

Pos : positif.

E : élevage.

Vac : vacciné.

Table des matières

I	Introduction	1
II	Situation de l'aviculture en Algérie.....	3
II.1	Typologie de l'élevage.....	3
II.1.1	Type de système de production.....	3
II.1.2	Les conduits d'élevage avicole en Algérie.....	5
II.1.3	Les bâtiments.....	5
II.1.4	Les conditions d'ambiance	6
II.2	Les souches de poules en Algérie	7
III	Historique	9
III.1	Dans le monde.....	9
III.2	En Algérie	11
III.3	Définition.....	11
III.4	Etiologie.....	11
III.4.1	La structure du virus.....	12
III.5	Virulence	13
III.5.1	La forme LPAI	13
III.5.2	La forme HPAI.....	13
III.6	Symptômes.....	13
III.6.1	Symptômes en cas de LPAI.....	14
III.6.2	Symptômes en cas de HPAI	14
III.7	Lésions	16
III.7.1	Lésions macroscopiques.....	16
III.7.2	Lésions microscopiques.....	17
III.8	Diagnostic	19
III.8.1	Diagnostic clinique différentiel.....	19
III.8.2	Diagnostic de laboratoire	19
III.9	Prophylaxie	20
III.9.1	Prophylaxie sanitaire.....	20
III.9.2	Prophylaxie médicale	20
IV	L'intérêt de l'utilisation de la sérologie.....	23
IV.1	Différentes méthodes sérologiques dans le suivi de la prévalence d'influenza aviaire :	24
IV.1.1	Le test ELISA	24
IV.1.2	Immunodiffusion en gélose (IDG).....	25
IV.1.3	Épreuves d'hémagglutination et d'inhibition de l'hémagglutination	26

V	Objectif.....	28
V.1	Lieu d'étude.....	28
V.2	Matériel.....	28
V.2.1	Animaux.....	28
V.2.2	Matériel de prise de sang	29
V.2.3	Matériel de laboratoire	30
V.3	Méthode.....	34
V.3.1	Méthode sur le terrain : technique de prélèvement	34
V.3.2	Méthode de laboratoire	34
V.4	Résultats :.....	35
V.4.1	Interprétation des signes cliniques et examens post mortem de chaque élevage : 37	
V.5	Résultats des titres d'anticorps :.....	40
V.5.1	Elevage 1 :	40
V.5.2	Elevage2 :	40
V.5.3	Elevage3 :	41
V.5.4	Elevage 4 :	42
V.5.5	Elevage5 :	42
V.5.6	Elevage 6 :	43
V.5.7	Elevage 7 :	44
V.5.8	Elevage 8 :	44
V.5.9	Elevage 9 :	45
V.5.10	Elevage 10 :	46
V.6	Résultats de séroprévalence :	46
V.7	Conclusion :	50
VI	Reference	51

Liste des figures:

Figure II-1 élevage de poulet en batterie.	4
Figure II-2 image d'un élevage fermier au sol.	4
Figure II-3 élevage sur litière.	5
Figure II-4 la souche Arbor Acres.	7
Figure II-5 la souche Cobb 500.	7
Figure III-1 progression de l'épizootie dans le monde.	10
Figure III-2 Densité des foyers domestiques d'IAHP en Europe occidentale, par saison de 2015-2016 à 2020-2021.	10
Figure III-3 image qui représente la structure du virus de l'influenza aviaire.	12
Figure III-4 Mort subite dans des élevages de poulets de chair dû à l'influenza aviaire.	15
Figure III-5 poulet de chair avec des difficultés respiratoires.	15
Figure III-6 poulet en état de léthargie.	16
Figure III-7 Œdème de la tête d'une poule.	16
Figure III-8 images des lésions causées par l'Influenza aviaire.	18
Figure III-9 vaccination de poulet de chair (IA)	21
Figure V-1 échantillons sanguins.	29
Figure V-2 Microplaque de pré-dilution.	30
Figure V-3 image des réactifs ELISA FLUH9 indirect.	31
Figure V-4 préparation de la solution de lavage.	31
Figure V-5 étape de pré-dilution.	31
Figure V-6 Dépôt du conjugué.	32
Figure V-7 Réservoir de réactif.	32
Figure V-8 étape de lavage automatique.	32
Figure V-9 Logiciel de lecture des plaques.	33
Figure V-11 Des micropipettes.	33
Figure V-10 Lavage automatique.	33
Figure V-12 Bouchon fibrineux dans la trachée.	38
Figure V-13 Poulet en état de léthargie.	39
Figure V-14 Mortalité foudroyante.	39
Figure V-15 Bouchon fibrineux dans la bifurcation trachéo-bronchique.	39
Figure V-16 Représentation graphique des Résultats globaux des titres d'anticorps.	46
Figure V-17 Représentation graphique de la positivité en fonction de la vaccination.	47
Figure V-18 Représentation graphique Résultats globales de séropositivité.	48

Liste des tableaux :

Tableau 1 : les souches de poulet de chair présentes dans chaque élevage	p29
Tableau 2 : Pourcentage des souches de poulet de chair présentes dans les élevages de l'étude	P30
Table 1 : Informations générales sur les élevages de l'étude	P36
Tableau 1: résultat des titres d'anticorps de l'élevage 1	p41
Tableau 5 : résultat des titres d'anticorps de l'élevage 2	p41
Tableau 6 : résultat des titres d'anticorps de l'élevage 3	p42
Tableau 7 : résultat des titres d'anticorps de l'élevage 4	p42
Tableau 8 : résultat des titres d'anticorps de l'élevage 5	p43
Tableau 9 : résultat des titres d'anticorps de l'élevage 6	p43
Tableau 10 : résultat des titres d'anticorps de l'élevage 7	p44
Tableau 11 : résultat des titres d'anticorps de l'élevage 8	p45
Tableau 12 : résultat des titres d'anticorps de l'élevage 9	p45
Tableau 13 : résultat des titres d'anticorps de l'élevage 10	p46
Tableau 12: Résultats globaux des titres d'anticorps	P47
Tableau 15 : Résultats globales de séropositivité.....	p48

I Introduction

Les élevages de poulets de chair en Algérie jouent un rôle essentiel dans la production alimentaire du pays, fournissant une source importante de protéines animales pour la population et contribuant à l'économie nationale. Les élevages de poulets de chair en Algérie varient en taille, allant des petites exploitations familiales aux grandes installations commerciales et tous sont souvent confrontés à diverses maladies virales qui peuvent affecter la santé et la productivité des troupeaux, une des maladies les plus courantes est La grippe aviaire, également connue sous le nom d'influenza aviaire, qui est une maladie virale grave causée par des virus de type A, principalement par les sous-types H5, H7 et H9. Les virus de l'influenza aviaire sont classés comme étant hautement pathogènes (HPAI) ou faiblement pathogènes (LPAI). Les virus HPAI causent généralement des maladies graves chez les poulets et les dindes, tandis que les virus LPAI sont généralement beaucoup moins virulents pour tous les oiseaux, y compris la volaille, La différence entre les virus faiblement pathogènes et les virus hautement pathogènes peut être aussi petite qu'une modification sur un simple acide aminé du gène de l'hémagglutinine.

L'influenza aviaire circule depuis plus d'une centaine d'années. En 1878, une première manifestation, qui causa la mort de nombreux poulets en Italie, lui a valu le nom de « peste aviaire », depuis décembre 2003, de nombreux épisodes plus ou moins graves liés aux virus d'influenza aviaire hautement pathogènes ont été rapportés dans le monde, avec plusieurs conséquences telles qu'une mortalité élevée chez les volailles et les oiseaux sauvages, des conséquences immédiates et sévères sur l'économie agricole, menaçant les revenus des agriculteurs, la sécurité alimentaire et les échanges internationaux, ainsi qu'un risque significatif pour la santé publique.

L'objectif de cette étude est de déterminer la prévalence sérologique de l'IAFP H9 dans quelques élevages de poulet de chair de la région centre de l'Algérie, et ceci est réalisé par la technique ELISA.

Chapitre I

II Situation de l'aviculture en Algérie

L'aviculture se réfère à l'élevage des oiseaux, en particulier des volailles de basse-cour et des oiseaux d'agrément ou de chasse [2]. Cette pratique agricole s'inscrit dans divers contextes, allant de l'aviculture familiale à l'aviculture industrielle. L'aviculture familiale est courante dans les pays en développement, où de nombreuses personnes élèvent des volailles pour leur consommation domestique, la vente et divers usages socioculturels. En revanche, l'aviculture industrielle est essentielle pour répondre à la demande croissante en protéines animales et s'adapte aux transformations structurelles et macroéconomiques.

En Algérie, l'aviculture a historiquement été pratiquée selon un modèle fermier jusqu'aux années 1950, lorsque les premiers élevages de type industriel ont été introduits par les colons. La production locale a ensuite connu un développement significatif à partir de 1982, avec le soutien de projets financés par l'Organisation des Nations Unies pour le développement agricole (FAO) et le Fonds international de développement agricole (FIDA). [1]

En 1992, l'importation de l'œuf de consommation s'est arrêtée totalement. En 1993, la production nationale couvrait largement les besoins du pays. Aujourd'hui, l'Etat algérien compte pour une bonne part sur le développement de la production avicole pour améliorer l'alimentation des habitants en protéines animales amoindrie coût. Sur la base des productions réelles, les disponibilités en viande et en œufs par habitant en 2010 sont évaluées, en Algérie, respectivement à 8 kg et 124 œufs.

II.1 Typologie de l'élevage

En Algérie, l'aviculture s'étend sur un éventail de pratiques d'élevage, englobant à la fois les systèmes familiaux traditionnels et les installations industrielles modernes. Dans les pays en développement, de nombreux individus pratiquent l'aviculture familiale pour leur propre consommation, pour la vente sur les marchés locaux et pour des raisons socioculturelles variées. D'autre part, l'aviculture industrielle est devenue indispensable pour répondre à la demande croissante en protéines animales et s'ajuster aux changements structurels et macroéconomiques.

II.1.1 Type de système de production

II.1.1.1 Élevage en batterie

La gestion de l'ambiance à l'intérieur des bâtiments pose des défis majeurs, tout comme la présentation des animaux qui n'est pas satisfaisante, comme en témoigne le taux élevé d'ampoules au bréchet, atteignant 60%. Pour remédier à ces problèmes, il est envisagé de remplacer les matériaux métalliques actuels par des matériaux plastiques dans la

construction des équipements. Cependant, cette transition comporte des inconvénients potentiels, notamment un travail plus exigeant pour l'éleveur, un risque accru d'infections constantes chez les volailles, ainsi qu'une possible diminution de la fermeté de la viande de poulet, car les déplacements des animaux pourraient être limités. [3] [4]

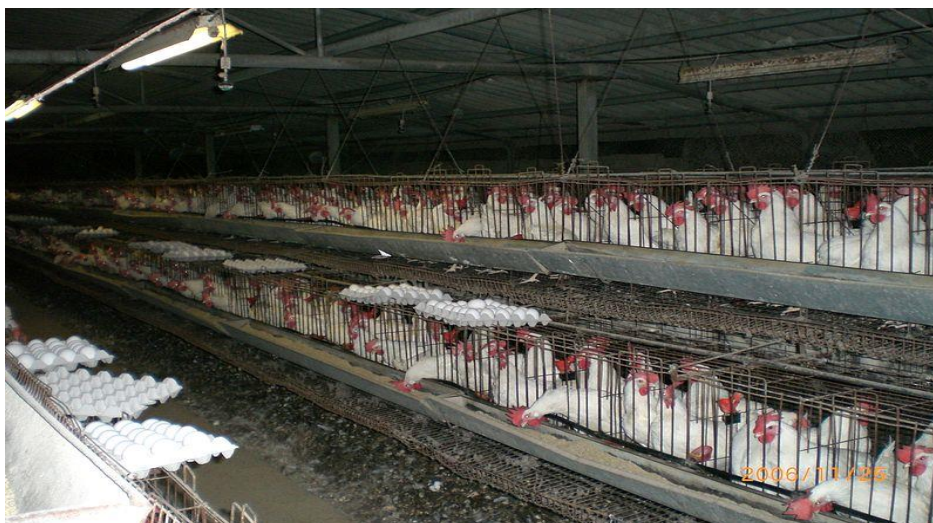


Figure II-1 élevage de poulet en batterie.

II.1.1.2 L'élevage fermier au sol

L'élevage de poulets fermiers au sol se fait sur une litière propre, sèche et souple. Les poulets ont un espace de vie plus grand que dans les élevages intensifs et ont accès à la lumière naturelle. Les souches de poulets fermiers sont de type rustique et sont sélectionnées pour leur croissance plus lente, ce qui réduit la fréquence des problèmes rencontrés en élevage intensif. Les poulets ont également accès à un parcours extérieur pendant la journée [5]. Cependant, il est important de noter que l'élevage au sol peut également être pratiqué de manière intensive, avec des conditions de vie similaires à celles des élevages en cage [6].



Figure II-2 image d'un élevage fermier au sol.

II.1.1.3 L'élevage sur litière

En règle générale, ce type d'élevage se déroule dans des bâtiments entièrement clos, éclairés exclusivement par des sources lumineuses artificielles. La surveillance est aisée, et la qualité de la viande ainsi que l'aspect des animaux destinés à la vente sont satisfaisants. Le bâtiment peut également être facilement réaménagé pour une autre production. Cependant, il existe un risque accru de parasitisme, notamment de coccidiose. De plus, la consommation énergétique est plus élevée que dans le cas de l'élevage en batterie, et la croissance des animaux peut être légèrement moins rapide [3].



Figure II-3 élevage sur litière.

II.1.2 Les conduits d'élevage avicole en Algérie

Les conduits d'élevage avicole en Algérie varient en fonction de divers facteurs, notamment la taille de l'élevage, les ressources disponibles et les normes sanitaires en vigueur. Dans de nombreux élevages, les bâtiments sont conçus pour offrir un environnement contrôlé, avec une ventilation adéquate pour assurer le bien-être des animaux. Les équipements tels que les systèmes de ventilation, d'éclairage et de distribution d'eau sont souvent intégrés pour répondre aux besoins spécifiques des volailles.

II.1.3 Les bâtiments

II.1.3.1 Choix du terrain

Le terrain doit être idéalement perméable, car les poulets sont sensibles aux sols humides. Dans les cas où le sol est légèrement imperméable, il est nécessaire de mettre en place des systèmes de drainage pour faciliter l'évacuation des eaux de pluie et des eaux usées. Cela permet de maintenir un environnement sec et hygiénique pour les volailles, favorisant ainsi leur santé et leur bien-être [9].

II.1.3.2 Le type de construction des bâtiments

Il est possible d'envisager deux stratégies diamétralement opposées :

II.1.3.2.1 Un bâtiment élaboré très isolé à ventilation dynamique

Une alternative serait de concevoir un bâtiment hautement isolé, équipé d'un système de ventilation dynamique thermostatique. Ce système permettrait de contrôler efficacement la température et l'humidité à l'intérieur du bâtiment. De plus, des dispositifs de nébulisation d'eau pourraient être installés aux entrées d'air, afin de bénéficier de l'effet de refroidissement par évaporation, contribuant ainsi au confort thermique des animaux [7].

II.1.3.2.2 Construction plus simple utilisant des matériaux locaux et de ventilation statique

Une alternative serait de privilégier une construction plus simple en utilisant des matériaux locaux et en optant pour une ventilation statique. Cela impliquerait de concevoir le bâtiment de manière à favoriser la circulation naturelle de l'air, en utilisant par exemple des ouvertures stratégiquement placées pour permettre une bonne aération. Ce type de construction pourrait être plus économique et adapté aux ressources disponibles localement [8].

II.1.3.3 Dimensions, surfaces et Orientation des bâtiments

Les spécifications pour la conception du poulailler sont déterminées en fonction du nombre de poulets à héberger. La densité recommandée est de dépasser 10 poulets par mètre carré. Les fenêtres des deux grands côtés doivent représenter le dixième de la superficie totale du poulailler. De plus, la hauteur maximale du poulailler ne doit pas dépasser 2,5 mètres. Enfin, la surface du poulailler doit être calculée en fonction de l'effectif visé, en respectant la densité de 10 poulets par mètre carré. [9]

II.1.4 Les conditions d'ambiance

II.1.4.1 La température

La maîtrise de la température est cruciale, notamment pendant les premiers jours de vie du poussin. Durant cette période, le jeune animal n'est pas capable de réguler sa propre température corporelle. Il acquiert cette capacité seulement à partir de l'âge de 5 jours et ne s'adapte pleinement aux variations de température qu'à partir de deux semaines. Il est donc essentiel de surveiller de près la température et de distinguer deux niveaux : la température sous l'éleveuse lorsqu'il est inactif, et la température ambiante du local dans lequel il se déplace [3][7].

II.1.4.2 L'humidité

Bien que d'humidité la luminosité n'ait pas d'effet direct sur le comportement des poulets, elle peut toutefois entraîner des perturbations indirectes. Selon la plupart des auteurs, un taux d'humidité compris entre 55% et 70% est généralement considéré comme acceptable.

II.1.4.3 L'éclairage

Ce paramètre environnemental agit à travers deux processus distincts : le rythme et l'intensité. Il se divise également en deux types : artificiel et naturel [10].

II.2 Les souches de poules en Algérie

Les souches de poules de chair les plus exploitées en Algérie sont la Cobb500 et l'Arbor Acres. Ces lignées sont choisies en raison de leurs performances et de leur capacité à s'adapter aux conditions climatiques et sanitaires spécifiques du pays. Une étude comparative entre ces deux lignées a été réalisée afin de déterminer leurs différences et leur adaptation aux conditions locales [11], ils sont sélectionnés pour leur capacité à produire de la viande de qualité de manière efficace. En Algérie, ces souches sont largement utilisées dans l'industrie avicole en raison de leurs performances en termes de gain de poids, de conversion alimentaire et de qualité de la viande. Leur adaptation aux conditions climatiques et sanitaires locales est également un facteur important dans leur choix.

Par ailleurs, la diversité des souches utilisées en Algérie, incluant la Tétr-SL, la ISA Brown et la Hy-line, reflète la recherche constante de l'industrie avicole algérienne pour améliorer la productivité et la rentabilité de l'élevage de poules de chair. Ces souches sont soigneusement sélectionnées pour répondre aux besoins spécifiques du marché local et pour garantir des performances optimales dans les conditions d'élevage du pays. [12]



Figure II-4 la souche Cobb 500



Figure II-5 la souche Arbor Acres.

Chapitre II

III Historique

III.1 Dans le monde

L'histoire de l'influenza aviaire commence probablement avec les premières descriptions de maladies similaires chez les oiseaux vers la fin du XIXe siècle. Cependant, il n'y a pas de preuve directe d'épidémies avant les années 1950. Depuis cette période, de nombreux épisodes plus ou moins graves liés aux virus d'influenza aviaire hautement pathogènes (IAHP) ont été rapportés dans le monde entier. Voici quelques dates marquantes dans l'histoire de l'influenza aviaire [24] [26] :

- En 1878, une première manifestation, qui causa la mort de nombreux poulets en Italie, lui a valu le nom de « peste aviaire » [27].
- Années 1950 : Premières épidémies documentées de l'IAHP.
- Début des années 1990 : Apparition du sous-type H5N1, qui a suscité beaucoup de préoccupations en raison de ses capacités à muter et à infecter les oiseaux et les humains.
- Fin des années 1990 : Épidémie massive de l'IAHP due au sous-type H5N1 en Asie, principalement en Thaïlande et en Indonésie [25].
- 2003-2004 : Réapparition de l'IAHP due au sous-type H5N1 en Turquie et en Royaume-Uni.
- 2004-2006 : Épidémie de l'IAHP due au sous-type H5N1 en Europe, principalement en Italie et en Pays-Bas.
- 2013-2016 : Épidémie de l'IAHP due au sous-type H5N1 en Corée du Sud [24].
- 2020-2021 : Épidémie de l'IAHP due au sous-type H5N1 en Europe, touchant les compartiments sauvages et domestiques, dans 29 pays [24].
- Depuis les années 1950, de nombreux épisodes plus ou moins graves liés aux virus d'influenza aviaire hautement pathogènes ont été rapportés dans le monde entier [25].

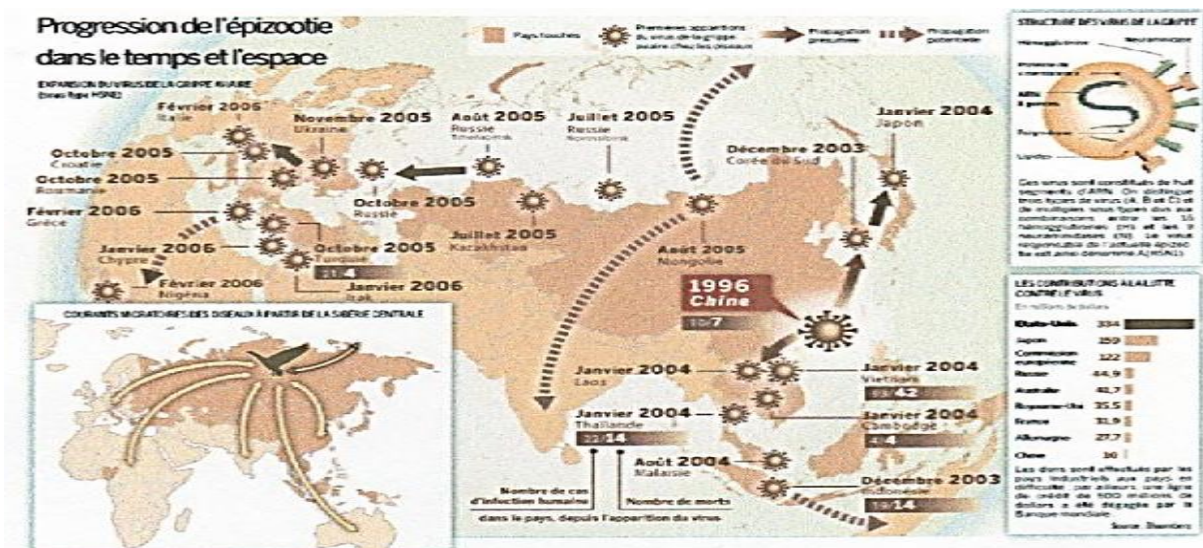


Figure III-1 progression de l'épizootie dans le monde.

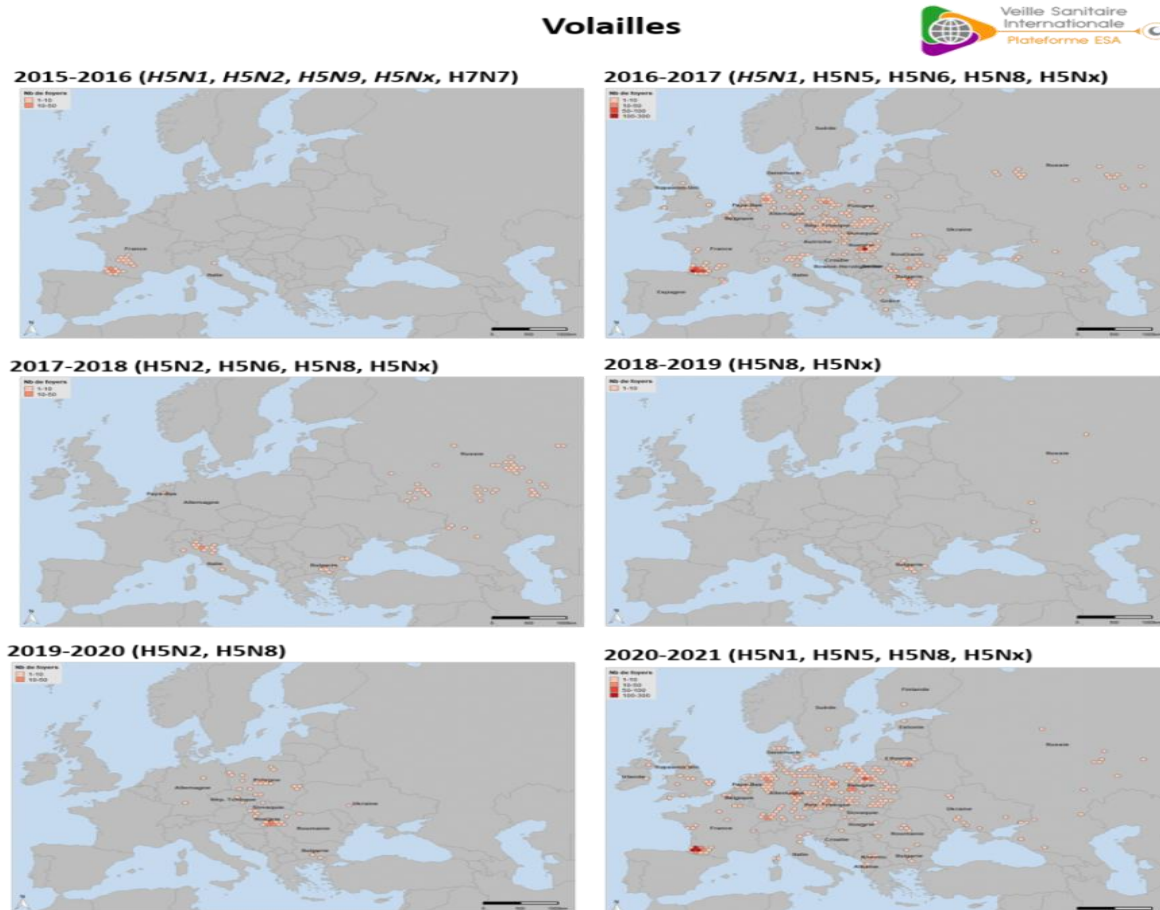


Figure III-2 Densité des foyers domestiques d'IAHP en Europe occidentale, par saison de 2015-2016 à 2020-2021.

III.2 En Algérie

- 2006 : Premier cas d'influenza aviaire hautement pathogène (IAHP) en Algérie, causé par le virus H5N1, dans un élevage de poulets de chair à Boufarik, Blida.
- Abattage de plus de 100 000 oiseaux pour endiguer la propagation du virus.
- 2012 : Deuxième cas d'IAHP, causé par le virus H5N1, dans un élevage de poulets de chair à El Taraf.
- Abattage de plus de 20 000 oiseaux.
- 2016 : Troisième cas d'IAHP, causé par le virus H5N1, dans un élevage de canards à Guelma.
- Abattage de plus de 3 000 oiseaux.
- 2020 : Quatrième cas d'IAHP, causé par le virus H5N1, dans un élevage de poulets de chair à M'Sila.
- Abattage de plus de 40 000 oiseaux.
- 2021 : Cinquième cas d'IAHP, causé par le virus H5N1, dans un élevage de poulets de chair à Oum El Bouaghi.
- Abattage de plus de 35 000 oiseaux.
- 2023 : Sixième cas d'IAHP, causé par le virus H5N1, dans un élevage de poulets de chair à Médéa.
- Abattage de plus de 38 000 oiseaux [15] [22] [23].

III.3 Définition

La grippe aviaire, aussi connue sous le nom d'influenza aviaire, définit une maladie infectieuse qui touche d'abord et avant tout les oiseaux et dont le taux de mortalité est très élevé chez les oiseaux d'élevage (poulet, oies, etc.).

III.4 Etiologie

Les virus influenza sont des virus à ARN à polarité négative, segmentés et de la famille des Orthomyxoviridae. Ils peuvent être subdivisés en 3 types antigéniques différents A, B et C. Cependant seuls les virus influenza de type A ont une importance en médecine vétérinaire, Les virus influenza de type A ont huit segments antigéniques différents encodant dix protéines virales différentes. Ces protéines comprennent les glycoprotéines de surface hémagglutinine et neuraminidase, la protéine de membrane de canal ionique et les protéines internes comportant la nucléocapside, les sous-unités de la polymérase PA, PB1, et PB2, la couche interne de l'enveloppe virale et les deux protéines non structurales NS1 et NS2. Les glycoprotéines de surface HA et NA sont considérées comme des protéines importantes en ce qui concerne la virulence du virus. La réponse en anticorps vis-à-vis de ces deux protéines

est l'aspect le plus important de la protection contre la maladie. Les gènes HA et NA présentent aussi le plus de séquences et de variations antigéniques de toutes les protéines de l'influenza. La protéine HA a 16 sous-types antigéniques définis H1-H16, et la NA a 9 sous-types antigéniques, N1-N9. La définition d'un sous-type antigénique correspond à l'apparition des anticorps contre un sous-type qui neutraliseront tous les autres virus de ce sous-type mais non les autres sous-types de l'influenza. [13]

Pour les volailles, les plus importants sont H5, H7 et H9. Leur pathogénicité est variable. On distingue les souches LPAI (faiblement pathogènes) et HPAI (hautement pathogènes).

III.4.1 La structure du virus

Les virus influenza A apparaissent comme des virus enveloppés de forme sphérique ou filamenteuse d'un diamètre variant de 80 à 120 MM. Les particules virales sont constituées d'une enveloppe, de matériel génétique et de protéines [14].

- L'enveloppe est la structure qui délimite le virus
- Le matériel génétique contient l'information qui permet la fabrication de nouvelles protéines.
- Les protéines assurent différentes fonctions : structure, attachement au cellules cibles, fusion, production de nouveaux virus ou encore protection contre les défenses de l'organisme, ces protéines peuvent se trouver au niveau de l'enveloppe ou à l'intérieur de la particule [13] 18].

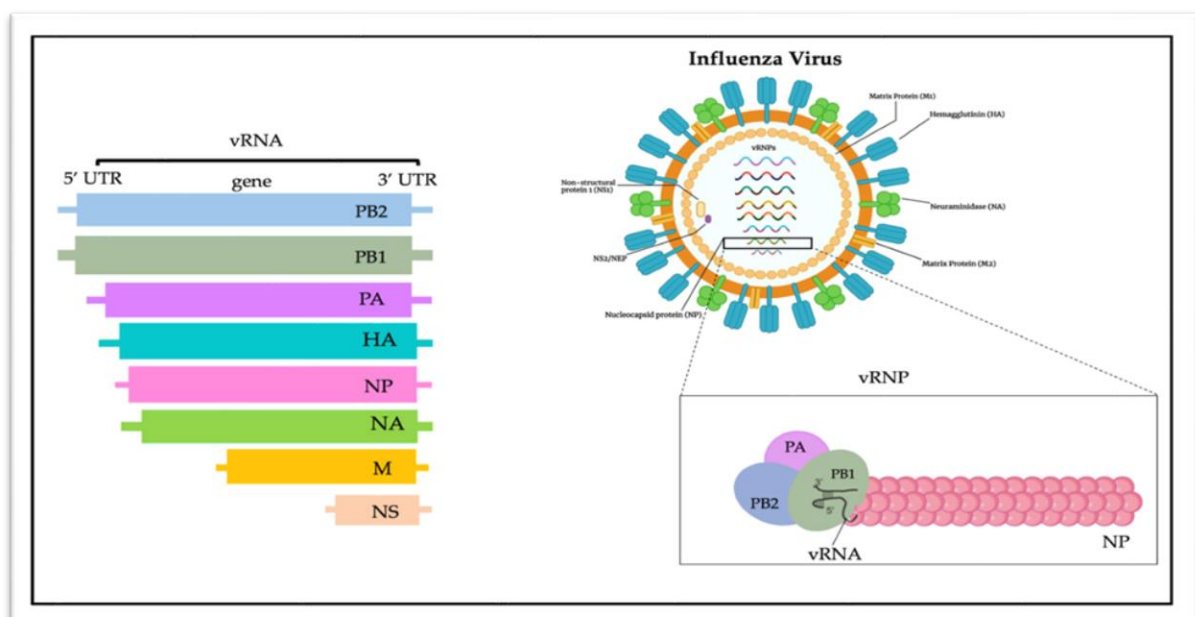


Figure III-3 image qui représente la structure du virus de l'influenza aviaire.

III.5 Virulence

La virulence de l'influenza aviaire varie selon les sous-types de virus et leur forme (faiblement pathogène ou fort pathogène) [14].

III.5.1 La forme LPAI

Le virus de l'influenza aviaire faiblement pathogène (LPAI), tel que le virus H9N2, est une menace pour les poulets de chair. Ces virus sont moins virulents que leurs homologues hautement pathogènes (HPAI). Malgré leur caractère faiblement pathogène, les LPAI peuvent muter et devenir des HPAI, posant un risque pour l'industrie avicole et la santé publique, ils peuvent également causer des infections asymptomatiques ou légères chez les oiseaux, mais ces infections peuvent servir de réservoirs pour la génération de nouveaux virus hautement pathogènes [15].

Les poulets de chair sont particulièrement vulnérables aux infections par le virus H9N2, car ils ont une dose infectieuse minimale très faible et une forte contagiosité. La vaccination contre le virus H9N2 chez les poulets de chair est recommandée, et il est important de choisir la bonne période pour la vaccination, soit au jour 1 dans le couvoir si le vaccin est efficace ou au jour 7 si le vaccin n'a pas une puissance immunogène suffisamment élevée pour éviter la compétition avec les anticorps maternels [14].

III.5.2 La forme HPAI

Les virus hautement pathogènes sont plus virulents et peuvent entraîner une maladie grave et un taux de mortalité élevé chez les poulets surtout dans les élevages intensifs. Les sous-types H5 et H7 du virus sont particulièrement préoccupants. Ils ont la capacité de muter pour devenir hautement pathogènes une fois qu'ils ont infecté des oiseaux domestiques, alors qu'ils étaient faiblement pathogènes au départ [16].

Les virus H5 et H7 sont couramment utilisés pour la vaccination contre la grippe aviaire en raison de leur propension accrue à devenir des virus hautement pathogènes. Les poulets infectés par ces virus peuvent présenter des signes cliniques graves, tels que des problèmes respiratoires, une perte d'appétit, une diminution de la production d'œufs et une mortalité élevée [17].

III.6 Symptômes

Les symptômes apparaissent après un temps d'incubation variant de quelques heures à 14 jours selon la souche virale et l'espèce atteinte. Ils seront très différents selon le pathotype du virus influenza (LPAI ou HPAI), l'espèce atteinte, l'âge, l'immunité acquise, le risque de surinfections et les facteurs d'environnement (la maladie diffuse plus facilement parmi les oiseaux sur parquet par comparaison avec les poules en cage de ponte) [16].

Il est essentiel de surveiller attentivement les signes cliniques chez les oiseaux infectés par l'influenza aviaire, car cette maladie peut avoir des conséquences graves pour les élevages avicoles et nécessite une réaction rapide pour limiter sa propagation.

III.6.1 Symptômes en cas de LPAI

En règle générale, les infections dues à des virus IAFP sont asymptomatiques chez les oiseaux « réservoirs ». Chez les volailles domestiques, l'atteinte du tractus respiratoire se traduit par des signes fonctionnels parfois sévères tels que [16] :

- Toux.
- Éternuements.
- Larmolement.
- Écoulement nasal.
- Apathie.
- Baisse modérée de la consommation alimentaire et de la production d'œufs.
- Faible mortalité.
- Plumage ébouriffé.

Il est essentiel de surveiller attentivement les signes cliniques chez les oiseaux infectés par l'influenza aviaire faiblement pathogène, car bien que les symptômes soient généralement bénins, une surveillance adéquate est nécessaire pour prévenir la propagation de la maladie et protéger la santé des animaux [19]

III.6.2 Symptômes en cas de HPAI

Chez les oiseaux domestiques, le premier signe d'alerte permettant de suspecter l'infection due au virus influenza hautement pathogène sera le taux de mortalité fulminant et excessif, proche de 100%, avec des morts subites sans symptômes préalables [16].

L'influenza aviaire hautement pathogène (IAHP) chez les poulets peut entraîner des symptômes graves, lorsque la maladie est moins fulminante et que l'on peut observer des symptômes sur 3 à 7 jours, Voici les signes cliniques associés à cette forme de la maladie [20] :

- Diminution de la production d'œufs.
- Baisse de l'appétit et de la consommation d'eau.
- Léthargie.
- Troubles respiratoires, tels que toux, éternuements et écoulement nasal
- Diarrhée.

- Symptômes nerveux, tels qu'ataxie, tremblements de la tête et du cou, décubitus, torticolis, opisthotonos et autres postures anormales.
- Cyanose (coloration bleuâtre) de la peau et des crêtes.
- Œdème de la tête et du cou [21].



Figure III-4 Mort subite dans des élevages de poulets de chair dû à l'influenza aviaire.



Figure III-5 poulet de chair avec des difficultés respiratoires.



Figure III-6 poulet en état de léthargie.



Figure III-7 Œdème de la tête d'une poule.

III.7 Lésions

III.7.1 Lésions macroscopiques

L'emplacement et la gravité des lésions macroscopiques observées lors d'une infection par l'influenza aviaire varient énormément.

III.7.1.1 En cas de HPAI

Le tableau clinique le plus dramatique, caractérisé par :

- Des lésions d'œdème.
- Septicémie.
- Nécrose de différents tissus (appareil respiratoire, tube digestif, téguments, appareil urogénital, cœur, rate, muscles...).
- Hyperhémie : Augmentation de la rougeur des tissus due à une dilatation des vaisseaux sanguins.
- Hémorragies.

- Œdèmes [13] [28].

III.7.1.2 En cas de LPAI

Lorsque l'infection est causée par un virus influenza faiblement pathogène, les lésions macroscopiques sont généralement le résultat d'une surinfection bactérienne par des agents tels que *Pasteurella multocida* ou *Escherichia coli*. Cette surinfection peut se manifester par :

- Une inflammation fibrinopurulente du tractus respiratoire.
- Une aérosacculite.
- Une péricardite.
- Une ponte abdominale [16].

III.7.1.3 Cas d'absence de lésions

Dans certains cas, notamment lors de morts subites sans signes cliniques précurseurs, il est possible de ne pas observer de lésions macroscopiques [20].

III.7.2 Lésions microscopiques

Les lésions macroscopiques observées lors d'une infection par un virus influenza ne sont pas spécifiques à cette maladie [28]. Elles peuvent être similaires à celles causées par d'autres agents pathogènes. Dans le cas d'une infection par un HPAI, on observe des lésions consécutives à une atteinte de tous les tissus (atteinte pantrope). Ces lésions se caractérisent par :

- Foyers de nécrose dégénérative : Mort et destruction des cellules dans des zones localisées.
- Lésions d'encéphalite : Inflammation du cerveau.
- Manchons lymphocytaires péri vasculaires : Infiltration de cellules immunitaires autour des vaisseaux sanguins [13] [16].

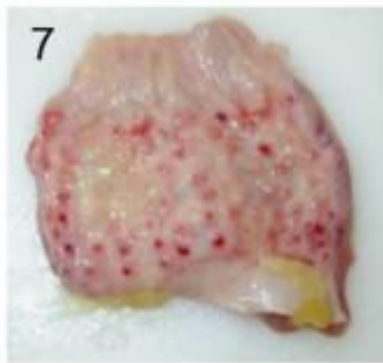
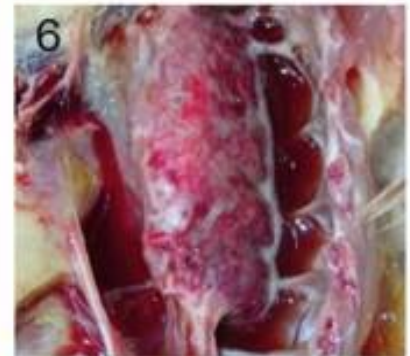
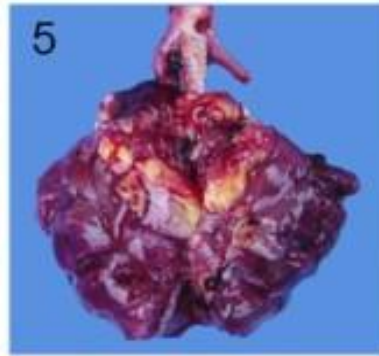
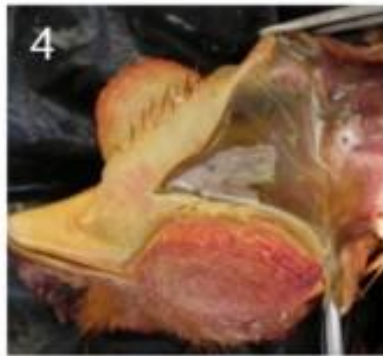
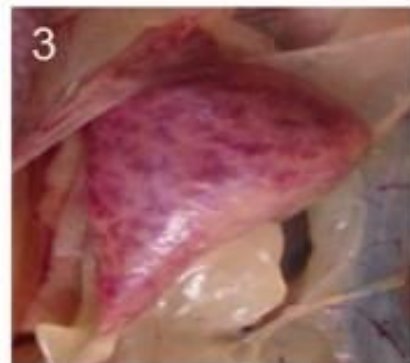
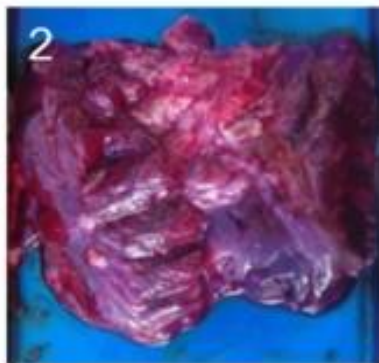
A**B**

Figure III-8 images des lésions causées par l'Influenza aviaire.

III.8 Diagnostic

III.8.1 Diagnostic clinique différentiel

Le diagnostic différentiel de l'influenza aviaire dépend de la gravité de la maladie [30].

III.8.1.1 En cas de LPAI

Le diagnostic différentiel se focalise principalement sur les autres maladies respiratoires aviaires [31] :

- Laryngotrachéite infectieuse aviaire.
- Pasteurellose aiguë.
- Salmonellose.
- Mycoplasmoses... [27].

III.8.1.2 En cas de HPAI

S'il s'agit d'un virus influenza hautement pathogène, le diagnostic différentiel concerne en premier lieu la forme vélégène de la maladie de Newcastle qui lui ressemble, d'où son nom de pseudopeste aviaire ou les autres affections responsables de mortalité importante et brutale dans les élevages [16].

III.8.2 Diagnostic de laboratoire

Le diagnostic de l'influenza aviaire se fait par isolement et caractérisation du virus. Il est nécessaire de reconnaître d'abord qu'il s'agit d'un virus influenza et de vérifier la virulence de celui-ci (LPAI ou HPAI), Il faut aussi déterminer le sous-type de celui-ci [31] [16] [27].

Les principales techniques employées pour identifier le virus dans les échantillons issus d'oiseaux suspects :

- Immunofluorescence indirecte (IFI) : Cette méthode permet de détecter le virus dans les échantillons de tissus ou de liquides biologiques en utilisant des anticorps fluorescents spécifiques aux protéines du virus [32].
- Polymerase Chain reaction (PCR) : La PCR est une technique génétique qui amplifie les segments d'ADN spécifiques du virus, permettant ainsi de déterminer sa présence dans les échantillons [32].
- Neuraminidase inhibition test : Ce test mesure l'activité de la neuraminidase, une enzyme produite par le virus, en présence d'anticorps spécifiques [32].
- Isolation du virus : L'isolement du virus dans des cultures cellulaires permet de confirmer sa présence et de déterminer son sous-type [32] [35].

III.9 Prophylaxie

III.9.1 Prophylaxie sanitaire

La prophylaxie sanitaire est l'ensemble des mesures prises pour prévenir l'introduction et la propagation de la maladie dans un élevage.

En Algérie, la prophylaxie sanitaire face à l'influenza aviaire chez le poulet repose sur plusieurs axes principaux [33] :

III.9.1.1 LA Biosécurité

- Mise en place d'un plan de biosécurité strict pour limiter les contacts entre les poulets et les animaux sauvages ou domestiques susceptibles d'être porteurs du virus.
- Contrôle des accès à l'élevage et des mouvements de personnes et de véhicules.
- Nettoyage et désinfection réguliers des bâtiments et du matériel d'élevage.
- Gestion des cadavres : incinération ou enfouissement profond.
- Sensibiliser et former le personnel des élevages sur les bonnes pratiques sanitaires et les mesures de biosécurité à mettre en place.
- Collaborer étroitement avec les autorités sanitaires nationales pour mettre en œuvre des plans d'intervention en cas de foyers avérés d'influenza aviaire [19] [30] [36].

III.9.1.2 LA surveillance

- Mise en place d'un système de surveillance clinique des oiseaux pour détecter les premiers signes de la maladie.
- Réalisation de tests de diagnostic en cas de suspicion d'influenza aviaire.
- Déclaration obligatoire des cas suspects aux autorités sanitaires [37].

III.9.1.3 Plan d'urgence

Elaboration d'un plan d'urgence pour faire face à une éventuelle épidémie d'influenza aviaire. Ce plan doit définir les actions à mener pour limiter la propagation de la maladie et protéger les élevages sains [27].

III.9.2 Prophylaxie médicale

En Algérie, la prophylaxie médicale contre l'influenza aviaire chez les poulets de chair repose principalement sur la vaccination systématique des animaux. Cette mesure préventive essentielle vise à réduire la propagation de la maladie et à protéger la santé des volailles mais elle ne garantit pas une protection totale. Les vaccins spécifiquement conçus contre l'influenza aviaire stimulent la réponse immunitaire des oiseaux, les rendant plus résistants à l'infection par le virus de l'influenza aviaire [38].

Aussi en Algérie, la vaccination contre l'influenza aviaire est obligatoire pour les élevages de poulets situés dans les zones à risque, ces dernières sont définies par les autorités sanitaires en fonction de la situation épidémiologique. Les vaccins utilisés contre l'influenza aviaire sont des vaccins inactivés qui sont administrés par voie injectable ou par voie oculaire [35].

Il est crucial de mettre en place un programme de vaccination régulier, adapté aux souches virales prédominantes dans la région, afin d'assurer une protection efficace des troupeaux de poulets de chair. De plus, il est recommandé de suivre les directives et recommandations des autorités sanitaires nationales et internationales en matière de prophylaxie médicale contre l'influenza aviaire. Cela garantit des pratiques conformes aux normes de biosécurité et de santé animale [37].

On a d'autres mesures de prophylaxie médicale tel que [36] :

- Antiviraux : L'utilisation d'antiviraux peut être envisagée dans certains cas, mais leur efficacité est limitée.
- Immunothérapie : L'immunothérapie est une technique prometteuse, mais elle n'est pas encore utilisée à grande échelle.



Figure III-9 vaccination de poulet de chair (IA)

Chapitre III

IV L'intérêt de l'utilisation de la sérologie

La sérologie est un examen biologique du sérum sanguin, soit le plasma sanguin retiré des facteurs de coagulation. Elle consiste à détecter et étudier les anticorps ou immunoglobulines dirigés contre un antigène, reflétant alors l'immunité ou statut sérologique de l'individu [40].

L'utilisation de la sérologie présente un intérêt majeur dans le domaine de la santé animale et humaine, en ce qui concerne la grippe aviaire chez le poulet, la sérologie permet de détecter la présence d'anticorps dirigés contre le virus de la grippe aviaire. Cela offre plusieurs avantages [39] :

- Détection des anticorps :
 - La sérologie permet d'identifier la présence d'anticorps dans le sang d'un individu.
 - Ces anticorps peuvent être liés à la présence d'agents pathogènes tels que les bactéries, les virus ou les parasites.
- Diagnostic des infections :
 - La sérologie est utilisée pour diagnostiquer des infections, notamment celles d'origine infectieuse (bactériennes ou virales).
 - Elle permet de rechercher les anticorps spécifiques produits en réponse à ces infections.
- Évaluation de l'immunité :
 - La sérologie évalue le statut immunitaire d'un individu vis-à-vis d'une infection.
 - Elle permet de savoir si un individu a rencontré un agent pathogène et développé des anticorps protecteurs.
- Surveillance épidémiologique :
 - La sérologie est utilisée pour réaliser des études de séroprévalence dans des groupes donnés.
 - Elle permet de surveiller la propagation des infections et d'adapter les mesures de prévention.

Dans le cas d'une suspicion d'infection à VIA les méthodes sérologiques ne sont pas un test de choix pour détecter l'infection à un stade précoce. Mais elles permettent, de révéler les infections HP lorsque l'animal survit en plus de la détection d'infections subcliniques par des virus influenza aviaires faiblement pathogènes. Les méthodes sérologiques sont alors utilisées sur le terrain dans le cadre des programmes annuels de surveillance [41].

Les tests sérologiques, introduits récemment dans le suivi des virus influenza aviaires, doivent être considérés à l'échelle globale d'une population. Même s'ils ont été développés

dans une optique de complément des données de virologie et biomoléculaire, ces tests fournissent un moyen de détecter l'implication des différentes espèces aviaires dans l'épidémiologie des VIA dans les situations où la détection virale est difficile, par exemple en raison d'un portage limité ou d'une intervention éloignée de l'infection. En particulier, les tests rapides pour un sous-type particulier de VIA peuvent améliorer notre capacité à évaluer l'exposition et le rôle potentiel de réservoir en temps réel à l'échelle d'une population [42].

IV.1 Différentes méthodes sérologiques dans le suivi de la prévalence d'influenza aviaire :

IV.1.1 Le test ELISA

IV.1.1.1 Généralités sur les ELISA

Les dosages immuno-enzymatiques ou ELISA (Enzyme Linked Immuno Sorbent Assay) sont des dosages dans lesquels l'antigène ou l'anticorps à doser est immobilisé (adsorbé) sur un support plastique par liaison à un réactif (anticorps ou antigène respectivement) présent sur ce dernier. La révélation de la réaction Antigène-Anticorps est possible grâce au marquage du réactif libre (antigène ou anticorps) par une enzyme. Cette enzyme est fixée de façon covalente à un antigène ou un anticorps libre. On dit que l'antigène ou l'anticorps libre est conjugué à une enzyme. L'activité de cette enzyme conjuguée est mise en évidence par des substrats chromogènes, par fluorométrie ou par chimioluminescence. Plusieurs modalités de dosage sont possibles, soit par compétition, soit par révélation directe ou indirecte (technique sandwich). Ils peuvent servir à doser aussi bien des antigènes que des anticorps. De nombreux montages sont ainsi possibles [43].

IV.1.1.2 Principe du test ELISA

L'ELISA est une méthode immuno-enzymatique qui permet de détecter une réaction antigène-anticorps en générant une coloration grâce à une enzyme fixée à l'anticorps et agissant sur un substrat [43].

IV.1.1.2.1 ELISA indirect

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 micro titration. 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.
- 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.

IV.1.1.2.2 ELISA direct

L'ELISA direct est fréquemment utilisé pour étudier la réponse immunitaire à un antigène, notamment dans des applications telles que la coloration immunohistochimique de cellules ou de tissus. Cette méthode nécessite l'immobilisation de l'antigène sur une plaque à puits multiples. Pour la détection, un anticorps directement conjugué à une enzyme est utilisé. Le protocole de cette méthode est relativement simple.

IV.1.2 Immunodiffusion en gélose (IDG)

IV.1.2.1 Généralités

Tous les virus influenza A possèdent des antigènes de nucléocapside et de matrice similaires. Cette propriété permet de détecter la présence ou non d'anticorps vis-à-vis de tout virus influenza A, par les épreuves d'IDG. Des préparations virales concentrées, comme décrites ci-dessus, contiennent à la fois des antigènes de matrice et de nucléocapside ; les antigènes de matrice diffusent plus vite que les antigènes de nucléocapside. Les épreuves d'IDG ont été largement utilisées, et ce en routine, pour détecter dans les lots de poulets et de dindes, des anticorps spécifiques témoins d'une infection. Ces épreuves ont en général mis en œuvre des préparations enrichies en nucléocapside obtenues à partir de membranes choriallantoïdiennes d'œufs embryonnés de poule infectée à 10 jours d'incubation, ces membranes étant ensuite homogénéisées, subissant 3 cycles de congélation-décongélation, puis étant centrifugées à 1 000 g. Les surnageants sont inactivés par l'addition de formol à 0,1 % ou 1 % de bêta-propiolactone, centrifugés à nouveau et utilisés comme antigène. Toutes les espèces aviaires ne produisent pas des anticorps précipitants après une infection à virus influenza [32].

IV.1.2.2 Principe

Les épreuves sont d'habitude réalisées à l'aide de gels d'agarose ou d'agar purifié à 1% (poids/volume) en tampon phosphate salin à 8 % (poids/volume), pH 7,2, versés en boîte de Petri ou sur lame de microscope, de manière à former une épaisseur de 2 à 3 mm. À l'aide d'une matrice et d'un cutter, des puits d'environ 5 mm de diamètre, placés à 2 ou 5 mm de distance, sont découpés dans la gélose. La disposition des puits doit être telle qu'elle place chaque sérum suspect à côté d'un sérum connu et de l'antigène. Ceci dans le but de permettre la mise en évidence d'une ligne identique entre le sérum connu, le sérum suspect et l'antigène de nucléocapside. Environ 50 µl de chacun des réactifs devront être déposés dans chaque puits. Les lignes de précipitation peuvent être détectées après environ 24 à 48 h, mais ceci peut dépendre des concentrations en anticorps et en antigène. Ces lignes sont plus visibles par transillumination oblique sur fond noir. Un résultat positif, spécifique est enregistré lorsque la ligne de précipitation entre le puits du sérum témoin positif et l'antigène est contiguë avec la ligne formée entre le puits du sérum à tester et l'antigène. Des lignes croisées sont interprétées comme un manque d'identité entre le sérum à tester et les anticorps présents dans le puits du sérum témoin positif [32].

IV.1.3 Épreuves d'hémagglutination et d'inhibition de l'hémagglutination

IV.1.3.1 Généralités

Ce test utilise des globules rouges et des antigènes viraux pour mesurer la capacité du sérum de poulet à inhiber l'agglutination des globules rouges. La présence d'anticorps neutralisants spécifiques empêchera l'agglutination, indiquant une exposition au virus. Le test HI est moins sensible que l'ELISA mais peut être utile pour différencier les sous-types viraux [46].

IV.1.3.2 Principe

Des variantes dans les procédures des épreuves d'hémagglutination et IHA sont mises en œuvre dans les différents laboratoires. Les exemples recommandés ci-après s'appliquent à l'utilisation de microplaques avec fonds en V dans lesquelles le volume final pour l'une ou l'autre épreuve est de 0,075 ml. Les réactifs requis pour ces épreuves sont du PBS isotonique (0,1 M), pH 7,0-7,2, et des globules rouges prélevés sur 3 poulets au moins et mélangés volume à volume avec une solution d'Alsever. Les hématies doivent être lavées 3 fois en PBS, avant d'être utilisées comme une suspension à partir du culot cellulaire, à 1 % volume à volume. Des antigènes et antisérums témoins positifs et négatifs appropriés doivent être utilisés avec chacune de ces épreuves [32].

Partie expérimentale

V Objectif

Le but de ce travail est de déterminer la prévalence sérologique de l'IAFP H9 dans quelques élevages de poulet de chair de la région centre de l'Algérie, et ceci est réalisé par la technique ELISA.

D'autres objectifs secondaires sont fixés en relation avec les facteurs de risques reliés à l'expression clinique de l'IAFP H9 dans les élevages de poulet de chair en Algérie.

V.1 Lieu d'étude

Cette étude est réalisée dans la région centre de l'Algérie, dans les régions de : Rouïba, Khmis El Khechna, Reghaia, Bouinan, Lakhdaria, Boumerdas, Ain Bessem, Eucalyptus et chiffa.

La localisation des élevages de l'étude est représentée dans la carte géographique suivante :

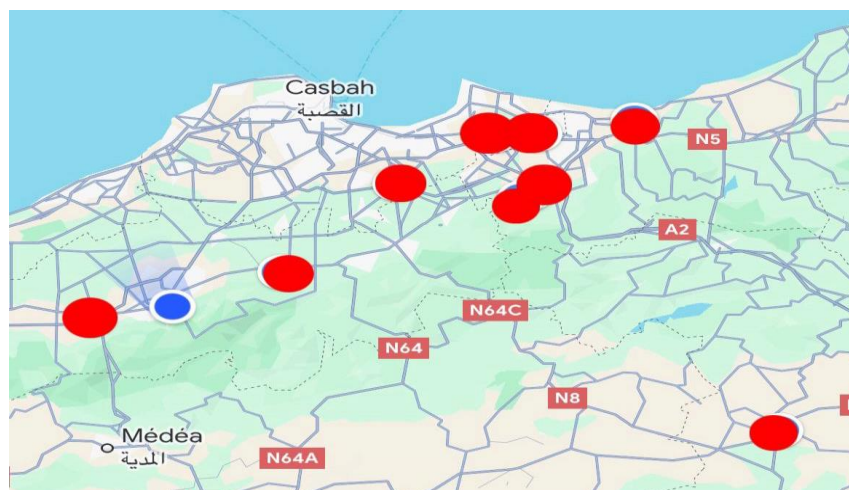


Figure 15 : Localisation géographique des élevages de l'étude.

V.2 Matériel

V.2.1 Animaux

L'étude sérologique est faite dans des élevages de poulets de chair où les souches de poulet sont : « Cobb 500 », « Hubbard Efficiency plus » et « Arbor Acres ».

Tableau 1 : les souches de poulet de chair présentes dans chaque élevage.

Le tableau suivant représente les différentes souches de poulet des élevages de l'étude.

Elevage	La souche
E1	Arbor-acres
E2	Cobb 500

E3	Cobb 500
E4	Efficiency
E5	Arbor-acres
E6	Cobb 500
E7	Cobb 500
E8	Efficiency
E9	Cobb 500
E10	Arbor-acres

Tableau 2 : Pourcentage des souches de poulet de chair présentes dans les élevages de l'étude.

Souches	Nb	%
Efficiency plus	2	20
Cobb 500	5	50
Arbor-acres	3	30

A travers l'analyse des résultats des souches de poulet il s'avère que la souche de poulet de chair la plus fréquente est la Cobb 500 avec un pourcentage de 50% suivie par la souche Arbor-acres avec un pourcentage de 30%. La souche la moins présente dans les élevages de l'étude est l'Efficiency plus avec un pourcentage de 20%.

V.2.2 Matériel de prise de sang

Pour le prélèvement de sang, on a utilisé des seringues, des aiguilles, des tubes vacutiner, des portes tubes, une glacière pour la conservation et le transport, et des marqueurs pour l'identification des échantillons.

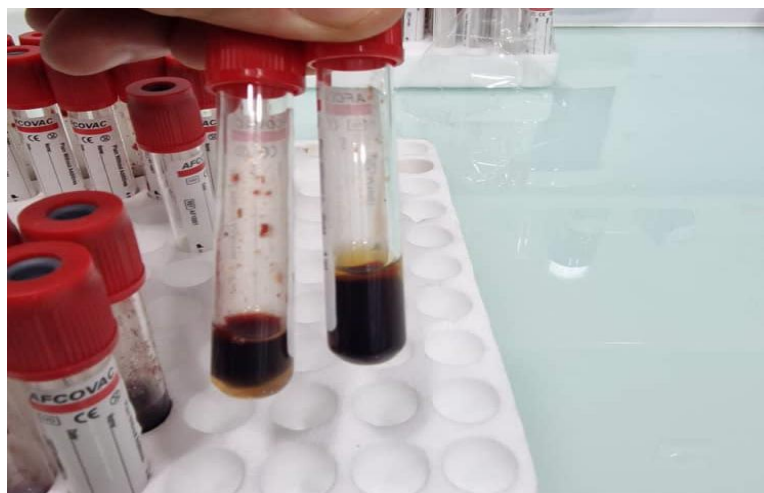


Figure V-1 échantillons sanguins.

V.2.3 Matériel de laboratoire

- Microplaques ELISA : Ce sont des plaques en plastique sécables à 96 puits qui servent de support solide à la réaction ELISA.
- Pipettes et micropipettes.
- Embouts de pipette (utilisés avec les pipettes pour éviter la contamination croisée.)
- Portoirs.
- Réactifs ELISA : Ce sont les composants biologiques et chimiques nécessaires à la réaction ELISA (Antigène de l'influenza, Anticorps de détection anti-influenza aviaire, Substrat, Tampon de lavage, Tampon de blocage.)
- Lecteur de microplaques BioTek ELx800.
- Laveur automatique BioTek ELx500
- Logiciel d'analyse de données.
- Gants.
- Masques.
- Tabliers de laboratoire.
- Réactifs (Eau distillée...etc)
- Réfrigérateur.
- Congélateur.
- Centrifugeuse.

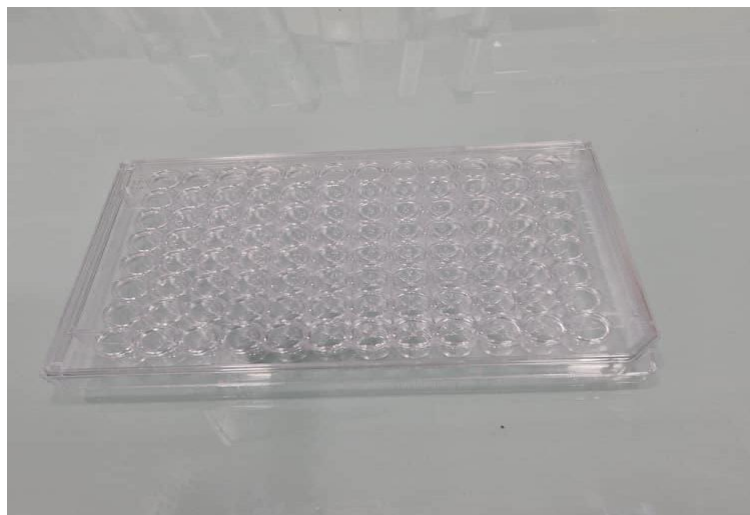


Figure V-2 Microplaque de pré-dilution.



Figure V-3 image des réactifs ELISA FLUH9 indirect.



Figure V-4 préparation de la solution de lavage.

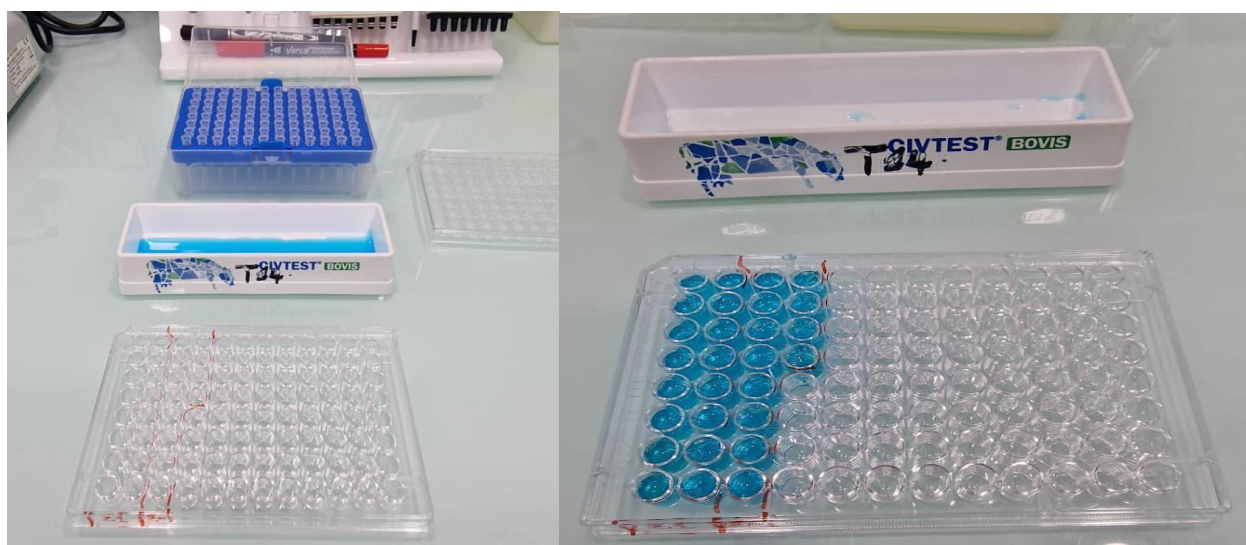


Figure V-5 étape de pré-dilution.

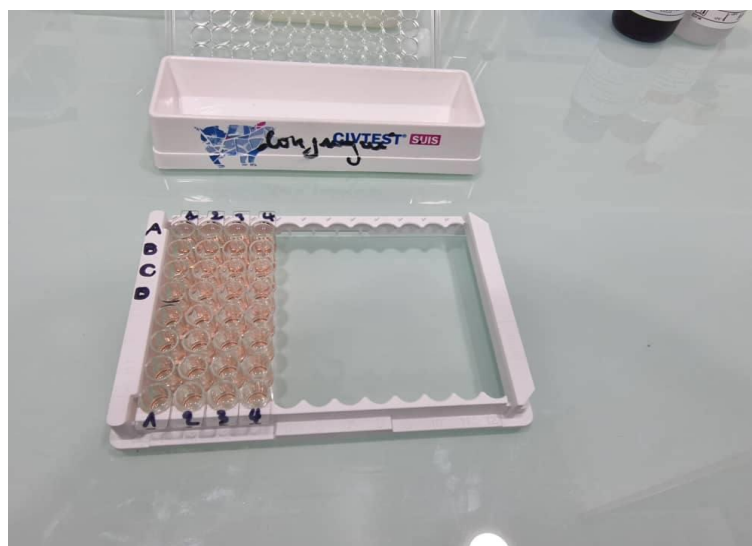


Figure V-6 Dépôt du conjugué.



Figure V-7 Réservoir de réactif.7

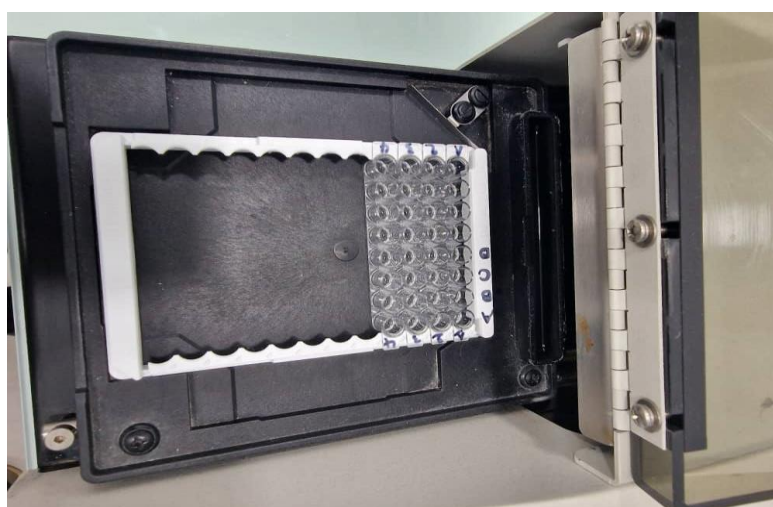


Figure V-8 étape de lavage automatique.



Figure V-9 Logiciel de lecture des plaques.



Figure V-11 Des micropipettes.

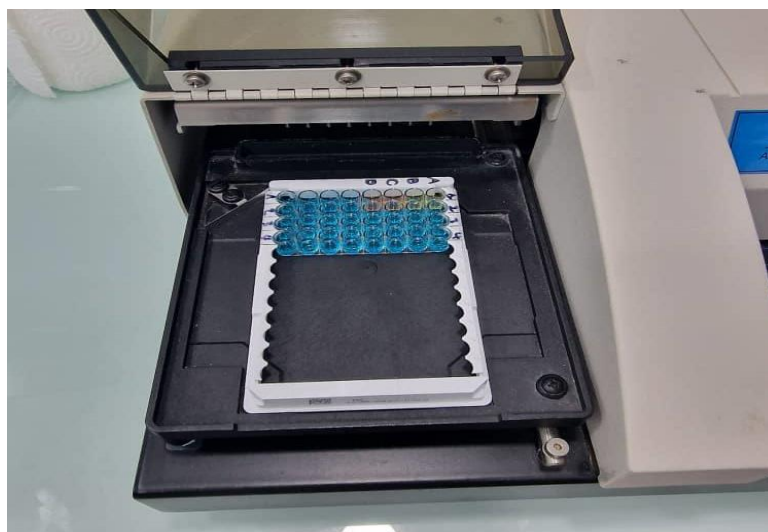


Figure V-10 Lavage automatique.

V.3 Méthode

V.3.1 Méthode sur le terrain : technique de prélèvement

La technique de prélèvement du sang a été réalisée au niveau de la veine alaire. Elle consiste au maintien du poulet fermement en le tenant par les pattes et la tête puis étendre l'aile du poulet et identifier la veine cubitale située sur la face interne de l'aile près de l'articulation du coude. Après avoir désinfecté la zone on pique la veine avec une aiguille stérile et on laisse le sang s'écouler dans un tube. Les prélèvements sont ensuite identifiés selon plusieurs critères (la région, l'ordre du prélèvement, le numéro de lot, la date du prélèvement...etc)

V.3.2 Méthode de laboratoire

V.3.2.1 Technique de récolte du sérum

Après décantation, les échantillons de sang sont centrifugés à 3000 tours/mn pendant 5 minutes. Les sérums sont recueillis dans de petits tubes en plastique, identifiés puis congelés à -20 °C.

V.3.2.2 Méthode d'analyse sérologique : ELISA

Ramener tous les réactifs à température ambiante 21°C avant l'emploi et les homogénéiser par retournement ou par Vortex.

Remarque : les contrôles négatif et positif sont fournis prêts à l'emploi, Ne pas ajouter le tampon de dilution aux puits contrôles.

1. Dans une plaque de pré-dilution, nous réservons les puits A1, B1, C1 et D1 et nous ajoutons 5 µL de l'échantillon à analyser puis 245 µL de tampon de dilution 14 dans chacun des puits, à l'exception des puits A1, B1, C1 et D1.

2. Dans la plaque ELISA nous ajoutons

- 100 µL du contrôle Négatif dans les puits A1 et B1.
- 100 µL du contrôle Positif dans les puits C1 et D1.
- 90 µL de tampon de dilution 9 dans les puits d'échantillons à analyser.
- 10 µL des échantillons pré-dilués.

3. Nous couvrons la plaque et l'incubons pendant 60 min (+/- 6 min) à 21°C

4. Nous préparons le conjugué 1X en diluant le conjugué concentré 10X au 1/10 ème en tampons de dilution 3.
5. Nous vidons les puits, puis nous lavons 3 fois chaque puits avec au minimum 300 µL de solution de lavage 1X. (éviter le dessèchement des puits entre lavage)
6. Nous distribuons 100 µL de conjugué 1X dans chaque puits.
7. Couvrir la plaque et incuber 30 min (+/- 3 min) a 21°C.
8. Nous vidons les puits, puis nous lavons 3 fois chaque puits avec au minimum 300 µL de solution de lavage 1X.
9. Nous distribuons 100 µL de solution de révélation dans chaque puits.
10. Couvrir la plaque et incuber 30 min (+/- 3 min) a 21°C.
11. Nous distribuons 100 µL de solution d'arrêt dans chaque puits en suivant le même ordre qu'en étape 9, pour arrêter la réaction.
12. Nous mesurons et enregistrons les densités optiques a 450nm.

V.3.2.2.1 Interprétation des résultats sérologiques

Les résultats de l'ELISA sont traités par le logiciel ID Soft™ 5.11. Afin de les interpréter, différents critères sont pris en compte ainsi que les signes cliniques les lésions et le protocole vaccinal. Tel que

- Positivité des sérums
- Moyenne des titres des anticorps
- Moyenne géométrique (GMT) : Coefficient de variabilité (CV)
- Bases lignes des moyennes des titres (Base interne du laboratoire MC labovet Algérie).

V.4 Résultats :

Table 2 : Informations générales sur les élevages de l'étude

Elevage	Age a l'examen post mortem	âge de début de la maladie (j)	Statut vaccinal	Taux de mortalité (%)
E1	Fin d'élevage	14	IB 4/91 : j1 B1+H120: j1 IB 4/91: j14 Avipro precise: j14	23

E2	Fin d'élevage	25	228 E : j14	26
E3	Fin d'élevage	32	Newxxitec : j1 BDA : j1 MA5+CLON30 : j1	28
E4	Fin d'élevage	30	MA5+CLON30 : j1	22
E5	Fin d'élevage	23	Newxxitec : j1 BDA : j1 MA5+CLON30 : j1 IB 4/91: j14 New Flu H9+ND: j18	12
E6	Fin d'élevage	25	IB 4/91: j14 B1+H120 : j1 ND CLON: j 10 GM 97 : j14	56
E7	Fin d'élevage	18	MA5+CLON30 : j1	13
E8	Fin d'élevage	35	IB 4/91: j1 B1+H120: j1 ND CLON: j 10 GM 97 : j11	45
E9	Fin d'élevage	24	IB 4/91: j4 B1+H120: j4 AVINEW: j7 GM 97 : j13	10
E10	Fin d'élevage	30	IB 88 : j3 ND+IF MLV : j3 GM97 : j14	20

Dans le tableau 3 nous avons un ensemble d'informations générales (Age, statut vaccinal, taux de mortalité...) sur chacun des 10 élevages étudiés dans cette enquête.

V.4.1 Interprétation des signes cliniques et examens post mortem de chaque élevage :

V.4.1.1 Elevage 1 :

Nous avons observé :

- Une Hypertrophie de la bourse.
- Des lésions hémorragiques dans les muscles, la bourse...
- Une néphrite.
- Des signes respiratoires tel que : trachéite, œdème de la tête...

V.4.1.2 Elevage 2 :

Nous avons observé :

- Une hypertrophie de la bourse.
- Présence de pétéchies dans le proventricule.
- Surinfection des lésions.

V.4.1.3 Elevage 3 :

Nous avons observé :

- Une néphrite.
- Des signes respiratoires tel que : trachéite, œdème de la tête...
- Surinfection des lésions.

V.4.1.4 Elevage 4 :

Nous avons observé :

- Une Hypertrophie de la bourse.
- Des lésions hémorragiques dans les muscles, la bourse...
- Une néphrite.
- Des signes respiratoires tel que : trachéite, œdème de la tête...

V.4.1.5 Elevage 5 :

Nous avons observé :

- Une néphrite.
- Des signes respiratoires tel que : trachéite, œdème de la tête...
- Présence d'un bouchon fibrineux dans la bifurcation trachéobronchique.

V.4.1.6 Elevage 6 :

Nous avons observé :

- Une néphrite.
- Des signes respiratoires tel que : trachéite, œdème de la tête...
- Présence d'un bouchon fibrineux dans la bifurcation trachéobronchique.

V.4.1.7 Elevage 7 :

Nous avons observé :

- Une Hypertrophie de la bourse.
- Des lésions hémorragiques dans les muscles, la bourse...
- Une néphrite.
- Des signes respiratoires tel que : trachéite, œdème de la tête...

V.4.1.8 Elevage 8 :

- Présence de pétéchies dans le proventricule.
- Surinfection des lésions.
- Une néphrite.
- Présence d'un bouchon fibrineux dans la bifurcation trachéobronchique.

V.4.1.9 Elevage 9 :

Nous avons observé :

- Un retard de croissance.
- Syndrome de malabsorption.
- Une néphrite.
- Des signes respiratoires tel que : trachéite, œdème de la tête...

V.4.1.10 Elevage 10 :

Nous avons observé :

- Des signes nerveux.
- Présence de pétéchies dans le proventricule.
- Surinfection des lésions.
- Des signes respiratoires tel que : trachéite, œdème de la tête...



Figure V-12 : Bouchon fibrineux dans la trachée.



Figure V-13 Poulet en état de léthargie.



Figure V-14 Mortalité foudroyante.



Figure V-15 Bouchon fibrineux dans la bifurcation trachéo-bronchique.

V.5 Résultats des titres d'anticorps :

V.5.1 Elevage 1 :

Tableau 3: résultat des titres d'anticorps de l'élevage 1.

Moy	92
Min	1
Max	92
Cv%	97
GMT	19
Pos	0
Neg	100
statut	Neg

Selon le tableau 4 nous constatons que pour l'élevage 1 nous avons :

- Le nombre de sérum positif 0/100.
- Le nombre de sérum négatif 100/100.
- La moyenne des titres est basse.

Ce qui signifie l'absence du virus AI dans cet élevage.

V.5.2 Elevage2 :

Tableau 4: résultat des titres d'anticorps de l'élevage 2.

Moy	356
Min	1
Max	1218
Cv%	119
GMT	102
Pos	30
Neg	70

statut	Neg
---------------	------------

Selon le tableau 5 nous constatons que pour l'élevage 2 nous avons :

- Nombre de sérum positif 30/100.
- Nombre de sérum négatif 70/100.
- La moyenne des titres est basse.

Ce qui signifie l'absence virus AI dans l'élevage 2.

V.5.3 Elevage3 :

Tableau 5: résultat des titres d'anticorps de l'élevage 3.

Moy	294
Min	1
Max	3969
Cv%	297
GMT	28
Pos	5
Neg	95
statut	Neg

Selon le tableau 6 nous constatons que pour l'élevage 3 nous avons :

- Nombres de sérum positif 5/100.
- Nombre de sérum négatif 95/100.
- La moyenne des titres est basse.

Ce qui signifie l'absence du virus IA dans cet élevage.

V.5.4 Elevage 4 :

Tableau 6: résultat des titres d'anticorps de l'élevage 4.

Moy	95
Min	1
Max	3969
Cv%	297
GMT	28
Pos	5
Neg	95
statut	Neg

Selon le **Tableau 7** nous constatons que pour l'élevage 4 nous avons :

- Nombre de sérum positif 5/100.
- Nombre de sérum négatif 95/100.
- La moyenne des titres est basse.

Ce qui signifie l'absence du virus AI dans l'élevage 4.

V.5.5 Elevage5 :

Tableau 7: résultat des titres d'anticorps de l'élevage 5.

Moy	242
Min	1
Max	1446
Cv%	162
GMT	60
Pos	15
Neg	85

statut	Neg
---------------	------------

Selon le tableau 8 nous constatons que pour l'élevage 5 nous avons :

- Nombre de sérum positif 15/100.
- Nombre de sérum négatif 85/100.
- La moyenne des titres est basse.

Ce qui signifie l'absence du virus AI dans l'élevage 5.

V.5.6 Elevage 6 :

Tableau 8: résultat des titres d'anticorps de l'élevage 6.

Moy	17044
Min	9480
Max	27966
Cv%	31
GMT	16,271
Pos	100
Neg	0
statut	Pos

Selon le **Tableau 9** nous constatons que pour l'élevage 6 nous avons :

- Nombre de sérum positif 100/100.
- Nombre de sérum négatif 0/100.
- La moyenne des titres est élevée.

Ce qui signifie la présence du virus AI dans l'élevage 6.

V.5.7 Elevage 7 :

Tableau 9: résultat des titres d'anticorps de l'élevage 7.

Moy	1633
Min	128
Max	6757
Cv%	95
GMT	1054
Pos	70
Neg	30
statut	Pos

Selon le tableau 10 nous constatons que pour l'élevage 7 nous avons :

- Nombre de sérum positif 70/100.
- Nombre de sérum négatif 30/100.
- La moyenne des titres est élevée.

Ce qui signifie la présence du virus AI dans l'élevage 7.

V.5.8 Elevage 8 :

Tableau 10: résultat des titres d'anticorps de l'élevage 8.

Moy	83
Min	3
Max	493
Cv%	135
GMT	43
Pos	0
Neg	100

statut	Neg
---------------	------------

Selon le **Tableau 11** nous constatons que pour l'élevage 4 nous avons :

- Nombre de sérum positif 0/100.
- Nombre de sérum négatif 100/100.
- La moyenne des titres est basse.

Ce qui signifie l'absence du virus AI dans l'élevage 8.

V.5.9 Elevage 9 :

Tableau 11: résultat des titres d'anticorps de l'élevage 9.

Moy	7648
Min	14
Max	17549
Cv%	82
GMT	3539
Pos	90
Neg	10
statut	Pos

Selon le tableau 12 nous constatons que pour l'élevage 9 nous avons :

- Nombre de sérum positif 90/100.
- Nombre de sérum négatif 10/100.
- La moyenne des titres est élevée.

Ce qui signifie la présence du virus AI dans l'élevage 9.

V.5.10 Elevage 10 :

Tableau 12: résultat des titres d'anticorps de l'élevage 10.

Moy	986
Min	2
Max	7148
Cv%	170
GMT	256
Pos	35
Neg	65
statut	Neg

Selon le tableau 13 nous constatons que pour l'élevage 4 nous avons :

- Nombre de sérum positif 35/100.
- Nombre de sérum négatif 65/100.
- La moyenne des titres est basse.

Ce qui signifie l'absence du virus AI dans l'élevage 10.

V.6 Résultats de séroprévalence :

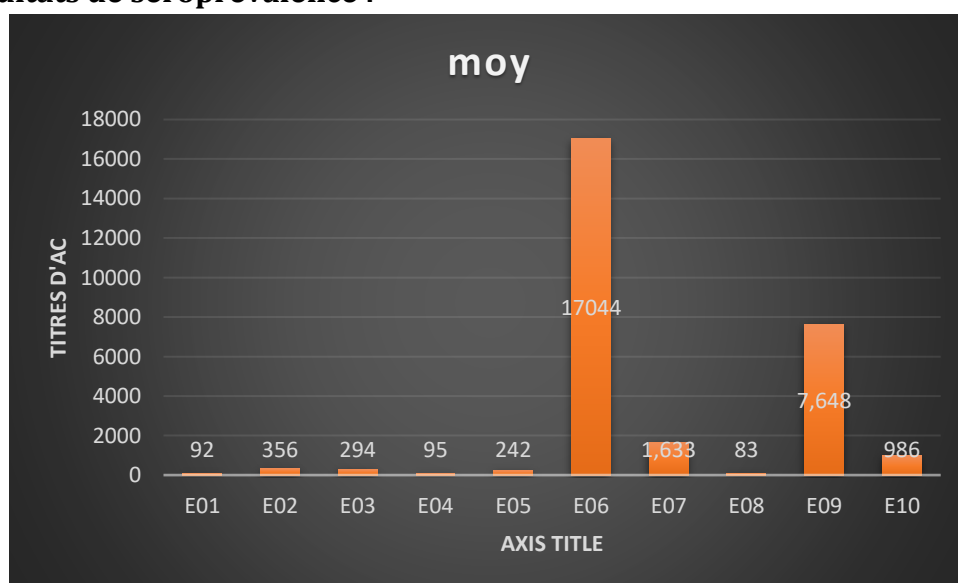


Figure V-16 Représentation graphique des Résultats globaux des titres d'anticorps.

Tableau 113: Résultats globaux des titres d'anticorps.

Ce tableau 14 regroupe les résultats globaux des titres d'anticorps dans les 10 élevages étudiés.

Elevages	moy	min	max	cv %	GMT	POS	NEG	Statut
E01	92	1	92	97	19	0	100	NEG
E02	356	1	1218	119	102	30	70	NEG
E03	294	1	3969	297	28	5	95	NEG
E04	95	1	698	219	8	0	100	NEG
E05	242	1	1446	162	60	15	85	NEG
E06	17044	9480	27966	31	16,271	100	0	POS
E07	1,633	128	6,757	95	1,054	70	30	POS
E08	83	3	493	135	43	0	100	NEG
E09	7,648	14	17,549	82	3,539	90	10	POS
E10	986	2	7,148	170	256	35	65	NEG

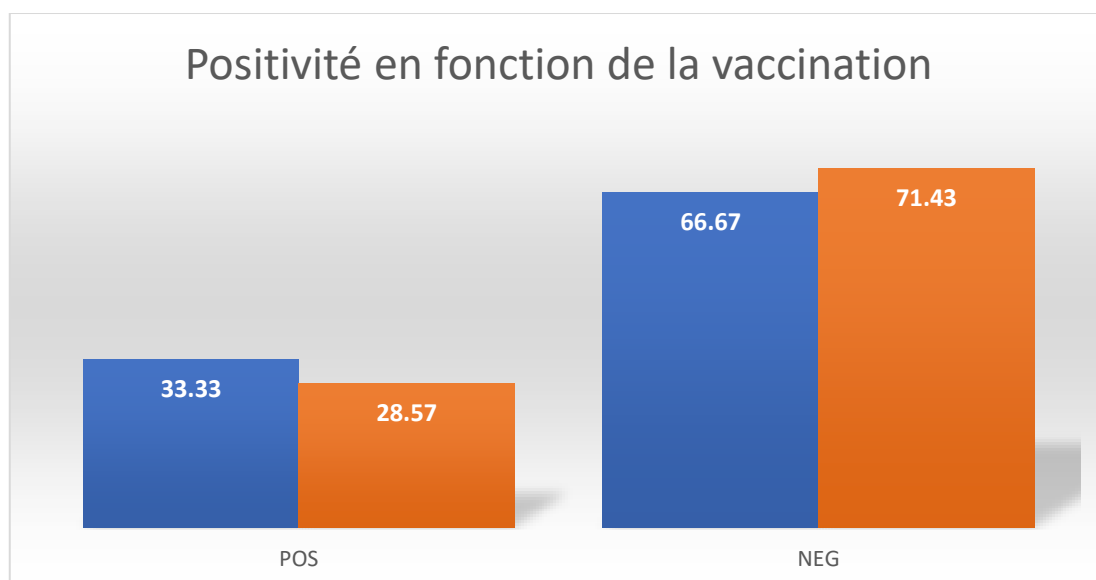


Figure V-17 Représentation graphique de la positivité en fonction de la vaccination.

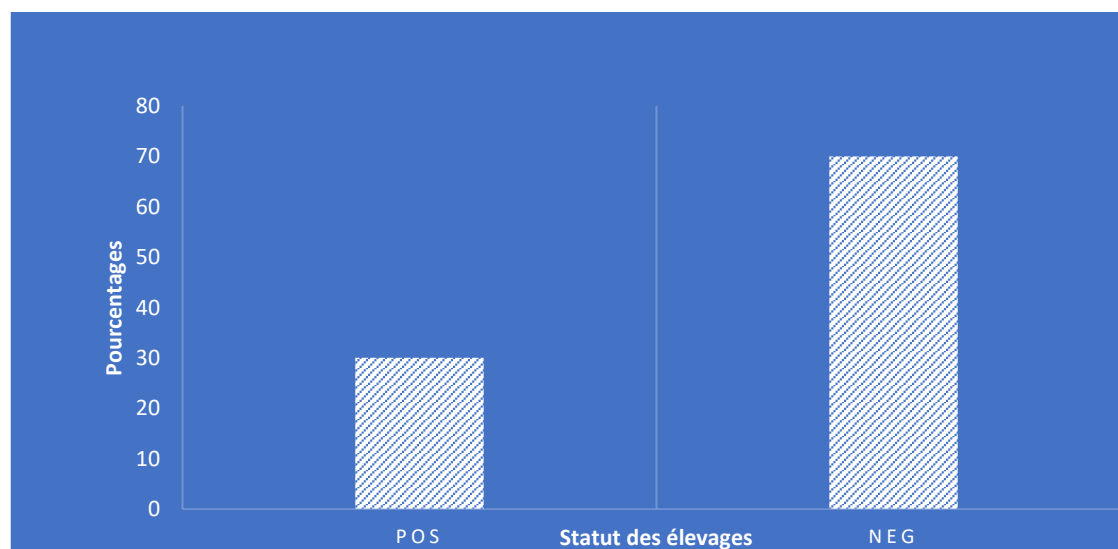


Figure V-18 Représentation graphique Résultats globales de séropositivité.

Tableau 15 : Résultats globales de séropositivité.

Dans le tableau 5 nous avons le résultat global de séropositivité selon le statut vaccinal des poulets.

Statut des élevages	Vac	Non Vac
POS	33.33	28.57
NEG	66.67	71.43

L'analyse des résultats de séropositivité révèle que 33.33% des élevages vaccinés ont été positif tandis le pourcentage de positivité dans les élevages non vaccinés été de 28.75%.

Discussion :

Notre analyse comprenait 200 échantillons de sang prélevés sur le terrain provenant de 10 exploitations avicoles soupçonnées d'être infectées par le virus de la grippe aviaire de type H9N2 à faible pathogénicité (LPAI) et présentant principalement des signes respiratoires ainsi que des performances zootechniques médiocres (retard de croissance, diminution de la consommation d'aliments et mortalités), comme rapporté précédemment [50].

Les résultats ont révélé que 30 % des échantillons étaient positifs pour le virus de la grippe aviaire de type H9N2 à faible pathogénicité (LPAIV H9N2). Cependant, nous ne pouvons pas extrapoler ces résultats sur le profil épidémiologique du virus LPAI H9N2 en Algérie, car notre échantillonnage n'était pas suffisamment représentatif du territoire national et seules 03 régions sur 58 (Blida, Alger, Boumerdes) ont été échantillonnées. La propagation du virus LPAI H9N2 en Algérie peut principalement s'expliquer par les déplacements des éleveurs, des travailleurs et des fournisseurs d'aliments sans respect des règles de biosécurité, auxquels s'ajoute le transport de poulets vivants [47, 48, 49]. Il est à noter que l'application des mesures sanitaires de biosécurité dans les élevages de poulets de chair s'est révélée insuffisante pour prévenir l'entrée du virus [49].

Le taux de positivité des exploitations avicoles positives pour le virus H9N2 a été estimé à 28.57 % dans les élevages de poulets non vaccinés (02 exploitations positives sur 07 exploitations de poulets non vaccinés testées), tandis qu'il atteignait 33,33 % dans les élevages de poulets vaccinés (01 exploitation positive sur 03 exploitations de poulets vaccinés testées). Une étude récente évaluant l'efficacité de quatre vaccins commerciaux différents contre la souche SF1 du virus H9N2 LPAIV a montré qu'ils conféraient une protection très limitée contre l'infection [51]. Park et ses collaborateurs ont indiqué que la vaccination contre le virus H9N2, couplée à une infection continue des troupeaux vaccinés, favorise la sélection de virus mutants [52], tandis que d'autres études rapportent que la vaccination diminue la pression virale sur le terrain en réduisant le niveau et la durée de l'excrétion virale [53]. D'autres explications incluent la qualité du vaccin (soit qu'il n'était pas de la même souche que le virus circulant actuellement, soit qu'il avait une faible concentration en antigène [54,55]). Nous n'avons pas pu recueillir suffisamment

d'informations sur les vaccins utilisés et leur composition pour pouvoir conclure sur ce point.

De plus, le taux de vaccination contre le virus H9N2 était faible (41%), ce qui peut s'expliquer par le coût élevé de la vaccination ou par le fait que certains éleveurs considèrent que le vaccin est inefficace.

V.7 Conclusion :

Cette étude a porté sur 10 élevages de poulet de chair dans la région centre de l'Algérie. Par l'utilisation de la technique ELISA les résultats obtenus ont montré que 30 % des échantillons étaient positifs, ce qui indique un taux de prévalence modéré du virus dans la population de poulets.

Néanmoins, ce taux de prévalence relativement faible suggère que le virus ne circule pas activement dans la zone étudiée.

La grippe aviaire peut être contrôlée par la vaccination. La vaccination aide à prévenir cette maladie en stimulant ou en renforçant le système immunitaire des poulets en produisant des anticorps contre la maladie dont on vaccine contre elle.

VI Reference

- [1] FERRAH A., 1996. Bases économiques et techniques de l'industrie d'accoupage "Chair" et "ponte" en Algérie. ITPE, Alger. P96.
- [2] Besbeset al, 2012, ResearchGate.
- [3] SURDEAU et HENAFF, 1979. La production du poulet. Ed J.- B.BAILLIERE, Paris. p155.
- [4] I.T.P.E, 1997. Moyenne du testage, synthèse des rapports du centre de testage.
- [5] LAOUER H., 1987. Analyse des pertes du poulet de chair au centre avicole de Tazoult Mém d'ING, INESA, Batna. P105.
- [6] Anonyme, 2016. Magazine dédié à l'actualité des industries de la nutrition animale www.revue-alimentation-animale.fr. Consulté le 27/06/2017.
- [7] Bellaoui G., 1990. Réflexion sur la situation de l'élevage avicole type chair dans la wilaya de Tindouf perspectives de développement. Mémo. D'ING. Agro. INFSAS, Ouargla. P 37.
- [8] Fedida D., 1996. « Santé animale de l'aviculture tropicale ». Guide Sanofi, France. p 117.
- [9] Buldgen J., 1996. « Aviculture semi industrielle en climat subtropical ».
- [10] CASTANIG 1979. Aviculture et petits élevages. 3eme Edition J. B. Bailliere, Paris 1979.
- [11] Kebdani, Abdellah Naalamene, Ikmel Hichem ÉTUDE COMPARATIVE ENTRE DEUX SOUCHES DE POULET DE CHAIR 2019.
- [12] Belaid-Gater Nadia., Kadi Si Ammar, Mouhous Azzedine, Tahir Lynda, Hamadache Malik EFFICACITE ALIMENTAIRE DES POULES PONDEUSES DANS UN ELEVAGE INDUSTRIEL DE PRODUCTION DES ŒUFS DE CONSOMMATION EN ALGERIE.
- [13] Jeanne Brugère-Picoux & Jean-Pierre Vaillancourt, MANUAL OF POULTRY DISEASES. P138.
- [14] confédération suisse, 27 juillet 2023, article Grippe aviaire : prolongation des mesures à l'échelon local jusqu'au 15 octobre.
- [15] anonyme, 2011, Ceva Santé Animale Tunisie.
- [16] Dr. Jeanne Brugère-Picoux, Académie Vétérinaire de France 2020, « Influenza aviaire à virus hautement pathogènes ».

- [17] TAVI (Institut technique des filières avicole, cunicole et piscicole), 2015. Performances techniques et coûts de production en volailles de chair, poulettes et poules pondeuses : résultats 2014, p 64.
- [18] Orphadata Science, Connaissances sur les maladies rares et les médicaments 2020. [19] par MD santé animal, maladies et santé des volailles (IA).
- [20] Agence canadienne d'inspection des aliments - Faits concernant l'influenza aviaire.
- [21] Ministère de l'Agriculture et de la Souveraineté alimentaire - L'influenza aviaire, foire aux questions.
- [22] l'équipe de la Direction de la santé et du bien-être des animaux du ministère de l'Agriculture, de l'Alimentation e des Affaires rurale, 24 mars 2022, ALERTE O.I.E. : INFLUENZA AVIAIRE HAUTEMENT PATHOGÈNE EN ALGÉRIE.
- [23] anonyme, 8 mars 2021, promedmail.org.
- [24] système d'information sanitaire européen (ADIS depuis avril 2021), 16 septembre 2021, Plateforme ESA.
- [25] Perdue ML et AL, novembre 2000, « Avian Influenza in the 90's », Poultry Avian Biol Rev.
- [26] Suarez D.L, 2000, « Evolution of avian influenza viruse» Vet Microbiol.
- [27] Centre Canadian d'hygiène et de sécurité de travail, 14 décembre 2023, cchst.ca.
- [28] Organisation mondiale de la santé animale (OIE), Manuel de l'OIE sur les tests de diagnostic et les vaccins pour l'influenza aviaire, <https://www.woah.org/fr/> .
- [29] LES ECHOS, 20 décembre 2022, Grippe aviaire : l'Europe connaît l'épidémie la plus dévastatrice de son histoire.
- [30] Fowl Plague, février 2016, the center of food security and public health, "Grippe Aviaire, Avian Influenza " .
- [31] Pascal Le Douarin, 12 Décembre 2019, Réussir Volaille « grippe aviaire ».
- [32] anonyme, 2005, Manuel terrestre de l'OIE.
- [33] Ministère de l'Agriculture et du Développement Rural d'Algérie, 10 février 2021, Algérie presse service « Grippe aviaire : le secteur de l'Agriculture a pris les mesures nécessaires ».
- [34] Bamako, 8 décembre 2006, Quatrième conférence internationale sur l'influenza aviaire « Prévention et contrôle de l'influenza aviaire et plans d'intervention en cas de pandémie de grippe humaine en Afrique ».
- [35] anonyme, 6 juin 2023, SANTÉ ET BIEN-ÊTRE DES ANIMAUX « L'influenza aviaire en 11 questions ».

- [36] anonyme, 2 janvier 2014, Manuel terrestre de l'OIE 2005 « Influenza Aviaire ».
- [37] Office fédéral de la sécurité alimentaire et des affaires vétérinaires OSAV, janvier 2020, confédération suisse « Grippe aviaire – Les aviculteurs jouent un rôle clé dans la Prévention ».
- [38] anonyme, novembre 2012, Institut Pasteur « grippe aviaire ».
- [39] Christopher M. Stojanowski and Michael A. Schillaci, 2006, WILEY-LISS YEARBOOK OF PHYSICAL ANTHROPOLOG “Phenotypic Approaches for Understanding Patterns of Intracemetry Biological Variation”
- [40] Vincent Blondel, 2017, HAL open science « Statut sérologique vis-à-vis de l'influenza aviaire et facteurs de risque associés dans la filière palmipèdes gras du Sud-ouest de la France ».
- [41] AFSSA, février 2008, ANSES.
- [42] Lebarbenchon, 2013, National Institutes of Health (NIH) “Evolution of Influenza A Virus H7 and N9 Subtypes”.
- [43] anonyme, 2016, Centre d'expertise en analyse environnementale du Québec.
- [44] anonyme, 2017, ID vet.
- [45] ancelle, 2008, Université de Lorraine « Statistique, épidémiologie »
- [46] anonyme, November 2015, IOWA state university college of veterinary medicine “avian influenza”.
- [47] Wernery, U.; Shanmuganatham, K.K.; Krylov, P.S.; Joseph, S.; Friedman, K.; Krauss, S.; Webster, R.G. H9N2 Influenza Viruses from Birds Used in Falconry. *Influenza Other Respir. Viruses* 2013, 7, 1241–1245. [CrossRef] [PubMed]
- [48] Kandeil, A.; El-Shesheny, R.; Maatouq, A.M.; Moatasim, Y.; Shehata, M.M.; Bagato, O.; Rubrum, A.; Shanmuganatham, K.; Webby, R.J.; Ali, M.A.; et al. Genetic and Antigenic Evolution of H9N2 Avian Influenza Viruses Circulating in Egypt between 2011 and 2013. *Arch. Virol.* 2014, 159, 2861–2876. [CrossRef]
- [49] EL Houadfi, M.; Fellahi, S.; Nassik, S.; Guérin, J.-L.; Ducatez, M.F. First Outbreaks and Phylogenetic Analyses of Avian Influenza H9N2 Viruses Isolated from Poultry Flocks in Morocco. *Virol. J.* 2016, 13, 140. [CrossRef]
- [50] Jonas, M.; Sahesti, A.; Murwijati, T.; Lestariningsih, C.L.; Irine, I.; Ayesda, C.S.; Prihartini, W.; Mahardika, G.N. Identification of Avian Influenza Virus Subtype H9N2 in Chicken Farms in Indonesia. *Prev. Vet. Med.* 2018, 159, 99–105. [CrossRef]

- [51] El Khantour, A.; El Houadfi, M.; Saâdia, N.; Tligui, N.; el Mellouli, F.; Sikht, F.-Z.; Ducatez, M.; Soulaymani, A.; Fellahi, S. Protective Efficacy Evaluation of Four Inactivated Commercial Vaccines Against Low Pathogenic Avian Influenza H9N2 Virus Under Experimental Conditions in Broiler Chickens. *Avian Dis.* 2021, 65, 351–357. [CrossRef]
- [52] Park, K.J.; Kwon, H.; Song, M.-S.; Pascua, P.N.Q.; Baek, Y.H.; Lee, J.H.; Jang, H.-L.; Lim, J.-Y.; Mo, I.-P.; Moon, H.-J.; et al. Rapid Evolution of Low-Pathogenic H9N2 Avian Influenza Viruses Following Poultry Vaccination Programmes. *J. Gen. Virol.* 2011, 92, 36–50. [CrossRef]
- [53] Alexander, D.J. An Overview of the Epidemiology of Avian Influenza. *Vaccine* 2007, 25, 5637–5644. [CrossRef] [PubMed]
- [54] Van den Berg, T.; Lambrecht, B.; Marché, S.; Steensels, M.; Van Borm, S.; Bublot, M. Influenza Vaccines and Vaccination Strategies in Birds. *Comp. Immunol. Microbiol. Infect. Dis.* 2008, 31, 121–165. [CrossRef] [PubMed]
- [55] Choi, J.G.; Lee, Y.J.; Kim, Y.J.; Lee, E.K.; Jeong, O.M.; Sung, H.W.; Kim, J.H.; Kwon, J.H. An Inactivated Vaccine to Control the Current H9N2 Low Pathogenic Avian Influenza in Korea. *J. Vet. Sci.* 2008, 9, 67. [CrossRef]