



N° d'ordre : 038 /Master/2025

Projet de fin d'études

En vue de l'obtention du diplôme de **Master**

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie

Filière : Sciences Vétérinaires

THÈME

"Influenza Aviaire H9N2 : Caractérisation Intégrée des Manifestations Cliniques, Lésions Macroscopiques et Altérations Histopathologiques chez le Poulet de Chair"

Présenté par :
BENSTITI Ikram

Soutenu publiquement, le Jour/Mois/Année devant le jury composé de :

Dr. BOUHAMED R	MCA (ENSV)	Présidente
Dr. DJEZZAR R	MCB (ENSV)	Promoteur
Dr. TAIBI M	MCA (ENSV)	Examinateuse

Année universitaire 2024 /2025

Remerciement

Je remercie tout d'abord Dieu, le Tout-Puissant, de m'avoir accordé la force, le courage et la patience nécessaires pour mener à bien ce modeste travail.

J'exprime ma profonde gratitude à mon encadreur M. DJEZZAR R, pour sa disponibilité, ses conseils éclairés, ainsi que pour l'attention et le soutien constants qu'il m'a apporté tout au long de ce travail.

Mes sincères remerciements vont également à M. BOUHAMED R, pour avoir accepté de présider ce jury, et à Mme TAIBI F, pour avoir accepté d'évaluer ce travail. Qu'ils trouvent ici l'expression de ma considération et de mon respect.

Je n'oublie pas de remercier spécialement Mr KADDOUR R, technicien au labo d'anapath de l'ENSV
Ainsi que toutes les personnes, enseignants, collègues et amis, qui nous ont soutenus de près ou de loin dans l'accomplissement de ce travail.

Merci...

Dédicace

A mon cher père BENSTITI Hakim

Chaque mot semble bien fade pour exprimer l'amour profond et la gratitude infinie que j'ai pour toi, pour les innombrables sacrifices que tu as consentis pour mon éducation. Tu as été bien plus qu'un guide, tu as été mon modèle d'honnêteté, de sérieux et de responsabilité.

A ma merveilleuse mère AMOR Ouahiba

Aucune dédicace ne saurait exprimer l'amour, l'estime, le dévouement et le respect que j'ai toujours eus pour toi. Merci pour ton amour inconditionnel, ton dévouement et ton soutien inébranlable. Tu as été la lumière qui a éclairé mon chemin

A ma sœur HADJER, ma belle qui n'a cessé de m'écouter dans les moments difficiles me conseiller, encourager et soutenir tout au long de mes études

A mon petit frère ZAKARIA, merci pour ta force tranquille et ta présence indéfectible, tu as toujours cherché mon plaisir et mon sourire, je te souhaite un avenir radieux plein de réussite

A mon chère promoteur Dr. DJEZZAR pour leur enseignement précieux et rigoureux et leur conseil. Je vous en suis profondément reconnaissante.

Sans oublier mes chères copines avec lesquelles j'ai passé des moments agréables et inoubliables KHAWLA et HADIL

Résumé

Cette étude évalue l'impact du virus Influenza Aviaire H9N2, un agent de faible pathogénicité, sur le poulet de chair. L'objectif est d'optimiser les stratégies de prévention face à la menace sanitaire et économique qu'il représente pour l'aviculture.

Le virus H9N2 a été identifié par RT-PCR dans tous les élevages qui ont concerné l'étude. Les symptômes cliniques observés comprenaient une morbidité et une mortalité élevées, une baisse marquée de la consommation alimentaire, de la léthargie, des signes respiratoires (écoulement nasal, dyspnée) et digestifs (diarrhée). L'examen macroscopique des carcasses a révélé diverses lésions notamment une trachéite fibrineuse avec bouchons muqueux dans tous les cas autopsiés, une congestion et hémorragie généralisées dans les poumons, le foie, la rate et les reins ainsi la Bourse de Fabricius. Une hypertrophie des tonsilles cœcales et du thymus.

L'histopathologie a confirmé une dégénérescence épithéliale trachéale et une pneumonie congestive au niveau de l'appareil respiratoire. Les organes lymphoïdes et digestifs présentaient des lésions inflammatoires prononcées, caractérisées par des infiltrats lymphocytaires et une nécrose focale.

L'infection par le H9N2 entraîne une dégradation des performances zootechniques, notamment un indice de consommation élevé, et des coûts économiques accrus, particulièrement en présence de co-infections ou de stress environnemental. De plus, un potentiel zoonotique (transmission à l'humain) est à considérer, ainsi qu'une vulnérabilité accrue des oiseaux aux pathogènes secondaires.

En conséquence, l'étude recommande un renforcement impératif de la biosécurité, incluant le contrôle des vecteurs (aériens, fomites), une vaccination ciblée et une gestion rigoureuse du stress environnemental pour minimiser l'impact de l'Influenza Aviaire H9N2.

Mots-clés : Influenza aviaire H9N2 ; Poulet de chair ; Clinique ; Histopathologie ; Biosécurité ; Zoonose.

Summary

This study evaluates the impact of the H9N2 Avian Influenza virus, a low pathogenicity agent, on broiler chickens. The objective is to optimize prevention strategies in response to the health and economic threat it poses to poultry farming. The H9N2 virus was identified by RT-PCR in all the farms involved in the study. The observed clinical symptoms included high morbidity and mortality, a marked decrease in food consumption, lethargy, respiratory signs (nasal discharge, dyspnea), and digestive signs (diarrhea). Macroscopic examination of the carcasses revealed various lesions, including fibrinous tracheitis with mucus plugs in all autopsied cases, as well as generalized congestion and hemorrhage in the lungs, liver, spleen, and kidneys, along with the Fabricius bursa. There was also hypertrophy of the cecal tonsils and thymus.

Histopathology confirmed tracheal epithelial degeneration and congestive pneumonia in the respiratory system. The lymphoid and digestive organs showed pronounced inflammatory lesions, characterized by lymphocytic infiltrates and focal necrosis.

Infection with H9N2 leads to a degradation of zootechnical performance, notably a high feed conversion index, and increased economic costs, particularly in the presence of co-infections or environmental stress. Furthermore, a zoonotic potential (transmission to humans) should be considered, as well as an increased vulnerability of birds to secondary pathogens.

Consequently, the study recommends an imperative strengthening of biosecurity, including vector control (airborne, fomites), targeted vaccination, and rigorous management of environmental stress to minimize the impact of H9N2 Avian Influenza.

Keywords: Avian influenza H9N2; Broiler chickens; Clinical; Histopathology; Biosecurity;Zoonosis.

ملخص

تقوم هذه الدراسة بتقييم تأثير فيروس أنفلونزا الطيور H9N2، وهو فيروس منخفض الإمراض، على دجاج التسمين. الهدف هو تحسين استراتيجيات الوقاية في مواجهة التهديد الصحي والاقتصادي الذي تشكله تربية الدواجن. تم التعرف على فيروس H9N2 بواسطة تقنية تفاعل البوليميراز المتسلسل العكسي في جميع الأشخاص الذين تمت دراستهم. وشملت الأعراض السريرية التي تم ملاحظتها ارتفاع معدلات الإصابة والوفيات، وانخفاض ملحوظ في استهلاك الغذاء، والحمول، وعلامات تنفسية (إفرازات أنفية، ضيق في التنفس) وهضمية (إسهال). أظهر الفحص العياني للجثث إصابات مختلفة بما في ذلك التهاب القصبة الهوائية الليلي مع سدادات مخاطية في جميع الحالات التي تم تشريحها، واحتقان معمم ونزيف في الرئتين والكبد والطحال والكلى وكذلك جراب فابريسيوس.

تضخم اللوزتين والأورتدين والغدة الزلعترية.

وأكَدَ الفحص النسيجي وجود انحلال في الظهارة القصبية والالتهاب الرئوي الاحتقاني في الجهاز التنفسي. أظهرت الأعضاء الليمفاوية والجهاز الهضمي آفات التهابية واضحة، تتميز بالتلسللات الليمفاوية والنظر البوري. تؤدي عدوى فيروس H9N2 إلى تدهور أداء الثروة الحيوانية، بما في ذلك ارتفاع معدل تحويل الأعلاف، وزيادة التكاليف الاقتصادية، وخاصة في وجود العدوى المشتركة أو الضغوط البيئية. بالإضافة إلى ذلك، يجب أن نأخذ في الاعتبار إمكانية انتقال المرض إلى البشر، فضلاً عن زيادة تعرض الطيور للأمراض الثانوية.

وبناءً على ذلك، توصي الدراسة بتعزيز الأمان البيولوجي بشكل عاجل، بما في ذلك مكافحة النواقل (الجوية، والأدوات)، والتطعيم المستهدف، والإدارة الصارمة للضغط البيئية لقليل تأثير أنفلونزا الطيور H9N2.

الكلمات المفتاحية: أنفلونزا الطيور H9N2؛ دجاج التسمين؛ عيادة؛ علم الأمراض النسيجية؛ الأمان الحيواني؛ مرض حيواني المنشأ.

Listes des abréviations

AGID : Agar Gel Immunodiffusion

AVE : aqueous viral elution

AVL : viral lysis buffer

AW1, **AW2**, **AVL**, **AVE** : Solutions pour extraction d'ARN (kits Qiagen)

Ch : Congestion hémorragique

Cn : Congestion active

CT : Cycle Threshold

Ct : Cycle Threshold

Dc : Débris cellulaire

dg : Dégénérescence glandulaire

Dv : Destruction villositaire

E.coli : Escherichia coli

ELISA : Enzyme-Linked Immunosorbent Assay

Em : Épaississement de la musculeuse

FAM : Fluorophore pour PCR temps réel

FI : Follicule primaire

G : Granulome

HA : Hémagglutinine

HPAI : Highly Pathogenic Avian Influenza

IA : Influenza aviaire

IAFP : Influenza aviaire faiblement pathogène

IAHP : Influenza aviaire hautement pathogène

IAV : Virus de l'influenza aviaire

IB : infectious bronchitis

IH : Inhibition de l'hémagglutination

IHC : Immunohistochimie

Ilt : infectious laryngotracheitis

LPAI : Low Pathogenic Avian Influenza

NA : Neuraminidase

ND : newcastle disease

Od : œdème

Oi : œdème inter-lobulaire

OMSA : Organisation mondiale de la santé animale

Os : Œdème sous-capsulaire

PAHA : Pan American Health Organization

PBS : Phosphate-Buffered Saline

PBS: phosphate buffered saline

PCR : Polymerase Chain Reaction

RNA : ribonucleic acid

RT-PCR : Reverse Transcriptase Polymerase Chain Reaction

TAMRA : Quencher pour PCR temps réel

Liste des figures

Figure 1: Structure du virion de l'IAV (AbuBakar U, et al., 2023)	4
Figure 2: lésions macroscopiques dues à la maladie de H5N8 (Crispo et al., 2024)	8
Figure 3: Exploitation avicole (photo personnelle)	14
Figure 4 : Examen ante-mortem (photo personnelle)	21
Figure 5 : Autopsie : animal en décubitus dorsal (photo personnelle)	21
Figure 6: déshydratation et éclaircissement des prélèvements (photo personnelle).....	22
Figure 7: imprégnation et enrobage de paraffine (photo personnelle)	23
Figure 8: réalisation des lames (photo personnelle)	24
Figure 9: déparaffinage et réhydratation (photo personnelle)	24
Figure10 : montage des lames (photo personnelle)	25
Figure 11 : Morbidité très élevée (Photo personnelle).....	27
Figure 12: Mortalité très élevée (Photo personnelle)	27
Figure 13 : Fientes de consistance anormale (photo personnelle).....	28
Figure14 : Écoulement nasal avec un dyspnée (Photo personnelle)	28
Figure 15: Conjonctivite (Photo personnelle)	28
Figure 16: Œdème de la tête (Photo personnelle)	28
Figure17 : trachéite fibrineuse (photo personnelle).....	29
Figure18 : bouchon muqueux (photo personnelle).....	29
Figure 19 : Pneumonie avec dépôt fibrineux (photo personnelle)	30
Figure 20 : péricardite sérofibrineuse (photo personnelle)	30
Figure 21 : hypertrophie rénale avec aspect dégénératif (photo personnelle)	30
Figure 22 : Nephrite congestive (photo personnelle)	30
Figure 23: Hépatite dégénérative avec dépôt fibrineux (photo personnelle)	31
Figure 24 : thymus très hypertrophié (photo personnelle)	31
Figure 25 : splénomégalie congestive (photo personnelle).....	31
Figure 26 : gésier et proventricule normaux (photo personnelle)	32
Figure27 : nerf sciatique d'aspect et de couleur normale (photo personnelle)	32
Figure 28: Bursite hémorragique (Photo personnelle).....	32
Figure29 : Hypertrophie de la bourse de Fabricius avec dépôt fibrineux (photo personnelle)	32
Figure 30: contenu intestinal mucoïde orange (photo personnelle)	33
Figure 31: hémorragies punctiformes (photo personnelle)	33
Figure 32: hémorragies en plaques (photo personnelle).....	33

Figure33 : congestion diffuse (photo personnelle)	33
Figure34 : trachéite ulcéратive (photo personnelle).....	34
Figure35 : pneumonie congestive hémorragique (photo personnelle).	34
Figure 36 : épicardite congestive (sujet 1 ; photo personnelle).....	35
Figure37 : thymus congestionné hémorragique (photo personnelle).	35
Figure 38 : hépatite dégénérative (photo personnelle).....	36
Figure 39 : hyperplasie folliculaire (photo personnelle).....	36
Figure 40 : néphrite hémorragique (photo personnelle).	37
Figure41 : dégénérescence glandulaire (photo personnelle)	37
Figure 42 : encéphalite (photo personnelle).....	38
Figure 43 : duodénite congestive (photo personnelle).....	38
Figure 44 : jéjunite (photo personnelle).....	39
Figure45 : duodénite (photo personnelle)	39
Figure 46 : typhlite (photo personnelle).....	40
Figure 47 : bursite congestive (photo personnelle)	40

Liste des tableaux

Tableau 1: Profil Thermique INFLUENZA A	16
Tableau 2 : Résultats des analyses de PCR.....	26

Introduction.....	1
--------------------------	----------

PARTIE 01: Synthèse bibliographique

I. DEFINITION DE LA MALADIE INFLUENZA AVIAIRE.....	3
II. EPIDEMIOLOGIE.....	3
II.1. Taxinomie et structure du virus de la maladie influenza aviaire.....	3
II.2. Resistance, virulence et pathogénicité	4
II.3. Les espèces hôtes.....	5
II.4. Mode de transmission	6
III. ETUDE CLINIQUE.....	6
III.1. Les signes cliniques	6
III.2. Les lésions macroscopiques	7
III.3. Les lésions microscopiques.....	9
IV. DIAGNOSTIC.....	9
IV.1. Diagnostic clinique	9
IV.2. Diagnostic expérimental	9
1 Méthodes de diagnostic directes	9
2 Méthodes de diagnostic indirectes (sérodiagnostic)	10
IV.3. Diagnostic différentiel	11
V. GESTION D'UNE EVENTUELLE EPIDEMIE DE L'INFLUENZA AVIAIRE :.....	12
V.1. Stratégies pour traiter un cas suspect.....	12
V.2. Stratégies pour un cas confirmé	12
VI. TRAITEMENT :.....	13

PARTIE 02: Partie expérimentale

I. Objectifs :.....	14
II. Matériels et Méthodes.....	14
II.1. Test RT-PCR.....	14

1	Matériels	14
2	Méthodes	15
II.2.	Etude histopathologiques	18
1	Matériels	18
2	Méthodes :	19
PARTIE 03: Résultats et discussion		
I.	RESULTATS :	26
I.1.	Résultats des analyses de PCR	26
I.2.	Résultats de l'étude clinique :	27
I.3.	Résultats de l'étude nécropsique	28
I.4.	Résultats de l'examen histopathologique :	33
1	La trachée :	33
2	Les poumons	34
3	Le cœur	34
4	LE thymus.....	35
5	Le foie.....	35
6	La RATE	36
7	Les reins.....	36
8	Le proventricule	37
9	Le gésier (RAS)	37
10	Le cerveau.....	37
11	Le nerf sciatique (RAS).....	38
12	Les intestins	38
13	La bourse de Fabricius :	40
14	Le nerf sciatique : RAS	40
II.	Discussion	41
II.1.	Clinique.....	41

II.2. Etude nécropsique	41
II.3. Etude Histopathologique :.....	41
Conclusion générale.....	43
Recommandations et perspectives.....	44
Les références.....	46

Introduction

L'influenza aviaire (IA), communément appelée grippe aviaire, représente aujourd'hui l'une des préoccupations majeures en santé animale et en santé publique à l'échelle mondiale. Cette maladie virale hautement contagieuse, causée par les virus de la grippe A appartenant à la famille des Orthomyxoviridae, caractérisés par une grande variabilité antigénique et un potentiel élevé de mutation et de réassortiment génétique, affecte principalement les espèces aviaires avec des degrés de pathogénicité variables (Peacock et *al.*, 2019). L'émergence continue de nouvelles souches virales et leur capacité à franchir les barrières d'espèces constituent un défi constant pour les systèmes de surveillance épidémiologique et les stratégies de contrôle sanitaire.

Ces virus sont classés en sous-types en fonction de leurs glycoprotéines de surface, l'hémagglutinine (H) et la neuraminidase (N), avec 16 et 9 variantes respectives identifiées à ce jour (Fereidouni et *al.*, 2023), et divisés en deux catégories selon leur pathogénicité : les virus faiblement pathogènes et les virus hautement pathogènes (Kanaujia et *al.*, 2022). L'importance épidémiologique de l'influenza aviaire s'est considérablement accrue au cours des dernières décennies, notamment avec l'émergence de nouvelles souches virales capables de franchir les barrières d'espèces. Les épidémies récentes ont montré une expansion géographique sans précédent, touchant non seulement les volailles domestiques mais également les oiseaux sauvages et, de manière sporadique, diverses espèces de mammifères. Cette capacité d'adaptation inter-espèces du virus soulève des préoccupations majeures quant à son potentiel zoonotique et à l'émergence possible de variants présentant une transmissibilité accrue chez l'homme (AbuBakar et *al.*, 2023).

En Algérie, la première détection officielle de la souche H9N2 remonte à la fin de l'année 2017 dans la région de Batna, à la suite d'épisodes de mortalité anormale dans les élevages de poulets de chair, où les taux de pertes enregistrés oscillaient entre 40 % et 60 % (Barberis et *al.*, 2020). D'autres foyers ont ensuite été décrits en Algérie, souvent chez des volailles vaccinées contre d'autres maladies respiratoires mais non spécifiquement contre H9N2, suggérant que le virus circulait de manière silencieuse dans le pays (Jeevan et *al.*, 2019). Par ailleurs, la présence du virus peut induire des restrictions commerciales et entraîner des campagnes de surveillance coûteuses. En Algérie, où la filière avicole représente une part importante de l'économie agricole, la propagation de ce virus pourrait donc menacer la sécurité alimentaire et l'emploi, d'autant que la vaccination spécifique anti-H9N2 n'était pas généralisée jusqu'à récemment.

Dans notre étude, nous avons tenté d'évaluer l'impact de l'influenza aviaire H9N2, confirmée au préalable par une RT-PCR, sur les paramètres cliniques, lésionnels et histopathologiques chez le poulet de chair

Synthèse bibliographique

I. DEFINITION DE LA MALADIE INFLUENZA AVIAIRE

Influenza aviaire, communément appelée grippe aviaire ou la peste aviaire, est une maladie virale hautement contagieuse causée par les virus de la grippe A, affectant principalement les espèces aviaires avec des degrés de sensibilité variables (kang et *al.*, 2024)

Ces virus sont classés en deux souches principales en fonction de leur pathogénicité, les souches faiblement pathogènes (IAFP), qui passent généralement inaperçues chez les oiseaux sauvages et provoquent des infections subcliniques chez les hôtes ; et les souches hautement pathogènes (IAHP), qui entraînent des épizooties aiguës et souvent létales (Wu & Wilson, 2019) Bien que ces virus infectent principalement les oiseaux, ils peuvent parfois être transmis aux humains, entraînant des maladies graves et potentiellement mortelles. Toutefois, la transmission interhumaine est rare (AbuBakar et *al.*, 2023). De plus, des épidémies ont été signalées chez des mammifères sauvages et captifs vivant en liberté

La grippe aviaire est une maladie à déclaration obligatoire selon l'Organisation mondiale de la santé animale (OMSA) et en raison de son potentiel zoonotique, elle constitue une menace majeure pour la santé publique et animale

II. EPIDEMIOLOGIE

II.1. Taxinomie et structure du virus de la maladie influenza aviaire

L'influenza aviaire est causée par des virus appartenant à la famille des Orthomyxoviridae, genre Influenza, espèce influenza A (Liang, 2023). Les virus de la grippe A sont classés en sous-types en fonction de 2 glycoprotéines de surface distinctes : l'hémagglutinine (H), qui présente 16 variations antigéniques connues(H1-16), et la neuraminidase (N), avec 9 variations(N1-9). Ces sous-types sont couramment identifiés par des combinaisons telles que H5N1 ou H7N9 (Fu et *al.*, 2023 ; Fereidouni et *al.*,2023)

Les virions IAV sont des particules pléomorphes enveloppées en forme de sphères, d'un diamètre de 80-120 nm (figure 1), ou de filaments d'un diamètre de 100 nm à 30 µm (Moreira et *al.*, 2021). Son enveloppe est constituée d'une membrane bicoche lipidique dérivée de la membrane de la cellule infectée et acquise lors du processus de bourgeonnement (AbuBakar et *al.*, 2023). leur génome est constitué d'une molécule d'ARN simple brin négative, d'une longueur d'environ 13,5 kilobases; segmenté en huit segments distincts, chacun codant pour des protéines spécifiques qui jouent un rôle essentiel dans le cycle de vie viral, et monocaténaire, permettant le réassortiment génétique, ce qui améliore leur capacité à évoluer et à s'adapter à de nouveaux hôtes (Xie et *al.*, 2023) et entraîne une création de nouvelles

souches virales aux propriétés antigéniques modifiées, ce qui peut potentiellement échapper à la réponse immunitaire des hôtes existants (Kanaujia et al., 2022)

Selon le degré d'infection des oiseaux, les virus IA sont classés en deux groupes, les virus de la grippe aviaire faiblement pathogène (AIFP) et les virus de la grippe aviaire hautement pathogène (AIHP) (Hicks et al., 2022)

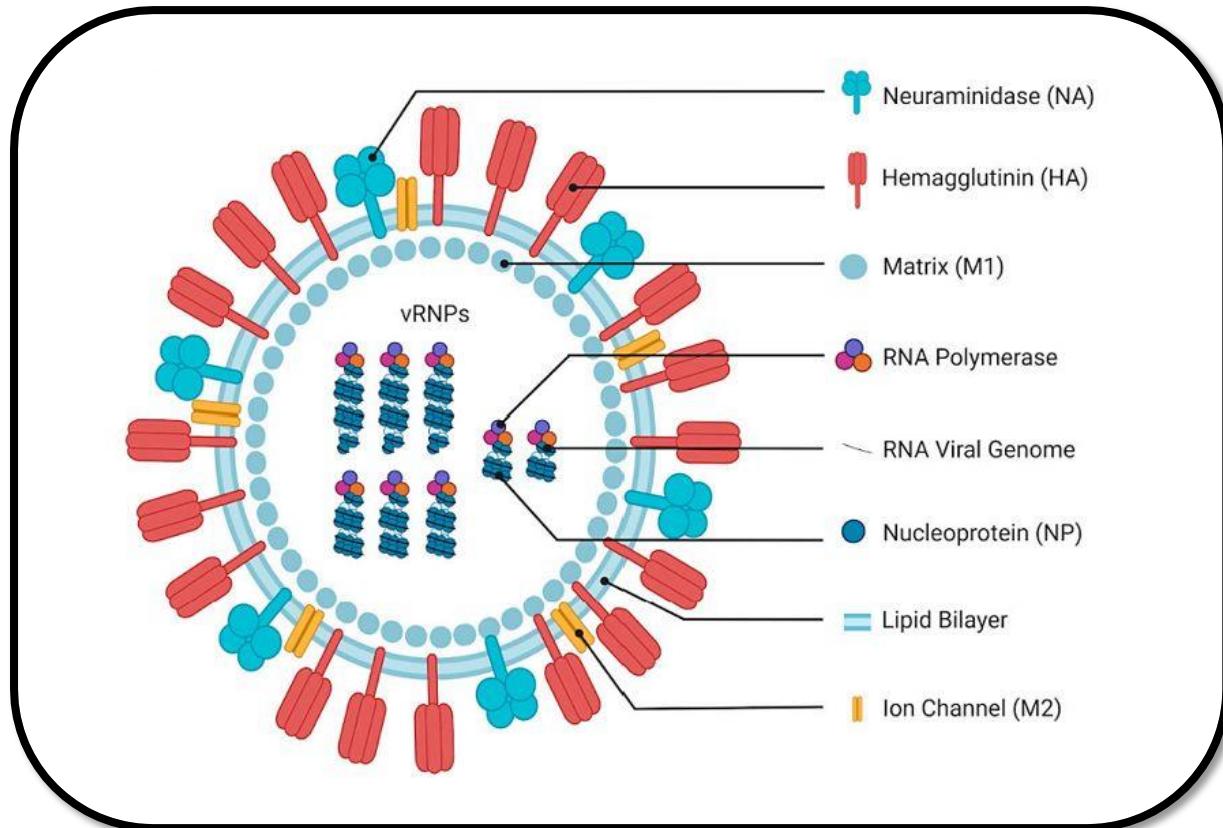


Figure 1: Structure du virion de l'IAV (AbuBakar U, et al., 2023)

II.2. Resistance, virulence et pathogénicité

Des études ont montré que le virus est plus résistant aux basses températures (inférieures à 28 °C), il peut survivre jusqu'à 200 jours dans les fluides corporels des oiseaux infectés, quatre jours dans les excréments à la température corporelle de l'animal et 35 jours dans les excréments à des températures inférieures à 4 °C, et environ cinq semaines dans l'environnement du poulailler infecté. Le virus peut survivre dans les carcasses, la viande et les œufs (en particulier à basse température) (Blagodatski et al., 2021)

La gravité de la maladie résulte de l'accumulation de plusieurs acides aminés basiques au niveau du site de clivage de le HA, varie énormément selon le sous-type et la souche. Les HPAI en pratique surtout les sous-types H5 et H7 possèdent un site de clivage multi-basique

dans la molécule de HA. Ce motif riche en arginine/lysine permet au HA d'être clivé par des protéases ubiquistes dans l'organisme, entraînant la dissémination systémique du virus et de sévères lésions viscérales (PAHA, 2025)

Les virus de la grippe aviaire sont classés en 2 groupes selon leur pathogénicité chez les oiseaux :

- Virus de la grippe aviaire hautement pathogène (IAHP) : provoque une maladie grave et une forte mortalité chez les oiseaux, et peut également entraîner des infections graves chez l'homme. (Charostad et *al.*, 2023). Le virus peut traverser les barrières respiratoires et intestinales, se diffuser dans le sang et endommager tous les tissus de l'oiseau. Les souches pathogènes de l'influenza aviaire HPAI appartiennent aux sous-types H5 et H7, avec une mortalité des oiseaux qui dépasse 90 à 100 % au cours des 48 heures suivant le début de la maladie (Kanaujia et *al.*, 2022)
- Virus de la grippe aviaire de faible pathogénicité (IAFP) : provoque généralement une maladie bénigne chez les oiseaux, mais a le potentiel de muter en HPAI dans certaines conditions (Kang, 2024). Cependant, les sous-types comme H9 de faible pathogénicité peut muter par des processus d'insertion et de recombinaison dans le site de clivage protéolytique de HA jusqu'à devenir des virus IAHP.

II.3. Les espèces hôtes

Bien que les virus IA aient été détectés dans un très grand nombre d'espèces d'oiseaux sauvages ; les oiseaux aquatiques tels que les canards, les oies et les oiseaux de rivage, sont considérés comme étant les hôtes naturels et les principaux réservoirs des virus de AI (Charostad et *al.*, 2023). Ces espèces hébergent une grande diversité de sous types viraux, souvent sans présenter de signes cliniques. Les jeunes oiseaux, dont le système immunitaire est plus faible, sont souvent plus sensibles aux infections avant leurs migrations hivernales (Ariyama et *al.*, 2023)

Le virus de l'IA présente une grande variabilité antigénique et une capacité de mutation exponentielle, ce qui lui confère un large spectre de virulence et la capacité d'infecter différentes espèces, y compris les humains dans certaines conditions (BNO, 2023) En plus des oiseaux, le virus de l'AI pu franchir les barrières entre espèces pour infecter

occasionnellement les mammifères marins (Raj et *al.*, 2023). Des cas sporadiques ont été rapportés chez le porc, le cheval, le chien, le chat, le vison, le renard (Niu et *al.*, 2025)

II.4. Mode de transmission

La transmission entre les oiseaux sauvages se produit principalement par contact direct et indirect, en particulier dans les environnements où les oiseaux se rassemblent, comme les zones humides, les lacs et les zones côtières. Le virus se propage généralement par l'eau contaminé, car les oiseaux infectés excrètent le virus dans leurs excréments, leur salive et leurs sécrétions nasales (Ariyama et *al.*, 2023)

Les schémas migratoires de ces oiseaux jouent un rôle important dans la propagation des virus sur de vastes distances, qui facilitent l'introduction de nouvelles souches dans différentes régions ; augmentant ainsi le risque d'émergence de nouvelles variantes pathogènes et d'adaptation à d'autres hôtes (Gamarra-Toledo et *al.*, 2023 ; Blagodatski et *al.*, 2021)

Lorsque les volailles domestiques, comme les poulets et les dindes, sont infectées, elles excrètent de grandes quantités du virus par leurs excréments, leurs sécrétions respiratoires et leur salive. Ces sécrétions constituent une source importante de transmission zoonotique à l'homme. L'infection humaine se produit généralement par :

- Contact direct avec des oiseaux infectés. (Charostad et *al.*, 2023)
- Exposition indirecte à des environnements contaminés par le virus, tels que les marchés d'oiseaux vivants ou les installations de transformation (Raj et *al.*, 2023)
- Manipulation de produits de volaille crus dans des conditions dangereuses (AbuBakar et *al.*, 2023)

III. ETUDE CLINIQUE

III.1. Les signes cliniques

Les signes cliniques de la grippe aviaire varient en fonction de la souche ou le sous-type impliqué dans l'épidémie, du niveau d'immunité, de l'âge et du type d'oiseau présentant l'infection (Meseko et Oluwayelu, 2019). Les premiers symptômes peuvent apparaître quelques heures après l'exposition, ou jusqu'à trois jours plus tard et varient considérablement selon la souche du virus. Cependant, les oiseaux infectés peuvent mourir sans signes de grippe aviaire (Kanaujia et *al.*, 2022)

Chez les oiseaux infectés par IAHP dont le système immunitaire est faible, une mort subite peut survenir sans signes cliniques évidents. Dans d'autres cas, l'infection se manifeste par une maladie respiratoire, avec des signes tels que des sécrétions oculaires et nasales, de la toux, un renflement, une dyspnée, un gonflement des sinus nasaux, de l'apathie, une réduction des vocalisations, une baisse marquée de la consommation d'aliments et d'eau, de la cyanose, une peau dépourvue de plumes, un manque de coordination, des signes nerveux et des troubles digestifs se traduisant par de la diarrhée (Sikht et *al.*, 2022 ; OMSA, 2023). Chez les poules pondeuses, on constate une nette détérioration de la qualité et de la quantité des œufs produits (OMSA, 2021)

Lorsque les oiseaux sauvages sont porteurs de la grippe aviaire faiblement pathogène, ils ne présentent généralement aucun signe clinique apparent. Ils peuvent héberger et excréter le virus sans en être affectés, ce qui en fait des réservoirs efficaces pour sa propagation. Toutefois, en présence de comorbidités chez les oiseaux ou de conditions environnementales défavorables, le tableau clinique peut s'apparenter à celui observé dans les cas d'IAHP (OMSA, 2021). Des symptômes respiratoires peuvent alors apparaître, tels que des éternuements, de la toux, des écoulements nasaux et oculaires, ainsi qu'un gonflement des sinus infraorbitaires. Les oiseaux atteints peuvent également haleter, la bouche ouverte, avec le cou tendu et la tête relevée, accompagnés d'une dilatation des sinus et d'un écoulement oculaire (Yehia, 2023).

Les oiseaux les plus gravement atteints par la maladie sont morts subitement d'asphyxie, en raison de l'obstruction des voies respiratoires au niveau de la bifurcation trachéale par des débris nécrotiques (Sikht et *al.*, 2022 ; Zaker et *al.*, 2022).

III.2. Les lésions macroscopiques

Dans les infections suraiguës de grippe aviaire, où la mort survient dans un délai d'un à deux jours après l'infection, les volailles ne présentent généralement aucune lésion macroscopique apparente. Cependant, certaines souches, telles que H5N1 et H5N2, peuvent provoquer une congestion pulmonaire sévère, accompagnée d'hémorragies et d'œdème, entraînant l'excitation de liquide et de sang du tissu lors de l'excision (Bonilla-Aldana et *al.*, 2024). Une atteinte du système nerveux central a également été rapportée dans certains cas, se manifestant par un torticolis, une incoordination, un opisthotonus, une paralysie et un affaissement des ailes (Al-Zuhariy, 2022).

Lors d'infections aiguës, où la mort survient entre le troisième et le cinquième jour, les poulets affectés peuvent présenter une congestion et une cyanose de la crête et des caroncules. La tête peut apparaître gonflée en raison d'un œdème sous-cutané autour des yeux et de la mâchoire inférieure. Des hémorragies sous-cutanées et des œdèmes peuvent également se manifester au niveau des jarrets, des pattes, des pieds et parfois sur la peau recouverte de plumes. Des hémorragies peuvent affecter divers organes viscéraux, notamment le cœur, les intestins, la graisse abdominale et les muscles squelettiques. Les organes lymphoïdes primaires, tels que la bourse cloacale et le thymus, peuvent subir une atrophie sévère. Le pancréas présente souvent des marbrures, et chez les poules pondeuses, on observe parfois une rupture des ovules accompagnée de « péritonite vitelline » (Bonilla-Aldana et al., 2024).

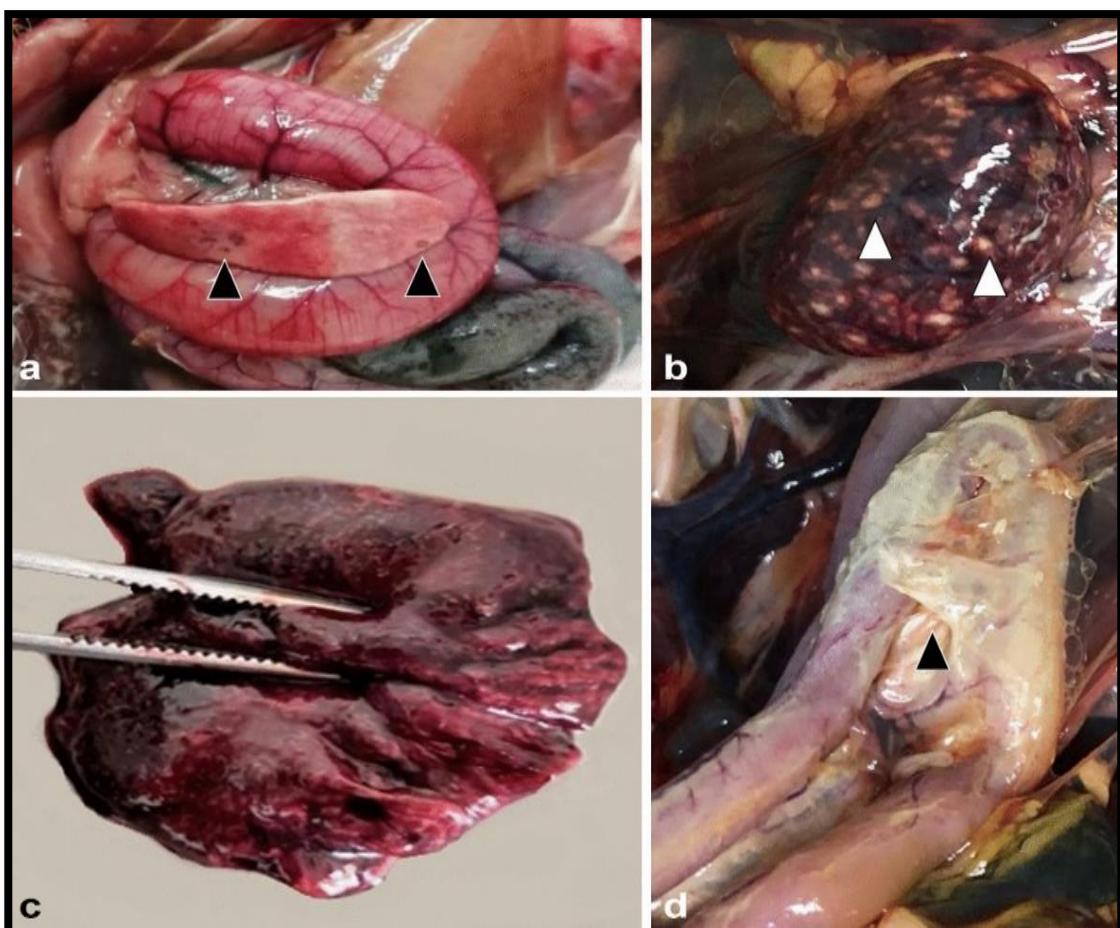


Figure 2: lésions macroscopiques dues à la maladie de H5N8 (Crispo et al., 2024)

(a) : Pancréas hémorragique. **(b)** : Rate à élargissement diffus et nécrotique. **(c)** : Poumons congestionnés et œdémateux diffus. **(d)** : Accumulation d'exsudat fibrineux jaune à la surface de l'intestin grêle

III.3. Les lésions microscopiques

- Une congestion de la trachée et des poumons.
- Les reins étaient hypertrophiés
- La rate a révélé une vascularite nécrosante sévère
- Le pancréas présentait une dégénérescence parenchymateuse légère à sévère et une nécrose lytique, sans inflammation mononucléaire ou minime
- Les lésions hépatiques comprenaient une stéatose macrovésiculaire diffuse
- Une exsudation fibrino-hétérophile occasionnelle
- Dans l'intestin grêle, la séreuse était recouverte de grandes quantités d'exsudat fibrino-hétérophile, s'étendant jusqu'au mésentère
- Plusieurs zones nécrotiques étaient dispersées dans la muqueuse et la sous-muqueuse, s'étendant jusqu'à la tunique musculaire (Crispo et al., 2024 ; Seekings et al., 2020 ; Kanaujia et al., 2022)

IV. DIAGNOSTIC

IV.1. Diagnostic clinique

Les virus de l'IA ne peuvent pas être identifiés uniquement sur la base de signes et symptômes cliniques, car les lésions et les symptômes de cette maladie sont divers et peuvent être confondus avec ceux d'autres maladies. Par conséquent, cette maladie ne peut pas être distinguée cliniquement d'autres maladies telles que la ND, l'IB, le choléra aviaire, l'ILT et E. coli infection (Haji-Abdolvahab et al., 2019)

IV.2. Diagnostic expérimental

1 Méthodes de diagnostic directes

- Isolement et culture de virus :**

L'isolement du virus (VI) est la méthode de diagnostic standard du virus AIV pour détecter la présence du virus dans des échantillons biologiques prélevés sur des oiseaux suspects. Les échantillons (écouvillons trachéaux/cloacaux, tissus infectés) sont inoculés dans des œufs embryonnés âgés de 9 à 11 jours et incubés à 37°C pendant environ 2 à 7 jours via la chambre allantoïque. Après incubation, le fluide amnio-allantoïdien est récolté et testé par épreuve d'hémagglutination (HA) sur globules rouges de poulet. (Azeem & Yoon, 2025)

La présence d'HA positive est ensuite confirmée par une RT-PCR ciblant un gène de base pour s'assurer qu'il s'agit bien d'Influenza

- **Diagnostic moléculaire**

PCR et RT-PCR ont pris le relais pour un diagnostic rapide. La RT-PCR conventionnelle ou en temps réel est très sensible et spécifique pour détecter l'ARN viral (Azeem & Yoon, 2025). Ces techniques basées sur l'amplification du segment M ou des gènes HA, permet le dépistage du virus de l'influenza aviaire dans des écouvillons trachéaux ou cloacaux et dans les tissus prélevés sur des oiseaux suspects (Spackman & Killian, 2020)

En pratique, un prélèvement positif en RT-PCR est généralement considéré comme confirmation initiale de la présence du virus dans l'élevage, avant de poursuivre par isolement ou séquençage pour typer le virus

- **L'immunohistochimie**

L'immunohistochimie peut être utilisée sur coupes de tissus (poumon, cerveau, intestins) fixés. Des anticorps marqués sont appliqués sur des coupes paraffines pour révéler la présence d'antigènes viraux dans les cellules infectées. L'IHC permet de localiser précisément le virus dans les organes, même avant l'apparition de lésions visibles, et reste utile en post-mortem pour confirmer le diagnostic à partir de tissus conservés. Son avantage est d'employer des pièces fixées formolées (sécurité accrue) et d'offrir une sensibilité suffisante pour détecter l'infection en phase précoce de la maladie (Azeem & Yoon, 2025).

2 Méthodes de diagnostic indirectes (sérodiagnostic)

Les méthodes indirectes recherchent des anticorps anti-influenza produits par l'oiseau exposé au virus. Ils peuvent être détectés à l'aide de diverses méthodes sérologiques, notamment le test d'immuno-absorption enzymatique (ELISA), le test d'immunodiffusion en gélose (AGID) et le test d'inhibition de l'hémagglutination (IH).

- **Test d'immunodiffusion sur gel d'agar :**

Le test AGID permet de rechercher les anticorps anti-AIV dans le sérum, le plasma ou le jaune d'œuf. Ce test permet de détecter les immunoglobulines M circulantes dans le sang des poulets et des dindes dans les 5 à 7 jours suivant l'infection (United States Département of Agriculture, 2021)

Le test est généralement réalisé selon un schéma à six trous autour d'un trou central dans un gel d'agar. L'antigène AIV est ajouté dans le trou central, tandis que les sérums de

référence (sérum positifs et négatifs connus) et à tester (généralement dilués au 1/10 ou au 1/20) sont ajoutés dans le puits périphérique. Une ligne de précipitation visible entre les puits centraux et périphériques après 24 h d'incubation indique un résultat positif. Une photo du test d'immunodiffusion avec l'IAV est disponible dans la publication suivante (Jenson, 2020)

- **Test d'inhibition de l'hémagglutination :**

Le virus peut être identifié comme étant le virus de la grippe A grâce au test d'inhibition de l'hémagglutination, dans lequel la protéine HA de l'IA peut agglutiner les érythrocytes d'un certain nombre d'espèces, (jang et *al.*, 2021)

La réponse d'hémagglutination est inhibée ou empêchée par des anticorps

L'inhibition de l'hémagglutination (IH) repose sur le principe selon lequel les anticorps dirigés contre le virus de la grippe aviaire (principalement la protéine HA) interfèrent avec l'activité d'hémagglutination du virus. La détection des anticorps IH permet de détecter la présence d'anticorps neutralisants chez les oiseaux (Sicca et *al.*, 2020)

- **ELISA :**

Diverses variantes de la méthode ELISA (enzyme-linked immunosorbent assay) ont été développées pour la détection des anticorps dirigés contre le virus de l'influenza aviaire (IAV) (Fu et *al.*, 2023).

Elle est principalement basée sur la détection des anticorps anti-nucléoprotéine, une protéine conservée chez tous les sous-types du virus Influenza A, ce qui en fait un excellent outil de dépistage large, sans distinction de sous-type. L'ELISA est apprécié pour sa sensibilité, sa rapidité et sa capacité à être automatisé pour le dépistage de masse. Toutefois, il ne permet pas de différencier les infections naturelles des vaccinations, et il n'est pas adapté à la détection précoce de l'infection, car les anticorps apparaissent plusieurs jours après l'exposition (Li et *al.*, 2021)

IV.3. Diagnostic différentiel

Le diagnostic différentiel de l'influenza aviaire chez le poulet doit intégrer, en priorité, les autres maladies à présentation respiratoire et systémique sévère. Parmi celles-ci, la maladie de Newcastle (ND) et la bronchite infectieuse (IB) présentent des symptômes cliniques identiques à ceux de l'IA, comme la toux, la dyspnée, l'œdème facial et une mortalité élevée (Dinev et *al.*, 2013)

Au-delà des infections virales, les maladies systémiques telles que la colibacillose, la salmonellose, ou encore la pasteurellose (choléra aviaire) doivent aussi être considérées, car elles peuvent provoquer une septicémie et des hémorragies viscérales similaires à celles d'une IAHP (Jbenyeni et *al.*, 2023)

V. GESTION D'UNE EVENTUELLE EPIDEMIE DE L'INFLUENZA AVIAIRE :

V.1. Stratégies pour traiter un cas suspect

Le cas suspect peut survenir dans un élevage avicole, un centre d'abattage d'animaux ou de manière isolée chez des oiseaux sauvages ou artisanaux (OMSA,2023). Dans tous les cas, des protocoles de surveillance épidémiologique doivent être mis en place par les autorités jusqu'à l'obtention d'un diagnostic définitif (Ministerio de Sanidad, 2022)

Il est suggéré de normaliser le protocole de confinement en utilisant les procédures suivantes (Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación, 2022).

- Chaque fois que du personnel qualifié est disponible, effectuez un diagnostic clinique et, si possible, une autopsie des animaux morts.
- Lancer une enquête épidémiologique pour déterminer les formes possibles de transmission et de contact avec d'autres oiseaux.
- Procéder immédiatement au prélèvement des échantillons et à leur envoi vers des laboratoires spécialisés.
- Créer un registre des fermes, des volailles et des volailles domestiques dans la zone suspectée d'épidémie.
- Créer des canaux de communication entre les propriétaires des animaux affectés et les autorités sanitaires afin qu'ils comprennent la situation jusqu'à ce que le diagnostic soit confirmé.

V.2. Stratégies pour un cas confirmé

Lorsqu'un cas d'IA est confirmé, des mesures de confinement doivent être prises rapidement et des précautions strictes doivent être prises lors de la manipulation de volailles infectées ou de matériel infecté. Le protocole décrit ci-dessous doit être suivi (Kanaujia et *al.*,2022) :

- Générez des registres de volaille de chaque ferme à proximité, y compris la volaille de basse-cour.

- Mener une enquête épidémiologique pour identifier le mode de transmission et les contacts possibles afin de prévenir de nouveaux cas.
- Toutes les entrées et sorties de chaque zone doivent être soigneusement désinfectées pour éviter la propagation du virus entre les zones

VI. TRAITEMENT :

L'IA, qui affecte les volailles, n'a pas de remède connu. Cependant, les maladies secondaires peuvent être évitées grâce à des antibiotiques à large spectre, à des pratiques d'élevage saines et à une alimentation saine. Certains virus de l'IA peuvent être traités efficacement avec deux classes de médicaments antiviraux : l'adamantane (rimantadine et amantadine) et les inhibiteurs de NA (zanamivir, peramivir, laninamivir et oseltamivir) (Batool et *al.*, 2023). Certains de ces médicaments (laninamivir et peramivir) ne sont pas autorisés dans tous les pays.

Les premiers médicaments antiviraux pour traiter l'IA étaient la rimantadine, l'amantadine et l'adamantane (Batool et *al.*, 2023). Cette substance bloque le canal ionique M2, empêchant la reproduction des virus IA pendant la phase de décapsulage (Mtambo et *al.*, 2021)

La structure cristalline du complexe NA de la grippe, comprenant l'acide sialique et le dérivé de l'acide sialique 2-désoxy-2,3-déhydro-N-acétylneuraminique, a été déterminée, ce qui a conduit à la synthèse d'inhibiteurs de la neuraminidase tels que le zanamivir et l'oseltamivir qui empêche le virus de s'échapper des cellules infectées et de pénétrer dans le système respiratoire en bloquant le site actif de l'enzyme NA (Kosik et *al.*, 2019)

Le traitement de l'IA chez l'homme varie selon les individus en fonction de la gravité du trouble. La maladie peut nécessiter une gamme de médicaments en plus des soins symptomatiques, tels que des antiviraux et des antibiotiques, pour traiter ou prévenir une pneumonie bactérienne ultérieure (Alasiri et *al.*, 2023)

Partie expérimentale

Partie 02: partie expérimentale

I. Objectifs :

À la suite de la détection du virus de l'influenza aviaire dans deux élevages situés à Koléa, wilaya de Tipaza, confirmée par un test RT-PCR effectué sur des échantillons de cadavres analysés dans un laboratoire privé à Blida, nous avons initié une étude visant à évaluer l'impact de cette pathologie sur les paramètres cliniques, lésionnels et histopathologiques des volailles atteintes.



Figure 3: Exploitation avicole (photo personnelle)

II. Matériels et Méthodes

II.1. Test RT-PCR

1 Matériels

- Extraction d'ADN
 - Kit d'extraction : QIAGEN : QIAamp® Viral RNA Mini
 - Vortex
 - Tubes de prélèvements
- PCR Influenza A, A-H9
 - Amorces et sondes (Spackman E, Senne DA, Myers TJ et al. (2002):

Partie 02: partie expérimentale

DIRECTE	5'-AGA TGA GTC TTC TAA CCG AGG TCG-3'
M+25	5'-TGC AAA AAC ATC TTC AAG TCT CTG-3'
REVERSE M-	5'-(FAM) TCA GGC CCC CTC AAA GCC GA
124	(TAMRA)-3'
FAM M+64	

- Thermocycleur

2 Méthodes

A. Protocole d'extraction d'ARN (Protocol : Purification of Viral RNA (Spin Protocol)

1. Préparer le pool de trachée, écouvillons trachéaux, les poumons, la rate, les reins. En coupant les échantillons mentionnés précédemment et en ajoutant de PBS.
2. Mélanger bien par vortex puis centrifuger.
3. Dans un tube de 1.5 ml déposer 5.6 µl de Carrier RNA, 560 µl d'AVL et 140 µl du surnageant d'échantillon préparé dans l'étape 01.
4. Incuber 10 min à température ambiante.
5. Ajouter 560 µl d'éthanol à 96°. Vortex 15 sec puis centrifuger brièvement.
6. Appliquer 630 µl sur la colonne de centrifugation QIAamp Mini placée dans un tube de prélèvement de 2,0 ml,
7. Fermez le bouchon et centrifugez pendant 1 minute à 8 000 tr / min. Placer la colonne de centrifugation QIAamp dans un tube de collecte propre de 2,0 ml et jeter le tube contenant le filtrat.
8. Répéter l'étape 07.
9. Placer la colonne de centrifugation QIAamp dans un tube de collecte propre de 2,0 ml et jeter le tube contenant le filtrat. Ajouter 500 µl d'AW1, centrifuger 8000 rpm / 1 min.
10. Placer la colonne de centrifugation QIAamp dans un tube de collecte propre de 2,0 ml et jeter le tube contenant le filtrat. Ajouter 500 µl d'AW2, centrifuger 14000 rpm / 3 min.
11. Placer la colonne de centrifugation QIAamp dans un tube de collecte propre de 2,0 ml et jeter le tube contenant le filtrat. Centrifuger à 14000 rpm / 1 min.

Partie 02: partie expérimentale

12. Placer la colonne dans un nouveau tube de 1.5 ml, ajouter 140 µl d'A VE, incuber 1 min à température ambiante puis centrifuger à 8000 rpm / 1 min.

13. Récupérer l'éluât et stocker à -20°C.

B. Protocole PCR influenza aviaire

1. Pour déterminer le nombre total de réactions nécessaires, comptez le nombre d'échantillons et ajoutez-en deux de plus pour le contrôle négatif et le contrôle positif.

2. Préparer la réaction PCR dans un tube comme suit :

- Déposer 12,5 µl du Mix PCR (X2) [Econo Taq PLUS GREEN 2X Master Mix]
[La concentration finale (X1) est obtenue dans un volume réactionnel final de 25µl].
- Ajouter 2,5 µl de la solution de travail AI (contenant les deux amorces + la sonde).
- Ajouter 5 µl de l'extrait d'ARN.
- Ajuster le volume à 25 µl avec H2O ultra pure free of RNase (5 µl).

3. Placez les tubes dans le thermocycleur PCR en temps réel (Rotor -Gene Q) et exécutez le test en utilisant les paramètres suivants :

Tableau 1: Profil Thermique INFLUENZA A

Profil Thermique INFLUENZA A			
Description	Température	Durée	
Reverse Transcription	50°C	30 min	
Taq inhibitor inactivation	95°C	02 min	
Dénaturation	95°C	30 secs	45 cycles
Elongation & Extension	55°C	15 secs	
Détection de fluorescence	Canaux FAM		

4. L'interprétation des résultats se fera sur la base des courbes obtenues et des CT (cycle seuil) (l'intersection entre la courbe et la ligne de seuil (threshold)).

C. PCR INFLUENZA A-H9 :

1. Pour le H9 est un kit commercial, on ne connaît pas les amorces et la sonde qu'ils ont utilisées. (Le kit est Kylt® Influenza A -H9)

2. Avant chaque utilisation, vortexer et centrifuger le 2x RT-qPCR -Mix et le Détection-Mix

3. Pour déterminer le nombre total de réactions nécessaires, comptez le nombre d'échantillons et ajoutez -en deux de plus pour le Contrôle Négatif et le Contrôle Positif.

Partie 02: partie expérimentale

4. Préparez un Master-Mix contenant le 2x RT-qPCR -Mix et le Détection-Mix pour le nombre approprié de réactions. Ajoutez ensuite 16 µl de Master-Mix dans chaque tube de :

Réactif	Volume (µl)	
	Par réaction	Par ex n=3
2x RT -qPCR -Mix	10.0	30.0
Détection -Mix	6.0	18 .0
Total Master -Mix	16.0	48, distribuer 16 µl par réaction
ARN (Contrôle Négatif / échantillon / Contrôle Positif)		4.0
Réaction totale		20.0

5. Ajouter 4 µl de contrôle négatif dans le tube correspondant et sceller individuellement, si possible.

6. Ajouter 4 µl de l'échantillon d'ARN (préparations finales d'ARN) dans le tube correspondant et sceller individuellement, si possible.

7. Pour minimiser le risque de contaminations croisées potentielles, 4 µl de Contrôle Positif sont ajoutés au tube une fois que tous les échantillons et réactions de contrôle précédents ont été mis en place.

8. Placez les tubes dans le thermocycleur PCR en temps réel (Rotor -Gene Q) et exécutez le test en utilisant les paramètres suivants :

Kylt® Influenza A-H9		
Etape	Température	Durée
Reverse Transcription	50°C	10 min
Activation de la polymérase	95°C	1 min
Dénaturation	95°C	10secs } 42 1 min }
Elongation & Extension	60°C	
Détection de fluorescence	Canal FAM	

Partie 02: partie expérimentale

9. L'interprétation des résultats se fera sur la base des courbes obtenues et des CT (cycle seuil) (l'intersection entre la courbe et la ligne de seuil (threshold))

II.2. Etude histopathologiques

1 Matériels

➤ Lieu et durée d'étude

La partie expérimentale de notre étude s'est effectuée au niveau du département aviaire et dans le laboratoire d'histopathologie de l'école nationale supérieure vétérinaire (ENSV) d'Alger.

Au cours de notre expérimentation, la collecte des échantillons s'est étalée de janvier 2025 à fin février 2025

➤ Description du Laboratoire d'histopathologie :

Le laboratoire d'histopathologie est affilié au service anatomo-pathologique de l'école nationale supérieure vétérinaire d'Alger (ENSV). Son objectif principal est de préparer et d'examiner la structure des tissus biologiques à des fins diagnostiques, pronostiques ou de recherche. Il joue un rôle essentiel dans l'identification des maladies, notamment les maladies inflammatoires et les maladies infectieuses. Le laboratoire reçoit des échantillons de tissus provenant de biopsies ou d'autopsies. Ces tissus sont traités pour évaluer la structure cellulaire et tissulaire

➤ Matériels de Nécropsie :

En général, L'autopsie est réalisée l'aide de plusieurs les instruments adaptés :

- Des petits ciseaux de dissection (entérotomes) pour découper les organes fragiles tels que les intestins
- Des pinces fines
- Un costotome pour sectionner les côtes
- Un bistouri permet une dissection précise.

Partie 02: partie expérimentale

➤ Matériel d'histopathologie :

- **Matériel biologique :**

Des échantillons biologiques ont été prélevés à partir de différentes régions anatomiques, incluant la trachée, les poumons, le thymus, la rate, le foie, proventricule et le gésier, les reins, les intestins, nerf sciatique, la bourse de Fabricius, le cœur et le cerveau.

- **Matériel non biologique :**

✓ **Matériel usuel :**

Bistouri, pinces, cassettes d'inclusion, moules d'inclusion, verrerie, lames de verre et de lamelles

✓ **Matériel spécifique :**

Microtomes, plaque froide, sécheur de lame, bain marie histologique chauffé à 41°C, étuve réglée à 51°C, microscope optique

✓ **Produits utilisés :**

- Formol à 10%
- Toluène
- Ethanol (alcool) à 100%, 90% et 70%
- Paraffine

✓ **Colorants utilisés :**

- Hématoxyline de Harris
- Eosine

2 Méthodes :

➤ Nécropsie :

Avant de procéder à l'autopsie, il est essentiel d'observer le comportement des oiseaux vivants, car certains signes cliniques peuvent orienter le diagnostic tels que des écoulements ou des déformation, démarche anormale, aspect du plumage, signes au niveau du système locomoteur (figure 4). L'euthanasie est réalisée par saignée. L'autopsie débute par le déplacement de l'animal en décubitus dorsal après la luxation des articulations coxo-fémorales pour rendre la carcasse plus stable puis mouillage des plumes à l'aide d'une solution désinfectante afin de limiter les contaminations (figure 5). Une incision cutanée médio-

Partie 02: partie expérimentale

ventrale est pratiquée le long du bréchet jusqu'à l'orifice cloacal puis prolongée crânialement jusqu'à la mandibule afin d'assurer un dépouillement. La peau est ensuite décollée des tissus sous-jacents au niveau de la poitrine, du ventre et des cuisses. L'ouverture de la cavité thoraco-abdominale a débuté par la réalisation d'une boutonnière dans la paroi abdominale au-dessus du cloaque qui sera prolongée crânialement jusqu'à l'extrémité du bréchet puis élargie latéralement jusqu'à la base des cuisses. Les muscles pectoraux, les cotes au niveau de leur cartilage de jonction, ainsi que les coracoïdes et les clavicules sont sectionnés. Cela permet la visualisation des organes thoraciques et abdominaux, il est important d'observer les organes *in-situ* avant de les disséquer individuellement et de réaliser les prélèvements.

L'éviscération des organes thoraco-abdominaux est ensuite réalisée en bloc. La dissection débute de chaque côté de la commissure du bec, puis les os hyoïdiens pour accéder à la cavité buccale. Le voile du palais est ensuite incisé afin de retirer l'œsophage et la trachée jusqu'au jabot.

Le tube digestif est sectionné entre le jabot et le proventricule, ainsi qu'au niveau du cloaque, permettant la libération de la masse digestive et la séparation du foie. La trachée est ouverte longitudinalement, les poumons sont isolés de la paroi thoracique, et les sacs aériens sont examinés individuellement.

Le cœur est disséqué avec ouverture des quatre cavités pour une étude morphologique précise. Les reins, encastrées dans les fosses de l'os lombo-sacré, sont extraites avec précaution.

La rate, située entre le proventricule et le gésier, la bourse de Fabricius en position crâniale du cloaque, ainsi que le thymus, longeant le cou près de la veine jugulaire, sont isolés. Les nerfs sciatiques sont prélevés au niveau pelvien.

Enfin, la boîte crânienne est ouverte afin d'extraire l'encéphale pour compléter l'analyse anatomique.

Une fois l'autopsie terminée, des prélèvements d'organes sont effectués pour analyse histopathologique, incluent la trachée, les poumons, le thymus, la rate, le foie, proventricule et le gésier, les reins, les intestins, nerfs sciatiques, la bourse de Fabricius, le cœur et le cerveau.

Partie 02: partie expérimentale



Figure 4 : Examen ante-mortem (photo personnelle)



Figure 5 : Autopsie : animal en décubitus dorsal (photo personnelle)

➤ Méthode Histopathologie :

L'histopathologie est une technique utilisée pour examiner les tissus biologiques au microscope, dans le but d'identifier des altérations cellulaires et tessulaires en lien avec divers processus pathologiques.

Dans cette étude, la méthode adoptée comprend les étapes suivantes :

- **Prélèvement du tissu et conservation :**

Après l'autopsie, des prélèvements ont été prélevés à partir des organes des sujets appartenant aux deux lots confirmés atteints de la maladie d'influenza aviaire.

Ces prélèvements sont ensuite conservés dans des flacons de prélèvements contenant une solution de fixation à base de formol à 10%.

- **Préfixation et fixation des tissus :**

Au niveau du laboratoire d'histopathologie, les prélèvements fixés sont triés, sélectionnés et retaillés d'environ 1 cm de longueur, 1cm de largeur et 0.4cm d'épaisseur, puis placés dans des cassettes d'inoculation identifiées.

- **Déshydratation et éclaircissement :**

Pour éviter leur durcissement, les échantillons sont d'abord immergés dans un bain d'attente contenant de l'alcool à 70% pendant une période de 24h, puis ils sont passés dans quatre bains alcooliques de concentration croissante (90%, 95%, puis deux bains à 100%)

Partie 02: partie expérimentale

pour retirer l'eau. Ils sont ensuite immergés dans deux bains successifs contenant du toluène pendant une heure par chaque bain. Enfin, ils sont inclus dans de la paraffine pendant 30min au sein d'une étuve, puis placés dans la paraffine liquide préchauffée à 56°C durant 12 heures.



Figure 6: déshydratation et éclaircissement des prélèvements (photo personnelle)

- **Imprégnation et blocage :**

Afin d'effectuer le blocage, chaque prélèvement préparé est placé dans un moule d'inclusion contenant de la paraffine liquide, puis recouvert par sa cassette et bloqué par enversant encore de la paraffine liquide jusqu'à remplissage total du moule. Ce dernier est ensuite positionné sur une plaque refroidissante.

Partie 02: partie expérimentale



Figure 7: imprégnation et enrobage de paraffine (photo personnelle)

- **Réalisation des coupes et fixation du tissu sur la lame :**

Après le refroidissement et démoulage, les blocs de paraffine contenant les échantillons sont positionnés sur le microtome réglé à une épaisseur de 0.5 mm, puis découpé en rubans.

Des sections de rubans sont placés dans un bain marie à 41°C pour éviter le pliage de la section d'organe, ensuite récupérés sur des lames identifiées, une lame est réalisée pour chaque échantillons. Les lames sont d'abord chauffées sur une plaque chauffante avant d'être transférée dans une étuve pour un séchage optimal pendant au moins 12heurs.

Partie 02: partie expérimentale



Figure 8: réalisation des lames (photo personnelle)

- **DEPARAFFINAGE ET REHYDRATATION :**

Le déparaffinage s'effectue en immergeant les lames dans deux bains de toluène, le premier pendant 7 minutes et le second 5 minutes.

Par la suite, la réhydratation des lames est réalisée par trois bains d'éthanol à concentrations décroissantes 100%, 90% puis 70% durant une minute pour chaque bain. Les lames sont ensuite rincées à l'eau sur trois bains successifs, chaque bain durant une minute.



Figure 9: déparaffinage et réhydratation (photo personnelle)

- **COLORATION A HEMATOXYLINE EOSINE :**

Partie 02: partie expérimentale

Les lames sont d'abord imprégnées dans un bain d'hématoxyline de Harris pendant 90 secondes afin de colorer les noyaux cellulaires. Elles sont ensuite rincées dans trois bains successifs d'eau courante pendant d'une minute par bain pour éliminer l'excès de colorer.

Une coloration du cytoplasme a été réalisée à l'aide d'un bain d'éosine pendant deux minutes

- **MONTAGE ET LECTURE DES LAMES :**

Une goutte de résine synthétique est déposée sur la lame préparée et recouverte directement par une lamelle, puis laissée à sécher pendant 24 heures. La lecture des résultats s'effectue par observation des coupes histologiques au microscope optique.

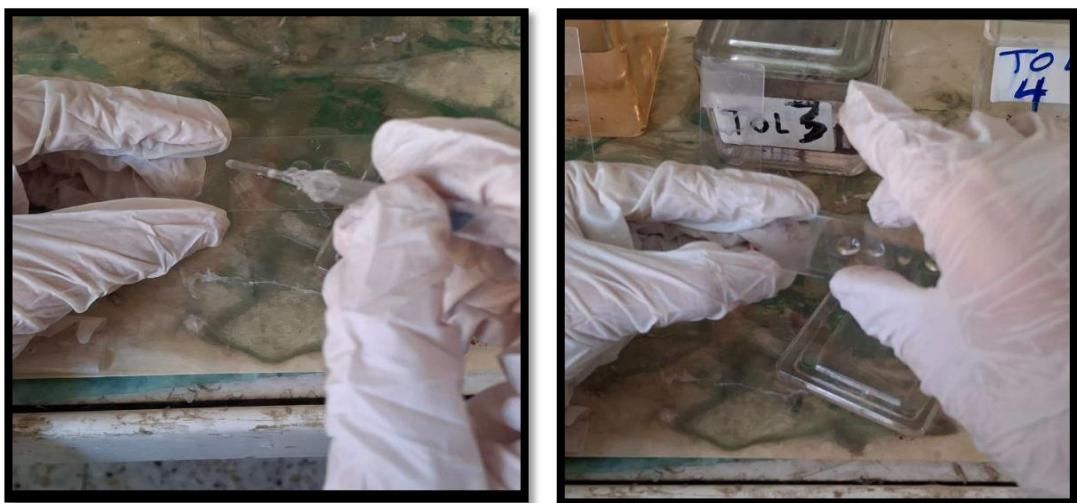


Figure 10: montage des lames (photo personnelle)

Résultats et discussion

Partie 03 : Résultats et discussion

I. RESULTAT :

I.1. Résultats des analyses de PCR

Tableau 2 : Résultats des analyses de PCR

N° d'échantillon	Type de prélèvement	Ct (Cycle Threshold)	Résultat
ECH-01	Trachée	27.8	Positif H9N2
ECH-02	Lavage pulmonaire	29.4	Positif H9N2
ECH-03	Trachée	ND	Négatif
ECH-04	Lavage pulmonaire	31.2	Positif H9N2
ECH-05	Trachée	28.6	Positif H9N2
ECH-06	Lavage pulmonaire	ND	Négatif
ECH-07	Trachée	30.1	Positif H9N2
ECH-08	Lavage pulmonaire	32.5	Positif H9N2
ECH-09	Trachée	ND	Négatif
ECH-10	Lavage pulmonaire	29.9	Positif H9N2
Contrôle positif	ARN connu du H9N2	22.3	Valide
Contrôle négatif	Eau sans nucléases	Non amplifié	Valide

ND = Non détecté, Ct moyen des positifs : 29.9

Interprétation des résultats

Sur les 10 échantillons analysés, 7 se sont avérés positifs au virus H9N2.

1. La valeur moyenne du Ct est de 29.9, ce qui indique une charge virale modérée à élevée, confirmant la présence d'une infection active dans le lot.

Partie 03 : Résultats et discussion

2.L'absence d'amplification dans certains échantillons peut être liée à une mauvaise qualité de prélèvement ou à une faible charge virale locale.

3.Ces résultats montrent que le virus circule activement dans cet élevage.

I.2. Résultats de l'étude clinique :

L'examen sanitaire a été conduit dans l'ensemble des trois serres d'élevage de cette ferme avicole, hébergeant chacune 4000 volailles. Durant la période épidémique qui a persisté pendant 8 jours consécutifs, les manifestations cliniques observées étaient similaires dans tous les serres et se présentaient comme suit :

- Le taux de morbidité très élevé, Les animaux présentent une dégradation dans l'état générale (amaigrissement) avec une diminution importante de la consommation d'aliments et d'eau (figure 11)
- Le taux de mortalité élevé et soudaine (figure 12)
- Signes digestifs : Des fientes d'aspect et couleur anormal (figure 13)
- Signes respiratoires : éternuement, écoulement nasal, respiration buccale (figure 14)
- Une conjonctivite (figure 15)
- Œdème de la tête, des paupières, de la crête et des barbillons (figure 16)



Figure 11 : Morbidité très élevée (Photo personnelle)



Figure 12: Mortalité très élevée (Photo personnelle)

Partie 03 : Résultats et discussion



Figure 13 : Fientes de consistencia anormal (photo personnelle)



Figure 14: Écoulement nasal avec un dyspnée (Photo personnelle)



Figure 15: Conjonctivite (Photo personnelle)



Figure 16: Œdème de la tête (Photo personnelle)

I.3. Résultats de l'étude nécropsique

L'autopsie des sujets a révélé plusieurs lésions similaires dans tous les battements de l'exploitation qui ont affecté divers organes, notamment :

- Trachéite fibrineuse (figure 17)
- Présence de bouchon muqueux dans les voies respiratoires supérieures (figure 18)
- Pneumonie avec dépôt fibrineux (figure 19)
- Péricardite sérofibrineuse (figure 20)
- Hypertrophie rénale avec aspect dégénératif (figure 21)

Partie 03 : Résultats et discussion

- Néphrite congestive (figure 22)
- Hépatite dégénérative avec dépôt fibrineux (figure 23)
- Hypertrophie du thymus (figure 24)
- Splénomégalie congestive (figure 25)
- Gésier et proventricule sont normaux (figure 26)
- Nerf sciatique d'aspect et de couleur normale (figure 27)
- Bursite hémorragique (figure 28)
- Hypertrophie de la bourse de Fabricius avec dépôt fibrineux (figure 29)
- Congestion de la séreuse du tractus digestif (figure 30 ; figure 31)
- Contenu intestinal mucoïde orange (figure 32)
- Des hémorragies punctiformes (figure 33) ou en plaques (figure 34) dans la muqueuse
- Congestion de la muqueuse (figure 35)



Figure 17: trachéite fibrineuse (photo personnelle)



Figure 18: bouchon muqueux (photo personnelle)

Partie 03 : Résultats et discussion



Figure 19 : Pneumonie avec dépôt fibrineux (photo personnelle)

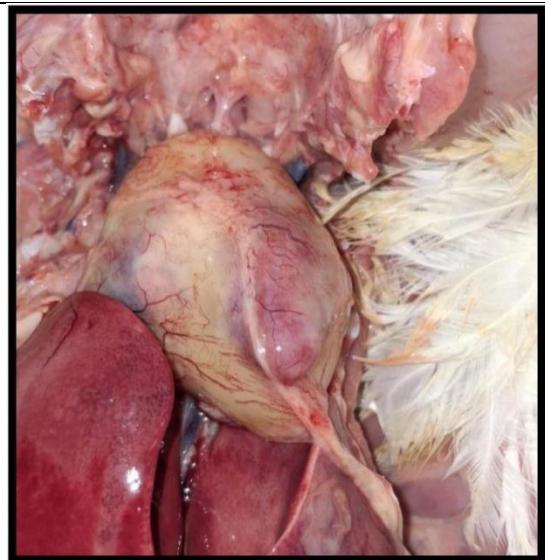


Figure 20 : péricardite sérofibrineuse (photo personnelle)

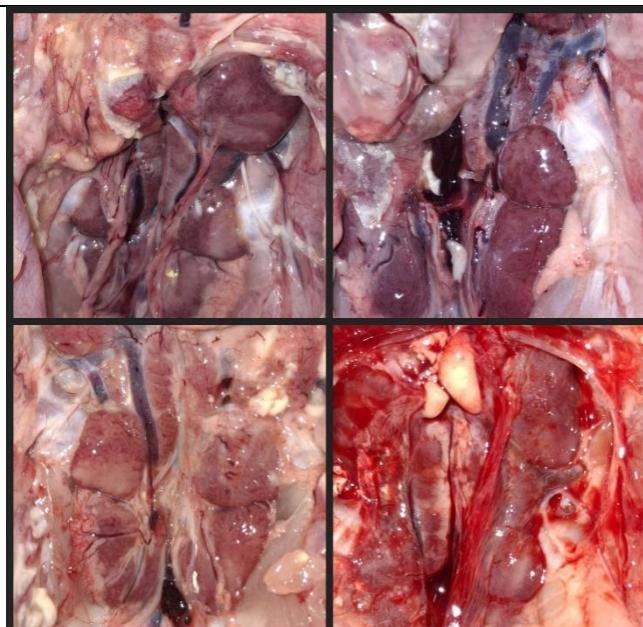


Figure 21 : hypertrophie rénale avec aspect dégénératif (photo personnelle)

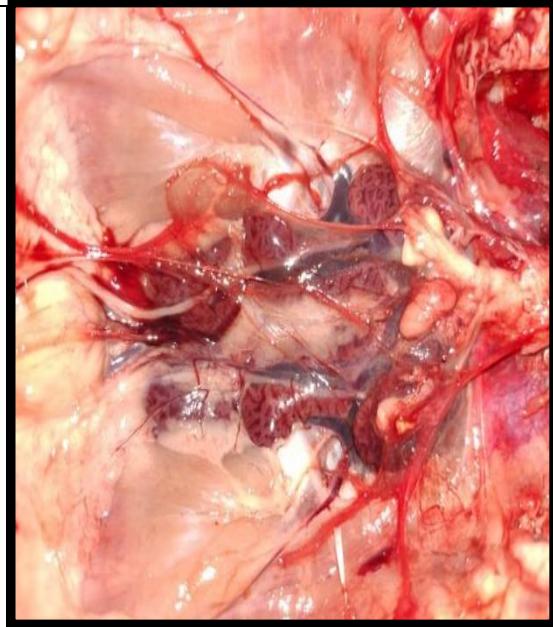


Figure 22: Nephrite congestive (photo personnelle)

Partie 03 : Résultats et discussion

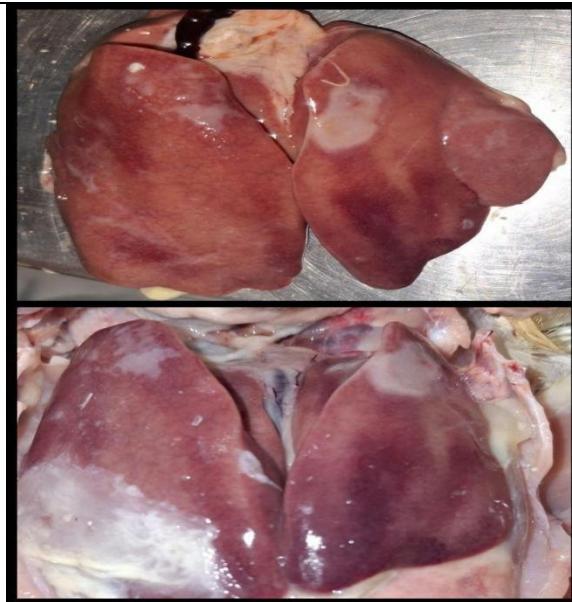


Figure 23: Hépatite dégénérative avec dépôt fibrineux (photo personnelle)



Figure 24: thymus très hypertrophié (photo personnelle)



Figure 25 : splénomégalie congestive (photo personnelle)

Partie 03 : Résultats et discussion



Figure 26: gésier et proventricule normaux (photo personnelle)

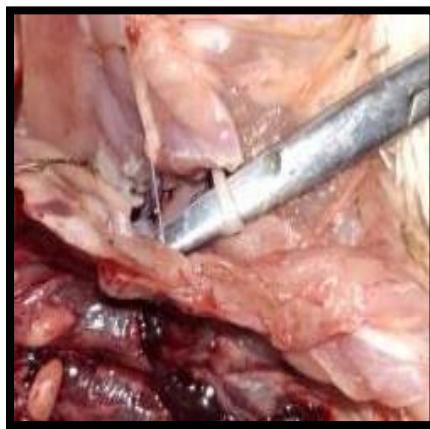


Figure 27: nerf sciatique d'aspect et de couleur normale (photo personnelle)

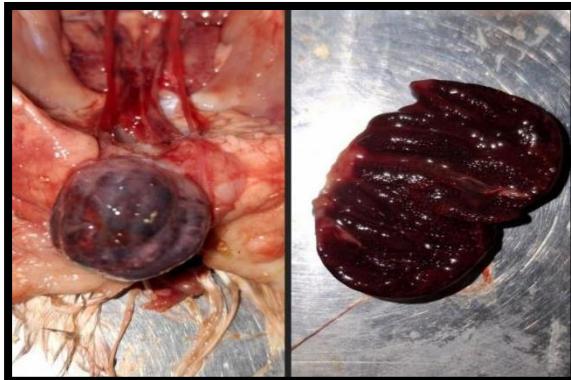


Figure 28: Bursite hémorragique (Photo personnelle)

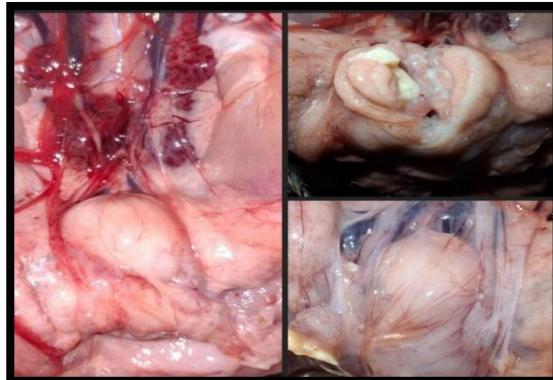


Figure 29: Hypertrophie de la bourse de Fabricius avec dépôt fibrineux (photo personnelle)

Partie 03 : Résultats et discussion



Figure 30: contenu intestinal mucoide orange (photo personnelle)



Figure 31: hémorragies punctiformes (photo personnelle)



Figure 32: hémorragies en plaques (photo personnelle)



Figure 33: congestion diffuse (photo personnelle)

I.4. Résultats de l'examen histopathologique :

L'étude histopathologique a été effectuée sur les organes suivants : trachée, poumons, cœur, thymus, foie, rate, reins, proventricule, gésier, le cerveau, les intestins (duodénum, jéjunum, iléon et les caeca), bourse de Fabricius et le nerf sciatique. Les lésions observées étaient comme suit :

1 La trachée :

Observation:

- Une disparition totale de l'épithélium trachéal
- Une forte infiltration proliférative et diffuse
- Une congestion généralisée avec une hémorragie
- Un épaississement de chorion suite à une forte infiltration et congestion
- Un épaississement de la membrane basale
- Une dégénérescence des glandes

Partie 03 : Résultats et discussion

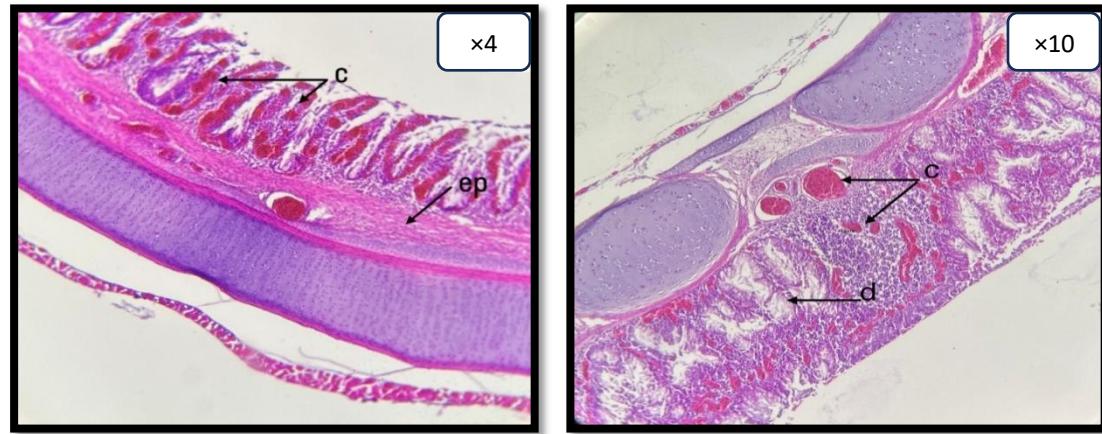


Figure 34 : trachéite ulcéратive (photo personnelle).

(c) : congestion ; (ep) : épaississement de membrane basale ; (d) : dégénérescence glandulaire

2 Les poumons

- Présence des œdèmes inter-tubulaire, d'une forte congestion diffuse et une légère hémorragie.

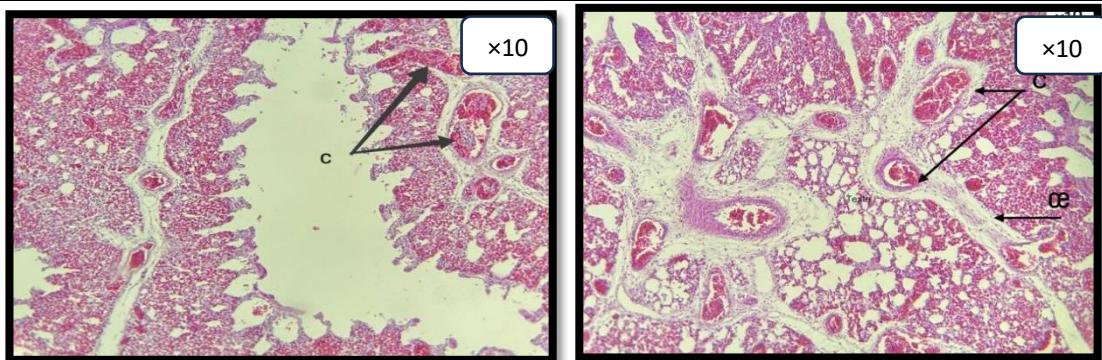


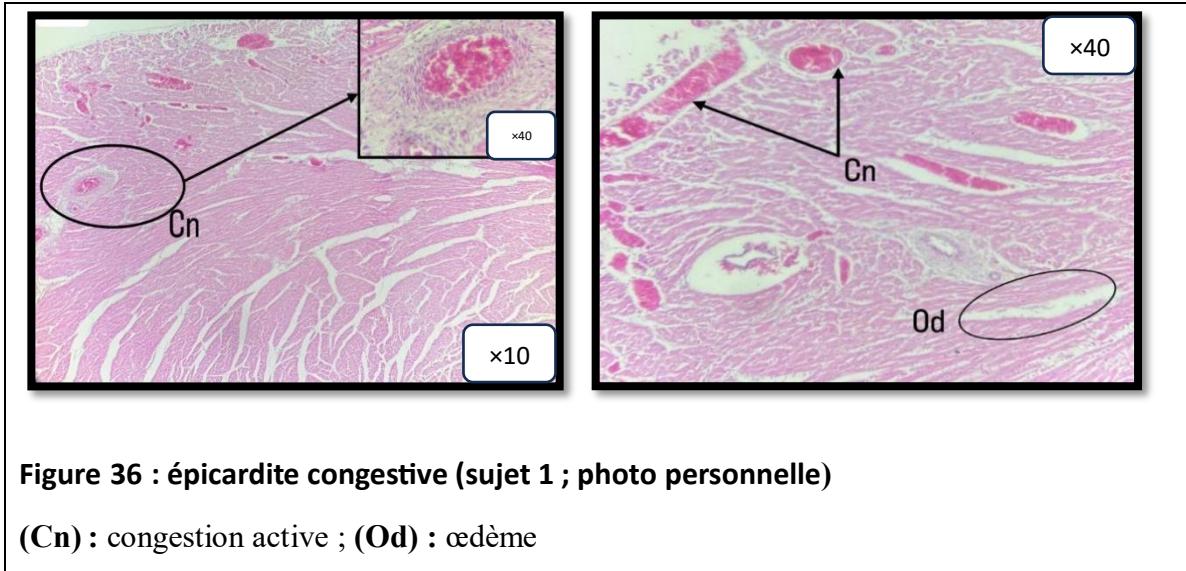
Figure 35: pneumonie congestive hémorragique (photo personnelle).

(c) : congestion ; (œ) : œdème

3 Le cœur

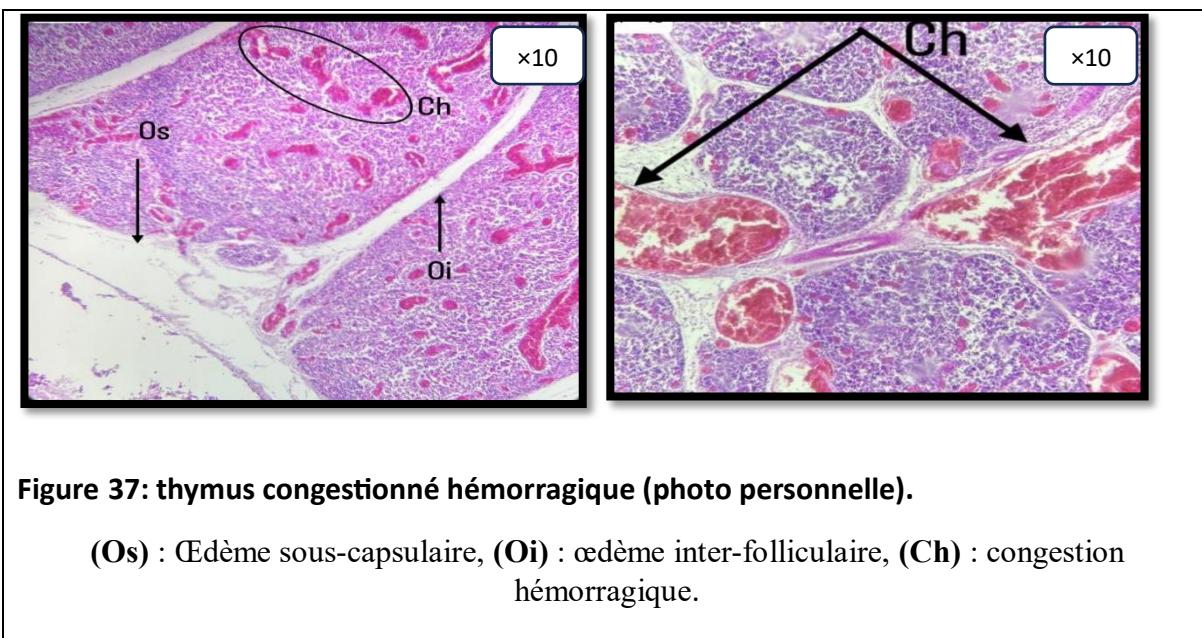
- Congestion active focale au niveau de l'épicarde (vasa vasorum) et présence d'œdème entre les faisceaux de myocarde et l'endocarde

Partie 03 : Résultats et discussion



4 LE thymus

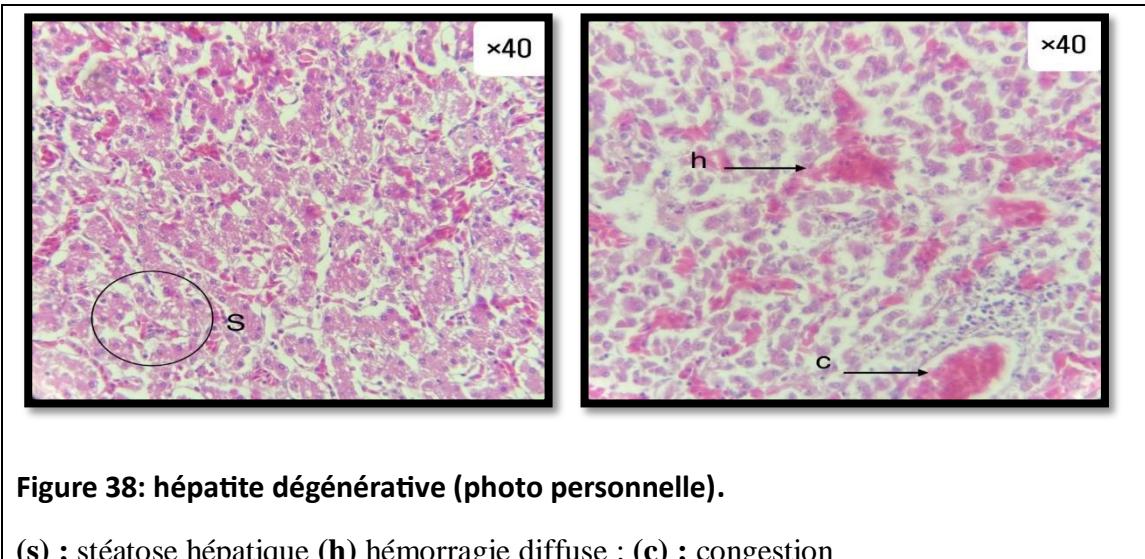
- Observation d'une fortement congestionné, une forte hémorragie, œdème sous-capsulaire, et œdème interlobulaire



5 Le foie

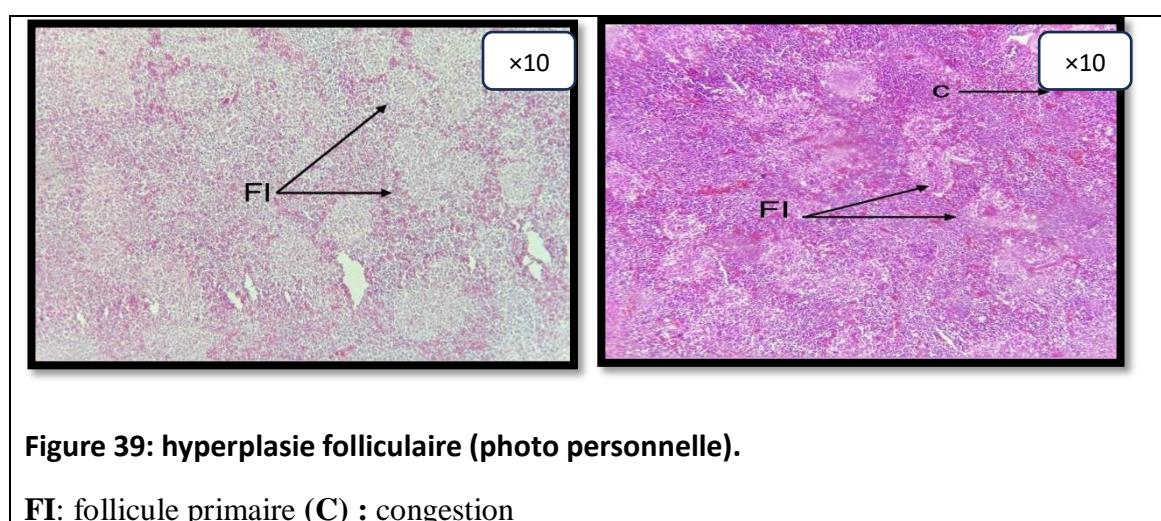
- Forte congestion diffuse avec une légère hémorragie, infiltration diffuse remarquable en amas péri-portale et présence de stéatose hépatique

Partie 03 : Résultats et discussion



6 La RATE

- Hyperplasie folliculaire (une artéiole centrale) et congestion



7 Les reins

- Congestion hémorragique et légère dégénérescence tubulaire.

Partie 03 : Résultats et discussion

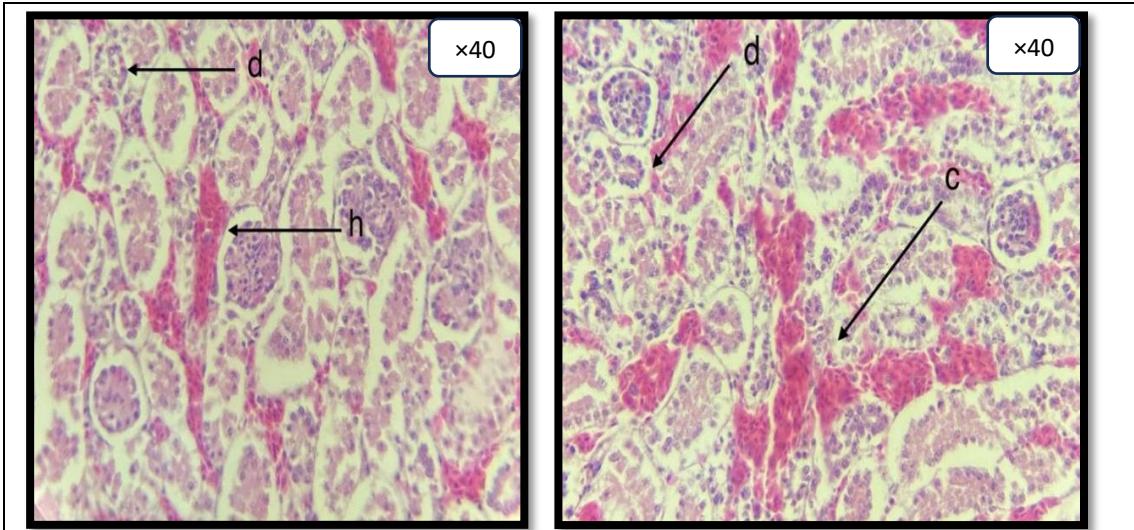


Figure 40: néphrite hémorragique (photo personnelle).

(C) : congestion ; (d) : dégénérescence tubulaire

8 Le proventricule

- Légère dégénérescence glandulaire et œdème inter-glandulaire

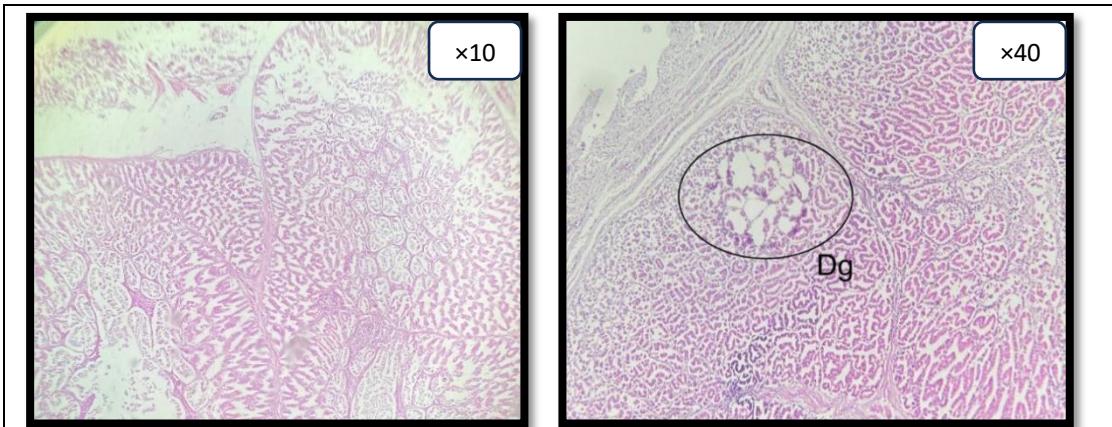


Figure 41: dégénérescence glandulaire (photo personnelle)

(dg) : dégénérescence glandulaire

9 Le gésier (RAS)

10 Le cerveau

- Dégénérescence du cortex, congestion diffuse, œdème sous capsulaire, et infiltration

Partie 03 : Résultats et discussion

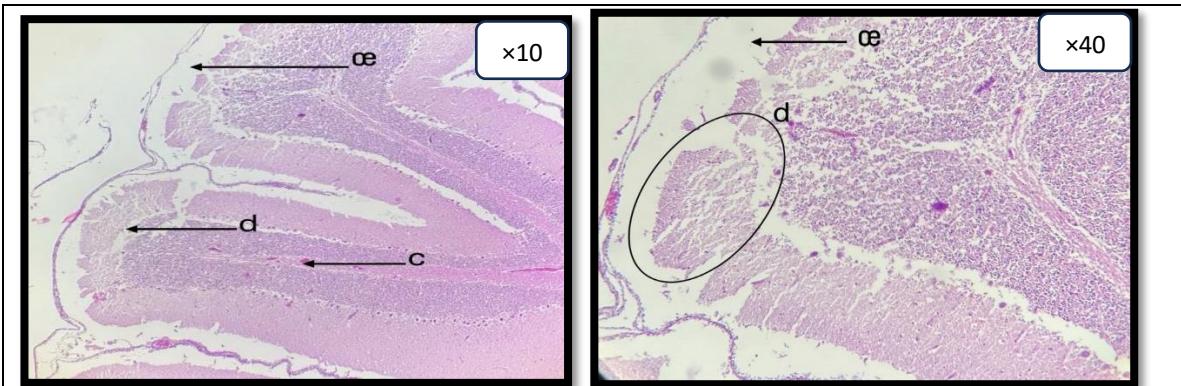


Figure 42: encéphalite (photo personnelle)

(C) : congestion ; (d) : dégénérescence du cortex ; (œ) : œdème

11 Le nerf sciatique (RAS)

12 Les intestins

- **Duodénum :**

- Forte infiltration par les macrophages et lymphocytes
- Destruction des villosités par une forte infiltration proliférative, et débris des cellules.
- Absence de l'épithélium et hémorragie
- Hyperplasie des glandes de Brunner

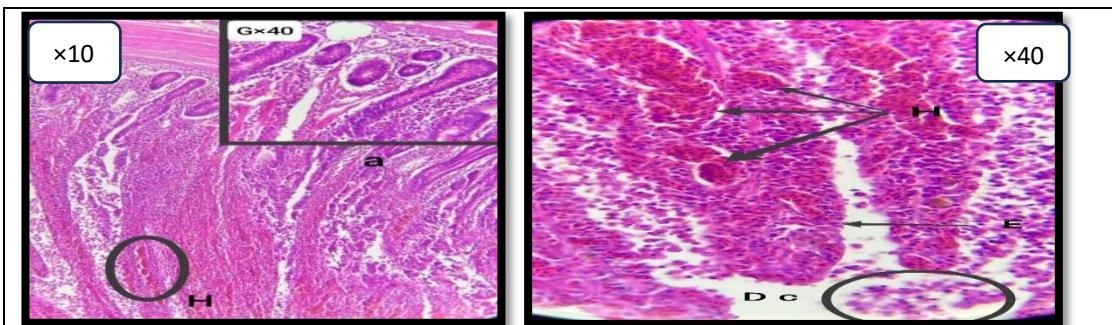


Figure 43: duodénite congestive (photo personnelle)

a: hyperplasie glandulaire (H) : hémorragie (E) : absence de l'épithélium (Dc) : débris cellulaire

- **Jéjunum**

- Absence de l'épithélium
- Forte infiltration
- Dégénérescence de la sous muqueuse

Partie 03 : Résultats et discussion

- Congestion hémorragique

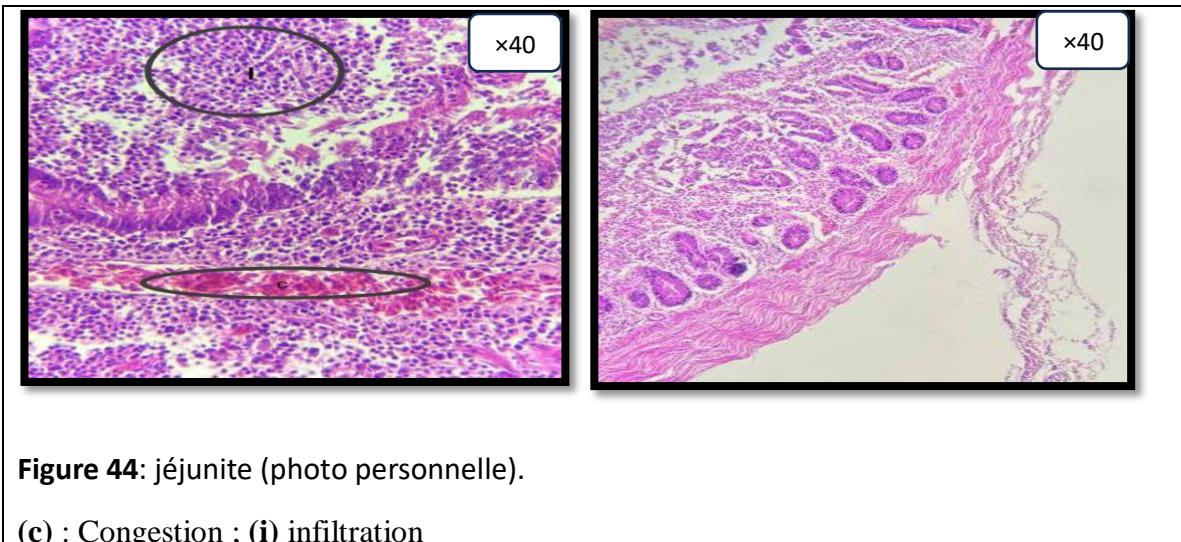


Figure 44: jéjunite (photo personnelle).

(c) : Congestion ; (i) infiltration

- **Iléon**

- Forte infiltration proliférative en forme de granulome et épaississement de musculeuse
- Destruction des villosités et débris des cellules mortes

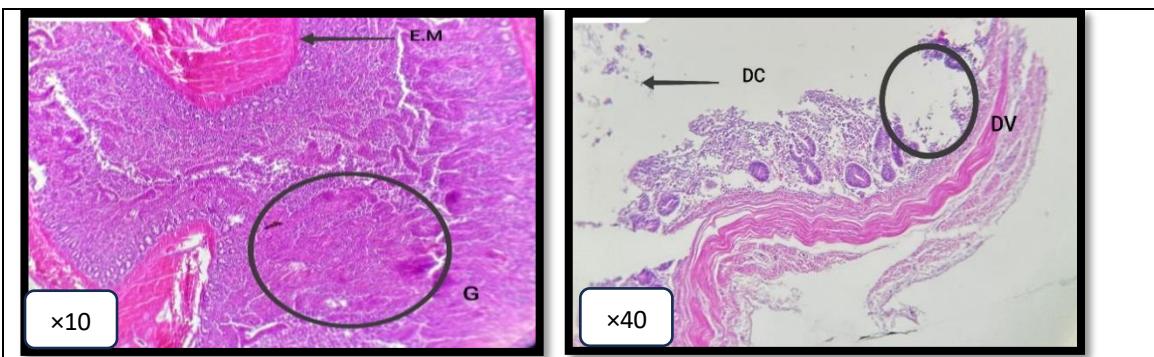


Figure 45: duodénite (photo personnelle)

(G) : granulome ; (Em) : épaississement de musculeuse ; (Dv) : destruction villositaire ; (Dc) : débris cellulaire

- **ceacum**

- Destruction des villosités, congestion et une forte infiltration proliférative.

Partie 03 : Résultats et discussion

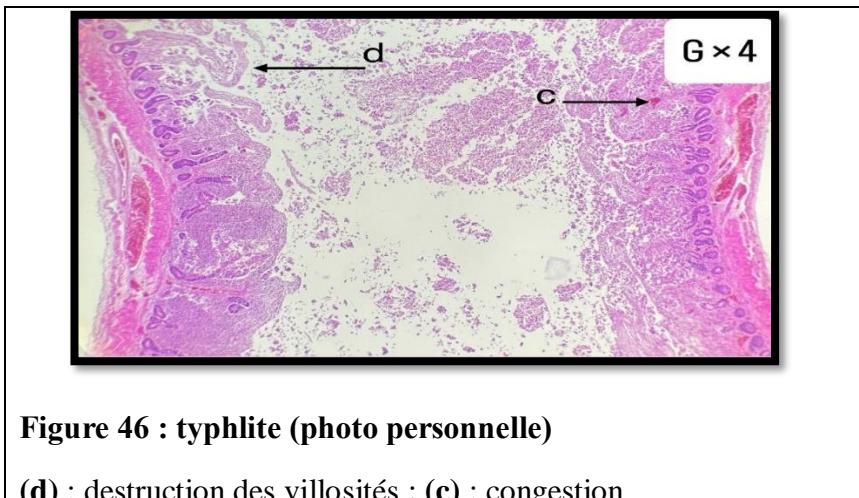


Figure 46 : typhlite (photo personnelle)

(d) : destruction des villosités ; (c) : congestion

13 La bourse de Fabricius :

- Congestion intra-folliculaire
- œdème inter-folliculaire
- Dégénérescence folliculaire

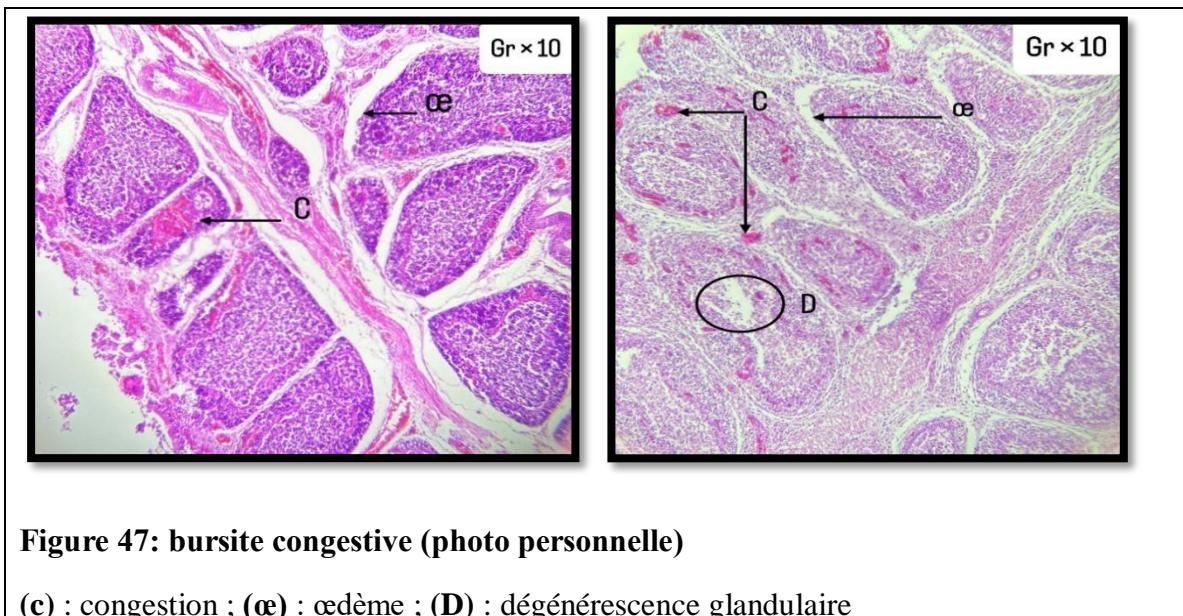


Figure 47: bursite congestive (photo personnelle)

(c) : congestion ; (œ) : œdème ; (D) : dégénérescence glandulaire

14 Le nerf sciatique : RAS

Partie 03 : Résultats et discussion

II. Discussion

II.1. Clinique

Les poulets de notre étude, infectés par H9N2 ont présenté des signes respiratoires typiques, similaires à ceux décrits dans la littérature récente. Plusieurs études indiquent que l'infection H9N2 provoque surtout des symptômes respiratoires : toux, éternuements, râles, dyspnée avec halètement (respiration bouche ouverte), écoulement nasal, oculaire et larmoiement. Par exemple, (Bóna et al., 2023) rapportent que les oiseaux malades de H9N2 sont haletants, le bec ouvert, le cou tendu et la tête levée, avec anorexie et dépression, parfois des prolapsus nasaux et conjonctivite. Ces descriptions concordent avec nos observations de forte morbidité, d'écoulement nasal, respiration buccale et conjonctivite. De même, une flambée H9N2 récente au Nigeria (2024) a noté une pneumonie, une sinusite et des matières fécales verdâtres sévères chez les volailles infectées (Akanbi et al., 2024)

1 Etude nécropsique

L'examen post-mortem a révélé des lésions marquées sur les voies respiratoires et plusieurs organes internes. On a constaté des bouchons muqueux obstructifs à la bifurcation trachéale, une trachéite fibrineuse diffuse et une pneumonie sévère avec dépôts fibrineux. Ces lésions ont été aussi rapportés par Arbani et al., (2023) et Essalah-Bennani et al. (2021).

Nous avons noté que le péricarde était souvent recouvert de fibrine et l'épicarde est très congestionné, le foie présentait une hépatite congestive avec foyers fibrineux, et la rate une splénomégalie congestive. Les reins étaient hypertrophiés, indiquant une néphrite. On a également noté une bourse de Fabricius hypertrophiée très congestionnée à hémorragique et une congestion des intestins. Toutes ces lésions rappellent celles décrites dans la littérature relative à la maladie de H9 (Akanbi et al., 2024 ; Yehia & Mohamed, 2024)

II.2. Etude Histopathologique :

Les altérations histologiques mises en évidence dans notre étude confirment que le virus H9N2 manifeste un tropisme marqué pour les tissus respiratoires et lymphoïdes. L'analyse microscopique a révélé une trachéite caractérisée par une infiltration lymphocytaire associée à une exfoliation de l'épithélium, ainsi qu'une pneumonie interstitielle catarrhale, marquée par des infiltrats mononucléés et un œdème interstitiel prononcé. La pneumonie à infiltrats mononucléés suggère une recirculation systémique des lymphocytes activés, typique des infections à influenza A (Zhang et al., 2023). Ces lésions respiratoires sont en parfait accord

Partie 03 : Résultats et discussion

avec les observations rapportées par Bóna et *al.* (2023), qui ont décrit des atteintes similaires au niveau des voies respiratoires chez des poulets infectés par des souches H9N2.

Les lésions thymiques caractérisées par une congestion hémorragique ainsi que des œdèmes sous-capsulaire et interlobulaire illustrent l'effet immunosuppresseur exercé par le virus H9N2. L'atteinte de cet organe lymphoïde primaire pourrait expliquer la vulnérabilité accrue aux infections opportunistes observée sur le plan clinique. Ce mécanisme est corroboré par les travaux de Jegede et *al.* (2018), qui ont mis en évidence l'immunosuppression induite par le H9N2 chez les oiseaux infectés.

L'épicardite congestive associée à un œdème intermyocardique, telle qu'observée dans notre étude, témoigne d'une atteinte systémique potentiellement induite par le virus H9N2. Hassan et *al.* (2017) rapportent que lors de co-infections, une inflammation viscérale étendue incluant fréquemment la péricardite est une lésion récurrente. Par ailleurs, Bidoudan et *al.* (2023) ont également signalé des cas de congestion myocardique sévère et de péricardite marquée chez des oiseaux sauvages infectés naturellement par le H9N2.

Les altérations cérébrales relevées dans notre étude incluant la dégénérescence corticale, la congestion diffuse, l'œdème sous-capsulaire et l'infiltration périvasculaire indiquent une encéphalopathie modérée. Bien que le virus H9N2 soit classiquement reconnu pour son faible tropisme neurologique, Zhang et *al.* (2021) ont mis en évidence que, suite à une adaptation par passages successifs chez la souris, certaines souches peuvent acquérir des mutations spécifiques, leur conférant la capacité de cibler directement les cellules du SNC.

Les lésions intestinales observées dans notre étude, caractérisées par une destruction marquée des villosités et une infiltration dense de cellules macrophagiques et lymphocytaires, traduisent une entérite aiguë sévère. Ces altérations sont particulièrement significatives au regard du tropisme entérique potentiel du virus H9N2. Selon H. Li et *al.* (2018), ce virus est capable de se répliquer activement dans les tissus intestinaux, entraînant des dommages morphologiques profonds et une augmentation de l'apoptose des cellules épithéliales. Ces lésions contribuent vraisemblablement à l'apparition des symptômes digestifs, notamment les diarrhées observées sur le plan clinique, comme le confirment également les travaux de Caliendo et *al.* (2020). Par ailleurs, la présence de granulomes au niveau de l'iléon dans nos échantillons suggère une réponse inflammatoire chronique organisée, compatible avec les effets délétères du H9N2 sur la structure de la barrière intestinale, notamment en ce qui concerne la désorganisation des cryptes et l'altération de l'homéostasie épithéliale (Li et *al.*, 2018).

Conclusion générale

L'étude de l'influenza aviaire H9N2 chez les poulets a révélé des manifestations cliniques, lésionnelles et histopathologiques cohérentes avec la littérature scientifique récente. Les symptômes respiratoires observés, tels que toux, dyspnée, écoulements nasaux et conjonctivite, associés à une forte morbidité, confirment le tropisme respiratoire marqué du virus. Les lésions post-mortem, incluant trachéite fibrineuse, pneumonie sévère, péricardite, hépatite congestive et entérite aiguë, témoignent d'une atteinte systémique affectant les systèmes respiratoire, lymphoïde, cardiovasculaire et digestif. Les analyses histopathologiques ont mis en évidence des infiltrations lymphocytaires, des œdèmes interstitiels et des lésions hémorragiques, notamment au niveau du thymus, suggérant une immunosuppression favorisant les infections opportunistes. Bien que le tropisme neurologique reste limité, des altérations cérébrales modérées indiquent un potentiel évolutif du virus. Ces résultats soulignent la nécessité d'une surveillance continue des souches H9N2, en raison de leur impact clinique significatif et de leur potentiel d'adaptation, pouvant aggraver leur pathogénicité ou leur transmissibilité.

Recommandations et perspectives

Recommandations

- ✓ Renforcement de la biosécurité : Mettre en place des mesures strictes (contrôle des accès, désinfection, gestion des flux) pour limiter la propagation du virus H9N2, particulièrement dans les zones à forte densité avicole, comme observé dans des flambées récentes (Akanbi et al., 2024).
- ✓ Surveillance épidémiologique : Intensifier le monitoring des souches H9N2 pour détecter d'éventuelles mutations, notamment celles conférant un tropisme neurologique ou une transmissibilité accrue, comme suggéré par Zhang et al. (2021).
- ✓ Stratégies vaccinales : Développer et évaluer des vaccins inactivés ou à base de pseudo-particules virales (VLP), qui pourraient offrir une alternative sûre pour contrôler l'infection, en s'inspirant des approches décrites pour d'autres pathogènes aviaires (Caliendo et al., 2020).
- ✓ Gestion des co-infections : Compte tenu de l'immunosuppression induite par H9N2 (Jegede et al., 2018), administrer des traitements prophylactiques contre les infections opportunistes et renforcer l'immunité via des adjuvants, comme les nano-adjuvants.
- ✓ Amélioration des pratiques d'élevage : Optimiser les conditions d'élevage (ventilation, densité, nutrition) pour réduire le stress et la susceptibilité des poulets aux infections respiratoires et systémiques.

Perspectives

- ✓ Recherche sur le tropisme entérique et neurologique : Approfondir l'étude des mécanismes moléculaires sous-jacents à l'atteinte intestinale et cérébrale, notamment via des modèles expérimentaux pour évaluer l'adaptation du virus (Li et al., 2018; Zhang et al., 2021).
- ✓ Développement de vaccins innovants : Explorer les vaccins à VLP ou à vecteurs viraux pour une protection ciblée contre les souches H9N2, en s'appuyant sur les avancées dans les vaccins antibactériens aviaires.
- ✓ Études génomiques : Séquencez les souches H9N2 locales pour identifier les marqueurs génétiques associés à la virulence ou à la transmissibilité, facilitant la prédiction des risques zoonotiques.

- ✓ Impact économique et sanitaire : Évaluer les pertes économiques dues à H9N2 et son impact sur la sécurité alimentaire, en intégrant des modèles épidémiologiques pour guider les politiques de contrôle.
- ✓ Collaboration internationale : Renforcer les partenariats pour partager les données sur les souches H9N2 et harmoniser les stratégies de lutte, en s'appuyant sur les recommandations de l'OIE (2021).
- ✓ Ces recommandations et perspectives visent à réduire l'impact de l'influenza H9N2 tout en anticipant ses évolutions potentielles, en synergie avec les approches de biosécurité et de vaccination déjà explorées pour d'autres maladies aviaires.

"Le H9N2 n'est plus seulement un virus respiratoire : c'est un agent pathogène multisystémique, dont la maîtrise exige une approche intégrée, combinant surveillance moléculaire, vaccinologie de précision et gestion holistique du stress aviaire."

Les références

(A)

- **AbuBakar**, U., Amrani, L., Kamarulzaman, F. A., Karsani, S. A., Hassandarvish, P., & Khairat, J. E. (2023). Avian influenza virus tropism in humans. *Viruses*, 15(4), 833. <https://doi.org/10.3390/v15040833>
- **Akanbi**, O. B., Alaka, O. O., Olaifa, O. S., Meseko, C. A., Inuwa, B., Ohore, O. G., Tijani, M., Jarikre, T., Ola, O., Odita, C., Ahmed, J. S., Fagbohun, O., Oluwayelu, D., Daodu, O. B., Oladele, O., Olapade, J., Taiwo, O., & Muhammad, M. (2024). Pathology and molecular detection of influenza A subtype H9N2 virus in commercial poultry in Nigeria, 2024. *Open Veterinary Journal*, 14(9), 2381. <https://doi.org/10.5455/ovj.2024.v14.i9.26>
- **Alasiri**, A., Soltane, R., Hegazy, A., Khalil, A.M., Mahmoud, S.H., Khalil, A.A., Martinez-Sobrido, L. and Mostafa, A. (2023) Vaccination and antiviral treatment against avian influenza H5Nx viruses: A harbinger of virus control or evolution. *Vaccines* (Basel), 11(11): 1628.
- **Al-Zuhariy**, M. T. B. (2022). *Using T cell lymphokines of hyperimmunized chickens with Salmonella pullorum to enhance immune response of layer hens against avian influenza* [Poster session]. *Iraqi Journal of Veterinary Sciences*, 36(Supplement I), 229–234. <https://doi.org/10.33899/ijvs.2022.136021.2556>
- **Arbani**, O., Ducatez, M. F., Mahmoudi, S., Salamat, F., Khayi, S., Mouahid, M., Selim, K. M., Kichou, F., Ouchhour, I., Houadfi, M. E., & Fellahi, S. (2023). Low Pathogenic Avian Influenza H9N2 Viruses in Morocco: Antigenic and Molecular Evolution from 2021 to 2023. *Viruses*, 15(12), 2355. <https://doi.org/10.3390/v15122355>
- **Ariyama** N, Pardo-Roa C, Muñoz G, et al. Highly Pathogenic Avian Influenza A(H5N1) Clade 2.3.4.4b Virus in Wild Birds, Chile. *Emerging Infectious Diseases*. 2023; 29(9): 1842-1845. doi: 10.3201/eid2909.230067
- **Azeem**, S., & Yoon, K. (2025). Diagnostic Assays for Avian Influenza Virus Surveillance and Monitoring in Poultry. *Viruses*, 17(2), 228. <https://doi.org/10.3390/v17020228>

(B)

- **Barberis**, A., Boudaoud, A., Gorrill, A., Loupias, J., Ghram, A., Lachheb, J., Alloui, N., & Ducatez, M. F. (2020). Full-length genome sequences of the first H9N2 avian influenza viruses isolated in the Northeast of Algeria. *Virology Journal*, 17(1). <https://doi.org/10.1186/s12985-020-01377-z>
- **Batool**, S., Chokkakula, S. and Song, M.S. (2023) Influenza treatment: Limitations of antiviral therapy and advantages of drug combination therapy. *Microorganisms*, 11(1): 183

- **Bidoudan, Y.**, Mouahid, M., Fihri, O. F., Bollo, E., Arbani, O., Ducatez, M., Banni, B., Tligui, N., & Fellahi, S. (2023b). First Report of Low Pathogenic Avian Influenza Subtype H9N2 in African Houbara Bustards (*Chlamydotis undulata undulata*) and Gamebirds in Morocco: Clinico-Pathological Findings, Molecular Characterization, and Associated Coinfections. *Viruses*, 15(12), 2374. <https://doi.org/10.3390/v15122374>
- **Blagodatski, A.**; Trutneva, K.; Glazova, O.; Mityaeva, O.; Shevkova, L.; Kegeles, E.; Onyanov, N.; Fede, K.; Maznina, A.; Khavina, E.; et al. Avian Influenza in Wild Birds and Poultry: Dissemination Pathways, Monitoring Methods, and Virus Ecology. *Pathogens* 2021, 10, 630. <http://doi.org/10.3390/pathogens10050630>
- **Bóna, M.**, Földi, J., Dénes, L., Harnos, A., Paszerbovics, B., & Mándoki, M. (2023). Evaluation of the Virulence of Low Pathogenic H9N2 Avian Influenza Virus Strains in Broiler Chickens. *Veterinary Sciences*, 10(12), 671. <https://doi.org/10.3390/vetsci10120671>
- **Bonilla-Aldana, D. K.**, Calle-Hernández, D. M., Ulloque-Badaracco, J. R., Alarcón-Braga, E. A., Hernández-Bustamante, E. A., Cabrera-Guzmán, J. C., Quispe-Vasquez, S. M., Huayta-Cortez, M. A., Benites-Zapata, V. A., & Rodriguez-Morales, A. J. (2024). Highly pathogenic avian influenza A(H5N1) in animals: A systematic review and meta-analysis. *New Microbes and New Infections*, 60–61, Article 101439. https://doi.org/10.1016/j_nmni.2024.101439

(C)

- **Caliendo, V.**, Leijten, L., Begeman, L., Poen, M. J., Fouchier, R. A. M., Beerens, N., & Kuiken, T. (2020). Enterotropism of highly pathogenic avian influenza virus H5N8 from the 2016/2017 epidemic in some wild bird species. *Veterinary Research*, 51(1). <https://doi.org/10.1186/s13567-020-00841-6>
- **Charostad, J.**, Rezaei Zadeh Rukerd, M., Mahmoudvand, S., Bashash, D., Hashemi, S. M. A., Nakhaie, M., & Zandi, K. (2023). A comprehensive review of highly pathogenic avian influenza (HPAI) H5N1: An imminent threat at doorstep. *Travel Medicine and Infectious Disease*, 55, 102638. <https://doi.org/10.1016/j.tmaid.2023.102638>
- **Crispo, M.**, Carrasco Muñoz, M., Lacroix, F., Kheyi, M.-R., Delverdier, M., Croville, G., Dirat, M., ... Le Loc'h, G. (2024). Pathological investigation of high pathogenicity avian influenza H5N8 in captive houbara bustards (*Chlamydotis undulata*), the United Arab Emirates 2020. *Scientific Reports*, 14, 4235. <https://doi.org/10.1038/s41598-024-54884-2>

(D)

- **Dinev, I.**, Pavlova, G., & Mitev, J. (2013). *Développement d'une méthode de RT-PCR en duplex pour la détection simultanée des virus de l'influenza aviaire et de la maladie de Newcastle chez les volailles*. *Journal of Virological Methods*, 194(1–2), 209–212.
<https://doi.org/10.1016/j.jviromet.2013.08.027>

(E)

- **Essalah-Bennani, A.**, Bidoudan, Y., Fagrach, A., Balil, H., Abderrazak, E.-K., Tlgui, N., Nassik, S., & Ouafaa, F. F. (2021). Experimental study of the efficacy of three inactivated H9N2 influenza vaccines on broiler flocks. *German Journal of Veterinary Research*, 1(2), 35-45.
<https://doi.org/10.51585/gjvr.2021.2.0012>

(F)

- **Fereidouni, S.**, Starick, E., & Karamendin, K. (2023). Genetic characterization of a new candidate hemagglutinin subtype of influenza A viruses. *Emerging Microbes & Infections*, 12(2), 2225645. <https://doi.org/10.1080/22221751.2023.2225645>
- **Fu, X.**, Wang, Q., Ma, B., Zhang, B., Sun, K., Yu, X., Ye, Z., & Zhang, M. (2023). Advances in detection techniques for the H5N1 avian influenza virus. *International Journal of Molecular Sciences*, 24(24), 17891. <https://doi.org/10.3390/ijms242417891>

(G)

- **Gamarra-Toledo V**, Plaza PI, Angulo F, et al. Highly Pathogenic Avian Influenza (HPAI) strongly impacts wild birds in Peru. *Biological Conservation*. 2023; 286: 110272. doi: 10.1016/j.biocon.2023.110272

(H)

- **Haji-Abdolvahab, H.**, Ghalyanchilangeroudi, A., Bahonar, A., Ghafouri, S. A., Marandi, M. V., Mehrabadi, M. H. F., & Tehrani, F. (2018). Prevalence of avian influenza, Newcastle disease, and infectious bronchitis viruses in broiler flocks infected with multifactorial respiratory diseases in Iran, 2015–2016. *Tropical Animal Health And Production*, 51(3), 689-695. <https://doi.org/10.1007/s11250-018-1743-z>
- **Hassan, K. E.**, Ali, A., Shany, S. A., & El-Kady, M. F. (2017). Experimental co-infection of infectious bronchitis and low pathogenic avian influenza H9N2 viruses in commercial broiler chickens. *Research In Veterinary Science*, 115, 356-362.
<https://doi.org/10.1016/j.rvsc.2017.06.024>
- **Hicks, J. T.**, Edwards, K., & Qiu, X. (2022). Host diversity and behavior determine patterns of interspecies transmission and geographic diffusion of avian influenza A subtypes among North

American wild reservoir species. *PLoS Pathogens*, 18(4), e1009973.

<https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1009973>

- **Houadfi**, M. E., Ducez, M., Fagach, A., & Fellahi, S. (2025). An Updated Review on Low Pathogenic Avian Influenza H9N2 Subtype in Africa. *Avian Diseases*, 69(1).
<https://doi.org/10.1637/aviandiseases-d-23-00086>

(J)

- **Jang**, H. and Ross, T.M. (2021) Hemagglutination Inhibition (HAI) antibody landscapes after vaccination with H7Nx virus like particles. *PLoS One*, 16(3): e0246613.
- **Jbenyeni**, A., Croville, G., Cazaban, C., & Guérin, J. (2023). Predominance of low pathogenic avian influenza virus H9N2 in the respiratory co-infections in broilers in Tunisia : a longitudinal field study, 2018–2020. *Veterinary Research*, 54(1). <https://doi.org/10.1186/s13567-023-01204-7>
- **Jeevan**, T., Darnell, D., Gradi, E. A., Benali, Y., Kara, R., Guetarni, D., Rubrum, A., Seiler, P. J., Crumpton, J. C., Webby, R. J., & Derrar, F. (2019). A(H9N2) influenza viruses associated with chicken mortality in outbreaks in Algeria 2017. *Influenza And Other Respiratory Viruses*, 13(6), 622-626. <https://doi.org/10.1111/irv.12675>
- **Jegede**, A., Fu, Q., Berhane, Y., Lin, M., Kumar, A., & Guan, J. (2018). H9N2 avian influenza virus retained low pathogenicity after serial passage in chickens. *Canadian Journal of Veterinary Research*, 82(2), 131–138.
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5914077/>
- **Jenson**, T.A. Agar gel immunodiffusion assay to detect antibodies to type A influenza virus. In Animal Influenza Virus, Methods in Molecular Biology (Methods and Protocols), 3rd ed.; Spackman, E., Ed.; Humana Press: New York, NY, USA, 2020; Volume 2123, pp. 165–175.

(K)

- **Kanaujia**, R., Bora, I., Ratho, R. K., Thakur, V., Mohi, G. K., & Thakur, P. (2022). Avian influenza revisited: Concerns and constraints. *VirusDisease*, 33(4), 456–465.
<https://doi.org/10.1007/s13337-022-00800-z>
- **Kang**, M., Wang, L. F., Sun, B. W., Wan, W. B., Ji, X., Baele, G., Bi, Y. H., Suchard, M. A., Lai, A., Zhang, M., Wang, L., Zhu, Y. H., Ma, L., Li, H. P., Haerheng, A., Qi, Y. R., Wang, R. L., He, N., & Su, S. (2024). Zoonotic infections by avian influenza virus: Changing global epidemiology, investigation, and control. *The Lancet Infectious Diseases*, 24(8), e522–e531.
- **Kosik**, I. and Yewdell, J.W. (2019) Influenza hemagglutinin and neuraminidase: Yin-Yang proteins coevolving to thwart immunity. *Viruses*, 11(4): 346.

- **Kye, S.-J., Park, M.-J., Kim, N.-Y., Lee, Y.-N., Heo, G.-B., Baek, Y.-K., Shin, J.-I., Lee, M.-H., & Lee, Y.-J.** (2021). Pathogenicity of H9N2 low pathogenic avian influenza viruses of different lineages isolated from live bird markets tested in three animal models: SPF chickens, Korean native chickens, and ducks. *Poultry Science*, 100(9), 101318.
<https://doi.org/10.1016/j.psj.2021.101318>

(L)

- **Li, H., Liu, X., Chen, F., Zuo, K., Wu, C., Yan, Y., Chen, W., Lin, W., & Xie, Q.** (2018). Avian Influenza Virus Subtype H9N2 Affects Intestinal Microbiota, Barrier Structure Injury, and Inflammatory Intestinal Disease in the Chicken Ileum. *Viruses*, 10(5), 270.
<https://doi.org/10.3390/v10050270>
- **Li, Y., Ye, H., Liu, M., Song, S., Chen, J., Cheng, W., & Yan, L.** (2021). Development and evaluation of a monoclonal antibody-based competitive ELISA for the detection of antibodies against H7 avian influenza virus. *BMC Veterinary Research*, 17(1).
<https://doi.org/10.1186/s12917-021-02772-6>
- **Liang, Y.** (2023). Pathogenicity and virulence of influenza. *Virulence*, 14(1), 2223057.
<https://doi.org/10.1080/21505594.2023.2223057>

(M)

- **Meseko, C.A.; Oluwayelu, D.O.** Avian influenza. In *Transboundary Animal Diseases in Sahelian Africa and Connected Regions*; Springer: Berlin/Heidelberg, Germany, 2019; pp. 345–374. http://doi.org/10.1007/978-3-030-25385-1_17/COVER
- **Ministerio de Salud España.** Prevención, Detección Precoz y Actuaciones Ante la Gripe Aviar. 2022. Available online:
https://www.sanidad.gob.es/profesionales/saludPublica/ccayes/alertasActual/docs/20220304_Vigilancia_prevencion_gripe_aviar.pdf
- **Ministerio de Sanidad.** (2022). *Prevención, detección precoz y actuaciones ante la gripe aviar*. Gobierno de España.
https://www.sanidad.gob.es/profesionales/saludPublica/ccayes/alertasActual/docs/20220304_Vigilancia_prevencion_gripe_aviar.pdf
- **Moreira, E. A., Yamauchi, Y., & Matthias, P.** (2021). How influenza virus uses host cell pathways during uncoating. *Cells*, 10(7), 1722. <https://doi.org/10.3390/cells10071722>

- **Mtambo**, S.E., Amoako, D.G., Somboro, A.M., Agoni, C., Lawal, M.M., Gumede, N.S., Khan, R.B. and Kumalo, H.M.(2021) Influenza viruses: Harnessing the crucial role of the M2 Ion-channel and neuraminidase toward inhibitor design. *Molecules*, 26(4): 880.

(N)

- **Niu**, Q., Jiang, Z., Wang, L., Ji, X., Baele, G., Qin, Y., Lin, L., Lai, A., Chen, Y., Veit, M., & Su, S. (2025b). Prevention and control of avian influenza virus : Recent advances in diagnostic technologies and surveillance strategies. *Nature Communications*, 16(1).

<https://doi.org/10.1038/s41467-025-58882-4>

(O)

- **Organisation mondiale de la santé animale** (OMSA). (2023). *Influenza aviaire*. Paris, France : OMSA. Repéré à <https://www.woah.org/en/disease/avian-influenza/#ui-id-2>
- **Organización Mundial de Sanidad Animal**. Distribution of HPAI new outbreaks in poultry, and corresponding subtypes. OMSA.2023. Available online:
<https://www.woah.org/app/uploads/2023/02/hpai-situation-report-20230216.pdf>

(P)

- **Pan American Health Organization**. (2025). *Avian influenza*. Washington: PAHO. Repéré à <https://www.paho.org/en/topics/avian-influenza>
- **Peacock**, T. P., James, J., Sealy, J. E., & Iqbal, M. (2019). A Global Perspective on H9N2 Avian Influenza Virus. *Viruses*, 11(7), 620. <https://doi.org/10.3390/v11070620>

(R)

- **Raj**, S., Matsuyama-Kato, A., Alizadeh, M., Boodhoo, N., Nagy, E., Mubareka, S., Karimi, K., Behboudi, S., & Sharif, S. (2023). Treatment with Toll-like receptor (TLR) ligands 3 and 21 prevents fecal contact transmission of low pathogenic H9N2 avian influenza virus (AIV) in chickens. *Viruses*, 15(4), 977. <https://doi.org/10.3390/v15040977>

(S)

- **Seekings**, A. H., Howard, W. A., Nuñéz, A., Slomka, M. J., Banyard, A. C., Hicks, D., Ellis, R. J., Nuñéz-García, J., Hartgroves, L. C., Barclay, W. S., Banks, J., & Brown, I. H. (2020). The emergence of H7N7 highly pathogenic avian influenza virus from low pathogenicity avian influenza virus using an *in ovo* embryo culture model. *Viruses*, 12(9), 951. <https://doi.org/10.3390/v12090951>
- **Sicca**, F.; Martinuzzi, D.; Montomoli, E.; Huckriede, A. Comparison of influenza-specific neutralizing antibody titers determined using different assay readouts and hemagglutination

inhibition titers: Good correlation but poor agreement. *Vaccine* 2020, 38, 2527–2541.

<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/32044163>

- **Sikht**, F., Ducatez, M., Touzani, C. D., Rubrum, A., Webby, R., Houadfi, M. E., Tligui, N., Camus, C., & Fellahi, S. (2022). Avian Influenza a H9N2 Viruses in Morocco, 2018–2019. *Viruses*, 14(3), 529. <https://doi.org/10.3390/v14030529>
- **Spackman**, E., & Killian, M. L. (2020). Avian Influenza Virus Isolation, Propagation, and Titration in Embryonated Chicken Eggs. Dans *Methods in molecular biology* (p. 149-164). https://doi.org/10.1007/978-1-0716-0346-8_12

(W)

- **Wu**, N. C., & Wilson, I. A. (2019). Influenza Hemagglutinin Structures and Antibody Recognition. *Cold Spring Harbor Perspectives In Medicine*, 10(8), a038778. <https://doi.org/10.1101/cshperspect.a038778>

(X)

- **Xie**, R., Edwards, K. M., Wille, M., Wei, X., Wong, S. S., Zanin, M., El-Shesheny, R., Ducatez, M., Poon, L. L. M., Kayali, G., Webby, R. J., & Dhanasekaran, V. (2023). The episodic resurgence of highly pathogenic avian influenza H5 virus. *Nature*, 622(7984), 810–817. <https://doi.org/10.1038/s41586-023-06616-6>

(Y)

- **Yehia**, N., & Mohamed, R. I. (2024). Genetic evolution correlated with pathogenicity of H9N2 circulated in Lower Egypt during 2022. *Advances in Animal and Veterinary Sciences*, 12(Supplement 1), 232–244. <https://doi.org/10.17582/journal.aavs/2024/12.s1.232.244>
- **Yehia**, N., Salem, H. M., Mahmmod, Y., Said, D., Samir, M., Abdel Mawgod, S., ... Zanaty, A. M. (2023). Common viral and bacterial avian respiratory infections: An updated review. *Poultry Science*, 102(5), Article 102553. <https://doi.org/10.1016/j.psj.2023.102553>

(Z)

- **Zaker**, S. R., Nili, H., & Asasi, K. (2022). Apoptose dans les cas expérimentaux et sur le terrain d'infection par le virus de la grippe aviaire H9N2 chez les poulets de chair en Iran. *Veterinary Research Forum*, 13(3), 439–441. https://vrf.iranjournals.ir/article_248044_737b5c1fb79a9a997edfc45a7adbbe4b.pdf
- **Zhang Wei**, Yu Chen, Li Zhang: "Host tropism evolution of avian influenza H9N2 in poultry species"Nature Communications en 2024".[doi:10.1038/s41467-024-48978-8](https://doi.org/10.1038/s41467-024-48978-8)

- **Zhang, X., Pu, J., Sun, Y., Bi, Y., Jiang, Z., Xu, G., Zhang, H., Cao, J., Chang, K., Liu, J., & Sun, H. (2021). Neurovirulence of Avian Influenza Virus Is Dependent on the Interaction of Viral NP Protein with FMRP in the Murine Brain. *Journal Of Virology*, 95(7).**
<https://doi.org/10.1128/jvi.01272-20>