

Maladies infectieuses animales • Virologie aviaire et immunologie

Epizootie H3N1 en Belgique

M. Steensels¹, P. Gelaude², T. Van Den Berg³, S. Van Borm¹, D. Fretin⁴, V. Roupie¹, F. Rauw¹ and B. Lambrecht¹

¹ Sciensano, Avian Virology and Immunology, Groeselenberg 99, 1180 Ukkel

² Dierengezondheid Vlaanderen, Industrielaan 29, Torhout

³ Sciensano, Head of the scientific direction Animal Health, Groeselenberg 99, 1180 Ukkel

⁴ Sciensano, Veterinary Bacteriology, Groeselenberg 99, 1180 Ukkel

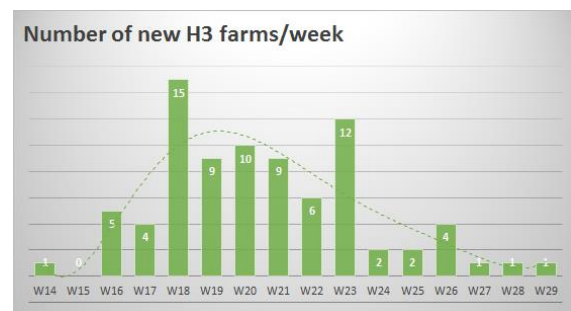
En janvier 2019, un premier cas de virus d'influenza aviaire (IA) H3N1 était isolé dans une exploitation de poules pondeuses en parcours libre. Ce troupeau a été assaini. Trois mois après cette détection, début avril, cette ferme était à nouveau confirmée H3N1 positive. Par la suite, la Belgique et plus spécifiquement les Régions de Flandre orientale et occidentale ont été confrontées à une explosion de cas H3N1 dans le secteur professionnel de volaille. Selon les directives de l'UE, les sous-types H5/H7, quelque soit leur pathotype (faiblement ou hautement pathogène), sont à déclarer alors que pour les autres sous-types d'IA, seuls ceux ayant un pathotype hautement pathogène doivent être notifiés.

Pour déterminer le pathotypage d'un virus AI, une étude expérimentale *in vivo* doit être réalisée suivant des directives strictes (IVPI). Cette étude de pathogénicité est réalisée sur des poulets exempts d'agents pathogènes spécifiques (SPF) âgés de 4 à 6 semaines. Dix animaux sont inoculés par voie intraveineuse, et suivis cliniquement pendant 10 jours. Un score journalier est établi en fonction des symptômes observés (0: aucun symptôme, 1: symptômes cliniques limités, 2: symptômes cliniques multiples, 3: décès). La moyenne, ou index de pathogénicité intraveineuse (IVPI), est ensuite calculée pour cette période. Le score maximum est de 3 correspondant à 100% de mortalité un jour après l'infection. Un virus est considéré comme faiblement pathogène si son IVPI est inférieur à 1.2. L'IVPI du virus H3N1, a été déterminé pour deux souches, la première isolée début avril (3497) et une isolée fin mai (5597).

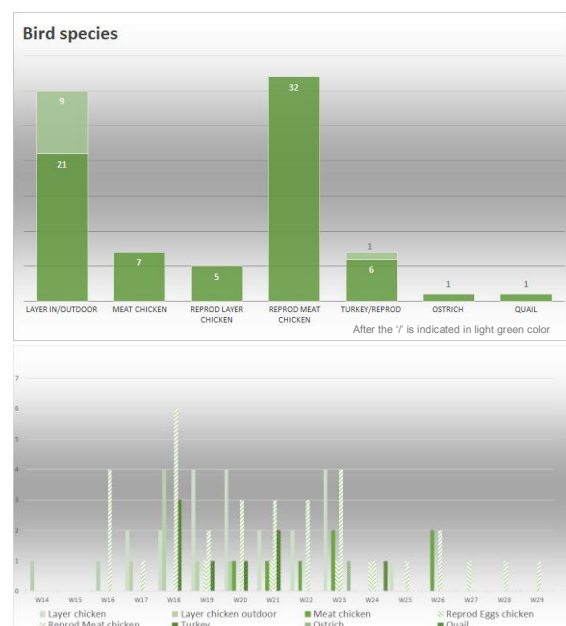
Strain	IVPI
3497	0.13
5597	0.28

Selon les directives de l'UE, ce virus H3N1 est considéré comme un virus faiblement pathogènes et ne doit pas être notifié

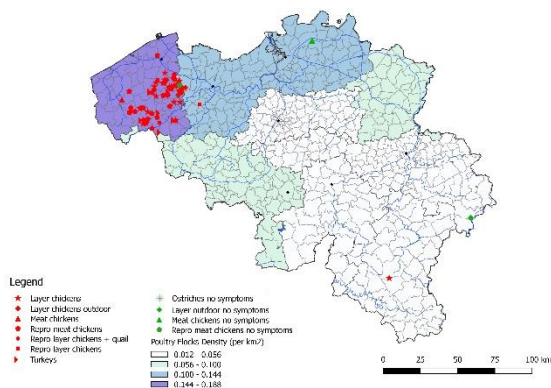
Depuis début avril (semaine 14) jusqu'au 4.07.2019 (semaine 29), 82 exploitations ont été détectées positive H3.



Le secteur a été fortement impacté, tant les différents types d'élevages qu'une variété d'espèces ont été touchés.



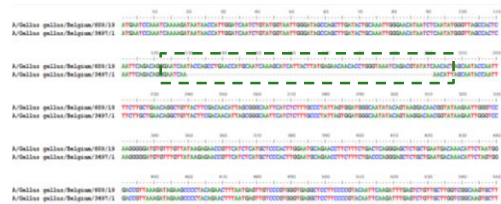
Cependant, la majorité des élevages infectés étaient localisés dans une région limitée au nord-ouest du pays. Le seul foyer H3 positif dans le sud du pays avait un lien direct avec un élevage positif localisé dans la zone fortement impactée. Trois autres foyers H3 ont été détectés en dehors de la zone touchée, 2 dans la province d'Anvers et 1 dans la province de Liège. Ces trois exploitations ne montraient cependant pas de symptômes cliniques.



Parmi les 82 fermes positives H3, 5 fermes ne présentaient pas de symptôme clinique et ce sans lien et avec la catégorie de l'exploitation: 2x poulets de chair, 1x poules pondeuses extérieures, 1x autruche et 1x reproductrices poulets de chair.

En France, 3 exploitations ont été détectées positives H3N1, et pour les deux premiers foyers, un lien direct avec une ferme belge de la zone touchée a été montré (<https://www.plaforme-esa.fr/article/foyers-h3n1-en-france-nord-et-en-belgique-situation-au-14-juin-2019>).

Les caractéristiques génétiques du virus ont montré que le virus H3N1 initial détecté en janvier 2019 était un virus IA typique d'oiseau sauvage alors que la souche isolée en début avril montrait une caractéristique d'adaptation à la volaille et plus précisément, la perte d'un fragment dans le gène de la neuraminidase (NA). Cette mutation apparaît lors de la circulation d'IA dans la volaille, favorisant sa multiplication et par conséquent sa transmission dans les volailles.



L'analyse génétique de l'isolat H3N1_3497¹ a démontré que les 8 gènes viraux présentaient un lien génétique étroit avec des virus AI circulant en oiseau sauvage (séquences disponibles)

PB2	A/tufted duck/Georgia/1/2012 (H2N3)
PB1	A/duck/Hubei/ZYSYG3/2015 (H6N2)
PA	A/mallard duck/Netherlands/56/2015 (H3N2)
NA	A/mallard duck/Georgia/7/2015 (H6N1)
NP	A/duck/Mongolia/543/2015 (H4N6)
HA	A/Mallard/Netherlands/37/2015 (H3N8)
M	A/mallard/Netherlands/89/2017 (H4N6)
NS	A/mallard_duck/Netherlands/31/2013 (H10N7)

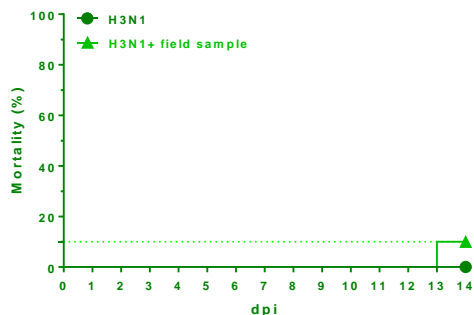
Sur le terrain, le virus provoque initialement chez les poules pondeuses et reproductrices, la ponte d'œufs décolorés suivie d'une mortalité pouvant atteindre 60% chez les reproductrices et 40% chez les poules pondeuses. De plus, une réduction de la ponte, allant jusqu'à 100%, a été observée. Les animaux peuvent récupérer cliniquement mais pas leur taux de ponte. Une seconde vague de mortalité pouvait être observée associée des infections secondaires. Lors de l'autopsie, des pétéchies ont été observées au niveau de l'estomac, de la trachée et du cerveau, une congestion des reins, des ovaires et du cerveau et une atrophie de l'oviduct entraînant une fuite du jaune d'œuf et une péritonite (infection bactérienne).



¹ GenBank accession numbers: MN006980-MN006987

Des infections expérimentales *in vivo* ont été réalisés au LNR en utilisant l'isolat 3497 (début avril). Des poulets SPF âgées de 11 semaines ont été inoculés par voie naturelle en oculonasal. Aucun symptôme clinique n'a été observé tout le long de l'expérimentation (15 jours).

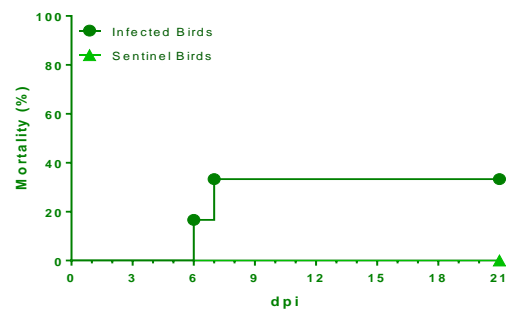
Un broyat de poumon/trachée provenant d'un animal mort, diagnostiqué H3N1 positif, sans traitement antibiotique a également été inoculé en même temps que l'isolat H3N1. Des symptômes cliniques ont été observés sur 40% des animaux entre 6 et 11 jours après la double inoculation (dpi): léthargie, yeux troubles et plumes ébouriffé ont été observés ainsi qu'une mortalité limitée (10%, 13 dpi. Un effet synergique associé à la présence d'un co-facteur était suspecté. Par conséquent, une analyse bactériologique de ce broyat de poumon/trachée a été réalisée révélant la présence des *Escherichia coli*, dont des APEC (souches aviaires pathogènes de *E. coli*) présentant certaines résistances aux antibiotiques.



Vu que les symptômes cliniques observés sur les élevages de reproductrices étaient les plus dramatiques, deux expérimentations supplémentaires *in vivo* ont été effectuées sur des poulets plus âgées, de 16 et 24 semaines. Post infection avec le même isolat 3497, les poulets SPF de 16 semaines ne présentaient pas si ce n'est des lésions hémorragiques niveau de la crête.



Les poules pondeuses provenant du terrain de 24 semaines en ponte ont été confirmées au préalable négative pour le H3N1. Six poules ont été infectées et mis en contact avec 6 autres non infectées à 1 dpi. Deux poules sur les 6 infectées sont mortes à 6 et 7 dpi, la première morte montrait des signes de léthargie un jour avant mais pas la seconde. Lors de l'autopsie, les lésions susmentionnées, telles qu'une vascularisation anormale du cerveau, des reins, et de l'intestin ont été observée. Aucune autre mortalité ou symptômes cliniques n'ont été relevés chez les poules restantes infectées ou non jusqu'à la fin de la période d'observation (21 jours).



Acknowledgements

Merci aux collègues ScienSano de l'équipe EpiVet, qui ont fourni la carte de l'épidémie.

Nos sincères remerciements vont également aux analystes du labo de référence national AI/ND pour leurs performances, leur flexibilité et leur persévérance.