

Application du système de scoring lésionnel pour contribuer à l'étude de la pathogénicité du virus de l'influenza aviaire faiblement pathogène H9N2 chez le poulet de chair infecté expérimentalement

Y. BIDOUDAN¹, S. NASSIK², O. FASSI FIGHRI², E. BOLLO³, M. EL HOUADFI², N. TLIGUI²

(Reçu le 23/03/2021; Accepté le 27/03/2021)

Résumé

Suite à l'introduction du virus de l'influenza aviaire faiblement pathogène H9N2 au Maroc en 2016, une étude de la pathogénicité du virus a été effectuée, pour bien comprendre la pathophysiologie de la maladie et son rôle dans les dégâts observés au niveau du terrain. L'étude a été effectuée dans des conditions contrôlées pour pouvoir ressortir le véritable impact du virus H9N2 seul en limitant les infections concomitantes. Pour ce faire, 110 poulets de chair d'un jour vaccinés à un jour d'âge, contre le virus de l'influenza aviaire faiblement pathogène H9N2, ont été élevés et entretenus dans des isolateurs. A 21 jours, les poussins ont été répartis en trois lots, deux lots (vC, nvC) ont été inoculé par la souche marocaine du virus H9N2 (GenBank accession number : LT 598532) et un lot témoin non challengé (vNC). Les résultats des examens cliniques ont révélé une gêne respiratoire seulement et aucune mortalité. Deux autopsies ont été programmées à 5 et à 12 jours post-challenge. Sur le plan lésionnel, une trachéite, un épaississement des sacs aériens, et une congestion pulmonaire ont été observés pendant la première autopsie, lors de la deuxième, seulement l'épaississement des sacs aériens a persisté. L'étude histopathologique réalisée sur les organes prélevés lors des autopsies, a révélé une trachéite lympho-histiocytaire, une bronchite sévère, une néphrite lymphocytaire légère et une déplétion lymphocytaire au niveau de la rate à 5 jours post challenge, à 12 jours post-challenge, les lésions ont régressé et seulement quelques cas de trachéite ont été détectés. La présente étude est la première à avoir étudié l'effet pathogène du virus seul dans des conditions contrôlées, les résultats indiquent que l'infection par le virus seul ne reproduit pas la maladie telle qu'elle est rapportée dans le terrain et que d'autres facteurs (infections concomitantes, conditions d'élevage et stress environnemental...) peuvent être à l'origine de la gravité des dégâts rapportés, l'équipe a aussi conclu que la souche marocaine du virus de l'IA H9N2 a un tropisme essentiellement respiratoire et un effet néphropathogène faible.

Mots-clés: Influenza aviaire, infection expérimentale, poulet de chair, H9N2, histopathologie

Application of a lesion scoring system study the pathogenicity of low pathogenic avian influenza virus H9N2 in experimentally infected broilers

Abstract

Following the introduction of the low pathogenic avian influenza virus H9N2 in Morocco in 2016, a study of the pathogenicity of the virus was carried out, to fully understand the pathophysiology of the disease and its role in the damage observed in the field. . The study was carried out under controlled conditions so that the true impact of the H9N2 virus alone could be demonstrated by limiting concomitant infections. To do this, 110 day-old broilers vaccinated to one day of age against the low pathogenic avian influenza virus H9N2 were reared and maintained in isolators. At 21 days, the chicks were divided into three batches, two batches (vC, nvC) were inoculated with the Moroccan strain of the H9N2 virus (GenBank accession number: LT 598532) and an uncontested control batch (vNC). The results of clinical examinations revealed only respiratory discomfort and no mortality. Two autopsies were scheduled for 5 and 12 days post-challenge. Lesionally, tracheitis, thickening of the air sacs, and pulmonary congestion were observed during the first autopsy, during the second, only the thickening of the air sacs persisted. The histopathological study carried out on the organs removed during the autopsies, revealed lymphohistiocytic tracheitis, severe bronchitis, mild lymphocytic nephritis and lymphocyte depletion in the spleen at 5 days post challenge, 12 days post-challenge, the lesions regressed and only a few cases of tracheitis were detected. The present study is the first to have investigated the pathogenic effect of the virus alone under controlled conditions, the results indicate that infection with the virus alone does not reproduce the disease as reported in the field and that of other factors (concomitant infections, breeding conditions and environmental stress, etc.) may be at the origin of the seriousness of the damage reported, the team also concluded that the Moroccan strain of the H9N2 AI virus has an essentially respiratory tropism and a weak nephropathogenic effect.

Keywords: Avian influenza, experimental infection, broiler chickens, H9N2, histopathology

INTRODUCTION

Le virus de l'influenza aviaire faiblement pathogène H9N2 appartient à la famille des *orthomyxoviridae* du genre *Influenzavirus* du type A (Alexander, 2000; Capua et Alexander, 2004), c'est un pathotype faiblement pathogène défini par l'index de pathogénicité intraveineuse (IPIV) et par l'analyse de la séquence génétique des acides aminés du site de clivage de l'Hémagglutinine (HA). La pathologie qui en résulte est considérée, parmi les maladies les plus redoutables pour les élevages avicoles. Elle sévit dans tous les pays d'Afrique du Nord, du Moyen orient, d'Asie et quelques pays de l'Europe (El Houadfi *et al.*, 2016). Le virus H9N2 est un sous-type faiblement pathogène, par conséquent il n'est pas à déclaration obligatoire à l'OIE. Cependant il est muni d'un pouvoir

mutant exceptionnel, qui rend son potentiel pandémique un véritable risque sanitaire (Longping *et al.*, 2014; Wan *et al.*, 2008). La maladie de l'IAFP est très pénalisante sur le plan économique, notamment pour les pays où le secteur avicole est en cours de croissance. Le transport et la vente de la volaille se font à l'état vif et dans des conditions d'hygiène ne respectant pas les normes requises, contribuant ainsi à la dissémination des maladies aviaires, et entravant le contrôle des agents pathogènes. Une épidémie a sévit au Maroc en janvier 2016, au début, elle a occasionné des pertes graves liées à des mortalités ayant atteint 10%, et à une diminution considérable des performances zootechniques (une chute de poids, une chute de ponte allant jusqu'à 80 %) (El Houadfi *et al.*, 2016). La présente étude a pour objectif d'étudier la pathogénicité de la

¹ Cabinet vétérinaire privé, Témara, Maroc

² Département de Pathologie et Santé Publique Vétérinaires, Institut Agronomique et Vétérinaire Hassan II, Rabat, Maroc

³ Département de sciences vétérinaires, Università degli Studi di Torino, Italie

maladie de l'influenza aviaire faiblement pathogène H9N2 en étudiant les lésions macroscopiques et microscopiques engendrées par le virus seul, dans des conditions contrôlées, en minimisant les complications par d'autres pathogènes.

MATÉRIEL ET MÉTHODES

L'expérimentation a concerné 170 poussins souche Ross 308 vaccinés à un jour d'âge par un vaccin bivalent contenant H9N2 et NDV, et issus de parents vaccinés contre H9N2. Le premier jour d'âge, 20 poussins ont été sacrifiés pour l'analyse de la qualité du poussin et les autres ont été placés dans des isolateurs de classe III pour le reste de l'essai.

Vaccin

Un vaccin bivalent inactivé contenant la souche du Moyen-Orient du virus de l'influenza aviaire faiblement pathogène H9N2 et la souche Ulster 2C du virus Newcastle.

Virus

La souche marocaine A/chicken/Morocco/SF1/2016 (Genbank accession number LT598532) isolée au niveau de la DPIV (Division de la Pharmacie et des Intrants Vétérinaires) au début de l'introduction de la maladie au Maroc en janvier 2016, a été utilisée lors de cette étude. Le titre de la souche a été de 10^7 EID₅₀/ml.

Protocole expérimental

Les poussins ont été élevés dans des isolateurs de classe III en respectant des mesures de biosécurité rigoureuses pour éviter d'introduire des pathogènes avant l'infection expérimentale. Une alimentation *ad-libitum* a été adoptée avec un aliment commercial de type démarrage puis croissance, la transition étant à 21 jours d'âge. En effet, à 21 jours d'âge, les oiseaux ont été répartis en trois lots contenant chacun 30 oiseaux: lot vC (vacciné et challengé), nvC (non vacciné et challengé), vNC (vacciné et non challengé/ témoin), les lots vC et nvC ont été challengés par voie oculo-nasale par 0.2 ml du virus H9N2. Un suivi quotidien des signes cliniques et des mortalités jusqu'à 15 jours après le challenge a été effectué. Deux autopsies ont été réalisées à 5 Jours Post-Challenge (JPC) et à 12 JPC (15 oiseau/lot/autopsie) lors desquelles, des portions de trachée, poumon, foie, rein, et rate de 5 sujets/ groupe ont été prélevés et conservés dans une solution de formol 10% neutralisé pour l'étude histopathologique.

Techniques histologiques

Les organes prélevés lors des autopsies ont été la trachée, les poumons, la rate, les reins, et le foie. La solution de fixation utilisée a été le formol phosphaté à 10 %. La déshydratation a été effectuée moyennant des bains d'alcool de concentration croissante (70%, 95%, 100 %). L'inclusion a été faite à la paraffine et les coupes ont été effectuées à 5 microns, ensuite une coloration classique à l'hématoxyline-éosine (H&E) a été réalisée.

Tableau 1: protocole expérimentale

	vC	nvC	vNC
J1: vaccination contre H9N2 et NDV	X		X
J21: challenge avec le virus H9N2	X	X	
J 26: Autopsie à 5 JPC	X	X	X
J33: Autopsie à 12 JPC	X	X	X

Groupe vC: vacciné et challengé, **Groupe nvC:** non vacciné et challengé, **Groupe vNC:** vacciné et non challengé (témoin).

RÉSULTATS

Résultats de l'examen clinique

Les poulets de chair ont seulement manifesté des gênes respiratoires, qui sont apparus le deuxième jour JPC, avec un pic le 9^{ème} JPC, associées à des râles chez quelques individus des lots challengés. Aucune mortalité n'a été observée au cours de la période d'essai.

Résultats des autopsies

Lésions macroscopiques

A 5 jours post-challenge, seulement une trachéite avec quelques cas de trachéite fibrineuse, la congestion pulmonaire, et l'épaississement des sacs aériens ont été relevés. A 12 jours post-challenge, seulement l'épaississement des sacs aériens a été relevé. Aucune lésion n'a été notée chez les sujets témoins.

Tableau 2: Lésions macroscopiques notées lors des autopsies

	5 JPC	12 JPC
vC	Trachéite (33,0%) Épaississement des sacs aériens (13,3%)	Épaississement des sacs aériens (20,0 %)
nvC	Trachéite (13,3%) Trachéite fibrineuse (6,7%) Épaississement des sacs aériens (20,0%) Congestion pulmonaire (6,0%)	Épaississement des sacs aériens (40,0 %)

Lésions microscopiques

Trachée

L'étude histopathologique a révélé une trachéite caractérisée par une déciliation, une raréfaction des cellules caliciformes, une infiltration lympho-histiocytaire, et une métaplasie malpighienne des cellules épithéliales. Ces lésions ont été plus sévères à l'autopsie de 5 JPC qu'à celle de 12 JPC (Figure 1).

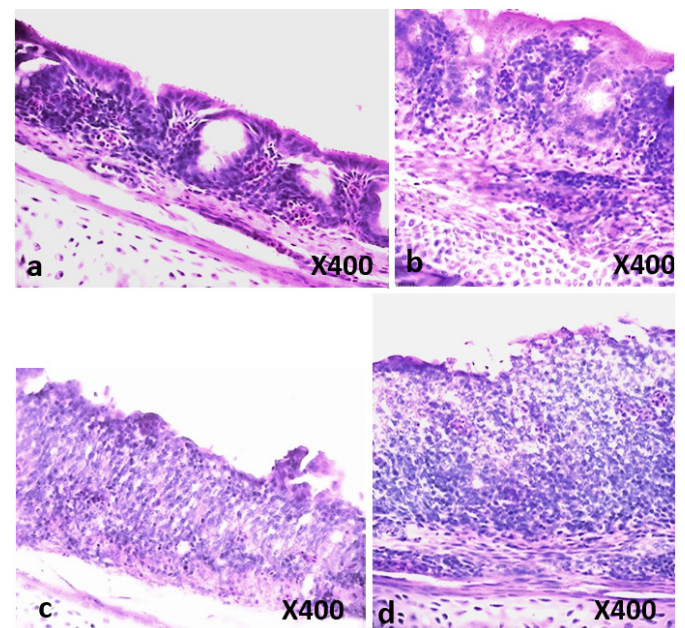


Figure 1: (a, b, c, d) x400 coupes histologiques de la trachée du poulet de chair infecté expérimentalement par le virus de l'IAFP H9N2 à 21 jours d'âge H&E. a: trachée normale du poulet de chair à 12 JPC (retour à la normale). b: trachéite grade 1 caractérisée par une déciliation diffuse et une infiltration modérée par les lymphocytes. c, d: trachéite grade 3 caractérisée par une infiltration lymphocytaire diffuse, disparition des cellules caliciformes et de cellules ciliées, et une hyperplasie épithéliale sévère

Tableau 3: résultats du scoring lésionnel des lésions trachéales des sujets challengés

5 JPC	nvC	vC	12 JPC	nvC	vC
	3	3		1	0
	3	3		1	0
	3	3		0	0
	2	3		1	0
2	2	0	1		
Score moyen	2,6	2,8	Score moyen	0,6	0,2

Poumons

Les prélèvements du poumon à 5 JPC ont présenté une bronchite sévère chez tous les sujets challengés, la lésion est caractérisée par une infiltration lympho-histiocytaire diffuse, associées à une réaction du système lymphoïde associé aux bronches (BALT) [figure 2 (a, b, c, d, e, et f)] H&E x160. Au niveau du parenchyme, une hémorragie sévère a été relevée, qui est probablement due à la méthode d'euthanasie utilisée (dislocation cervicale) (figure 2, e), et une prolifération des cellules épithéliales a été notée chez tous les sujets challengés (figure 2, f).

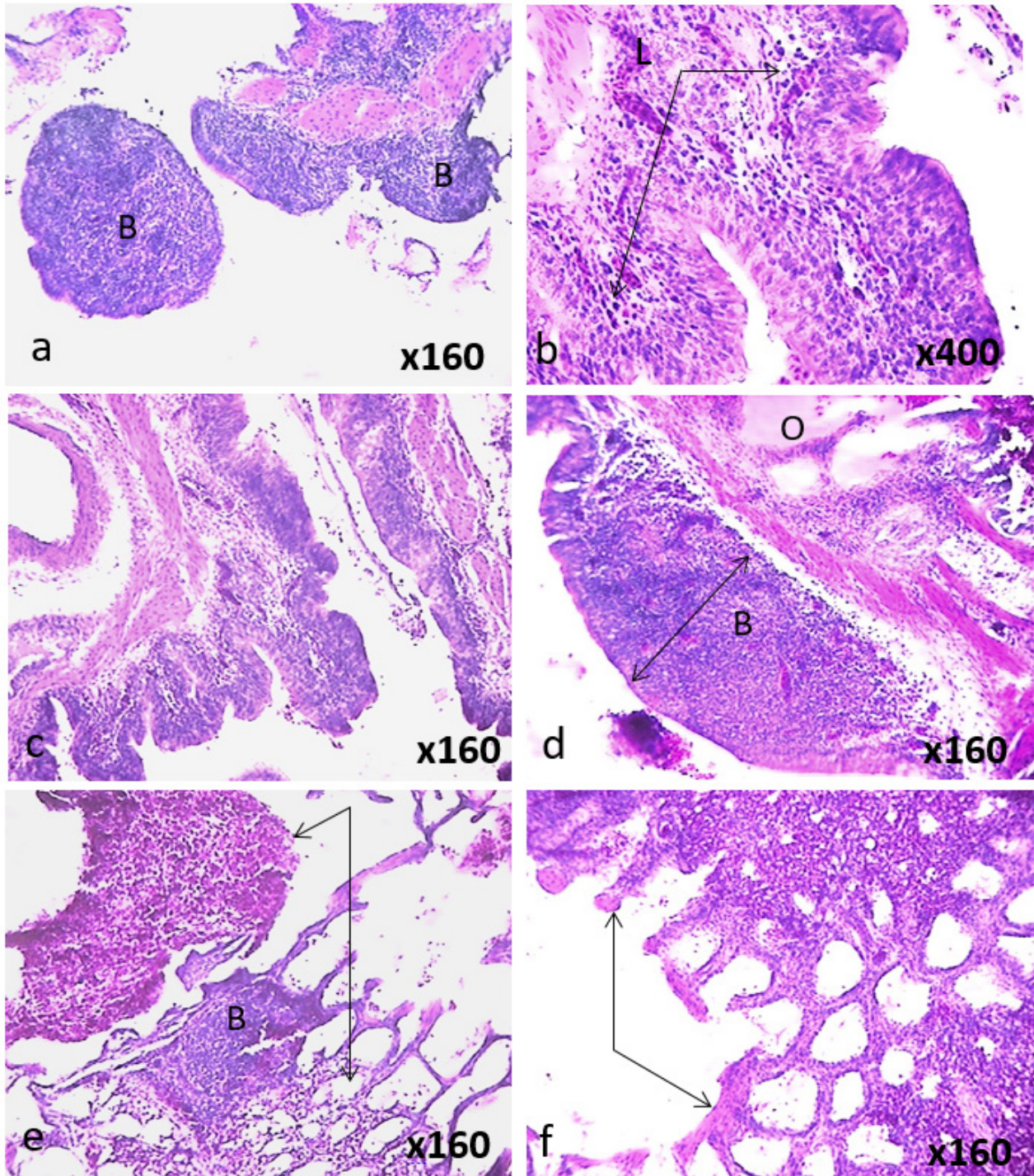


Figure 2: lésions histopathologiques relevées au niveau des poumons du poulet de chair 5 jours après l'infection expérimentale par le virus H9N2. (H&E). a: bronchite associée à une infiltration lymphocytaire diffuse et un BALT réactionnel (B), b: bronchite modérée avec des lymphocytes (L) dispersés au niveau de la lamina propria, la couche épithéliale est normale c: bronchite légère avec infiltration lymphocytaire, d: un agrégat lymphoïde (BALT) réactionnel (B) au niveau de la lamina propria d'une bronche associé à l'œdème (O) du parenchyme, e: un BALT réactionnel au niveau du parenchyme pulmonaire, associé à une hémorragie intraluminale et intraépithéliale, f: hémorragie sévère avec infiltration lymphocytaire et prolifération des cellules épithéliales des capillaires aériens (flèches)

Rate

Au niveau de la rate, une déplétion lymphocytaire sévère a été relevée chez 3 sujets du lot nvC et 3 sujet du lot vC à 5 JPC. La lésion a été associée à une hémorragie Figure 3 (a, b, c, d) x400, H&E.

Reins

Les reins ont présenté une réaction inflammatoire caractérisée par une infiltration lymphocytaire et une hyperhémie des vaisseaux chez 2 sujets du lot nvC et 1 sujet du lot vC à 5 JPC, des lésions évoquant l'autolyse post-mortem ont aussi été notées chez tous les sujets à savoir une dégénérescence de l'épithélium des tubules rénaux avec caryolyse et vacuolisation du cytoplasme des cellules épithéliales (figure 4, c). Les figures 4 a, b et d montrent des agrégats lymphoïdes avec des vaisseaux congestionnés (figure 4, b).

Foie

Des lésions hépatiques non spécifiques ont été relevées chez quelques sujets, indépendamment de la date et du lot, à savoir des cas de péricholangite associée à une infiltration lymphocytaire et une hyperhémie des vaisseaux avec réaction de cellules de Kupffer (figure 5 a, b, c, d).

DISCUSSION

L'aspect histopathologique de l'IAFP à H9N2 est largement étudié par des infections expérimentales chez des poulets, le plus souvent poulet SPF et poulet de chair. Le virus est inoculé seul, ou le plus souvent en association avec un autre agent pathogène. En outre, différentes voies d'inoculation ont été testées. Les lésions macroscopiques et microscopiques sont étudiées et rapportées, contrairement des cas du terrain qui rapportent le plus souvent que l'aspect macroscopique. Les lésions macroscopiques notées lors de cette étude sont une trachéite congestive avec quelques cas de trachéites fibrineuses, l'épaississement des sacs aériens, et une congestion pulmonaires. Les oiseaux de cette étude ont présenté des lésions moins sévères que les cas de terrain qui ont présenté des trachéites congestives et hémorragiques, avec des bouchons fibrineux au niveau de la bifurcation trachéale, des pneumonies fibrineuses, des aérosacculites, et occasionnellement des hypertrophies des reins, du foie et de la rate (Houadfi et al., 2016). Ceci peut être expliqué par les infections concomitantes au niveau des cas de terrain. En effet les poulets objets de cette étude ont été élevés dans des isolateurs avec le respect des

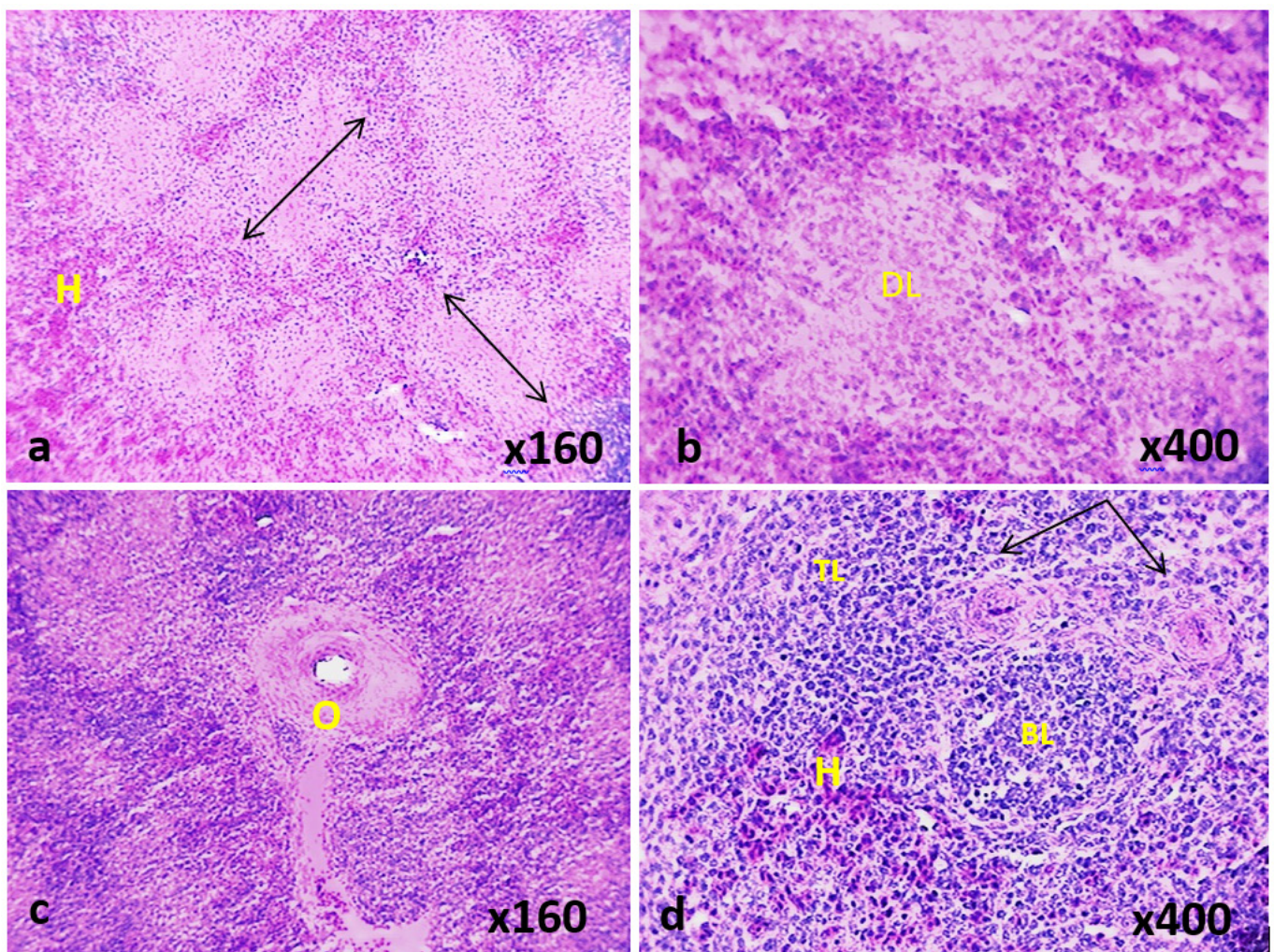


Figure 3: lésions histopathologiques au niveau de la rate chez un poulet de chair 5 jours après l'infection expérimentale par le virus de l'influenza aviaire H9N2 H&E. a: déplétion lymphocytaire sévère associée à une légère hémorragie (H). b: les lésions décrites au niveau de l'image à un grossissement plus élevé, noter l'hémorragie à la périphérie de la zone de déplétion lymphocytaire (DL). c: artère centrale entourée par un œdème et une nécrose fibrinoïde de la paroi artérielle (O), le reste du parenchyme se caractérise par une déplétion lymphocytaire modérée et de l'hémorragie. d: coupe normale de la rate chez un sujet témoin. Deux artères centrales (flèches) entourées par des cellules réticulées = gaine ellipsoïde, un PELS: gaine lymphocytaire périellipsoïde formée principalement par des lymphocytes B (BL) et une gaine lymphocytaire périartérielle contenant principalement des lymphocytes T (TL), (H) en bas à gauche de la section représente des hématies

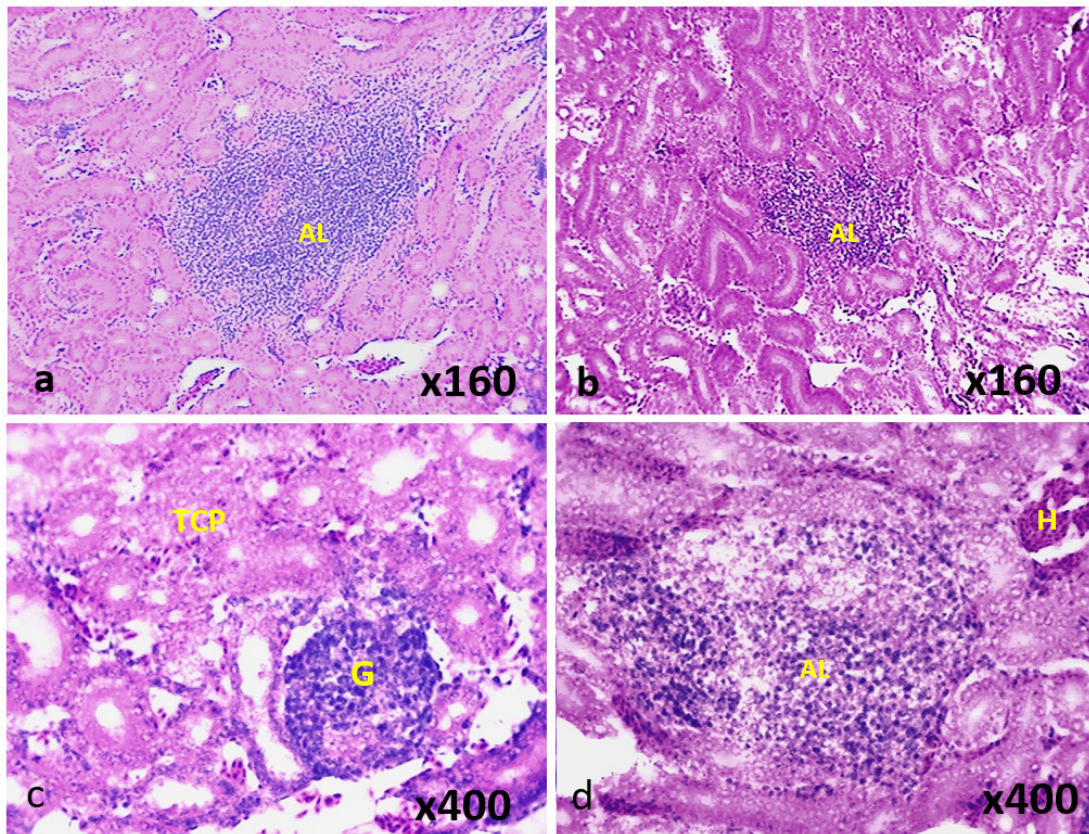


Figure 4: lésions au niveau des reins du poulet de chair infectés expérimentalement par le virus de l'influenza aviaire faiblement pathogène H9N2 (H&E). a: agrégat lymphoïde (AL) dans une zone corticale des reins avec des vaisseaux hyperhémisés. b: infiltration lymphocytaire et dégénérescence des tubules contournés proximaux à droite de la section, notez la différence avec les parties gauches, un agrégat lymphoïde (AL) se trouve au centre. c: fort grossissement montrant un glomérule (G) et des tubules contournés proximaux (TCP) dégénérés, avec caryolyse des cellules épithéliales. d: fort grossissement d'un agrégat lymphoïde associé à une hyperémie d'un vaisseau (H).

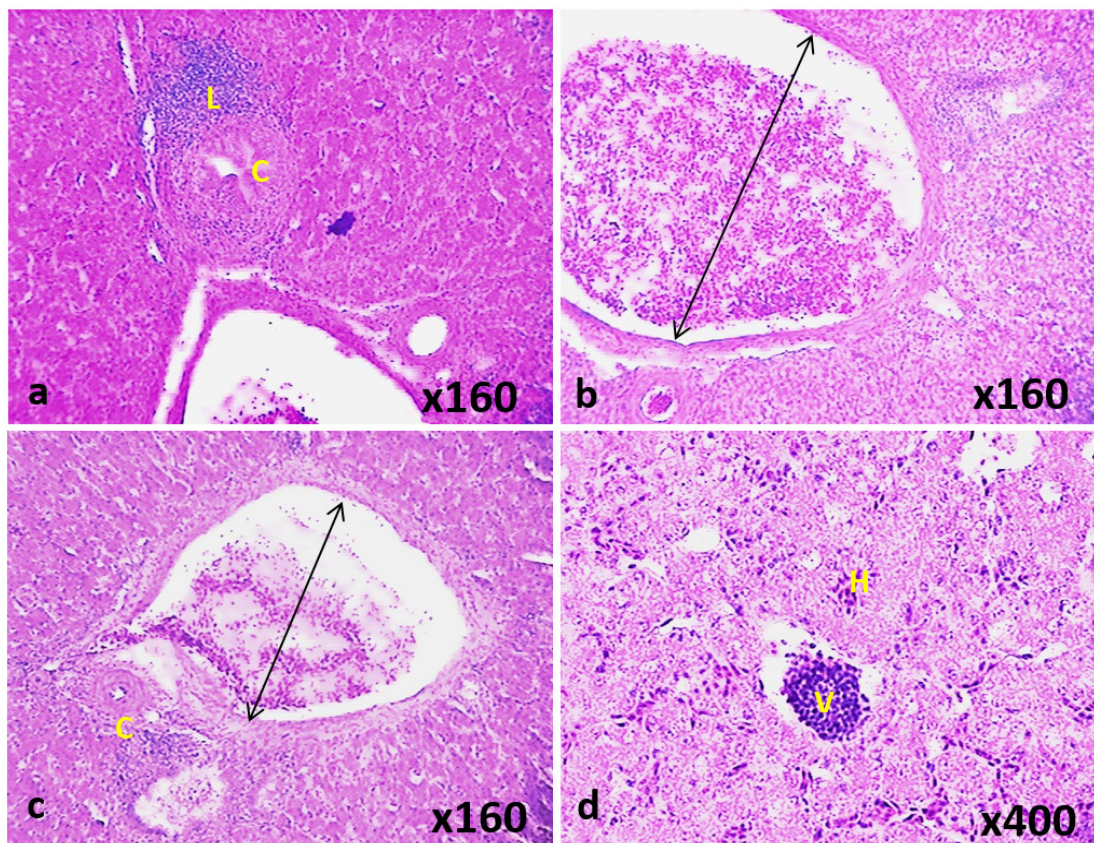


Figure 5: lésions histopathologiques, au niveau hépatique, notées chez un poulet de chair 5 jours après l'infection expérimentale par le virus de l'influenza aviaire faiblement pathogène H9N2. a: péricholangite (C) entourée par un infiltrat de lymphocytes (L), et une hyperémie de la veine porte. b: congestion sévère avec dégénérescence des hépatocytes autour d'un espace porte. c: espace porte montrant une congestion sévère, et un agrégat de lymphocytes d: dégénérescence hépatocellulaire des cellules entourant une veine centrale (V). H pour globules rouges.

mesures de biosécurité rigoureuses, ce qui a minimisé le risque de coinfections, par conséquent les signes cliniques et les lésions relevées sont dues, seulement, au pouvoir pathogène du virus H9N2. En effet, Gharaibeh (2008) a réalisé une étude de la pathogénicité du virus H9N2 chez des poulets de chair et des poulets SPF, il a rapporté des râles trachéaux modérés et une perte de poids. Sur le plan lésionnel, il a décrit une congestion et une inflammation lympho-plasmocytaire de la trachée, des sacs aériens et des poumons. Ils ont aussi précisé que les symptômes et les lésions rapportées sont plus prononcées chez le poulet de chair comparativement au poulet SPF. Par ailleurs, (Stipkovits *et al.*, 2012b) ont rapporté des symptômes et des lésions plus sévères chez les poulets infectés par le virus de l'IAFP H3N8 et *Mycoplasma gallisepticum*, comparativement à ceux infecté par les deux pathogènes séparément, des résultats identiques ont été rapportés par Subtain *et al.*, 2016 suite à une étude de co-infection par H9N2 et *M. Gallisepticum*. Kishida *et al.* (2004) ont également signalé que la co-infection du virus H9N2 avec *staphylococcus aureus* ou *Haemophilus paragallinarum* non seulement exacerbe le tableau clinique et lésionnel du virus mais aussi promeut la réplication du virus et facilite son isolement sur les organes des poulets co-infectés. Nili et Asasi (2002 et 2003) ont affirmé que les infections concomitantes ont occasionné des mortalités allant de 20 à 60% au niveau du terrain, et sont aussi responsables de la gravité variable de la maladie. L'effet de la co-infection avec le virus de la bronchite infectieuse a aussi été démontré par les études de (Hassan *et al.*, 2010, 2017). De plus, l'effet synergique du virus H9N2 avec des vaccins contre d'autres pathogènes a été également démontré. (Haghighat-Jahromi *et al.*, 2008) ont affirmé que la co-infection du virus H9N2 avec le vaccin vivant de la bronchite infectieuse augmente la sévérité des signes cliniques et du taux de mortalité chez le poulet. (Ellakany *et al.*, 2018) ont affirmé qu'une vaccination par le vaccin vivant contre le virus Newcastle contenant la souche LaSota chez un lot de poulet de chair infecté par le virus de l'IAFP H9N2 potentialise le pouvoir pathogène du virus H9N2. Le mécanisme de l'effet synergique entre le virus H9N2 et les autres pathogènes étudiés n'est pas encore élucidé, certaines études hypothétisent que l'infection à H9N2 prédispose les oiseaux aux surinfections. Effectivement (Barbour *et al.*, 2009) ont affirmé que l'infection par le virus H9N2 prédispose le poulet à d'autres infections par des pathogènes, tels que *Escherichia coli*, causant des symptômes respiratoires légers chez le poulet de chair, et aucun symptôme chez le poulet SPF. En effet (Xing *et al.*, 2008) ont prouvé l'effet immunomodulateur du virus H9N2, celui-ci induit une apoptose des macrophages, a un effet inhibiteur sur plusieurs cytokines, notamment l'interleukine-4 qui est important pour la différenciation et la réponse des Th2, par conséquent il diminue l'activation des lymphocytes B spécifiques. H9N2 freine également la production d'interféron. Tous ces effets immunomodulateurs expliquent la sévérité de l'infection par le virus H9N2, en particulier en cas de synergie avec d'autres agents pathogènes. En effet, Stipkovits *et al.*, (2012a) ont argumenté que l'immunosuppression due à l'infection à *M. gallisepticum* prédispose les oiseaux aux infections, y compris l'infection au virus de l'influenza. Kwon *et al.*, (2008) ont aussi remarqué l'augmentation de la charge virale en H9N2 chez les oiseaux immunodéprimés. De même, El Miniawy *et al.*,

(2014) ont étudié l'effet de l'immunosuppression due aux mycotoxines sur la pathogénicité du virus H9N2.

Lors de cette étude, l'équipe a remarqué que les symptômes et les lésions siègent, principalement au niveau de l'appareil respiratoire, et à moindre degré au niveau des reins (légère néphrite interstitielle lymphocytaire), et aucun symptôme ou lésion du tube digestif n'a été soulevé. Aslam *et al.*, (2015) n'ont pas relevé aucune lésion macroscopique chez des oiseaux euthanasiés après une infections expérimentale par voie oculo-nasale, et orale, par contre, un tableau lésionnel identique à celui de cette étude a été rapporté chez les oiseaux qui ont succombé naturellement. Habl *et al.*, (2003) ont relevé des lésions siégeant dans les reins et le pancréas suite à une inoculation intraveineuse du virus. Les mêmes auteurs ont rapporté une trachéite associée à une pneumonie et une néphrite tubulo-interstitielle après une inoculation intra-trachéale (Habl *et al.*, 2004). Les lésions histopathologiques relevées lors de cet essai, siègent majoritairement au niveau l'appareil respiratoire. Ces résultats sont similaires à ceux de Nili et Asasi (2002) et Capua *et al.*, (2000), qui ont rapporté une prédominance des lésions respiratoires et plus précisément une trachéite nécrotique. Par ailleurs, Aslam *et al.*, (2015) et Capua et Alexander (2009) ont rapporté une fréquence élevée des lésions au niveau de l'appareil respiratoire et gastro-intestinal. Ces résultats diffèrent de ceux rapportés par Shalaby *et al.*, (1994), Slemmons *et al.*, (1990), Swayne et Pantin-Jackwood (2006), Swayne *et al.*, (1994), Swayne et Slemmons (1990, 1992, 1995) qui ont démontré que l'inoculation du poulet par voie intra-nasale et intra-trachéale par le virus de l'IAFP, occasionne des mortalités et des lésions rénales chez des poussins d'un jour et des poules adultes. De même, Habl *et al.*, (2004) ont inoculé des poulets de cinq semaines d'âge par le virus IAFP H9N2, par voie intratrachéale et ils ont remarqué que la néphrite tubulo-interstitielle et la pancréatite ont été les lésions les plus fréquentes. Aussi, Mosleh *et al.*, (2009) ont affirmé que le virus H9N2 est néphropathique et Hadipour *et al.*, (2011) ont rapporté une néphrite tubulo-interstitielle lymphocytaire observée à partir du 6^{ème} jour post-infection chez 26,6% des poulets infectés par le virus H9N2. Subtain *et al.*, (2011) ont aussi rapporté une tuméfaction des glomérules rénaux associée à une infiltration leucocytaire dans la région tubulaire des reins chez 55% des sujets infecté par voie intraveineuse par le virus de l'IAFP H9N2, des résultats concordant avec ceux de Slemmons *et al.*, (1991) qui ont démontré que le rein est l'organe cible du virus H9N2 lorsque l'inoculation se fait par voie intraveineuse. Certes, l'excrétion cloacale du virus de l'influenza aviaire peut être causée par une atteinte intestinale, de la bourse de Fabricius, ou encore par l'atteinte rénale. Ces variations de tropisme peuvent être expliquées par la voie d'inoculation utilisée (le virus se retrouve dans le rein lorsque la voie veineuse est utilisée), la «dose» virale, la différence entre les souches virales utilisées, les conditions de l'expérimentation, la souche et l'état des oiseaux utilisés lors de l'expérimentation (Subtain *et al.*, 2011). Les lésions pulmonaires notées au cours de cette étude chez le poulet de chair sont une bronchite associée à une prolifération des cellules épithéliale, au niveau de la rate une déplétion lymphoïde, et au niveau du foie et du rein des agrégats lymphoïdes qui sont des structures normales chez les oiseaux (Abdul-Aziz *et al.*, 2016; Fletcher, 2008). En effet, les pou-

lets témoins ont aussi présenté des formations lymphoïdes au niveau du poumon, foie, et du rein lors de cette étude. La dégénérescence des cellules épithéliales des tubules rénaux et des hépatocytes, est probablement un artéfact dû à l'autolyse post-mortem et la longue durée de fixation des spécimens et il ne faut pas les confondre avec une véritable lésion due au virus. En effet Abdul-Aziz *et al.*, (2016) et Fletcher, (2008) expliquent dans leurs atlas de l'histopathologie aviaire (avian histopathology 3^{ème} et 4^{ème} édition) au niveau de la partie dédiée à l'appareil urinaire, que les artéfacts dus à l'autolyse comprennent une vacuolisation des cellules épithéliales avec détachement de l'épithélium de la membrane basale, pycnose et caryolyse des noyaux, ce qui concorde avec les trouvailles de cette étude.

CONCLUSION

En conclusion la souche marocaine du virus H9N2 a un effet pathogène principalement sur l'appareil respiratoire et à moindre degré néphropathogène. Elle engendre une trachéite lymphocytaire sévère après les premiers jours de l'infection caractérisée par une suppression des cellules spécialisées (cellules ciliées et cellules caliciformes) cruciales pour la clairance respiratoire éliminant ainsi la première barrière physique contre les agents pathogènes présents dans l'environnement des oiseaux. Le virus a aussi généré une réaction inflammatoire au niveau des reins. L'étude a été réalisée dans des isolateurs, ce qui explique l'absence de mortalités et de symptômes et de lésions typiquement décrits au niveau des cas de terrain. Cela témoigne, en grande partie, que le moyen de contrôle le plus pertinent contre le virus H9N2 est le respect des mesures de biosécurité.

RÉFÉRENCES

- Abdul-Aziz T., Fletcher O.J., Barnes H.J., Shivaprasad H., Swayne D.E. (2016). Avian histopathology. American Association of Avian Pathologists.
- Aslam R., Aslam A., Tipu Y., Nazir J., Ghafoor A., Fatima S., (2015). Histopathological and immunohistochemical studies for the pathogenesis of a low pathogenicity H9 avian influenza virus in experimentally infected commercial broilers. *J. An. Plant. Sci.*, 25: 45-52.
- Barbour E.K., Mastori F.A., Nour A.A., Shaib H.A., Jaber L.S., Yaghi R.H., Sabra A., Sleiman F.T., Sawaya R.K., Niedzwieck A. (2009). Standardisation of a new model of H9N2/*Escherichia coli* challenge in broilers in the Lebanon. *Vet. Ital.*, 45: 317-322.
- Capua I., Alexander D. (2009). Avian influenza infection in birds: a challenge and opportunity for the poultry veterinarian. *Poultry science*, 88: 842-846.
- Capua I., Alexander D.J., (2004). Avian influenza: recent developments. *Avian Pathol.*, 33: 393-404.
- Capua I., Mutinelli F., Marangon S., Alexander D.J. (2000). H7N1 avian influenza in Italy (1999 to 2000) in intensively reared chickens and turkeys. *Avian Pathology*, 29: 537-543.
- El Miniawy H.M., Ahmed K.A., El-Sanousi A.A., Khatat M.M.S. (2014). Effect of aflatoxin induced immunosuppression on pathogenesis of H9N2 avian influenza virus. *Pak. Vet. J.*, 34: 234-238.
- Ellakany H.F., Gado A.R., Elbestawy A.R., Abd El-Hamid H.S., Hafez H.M., Abd El-Hack M.E., Swelum A.A., Al-Owaimer A., Saadeldin I.M. (2018). Interaction between avian influenza subtype H9N2 and Newcastle disease virus vaccine strain (LaSota) in chickens. *BMC Veterinary Research*, 14: 358.
- Fletcher O.J. (2008). Avian histopathology.
- Gharaibeh S. (2008). Pathogenicity of an avian influenza virus serotype H9N2 in chickens. *Avian diseases*, 52: 106-110.
- Habl A.M., Sohrabi H.D.I., Pourbakhsh S., Gholami M. (2003). A study on histopathologic changes in chicken following intravenous inoculation with avian influenza virus A/Chicken/Iran/259/1998 (H9N2).
- Hadipour M., Farjadian S., Azad F., Kamravan M., Dehghan A. (2011). Nephropathogenicity of H9N2 avian influenza virus in commercial broiler chickens following intratracheal inoculation. *J. Anim. Vet. Adv.*, 10: 1706-1710.
- Haghighat-Jahromi M., Asasi K., Nili H., Dadras H., Shoostari A. (2008). Coinfection of avian influenza virus (H9N2 subtype) with infectious bronchitis live vaccine. *Archives of virology*, 153: 651-655.
- Hassan K.E., Ali A., Shany S.A., El-Kady M.F. (2010). Experimental co-infection of infectious bronchitis and low pathogenic avian influenza. *Virology journal*, 3: 78.
- 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.
- El Houadfi M.E., Fellahi S., Nassik S., Guérin J.-L., Ducatez M.F. (2016). First outbreaks and phylogenetic analyses of avian influenza H9N2 viruses isolated from poultry flocks in Morocco. *Virology journal*, 13: 140.
- Kishida N., Sakoda Y., Eto M., Sunaga Y., Kida H. (2004). Co-infection of *Staphylococcus aureus* or *Haemophilus paragallinarum* exacerbates H9N2 influenza A virus infection in chickens. *Archives of virology*, 149: 2095-2104.
- Kwon J.-S., Lee H.-J., Lee D.-H., Lee Y.-J., Mo I.-P., Nahm S.-S., Kim M.-J., Lee J.-B., Park S.-Y., Choi I.-S. (2008). Immune responses and pathogenesis in immunocompromised chickens in response to infection with the H9N2 low pathogenic avian influenza virus. *Virus research*, 133: 187-194.
- Longping V.T., Hamilton A.M., Friling T., Whittaker G.R. (2014). A novel activation mechanism of avian influenza virus H9N2 by furin. *Journal of virology*, 88: 1673-1683.
- Mosleh N., Dadras H., Mohammadi A. (2009). Evaluation of H9N2 avian influenza virus dissemination in various organs of experimentally infected broiler chickens using RT-PCR. *Iranian Journal of Veterinary Research*, 10: 12-20.
- Nili H., Asasi K. (2002). Natural cases and an experimental study of H9N2 avian influenza in commercial broiler chickens of Iran. *Avian Pathology*, 31: 247-252.
- Nili H., Asasi K. (2003). Avian influenza (H9N2) outbreak in Iran. *Avian diseases*, 47: 828-831.
- Shalaby A.A., Slemmons R.D., Swayne D.E. (1994). Pathological studies of A/chicken/Alabama/7395/75 (H4N8) influenza virus in specific-pathogen-free laying hens. *Avian diseases*, 22-32.
- Slemmons R., Condobery P., Swayne D. (1991). Assessing pathogenicity potential of waterfowl-origin type A influenza viruses in chickens. *Avian diseases*, 210-215.
- Slemmons R., Locke L., Sheerar M.G., Duncan R., Hinshaw V.S., Easterday B. (1990). Kidney lesions associated with mortality in chickens inoculated with waterfowl influenza viruses. *Avian diseases*, 120-128.
- Stipkovits L., Egyed L., Palfi V., Beres A., Pitlik E., Somogyi M., Szathmary S., Denes B., (2012a). Effect of low-pathogenicity influenza virus H3N8 infection on *Mycoplasma gallisepticum* infection of chickens. *Avian Pathology*, 41: 51-57.
- Stipkovits L., Glavits R., Palfi V., Beres A., Egyed L., Denes B., Somogyi M., Szathmary S. (2012b). Pathologic lesions caused by coinfection of *Mycoplasma gallisepticum* and H3N8 low pathogenic avian influenza virus in chickens. *Veterinary pathology*, 49: 273-283.
- Subtain S., Chaudhry Z.I., Anjum A.A., Maqbool A., Sadique U. (2011). Study on pathogenesis of low pathogenic avian influenza virus H9 in broiler chickens. *Pakistan Journal of Zoology*, 43.

- Subtain S., Manzoor S., Khan F., Hussain Z., Mukhtar M. (2016). Study on coinfection of *Mycoplasma gallisepticum* and low pathogenic avian influenza virus H9 in broilers. *J. Antivir. Antiretrovir*, 8: 95-99.
- Swayne D., Pantin-Jackwood M. (2006). Pathogenicity of avian influenza viruses in poultry. *Developments in biologicals*, 124: 61-67.
- Swayne D., Radin M., Hoepf T., Slemmons R. (1994). Acute renal failure as the cause of death in chickens following intravenous inoculation with avian influenza virus A/chicken/Alabama/7395/75 (H4N8). *Avian diseases*, 151-157.
- Swayne D., Slemmons R. (1992). Evaluation of the kidney as a potential site of avian influenza virus persistence in chickens. *Avian Diseases*, 937-944.
- Swayne D., Slemmons R. (1995). Comparative pathology of intravenously inoculated wild duck-and turkey-origin type A influenza viruses in chickens. *Avian diseases*, 74-84.
- Swayne D.E., Slemmons R.D. (1990). Renal pathology in specific-pathogen-free chickens inoculated with a waterfowl-origin type A influenza virus. *Avian diseases*, 285-294.
- Wan H., Sorrell E.M., Song H., Hossain M.J., Ramirez-Nieto G., Monne I., Stevens J., Cattoli G., Capua I., Chen L.-M. (2008). Replication and transmission of H9N2 influenza viruses in ferrets: evaluation of pandemic potential. *PloS one*, 3: e2923.
- Xing Z., Cardona C.J., Li J., Dao N., Tran T., Andrada J. (2008). Modulation of the immune responses in chickens by low-pathogenicity avian influenza virus H9N2. *Journal of General Virology*, 89: 1288-1299.