



OATAO is an open access repository that collects the work of Toulouse researchers and makes it freely available over the web where possible

This is an author's version published in: <http://oatao.univ-toulouse.fr/21433>

To cite this version:

Phouratsamay, Albert. *Précision du statut sanitaire des hérons garde-boeufs (*Bubulcus ibis*) présents dans le Sud-Ouest de la France en 2016 et 2017 vis à vis des virus de l'influenza aviaire, des virus de la maladie de Newcastle, de *Mycoplasma gallisepticum* et de *Chlamydia spp.** Thèse d'exercice, Médecine vétérinaire, Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse – ENVT, 2018, 111 p.

Any correspondence concerning this service should be sent to the repository administrator: tech-oatao@listes-diff.inp-toulouse.fr

PRECISION DU STATUT DES HERONS GARDE- BŒUFS (*BUBULCUS IBIS*) PRESENTS DANS LE SUD- OUEST DE LA FRANCE EN 2016 ET 2017 VIS-A-VIS DES VIRUS DE L'INFLUENZA AVIAIRE, DES VIRUS DE LA MALADIE DE NEWCASTLE, DE *MYCOPLASMA* *GALLISEPTICUM* ET DE *CHLAMYDIA* SPP.

THESE
pour obtenir le grade de
DOCTEUR VETERINAIRE

DIPLOME D'ETAT

*présentée et soutenue publiquement
devant l'Université Paul-Sabatier de Toulouse*

par

PHOURATSAMAY Albert
Né, le 04 janvier 1993 à PARIS (75)

Directeur de thèse : M. Guillaume LE LOC'H

JURY

PRESIDENT :

M. Christophe PASQUIER

Professeur à l'Université Paul-Sabatier de TOULOUSE

ASSESEURS :

M. Guillaume LE LOC'H

M. Stéphane BERTAGNOLI

Maître de Conférences à l'Ecole Nationale Vétérinaire de TOULOUSE

Professeur à l'Ecole Nationale Vétérinaire de TOULOUSE

**Ministère de l'Agriculture de l'Alimentation
ÉCOLE NATIONALE VÉTÉRINAIRE DE TOULOUSE**

Directrice : **Madame Isabelle CHMITELIN**

PROFESSEURS CLASSE EXCEPTIONNELLE

- M. **AUTEFAGE André**, *Pathologie chirurgicale*
- Mme **CLAUW Martine**, *Pharmacie-Toxicologie*
- M. **CONCORDET Didier**, *Mathématiques, Statistiques, Modélisation*
- M. **DELVERDIER Maxence**, *Anatomie Pathologique*
- M. **ENJALBERT Francis**, *Alimentation*
- M. **FRANC Michel**, *Parasitologie et Maladies parasitaires*
- M. **PETIT Claude**, *Pharmacie et Toxicologie*
- M. **SHELCHER François**, *Pathologie médicale du Bétail et des Animaux de Basse-cour*

PROFESSEURS 1^o CLASSE

- M. **BERTAGNOLI Stéphane**, *Pathologie infectieuse*
- M. **BERTHELOT Xavier**, *Pathologie de la Reproduction*
- M. **BOUSQUET-MELOU Alain**, *Physiologie et Thérapeutique*
- M. **BRUGERE Hubert**, *Hygiène et Industrie des aliments d'Origine animale*
- Mme **CHASTANT-MAILLARD Sylvie**, *Pathologie de la Reproduction*
- M. **DUCOS Alain**, *Zootchnie*
- M. **FOUCRAS Gilles**, *Pathologie des ruminants*
- Mme **GAYRARD-TROY Véronique**, *Physiologie de la Reproduction, Endocrinologie*
- Mme **HAGEN-PICARD, Nicole**, *Pathologie de la reproduction*
- M. **JACQUIET Philippe**, *Parasitologie et Maladies Parasitaires*
- M. **LEFEBVRE Hervé**, *Physiologie et Thérapeutique*
- M. **MEYER Gilles**, *Pathologie des ruminants*
- M. **SANS Pierre**, *Productions animales*
- Mme **TRUMEL Catherine**, *Biologie Médicale Animale et Comparée*

PROFESSEURS 2^o CLASSE

- M. **BAILLY Jean-Denis**, *Hygiène et Industrie des aliments*
- Mme **BOULLIER Séverine**, *Immunologie générale et médicale*
- Mme **BOURGES-ABELLA Nathalie**, *Histologie, Anatomie pathologique*
- Mme **CADIERGUES Marie-Christine**, *Dermatologie Vétérinaire*
- M. **GUERRE Philippe**, *Pharmacie et Toxicologie*
- M. **GUERIN Jean-Luc**, *Aviculture et pathologie aviaire*
- Mme **LACROUX Caroline**, *Anatomie Pathologique, animaux d'élevage*
- Mme **LETRON-RAYMOND Isabelle**, *Anatomie pathologique*
- M. **MAILLARD Renaud**, *Pathologie des Ruminants*

PROFESSEURS CERTIFIÉS DE L'ENSEIGNEMENT AGRICOLE

- Mme **MICHAUD Françoise**, *Professeur d'Anglais*
- M. **SEVERAC Benoît**, *Professeur d'Anglais*

MAITRES DE CONFERENCES HORS CLASSE

- M. **BERGONIER Dominique**, *Pathologie de la Reproduction*
- Mme **DIQUELOU Armelle**, *Pathologie médicale des Equidés et des Carnivores*
- M. **JOUGLAR Jean-Yves**, *Pathologie médicale du Bétail et des Animaux de Basse-cour*
- M. **LYAZRHI Faouzi**, *Statistiques biologiques et Mathématiques*
- M. **MATHON Didier**, *Pathologie chirurgicale*
- Mme **MEYNADIER Annabelle**, *Alimentation*
- M. **MOGICATO Giovanni**, *Anatomie, Imagerie médicale*
- Mme **PRIYMENKO Nathalie**, *Alimentation*
- M. **VERWAERDE Patrick**, *Anesthésie, Réanimation*

MAITRES DE CONFERENCES (classe normale)

- M. **ASIMUS Erik**, *Pathologie chirurgicale*
- Mme **BENNIS-BRET Lydie**, *Physique et Chimie biologiques et médicales*
- Mme **BIBBAL Delphine**, *Hygiène et Industrie des Denrées alimentaires d'Origine animale*
- Mme **BOUCLAINVILLE-CAMUS Christelle**, *Biologie cellulaire et moléculaire*
- Mme **BOUHSIRA Emilie**, *Parasitologie, maladies parasitaires*
- M. **CONCHOU Fabrice**, *Imagerie médicale*
- M. **CORBIERE Fabien**, *Pathologie des ruminants*
- M. **CUEVAS RAMOS Gabriel**, *Chirurgie Equine*
- Mme **DANIELS Hélène**, *Microbiologie-Pathologie infectieuse*
- Mme **DAVID Laure**, *Hygiène et Industrie des aliments*
- Mme **DEVIERS Alexandra**, *Anatomie-Imagerie*
- M. **DOUET Jean-Yves**, *Ophtalmologie vétérinaire et comparée*
- Mme **FERRAN Aude**, *Physiologie*
- M. **JAEG Jean-Philippe**, *Pharmacie et Toxicologie*
- Mme **LALLEMAND Elodie**, *Chirurgie des Equidés*
- Mme **LAVOUE Rachel**, *Médecine Interne*
- M. **LE LOC'H Guillaume**, *Médecine zoologique et santé de la faune sauvage*
- M. **LIENARD Emmanuel**, *Parasitologie et maladies parasitaires*
- Mme **MEYNAUD-COLLARD Patricia**, *Pathologie Chirurgicale*
- Mme **MILA Hanna**, *Elevage des carnivores domestiques*
- M. **NOUVEL Laurent**, *Pathologie de la reproduction (en disponibilité)*
- Mme **PALIERNE Sophie**, *Chirurgie des animaux de compagnie*
- Mme **PAUL Mathilde**, *Epidémiologie, gestion de la santé des élevages avicoles et porcins*
- M. **VERGNE Timothée**, *Santé publique vétérinaire – Maladies animales règlementées*
- M. **RABOISSON Didier**, *Productions animales (ruminants)*
- M. **VOLMER Romain**, *Microbiologie et Infectiologie*
- Mme **WASET-SZKUTA Agnès**, *Production et pathologie porcine*

ASSISTANTS D'ENSEIGNEMENT ET DE RECHERCHE CONTRACTUELS

- M. **CARTIAUX Benjamin**, *Anatomie-Imagerie médicale*
- Mme **COSTES Laura**, *Hygiène et industrie des aliments*
- M. **GAIDE Nicolas**, *Histologie, Anatomie Pathologique*
- M. **JOUSSERAND Nicolas**, *Médecine interne des animaux de compagnie*

Remerciements

A Monsieur le Professeur Christophe Pasquier

Professeur de l'Université Paul Sabatier de Toulouse

Doyen de la Faculté des Sciences Pharmaceutiques

Microbiologie

Pour m'avoir fait l'honneur d'accepter la présidence de ce jury de thèse

Hommages respectueux

A Monsieur le Docteur Guillaume Le Loc'h

Maître de Conférences de l'École Nationale Vétérinaire de Toulouse

Médecine Zoologique et Santé de la Faune Sauvage

Pour m'avoir fait l'honneur d'accepter d'être mon directeur de thèse, pour s'être rendu disponible, pour sa gentillesse et ses nombreux conseils durant l'encadrement de ma thèse

Un grand merci pour tout ce que tu apportes aux étudiants de cette école

A Monsieur le Professeur Stéphane Bertagnoli

Professeur de l'École Nationale Vétérinaire de Toulouse

Virologie, Infectiologie

Pour m'avoir fait l'honneur de participer à mon jury de thèse

Mes remerciements les plus sincères et respectueux

Table des matières

Table des matières	7
Table des figures	9
Table des tableaux	10
Liste des abréviations	11
Introduction.....	12
Première partie : précision du contexte sanitaire au cours des deux émergences d'influenza aviaire hautement pathogène en France en 2015-2016 et en 2016-2017 et apport d'éléments de bibliographie concernant la transmission d'agents infectieux par le biais de l'avifaune sauvage.....	13
A, Contexte sanitaire au cours des deux émergences d'influenza aviaire hautement pathogène en France en 2015-2016 et en 2016-2017	14
1, L'émergence d'influenza aviaire hautement pathogène dans les élevages aviaires en France pendant l'année 2015-2016	15
2, L'émergence d'influenza aviaire hautement pathogène dans les élevages aviaires en France pendant l'année 2016-2017	19
3, Surveillance épidémiologique de l'avifaune sauvage pendant les émergences d'influenza aviaire hautement pathogène en France en 2015-2016 et en 2016-2017	23
B, Rôles de l'avifaune sauvage dans le portage et la transmission d'agents infectieux à potentiel zoonotique	30
1, Généralités.....	30
2, Rôles de l'avifaune sauvage en tant que porteur d'agent de maladies infectieuses : exemple des virus influenza A.....	32
3, Rôles de l'avifaune sauvage en tant que porteur d'agent de maladies infectieuses : autres exemples de maladies potentiellement zoonotiques	35
Deuxième partie : éléments de biologie du Héron garde-bœufs.....	37
A, Migration, colonisation et sédentarisation au sein de la France.....	39
B, Habitat et reproduction.....	44
C, Alimentation.....	48
D, Eco-épidémiologie et synthèse sur les données actuelles concernant le statut sanitaire du Héron garde-bœufs.....	52
Troisième partie : protocole expérimental et précision du statut sanitaire des hérons garde-bœufs dans le Sud-Ouest de la France en 2016 et en 2017.....	58
A, Notions d'infectiologie	59

1, Virus influenza A	59
2, Virus de la maladie de Newcastle	62
3, <i>Mycoplasma gallisepticum</i>	63
4, <i>Chlamydia</i> spp. et agents de la chlamyidiose aviaire.....	64
B, Matériels et méthodes.....	65
1, Objectifs de l'étude.....	65
2, Sites de prélèvements.....	66
3, Prélèvements	69
4, Analyses effectuées au laboratoire	71
C, Résultats.....	74
D, Discussion	77
Conclusion.....	84
Bibliographie.....	86
Annexes.....	107
Annexe 1 : Augmentation du niveau de risque vis-à-vis de l'infection de l'avifaune par un virus IAHP de « négligeable » à « élevé » dans les ZRP	107
Annexe 2 : Détails des étapes du protocole d'extraction avec le kit NucleoSpin® RNA Virus	108
Annexe 3 : Résultats détaillés des analyses PCR.....	109

Table des figures






Figure 1 : Carte des foyers d'IAHP (n=82) déclarés en France entre novembre 2015 et août 2016, avec les zones de protection et de surveillance autour des quatre foyers détectés après la période de vide sanitaire (d'après la plateforme ESA).....	18
Figure 2 : Répartition des 600 oiseaux libres prélevés et analysés dans le cadre de la surveillance programmée de 2015-2016 selon l'espèce (d'après la saisine n° 2016-SA-0059 de l'Anses).....	27
Figure 3 : Répartition des 141 oiseaux libres prélevés et analysés en fonction de l'espèce au sein de la catégorie « Autres » de la Figure 2 (d'après la saisine n° 2016-SA-0059 de l'Anses).....	27
Figure 4 : Les différents plumages du Héron garde-bœufs. (A) Adulte en plumage hivernal (© Michel Lamarche), (B) Adulte en plumage nuptial (© Sara Lopez) et (C) Plumage juvénile (© LevantiK)	38
Figure 5 : Carte de répartition des colonies de Héron garde-bœufs lors du recensement de 2007 (d'après Marion 2009).....	43
Figure 6 : Un héron garde-bœufs adulte en plumage nuptial en train de construire son nid (© Missouri Department of Conservation).....	45
Figure 7 : Nid et œufs d'un héron garde-bœufs (photo personnelle).....	47
Figure 8 : Des hérons garde-bœufs en quête de nourriture dans une décharge publique (© Partha Hazarika / Barcroft India)	48
Figure 9 : Deux hérons garde-bœufs en train de chasser en association avec une vache (© Diana Australis).....	50
Figure 10 : Des hérons garde-bœufs profitant du labourage d'un champ par un tracteur pour s'alimenter (© George Reszeter).....	50
Figure 11 : Carte indiquant l'emplacement des trois héronnières étudiées	67
Figure 12 : Carte situant les  héronnières (1) Peyssies, (2) Aigue Longue, (3) Biron-Orthez et les élevages ayant déclaré un foyer d'IAHP dans un rayon de 35 km autour des héronnières selon le sous-type viral  H5N1,  H5N2,  H5N9 en 2015-2016 et  H5N8 en 2016-2017	68
Figure 13 : Vues satellites du lac de Peyssies avec indication géographique du seul foyer d'IAHP déclaré à proximité du site.....	68
Figure 14 : Séquence nucléotidique de <i>M. gallisepticum</i> déterminée par séquençage des produits de PCR	75
Figure 15 : Carte des zones écologiques à risque particulier vis-à-vis de l'infection de l'avifaune par un virus IAHP en France à la date du 17 novembre 2016 (d'après le Ministère de l'Agriculture de l'Alimentation).....	107
Figure 16 : Protocole d'extraction « Viral RNA isolation from cell-free biologicals fluids » du kit NucleoSpin® RNA Virus (d'après Macherey-Nagel).....	108
Figure 17 : Résultats de l'électrophorèse sur gel d'agarose des produits amplifiés de PCR ciblant le gène 16S rRNA de <i>M. gallisepticum</i>	110

Table des tableaux

Tableau 1 : Nombre de foyers d'IAHP (n=82) en élevage par département en France entre novembre 2015 et août 2016 (d'après la FAO, l'OIE et EMPRES-i).....	19
Tableau 2 : Nombre de foyers d'IAHP H5N8 (n=540) par département en France déclarés entre novembre 2016 et juin 2017 selon la nature du foyer (d'après la FAO, l'OIE et EMPRES-i)	23
Tableau 3 : Nombre d'oiseaux (n=97) positifs pour H5N8 dans le cadre de la surveillance événementielle du 1 ^{er} novembre 2016 au 23 mai 2017 selon l'espèce et le statut libre ou captif (d'après Van De Wiele et al. 2017, la DGAI et le réseau SAGIR)	26
Tableau 4 : Nombre d'oiseaux (n=10) issus des centres de sauvegarde de la faune sauvage trouvés morts et analysés dans le cadre de la surveillance programmée de 2015-2016 selon l'espèce (d'après la saisine n° 2016-SA-0059 de l'Anses).....	28
Tableau 5 : Nombre d'oiseaux (n=397) collectés par tir dans le cadre de la surveillance programmée de décembre 2016 à février 2017 selon l'espèce et le département (Van De Wiele et al. 2017, communication personnelle)	29
Tableau 6 : Nombre de fientes collectées selon le site et la date de prélèvement ...	70
Tableau 7 : Résultats des analyses PCR et estimation de la prévalence réelle pour <i>M. gallisepticum</i> et <i>Chlamydia</i> sp. selon le site et la période de prélèvement.	76
Tableau 8 : Résultats détaillés des analyses par qPCR selon les pools de fientes	109

Liste des abréviations

Anses : Agence nationale de sécurité sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et du travail

ADN ou DNA : acide désoxyribonucléique

APDI : arrêté préfectoral portant déclaration d'infection

APMV-1 : paramyxovirus aviaire de sérotype 1

ARN ou RNA : acide ribonucléique

A, T, G, C : adénine, thymine, guanine, cytosine

Ct : cycle threshold (point seuil)

DGAI : Direction générale de l'alimentation

DREAL : Direction régionale de l'environnement, de l'aménagement et du logement

ELISA : enzyme-linked immunosorbent assay

EMPRES-i : Global Animal Disease Information System

FAO : Organisation des Nations Unies pour l'alimentation et l'agriculture

GPS : Global Positioning System

HxNy : hémagglutinine « x » et neuraminidase « y »

IAFP/IAHP : influenza aviaire faiblement/hautement pathogène

IC : intervalle de confiance

IPVI ou IVPI : indice de pathogénicité par voie intraveineuse

LNR : laboratoire national de référence

OIE : Organisation mondiale de la santé animale (Office international des épizooties)

ONCFS : Office national de la chasse et de la faune sauvage

Plateforme ESA : plateforme d'Épidémiosurveillance en santé animale

PCR : polymerase chain reaction

qPCR : quantitative polymerase chain reaction

qRT-PCR : quantitative retro transcriptase polymerase chain reaction

RT-PCR : retro transcriptase polymerase chain reaction

sp. : *species* et spp. : *species pluralis*

T_m : melting temperature (température de dissociation)

UV : ultraviolet

WAHIS : World Animal Health Information Database

ZRP : zones à risque particulier

Introduction

La période de 2015 à 2017 a été particulièrement difficile pour les éleveurs français de volailles. En effet, la France a connu deux vagues d'influenza aviaire hautement pathogène (IAHP) affectant majoritairement les élevages de palmipèdes durant les années 2015-2016 et 2016-2017, alors qu'elle en était indemne depuis 2007. La première crise sanitaire s'est concentrée sur 10 départements du Sud-Ouest, totalisant 81 élevages et plus de 280 000 animaux abattus en 2015-2016, tandis que la deuxième crise, d'une ampleur plus considérable, a concerné 485 élevages répartis sur 19 départements en 2016-2017, principalement dans le Sud-Ouest. A la différence de la première crise, un abattage préventif a été décidé lors de la deuxième émergence afin de tenter d'endiguer la progression du virus, ce qui a conduit à l'abattage de plus d'1,2 million de volailles. Ces deux épisodes d'IAHP ont soulevé de nombreuses questions quant à l'origine et à la diffusion de l'infection. Les principales hypothèses reposent sur l'apparition de virus hautement pathogènes à partir de souches faiblement pathogènes circulant à bas bruit dans les élevages, sur l'accentuation de la diffusion par un manquement aux mesures de biosécurité et sur la dissémination virale par l'avifaune sauvage. A ce propos, plusieurs éleveurs ont témoigné durant cette période de la présence récurrente de hérons garde-bœufs (*Bubulcus ibis*) sur les parcours extérieurs de canards. Ces observations ont soulevé des interrogations sur le rôle que pouvaient jouer les hérons garde-bœufs dans la dissémination de virus influenza, étant donné qu'ils constituent une espèce à la fois migratrice et résidente en France. L'objectif de ce travail est d'apporter des éléments de réponse pour préciser le rôle épidémiologique des hérons garde-bœufs dans les deux émergences d'influenza aviaire hautement pathogène. Dans un deuxième temps, nous nous sommes intéressés au statut sanitaire du Héron garde-bœufs vis-à-vis d'autres agents infectieux tels que les paramyxovirus aviaires de sérotype 1 à l'origine de la maladie de Newcastle, *Mycoplasma gallisepticum* et *Chlamydia* spp. Dans une première partie, nous détaillerons le contexte des crises sanitaires d'influenza aviaire hautement pathogène en France durant les années 2015-2016 et 2016-2017. Ensuite, nous apporterons des éléments de biologie concernant le Héron garde-bœufs. Enfin, nous terminerons avec la présentation de notre étude.

Première partie : précision du contexte sanitaire au cours des deux émergences d'influenza aviaire hautement pathogène en France en 2015-2016 et en 2016-2017 et apport d'éléments de bibliographie concernant la transmission d'agents infectieux par le biais de l'avifaune sauvage

A, Contexte sanitaire au cours des deux émergences d'influenza aviaire hautement pathogène en France en 2015-2016 et en 2016-2017

Deux épisodes d'influenza aviaire hautement pathogène ont touché la France, et plus particulièrement le Sud-Ouest, de novembre 2015 à août 2016 dans un premier temps puis de novembre 2016 à juin 2017 dans un contexte épizootique qui frappe l'Europe depuis octobre 2016 et dont les derniers cas en date continuent d'être déclarés en juillet 2018. Le Sud-Ouest de la France est principalement caractérisé par sa filière de canards gras pour laquelle la France est mondialement renommée, bien que des élevages de galliformes y soient également présents en nombre conséquent. L'élevage de palmipèdes à foie gras comprend quatre phases : le démarrage, la sortie sur parcours extérieur, la préparation au gavage puis le gavage. La phase de sortie sur parcours extérieur est une phase particulièrement à risque d'un point de vue épidémiologique puisque les canards, âgés de cinq à neuf semaines environ, sont exposés au milieu extérieur et notamment à l'avifaune sauvage pouvant être à l'origine de la transmission d'agents infectieux.

L'influenza aviaire est une maladie virale contagieuse réglementée qui peut toucher toute espèce d'oiseau. Certaines souches virales ont la capacité d'infecter des mammifères ou d'être potentiellement zoonotiques. Aucun cas humain n'a été décrit en France et plus globalement en Europe en 2015-2016 et en 2016-2017, les virus circulants n'ayant pas les caractéristiques de virulence pour être zoonotique (Briand et al. 2017; Cauchard et al. 2017).

Les émergences d'influenza aviaire sont largement surveillées et font l'objet de nombreux rapports et communiqués soumis en temps réel par l'Organisation mondiale de la santé animale (OIE, <http://www.oie.int/fr/>) via son interface WAHIS (World Animal Health Information Database), par l'Organisation des Nations Unies pour l'alimentation et l'agriculture (FAO, <http://www.fao.org/home/fr/>) via le Système mondial d'information sur les maladies animales (EMPRES-i, <http://empres-i.fao.org/eipws3g/>), par les systèmes d'informations internationaux Animal Disease Notification System et Program for Monitoring Emerging Diseases (www.promedmail.org), par le Ministère de l'Agriculture et de l'Alimentation (<http://agriculture.gouv.fr/>) et par la plateforme d'Épidémiosurveillance en santé

animale (ESA, <https://www.plateforme-esa.fr>) dont les informations ont été reprises dans les paragraphes suivants afin de relater les faits.

1. L'émergence d'influenza aviaire hautement pathogène dans les élevages aviaires en France pendant l'année 2015-2016

Le 24 novembre 2015, un premier foyer d'influenza aviaire a été confirmé dans un élevage de basse-cour de 32 galliformes (poules pondeuses et poulets de chair) en Dordogne, suite à la déclaration d'une suspicion clinique cinq jours plus tôt. Les analyses réalisées au laboratoire national de référence (LNR) de l'Agence nationale de sécurité sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et du travail (Anses) à Ploufragan-Plouzané (Côtes-d'Armor) ont permis d'identifier un virus influenza H5N1 hautement pathogène. Ce foyer a été notifié à l'OIE et placé sous arrêté préfectoral portant déclaration d'infection (APDI), ce qui a conduit à l'abattage des dix oiseaux restants, à la mise en place d'une zone de protection de 3 km autour du foyer et d'une zone de surveillance de 10 km autour du foyer (Bournez et al. 2015; Ministère de l'Agriculture et de l'Alimentation 2015a). Le département de la Dordogne a été placé en zone de restriction et la surveillance épidémiologique a été renforcée via la surveillance événementielle et la surveillance programmée. La surveillance événementielle s'est reposée sur la sensibilisation des éleveurs et des vétérinaires à l'identification des suspicions cliniques et à la déclaration de celles-ci afin d'améliorer la détection d'éventuels nouveaux foyers. La surveillance programmée s'est reposée quant à elle sur une enquête épidémiologique avec le recensement et la visite des élevages (producteurs et reproducteurs) présents dans la zone de restriction, l'élaboration de sondages auprès des éleveurs et la réalisation de prélèvements pour analyses sérologique et virologiques (Le Bouquin, Huneau-Salaün, Hamon, et al. 2016). Des mesures sanitaires strictes ont été prises par la mise en place de barrières sanitaires, l'interdiction des rassemblements d'oiseaux, la restriction des mouvements (personnes, oiseaux, véhicules) au sein de la zone de protection et l'interdiction de sortie de la zone de surveillance pour toutes les volailles et les œufs à couver. Des mesures de protection des personnes ont également été prises.

Quelques jours après la découverte du premier foyer, deux autres foyers ont été confirmés, également en Dordogne (Guerry et al. 2015; Ministère de l'Agriculture et de l'Alimentation 2015b). Trois virus H5 hautement pathogènes ont été identifiés, H5N1 et H5N9 dans l'un des foyers et H5N2 dans l'autre (Guerry et al. 2015). Par la suite, le nombre de foyers détectés a connu un pic en décembre 2015 ; on dénombrait ainsi 67 foyers d'IAHP et 14 foyers d'influenza aviaire faiblement pathogènes (IAFP) le 7 janvier 2016 (Le Bouquin, Huneau-Salaün, Souillard, et al. 2016). Cette recrudescence de foyers détectés a pu être expliquée par l'élargissement de la zone de surveillance et de la zone de restriction au bassin de production de palmipèdes, une surveillance active renforcée jusqu'à mi-décembre et le pic de production de foies gras pour les fêtes de fin d'année (Le Bouquin, Huneau-Salaün, Hamon, et al. 2016). A partir de janvier 2016, entre un et quatre foyers étaient déclarés chaque semaine jusqu'à la période d'assainissement des élevages débutée en avril. Chaque foyer nouvellement identifié a été placé sous APDI et les volailles présentes dans le foyer ont été abattues. Le Ministère de l'Agriculture et de l'Alimentation a mis en œuvre une stratégie d'éradication en trois temps respectant un calendrier défini par l'arrêté du 9 février 2016 : dépeuplement progressif, assainissement puis repeuplement dans des conditions de biosécurité maîtrisées et après dépistage obligatoire (Ministère de l'Agriculture et de l'Alimentation 2016a). Le dépeuplement progressif des élevages situés en zone de restriction a eu lieu du 18 janvier au 2 mai 2016 avec interdiction d'introduire des canetons dans les élevages, l'abattage préventif des animaux en cours d'élevage n'ayant pas été préconisé. Le vide sanitaire comprenant des opérations rigoureuses de nettoyage/désinfection s'est tenu entre le 18 avril et le 16 mai 2016. Le 13 avril 2016, suite à la mortalité de 350 animaux, une suspicion clinique dans un élevage de pintades dans le Tarn a mené à la confirmation d'un foyer H5N9 hautement pathogène le 18 avril 2016 (Huneau-Salaün, Hamon, et al. 2016). Plus aucun foyer n'a été déclaré entre le 19 avril et le 15 juillet 2016 et on comptait alors 77 foyers d'IAHP depuis le début de l'épizootie (Huneau-Salaün, Moisson, Hamon, Niqueux, Scoizec, Schmitz, Briand, Michel, Fediaevsky, Le Bouquin, et al. 2016; Moisson, Huneau-Salaün, et al. 2016a). Après le vide sanitaire, quatre foyers d'IAHP (deux en Aveyron et deux en Dordogne) et quatre foyers d'IAFP ont été détectés en juillet et en août 2016 via le plan de surveillance active mis en place dans la zone de restriction : prélèvements pour analyses virologique et sérologique dans les exploitations de palmipèdes en

démarrage et en pré-gavage, dépistage sérologique et virologique dans les abattoirs, inspection clinique des élevages de galliformes (Moisson, Huneau-Salaün, et al. 2016a; 2016b). Au total, ce sont 102 foyers d'influenza aviaire dont 82 foyers d'IAHP et 20 foyers d'IAFP qui ont été détectés de novembre 2015 à août 2016 (Huneau-Salaün, Moisson, Hamon, Niqueux, Scoizec, Schmitz, Briand, Michel, Fediaevsky, Calavas, et al. 2016) ; le dernier foyer d'IAHP ayant été confirmé le 5 août 2016 en Aveyron (Moisson, Huneau-Salaün, et al. 2016b). Le repeuplement des élevages a été réalisé sous surveillance épidémiologique renforcée avec l'adoption de mesures de biosécurité strictes et pérennes définies par l'arrêté du 8 février 2016, entré en vigueur au 1^{er} juillet 2016 et modifié par l'arrêté du 15 juillet 2016. La zone de restriction a finalement été levée le 15 septembre 2016 grâce au bilan favorable du plan de surveillance (Ministère de l'Agriculture et de l'Alimentation 2016b). Les impacts socio-économiques de cette crise ont été lourds de conséquence pour les éleveurs et les accouveurs atteints. Plus de 280 000 animaux ont été abattus dans les élevages atteints d'après les rapports fournis par l'OIE et la FAO. Afin d'y remédier, 130 millions d'euros d'indemnisation au total ont été versés par l'État français et des fonds européens pour pallier les pertes engendrées par la mise en œuvre du plan d'assainissement (Ministère de l'Agriculture et de l'Alimentation 2016c). La France a perdu son statut de pays indemne d'influenza aviaire hautement pathogène auprès de l'OIE alors qu'aucun foyer d'IAHP n'avait été déclaré depuis 2007 (Guerry et al. 2014). Ce statut de pays indemne ne peut être retrouvé que trois mois après le nettoyage et la désinfection du dernier foyer détecté. Pendant la période de novembre 2015 à août 2016, la France a été le pays européen ayant déclaré le plus de foyers d'IAHP en élevage aviaire ; quelques cas sporadiques d'IAHP en élevage de volailles ont été déclarés dans d'autres pays d'Europe, ces souches étant différentes de celles déclarées en France (Arsevaska et al. 2016).

Les foyers d'influenza aviaire ont été rapportés dans les dix départements suivants : Aveyron, Dordogne, Haute-Garonne, Hautes-Pyrénées, Haute-Vienne, Gers, Landes, Lot, Pyrénées-Atlantiques et Tarn (Figure 1). La Dordogne (17 foyers), le Gers (10 foyers), les Landes (32 foyers) et les Pyrénées-Atlantiques (13 foyers) sont les principaux départements concernés par les foyers d'IAHP (Tableau 1). La zone de restriction s'étalait sur sept autres départements (Ariège, Aude, Cantal, Corrèze, Gironde, Lot-et-Garonne et Tarn-et-Garonne) en plus des dix départements touchés

(Figure 1). Les enquêtes épidémiologiques réalisées dans la zone de restriction ont permis d'identifier 526 élevages en lien épidémiologique avec les foyers (proximité géographique, matériel en commun, mouvements d'animaux, de véhicules ou de personnels) dont deux élevages en zone indemne (Moisson, Huneau-Salaün, et al. 2016b). Ces élevages en lien épidémiologique ont fait l'objet d'une visite conduisant à l'inspection clinique des animaux et dans certains cas de prélèvements pour des analyses sérologiques et virologiques conformément au plan de surveillance épidémiologique mis en œuvre.

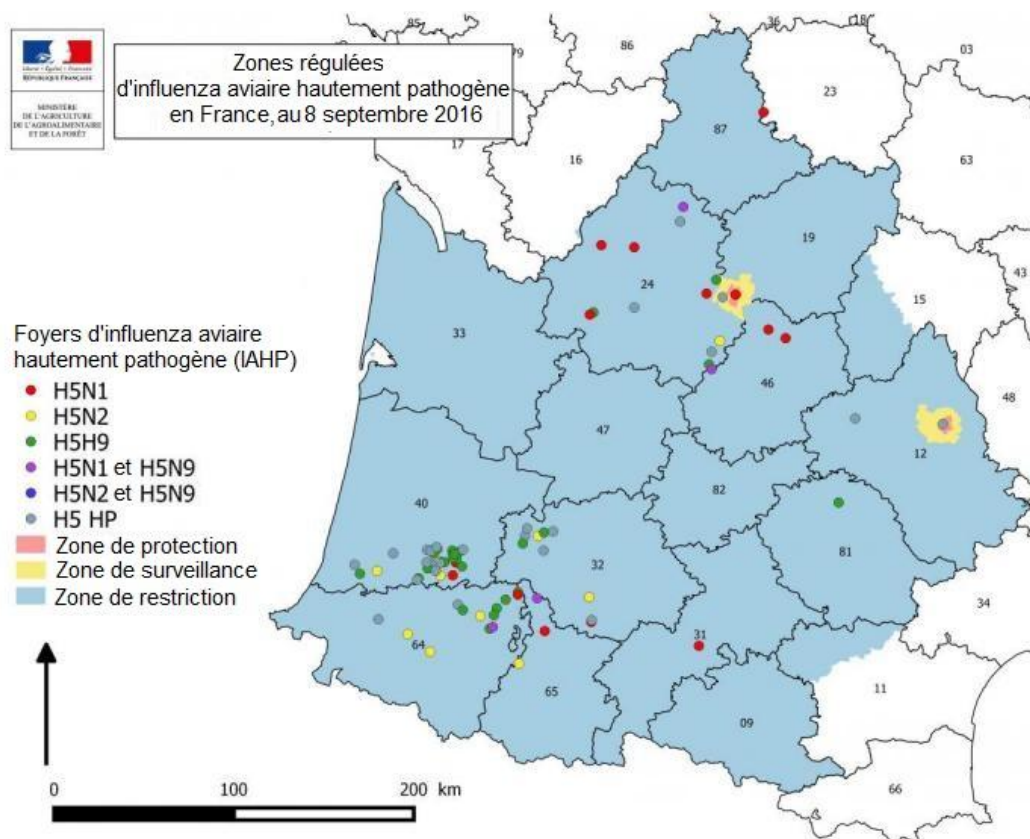


Figure 1 : Carte des foyers d'IAHP (n=82) déclarés en France entre novembre 2015 et août 2016, avec les zones de protection et de surveillance autour des quatre foyers détectés après la période de vide sanitaire (d'après la plateforme ESA)

Tableau 1 : Nombre de foyers d'IAHP (n=82) en élevage par département en France entre novembre 2015 et août 2016 (d'après la FAO, l'OIE et EMPRES-i)

Département	Nombre de foyers d'IAHP (élevage)		
	H5N1	H5N2	H5N9
Aveyron (12)	-	2	-
Dordogne (24)	12	4	1
Haute-Garonne (31)	1	-	-
Gers (32)	1	9	-
Landes (40)	2	15	15
Lot (46)	2	-	-
Pyrénées-Atlantiques (64)	1	4	8
Hautes-Pyrénées (65)	1	2	-
Tarn (81)	-	-	1
Haute-Vienne (87)	1	-	-
Total	21	36	25

Dans ces foyers d'IAHP, trois sous-types de virus ont pu être identifiés : H5N1 (21 foyers), H5N2 (36 foyers) et H5N9 (25 foyers) (Tableau 1). Un élevage présentait les sous-types H5N2 et H5N9 simultanément.

Un sous-type de chacun des virus hautement pathogènes H5N1 (A/chicken/France/150169a/2015), H5N2 (A/duck/France/150233/2015) et H5N9 (A/duck/France/150236/2015) a été séquencé. Les résultats montrent que ces trois sous-types ont des séquences H5 très proches (98,8 à 99,8% de séquences nucléotidiques identiques) et qu'ils ne sont pas apparentés aux virus H5N1 hautement pathogènes de la lignée asiatique A/goose/Guangdong/1/1996 (Briand et al. 2017), qui étaient responsables des premiers cas zoonotiques humains à Hong-Kong en 1997 (de Jong et al. 1997) et à l'origine du virus H5 hautement pathogène de la clade 2.3.4.4 qui a diffusé de manière panzootique entre 2013 et 2015 à partir de l'Asie (Cauchard et al. 2016; Lee et al. 2015; Lee, Bertran, et al. 2017; The Global Consortium for H5N8 and Related Influenza Viruses 2016).

2. L'émergence d'influenza aviaire hautement pathogène dans les élevages aviaires en France pendant l'année 2016-2017

Depuis octobre 2016, l'Europe traverse une épizootie d'influenza aviaire H5 hautement pathogène. Le premier cas européen a été déclaré le 27 octobre 2016 chez un cygne tuberculé (*Cygnus olor*) en Hongrie. S'en est suivi un second foyer

déclaré huit jours plus tard, le 4 novembre 2016, dans un élevage de dindes d'engraissement situé à 17 km du premier foyer (Cauchard et al. 2016). Au total, 31 pays européens ont été touchés par cette vague : Allemagne, Autriche, Belgique, Bosnie-Herzégovine, Bulgarie, Chypre, Croatie, Danemark, Espagne, Finlande, France, Grèce, Hongrie, Irlande, Italie, Lituanie, Luxembourg, Macédoine, Monténégro, Pays-Bas, Pologne, Portugal, République Tchèque, Roumanie, Royaume-Uni, Russie, Serbie, Slovaquie, Slovénie, Suède et Suisse.

Cette épizootie peut être décomposée en deux phases, la première qui s'est déroulée d'octobre 2016 à décembre 2017 et la deuxième qui a lieu depuis décembre 2017 et dont les cas continuent d'être déclarés en date de juillet 2018. Les sous-types identifiés H5N5, H5N6 et H5N8 sont hautement pathogènes et font partie du groupe B de la lignée A/goose/Guangdong/1/1996 clade 2.3.4.4 (Beerens et al. 2018; Bronner, Niqueux, et al. 2017; Cauchard et al. 2017; Fusaro et al. 2017; Globig et al. 2018; Lee, Bertran, et al. 2017; Meier et al. 2017; Mercier et al. 2017; Pohlmann et al. 2017).

Les virus les plus proches de ces trois sous-types mais qui restent toutefois différents, sont ceux qui ont été isolés chez des oiseaux du lac Uvs-Nur situé à la frontière russo-mongole en juin 2016 (Lee, Sharshov, et al. 2017). Pour certains foyers (notés H5Nx), la neuraminidase des virus H5 hautement pathogènes n'a pas pu être identifiée dans l'immédiat. Les données sont mises à jour régulièrement et les foyers H5Nx sont précisés en foyers H5N5, H5N6 ou H5N8 le cas échéant.

Entre octobre 2016 et décembre 2017, les virus H5N5 et H5N8 étaient les principaux virus identifiés dans les foyers, seul un foyer H5N6 avait été confirmé dans une basse-cour en Grèce le 2 mars 2017 (Veille sanitaire internationale Plateforme ESA, LNR influenza aviaire Anses Ploufragan 2017). Le dernier foyer H5N5 remonte au 1^{er} juin 2017 et concerne deux oies cendrées (*Anser anser*) sauvages (Bronner, Calavas, Cauchard, Falala, et al. 2017).

Depuis décembre 2017, une nouvelle souche H5N6 circule en Europe. Elle est issue d'une recombinaison à partir de la souche H5N8 circulant actuellement et d'une souche eurasiennne faiblement pathogène, tout comme la souche identifiée en Grèce en mars 2017. Cependant elle n'est pas issue de la souche zoonotique circulant de façon endémique en Asie depuis plusieurs années (Beerens et al. 2018; Bronner, Calavas, Cauchard, Hendrikx, et al. 2017). Des foyers H5N6 et H5N8 continuent d'être déclarés en date du 18 juillet 2018. Du 1^{er} octobre 2017 au 18 juillet 2018, 197

foyers ont été dénombrés dans 13 pays européens : Allemagne (5 foyers), Bulgarie (17 foyers), Chypre (1 foyer), Danemark (29 foyers), Finlande (3 foyers), Irlande (3 foyers), Italie (50 foyers), Pays-Bas (14 foyers), Royaume-Uni (21 foyers), Russie (40 foyers), Slovaquie (1 foyer), Suède (12 foyers) et Suisse (1 foyer) (Bronner et al. 2018).

D'autre part la Russie a déclaré un foyer d'IAHP H5N2 le 21 décembre 2017 dans un élevage de plus de 660 000 oiseaux. Les hypothèses de l'origine de cette souche sont une mutation d'un virus H5N2 faiblement pathogène ou bien un réassortiment du virus H5N8 hautement pathogène circulant avec une souche faiblement pathogène (Bronner et al. 2018). Le dernier foyer d'IAHP H5N2 déclaré en Europe datait du 3 août 2016 et concernait un élevage de 11000 canards en France (données EMPRES-i).

La France a particulièrement été touchée par cette épizootie. Bien que des mesures de biosécurité strictes aient été mises en place suite à l'émergence de 2015-2016 (arrêtés du 8 février 2016 et du 15 juillet 2016), la France est le pays européen ayant déclaré le plus de foyers d'IAHP en élevage aviaire totalisant 485 foyers H5N8, suivie par la Hongrie. Deux foyers H5N1 ont été détectés de façon sporadique en mars 2017 dans deux élevages à La Croix-Comtesse (Charente-Maritime) et à Montaut (Landes). Ces souches H5N1 sont apparentées aux souches qui ont circulé en 2015-2016 (Bronner, Niqueux, Schmitz, Le Bouquin, et al. 2017, données EMPRES-i). Aucun foyer H5N5 ni H5N6 n'a été déclaré en France durant cette période.

Le dernier foyer déclaré au cours de l'émergence d'IAHP de 2015-2016 a été confirmé et assaini le 3 août 2016. La France devait officiellement recouvrer son statut de pays indemne d'IAHP le 3 décembre 2016 conformément aux normes de l'OIE. Cependant, le 26 novembre 2016, un premier foyer d'IAHP H5N8 a été déclaré chez des canards appelants (*Anas strepera* et *Mareca penelope*) utilisés pour la chasse au gibier d'eau et considérés comme de l'avifaune captive. Ces canards étaient détenus dans une réserve naturelle privée du Pas-de-Calais (Moisson et al. 2016). Le premier foyer d'IAHP H5N8 en élevage aviaire a été déclaré deux jours après, le 28 novembre 2016, dans un élevage de 5143 canards à Almayrac (Tarn). Un deuxième foyer H5N8 s'est déclaré le 2 décembre 2016 dans la même commune, dans un élevage de 6120 canards prêts à gaver. Cinq foyers secondaires, trois dans le Gers, un dans le Lot-et-Garonne et un dans les Hautes-Pyrénées, ont par la suite

été déclarés dans des élevages ayant reçu des lots de canards issus de ce deuxième foyer (Moisson et al. 2016, données EMPRES-i, données OIE). Le virus H5N8 s'est ensuite propagé de proche en proche entre les élevages, dans la majorité des cas dans un rayon de 10 km à partir d'un précédent foyer (Bronner, Moisson, et al. 2017).

Les mesures de police sanitaire appliquées dans les élevages étaient similaires à celles de 2015-2016, à savoir la mise en place de chaque foyer sous APDI, l'abattage de tous les animaux présents dans chacun des foyers, représentant plus d'1,2 million d'animaux abattus au total (données OIE), la réalisation d'un vide sanitaire et le renforcement de la surveillance épidémiologique. Contrairement à l'émergence de 2015-2016, une stratégie offensive définie par l'arrêté du 4 janvier 2017 a été adoptée en 2016-2017 en plus des mesures de police sanitaire standards. Elle repose sur un abattage préventif sur place de tous les palmipèdes en parcours extérieur présents dans la zone réglementée définie par le Ministère de l'Agriculture et de l'Alimentation comprenant initialement une partie du Gers, des Landes et des Hautes-Pyrénées afin essayer d'endiguer la propagation du virus. Cette stratégie de dépeuplement a débuté le 5 janvier 2017 et avait pour but de protéger les zones à forte densité d'élevages qui n'étaient pas encore atteintes. L'abattage préventif a été suivi d'un protocole de nettoyage et désinfection puis d'un repeuplement progressif dans des conditions de biosécurité strictes. L'État a pris en charge les opérations d'abattage sanitaire et indemnisé les éleveurs en fonction des pertes (Ministère de l'Agriculture et de l'Alimentation 2017a).

Durant le mois de février 2017, de plus en plus de foyers commençaient à se déclarer à plus de 10 km d'un précédent foyer et l'épizootie a atteint son pic avec la déclaration de foyers H5N8 dans 211 élevages (Bronner, Niqueux, et al. 2017). La stratégie adoptée a porté ses fruits avec une nette diminution des foyers déclarés à partir de mars 2017. Le dernier foyer H5N8 a été déclaré le 30 juin 2017 dans un élevage à Brillon (Nord) et serait en lien avec un foyer H5N8 belge situé à 15 km qui a été déclaré le 23 juin 2017 (Veille sanitaire internationale Plateforme ESA 2017). Jusqu'à la détection de ce dernier, les foyers étaient concentrés au Sud-Ouest dans les neuf départements suivants : Aveyron, Deux-Sèvres, Gers, Haute-Garonne, Hautes-Pyrénées, Landes, Lot-et-Garonne, Pyrénées-Atlantiques et Tarn. Le département des Landes fut le plus atteint avec 286 foyers H5N8 déclarés en élevages (Tableau 2). Le 27 octobre 2017, la France a finalement retrouvé son statut

de pays indemne d'IAHP auprès de l'OIE, après l'assainissement du dernier foyer détecté en juin 2017 et l'absence de nouveaux foyers déclarés depuis plus de trois mois (Ministère de l'Agriculture et de l'Alimentation 2017b).

Tableau 2 : Nombre de foyers d'IAHP H5N8 (n=540) par département en France déclarés entre novembre 2016 et juin 2017 selon la nature du foyer (d'après la FAO, l'OIE et EMPRES-i)

Département	Nombre de foyers d'IAHP H5N8		
	Elevage	Avifaune captive*	Avifaune libre*
Ain (01)	-	-	24
Aveyron (12)	2	-	-
Haute-Garonne (31)	1	-	-
Gers (32)	96	-	7
Landes (40)	286	-	4
Loire-Atlantique (44)	-	-	1
Lot-et-Garonne (47)	13	-	3
Manche (50)	-	-	1
Nord (59)	1	-	-
Pas-de-Calais (62)	-	1	-
Pyrénées-Atlantiques (64)	49	-	3
Hautes-Pyrénées (65)	26	-	1
Bas-Rhin (67)	-	-	1
Haut-Rhin (68)	-	1	-
Rhône (69)	-	1	-
Haute-Savoie (74)	-	-	2
Deux-Sèvres (79)	3	-	-
Tarn (81)	8	-	2
Vosges (88)	-	-	3
Total	485	3	52

*Les foyers d'IAHP H5N8 déclarés dans l'avifaune sauvage sont tous issus des résultats de la surveillance événementielle.

3, Surveillance épidémiologique de l'avifaune sauvage pendant les émergences d'influenza aviaire hautement pathogène en France en 2015-2016 et en 2016-2017

L'avifaune sauvage libre et captive est également concernée par la surveillance épidémiologique événementielle via le réseau SAGIR, grâce à l'action commune de l'Office national de la chasse et de la faune sauvage (ONCFS), la Fédération nationale des chasseurs et des fédérations départementales de chasseurs, et ce

depuis 2008. Les mesures de surveillance événementielle de l'avifaune sauvage sont retranscrites dans la note de service DGAL/SDSPA/2016-507 du 22 juin 2016 relative à la surveillance événementielle des mortalités d'oiseaux sauvages au regard du risque influenza aviaire. La surveillance événementielle classique est mise en œuvre sur l'ensemble du territoire et en tout temps, indépendamment des foyers d'IAHP concernant l'avifaune sauvage libre ou captive. La collecte, l'autopsie et la réalisation d'écouvillons trachéaux et cloacaux afin de rechercher le virus de l'influenza aviaire par Reverse Transcriptase Polymerase Chain Reaction (RT-PCR) sont effectuées lorsque des mortalités anormales d'oiseaux sauvages sont constatées, à savoir lors de « la découverte d'au moins trois cadavres d'oiseaux d'une ou plusieurs espèces sur un même site (sur un rayon d'environ 500 mètres) et sur un laps de temps maximal d'une semaine » et dès la découverte d'un oiseau trouvé mort du genre *Cygnus*. La surveillance événementielle renforcée est appliquée dans les zones où des foyers d'IAHP ont été détectés dans l'avifaune libre ou captive ou dans les élevages de volailles. Elle consiste en la recherche de virus influenza aviaire dès qu'un oiseau sauvage appartenant à la famille des *Anatidae*, des *Laridae* ou des *Rallidae* est retrouvé mort. Lorsque le niveau de risque d'IAHP est « négligeable », la surveillance événementielle renforcée ne concerne que les zones à risque particulier (ZRP) en lien avec la présence d'oiseaux d'eau et d'oiseaux migrateurs. Ces ZRP sont définies sur la base du recensement international des oiseaux d'eau réalisé par Wetlands International chaque année. Lorsque ce niveau de risque passe à un niveau « modéré » ou « élevé », la surveillance événementielle renforcée est appliquée sur l'ensemble du territoire concerné.

Le 17 novembre 2016, suite à la recrudescence de foyers d'IAHP H5N8 découverts en Europe (Allemagne, Autriche, Croatie, Danemark, Hongrie, Pays-Bas, Pologne, Suisse), en particulier dans l'avifaune sauvage en ce qui concerne l'Allemagne et la Suisse, pays voisins de la France, il a été décidé de relever le niveau de risque vis-à-vis de l'IAHP de « négligeable » à « modéré » sur l'ensemble du territoire métropolitain français. Dans les ZRP, le niveau de risque a été augmenté à « élevé » (Figure 15 de l'Annexe 1) et les mesures de biosécurité y sont renforcées pour empêcher tout contact entre oiseaux sauvages et oiseaux d'élevage (Ministère de l'Agriculture et de l'Alimentation 2016d). Le 6 décembre 2016, le niveau de risque est

passé à « élevé » sur l'ensemble du territoire métropolitain après la découverte de plusieurs foyers français dans des élevages et dans l'avifaune sauvage. En plus des mesures pour empêcher les contacts entre les oiseaux sauvages et les oiseaux d'élevage, l'interdiction des rassemblements de volailles vivantes et l'interdiction de lâchers de gibiers à plume ont été ordonnées, sauf dans les cas où une dérogation ou une autorisation a été accordée (Ministère de l'Agriculture et de l'Alimentation 2016e).

En 2015-2016, la surveillance événementielle a permis la collecte de 111 oiseaux sauvages. Cependant, aucune surmortalité n'a été observée et toutes les analyses étaient négatives pour l'influenza aviaire (Le Bouquin, Huneau-Salaün, Hamon, et al. 2016). En 2016-2017, suite à la mise en place de la surveillance événementielle renforcée vis-à-vis de l'IAHP, le nombre d'oiseaux sauvages collectés est largement plus élevé qu'en 2015-2016. Ainsi, 817 oiseaux trouvés morts ont été analysés entre le 1^{er} novembre 2016 et le 23 mai 2017 (Van De Wiele et al. 2017). Le 1^{er} foyer d'IAHP H5N8 français a été détecté via la surveillance événementielle chez des canards appelants après la déclaration d'une mortalité anormale de 33% (25/75 canards retrouvés morts) le 26 novembre 2016 (Moisson et al. 2016). Parmi les 817 oiseaux sauvages, les analyses ont montré des résultats positifs pour H5N8 pour 90 oiseaux libres et 7 oiseaux captifs (Tableau 3). Cela correspond à 55 foyers différents dont 52 dans l'avifaune libre et 3 dans l'avifaune captive (Tableau 2) (Van De Wiele et al. 2017, données EMPRES-i, données OIE).

Tableau 3 : Nombre d'oiseaux (n=97) positifs pour H5N8 dans le cadre de la surveillance événementielle du 1^{er} novembre 2016 au 23 mai 2017 selon l'espèce et le statut libre ou captif (d'après Van De Wiele et al. 2017, la DGAI et le réseau SAGIR)

Espèce		Nombre d'oiseaux	
Nom commun	Nom binomial	Libres	Captifs
Bernache du Canada	<i>Branta canadensis</i>	1	-
Buse variable	<i>Buteo buteo</i>	8	-
Butor étoilé	<i>Botaurus stellaris</i>	1	-
Canard colvert	<i>Anas platyrhynchos</i>	3	-
Canard chipeau	<i>Anas strepera</i>	-	4
Canard siffleur	<i>Mareca penelope</i>	-	-
Canard siffleur	<i>Mareca penelope</i>	2	-
Cygne tuberculé	<i>Cygnus olor</i>	48	-
Étourneau sansonnet	<i>Sturnus vulgaris</i>	1	-
Faucon crécerelle	<i>Falco tinnunculus</i>	1	-
Goéland leucophée	<i>Larus michaellis</i>	1	-
Goéland pontique	<i>Larus cachinnans</i>	1	-
Goéland argenté	<i>Larus argentatus</i>	1	-
Grand Cormoran	<i>Phalacrocorax carbo</i>	4	-
Grande Aigrette	<i>Egretta alba</i>	1	-
Grive musicienne	<i>Turdus philomelos</i>	1	-
Héron cendré	<i>Ardea cinerea</i>	1	-
Héron garde-bœufs	<i>Bubulcus ibis</i>	2	-
Oie cendrée	<i>Anser anser</i>	3	1
Oie	<i>Anser sp.</i>	-	2
Pie bavarde	<i>Pica pica</i>	3	-
Pigeon ramier	<i>Columba palumbus</i>	2	-
Tourterelle turque	<i>Streptopelia decaocto</i>	5	-

En 2015-2016, dans le cadre de la surveillance active, des analyses ont été menées sur 600 oiseaux libres de 32 espèces différentes capturés à moins de 200 mètres de foyers en élevage (Figure 2, Figure 3), sur 23 corneilles capturées dans le cadre de destruction des nuisibles, sur 10 oiseaux issus de centres de sauvegarde (Tableau 4) et sur 131 canards captifs utilisés comme appelants pour la chasse au gibier d'eau (Le Bouquin, Huneau-Salaün, Hamon, et al. 2016, saisine n° 2016-SA-0059 de l'Anses).

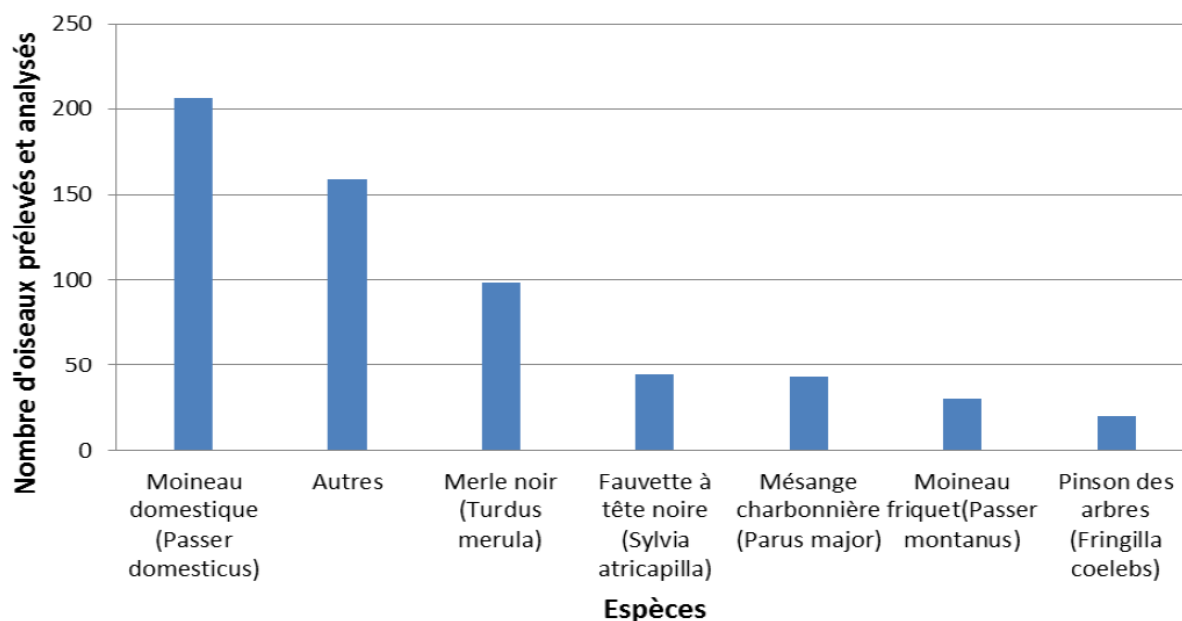


Figure 2 : Répartition des 600 oiseaux libres prélevés et analysés dans le cadre de la surveillance programmée de 2015-2016 selon l'espèce (d'après la saisine n° 2016-SA-0059 de l'Anses)

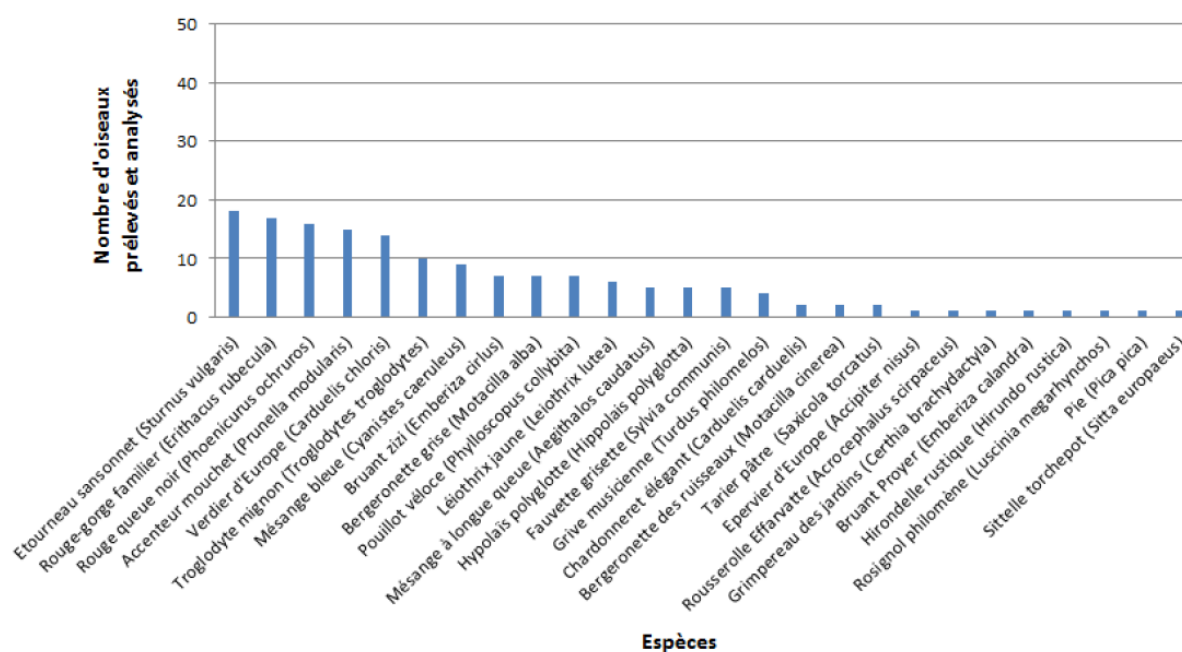


Figure 3 : Répartition des 141 oiseaux libres prélevés et analysés en fonction de l'espèce au sein de la catégorie « Autres » de la Figure 2 (d'après la saisine n° 2016-SA-0059 de l'Anses)

Tableau 4 : Nombre d'oiseaux (n=10) issus des centres de sauvegarde de la faune sauvage trouvés morts et analysés dans le cadre de la surveillance programmée de 2015-2016 selon l'espèce (d'après la saisine n° 2016-SA-0059 de l'Anses)

Espèce		Total
Nom commun	Nom binomial	
Cinque plongeur	<i>Cinclus cinclus</i>	1
Epervier d'Europe	<i>Accipiter nisus</i>	1
Faucon crécerelle	<i>Falco tinnunculus</i>	2
Milan royal	<i>Milvus milvus</i>	2
Vautour fauve	<i>Gyps fulvus</i>	4

Enfin, en 2016-2017, 397 oiseaux sauvages ont été prélevés par tir à proximité de 29 foyers d'IAHP H5N8 puis autopsiés dans le cadre de la surveillance programmée. Parmi ces 397 oiseaux, huit espèces différentes sont représentées : Corneille noire, Étourneau sansonnet, Pie bavarde, Pigeon biset, Pigeon ramier, Tourterelle turque, Vanneau huppé et Héron garde-bœufs (Tableau 5). Ces prélèvements par tirs ont eu lieu dans trois départements de décembre 2016 à février 2017 après abattage sanitaire des oiseaux d'élevage présents dans les foyers et après avoir obtenu l'autorisation de la Direction régionale de l'environnement, de l'aménagement et du logement (DREAL Occitanie) (Van De Wiele et al. 2017). La recherche du virus influenza a été faite par qRT-PCR sur des écouvillons cloacaux et oro-pharyngés. Dans le cadre de la surveillance programmée, la recherche d'influenza aviaire H5 hautement pathogène a été négative pour les 1161 oiseaux sauvages analysés issus de l'avifaune libre ou de l'avifaune captive durant la campagne de 2015-2016 et celle de 2016-2017 (Le Bouquin, Huneau-Salaün, Hamon, et al. 2016; Van De Wiele et al. 2017, communication personnelle).

Ainsi, en France, les oiseaux sauvages pour lesquels la recherche d'influenza aviaire H5 hautement pathogène a été positive ne concernent que des oiseaux sauvages trouvés morts et analysés dans le cadre de la surveillance événementielle de 2016-2017, chez lesquels la souche H5N8 a été retrouvée (Tableau 2) et dont la plupart étaient retrouvés morts à proximité immédiate de foyers déclarés en élevage. Ce chiffre s'élève à 52 et est relativement faible comparé au nombre de foyers déclarés dans les élevages aviaires français. Cette tendance n'est pas retrouvée dans les autres pays européens principalement atteints par l'émergence de 2016-2017, dans lesquels les foyers d'IAHP étaient majoritairement déclarés dans l'avifaune sauvage, à l'exception de la Bulgarie et de la Hongrie. En Allemagne par exemple, plus de 700

cas d'IAHP ont été déclarés dans l'avifaune sauvage contre un peu plus d'une centaine dans les élevages de volailles (Cauchard et al. 2017). Cette différence pourrait être expliquée par le fait que la proportion d'oiseaux d'eau sauvages est relativement faible par rapport à la densité d'oiseaux domestiques élevés en France et surtout dans le Sud-Ouest.

Tableau 5 : Nombre d'oiseaux (n=397) collectés par tir dans le cadre de la surveillance programmée de décembre 2016 à février 2017 selon l'espèce et le département (Van De Wiele et al. 2017, communication personnelle)

Espèce		Département			Total
Nom commun	Nom binomial	Gers (32)	Hautes-Pyrénées (65)	Tarn (81)	
Corneille noire	<i>Corvus corone</i>	12	5	-	17
Étourneau sansonnet	<i>Sturnus vulgaris</i>	30	59	-	89
Pie bavarde	<i>Pica pica</i>	9	3	-	12
Pigeon biset	<i>Columba livia</i>	30	8	25	63
Pigeon ramier	<i>Columba palumbus</i>	32	1	-	33
Tourterelle turque	<i>Streptopelia decaocto</i>	30	61	32	123
Vanneau huppé	<i>Vanellus vanellus</i>	31	-	-	31
Héron garde-bœufs	<i>Bubulcus ibis</i>	-	29	-	29

Les témoignages de plusieurs éleveurs concernant la présence récurrente d'oiseaux sauvages sur les parcours extérieurs de canards prêts à gaver nous a poussés à nous interroger sur le rôle épidémiologique que pourraient jouer ces oiseaux en regard du virus de l'influenza aviaire, avec un focus précis sur le Héron garde-bœufs (*Bubulcus ibis*). Le Héron garde-bœufs est une espèce particulière dans le sens où c'est une espèce migratrice qui a colonisé l'Europe, l'Amérique du Nord, l'Amérique du Sud, l'Océanie et le Moyen-Orient à partir de l'Afrique et l'Asie, mais dont la population en France reste plutôt sédentaire dans les colonies (Marion 2009), ce qui rend son étude d'autant plus intéressante d'un point de vue épidémiologique. L'étude présentée dans cette thèse vétérinaire a été réalisée dans le cadre de la surveillance programmée de l'IAHP durant les années 2015-2016 et 2016-2017. Notre matériel d'étude est constitué de fientes collectées au sol dans trois héronnières et de prélèvements sanguins réalisés chez des jeunes hérons garde-bœufs. Notre étude est complémentaire aux analyses qui ont été réalisées lors des campagnes de capture d'oiseaux libres et de dépistage d'oiseaux captifs, dont les résultats ont été

présentés ci-dessus. Dans un second temps, nous nous sommes intéressés à d'autres agents de maladies infectieuses susceptibles d'être portés par le Héron garde-bœufs, notamment le virus de la maladie de Newcastle et les bactéries *Mycoplasma gallisepticum* et *Chlamydia* spp.. Le protocole et les résultats de l'étude sont présentés dans la troisième partie de cette thèse, à partir de la page 58.

B, Rôles de l'avifaune sauvage dans le portage et la transmission d'agents infectieux à potentiel zoonotique

1, Généralités

L'avifaune sauvage et en particulier les oiseaux migrateurs ont longtemps été suspectés d'être des réservoirs d'agents de maladies infectieuses pouvant être transmis aux oiseaux domestiques présents dans les élevages, voire aux mammifères ou à l'homme. Des transmissions en sens inverse, c'est-à-dire des volailles domestiques aux oiseaux sauvages sont également envisagées. En fonction des espèces concernées, la réceptivité et la sensibilité aux agents infectieux diffèrent, les oiseaux pouvant ainsi être cliniquement malades, porteurs sains ou porteurs d'un vecteur infecté (arthropode). Ces liens restent difficiles à prouver avec certitude car plusieurs domaines d'étude sont à prendre en compte : écologie, infectiologie (bactériologie, virologie, mycologie, parasitologie), épidémiologie, génétique, biologie moléculaire, biologie médicale, productions animales, médecine humaine dans les cas de zoonoses.

La migration est une stratégie adaptative adoptée par certains oiseaux pour pallier le manque de nourriture pendant la saison froide. Pendant ce parcours migratoire, des populations importantes d'oiseaux sont amenées à se côtoyer, notamment au niveau des aires de transition où les oiseaux se reposent et s'alimentent, ce qui crée des conditions propices pour la transmission puis la diffusion d'agents pathogènes (Olsen et al. 2006).

Ainsi, pour qu'un oiseau migrateur soit vecteur d'un agent infectieux, il faut que les cinq conditions suivantes soient remplies (Gaidet et al. 2010) :

- l'oiseau doit être en contact avec l'agent infectieux, en être une espèce réceptive ou sensible et être capable de l'excréter ;
- l'infection doit être asymptomatique dans un premier temps, au moins temporairement pour ne pas affecter les mouvements migratoires de l'oiseau ;
- l'oiseau doit être capable de parcourir de nombreux kilomètres durant cette période d'incubation ;
- la période d'incubation doit correspondre à la période de la migration ;
- l'oiseau en question doit transmettre l'agent infectieux à de nouveaux hôtes réceptifs ou sensibles, par une contamination directe ou indirecte.

La contamination des élevages aviaires par des agents pathogènes portés par les espèces migratrices fait également intervenir les populations locales et commensales d'oiseaux sauvages en tant qu'espèces passerelles car elles sont au contact de l'avifaune migratrice et domestique (Caron et al. 2014; Hill et al. 2012).

Les oiseaux migrateurs jouent un rôle dans le portage et la transmission d'agents pathogènes à l'origine de maladies infectieuses émergentes zoonotiques tels que le virus West Nile (*Flaviviridae*), l'agent de la maladie de Lyme (*Borrelia burgdorferi sensu lato*), des virus influenza A (*Orthomyxoviridae*), des bactéries entéropathogènes (*Salmonella* spp. et *Campylobacter* spp.) ou des bactéries multi-résistantes aux antibiotiques (Reed et al. 2003).

Bien que le rôle de l'avifaune sauvage ne soit pas toujours prouvé dans la transmission et la dispersion d'agents infectieux, il est important de rappeler que l'application de règles de biosécurité afin de limiter tout contact entre volailles et avifaune sauvage devrait être respectée pour minimiser les risques (Olsen et al. 2006; The Global Consortium for H5N8 and Related Influenza Viruses 2016; Webster et al. 2006). En ce qui concerne l'homme, des règles primaires d'hygiène sont à respecter pour éviter tout risque de transmission d'agents infectieux par l'avifaune sauvage, en particulier pour les personnes immunodéprimées. Les marchés d'animaux vivants où de nombreuses espèces d'oiseaux sont mélangées, d'origine domestique ou sauvage, sont propices à la circulation d'agents pathogènes et

contribuent particulièrement à la circulation endémique d'influenza aviaire en Asie (Webster 2004).

2, Rôles de l'avifaune sauvage en tant que porteur d'agent de maladies infectieuses : exemple des virus influenza A

En 1997, les premiers cas humains d'influenza dus à un virus hautement pathogène d'origine aviaire ont été décrits à Hong Kong, en Chine (de Jong et al. 1997). Dans les trois dernières décennies, les virus influenza hautement pathogènes ont circulé de façon enzootique, épizootique voire panzootique. Ces émergences ont soulevé de nombreuses interrogations quant à leur origine et leurs modes de transmission.

Les oiseaux aquatiques appartenant aux ordres des Ansériformes (canards, oies et cygnes principalement) et des Charadriiformes (goélands, mouettes, limicoles et sternes principalement) forment le réservoir naturel primaire des virus influenza A faiblement pathogènes (Olsen et al. 2006; Webster et al. 1992). L'infection est généralement asymptomatique chez ces oiseaux aquatiques, qui ne présentent ni signes cliniques ni lésions (Webster et al. 1978). Ces virus faiblement pathogènes se répliquent dans les poumons et les intestins, ils sont ensuite excrétés dans les selles en concentration élevée (Webster et al. 1978). Les virus conservent leur pouvoir infectant dans les selles pendant au moins 30 jours à 4°C et au moins 7 jours à 22°C et dans l'eau douce pendant au moins 30 jours à 0°C et au moins 4 jours à 22°C (Webster et al. 1978). La transmission virale se fait majoritairement par voie oro-fécale (Webster et al. 1992), directement ou indirectement selon la capacité à rester infectant dans le milieu extérieur pendant quelques jours. Plusieurs sous-types de virus peuvent co-infecter le même individu et des réassortiments de gènes entre les virus peuvent alors avoir lieu, ce qui conduit parfois à l'émergence de virus hautement pathogènes (Webster et al. 1992), qui contrairement aux virus faiblement pathogènes, peuvent se répliquer dans de nombreux types cellulaires et causer une infection systémique (Steinhauer 1999). L'oiseau ainsi infecté devient fortement contagieux et peut développer des signes cliniques voire mourir. Chez des canards colverts (*Anas platyrhynchos*) infectés expérimentalement par une souche IAHP H5N1, les résultats ont montré que les charges virales étaient plus élevées dans la trachée que dans le cloaque, ce qui signifie que la transmission peut devenir oro-

orale ou aéroportée lorsqu'un oiseau est infecté par une souche hautement pathogène (Sturm-Ramirez et al. 2005).

Les canards domestiques élevés dans les fermes peuvent ne pas exprimer de signes cliniques lors d'une infection par un virus hautement pathogène et jouer ainsi un rôle dans la persistance et la circulation enzootique de virus IAHP. Ceci a été décrit en Asie notamment (Chen et al. 2004). En 2005-2006, un virus IAHP H5N1 s'est rapidement propagé à partir de l'Asie du Sud-Est vers l'Afrique et l'Europe, devenant ainsi panzootique. En Europe, la mortalité anormale rapportée chez des anatidés par les programmes de surveillance épidémiologique a soulevé la question de la contribution de ces oiseaux dans la diffusion de virus IAHP H5N1 à longue distance (Hesterberg et al. 2009). Chez le Canard colvert, espèce la plus représentée dans cet effectif, ce sont surtout des virus IAHP qui ont été isolés, et peu de virus H5N1 hautement pathogènes ; les espèces chez lesquelles des virus H5N1 hautement pathogènes ont été le plus souvent retrouvés sont des cygnes (*Cygnus cygnus* et *Cygnus olor*), des canards plongeurs (*Aythya ferina* et *Aythya marila*), des canards piscivores (*Mergus albellus* et *Mergus merganser*) ainsi que des grèbes (*Podiceps cristatus*). Toutefois, aucun porteur sain ni réservoir n'a pu être identifié parmi ces espèces car la majorité des oiseaux infectés par les virus H5N1 ont développé des signes cliniques ou sont morts (Hesterberg et al. 2009). D'autres programmes de surveillance épidémiologique ont cependant mis en évidence des infections asymptomatiques par un virus H5 hautement pathogène du clade 2.3.4.4 chez des anatidés sauvages (Bevins et al. 2016). De plus, des infections expérimentales de canards, d'oies et de cygnes sauvages avec une souche H5N1 hautement pathogène issue de l'avifaune sauvage n'ont pas permis de provoquer des signes cliniques chez tous les individus, ce qui soutient l'hypothèse que les anatidés sauvages sont capables de diffuser des souches d'IAHP sur de longues distances lorsqu'ils migrent (Gaidet et al. 2010). Chez ces mêmes oiseaux, il a été estimé qu'un individu infecté par un virus H5N1 hautement pathogène peut propager le virus à plus de 500 km lors de migration mais ce uniquement pendant une période de 5 à 15 jours par an. Cet événement à l'échelle individuelle est donc à envisager même si sa probabilité est faible (Gaidet et al. 2010). Les zones de transition migratoire regroupent de nombreux oiseaux qui peuvent être tout autant d'hôtes possibles pour la transmission, l'amplification, le réassortiment puis la dispersion de

virus (Venkatesh et al. 2018). Ces phénomènes de transmission virale à longue distance sont accentués par l'asynchronisme migratoire qui existe entre les différentes espèces et parmi les individus (Gaidet et al. 2010). Des analyses phylogénétiques réalisées chez le Canard pilet (*Anas acuta*), espèce migratrice entre l'Asie et l'Amérique du Nord, ont montré que les sous-types IAFP portés par ce dernier étaient issus de réassortiments entre virus de lignées asiatique et américaine, ce qui laisse suggérer que la transmission de virus à longue distance et entre continents est possible via les oiseaux migrateurs (Koehler et al. 2008). Contrairement aux Anatidés, les oiseaux domestiques appartenant à l'ordre des Galliformes (poules, dindes) sont plus sensibles aux virus influenza A : les souches faiblement pathogènes peuvent être asymptomatiques ou causer des signes respiratoires modérés et parfois la mort (Ladman et al. 2010; Mo et al. 1997) tandis que les souches hautement pathogènes sont à l'origine de signes cliniques systémiques sévères et aboutissent à une mortalité aigüe dans la majorité des cas (Mo et al. 1997; Swayne 2007), ce qui a des conséquences économiques lourdes.

Dans les populations locales d'oiseaux sauvages, le nombre croissant de juvéniles encore immatures immunologiquement en été et l'arrivée d'oiseaux migrateurs en automne ont été identifiés comme des facteurs clés dans la circulation de virus IAFP en Europe (van Dijk et al. 2014). D'autre part, une étude a montré que l'arrivée de canards migrateurs coïncidait avec le pic saisonnier de circulation de virus influenza A chez les populations domestiques et sauvages de canards du lac de Poyang (Chine) entre 2002 et 2007 et chez lesquelles on retrouve les mêmes sous-types de virus IAFP (Duan et al. 2011). Par leur nature commensale, les populations locales d'oiseaux sauvages sont amenées à être régulièrement au contact d'espèces domestiques de canards dans leur quête de nourriture, surtout lorsque ces derniers sont élevés en plein air (Cappelle et al. 2014), ce qui fait d'elles des espèces passerelles dans la transmission des virus influenza A (Caron et al. 2014; Hill et al. 2012). Au Zimbabwe, le Travailleur à bec rouge (*Quelea quelea*) et l'Hirondelle rustique (*Hirundo rustica*) ont été identifiés comme espèces passerelles dans la transmission de virus influenza A aux volailles, du fait de leur abondance et de la présence de virus chez ces espèces (Caron et al. 2014).

Les virus influenza A ont été retrouvés chez de nombreuses espèces d'oiseaux d'ordres différents à travers le monde (Bevins et al. 2016; Cauchard et al. 2017; Hesterberg et al. 2009; Olsen et al. 2006; Van De Wiele et al. 2017) et plus récemment chez le Héron garde-bœufs (Ahmed et al. 2017; Cauchard et al. 2017; Ferenczi et al. 2016; Van De Wiele et al. 2017). Bien que la relation de cause à effet soit difficile à prouver, des liens spatio-temporels peuvent être mis en évidence entre la déclaration d'infection ou de mortalité massive dans l'avifaune sauvage et la déclaration de foyers en élevages aviaires, cela a par exemple été le cas lors de l'émergence d'IAHP en Europe en 2016 (Cauchard et al. 2017) ou lors de la dissémination panzootique du virus H5 clade 2.3.4.4 entre 2013 et 2015 (The Global Consortium for H5N8 and Related Influenza Viruses 2016).

3. Rôles de l'avifaune sauvage en tant que porteur d'agent de maladies infectieuses : autres exemples de maladies potentiellement zoonotiques

Le portage par les oiseaux sauvages de nombreux autres agents pathogènes a également été étudié. Nous exposons ici des exemples portant sur des bactéries entéropathogènes, le virus West Nile et l'agent de la maladie de Lyme, ces trois entités pouvant être zoonotiques. Tout comme pour l'influenza aviaire, se pose la problématique liée à la mise en cause de l'avifaune sauvage.

La maladie de Lyme est une zoonose vectorielle principalement transmise par des tiques du genre *Ixodes*. Les agents infectieux en cause sont des bactéries spirochètes faisant partie du complexe *Borrelia burgdorferi sensu lato* et dont les trois principales bactéries sont *B. burgdorferi sensu stricto*, *B. garinii* et *B. afzelii*. Les oiseaux qui se nourrissent à même le sol, comme la Paruline masquée (*Geothlypis trichas*), sont plus susceptibles de se faire parasiter par des tiques. Cette espèce est capable de transporter des tiques infectées par *B. burgdorferi sensu lato* sur plusieurs centaines de kilomètres lorsqu'elle migre entre l'Amérique du Nord et l'Amérique centrale (Scott et al. 2001)

Dans une étude réalisée aux États-Unis chez des oiseaux sauvages commensaux d'élevages de poulets de chair, les résultats ont montré que sur les 124 échantillons, 10% étaient positifs pour *Salmonella* spp., 10% positifs pour *Campylobacter jejuni* et

23% positifs *Clostridium perfringens*. Le Moineau domestique (*Passer domesticus*) et l'Étourneau sansonnet (*Sturnus vulgaris*) étaient les espèces les plus fréquemment observées autour des élevages, les étourneaux étaient même retrouvés au sein des élevages, parfois en train d'y nidifier. Cette étude met en évidence le portage de bactéries entéropathogènes par des oiseaux commensaux, bien que la transmission aux espèces domestiques et à l'homme n'ait pu être prouvée pour l'instant (Craven et al. 2000).

La fièvre du Nil occidental est une zoonose due au virus West Nile (*Flaviviridae*). C'est une maladie vectorielle principalement transmise par des moustiques du genre *Culex* et dont les hôtes naturels sont les oiseaux. Cependant le virus peut être transmis à un mammifère, comme le cheval ou l'homme, qui devient alors hôte accidentel. Aux États-Unis, cette maladie a été déclarée pour la première fois à New-York en août 1999 et a causé 62 cas humains. Au même moment se déclaraient les premiers cas de West Nile dans l'avifaune locale de New-York, et l'augmentation de la déclaration de cas humains coïncidait avec la surmortalité d'oiseaux à New-York, en particulier dans le zoo du Bronx. Tous les cas humains se sont déclarés à proximité de zones humides où la concentration en moustiques et en oiseaux migrateurs était élevée. La souche du virus identifiée était quasiment identique aux souches du Moyen-Orient. Toutes les conditions étaient réunies pour que le virus West Nile réussisse à causer sa première épidémie-épizootie dans le Nouveau Monde : la présence d'un hôte primaire infecté par le virus, la présence de nombreux moustiques ornithophiles et la présence d'hôtes secondaires aviaires et humains dans un espace géographique limité. Concernant l'origine de l'hôte primaire, les principales hypothèses sont l'importation d'un individu infecté (oiseau ou mammifère) ou l'introduction du virus par des oiseaux migrateurs infectés (Rappole, Derrickson, Hubálek 2000).

**Deuxième partie : éléments de biologie du Héron
garde-bœufs**

Le Héron garde-bœufs (*Bubulcus ibis*) est un échassier qui fait partie de la famille des Ardeidés. Il est reconnaissable à son corps trapu, ses ailes courtes, larges et arrondies, son bec court, sa queue courte ainsi que son cou épais (Duquet, Maurin 1992). Il a une taille de 48 à 53 centimètres, une envergure de 90 à 96 centimètres et pèse entre 300 et 400 grammes (Duquet, Maurin 1992). En plumage hivernal, son plumage est blanc, son bec jaunâtre et ses pattes verdâtres sombres (Figure 4A) (Abdullah et al. 2017; Duquet, Maurin 1992; Siegfried 1971a). En plumage nuptial, il arbore des touffes de plumes orangées sur la calotte, le dos et la poitrine, son bec devient orange à rougeâtre, l'iris des yeux et ses pattes deviennent rouges (Figure 4B) (Abdullah et al. 2017; Duquet, Maurin 1992; Krebs, Hunte, Green 2004; Siegfried 1971a). Femelle et mâle sont semblables physiquement mais les mâles possèdent des plumes nuptiales plus longues et plus foncées (Krebs, Hunte, Green 2004). Les jeunes ont un plumage blanc, leurs pattes et leur bec sont noirs mais s'éclaircissent rapidement à partir d'un mois d'âge (Figure 4C) (Siegfried 1971a). La maturité sexuelle est atteinte vers l'âge de deux ans et la longévité maximale se situe aux alentours de treize ans (Duquet, Maurin 1992).

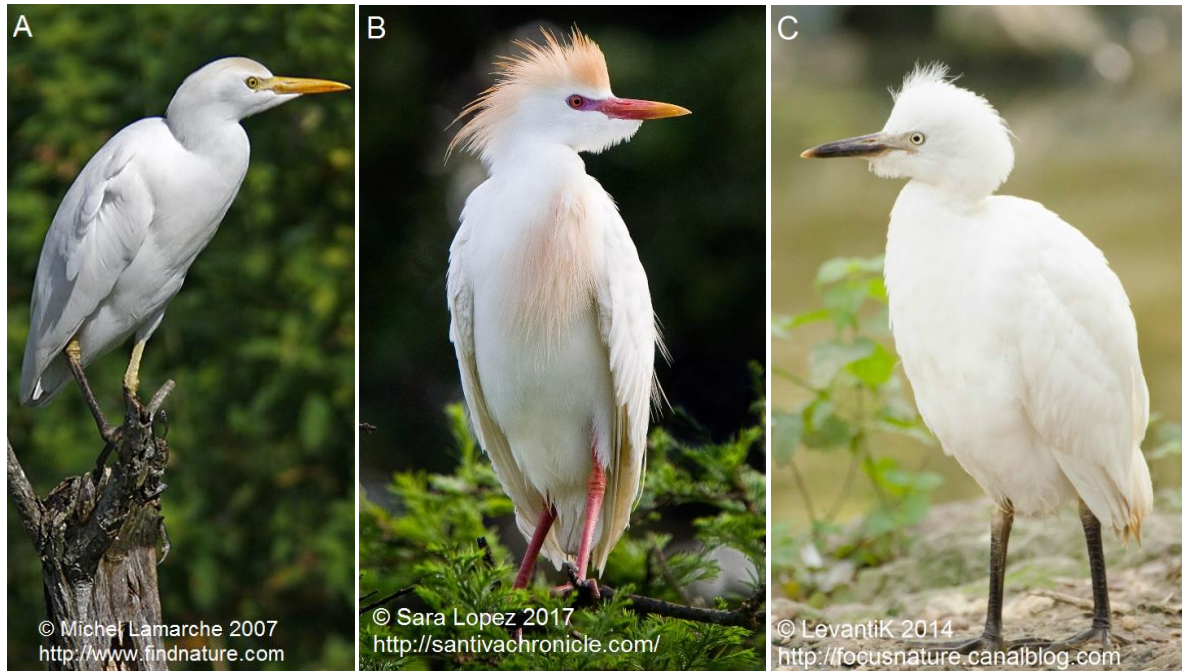


Figure 4 : Les différents plumages du Héron garde-bœufs. (A) Adulte en plumage hivernal (© Michel Lamarche), (B) Adulte en plumage nuptial (© Sara Lopez) et (C) Plumage juvénile (© LevantiK)

Le Héron garde-bœuf est une espèce protégée (article 3 de l'arrêté du 29 octobre 2009), inscrite à l'Annexe A de l'Union Européenne (Règlement (UE) 2017/160 de la Commission du 20 janvier 2017). Son statut de conservation auprès de l'Union Internationale pour la Conservation de la Nature est de préoccupation mineure.

A, Migration, colonisation et sédentarisation au sein de la France

En France, le Héron garde-bœufs fait l'objet d'un recensement national comme les autres hérons vivant en colonies (Héron cendré, Héron pourpré, Héron bihoreau, Héron crabier, Aigrette garzette, Grande Aigrette). Il y a été recensé pour la première fois en 1974 et le recensement le plus récent date de 2007 (Marion 2009).

D'origine indo-africaine, le Héron garde-bœufs a peu à peu colonisé l'Europe à partir du XX^{ème} siècle en commençant par la péninsule ibérique (Duquet, Maurin 1992; Marion, Marion 1982). A partir de l'Espagne, le Héron garde-bœufs a rejoint la France – plus particulièrement la Camargue (Bouches-du-Rhône, Gard) – et s'y est installé pour la première fois dans les années 1950 (Hafner 1970a; Marion 2009; Penot 1959; 1960; 1963). Une nidification a ainsi été observée avec succès en 1957 et en 1958 mais les poussins auraient été dénichés par des braconniers (Penot 1959; 1960). En 1961, une nouvelle tentative de nidification a eu lieu en Camargue, néanmoins le nid a été emporté par le vent (Penot 1963). Entre 1961 et 1963, aucune observation n'a été rapportée. Entre 1964 et 1968 des observateurs ont aperçu des hérons garde-bœufs adultes dans les Bouches-du-Rhône, près de la station biologique de la Tour du Valat (1964 et 1966) et de l'étang des Launes (1964), ainsi qu'une possible nidification dans une colonie en petite Camargue en 1965, 1966 et 1967, mais ces observations n'ont pas été publiées dans les rapports ornithologiques officiels (Hafner 1970a; 1970b). En 1968, dans cette même colonie située en petite Camargue, deux nids ont été retrouvés et contenaient des œufs entre le 16 mai et le 26 août, parallèlement à la présence de deux adultes observés jusqu'au 14 août 1968. Cependant ces œufs semblaient infertiles et aucun poussin n'a été retrouvé (Hafner 1970a; 1970b). C'est en 1969 que cette espèce parvient à s'installer naturellement en France, dans la grande Camargue. Deux couples de hérons garde-bœufs se sont ainsi reproduits et neuf jeunes émancipés se sont

envolés par la suite (Hafner 1970a; 1970b). La colonisation de la Camargue s'est poursuivie avec succès, en témoigne l'observation de 22 couples en 1970 et 26 en 1971 (Hafner 1973). Au moins 268 jeunes âgés de plus de 25 jours ont été observés durant les années 1970 à 1972, au moins 152 jeunes en 1975 et au moins 192 jeunes en 1976 (Hafner 1978), la colonie comptant jusqu'à 308 couples en 1977 (Hafner, Johnson, Walmsley 1979). La population camarguaise a continué de croître, avec 319 couples en 1978, 314 en 1979 et 464 en 1980, avant de subir les conditions météorologiques difficiles de l'hiver de l'année 1980-1981, froid et sec, qui ont réduit la population à 283 couples en 1981 (Hafner, Johnson, Walmsley 1980; 1982). Ces pertes ont eu toutefois peu de conséquences vu la reprise de la reproduction les années suivantes, avec 468 couples en 1982 et 407 en 1983 (Hafner, Johnson, Walmsley 1985).

Entre temps, une population de hérons garde-bœufs s'est installée en Alsace, à Kintzheim (Bas-Rhin) en 1970, à partir d'un relâcher d'une population captive provenant du parc NaturOparC (anciennement Centre de Réintroduction des Cigognes et des Loutres) situé à Hunawihr (Haut-Rhin). Ces individus introduits artificiellement remettent en question la présence naturelle ou non des hérons garde-bœufs observés entre 1974 et 1977 dans les départements du Haut-Rhin, du Bas-Rhin et de la Haute-Saône, ainsi que dans le Pays de Bade (Allemagne) et à Berne (Suisse), étant donné la proximité géographique du lieu du relâcher. Cela remet également en doute l'origine des individus observés dans les régions Centre-Val de Loire et des Hauts-de-France entre 1975 et 1978 (Marion, Marion 1982). Dans la Dombes (Ain), une introduction accidentelle après la fuite d'un héron garde-bœufs du Parc des Oiseaux de Villars-lès-Dombes en avril 1971 remet en cause les différentes observations faites dans cette région entre 1971 et 1973. Cependant, on y rapporte la présence soudaine d'au moins 12 individus en 1981 – *a priori* sans lien avec l'introduction accidentelle – et une nidification y est suspectée en 1984 (Bernard 1985; Marion, Marion 1982). L'hypothèse retenue pour expliquer ces observations est le déplacement de populations le long des couloirs fluviaux du Rhône et du Rhin, bien que l'origine camarguaise ou alsacienne reste incertaine (Marion, Marion 1982).

L'hiver de l'année 1984-1985 a été néfaste pour les populations de hérons garde-bœufs, réduisant drastiquement celles de Camargue, passant de 352 couples en

1984 à 74 couples en 1985 après la vague de froid (Hafner, Pineau, Wallace 1992; Réserve Nationale de Camargue 1987). L'effectif de la colonie a été stable pendant les deux années suivantes avant d'augmenter considérablement pour atteindre 211 couples en 1988 puis 581 en 1991 (Boutin, Chérain 1989; Boutin, Chérain, Vandewalle 1991; Thibault et al. 1997). En 1992, la vague de sécheresse en Espagne a provoqué une migration importante de hérons garde-bœufs vers la France, dont la population camarguaise a atteint 1078 couples cette année (Marion, Brugière, Grisser 1993; Marion 2009; Thibault et al. 1997). Cette vague de sécheresse a également profité à l'implantation d'oiseaux dans la région Auvergne-Rhône-Alpes, où seul le passage de hérons garde-bœufs avait été observé jusque-là (Brugière, Roche 1993). On dénombrait ainsi 138 couples dans cette région en 1994 et jusqu'à 409 couples en 2007 alors que seul un unique couple était décrit en 1989 (Marion, Brugière, Grisser 1993; Marion 2009). Les nombreuses observations faites en 1992 dans le Centre-Val de Loire, le Grand-Est et les Hauts-de-France seraient cette fois-ci à relier à la migration espagnole et non pas à la colonie artificiellement implantée en Alsace en 1970 (Marion, Brugière, Grisser 1993). Par la suite, la colonie originellement implantée en Camargue, s'est étendue petit à petit vers Montpellier (Hérault) et comptait jusqu'à 5700 couples en 2000 puis 8001 couples en 2008 (Kayser et al. 2003; 2014). Les hivers rudes de 2001 à 2005 et de 2010 à 2012 feront significativement chuter la population de hérons garde-bœufs ; le compte-rendu ornithologique camarguais le plus récent rapporte ainsi 2612 couples en 2012, soit une perte de près de 70% par rapport à l'effectif de 2008 (Kayser et al. 2008; 2014).

Concernant l'Ouest de la France, les premières observations remontent à 1969 près de l'étang de Capestang (Hérault) et à 1976 à Moissac (Tarn-et-Garonne) (Affre, Affre 1978; Marion, Marion 1982). La Loire-Atlantique a été le premier département de la façade Atlantique dans lequel des couples de hérons garde-bœufs nicheurs ont été aperçus, au lac de Grand-Lieu en 1981, ces oiseaux provenant probablement de la péninsule ibérique ou de la Camargue (Marion, Marion 1982). Jusqu'en 1984, la nidification s'est étendue dans les départements de Charente-Maritime et des Pyrénées-Atlantiques, en plus d'oiseaux non nicheurs observés en Aquitaine (Bredin 1985; Carlon 1985; Roques, Mays 1989). Malencontreusement, toutes les colonies présentes sur le littoral Atlantique ont été décimées lors de l'hiver 1984-1985 (Marion

2009). Pendant les quatre années suivantes, de rares observations ont attesté de la présence de quelques hérons garde-bœufs en Charente-Maritime et en Loire-Atlantique et en Vendée (G.O.L.A 1987; Gonin 1988) et ce n'est qu'à partir de 1989 que les observations se sont multipliées à nouveau. Des observations d'individus en Charente-Maritime, en Vendée et dans les Landes et une nidification en Gironde ont ainsi été rapportés (Gonin 1991; 1992; Marion, Brugière, Grisser 1993). En 1992, année de la migration en provenance d'Espagne, la colonisation et l'installation ont été couronnées de succès dans les départements de la façade Atlantique (Charente-Maritime, Gironde, Landes, Loire-Atlantique, Pyrénées-Atlantiques et Vendée). On dénombrait ainsi 46 couples en 1994 (Marion, Brugière, Grisser 1993; Marion 2009). Une population de hérons garde-bœufs s'est également installée en Bretagne par la suite (Marion 2009). L'année 1992 marque également la première nidification réussie dans le Tarn et en Haute-Garonne, avec respectivement 5 couples près de Castres et 1 couple près de Toulouse (Brugière, Roche 1993). Ces populations se sont pérennisées avec le temps. Le dernier recensement national datant de 2007 (Figure 5) indique 1966 couples répartis sur 22 colonies pour la Nouvelle-Aquitaine et les Pays-de-la-Loire, 1681 couples pour la Bretagne et 4938 couples pour la région Occitanie, dont 2118 en Midi-Pyrénées et 2820 en Languedoc-Roussillon (Marion 2009).

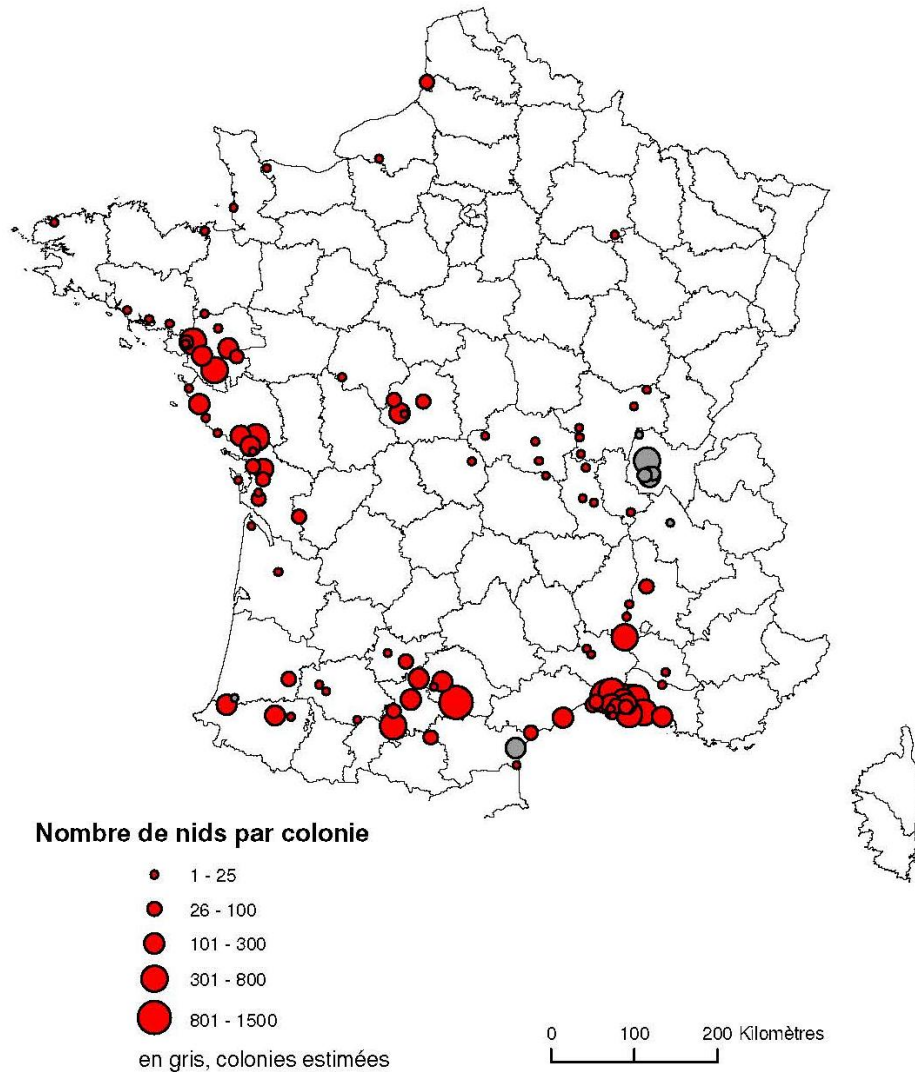


Figure 5 : Carte de répartition des colonies de Héron garde-bœufs lors du recensement de 2007 (d'après Marion 2009)

Les différentes observations réalisées jusqu'à ce jour permettent de supposer que le Héron garde-bœufs est une espèce plutôt sédentaire et très peu voire pas migratrice en France (Marion 2009). En Camargue, on estime que 60 à 70% des hérons garde-bœufs hivernent sur place, près des héronnières (Yeatman-Berthelot 1991). La sévérité de l'hiver joue un rôle déterminant sur cette sédentarisation (Hafner, Pineau, Wallace 1992).

B, Habitat et reproduction

Les hérons garde-bœufs sont des animaux grégaires, diurnes et arboricoles (Duquet, Maurin 1992; Hafner, Johnson, Walmsley 1979; Siegfried 1971b).

Ils vivent dans des colonies qui peuvent accueillir jusqu'à 1500 individus en France (Marion 2009) et plus de 5000 individus en Afrique du Sud (Siegfried 1971b). Ces colonies peuvent être mixtes : en France ils cohabitent avec des hérons cendrés, des hérons pourprés, des hérons crabiers, des bihoreaux gris, des aigrettes garzettes ou des grandes aigrettes (Affre, Affre 1978; Bredin 1985; Brugière, Roche 1993; Carlon 1985; Hafner 1978; Marion, Marion 1982; Marion 2009). Les colonies peuvent également être monospécifiques (Abdullah et al. 2017; Arendt, Arendt 1988; Patankar et al. 2007). Les dortoirs sont établis dans des lieux boisés à proximité des lieux d'alimentation. Ils sont souvent à proximité d'un point d'eau (lac, étang, rivière, fleuve) (Abdullah et al. 2017). Ces lieux sont stratégiquement choisis pour leur richesse en ressources alimentaires et en matériaux pour la construction des nids et leur protection contre les prédateurs (arbres hauts, point d'eau, inaccessibilité pedestre, activités humaines proches) et les intempéries (Abdullah et al. 2017; Bredin 1984; Hafner 1977; Si Bachir et al. 2000; Siegfried 1971c).

La saison de reproduction commence au printemps et les hérons garde-bœufs arborent alors leur plumage nuptial. La précocité et la durée de la période de nidification semblent dépendre du climat (Si Bachir et al. 2000). En Camargue, la nidification a lieu de mi-avril à mi-août avec un pic d'installation début mai et un niveau de ponte régulier (Hafner 1980). D'une année à l'autre, les hérons garde-bœufs ne gardent pas forcément le même partenaire et peuvent même changer de partenaire en cours de saison (Hafner 1970b). De plus, les hérons garde-bœufs sont capables de produire deux nichées successives durant une même saison (Hafner 1970b). L'élaboration des nids débute avant la parade nuptiale et se poursuit également après l'accouplement (Figure 6) (Abdullah et al. 2017). Pendant la parade nuptiale, le mâle bat des ailes autour de la femelle pour attirer son attention puis lui fait la cour en secouant des brindilles, en claquant des ailes, en se lissant les ailes et en lui donnant des légers coups de tête (Abdullah et al. 2017).



Figure 6 : Un héron garde-bœufs adulte en plumage nuptial en train de construire son nid (© Missouri Department of Conservation)

Pour des raisons de sécurité, les hérons garde-bœufs construisent préférentiellement leurs nids le plus haut possible sur les arbres les plus grands et le plus près possible du tronc pour se protéger des prédateurs et des intempéries (Si Bachir et al. 2000). Cela reste à nuancer car nos observations personnelles montrent que les nids peuvent être construits à moins d'un mètre de hauteur. Les nids, de type plateforme (Figure 7), sont faits de brindilles et de branches récupérées au sol, sur les arbustes ou les arbres et parfois de roseaux (Abdullah et al. 2017; Jenni 1969; Patankar et al. 2007; Siegfried 1971c). Le diamètre des nids varie de $17,9 \pm 2,96$ cm ($n=290$ nids) (Arendt, Arendt 1988), à $30,07 \pm 2,86$ cm ($n=94$) (Abdullah et al. 2017). En fonction des arbres présents, les hérons garde-bœufs peuvent nicher jusqu'à 16 mètres de hauteur (Hafner 1980; Si Bachir et al. 2000). La territorialité intra et inter spécifique est forte, il existe un niveau de tolérance entre les différents nids voisins (Hafner 1980; Jenni 1969). Sur le plan horizontal, tous les nids sont ainsi séparés d'au moins 75 centimètres et sur le plan vertical, d'au moins 25 centimètres (Hafner 1980).

La taille des couvées, d'un à six œufs, est en moyenne de $2,2 \pm 0,71$ œufs ($n=153$ couvées) dans les Antilles Britanniques (Arendt, Arendt 1988), à $4,6 \pm 0,65$ ($n = 66$ couvées) en Camargue (Hafner 1977; 1980) ; on retrouve le plus souvent trois œufs dans les nids. Les variations géographiques de taille de couvées seraient principalement dues à la différence de photopériode et de disponibilité alimentaire (Arendt, Arendt 1988; Jenni 1969). Les œufs, pondus à intervalles de 20 à 48 heures (Abdullah et al. 2017; Hafner 1980; Jenni 1969; Patankar et al. 2007), sont de forme ovale et de couleur bleutée (Abdullah et al. 2017, observations personnelles) (Figure 7). Leurs caractéristiques physiques ne semblent pas dépendre de la localisation géographique. D'après les études, les œufs pèsent en général entre 21 et 24 grammes ; mesurent entre 43 et 45 millimètres de longueur et entre 32 et 35 millimètres de largeur (Abdullah et al. 2017; Arendt, Arendt 1988; Patankar et al. 2007). Dans la majorité des cas, la couvaison débute dans les premières 24 heures après la ponte du premier œuf, ce qui crée un asynchronisme des éclosions (Abdullah et al. 2017; Jenni 1969). Les œufs sont couvés par la femelle la majeure partie du temps (Abdullah et al. 2017) et l'incubation dure 21 à 25 jours (Abdullah et al. 2017; Hafner 1980; Jenni 1969; Patankar et al. 2007). Les poussins sont ensuite élevés par les deux parents et nourris principalement avec des insectes (Patankar et al. 2007). Dans un premier temps, les poussins mangent la nourriture qui est régurgitée dans le bec des parents puis vont progressivement apprendre à attraper la nourriture régurgitée au sein du nid (Abdullah et al. 2017).



Figure 7 : Nid et œufs d'un héron garde-bœufs (photo personnelle)

Les jeunes peuvent quitter le nid dès 15 jours d'âge (Hafner 1980). Dans la majorité des cas ils prennent leur envol entre 20 et 30 jours d'âge (Abdullah et al. 2017; Hafner 1980; Patankar et al. 2007). Le succès de reproduction, exprimé en pourcentage, est défini comme « le nombre d'œufs ayant produit des jeunes âgés de 25 jours par rapport au nombre d'œufs pondus » (Hafner 1980). Tout comme la taille de la couvée, cet indicateur est assez variable à travers les différentes héronnières du monde, il a été évaluée à 76,8% en Camargue (Hafner 1980), 82,1% aux États-Unis (Jenni 1969), 57,3% en Algérie (Si Bachir et al. 2000) et entre 26,7% et 35,4% au Pakistan (Abdullah et al. 2017). Durant la période d'incubation, les causes de mortalités sont diverses : accidents, intempéries, dérangements, œufs stériles et prédatations (par des corvidés principalement). Chez les poussins, la principale cause de mortalité reste la compétition alimentaire au sein de la même couvée, due à l'échelonnement des éclosions. Ainsi les plus jeunes périssent car ils sont souvent dominés par les plus âgés (Hafner 1978; 1980; Jenni 1969).

C, Alimentation

Le Héron garde-bœufs est une espèce opportuniste qui a su s'adapter à différents milieux de vie pour s'alimenter. En fonction des saisons il peut fréquenter différents habitats pour y trouver sa nourriture : des milieux terrestres permanents (prairies, pelouses), des milieux de culture secs (céréalières, rizières sèches, labours), des rizières inondées, des vergers, des bosquets, des marais saumâtres ou d'eau douce, des étangs, des milieux halomorphes (sansouires) et de façon plus anecdotique des agglomérations (Jenni 1969; Bredin 1984; Wong et al. 1999; Boukhemza et al. 2000; Lombardini, Bennetts, Tourenq 2001; Si Bachir et al. 2012). Il va préférentiellement fréquenter les milieux dans lesquels sa technique de chasse présente le taux de succès le plus élevé, en l'occurrence des environnements anthropomorphisés tels que les milieux terrestres permanents et les milieux de culture secs (Lombardini, Bennetts, Tourenq 2001). D'autre part, de plus en plus de hérons garde-bœufs ont été aperçus en train de se nourrir dans les décharges publiques à travers le monde (Figure 8), attrapant les insectes présents ou se nourrissant directement des débris (Pomeroy 1975; Custer, Osborn 1978; Burger, Gochfeld 1983; Franchimont 1986a; Boukhemza et al. 2000; Seedikkoya, Azeez, Abdul Shukkur 2007; Si Bachir et al. 2012).



Figure 8 : Des hérons garde-bœufs en quête de nourriture dans une décharge publique (© Partha Hazarika / Barcroft India)

De nature grégaire, les hérons garde-bœufs se nourrissent la plupart du temps en groupe (Jenni 1969). En moyenne, ils chassent dans un rayon de 5 à 8 km autour de leur dortoir mais ils n'hésitent pas à voyager jusqu'à 20 à 29 km autour pour se nourrir, bien plus loin que la Grande Aigrette, l'Aigrette garzette ou encore le Bihoreau gris (Siegfried 1971b; Custer, Osborn 1978; Wong et al. 1999).

Le développement de l'agriculture, de l'élevage et de l'irrigation a permis au Héron garde-bœufs de coloniser peu à peu les différentes régions du globe (Franchimont 1986b). En effet, il s'associe fréquemment au bétail pour se nourrir, principalement aux ruminants (Vache domestique, Chameau, Buffle africain, Bison d'Amérique...), ce qui lui a valu son nom vernaculaire. Les hérons garde-bœufs vont ainsi suivre les vaches au pâturage pour attraper les insectes dérangés par les mouvements de broutage et de piétinement (Figure 9). En association avec une vache, ils peuvent être seuls ou se rassembler en groupe de deux à trois individus, plus rarement jusqu'à cinq individus (Dinsmore 1973; Heatwole 1965; Jenni 1969; Seedikkoya, Azeez, Shukkur 2005). De la même façon, ils vont suivre les tracteurs dans les champs (Figure 10) (Dinsmore 1973; Heatwole 1965; Seedikkoya, Azeez, Shukkur 2005). Cette méthode de chasse a même été adaptée dans les décharges publiques, où les hérons garde-bœufs vont suivre les bulldozers soulevant les ordures (Burger, Gochfeld 1983). Lorsqu'ils chassent en compagnie d'une vache ou d'un tracteur, les hérons garde-bœufs sont plus efficaces que lorsqu'ils chassent seuls, à savoir qu'ils obtiennent plus de nourriture et dépensent moins d'énergie (Dinsmore 1973; Heatwole 1965; Seedikkoya, Azeez, Shukkur 2005).



Figure 9 : Deux hérons garde-bœufs en train de chasser en association avec une vache (© Diana Australis)



Figure 10 : Des hérons garde-bœufs profitant du labourage d'un champ par un tracteur pour s'alimenter (© George Reszeter)

Il arrive que les hérons garde-bœufs montent sur le dos des ruminants, se servant d'eux comme perchoirs. Cependant, ils se nourrissent peu des insectes ou des

ectoparasites présents à même la peau des ruminants. Les tiques retrouvées dans les estomacs de hérons garde-bœufs seraient probablement des tiques tombées après un repas sanguin. Il semblerait donc que le Héron garde-bœufs ne participe quasiment pas au déparasitage des ruminants, comme cela a longtemps été supposé, ce qui soulève des questions sur les bénéfices de cette association pour les ruminants (North 1945; Heatwole 1965). D'autre part, des hérons garde-bœufs ont été vus associés avec d'autres espèces domestiques comme des chèvres, des cochons ou des chevaux (Phuong et al. 2011; Seedikkoya, Azeez, Shukkur 2005).

Le Héron garde-bœufs a un régime alimentaire varié : il est majoritairement insectivore mais se nourrit également d'Annélides (vers de terre), d'Anoures (grenouilles, crapauds), de rongeurs et plus rarement de reptiles (lézards, serpents), d'araignées, d'oiseaux ou de poissons. Les insectes arrivent en tête du classement des proies en termes de fréquence et de biomasse ingérée, on retrouve principalement des Orthoptères (*Acrididae*, *Gryllidae*), des Lépidoptères (*Pieridae*, *Noctuidae*), des Coléoptères (*Carabidae*, *Scarabidae*), des Hyménoptères (*Formicidae*), des Dermaptères (*Labiduridae*) et des Diptères (*Calliphoridae*, *Muscidae*, *Syrphidae*, *Tachinidae*). Le Héron garde-bœufs s'adapte à la disponibilité de ses proies en fonction des saisons et des conditions climatiques. En hiver par exemple, il mange principalement des rongeurs car les autres proies sont peu accessibles du fait de leur poïkilothermie (insectes, amphibiens, vers de terre, reptiles, araignées et poissons). Lorsque l'humidité du sol est élevée, les vers de terre sont plus nombreux et sont consommés de préférence (Siegfried 1971d; Hafner 1977; Bredin 1984; Boukhemza et al. 2000). Les poussins sont principalement nourris avec des insectes, des amphibiens et des reptiles (Jenni 1969; Patankar et al. 2007). Son régime alimentaire et sa capacité d'adaptation permet au Héron garde-bœufs de limiter la concurrence de la part des autres Ardéidés, notamment le Héron cendré, le Héron pourpré, l'Aigrette garzette ou le Héron bihoreau qui se nourrissent principalement en milieux aquatiques (Franchimont 1986b).

D, Eco-épidémiologie et synthèse sur les données actuelles concernant le statut sanitaire du Héron garde-bœufs

Par sa présence ubiquitaire, sa nature opportuniste et son régime alimentaire varié, le Héron garde-bœufs est considéré comme une espèce bénéfique dans la lutte biologique contre les parasites du bétail (Patankar et al. 2007) ou contre les insectes potentiellement vecteurs de maladies (Pomeroy 1975; Seedikkoya, Azeez, Abdul Shukkur 2007). Son rôle comme espèce sentinelle vis-à-vis de l'exposition aux polluants organiques persistants a également été mis en évidence (Khan et al. 2014).

Le Héron garde-bœufs est une espèce commensale fréquemment retrouvée à proximité d'élevages aviaires (Ahmed et al. 2017; Caron et al. 2014; Fadel, Afifi 2017; Fagbohun et al. 2000; Musa et al. 2017; Otim et al. 2007), du bétail ou des chevaux (Dinsmore 1973; Heatwole 1965; Jenni 1969; Jourdain et al. 2008; Phalen et al. 2010; Phuong et al. 2011; Seedikkoya, Azeez, Shukkur 2005), ce qui a conduit à la réalisation de plusieurs études visant à préciser son potentiel rôle de relais dans la transmission d'agent pathogènes.

Influenza aviaire

En ce qui concerne l'influenza aviaire, trois études n'ont pas permis de détecter de virus par RT-PCR chez des hérons garde-bœufs : la première porte sur 46 écouvillons cloacaux de hérons garde-bœufs capturés en Camargue en 2006 (Lebarbenchon et al. 2007), la deuxième sur 166 fientes fraîches récoltées au sol au Zimbabwe entre mai 2008 et novembre 2010 (Caron et al. 2014) et la troisième sur des écouvillons cloacaux et oro-pharyngés réalisés chez 29 hérons garde-bœufs dans le cadre de la surveillance programmée en France entre décembre 2016 et janvier 2017 (Van De Wiele et al. 2017). Cependant, d'autres études ont permis de détecter des virus influenza aviaire chez le Héron garde-bœufs. Par le biais de la surveillance événementielle, deux hérons garde-bœufs ont ainsi été déclarés infectés par une souche H5N8 en France lors de l'émergence d'influenza aviaire de 2016-2017 (Van De Wiele et al. 2017).

Deux hérons garde-bœufs (n=2/147 hérons) ont été également testés positifs à une souche IAFP par PCR sur fientes et écouvillons cloacaux en Espagne entre 2005 et 2007 mais les virus n'ont pas pu être isolés (Pérez-Ramírez et al. 2010), et un sous-type faiblement pathogène H16N3 (n=1/116 échantillons) a été détecté dans des fientes fraîches d'un groupe de hérons garde-bœufs en Espagne en 2014 (Bárbara et al. 2017). Deux études en Égypte publiées en 2017 font état de l'isolement de virus influenza aviaire chez des hérons garde-bœufs cliniquement asymptomatiques au moment des prélèvements. Dans la première étude (Ahmed et al. 2017) réalisée en 2014-2015, 30 hérons garde-bœufs capturés au filet ont chacun fait l'objet de deux écouvillons, un oro-pharyngé et un cloacal ; la recherche de virus influenza aviaire a été positive pour un seul écouvillon oro-pharyngé, le sous-type H5N1 hautement pathogène identifié (A/cattle egret/Desouk/2/2014/H5N1) fait partie du clade 2.2.1/C qui affecte les élevages de volailles en Égypte depuis 2006 de façon endémique et qui est à l'origine de cas humains (Ahmed et al. 2017; Mercier et al. 2017; Naguib, Abdelwhab, Harder 2016). Dans la deuxième étude (Fadel, Afifi 2017) réalisée entre 2010 et 2013, un virus influenza aviaire a été détecté par RT-PCR sur un pool d'organes (trachée, poumons et intestins) provenant de deux hérons garde-bœufs capturés par piégeage, sans précision du sous-type viral, et ce sur un total de 18 hérons garde-bœufs analysés (6 individuellement et 12 par pool de 2). En complément, 30 des 33 tests d'inhibition d'hémagglutination effectués sur sérum ont montré la présence d'anticorps anti-hémagglutinine, dont 26 contre H5, 1 contre H9 et 3 contre H5 et H9 simultanément (Fadel, Afifi 2017). L'exposition au virus influenza a aussi été prouvée par la présence d'anticorps anti H5 détectés par méthode Enzyme Linked Immunosorbent Assay (ELISA) chez 19 hérons garde-bœufs (n=19/81 hérons) ne présentant aucun signe clinique au Nigéria en 2015-2016 (Musa et al. 2017). Par ailleurs, une souche H5N1 hautement pathogène a été isolée chez des hérons en Chine en 2003-2004 mais il n'est pas précisé s'il s'agit de hérons garde-bœufs (Webster et al. 2006).

Maladie de Newcastle

L'exposition au virus de la Maladie de Newcastle a été mise en évidence en détectant des anticorps dirigés contre ce dernier par méthode ELISA chez des hérons garde-bœufs asymptomatiques au moment des prélèvements, au Nigéria en

2015-2016 (n=22/81 hérons) (Musa et al. 2017) et au Mexique en 1988-1989 (n=2/17 hérons) (Aguirre et al. 1992). La présence de hérons garde-bœufs est associée positivement mais non significativement au risque d'émergence de la maladie de Newcastle dans des élevages de poulets en Ouganda (Otim et al. 2007). L'isolement du virus de la maladie de Newcastle a été rapporté en Espagne en 2013 dans un groupe de quatre hérons garde-bœufs retrouvés morts dans une même unité de temps et de lieu et analysés dans le cadre d'une surveillance épidémiologique passive. Les analyses réalisées sur écouvillons trachéaux et cloacaux ont permis de mettre en évidence un virus de la lignée 4a potentiellement hypervirulent pour la poule domestique (*Gallus gallus domesticus*). Sur 13 autres hérons garde-bœufs retrouvés morts individuellement aucun virus de la maladie de Newcastle n'a pu être détecté (Napp et al. 2017). Plus récemment, une souche non virulente a été identifiée chez un individu en hivernage (n=1/28 hérons) en Chine en 2014 (*Bubulcus ibis*/Ch/GD/ZS37/2014). D'un point de vue phylogénétique, ce virus de la maladie de Newcastle fait partie du sous-génotype 1b et est proche des souches qui circulent dans les élevages de volailles présents dans la zone d'étude (Xiang et al. 2017).

Arboviroses

Les hérons garde-bœufs servent d'hôtes à certaines espèces de tiques vectrices de rickettsies affectant les ruminants (Corn et al. 1993) ou d'arbovirus (Hoogstraal et al. 1966; St George et al. 1984) tel que le virus West Nile (Mumcuoglu et al. 2005). Ils peuvent jouer un rôle dans la dissémination de ces tiques via leur cycle migratoire (Corn et al. 1993).

En Israël, la recherche d'anticorps dirigés contre le virus West Nile s'est avérée négative chez les 28 hérons garde-bœufs testés entre 1965 et 1967 (Malkinson, Banet 2002). En revanche, des anticorps contre le virus West Nile ont été détectés chez des hérons garde-bœufs juvéniles, au Japon entre 1974 et 1976 (n=42/79 juvéniles *a priori* car les résultats sont confondus avec ceux du virus de l'encéphalite japonaise) (Rodrigues, Guttikar, Pinto 1981), en Israël entre 2000 et 2003 (n=14/37 juvéniles) sans virémie ni isolement du virus associés (Mumcuoglu et al. 2005) et en Camargue en 2004 (n=3/201 juvéniles) (Jourdain et al. 2008). Les anticorps détectés sont probablement d'origine maternelle et reflète une exposition des parents au virus. En Camargue, le Héron garde-bœufs est ainsi une espèce potentiellement impliquée

dans l'introduction, l'amplification et la circulation du virus West Nile (Jourdain et al. 2007). Un virus West Nile a aussi été détecté chez un jeune héron garde-bœufs âgé de trois semaines aux États-Unis en 2004, sans que ses congénères de la même nichée ne soient viropositifs ni séropositifs (Reisen et al. 2005). En outre, l'isolement d'une souche du virus West Nile a été décrit chez deux hérons garde-bœufs adultes en Russie entre 2002 et 2004 (Ternovoï et al. 2006).

L'exposition à d'autres arbovirus a été montrée par analyse sérologique et concerne les souches TC83 et Mena II du virus de l'encéphalite équine vénézuélienne, le virus de l'encéphalite équine de l'Ouest, le virus de l'encéphalite équine de l'Est, le virus de l'encéphalite de Saint-Louis et le virus de l'encéphalite japonaise (Aguirre et al. 1992; Reisen et al. 2005; Rodrigues, Guttikar, Pinto 1981).

Entéropathogènes

Plusieurs sérovars de *Salmonella enterica* subsp. *enterica* ont été trouvés chez le Héron garde-bœufs. La prévalence de salmonelles se situe entre 29% et 95% d'après une étude réalisée dans cinq colonies de hérons garde-bœufs au Texas (États-Unis) et concerne surtout les juvéniles (Phalen et al. 2010). Le sérovar Typhimurium a été isolé dans le foie et le cœur d'un individu gardé en captivité puis retrouvé mort aux États-Unis (Locke et al. 1974). Dix-sept sérovars ont été isolés à partir de culture d'organes (tube digestif, foie, rate) de jeunes hérons garde-bœufs aux États-Unis entre 1997 et 1999, avec une prédominance du variant monophasique 4,[5],12:i du sérovar Typhimurium (n=36/65 isolats) qui est hautement invasif et qui est susceptible de provoquer une bactériémie allant jusqu'au décès. Ce variant est potentiellement transmissible aux volailles, aux mammifères et à l'homme (Phalen et al. 2010). Au Brésil, 5 sérovars ont été isolés dans 6 pools d'écouvillons cloacaux représentant un effectif de 49 individus sur un total de 456 hérons garde-bœufs asymptomatiques étudiés entre 2007 et 2008 (Silva et al. 2018). Le sérovar Montevideo a été retrouvé dans le cæcum de deux hérons garde-bœufs ne présentant pas de signe clinique aux États-Unis entre 2008 et 2012. Enfin, la recherche de la bactérie *Escherichia coli* O157:H7 s'est avérée négative sur 16 hérons analysés (Callaway, Edrington, Nisbet 2014).

Par ailleurs, des études récentes montrent que des entérobactéries porteuses de gènes de résistance antimicrobienne sont présentes chez certains hérons garde-

bœufs. Ainsi, des bactéries *Escherichia coli* et *Enterobacter* spp. produisant des bêta-lactamases à spectre étendu (ESBL) et la carbapénèmase OXA-48 ont été isolées dans le cloaque de hérons garde-bœufs en Espagne en 2015-2016 (Oteo et al. 2018). Le gène *vanA* conférant une résistance vis-à-vis de la vancomycine a été identifié chez des bactéries *Enterococcus faecalis* dans des fientes et des pelotes de réjections de hérons garde-bœufs en Tunisie en 2014 (Ben Yahia et al. 2018).

***Chlamydia* spp.**

Les hérons garde-bœufs sont potentiellement réservoirs de bactéries du genre *Chlamydia*. A ce jour, une unique étude conduite en Egypte a mis en évidence la présence parfois simultanée de *Chlamydia* et d'anticorps dirigés contre ces bactéries chez des hérons garde-bœufs (El-Jakee et al. 2014). L'effectif comportait 89 hérons garde-bœufs et 53 sérums prélevés sur ces derniers. Plusieurs méthodes de diagnostic ont été comparées sur les 53 hérons garde-bœufs dont le sang avait été prélevé et il en résulte que la PCR réalisée sur sac vitellin inoculé est la méthode la plus sensible pour détecter *Chlamydia* spp.. Ainsi, sur les 53 échantillons comparés, 90,6% (PCR), 83% (coloration Giménez), 77,4% (coloration Giemsa), 75,5% (test d'immunofluorescence sur sac vitellin inoculé) et 66% (test de fixation au complément) étaient positifs pour la détection de *Chlamydia*. Contrairement aux autres méthodes qui ciblent le genre *Chlamydia*, le test de fixation au complément permet uniquement de détecter les anticorps dirigés contre *Chlamydia psittaci*, d'où sa plus faible sensibilité. En prenant compte uniquement la détection des inclusions intracellulaires chez les 89 hérons garde-bœufs initiaux, cette équipe de chercheurs a obtenu des résultats similaires en comparant la coloration Giménez (80,9% d'échantillons positifs), la coloration Giemsa (75,3%) et le test d'immunofluorescence sur sac vitellin inoculé (73%) (El-Jakee et al. 2014). Dans une autre étude visant à mettre en évidence une exposition à *Chlamydia psittaci*, les analyses sérologiques se sont toutes révélées négatives pour les 17 hérons garde-bœufs étudiés (Aguirre et al. 1992).

Autres agents infectieux

D'autres agents pathogènes ont été plus rarement étudiés chez le Héron garde-bœufs, il s'agit du virus de la maladie de Gumboro (bursite infectieuse), du virus de la bronchite infectieuse et des bactéries *Mycoplasma gallisepticum*, *Mycoplasma synoviae* et *Pasteurella multocida*. Des chercheurs japonais rapportent un individu séronégatif pour le virus de la bursite infectieuse ; les anticorps étaient recherchés par technique de neutralisation (Ogawa et al. 1998). Une seconde étude décrit quant à elle trois hérons garde-bœufs séropositifs au virus de la bursite infectieuse (n=3/15 hérons) par technique ELISA au Nigéria (Fagbohun et al. 2000). Des analyses sérologiques positives pour le virus de la bronchite infectieuse ont été rapportées chez 22 hérons garde-bœufs par méthode ELISA (n=22/81 hérons) au Nigéria (Musa et al. 2017). En ce qui concerne *Mycoplasma gallisepticum*, *Mycoplasma synoviae* et *Pasteurella multocida*, une seule étude décrit 17 individus séronégatifs vis-à-vis de ces bactéries (Aguirre et al. 1992).

Il faut garder à l'esprit que lorsque la recherche d'agent pathogène se révèle négative, peu de précisions sont données sur ces résultats. C'est par exemple le cas pour les 4550 ciconiiformes analysés dans l'Union Européenne en 2006 et pour lesquels seul des détails sur les individus positifs ont été apportés (quatre hérons cendrés (*Ardea cinerea*) et un héron d'espèce non précisée étaient positifs au virus H5N1 hautement pathogène) alors que les espèces des oiseaux négatifs n'étaient pas précisées (Hesterberg et al. 2009). Dans la plupart des études, les agents infectieux sont étudiés isolément. Toutefois, il est possible qu'un héron garde-bœufs soit infecté par plusieurs agents en même temps, ce qui accentue d'autant plus le potentiel rôle épidémiologique de cette espèce.

**Troisième partie : protocole expérimental et
précision du statut sanitaire des hérons garde-
bœufs dans le Sud-Ouest de la France en 2016 et en
2017**

A, Notions d'infectiologie

1, Virus influenza A

Les virus influenza appartiennent à la famille des *Orthomyxoviridae*. Au sein de cette famille quatre genres de virus influenza sont décrits : A, B, C et D. Les virus influenza B et C sont exclusivement humains tandis que les virus influenza D affectent au moins les porcs et les ruminants. Seuls les virus influenza A peuvent infecter les oiseaux et les mammifères, y compris l'homme, et sont à l'origine de l'influenza aviaire (Centers for Disease Control and Prevention 2017a; Webster et al. 1992). C'est pourquoi nous nous intéressons plus particulièrement aux virus influenza A dans ce paragraphe et dans l'intégralité de cette thèse.

Les virus influenza A sont des virus enveloppés avec un génome à ARN segmenté simple brin à polarité négative. Le génome est composé de 8 segments d'ARN codant pour au moins 10 protéines dont deux protéines de surface qui possèdent plusieurs variants : l'hémagglutinine et la neuraminidase (Webster et al. 1992). A ce jour, 18 variants d'hémagglutinine et 11 variants de neuraminidase ont été décrits (Centers for Disease Control and Prevention 2017b). Les autres protéines sont des polymérases, des protéines matricielles, des protéines non structurales et une nucléoprotéine, leur nombre varie en fonction des souches virales. L'hémagglutinine est impliquée dans l'infection des cellules cibles en se fixant sur les récepteurs composés d'acides sialiques (α 2-3 ou α 2-6). L'entrée dans la cellule nécessite ensuite le clivage de l'hémagglutinine en deux sous-unités par une protéase pour que les membranes virale et cellulaire puissent fusionner puis permettre l'entrée du génome viral dans la cellule cible et la mise en route du cycle viral (Webster et al. 1992). Pour les virus influenza faiblement pathogènes, ce clivage a lieu en dehors de la cellule par la trypsine. Cette protéine est retrouvée dans l'arbre respiratoire des mammifères et le tractus digestif des oiseaux, ce qui limite le tropisme du virus. Cependant, certains variants H5 et H7 de l'hémagglutinine présentent des mutations au niveau du site de clivage avec des résidus d'acides aminés basiques. Ce motif polybasique est clivable par des protéases ubiquistes de la famille des subtilisines présentes dans toutes les cellules de l'organisme. De ce fait, ces virus présentent un tropisme systémique et sont dits hautement pathogènes. Le clivage a lieu à l'intérieur

des cellules pour les virus hautement pathogènes (Steinhauer 1999). Ces virus ont une forte capacité d'évolution. Ils sont sujets à des mutations fréquentes car les polymérase virales créent une erreur tous les 10 000 nucléotides (Steinhauer, Holland 1987). Cela va aboutir à la formation de nouveaux variants, on parle ainsi de dérive antigénique (*antigenic drift*). Ce phénomène est progressif, la réponse immunitaire acquise contre un variant donné sera ainsi partielle contre un autre variant issu de la dérive antigénique de ce dernier. D'autre part, lorsque plusieurs virus influenza co-infectent un même individu, des échanges de segments entre ces différents virus peuvent alors avoir lieu, on parle de cassure antigénique (*genetic shift*). Ces réassortiments génétiques sont rendus possibles par la segmentation de l'ARN des virus et vont être à l'origine de la formation de nouveaux sous-types. Ces sous-types sont généralement définis par leurs variants de l'hémagglutinine et de la neuraminidase sous la forme HxNy. La réponse immunitaire est différente pour chaque sous-type, il n'y a pas d'immunité croisée et les risques de circulation panzootique sont alors accrus (Webster et al. 1992). Après réplication du virus dans la cellule, la neuraminidase clive les acides sialiques, qui ont servi à la fixation initiale et qui fixent les nouvelles particules virales, afin que ces dernières puissent quitter la cellule cible et en infecter d'autres (Webster et al. 1992). Les virus influenza sont peu résistants dans l'environnement, ils sont sensibles à la chaleur et aux rayons ultraviolets (UV) (Weber, Stilianakis 2008). Ils persistent plus longtemps quand l'humidité relative et la température sont basses (Domanska-Blicharz et al. 2010; Weber, Stilianakis 2008; Webster et al. 1978). Dans les fientes, ils peuvent persister 7 jours à 20°C et plus de 30 jours à 4°C (Webster et al. 1978). Dans l'eau douce, ils restent infectants pendant au moins 4 jours à 22°C (Webster et al. 1978) et jusqu'à 32 jours à 20°C (Domanska-Blicharz et al. 2010). A 4°C, la survie est d'au moins 60 jours dans l'eau douce. Dans l'eau de mer leur persistance est diminuée et ils conservent leur pouvoir infectant jusqu'à 14 jours à 20°C et jusqu'à 28 jours à 4°C (Domanska-Blicharz et al. 2010). Les désinfectants classiques sont efficaces pour éliminer le virus à température ambiante (De Benedictis, Beato, Capua 2007; Kassaify et al. 2007; Patnayak et al. 2008).

Les oiseaux aquatiques (Ansériformes, Charadriiformes) forment le réservoir primaire des virus influenza A faiblement pathogènes (Olsen et al. 2006; Webster et al. 1992). Les Galliformes sont classiquement considérés comme plus sensibles que les

oiseaux aquatiques et peuvent développer des signes généraux et respiratoires allant jusqu'au décès en fonction de la pathogénicité virale (Mo et al. 1997). La transmission est majoritairement horizontale, par voie oro-fécale ou respiratoire (Sturm-Ramirez et al. 2005; Webster et al. 1992). La spécificité d'hôte est en partie déterminée par le type d'acides sialiques présents. Les virus humains se fixent quasi exclusivement aux acides sialiques $\alpha 2-6$ tandis que les virus aviaires se fixent préférentiellement aux acides sialiques $\alpha 2-3$ (Rogers, Paulson 1983). Les virus humains et aviaires peuvent se répliquer chez les suidés qui sont considérés à ce titre comme des espèces propices aux réassortiments entre virus humains et aviaires lors de co-infection (Webster et al. 1992). L'hémagglutinine et la neuraminidase sont les antigènes majeurs responsables de l'immunité humorale. En général la vaccination contre les virus hautement pathogènes protège des signes cliniques mais n'empêche pas la réplication et la propagation du virus (Alexander 1995).

La pathogénicité des souches est déterminée par deux méthodes. La première consiste en l'inoculation intraveineuse d'au moins huit poulets âgés de quatre à huit semaines. La deuxième est basée sur le calcul de l'indice de pathogénicité par voie intraveineuse (IVPI) sur dix poulets âgés de six semaines. Selon les critères définis par l'OIE, un virus influenza aviaire est considéré comme hautement pathogène si la mortalité par inoculation intraveineuse est supérieure à 75% en 10 jours ou si l'IVPI est supérieur à 1,2. Indépendamment des critères de pathogénicité, un virus H5 ou H7 est considéré comme hautement pathogène s'il possède sur le site de clivage de l'hémagglutinine un motif d'acides aminés similaire à celui d'un virus hautement pathogène déjà connu.

D'un point de vue réglementaire, l'influenza aviaire est classé en trois catégories selon le type d'infection chez les oiseaux :

- Influenza aviaire hautement pathogène (IAHP) induit exclusivement par des virus de type H5Nx ou H7Nx possédant des caractéristiques de virus hautement pathogène chez toute espèce d'oiseaux ;
- Influenza aviaire faiblement pathogène (IAFP) induit par des virus de types H5Ny ou H7Ny ne possédant pas les caractéristiques de virus hautement pathogènes, uniquement chez les volailles et oiseaux captifs ;
- Influenza aviaire non notifiable induit par des virus qui n'appartiennent pas aux deux premières catégories.

L'IAHP et l'IAFP sont des maladies classées dangers sanitaires de première catégorie en France selon l'arrêté du 29 juillet 2013 relatif à la définition des dangers sanitaires de première et deuxième catégorie pour les espèces animales. Elles font également partie de la liste des maladies devant être notifiées à l'OIE.

2, Virus de la maladie de Newcastle

Les virus responsables de la maladie de Newcastle appartiennent à la famille des *Paramyxoviridae*. Ce sont des variants du paramyxovirus aviaire de sérotype 1 (APMV-1). Ces virus sont enveloppés et possèdent un ARN simple brin non segmenté à polarité négative composé de six gènes codant pour six protéines structurales (nucléoprotéine, phosphoprotéine, protéine matrice, protéine de fusion, hémagglutinine-neuraminidase et ARN polymérase). La virulence des APMV-1 est variable (lentogène, mésogène ou vélogène) et seules les souches virulentes sont responsables de la maladie de Newcastle (Miller, Decanini, Afonso 2010). La virulence est caractérisée en laboratoire. Un APMV-1 est défini comme virulent selon l'OIE s'il remplit une des deux conditions suivantes : l'index de pathogénicité par voie intracérébrale chez des poussins (*Gallus gallus*) âgés d'un jour est supérieur à 0,7 ou le site de clivage de la protéine de fusion possède plusieurs acides aminés basiques (lysine ou arginine). Le tropisme dépend de la nature de la souche virale et peut être pneumotrope, viscérotrope ou neurotrope. Les APMV-1 sont quasi-exclusifs aux oiseaux, cependant dans des situations rares ils peuvent causer une conjonctivite chez les professionnels liés aux volailles (Nelson et al. 1952). Le réservoir primaire comprend de nombreuses espèces d'oiseaux sauvages. Les Galliformes et les Columbiformes y sont plus sensibles que les Ansériformes (Miller, Decanini, Afonso 2010). La transmission entre oiseaux se fait par voie oro-fécale ou par voie inhalation des particules virales (Alexander 1995). Les APMV-1 sont relativement résistants dans le milieu extérieur (Pirtle, Beran 1991), ils peuvent survivre plusieurs semaines dans un environnement chaud et humide (Sharif et al. 2014). Dans les plumes de duvet, les virus restent infectants pendant 255 jours à des températures de 11°C à 36°C et plus de 538 jours 52 entre 3°C et 6°C (Olesiuk 1951). Dans de l'eau distillée à 17°C, les virus conservent leur pouvoir infectant pendant 109 à 116 jours et jusqu'à 370 jours lorsque la température est de 4°C (Davis-Fields et al. 2014). Les APMV-1

sont sensibles aux désinfectants classiques et en particulier au glutaraldéhyde et aux composés phénolés (Kassaify et al. 2007; Patnayak et al. 2008), ainsi qu'à la sécheresse prolongée et aux rayons UV (Sharif et al. 2014).

A la différence des virus influenza, il n'existe qu'un seul sérotype pour les virus de la maladie de Newcastle, ce qui facilite la protection par vaccination (Kapczynski, Afonso, Miller 2013).

La maladie de Newcastle est une maladie réglementée classée danger sanitaire de première catégorie en France selon l'arrêté du 29 juillet 2013 et à déclaration obligatoire auprès de l'OIE.

3. *Mycoplasma gallisepticum*

Mycoplasma gallisepticum est une bactérie de petite taille caractérisée par son absence de paroi cellulaire. Tous les oiseaux peuvent potentiellement être infectés par *M. gallisepticum* mais les Galliformes (poules et dindes) sont les espèces les plus sensibles. Les mammifères et l'homme ne sont pas concernés. Sa nature parasitique résulte en un grand degré de dépendance avec les cellules de son hôte (Levisohn, Kleven 2000). Le tropisme tissulaire comprend l'arbre respiratoire, l'appareil génital et les articulations. Les signes cliniques sont variés (maladie respiratoire chronique, amaigrissement, baisse de ponte, baisse d'appétit, affection articulaire), à l'origine de pertes économiques importantes dans les élevages de volailles. Cependant, l'infection peut parfois être inapparente ou subclinique (Levisohn, Kleven 2000). La survie de *M. gallisepticum* est de deux à quatre jours dans les plumes (Christensen et al. 1994) et va jusqu'à neuf jours dans l'eau de distribution à température ambiante (Polak-Vogelzang 1977). La transmission se fait par voies verticale (*in ovo*), pseudo-verticale (contamination lors de l'éclosion) et horizontale (Levisohn, Kleven 2000). Ainsi la stratégie de lutte contre *M. gallisepticum* en élevage repose sur la préservation d'un cheptel reproducteur sain. Lorsque ce n'est pas le cas, la vaccination ou l'utilisation d'antibiotiques sont envisageables comme solution pour contrôler l'infection à court terme (Levisohn, Kleven 2000).

4. Chlamydia spp. et agents de la chlamydiose aviaire

Chlamydia psittaci est historiquement le principal agent de la chlamydiose aviaire. C'est une bactérie Gram négative intracellulaire stricte. Son cycle de réplication est biphasique, durant lequel la bactérie est retrouvée sous trois formes différentes : le corps élémentaire qui est la forme infectieuse à l'extérieur des cellules, le corps réticulé qui est la forme intracellulaire métaboliquement active et le corps intermédiaire qui est la forme de maturation (Sachse, Laroucau, Vanrompay 2015). On dénombre au moins 465 espèces d'oiseaux pouvant être infectées par *C. psittaci*, notamment les Columbiformes, les Psittaciformes, les Passeriformes les Galliformes et les Ansériformes (Borel, Polkinghorne, Pospischil 2018; Kaleta, Taday 2003). En fonction de la souche et de l'hôte, l'infection peut être systémique et sévère, subclinique, chronique ou encore inapparente chez les porteurs sains. Les signes cliniques comprennent des signes respiratoires, des signes digestifs, une conjonctivite et des signes généraux tels qu'une apathie, une anorexie, un amaigrissement ou un retard de croissance, pouvant aller jusqu'au décès (Sachse, Laroucau, Vanrompay 2015). *C. psittaci* peut survivre jusqu'à 30 jours dans les fientes et la litière. La transmission est principalement horizontale par voies respiratoire et digestive via les fientes, les sécrétions, les aérosols, le nourrissage des jeunes ou la contamination de matériel. La transmission peut également se faire par le biais d'un arthropode vecteur ou bien par voie verticale (Sachse, Laroucau, Vanrompay 2015). *C. psittaci* est un agent zoonotique et on parle de psittacose lors d'infection chez l'homme. La population à risque est constituée de personnes ayant des contacts réguliers et étroits avec les oiseaux. Ce sont par exemple les propriétaires d'oiseaux et les professionnels travaillant dans les animaleries, les élevages aviaires, la chaîne de distribution des volailles, les abattoirs, le milieu vétérinaire, la santé publique, les laboratoires et les taxidermistes (Deschuyffeleer et al. 2012; Sachse, Laroucau, Vanrompay 2015). L'isolation de la bactérie passe par la culture sur cellules du fait de son cycle intracellulaire (Borel, Polkinghorne, Pospischil 2018).

De nouvelles espèces appartenant au genre *Chlamydia* ont récemment été découvertes chez des oiseaux. Il s'agit de *Chlamydia ibidis* isolé chez l'ibis sacré (*Threskiornis aethiopicus*) (Vorimore et al. 2013), *Chlamydia avium* chez des columbiformes et des psittaciformes et *Chlamydia gallinacea* chez des poules, des

pintades et des dindes (Sachse et al. 2014). *C. gallinacea* a également été retrouvée chez la Bécasse des bois (*Scolopax rusticola*) en Corée du Sud (Jeong et al. 2017). Ces trois bactéries ont été isolées à partir d'écouvillons cloacaux et de fientes, ainsi que d'organes internes pour *C. avium* et *C. gallinacea*. La transmission de *C. avium* et de *C. gallinacea* est probablement horizontale, via l'inhalation d'aérosols contaminés. Leurs potentiels pathogènes et zoonotiques restent encore à déterminer plus précisément. A l'heure actuelle, des signes respiratoires ont été causés par *C. avium* tandis qu'aucune pathogénicité n'a été mise en évidence en ce qui concerne *C. gallinacea* et *C. ibidis* (Sachse et al. 2014; Vorimore et al. 2013). La découverte de ces nouvelles espèces suggère la remise en cause de certaines infections attribuées à *C. psittaci* dans le passé (Sachse, Laroucau, Vanrompay 2015) au vu du caractère endémique de *C. gallinacea* dans certaines régions du monde (Guo et al. 2016). Des co-infections par plusieurs *Chlamydia* sp. sont envisageables et il serait intéressant d'analyser d'anciens échantillons à la recherche de ces nouvelles espèces (Sachse, Laroucau, Vanrompay 2015).

La chlamydiose aviaire (causée par *C. psittaci*) est une maladie réglementée classée danger sanitaire de deuxième catégorie en France selon l'arrêté du 29 juillet 2013 et à déclaration obligatoire auprès de l'OIE. La psittacose (forme humaine) est inscrite sur la liste des maladies professionnelles.

B, Matériels et méthodes

1, Objectifs de l'étude

Notre étude avait pour but premier d'apporter des éléments de réponse à la problématique du risque de maintien de l'influenza aviaire par les hérons garde-bœufs, fréquemment observés sur les parcours de canards présents dans le Sud-Ouest de la France. Elle s'inscrit dans le cadre de la surveillance programmée de l'influenza aviaire en 2015-2016 et en 2016-2017 au sein de l'avifaune sauvage, dont le but est de préciser si les virus influenza A ont pu être transmis de l'avifaune sauvage aux volailles ou *vice versa* et si la présence d'oiseaux sauvages sur les parcours pendant la période d'assainissement des élevages est susceptible de

maintenir une pression d'infection suffisante pour contaminer les volailles lors du repeuplement des élevages.

Dans un deuxième temps, nous nous sommes intéressés plus globalement au statut sanitaire du Héron garde-bœufs, en étudiant d'autres agents infectieux tels que les paramyxovirus aviaires de sérotype 1 (APMV-1) à l'origine de la maladie de Newcastle, *Mycoplasma gallisepticum* et *Chlamydia* spp..

2. Sites de prélèvements

Nous avons réalisé nos prélèvements dans des héronnières utilisées comme lieux d'habitat et de nidification par des hérons garde-bœufs.

Au total, trois héronnières ont été retenues comme sites de prélèvements (Figure 11) :

- le lac de Peyssies en Haute-Garonne (GPS : 43.325451, 1.172926)
- le lac de l'Aigue Longue située sur les communes de Momas et Mazerolles dans les Pyrénées-Atlantiques (GPS : 43.426389, -0.460850)
- le lac de la base de loisirs de Biron-Orthez dans les Pyrénées-Atlantiques (GPS : 43.472576, -0.750270)

Ces héronnières ont été choisies pour leur facilité d'accès et pour leur proximité géographique avec des foyers d'IAHP déclarés en élevage durant l'épisode 2015-2016 (Figure 12). De précédentes observations ont montré que les hérons garde-bœufs sont capables d'aller chasser jusqu'à 29 km de leur héronnière (Siegfried 1971b). Dans la situation présente, de nombreux foyers ont été déclarés dans un rayon de 35 km autour des héronnières, principalement autour des héronnières de l'Aigue Longue et de Biron-Orthez (Figure 12). Le foyer le plus proche du site de Biron-Orthez est un foyer H5N8 déclaré dans un élevage de Laà-Mondrans (Pyrénées-Atlantiques) en mars 2017, situé à 3 km du site. En ce qui concerne le lac de l'Aigue Longue, le foyer le plus proche est un foyer H5N9 situé à Mazerolles (Pyrénées-Atlantiques), à environ 2,5 km du site et déclaré en février 2016. Le cas de Peyssies est particulier puisque seul un foyer a été déclaré à proximité du site et concernait une souche H5N1 détectée en décembre 2015 dans un élevage situé

dans la commune de Laffitte-Vigordane (Haute-Garonne) à environ 5 km du lac de Peyssies (Figure 13).

Les héronnières sont installées sur un ou plusieurs îlots au sein d'un lac et accessibles uniquement par bateau. A Peyssies et au lac de l'Aigue Longue, les héronnières reposent sur un unique îlot. A Biron-Orthez, la héronnière est dispersée sur neufs îlots voisins. La végétation est plutôt dense avec de nombreux arbres sur lesquels sont disposés les nids.

A vue d'œil, plusieurs centaines voire des milliers de hérons garde-bœufs pouvaient être dénombrés dans chacune de ces trois héronnières. Quelques individus d'autres espèces étaient présents en nette minorité tels que des aigrettes garzettes, des hérons cendrés, des bihoreaux gris et des canards colverts.

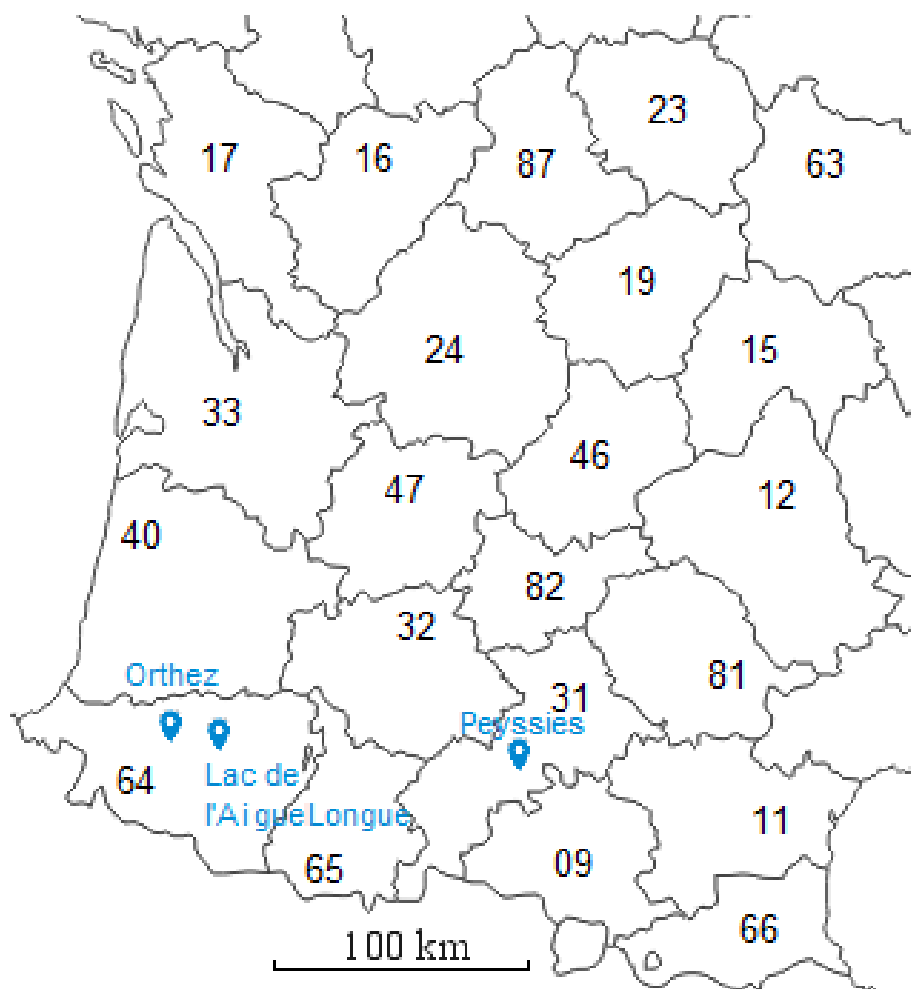


Figure 11 : Carte indiquant l'emplacement des trois héronnières étudiées

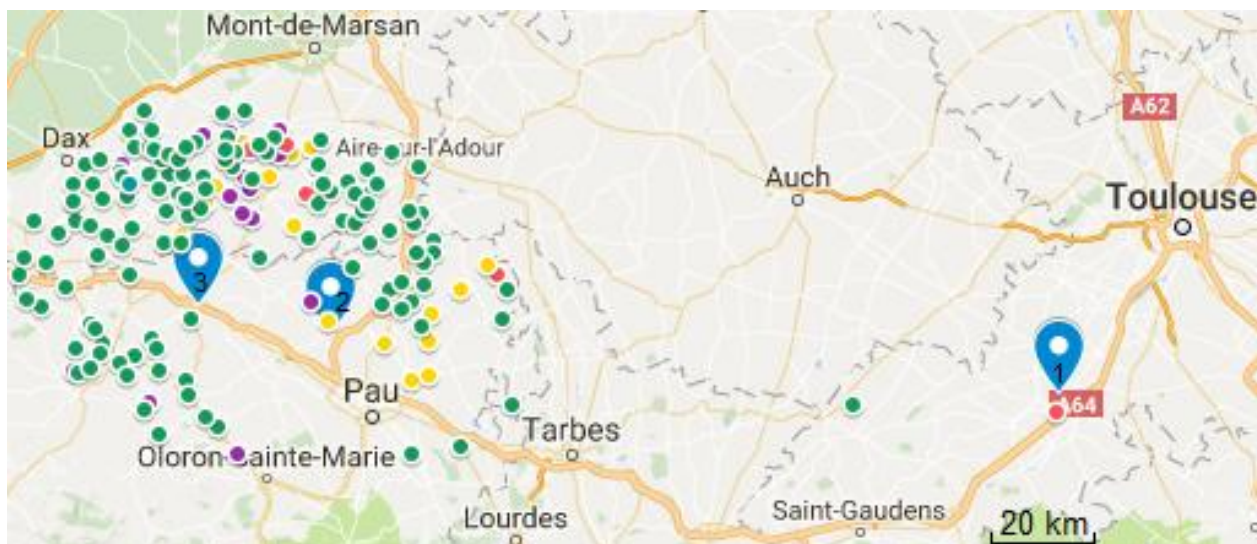








Figure 12 : Carte situant les  heronnières (1) Peysgies, (2) Aigue Longue, (3) Biron-Orthez et les élevages ayant déclaré un foyer d'IAHP dans un rayon de 35 km autour des heronnières selon le sous-type viral , , ,  en 2015-2016 et  en 2016-2017

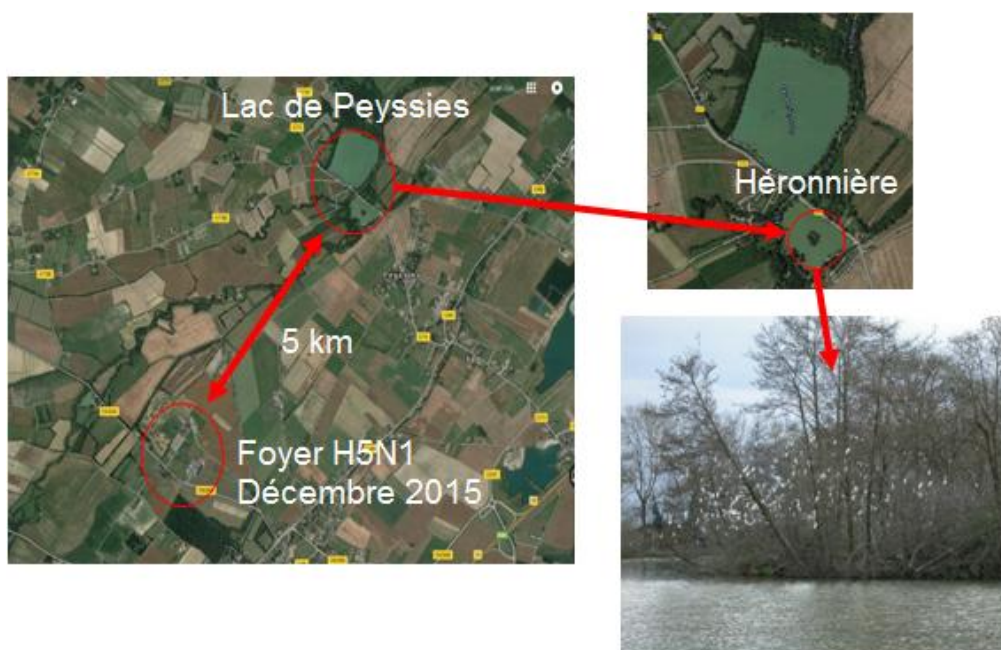


Figure 13 : Vues satellites du lac de Peyssies avec indication géographique du seul foyer d'IAHP déclaré à proximité du site

3, Prélèvements

Des fientes fraîches ont été récupérées au sol avec un écouvillon stérile dans chacune des trois héronnières. Pour ce faire, le sol des colonies était parcouru méthodiquement et les prélèvements étaient réalisés sous des nids.

La période de prélèvements s'étendait du 31 mars 2016 au 23 mars 2017. La héronnière de Peyssies a été visitée à six reprises, celles de Biron-Orthez et de l'Aigue Longue ne l'ont été qu'à une reprise bien qu'elles concentrent plus de foyers d'IAHP déclarés en élevage aux alentours. Cela s'explique par la proximité géographique de Toulouse et de Peyssies par rapport aux lacs de l'Aigue Longue et de Biron-Orthez.

Les prélèvements ont été réalisés après avoir obtenu l'accord de la DREAL Occitanie. Dès que nous arrivions sur une héronnière, tous les hérons garde-bœufs adultes, lorsqu'ils étaient présents sur place, s'envolaient le temps de notre visite. La majorité revenait dans les dix minutes après que nous ayons quitté le site de prélèvement. Chaque visite durait entre 30 et 45 minutes et était la plus courte possible afin de minimiser le dérangement provoqué par notre passage. Les visites étaient réalisées soit dans la matinée entre 8h30 et 10h30, soit en début d'après-midi entre 14h30 et 16h00. Certaines visites ont d'ailleurs été annulées (en juin 2016 notamment) car les poussins, trop âgés, risquaient de tomber des nids.

Toutes les données relatives à la collecte des prélèvements sont résumées dans le Tableau 6. Le site de l'Aigue Longue a été visité en avril 2016, celui de Biron-Orthez en mai 2016 et celui de Peyssies en mars, avril, novembre et décembre 2016 ainsi qu'en mars 2017. Les visites de Peyssies en novembre et décembre 2016, effectuées l'après-midi, représentent les seules fois où aucun héron garde bœuf adulte n'était présent sur place à notre arrivée. Au lac de Peyssies des œufs étaient présents dans les nids dès fin mars 2016 et 2017 et des poussins étaient présents fin avril 2016, ce qui montre que la saison de reproduction commençait aux alentours de début mars. Des jeunes étaient également présents aux lacs de l'Aigue Longue et de Biron-Orthez en avril et mai 2016 respectivement. Le nombre de fientes collectées s'élevait à 203, 33 et 30 pour Peyssies, l'Aigue Longue et Biron-Orthez respectivement, pour un total de 266 fientes. Les prélèvements étaient conservés

dans des contenants réfrigérés le temps de l'acheminement vers l'École Nationale Vétérinaire de Toulouse.

Une fois au laboratoire, les extrémités des écouvillons de fientes ont été placés dans 500 µL de solution tampon phosphate salin complétée en solution antibiotique et antimycotique (pénicilline, streptomycine, amphotéricine B) dans des tubes Eppendorf® de 1,5 mL. L'utilisation de cette solution a pour but de rincer les cellules et de limiter le développement de bactéries et champignons indésirables. Après agitation, un volume de 150 µL de cette préparation a été prélevé et déposé dans un second tube Eppendorf® de 1,5 mL en vue de procéder à l'extraction des acides nucléiques. Les prélèvements ont ensuite été congelés à -80°C jusqu'à analyse.

Tableau 6 : Nombre de fientes collectées selon le site et la date de prélèvement

Site	Date de prélèvement	Nombre (fientes)	Date extraction d'ARN	Numérotation des produits d'extraction
Peyssies	31/03/2016	25	04/04/2016	P1 à P25
	07/04/2016	24	11/06/2016	P26 à P49
	22/04/2016	27	11/06/2016	P50 à P76
	14/11/2016	37	18/11/2016	P77 à P113
	06/12/2016	28	09/12/2016	P114 à P141
	23/03/2017	62	24/03/2017	P142 à P203
Aigue Longue	25/04/2016	33	11/06/2016	AL1 à AL33
Biron-Orthez	03/05/2016	30	26/05/2016	BO1 à BO30

Les prélèvements ont été réalisés dans des conditions de biosécurité strictes. Des mesures d'hygiène ont été respectées en ce qui concerne la tenue des personnes participant aux prélèvements, la désinfection du matériel et le devenir des déchets générés. Chaque personne était équipée de bottes, désinfectées avant et après chaque visite, d'une blouse stérile jetable, d'une charlotte, d'un masque et de gants. Le matériel a été désinfecté à l'aide de Virkon®, un produit virucide, bactéricide et fongicide. Tous les déchets, considérés comme déchets d'activité de soins à risques infectieux et assimilés, ont été jetés dans des contenants appropriés.

4. Analyses effectuées au laboratoire

Extraction d'ARN et d'ADN

Les ARN et ADN viraux et bactériens ont été extraits à partir de 150 µL d'écouvillons de fientes repris dans une solution tampon additionnée d'antibiotique et d'antimycotique comme décrite précédemment. Les extractions ont été réalisées en utilisant le kit NucleoSpin® RNA Virus (Macherey-Nagel, Allemagne). Le protocole d'extraction est détaillé étape par étape dans la Figure 16 de l'Annexe 2). Les produits d'extraction ont été regroupés par pool de 1 à 5 échantillons en fonction de la date d'extraction et du site de prélèvement, avec un total de 56 pools (Tableau 8 de l'Annexe 3).

PCR classique et quantitative

Les PCR ont été réalisées sur les produits d'extraction dans un thermocycleur-spectrofluorimètre LightCycler® 96 System (Roche Applied Science, Allemagne) pour les PCR quantitatives (qPCR) et dans un thermocycleur peqSTAR® 2X (Peqlab, Allemagne) pour les PCR classiques. Au départ, nous avons réalisé les analyses de façon individuelle, notamment pour les PCR *M. gallisepticum* des échantillons 1 à 76 de Peyssies (Tableau 7), puis dans une optique de gain de temps, nous avons décidé de réaliser les analyses sur des pools d'échantillons.

Influenza aviaire

Les pools de produits d'extraction ont été analysés par qRT-PCR en employant le kit QuantiNova® Probe RT-PCR (Qiagen, Allemagne). Une région du gène M des virus influenza A a été recherchée en utilisant les amorces 5'-AAG ACC AAT CCT GTC ACC TCT GA-3' (sens A) et 5'-CAA AGC GTC TAC GCT GCA GTC-3' (anti-sens A) et la sonde 5'-FAM-TTT GTG TTC ACG CTC ACC GTG CC-TAMRA-3' (Munster et al. 2005; Ward et al. 2004). Chaque puits de réaction contenait 20 µL dont 3 µL d'ARN à amplifier, 10 µL de 2x QuantiNova Probe RT-PCR Master Mix, 6,44 µL d'eau certifiée PCR, 0,2 µL de QN Probe RT-Mix, 0,16 µL de chaque amorce (concentration 100 µM) et 0,04 µL de sonde (concentration 100 µM). La

rétrotranscription a été faite à 45°C pendant 10 minutes et la première dénaturation à 95°C pendant 5 minutes. Ensuite, 40 cycles d'amplification de 5 secondes à 95°C puis 30 secondes à 60°C ont été effectués. Le témoin positif utilisé est une séquence de gène M cloné en plasmide.

Maladie de Newcastle

Une région du gène F des APMV-1 a été recherchée par qRT-PCR en utilisant les amorces M+4100 5'-AGT GAT GTG CTC GGA CCT TC-3' et M-4220 5'-CCT GAG GAG AGG CAT TTG CTA-3', la sonde 5'-FAM-TTC TCT AGC AGT GGG ACA GCC TGC-TAMRA-3' (Wise et al. 2004) et le kit QuantiNova® Probe RT-PCR (Qiagen). Chaque puits de réaction contenait 20 µL dont 2 µL d'ARN à amplifier, 10 µL de 2x QuantiNova Probe RT-PCR Master Mix, 7,44 µL d'eau certifiée PCR, 0,2 µL de QN Probe RT-Mix, 0,16 µL de chaque amorce (concentration 100 µM) et 0,04 µL de la sonde (concentration 100 µM). La rétrotranscription a été faite à 45°C pendant 10 minutes et la première dénaturation à 95°C pendant 5 minutes. Ensuite, 45 cycles d'amplification de 5 secondes à 95°C puis 30 secondes à 60°C ont été effectués. Le témoin positif utilisé est une séquence de gène F cloné en plasmide.

Mycoplasma gallisepticum

Une région du gène 16S rRNA de *M. gallisepticum* a été recherchée par qPCR en utilisant les amorces MG-14F 5'-GAG CTA ATC TGT AAA GTT GGT C-3' et MG-13R 5'-GCT TCC TTG CGG TTA GCA AC-3' (Jarquin et al. 2009) et le kit QuantiFast® SYBR® Green PCR (Qiagen). Chaque puits de réaction contenait 25 µL dont 5 µL d'ADN à amplifier, 12,5 µL de Quantifast 2x Master mix, 2,5 µL d'eau certifiée PCR et 2,5 µL de chaque amorce (concentration 10 µM). La première dénaturation a été faite à 95°C pendant 5 minutes. Ensuite, 40 cycles d'amplification de 10 secondes à 95°C puis 30 secondes à 60°C ont été effectués, suivis d'un cycle de fusion de 10 secondes à 95°C, 1 minute à 65 °C et 1 seconde à 97°C et d'un cycle de refroidissement de 30 secondes à 37°C.

Une PCR classique a été réalisée en utilisant le kit Taq DNA Polymerase VWR® (VWR, France) avec les mêmes amorces dans des puits de 50 µL composés de 5 µL d'ADN à amplifier, 5 µL de 10X Buffer, 3 µL de chlorure de magnésium MgCl₂ (concentration 25 mM), 1 µL de dNTP (dATP, dCTP, dGTP, dTTP ; concentration 10 mM), 1 µL de chaque amorce (concentration 10 µM), 0,2 µL d'ADN polymérase Taq

et 33,8 µL d'eau certifiée PCR. Un premier cycle de dénaturation a eu lieu pendant 2 minutes à 95°C, suivi de 45 cycles d'amplification de 30 secondes à 95°C, 30 secondes à 53°C et 30 secondes à 72°C et d'un cycle de 5 minutes à 72°C. Dans les deux cas, le témoin positif utilisé est une séquence du gène 16S rRNA cloné en plasmide.

Une électrophorèse des produits de PCR a été réalisée sur gel d'agarose à 1,7% préparé à partir de 100 mL de tampon TBE (tris/borate/EDTA). Un marqueur moléculaire de la taille de 100 paires de base (pb) a été utilisé comme repère. Après migration à 100 V pendant 60 minutes, les produits de PCR ont été visualisés sous UV.

Chlamydia sp.

Une région du gène 23S rRNA, commun à la famille des *Chlamydiaceae*, a été recherché par qPCR en utilisant les amorces Ch23S-F 5'-CTG AAA CCA GTA GCT TAT AAG CGG T-3' et Ch23S-R 5'-ACC TCG CCG TTT AAC TTA ACT CC-3', la sonde Ch23S-p 5'-FAM-CTC ATC ATG CAA AAG GCA CGC CG-TAMRA-3' (Donati et al. 2018; Ehricht et al. 2006) et le kit QuantiNova™ Probe PCR (Qiagen). Chaque puits de réaction contenait 20,1 µL dont 2 µL d'ADN à amplifier, 10 µL de 2x QuantiNova Probe PCR Master Mix, 5 µL d'eau certifiée PCR, 0,8 µL de chaque amorce (concentration 10 µM) et 0,4 µL de sonde (10µM). La première dénaturation a été faite à 95°C pendant 2 minutes. Ensuite, 40 cycles d'amplification de 5 secondes à 95°C puis 5 secondes à 60°C ont été effectués. Le témoin positif utilisé est un ADN fourni par le laboratoire de référence de l'ANSES (Loth 11-96 08-1274/38-49).

Purification et séquençage

Les produits de PCR ont été purifiés en utilisant le kit QIAquick Gel Extraction Kit (Qiagen) puis quantifiés à l'aide d'un lecteur de microplaques CLARIOstar® (BMG Labtech, Allemagne) aux longueurs d'onde de 260 nm et 280 nm. Les produits purifiés ont été séquencés par l'intermédiaire du laboratoire GATC Biotech (Allemagne). Les séquences obtenues ont été exploitées et corrigées à l'aide du logiciel BioEdit après importation, puis comparées aux séquences mises à

disposition par le National Center for Biotechnology Information grâce à l'outil Basic Local Alignment Search Tool.

Analyses statistiques

Les taux de prévalence réelle ont été estimés à l'aide du site <http://epitools.ausvet.com.au> en utilisant la formule

$Prévalence = \frac{\frac{\text{positifs}}{\text{total}} + \text{spécificité} - 1}{\text{sensibilité} + \text{spécificité} - 1}$ décrite par Rogers, Paulson 1983. Des intervalles

de confiance (IC) à 95% ont été calculés via la méthode de Baker (Reiczigel, Földi, Ózsvári 2010). Pour les cas où seuls les résultats par pool étaient disponibles, les taux de prévalence ont été estimés à partir des pools en utilisant la sixième méthode décrite par Cowling, Gardner, Johnson 1999, en fixant la taille des pools à 5 pour les calculs et en excluant les pools de taille inférieure à l'exception d'un cas particulier. Pour le calcul des prévalences réelles, nous avons supposé de façon arbitraire que la sensibilité et la spécificité des techniques PCR employées étaient de 95% et 99% respectivement.

C, Résultats

Pour les échantillons de fientes, nous avons obtenu des résultats négatifs pour tous les pools analysés en qRT-PCR pour la détection d'acides nucléiques de virus influenza A et d'APMV-1. Parmi les 56 pools, 2 (3,6%) sont positifs pour *M. gallisepticum* par qPCR et 12 (21,4%) à *Chlamydia* sp. par qPCR (Tableau 8 de l'Annexe 3). En admettant que la sensibilité et la spécificité des qPCR étaient de 95% et de 99% respectivement, la prévalence réelle de *M. gallisepticum* a été estimée à 5,9% [2,0 – 14,4] pour les échantillons prélevés au printemps 2016 à Peyssies et à 3,6% [0 – 10,9] pour les échantillons prélevés au printemps 2016 au lac de l'Aigue Longue et analysés par pool de 5 échantillons (Tableau 7). Au lac de Peyssies, la prévalence de *Chlamydia* sp. a été estimée à 6,2% [0 – 12,3] pour les échantillons prélevés au printemps 2016, à 3,3% [0 – 8,1] pour les échantillons prélevés en automne 2016 et à 5,7% [0 – 12,3] pour les échantillons prélevés au printemps 2017, tous ces échantillons ont été analysés par pool de 5, avec une exception pour les

prélèvements du 06/12/2016 où un pool positif de 3 échantillons a été inclus dans le calcul (Tableau 7). Aux lacs de l'Aigue Longue et de Biron-Orthez, la prévalence de *Chlamydia* sp. a été estimée à 3,6% [0 - 10,9] et à 8,1% [0 - 19,3] respectivement pour les échantillons prélevés au printemps 2016 et analysés par pool de 5 (Tableau 7).

Les deux pools positifs pour *M. gallisepticum* par qPCR (P11-P15 et A1-A5) ont été confirmés par une PCR classique après migration sur gel d'agarose, en plus des échantillons du pool P11-P15 analysés individuellement (Figure 17 de l'Annexe 3). Le séquençage des produits de PCR a permis de déterminer une séquence de 144 nucléotides (Figure 14) correspondant à 100% à une portion du gène 16S rRNA issu de souches de *M. gallisepticum* affectant les Galliformes domestiques disponibles sur GenBank.

```
TCA GTT CGG ATT GAG GGC TGC AAT TCG CCC TCA TGA AGT CGG AAT CAC TAG
TAA TCG CGA ATC AGC CAT GTC GCG GTG AAT ACG TTC TCG GGT CTT GTA CAC
ACC GCC CGT CAA ACT ATG AGA GCT GGT AAT ATC TAA AAC CGT
```

Figure 14 : Séquence nucléotidique de *M. gallisepticum* déterminée par séquençage des produits de PCR

Tableau 7 : Résultats des analyses PCR et estimation de la prévalence réelle pour *M. gallisepticum* et *Chlamydia* sp. selon le site et la période de prélèvement.

Site/date de prélèvement	PCR <i>M. gallisepticum</i>		PCR <i>Chlamydia</i> sp.	
	Nombre de positifs	Prévalence [IC 95%] ‡	Nombre de positifs	Prévalence [IC 95%] ‡
Peysgies				
31/03/16	5/25 †	20,2% [8,4-40,6] †	1/5	4,4% [0-13,3]
07/04/16 22/04/16 *	0/51 †	-	3/10	7,1% [0-15,2]
<i>Printemps 2016</i>	5/76 †	5,9% [2,0-14,4] †	4/15	6,2% [0-12,3]
14/11/16	0/7	-	0/7	-
06/12/16	0/5	-	2/6 ▲	8,1% [0-19,3] ▲
<i>Automne 2016</i>	0/12	-	2/13 ▲	3,3% [0-8,1] ▲
23/03/17 (Printemps 2017)	0/12	-	3/12	5,7% [0-12,3]
Aigue Longue				
25/04/16 (Printemps 2016)	1/6	3,6% [0-10,9]	1/6	3,6% [0-10,9]
Biron-Orthez				
03/05/16 (Printemps 2016)	0/6	-	2/6	8,1% [0-19,3]

‡ Estimation des prévalences en supposant que Se = 95% et Sp = 99% pour les techniques PCR.

* Les prélèvements P26 à P76 ont été extraits le même jour mais proviennent de deux visites différentes, le 07/04/16 pour P26 à P49 et le 22/04/16 pour P50 à P76.

† Résultats indiqués par rapport au nombre d'échantillons analysés ; prévalence et intervalle de confiance à 95% calculés en utilisant les méthodes décrites par Reiczigel, Földi, Ózsvári 2010 et Rogan, Gladen 1978.

Tous les autres résultats sont indiqués en prenant en compte uniquement les pools de 5 échantillons, à l'exception des prélèvements de Peysgies du 06/12/16 où un pool positif de 3 échantillons a été inclus dans le calcul (▲), en utilisant la méthode 6 décrite par Cowling, Gardner, Johnson 1999.

IC : intervalle de confiance.

D, Discussion

Fiabilité des analyses sur échantillon fécal

Les analyses PCR sur fientes présentent les avantages d'être non invasives, peu onéreuses et rapides par rapport aux analyses réalisées sur des oiseaux sauvages vivants. Les principaux désavantages reposent sur le fait que les agents infectieux recherchés peuvent être inactivés par l'environnement (humidité relative, température, rayons UV, inhibiteurs présents dans les fientes), que plusieurs fientes peuvent provenir du même individu voire d'autres espèces d'oiseaux sans que nous le sachions au premier abord. En l'occurrence, malgré la présence d'autres espèces (aigrettes garzettes, hérons cendrés, bihoreaux gris et canards colverts) les hérons garde-bœufs étaient majoritairement présents dans les trois sites d'étude et un effort a été fait pour prélever les fientes sous les nids. La recherche de virus influenza A par PCR sur fientes est une méthode valide et efficace utilisée dans la surveillance des oiseaux sauvages (Bárbara et al. 2017; Ofula et al. 2013; Pérez-Ramírez et al. 2010), avec l'obtention d'un taux de prévalence similaire par rapport aux résultats obtenus à partir de prélèvements sur oiseaux vivants (McLean et al. 2007). Les PCR sur fientes sont également fiables pour la recherche d'APMV-1, en effet l'infection expérimentale de poulets par des APMV-1 a permis de mettre en évidence une excrétion fécale dès le premier jour post-inoculation (Gohm, Thür, Hofmann 2000). L'absence de détection de virus dans notre étude peut être expliquée par l'absence réelle de virus, si les oiseaux ne sont pas infectés ou si la période d'excrétion fécale est dépassée, par des charges virales faibles dues à une faible excrétion fécale ou à une inactivation environnementale ou par un manque de sensibilité des PCR. Les virus influenza sont sensibles à la chaleur et aux rayons UV (Weber, Stilianakis 2008) tandis que les APMV-1 sont sensibles aux rayons UV et à la dessiccation (Sharif et al. 2014). Les prélèvements au lac de Biron-Orthez ont été réalisés le 3 mai 2016 dans des conditions climatiques ensoleillées et une température avoisinant les 20°C, ce qui peut avoir un impact négatif sur la survie des virus dans le milieu extérieur. Dans le passé, les hérons garde-bœufs ont déjà fait l'objet d'une recherche de virus influenza par PCR sur fientes à deux reprises, une première fois en Espagne entre 2005 et 2007 où 2 individus sont revenus positifs sur les 147 testés (Pérez-Ramírez et al. 2010) et une seconde fois au Zimbabwe entre 2008 et 2010 où la

recherche s'est avérée négative sur les 166 fientes analysées (Caron et al. 2014). Les deux échantillons fécaux positifs pour l'influenza en Espagne ont été prélevés durant les mois de mai à juillet avec une température moyenne de 25°C et une humidité relative moyenne de 45% (Pérez-Ramírez et al. 2010), ce qui montre que les virus influenza peuvent survivre assez longtemps dans des conditions plus chaudes qu'à Biron-Orthez pour pouvoir être détectés par la suite. D'autre part, une étude suggère que l'excrétion fécale et l'excrétion respiratoire sont très faibles chez des hérons garde-bœufs qui ont été infectés expérimentalement avec une souche IAHP H5N1 (Phuong et al. 2011), ce qui peut expliquer l'absence de détection par PCR sur les fientes à prélevées dans l'étude. A ce jour, aucune autre étude n'a été portée spécifiquement sur la recherche d'APMV-1 par PCR sur des fientes de hérons garde-bœufs.

Rôle épidémiologique du Héron garde-bœufs dans les émergences d'IAHP de 2015-2016 et 2016-2017 en France

Par sa présence souvent rapportée près des élevages, le Héron garde-bœufs est une espèce considérée comme possible relais entre les oiseaux migrateurs et les volailles (Caron et al. 2014). Les hérons garde-bœufs ont déjà fait l'objet de recherches virus influenza aviaire qui se sont révélées positives à plusieurs reprises par PCR ou culture (Ahmed et al. 2017; Bárbara et al. 2017; Fadel, Afifi 2017; Pérez-Ramírez et al. 2010) et par sérologie (Musa et al. 2017). Les oiseaux positifs ne présentaient aucun signe clinique dans ces études. L'infection expérimentale par une souche hautement pathogène H5N1 suggère que les hérons garde-bœufs sont très sensibles au virus mais qu'ils ne constituent *a priori* pas un réservoir significatif du virus H5N1 inoculé car ils excrètent faiblement le virus par voies respiratoire et fécale et décèdent dans les sept jours suivant l'inoculation dans la majorité des cas (Phuong et al. 2011).

La recherche d'anticorps dirigés contre les virus influenza A aurait été une piste intéressante à étudier afin d'apporter davantage d'informations sur le rôle épidémiologique joué par le Héron garde-bœufs en 2015-2016 et en 2016-2017. Des analyses sérologiques réalisées chez des jeunes au nid permettraient d'avoir une idée de l'exposition de la mère dans le passé via la présence d'anticorps d'origine

maternelle. Théoriquement, il faut s'attendre à ce que la séroprévalence estimée chez les jeunes soit supérieure à la prévalence du pathogène chez les adultes et c'est par exemple le cas dans une étude portant sur l'influenza aviaire chez des goélands leucophées (*Larus michahellis*), dans laquelle une séroprévalence de 14% (n=95/678) a été obtenue par ELISA et une prévalence de 0,9% (n=2/228) a été obtenue par PCR (Pearce-Duvet et al. 2009). Toutefois, ces analyses sérologiques présentent les inconvénients de ne pas permettre d'identifier précisément les souches ni d'avoir une idée précise du moment de l'infection. La recherche négative d'influenza aviaire par PCR sur les fientes pour les trois sites à chacune des cinq dates de prélèvements entre mars et mai 2016 conforte l'idée que le Héron garde-bœufs n'aurait pas joué de rôle, en tout cas majeur, dans la dissémination de virus influenza lors de l'émergence d'IAHP en France en 2015-2016. L'hypothèse retenue pour expliquer l'origine de l'émergence d'IAHP de 2015-2016 repose sur la mutation et les réassortiments de souches faiblement pathogènes circulant à bas bruit de façon endémique dans les élevages de palmipèdes du Sud-Ouest en souches hautement pathogènes (Briand et al. 2018; Le Bouquin, Huneau-Salaün, Hamon, et al. 2016). Le faible niveau de biosécurité dans la filière palmipède identifié grâce aux enquêtes épidémiologiques, à savoir le mélange d'animaux de stades physiologiques différents, des durées de vide sanitaire trop courtes, l'absence de sas sanitaire dans certains élevages, des protocoles de nettoyage désinfection insuffisants et le manque de rigueur dans le nettoyage des véhicules de transport, a sans doute jouer un rôle primordial dans l'entretien et la diffusion de l'infection (Le Bouquin, Huneau-Salaün, Hamon, et al. 2016).

Les seuls prélèvements qui peuvent être temporellement reliés à l'émergence d'IAHP H5N8 de 2016-2017 sont ceux qui ont été réalisés à Peyssies le 14 novembre 2016, le 12 décembre 2016 et le 23 mars 2017. Ils se sont tous révélés négatifs par PCR pour la recherche d'influenza aviaire. Les mesures de surveillances épidémiologiques passive et active ont fourni des résultats complémentaires à notre étude. La surveillance active a concerné quant à elle 397 oiseaux sauvages en France, dont 29 hérons garde-bœufs, qui se sont tous révélés négatifs pour la recherche d'influenza aviaire par PCR (Van De Wiele et al. 2017, communication personnelle). Par le biais du réseau SAGIR, deux hérons garde-bœufs retrouvés morts ont été déclarés positifs à l'IAHP H5N8, le premier a été retrouvé dans les Landes le 23 janvier 2017 et le second dans le Lot-et-Garonne le 16 février 2017

(Van De Wiele et al. 2017), ce qui suggère une circulation du virus H5N8 dans la population de hérons garde-bœufs, qui pourrait agir comme une espèce relais dans la transmission virale. Toutefois il n'est pas possible de savoir si cette circulation est une cause ou une conséquence de l'infection de volailles en élevages.

Il apparaît que les hérons garde-bœufs et les oiseaux sauvages dans une plus grande mesure, n'ont pas joué de rôle majeur dans la dissémination d'IAHP en France en 2015-2016 et en 2016-2017, peu de cas ayant été déclarés dans l'avifaune sauvage en France contrairement à d'autres pays européens comme l'Allemagne. D'une manière plus globale, l'hypothèse de l'origine de l'épizootie d'IAHP de 2016-2017 qui a touché l'Europe se tourne vers l'introduction initiale de virus par des espèces migratrices originaires d'Asie, contaminant les espèces sauvages locales puis les espèces domestiques (Cauchard et al. 2017; Lee, Sharshov, et al. 2017; Van De Wiele et al. 2017). Dans un second temps, le manquement aux mesures de biosécurité malgré l'entrée en vigueur des arrêtés du 8 février 2016 et du 15 juillet 2016, notamment en ce qui concerne les mouvements d'animaux, de personnes et de véhicules, aurait joué un rôle prépondérant dans la propagation du virus en France (Bronner, Niqueux, et al. 2017), comme en témoigne la contamination des élevages de proche en proche et la formation de foyers secondaires à partir de foyers primaires résultant des mouvements nombreux et étroits dans la filière palmipède, majoritairement affectée par rapport aux élevages de galliformes.

Rôle épidémiologique du Héron garde-bœufs dans la transmission des virus de la maladie de Newcastle (APMV-1)

Aucune des analyses que nous avons réalisées n'est revenue positive en faveur d'APMV-1 par qRT-PCR. De même que pour l'influenza aviaire, il aurait été intéressant de réaliser des analyses sérologiques afin de préciser l'exposition des hérons garde-bœufs vis-à-vis des virus de la maladie de Newcastle. En France, le dernier foyer de maladie de Newcastle a été déclaré le 8 décembre 2017 et notifié le 22 décembre 2017 à l'OIE, il s'agissait d'un élevage de pigeons situé à Orchies (Nord) dont les 12000 pigeons ont été abattus (donnes EMPRES-i). La France n'avait pas connu de foyers de maladie de Newcastle en élevage depuis l'année

2010, seuls des cas enzootiques concernant la faune sauvage sont régulièrement déclarés, en particulier chez les Columbiformes (Guerry et al. 2014). L'isolement d'APMV-1 chez des hérons garde-bœufs a été rapporté en Chine en 2014 (Xiang et al. 2017) et en Espagne en 2013 dans un groupe de quatre oiseaux retrouvés morts (Napp et al. 2017). Les hérons garde-bœufs joueraient un rôle épidémiologique mineur dans la diffusion d'APMV-1 d'après l'auteur de cette dernière étude puisque l'infection et la mortalité retrouvées chez les quatre individus serait due à une transmission initiale par des tourterelles turques, retrouvées mortes en grand nombre et dont le rôle épidémiologique dans la dissémination d'APMV-1 serait majeur par rapport à celui des hérons garde-bœufs (Napp et al. 2017).

Détection de *Mycoplasma gallisepticum* et *Chlamydia* sp. dans des fientes de hérons garde-bœufs

Nos résultats rapportent la première détection de *M. gallisepticum* et la seconde détection de *Chlamydia* sp. chez le Héron garde-bœufs, avec 2 et 12 pools positifs respectivement (Tableau 7). Des bactéries *Chlamydia* sp. avaient été détectées auparavant chez des hérons garde-bœufs dans une étude comparant plusieurs méthodes diagnostiques sur des prélèvements d'organes (foie, cœur, poumons et rate) et de sang (El-Jakee et al. 2014) ; aucun écouvillon cloacal ni prélèvement n'avait cependant été étudié. La détection fécale suggère que les hérons garde-bœufs excrètent ces agents infectieux qui peuvent donc potentiellement infecter les volailles. Le fait que la séquence nucléotidique de *M. gallisepticum* identifiée corresponde à 100% à celles de souches de *M. gallisepticum* retrouvées chez des galliformes domestiques est un argument supplémentaire en faveur de cette hypothèse. Des infections à *M. gallisepticum* en élevage sont notifiées chaque année à l'OIE depuis 2012 en France (données OIE). Cette contamination pourrait aussi se faire dans l'autre sens : des hérons garde-bœufs pourraient aussi se contaminer à partir d'espèces domestiques ; ils s'infecteraient ainsi en fréquentant les élevages de galliformes. La transmission verticale de *M. gallisepticum* (Levisohn, Kleven 2000) rend la lutte difficile en élevage puisqu'il faut assainir la filière reproductrice en plus de respecter les mesures de biosécurité vis-à-vis des oiseaux sauvages, qui peuvent jouer un rôle dans l'entretien du cycle d'infection, à l'instar du Héron garde-bœufs.

Les valeurs de Ct obtenues étaient supérieures à 36 pour les deux pools positifs en qPCR (Tableau 8 de l'Annexe 3), ce qui représente une faible quantité de matériel génétique bactérien et ne permet donc pas de conclure avec certitude que les hérons excrètent suffisamment de bactéries pour présenter un risque pour les élevages. D'autres analyses de génotypage sont en cours afin de mieux caractériser les souches de *M. gallisepticum* et de préciser l'espèce de *Chlamydia* sp.. La précision de l'espèce de *Chlamydia* sp. est importante si on considère les nouvelles espèces récemment décrites, *C. avium*, *C. gallinacea* et *C. ibidis*, pour lesquelles le potentiel zoonotique est peu documenté (Sachse et al. 2014; Vorimore et al. 2013). Ces nouvelles espèces circulent dans l'avifaune sauvage, comme en témoigne la détection de *C. gallinacea* chez la Bécasse des bois (Jeong et al. 2017) et de *C. ibidis* chez l'Ibis sacré (Vorimore et al. 2013), ce qui pourrait être à l'origine d'émergences à l'avenir. La recherche de *M. gallisepticum* et de *Chlamydia* sp. par PCR sur fientes pourrait représenter une bonne façon de caractériser les contacts existants et les échanges de pathogènes entre l'avifaune sauvage et les espèces domestiques, au vu des résultats positifs que nous avons obtenus.

Importance de la biosécurité

La biosécurité est une notion introduite assez récemment. Elle a clairement été définie dans le règlement (UE) 2016/429 du Parlement Européen et du Conseil du 9 mars 2016 relatif aux maladies animales transmissibles et modifiant et abrogeant certains actes dans le domaine de la santé animale («législation sur la santé animale») comme « l'un des principaux outils de prévention à la disposition des opérateurs et des autres acteurs travaillant avec les animaux en vue d'empêcher l'introduction, le développement et la propagation des maladies animales transmissibles à destination, au départ et au sein d'une population animale ». Avant l'émergence d'IAHP en 2015-2016, le niveau de biosécurité était faible dans les élevages aviaires car aucune mesure n'était obligatoire en France. L'instauration de règles de biosécurité reposait ainsi sur le volontariat des éleveurs, qui pouvaient percevoir des indemnités en échange (Guériaux, Fediaevsky, Ferreira 2017). Depuis, l'arrêté du 8 février 2016 (modifié par l'arrêté du 15 juillet 2016) relatif aux mesures de biosécurité applicables dans les exploitations de volailles et d'autres

oiseaux captifs dans le cadre de la prévention contre l'influenza est entré en vigueur. Il impose aux éleveurs le déploiement d'un plan de maîtrise de la biosécurité qui repose entre autres sur une analyse de risque, la compartimentation de l'élevage avec des zones plus ou moins strictes d'accès (mouvements de personnes habilitées uniquement, sas sanitaire...), le respect des bonnes pratiques d'hygiène, un plan de nettoyage-désinfection et un plan de protection vis-à-vis de l'avifaune sauvage. Les mesures doivent être adaptées au risque évalué, par exemple en fonction de la proximité des élevages avec les zones de migration des oiseaux sauvages, de points d'eau et de foyers d'IAHP (Guériaux, Fediaevsky, Ferreira 2017). Le respect des mesures de biosécurité est primordial dans la lutte contre la transmission d'agents pathogènes par l'avifaune sauvage (Webster et al. 2006). En effet, il est éthiquement discutable voire impensable d'autoriser l'abattage d'oiseaux sauvages, sous réserve qu'ils représentent une menace épidémiologique pour les espèces domestiques. A ce titre, il est préférable et plus acceptable d'abattre les volailles pour endiguer la dissémination, comme c'est le cas de nos jours. Des exceptions existent cependant, comme pour l'ibis sacré, considéré comme une espèce représentant un risque sanitaire à cause de sa prolifération et de sa présence à proximité des élevages et pour lequel l'abattage a été autorisé en 2007 en France. Cela reste une exception car l'ibis sacré est classé comme espèce exotique invasive, bien que l'aspect éthique de l'abattage autorisé porte à discussion. Aucune affirmation concernant le rôle épidémiologique du Héron garde-bœufs ne peut être avancée à ce jour, c'est pourquoi il faut insister sur le respect des mesures de biosécurité pour diminuer au maximum le risque de transmission. Par comparaison avec l'ibis sacré, l'autorisation de l'abattage du Héron garde-bœufs n'est pas au goût du jour puisqu'il représente une espèce protégée en France (article 3 de l'arrêté du 29 octobre 2009).

Conclusion

Le premier objectif de ce travail était de préciser le rôle joué par les hérons garde-bœufs dans les deux épisodes d'IAHP que la France a connu en 2015-2016 et en 2016-2017. Tous les prélèvements fécaux analysés par PCR étaient négatifs pour la recherche d'ARN de virus influenza A. Cela suggère que la circulation virale était inexistante ou très faible au moment des prélèvements à Peyssies (printemps et automne 2016, printemps 2017), à Biron-Orthez (printemps 2016) et au lac de l'Aigue Longue (printemps 2016), bien que nous ne pouvons pas exclure que les virus aient pu être inactivés par les conditions environnementales ou que la méthode de détection sur fientes présente des défauts de sensibilité. Les résultats provenant des programmes de surveillances événementielle et programmée sont complémentaires à celle de notre étude et concordent pour dire que les hérons garde-bœufs n'ont pas contribué de façon majeure à la diffusion d'IAHP en France durant les épisodes de 2015-2016 et 2016-2017.

Notre travail a permis de révéler que les hérons garde-bœufs excrètent des bactéries *Chlamydia* sp. dans leurs fientes. D'autre part, nous relatons pour la première fois la présence de *Mycoplasma gallisepticum* chez le Héron garde-bœufs par PCR sur fientes récoltées au sol des héronnières. Le séquençage révèle une correspondance de 100% avec des souches de *M. gallisepticum* retrouvées chez les galliformes domestiques. Ces résultats suggèrent que la transmission horizontale de *M. gallisepticum* et de *Chlamydia* sp. aux espèces domestiques est possible via l'excrétion fécale. Il serait intéressant de mener des études pour approfondir le potentiel rôle des hérons garde-bœufs dans la propagation de ces agents infectieux bactériens au sein des élevages.

Bien que la problématique du rôle épidémiologique de l'avifaune sauvage existe et mérite d'être étudiée, celui-ci peut être minimisé en respectant des mesures de biosécurité, dont l'application est devenue obligatoire en élevage de volailles en France depuis l'entrée en vigueur de l'arrêté du 8 février 2016 modifié par l'arrêté du 15 juillet 2016.

AGREMENT SCIENTIFIQUE

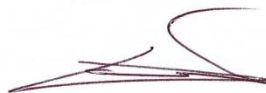
En vue de l'obtention du permis d'imprimer de la thèse de doctorat vétérinaire

Je soussigné, **Guillaume LE LOC'H**, Enseignant-chercheur, de l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse, directeur de thèse, certifie avoir examiné la thèse de **Albert PHOURATSAMAY** intitulée « **Précision du statut des hérons garde-Bœufs (*Bubulcus ibis*) présents dans le Sud-Ouest de la France en 2016 et 2017 vis-à-vis des virus de l'influenza aviaire, des virus de la maladie de Newcastle, de *Mycoplasma gallisepticum* et de *Chlamydia spp* » et que cette dernière peut être imprimée en vue de sa soutenance.**

Fait à Toulouse, le 8 octobre 2018
Docteur **Guillaume LE LOC'H**
Maître de Conférences
de l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse



Vu :
Le Président du jury :
Professeur **Christophe PASQUIER**



M. **Albert PHOURATSAMAY**
a été admis(e) sur concours en : 2013
a obtenu son diplôme d'études fondamentales vétérinaires le :
a validé son année d'approfondissement le : 06/09/2018
n'a plus aucun stage, ni enseignement optionnel à valider.

Vu :
La Directrice de l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse
Isabelle CHMITEL



Vu et autorisation de l'impression :
Président de l'Université
Paul Sabatier
Monsieur **Jean-Pierre VINEL**

Le Président de l'Université Paul Sabatier
par délégation,
La Vice-Présidente de la CFVU
Régine ANDRE-OBRECHT



Bibliographie

ABDULLAH, Muhammad, KHAN, Rashid A., RAFAY, Muhammad, HUSSAIN, Tanveer, RUBY, Tahira, REHMAN, Fariha, KHALIL, Sangam et AKHTAR, Sohail, 2017. Habitat Ecology and Breeding Performance of Cattle Egret (*Bubulcus ibis*) in Faisalabad, Pakistan. *Pakistan Journal of Zoology*. septembre 2017. Vol. 49, n° 5.

AFFRE, Gilbert et AFFRE, L., 1978. L'avifaune de l'étang de Capestang (Hérault). *Bulletin de l'Association Régionale Ornithologique du Midi et des Pyrénées*. janvier 1978. N° 1, pp. 1-9.

AGUIRRE, A. Alonso, MCLEAN, Robert G., COOK, Robert S. et QUAN, Thomas J., 1992. Serologic Survey for Selected Arboviruses and Other Potential Pathogens in Wildlife from Mexico. *Journal of Wildlife Diseases*. 1992. Vol. 28, n° 3, pp. 435-442.

AHMED, Basem M, EL-SHAZLY, Moustafa M, EL-SANOUSI, Ahmed A et YOUSSEF, Youssef I, 2017. Isolation of H5 Highly Pathogenic Avian Influenza Virus from Cattle Egret (*Bubulcus ibis*) near Affected Broiler Chicken Flocks in Egypt. *Journal of Virological Sciences*. 2017. Vol. 2, pp. 62-70.

ALEXANDER, D.J., 1995. The epidemiology and control of avian influenza and Newcastle disease. *Journal of Comparative Pathology*. février 1995. Vol. 112, n° 2, pp. 105-126.

ARENDT, Wayne J. et ARENDT, Angela I., 1988. Aspects of the Breeding Biology of the Cattle Egret (*Bubulcus ibis*) in Montserrat, West Indies, and Its Impact on Nest Vegetation. *Colonial Waterbirds*. 1988. Vol. 11, n° 1, pp. 72.

ARSEVSKA, Elene, MERCIER, Alizé, FALALA, Sylvain, NIQUEUX, Eric et CAUCHARD, Julien, 2016. Brève. Situation épidémiologique globale de l'influenza aviaire hautement pathogène (2015-2016). *Bulletin épidémiologique, santé animale et alimentation*. décembre 2016. N° 76, pp. 8-9.

BÁRBARA, Andreia, TORRONTEGI, Olalla, CAMACHO, Maria-Cruz, BARRAL, Marta, HERNÁNDEZ, Jose-Manuel et HÖFLE, Ursula, 2017. Avian Influenza Virus Surveillance in South-Central Spain Using Fecal Samples of Aquatic Birds Foraging at Landfills. *Frontiers in Veterinary Science*. 23 octobre 2017. Vol. 4, pp. 1-8.

BEERENS, Nancy, KOCH, Guus, HEUTINK, Rene, HARDERS, Frank, VRIES, D.P. Edwin, HO, Cynthia, BOSSERS, Alex et ELBERS, Armin, 2018. Novel Highly Pathogenic Avian Influenza A(H5N6) Virus in the Netherlands, December 2017. *Emerging Infectious Diseases*. avril 2018. Vol. 24, n° 4, pp. 770-773.

BEN YAHIA, Housseem, CHAIRAT, Sarra, HAMDJ, Nabil, GHARSA, Haythem, BEN SALLEM, Rym, CEBALLOS, Sara, TORRES, Carmen et BEN SLAMA, Karim, 2018. Antimicrobial resistance and genetic lineages of faecal enterococci of wild birds:

Emergence of vanA and vanB2 harbouring *Enterococcus faecalis*. *International Journal of Antimicrobial Agents*. mai 2018. DOI 10.1016/j.ijantimicag.2018.05.005.

BERNARD, Alain, 1985. Statut du héron gardeboeuf (*Bubulcus ibis*) dans l'Ain. *Le Bièvre*. 1985. Vol. 2, pp. 101-103.

BEVINS, S. N., DUSEK, R. J., WHITE, C. L., GIDLEWSKI, T., BODENSTEIN, B., MANSFIELD, K. G., DEBRUYN, P., KRAEGE, D., ROWAN, E., GILLIN, C., THOMAS, B., CHANDLER, S., BAROCH, J., SCHMIT, B., GRADY, M. J., MILLER, R. S., DREW, M. L., STOPAK, S., ZSCHEILE, B., BENNETT, J., SENGL, J., BRADY, Caroline, IP, H. S., SPACKMAN, E., KILLIAN, M. L., TORCHETTI, M. K., SLEEMAN, J. M. et DELIBERTO, T. J., 2016. Widespread detection of highly pathogenic H5 influenza viruses in wild birds from the Pacific Flyway of the United States. *Scientific Reports*. septembre 2016. Vol. 6, pp. 1-9.

BOREL, Nicole, POLKINGHORNE, Adam et POSPISCHIL, Andreas, 2018. A Review on Chlamydial Diseases in Animals: Still a Challenge for Pathologists? *Veterinary Pathology*. mai 2018. Vol. 55, n° 3, pp. 374-390.

BOUKHEMZA, Mohamed, DOUMANDJI, Salaheddine, VOISIN, Claire et VOISIN, Jean-François, 2000. Disponibilités des ressources alimentaires et leur utilisation par le héron garde-boeufs *Bubulcus ibis* en Kabylie, Algérie. *Revue d'Ecologie (La Terre et la Vie)*. 2000. Vol. 55, pp. 361-381.

BOURNEZ, Laure, LE BOUQUIN, Sophie, NIQUEUX, Eric, GUERRY, Isabelle et FEDIAEVSKY, Alexandre, 2015. *Cas d'Influenza aviaire hautement pathogène H5N1 en Dordogne* [en ligne]. 25 novembre 2015. [Consulté le 3 août 2018]. Disponible à l'adresse : <https://www.plateforme-esa.fr/article/cas-d-influenza-aviaire-hautement-pathogene-h5n1-en-dordogne>

BOUTIN, Jean, CHÉRAIN, Yves et VANDEWALLE, Philippe, 1991. Suivis de populations naturelles : compte-rendu ornithologique camarguais pour les années 1988-1989. *Revue d'Ecologie (La Terre et la Vie)*. 1991. Vol. 46, pp. 263-289.

BOUTIN, Jean et CHÉRAIN, Yves, 1989. Compte rendu ornithologique camarguais pour les années 1986-1987. *Revue d'Ecologie (La Terre et la Vie)*. 1989. Vol. 44, pp. 165-189.

BREDIN, Denis, 1984. Régime alimentaire du héron garde-boeufs à la limite de son expansion géographique. *Revue d'Ecologie (La Terre et la Vie)*. 1984. Vol. 39, pp. 431-445.

BREDIN, Denis, 1985. Première preuve de nidification du Héron Garde-Boeufs (*Bubulcus ibis*) en Charente-Maritime. *Alauda, Revue Internationale d'Ornithologie*. 1985. Vol. 53, n° 2, pp. 144-145.

BRIAND, François-Xavier, NIQUEUX, Eric, SCHMITZ, Audrey, HIRCHAUD, Edouard, QUENAULT, Hélène, ALLÉE, Chantal, LE PRIOUX, Aurélie, GUILLOU-CLOAREC, Cécile, OGOR, Katell, LE BRAS, Marie-Odile, GARES, Hélène, DANIEL, Patrick, FEDIAEVSKY, Alexandre, MARTENOT, Claire, MASSIN, Pascale, LE BOUQUIN, Sophie, BLANCHARD, Yannick et ETERRADOSSI, Nicolas, 2018.

Emergence and multiple reassortments of French 2015–2016 highly pathogenic H5 avian influenza viruses. *Infection, Genetics and Evolution*. juillet 2018. Vol. 61, pp. 208-214.

BRIAND, François-Xavier, SCHMITZ, Audrey, OGOR, Katell, LE PRIOUX, Aurélie, GUILLOU-CLOAREC, Cécile, GUILLEMOTO, Carole, ALLÉE, Chantal, LE BRAS, Marie-Odile, HIRCHAUD, Edouard, QUENAULT, Hélène, TOUZAIN, Fabrice, CHERBONNEL-PANSART, Martine, LEMAITRE, Evelyne, COURTILLON, Céline, GARES, Hélène, DANIEL, Patrick, FEDIAEVSKY, Alexandre, MASSIN, Pascale, BLANCHARD, Yannick, ETERRADOSSI, Nicolas, VAN DER WERF, Sylvie, JESTIN, Véronique et NIQUEUX, Eric, 2017. Emerging highly pathogenic H5 avian influenza viruses in France during winter 2015/16: phylogenetic analyses and markers for zoonotic potential. *Eurosurveillance*. 2 mars 2017. Vol. 22, n° 9, pp. 1-11.

BRONNER, Anne, CALAVAS, Didier, CAUCHARD, Julien, FALALA, Sylvain, HENDRIKX, Pascal, MERCIER, Alizé, GAIDET, Nicolas, NIQUEUX, Eric et VAN DE WIELE, Anne, 2017. *Situation épidémiologique des virus IAHP issus du clade 2.3.4.4 en Europe : point de situation au 17/09/2017 inclus* [en ligne]. 20 septembre 2017. [Consulté le 8 août 2018]. Disponible à l'adresse : <https://www.plateforme-esa.fr/article/situation-epidemiologique-des-virus-iahp-issus-du-clade-2344-en-europe-point-de-situation-5>

BRONNER, Anne, CALAVAS, Didier, CAUCHARD, Julien, FALALA, Sylvain, MERCIER, Alizé et VAN DE WIELE, Anne, 2018. *Situation épidémiologique des virus IAHP issus du clade 2.3.4.4 en Europe au 18 juillet 2018* [en ligne]. 23 juillet 2018. [Consulté le 8 août 2018]. Disponible à l'adresse : <https://www.plateforme-esa.fr/article/situation-epidemiologique-des-virus-iahp-issus-du-clade-2344-en-europe-au-18-juillet-2018>

BRONNER, Anne, CALAVAS, Didier, CAUCHARD, Julien, HENDRIKX, Pascal et MERCIER, Alizé, 2017. *Virus IAHP H5N6 détecté aux Pays-Bas* [en ligne]. 11 décembre 2017. [Consulté le 8 août 2018]. Disponible à l'adresse : <https://www.plateforme-esa.fr/article/virus-iahp-h5n6-detecte-aux-pays-bas>

BRONNER, Anne, MOISSON, Marie-Cécile, CALAVAS, Didier, HENDRIKX, Pascal, PAUL, Mathilde, GUINAT, Claire, JABERT, Pierre, GERBIER, Guillaume, SAUSSAC, Mathilde, DURAND, Benoît et COURCOUL, Aurélie, 2017. *Influenza aviaire hautement pathogène en France en lien avec le virus H5N8 : premiers éléments d'interprétation épidémioclinique* [en ligne]. 16 mars 2017. [Consulté le 10 août 2018]. Disponible à l'adresse : <https://www.plateforme-esa.fr/article/influenza-aviaire-hautement-pathogene-en-france-en-lien-avec-le-virus-h5n8-premiers-elements>

BRONNER, Anne, NIQUEUX, Eric, SCHMITZ, Audrey, LE BOUQUIN, Sophie, HUNEAU-SALAÜN, Adeline, GUINAT, Claire, PAUL, Mathilde, COURCOUL, Aurélie et DURAND, Benoît, 2017. Description de l'épisode d'influenza aviaire hautement pathogène en France en 2016-2017. *Bulletin épidémiologique, santé animale et alimentation*. juillet 2017. N° 79, pp. 13-17.

BRUGIÈRE, Dominique et ROCHE, Pascal, 1993. Nidification du Héron gardeboeuf (*Bubulcus ibis*) dans le Val d'Allier et le bassin de la Garonne, France. *Nos Oiseaux*. 1993. Vol. 42, pp. 71-78.

BURGER, Joanna et GOCHFELD, Michael, 1983. Behavior of Nine Avian Species at a Florida Garbage Dump. *Colonial Waterbirds*. 1983. Vol. 6, pp. 54-63.

CALLAWAY, Todd R., EDRINGTON, Tom S. et NISBET, David J., 2014. Isolation of *Escherichia coli* O157:H7 and *Salmonella* from Migratory Brown-Headed Cowbirds (*Molothrus ater*), Common Grackles (*Quiscalus quiscula*), and Cattle Egrets (*Bubulcus ibis*). *Foodborne Pathogens and Disease*. octobre 2014. Vol. 11, n° 10, pp. 791-794.

CAPPELLE, Julien, ZHAO, Delong, GILBERT, Marius, NELSON, Martha I., NEWMAN, Scott H., TAKEKAWA, John Y., GAIDET, Nicolas, PROSSER, Diann J., LIU, Ying, LI, Peng, SHU, Yuelong et XIAO, Xiangming, 2014. Risks of Avian Influenza Transmission in Areas of Intensive Free-Ranging Duck Production with Wild Waterfowl. *EcoHealth*. mars 2014. Vol. 11, n° 1, pp. 109-119.

CARLON, Jacques, 1985. Premières nidifications du Héron Garde-boeufs (*Bubulcus ibis*), du Goéland leucophée (*Larus cachinnans*) et du Héron cendré (*Ardea cinerea*) au pied des Pyrénées. *Alauda, Revue Internationale d'Ornithologie*. 1985. Vol. 53, pp. 64-65.

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

CAUCHARD, Julien, MERCIER, Alizé, FALALA, Sylvain et BOURNEZ, Laure, 2016. *Recrudescence de foyers d'IAHP H5N8 en Europe en octobre et novembre 2016* [en ligne]. 10 novembre 2016. [Consulté le 7 août 2018]. Disponible à l'adresse : <https://www.plateforme-esa.fr/article/recrudescence-de-foyers-d-iahp-h5n8-en-europe-en-octobre-et-novembre-2016>

CAUCHARD, Julien, MERCIER, Alizé, VAN DE WIELE, Anne, GUILLEMAIN, Matthieu, BRONNER, Anne et CALAVAS, Didier, 2017. Épisode d'influenza aviaire hautement pathogène en Europe en 2016-2017. *Bulletin épidémiologique, santé animale et alimentation*. juillet 2017. N° 79, pp. 22-26.

CENTERS FOR DISEASE CONTROL AND PREVENTION, 2017a. *Types of Influenza Viruses* [en ligne]. 27 septembre 2017. [Consulté le 23 août 2018]. Disponible à l'adresse : <https://www.cdc.gov/flu/about/viruses/types.htm>

CENTERS FOR DISEASE CONTROL AND PREVENTION, 2017b. *Influenza Type A Viruses* [en ligne]. 19 avril 2017. [Consulté le 23 août 2018]. Disponible à l'adresse : <https://www.cdc.gov/flu/avianflu/influenza-a-virus-subtypes.htm>

CHEN, H., DENG, G., LI, Z., TIAN, G., LI, Y., JIAO, P., ZHANG, L., LIU, Z., WEBSTER, Robert G. et YU, K., 2004. The evolution of H5N1 influenza viruses in

ducks in southern China. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 13 juillet 2004. Vol. 101, n° 28, pp. 10452-10457.

CHRISTENSEN, N. H., YAVARI, Christine A., MCBAIN, A. J. et BRADBURY, Janet M., 1994. Investigations into the survival of *Mycoplasma gallisepticum*, *Mycoplasma synoviae* and *Mycoplasma iowae* on materials found in the poultry house environment. *Avian Pathology*. mars 1994. Vol. 23, n° 1, pp. 127-143.

CORN, Joseph L., BARRÉ, Nicolas, THIEBOT, Benoit, CREEKMORE, Terry E., GARRIS, Glen I. et NETTLES, Victor F., 1993. Potential Role of Cattle Egrets, *Bubulcus ibis* (Ciconiformes: Ardeidae), in the Dissemination of *Amblyomma variegatum* (Acari: Ixodidae) in the Eastern Caribbean. *Journal of Medical Entomology*. 1 novembre 1993. Vol. 30, n° 6, pp. 1029-1037.

COWLING, David W., GARDNER, Ian A. et JOHNSON, Wesley O., 1999. Comparison of methods for estimation of individual-level prevalence based on pooled samples. *Preventive Veterinary Medicine*. avril 1999. Vol. 39, n° 3, pp. 211-225.

CRAVEN, S. E., STERN, N. J., LINE, E., BAILEY, J. S., COX, N. A. et FEDORKA-CRAY, P., 2000. Determination of the Incidence of *Salmonella* spp., *Campylobacter jejuni*, and *Clostridium perfringens* in Wild Birds near Broiler Chicken Houses by Sampling Intestinal Droppings. *Avian Diseases*. juillet 2000. Vol. 44, n° 3, pp. 715-720.

CUSTER, Thomas W. et OSBORN, Ronald G., 1978. Feeding Habitat Use by Colonially-Breeding Herons, Egrets, and Ibises in North Carolina. *The Auk*. 1978. Vol. 95, pp. 733-743.

DAVIS-FIELDS, Megan K., ALLISON, Andrew B., BROWN, Justin R., POULSON, Rebecca L. et STALLKNECHT, David E., 2014. Effects of Temperature and pH on the Persistence of Avian Paramyxovirus-1 in Water. *Journal of Wildlife Diseases*. octobre 2014. Vol. 50, n° 4, pp. 998-1000.

DE BENEDICTIS, P., BEATO, M. S. et CAPUA, I., 2007. Inactivation of Avian Influenza Viruses by Chemical Agents and Physical Conditions: A Review: Disinfectants against Avian Influenza Virus. *Zoonoses and Public Health*. 23 février 2007. Vol. 54, n° 2, pp. 51-68.

DE JONG, J.C., CLAAS, E. C. J., OSTERHAUS, Albert D. M. E., WEBSTER, Robert G. et LIM, W. L., 1997. A pandemic warning? *Nature*. 9 octobre 1997. Vol. 389, pp. 554.

DESCHUYFFELEER, Thomas P.G., TYBERGHIEN, Laurens F.V., DICKX, Veerle L.C., GEENS, Tom, SAELEN, Jacques M.M.M., VANROMPAY, Daisy C.G. et BRAECKMAN, Lutgard A.C.M., 2012. Risk Assessment and Management of *Chlamydia psittaci* in Poultry Processing Plants. *The Annals of Occupational Hygiene*. 1 avril 2012. Vol. 56, n° 3, pp. 340-349.

DINSMORE, James J., 1973. Foraging Success of Cattle Egrets, *Bubulcus ibis*. *American Midland Naturalist*. janvier 1973. Vol. 89, n° 1, pp. 242-246.

DOMANSKA-BLICHARZ, Katarzyna, MINTA, Zenon, SMIETANKA, Krzysztof, MARCHÉ, Sylvie et VAN DEN BERG, Thierry, 2010. H5N1 High Pathogenicity Avian Influenza Virus Survival in Different Types of Water. *Avian Diseases*. 2010. Vol. 54, pp. 734-737.

DONATI, Manuela, LAROUCAU, Karine, GUERRINI, Alessandro, BALBONI, Andrea, SALVATORE, Daniela, CATELLI, Elena, LUPINI, Caterina, LEVI, Aurora et DI FRANCESCO, Antonietta, 2018. Chlamydiosis in Backyard Chickens (*Gallus gallus*) in Italy. *Vector-Borne and Zoonotic Diseases*. avril 2018. Vol. 18, n° 4, pp. 222-225.

DUAN, Lian, ZHU, Huachen, WANG, Jia, HUANG, Kai, CHEUNG, Chung-Lam, PEIRIS, Joseph Sriyal Malik, CHEN, Honglin et GUAN, Yi, 2011. Influenza virus surveillance in migratory ducks and sentinel ducks at Poyang Lake, China. *Influenza and Other Respiratory Viruses*. mai 2011. Vol. 5, pp. 65-68.

DUQUET, Marc et MAURIN, Hervé, 1992. *Inventaire de la faune de France : vertébrés et principaux invertébrés*. 1ère édition. Paris : Nathan & MNHN. ISBN 978-2-09-260404-5.

EHRICHT, Ralf, SLICKERS, Peter, GOELLNER, Stefanie, HOTZEL, Helmut et SACHSE, Konrad, 2006. Optimized DNA microarray assay allows detection and genotyping of single PCR-amplifiable target copies. *Molecular and Cellular Probes*. février 2006. Vol. 20, n° 1, pp. 60-63.

EL-JAKEE, Jakeen K., OSMAN, Kamelia M., EZZELDEEN, Nashwa A., ALI, Hadia A. et MOSTAFA, Eman R., 2014. Chlamydia species in free-living Cattle Egret (*Bubulcus ibis*) and Hoopoe (*Upupa epops*) in Egypt. *International Journal of Veterinary Science and Medicine*. juin 2014. Vol. 2, n° 1, pp. 1-6.

FADEL, Hanaa Mohamed et AFIFI, Rabab, 2017. Investigation of avian influenza infection in wild birds in Ismailia and Damietta cities, Egypt. *Veterinary World*. juin 2017. Vol. 10, pp. 695-701.

FAGBOHUN, O.A., OWOADE, A.A., OLUWAYELU, D.O. et OLAYEMI, F.O., 2000. Serological Survey of Infectious Bursal Disease Virus Antibodies in Cattle Egrets, Pigeons and Nigerian Laughing Doves. *African Journal of Biomedical Research*. 2000. Vol. 3, pp. 191-192.

FERENCZI, Marta, BECKMANN, Christa, WARNER, Simone, LOYN, Richard, O'RILEY, Kim, WANG, Xinlong et KLAASSEN, Marcel, 2016. Avian influenza infection dynamics under variable climatic conditions, viral prevalence is rainfall driven in waterfowl from temperate, South-East Australia. *Veterinary Research*. décembre 2016. Vol. 47, n° 23.

FRANCHIMONT, Jacques, 1986a. Les lieux d'alimentation du héron gardeboeuf (*Bubulcus ibis*) dans le Nord-Ouest Marocain. *Aves*. 1986. Vol. 23, n° 4, pp. 216-224.

FRANCHIMONT, Jacques, 1986b. Les causes de l'expansion géographique mondiale du Héron garde-boeuf (*Bubulcus ibis* L.). *Cahiers d'Ethologie appliquée*. 1986. Vol. 6, n° 4, pp. 373-388.

FUSARO, Alice, MONNE, Isabella, MULATTI, Paolo, ZECCHIN, Bianca, BONFANTI, Lebona, ORMELLI, Silvia, MILANI, Adelaide, CECCHETTIN, Krizia, LEMEY, Philippe, MORENO, Ana, MASSI, Paola, DOROTEA, Tiziano, MARANGON, Stefano et TERREGINO, Calogero, 2017. Genetic Diversity of Highly Pathogenic Avian Influenza A(H5N8/H5N5) Viruses in Italy, 2016–17. *Emerging Infectious Diseases*. septembre 2017. Vol. 23, n° 9, pp. 1543-1547.

GAIDET, Nicolas, CAPPELLE, Julien, TAKEKAWA, John Y., PROSSER, Diann J., IVERSON, Samuel A., DOUGLAS, David C., PERRY, William M., MUNDKUR, Taej et NEWMAN, Scott H., 2010. Potential spread of highly pathogenic avian influenza H5N1 by wildfowl: dispersal ranges and rates determined from large-scale satellite telemetry. *Journal of Applied Ecology*. octobre 2010. Vol. 47, n° 5, pp. 1147-1157.

GLOBIG, Anja, STAUBACH, Christoph, SAUTER-LOUIS, Carola, DIETZE, Klaas, HOMEIER-BACHMANN, Timo, PROBST, Carolina, GETHMANN, Jörn, DEPNER, Klaus R., GRUND, Christian, HARDER, Timm C., STARICK, Eike, POHLMANN, Anne, HÖPER, Dirk, BEER, Martin, METTENLEITER, Thomas C. et CONRATHS, Franz J., 2018. Highly Pathogenic Avian Influenza H5N8 Clade 2.3.4.4b in Germany in 2016/2017. *Frontiers in Veterinary Science*. 24 janvier 2018. Vol. 4, pp. 1-8.

GOHM, Daniela S., THÜR, Barbara et HOFMANN, M. A., 2000. Detection of Newcastle disease virus in organs and faeces of experimentally infected chickens using RT-PCR. *Avian Pathology*. avril 2000. Vol. 29, n° 2, pp. 143-152.

G.O.L.A. (Collectif), 1987. Synthèse des observations transmises aux fichiers, pré-nuptial-nidification-estivage. *Bulletin du Groupe Ornithologique de Loire-Atlantique*. 1987. N° 8, pp. 4-56.

GONIN, Christian, 1988. Actualités ornithologiques de Janvier à Décembre 1987. *La Gorgebleue*. 1988. N° 8, pp. 57-94.

GONIN, Christian, 1991. Actualités ornithologiques de Janvier 1990 à Juin 1991. *La Gorgebleue*. 1991. N° 11, pp. 27-77.

GONIN, Christian, 1992. Actualités ornithologiques de Juillet 1991 à Juin 1992. *La Gorgebleue*. 1992. N° 12, pp. 39-78.

GUÉRIAUX, Didier, FEDIAEVSKY, Alexandre et FERREIRA, Bruno, 2017. La biosécurité : investissement d'avenir pour les élevages français. *Bulletin de l'Académie Vétérinaire de France*. 2017. Vol. 170, n° 2, pp. 112-117.

GUERRY, Isabelle, HAMON, Manon, NIQUEUX, Eric, LE BOUQUIN, Sophie, CALAVAS, Didier, BRONNER, Anne, HENDRIKX, Pascal et FEDIAEVSKY, Alexandre, 2015. *Trois foyers d'influenza aviaire hautement pathogène détectés en France* [en ligne]. 2 décembre 2015. [Consulté le 3 août 2018]. Disponible à

l'adresse : <https://www.plateforme-esa.fr/article/trois-foyers-d-influenza-aviaire-hautement-pathogene-detectes-en-france>

GUERRY, Isabelle, SCHMITZ, Audrey, RAUTUREAU, Séverine, NIQUEUX, Eric, BRIAND, François-Xavier et JESTIN, Véronique, 2014. Bilan de la surveillance de l'*Influenza* aviaire et de la maladie de Newcastle en France en 2014. *Bulletin épidémiologique, santé animale et alimentation*. 2014. N° 71, pp. 59-65.

GUO, Weina, LI, Jing, KALTENBOECK, Bernhard, GONG, Jiansen, FAN, Weixing et WANG, Chengming, 2016. *Chlamydia gallinacea*, not *C. psittaci*, is the endemic chlamydial species in chicken (*Gallus gallus*). *Scientific Reports*. avril 2016. Vol. 6, n° 1, pp. 19638.

HAFNER, Heinz, JOHNSON, Alan et WALMSLEY, John, 1979. Compte rendu ornithologique camarguais pour les années 1976 et 1977. *Revue d'Ecologie (La Terre et la Vie)*. 1979. Vol. 33, pp. 307-324.

HAFNER, Heinz, JOHNSON, Alan et WALMSLEY, John, 1980. Compte rendu ornithologique camarguais pour les années 1978 et 1979. *Revue d'Ecologie (La Terre et la Vie)*. 1980. Vol. 34, pp. 621-647.

HAFNER, Heinz, JOHNSON, Alan et WALMSLEY, John, 1982. Compte rendu ornithologique camarguais pour les années 1980 et 1981. *Revue d'Ecologie (La Terre et la Vie)*. 1982. Vol. 36, pp. 573-601.

HAFNER, Heinz, JOHNSON, Alan et WALMSLEY, John, 1985. Compte rendu ornithologique camarguais pour les années 1982 et 1983. *Revue d'Ecologie (La Terre et la Vie)*. 1985. Vol. 40, pp. 88-112.

HAFNER, Heinz, PINEAU, Olivier et WALLACE, Jonathan P., 1992. The effects of winter climate on the size of the cattle egret (*Bubulcus ibis* L.) population in the Camargue. *Revue d'Ecologie (La Terre et la Vie)*. 1992. Vol. 47, pp. 403-410.

HAFNER, Heinz, 1970a. La reproduction des Ardéidés en Camargue en 1968 et 1969. *Revue d'Ecologie (La Terre et la Vie)*. 1970. N° 4, pp. 580-593.

HAFNER, Heinz, 1970b. A propos d'une population de hérons garde-bœufs *Ardeola ibis* en Camargue. *Alauda, Revue Internationale d'Ornithologie*. 1970. Vol. 38, n° 4, pp. 249-254.

HAFNER, Heinz, 1973. Compte rendu ornithologique pour les années 1970 et 1971. *Revue d'Ecologie (La Terre et la Vie)*. 1973. Vol. 27, pp. 85-94.

HAFNER, Heinz, 1977. *Contribution à l'étude écologique de quatre espèces de hérons*: *Egretta garzetta* L., *Ardeola ralloïdes* Scop., *Ardeola ibis* L., *Nycticorax nycticorax* L. pendant leur nidification en Camargue. Thèse de doctorat en zoologie. Université Paul Sabatier Toulouse 3.

HAFNER, Heinz, 1978. Le succès de reproduction de quatre espèces d'Ardéidés *Egretta G. garzetta* L., *Ardeola R. ralloïdes* Scop., *Ardeola I. ibis* L., *Nycticorax N.*

nycticorax L. en Camargue. *Revue d'Ecologie (La Terre et la Vie)*. 1978. Vol. 32, pp. 279-289.

HAFNER, Heinz, 1980. Etude écologique des colonies de hérons arboricoles (*Egretta g. garzetta* L., *Ardeola r. ralloides* Scop., *Ardeola i. ibis* L., *Nycticorax n. nycticorax* L.) en Camargue. *Bonner Zoologische Beiträge*. 1980. Vol. 31, pp. 249-287.

HEATWOLE, Harold, 1965. Some aspects of the association of cattle egrets with cattle. *Animal Behaviour*. janvier 1965. Vol. 13, n° 1, pp. 79-83.

HESTERBERG, Uta, HARRIS, Kate, STROUD, David, GUBERTI, Vittorio, BUSANI, Luca, PITTMAN, Maria, PIAZZA, Valentina, COOK, Alasdair et BROWN, Ian, 2009. Avian influenza surveillance in wild birds in the European Union in 2006. *Influenza and Other Respiratory Viruses*. janvier 2009. Vol. 3, pp. 1-14.

HILL, Nichola J., TAKEKAWA, John Y., ACKERMAN, Joshua T., HOBSON, Keith A., HERRING, Garth, CARDONA, Carol J., RUNSTADLER, Jonathan A. et BOYCE, Walter M., 2012. Migration strategy affects avian influenza dynamics in mallards (*Anas platyrhynchos*). *Molecular Ecology*. décembre 2012. Vol. 21, n° 24, pp. 5986-5999.

HOOGSTRAAL, Harry, KINGSTON, J. R., WORK, T. H., HURLBUT, H. S. et TAYLOR, R. M., 1966. Arboviruses Isolated from Argas Ticks in Egypt: Quarantil, Chenuda, and Nyamanini. *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*. 1 janvier 1966. Vol. 15, n° 1, pp. 76-86.

HUNEAU-SALAÜN, Adeline, HAMON, Manon, SAUSSAC, Mathilde, NIQUEUX, Eric, SCOIZEC, Axelle, SCHMITZ, Audrey, BRIAND, François-Xavier, MICHEL, Virginie, FEDIAEVSKY, Alexandre, CALAVAS, Didier, HENDRIKX, Pascal, BRONNER, Anne et LE BOUQUIN, Sophie, 2016. *Résultats de la surveillance de l'influenza aviaire H5 HP en France - Point de situation-8 au 18/04/2016* [en ligne]. 24 avril 2016. [Consulté le 3 août 2018]. Disponible à l'adresse : <https://www.pplateforme-esa.fr/article/resultats-de-la-surveillance-de-l-influenza-aviaire-h5-hp-en-france-point-de-situation-8-au>

HUNEAU-SALAÜN, Adeline, MOISSON, Marie-Cécile, HAMON, Manon, NIQUEUX, Eric, SCOIZEC, Axelle, SCHMITZ, Audrey, BRIAND, François-Xavier, MICHEL, Virginie, FEDIAEVSKY, Alexandre, CALAVAS, Didier, HENDRIKX, Pascal, LE BOUQUIN, Sophie et BRONNER, Anne, 2016. *Résultats de la surveillance de l'influenza aviaire en France au 07/10/2016 - Synthèse de la surveillance réalisée dans le cadre de la levée de la zone de restriction* [en ligne]. 14 octobre 2016. [Consulté le 3 août 2018]. Disponible à l'adresse : <https://www.pplateforme-esa.fr/article/resultats-de-la-surveillance-de-l-influenza-aviaire-en-france-au-07102016-synthese-de-la>

HUNEAU-SALAÜN, Adeline, MOISSON, Marie-Cécile, HAMON, Manon, NIQUEUX, Eric, SCOIZEC, Axelle, SCHMITZ, Audrey, BRIAND, François-Xavier, MICHEL, Virginie, FEDIAEVSKY, Alexandre, LE BOUQUIN, Sophie et BRONNER, Anne, 2016. *Résultats de la surveillance de l'influenza aviaire H5 HP en France Point de situation-12 au 13/06/2016* [en ligne]. 20 juin 2016. [Consulté le 3 août 2018].

Disponible à l'adresse : <https://www.plateforme-esa.fr/article/resultats-de-la-surveillance-de-l-influenza-aviaire-h5-hp-en-france-point-de-situation-12-au>

JARQUIN, Robin, SCHULTZ, Joseph, HANNING, Irene et RICKE, Steven C., 2009. Development of a Real-Time Polymerase Chain Reaction Assay for The Simultaneous Detection of *Mycoplasma gallisepticum* and *Mycoplasma synoviae* Under Industry Conditions. *Avian Diseases*. mars 2009. Vol. 53, n° 1, pp. 73-77.

JENNI, Donald A., 1969. A Study of the Ecology of Four Species of Herons during the Breeding Season at Lake Alice, Alachua County, Florida. *Ecological Monographs*. février 1969. Vol. 39, pp. 245-270.

JEONG, Jipseol, AN, Injung, OEM, Jae-Ku, WANG, Seung-Jun, KIM, Yongkwan, SHIN, Jeong-Hwa, WOO, Chanjin, KIM, Youngsik, JO, Seong-Deok, SON, Kidong, LEE, Saemi et JHEONG, Weonhwa, 2017. Molecular prevalence and genotyping of *Chlamydia* spp. in wild birds from South Korea. *Journal of Veterinary Medical Science*. 2017. Vol. 79, n° 7, pp. 1204-1209.

JOURDAIN, Elsa, TOUSSAINT, Y., LEBLOND, A., BICOUT, D.J., SABATIER, Philippe et GAUTHIER-CLERC, Michel, 2007. Bird Species Potentially Involved in Introduction, Amplification, And Spread of West Nile Virus in A Mediterranean Wetland, The Camargue (Southern France). *Vector-Borne and Zoonotic Diseases*. mars 2007. Vol. 7, n° 1, pp. 15-33.

JOURDAIN, Elsa, ZELLER, Hervé G., SABATIER, Philippe, MURRI, Séverine, KAYSER, Yves, GREENLAND, Timothy, LAFAYE, Murielle et GAUTHIER-CLERC, Michel, 2008. Prevalence of West Nile Virus Neutralizing Antibodies in Wild Birds from the Camargue Area, Southern France. *Journal of Wildlife Diseases*. juillet 2008. Vol. 44, n° 3, pp. 766-771.

KALETA, E. F. et TADAY, Eva M. A., 2003. Avian host range of *Chlamydophila* spp. based on isolation, antigen detection and serology. *Avian Pathology*. octobre 2003. Vol. 32, n° 5, pp. 435-462.

KAPCZYNSKI, Darrell R., AFONSO, Claudio L. et MILLER, Patti J., 2013. Immune responses of poultry to Newcastle disease virus. *Developmental & Comparative Immunology*. novembre 2013. Vol. 41, n° 3, pp. 447-453.

KASSAIFY, Zeina G., EL HAKIM, Rindala G., RAYYA, Edward G., SHAIB, Houssam A. et BARBOUR, Elie K., 2007. Preliminary study on the efficacy and safety of eight individual and blended disinfectants against poultry and dairy indicator organisms. *Veterinari Italiana*. 2007. Vol. 43, n° 4, pp. 821-830.

KAYSER, Yves, BLANCHON, Thomas, GALEWSKI, Thomas, GAUTHIER-CLERC, Michel, POULIN, Brigitte, THIBAUT, Marc, MASSEZ, Grégoire, TINÉ, Rémi, CHÉRAIN, Yves, VANDEWALLE, Philippe, VIALET, Emmanuel, PAULUS, Guillaume, PONCHON, Cécile, VINCENT-MARTIN, Nicolas, PILARD, Philippe, FLITTI, Amine, ISENMANN, Paul et BÉCHET, Arnaud, 2014. *Compte-rendu ornithologique Camargue-Crau-Alpilles pour les années 2007-2012*. Réserve Nationale de Camargue : Tour du Valat & SNPN. ISBN 2-310368-61-0.

KAYSER, Yves, GAUTHIER-CLERC, Michel, BÉCHET, Arnaud, POULIN, Brigitte, MASSEZ, Grégoire, CHÉRAIN, Yves, PAOLI, Jérôme, SADOUL, Nicolas, VIALET, Emmanuel, PAULUS, Guillaume, VINCENT-MARTIN, Nicolas, PILARD, Philippe et ISENMANN, Paul, 2008. Compte rendu ornithologique camarguais pour les années 2001-2006. *Revue d'Ecologie (La Terre et la Vie)*. 2008. Vol. 63, pp. 299-349.

KAYSER, Yves, GIRARD, Cyril, MASSEZ, Grégoire, CHÉRAIN, Yves, COHEZ, Damien, HAFNER, Heinz, JOHNSON, Alan, SADOUL, Nicolas, TAMISIER, Alain et ISENMANN, Paul, 2003. Compte-rendu ornithologique camarguais pour les années 1995-2000. *Revue d'Ecologie (La Terre et la Vie)*. 2003. Vol. 58, pp. 5-76.

KHAN, Mudassar, MOHAMMAD, Ashiq, AHAD, Karam, KATSOYIANNIS, Athanasios, MALIK, Salman Akbar, ABDULLAHA, Muhammad, RASHID, Azhar, FASOLA, Mauro, HUSSAIN, Alamdar, BOKHARI, Habib et EQANI, Syed Ali Musstjab Akber Shah, 2014. Cattle egrets as a biosentinels of persistent organic pollutants exposure. *Environmental Geochemistry and Health*. juin 2014. Vol. 36, n° 3, pp. 375-384.

KOEHLER, Anson V., PEARCE, John M., FLINT, Paul L., FRANSON, J. Christian et IP, Hon S., 2008. Genetic evidence of intercontinental movement of avian influenza in a migratory bird: the northern pintail (*Anas acuta*). *Molecular Ecology*. novembre 2008. Vol. 17, n° 21, pp. 4754-4762.

KREBS, Elizabeth A., HUNTE, Wayne et GREEN, David J., 2004. Plume Variation, Breeding Performance and Extra-Pair Copulations in the Cattle Egret. *Behaviour*. 1 avril 2004. Vol. 141, n° 4, pp. 479-499.

LADMAN, B S, DRISCOLL, C P, POPE, C R, SLEMONS, R D et JR, J Gelb, 2010. Potential of Low Pathogenicity Avian Influenza Viruses of Wild Bird Origin to Establish Experimental Infections in Turkeys and Chickens. *Avian Diseases*. 2010. Vol. 54, pp. 1091-1094.

LE BOUQUIN, Sophie, HUNEAU-SALAÛN, Adeline, HAMON, Manon, MOISSON, Marie-Cécile, SCOIZEC, Axelle, NIQUEUX, Eric, SCHMITZ, Audrey, BRIAND, François-Xavier, VAN DE WIELE, Anne et BRONNER, Anne, 2016. L'épisode d'influenza aviaire en France en 2015-2016 – Situation épidémiologique au 30 juin 2016. *Bulletin épidémiologique, santé animale et alimentation*. septembre 2016. N° 75, pp. 2-8.

LE BOUQUIN, Sophie, HUNEAU-SALAÛN, Adeline, SOUILLARD, Rozenn, HAMON, Manon, SAUSSAC, Mathilde, BOURNEZ, Laure, NIQUEUX, Eric, SCHMITZ, Audrey, TOUX, Jean-Yves, ETERRADOSSI, Nicolas, MICHEL, Virginie, FEDIAEVSKY, Alexandre, CALAVAS, Didier, HENDRIKX, Pascal et BRONNER, Anne, 2016. *Suspensions et foyers d'Influenza aviaire H5 en France – Point de situation 2016-1 au 07/01/2016* [en ligne]. 12 janvier 2016. [Consulté le 3 août 2018]. Disponible à l'adresse : <https://www.plateforme-esa.fr/article/suspensions-et-foyers-d-influenza-aviaire-h5-en-france-point-de-situation-2016-1-au-07012016>

LEBARBENCHON, Camille, CHANG, Chung-Ming, VAN DER WERF, Sylvie, AUBIN, Jean-Thierry, KAYSER, Yves, BALLESTEROS, Manuel, RENAUD, François,

THOMAS, Frédéric et GAUTHIER-CLERC, Michel, 2007. Influenza A Virus in Birds during Spring Migration in the Camargue, France. *Journal of Wildlife Diseases*. octobre 2007. Vol. 43, n° 4, pp. 789-793.

LEE, Dong-Hun, BERTRAN, Kateri, KWON, Jung-Hoon et SWAYNE, David E., 2017. Evolution, global spread, and pathogenicity of highly pathogenic avian influenza H5Nx clade 2.3.4.4. *Journal of Veterinary Science*. juillet 2017. Vol. 18, n° S1, pp. 269-280.

LEE, Dong-Hun, SHARSHOV, Kirill, SWAYNE, David E., KURSKAYA, Olga, SOBOLEV, Ivan, KABILOV, Marsel, ALEKSEEV, Alexander, IRZA, Victor et SHESTOPALOV, Alexander, 2017. Novel Reassortant Clade 2.3.4.4 Avian Influenza A(H5N8) Virus in Wild Aquatic Birds, Russia, 2016. *Emerging Infectious Diseases*. février 2017. Vol. 23, n° 2, pp. 359-360.

LEE, Dong-Hun, TORCHETTI, Mia Kim, WINKER, Kevin, IP, Hon S., SONG, Chang-Seon et SWAYNE, David E., 2015. Intercontinental Spread of Asian-Origin H5N8 to North America through Beringia by Migratory Birds. *Journal of Virology*. 15 juin 2015. Vol. 89, n° 12, pp. 6521-6524.

LEVISOHN, S. et KLEVEN, S. H., 2000. Avian mycoplasmosis (*Mycoplasma gallisepticum*). *Scientific and Technical Review of the Office International des Epizooties*. 2000. Vol. 19, n° 2, pp. 425-442.

LOCKE, Louis N., OHLENDORF, Harry M., SHILLINGER, Robert B. et JAREED, Teresa, 1974. Salmonellosis in a Captive Heron Colony. *Journal of Wildlife Diseases*. avril 1974. Vol. 10, n° 2, pp. 143-145.

LOMBARDINI, Katia, BENNETTS, Robert E. et TOURENQ, Christophe, 2001. Foraging success and foraging habitat use by cattle egrets and little egrets in the Camargue, France. *The Condor*. 2001. Vol. 103, n° 1, pp. 38-44.

MALKINSON, M. et BANET, C., 2002. The Role of Birds in the Ecology of West Nile Virus in Europe and Africa. In : *Japanese Encephalitis and West Nile Viruses*. Berlin, Heidelberg : Springer Berlin Heidelberg. pp. 309-322. ISBN 978-3-642-63966-1.

MARION, Loïc, BRUGIÈRE, Dominique et GRISSER, Pascal, 1993. Invasion de hérons garde-bœufs *Bubulcus ibis* nicheurs en France en 1992. *Alauda, Revue Internationale d'Ornithologie*. 1993. Vol. 61, n° 3, pp. 129-136.

MARION, Loïc et MARION, Pierrick, 1982. Le héron garde-bœufs (*Bubulcus ibis*) niche dans l'Ouest de la France : statut de l'espèce en France. *Alauda, Revue Internationale d'Ornithologie*. 1982. Vol. 50, pp. 161-175.

MARION, Loïc, 2009. *Recensement National des Hérons coloniaux de France en 2007 : héron cendré, héron pourpré, héron bihoreau, héron crabier, héron garde-bœufs, aigrette garzette, grande aigrette*. Ministère de l'Ecologie, de l'Energie, du Développement Durable et de l'Aménagement du Territoire – Direction générale de l'Aménagement, du logement et de la nature – Direction de l'eau et de la biodiversité.

MCLEAN, Robert G, HALL, Jeffrey S, FRANKLIN, Alan B, SULLIVAN, Heather, VANDALEN, Kaci, SHRINER, Susan, FARNSWORTH, Matthew, OESTERLE, Paul, YOUNG, Ginger, CARLSON, Jenny, COBBLE, Kacy, ELMORE, Stacey, ANDERSON, Ted, HAUSER, Sean, BENTLER, Kevin et MOOERS, Nicole, 2007. Avian Influenza in wild birds: environmental sampling for the rapid detection of avian influenza viruses. *USDA National Wildlife Research Center*. janvier 2007. Vol. 768, pp. 87-93.

MEIER, S, HÜSSY, D, HOFMANN, M, RENZULLO, S, VOGLER, B, SIGRIST, B, HOOP, R et ALBINI, S, 2017. Outbreak of Highly Pathogenic Avian Influenza H5N8 in November 2016 in Wild Birds in Switzerland. *Schweiz Arch Tierheilkd*. 5 décembre 2017. Vol. 159, n° 12, pp. 663-667.

MERCIER, Alizé, NIQUEUX, Eric, FALALA, Sylvain et CAUCHARD, Julien, 2017. Short item. Worldwide epidemiological situation of highly pathogenic avian influenza (2016 – 2017). *Bulletin épidémiologique, santé animale et alimentation*. juillet 2017. N° 79, pp. 31-32.

MILLER, Patti J., DECANINI, Eduardo Lucio et AFONSO, Claudio L., 2010. Newcastle disease: Evolution of genotypes and the related diagnostic challenges. *Infection, Genetics and Evolution*. janvier 2010. Vol. 10, n° 1, pp. 26-35.

MINISTÈRE DE L'AGRICULTURE ET DE L'ALIMENTATION, 2015a. *Un cas d'influenza aviaire détecté dans une basse-cour en Dordogne* [en ligne]. 25 novembre 2015. [Consulté le 4 août 2018]. Disponible à l'adresse : <http://agriculture.gouv.fr/un-cas-dinfluenza-aviaire-detecte-dans-une-basse-cour-en-dordogne>

MINISTÈRE DE L'AGRICULTURE ET DE L'ALIMENTATION, 2015b. *Deux nouveaux cas d'Influenza aviaire détectés en Dordogne* [en ligne]. 30 novembre 2015. [Consulté le 4 août 2018]. Disponible à l'adresse : <http://agriculture.gouv.fr/deux-nouveaux-cas-dinfluenza-aviaire-detectes-en-dordogne>

MINISTÈRE DE L'AGRICULTURE ET DE L'ALIMENTATION, 2016a. *Influenza aviaire : présentation de la stratégie d'éradication et des mesures de biosécurité* [en ligne]. 10 février 2016. [Consulté le 3 août 2018]. Disponible à l'adresse : <http://agriculture.gouv.fr/influenza-aviaire-presentation-de-la-strategie-deradication-et-des-mesures-de-biosecurite>

MINISTÈRE DE L'AGRICULTURE ET DE L'ALIMENTATION, 2016b. *Influenza aviaire : levée de la zone de restriction le 15 septembre 2016* [en ligne]. 14 septembre 2016. [Consulté le 3 août 2018]. Disponible à l'adresse : <http://agriculture.gouv.fr/influenza-aviaire-levee-de-la-zone-de-restriction-le-15-septembre-2016>

MINISTÈRE DE L'AGRICULTURE ET DE L'ALIMENTATION, 2016c. *Mise en place de nouvelles mesures en faveur de l'agriculture et de l'élevage* [en ligne]. 26 janvier 2016. [Consulté le 3 août 2018]. Disponible à l'adresse : <http://agriculture.gouv.fr/mise-en-place-de-nouvelles-mesures-en-faveur-de-lagriculture-et-de-lelevage>

MINISTÈRE DE L'AGRICULTURE ET DE L'ALIMENTATION, 2016d. *Influenza aviaire hautement pathogène H5N8 dans des pays voisins de la France : le ministère met en place des mesures de protection des élevages* [en ligne]. 17 novembre 2016. [Consulté le 10 août 2018]. Disponible à l'adresse : <http://agriculture.gouv.fr/influenza-aviaire-h5n8-le-ministere-met-en-place-des-mesures-de-protection-des-elevages>

MINISTÈRE DE L'AGRICULTURE ET DE L'ALIMENTATION, 2016e. *Influenza aviaire hautement pathogène H5N8 : passage en risque élevé sur l'ensemble du territoire métropolitain* [en ligne]. 6 décembre 2016. [Consulté le 10 août 2018]. Disponible à l'adresse : <http://agriculture.gouv.fr/influenza-aviaire-hautement-pathogene-h5n8-passage-en-risque-eleve-sur-lensemble-du-territoire>

MINISTÈRE DE L'AGRICULTURE ET DE L'ALIMENTATION, 2017a. *Influenza aviaire hautement pathogène H5N8 : évolution de la stratégie de lutte pour éradiquer le virus dans les départements touchés* [en ligne]. 4 janvier 2017. [Consulté le 9 août 2018]. Disponible à l'adresse : <http://agriculture.gouv.fr/influenza-aviaire-hautement-pathogene-h5n8-evolution-de-la-strategie-de-lutte-pour-eradiquer-le>

MINISTÈRE DE L'AGRICULTURE ET DE L'ALIMENTATION, 2017b. *Influenza aviaire : la France recouvre son statut indemne* [en ligne]. 27 octobre 2017. [Consulté le 10 août 2018]. Disponible à l'adresse : <http://agriculture.gouv.fr/influenza-aviaire-la-france-recouvre-son-statut-indemne>

MO, I. P., BRUGH, M., FLETCHER, O. J., ROWLAND, G. N. et SWAYNE, D. E., 1997. Comparative Pathology of Chickens Experimentally Inoculated with Avian Influenza Viruses of Low and High Pathogenicity. *Avian Diseases*. janvier 1997. Vol. 41, n° 1, pp. 125-136.

MOISSON, Marie-Cécile, GUERRY, Isabelle, VAN DE WIELE, Anne, NIQUEUX, Eric, SCHMITZ, Audrey, BRIAND, François-Xavier, MARTENOT, Claire, LE BOUQUIN, Sophie, SCOIZEC, Axelle, FAURÉ, Eva, MALHÈRE, Célia et BRONNER, Anne, 2016. *Premier cas d'influenza aviaire HP H5N8 en France* [en ligne]. 30 novembre 2016. [Consulté le 11 août 2018]. Disponible à l'adresse : <https://www.plateforme-esa.fr/article/premier-cas-d-influenza-aviaire-hp-h5n8-en-france>

MOISSON, Marie-Cécile, HAMON, Manon, FEDIAEVSKY, Alexandre, VAN DE WIELE, Anne et BRONNER, Anne, 2016. *France : premier cas d'influenza aviaire HP H5N8 en élevage* [en ligne]. 2 décembre 2016. [Consulté le 8 août 2018]. Disponible à l'adresse : <https://www.plateforme-esa.fr/article/france-premier-cas-d-influenza-aviaire-hp-h5n8-en-elevage>

MOISSON, Marie-Cécile, HUNEAU-SALAÜN, Adeline, HAMON, Manon, NIQUEUX, Eric, SCOIZEC, Axelle, SCHMITZ, Audrey, BRIAND, François-Xavier, FEDIAEVSKY, Alexandre, LE BOUQUIN, Sophie et BRONNER, Anne, 2016a. *Résultats de la surveillance de l'influenza aviaire H5 HP en France - Point de situation au 20/07/2016* [en ligne]. 24 juillet 2016. [Consulté le 3 août 2018]. Disponible à l'adresse : <https://www.plateforme-esa.fr/article/resultats-de-la-surveillance-de-l-influenza-aviaire-h5-hp-en-france-point-de-situation-au>

MOISSON, Marie-Cécile, HUNEAU-SALAÜN, Adeline, HAMON, Manon, NIQUEUX, Eric, SCOIZEC, Axelle, SCHMITZ, Audrey, BRIAND, François-Xavier, FEDIAEVSKY, Alexandre, LE BOUQUIN, Sophie et BRONNER, Anne, 2016b. *Résultats de la surveillance de l'influenza aviaire en France - Point de situation au 08/08/2016* [en ligne]. 12 août 2016. [Consulté le 3 août 2018]. Disponible à l'adresse : <https://www.plateforme-esa.fr/article/resultats-de-la-surveillance-de-l-influenza-aviaire-en-france-point-de-situation-au-08082016>

MUMCUOGLU, Kosta Y., BANET-NOACH, Caroline, MALKINSON, Mertyn, SHALOM, Uri et GALUN, Rachel, 2005. Argasid Ticks as Possible Vectors of West Nile Virus in Israel. *Vector-Borne and Zoonotic Diseases*. mars 2005. Vol. 5, n° 1, pp. 65-71.

MUNSTER, Vincent J., WALLENSTEN, Anders, BAAS, Chantal, RIMMELZWAAN, Guus F., SCHUTTEN, Martin, OLSEN, Björn, OSTERHAUS, Albert D.M.E. et FOUCHIER, Ron A.M., 2005. Mallards and Highly Pathogenic Avian Influenza Ancestral Viruses, Northern Europe. *Emerging Infectious Diseases*. octobre 2005. Vol. 11, n° 10, pp. 1545-1551.

MUSA, W.I., ABDULLAHI, B.Y., LAWAL, S, BELLO, M et ABDU, P.A., 2017. Detection of antibodies to avian influenza, infectious bronchitis and Newcastle disease viruses in wild birds in three states of Nigeria. *Sokoto Journal of Veterinary Sciences*. 19 septembre 2017. Vol. 15, n° 4, pp. 28.

NAGUIB, Mahmoud M., ABDELWHAB, E. M. et HARDER, Timm C., 2016. Evolutionary features of influenza A/H5N1 virus populations in Egypt: poultry and human health implications. *Archives of Virology*. juillet 2016. Vol. 161, n° 7, pp. 1963-1967.

NAPP, Sebastian, ALBA, Anna, ROCHA, Ana Isabel, SÁNCHEZ, Azucena, RIVAS, Raquel, MAJÓ, Natalia, PERARNAU, Mireia, MASSOT, Cristina, MIGUEL, Elena San, SOLER, Mercé et BUSQUETS, Núria, 2017. Six-year surveillance of Newcastle disease virus in wild birds in north-eastern Spain (Catalonia). *Avian Pathology*. 2 janvier 2017. Vol. 46, n° 1, pp. 59-67.

NELSON, C. B., POMEROY, B. S., SCHRALL, Katherine, PARK, W. E. et LINDEMAN, R. J., 1952. An Outbreak of Conjunctivitis Due to Newcastle Disease Virus (NDV) Occurring in Poultry Workers. *American Journal of Public Health and the Nations Health*. juin 1952. Vol. 42, n° 6, pp. 672-678.

NORTH, M. E. W., 1945. Does the Buff-backed Heron really remove ticks from the bodies of animals? *Ibis*. 1945. Vol. 87, pp. 469-470.

OFULA, Victor O., FRANKLIN, Alan B., ROOT, J. Jeffrey, SULLIVAN, Heather J., GICHUKI, Patrick, MAKIO, Albina, BULIMO, Wallace, ABONG'O, Bernard O., MUCHAI, Muchane et SCHNABEL, David, 2013. Detection of Avian Influenza Viruses in Wild Waterbirds in the Rift Valley of Kenya Using Fecal Sampling. *Vector-Borne and Zoonotic Diseases*. juin 2013. Vol. 13, n° 6, pp. 394-400.

OGAWA, Motohiko, WAKUDA, Takashi, YAMAGUCHI, Tsuyoshi, MURATA, Koichi, SETIYONO, Agus, FUKUSHI, Hideto et HIRAI, Katsuya, 1998. Seroprevalence of

Infectious Bursal Disease Virus in Free-Living Wild Birds in Japan. *Journal of Veterinary Medical Science*. 1998. Vol. 60, n° 11, pp. 1277-1279.

OLESIUK, O. M., 1951. Influence of environmental factors on viability of Newcastle disease virus. *American Journal of Veterinary Research*. 1951. Vol. 12, pp. 152-155.

OLSEN, Björn, MUNSTER, Vincent J., WALLENSTEN, Anders, WALDENSTROM, Jonas, OSTERHAUS, Albert D. M. E. et FOUCHIER, Ron A. M., 2006. Global Patterns of Influenza A Virus in Wild Birds. *Science*. 21 avril 2006. Vol. 312, n° 5772, pp. 384-388.

OTEO, Jesús, MENCÍA, Aida, BAUTISTA, Verónica, PASTOR, Natalia, LARA, Noelia, GONZÁLEZ-GONZÁLEZ, Fernando, GARCÍA-PEÑA, Francisco Javier et CAMPOS, José, 2018. Colonization with Enterobacteriaceae-Producing ESBLs, AmpCs, and OXA-48 in Wild Avian Species, Spain 2015–2016. *Microbial Drug Resistance*. 21 mai 2018. pp. 1-7. DOI 10.1089/mdr.2018.0004.

OTIM, M. O., KABAGAMBE, E. K., MUKIIBI, G. M., CHRISTENSEN, H. et BISGAARD, M., 2007. A study of risk factors associated with Newcastle disease epidemics in village free-range chickens in Uganda. *Tropical Animal Health and Production*. janvier 2007. Vol. 39, n° 1, pp. 27-35.

PATANKAR, Pratyush, DESAI, Isha, SHINDE, Kavita et SURESH, B., 2007. Ecology and breeding biology of the Cattle Egret *Bubulcus ibis* in an industrial area at Vadodara, Gujarat. *Zoos' Print Journal*. 21 octobre 2007. Vol. 22, n° 11, pp. 2885-2888.

PATNAYAK, Devi P., PRASAD, Minakshi, MALIK, Yashpal S., RAMAKRISHNAN, M. A. et GOYAL, Sagar M., 2008. Efficacy of Disinfectants and Hand Sanitizers Against Avian Respiratory Viruses. *Avian Diseases*. juin 2008. Vol. 52, n° 2, pp. 199-202.

PEARCE-DUVET, Jessica M.C., GAUTHIER-CLERC, Michel, JOURDAIN, Elsa et BOULINIER, Thierry, 2009. Maternal Antibody Transfer in Yellow-legged Gulls. *Emerging Infectious Diseases*. juillet 2009. Vol. 15, pp. 1147-1149.

PENOT, Jacques, 1959. Rapport ornithologique pour 1957. *Revue d'Ecologie (La Terre et la Vie)*. 1959. N° 1, pp. 61-73.

PENOT, Jacques, 1960. Rapport ornithologique pour 1958. *Revue d'Ecologie (La Terre et la Vie)*. 1960. N° 2, pp. 109-117.

PENOT, Jacques, 1963. Rapport ornithologique pour 1960 et 1961. *Revue d'Ecologie (La Terre et la Vie)*. 1963. N° 3, pp. 280-288.

PÉREZ-RAMÍREZ, Elisa, GERRIKAGOITIA, Xeider, BARRAL, Marta et HÖFLE, Ursula, 2010. Detection of low pathogenic avian influenza viruses in wild birds in Castilla-La Mancha (South Central Spain). *Veterinary Microbiology*. décembre 2010. Vol. 146, n° 3-4, pp. 200-208.

PHALEN, David N., DREW, Mark L., SIMPSON, Bruce, ROSET, Kimberly, DUBOSE, Kimberly et MORA, Miguel, 2010. *Salmonella enterica* subsp. *enterica* in cattle egret (*Bubulcus ibis*) chicks from Central Texas: prevalence, serotypes pathogenicity, and epizootic potential. *Journal of Wildlife Diseases*. avril 2010. Vol. 46, n° 2, pp. 379-389.

PHUONG, Do Quy, DUNG, Nguyen Tien, JØRGENSEN, Poul Henrik, VAN, Dao Thanh, TUNG, Dao Duy et CHRISTENSEN, Jens Peter, 2011. Virulence of H5N1 Influenza Virus in Cattle Egrets (*Bubulcus ibis*). *Journal of Wildlife Diseases*. avril 2011. Vol. 47, n° 2, pp. 314-320.

PIRTLE, E.C. et BERAN, G.W., 1991. Virus survival in the environment. *Revue Scientifique et Technique de l'OIE*. 1 septembre 1991. Vol. 10, n° 3, pp. 733-748.

POHLMANN, Anne, STARICK, Elke, HARDER, Timm, GRUND, Christian, HÖPER, Dirk, GLOBIG, Anja, STAUBACH, Christoph, DIETZE, Klaas, STREBELOW, Günter, ULRICH, Reiner G., SCHINKÖTHE, Jan, TEIFKE, Jens P., CONRATHS, Franz J., METTENLEITER, Thomas C. et BEER, Martin, 2017. Outbreaks among Wild Birds and Domestic Poultry Caused by Reassorted Influenza A(H5N8) Clade 2.3.4.4 Viruses, Germany, 2016. *Emerging Infectious Diseases*. avril 2017. Vol. 23, n° 4, pp. 633-636.

POLAK-VOGELZANG, Anna A., 1977. Survival of *Mycoplasma gallisepticum* in mains water. *Avian Pathology*. janvier 1977. Vol. 6, n° 1, pp. 93-95.

POMEROY, Derek E., 1975. Birds as Scavengers of Refuse in Uganda. *Ibis*. 1975. Vol. 117, pp. 69-81.

RAPPOLE, John H., DERRICKSON, Scott R. et HUBÁLEK, Zdenek, 2000. Migratory Birds and Spread of West Nile Virus in the Western Hemisphere. *Emerging Infectious Diseases*. août 2000. Vol. 6, n° 4, pp. 319-328.

REED, Kurt D., MEECE, Jennifer K., HENKEL, James S. et SHUKLA, Sanjay K., 2003. Birds, Migration and Emerging Zoonoses: West Nile Virus, Lyme Disease, Influenza A and Enteropathogens. *Clinical Medicine & Research*. 1 janvier 2003. Vol. 1, n° 1, pp. 5-12.

REICZIGEL, J., FÖLDI, J. et ÓZSVÁRI, L., 2010. Exact confidence limits for prevalence of a disease with an imperfect diagnostic test. *Epidemiology and Infection*. novembre 2010. Vol. 138, n° 11, pp. 1674-1678.

REISEN, W.K., WHEELER, S.S., YAMAMOTO, S., FANG, Y. et GARCIA, S., 2005. Nesting Ardeid Colonies Are Not a Focus of Elevated West Nile Virus Activity in Southern California. *Vector-Borne and Zoonotic Diseases*. septembre 2005. Vol. 5, n° 3, pp. 258-266.

RÉSERVE NATIONALE DE CAMARGUE, 1987. Compte rendu ornithologique camarguais pour les années 1984-1985. *Revue d'Ecologie (La Terre et la Vie)*. 1987. Vol. 42, pp. 167-191.

RODRIGUES, F.M., GUTTIKAR, S.N. et PINTO, B.D., 1981. Prevalence of antibodies to Japanese encephalitis and West Nile viruses among wild birds in the Krishna-Godavari Delta, Andhra Pradesh, India. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*. janvier 1981. Vol. 75, n° 2, pp. 258-262.

ROGAN, Walter J. et GLADEN, Beth, 1978. Estimating prevalence from the results of a screening test. *American Journal of Epidemiology*. 1978. Vol. 107, n° 1, pp. 71-76.

ROGERS, Gary N. et PAULSON, James C., 1983. Receptor determinants of human and animal influenza virus isolates: Differences in receptor specificity of the H3 hemagglutinin based on species of origin. *Virology*. juin 1983. Vol. 127, n° 2, pp. 361-373.

ROQUES, Hervé et MAYS, Gilles, 1989. Le héron garde-bœufs *Bubulcus ibis* et le héron crabier *Ardeola ralloides* en Aquitaine : synthèse des données régionales et perspectives. *Le Courbageot*. 1989. Vol. 13, pp. 27-38.

SACHSE, Konrad, LAROUCAU, Karine, RIEGE, Konstantin, WEHNER, Stefanie, DILCHER, Meik, CREASY, Heather Huot, WEIDMANN, Manfred, MYERS, Garry, VORIMORE, Fabien, VICARI, Nadia, MAGNINO, Simone, LIEBLER-TENORIO, Elisabeth, RUETTGER, Anke, BAVOIL, Patrik M., HUFERT, Frank T., ROSSELLÓ-MÓRA, Ramon et MARZ, Manja, 2014. Evidence for the existence of two new members of the family Chlamydiaceae and proposal of *Chlamydia avium* sp. nov. and *Chlamydia gallinacea* sp. nov. *Systematic and Applied Microbiology*. mars 2014. Vol. 37, n° 2, pp. 79-88.

SACHSE, Konrad, LAROUCAU, Karine et VANROMPAY, Daisy, 2015. Avian Chlamydiosis. *Current Clinical Microbiology Reports*. mars 2015. Vol. 2, n° 1, pp. 10-21.

SCOTT, John D., FERNANDO, Keerthi, BANERJEE, Satyendra N., DURDEN, Lance A., BYRNE, Sean K., BANERJEE, Maya, MANN, Robert B. et MORSHED, Muhammad G., 2001. Birds Disperse Ixodid (Acari: Ixodidae) and *Borrelia burgdorferi*-Infected Ticks in Canada. *Journal of Medical Entomology*. 1 juillet 2001. Vol. 38, n° 4, pp. 493-500.

SEEDIKKOYA, Kotta, AZEEZ, P.A. et ABDUL SHUKKUR, E.A., 2007. Cattle Egret as a biocontrol agent. *Zoos' Print Journal*. 21 septembre 2007. Vol. 22, n° 10, pp. 2864-2866.

SEEDIKKOYA, Kotta, AZEEZ, P.A. et SHUKKUR, E.A.A., 2005. Cattle Egret *Bubulcus ibis* habitat use and association with cattle. *Forktail*. 2005. Vol. 21, pp. 174-176.

SHARIF, Aamir, AHMAD, Tanveer, UMER, Muhammad, REHMAN, Abdul et HUSSAIN, Zahid, 2014. Prevention and Control of Newcastle Disease. *International Journal of Agriculture Innovations and Research*. 2014. Vol. 3, n° 2, pp. 454-460.

SI BACHIR, Abdelkrim, BARBRAUD, Christophe, CEREGHINO, Regis et SANTOUL, Frederic, 2012. Cattle Egrets *Ardea ibis* use human-made habitat in a newly

colonised area in northern Algeria. *Ostrich: Journal of African Ornithology*. avril 2012. Vol. 83, n° 1, pp. 51-53.

SI BACHIR, Abdelkrim, HAFNER, Heinz, TOURENQ, Jean-Noël et DOUMANDJI, Salaheddine, 2000. Structure de l'habitat et biologie de reproduction du héron garde-boeuf, *Bubulcus ibis*, dans une colonie de la vallée de la Soummam (Petite Kabylie, Algérie). *Revue d'Ecologie (La Terre et la Vie)*. 2000. Vol. 55, pp. 33-43.

SIEGFRIED, W. Roy, 1971a. Plumage and Molt of the Cattle Egret. *Ostrich*. juillet 1971. Vol. 42, pp. 153-164.

SIEGFRIED, W. Roy, 1971b. Communal Roosting of the Cattle Egret. *Transactions of the Royal Society of South Africa*. janvier 1971. Vol. 39, pp. 419-443.

SIEGFRIED, W. Roy, 1971c. The Nest of the Cattle Egret. *Ostrich*. septembre 1971. Vol. 42, pp. 193-197.

SIEGFRIED, W. Roy, 1971d. The Food of the Cattle Egret. *The Journal of Applied Ecology*. 1971. Vol. 8, pp. 447-468.

SILVA, Marcio A., FERNANDES, Érika F.S.T., SANTANA, Sandra C., MARVULO, Maria Fernanda V., BARROS, Mércia R., VILELA, Sineide M.O., REIS, Eliane M.F., MOTA, Rinaldo A. et SILVA, Jean C.R., 2018. Isolation of Salmonella spp. in cattle egrets (*Bubulcus ibis*) from Fernando de Noronha Archipelago, Brazil. *Brazilian Journal of Microbiology*. juillet 2018. Vol. 49, n° 3, pp. 559-563.

ST GEORGE, T.D., CYBINSKI, D.H., MAIN, A.J., MCKILLIGAN, N. et KEMP, D.H., 1984. Isolation of a New Arbovirus from the Tick Argas robertsi from a Cattle Egret (*Bubulcus ibis coromandus*) Colony in Australia. *Australian Journal of Biological Sciences*. 1984. Vol. 37, n° 3, pp. 85-89.

STEINHAUER, David A. et HOLLAND, J. J., 1987. Rapid Evolution of RNA Viruses. *Annual Review of Microbiology*. octobre 1987. Vol. 41, n° 1, pp. 409-431.

STEINHAUER, David A., 1999. Role of Hemagglutinin Cleavage for the Pathogenicity of Influenza Virus. *Virology*. mai 1999. Vol. 258, n° 1, pp. 1-20.

STURM-RAMIREZ, K. M., HULSE-POST, D. J., GOVORKOVA, E. A., HUMBERD, J., SEILER, P., PUTHAVATHANA, P., BURANATHAI, C., NGUYEN, T. D., CHAISINGH, A., LONG, H. T., NAIPOSPOS, T. S. P., CHEN, H., ELLIS, T. M., GUAN, Y., PEIRIS, J. S. M. et WEBSTER, Robert G., 2005. Are Ducks Contributing to the Endemicity of Highly Pathogenic H5N1 Influenza Virus in Asia? *Journal of Virology*. 1 septembre 2005. Vol. 79, n° 17, pp. 11269-11279.

SWAYNE, David E., 2007. Understanding the Complex Pathobiology of High Pathogenicity Avian Influenza Viruses in Birds. *Avian Diseases*. 2007. Vol. 51, pp. 242-249.

TERNOVOĀ, V. A., PROTOPOPOVA, E. V., SURMACH, S. G., GAZETDINOV, M. V., ZOLOTYKH, S. I., SHESTOPALOV, A. M., PAVLENKO, E. V., LEONOVA, G. N. et

LOKTEV, V. B., 2006. The genotyping of the West Nile virus in birds in the far eastern region of Russia in 2002-2004. *Molekuliarnaia Genetika, Mikrobiologija i Virusologija*. 2006. N° 4, pp. 30-35.

THE GLOBAL CONSORTIUM FOR H5N8 AND RELATED INFLUENZA VIRUSES, 2016. Role for migratory wild birds in the global spread of avian influenza H5N8. *Science*. 14 octobre 2016. Vol. 354, n° 6309, pp. 213-217.

THIBAUT, Marc, KAYSER, Yves, TAMISIER, Alain, SADOUL, Nicolas, CHÉRAIN, Yves, HAFNER, Heinz, JOHNSON, Alan et ISENMANN, Paul, 1997. Compte rendu ornithologique camarguais pour les années 1990-1994. *Revue d'Ecologie (La Terre et la Vie)*. 1997. Vol. 52, pp. 261-315.

VAN DE WIELE, Anne, HUMEAU, Antoine, BRONNER, Anne, GUILLEMAIN, Matthieu, LE LOC'H, Guillaume, GUÉRIN, Jean-Luc, CAUCHARD, Julien, MERCIER, Alizé et CALAVAS, Didier, 2017. Épisode H5N8 d'influenza aviaire en France en 2016-2017 : quel rôle pour la faune sauvage ? *Bulletin épidémiologique, santé animale et alimentation*. juillet 2017. N° 79, pp. 27-31.

VAN DIJK, Jacintha G. B., HOYE, Bethany J., VERHAGEN, Josanne H., NOLET, Bart A., FOUCHIER, Ron A. M. et KLAASSEN, Marcel, 2014. Juveniles and migrants as drivers for seasonal epizootics of avian influenza virus. *Journal of Animal Ecology*. janvier 2014. Vol. 83, n° 1, pp. 266-275.

VEILLE SANITAIRE INTERNATIONALE PLATEFORME ESA et LNR INFLUENZA AVIAIRE ANSES PLOUFRAGRAN, 2017. *Détection d'un nouveau virus IAHP H5N6 en Grèce* [en ligne]. 6 mars 2017. [Consulté le 8 août 2018]. Disponible à l'adresse : <https://www.plateforme-esa.fr/article/detection-d-un-nouveau-virus-iahp-h5n6-en-grece>

VEILLE SANITAIRE INTERNATIONALE PLATEFORME ESA, 2017. *Situation épidémiologique des virus IAHP issus du clade 2.3.4.4 en Europe : point de situation au 03/07/2017* [en ligne]. 6 juillet 2017. [Consulté le 8 août 2018]. Disponible à l'adresse : <https://www.plateforme-esa.fr/article/situation-epidemiologique-des-virus-iahp-issus-du-clade-2344-en-europe-point-de-situation-1>

VENKATESH, Divya, POEN, Marjolein J., BESTEBROER, Theo M., SCHEUER, Rachel D., VUONG, Oanh, CHKHAIDZE, Mzia, MACHABLISHVILI, Anna, MAMUCHADZE, Jimsher, NINUA, Levan, FEDOROVA, Nadia B., HALPIN, Rebecca A., LIN, Xudong, RANSIER, Amy, STOCKWELL, Timothy B., WENTWORTH, David E., KRITI, Divya, DUTTA, Jayeeta, VAN BAKEL, Harm, PURANIK, Anita, SLOMKA, Marek J., ESSEN, Steve, BROWN, Ian H., FOUCHIER, Ron A. M. et LEWIS, Nicola S., 2018. Avian Influenza Viruses in Wild Birds: Virus Evolution in a Multihost Ecosystem. *Journal of Virology*. 16 mai 2018. Vol. 92, n° 15, pp. 1-20.

VORIMORE, Fabien, HSIA, Ru-ching, HUOT-CREASY, Heather, BASTIAN, Suzanne, DERUYTER, Lucie, PASSET, Anne, SACHSE, Konrad, BAVOIL, Patrik, MYERS, Garry et LAROUCAU, Karine, 2013. Isolation of a New Chlamydia species from the Feral Sacred Ibis (*Threskiornis aethiopicus*): *Chlamydia ibidis*. *PLoS ONE*. 20 septembre 2013. Vol. 8, n° 9, pp. e74823.

- WARD, C. L., DEMPSEY, M. H., RING, C. J. A., KEMPSON, R. E., ZHANG, L., GOR, D., SNOWDEN, B. W. et TISDALE, M., 2004. Design and performance testing of quantitative real time PCR assays for influenza A and B viral load measurement. *Journal of Clinical Virology*. mars 2004. Vol. 29, n° 3, pp. 179-188.
- WEBER, Thomas P. et STILIANAKIS, Nikolaos I., 2008. Inactivation of influenza A viruses in the environment and modes of transmission: A critical review. *Journal of Infection*. novembre 2008. Vol. 57, n° 5, pp. 361-373.
- WEBSTER, Robert G., BEAN, William J., GORMAN, Owen T., CHAMBERS, Thomas M. et KAWAOKA, Yoshihiro, 1992. Evolution and Ecology of Influenza A Viruses. *Microbiological Reviews*. mars 1992. Vol. 56, n° 1, pp. 152-179.
- WEBSTER, Robert G., PEIRIS, Malik, CHEN, Honglin et GUAN, Yi, 2006. H5N1 outbreaks and enzootic influenza. *Biodiversity*. février 2006. Vol. 7, n° 1, pp. 51-55.
- WEBSTER, Robert G., 2004. Wet markets—a continuing source of severe acute respiratory syndrome and influenza? *The Lancet*. janvier 2004. Vol. 363, n° 9404, pp. 234-236.
- WEBSTER, Robert G., YAKHNO, Maya, HINSHAW, Virginia S., BEAN, William J. et GOPAL MURTI, K., 1978. Intestinal influenza: replication and characterization of influenza viruses in ducks. *Virology*. 1978. Vol. 84, pp. 268-278.
- WISE, Mark G., SUAREZ, David L., SEAL, Bruce S., PEDERSEN, Janice C., SENNE, Dennis A., KING, Daniel J., KAPCZYNSKI, Darrell R. et SPACKMAN, Erica, 2004. Development of a Real-Time Reverse-Transcription PCR for Detection of Newcastle Disease Virus RNA in Clinical Samples. *Journal of Clinical Microbiology*. 1 janvier 2004. Vol. 42, n° 1, pp. 329-338.
- WONG, L. C., CORLETT, Richard T., YOUNG, Llewellyn et LEE, Joe S. Y., 1999. Foraging Flights of Nesting Egrets and Herons at a Hong Kong Egrettry, South China. *Waterbirds: The International Journal of Waterbird Biology*. 1999. Vol. 22, n° 3, pp. 424.
- XIANG, Bin, HAN, Lujie, GAO, Pei, YOU, Renrong, WANG, Fumin, XIAO, Jiajie, LIAO, Ming, KANG, Yinfeng et REN, Tao, 2017. Spillover of Newcastle disease viruses from poultry to wild birds in Guangdong province, southern China. *Infection, Genetics and Evolution*. novembre 2017. Vol. 55, pp. 199-204.
- YEATMAN-BERTHELOT, Dosithée, 1991. *Atlas des oiseaux de France en hiver*. Paris : Société Ornithologique de France. ISBN 978-2-9505440-0-1.

Annexes

Annexe 1 : Augmentation du niveau de risque vis-à-vis de l'infection de l'avifaune par un virus IAHP de « négligeable » à « élevé » dans les ZRP

Au cours du mois de novembre 2016, plusieurs cas d'IAHP H5N8 affectant les oiseaux migrateurs se sont déclarés en Allemagne et en Suisse, pays frontaliers à la France. Le 17 novembre 2016, sur décision du Ministère de l'Agriculture et de l'Alimentation, le niveau de risque vis-à-vis de l'IAHP a été relevé de « négligeable » à « élevé » dans les ZRP. Les ZRP sont des lieux en lien avec la présence d'oiseaux d'eau et d'oiseaux migrateurs, établis sur la base des comptages annuels réalisés par Wetlands International. Les mesures de biosécurité sont ainsi renforcées, conformément à l'arrêté du 16 mars 2016. Tout contact entre oiseaux sauvages et volailles doit être empêché par la pose de filets ou la mise en confinement des espèces domestiques. Les lâchers de gibiers à plumes et les déplacements d'oiseaux utilisés comme appelants pour la chasse au gibier d'eau sont interdits. Les rassemblements d'oiseaux sont limités, il y a notamment interdiction d'organiser des compétitions de pigeons voyageurs (Ministère de l'Agriculture et de l'Alimentation 2016d).

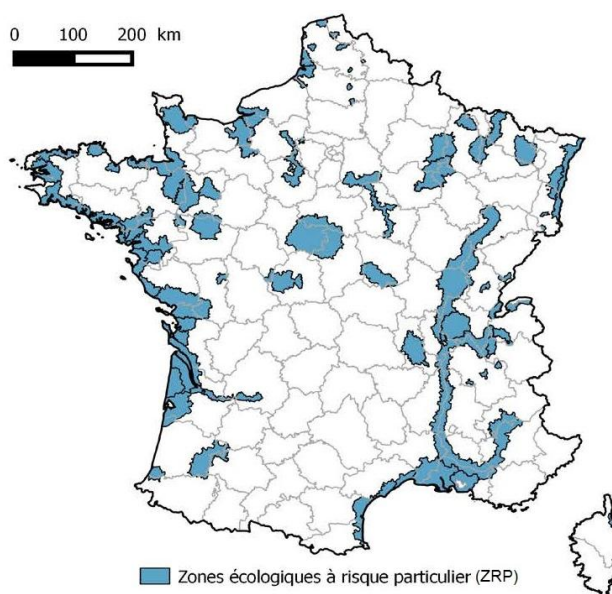


Figure 15 : Carte des zones écologiques à risque particulier vis-à-vis de l'infection de l'avifaune par un virus IAHP en France à la date du 17 novembre 2016 (d'après le Ministère de l'Agriculture de l'Alimentation)

Annexe 2 : Détails des étapes du protocole d'extraction avec le kit NucleoSpin® RNA Virus

Durant le 3^{ème} lavage de l'étape 4 et l'étape 5, les prélèvements ont été centrifugés le plus longtemps possible en tenant compte des durées du protocole, à savoir 5 et 2 minutes respectivement. L'étape optionnelle de l'étape 4 n'a pas été réalisée.

5 NucleoSpin® RNA Virus protocols

5.1 Viral RNA isolation from cell-free biological fluids

Before starting the preparation:

- Check if Lysis Buffer RAV1 and Wash Buffer RAV3 were prepared according to section 3.
- Preheat an aliquot of Elution Buffer RE / RNase-free H₂O to 70 °C.

1 Lysis of viruses

Add **600 µL Buffer RAV1** containing Carrier RNA to **150 µL of the sample**. Pipette mixture up and down and vortex well. Incubate for **5 min** at **70 °C**.

Incubation time and temperature are critical for lysis as well as RNA stability (see troubleshooting for further hints, section 6.1).

*If the resulting solution is still turbid, centrifuge the mixture for **1 min** at **11,000 x g** (to pellet particles and to prevent clogging of the NucleoSpin® RNA Virus Columns). Take off the supernatant and proceed with step 2.*

150 µL sample
+ 600 µL RAV1
70 °C,
5 min

2 Adjust binding conditions

Add **600 µL ethanol** (96–100%) to the clear lysis solution and mix by vortexing (10–15 s).

+ 600 µL EtOH

3 Bind viral RNA

Place NucleoSpin® RNA Virus Columns in Collection Tubes (2 mL) and load **700 µL** lysed sample. Centrifuge for **1 min** at **8,000 x g**.

The use of new Collection Tubes (2 mL) is recommended if infectious material has to be prepared.

Load the residual lysis solution onto the NucleoSpin® RNA Virus Column. Centrifuge for **1 min** at **8,000 x g**. Discard flow-through and place the NucleoSpin® RNA Virus Column into another new Collection Tube (2 mL). More than two loading steps are not recommended.

Load sample
stepwise
8,000 x g,
1 min

4 Wash and dry silica membrane

1st wash

Add **500 µL Buffer RAW** to the NucleoSpin® RNA Virus Column. Centrifuge for **1 min** at **8,000 x g**. Discard flow-through.

This washing step removes contaminants and PCR inhibitors.

+ 500 µL RAW
8,000 x g,
1 min

2nd wash

Add **600 µL Buffer RAV3** to the NucleoSpin® RNA Virus Column. Centrifuge for **1 min** at **8,000 x g**. Discard flow-through with Collection Tube.

+ 600 µL RAV3
8,000 x g,
1 min

3rd wash

Place the NucleoSpin® RNA Virus Column in a new Collection Tube (2 mL) and add **200 µL Buffer RAV3**. Centrifuge for **2–5 min** at **11,000 x g** to remove ethanolic Buffer RAV3 completely.

Optional: Residual Buffer RAV3 may inhibit subsequent reactions. Therefore, for subsequent reactions which are extremely ethanol-sensitive, we recommend repeating the centrifugation with a new Collection Tube (2 mL). Or alternatively, incubate the NucleoSpin® RNA Virus Columns for 1 min at 70 °C to remove any remaining traces of ethanol.

+ 200 µL RAV3
11,000 x g,
5 min

5 Elute viral RNA

Place the NucleoSpin® RNA Virus Column into a new, sterile 1.5 mL microcentrifuge tube (not provided). Add **50 µL RNase-free H₂O** (preheated to **70 °C**) and incubate for **1–2 min**. Centrifuge for **1 min** at **11,000 x g**.

To elute viral DNA which was prepared according to the support protocol 4.2, we recommend using Buffer RE, preheated to 70 °C (also see section 2.4).

50 µL
RNase-free H₂O
(70 °C)
RT,
1–2 min
11,000 x g,
1 min

Figure 16 : Protocole d'extraction « Viral RNA isolation from cell-free biologicals fluids » du kit NucleoSpin® RNA Virus (d'après Macherey-Nagel)

Annexe 3 : Résultats détaillés des analyses PCR

Tableau 8 : Résultats détaillés des analyses par qPCR selon les pools de fientes

Identification	Taille du pool	Date de prélèvement (1) et d'extraction (2)	qRT-PCR influenza A gène M	qRT-PCR APMV-1 gène F	qPCR <i>M. gallisepticum</i> gène 16S rRNA	qPCR <i>Chlamydia</i> sp. gène 23S rRNA
P1-P5	5	(1) 31/03/16 (2) 04/04/16	Négatif	Négatif	Négatif	Ct=34
P6-P10	5		Négatif	Négatif	Négatif	Négatif
P11-P15	5		Négatif	Négatif	Ct=36, Tm=84°C	Négatif
P16-P20	5		Négatif	Négatif	Négative	Négatif
P21-P25	5		Négatif	Négatif	Négatif	Négatif
P26-P30	5	(1) 07/04/16 (1) 22/04/16 (2) 11/06/16 *	Négatif	Négatif	Négatif	Négatif
P31-P35	5		Négatif	Négatif	Négatif	Ct=32
P36-P40	5		Négatif	Négatif	Négatif	Négatif
P41-P45	5		Négatif	Négatif	Négatif	Négatif
P46-P50	5		Négatif	Négatif	Négatif	Négatif
P51-P55	5		Négatif	Négatif	Négatif	Négatif
P56-P60	5		Négatif	Négatif	Négatif	Négatif
P61-P65	5		Négatif	Négatif	Négatif	Négatif
P66-P70	5		Négatif	Négatif	Négatif	Ct=31
P71-P75	5		Négatif	Négatif	Négatif	Ct=36
P76	1		Négatif	Négatif	Négatif	Négatif
P77-P81	5	(1) 14/11/16 (2) 18/11/16	Négatif	Négatif	Négatif	Négatif
P82-P86	5		Négatif	Négatif	Négatif	Négatif
P87-P91	5		Négatif	Négatif	Négatif	Négatif
P92-P96	5		Négatif	Négatif	Négatif	Négatif
P97-P101	5		Négatif	Négatif	Négatif	Négatif
P102-P106	5		Négatif	Négatif	Négatif	Négatif
P107-P111	5		Négatif	Négatif	Négatif	Négatif
P112-P113	2	Négatif	Négatif	Négatif	Négatif	
P114-P118	5	(1) 06/12/16 (2) 09/12/16	Négatif	Négatif	Négatif	Négatif
P119-P123	5		Négatif	Négatif	Négatif	Négatif
P124-P128	5		Négatif	Négatif	Négatif	Ct=25
P129-P133	5		Négatif	Négatif	Négatif	Négatif
P134-P138	5		Négatif	Négatif	Négatif	Négatif
P139-P141	3		Négatif	Négatif	Négatif	Ct=36
P142-P146	5	(1) 23/03/17 (2) 24/03/17	Négatif	Négatif	Négatif	Négatif
P147-P151	5		Négatif	Négatif	Négatif	Négatif
P152-P156	5		Négatif	Négatif	Négatif	Ct=27
P157-P161	5		Négatif	Négatif	Négatif	Négatif
P162-P166	5		Négatif	Négatif	Négatif	Négatif
P167-P171	5		Négatif	Négatif	Négatif	Négatif
P172-P176	5		Négatif	Négatif	Négatif	Négatif
P177-P181	5		Négatif	Négatif	Négatif	Ct=29
P182-P186	5		Négatif	Négatif	Négatif	Ct=36
P187-P191	5		Négatif	Négatif	Négatif	Négatif
P192-P196	5		Négatif	Négatif	Négatif	Négatif
P197-P201	5		Négatif	Négatif	Négatif	Négatif
P202-P203	2		Négatif	Négatif	Négatif	Négatif
A1-A5	5	(1) 25/04/16 (2) 11/06/16	Négatif	Négatif	Ct=39, Tm=84°C	Négative
A6-A10	5		Négatif	Négatif	Négatif	Ct=36
A11-A15	5		Négatif	Négatif	Négatif	Négatif
A16-A20	5		Négatif	Négatif	Négatif	Négatif
A21-A25	5		Négatif	Négatif	Négatif	Négatif
A26-A30	5		Négatif	Négatif	Négatif	Négatif
A31-A33	3		Négatif	Négatif	Négatif	Négatif
BO1-BO5	5	(1) 03/05/16 (2) 26/05/16	Négatif	Négatif	Négatif	Ct=36
BO6-BO10	5		Négatif	Négatif	Négatif	Négatif
BO11-BO15	5		Négatif	Négatif	Négatif	Négatif
BO16-BO20	5		Négatif	Négatif	Négatif	Négatif
BO21-BO25	5		Négatif	Négatif	Négatif	Négatif
BO26-BO30	5		Négatif	Négatif	Négatif	Ct=34

* Les prélèvements P26 à P76 ont été extraits le même jour mais proviennent de deux visites différentes, le 07/04/16 pour P26 à P49 et le 22/04/16 pour P50 à P76.
Ct : point seuil (cycle threshold). Tm : température de dissociation (melting temperature)

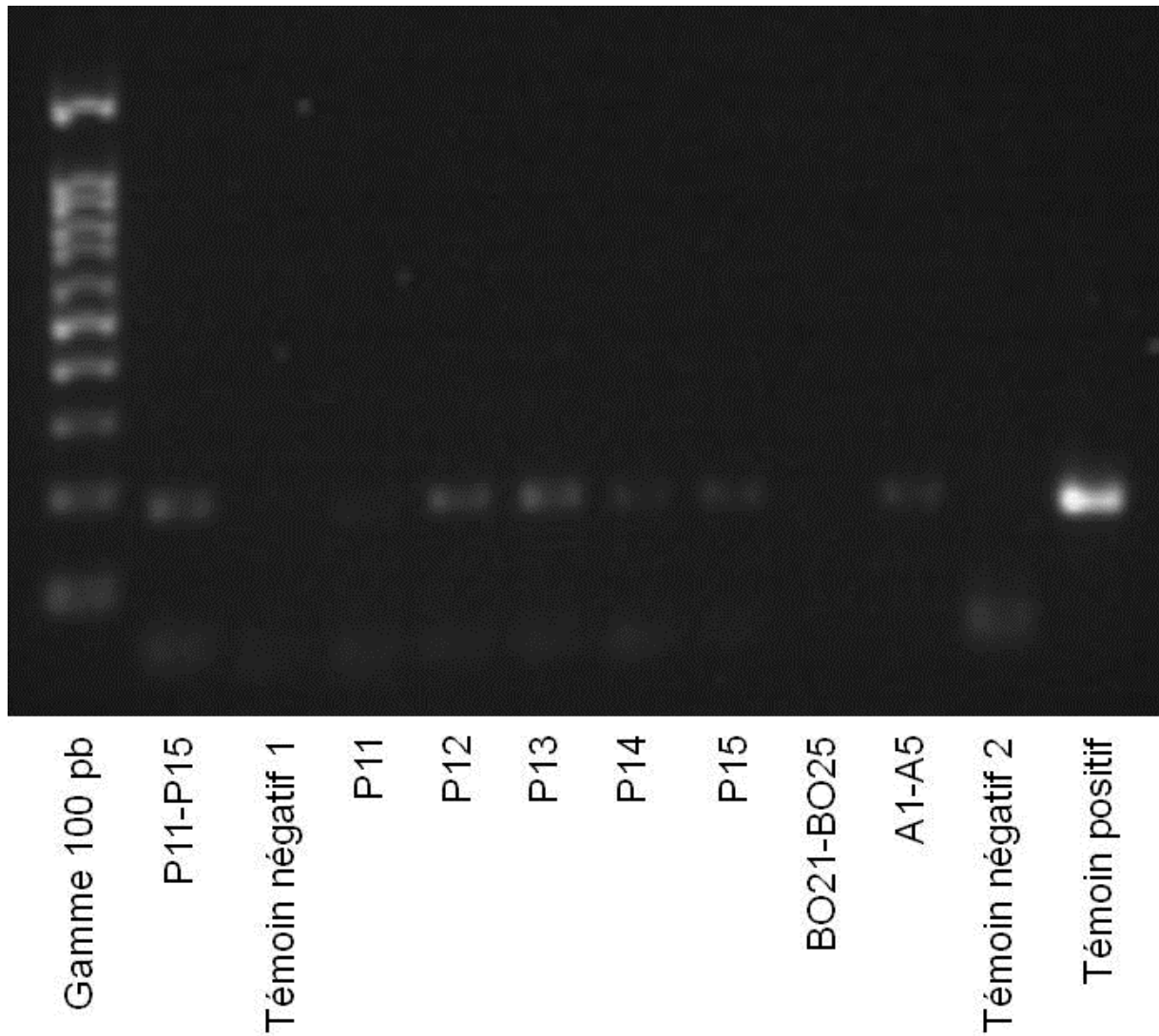


Figure 17 : Résultats de l'électrophorèse sur gel d'agarose des produits amplifiés de PCR ciblant le gène 16S rRNA de *M. gallisepticum*

Toulouse, le 25 octobre 2018

NOM : Phouratsamay

PRENOM : Albert

TITRE : Précision du statut sanitaire des hérons garde-bœufs (*Bubulcus ibis*) présents dans le Sud-Ouest de la France en 2016 et 2017 vis-à-vis des virus de l'influenza aviaire, des virus de la maladie de Newcastle, de *Mycoplasma gallisepticum* et de *Chlamydia* spp.

RESUME :

La France a traversé deux épisodes d'influenza aviaire hautement pathogène en 2015-2016 et 2016-2017, principalement dans le Sud-Ouest, provoquant des pertes économiques lourdes suite à l'abattage massif de volailles. Dans ce contexte de crise sanitaire, notre travail a porté sur la précision du statut épidémiologique des hérons garde-bœufs (*Bubulcus ibis*), souvent retrouvés sur les parcours de canards, vis-à-vis des virus de l'influenza aviaire, des virus de la maladie de Newcastle, de *Mycoplasma gallisepticum* et de *Chlamydia* spp. en analysant des fientes récoltées au sol de héronnières. Aucun virus influenza aviaire ni aucun virus de maladie de Newcastle n'ont été détecté par PCR dans les fientes alors qu'une excrétion fécale de *Chlamydia* sp. et *M. gallisepticum* a été mise en évidence, ce qui représente un risque potentiel pour les élevages avicoles.

MOTS-CLES : héron garde-bœufs, *Bubulcus ibis*, influenza aviaire, maladie de Newcastle, *Mycoplasma gallisepticum*, *Chlamydia* spp., fientes, PCR, France

TITLE: Assessment of the epidemiological status of cattle egrets (*Bubulcus ibis*) in southwestern France in 2016 and 2017 towards avian influenza viruses, Newcastle disease viruses, *Mycoplasma gallisepticum* and *Chlamydia* spp.

ABSTRACT:

France went through two outbreaks of highly pathogenic avian influenza in 2015-2016 and 2016-2017, mainly in the South-West, causing severe economic losses due to poultry massive culling. In this context of health crisis, our work focused on the assessment of the epidemiological status of cattle egrets (*Bubulcus ibis*), frequently found on free-range duck farms, towards avian influenza viruses, Newcastle disease viruses, *Mycoplasma gallisepticum* and *Chlamydia* spp. by analyzing droppings collected on the ground of heronries. All fecal samples were negative for avian influenza and Newcastle disease PCR while fecal excretion of *Chlamydia* sp. and *Mycoplasma gallisepticum* were revealed, which represents a potential risk for poultry and duck farms.

KEYWORDS: cattle egret, *Bubulcus ibis*, avian influenza, Newcastle disease, *Mycoplasma gallisepticum*, *Chlamydia* spp., fecal sampling, PCR, France