



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/> 25508

**To cite this version:**

Collin, Léo . *Évaluation de l'apport des plumes en tant que prélèvements pour le diagnostic des maladies aviaires*. Thèse d'exercice, Médecine vétérinaire, Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse – ENVT, 2019, 121 p.

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

# EVALUATION DE L'APPORT DES PLUMES EN TANT QUE PRELEVEMENTS POUR LE DIAGNOSTIC DES MALADIES AVIAIRES

---

THESE  
pour obtenir le grade de  
DOCTEUR VÉTÉRINAIRE

DIPLOME D'ETAT

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

*par*

**COLLIN Léo**

Né(e) le 04/10/1993 à TOULOUSE (31)

---

**Directeur de thèse : M. Jean-Luc GUERIN**

---

## JURY

PRESIDENT :

**M. Christophe PASQUIER**

Professeur à l'Université Paul-Sabatier de TOULOUSE

ASSESEURS :

**M. Jean-Luc GUERIN**  
**M. Guillaume LE LOCH**

Maître de Conférences à l'Ecole Nationale Vétérinaire de TOULOUSE  
Professeur à l'Ecole Nationale Vétérinaire de TOULOUSE



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

**Directrice** : **Madame Isabelle CHMITELIN**

**PROFESSEURS CLASSE EXCEPTIONNELLE**

- Mme **CHASTANT-MAILLARD Sylvie**, *Pathologie de la Reproduction*
- M. **BOUSQUET-MELOU Alain**, *Physiologie et Thérapeutique*
- Mme **CLAUW Martine**, *Pharmacie-Toxicologie*
- M. **CONCORDET Didier**, *Mathématiques, Statistiques, Modélisation*
- M. **DELVERDIER Maxence**, *Anatomie Pathologique*
- M. **ENJALBERT Francis**, *Alimentation*
- M. **PETIT Claude**, *Pharmacie et Toxicologie*
- M. **SHELCHER François**, *Pathologie médicale du Bétail et des Animaux de Basse-cour*

**PROFESSEURS 1° CLASSE**

- M. **BAILLY Jean-Denis**, *Hygiène et Industrie des aliments*
- M. **BERTAGNOLI Stéphane**, *Pathologie infectieuse*
- M. **BERTHELOT Xavier**, *Pathologie de la Reproduction*
- M. **BRUGERE Hubert**, *Hygiène et Industrie des aliments d'Origine animale*
- Mme **CADIERGUES Marie-Christine**, *Dermatologie Vétérinaire*
- M. **DUCOS Alain**, *Zootecnie*
- M. **FOUCRAS Gilles**, *Pathologie des ruminants*
- Mme **GAYRARD-TROY Véronique**, *Physiologie de la Reproduction, Endocrinologie*
- M. **GUERIN Jean-Luc**, *Aviculture et pathologie aviaire*
- 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° CLASSE**

- Mme **BOULLIER Séverine**, *Immunologie générale et médicale*
- Mme **BOURGES-ABELLA Nathalie**, *Histologie, Anatomie pathologique*
- M. **GUERRE Philippe**, *Pharmacie et Toxicologie*
- Mme **LACROUX Caroline**, *Anatomie Pathologique, animaux d'élevage*
- Mme **LETRON-RAYMOND Isabelle**, *Anatomie pathologique*
- M. **MAILLARD Renaud**, *Pathologie des Ruminants*
- M. **MOGICATO Giovanni**, *Anatomie, Imagerie médicale*

**PROFESSEURS CERTIFIÉS DE L'ENSEIGNEMENT AGRICOLE**

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

**MAÎTRES DE CONFÉRENCES HORS CLASSE**

- M. **BERGONIER Dominique**, *Pathologie de la Reproduction*
- Mme **CAMUS Christelle**, *Biologie cellulaire et moléculaire*

- Mme **DIQUELOU Armelle**, *Pathologie médicale des Equidés et des Carnivores*
- M. **JAEG Jean-Philippe**, *Pharmacie et Toxicologie*
- 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*
- Mme **PRIYMENKO Nathalie**, *Alimentation*
- M. **RABOISSON Didier**, *Productions animales (ruminants)*
- M. **VOLMER Romain**, *Microbiologie et Infectiologie*

#### 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 **BOUHSIRA Emilie**, *Parasitologie, maladies parasitaires*
- M. **CONCHOU Fabrice**, *Imagerie médicale*
- M. **CORBIERE Fabien**, *Pathologie des ruminants*
- Mme **DANIELS Hélène**, *Microbiologie-Pathologie infectieuse*
- Mme **DAVID Laure**, *Hygiène et Industrie des aliments*
- Mme **DEVIERS Alexandra**, *Anatomie-Imagerie*
- M. **DOUET Jean-Yves**, *Ophthalmologie vétérinaire et comparée*
- Mme **FERRAN Aude**, *Physiologie*
- 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*
- Mme **WASET-SZKUTA Agnès**, *Production et pathologie porcine*

#### MAITRES DE CONFERENCES CONTRACTUELS

- Mme **BORDE DORE Laura**, *Médecine interne des équidés*
- M. **GIANSETTO Thomas**, *Chirurgie*
- M. **JOLIVET Franck**, *Médecine interne*
- Mme **LECRU Line**, *Dermatologie*
- M. **LEYNAUD Vincent**, *Médecine interne*
- Mme **ROBIN Marie-Claire**, *Ophthalmologie*

#### ASSISTANTS D'ENSEIGNEMENT ET DE RECHERCHE CONTRACTUELS

- Mme **BLONDEL Margaux**, *Chirurgie des animaux de compagnie*
- M. **CARTIAUX Benjamin**, *Anatomie-Imagerie médicale*
- M. **COMBARROS-GARCIA Daniel**, *Dermatologie vétérinaire*
- M. **GAIDE Nicolas**, *Histologie, Anatomie Pathologique*
- M. **JOUSSERAND Nicolas**, *Médecine interne des animaux de compagnie*
- M. **LESUEUR Jérémy**, *Gestion de la santé des ruminants – Médecine collective de précision*

# Remerciements

A **M. le Professeur Christophe Pasquier,**

Doyen de la Faculté de Pharmacie de Toulouse, praticien au Centre de Physiopathologie de Toulouse Purpan, président du Jury pour m'avoir fait l'honneur d'accepter de présider mon jury de thèse.

Sincères remerciements.

A **M. Jean-Luc Guérin,**

Professeur de l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse et professeur en médecine aviaire, pour la confiance apportée à mon travail, sa gentillesse et son soutien permanent.

Sincères remerciements.

A **M. Guillaume Leloc'h,**

Maitre de conférences de l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse et professeur en Médecine Zoologique et Santé de la Faune Sauvage pour avoir accepté d'être mon second assesseur lors de cette soutenance et pour son implication au sein de l'école.

Sincères remerciements.

# Table des matières

Remerciements .....	3
Table des matières .....	6
Liste des figures .....	10
Liste des tableaux .....	13
Introduction.....	15
Partie 1 - La plume : anatomie, croissance, développement et composition.....	16
I. Organisation et anatomie de la plume.....	16
A. La Plume : anatomie générale.....	16
1) Principales composants d'une plume de contour.....	16
2) Description des composants d'une plume de contour .....	18
B. Types .....	21
1) Les plumes de contours.....	21
2) Le duvet.....	22
3) Les semi-plumes.....	24
4) Les filoplumes.....	25
C. Répartition.....	26
1) Pterlyose de l'adulte.....	26
2) Intérêt fonctionnel .....	28
II. Développement et croissance .....	29
A. Développement.....	29
1) Formation de la peau .....	29
2) Formation du germe.....	29
3) Elévation du germe .....	30
4) Formation des crêtes barbares .....	32
5) Formation du follicule plumeux .....	33
6) Kératinisation .....	34
B) Croissance .....	36
1) Eléments caractéristiques de la plume en croissance.....	37
3) Mécanismes de régulation .....	45
III. Composition chimique.....	47
A) Kératine.....	47
2) Autres constituants .....	48

Partie 2 - La plume, outil diagnostique des maladies infectieuses virales aviaires.....	49
I. Principe.....	49
A) Méthode .....	49
1) Préparation.....	49
2) Diagnostic de laboratoire .....	50
B) Détection des virus au sein de la plume .....	51
II. Diagnostic des maladies virales.....	51
A) Diagnostic de la maladie de Marek.....	51
B) Diagnostic des circoviroses .....	54
1) L'anémie infectieuse du poulet.....	54
2) La maladie du bec et des plumes des psittacidés .....	56
C) Diagnostic de la leucose aviaire .....	57
D) Diagnostic de la maladie de Newcastle .....	59
E) Diagnostic de la laryngotrachéite infectieuse aviaire .....	63
F) Diagnostic des flaviviroses.....	63
1) BAGV.....	63
2) West Nile .....	65
3) Méningoencéphalite du dindon .....	67
III. Bilan et application.....	69
A) Avantages.....	69
B) Inconvénients.....	70
C) Application à la vaccination .....	70
1) Détection des souches vaccinales dans les plumes .....	70
2) Application sur le terrain.....	75
Partie 3 - La plume, outil de surveillance des virus influenza aviaires .....	78
I. Influenza aviaire .....	78
A. Présentation .....	78
1) Classification virale.....	78
2) Structure.....	79
a) <i>Composition</i> .....	79
3) Pouvoir pathogène.....	82
4) Cycle viral .....	83
5) Nomenclature.....	85
B. Pathogénie .....	86
C. Mode de transmission.....	86
D. Signes cliniques .....	87

II. Diagnostic de l'influenza aviaire.....	88
A. Tests de laboratoire à disposition .....	88
1) Isolement viral.....	88
2) Immunodiffusion sur gel d'agarose.....	88
3) Test ELISA .....	89
4) PCR .....	90
5) Inhibition de l'hémagglutination.....	90
B. Supports diagnostiques à disposition .....	91
III. La plume : outil diagnostique de l'influenza aviaire.....	92
A. Persistance des virus influenza dans les plumes.....	92
1) H5N1.....	92
2) H7N1.....	94
3) H5N8.....	95
4) H5N6.....	96
B. Plume et écouvillons : quelle pertinence ? .....	97
1) H5N1.....	98
2) H7N1.....	100
3) H5N8.....	102
C. La plume : un rôle dans la transmission du virus IAHP ?.....	104
Conclusion .....	106
Bibliographie.....	108
Résumé.....	123



## Liste des figures

Fig. 1 : Anatomie de la plume de contours (d'après Lucas et Stettenheim 1972 <sup>4</sup> ) .....	17
Fig. 2 : Représentation du calamus interne et externe (d'après Lucas et Stettenheim 1972 <sup>4</sup> ) .....	18
Fig. 3 : Représentation du rachis interne et externe (d'après Lucas et Stettenheim 1972 <sup>4</sup> ) .....	19
Fig. 4 : Vue latérale d'une barbe de la portion pénacée (d'après Lucas et Stettenheim 1972 <sup>4</sup> ).....	20
Fig. 5 Coupe transversale de deux barbes de la portion pennacée (d'après Lucas et Stettenheim 1972 <sup>4</sup> ) .....	21
Fig. 6 : Morphologie d'une plume native de poulet. Une seule barbe est détaillée avec ses barbules (d'après Lucas et Stettenheim 1972) <sup>4</sup> .....	22
Fig. 7 : Morphologie d'une plume définitive de poulet. (d'après Lucas et Stettenheim 1972) <sup>4</sup> .....	23
Fig. 8 : Morphologie d'une semi-plume (d'après Lucas et Stettenheim 1972 <sup>4</sup> ). A droite : plume principale. A gauche : hyporachis. ....	24
Fig. 9 : Morphologie d'une filoplume mature (d'après Lucas et Stettenheim 1972 <sup>4</sup> ).....	25
Fig. 10 : Représentation schématique de la pterylographie d'une aile de poulet en vue ventrale (d'après Bennet et al. 2015 <sup>241</sup> ) .....	27
Fig. 11 : Représentation schématique de la ptérylographie du poulet en vue dorsale (d'après Lucas et Stettenheim 1972 <sup>4</sup> ) .....	28
Fig. 12 : Coupe histologique montrant la mise en place de la placode épidermique. (d'après WESSELS <sup>34</sup> 1965) 30	
Fig. 13 : Coupe histologique montrant l'élévation du germe plumaire (d'après WESSELS <sup>34</sup> 1965). ....	31
Fig. 14 : Coupe histologique d'un bourgeon épidermique (d'après WESSELS <sup>34</sup> 1965) .....	31
Fig. 15 : Représentation d'une coupe transversale de germe plumaire au 14 <sup>e</sup> jour avec visualisation des cellules différenciées des crêtes barbares (d'après Lucas et Stettenheim 1972 <sup>4</sup> ). ....	32
Fig. 16 : Mise en place du follicule plumeux (d'après Lei, M. et al 2016 <sup>6</sup> ).....	33
Fig. 17 : Représentation d'une coupe transversale de germe plumaire au 12 <sup>e</sup> jour avec visualisation du tissu vasculaire et des crêtes barbares (d'après Lucas et Stettenheim 1972 <sup>4</sup> ). ....	34
Fig. 18 : Début du processus de kératinisation. Plusieurs couches cellulaires sont visibles au sein de l'épiderme dont la membrane basale (bm) et le périoderme (p) (D'après Beckingham Smith 1973 <sup>60</sup> ).....	35
Fig. 19 : Le processus de kératinisation. Les agrégats de kérathoyaline sont visibles dans le périoderme (pg). Le sous-périoderme (sp) a commencé à se kératiniser. ....	36
Fig. 20 : Structure d'un follicule plumeux mature (d'après Stettenheim 1972 <sup>17</sup> ).....	37
Fig. 21 : Coupe longitudinale d'une plume en croissance (d'après Ghent University <sup>242</sup> ). ....	39

Fig. 22 : A : Représentation de l'artère axiale et ses différentes divisions à travers la pulpe et la papille d'une plume en croissance de coq White Leghorn .....	40
B : Représentation du réseau capillaire au sein de la pulpe d'une plume en croissance de coq White Leghorn (D'après Lillie 1940 <sup>39</sup> ) .....	40
Fig. 23 : Représentation des différentes étapes de la résorption de la pulpe et formation de la capsule (D'après Lillie 1940 <sup>39</sup> ) .....	42
Fig. 24 : Structure du tube épidermique (d'après Stettenheim 1972 <sup>17</sup> ) .....	44
Fig. 25 : Représentation schématique d'une plume en croissance (D'après Lucas AM et al <sup>4</sup> ) .....	45
Fig. 26 : Organisation tissulaire d'un embryon de poule avec visualisation des filaments de soutien (D'après Kischer et al 1971 <sup>28</sup> ) .....	46
Fig. 27 : Distribution de l'antigène du MDV sur une plume d'oiseau infecté en fonction de la distance d'échantillonnage par rapport à son lieu d'insertion.....	52
Fig. 28 : Charge virale du MDV en fonction de la région prélevée (d'après Baigent et al. 2004 <sup>78</sup> ).....	53
Fig. 29 : A gauche : coupe histologique d'un follicule plumeux sain. (D'après Davidson et al. 2008 <sup>84</sup> ) A droite : coupe histologique d'un follicule plumeux infecté par le CAV. (D'après Davidson et al. 2008 <sup>84</sup> ).....	55
Fig. 30 : Comparaison de la quantité d'ARN (exprimée en Ct) présente dans la pulpe de plume, le cloaque et l'oropharynx à 2, 3 et 5 jours post inoculation (D'après Lee et al. 2016) .....	61
Fig. 31 : Immunohistochimie de la plume. A = sujet sain. B = Foyers de nécrose infiltration avec infiltration hétérophilique et lymphocytaire (D'après Lee et al. 2016 <sup>117</sup> ) .....	62
Fig. 31 : Evolution de la charge virale (exprimée en Ct) dans les écouvillons oraux (carrés blancs), les écouvillons cloacaux (carrés noirs) et les plumes (cercles noirs) en fonction du temps post-inoculation (D'après Llorente et al. 2015 <sup>112</sup> ).....	64
Fig. 32 : Comparaison de la charge virale de la souche Rispens dans des échantillons de pulpe de plume, de rate et de lymphocytes périphériques dans le sang à 14 jours post vaccination (D'après Baigent et al. 2005 <sup>78</sup> ).....	71
Fig. 33 : Evolution du pourcentage de rtPCR sur pulpe de plume positives pour la souche Rispens du MDV jusqu'à 90 semaines. Résultats cumulés de trois élevages de poulets (D'après Ralapanawe et al. 2016 <sup>138</sup> ) .....	76
Fig. 35 : Structure de la RNP du virus influenza A (d'après Portealet et Digard 2002 <sup>150</sup> ).....	81
Fig. 36 : Représentation schématique d'un virus influenza A (d'après Nayak et al 2013 <sup>156</sup> ) .....	82
Fig. 37 : Structure de l'acide sialique et affinité du récepteur selon sa conformation (adapté de Pillai et Lee 2010 <sup>165</sup> , Nelli et al 2010 <sup>164</sup> ) .....	84
Fig. 38 : Cycle de vie du virus influenza (adapté de Shi et al. 2014 <sup>173</sup> ).....	85
Fig. 40 : Foyers de nécrose diffus au sein de l'épithélium du follicule plumeux. (D'après Yamamoto et al. 2007) .....	93
Fig. 41 : Visualisation des virions de l'influenza (H5N1) A/chicken/Yamaguchi/7/2004 au microscope électronique à transmission entre les cellules épithéliales de la plume de canard .....	94

Fig. 42 : Immunohistochimie d'une plume de canard infectée par le virus H5N8 (D'après Guérin et al. 2017 <sup>230</sup> ) .....	96
Fig. 43 : Immunohistochimie pour la nucléoprotéine du virus IAHP H5N6 d'une coupe transversale de plume de poulet. (D'après Butler et al. 2006 <sup>222</sup> ).....	97
Fig. 44 : Expression de la charge virale dans la pulpe de plume (Fp), les écouvillon cloacaux (CS) et oropharyngés (OS) en fonction du temps à deux intervalles de températures (22-23°C et 30-31°C) en fonction du temps post-inoculation (pi). (D'après Busquets et al. 2010 <sup>229</sup> ).....	101
Fig. 45 : Détection du virus IAHP H5N8 par rtPCR sur pulpe de plume (FP), écouvillon cloacal (CS) et écouvillon trachéal (TS) dans différents élevages. ....	102
Fig. 46 : Estimation de la sensibilité d'une méthode de rtPCR ciblant les gènes M et H5 de trois types d'échantillons pour 5 seuils de positivité différents (D'après Guérin et al. 2017 <sup>230</sup> ).....	103

## Liste des tableaux

Tableau 1 : Composition en acides aminés du rachis, du calamus et des barbes de plumes hydrolysées chez différentes espèces. L (D'après Hump et Woods 1967 <sup>64</sup> , Harrap et Woods 1964, Schroeder et Kay 1955 <sup>66</sup> ) ..... 48	48
Tableau 2 : Résultats de l'amplification de l'ADN du CAV dans 3 élevages de volailles en Israël + : PCR positive, - : PCR négative (D'après Davidson et al. 2004 <sup>85</sup> ) ..... 54	54
Tableau 3 : Comparatif du diagnostic de la maladie du bec et des plumes des psittacidés par PCR sur sang (B), écouvillons cloacal (C) et fragments d'extrémité de plumes (F). (D'après de Hess et al. 2004 <sup>86</sup> ) ..... 56	56
Tableau 4 : Comparatif du diagnostic de la leucose aviaire (séro groupe ALV-J) par PCR sur rate (Spleen), foie (Liver) et fragments d'extrémité de plumes (Adapté de Davidson et Borenshtain 2002 <sup>93</sup> ) ..... 58	58
Tableau 5 : Comparatif du diagnostic de la leucose aviaire (séro groupe ALV-J) par test ELISA sur plasma, écouvillon cloacal (Cloacal swab) et pulpe de plume (Feather pulp). (Adapté de Sung et al 2002 <sup>94</sup> )..... 59	59
Tableau 6 : Comparaison du niveau d'anticorps dans la pulpe de plume et le sérum de poulets Whit Leghorns inoculés à 8 semaines. (d'après Garrido et al. 1992 <sup>115</sup> ) ..... 60	60
Tableau 7 : Comparatif du diagnostic de la laryngotrachéite infectieuse par PCR sur homogénat de trachée (B), écouvillon trachéal (D) et tiges de plume (Adapté de Davidson et al. 2009 <sup>97</sup> ) ..... 63	63
Tableau 8 : Titre logarithmique du WNV dans des échantillons d'extrait de rein et de rate, des écouvillons cloacaux et des extraits de pulpe de plume de corvidés (D'après Docherty et al. 2004 <sup>107</sup> ) ..... 65	65
Tableau 9 : Détection du WNV par immunohistochimie dans différents organes de corbeaux (Adapté de Shirafuji et al. 2008 <sup>108</sup> ) ..... 66	66
Tableau 10 : Evaluation de l'utilisation de la pulpe de plume pour le diagnostic de la méningoencéphalite du dindon par rtPCR (exprimé en Ct) chez des sujets inoculés (D'après Davidson et al. 2017 <sup>105</sup> )..... 68	68
Tableau 11 : Evaluation de l'utilisation de la pulpe de plume pour le diagnostic de la méningoencéphalite du dindon par rtPCR (exprimé en Ct) sur des cas cliniques (D'après Davidson et al. 2017 <sup>105</sup> ) ..... 69	69
Tableau 12 : Comparaison du nombre de cellules virales (VCN) dans des échantillons de plume et de rate après vaccination HVT-MDV2 chez des poulets de 4 mois (d'après Renz et al. 2006) <sup>132</sup> ..... 72	72
Tableau 13 : Détection de l'ILTV par PCR nichée sur rate et sur pulpe de plume avant et après vaccination au sein de deux élevages (D'après Davidson et al. 2009 <sup>97</sup> ) ..... 74	74
Tableau 14 : Les segments du génome de l'IA, les protéines pour lesquelles ils codent et leur fonction (adapté de Bouvier et Palese 2008) <sup>149</sup> ..... 80	80
Tableau 15 : Avantages et inconvénients de la méthode d'isolement viral dans le diagnostic de l'influenza A <sup>184, 185, 186, 187</sup> ..... 88	88
Tableau 16 : Avantages et inconvénients de la méthode d'immunodiffusion sur gel d'agarose dans le diagnostic de l'influenza A <sup>184, 188</sup> ..... 89	89

Tableau 17 : Avantages et inconvénients de la méthode ELISA direct et indirect dans le diagnostic de l'influenza A <sup>189, 190, 191, 192, 193, 194, 195, 198</sup> .....	89
Tableau 18 : Avantages et inconvénients des méthodes de PCR conventionnelle et rtPCR dans le diagnostic de l'influenza A <sup>199, 200, 201, 202, 203, 204</sup> .....	90
Tableau 19 : Avantages et inconvénients de la méthode d'inhibition de l'hémagglutination dans le diagnostic de l'influenza A <sup>206, 207, 208</sup> .....	91
Tableau 20 : Estimation de la sensibilité de trois techniques de rtPCR en utilisant des écouillons trachéaux (T), cloacaux (C) et de la pulpe de plume (F) (D'après Slomka et al.2012) <sup>223</sup> .....	98
Tableau 21 : Comparaison du diagnostic par rtPCR et test ELISA indirect du virus influenza A/duck/Nigeria/1071-23/2007 (D'après Aiello et al. 2013) <sup>226</sup> .....	99

## Introduction

La plume est un phanère caractéristique de la classe des oiseaux. Partie intégrante de l'organisme, c'est un organe complexe de par sa structure et sa composition.

Les formes hautement pathogènes du virus influenza ont eu des conséquences désastreuses dans l'économie aviaire mondiale. En France, par exemple, deux crises sanitaires majeures sont intervenues en 2015-2016 et 2016-2017, respectivement. La deuxième crise, particulièrement importante, a conduit à l'abattage de plus de 1,2 million de volailles.

Ces conséquences soulèvent l'intérêt d'un diagnostic simple, précis et précoce.

Au cours des deux dernières décennies, plusieurs travaux se sont intéressés au rôle potentiel des plumes dans le diagnostic des maladies virales aviaires.

Le but de ce travail est d'apporter, à travers les différentes études réalisées sur chaque virus, des éléments de réponse quant à l'intérêt et l'avantage des plumes dans le diagnostic des maladies virales aviaires, et tout particulièrement du virus influenza.

Dans une première partie, nous décrirons l'anatomie, le développement, la croissance et la consistance d'une plume, puis nous présenterons les différents travaux de recherche réalisés sur la plume comme outil diagnostique des virus aviaires pour se focaliser dans une troisième partie sur les virus influenza.

# Partie 1 - La plume : anatomie, croissance, développement et composition

## I. Organisation et anatomie de la plume

### A. La Plume : anatomie générale

#### 1) Principales composants d'une plume de contour

La plume est définie sur son axe longitudinal par une tige (ou scapus), elle-même composée du calamus et du rachis.

Le calamus est la partie tubulaire, courte et non pigmentée qui s'insère dans le follicule plumeux.

Le rachis désigne la portion longue et solide de la tige, assurant la continuité du calamus. Un orifice de petite taille, l'ombilic supérieur, marque la séparation entre le rachis et le calamus.

L'axe transversal est défini par le vexille (ou vexillum), composée de barbes, elles-mêmes composée de tiges (ou ramus) puis de barbules qui se prolongent obliquement de part et d'autre de la tige.

L'aspect du vexillum permet de définir une portion dite plumulacée, où l'agencement espacé des barbes lui procure un aspect doux et duveteux et une portion dite pennacée, plus compacte.

La partie inférieure du rachis peut comporter une plume secondaire, appelée hyporachis (ou hypoptyle), elle-même composée d'une tige et d'un vexillum.

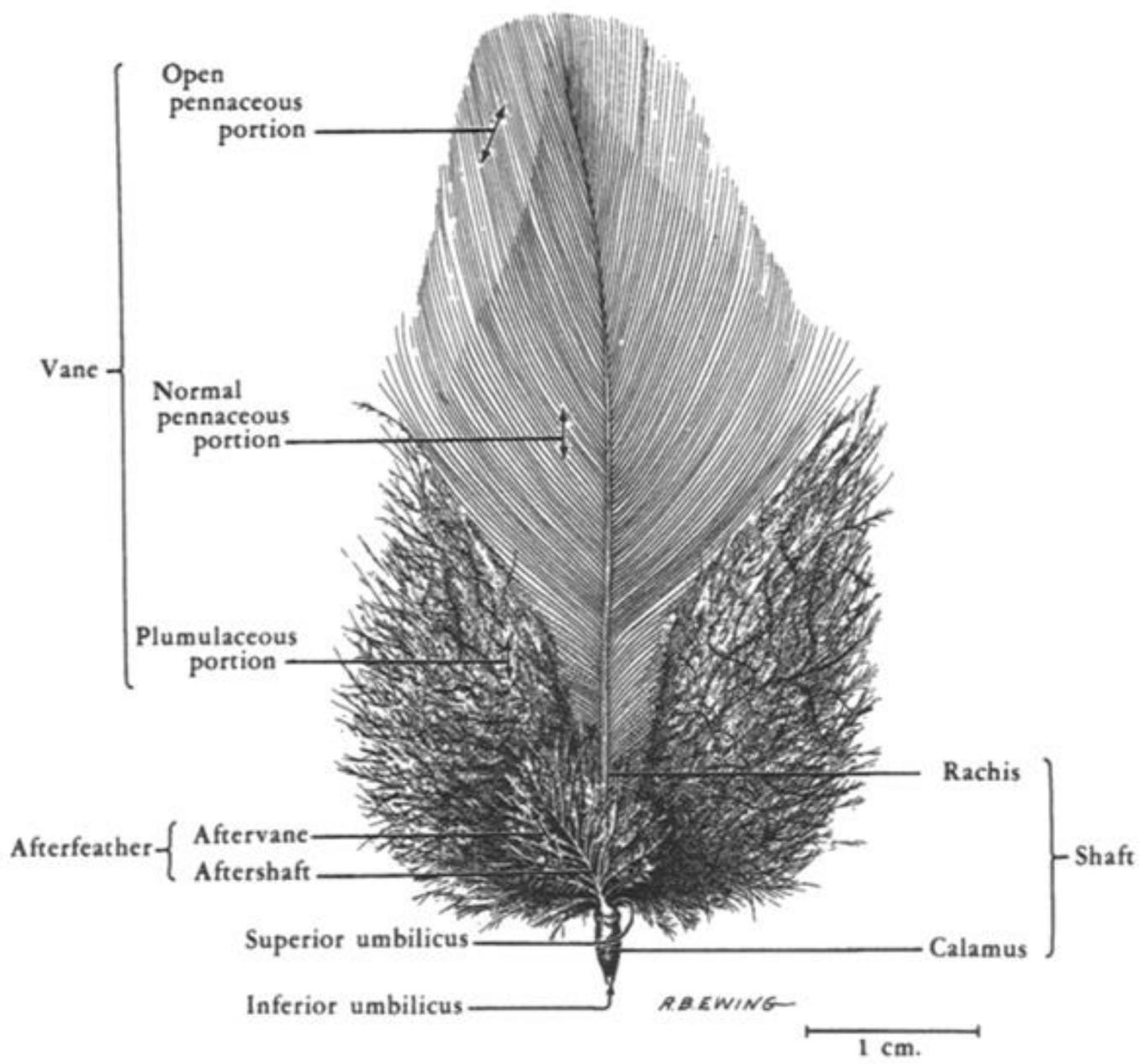


Fig. 1 : Anatomie de la plume de contours (d'après Lucas et Stettenheim 1972<sup>4</sup>)

## 2) Description des composants d'une plume de contour

### a) Le calamus

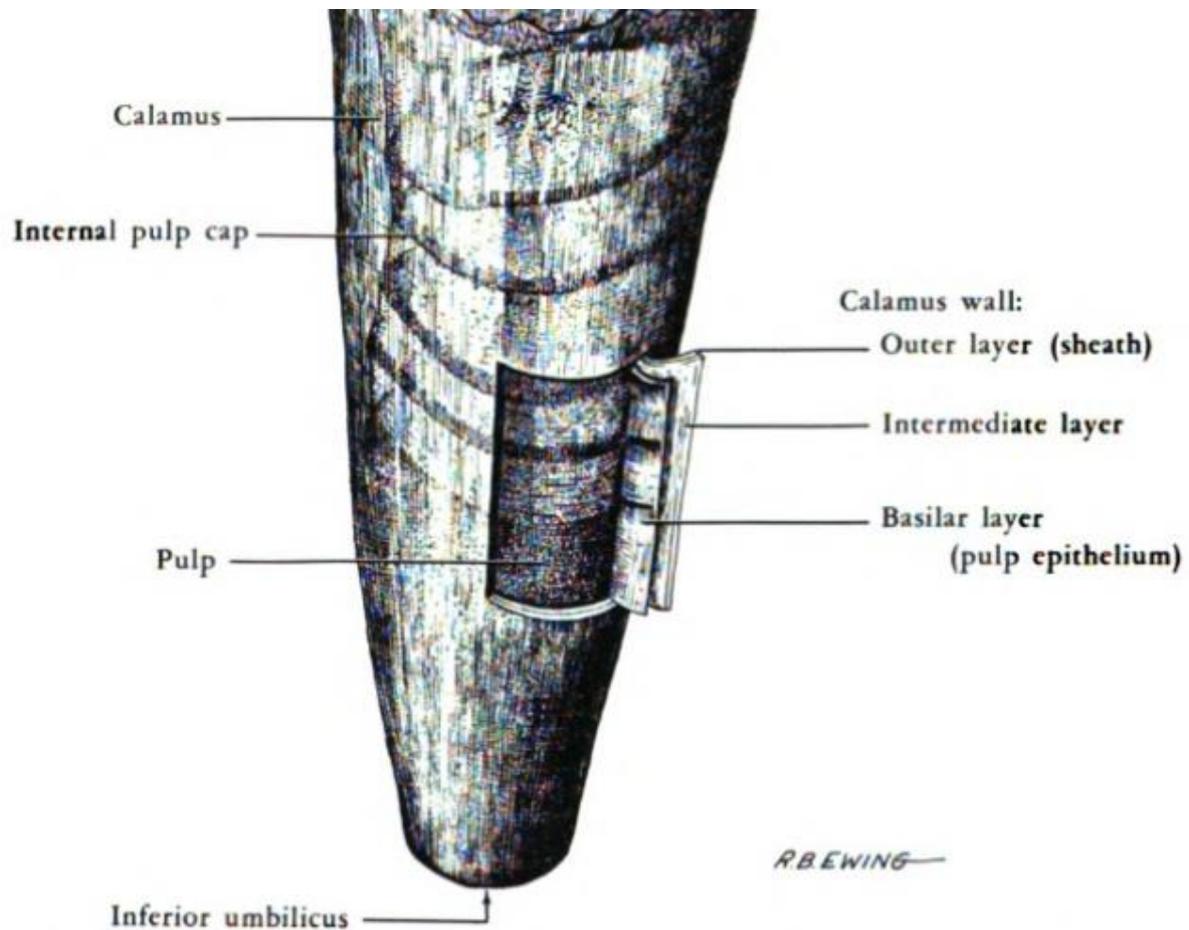


Fig. 2 : Représentation du calamus interne et externe (d'après Lucas et Stettenheim 1972<sup>4</sup>)

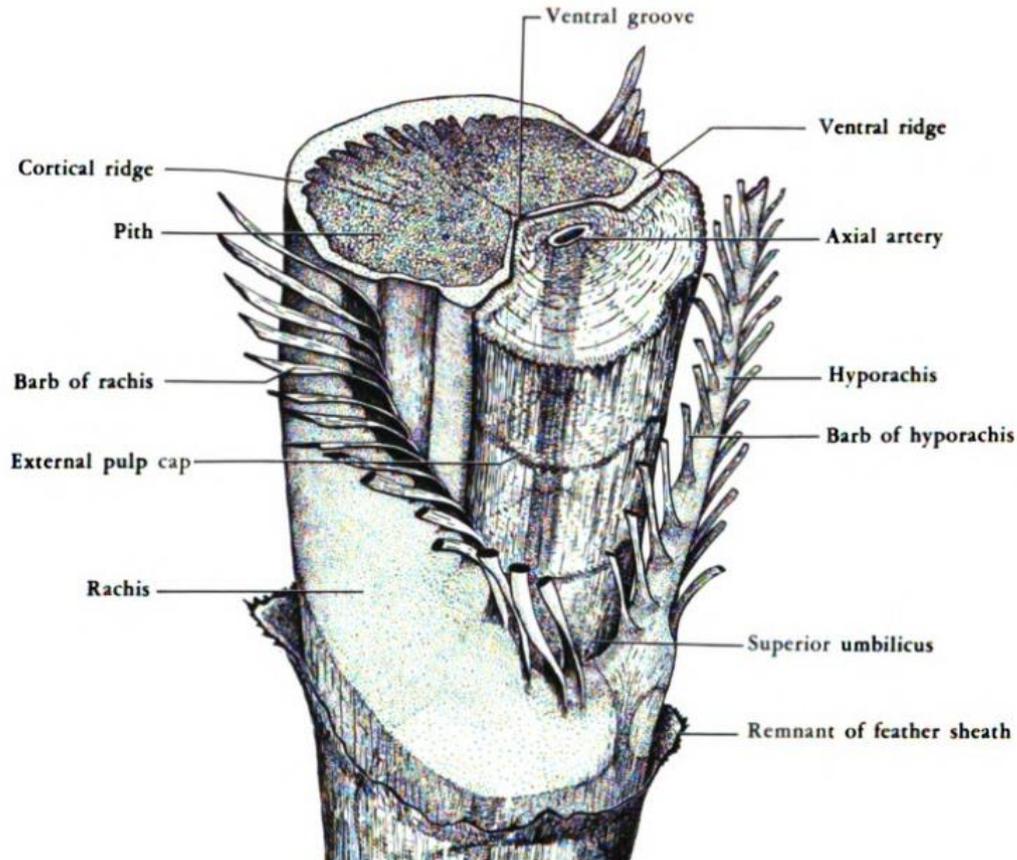
Le calamus est composé de 3 couches formant une paroi tubulaire solide, la couche la plus extérieure étant la couche la plus épaisse et la couche la plus intérieure, la plus étroite.

La couche extérieure assure la continuité avec la gaine, qui enferme la plume au début de sa croissance et se résorbe à la fin.

La couche intérieure forme un tube qui abrite la pulpe, composée essentiellement d'un tissu vasculaire, recouverte sur son extrémité distale par un épithélium kératinisé. Plus la plume grandit, plus la pulpe régresse et à la fin de la croissance, seul l'épithélium kératinisé persiste, formant une capsule et apparaissant comme des stries horizontales traversant la lumière du calamus<sup>7</sup>.

La partie qui assure la continuité avec le rachis est la portion plus fragile de la tige.

*b) Le rachis*



*Fig. 3 : Représentation du rachis interne et externe (d'après Lucas et Stettenheim 1972<sup>4</sup>)*

Le rachis se distingue du calamus de par sa structure non-tubulaire mais plus solide.

Le cortex, couche la plus externe du rachis, est un tissu fin assurant un rôle de paroi similaire à celle du calamus.

La couche la plus interne du rachis, la médulla, abrite une moelle, un tissu spongieux composé essentiellement de cellules épithéliales kératinisées remplies d'air, enveloppées par un cortex lui-même kératinisé. L'air logé dans la moelle rend le rachis opaque, contrairement au calamus qui, lui, est transparent.

L'artère axiale part de l'ombilic inférieur et traverse la plume en passant par la pulpe. Tout comme cette dernière, son rôle d'alimentation intervient pendant la croissance et se résorbe au fur et à mesure que la plume grandit<sup>8</sup>.

#### c) Les barbes

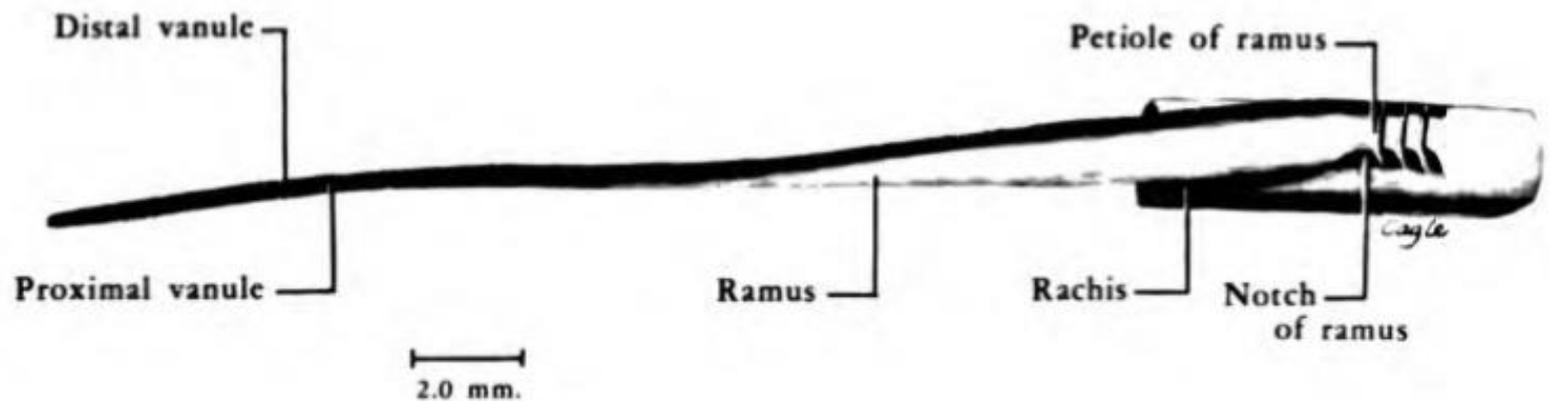


Fig. 4 : Vue latérale d'une barbe de la portion pennacée (d'après Lucas et Stettenheim 1972<sup>4</sup>)

La consistance des barbes est sensiblement la même que celle du rachis : un cortex fin et une médulla contenant une moelle. L'existence d'une troisième couche très fine qui recouvrirait le cortex est ambiguë<sup>9 10</sup>.

La séparation entre les médullas du rachis et des barbes est marquée par le pétiole où les cellules médullaires rassemblées de manière irrégulières, marquent une discontinuité franche avec la médulla du rachis<sup>11</sup>.

#### d) Les barbules

Les barbules sont formées par la projection d'une seule cellule. Si les barbules de la portion pennacée ont une structure nodale-internodale simple, la consistance des barbules de la portion plumulacée, plus complexe, diffère selon l'espèce et leur localisation distale ou proximale par rapport au ramus.

La terminaison en crochet des barbules de la portion distale permet de s'accrocher aux barbules de la portion proximale qui ont, elles, une terminaison simple.

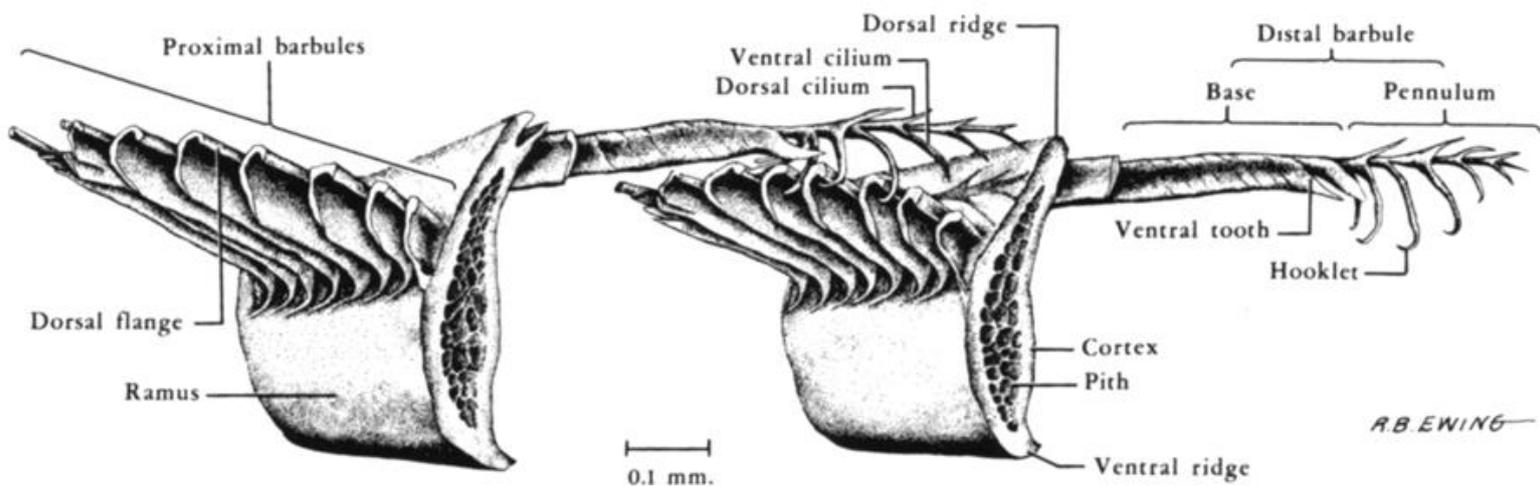


Fig. 5 Coupe transversale de deux barbes de la portion pennacée (d'après Lucas et Stettenheim 19724)

## B. Types

### 1) Les plumes de contours

La grande majorité des plumes recouvrant le corps sont appelées pennes ou plumes de contour. Leur tige très développée en fait des plumes longues. Il existe trois groupes de plumes de contour : les rémiges, les tectrices et les rectrices.

Les rémiges, plus larges et plus rigides que les tectrices, sont agencées sur les ailes et servent au vol. Elles sont divisées en deux sous-groupes : les rémiges primaires et secondaires.

Les rémiges primaires sont généralement comptées au nombre de 10, la première étant la plus proximale. On les trouve autour de l'articulation de la main. Elles ont un vexillum asymétrique.

Les rémiges secondaires sont agencées autour de l'avant-bras et sont plus symétriques que les rémiges primaires. Contrairement aux rémiges primaires, leur nombre varie ce qui change leur numérotation selon l'espèce<sup>22</sup>, la première étant la plus distale.

Les rectrices, organisées autour de la queue, sont également des larges plumes servant au vol et ont une structure similaire à celle des rémiges.

Les tectrices sont des plumes de contours réparties par rangées. On les retrouve au niveau de l'aile, de la queue et parfois autour des oreilles.

## 2) Le duvet

Comme son nom l'indique, le duvet désigne un ensemble de plumes qui, de par leurs caractéristiques morphologiques, ont une texture douce et duveteuse.

Leur rachis est soit absent, soit relativement court. A ce titre, elles diffèrent des semi-plumes (détaillé ci-après) par le fait que la longueur du rachis est moins importante que la longueur de leur barbe la plus longue.

Le duvet comprend deux principaux types de plumes : les plumes natives et les plumes définitives.

### a) Les plumes natives

Les plumes natives sont présentes à l'éclosion et les quelques jours qui suivent. Elles possèdent un rachis relativement court mais leur principale caractéristique morphologique est que l'extrémité de leurs barbes terminales est dépourvue de barbule<sup>15</sup>. La présence et le développement d'un calamus diffère selon les espèces<sup>16</sup>

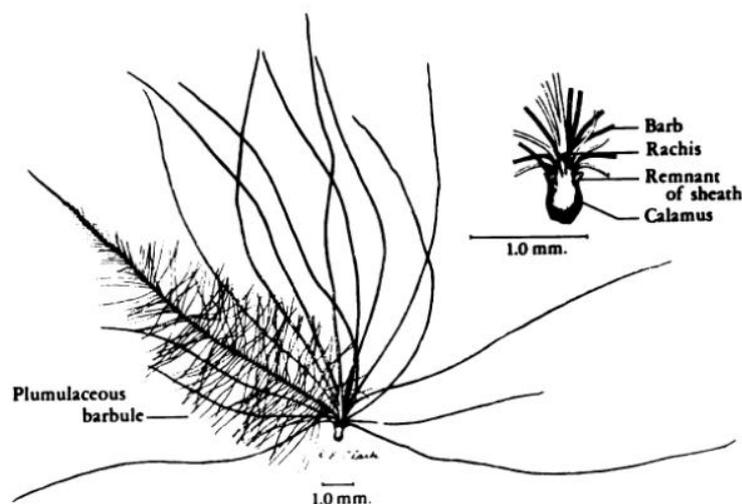


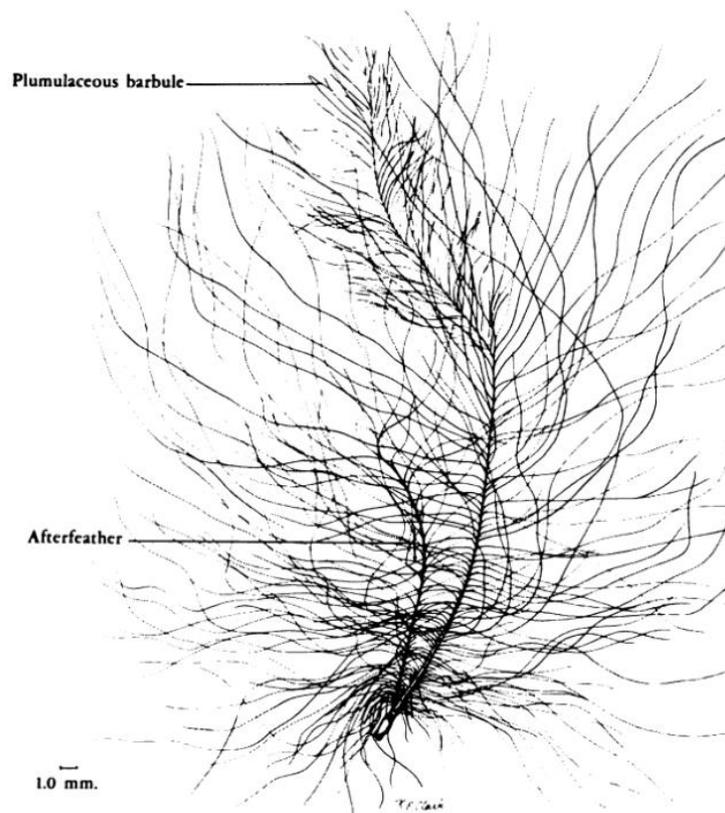
Fig. 6 : Morphologie d'une plume native de poulet. Une seule barbe est détaillée avec ses barbules (d'après Lucas et Stettenheim 1972)<sup>4</sup>

### *b) Les plumes définitives*

Les plumes définitives apparaissent après les plumes natives. Contrairement à ces dernières, les plumes définitives possèdent toujours un calamus. La longueur de leur rachis, en revanche, varie selon les espèces<sup>17</sup>.

Leurs barbes ont une morphologie similaire à la portion plumulacée des plumes de contours même si elles sont généralement plus longues et sont pourvus de barbules plus proches les unes des autres.

Elles possèdent également un hyporachis contrairement aux plumes natives.

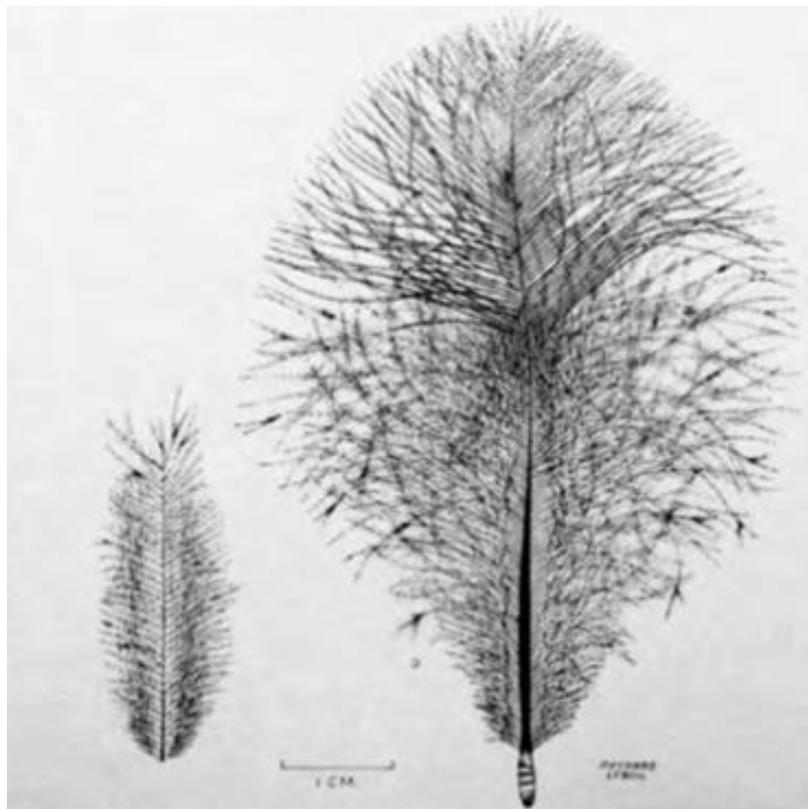


*Fig. 7 : Morphologie d'une plume définitive de poulet. Une seule barbe est détaillée avec ses barbules (d'après Lucas et Stettenheim 1972)<sup>4</sup>*

### 3) Les semi-plumes

Si les plumes de contours et les plumes du duvet ont leurs caractéristiques morphologiques propres, les semi-plumes sont souvent décrites comme étant une combinaison des deux<sup>12</sup>. Certains même parlent des semi-plumes comme « demi-duvet »<sup>13</sup>.

Les semi-plumes possèdent un long rachis et un vexillum entièrement plumulé. L'absence de portion pennacée suffit à les distinguer des plumes de contours. D'autre part, elles se distinguent des plumes du duvet par la longueur importante de leur rachis et des barbes. Enfin, les semi-plumes ont la particularité morphologique d'avoir un rachis de taille plus importante que ses barbes.



*Fig. 8 : Morphologie d'une semi-plume (d'après Lucas et Stettenheim 1972<sup>4</sup>). A droite : plume principale. A gauche : hyporachis.*

Les semi-plumes sont réparties le long des plages où sont situées les plumes de contours et sont alignées avec ces dernières<sup>14</sup>. On les retrouve de manière abondante en région abdominale.

#### 4) Les filoplumes

Assimilables à l'œil nu à des poils, les filoplumes d'un oiseau sont visibles après son plumage. Elles sont constituées d'une tige très fine et longue sur laquelle s'insèrent quelques barbes et barbules à l'extrémité. La tige possède également un calamus mais ce dernier se rompt souvent lorsque la filoplume est arrachée de son follicule du fait de la faible épaisseur du rachis<sup>17 18</sup>.

L'abondance de terminaisons nerveuses au sein de leur follicule plumeux laisse à penser que les filoplumes ont une fonction essentiellement sensorielle, notamment dans la transmission des vibrations<sup>19</sup>.

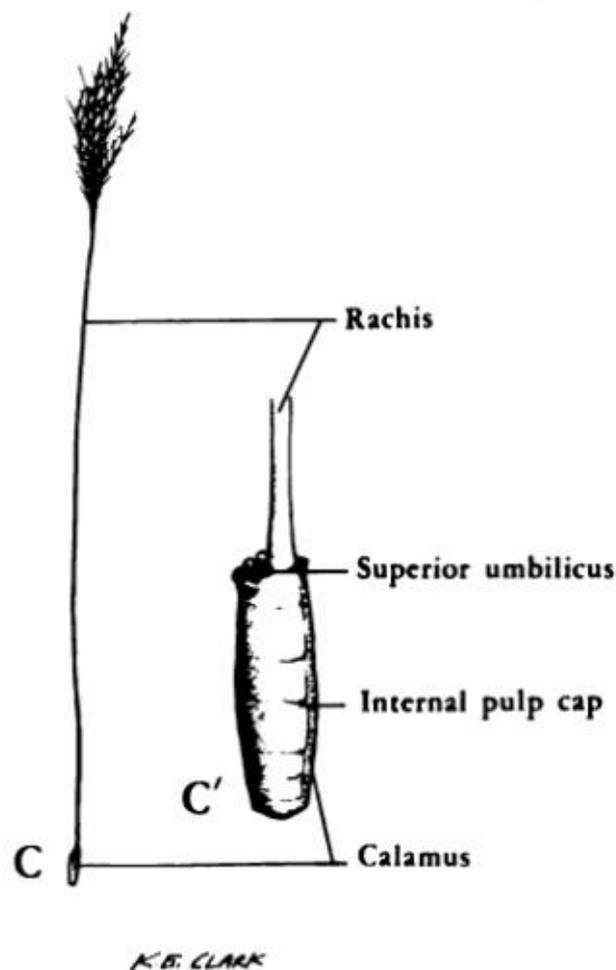


Fig. 9 : Morphologie d'une filoplume mature (d'après Lucas et Stettenheim 1972<sup>4</sup>)

## C. Répartition

La peau des oiseaux est entièrement recouverte de plumes, exceptée au niveau du bec, des yeux et des pattes. Les parties anatomiques du corps contenant les plumes de contours sont appelées *pterylae*<sup>2</sup> (*pteryla* au singulier). Elles sont organisées en rangées, elles-mêmes organisées en groupes où chaque type de plume détaillé précédemment a une place bien précise, ce qui permet de délimiter des zones et d'étudier leur distribution. On parle de *pterylose*<sup>2</sup>.

Les zones sans plume de contours, dites aptères, représentent environ 25 % de la surface du corps<sup>24</sup> et sont localisées au niveau des plis de l'aile, des pattes et de la partie centrale de la poitrine<sup>3</sup>.

### 1) Pterlyose de l'adulte

La répartition des plumes de l'adulte est spécifique à chaque espèce. Les travaux de cartographie des *pterylae* (ou *pterylographie*<sup>12</sup>) réalisés montrent une diversité au sein de la classe des oiseaux, rendant l'exercice difficile et discutable. Ainsi, probablement aucun modèle de *pterylographie* ne serait véritablement satisfaisant pour toutes les espèces.

#### a) Organisation de l'aile

La densité et la diversité des plumes agencées au niveau de l'aile sont plus élevées que sur le reste du corps, rendant son organisation complexe<sup>17 20 21</sup>

La partie supérieure du bras comprend les plages sub-humérale et post-humérale dont les plumes les plus longues s'apparentent à des rémiges. La zone qui correspond à la projection de l'humérus est aptère. On retrouve la même organisation pour l'avant-bras et la main.

Les rémiges sont agencées à la périphérie de l'aile, réparties en trois séries distinctes autour de la main, de l'avant-bras et de l'alula.

Les dix rémiges primaires sont rattachées à l'os du doigt le plus long. On trouve parfois une plume isolée antérieure à la dixième rémige primaire, rattachée à la deuxième phalange du doigt II dont l'origine est indéterminée<sup>22</sup>.

Les rémiges secondaires sont rattachées à l'ulna et s'étendent jusqu'au coude. La plupart des espèces en ont entre 10 et 20, mais leur nombre peut aller jusqu'à 40<sup>23</sup>.

Les rémiges alulaires sont de petite à moyenne taille. Elles sont rattachées au pouce et sont au nombre de 2 à 6 selon les espèces<sup>22</sup>.

Les tectrices s'organisent en rangées antérieures aux rémiges, aussi bien sur la partie ventrale que sur la partie dorsale de l'aile.

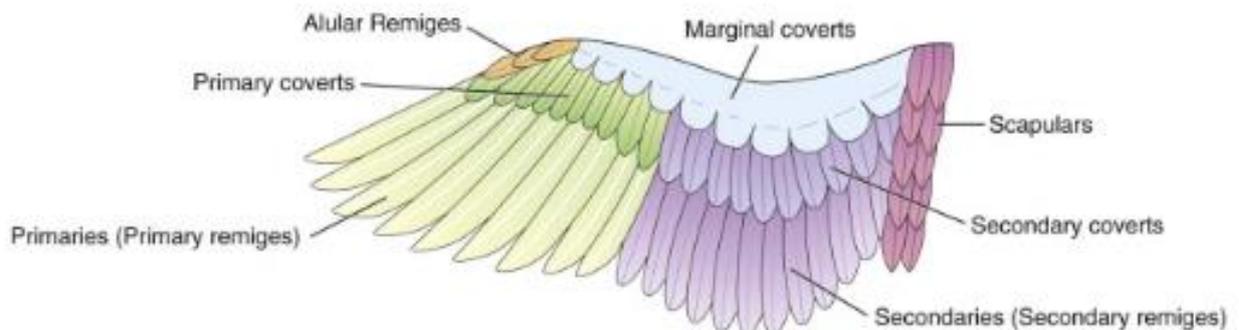


Fig. 10 : Représentation schématique de la pterylographie d'une aile de poulet en vue ventrale (d'après Bennet et al. 2015<sup>241</sup>)

#### b) Organisation du reste du corps

Le duvet se répartit parmi les plumes de contours aussi bien au sein des plages de ces-dernières que dans les zones aptères. Il ne semble pas y avoir de différence de morphologie des plumes du duvet selon leur localisation.

Certaines parties du corps sont totalement dépourvues de plumes. C'est notamment le cas de la jonction dorsale entre l'aile et le reste du corps ou de l'espace situé entre la cuisse et le tronc<sup>24</sup>. L'organisation anatomique de la pterylose du corps du poulet est détaillée dans le schéma ci-après (fig. 12)

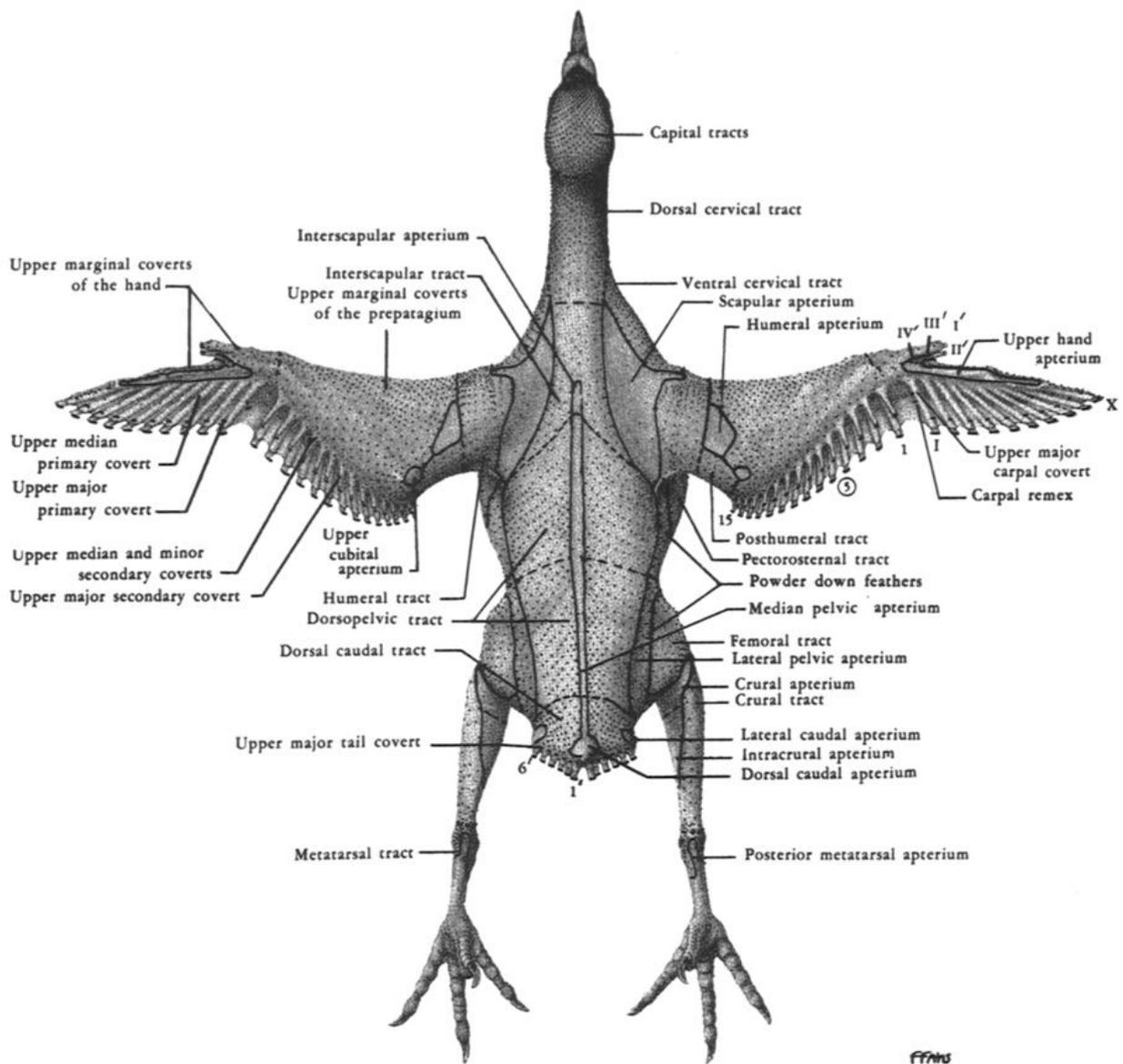


Fig. 11 : Représentation schématique de la ptérylographie du poulet en vue dorsale (d'après Lucas et Stettenheim 1972<sup>4</sup>)

## 2) Intérêt fonctionnel

Nitzsch (1867)<sup>12</sup> a suggéré que l'apteria réduirait le poids total du plumage, diminuerait le coût du métabolisme du renouvellement des plumes et permettrait ainsi une meilleure liberté de mouvement.

Clench (1970)<sup>31</sup> a soutenu que cette disposition avait un rôle majeur dans la régulation de la température. Par exemple, lors de fortes températures, un oiseau a tendance à garder ses

ailles en position ouverte, dévoilant les surfaces aptères, permettant alors une meilleure évacuation de la chaleur par le tégument.

## II. Développement et croissance

### A. Développement

#### 1) Formation de la peau

Même si cette première étape ne fait pas partie du développement de la plume *sensus stricto*, elle est indispensable à la mise en place du germe, lui-même à l'origine de la formation du follicule plumeux.

Au commencement, la peau est constituée de deux principales couches, l'épiderme en surface et le derme en profondeur.

L'épiderme se développe à partir de l'ectoderme pendant les premiers jours d'incubation<sup>32</sup>. Le deuxième jour, les cellules de la première couche ainsi formée se divisent et forment une couche superficielle, l'épitrichium<sup>33</sup> d'une part et une couche profonde de cellules cylindriques, le *stratum germinativum* (ou couche de Malpighi) d'autre part. Les cellules germinatives se multiplient, formant à partir du 13<sup>e</sup> jour un épithélium stratifié squameux, dont les cellules de la couche la plus en surface forment le *stratum corneum*.

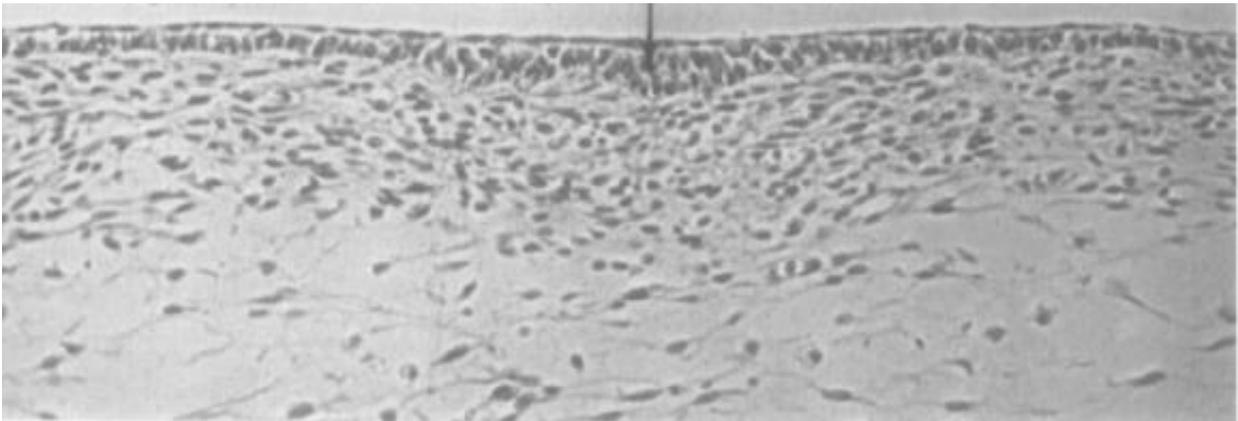
Le derme a pour origine certaines composantes du mésoderme. La portion du derme qui couvrira la partie dorsale et dorso-latérale du corps est dérivé de blocs du mésoderme primitif, les somites. L'autre portion du derme a pour origine la couche somatique du mésoderme. Les cellules de ces deux composantes migrent et forment un tissu de soutien, le mésenchyme.

#### 2) Formation du germe

Les premiers signes de développement du follicule plumeux sont observés à 5 jours d'incubation<sup>34</sup>. Cela correspond au stade 28 du développement selon Hamuber et Hamilton<sup>35</sup> (1951).

Le premier signe est la condensation du mésenchyme associé à un épaissement du derme et le regroupement de cellules épidermiques allongées appelées placodes. Dans les 12 heures qui suivent, les cellules du derme se condensent sous la placode. La densité des cellules du mésenchyme augmente en conséquence. Ces placodes épidermiques, avec les cellules dermiques condensées, constitue le germe de la plume, qui donnera le follicule plumeux.

Des filaments de soutien sont mis en place depuis la placode et s'étendent à travers le mésenchyme.<sup>27</sup>

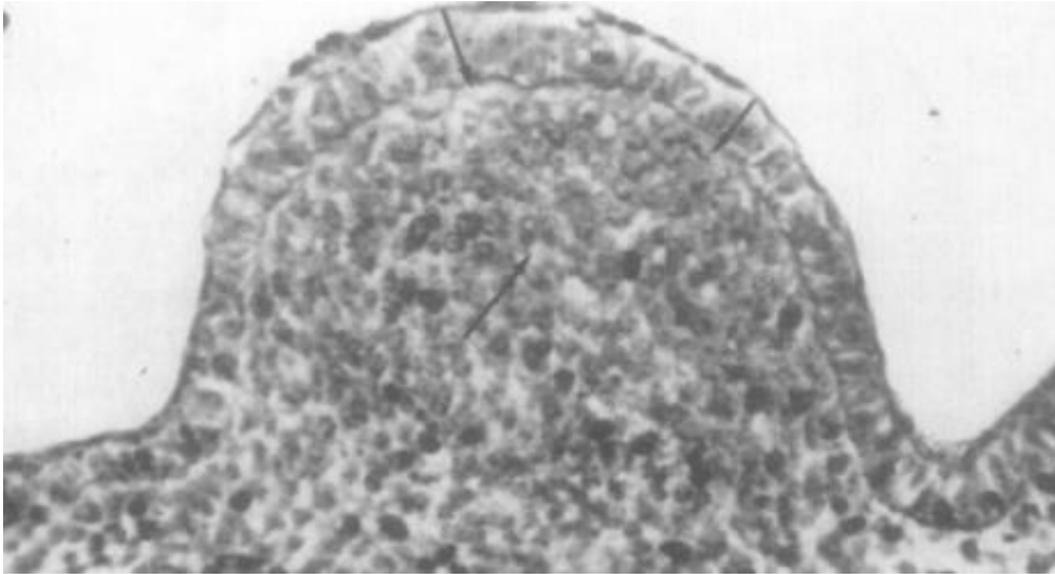


*Fig. 12 : Coupe histologique montrant la mise en place de la placode épidermique. Le centre du germe est marqué par la flèche noire. (d'après WESSELS<sup>34</sup> 1965)*

### 3) Élévation du germe

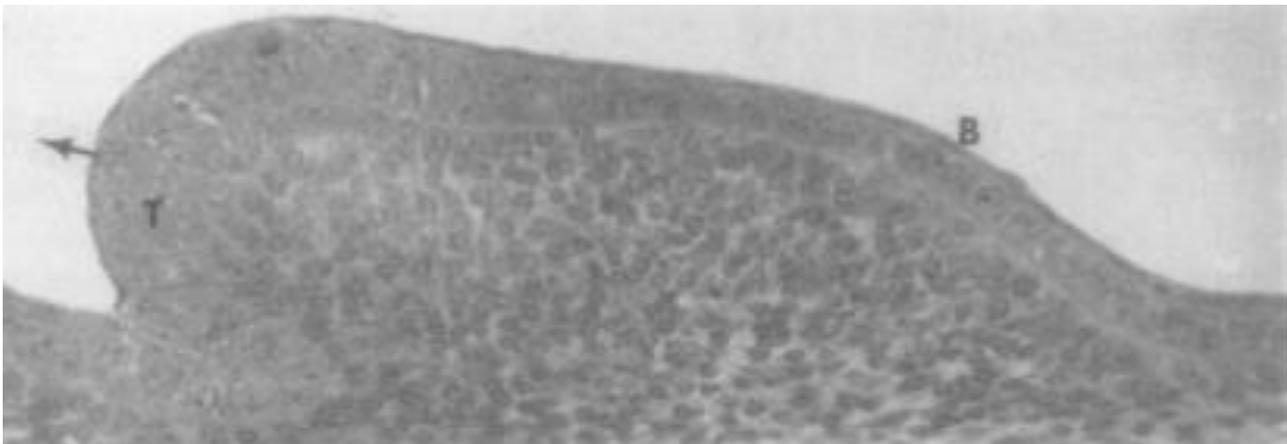
Pendant que le derme se condense, les cellules épithéliales basales de la placode se divisent et s'allongent pour former la couche basale et la couche intermédiaire. Le germe commence sa croissance entre le 7<sup>e</sup> et le 8<sup>e</sup> jour, ce qui correspond au stade 33<sup>35</sup>. L'épiderme et le derme sont les deux principaux acteurs de cette étape.

Les cellules épidermiques du sommet de la couche basale deviennent plus larges que celles du bas. En parallèle, les cellules du derme au centre restent condensées, celles de la périphérie se divisent. Cette prolifération cellulaire permet une croissance du germe vers le haut.



*Fig. 13 : Coupe histologique montrant l'élévation du germe plumaire (d'après WESSELS<sup>34</sup> 1965). Le derme se condense (↑) en son centre et les cellules se divisent à la périphérie (↓ ↓)*

La croissance cellulaire est plus rapide au niveau de la partie antérieure du germe. Il en résulte qu'à partir du 9<sup>e</sup> jour, le germe se plie caudalement. La face antérieure devient alors la face dorsale. On parle alors de bourgeon épidermique<sup>38</sup>.



*Fig. 14 : Coupe histologique d'un bourgeon épidermique (d'après WESSELS<sup>34</sup> 1965). Les cellules de la partie antérieure (B) apparaissent plus fines que celles de l'extrémité (T) ce qui modifie le sens du développement (←)*

#### 4) Formation des crêtes barbares

A partir du 10<sup>e</sup> jour (ou stade 36<sup>35</sup>), la croissance du germe s'accélère<sup>36</sup>. Les cellules de la couche intermédiaire de l'épiderme se réarrangent en lignes parallèles à l'axe du germe<sup>37</sup>. Ces lignes constituent une ébauche de ce qui donnera, après développement, les futures barbes. On parle de crêtes barbares<sup>38</sup>.

A la périphérie du bourgeon plumaire, les cellules de l'épiderme se différencient, s'aplatissent et se kératinisent pour former la gaine plumaire, une couche homologue au *stratum corneum*.

Au fil du temps, les crêtes barbares se multiplient, gagnent en longueur et se différencient en leurs extrémités. Cette différenciation cellulaire aboutit à deux composantes majeures constituant l'ébauche des barbules d'une part et de la tige d'autre part.

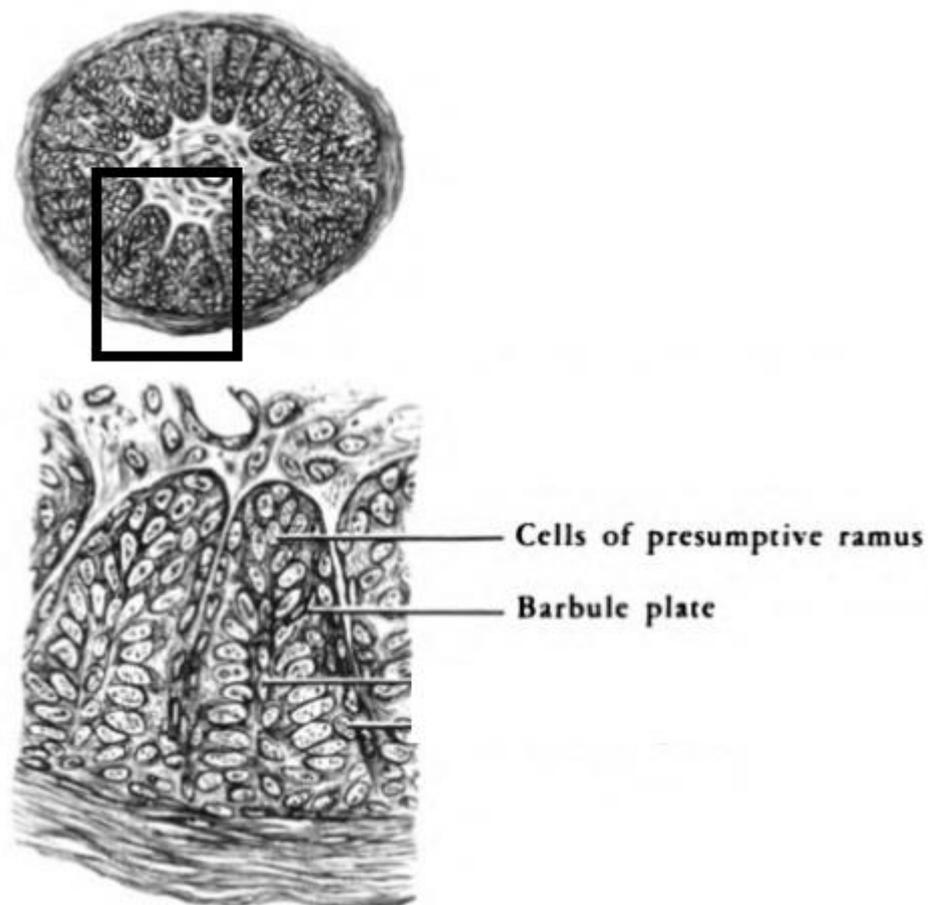


Fig. 15 : Représentation d'une coupe transversale de germe plumaire au 14<sup>e</sup> jour avec visualisation des cellules différenciées des crêtes barbares (d'après Lucas et Stettenheim 1972<sup>4</sup>).

## 5) Formation du follicule plumeux

Au 11<sup>e</sup> jour de développement embryonnaire (stade 38<sup>35</sup>), les cellules à la base du germe se déplacent vers le bas de manière à traverser le derme, formant alors une invagination de l'épiderme. La différenciation des cellules au sein de cette invagination conduit à une ébauche du follicule plumeux et la cavité ainsi créée constitue le tube de la plume.

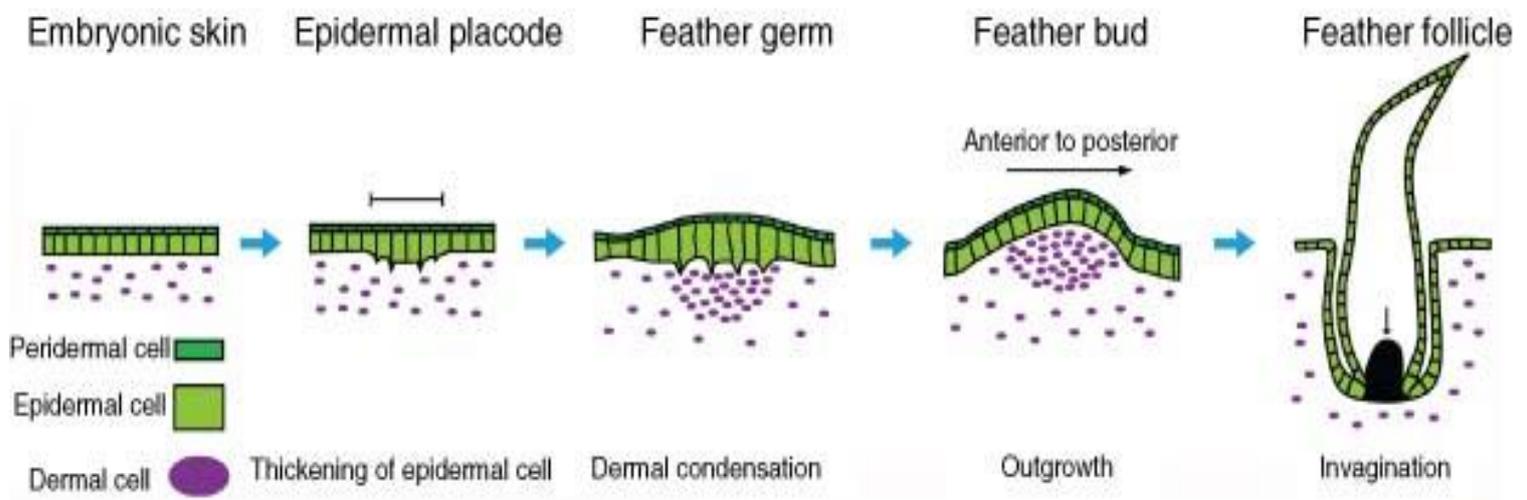


Fig. 16 : Mise en place du follicule plumeux (d'après Lei, M. et al 2016<sup>6</sup>)

A la base du germe, l'épiderme s'épaissit et s'organise de manière à former un anneau, le collier épidermique. Cet anneau est disposé autour du derme qui s'épaissit pour former la papille dermique<sup>39</sup> qui a commencé à produire les cellules de la pulpe. Cette papille recouverte du collier épidermique constitue le blastème ou germe à partir duquel la plume se développera.

A partir du 12<sup>e</sup> jour, un cylindre de pulpe est visible au centre du germe. Les cellules de la pulpe s'apparentent à celles du derme<sup>40</sup>. Une artère axiale est également présente. La pulpe est un tissu vasculaire essentiel à la croissance de la plume. Quelques autres vaisseaux

sanguins sont répartis de manière aléatoire de part et d'autre de la pulpe mais aucun n'est présent au sein de la papille dermique.

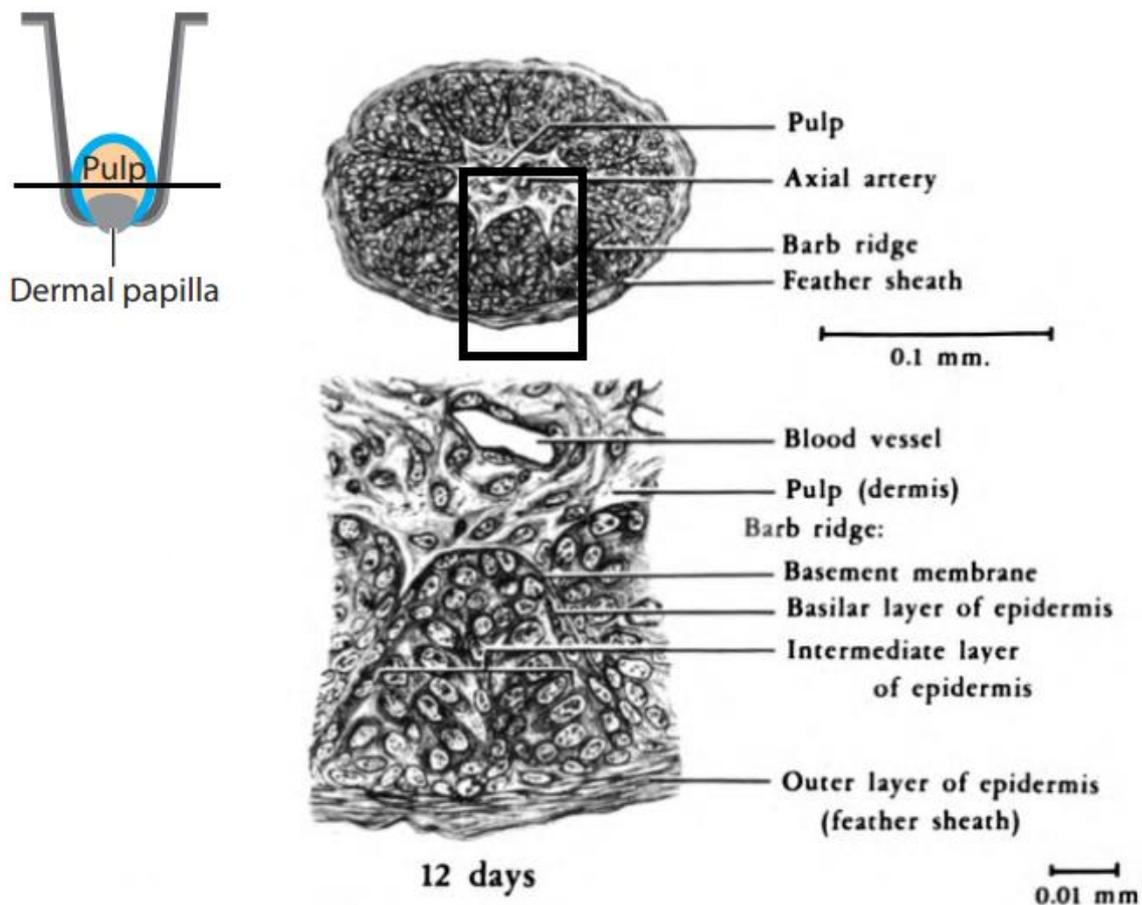
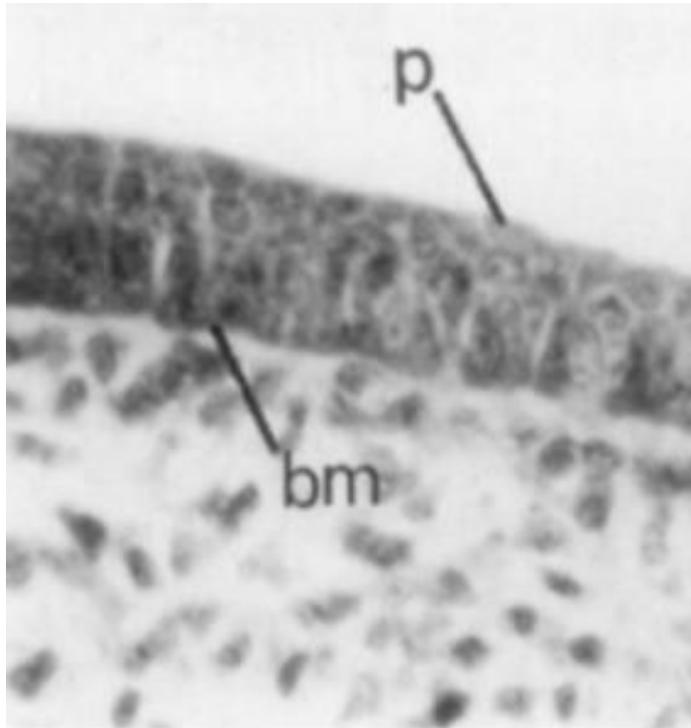


Fig. 17 : Représentation d'une coupe transversale de germe plumaire au 12<sup>e</sup> jour avec visualisation du tissu vasculaire et des crêtes barbaies (d'après Lucas et Stettenheim 1972<sup>4</sup>).

## 6) Kératinisation

Le début de la kératinisation se déroule en parallèle avec le développement du follicule et la formation de l'ébauche de la plume. On observe les premiers signes entre le 12<sup>e</sup> jour<sup>42</sup> et le (stade 39<sup>35</sup>) 19<sup>e</sup> jour<sup>60</sup> à l'intérieur de la gaine. Cette étape a lieu sous le contrôle hormonal (cf. 3)b)).

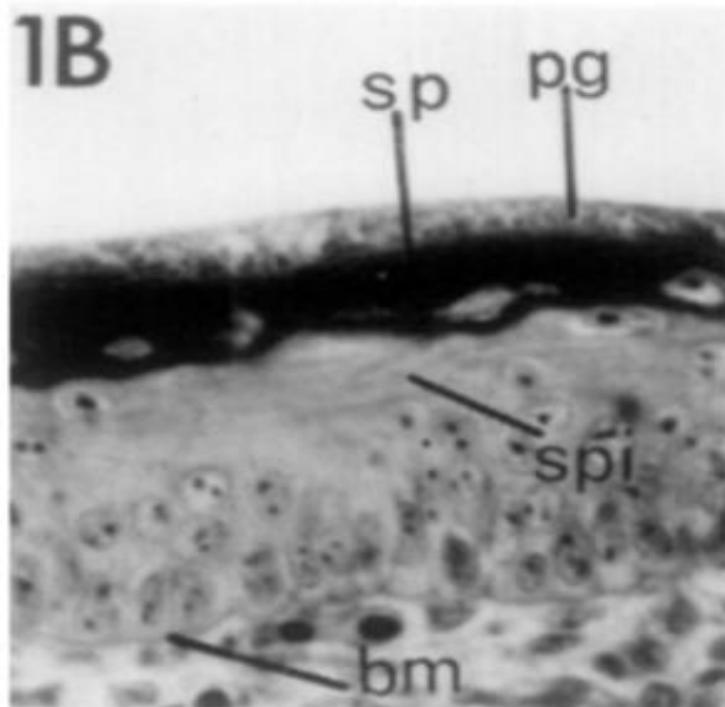
Au 12<sup>e</sup> jour, l'épiderme est constitué de 3 à 4 couches indifférenciées. Un tissu transitionnel, le périoderme, se forme à partir de la couche périphérique et disparaît aux alentours du 18<sup>e</sup> jour.



*Fig. 18 : Début du processus de kératinisation. Plusieurs couches cellulaires sont visibles au sein de l'épiderme dont la membrane basale (bm) et le périoderme (p)  
(D'après Beckingham Smith 1973<sup>60</sup>)*

A partir du 16<sup>e</sup> jour, on observe les premiers agrégats de kératohyaline, précurseur de la kératine.

La première couche kératinisée est la couche la plus proche du périoderme (appelée alors sous-périoderme<sup>61</sup>). Ce phénomène a lieu entre 17 et le 18<sup>e</sup> jour.



*Fig. 19 : Le processus de kératinisation. Les agrégats de kérathoyaline sont visibles dans le périderme (pg). Le sous-périderme (sp) a commencé à se kératiniser.*

En parallèle, entre le 14<sup>e</sup> et 15<sup>e</sup> jour, des fibrilles apparaissent au sein des couches les plus basales. Ces fibrilles sont constituées d'un alignement de chaînes de polypeptides enroulées<sup>62</sup>. La production et l'alignement de ces fibrilles est à l'origine de la formation du vexille, des barbes et des barbules, etc. Elles se solidifieront en se déshydratant, se densifieront, et formeront des liaisons entre elles, ce qui leur conférera une grande rigidité<sup>2</sup>.

## B) Croissance

La croissance plumaire a lieu dès le stade de l'embryon mais se poursuit tout le long de la vie de l'oiseau. On parle alors de régénération<sup>40</sup>.

Une plume ne grandit pas comme une plante. En effet, la plupart des divisions cellulaires ont lieu à la base de la plume en croissance, alors que la différenciation a lieu pendant que chaque partie se développe vers l'apex<sup>41</sup>. De cette manière, la partie distale et les parties périphériques de la plume apparaissent plus développées que la portion proximale.

De la même manière, l'extrémité des barbes (et du rachis pour les plumes qui en sont pourvues) sont formés avant leur base, à commencer par les plus distales. Le calamus se forme en dernier. Cela est principalement dû à l'action des hormones.

## 1) Éléments caractéristiques de la plume en croissance

### a) Le follicule plumeux

Le follicule plumeux est une structure épidermique complexe s'invaginant dans le derme. Leur structure est relativement similaire à celle d'un follicule pileux, malgré des origines différentes<sup>43</sup>. La physiologie du follicule plumaire demeure cependant plus complexe que celle d'un follicule pileux. En effet, un seul follicule plumeux générera au cours de sa vie plusieurs plumes de taille, forme et couleur différentes.

Sa formation lors du développement embryonnaire est détaillée dans la partie précédente.

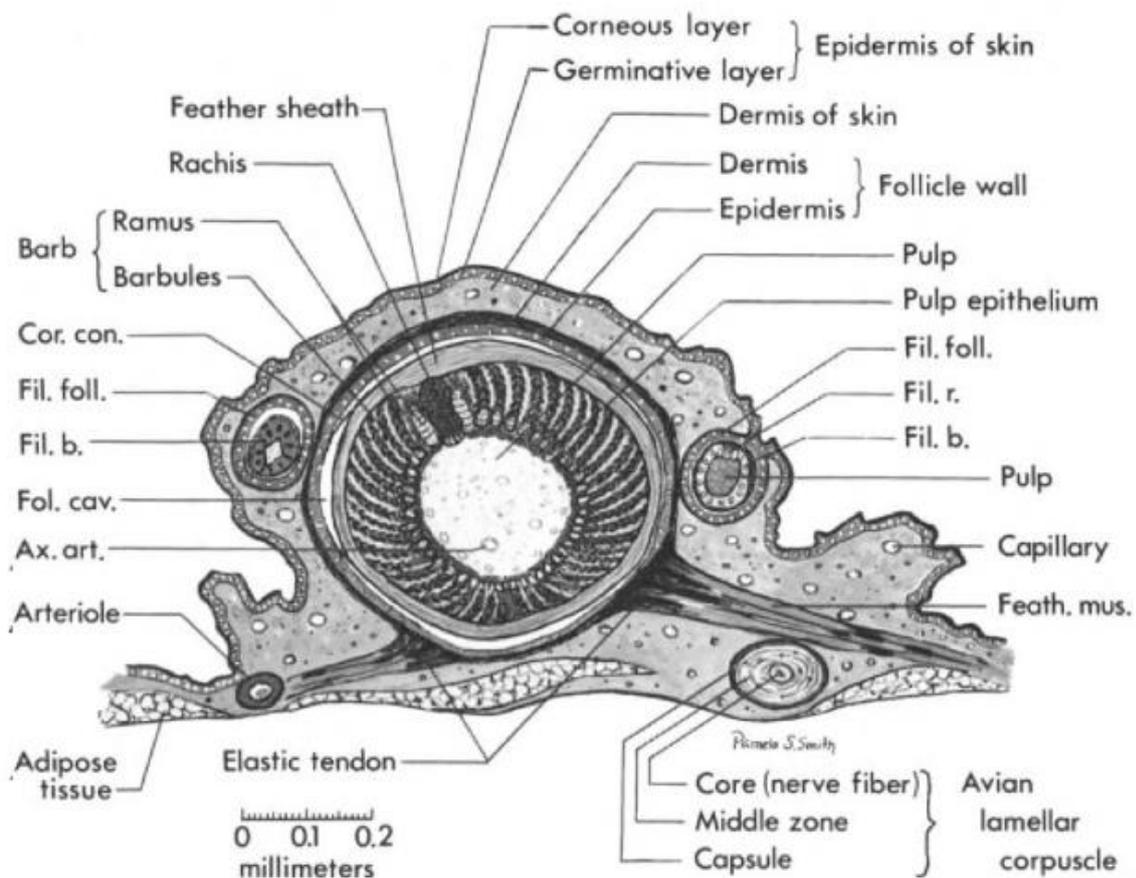


Fig. 20 : Structure d'un follicule plumeux mature (d'après Stettenheim 1972<sup>17</sup>)

Le follicule plumaire se dresse obliquement et horizontalement par rapport à la surface de la peau. La plume reste ancrée au follicule et maintenue sous tension par un tissu musculaire, des tendons et des ponts de kératine entre l'épiderme de la plume et celui du follicule. Un tissu nerveux relie le follicule au reste du corps.

Au sein du derme, on trouve un organe sensoriel de forme ellipsoïdale, le corpuscule lamellaire<sup>44</sup>. Leur présence et leur abondance varie selon la partie du corps sur laquelle ils se trouvent, mais le plus souvent, on en trouve un à deux sous chaque follicule plumeux. Chaque corpuscule est constitué d'une extrémité nerveuse somatique afférente dépourvue de gaine, entourée de trois lamelles concentriques, elle-même remplies de fluide.

Ces corpuscules agissent comme des mécanorecepteurs<sup>45</sup>. Ils sont sensibles aux vibrations et aux changements de pression<sup>46</sup>, de manière à conditionner un positionnement optimal de la plume pour le vol ou la thermorégulation.

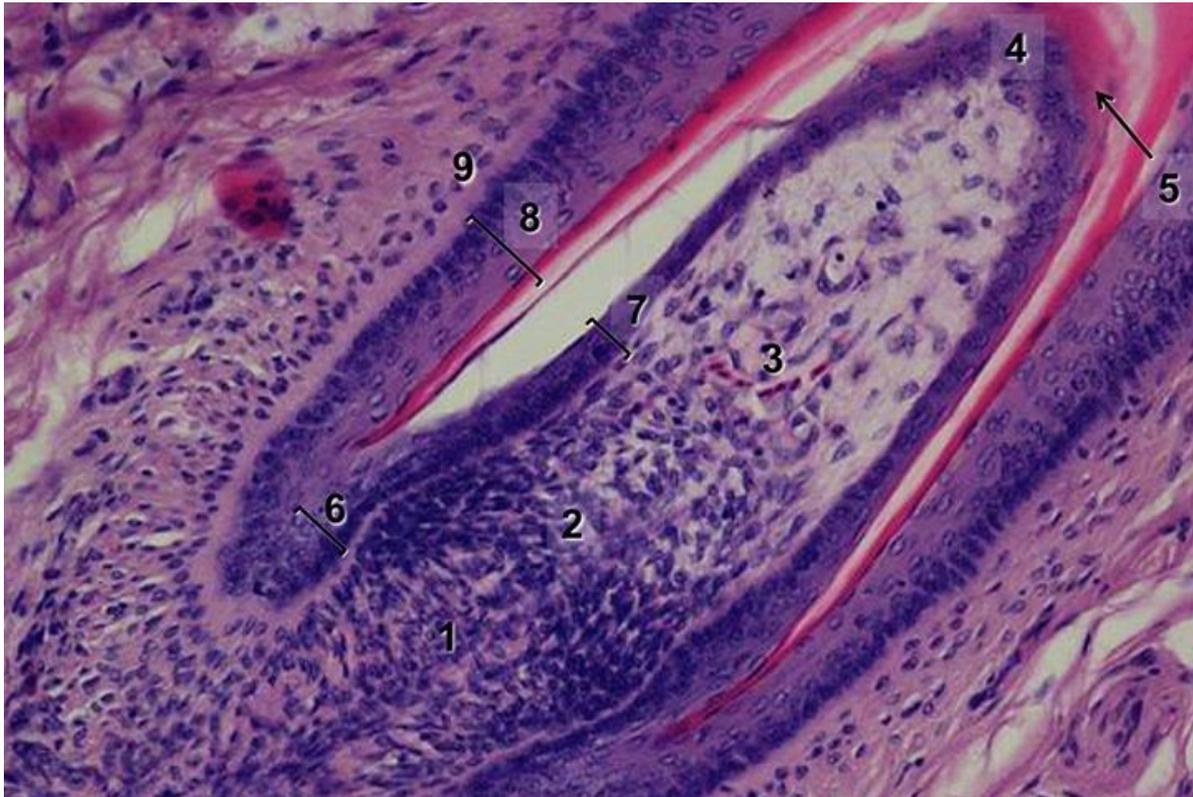
#### *b) La pulpe*

##### *i) Structure*

La pulpe est formée par la papille dermique, peu après le début de la croissance du blastème. C'est un tissu mésenchymateux, lâche, contenant des interstices majoritairement occupés par une substance gélatineuse, lui conférant une structure ferme et élastique<sup>39</sup>. La pulpe abrite un réseau vasculaire riche et complexe.

La pulpe forme un noyau à l'intérieur du tube épidermique qui constituera la future plume. Elle exerce une pression constante sur ce dernier, conférant à la gaine une surface lisse.

La pulpe, tout comme la plume, se développe depuis sa base où se trouve la papille<sup>47</sup>. Ainsi, la richesse cellulaire est maximale au sein de cette zone.



*Fig. 21 : Coupe longitudinale d'une plume en croissance (d'après Ghent University<sup>242</sup>).*

*1 : portion basale de la papille, 2 : portion apicale de la papille, 3 : pulpe, 4 : couche germinative, 5 : couche cornée, 6 : collier épidermique, 7 : épiderme de la plume, 8 : épiderme du follicule, 9 : derme du follicule*

## ii) Vascularisation

Chaque plume en croissance contient une seule artère axiale, elle-même dérivée d'une artère cutanée, qui traverse la totalité de la pulpe et s'arborise au niveau de la portion apicale. L'artère axiale se divise de façon centrifuge et chaque division aboutit à un réseau de capillaires sanguins, qui apportent les nutriments nécessaires aux cellules épithéliales et transportent leurs déchets métaboliques.

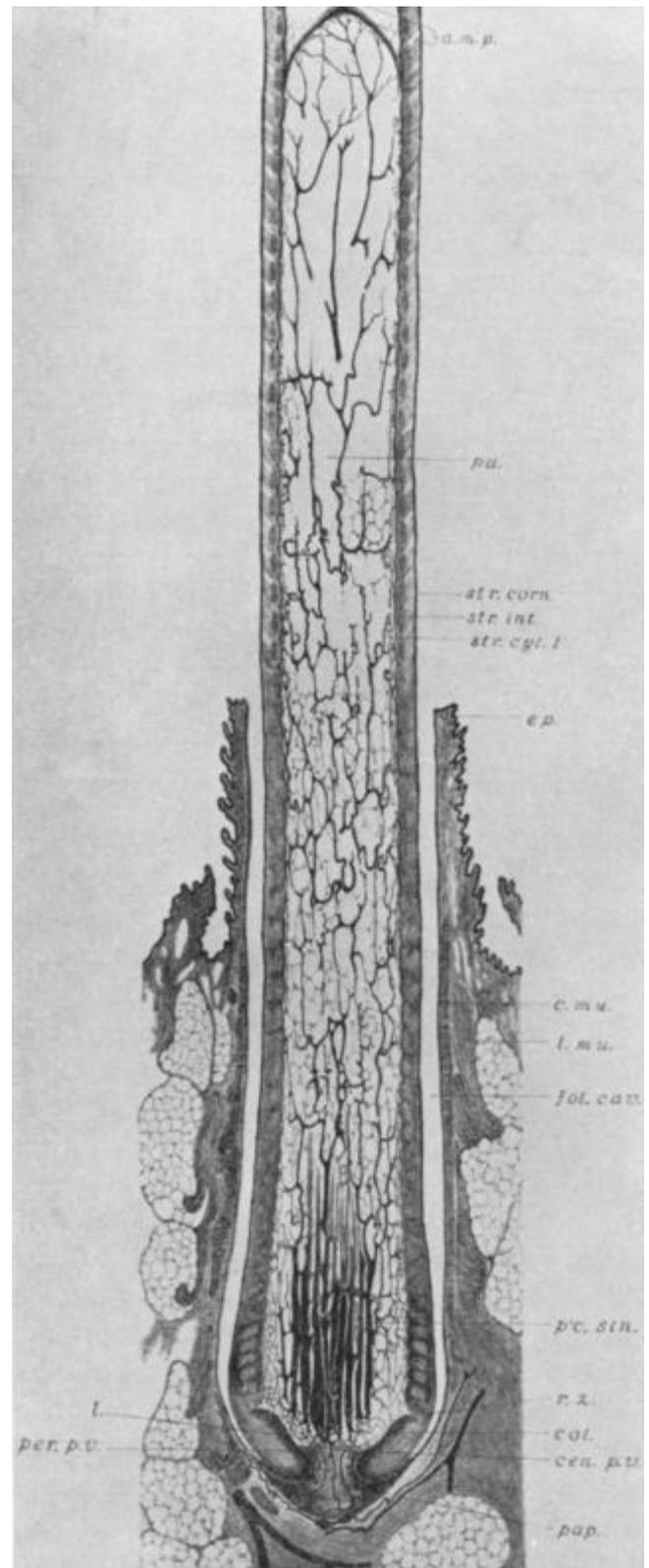
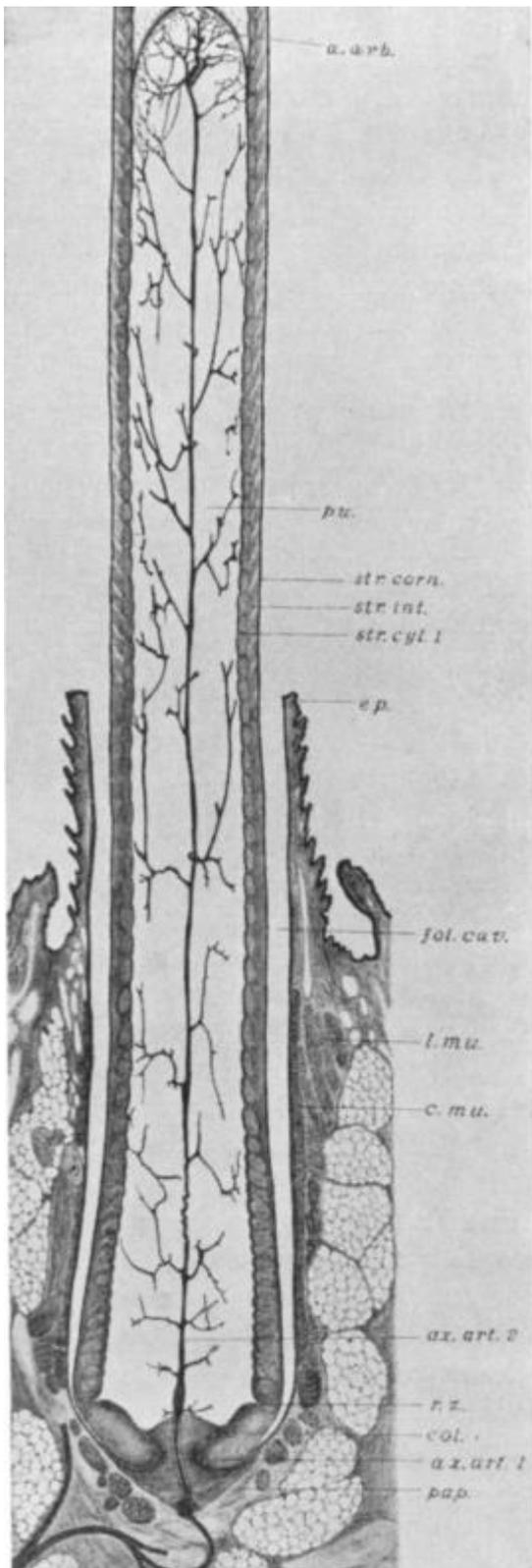


Fig. 22 : A : Représentation de l'artère axiale et ses différentes divisions à travers la pulpe et la papille d'une plume en croissance de coq White Leghorn

B : Représentation du réseau capillaire au sein de la pulpe d'une plume en croissance de coq White Leghorn (D'après Lillie 1940<sup>39</sup>)

### iii) Résorption

A partir du moment où la pulpe atteint une certaine taille, elle commence à se résorber distalement pendant qu'elle continue de se développer basalement à la même vitesse<sup>48</sup>. Ce phénomène de résorption est périodique et chaque période aboutit à la formation d'une capsule.

Chaque période se déroule en plusieurs étapes<sup>39</sup>. Tout d'abord, la pulpe rétrécit, d'abord en diamètre puis en taille. Pendant ce temps, l'ectoderme subit de profonds changements pour former la cavité de la future capsule. La membrane de la pulpe se reconstruit alors progressivement pendant que la cavité s'étend. La portion apicale de la membrane se kératinise de manière à constituer le dôme de la capsule.

La capsule ainsi formée par l'épiderme persiste, la nouvelle extrémité distale de la pulpe se ré-épithélialise et ce même processus est répété, provoquant, à terme, la disparition totale de la pulpe.

Cette étape est fondamentale lors de la croissance étant donné que, comme les composantes définitives de la plume se kératinisent distalement et se séparent de la pulpe, la laissant dévoilée, les capsules formées lors de la résorption assurent un rôle de protection<sup>49</sup>.

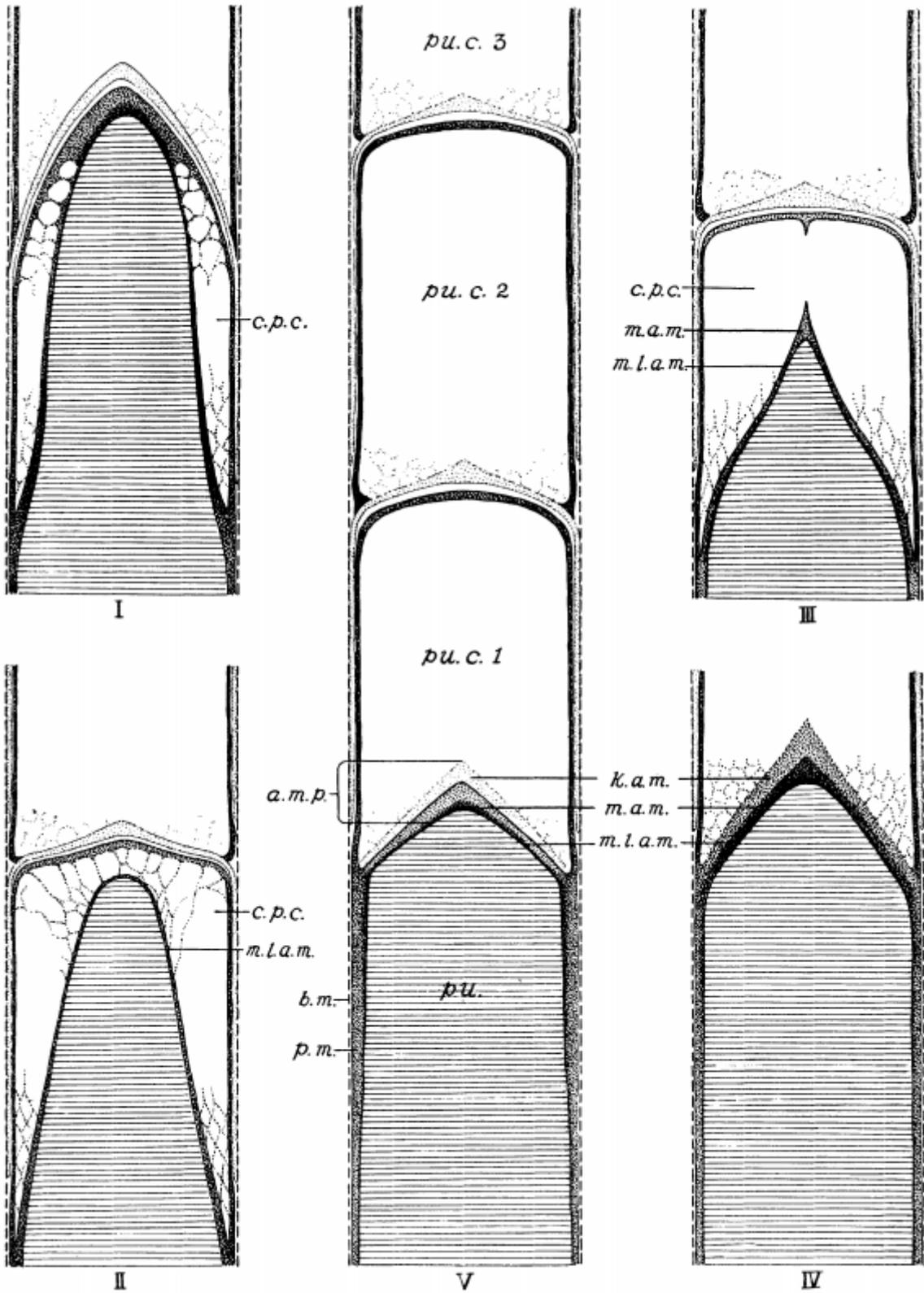


Fig. 23 : Représentation des différentes étapes de la résorption de la pulpe et formation de la capsule (D'après Lillie 1940<sup>39</sup>)

### c) Le blastème

Le terme de blastème désigne un regroupement de cellules indifférenciées, provenant du mésoblaste, à l'origine des nouveaux tissus lors du développement et de la régénération de la plume<sup>50</sup>. Il constitue donc l'ébauche de la future plume ancrée dans son follicule plumeux.

#### i) Activation du blastème

Le déclenchement de la croissance du blastème lors du développement ou de la mue est conditionné par l'environnement (cf partie II.B.3)b) facteurs hormonaux).

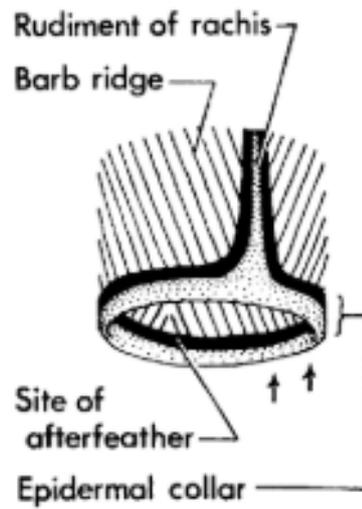
La papille dermique active l'épiderme du blastème avant son développement et induit l'orientation et la symétrie de la future plume<sup>51</sup>.

L'activation du blastème résulte de la formation d'un collier épidermique autour de la papille dermique, lui-même formé par division cellulaire. Ce collier se développe ensuite en tube épidermique qui, petit à petit, se différenciera en plume<sup>52</sup>.

#### ii) Développement du blastème en plume

Les cellules du collier épidermiques se divisent et se différencient en couches concentriques : la couche basale, la couche intermédiaire, la couche transitionnelle et la gaine. Les cellules de la couche basale et de la couche intermédiaire se réarrangent ensuite en crêtes barbares.

La formation du rachis résulte de la fusion des crêtes barbares sur l'aspect médiodorsal du tube épidermique<sup>5</sup>. L'hyporachis, s'il existe, se dresse sur l'aspect ventral du tube peu après le début de la croissance du rachis



*Fig. 24 : Structure du tube épidermique (d'après Stettenheim 1972<sup>17</sup>)*

Au début, le rachis et les barbes sont encapsulés par la gaine et se développent en son intérieur. Mais, petit à petit, l'extrémité de la plume se kératinise. La gaine commence alors à se rompre distalement, permettant au rachis et aux barbes d'émerger et de s'allonger.

Le schéma ci-après constitue une synthèse des différents éléments caractéristiques de la plume en croissance (fig. 26).

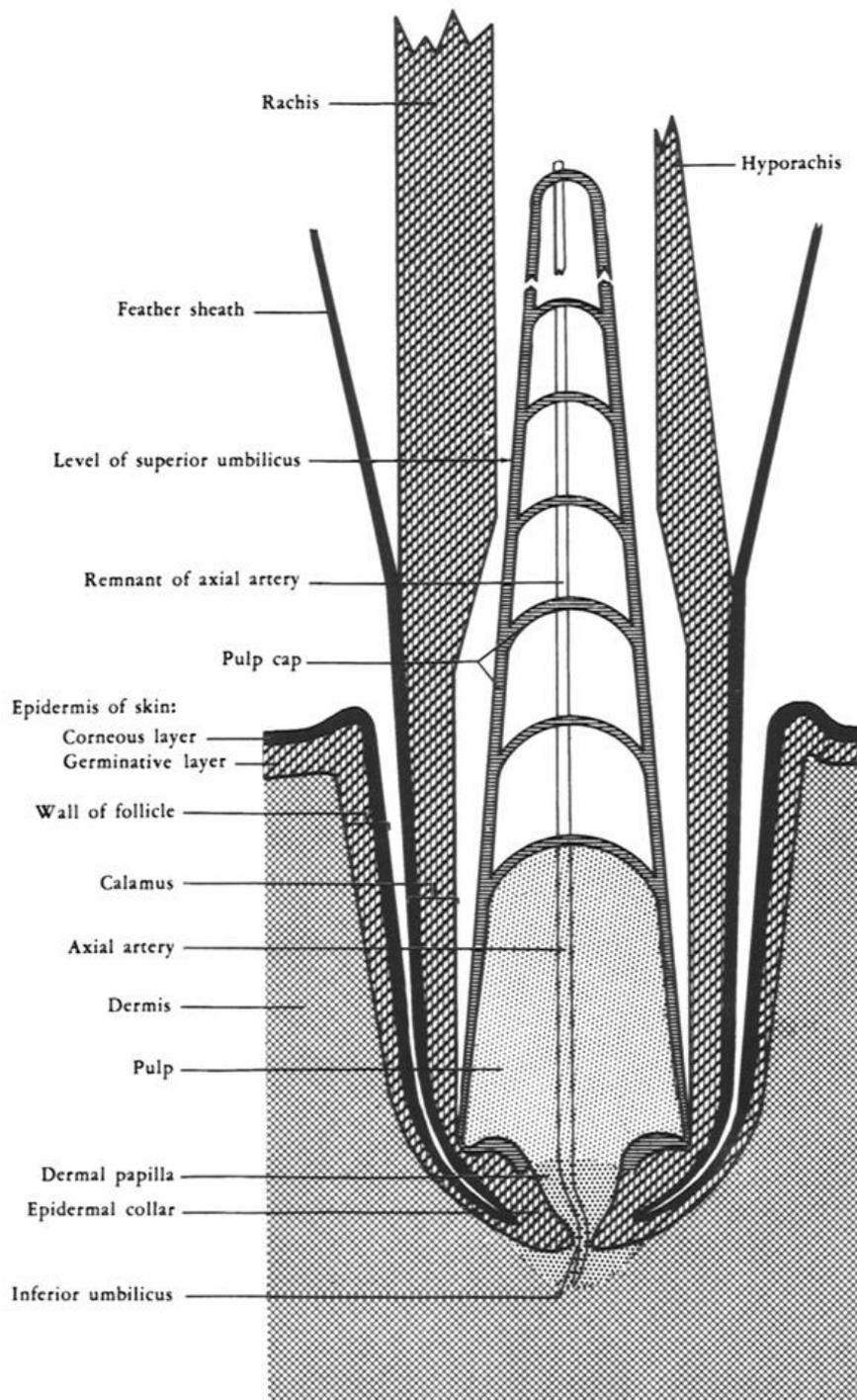


Fig. 25 : Représentation schématique d'une plume en croissance (D'après Lucas AM et al<sup>4</sup>)

### 3) Mécanismes de régulation

#### a) Induction tissulaire

Lors du développement embryonnaire, de nombreuses interactions tissulaires apparaissent. Le derme<sup>26</sup> provoque une différenciation de l'ectoderme pour former l'épiderme<sup>24</sup>. Ce dernier semble jouer un rôle considérable dans l'initiation du développement de la plume<sup>25</sup>.

D'autre part, les filaments de soutien, mis en place dans le mésenchyme, auraient également un rôle d'induction tissulaire à certains stades du développement du fait que les cellules basales présentes à proximité de ces filaments apparaissent plus allongées et plus étendue au sein du derme<sup>27</sup>.

De plus, la spécificité du tissu nerveux semble avoir un rôle dans le processus d'induction<sup>29</sup>. Cela s'expliquerait par le fait que le tube neural, au contact des cellules, aurait un effet répulsif et permettrait, de cette manière d'induire la formation de germes plumaires<sup>30</sup>.

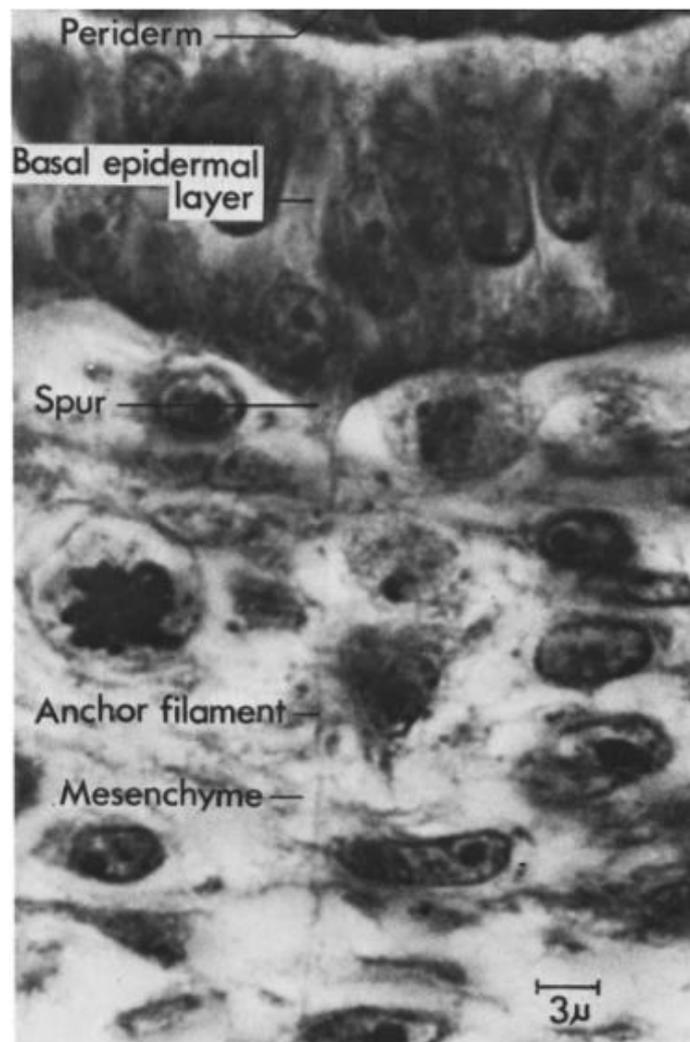


Fig. 26 : Organisation tissulaire d'un embryon de poule avec visualisation des filaments de soutien (D'après Kischer et al 1971<sup>28</sup>)

## b) Facteurs hormonaux

Les mécanismes de régulation hormonale restent encore incertains.

Yatvin<sup>59</sup> montre que l'hypophyse joue un rôle majeur dans le développement de la plume à partir du 12<sup>e</sup> jour d'incubation, correspondant au début du processus de kératinisation.

Les travaux réalisés dans le passé montrent que la structure et la croissance plumaire semblent être régulées par deux types d'hormones : celles sécrétées par la thyroïde et celles sécrétées par les gonades.

La thyroïde a une influence majeure sur le développement et la croissance plumaire. En effet, une ablation de la thyroïde ou l'administration d'un antagoniste des hormones thyroïdiennes chez la poule entraîne un arrêt de la croissance de la plume<sup>56</sup>.

D'autre part, les hormones thyroïdiennes semblent avoir une influence sur le déclenchement de la mue. Une administration d'hormones thyroïdiennes entraîne une mue dans les jours qui suivent. Au contraire, une thyroïdectomie chez les volailles domestiques semble prévenir la mue<sup>57</sup>. Aussi, les hormones thyroïdiennes semblent également avoir un rôle dans l'organisation, le paterne, la forme et la structure des plumes<sup>58</sup>.

## III. Composition chimique

L'analyse chimique d'une plume de poulet non-hydrolysée montre une composition très majoritairement protéique, avec 90.7% de protéines, 1.3% de lipides et 7.9% d'humidité, la protéine qui possède la part la plus importante étant la kératine<sup>17</sup>.

### A) Kératine

La kératine représente 85% de la constitution protéique de la plume<sup>3</sup>. La kératinisation lors du développement embryonnaire est détaillée dans la partie II)A)6).

C'est une protéine de structure, fibreuse, non-hydrosoluble et dont la structure confère un rôle de barrière entre l'animal et son environnement<sup>68</sup>.

Sa teneur en acides aminés varie selon l'espèce mais aussi selon la portion de la plume analysée. Cependant les acides aminés les plus abondants dans tous les cas sont la glycine, la sérine et la proline<sup>64</sup>

	Rachis					Calamus			Barbs		
	Fowl	Duck	Turkey	Goose	Sea-gull	Fowl	Turkey	Emu	Fowl	Turkey	Emu
Ala	840	850	867	715	638	729	799	407	446	453	398
Amide	963	1192	1000	930	985	857	971	920	858	1153	1070
Arg	370	320	389	328	354	371	384	416	384	372	336
Asp	547	538	526	551	471	534	533	546	519	492	266
Cys/2‡	761	833	777	788	753	709	690	406	768	723	565
Glu	671	525	616	461	702	698	594	755	686	617	517
Gly	1326	1542	1366	1497	1471	1171	1279	1158	970	966	893
His	23	38	29	29	0	20	38	47	17	25	12
Ileu	308	332	298	363	212	280	300	347	383	380	327
Leu	802	833	765	806	706	664	675	698	605	553	731
Lys	62	45	55	45	35	52	67	183	71	84	75
Met	8	12	13	4	9	13	23	52	15	24	Trace
Phe	301	373	330	329	300	319	349	219	296	300	250
Pro	948	1024	934	1002	888	885	954	708	1056	912	950
Ser	1365	998	1251	1211	984	1299	1278	1100	1236	1166	1310
Thre	401	312	385	323	406	345	397	348	437	393	392
Try‡	72	18	34	36	13	77	N.D.	N.D.	22	N.D.	N.D.
Tyr	139	231	147	211	233	143	219	286	118	128	266
Val.	756	678	689	665	726	673	653	548	705	679	673
% N Accounted for	101	97	96	95	92	95	94	93	93	91	90
% S Accounted for	100	99	99	97	89	97	86	83	84	96	75

Tableau 1 : Composition en acides aminés du rachis, du calamus et des barbes de plumes hydrolysées chez différentes espèces. Les résultats sont exprimés en  $\mu\text{mole/g}$  de protéine (D'après Hump et Woods 1967<sup>64</sup>, Harrap et Woods 1964, Schroeder et Kay 1955<sup>66</sup>)

## 2) Autres constituants

La part restante en protéine (15%) est constituée de protéines hydrosolubles et d'acides aminés libres. La part en lipide est représentée par des acides gras libres<sup>65</sup>. Ces constituants sont connus comme étant des précurseurs ou des déchets de la kératinisation d'une part, et des produits de la lyse cellulaire d'autre part<sup>62</sup>.

## Partie 2 - La plume, outil diagnostique des maladies infectieuses virales aviaires

Une très grande quantité de plumes sont produites par l'industrie avicole. Considérés pendant longtemps comme des sous-produits, voire des déchets de cette dernière, on trouve aujourd'hui de nombreuses applications à l'utilisation de la plume que ce soit dans la production d'aliments pour animaux<sup>69</sup>, de matériaux<sup>71</sup> ou le développement de biocarburants<sup>70</sup>.

Cette partie constitue une revue de l'utilisation des plumes dans le diagnostic des maladies infectieuses virales aviaires (à l'exception des virus Influenza que nous aborderons plus en détail dans la partie 3), son intérêt et ses applications.

### I. Principe

Comme énoncé dans la partie précédente, la plume est pourvue en sa tige d'un tissu vasculaire, la connectant au reste de l'organisme et permettant au sang et à ses composants d'atteindre la pulpe. Ainsi, en prélevant une plume lors de l'échantillonnage, il semble possible de détecter les virus aviaires qui s'y répliquent.

#### A) Méthode

##### 1) Préparation

Le but de l'échantillonnage est de prélever l'extrémité proximale du calamus afin d'en extraire la pulpe (cf partie 1 - I)A)2)a)).

Plusieurs méthodes d'extraction sont décrites dans la littérature mais restent similaires dans les grandes lignes. Nous décrivons ici la méthode de Davidson et Borenshtain (2002)<sup>93</sup>. Les plumes sont coupées à 0.5 cm de leurs extrémités et incubées à 55°C pendant 8h dans un tampon de lyse, dont la nature varie selon le type de constituant à extraire (antigène, acide nucléique, anticorps...).

Le mélange est ensuite purifié et analysé. Il existe plusieurs méthodes de diagnostic de laboratoire utilisées pour mettre en évidence un agent infectieux viral dans la pulpe de plume.

## 2) Diagnostic de laboratoire

Le diagnostic des maladies infectieuses virales en laboratoire est basé sur la mise en évidence de l'agent (ou d'une partie de cet agent), on parle alors de diagnostic direct, ou de la mise en évidence d'anticorps dirigés contre cet agent (on parle alors de diagnostic indirect).

Dans cette partie, nous présenterons brièvement deux types de méthode utilisées classiquement en laboratoire : la technique de dosage d'immunoabsorption par enzyme liée (ELISA) et la réaction en chaîne par polymérase (PCR).

La technique de dosage d'immunoabsorption par enzyme liée (en anglais Enzyme-Linked Immuno Assay) ou ELISA test la présence d'un antigène indirectement en mettant en évidence des anticorps spécifiques à l'antigène susnommé<sup>118</sup>. Une autre technique consiste à mettre en évidence non pas les anticorps spécifiques à l'antigène recherché, mais bien l'antigène lui-même en le capturant entre 2 types d'anticorps spécifiques à celui-ci.

La PCR (pour polymerase chain reaction) est une technique développée dans les années 1970 qui a révolutionné le diagnostic moléculaire<sup>98</sup>. Le but principal de la PCR est d'amplifier un morceau d'ADN en en créant plusieurs copies pour pouvoir le mettre en évidence.

La PCR quantitative (qPCR), aussi connue sous le nom de PCR en temps réel (rtPCR), est une variation de la technique de PCR classique où la quantité d'ADN est mesurée au fur et à mesure de la réaction<sup>99</sup>. La quantité d'ADN est évaluée en mesurant la fluorescence. Il existe deux principes généraux pour la détection quantitative de la fluorescence : les agents se liant à l'ADN double brin comme, par exemple, la méthode SYBR Green et les sondes fluorescentes comme, par exemple, les sondes TaqMan<sup>100, 101</sup>. Il existe un seuil de fluorescence établi par le programme de l'analyseur. Dès que le nombre de cycle (et donc la quantité d'ADN) permet aux sondes de dépasser ce seuil, le nombre de cycle est retenu, appelé « cycle seuil » ou « cycle threshold » (abrégé Ct).

## B) Détection des virus au sein de la plume

Au sein de l'épiderme (constituant la couche la plus externe du follicule plumeux), il est décrit dans la littérature une réponse immunitaire de l'hôte faible voire totalement absente pour certains agents pathogènes<sup>72</sup>. A ce titre, il semble normal que, lors d'infection persistante, une population virale soit capable de survivre plus longtemps au sein d'un tissu épidermique comme la plume de contours.

## II. Diagnostic des maladies virales

### A) Diagnostic de la maladie de Marek

Le virus de la maladie de Marek (ou MDV) est un herpesvirus à l'origine de troubles nerveux, de la formation de tumeurs et d'une immunosuppression<sup>74</sup>. Une partie de sa réplication a lieu au sein des cellules épithéliales du follicule plumeux<sup>75</sup>.

Les travaux commencent à la fin des années 60, où l'étude de Calnek *et al.* (1969)<sup>81</sup> met en évidence des particules d'herpesvirus dans un broyat de cellules provenant de l'épithélium du follicule plumeux par immunofluorescence chez un oiseau infecté par le MDV. Il a également été constaté qu'un oiseau sain, après exposition à des particules de tige de plume d'oiseau préalablement infecté, développe la maladie de Marek dans les 3 à 4 semaines suivantes.

Plus tard, Davidson *et al.* (1986)<sup>76</sup> mettent au point une méthode de mise en évidence du MDV par dot-blot et par test ELISA chez la plume de poulet. Cette dernière apparaît plus sensible. Cette étude montre, entre autres, que les antigènes viraux sont présents sur toute la longueur de la tige d'une part, mais que la plus grande quantité d'antigène se situe à 2-3 cm du lieu d'insertion de la plume.

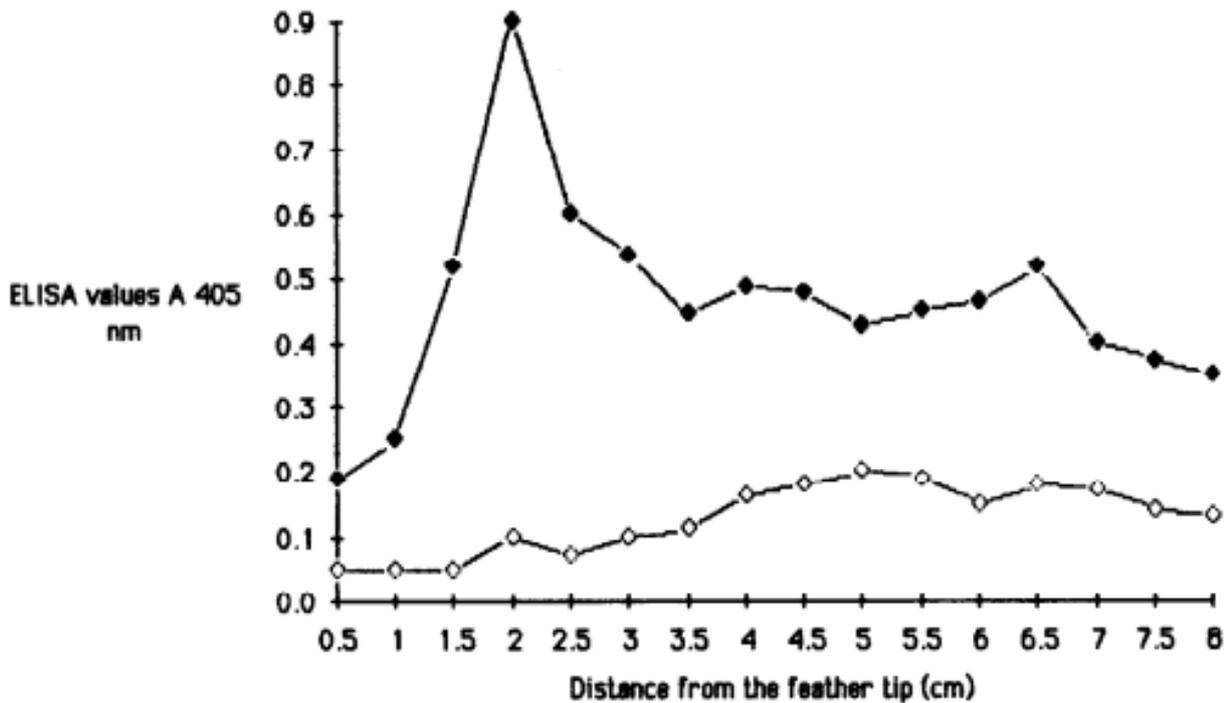


Fig. 27 : Distribution de l'antigène du MDV sur une plume d'oiseau infecté en fonction de la distance d'échantillonnage par rapport à son lieu d'insertion

En 1995, Davidson *et al.*<sup>77</sup> développent une méthode diagnostique de mise en évidence de l'ADN du MDV par PCR sur des poulets et des dindes. Quelle que soit la méthode utilisée, il apparaît que le virus est détecté à partir de 11 jours post-inoculation.

Plus tard, l'accès aux méthodes de PCR en temps réel (rtPCR) permet de développer des méthodes hautement sensibles. La méthode de rtPCR sur pulpe de plume développée par Baigent *et al.* (2005)<sup>78</sup> a permis d'une part, de différencier un animal vacciné d'un animal infecté et d'autre part d'obtenir une quantification virale en nombre de copie du génome par cellule.

De plus, cette étude traite de la meilleure région du pterygiae à prélever. Il apparaît que pour certains sujets, la charge virale est plus élevée dans l'échantillon de plumes provenant de la région axillaire. Même si cette différence n'est pas statistiquement significative, la région axillaire semble plus facile à prélever et plus riche en plumes de croissance, rendant plus facile l'échantillonnage.

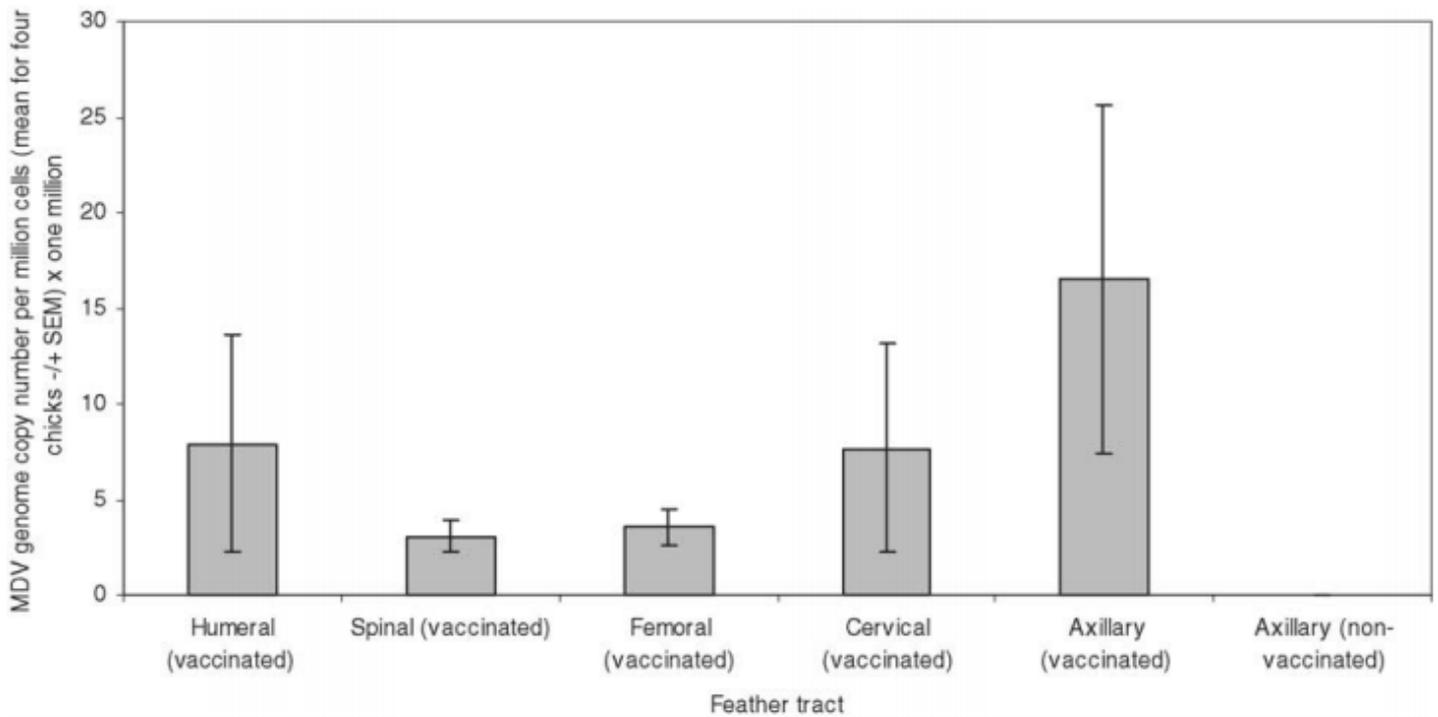


Fig. 28 : Charge virale du MDV en fonction de la région prélevée (d'après Baigent et al. 2004<sup>78</sup>)

En parallèle, Abdul-Careem *et al.* (2005)<sup>80</sup> développent une autre méthode de rtPCR par fluorescence (SYBR Green) qui se veut 2.5 à 10 fois plus sensible que la méthode de PCR conventionnelle.

La sensibilité de la méthode rtPCR permet de détecter le virus plusieurs jours avant les méthodes précédentes (7 à 9 jours post-inoculation, selon les études<sup>73, 78, 80</sup>). Néanmoins, une meilleure sensibilité ne semble pas nécessairement justifiée pour un diagnostic clinique étant donné que la sévérité de la maladie de Marek est proportionnelle à la charge virale dans les plumes<sup>79</sup>.

## B) Diagnostic des circoviroses

### 1) L'anémie infectieuse du poulet

Le virus de l'anémie infectieuse du poulet (CAV) est un gyrovirus (de la famille des *Circoviridae*) entraînant une anémie aplasique et une atrophie lymphoïde généralisée<sup>83</sup>. Cette infection est clinique chez le jeune en fin de démarrage (2 à 4 semaines) non-porteurs d'anticorps maternels<sup>82</sup>.

Pendant longtemps, aucune attention n'a été portée à l'excrétion, la transmission et la mise en évidence du CAV dans les plumes de poulet. Contrairement au MDV où il était admis que l'épithélium du follicule plumeux était le siège de la voie d'infection productive, il n'existait aucun parallèle avec le CAV.

Dans les années 2000, une étude menée par Davidson *et al.* (2004)<sup>85</sup> montre la présence d'ADN du CAV par PCR dans l'extrémité des plumes de poulet d'élevage en Israël, au même titre que dans les organes lymphoïdes (le foie et la rate).

Poultry house	Origin of chicks		Age at estimation (days)	Total mortality (%)	CIAV-PCR		
	E	Other			Spleen	Liver	Feathers
I	5566	1616	23	10.0	+	+	+
II	0	6850	25	0.7	-	-	-
III	4603	3744	27	5.6	+	+	+

Tableau 2 : Résultats de l'amplification de l'ADN du CAV dans 3 élevages de volailles en Israël

+ : PCR positive, - : PCR négative (D'après Davidson *et al.* 2004<sup>85</sup>)

En 2008, Davidson *et al.*<sup>84</sup> mettent en évidence des changements dans l'histologie du follicule plumeux chez le poulet infecté par le CAV. En effet, il apparaît à l'analyse histologique des foyers de nécrose dans l'épithélium squameux du follicule plumeux associé à un gonflement des cellules épithéliales et un aspect plus éosinophilique.

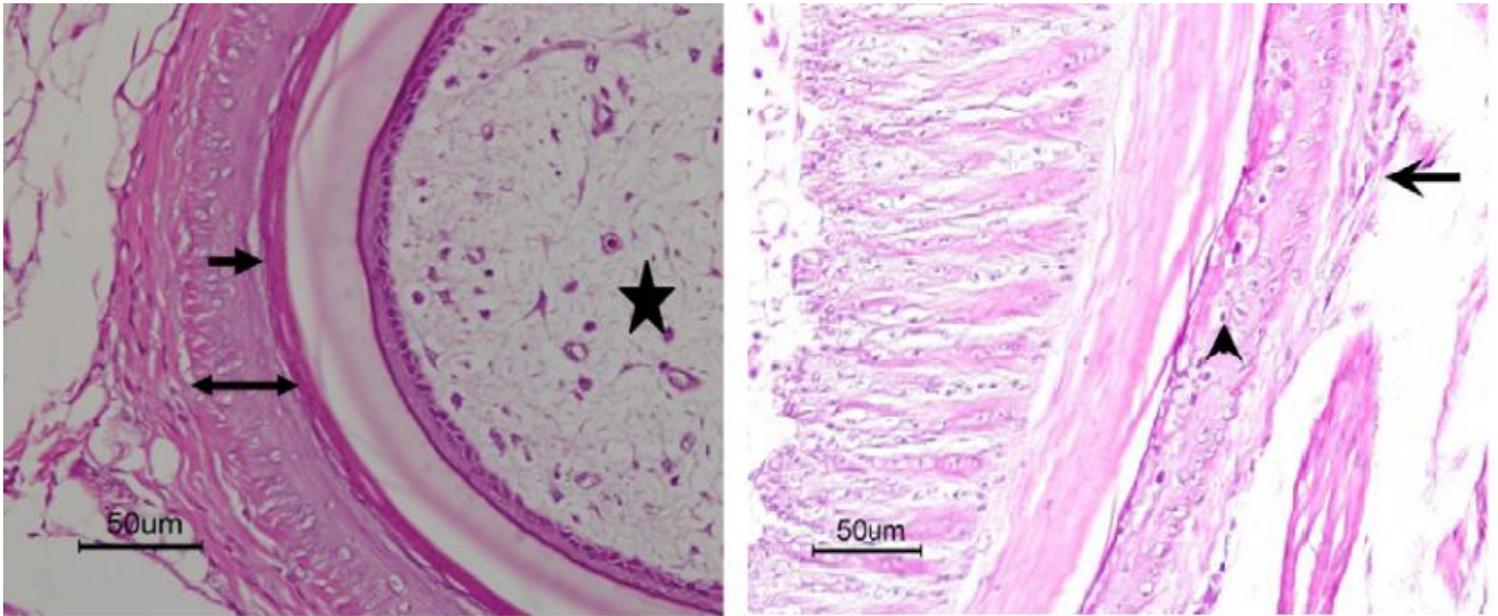


Fig. 29 : A gauche : coupe histologique d'un follicule plumeux sain.  
 → : kératine, ↔ : épithélium, ★ : tige (D'après Davidson et al. 2008<sup>84</sup>)  
 Fig. : A droite : coupe histologique d'un follicule plumeux infecté par le CAV.  
 ← et ↑ : foyers de nécrose de l'épithélium (D'après Davidson et al. 2008<sup>84</sup>)

En parallèle, cette étude montre une méthode diagnostique d'amplification de l'ADN du CAV par PCR en utilisant comme support des tiges de plume de contours de poule et des organes lymphoïdes.

Il en résulte que les tests sur les tiges de plumes par PCR sont positifs à partir de 14 jours post-infection (contre 7 jours pour les organes lymphoïdes). D'autre part, ces tests affichent une spécificité de 83% et une sensibilité de 89%, ce qui montre que les plumes peuvent être utilisées pour la mise en évidence de la présence du CAV chez la poule.

Enfin, cette étude montre que les tiges de plumes semblent avoir un rôle dans la transmission horizontale du CAV par contact avec les muqueuses orales, nasales et oculaires au même titre que le MDV.

## 2) La maladie du bec et des plumes des psittacidés

Le virus de la maladie du bec et des plumes des psittacidés (PBFDV) est un circovirus identifié dans les années 1970, à l'origine entre autres, de malformations du bec et de chute des plumes.

Une étude de Hess *et al.*<sup>86</sup> parue en 2004 démontre par la réalisation de PCR sur sang, plumes et écouvillons cloacaux chez des perruches que le virus PBFDV est détecté plus fréquemment dans les plumes. D'autre part, ce résultat n'est pas forcément corrélé avec l'observation de signes cliniques associés, contrairement aux résultats obtenus avec les écouvillons cloacaux et le sang ce qui laisse supposer que la plume constitue le réservoir du virus chez l'adulte.

Time <sup>a</sup>	Bird 1 <sup>b</sup>			Bird 2			Bird 3			Bird 4			Bird 5			Bird 6			Bird 7			Bird 8			Bird 9					
	F	C	B	F	C	B	F	C	B	F	C	B	F	C	B	F	C	B	F	C	B	F	C	B	F	C	B			
0 days	+	+	+	-	-	-	+	+	+	-	-	-	-	+	+	+	+	-	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
10 days	+	+	+	-	+	-	+	+	+	+	+	-	-	+	+	+	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+
4 weeks	-	-	-	+	+	-	+	-	-	-	+	-	+	+	-	+	-	-	-	-	-	+	+	-	+	+	+	+	+	+
10 weeks	+	-	-	+	+	-	+	-	-	-	-	-	+	+	+	-	-	-	+	-	-	+	-	-	+	+	-	+	+	+
16 weeks	+	+	-	-	-	-	+	-	-	-	+	-	+	-	+	+	-	-	-	-	-	+	+	-	+	+	-	+	+	+
28 weeks	+	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-	+	-	-	+	-	-	+	+	-	+	+	+
38 weeks	+	-	-	+	+	-	+	-	-	+	-	-	+	+	-	+	-	-	+	-	-	+	+	-	+	+	-	+	+	-

Tableau 3 : Comparatif du diagnostic de la maladie du bec et des plumes des psittacidés par PCR sur sang (B), écouvillons cloacal (C) et fragments d'extrémité de plumes (F).

+ : résultats positif, - : résultat négatif (D'après de Hess *et al.* 2004<sup>86</sup>)

En parallèle, Davidson et Bendheim (2004)<sup>88</sup> mettent en évidence par PCR l'ADN du PBFDV chez les psittacidés en Israël à partir de fragments d'extrémité de plumes. Cette technique leur permet d'établir un protocole de surveillance de l'environnement en cherchant l'ADN du PBFDV dans les plumes situées aux alentours des psittacidés cliniquement affectés par cette maladie.

Un test diagnostique par hémagglutination en utilisant des plumes de contours est également réalisable, rapporté notamment chez le perroquet<sup>87</sup>. Dans ce cas, les plumes les plus immatures semblent être les prélèvements les plus pertinents. En effet, avec ce test, plus la plume est mature, plus le risque de faux négatif augmente.

## C) Diagnostic de la leucose aviaire

Le virus de la leucose aviaire (ALV) est un rétrovirus à l'origine d'une atteinte des lignées lymphoïde, érythroblastique ou myéloïde, à l'origine de tumeurs viscérales, notamment sur le foie, la rate, ou les reins<sup>75</sup>.

Selon Davidson<sup>73</sup>, on trouve peu d'études concernant la mise en évidence de la présence de rétrovirus dans les plumes des oiseaux. Cela s'explique par le fait que, même si l'ALV peut se transmettre par contact avec des desquamations de la peau, sa survie à l'extérieur du corps est relativement courte<sup>89</sup>.

Néanmoins, en 1983, Spencer *et al.*<sup>90</sup> mettent en évidence un sérotype de l'ALV (ALV-A) dans de la pulpe de plume en croissance de 90% de poules infectées.

En 1987, la même équipe met au point une méthode de culture de ce même sérotype en utilisant de la pulpe de plume<sup>91</sup>.

En 1984, Korec *et al.*<sup>92</sup> développent une méthode de dépistage de la leucose aviaire au moyen d'un test ELISA.

En 2002, l'étude de Davidson et Borenshtain<sup>93</sup> met en évidence l'ADN d'un autre sérotype de l'ALV (ALV-J) dans l'extrémité des plumes de poulet et compare les résultats de l'amplification de l'ADN de l'ALV-J par PCR sur la rate, le foie et les plumes.

Bird number	Spleen	Liver	Feather tips
	ALV-J env	ALV-J env	ALV-J env
1	+	+	+
2	-	-	+
3	+	-	+
4	-	-	-
5	-	-	+
6	+	-	-
7	-	-	-
8	-	-	-
9	-	-	+
10	+	+	+
11	-	+	-
Total	4/11	3/11	6/11

Tableau 4 : Comparatif du diagnostic de la leucose aviaire (séro groupe ALV-J) par PCR sur rate (Spleen), foie (Liver) et fragments d'extrémité de plumes (Feather tips).

+ : résultats positif, - : résultat négatif (Adapté de Davidson et Borenshtain 2002<sup>93</sup>)

Dans cette étude, l'ADN de l'ALV-J présent dans les plumes de poulet apparaît comme une source fiable pour le diagnostic de la leucose aviaire.

En parallèle, la même année, Sung *et al.* (2002)<sup>94</sup> étudient la fiabilité du test ELISA et la charge virale sur le même séro groupe (ALV-J) en utilisant la pulpe de plume et en la comparant au plasma sanguin et aux écouvillons cloacaux.

Il apparaît dans cette étude que, d'une part, le séro groupe ALV-J peut être détecté dans la pulpe de plume par test ELISA avec une fiabilité meilleure que le plasma et les écouvillons cloacaux. D'autre part, la charge virale contenue dans la pulpe de plume est plus importante (1000 à 10000 fois plus importante) que dans le sang ou dans le cloaque.

Type of chickens	Age when tested	Plasma		Cloacal swab		Feather pulp	
		Positive rate	Mean titer	Positive rate	Mean titer	Positive rate	Mean titer
Broiler	2	11/11 <sup>B</sup>	10 <sup>2.9C</sup>	0/11	0	11/11	10 <sup>5.3</sup>
Layer	2	7/11	10 <sup>1.3</sup>	2/11	10 <sup>0.3</sup>	7/11	10 <sup>2.1</sup>
Broiler	4	11/11	10 <sup>2.3</sup>	10/11	10 <sup>1.0</sup>	11/11	10 <sup>4.5</sup>
Layer	4	11/11	10 <sup>2.0</sup>	8/11	10 <sup>0.7</sup>	11/11	10 <sup>4.1</sup>
Broiler	8	11/11	10 <sup>2.3</sup>	7/11	10 <sup>0.9</sup>	11/11	10 <sup>3.9</sup>
Layer	10	4/11	10 <sup>0.6</sup>	6/11	10 <sup>0.5</sup>	11/11	10 <sup>2.3</sup>
Layer	18	4/11	10 <sup>0.6</sup>	9/11	10 <sup>1.0</sup>	11/11	10 <sup>2.4</sup>

Tableau 5 : Comparatif du diagnostic de la leucose aviaire (séro groupe ALV-J) par test ELISA sur plasma, écouvillon cloacal (Cloacal swab) et pulpe de plume (Feather pulp).  
(Adapté de Sung et al 2002<sup>94</sup>)

Toujours la même année, Zavala *et al.* (2002) réalisent des PCR sur sang et sur pulpe de plume d'embryons préalablement inoculés. Il apparaît que l'ALV-J est détectable par PCR sur pulpe à partir de 7 jours d'âge, mais qu'une détection plus précoce est impossible, principalement dû au manque de pulpe à ce stade du développement.

#### D) Diagnostic de la maladie de Newcastle

Le virus de la maladie de Newcastle (NDV) est un paramyxovirus de sérotype 1 décrit pour a première fois en 1926<sup>113</sup> en Angleterre, à l'origine d'une infection systémique à haute mortalité chez le poulet, notamment la forme viscérotropique vélogénique du virus (vNDV) manifestée par un abattement, des signes cliniques digestifs, respiratoires et nerveux<sup>114</sup>.

Garrido *et al.* (1992)<sup>115</sup> mettent en évidence des anticorps spécifiques au NDV par test ELISA en s'inspirant des travaux de Spencer *et al.* (1986) et comparent le niveau d'anticorps présent dans les plumes et celui présent dans le sérum de poulets préalablement inoculés avec le NDV.

Chickens <sup>a</sup>			OD (means by group)		
Age (days)	Group (serum OD)	<i>n</i>	Serum (1:500 dilution)	Feather pulp (1 pulp per 200 µl buffer)	Correlation <sup>b</sup>
10	<0.2	18	0.115	0.128	0.88
	0.2–0.4	5	0.258	0.253	
	0.4–0.6	1	0.411	0.338	
	<b>Total</b>	<b>24</b>	<b>0.157 ± 0.84</b>	<b>0.163 ± 0.075</b>	
26	<0.2	19	0.107	0.080	0.95
	0.2–0.4				
	0.4–0.6	2	0.459	0.121	
	>0.6	3	1.062	0.510	
<b>Total</b>	<b>24</b>	<b>0.255 ± 0.335</b>	<b>0.137 ± 0.152</b>		
73	<0.2	9	0.104	0.172	0.78
	0.2–0.4	5	0.252	0.329	
	0.4–0.6	7	0.490	0.454	
	>0.6	2	0.741	0.729	
<b>Total</b>	<b>23</b>	<b>0.308 ± 0.213</b>	<b>0.340 ± 0.212</b>		
108	<0.2	13	0.137	0.256	0.96
	0.2–0.4	7	0.254	0.479	
	0.4–0.6	3	0.491	0.830	
	>0.6	2	0.987	1.250	
<b>Total</b>	<b>25</b>	<b>0.280 ± 0.255</b>	<b>0.466 ± 0.330</b>		

Tableau 6 : Comparaison du niveau d'anticorps dans la pulpe de plume et le sérum de poulets *Whit Leghorns* inoculés à 8 semaines. Le niveau d'anticorps est obtenu en mesurant la densité optique du test ELISA (d'après Garrido et al. 1992<sup>115</sup>)

Cette étude montre que les niveaux d'anticorps spécifiques du NDV dans la pulpe de plume et le sang sont grandement corrélés et présente la pulpe de plume comme un échantillon pratique et adapté au diagnostic indirect de la maladie de Newcastle. Les auteurs précisent également que le haut niveau d'anticorps mesuré chez des sujets de 108 jours s'explique par le fait que la pulpe de plume contient plus de matériel à cet âge-là.

De la même manière, Roy *et al.* (1998)<sup>116</sup> mettent en évidence par hémagglutination des anticorps spécifiques au NDV dans le sang et la pulpe de plume et obtiennent des résultats similaires, sans différence significative entre le niveau d'anticorps présent dans les deux types d'échantillon.

De manière générale, ces deux études mettent en avant la plume comme un outil diagnostique du NDV, notamment pour sa facilité de prélèvement. La principale limite décrite est le manque d'uniformité d'un échantillon à l'autre.

Les travaux de Lee *et al.* (2016)<sup>117</sup> s'intéressent à la mise en évidence de l'ARN du vNDV par rtPCR. Cette étude compare la charge virale présente dans la pulpe de plume, le cloaque et l'oropharynx chez des animaux préalablement inoculés.

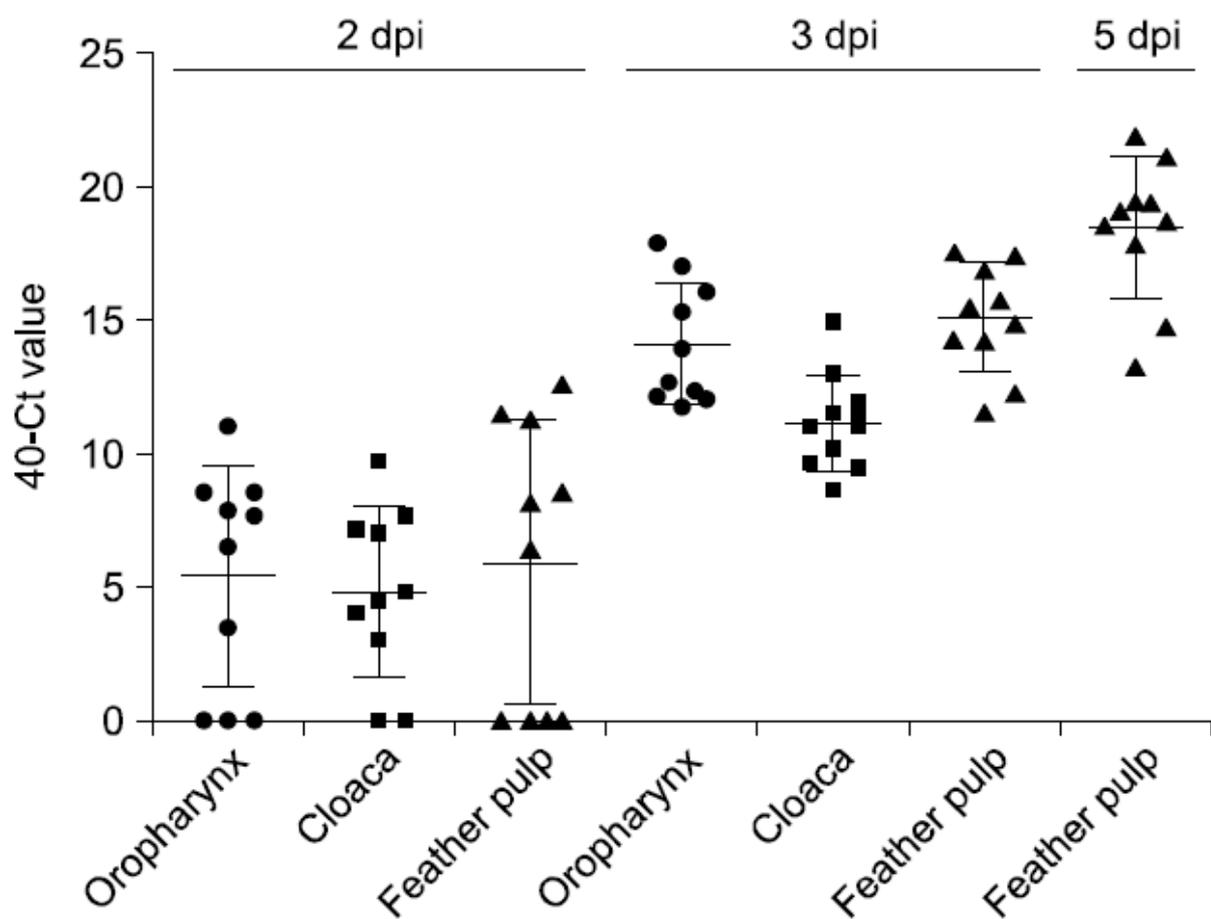


Fig. 30 : Comparaison de la quantité d'ARN (exprimée en Ct) présente dans la pulpe de plume, le cloaque et l'oropharynx à 2, 3 et 5 jours post inoculation (D'après Lee et al. 2016)

L'ARN du vNDV cherché dans la pulpe de plume a été retrouvé dans 60% dans poulets (contre 70% pour l'oropharynx et 80% pour le cloaque) à 2 jours post-inoculation mais tous les poulets sont positifs à partir de 3 jours post-inoculation, quel que soit le type d'échantillon prélevé.

Cette étude met également en évidence par immunohistochimie des foyers de nécrose au sein de l'épiderme de la plume, associé à une infiltration hétérophilique et lymphocytaire.

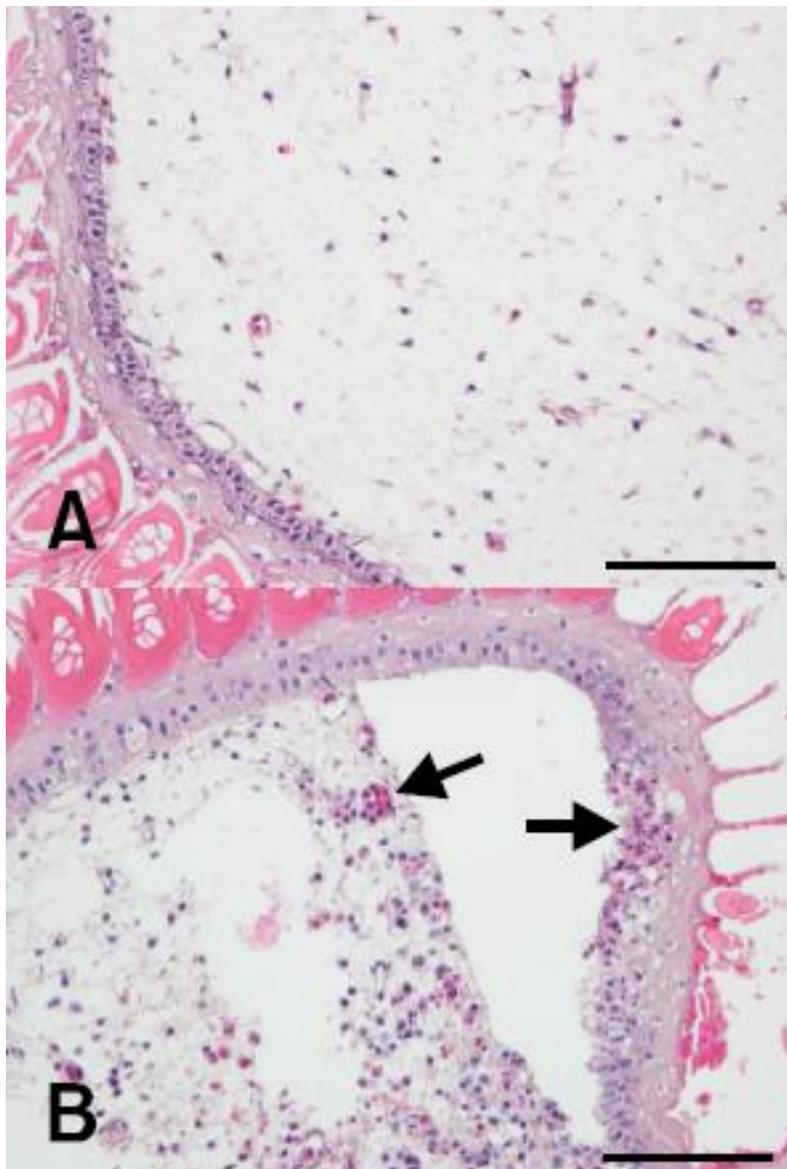


Fig. 31 : Immunohistochimie de la plume. A = sujet sain. B = Foyers de nécrose infiltration avec infiltration hétérophilique et lymphocytaire (flèches noires).  
Echelle : 50 µm (D'après Lee et al. 2016<sup>117</sup>)

Cette étude montre que la plume pourrait jouer un rôle important dans la transmission du vNDV et, par conséquent, constituerait un outil approprié pour le diagnostic de la maladie de Newcastle.

## E) Diagnostic de la laryngotrachéite infectieuse aviaire

Le virus de la laryngotrachéite infectieuse aviaire (ILTV) est un alphaherpesvirus à l'origine d'une atteinte respiratoire manifestée par des écoulements nasaux, de la toux, voire même une asphyxie pour les formes les plus aiguës<sup>96</sup>.

Les seuls travaux réalisés sur la mise en évidence de l'ILTV dans les plumes de poulet sont ceux de Davidson *et al.* (2009)<sup>97</sup> Dans cette étude, 5 techniques différentes d'amplification de l'ADN de l'ILTV par PCR sont étudiées à travers des échantillons d'homogénats de trachée, d'écouvillons trachéaux et de tiges de plume.

Isolate name	Lane number in Fig. 1	Country of origin (year)	Origin of DNA	ILTV gE gene	ILTV TK gene		ILTV TK gene (TKIP)	ILTV gG gene	ILTV ICP4 gene
					PCR-I (TKOP)	PCR-II (TKPD2)			
Alko.	8	Israel 2006	Trachea <sup>B</sup>	-	+/-	+	+	+/-	+
			Trachea <sup>D</sup>	-	-	+	-	-	+
	4		Feathers	-	+/-	+	+	+	+
	6		Feathers	-	-	+	-	+/-	-
	9		Feathers	-	-	-	-	+/-	+/-
Uninfected chicks <sup>E</sup>									
SPF		Israel 2007	Spleen	-	-	-	-	-	-
	Feathers		-	-	-	-	-	-	

Tableau 7 : Comparatif du diagnostic de la laryngotrachéite infectieuse par PCR sur homogénat de trachée (B), écouvillon trachéal (D) et tiges de plume (Adapté de Davidson *et al.* 2009<sup>97</sup>)

Cette étude met en évidence de l'ADN de l'ILTV dans les plumes de poules et recommande la plume comme un outil diagnostique de l'ILTV, qui, au même titre qu'un écouvillon trachéal, évite l'euthanasie et l'autopsie des oiseaux d'une part, et permet un échantillonnage répété d'autre part.

## F) Diagnostic des flaviviroses

### 1) BAGV

Le Bagaza virus (BAGV) est un flavivirus isolé pour la première fois en 1966 en Afrique Centrale<sup>109, 110</sup>. Une épizootie est rapportée en 2010 au sud de l'Espagne sur des perdrix et des faisans<sup>111</sup>.

Llorente *et al.* (2015)<sup>112</sup> ont étudié par rtPCR la charge virale du BAGV présente dans les écouvillons oraux et cloacaux, les plumes et le sang chez des perdrix préalablement inoculés avec le BAGV.

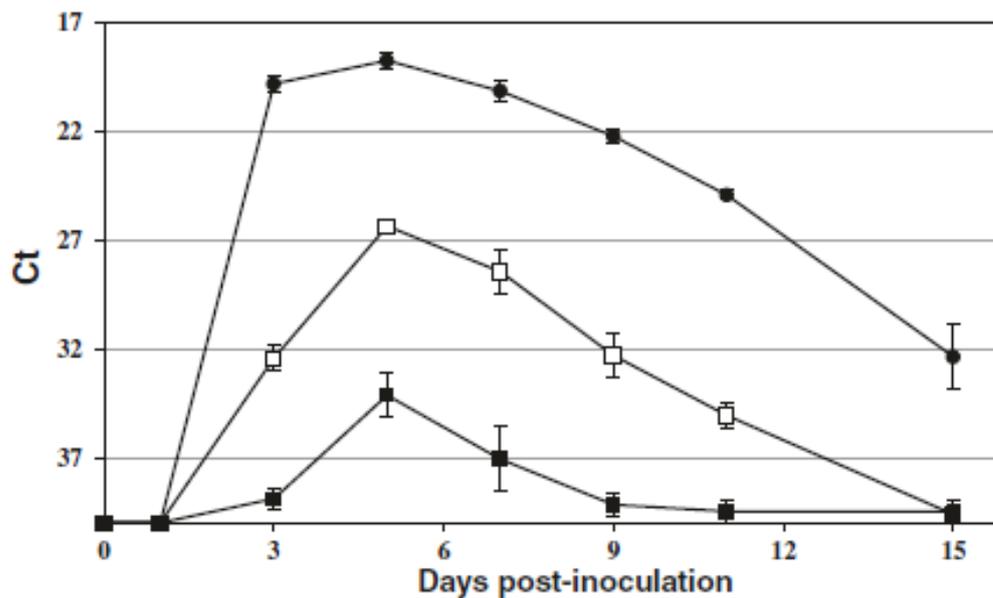


Fig. 31 : Evolution de la charge virale (exprimée en Ct) dans les écouvillons oraux (carrés blancs), les écouvillons cloacaux (carrés noirs) et les plumes (cercles noirs) en fonction du temps post-inoculation (D'après Llorente *et al.* 2015<sup>112</sup>)

Avec un pic à 5 jours post-inoculation, la charge virale du BAGV présente dans les plumes est significativement plus élevée que dans les écouvillons. D'autre part, le virus est détectable dans les plumes pendant une période plus longue que dans les écouvillons. En effet, à 15 jours post-inoculation, la plume est le seul échantillon le génome du BAGV est toujours détectable.

Cette étude présente la plume comme étant un prélèvement approprié pour réaliser un suivi de la circulation du virus dans les programmes de surveillances du BAGV chez la perdrix.

## 2) West Nile

Le virus West Nile (WNV) est un flavivirus apparu chez l'Homme en Uganda dans les années 1940, détecté chez les espèces aviaires d'Amérique du Nord en 1999<sup>106</sup>. Il est à l'origine de troubles neurologiques manifestés par une paralysie, une incoordination ou un torticolis.

Les premiers travaux sur la pulpe de plume commencent aux Etats Unis en 2004 où une étude de Docherty *et al.* (2004)<sup>107</sup> compare par rtPCR les écouvillons cloacaux, la pulpe de plume et les extraits de rein et de rate pour la mise en évidence de l'ADN du WNV chez des carcasses de corvidés ayant présenté des signes d'infection.

Le résultat de cette étude est que, sur les 84 carcasses de corvidés testées, 77% étaient positives au WNV en utilisant des échantillons de pulpe de plumes contre 38% et 43% pour les écouvillons cloacaux et les extraits de rate et de reins respectivement.

Dans un deuxième temps, certains échantillons sont comparés en évaluant la charge virale au sein de ceux-ci.

Type of sample	No. tested	Median (range)
Kidney/spleen pool	7	1.0 ( $\leq$ 1.0 to 3.3)
Cloacal swab	12	1.9 ( $\leq$ 1.0 to 4.0)
Vascular pulp of flight feather	12	4.9 (3.5 to $\geq$ 7.4)

Tableau 8 : Titre logarithmique (particules virales par 0.1 ml pour 10% de suspension tissulaire) du WNV dans des échantillons d'extrait de rein et de rate, des écouvillons cloacaux et des extraits de pulpe de plume de corvidés (D'après Docherty *et al.* 2004<sup>107</sup>)

Cette étude présente l'isolement de l'ADN du WNV dans la pulpe de plume comme un test sensible pour la surveillance des carcasses de corvidés et l'explique par le fait que la charge virale dans la pulpe de plume est significativement supérieure à la charge virale dans les écouvillons cloacaux et les extraits de rein et de rate.

Une autre étude parue au Japon en 2008 réalisée par Shirafuji *et al.* (2008)<sup>108</sup> compare 25 types d'échantillons différents par immunohistochimie chez des corbeaux préalablement inoculés.

Organs	Crow					
	1	2	3	4	5	6
Brain	-	+	-	-	+	+
Heart	+	++	++	-	+	+++
Liver	+++	++	++	-	+++	+++
Kidney	++	+	+	-	++	+
Lung	++	++	++	-	+++	++
Spleen	+++	+	+	-	+++	+++
Skin	+++	++	++	+	+++	+++
Feather pulp	+++	+++	++	+	++	+++
Skeletal muscle	+	+	+	-	++	-
Eye	++	+	+	-	+	++
Spinal cord	+	-	-	-	-	-
Ovary/testis	-	ND	+	-	++	++
Pancreas	+	-	-	-	+	++
Trachea	+	+	++	-	++	++
Adrenal gland	+++	+++	+++	-	+++	+++
Bone marrow	++	+	++	-	++	+++
Bursa of Fabricius	+	++	+++	-	+++	+++
Esophagus	+	+	+	-	++	++
Gizzard	++	+	+	-	+	++
Proventricus	+	+	++	-	++	+
Duodenum	+++	+	++	-	+++	+++
Jejunioileal	+++	+	++	-	+++	+++
Cecum	++	+	+	-	++	++
Colon and Rectum	+	+	+	-	++	++
Mesentry	+	+	+	-	+++	+++

Tableau 9 : Détection du WNV par immunohistochimie dans différents organes de corbeaux (- : aucune réaction, + : réaction faible, ++ : réaction modérée, +++ : réaction forte, ND : non réalisé) (Adapté de Shirafuji et al. 2008<sup>108</sup>)

Ce tableau montre que les seuls échantillons mettant en évidence le WNV chez tous les sujets étudiés sont les échantillons provenant du tégument. Cela est probablement dû à l'importance de la charge virale dans ces tissus, comme évoqué précédemment.

### 3) Méningoencéphalite du dindon

Le virus de la méningoencéphalite du dindon (TMEV) est un flavivirus émergent dans les années 1960 en Israël et en Afrique du Sud<sup>104</sup> à l'origine d'une affection neuro-paralytique manifestée par une parésie, une incoordination et une chute des ailes.

Ce n'est que très récemment qu'une étude de Davidson *et al.* (2017)<sup>105</sup> s'intéresse au diagnostic de la méningoencéphalite du dindon en utilisant la pulpe de plume. Cette étude compare par rtPCR la recherche de l'ADN du TMEV dans la pulpe de plume et des extraits de cerveau.

Dans un premier temps, deux groupes sont inoculés avec deux souches différentes (618 et 107458)

Turkey no.	Organ	Days p.i.	General		
<b>"1995" – strain 618 Type B</b>					
1	Brain	17	38.4 <sup>a</sup>		
		2	ND		
	Feathers	3	ND		
		5	ND		
		7	34.9		
		10	ND		
		13	ND		
		15	ND		
		5	Brain	17	36.8
2	37.7				
Feathers	3		33.7		
	5		35.9		
	7		37.4		
	10		35.4		
	13		ND		
	15		ND		
	<b>"2010" – strain 107458 Type C</b>				
4	Brain	17	29.7		
		2	36.5		
	Feathers	3	29.9		
		5	24.3		
		7	21.1		
		10	30.4		
		13	34.1		
		15	35.6		
		5	Brain	17	34.5
				2	35.1
			Feathers	3	ND
				5	28.6
7	26.4				
10	29.8				
13	35.0				
15	32.1				

Tableau 10 : Evaluation de l'utilisation de la pulpe de plume pour le diagnostic de la méningoencéphalite du dindon par rtPCR (exprimé en Ct) chez des sujets inoculés (ND = Non-détecté) (D'après Davidson et al. 2017<sup>105</sup>)

Ce tableau montre que la pulpe de plume permet une détection plus précoce du TMEV (2 et 5 jours post-inoculation pour les souches 618 et 107458 respectivement pour la pulpe de plume contre 17 jours post inoculation pour les extraits de cerveau).

Cette étude s'intéresse également au diagnostic clinique en comparant les résultats de rtPCR sur pulpe de plume et sur extrait de cerveau chez des sujets présentant des signes cliniques évocateurs de méningoencéphalite du dindon.

Flock no.	Organ	"General"
1	Brain	25.8 <sup>a</sup>
	Feathers	25.2
2	Brain	23.9
	Feathers	26.1
3	Brain	25.7
	Feathers	26.1

Tableau 11 : Evaluation de l'utilisation de la pulpe de plume pour le diagnostic de la méningoencéphalite du dindon par rtPCR (exprimé en Ct) sur des cas cliniques (D'après Davidson et al. 2017<sup>105</sup>)

Cette étude montre que la recherche de l'ADN dans les plumes des dindons est un moyen approprié pour diagnostiquer le TMEV avec une charge virale qui semble similaire à celle présente dans le cerveau.

### III. Bilan et application

#### A) Avantages

Sans parler de résultat, cette méthode d'échantillonnage possède de nombreux avantages<sup>73</sup>.

D'un point de vue pratique, c'est une méthode permettant un échantillonnage facile, rapide et pouvant être réalisée de manière répétée sur le même animal. A ce titre, quel que soit le lieu de prélèvement, il est toujours possible d'avoir un nombre d'échantillons relativement élevé.

D'un point de vue éthique, c'est un procédé peu invasif, quasiment indolore et pouvant être réalisé sur des sujets vivants, ce qui permet d'éviter de réaliser systématiquement une autopsie.

Pour finir, les plumes d'oiseaux se disséminent partout au sein et aux alentours de leur lieu de vie. Elles peuvent donc constituer un marqueur environnemental de la présence, voire de la charge virale.

## B) Inconvénients

Le principal inconvénient de ce type d'échantillonnage vient du fait que la pulpe de plume n'est présente que sur la plume en croissance et, comme décrit dans la première partie, se résorbe petit à petit au cours de la croissance plumaire.

Ainsi, un échantillonnage chez un sujet trop jeune devient contraignant du fait du manque de plume, et donc, du manque de matériel.

De la même manière le procédé d'échantillonnage devient contraignant chez un vieux sujet qui manque de plume en croissance. Selon Zavala *et al.* (2002)<sup>95</sup> la quantité de matériel la plus importante se situe chez des sujets entre 1 et 7 semaines. Passé cet âge, il est parfois nécessaire d'arracher certaines plumes et d'attendre 3 à 4 semaines qu'elles repoussent pour pouvoir obtenir une plume en croissance et donc suffisamment de matériel.

Un autre inconvénient décrit dans la littérature par Garrido *et al.* (1992)<sup>115</sup> est la diversité des échantillons chez un même sujet. En effet, que ce soit en taille en poids ou en âge, aucune plume au sein d'un même individu ne se ressemble et ce manque d'uniformité peut limiter certaines études.

## C) Application à la vaccination

### 1) Détection des souches vaccinales dans les plumes

Dès lors que, pour chaque infection virale vue précédemment, l'antigène voire même la réaction immunitaire de l'hôte pour certains agents pathogènes peut être mise en évidence dans les plumes, il paraît possible de pouvoir détecter une souche vaccinale ou de confirmer la production d'anticorps suite à un protocole de vaccination.

Nous discuterons dans cette partie l'intérêt de l'utilisation des plumes dans le suivi d'un protocole vaccinal à travers deux exemples : le virus de la maladie de Marek (MDV) et le virus de la laryngotrachéite aviaire (ILTV)

#### a) Maladie de Marek

Le vaccin contre le MDV est le premier vaccin efficace dirigé contre une maladie cancéreuse, pour toutes espèces confondues<sup>126</sup>.

Il existe plusieurs types de vaccin dirigés contre différents sérotypes du MDV<sup>127</sup>. On distingue la souche gallidherpes-2 ou souche Rispens (sérotipe 1)<sup>128</sup>, la souche Meleagridherpes également appelée HVT (sérotipe 3)<sup>129</sup> souvent combinée avec la souche gallidherpes-3 correspondant au sérotipe 2130.

L'administration du vaccin se fait au couvoir, soit aux poussins d'un jour futures poules pondeuses par injection sous-cutanée ou intramusculaire, soit directement avant l'éclosion, à 18 jours in ovo<sup>131</sup>.

Dans les années 2005-2006, plusieurs études ont essayé d'identifier et de quantifier les trois stéréotypes (MDV1, HVT et MDV2) en utilisant des plumes de poulets par rtPCR post-vaccination.

L'étude de Baigent *et al.* (2005)<sup>78</sup> s'intéressent à la souche Rispens (sérotipe 1). Les résultats de la PCR sur pulpe de plume, rate et lymphocytes périphériques dans le sang montrent que le nombre de copies du génome du sérotipe 1 du MDV est considérablement plus élevé (de l'ordre de  $10^4$ ) dans la pulpe de plume à 14 jours post-vaccination.

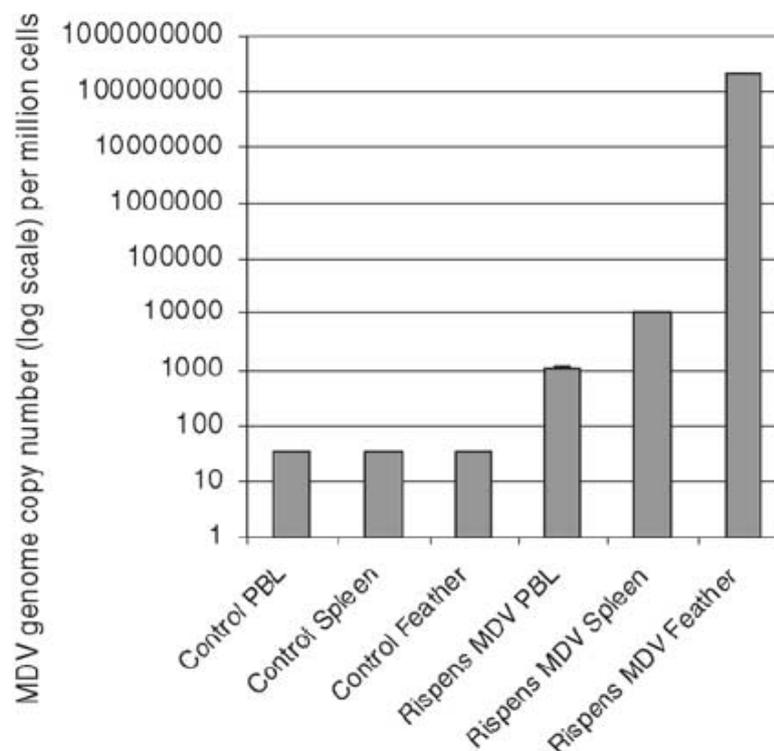


Fig. 32 : Comparaison de la charge virale de la souche Rispens dans des échantillons de pulpe de plume, de rate et de lymphocytes périphériques dans le sang à 14 jours post vaccination (D'après Baigent *et al.* 2005<sup>78</sup>)

Les travaux de Renz *et al.* (2006)<sup>132</sup> concernent le sérotype 2. Ils comparent la réponse de l'hôte suite à un protocole vaccinal HVT-MDV2 en utilisant des échantillons de plume et de rate.

No. of samples	Sample	Vaccination	MDV1 VCN/10 <sup>6</sup> host cells [mean]	HVT VCN/10 <sup>6</sup> host cells [mean]	MDV2 VCN/10 <sup>6</sup> host cells [mean]
6	Feather	(HVT/MDV2)	N.A.	N.A.	15348
5	Spleen	HVT	N.A.	N.A.	0
5	Spleen	(HVT/MDV2)	N.A.	N.A.	16120
Total 16					11/16

*Tableau 12 : Comparaison du nombre de cellules virales (VCN) dans des échantillons de plume et de rate après vaccination HVT-MDV2 chez des poulets de 4 mois (d'après Renz et al. 2006)<sup>132</sup>*

Les résultats montrent une charge virale du MDV2 similaire dans les plumes et dans la rate après vaccination, montrant que le MDV2 se multiplie toujours au sein de ces supports chez des animaux vaccinés, même à 123 jours d'âge.

Les travaux d'Islam *et al.* (2005)<sup>133</sup> mettent en évidence de la même manière le sérotype 1 et le HVT dans des plumes de poulet après vaccination. Leur méthode de quantification absolue permet de différencier les deux sérotypes chez un même individu.

Enfin les travaux de Cortes *et al.* (2011)<sup>134</sup> montrent que la charge virale des 3 sérotypes est plus élevée dans le sang que dans le plume. Cette étude met en avant la pulpe de plume comme échantillon de choix dans le suivi de vaccination des élevages, étant donné le nombre important de faux-négatifs en utilisant des prélèvements de sang.

## b) Laryngotrachéite infectieuse

La laryngotrachéite infectieuse est la première maladie infectieuse virale aviaire pour laquelle un vaccin a été développé<sup>119</sup>.

Il existe deux types de vaccins : un vaccin vivant atténué et un vaccin vectorisé, tous deux induisant une immunité contre le Gallid herpesvirus type 1 (GaHV-1), le vaccin vivant étant le plus efficace dans les zones endémiques mais pouvant être à l'origine de création de nouveaux foyers dans les zones non-endémiques<sup>120</sup>. Parmi les vaccins vivants atténués existant sur le marché, on trouve ceux élaborés à partir de culture tissulaire (TCO) et ceux conçus à partir d'embryons de poulets (CEO).

Les vaccins TCO existent sous forme d'aérosols<sup>121</sup>, d'eau de boisson<sup>123</sup> ou de gouttes dans les yeux<sup>122</sup>. Pour les vaccins CEO, seules les gouttes dans les yeux sont commercialisées<sup>124</sup>.

Les travaux de Davidson *et al.* (2009)<sup>97</sup> sur la détection de l'ILTV s'intéressent à la plume comme outil de détection des souches vaccinales après application d'un vaccin sous forme d'aérosol (CEO) dans des élevages d'Israël par amplification du gène codant pour la glycoprotéine de l'enveloppe des souches vaccinale de l'ILTV par PCR.

Les premiers résultats, peu satisfaisants, montrent une très faible quantité de souches vaccinales dans les plumes, les obligeant à utiliser une technique de PCR plus précise dite « nichée » (nested PCR) utilisant une paire supplémentaire d'amorces permettant d'amplifier une séquence au sein du produit de la première PCR<sup>125</sup>.

Layer flock surveyed (year)	Sampling day in relation to vaccination	Nested amplification – feather DNA PCRI (TKOP) + PCRII (TKPD2)	Nested amplification – spleen DNA PCRI (TKOP) + PCRII (TKPD2)
I. M.-I (2007)	-12	0/5 <sup>A</sup>	NT
	-6	0/5	NT
	-1	0/5	NT
	+7	0/15	NT
	+14	0/15	NT
	+21	3/15	NT
	+28	0/15	NT
	+35	4/15	NT
	+39	0/15	NT
I. M.-II (2008)	0	4/5	3/5
	+5	1/5	2/5
	+10	2/5	0/5
	+15	1/5	0/5
	+20	1/5	1/5
	+25	1/5	3/5
	+30	2/5	0/5
	+35	0/5	0/5
	+40	0/5	0/5
	+45	0/5	0/5
	+50	0/5	0/5
+55	0/5	0/5	

Tableau 13 : Détection de l'ILTV par PCR nichée sur rate et sur pulpe de plume avant et après vaccination au sein de deux élevages (D'après Davidson et al. 2009<sup>97</sup>)

De manière générale, leurs analyses montrent que les souches vaccinales de l'ILPV sont détectables à environ 1 mois post-vaccination chez 20 à 40% des poulets vaccinés que ce soit en utilisant la pulpe de plume ou en prélevant un échantillon de rate.

Cette étude recommande la plume pour un diagnostic de vaccination contre l'ILTV pour tous les avantages qu'elles présentent (énoncés précédemment). Néanmoins, le diagnostic reste plus difficile pour une souche vaccinale que pour un virus de type sauvage. D'autre part, l'échantillonnage doit être répété plusieurs fois durant le premier mois suivant la vaccination.

## 2) Application sur le terrain

Les exemples du MDV et de l'ILTV montrent que les plumes sont de bons indicateurs de la charge virale chez des sujets vaccinés. D'autre part, la mesure de cette charge virale pourrait être utilisée pour vérifier le succès d'un protocole vaccinal, déterminer la voie idéale d'administration d'un vaccin, établir la période post-vaccination à laquelle la protection est maximale ou minimale, et le temps à partir duquel un nouveau protocole vaccinal est nécessaire.

Nous étudierons ces aspects dans cette partie à travers l'exemple du MDV.

En 2007-2008, plusieurs études se sont déjà intéressées à la cinétique du MDV après inoculation d'une souche infectieuse chez des animaux vaccinés<sup>135, 136, 137</sup>. Cependant, les résultats obtenus dans ses études sont contradictoires et ne semblent pas refléter les résultats d'une véritable application sur le terrain.

L'étude de Ralapanawe *et al.* (2016)<sup>138</sup> réalisées dans des élevages d'Australie s'intéresse au succès et à la persistance de la souche vaccinale Rispens chez le poulet. Les résultats montrent que, en moyenne, 66% des plumes étaient positives à la souche Rispens au cours des 12 premières semaines avec un pic de 93% à 8 semaines. La charge virale chez les poulets plus vieux (entre 12 et 90 semaines) est autant, voire plus haute ce qui montre une persistance de la souche Rispens au long cours.

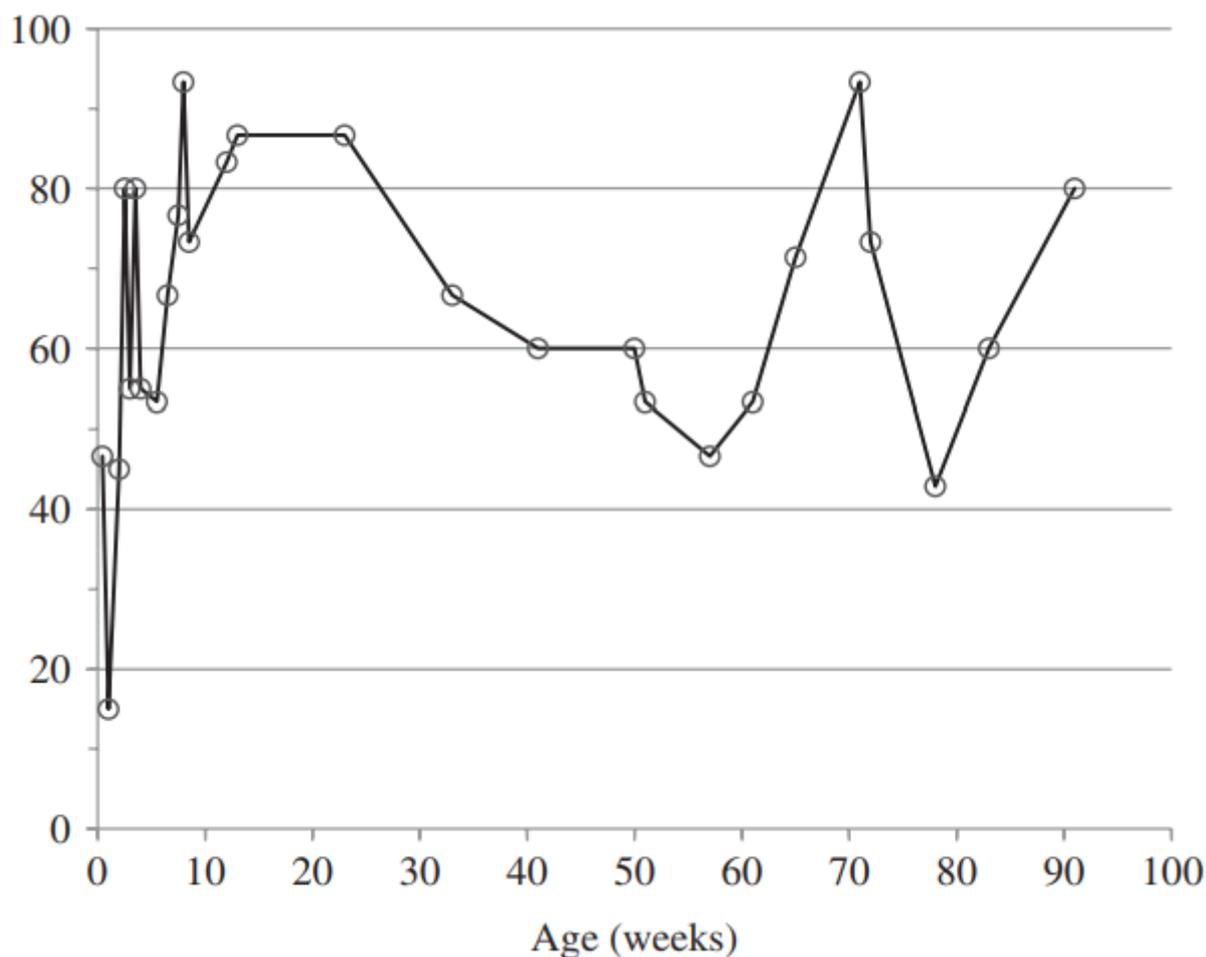


Fig. 33 : Evolution du pourcentage de rtPCR sur pulpe de plume positives pour la souche Rispens du MDV jusqu'à 90 semaines. Résultats cumulés de trois élevages de poulets (D'après Ralapanawe et al. 2016<sup>138</sup>)

Cette étude montre également que d'une part, certains sujets vaccinés avec cette souche sont positifs pour un type sauvage du MDV et que, d'autre part, certains poulets non-vaccinés étaient positifs à la souche Rispens.

De la même manière, Davidson *et al.* (2018)<sup>139</sup> étudient le suivi d'un protocole vaccinal avec la souche Rispens et obtiennent des résultats similaires. La souche vaccinale devient détectable à partir de 10 jours post-vaccination. D'autre part, certains animaux vaccinés sont négatifs tout le long de leur vie, ce qui sous-entend une variabilité interindividuelle et montrant l'intérêt de répéter l'échantillonnage le plus possible.

Dans le cas du MDV, ces études montrent que l'étude de la charge virale en utilisant la pulpe de plume après vaccination permet non-seulement un suivi de la persistance de la souche vaccinale mais également de surveiller sa sécurité en cherchant d'éventuelle co-infections.

## Partie 3 - La plume, outil de surveillance des virus influenza aviaires

### I. Influenza aviaire

#### A. Présentation

##### 1) Classification virale

###### a) Taxonomie

Le virus influenza appartient à la famille des *Orthomyxoviridae* (orthos, grec pour "droit"; myxa, grec pour "mucus"). La dernière mise à jour de l'ICTV<sup>140</sup> en 2018 indique que cette même famille appartient au phylum *Negarnaviricota*, au subphylum *Polyploviricotina*, à la classe des *Insthoviricetes* et à l'ordre des *Articulavirales*.

Ce sont des virus enveloppés, segmentés, à ARN simple brin à polarité négative<sup>141</sup>.

Ils sont classés en 4 types différents : influenza A, B, C et D. L'influenza A est le plus important, à l'origine d'épidémies dangereuses avec une morbidité et une mortalité élevées. Ces virus mutent rapidement et ont un grand nombre d'hôtes<sup>142</sup>. En effet, l'Influenza A infecte les oiseaux, mais aussi les porcs, les chevaux, les baleines, les phoques et les humains<sup>143</sup>. Les types B et C sont plus généralement retrouvés chez l'homme ou chez certains mammifères comme les phoques, avec une gravité souvent moindre que celle de l'influenza A.

Dans cette partie, nous parlerons donc des virus Influenza A (IA).

Ces virus ont pour réservoirs les oiseaux, en particulier aquatiques (ansériformes, mouettes goélands, palmipèdes sauvages et élevés, etc). Ils hébergent les virus de quasiment tous les sous-types dans leur tube digestif, et les excrètent. Chez ces hôtes, la réplication virale se produit principalement dans le tractus gastro-intestinal et en moindre mesure dans les voies respiratoires.

## b) Sérotypes

Les virus influenza A diffèrent entre eux par la variabilité de leurs glycoprotéines de surface : l'hémagglutinine (HA) et la neuraminidase (NA), dont la structure et la fonction sont détaillées dans les parties I.A.2) et I.A.4).

L'hémagglutinine (HA, abrégée « H ») et la neuraminidase (NA, abrégée « N ») possèdent respectivement 16 et 9 sous-types différents pour un total de 144 combinaisons possibles<sup>166</sup>. Cependant, certains sérotypes apparaissent plus fréquemment chez certaines espèces que d'autres. Par exemple, chez le poulet, les sous-types de l'hémagglutinine les plus fréquents sont les H5 et H7<sup>168</sup>

## 2) Structure

### a) Composition

Les virus influenza A ont 8 segments de gènes différents qui codent pour au moins 10 protéines virales différentes. La protéine de structure au sein du virion mature est composée, d'une part, des protéines de surface dont l'hémagglutinine (HA) et la neuraminidase (NA) et, d'autre part, de la membrane qui contient la nucléoprotéine (NP), les protéines de la matrice (M1 et M2) et le complexe polymérase. Ce dernier contient deux polymérases basiques (PB1 et PB2) et une polymérase acide (PA)<sup>144, 146</sup>.

Les protéines résiduelles sont des protéines non-structurelles. La première (NS1) est produite en grande quantité de la cellule hôte<sup>147</sup>. La deuxième (NS2) est produite à la fois dans le virion et dans la cellule hôte et est qualifiée selon O'Neill *et al* (1998)<sup>148</sup> de protéine d'export.

La fonction des protéines énoncées précédemment est résumée dans le tableau ci-après.

Segment	Longueur (en nombre de nucléotides)	Protéine encodée	Taille de la protéine (en nombre d'acides aminés)	Fonction de la protéine
1	2341	PB2	759	Sous-unité polymérase Reconnaissance de l'ARNm
2	2341	PB1	757	Sous-unité polymérase, élongation de l'ARN, activité endonucléase
3	2233	PA	716	Sous unité polymérase, activité protéase
4	1778	HA	550	Glycoprotéine de surface, liaison aux récepteurs, mécanisme de fusion
5	1565	NP	498	Liaison à l'ARN, transport ARN jusqu'au noyau
6	1413	NA	454	Glycoprotéine de surface, libération du virus, activité sialidase
7	1027	M1	252	Régulation de l'export d'ARN
		M2	97	Libération et assemblage du virus
8	890	NS1	230	Régulation de l'expression des gènes de l'hôte
		NS2	121	Régulation de l'export d'ARN

Tableau 14 : Les segments du génome de l'IA, les protéines pour lesquelles ils codent et leur fonction (adapté de Bouvier et Palese 2008)<sup>149</sup>

La Nucléoprotéine (NP) joue un rôle d'encapsulation du génome viral de manière à former une ribonucléoprotéine (RNP)<sup>150</sup>. Les RNPs se tiennent au sein de la coque formée par la M1. Ils sont constitués du segment d'ADN et des 3 parties du complexe ARN polymérase (PB1, PB2, PA). Cette structure des RNPs joue un rôle essentiel dans la réplication virale. L'organisation du RNP est représentée par le schéma ci-dessous.

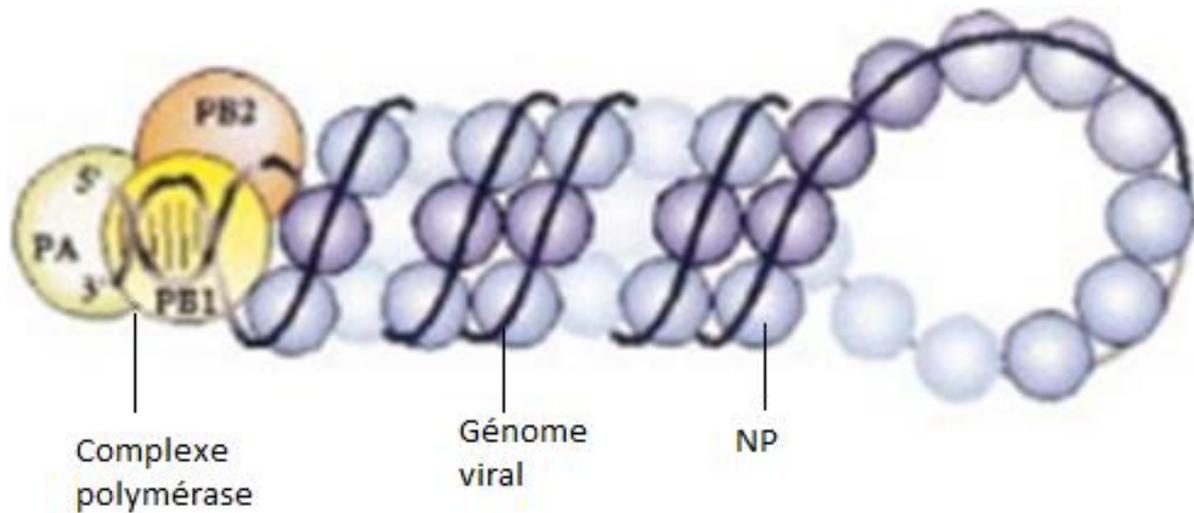


Fig. 35 : Structure de la RNP du virus influenza A (d'après Porteau et Digard 2002<sup>150</sup>)

#### b) Morphologie

La morphologie du virus est très variable. On retrouve des formes sphériques allant de 80 à 100 nm, jusqu'à des structures filamenteuses de plusieurs microns de longueur. Les formes filamenteuses semblent prédominer lorsqu'on isole le virus sur des cas cliniques mais après culture cellulaire sur des œufs de poule, on retrouve les formes sphériques<sup>146</sup>. Cette morphologie semble être contrôlée par la protéine M1<sup>152</sup>.

La structure d'ensemble du virus inclut une membrane lipidique dont la structure dérive de la membrane de la cellule-hôte. Au sein de cette membrane, on trouve les deux glycoprotéines de surface (HA et NA) ainsi que la protéine de matrice M2. L'hémagglutinine, trimère apparaissant comme des pointes qui s'élèvent depuis la membrane lipidique, est la protéine la plus abondante à la surface (environ 80%)<sup>153, 155</sup>.

La protéine de matrice M2 fonctionne comme un canal ionique et intervient dans le déclenchement de la libération du génome viral<sup>154</sup>.

Sous l'enveloppe lipidique, la protéine de matrice M1 une couche qui sépare la membrane du génome viral.

A l'intérieur du virion, on retrouve les 8 segments de taille différente agencés avec la NP et le complexe polymérase.

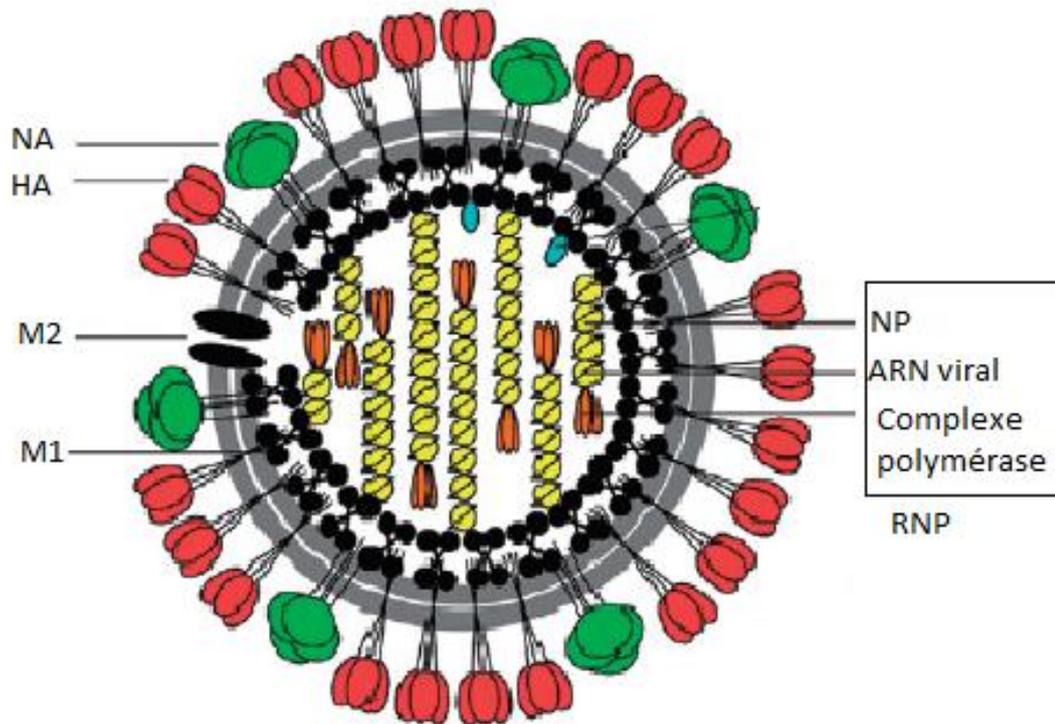


Fig. 36 : Représentation schématique d'un virus influenza A (d'après Nayak et al 2013<sup>156</sup>)

### 3) Pouvoir pathogène

L'infection par les virus influenza ne prend pas une forme stable et à long terme chez l'hôte infecté. Du fait de cette infection de court terme chez un hôte, leur survie dépend de la transmission d'hôte à hôte.

Chez les oiseaux, on distingue les VIA hautement pathogène (HP) et faiblement pathogènes (FP). Des critères moléculaires ont été établis par l'organisation mondiale de la santé animale (OIE) pour faire le distinguo entre l'IAHP et l'IALP. Ceux-ci sont basés sur la séquence du site de clivage de l'hémagglutinine<sup>144</sup>. Cette pathogénicité peut également être basée sur des tests *in vivo*<sup>144</sup>.

Pour des raisons inconnues, tous les IAHP ont jusqu'à présent appartenu aux sous-types H5 ou H7 (Swayne, 2009)<sup>145</sup>.

Le taux de mortalité des oiseaux infectés par un virus IAHP peut atteindre 100% alors qu'une infection avec un virus IAHP entraîne une affection modérée à sévère des voies respiratoires<sup>157, 158, 159</sup>.

Le site de clivage de l'HA des IAHP contient un nombre supérieur d'acides aminés basiques (arginine ou lysine), ce qui permet un clivage par des protéases présentes dans de multiples types cellulaires dans l'organisme des oiseaux. De ce fait, le virus peut se répliquer dans de nombreux tissus, ce qui contribue à une étendue des lésions de l'organisme<sup>160</sup>.

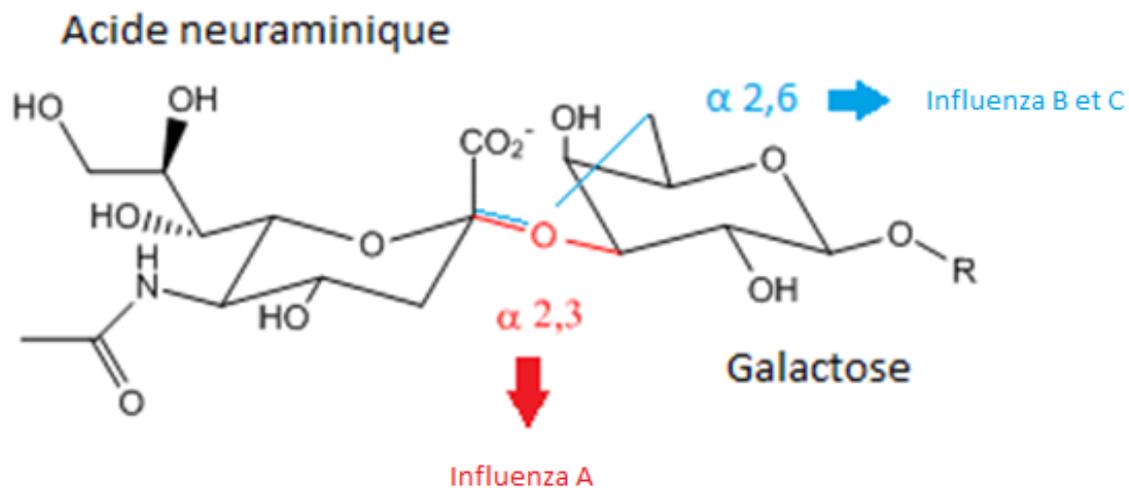
A l'inverse, le site de clivage de l'HA des IAHP contient un nombre inférieur d'acides aminés basiques (arginine) ce qui, par le même raisonnement, fait que la réplication a lieu dans un nombre de tissus limité, en particulier dans les tissus respiratoire et digestif.<sup>162</sup>

Pour finir, il est décrit dans la littérature que des VIAHP peuvent muter et se transformer en IAHP après infection de l'hôte aviaire, par insertion de résidus basiques<sup>161</sup>.

#### 4) Cycle viral

Comme énoncé dans la partie précédente, la survie du virus dépend de la transmission d'hôte à hôte. Cette transmission dépend des cycles d'infection et de la libération du virus à partir de l'hôte infecté. Par conséquent, il est primordial pour la survie du virus IA de rencontrer des cellules possédant les récepteurs adaptés à son entrée et à la libération de son génome dans celle-ci.

La première étape de l'infection est le contact et l'attachement de l'HA au récepteur cellulaire qui est l'acide sialique. Ce dernier est un dérivé de l'acide neuraminique dont la fonction dépend de la manière dont sa terminaison (galactose) est reliée aux atomes de carbones. Les formes principales décrites ont des liaisons aux carbones 2 et 3 ou 2 et 6<sup>163</sup>. Cela a un intérêt dans la spécificité d'un virus pour son hôte car l'HA des IA se fixent préférentiellement aux acides sialiques liés en C2 et C3 alors que les virus influenza des mammifères ont une meilleure affinité pour les acides sialiques liés en C2 et C6.



*Fig. 37 : Structure de l'acide sialique et affinité du récepteur selon sa conformation  
(adapté de Pillai et Lee 2010<sup>165</sup>, Nelli et al 2010<sup>164</sup>)*

Cette spécificité n'est cependant pas absolue, d'une part parce que certains virus influenza peuvent se lier aux acides sialiques quel que soit leur conformation, d'autre part parce que certains animaux expriment les deux types de récepteurs à des hautes concentrations dans leur épithélium respiratoire<sup>166</sup>. C'est le cas du porc notamment<sup>144</sup>.

Une fois que la reconnaissance virus-hôte a eu lieu, l'hémagglutinine (HA) est clivée en deux sous-unité HA1 et HA2 par des protéases de la cellule-hôte<sup>180</sup>. L'HA1 contribue à la liaison avec le récepteur et l'HA2 participe à la fusion des membranes du virus et de la cellule-hôte. Le virus entre dans la cellule par endocytose, formant un endosome, sous médiation de la clathrine, une protéine structurale<sup>167</sup>. L'endosome est un milieu acide, avec un pH entre 5 et 6, ce qui active le domaine de fusion de l'HA et provoque, comme son nom l'indique, la fusion entre l'enveloppe virale et la membrane de l'endosome<sup>168</sup>. Cette étape est possible grâce à la protéine M2 qui permet l'entrée de protons H<sup>+</sup> au sein du virion<sup>76</sup>. L'acidification du virion ainsi créée permet la sortie des RNP à l'intérieur du cytoplasme de la cellule-hôte<sup>169</sup>.

Les RNP sont ensuite amenés au noyau de la cellule hôte par transport actif sous le contrôle de la NP<sup>144</sup>. L'ARN viral est alors copié dans le noyau par le complexe polymérase viral et les ARN polymérase de la cellule hôte.

La traduction des protéines virales a lieu à l'extérieur du noyau de la cellule-hôte, dans le réticulum endoplasmique. En parallèle, l'ARN copié dans le noyau est empaqueté et exportée

vers la membrane plasmique. Cette étape est sujette à de nombreuses erreurs dans son mécanisme et est susceptible d'altérer le phénotype du virus<sup>170, 171</sup>. Les protéines virales sont alors intégrées à la membrane cellulaire par l'appareil de golgi et sont assemblées avec les nouveaux RNP<sup>172</sup>. Les néovirions ainsi formés sont exportés de la cellule-hôte par exocytose.

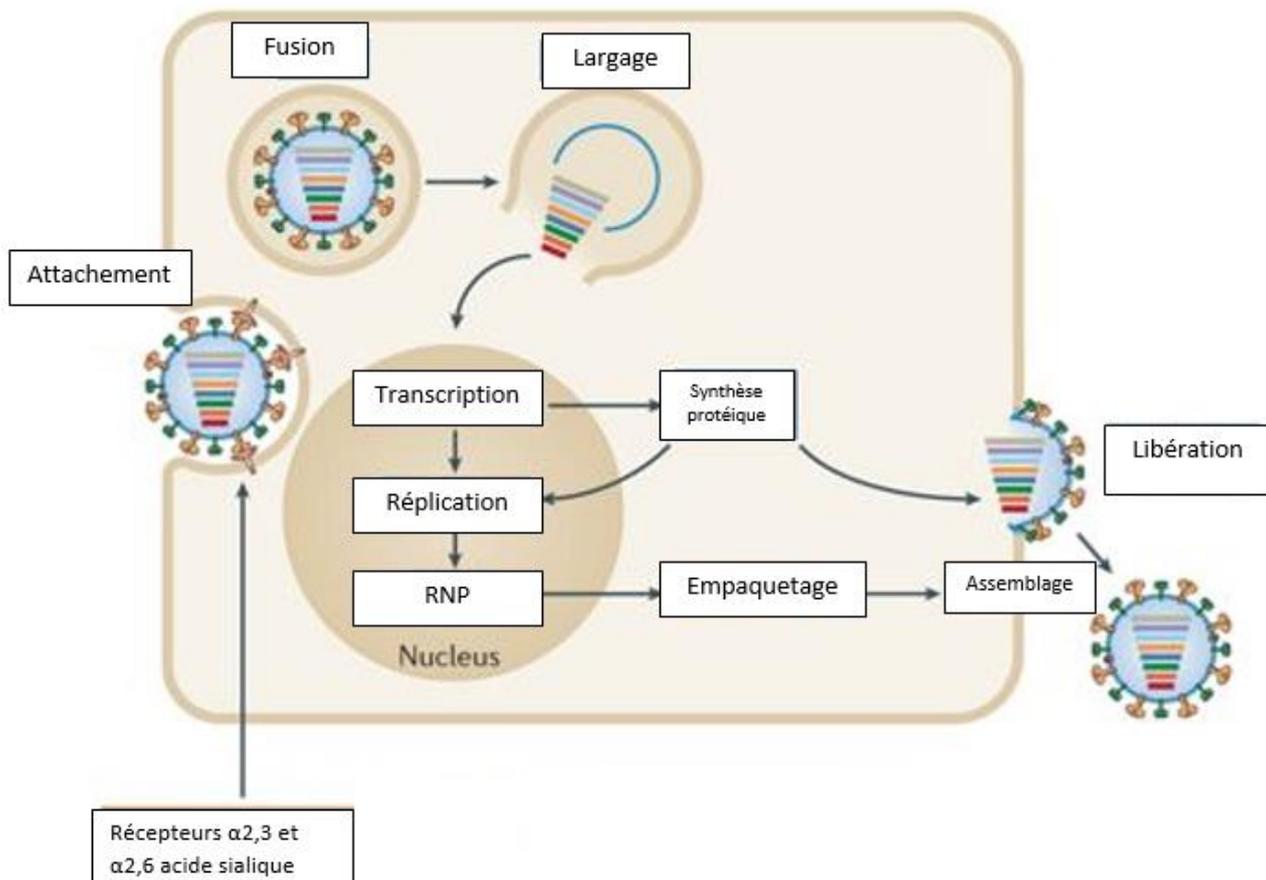


Fig. 38 : Cycle de vie du virus influenza (adapté de Shi et al. 2014<sup>173</sup>)

## 5) Nomenclature

La nomenclature du virus influenza est standardisée par l'Organisation Mondiale de la Santé depuis 1953<sup>169</sup> et résumée par Swayne (2008)<sup>144</sup>.

La nomination d'un virus influenza comprend, dans un premier temps le type (A, B, C ou D), puis dans un deuxième temps l'espèce animale de l'hôte à partir duquel la souche virale a été isolée. Troisièmement, y figure l'origine géographique de la souche isolée qui peut être une

ville, un état, une province ou un pays. Quatrièmement, le numéro de série du laboratoire dans lequel la souche a été isolée doit être mentionné. Cinquièmement, l'année pendant laquelle le virus a été isolé est obligatoire. Enfin, sixièmement, il est nécessaire de préciser le sous-type entre parenthèses (par exemple : A/turkey/Missouri/24093/1999 (H1N2)).

## B. Pathogénie

Comme énoncé précédemment, pour pouvoir se multiplier au sein d'un tissu, les virus Influenza ont besoin que leur cellule-hôte possède le matériel enzymatique nécessaire au clivage de l'HA en HA1 et HA2.

Dans le cas des VIAFP, ce clivage n'est possible que par des enzymes dites « trypsine-like » présent dans certains épithéliums très spécifiques, dans les sécrétions respiratoires ou certaines bactéries du tractus digestif. C'est pourquoi la multiplication des VIAFP commence généralement dans l'épithélium nasal et se limite aux voies respiratoires et au tractus digestif<sup>182, 177</sup>

Dans le cas des VIAHP, le clivage est possible par des enzymes « trypsine-like » ou par des furines qui sont des enzymes présentes dans la plupart des cellules des oiseaux. De ce fait, la multiplication initiale commence également le plus souvent dans l'épithélium nasal, mais rapidement (dans les 24 à 48h)<sup>174</sup>, le virus se multiplie dans l'endothélium et diffuse par les voies systémique et lymphatique dans les viscères, le cerveau et la peau. Autrement dit, seuls les VIAHP sont détectables dans l'épithélium, les follicules plumeux et la pulpe de plume<sup>181</sup>.

## C. Mode de transmission

Le virus IA se transmet par deux manières : la voie directe, par contact et la voie indirecte, notamment par les aérosols ou par des matières contaminées.

La voie indirecte joue un rôle considérable dans la transmission du virus du fait de la grande concentration virale au sein de l'appareil respiratoire<sup>170</sup>.

Néanmoins, le moyen de transmission dominant chez les oiseaux sauvages est la voie fécale-orale<sup>171</sup>

Chez le canard, le principal site de la réplication virale est le tractus intestinal. On retrouve des grandes concentrations de virus disséminé dans les fécès<sup>172</sup>.

La transmission du virus a également lieu chez les oiseaux de rivage du fait de la stabilité de celui-ci dans l'eau<sup>173</sup>.

#### D. Signes cliniques

Les signes cliniques associés à l'IA dépendent essentiellement du pathotype responsable de l'infection.

On distingue donc les souches FP qui sont généralement la cause d'une infection mucoale, dans les voies respiratoires et le tractus digestif ou urogénital et les souches HP pouvant être responsable d'une mortalité importante.

Pour les formes FP, l'infection peut être symptomatique ou asymptomatique<sup>179</sup>. Pour les formes symptomatiques, les signes les plus fréquents sont des troubles de l'appareil respiratoire. On observe de la toux, des éternuements, des râles, une hypersécrétion lacrymale, une dysorexie, mais aussi une chute de ponte, une diminution de la prise de boisson, une apathie<sup>174, 177,178</sup>.

Pour les formes HP, les signes cliniques sont plus ou moins sévères selon la souche. Les lésions observables sont généralement œdémateuses, congestives ou hémorragiques et peuvent s'étendre aux viscères, au système circulatoire, au système nerveux et au tégument. Les différents signes cliniques rapportés sont une baisse d'activité, une chute de ponte, une diminution de la sensibilité aux stimuli, un ébouriffement des plumes, une déshydratation, une dysorexie, une anorexie, une diminution de la prise de boisson, des anomalies de la démarche, une diarrhée, des éternuements, de la toux, une hypersécrétion lacrymale, des saignements oraux et nasaux, une cyanose, une détresse respiratoire, un état comateux, mort soudaine<sup>174, 175, 176, 177</sup>.

## II. Diagnostic de l'influenza aviaire

Comme énoncé précédemment, les signes cliniques associés à l'IA varient selon plusieurs facteurs et ne sont pas pathognomoniques de ce-dernier. C'est pourquoi le diagnostic de l'IA ne peut pas se baser exclusivement sur la clinique et requiert des tests de laboratoire.

### A. Tests de laboratoire à disposition

#### 1) Isolement viral

L'isolement des VIA en laboratoire reste la méthode diagnostique de référence.

Il repose sur l'inoculation d'un broyat de l'échantillon à des cellules cultivées en laboratoire. La méthode la plus sensible consiste à utiliser des embryons de poulet de 9 à 11 jours<sup>183</sup>. Les avantages et les inconvénients de ce test sont résumés dans le tableau ci-après.

Avantages	Inconvénients
<ul style="list-style-type: none"><li>- Haute sensibilité</li><li>- Réalisable sur tout type d'échantillon</li></ul>	<ul style="list-style-type: none"><li>- Peu spécifique</li><li>- Cher, long</li><li>- Laboratoire uniquement</li><li>- Nécessite un niveau de biosécurité important</li></ul>

Tableau 15 : Avantages et inconvénients de la méthode d'isolement viral dans le diagnostic de l'influenza A<sup>184, 185, 186, 187</sup>

Le manque de spécificité de ce test vient du fait qu'il peut mettre en évidence d'autres agents infectieux, comme les paramyxovirus aviaires, initialement présent dans l'échantillon testé. D'autres tests sont alors requis pour les exclure du diagnostic.

#### 2) Immunodiffusion sur gel d'agarose

Le test d'immunodiffusion sur gel d'agarose (ou AGID) est une méthode de diagnostic indirect, visant à faire précipiter les anticorps dirigés contre le l'IA après diffusion dans une matrice

constituée de gel d'agarose. Ces avantages et inconvénients sont résumés dans le tableau ci-contre.

Avantages	Inconvénients
<ul style="list-style-type: none"> <li>- Bonne spécificité</li> <li>- Peu cher</li> <li>- Temps de lecture court</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Peu sensible</li> <li>- Temps de préparation long</li> </ul>

*Tableau 16 : Avantages et inconvénients de la méthode d'immunodiffusion sur gel d'agarose dans le diagnostic de l'influenza A<sup>184, 188</sup>*

### 3) Test ELISA

Le test ELISA permet un diagnostic direct ou indirect. Le principe de ce test est détaillé dans la partie 2 I.A.2)a). Plusieurs kits sont disponibles sur le marché<sup>196</sup>, la plupart étant destiné à l'usage humain mais donnant de bons résultats chez les volailles<sup>197</sup>.

L'ensemble des avantages des tests ELISA directs et indirects sont résumés dans le tableau ci-après.

ELISA direct		ELISA indirect	
Avantages	Inconvénients	Avantages	Inconvénients
<ul style="list-style-type: none"> <li>- Certains test sont sérotype-spécifiques</li> <li>- Rapide, simple</li> <li>- Peu cher</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Faible sensibilité</li> <li>- Pas réalisable sur tout type d'échantillon</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Plus sensible que le test AGID</li> <li>- Rapide, simple</li> <li>- Peu cher</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Faible spécifié</li> <li>- Pas toutes les espèces</li> <li>- Pas réalisable sur tout type d'échantillon</li> </ul>

*Tableau 17 : Avantages et inconvénients de la méthode ELISA direct et indirect dans le diagnostic de l'influenza A<sup>189, 190, 191, 192, 193, 194, 195, 198</sup>*

#### 4) PCR

Les méthodes de diagnostic moléculaire, relativement récentes, sont devenues des outils essentiels au diagnostic et à la surveillance des maladies virales, en particulier de l'IA. Les méthodes de PCR conventionnelles et de rtPCR sont détaillées dans la partie 2 I.A.2)a)b). La plupart des tests ciblent le gène codant pour la protéine M qui est le gène le moins variable d'un sérotype à l'autre<sup>200</sup>. Les avantages et les inconvénients de cette méthode sont résumés dans le tableau ci-après.

Avantages	Inconvénients
<ul style="list-style-type: none"><li>- Haute sensibilité</li><li>- Haute spécificité</li><li>- Sérotype-spécifique</li><li>- Cout modéré</li><li>- Relativement rapide</li><li>- Réalisable sur tout type d'échantillon</li></ul>	<ul style="list-style-type: none"><li>- Laboratoire uniquement</li><li>- Risque de réaction croisée</li></ul>

*Tableau 18 : Avantages et inconvénients des méthodes de PCR conventionnelle et rtPCR dans le diagnostic de l'influenza A<sup>199, 200, 201, 202, 203, 204</sup>*

#### 5) Inhibition de l'hémagglutination

Le test d'inhibition de l'hémagglutination (HI) est basé sur le fait que l'hémagglutinine (HA) du virus provoque l'agglutination des érythrocytes. La fixation spécifique de l'anticorps aux sites antigéniques de l'HA entrave la liaison entre cette molécule et les récepteurs de l'érythrocyte, inhibant ainsi l'hémagglutination<sup>205</sup>.

Ce test est en général utilisé pour identifier un sérotype H (ou un anticorps spécifique à ce sérotype), H5 ou H7 notamment, à partir de plasma, de sérum ou de jaune d'œuf<sup>183</sup>. Les avantages et les inconvénients de ce test sont résumés dans le tableau ci-après.

Avantages	Inconvénients
- Bonne spécificité	- Peu sensible
- Rapide et simple	- Pas réalisable sur tout type d'échantillon
- Sérotype-spécifique	- Relativement cher

*Tableau 19 : Avantages et inconvénients de la méthode d'inhibition de l'hémagglutination dans le diagnostic de l'influenza A<sup>206, 207, 208</sup>*

## B. Supports diagnostiques à disposition

Les VIA sont la plupart du temps détectés à partir d'écouvillons trachéaux, cloacaux ou oropharyngés d'oiseaux morts ou vivants. La raison à cela est que la plupart des virus IA, que ce soit les souches HP ou FP, se multiplient de manière importante au sein de l'appareil respiratoire et du tractus digestif. C'est pourquoi tout tissu ou excréta provenant de ces deux tractus sont pertinents pour détecter ou isoler le virus<sup>184</sup>.

Les écouvillons sont placés dans des milieux de transport stériles riches en antibiotiques ou dans un milieu froid pour permettre de réduire au maximum la croissance bactérienne<sup>211</sup>.

Néanmoins, dans le cas d'une infection systémique entraînée par un virus IAHP, tous les organes, y compris les plumes et le sang peuvent être pertinents du fait de la très haute virémie dans tout l'organisme.

De ce fait, le choix du type de prélèvement est déterminant dans le cas d'une infection par un virus IAHP. Par exemple, un écouvillon cloacal est plus adapté chez les oiseaux d'eau car la réplication virale a lieu principalement dans le tractus intestinal<sup>212</sup> contrairement au poulet où un écouvillon trachéal est plus adapté<sup>213</sup>. En revanche, dans le cas d'une infection par un virus IAHP, le choix du type d'échantillon est plus vaste.

### III. La plume : outil diagnostique de l'influenza aviaire

Selon Swayne *et al.* (2017)<sup>177</sup>, les formes hautement pathogènes du virus influenza A peuvent être détectées dans l'épiderme des oiseaux, incluant les plumes et le follicule plumeux, ce qui contribue, d'une part, à la persistance et à la survie du virus dans l'organisme et d'autre part, à la transmission du virus.

Dès lors que les IAHP persistent dans ces organes, cela sous-entend qu'ils peuvent être mis en évidence au moyen de diagnostic de laboratoire sur les plumes des animaux infectés.

Nous aborderons dans cette partie les différentes études s'intéressant à la plume comme outil diagnostique des infections par les virus IA dans le monde.

#### A. Persistance des virus influenza dans les plumes

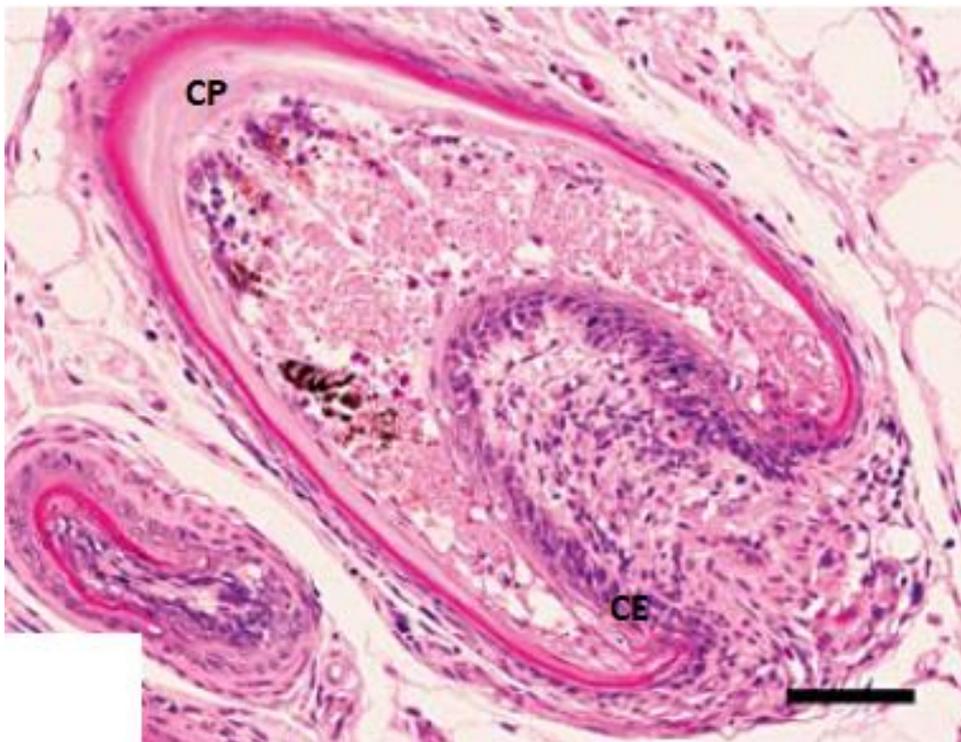
Depuis les deux dernières décennies, les virus IAHP ont soulevé de nombreux problèmes d'un point de vue santé publique mais aussi d'un point de vue économique. De ce fait, une détection précoce est fondamentale dans la prévention, le contrôle et la surveillance des épidémies.

##### 1) H5N1

Depuis les épidémies en Asie causées par le virus IA H5N1 en 1997, de nombreuses études se sont intéressées au diagnostic précoce du virus influenza. Certaines d'entre elles se sont intéressées à la pertinence de l'utilisation des plumes comme méthode d'échantillonnage.

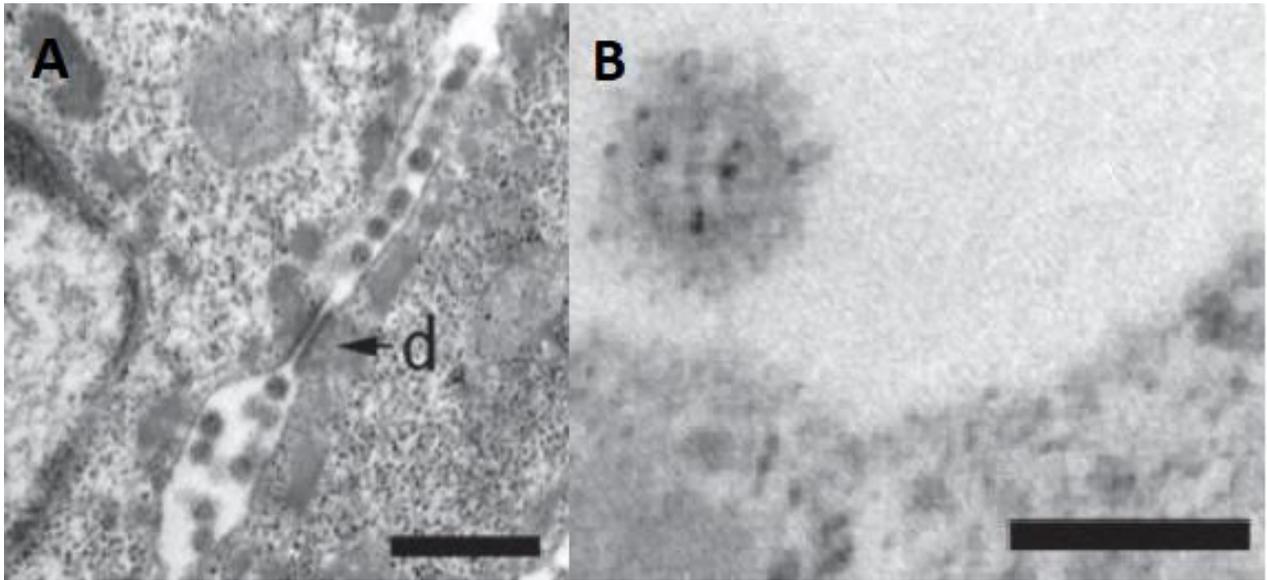
Perkin et Swan (2001)<sup>214</sup>, en étudiant la pathobiologie du virus A/Chicken/Hong Kong/220/97, observent après inoculation intranasale du virus des modifications du tégument, avec notamment une inflammation hétérophilique de la pulpe et une dégénérescence voire une nécrose du follicule plumeux. Ces travaux montrent également par immunohistochimie la présence de nucléoprotéines du virus A/Chicken/Hong Kong/220/97 au sein du follicule plumeux, principalement dans la couche basale et la couche intermédiaire de l'épithélium.

Yamamoto *et al.* (2007)<sup>215</sup>, en travaillant sur la souche japonaise A/chicken/Yamaguchi/7/2004 chez le canard, observent après inoculation intranasale des lésions en accord avec celles évoquées précédemment. Sur de nombreuses plumes, et tout particulièrement les plumes immatures en croissance, on observe une nécrose focale à diffuse de l'épithélium associée à une infiltration hétérophile dès 3 à 7 jours post-inoculation. Ces lésions s'étendent, pour la plupart, du collier épidermique jusqu'à la capsule pulpeuse, voire même parfois jusqu'au rachis.



*Fig. 40 : Foyers de nécrose diffus au sein de l'épithélium du follicule plumeux. Les lésions s'étendent du collier épidermique (CE) à la capsule pulpeuse (CP). Echelle = 110  $\mu$ m (D'après Yamamoto *et al.* 2007)*

Un an plus tard, Yamamoto *et al.* (2008)<sup>216</sup> mettent en évidence deux souches différentes, A/chicken/Yamaguchi/7/2004 et A/chicken/Miya/K11/07 chez l'oie et le canard, respectivement. L'analyse histopathologie indique une nécrose de l'épiderme des plumes associée à une inflammation dans la pulpe. Cette étude montre également par microscopie électronique la présence de virions entre les cellules de l'épiderme de la plume.



*Fig. 41 : Visualisation des virions de l'influenza (H5N1) A/chicken/Yamaguchi/7/2004 au microscope électronique à transmission entre les cellules épithéliales de la plume de canard.*

*A : On observe des corps sphériques entre les cellules épithéliales, de part et d'autres de la jonction transmembranaire, le desmosome (d). Echelle : 500 nm. B : Visualisation d'un virion à plus fort grossissement, reconnaissable par son enveloppe à pointes. Echelle : 100 nm.*

## 2) H7N1

En 1999, une épidémie causée par un VIAFP appartenant au sous-type H7N1 a été déclarée au nord de l'Italie chez le poulet. Etant donné les méthodes d'élevage et l'absence de mesures législatives pour éradiquer l'infection à cette époque, le virus a circulé pendant plusieurs mois jusqu'à ce qu'une nouvelle souche d'IAHP émerge, responsable d'une très haute mortalité et à l'origine de conséquences désastreuses pour l'industrie aviaire.

Les travaux précédemment réalisés sur le virus H5N1 ont permis à Bertran *et al.* (2011)<sup>217</sup> de mettre en évidence avec des méthodes similaires la réplication du virus IAHP (H7N1) A/Chicken/Italy/ 5093/1999 dans la plume chez des perdrix.

Dans cette étude, deux souches sont étudiées, l'une hautement pathogène (H7N1) et l'autre faiblement pathogène (H7N9, A/Anas crecca/Spain/1460/2008). Pour l'IAHP (H7N1), les organes les plus sévèrement affectés après inoculation intranasale sont le rein, les glandes surrénales, le système nerveux et le follicule plumeux. Les signes histologiques (nécrose épithéliale et infiltration hétérophilique) ainsi que la mise en évidence de la réplication virale par immunohistochimie au sein du follicule plumeux sont observable à 6 jours post-inoculation. Pour l'IALP (H7N9), aucun signe d'infection virale n'est mis en évidence dans les plumes.

Ceci constitue un autre argument en faveur de la pertinence de la plume comme lieu de réplication virale importante lors d'infection pour un virus IAHP.

### 3) H5N8

En 2014 un nouveau virus IAHP (H5N8) a émergé, issu de la lignée du virus A/Goose/Guangdong/1/1996<sup>218</sup>, détecté pour la première fois début 2014 en Asie du sud-est chez la volaille et les animaux sauvages<sup>219</sup>. A la fin des années 2014, le virus IAHP H5N8 s'est propagé simultanément en Amérique du Nord et en Europe via les oiseaux migrateurs<sup>220</sup>. Les VIAHP H5 de cette lignée, « 2.3.4.4. », ont ainsi pris une importance majeure pour l'industrie avicole.

La seule étude s'intéressant à la persistance des virus 2.3.4.4 H5N8 dans les plumes est celle de Guérin *et al.* (2017)<sup>230</sup>. Leurs travaux montrent par immunohistochimie une réplication importante du virus dans l'épiderme de la plume de canard, en accord avec les résultats obtenus par Nuradji *et al.* (2016)<sup>227</sup>.

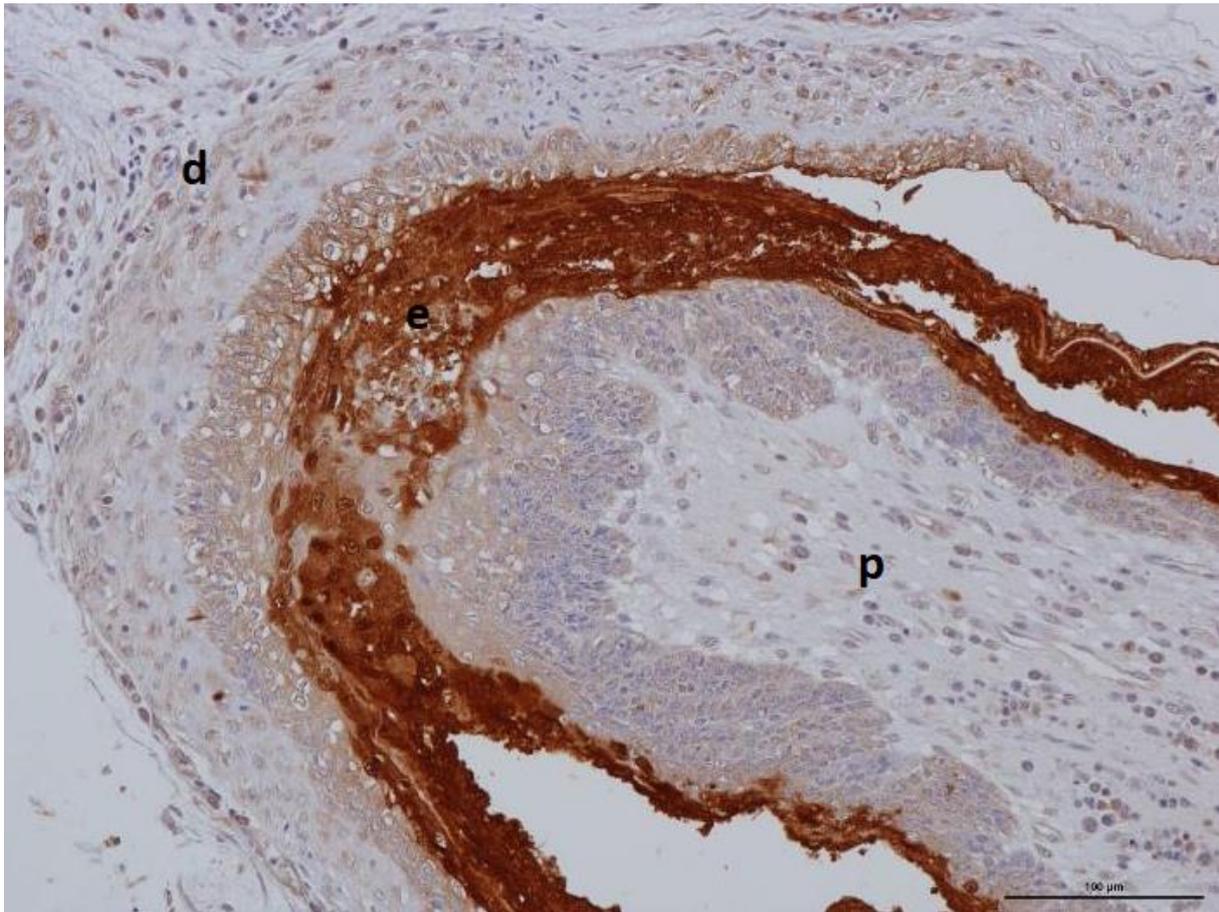
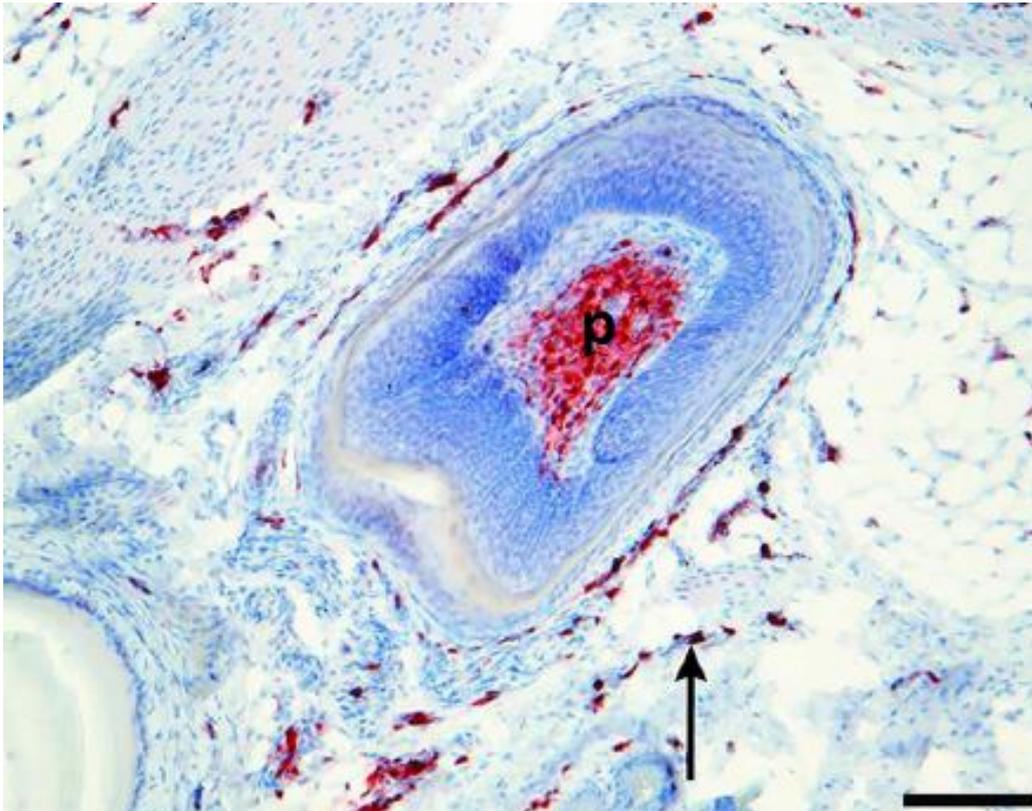


Fig. 42 : Immunohistochimie d'une plume de canard infectée par le virus H5N8 (d : derme, e : épiderme, p : pulpe) (D'après Guérin *et al.* 2017<sup>230</sup>)

#### 4) H5N6

Le virus IAHP H5N6 est un virus descendant également de la lignée A/Goose/Guangdong /1/1996<sup>218</sup>, émergent en mars 2014 au Laos<sup>221</sup>.

Les travaux de Butler *et al.* (2016)<sup>222</sup> s'intéressent à la réplication du virus H5N6 dans les tissus chez des poulets inoculés par voie nasale, orale et oculaire. Leurs observations par immunohistochimie montrent une quantité importante de la nucléoprotéine du virus dans la plume à 24h post-inoculation, en particulier dans la pulpe et les capillaires du derme.



*Fig. 43 : Immunohistochimie pour la nucléoprotéine du virus IAHP H5N6 d'une coupe transversale de plume de poulet. L'antigène viral est observable dans la pulpe (p) et les capillaires du derme (flèche). Echelle : 100  $\mu$ m (D'après Butler et al. 2006<sup>222</sup>)*

Les études vues précédemment sur les virus IAHP H5N1, H7N1, H5N8 et H5N6 se rejoignent en affirmant une répllication virale importante dans la plume, indiquant une possible pertinence de celle-ci dans le diagnostic de l'influenza aviaire et dans la propagation du virus.

### B. Plume et écouvillons : quelle pertinence ?

La mise en évidence de la répllication virale au sein de la plume fait de cet échantillon un bon candidat aux tests diagnostiques vus précédemment (cf II. 1)) au même titre que les écouvillons cloacaux, trachéaux et oro-pharyngés.

Nous présenterons dans cette partie les travaux s'intéressant à la pertinence de la plume comme outil diagnostique des virus IAHP en comparant la plume aux autres supports diagnostiques déjà utilisés.

## 1) H5N1

Comme énoncé dans la partie précédente, on trouve plusieurs études d'intéressant au diagnostic précoce du virus influenza, en particulier à la pertinence des plumes comme outil diagnostic du virus IAHP H5N1.

Slomka *et al.* (2012)<sup>223</sup> comparent la sensibilité du diagnostic moléculaire de différentes souches du virus IAHP chez le poulet et le canard au Vietnam en utilisant les écouvillons cloacaux et trachéaux et la pulpe de plume à travers trois techniques de rtPCR distinctes, deux ciblant le gène de la protéine M<sup>224</sup> (« wet » et « bead ») et une ciblant le gène de la protéine HA2. Les valeurs de sensibilité ont été calculées selon le modèle bayésien sans gold-standard.

Poultry group	Combination of specimens tested	Sensitivity of RRT-PCR		
		“Wet” M gene	“Bead” M gene	H5 HA2
Chickens	T and C	0.54 (0.36, 0.7)	0.83 (0.67, 0.94)	0.86 (0.71, 0.96)
	T, C and F	0.90 (0.77, 0.98)	0.97 (0.88, 1.0)	0.97 (0.88,1.0)
	F only	0.90 (0.76, 0.97)	0.93 (0.82, 0.99)	0.97 (0.86,1.0)
Ducks	T and C	0.58 (0.36, 0.79)	0.91 (0.72, 0.99)	0.91 (0.73, 0.99)
	T, C and F	0.91 (0.74, 0.99)	0.96 (0.81, 1.0)	0.96 (0.81,1.0)
	F only	0.91 (0.74, 0.99)	0.96 (0.81,1.0)	0.96 (0.81,1.0)

Tableau 20 : Estimation de la sensibilité de trois techniques de rtPCR en utilisant des écouvillons trachéaux (T), cloacaux (C) et de la pulpe de plume (F) (D'après Slomka *et al.* 2012)<sup>223</sup>

Cette étude montre que l'inclusion de la plume dans l'échantillonnage entraîne une hausse de la sensibilité, quelle que soit la technique de PCR utilisée (>90%). D'autre part, il ne semble pas y avoir de différence majeure entre les résultats obtenus avec les 3 échantillons ensemble et les plumes uniquement. En revanche, la sensibilité est significativement plus élevée en testant les plumes uniquement qu'en testant les écouvillons ensemble.

L'étude d'Aiello *et al.* (2013)<sup>226</sup> va plus loin dans l'échantillonnage en comparant les plumes aux écouvillons selon leur lieu anatomique de prélèvement et selon l'âge du sujet prélevé. Cette étude compare également deux techniques de diagnostic distinctes, la rtPCR ciblant le gène de la protéine M vue précédemment et un test ELISA indirect<sup>225</sup> après inoculation de la souche A/duck/Nigeria/1071-23/2007 chez le canard.

	Day p.i.	RRT-PCR	RRT-PCR	RRT-PCR			DAS-ELISA		
		TS	CS	FC wing	FC breast	FC tail	FC wing	FC breast	FC tail
Juvenile ducks	3	16/16	7/16	14/16	15/16	16/16	12/16	13/16	13/16
	5	9/11	2/11	10/11	10/11	9/11	4/11	5/11	6/11
	7	2/8	2/8	8/8	6/8	7/8	0/8	0/8	0/8
	10	0/8	0/8	3/8	5/8	7/8	0/8	0/8	0/8
Adult ducks	3	11/16	4/16	6/16	5/16	5/16	2/16	2/16	1/16
	5	4/13	2/13	5/13	3/13	5/13	3/13	0/13	1/13
	7	1/9	0/9	3/9	2/9	3/9	1/9	0/9	0/9
	10	0/9	1/9	2/9	2/9	2/9	1/9	0/9	0/9

Tableau 21 : Comparaison du diagnostic par rtPCR et test ELISA indirect du virus influenza A/duck/Nigeria/1071-23/2007 en utilisant des écouvillons trachéaux (TS), cloacaux (CS) et de la pulpe de plume (FC) provenant des ailes, du poitrail et de la queue. (D'après Aiello et al. 2013)<sup>226</sup>

De manière générale, les résultats positifs sont significativement plus importants chez le jeune, quel que soit le test et l'échantillon utilisé. Les résultats de la rtPCR et du test ELISA sont comparables les premiers jours post-inoculation. Il est également mis en évidence une différence de résultat significative entre les plumes et les écouvillons, avec une persistance du virus dans les plumes à 7, voire 10 jours post-inoculation chez le jeune mais pas chez l'adulte.

D'autre part, l'analyse statistique ne montre pas de différence significative entre les trois différents lieux de prélèvement chez le jeune. En revanche, chez le canard adulte, le nombre de sujet pour lesquels le virus a été détecté est significativement plus haut pour les plumes prélevées à l'aile.

Enfin, Nuradji *et al.* (2015)<sup>228</sup> obtiennent des résultats similaires par isolement viral en travaillant sur des poulets et des canards préalablement inoculé avec une souche vietnamienne ou indonésienne. Il en résulte que, chez les deux espèces, les plumes (à

l'exception des plumes matures) ont un titre viral significativement plus important que les écouvillons. Cela est d'autant plus vrai chez le canard, où les écouvillons cloacaux donnent des résultats très médiocres.

Cette étude rejoint les précédentes pour montrer la pertinence de l'utilisation des plumes comme outil diagnostique du virus IAHP H5N1, que ce soit avec un test précoce, un test de diagnostic moléculaire ou par isolement viral. Aiello *et al.* (2013)<sup>226</sup> insistent particulièrement sur la praticité de l'échantillonnage de la plume, qui semble être moins affectée par la dégradation bactérienne contrairement aux échantillons provenant du tractus respiratoire ou digestif. Nuradji *et al.* (2015)<sup>228</sup> parlent également de l'intérêt de pouvoir répéter au maximum l'échantillonnage à l'échelle intra et inter individuelle, particulièrement chez le canard, où la proportion d'échantillons positifs est moindre.

## 2) H7N1

Les seuls travaux s'intéressant à la pertinence de la plume comme outil diagnostique du virus IAHP H7N1 sont ceux de Busquets *et al.* (2010)<sup>229</sup>.

Cette étude s'intéresse à la cinétique post-inoculation de la souche A/Chicken/Italy/5093/99 dans le sang, le cloaque, la trachée et la pulpe de plume chez le poulet par rtPCR.

Quel que soit le type d'échantillon, la souche est détectée au premier jour post-inoculation. La charge virale dans les écouvillons oropharyngés semble être la plus haute les 24 premières heures. Cependant, à partir de 2 jours jusqu'à 9 jours post-inoculation, la charge virale est significativement plus haute dans les plumes, et ce, quel que soit la température.

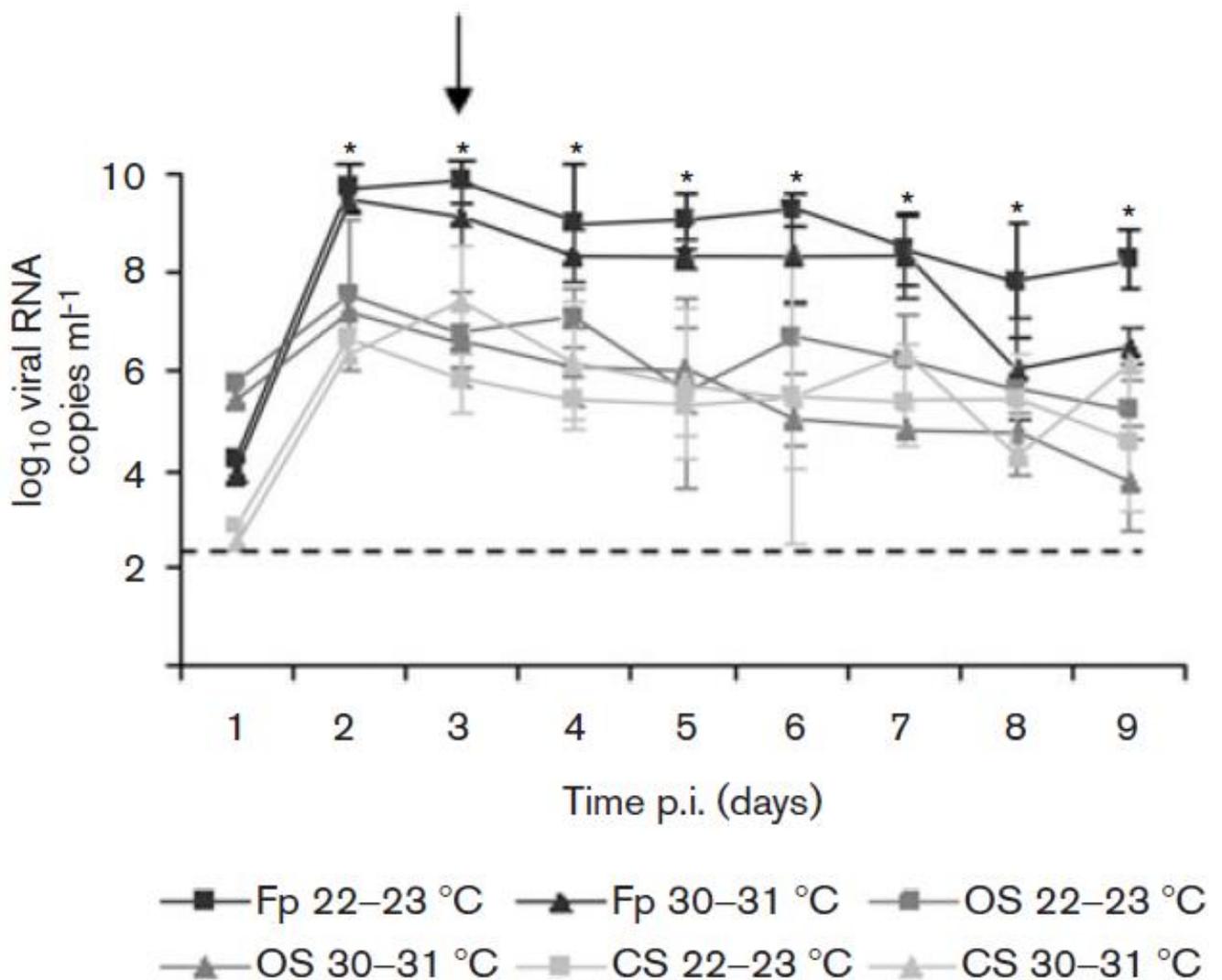


Fig. 44 : Expression de la charge virale dans la pulpe de plume (Fp), les écouvillon cloacaux (CS) et oropharyngés (OS) en fonction du temps à deux intervalles de températures (22-23°C et 30-31°C) en fonction du temps post-inoculation (pi). La flèche indique le jour du décès. (D'après Busquets et al. 2010<sup>229</sup>)

Dans cette étude, la pulpe de plume présente une charge virale significativement plus élevée, que ce soit en période ante-mortem ou post-mortem, avec un pic à 3 jours post-inoculation. De ce fait, ces travaux présentent la plume comme une alternative aux écouvillons oropharyngés pour un diagnostic ante-mortem, et comme un échantillon plus performant pour un diagnostic post-mortem.

### 3) H5N8

L'étude de Guérin *et al.* (2017)<sup>230</sup> s'intéresse à la pertinence d'un test diagnostique par rtPCR sur plume, écouvillon trachéal et cloacal sur le terrain chez des oiseaux d'eaux (canard et oies) provenant de différents élevages.

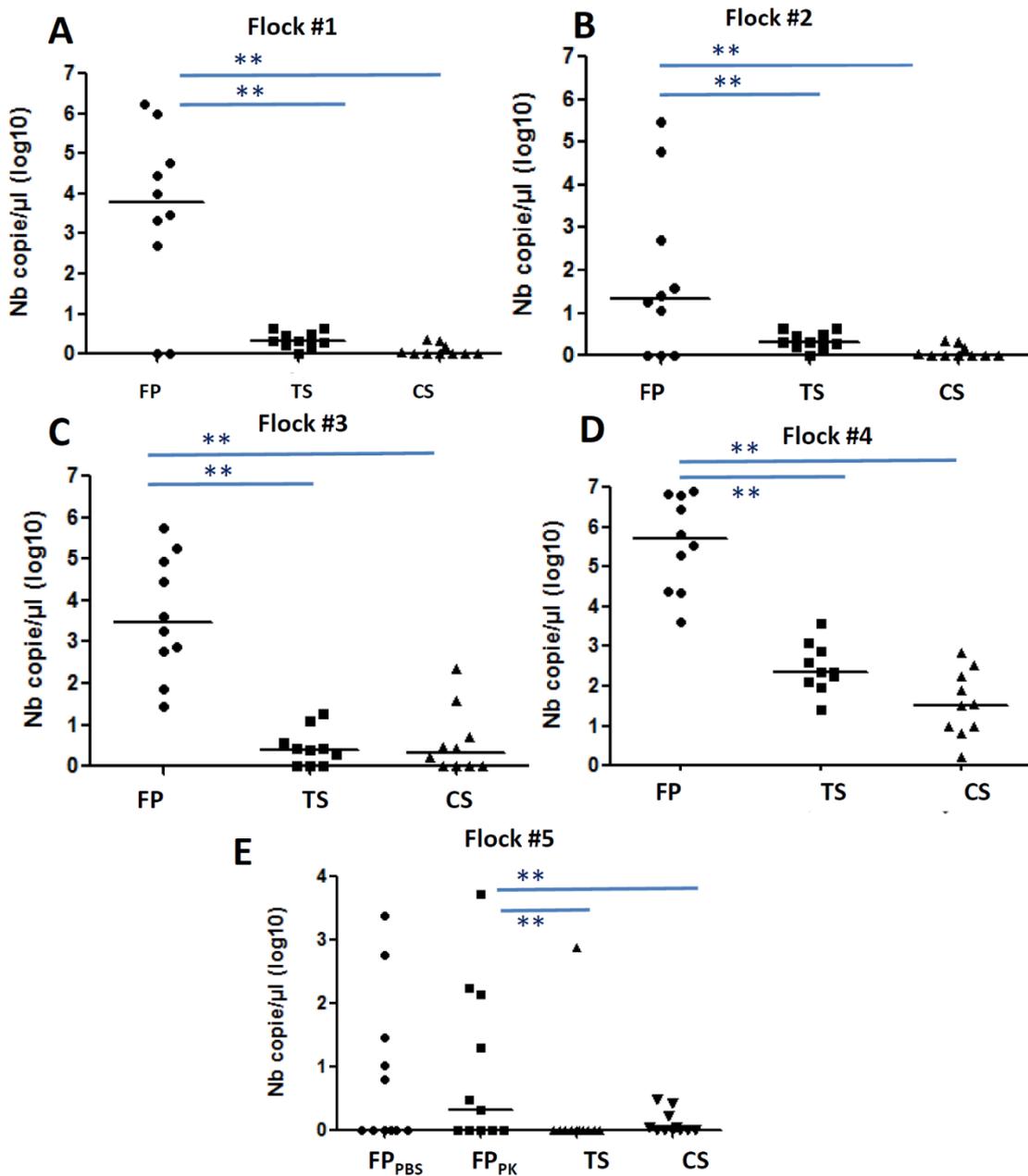


Fig. 45 : Détection du virus IAHP H5N8 par rtPCR sur pulpe de plume (FP), écouvillon cloacal (CS) et écouvillon trachéal (TS) dans différents élevages. A : 1 jour après apparition des signes cliniques. B et D : <5 jours après apparition des signes cliniques. C : <3 jours après apparition des signes cliniques. E : <10 jours après apparition des signes cliniques.

La charge virale présente dans la pulpe de plume semble être plus élevée que celle présente dans les écouvillons cloacaux et trachéaux peu après l'apparition des signes cliniques rendant le diagnostic plus précis jusqu'à 5 jours après l'apparition des signes cliniques.

Ces travaux comparent également la sensibilité d'un tel test sur pulpe de plume, écouvillon trachéal et cloacal en étudiant différents seuils de positivités à l'aide du modèle bayésien.

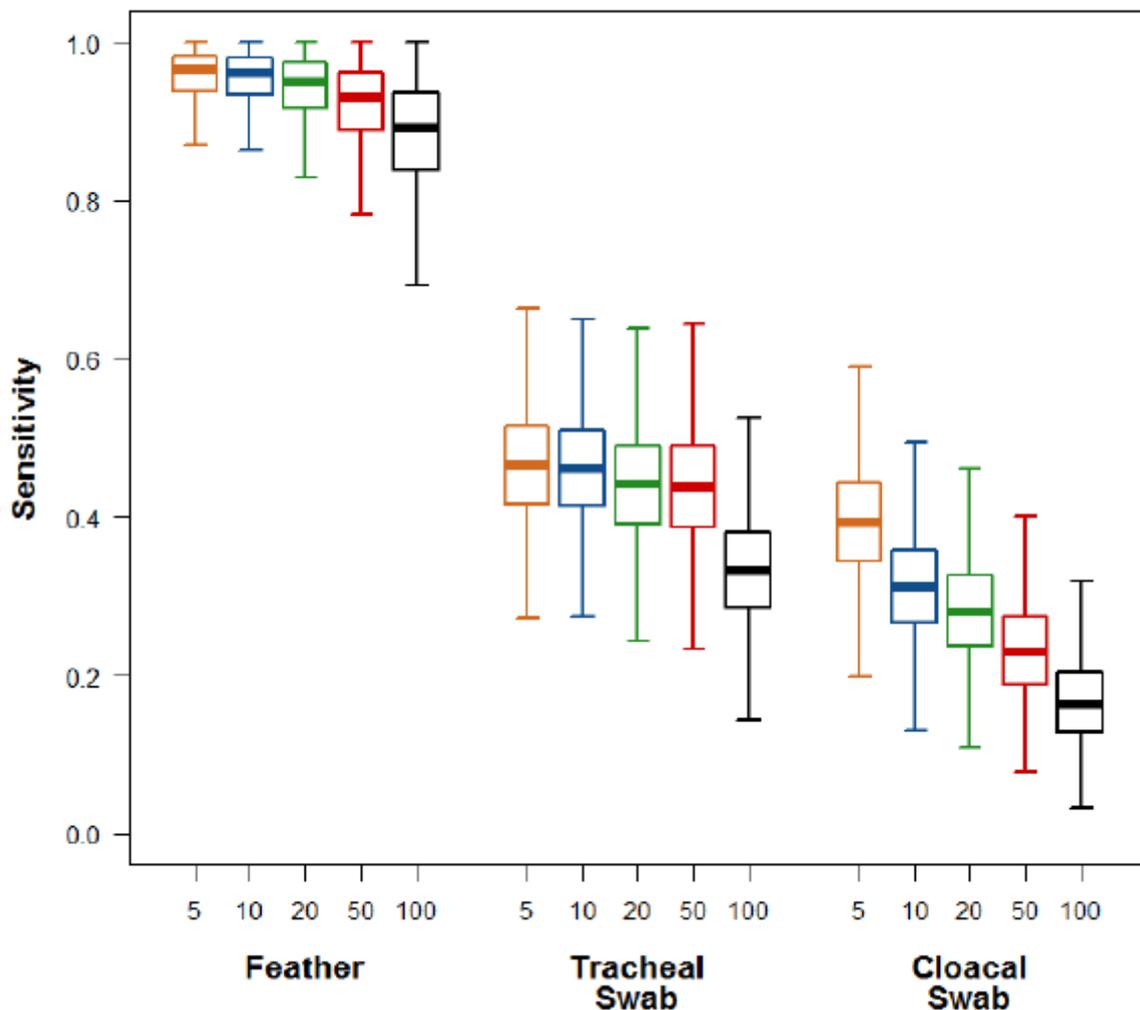


Fig. 46 : Estimation de la sensibilité d'une méthode de rtPCR ciblant les gènes M et H5 de trois types d'échantillons (plumes, écouvillon trachéal, écouvillon cloacal) pour 5 seuils de positivité différents (5, 10, 20, 50 et 100 copies d'ARN/μl) (D'après Guérin et al. 2017<sup>230</sup>)

Quel que soit le seuil de positivité, la sensibilité de ce test en utilisant de la pulpe de plume est significativement plus haute (>0.79). D'autre part, cette étude va plus loin en comparant deux techniques d'échantillonnage différentes : l'une faite à partir d'une seule plume et

l'autre à partir de l'association d'un écouvillon cloacal et d'un écouvillon trachéal. Il en résulte que la sensibilité obtenue pour la pulpe de plume est au moins équivalente.

### C. La plume : un rôle dans la transmission du virus IAHP ?

Les ansériformes (dont le canard et l'oie) sont connus comme étant le principal réservoir du virus influenza A<sup>231, 232, 233</sup>. L'importante charge virale contenue dans les fèces entraîne un grand potentiel de transmission par voie fécale-orale<sup>231, 232, 237</sup>. Dès lors que la réplication virale dans les plumes est mise en évidence chez ses oiseaux-là, cela sous-entend la possibilité que la plume soit un vecteur de la transmission des virus IAHP. Le rôle des plumes dans la transmission virale horizontale a déjà été mis en évidence, notamment pour la maladie de Marek<sup>234, 235, 236</sup>. La plupart des travaux réalisés sur la plume comme outil diagnostic des virus IAHP évoquent la possibilité de la contribution de ce support dans la transmission du virus. Néanmoins, on trouve peu de travaux dans la littérature s'intéressant au mécanisme de transmission en lui-même.

Yamamoto *et al.* (2007) réalisent chez des sujets sains des inoculations par voie orale d'extraits de plume de canards préalablement inoculés par intraveineuse avec la souche Ck/Yama/7/04 (H5N1). Il en résulte que sur 9 sujets préalablement sains, 7 étaient H5N1 positifs, sous-entendant un possible potentiel d'infection de cette souche à travers les plumes.

Les travaux de Delogu *et al.* (2010) suggèrent que le comportement de toilettage, de par la dissémination des plumes et les sécrétions de la glande uropygienne contribuerait à la dissémination du virus IAHP H5N1 entre différents groupes taxonomiques d'oiseaux aquatiques.

L'étude de Bertran *et al.* (2013), s'appuyant sur le principe que la charge virale reste positive dans les plumes pendant une courte période post-mortem, soutient l'hypothèse que les plumes peuvent être une potentielle source de contamination, et tout particulièrement celles provenant de carcasses fraîches, plus sujettes au picorage de leurs plumes par leurs congénères.



## Conclusion

Un diagnostic précis et précoce d'une infection virale, en particulier par un virus IAHP est essentiel pour la prise de mesures de contrôle rapides et appropriées. Un éventail large de tests diagnostiques est disponible et chaque test a ses caractéristiques propres, ses avantages et ses inconvénients. Néanmoins, l'une des composantes clés d'une méthode diagnostique pertinente est un prélèvement adapté. Nous avons dans un premier temps mis en évidence la praticité des plumes dans la méthode d'échantillonnage puis, à travers l'exemple de certaines souches de VIAHP, nous avons pu voir qu'en terme de résultat, la pulpe de plume est un échantillon aussi pertinent que ceux régulièrement utilisés et sont alors vues comme des alternatives aux écouvillons, voire même plus pertinents dans certains cas. Ces résultats soulèvent une autre problématique liée au rôle potentiel des plumes comme vecteur de transmission des maladies virales.



# Bibliographie

- [1] PASS, David A. Normal anatomy of the avian skin and feathers. *Journal of Exotic Pet Medicine*, 1995, vol. 4, no 4, p. 152-160.
- [2] LUCAS, Alfred M. STETTENHEIM, Peter R. *Avian anatomy integument*. 1972.
- [3] LEESON, S. et WALSH, T. Feathering in commercial poultry I. Feather growth and composition. *World's Poultry Science Journal*, 2004, vol. 60, no 1, p. 42-51.
- [4] Lucas AM, Stettenheim PR: *Avian Anatomy, Integument*. Agriculture Handbook 362. Department of Agriculture, Washington, DC, GPO, 1972, pp 235-276
- [5] PASS, D. A. The pathology of the avian integument: a review. *Avian Pathology*, 1989, vol. 18, no 1, p. 1-72.
- [6] LEI, Mingxing, INABA, Masafumi, et CHUONG, Cheng-Ming. Vertebrate embryo: Development of the skin and its appendages. *eLS*, 2001, p. 1-10.
- [7] LILLIE, Frank R. Physiology of Development of the Feather. III Growth of the Mesodermal Constituents and Blood Circulation in the Pulp. *Physiological Zoology*, 1940, vol. 13, no 2, p. 143-176.
- [8] SCHMIDT, Robert E., REAVILL, Drury R., et PHALEN, David N. *Pathology of pet and aviary birds*. John Wiley & Sons, 2015.
- [9] MATTERN, Inge. Zur Histologie und Histochemie der lipochromatischen Federn einiger Cotingiden (Schmuckvögel). *Zeitschrift für Zellforschung und Mikroskopische Anatomie*, 1956, vol. 45, no 1, p. 96-136.
- [10] STRONG, Reuben Myron. The development of color in the definitive feather. *Science*, 1902, vol. 15, no 379, p. 527-527.
- [11] MÜLLER, Werner et PATONE, Giannino. Air transmissivity of feathers. *Journal of Experimental Biology*, 1998, vol. 201, no 18, p. 2591-2599.
- [12] NITZSCH, C. L. Nitzsch's pterylography, translated from the German, edited by PL Sclater (Ray Society, Robt. Hardwicke, London). NitzschNitzsch's pterylography, translated from the German 1867, 1867.
- [13] NEWTON, A., and Gadow, H. 1893-96. *A Dictionary of Birds*. 1088 pp. Adam dc Charles Black, London.
- [14] PYCRAFT, William Plane. VI. A Contribution towards our Knowledge of the Morphology of the Owls. *Transactions of the Linnean Society of London*. 2nd Series: Zoology, 1898, vol. 7, no 6, p. 223-275.
- [15] FOTH, Christian. The morphology of neoptile feathers: ancestral state reconstruction and its phylogenetic implications. *Journal of morphology*, 2011, vol. 272, no 4, p. 387-403.
- [16] JONES, L. The development of nestling feathers. *Oberlin Coll. Lab. Bull*, 1907, No. 13.
- [17] STETTENHEIM, Peter. The integument of birds. *Avian biology*, 1972, vol. 2, p. 1-63.
- [18] NEWTON, A. et GADOW, H. 1893–1896. *A dictionary of birds*. London: Black, p. 836-858.
- [19] BORODULINA, T. L. On morphology of filoplumes. Flight mechanisms and orientation of birds. Nau-ka, Moscow, 1966, p. 113-145.
- [20] HUMPHREY, Philip S. et CLARK, George A. Pterylosis of the mallard duck. *The Condor*, 1961, vol. 63, no 5, p. 365-385.
- [21] MORLION, M. Pterylography of the wing of the Ploceidae. *Gerfaut* 54, 1964, 111-158.
- [22] STRESEMANN, Erwin. Variations in the number of primaries. *The Condor*, 1963, vol. 65, no 6, p. 449-459.

- [23] Stephan, B. Die Zahl der Armschwüngen bei den Passeriformes. *J. Ornithol.*, 1905, 106,446-458.
- [24] SENDEL, Philippe. Recherches expérimentales sur la différenciation des germes plumaires et du pigment de la peau de l'embryon de poulet en culture in vitro. Masson, 1958.
- [25] RAWLES, Mary E. Tissue interactions in scale and feather development as studied in dermal-epidermal recombinations. *Development*, 1963, vol. 11, no 4, p. 765-789.
- [26] WESSELLS, Norman K. Morphology and proliferation during early feather development. *Developmental biology*, 1965, vol. 12, no 1, p. 131-153.
- [27] KALLMAN, Frances, EVANS, Jean, et WESSELLS, Norman K. Anchor filament bundles in embryonic feather germs and skin. *The Journal of cell biology*, 1967, vol. 32, no 1, p. 236.
- [28] KISCHER, C. W. et KEETER, J. S. Anchor filament bundles in embryonic skin: Origin and termination. *American Journal of Anatomy*, 1971, vol. 130, no 2, p. 179-193.
- [29] SENDEL, Ph et KIENY, M. Production d'une ptéryle supplémentaire chez l'embryon de Poulet: II. Analyse expérimentale. *Developmental Biology*, 1967, vol. 16, no 6, p. 532-563.
- [30] KISCHER, C. Ward. Fine structure of the down feather during its early development. *Journal of morphology*, 1968, vol. 125, no 2, p. 185-203.
- [31] CLENCH, Mary Heimerdinger. Variability in body pterylosis, with special reference to the genus *Passer*. *The Auk*, 1970, vol. 87, no 4, p. 650-691.
- [32] ROMANOFF, Alexis Lawrence, et al. The avian embryo: structural and functional development. The avian embryo: structural and functional development. 1960.
- [33] MADERSON, Paul FA et ALIBARDI, Lorenzo. The development of the sauropsid integument: a contribution to the problem of the origin and evolution of feathers. *American Zoologist*, 2000, vol. 40, no 4, p. 513-529.
- [34] WESSELLS 1965. Morphology and proliferation during early feather development. *Devlpmtl. Biol.* 12: 131-153.
- [35] HAMBURGER, Viktor et HAMILTON, Howard L. A series of normal stages in the development of the chick embryo. *Journal of morphology*, 1951, vol. 88, no 1, p. 49-92.
- [36] KISCHER, C. Fine structure of the developing down feather. *Jour. Ultrastructure Res.*, 1963, 8: 305-321.
- [37] BELL, Eugene et THATHACHARI, Y. T. Development of feather keratin during embryogenesis of the chick. *The Journal of cell biology*, 1963, vol. 16, no 2, p. 215-223.
- [38] Daniel Richard, André Beaumont, Pierre Cassier, *Biologie animale*, Dunod, 2009, p. 131
- [39] LILLIE, Frank R. Physiology of Development of the Feather. III Growth of the Mesodermal Constituents and Blood Circulation in the Pulp. *Physiological Zoology*, 1940, vol. 13, no 2, p. 143-176.
- [40] CHEN, Chih-Feng, FOLEY, John, TANG, Pin-Chi, et al. Development, regeneration, and evolution of feathers. *Annu. Rev. Anim. Biosci.*, 2015, vol. 3, no 1, p. 169-195.
- [41] Lucas AM, Stettenheim PR: Avian Anatomy, Integument. *Agriculture Handbook 362*. Department of Agriculture, Washington, DC, GPO, 1972, pp 235-276
- [42] BELL, E., and THATHACHARI Y. T.. Development of feather keratin during embryogenesis of the chick. *Jour. Cell Biol.* 1963 16: 215-223.

- [43] WU, Ping, HOU, Lianhai, PLIKUS, Maksim, et al. Evo-Devo of amniote integuments and appendages. *The International journal of developmental biology*, 2004, vol. 48, p. 249.
- [44] MALINOVSKÝ, L. Types of sensory corpuscles common to mammals and birds. *Folia morphologica*, 1968, vol. 16, no 1, p. 67-73.
- [45] SKOGLUND, C. R. Properties of Pacinian corpuscles of ulnar and tibial location in cat and fowl. *Acta Physiologica Scandinavica*, 1960, vol. 50, no 3-4, p. 385-386.
- [46] WINKELMANN, R. K. et MYERS III, Thomas T. The histochemistry and morphology of the cutaneous sensory end-organs of the chicken. *Journal of Comparative Neurology*, 1961, vol. 117, no 1, p. 27-35.
- [47] LILLIE, Frank R. et JUHN, Mary. The physiology of development of feathers. I. Growth-rate and pattern in the individual feather. *Physiological Zoology*, 1932, vol. 5, no 1, p. 124-184.
- [48] Hosker, ANNE Studies on the epidermal structures of birds. *Phil. Trans. Roy. Soe., London, B.*, 1926, t26: 143-188.
- [49] GOFF, Richard A. Development of the mesodermal constituents of feather germs of chick embryos. *Journal of morphology*, 1949, vol. 85, no 3, p. 443-481.
- [50] TINDALL, Alex R. *Medical Terms*. Routledge, 2018.
- [51] WANG, Hsi. The morphogenetic functions of the epidermal and dermal components of the papilla in feather regeneration. *Physiological Zoology*, 1943, vol. 16, no 4, p. 325-350.
- [52] COHEN, J. et ESPINASSE, Paul G.'. On the normal and abnormal development of the feather. *Development*, 1961, vol. 9, no 2, p. 223-251.
- [53] HOSKER, Anne. V-Studies of the epidermal structures of birds. *Phil. Trans. R. Soc. Lond. B*, 1936, vol. 226, no 533, p. 143-188.
- [54] LILLIE, Frank R. et JUHN, Mary. Physiology of development of the feather. II. General principles of development with special reference to the after-feather. *Physiological Zoology*, 1938, vol. 11, no 4, p. 434-450.
- [55] Spearman, R.I.C. Integumentary System. In: *Physiology and Biochemisrry of the Domestic Fowl*. Ed. Bell and Freeman, 1971, Publ. Academic Press, London.
- [56] HÖHN, E. O. Endocrine glands, thymus and pineal body. *Biology and comparative physiology of birds*, 1961, vol. 2, p. 87-114.
- [57] STURKIE, Paul D., et al. *Avian physiology*. *Avian physiology.*, 1965, no 2nd ed.
- [58] MAQSOOD, M. Thyroid functions in relation to reproduction of mammals and birds. *Biological Reviews*, 1952, vol. 27, no 3, p. 281-319.
- [59] YATVIN, Milton B. Hypophyseal control of genetic expression during chick feather and skin differentiation. *Science*, 1966, vol. 153, no 3732, p. 184-185.
- [60] SMITH, Kathy Beckingham. The proteins of the embryonic chick epidermis: I. During the normal development in ovo. *Developmental biology*, 1973, vol. 30, no 2, p. 249-262.
- [61] WESSELLS, Norman K. An analysis of chick epidermal differentiation in situ and in vitro in chemically defined media. *Developmental biology*, 1961, vol. 3, no 3, p. 355-389.

- [62] SPEARMAN, R. I. C. The keratinization of epidermal scales, feathers and hairs. *Biological Reviews*, 1966, vol. 41, no 1, p. 59-95.
- [63] MCCASLAND, Wm E. et RICHARDSON, L. R. Methods for determining the nutritive value of feather meals. *Poultry Science*, 1966, vol. 45, no 6, p. 1231-1236.
- [64] HARRAP, BS t et WOODS, E. F. Species differences in the proteins of feathers. *Comparative Biochemistry and Physiology*, 1967, vol. 20, no 2, p. 449-460.
- [65] BOLLIGER, A., and VARGA, D. Feather lipids. *Nature (London)*, 1961, 190, 1125.
- [66] SCHROEDER, W. A., KAY, Lois M., LEWIS, Barry, et al. The amino acid composition of certain morphologically distinct parts of white turkey feathers, and of goose feather barbs and goose down. *Journal of the American Chemical Society*, 1955, vol. 77, no 14, p. 3901-3908.
- [67] HARRAP, BS t et WOODS, E. F. Soluble derivatives of feather keratin. 1. Isolation, fractionation and amino acid composition. *Biochemical journal*, 1964, vol. 92, no 1, p. 8.
- [68] BRADBURY, J. H. The structure and chemistry of keratin fibers. In : *Advances in protein chemistry*. Academic Press, 1973. p. 111-211.
- [69] MORAN JR, E. T., SUMMERS, J. D., et SLINGER, S. J. Keratin as a Source of Protein for the Growing Chick: 1. Amino Acid Imbalance as the Cause for Inferior Performance of Feather Meal and the Implication of Disulfide Bonding in Raw Feathers as the Reason for Poor Digestibility. *Poultry science*, 1966, vol. 45, no 6, p. 1257-1266.
- [70] JOSEPH, Baby, SANKARGANESH, P., EDWIN, Biby T., et al. Sustainable energy resources from chicken. *Asian J. Applied Sci*, 2011, vol. 4, p. 355-361.
- [71] EVANS, Michael R. et KARCHER, Douglas. Properties of plastic, peat, and processed poultry feather fiber growing containers. *HortScience*, 2004, vol. 39, no 5, p. 1008-1011.
- [72] FLINT, S. Jane, ENQUIST, Lynn W., KRUG, R. M., et al. *Principles of virology: molecular biology, pathogenesis and control*. ASM press, 2000.
- [73] DAVIDSON, Irit. Diverse uses of feathers with emphasis on diagnosis of avian viral infections and vaccine virus monitoring. *Revista Brasileira de Ciência Avícola*, 2009, vol. 11, no 3, p. 139-148.
- [74] BAIGENT, Susan J. et DAVISON, Fred. Marek's disease virus: biology and life cycle. *Marek's disease: an evolving problem*, 2004, p. 62-77.
- [75] David E. Swayne, J.R. Glisson, L.R. McDougald, L.K. Nolan, D.L. Suarez, V.L. Nair. *Neoplastic Diseases. In Diseases of Poultry*, D. E. Swayne (Ed.), 2017.
- [76] DAVIDSON, I., MARAY, T., MALKINSON, M., et al. Detection of Marek's disease virus antigens and DNA in feathers from infected chickens. *Journal of virological methods*, 1986, vol. 13, no 3, p. 231-244.
- [77] DAVIDSON, Irit, BOROVSKEYA, Anya, PERL, S., et al. Use of the polymerase chain reaction for the diagnosis of natural infection of chickens and turkeys with Marek's disease virus and reticuloendotheliosis virus. *Avian Pathology*, 1995, vol. 24, no 1, p. 69-94.
- [78] BAIGENT, Susan J., PETHERBRIDGE, Lawrence J., HOWES, Ken, et al. Absolute quantitation of Marek's disease virus genome copy number in chicken feather and lymphocyte samples using real-time PCR. *Journal of virological methods*, 2005, vol. 123, no 1, p. 53-64.
- [79] DAVIDSON, I. et SKODA, I. The impact of feathers use on the detection and study of DNA viral pathogens in commercial poultry. *World's Poultry Science Journal*, 2005, vol. 61, no 3, p. 407-417.

- [80] ABDUL-CAREEM, Mohamed Faizal, HUNTER, Bruce D., NAGY, Éva, et al. Development of a real-time PCR assay using SYBR Green chemistry for monitoring Marek's disease virus genome load in feather tips. *Journal of virological methods*, 2006, vol. 133, no 1, p. 34-40.
- [81] CALNEK, B. W., ADLDINGER, Hans K., et KAHN, Donald E. Feather follicle epithelium: a source of enveloped and infectious cell-free herpesvirus from Marek's disease. *Avian diseases*, 1970, p. 219-233.
- [82] SCHAT, K. A. Chicken anemia virus. In : *TT Viruses*. Springer, Berlin, Heidelberg, 2009. p. 151-183.
- [83] David E. Swayne, J.R. Glisson, L.R. McDougald, L.K. Nolan, D.L. Suarez, V.L. Nair *Chicken Infectious Anemia Virus and Other Circovirus Infections*. In *Diseases of Poultry*, D. E. Swayne (Ed.), 2017.
- [84] DAVIDSON, I., ARTZI, N., SHKODA, I., et al. The contribution of feathers in the spread of chicken anemia virus. *Virus research*, 2008, vol. 132, no 1-2, p. 152-159.
- [85] DAVIDSON, I., KEDEM, M., BOROCHOVITZ, H., et al. Chicken infectious anemia virus infection in Israeli commercial flocks: virus amplification, clinical signs, performance, and antibody status. *Avian diseases*, 2004, vol. 48, no 1, p. 108-118.
- [86] HESS, Michael, SCOPE, Alexandra, et HEINCZ, Ulrike. Comparative sensitivity of polymerase chain reaction diagnosis of psittacine beak and feather disease on feather samples, cloacal swabs and blood from budgerigars (*Melopsittacus undulatus*, Shaw 18005). *Avian Pathology*, 2004, vol. 33, no 5, p. 477-481.
- [87] DONELEY, R. J. T. Acute Beak and Feather Disease in juvenile African Grey parrots-an uncommon presentation of a common disease. *Australian veterinary journal*, 2003, vol. 81, no 4, p. 206-207.
- [88] DAVIDSON, Irit. Diverse uses of feathers with emphasis on diagnosis of avian viral infections and vaccine virus monitoring. *Revista Brasileira de Ciência Avícola*, 2009, vol. 11, no 3, p. 139-148.
- [89] DAVISON, BERND K, KAREL A. Schat Tumours Of The Avian Immune System, *Avian Immunology*, Academic Press, 2008359-372
- [90] SPENCER, J. L., GILKA, F., et GAVORA, J. S. Detection of lymphoid leukosis virus infected chickens by testing for group-specific antigen or virus in feather pulp. *Avian Pathology*, 1983, vol. 12, no 1, p. 85-99.
- [91] SPENCER, J. L., GAVORA, J. S., et GILKA, F. Feather pulp organ cultures for assessing host resistance to infection with avian leukosis-sarcoma viruses. *Avian Pathology*, 1987, vol. 16, no 3, p. 425-438.
- [92] KOREC, E., HLOZANEK, I., et BENDA, V. A rapid detection of avian oncovirus group-specific antigens in feather pulp by the enzyme-linked immunosorbent assay. *Folia biologica*, 1984, vol. 30, no 1, p. 15-23.
- [93] DAVIDSON, Irit et BORENSHTAIN, Rinat. The feather tips of commercial chickens are a favorable source of DNA for the amplification of Marek's disease virus and avian leukosis virus, subgroup J. *Avian Pathology*, 2002, vol. 31, no 3, p. 237-240.
- [94] SUNG, H. W., REDDY, S. M., et FADLY, A. M. High virus titer in feather pulp of chickens infected with subgroup J avian leukosis virus. *Avian diseases*, 2002, vol. 46, no 2, p. 281-286.
- [95] ZAVALA, Guillermo, JACKWOOD, Mark W., et HILT, Deborah A. Polymerase chain reaction for detection of avian leukosis virus subgroup J in feather pulp. *Avian diseases*, 2002, vol. 46, no 4, p. 971-978.
- [96] GARCÍA, M., SPATZ, S., GUY, J. S. Infectious Laryngotracheitis. In *Diseases of Poultry*, D. E. Swayne, 2017.
- [97] DAVIDSON, Irit, NAGAR, Sagit, RIBSHTAIN, Israel, et al. Detection of wild-and vaccine-type avian infectious laryngotracheitis virus in clinical samples and feather shafts of commercial chickens. *Avian diseases*, 2009, vol. 53, no 4, p. 618-623.

- [98] WANGER, Audrey, CHAVEZ, Violeta, HUANG, Richard, et al. *Microbiology and Molecular Diagnosis in Pathology: A Comprehensive Review for Board Preparation, Certification and Clinical Practice*. Elsevier, 2017.
- [99] POITRAS, Elyse et HOUDE, Alain. *La PCR en temps réel: principes et applications*. *Reviews in biology and biotechnology*, 2002, vol. 2, no 2, p. 2-11.
- [100] PONCHEL, Frederique, TOOMES, Carmel, BRANSFIELD, Kieran, et al. Real-time PCR based on SYBR-Green I fluorescence: an alternative to the TaqMan assay for a relative quantification of gene rearrangements, gene amplifications and micro gene deletions. *BMC biotechnology*, 2003, vol. 3, no 1, p. 18.
- [101] ARYA, Manit, SHERGILL, Iqbal S., WILLIAMSON, Magali, et al. Basic principles of real-time quantitative PCR. *Expert review of molecular diagnostics*, 2005, vol. 5, no 2, p. 209-219.
- [102] WANGER, Audrey, CHAVEZ, Violeta, HUANG, Richard, et al. *Microbiology and Molecular Diagnosis in Pathology: A Comprehensive Review for Board Preparation, Certification and Clinical Practice*. Elsevier, 2017.
- [103] Actor, J. K. (2011). *Elsevier's integrated review immunology and microbiology*. Elsevier Health Sciences. 72 - 75
- [104] David E. Swayne, J.R. Glisson, L.R. McDougald, L.K. Nolan, D.L. Suarez, V.L. Nair Other Viral Infections. In *Diseases of Poultry*, D. E. Swayne (Ed.), 2017, 477-478
- [105] DAVIDSON, Irit, RAIBSTEIN, Israel, ALTORY-NATOUR, Amira, et al. Development of duplex dual-gene and DIVA real-time RT-PCR assays and use of feathers as a non-invasive sampling method for diagnosis of Turkey Meningoencephalitis Virus. *Avian Pathology*, 2017, vol. 46, no 3, p. 256-264.
- [106] David E. Swayne, J.R. Glisson, L.R. McDougald, L.K. Nolan, D.L. Suarez, V.L. Nair Other Viral Infections. In *Diseases of Poultry*, D. E. Swayne (Ed.), 2017, 479-481
- [107] DOCHERTY, Douglas E., LONG, Renee Romaine, GRIFFIN, Kathryn M., et al. Corvidae feather pulp and West Nile virus detection. *Emerging infectious diseases*, 2004, vol. 10, no 5, p. 907..
- [108] SHIRAFUJI, Hiroaki, KANEHIRA, Katsushi, KUBO, Masanori, et al. Experimental West Nile virus infection in jungle crows (*Corvus macrorhynchos*). *The American journal of tropical medicine and hygiene*, 2008, vol. 78, no 5, p. 838-842.
- [109] Species profile: Bagaza Virus (BAGV). In : *Global Invasive Species Database* [en ligne] (2018) [consulté le 03/09/2018] Disponible à l'adresse : <http://www.iucngisd.org/gisd/species.php?sc=1835> on 03-10-2018.
- [110] DIGOUTTE, J. P. Bagaza (BAG). *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 1978, vol. 27, no 2\_Part\_2, p. 376-377.
- [111] AGÜERO, Montserrat, FERNÁNDEZ-PINERO, Jovita, BUITRAGO, Dolores, et al. Bagaza virus in partridges and pheasants, Spain, 2010. *Emerging infectious diseases*, 2011, vol. 17, no 8, p. 1498.
- [112] LLORENTE, Francisco, PÉREZ-RAMÍREZ, Elisa, FERNÁNDEZ-PINERO, Jovita, et al. Bagaza virus is pathogenic and transmitted by direct contact in experimentally infected partridges, but is not infectious in house sparrows and adult mice. *Veterinary research*, 2015, vol. 46, no 1, p. 93.
- [113] David E. Swayne, J.R. Glisson, L.R. McDougald, L.K. Nolan, D.L. Suarez, V.L. Nair, Newcastle Disease, Other Avian Paramyxoviruses, and Avian Metapneumovirus Infections. In *Diseases of Poultry*, D. E. Swayne, 2017.
- [114] BROWN, Vienna R. et BEVINS, Sarah N. A review of virulent Newcastle disease viruses in the United States and the role of wild birds in viral persistence and spread. *Veterinary research*, 2017, vol. 48, no 1, p. 68.
- [115] GARRIDO, M. F., SPENCER, J. L., et CHAMBERS, J. R. Feather pulp as a source of antibody to avian viruses. *Avian Pathology*, 1992, vol. 21, no 2, p. 333-336.

- [116] ROY, Parimal, KOTEESWARAN, A., SRIDEVI, P., et al. Comparison of Newcastle disease vaccines by serology using serum, tears and feather pulp samples. *Tropical animal health and production*, 1998, vol. 30, no 1, p. 31-35.
- [117] LEE, Dong-Hun, KWON, Jung-Hoon, NOH, Jin-Yong, et al. Viscerotropic velogenic Newcastle disease virus replication in feathers of infected chickens. *Journal of veterinary science*, 2016, vol. 17, no 1, p. 115-117.
- [118] WANGER, Audrey, CHAVEZ, Violeta, HUANG, Richard, et al. *Microbiology and Molecular Diagnosis in Pathology: A Comprehensive Review for Board Preparation, Certification and Clinical Practice*. Elsevier, 2017.
- [119] GARCÍA, M., SPATZ, S. and GUY, J. S. History. Infectious Laryngotracheitis. In *Diseases of Poultry*, D. E. Swayne, 2017, 161
- [120] ] GARCÍA, M., SPATZ, S. and GUY, J. S. Vaccination. Infectious Laryngotracheitis. In *Diseases of Poultry*, D. E. Swayne, 2017, 172 - 174
- [121] HILBINK, F. W., OEI, H. L., et VAN ROOZELAAR, D. J. Virulence of five live vaccines against avian infectious laryngotracheitis and their immunogenicity and spread after eyedrop or spray application. *Veterinary Quarterly*, 1987, vol. 9, no 3, p. 215-225.
- [122] HITCHNER, Sbj, FABRICANT, J., et BAGUST, T. J. A fluorescent-antibody study of the pathogenesis of infectious laryngotracheitis. *Avian diseases*, 1977, p. 185-194.
- [123] SAMBERG, Y., CUPERSTEIN, E., BENDHEIM, U., et al. The development of a vaccine against avian infectious laryngotracheitis IV. Immunization of chickens with a modified laryngotracheitis vaccine in the drinking water. *Avian diseases*, 1971, p. 413-417.
- [124] GELENCZEI, E. F. et MARTY, E. W. Studies on a tissue-culture-modified infectious laryngotracheitis virus. *Avian Diseases*, 1964, vol. 8, no 1, p. 105-122.
- [125] WANGER, Audrey, CHAVEZ, Violeta, HUANG, Richard, et al. *Microbiology and Molecular Diagnosis in Pathology: A Comprehensive Review for Board Preparation, Certification and Clinical Practice*. Elsevier, 2017.
- [126] Neoplastic Diseases. In *Diseases of Poultry*, D. E. Swayne (Ed.), 2017, 515
- [127] Neoplastic Diseases. In *Diseases of Poultry*, D. E. Swayne (Ed.), 2017, 549
- [128] RISPENS, Bart H., VAN VLOTEN, Hans, MASTENBROEK, Nel, et al. Control of Marek's disease in the Netherlands. I. Isolation of an avirulent Marek's disease virus (strain CVI 988) and its use in laboratory vaccination trials. *Avian diseases*, 1972, p. 108-125.
- [129] OKAZAKI, William, PURCHASE, H. G., et BURMESTER, B. R. Protection against Marek's disease by vaccination with a herpesvirus of turkeys. *Avian diseases*, 1970, p. 413-429.
- [130] SCHAT, K. A., CALNEK, B. W., et FABRICANT, J. Characterisation of two highly oncogenic strains of Marek's disease virus. *Avian Pathology*, 1982, vol. 11, no 4, p. 593-605.
- [131] SHARMA, J. M. et BURMESTER, B. R. Resistance of Marek's disease at hatching in chickens vaccinated as embryos with the turkey herpesvirus. *Avian Diseases*, 1982, p. 134-149.
- [132] RENZ, Katrin G., ISLAM, Aminul, CHEETHAM, Brian F., et al. Absolute quantification using real-time polymerase chain reaction of Marek's disease virus serotype 2 in field dust samples, feather tips and spleens. *Journal of virological methods*, 2006, vol. 135, no 2, p. 186-191.
- [133] ISLAM, Aminul, CHEETHAM, Brian F., MAHONY, Timothy J., et al. Absolute quantitation of Marek's disease virus and Herpesvirus of turkeys in chicken lymphocyte, feather tip and dust samples using real-time PCR. *Journal of virological methods*, 2006, vol. 132, no 1-2, p. 127-134.

- [134] CORTES, Aneq L., MONTIEL, Enrique R., LEMIERE, Stephane, et al. Comparison of blood and feather pulp samples for the diagnosis of Marek's disease and for monitoring Marek's disease vaccination by real time-PCR. *Avian diseases*, 2011, vol. 55, no 2, p. 302-310..
- [135] ISLAM, Aminul et WALKDEN-BROWN, Stephen W. Quantitative profiling of the shedding rate of the three Marek's disease virus (MDV) serotypes reveals that challenge with virulent MDV markedly increases shedding of vaccinal viruses. *Journal of General Virology*, 2007, vol. 88, no 8, p. 2121-2128.
- [136] BAIGENT, Susan J., SMITH, Lorraine P., CURRIE, Richard JW, et al. Correlation of Marek's disease herpesvirus vaccine virus genome load in feather tips with protection, using an experimental challenge model. *Avian Pathology*, 2007, vol. 36, no 6, p. 467-474.
- [137] FAKHRUL ISLAM, A. F. M., WALKDEN-BROWN, Stephen W., GROVES, Peter J., et al. Kinetics of Marek's disease virus (MDV) infection in broiler chickens 1: effect of varying vaccination to challenge interval on vaccinal protection and load of MDV and herpesvirus of turkey in the spleen and feather dander over time. *Avian Pathology*, 2008, vol. 37, no 3, p. 225-235.
- [138] RALAPANAWA, S., RENZ, K. G., BURGESS, S. K., et al. Field studies of the detection, persistence and spread of the Rispens CVI988 vaccine virus and the extent of co-infection with Marek's disease virus. *Australian veterinary journal*, 2016, vol. 94, no 9, p. 329-337.
- [139] DAVIDSON, Irit, NATOUR-ALTORY, Amira, RAIBSTEIN, Israel, et al. Monitoring the uptake of live avian vaccines by their detection in feathers. *Vaccine*, 2018, vol. 36, no 5, p. 637-643.
- [140] ICTV, Virus taxonomy : 2018 release. In : ICTV [en ligne] (2017) [consulté le 28/07/2018] Disponible à l'adresse : <https://talk.ictvonline.org/taxonomy/>
- [141] NAYAK, Debiprosad, SHIVAKOTI, Sakar, BALOGUN, Rilwan A., et al. Structure, disassembly, assembly, and budding of influenza viruses. *Textbook of influenza*, 2013, p. 35-56.
- [142] KHANNA, M., KUMAR, P., CHOUDHARY, K., et al. Emerging influenza virus: a global threat. *Journal of biosciences*, 2008, vol. 33, no 4, p. 475-482.
- [143] REPERANT, L.A., RIMMELZWAAN, G.F. et KUIKEN, T., Avian influenza viruses in mammals. *Revue Scientifique Et Technique (International Office of Epizootics)*, 28, 2018, 137–159.
- [144] SUAREZ, D. L. Influenza a Virus. In *Avian Influenza*, D. E. Swayne (Ed.), 2009,4-5
- [145] SWAYNE, D. E., The Global Nature of Avian Influenza. In *Avian Influenza*, D. E. Swayne (Ed., 2009, 128
- [146] PALESE, PaSML. Orthomyxoviridae: the viruses and their replication. *Fields virology*, 2007, p. 1647-1689.
- [147] TUMPEY, Terrence M., ALVAREZ, Rene, SWAYNE, David E., et al. Diagnostic approach for differentiating infected from vaccinated poultry on the basis of antibodies to NS1, the nonstructural protein of influenza A virus. *Journal of clinical microbiology*, 2005, vol. 43, no 2, p. 676-683.
- [148] O'NEILL, Robert E., TALON, Julie, et PALESE, Peter. The influenza virus NEP (NS2 protein) mediates the nuclear export of viral ribonucleoproteins. *The EMBO journal*, 1998, vol. 17, no 1, p. 288-296.
- [149] BOUVIER, Nicole M. et PALESE, Peter. The biology of influenza viruses. *Vaccine*, 2008, vol. 26, p. D49-D53.
- [150] PORTELA, Agustín et DIGARD, Paul. The influenza virus nucleoprotein: a multifunctional RNA-binding protein pivotal to virus replication. *Journal of general virology*, 2002, vol. 83, no 4, p. 723-734..

- [151] DIGARD, Paul, ELTON, Debra, BISHOP, Konrad, et al. Modulation of nuclear localization of the influenza virus nucleoprotein through interaction with actin filaments. *Journal of virology*, 1999, vol. 73, no 3, p. 2222-2231.
- [152] BOURMAKINA, Svetlana V. et GARCÍA-SASTRE, Adolfo. Reverse genetics studies on the filamentous morphology of influenza A virus. *Journal of General Virology*, 2003, vol. 84, no 3, p. 517-527.
- [153] COMPANS, Richard W., KLENK, Hans-Dieter, CALIGUIRI, Lawrence A., et al. Influenza virus proteins: I. Analysis of polypeptides of the virion and identification of spike glycoproteins. *Virology*, 1970, vol. 42, no 4, p. 880-889.
- [154] SCHROEDER, Cornelia, HEIDER, Harald, MÖNCKE-BUCHNER, Elisabeth, et al. The influenza virus ion channel and maturation cofactor M2 is a cholesterol-binding protein. *European Biophysics Journal*, 2005, vol. 34, no 1, p. 52-66.
- [155] NAYAK, Debi P., BALOGUN, Rilwan A., YAMADA, Hiroshi, et al. Influenza virus morphogenesis and budding. *Virus research*, 2009, vol. 143, no 2, p. 147-161.
- [156] NAYAK, Debiprosad, SHIVAKOTI, Sakar, BALOGUN, Rilwan A., et al. Structure, disassembly, assembly, and budding of influenza viruses. *Textbook of influenza*, 2013, p. 35-56.
- [157] CAPUA, Ilaria et MARANGON, Stefano. The avian influenza epidemic in Italy, 1999—2000: A review. *Avian Pathology*, 2000, vol. 29, no 4, p. 289-294.
- [158] KIM, Jeong-Ki, NEGOVETICH, Nicholas J., FORREST, Heather L., et al. Ducks: the “Trojan horses” of H5N1 influenza. *Influenza and other respiratory viruses*, 2009, vol. 3, no 4, p. 121-128.
- [159] ADAMS, Sean et SANDROCK, Christian. Avian influenza: update. *Medical Principles and Practice*, 2010, vol. 19, no 6, p. 421-432.
- [160] WOOD, G. W., MCCAULEY, J. W., BASHIRUDDIN, J. B., et al. Deduced amino acid sequences at the haemagglutinin cleavage site of avian influenza A viruses of H 5 and H 7 subtypes. *Archives of virology*, 1993, vol. 130, no 1-2, p. 209-217.
- [161] MUNDT, Egbert, GAY, Lauren, JONES, Les, et al. Replication and pathogenesis associated with H5N1, H5N2, and H5N3 low-pathogenic avian influenza virus infection in chickens and ducks. *Archives of virology*, 2009, vol. 154, no 8, p. 1241-1248.
- [162] ALEXANDER, Dennis J. A review of avian influenza in different bird species. *Veterinary microbiology*, 2000, vol. 74, no 1-2, p. 3-13.
- [163] SUZUKI, Yasuo. Sialobiology of influenza: molecular mechanism of host range variation of influenza viruses. *Biological and Pharmaceutical Bulletin*, 2005, vol. 28, no 3, p. 399-408.
- [164] NELLI, Rahul K., KUCHIPUDI, Suresh V., WHITE, Gavin A., et al. Comparative distribution of human and avian type sialic acid influenza receptors in the pig. *BMC veterinary research*, 2010, vol. 6, no 1, p. 4..
- [165] PILLAI, Smitha PS et LEE, Chang W. Species and age related differences in the type and distribution of influenza virus receptors in different tissues of chickens, ducks and turkeys. *Virology journal*, 2010, vol. 7, no 1, p. 5.
- [166] RUSSELL, Rupert J., GAMBLIN, Steven J., et SKEHEL, John J. Influenza glycoproteins: Hemagglutinin and neuraminidase. *Textbook of influenza*, 2013, p. 67-100.
- [168] SUAREZ, D. L., Influenza a Virus. In *Avian Influenza*, D. E. Swayne (Ed.), 2009,6-7

- [169] World Health Organization, Expert Committee on Influenza, first report. World Health Organ Tech Rep Ser, 1953, 6:1–32
- [170] Swayne, D. E., Suarez, D. L. and Sims, L. D. Influenza. In Diseases of Poultry, D. E. Swayne (Ed.), 2007, 164 – 165
- [171] STALLKNECHT, David E., BROWN, Justin D., et SWAYNE, D. E. Ecology of avian influenza in wild birds. Avian influenza, 2008, vol. 1, p. 43-58.
- [172] WEBSTER, Robert G., YAKHNO, Maya, HINSHAW, Virginia S., et al. Intestinal influenza: replication and characterization of influenza viruses in ducks. Virology, 1978, vol. 84, no 2, p. 268-278.
- [173] STALLKNECHT, D. E., SHANE, S. M., KEARNEY, M. T., et al. Persistence of avian influenza viruses in water. Avian diseases, 1990, p. 406-411.
- [174] Swayne, D. E. and Pantin-Jackwood, M. Pathobiology of Avian Influenza Virus Infections in Birds and Mammals. In Avian Influenza, D. E. Swayne, 2009.
- [175] PEIRIS, JS Malik, DE JONG, Menno D., et GUAN, Yi. Avian influenza virus (H5N1): a threat to human health. Clinical microbiology reviews, 2007, vol. 20, no 2, p. 243-267.
- [176] Neumann, G., Noda, T., & Kawaoka, Y. (2009). Emergence and pandemic potential of swine-origin H1N1 influenza virus. Nature, 459(7249), 931.
- [177] SWAYNE, D. E., SUAREZ, D. L. and SIMS, L. D. Influenza. In Diseases of Poultry, D. E. Swayne (Ed.), 2017, 194-201
- [178] LAUDERT, E. A., SIVANANDAN, V., & HALVORSON, D. A. Effect of intravenous inoculation of avian influenza virus on reproduction and growth in mallard ducks. Journal of wildlife diseases, 29(4), 1993, 523-526.
- [179] MUNSTER, Vincent J., BAAS, Chantal, LEXMOND, Pascal, et al. Spatial, temporal, and species variation in prevalence of influenza A viruses in wild migratory birds. PLoS pathogens, 2007, vol. 3, no 5, p. e61.
- [180] STEINHAUER, David A. Role of hemagglutinin cleavage for the pathogenicity of influenza virus. Virology, 1999, vol. 258, no 1, p. 1-20.
- [181] SWAYNE, David E. Understanding the complex pathobiology of high pathogenicity avian influenza viruses in birds. Avian diseases, 2007, vol. 51, no s1, p. 242-249.
- [182] PANTIN-JACKWOOD, Mary J., SWAYNE, D. E., et al. Pathogenesis and pathobiology of avian influenza virus infection in birds. Rev Sci Tech, 2009, vol. 28, no 1, p. 113-136.
- [183] SPACKMAN, E., SUAREZ, D. L. et SENNE, D. A., Avian Influenza Diagnostics and Surveillance Methods. In Avian Influenza, D. E. Swayne (Ed.), 2009, 299-308
- [184] OIE. 2009. Avian Influenza. In: OIE [en ligne] (2009) [consulté le 25/06/2018] Disponible à l'adresse : [http://www.oie.int/fileadmin/Home/eng/Health\\_standards/tahm/2.03.04\\_AI.pdf](http://www.oie.int/fileadmin/Home/eng/Health_standards/tahm/2.03.04_AI.pdf).
- [185] SWAYNE, D.E., D.A. SENNE, and D.L. SUAREZ. Avian influenza. In: Isolation and Identification of Avian Pathogens, L. Dufour-Zavala, D.E. Swayne, J.R. Glisson, J.E. Pearson, W.M. Reed, M.W. Jackwood, and P.R. Woolcock, eds. American Association of Avian Pathologist, Jacksonville, Florida, 2008, 128–134.
- [186] LIRA, Jennifer, MORESCO, Kira A., STALLKNECHT, David E., et al. Single and combination diagnostic test efficiency and cost analysis for detection and isolation of avian influenza virus from wild bird cloacal swabs. Avian diseases, 2010, vol. 54, no s1, p. 606-612.

- [187] WOOLCOCK, P. R., MCFARLAND, M. D., LAI, S., et al. Enhanced recovery of avian influenza virus isolates by a combination of chicken embryo inoculation methods. *Avian diseases*, 2001, p. 1030-1035.
- [188] BEARD, C. W. Demonstration of type-specific influenza antibody in mammalian and avian sera by immunodiffusion. *Bulletin of the World Health Organization*, 1970, vol. 42, no 5, p. 779.
- [189] ABRAHAM, A., SIVANANDAN, V., HALVORSON, D. A., et al. Standardization of enzyme-linked immunosorbent assay for avian influenza virus antibodies in turkeys. *American journal of veterinary research*, 1986, vol. 47, no 3, p. 561-566.
- [190] BECK, Joan R. et SWAYNE, David E. Evaluation of ELISA for avian influenza serologic and diagnostic programs: Comparison with agar gel precipitin and hemagglutination inhibition tests. *Avian Diseases*, 2003, p. 297-304.
- [191] FATUNMBI, Olufemi O., NEWMAN, John A., SIVANANDAN, V., et al. A broad-spectrum avian influenza subtype antigen for indirect enzyme-linked immunosorbent assay. *Avian diseases*, 1989, p. 264-269.
- [192] MEULEMANS, G., CARLIER, M. C., GONZE, M., et al. Comparison of hemagglutination-inhibition, agar gel precipitin, and enzyme-linked immunosorbent assay for measuring antibodies against influenza viruses in chickens. *Avian Diseases*, 1987, p. 560-563.
- [193] SHAFER, A. L., KATZ, J. B., et EERNISSE, K. A. Development and validation of a competitive enzyme-linked immunosorbent assay for detection of type A influenza antibodies in avian sera. *Avian diseases*, 1998, p. 28-34.
- [194] SNYDER, D. B., MARQUARDT, W. W., YANCEY, F. S., et al. An enzyme-linked immunosorbent assay for the detection of antibody against avian influenza virus. *Avian Diseases*, 1985, p. 136-144.
- [195] ZHOU, E.-M., CHAN, M., HECKERT, R. A., et al. Evaluation of a competitive ELISA for detection of antibodies against avian influenza virus nucleoprotein. *Avian Diseases*, 1998, p. 517-522.
- [196] WOOLCOCK, Peter R. et CARDONA, Carol J. Commercial immunoassay kits for the detection of influenza virus type A: evaluation of their use with poultry. *Avian diseases*, 2005, vol. 49, no 4, p. 477-481.
- [197] ZIEGLER, Andre F., DAVISON, Sherrill, ACLAND, Helen, et al. Characteristics of H7N2 (Nonpathogenic) avian influenza virus infections in commercial layers, in Pennsylvania, 1997-98. *Avian diseases*, 1999, p. 142-149.
- [198] DAVISON, Sherrill, ZIEGLER, Andre F., et ECKROADE, Robert J. Comparison of an antigen-capture enzyme immunoassay with virus isolation for avian influenza from field samples. *Avian diseases*, 1998, p. 791-795.
- [199] ATMAR, Robert L., BAXTER, Barbara D., DOMINGUEZ, Edward A., et al. Comparison of reverse transcription-PCR with tissue culture and other rapid diagnostic assays for detection of type A influenza virus. *Journal of clinical microbiology*, 1996, vol. 34, no 10, p. 2604-2606.
- [200] FOUCHIER, Ron AM, BESTEBROER, Theo M., HERFST, Sander, et al. Detection of influenza A viruses from different species by PCR amplification of conserved sequences in the matrix gene. *Journal of clinical microbiology*, 2000, vol. 38, no 11, p. 4096-4101.
- [201] PODDAR, Saibal K. Influenza virus types and subtypes detection by single step single tube multiplex reverse transcription-polymerase chain reaction (RT-PCR) and agarose gel electrophoresis. *Journal of virological methods*, 2002, vol. 99, no 1-2, p. 63-70.
- [202] STARICK, E., RØMER-OBERDØRFER, A., et WERNER, O. Type-and Subtype-Specific RT-PCR Assays for Avian Influenza A Viruses (AIV). *Journal of Veterinary Medicine, Series B*, 2000, vol. 47, no 4, p. 295-301.
- [203] SPACKMAN, Erica, SENNE, Dennis A., MYERS, T. J., et al. Development of a real-time reverse transcriptase PCR assay for type A influenza virus and the avian H5 and H7 hemagglutinin subtypes. *Journal of clinical microbiology*, 2002, vol. 40, no 9, p. 3256-3260.

- [204] PREGLIASCO, Fabrizio, MENSI, Carolina, CAMORALI, Laura, et al. Comparison of RT-PCR with other diagnostic assays for rapid detection of influenza viruses. *Journal of medical virology*, 1998, vol. 56, no 2, p. 168-173.
- [205] KILLIAN, Mary Lea. Hemagglutination assay for influenza virus. In : *Animal Influenza Virus*. Humana Press, New York, NY, 2014. p. 3-9.
- [206] BECK, Joan R. et SWAYNE, David E. Evaluation of ELISA for avian influenza serologic and diagnostic programs: Comparison with agar gel precipitin and hemagglutination inhibition tests. *Avian Diseases*, 2003, p. 297-304.
- [207] LU, Bao-Lan, WEBSTER, Robert G., et HINSHAW, Virginia S. Failure to detect hemagglutination-inhibiting antibodies with intact avian influenza virions. *Infection and immunity*, 1982, vol. 38, no 2, p. 530-535.
- [208] MEULEMANS, G., CARLIER, M. C., GONZE, M., et al. Comparison of hemagglutination-inhibition, agar gel precipitin, and enzyme-linked immunosorbent assay for measuring antibodies against influenza viruses in chickens. *Avian Diseases*, 1987, p. 560-563.
- [209] PEDERSEN, Janice C. Neuraminidase-inhibition assay for the identification of influenza A virus neuraminidase subtype or neuraminidase antibody specificity. In : *Avian Influenza Virus*. Humana Press, 2008. p. 67-75.
- [210] AYMARD-HENRY, M., COLEMAN, M. T., DOWDLE, W. R., et al. Influenzavirus neuraminidase and neuraminidase-inhibition test procedures. *Bulletin of the World Health Organization*, 1973, vol. 48, no 2, p. 199.
- [211] Swayne, D.E., D.A. Senne, and D.L. Suarez. Avian influenza. In: *Isolation and Identification of Avian Pathogens*, L. Dufour-Zavala, D.E. Swayne, J.R. Glisson, J.E. Pearson, W.M. Reed, M.W. Jackwood, and P.R. Woolcock, eds. American Association of Avian Pathologists, 2008, Jacksonville, Florida. 128–134.
- [212] SLEMONS, R. D. et SWAYNE, D. E. Tissue tropism and replicative properties of waterfowl-origin influenza viruses in chickens. *Avian diseases*, 1995, p. 521-527.
- [213] Swayne, D.E., D.A. Senne, and C.W. Beard. Avian influenza. In: D.E. Swayne, J.R. Glisson, M.W. Jackwood, J.E. Pearson, and W.M. Reed (eds.), 1998, *A Laboratory Manual for the Isolation and Identification of Avian Pathogens*, 4th ed. American Association of Avian Pathologists: KennettSquare, PA, pp. 150–155.
- [214] L. PERKINS, L. E. et SWAYNE, D. E. Pathobiology of A/chicken/Hong Kong/220/97 (H5N1) avian influenza virus in seven gallinaceous species. *Veterinary Pathology*, 2001, vol. 38, no 2, p. 149-164.
- [215] YAMAMOTO, Yu, NAKAMURA, Kikuyasu, KITAGAWA, Ken, et al. Severe nonpurulent encephalitis with mortality and feather lesions in call ducks (*Anas platyrhynchos* var. *domestica*) inoculated intravenously with H5N1 highly pathogenic avian influenza virus. *Avian diseases*, 2007, vol. 51, no 1, p. 52-57.
- [216] YAMAMOTO, Yu, NAKAMURA, Kikuyasu, OKAMATSU, Masatoshi, et al. Avian influenza virus (H5N1) replication in feathers of domestic waterfowl. *Emerging Infectious Diseases*, 2008, vol. 14, no 1, p. 149.
- [217] BERTRAN, Kateri, PÉREZ-RAMÍREZ, Elisa, BUSQUETS, Núria, et al. Pathogenesis and transmissibility of highly (H7N1) and low (H7N9) pathogenic avian influenza virus infection in red-legged partridge (*Alectoris rufa*). *Veterinary research*, 2011, vol. 42, no 1, p. 24.
- [218] LIU, Jinhua, XIAO, Haixia, LEI, Fumin, et al. Highly pathogenic H5N1 influenza virus infection in migratory birds. *Science*, 2005, vol. 309, no 5738, p. 1206-1206.
- [219] POEN, Marjolein J., BESTEBROER, Theo M., VUONG, Oanh, et al. Local amplification of highly pathogenic avian influenza H5N8 viruses in wild birds in the Netherlands, 2016 to 2017. *Eurosurveillance*, 2018, vol. 23, no 4.

- [220] VERHAGEN, Josanne H., HERFST, Sander, et FOUCHIER, Ron AM. How a virus travels the world. *Science*, 2015, vol. 347, no 6222, p. 616-617.
- [221] WONG, Frank YK, PHOMMACHANH, Phouvong, KALPRAVIDH, Wantanee, et al. Reassortant highly pathogenic influenza A (H5N6) virus in Laos. *Emerging infectious diseases*, 2015, vol. 21, no 3, p. 511.
- [222] BUTLER, Jeffrey, STEWART, Cameron R., LAYTON, Daniel S., et al. Novel reassortant H5N6 influenza A virus from the Lao People's Democratic Republic is highly pathogenic in chickens. *PloS one*, 2016, vol. 11, no 9, p. e0162375.
- [223] SLOMKA, Marek J., TO, Thanh L., TONG, Hien H., et al. Challenges for accurate and prompt molecular diagnosis of clades of highly pathogenic avian influenza H5N1 viruses emerging in Vietnam. *Avian pathology*, 2012, vol. 41, no 2, p. 177-193.
- [224] SPACKMAN, Erica, SENNE, Dennis A., MYERS, T. J., et al. Development of a real-time reverse transcriptase PCR assay for type A influenza virus and the avian H5 and H7 hemagglutinin subtypes. *Journal of clinical microbiology*, 2002, vol. 40, no 9, p. 3256-3260.
- [225] LEE, Brian W., BEY, Russell F., BAARSCH, Mary J., et al. ELISA method for detection of influenza A infection in swine. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation*, 1993, vol. 5, no 4, p. 510-515.
- [226] AIELLO, Roberta, BEATO, Maria Serena, MANCIN, Marzia, et al. Differences in the detection of highly pathogenic avian influenza H5N1 virus in feather samples from 4-week-old and 24-week-old infected Pekin ducks (*Anas platyrhynchos* var. *domestica*). *Veterinary microbiology*, 2013, vol. 165, no 3-4, p. 443-447.
- [227] NURADJI, Hari, BINGHAM, John, PAYNE, Jean, et al. Highly pathogenic avian influenza (H5N1) virus in feathers: tropism and pathology of virus-infected feathers of infected ducks and chickens. *Veterinary pathology*, 2017, vol. 54, no 2, p. 226-233.
- [228] NURADJI, Harimurti, BINGHAM, John, LOWTHER, Sue, et al. A comparative evaluation of feathers, oropharyngeal swabs, and cloacal swabs for the detection of H5N1 highly pathogenic avian influenza virus infection in experimentally infected chickens and ducks. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation*, 2015, vol. 27, no 6, p. 704-715.
- [229] BUSQUETS, Nuria, ABAD, F. Xavier, ALBA, Anna, et al. Persistence of highly pathogenic avian influenza virus (H7N1) in infected chickens: feather as a suitable sample for diagnosis. *Journal of General Virology*, 2010, vol. 91, no 9, p. 2307-2313.
- [230] GUERIN JL., FORET C., CROVILLE G., LUCAS MN., VERGNE T., BYL M., BLONDEL V., ROBERTET L., SOUVESTRE M., CORRAND L., DELVERDIER M. (2017) Detection of Glade 2.3.4.4. H5N8 HPAI viruses in feather samples in ducks and geese: an assessment on field outbreaks
- [231] MARTIN, V., SIMS, L., LUBROTH, J., et al. Epidemiology and ecology of highly pathogenic avian influenza with particular emphasis on South East Asia. *Developments in biologicals*, 2006, vol. 124, p. 23-36.
- [232] OLSEN, Björn, MUNSTER, Vincent J., WALLENSTEN, Anders, et al. Global patterns of influenza A virus in wild birds. *science*, 2006, vol. 312, no 5772, p. 384-388.
- [233] WEBSTER, Robert G., BEAN, William J., GORMAN, Owen T., et al. Evolution and ecology of influenza A viruses. *Microbiological reviews*, 1992, vol. 56, no 1, p. 152-179.
- [234] HEIDARI, Mohammad, FITZGERALDC, S. D., ZHANG, H. M., et al. Marek's disease virus-induced skin leukosis in scaleless chickens: tumor development in the absence of feather follicles. *Avian diseases*, 2007, vol. 51, no 3, p. 713-718.

- [235] BEASLEY, J. K., PATTERSON, L. T., MCWADE, D. H., et al. Transmission of Marek's disease by poultry bouse dust and chicken dander. *American Journal of Veterinary Research*, 1970, vol. 31, p. 339-344.
- [236] CARROZZA, J. H., FREDRICKSON, T. N., PRINCE, R. P., et al. Role of desquamated epithelial cells in transmission of Marek's disease. *Avian Diseases*, 1973, p. 767-781.
- [237] WEBSTER, Robert G., YAKHNO, Maya, HINSHAW, Virginia S., et al. Intestinal influenza: replication and characterization of influenza viruses in ducks. *Virology*, 1978, vol. 84, no 2, p. 268-278.
- [238] YAMAMOTO, Yu, NAKAMURA, Kikuyasu, KITAGAWA, Ken, et al. Pathogenesis in call ducks inoculated intranasally with H5N1 highly pathogenic avian influenza virus and transmission by oral inoculation of infective feathers from an infected call duck. *Avian diseases*, 2007, vol. 51, no 3, p. 744-749.
- [239] DELOGU, Mauro, DE MARCO, Maria A., DI TRANI, Livia, et al. Can preening contribute to influenza A virus infection in wild waterbirds?. *PLoS One*, 2010, vol. 5, no 6, p. e11315.
- [240] BERTRAN, Kateri, DOLZ, Roser, BUSQUETS, Núria, et al. Pathobiology and transmission of highly and low pathogenic avian influenza viruses in European quail (*Coturnix c. coturnix*). *Veterinary research*, 2013, vol. 44, no 1, p. 23.
- [241] MILLER, R. Eric et FOWLER, Murray E. (ed.). *Fowler's Zoo and Wild Animal Medicine, Volume 8-E-Book*. Elsevier Health Sciences, 2014, 650-660.
- [242] Integument, Developping feathers In : *Histology of birds [en ligne]* (2018) [consulté le 03/10/2018] Disponible à l'adresse : <http://www.histology-of-birds.com/galleries.php?id=41>



**AGREMENT SCIENTIFIQUE**

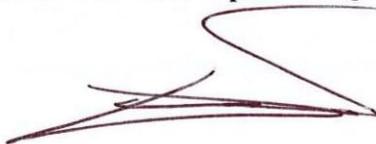
**En vue de l'obtention du permis d'imprimer de la thèse de doctorat vétérinaire**

Je soussigné , **Jean-Luc GUERIN**, Enseignant-chercheur, de l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse, directeur de thèse, certifie avoir examiné la thèse de **Léo COLLIN** intitulée « **Evaluation de l'apport des plumes en tant que prélèvements pour le diagnostic des maladies aviaires** » et que cette dernière peut être imprimée en vue de sa soutenance.

**Fait à Toulouse, le 24 janvier 2019**  
**Professeur Jean-Luc GUERIN**  
**Enseignant chercheur**  
**de l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse**



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



M. Léo COLLIN  
a été admis(e) sur concours en : 2013  
a obtenu son diplôme d'études fondamentales vétérinaires le : 04/07/2017  
a validé son année d'approfondissement le : 15/11/2018  
n'a plus aucun stage, ni enseignement optionnel à valider.

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

Pour la Directrice et par délégation,  
la Directrice de l'enseignement  
et de la vie étudiante  
**Caroline LACROUX**

**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**

**NOM** : COLLIN

**PRENOM** : LEO

**TITRE** : EVALUATION DE L'APPORT DES PLUMES EN TANT QUE PRELEVEMENT POUR LE DIAGNOSTIC DES MALADIES AVAIRES

**RESUME** :

La plume est un attribut caractéristique du tégument des oiseaux. Ce travail porte sur l'étude des plumes des oiseaux et l'évaluation de leur intérêt potentiel en tant que prélèvements aux fins de diagnostic de maladies virales aviaires. Après un rappel sur les caractéristiques anatomiques et l'ontogénèse des plumes, les principales maladies virales aviaires pour lesquelles les plumes ont été étudiées en tant qu'outil diagnostique sont présentées, avec un focus sur les virus influenza aviaires. L'application au diagnostic de l'influenza aviaire hautement pathogène a fait l'objet de travaux récents : les plumes sont le plus souvent au moins aussi pertinentes que les écouvillons trachéaux ou cloacaux, considérés comme les échantillons de référence.

Il en résulte que la plume est souvent décrite comme un échantillon pertinent, pratique, peu invasif et répétable sur un même individu dont le principal inconvénient est que le diagnostic n'est généralement possible que sur des plumes immatures, en croissance.

**MOTS-CLES** : plume, pulpe, prélèvements, diagnostic, virologie, influenza aviaire

-----  
**ABSTRACT** :

The feather is a characteristic attribute of the integument of birds. This work deals with the study of bird feathers and the assessment of their potential interest as samples for the diagnosis of avian viral diseases. After a review of the anatomical characteristics and feather ontogeny, the main avian viral diseases for which the feathers were studied as a diagnostic tool are presented, with a focus on avian influenza viruses. The application to the diagnosis of highly pathogenic avian influenza has been the topic of recent works: the feathers are most often at least as relevant as tracheal or cloacal swabs, considered as the reference samples. As a result, the feather is often described as a relevant sample, practical, minimally invasive and repeatable on the same individual, its main drawback being that the diagnosis is usually only possible on growing, immature feathers.

**KEYWORDS** : feather, pulp, specimens, diagnosis, virology, avian influenza