

Nom et Prénom : EL KHANTOUR ABDERRAZAK

Date de soutenance : 13/11/2021

Directeur de Thèse : SOULAYMANI ABDELMAJID

Sujet de Thèse :

Caractérisation virologique, moléculaire et évaluation de l'efficacité vaccinale de deux dominantes pathologies respiratoires aviaires : Influenza aviaire faiblement pathogène de sous type H9N2 chez le poulet de chair et la maladie de Newcastle chez la dinde

Résumé :

Notre étude contribue à la caractérisation virologique, moléculaire et phylogénétique, de deux pathologies majeures du secteur avicole marocain à savoir l'influenza aviaire faiblement pathogène de sous-type H9N2 (IAFP H9N2) et la maladie de Newcastle (MN). L'efficacité des vaccins utilisés contre ces pathologies a aussi été évaluée à travers une épreuve virulente.

Au niveau de 21 élevages de poulets de chair qui ont montré des signes cliniques spécifiques de l'IAFP, 105 échantillons ont été collectés entre juillet 2016 et octobre 2018. L'examen post-mortem des oiseaux a montré des lésions typiques de l'IAFP H9N2. Après l'isolement du virus sur des œufs EOPS, les tests d'identification par la technique de l'inhibition de l'hémagglutination (IHA) avec des sérums de références OIE et l'évaluation de l'indice de pathogénicité intraveineux (IPIV) du virus ont confirmé qu'il s'agit du virus d'IAFP H9N2 avec un IPIV de 0,00. Un diagnostic moléculaire (rRT-PCR) a révélé que 48% des échantillons (10/21) étaient positifs pour H9 avec des valeurs CT entre 18,6 et 34,8. L'analyse phylogénétique de l'Hémagglutinine (H9) de quatre isolats séquencés (un isolat de 2016, deux de 2017 et un de 2018) a révélé qu'ils appartiennent à la lignée G1 et qu'il y a une évolution génétique limitée du virus sur une période de 2 ans.

Quatre vaccins inactivés (A, B, C et D) contre l'IAFP H9N2 ont été évalués à travers une épreuve virulente par un des virus isolés sur 170 poulets chair conventionnels. L'évaluation a s'est basée sur les observations cliniques pour la recherche des signes respiratoires, les lésions macroscopiques, l'analyse sérologique par les techniques ELISA et IHA et le suivi de l'excrétion virale dans les écouvillons trachéaux par la technique de la RT-PCR en temps réelle. Les résultats suggèrent que les vaccins A et C procurent une meilleure protection.

La maladie de Newcastle est endémique au Maroc et plusieurs vaccins sont commercialisés pour lutter contre cette maladie. Un isolat marocain de la MN nommé « NDV JEL », utilisée pour évaluer l'efficacité des vaccins, a été caractérisée d'un point de vue virologique (Indice de Pathogénicité Intracérébrale (IPIC), Indice de Pathogénicité Intraveineuse (IPIV) et Temps Moyen de Survie des Embryons (TMSE)) et moléculaire (rRT-PCR, séquençage et phylogénie). Les résultats montrent qu'il s'agit d'une souche vélogène (IPIC=1,9 ; IPIV= 2,45 et TMSE= 54,4 h) appartenant au génotype IV.

Parmi les derniers vaccins autorisés pour lutter contre la MN figure un vaccin vectorisé dont le vecteur est l'herpès virus de la dinde exprimant le gène F du virus de la MN (rHVT-F). L'efficacité de ce vaccin a été testée pour la protection des dindonneaux contre la MN en utilisant la souche « NDV JEL ». Les résultats ont montré une protection des dindonneaux vaccinés qui présentent une absence de signes cliniques, un meilleur gain de poids corporel et une réduction de l'excrétion du virus d'épreuve en comparaison avec le groupe témoin.

Mots clés : Influenza aviaire; H9N2, évolution moléculaire; phylogénie; Maroc ; Maladie de Newcastle, dinde, vaccin recombinant, épreuve virulente.

Abstract :

Our study contributes to the virological, molecular and phylogenetic characterization of two major pathologies in the Moroccan poultry sector, namely low pathogenic avian influenza H9N2 subtype (LPAI H9N2) and Newcastle disease (ND). The efficacy of the vaccines used against these pathologies was also evaluated through a virulent test.

In 21 broiler farms that showed specific clinical signs of LPAI, 105 samples were collected between July 2016 and October 2018. Post-mortem examination of the birds showed typical lesions of LPAI H9N2. After virus isolation from EOPS eggs, haemagglutination inhibition (IH) identification tests with OIE reference sera and assessment of the intravenous pathogenicity index (IVPI) virus confirmed to be the LPAI H9N2 virus with an IVPI of 0.00. Molecular diagnosis (rRT-PCR) revealed that 48% of samples (10/21) were positive for H9 with CT values between 18.6 and 34.8. Haemagglutinin (H9) phylogenetic analysis of four sequenced isolates (one isolate from 2016, two from 2017 and one from 2018) revealed that they belong to the G1 lineage and that there is limited genetic evolution of the virus over a period of 2 years.

Four inactivated vaccines (A, B, C and D) against LPAI H9N2 were evaluated by challenge with one of the viruses isolated on 170 conventional broiler chickens. The evaluation was based on clinical observations such as : respiratory signs, macroscopic lesions, serological analysis by ELISA and HI techniques and monitoring of viral excretion in tracheal swabs by real time RT-PCR. The results suggest that vaccines A and C provide better protection.

Newcastle disease is endemic in Morocco and several vaccines are marketed to fight this disease. A Moroccan ND isolate named "NDV JEL", used to evaluate the efficacy of vaccines, has been characterized by virological methods (Intracerebral Pathogenicity Index (ICPI), Intravenous Pathogenicity Index (IVPI) and Mean Death Time. (MDT)) and molecular (rRT-PCR, sequencing and phylogeny). The obtained result shows that a velogenic strain (ICPI = 1.9; IVPI = 2.45 and MDT = 54.4 h) belonging to genotype IV.

Among the latest vaccines approved for ND control is a vector vaccine delivered by turkey herpesvirus expressing the ND virus F gene (rHVT-F). The efficacy of this vaccine was tested for the protection of poults against ND using the "NDV JEL" strain. The results showed protection of the vaccinated poults which showed an absence of clinical signs, better body weight gain and reduced shedding of challenge virus compared to the control group.

Keywords: Avian influenza; H9N2, molecular evolution; phylogeny; Morocco ; Newcastle disease, turkey, recombinant vaccine, virus challenge.