

ENQUETE SERO-EPIDEMIOLOGIQUE DE LA GRIPPE EQUINE DANS LA REGION DE KHENCHELA

Reçu le 05/02/2005 – Accepté le 10/07/2007

Résumé

L'objectif de cette étude était d'évaluer la prévalence des infections respiratoires d'origine virales chez les équidés. Dans cette perspective nous avons recherché des anticorps anti-grippaux chez 132 chevaux atteints d'affections respiratoires chroniques, tous stationnés dans la région de Khenchela, située au Nord-est de Constantine. Les équidés jouaient un rôle socio-économique important. Dans plusieurs zones rurales, les équidés étaient régulièrement utilisés comme force de traction pour la culture attelée et le transport de personnes et de marchandises. Ils contribuaient ainsi largement à l'augmentation de productions agricoles et à l'amélioration des conditions socio-économiques des populations rurales. Les résultats avaient montré que sur les 132 sérums testés, parmi lesquels 32 se sont avérés positifs (soit 24,24 p.cent) : 30 au test d'inhibition de l'hémagglutination et 2 à la réaction de fixation du complément. Ces résultats étaient discutés en relation avec ceux observés par d'autres auteurs.

Mots clés : Cheval, Virus de Grippe Equine, Inhibition de l'hémagglutination, Fixation du complément, Epidémiologie.

Abstract

The objective of this study is estimated prevalence of respiratory infections original virus among equines. With this in mind we looked for antibodies against influenza among 132 horses suffering from chronic respiratory diseases, all stationed in the Khenchela region, situated north-east of Constantine. Equids play an important socio-economic role. In several rural areas, horses are regularly used as tensile strength for the cultivation and transport of people and goods. They contribute greatly to increasing agricultural production and improving the socio-economic conditions of rural populations. The results showed that out of 132 sera tested, among which 32 were positive (24.24 percent): 30 exam hemagglutination inhibition of 2 and the reaction complement fixation. These results are discussed in relation to those obtained by other authors.

Keywords: Horse, Equine Influenza Virus, Inhibition of hemagglutination, Complement Fixation, Epidemiology.

BERERHI H¹
DIB A L¹
AIMEUR R¹
KABOUJA R²
BOUAZIZ O³
KRAOUCHI DE¹
BENAZZOUC M¹

1-Laboratoire de Medecine,
Département des Sciences
Vétérinaires, Faculté des Sciences,
Université Mentouri, Constantine,
Algérie.

2- Laboratoire d'Infectieux,
Département des Sciences
Vétérinaires, Faculté des Sciences,
Université Mentouri, Constantine,
Algérie.

3- Laboratoire de Reproduction,
Département des Sciences
Vétérinaires, Faculté des Sciences,
Université Mentouri, Constantine,
Algérie.

ملخص

132

30 %24.24 132 32
. Réaction de Fixation du Complément 2 Hemagglutination

الكلمات المفتاحية :

La médecine du cheval reste marquée par la fréquence élevée des affections respiratoires d'origine virale, mécanique et allergique.

Leur étiologie et leur séroprévalence demeure mal expliquée (Chabchoub et coll., 2001 ; Lucam et coll., 1999). Cependant, l'état de santé du cheptel équin en Algérie reste toujours menacé par l'apparition de certaines maladies infectieuses et contagieuses qui entraînent une morbidité et parfois une mortalité dans les élevages infestés. La grippe équine engendre des pertes économiques importantes, immobilise les effectifs séropositifs et perturbe les activités sportives (Chabchoub et coll., 2002; Fontaine, 1989 ;Jomaa, 1993; Authie, 1989).

En Algérie, les informations relatives à l'épidémiologie de cette pathologie sont inexistantes. Nous avons jugé utile de mener une étude séro-épidémiologique afin d'évaluer la prévalence de cette entité pathologique.

MATERIEL ET METHODES

Matériel

Population enquêtée

La population équine à Khenchela est relativement importante. D'après les statistiques du Ministère de l'Agriculture (2006), elle compte 850 équidés dont 568 adultes et 282 moins de 2 ans. Ces derniers sont composés de chevaux Barbes, Arabe barbes et des dérivés du Barbe, Ils appartiennent à des élevages traditionnels. Il n'existe pas de programme national de lutte contre ces épizooties. Ces caractéristiques géographiques de la population équine dans cette région nous ont amené à choisir la zone d'El Hamma et Mahmel situé au Nord -est de Khenchela, pour réaliser notre enquête épidémiologique.

Ces deux régions sont respectivement représentatives de la population de chevaux Barbes et Arabe - barbes et Asines.

Animaux

Notre étude s'était déroulée du mois de janvier à Décembre 2006. Les équidés étaient en nombre de 132. Ces animaux avaient présenté des affections broncho-pulmonaires chroniques.

Le diagnostic avait été réalisé sur la base des commémoratifs et l'examen clinique (toux et dyspnée évoluant depuis 3 mois).

Méthodes

Le sérum avait été obtenu à la veine jugulaire des animaux étudiés, une seule prise de sang avait été effectuée. Les sites de prélèvements étaient choisis en collaboration avec les services vétérinaires, les agents techniques et les propriétaires de chevaux en fonction du regroupement des équins.

Les animaux étaient âgés de 4 à 13 ans. L'échantillon sanguin de 20 ml avait été prélevé à la veine jugulaire dans des tubes vacutainers de 10 ml. Les sérums étaient répartis

en aliquotes et conservés à -20°C , avant de subir des examens sérologiques. Sur 132 échantillons de sérums récoltés, 60 étaient d'origine asine et 72 d'origine équine. Ils étaient testés au laboratoire Afssa (Agence Française Santé et Sécurité Alimentaire, Paris).

- Recherche des anticorps anti-grippaux
- Souches virales

Les antigènes des sous types 1 et 2 du virus et les antisérums de contrôle (positifs et négatifs) étaient fournis par le laboratoire Afssa de Paris.

Pour l'analyse des sérums à tester, deux techniques de diagnostic sérologique recommandées par l'office International des épizooties sont utilisées (Sgiura et Coll., 2001; Timoney, 2002).

➤ Test de réaction d'inhibition de l'hémagglutination:

C'est une technique en micro méthode, réalisée sur plaque à fond rond, qui avait été utilisée. Des sérums témoins positifs, provenant d'animaux ayant un titre élevé en anticorps Anti-grippal, avaient été employés. Les sérums témoins positifs, titrant 512, avaient été utilisés à la dilution de 1/10 ème. Les sérums à tester étaient inactivés à 56°C pendant 30 minutes puis étaient mis en contact (Volume / volume) avec une suspension d'hématies de poules à 20 % dans du PBS (Phosphate buffered saline-Bio Mérieux) pendant 30 minutes.

➤ Test de fixation du complément:

Pour la mise en évidence des anticorps fixant le complément dans les sérums équins collectés, la technique LBCF (Laboratory Branch Complement Fixation), adaptée en microméthode sur plaque, avait été utilisée (Anestad G et coll. en 2000). Les sérums avaient été décomplémentés à 56°C pendant 30 minutes. Ils avaient été dilués extemporanément selon une progression géométrique de raison 2 à partir de la dilution initiale de 1/8 et placés à raison de 25 μl par puits d'une plaque à 96 puits.

L'antigène dilué au 1/4 dans un tampon Véronal pH 7,3, de façon à contenir une unité antigénique dans un volume de 25 μl par puits et la plaque avait été incubé 10 minutes à la température ambiante. Le complément pré-titré avant chaque série de réaction, avait été ajouté à raison de 2 UI par 50 μl et par puits, et la plaque placée à 37°C pendant 30 minutes.

Le système hémolytique utilisait des hématies de mouton à 2% dans un tampon Veronal pH 7,3. Le sérum hémolytique était un sérum anti-hématies de mouton préparé chez le lapin et utilisé à la dilution de 1/500. La sensibilisation des hématies était réalisée au moment de l'emploi. La lecture de la plaque se faisait à 100% d'inhibition de l'hémolyse : un sérum était considéré positif s'il présentait un titre de 8 ou plus.

RESULTATS

Dans le cadre de l'enquête, 132 sérums asins et équins avait été testés, parmi lesquels 32 se sont avérés positifs

(soit 24,24 %) : 30 au test d'inhibition de l'hémagglutination et 2 à la réaction de fixation du complément.

Les résultats obtenus dans les différentes zones visitées (tableau 1) avaient montré que des anticorps dirigés contre le virus de la grippe équine avait été dépisté dans toutes les zones.

Tableau 1 : Prévalence sérologique de la grippe équine dans les différentes zones visitées

Localité visitée	Nb. Sérums testés		Sérums positifs			
	Nb.	%	IH (nb)	IH%	Rfc (nb)	Rfc (%)
El-Hamma	72	18,25	18	100	0	0
Mahmel	60	14,33	12	85,71	2	14,28
Total	132	32,24	30	93,75	2	6,25

IH : Inhibition de l'hémagglutination, **RFC :** Réaction de fixation du complément, **Nb :** Nombre

Tous les échantillons de sérums positifs provenant des zones d'El Hamma et Mahmel, contenaient des anticorps inhibant l'hémagglutination (soit 93,75 %).

Ceux qui étaient positifs à la réaction de fixation du complément étaient dépistés seulement dans la zone de Mahmel (soit 6,25 %).

La répartition des sous types du virus avait différé en fonction des localités visitées (tableau 2).

Tableau 2 : Répartition par localité visitée des sous types du virus

Localité visitée	Nb.Sérums positifs	Sérums positifs au sous-type 1		Sérums positifs au sous-type 2		Sérums positifs aux sous-types 1 et 2*	
		Nb.	%	Nb.	%	Nb.	%
EL Hamma	18	2	11,11	11	61,11	5	27,77
Mahmel	14	0	0	8	57,14	6	42,85
Total	32	2	6,25	19	59,37	11	34,37

*Infection mixte

Ainsi, le sous type 1 et le cas d'infections associant les sous types 1 et 2 du virus de la grippe avaient été identifiés dans toutes les régions couvertes par l'enquête, sauf à Mahmel, où des anticorps vis à vis du seul sous- type 2 étaient mis en évidence.

Ce dernier prédominé dans toutes les zones visitées : il était détecté dans 61,11% des sérums testés positifs dans la zone d'El Hamma. A Mahmel le taux de prévalence des anticorps dirigés contre les sous type 2 était de 57,14 %. La prévalence des anticorps vis à vis des sous type 1 du virus était plus importante à El Hamma (11,11 %) qu'à Mahmel où elle était négative (0 %).

Le taux de prévalence avait varié selon l'espèce animale (tableau 3), il était plus élevé chez les asins (soit 31,66 %) et n'atteignait que (18,05 %) chez les équins.

Tableau 3 : Répartition des sérums testés par race

Espèce animale	Nb. Sérums testés		Sérums positifs			
	Nb	%	IH (nb)	IH(%)	RFC(nb)	RFC(%)
Asine	60	19	18	94,73	1	5,26
Equine	72	13	12	92,30	1	7,69
		18,05				
Total	132	32	30	93,75	2	6,25
		24,24				

Les anticorps inhibant l'hémagglutination étaient identifiés chez 94,73 % des asins testés positifs, tandis que ceux fixant les compléments dépistés chez 5,26 % de ces animaux.

Chez les équins, le taux de prévalence de ces deux types d'anticorps est de 92,30 % et de 7,69 %.

En raison des disparités qui existaient au niveau du nombre de sérums collectés par tranche d'âge, les résultats relatifs aux taux d'infection n'avaient pas permis de conclure qu'il existait une corrélation entre l'âge et le degré de réceptivité des animaux à la maladie (tableau 4).

Tableau 4 : Résultats par groupe d'âge des examens sérologiques

Groupe d'âge	Nb. Sérums testés	Nb. Sérums positifs	% sérums positifs
4-5 ans	43	15	34,88
6-10 ans	80	14	17,50
11-13 ans	09	03	33,33
Total	132	32	24,24

DISCUSSION

Les échantillons testés étaient des sérums uniques. Deux techniques parallèles de diagnostic étaient utilisées : le test d'inhibition de l'hémagglutination et la réaction de fixation du complément (Sgiura et coll., 2001 ; Timoney, 2002; Anestad et coll., 2000).

Le choix de la première méthode se justifiait par le fait que les anticorps inhibant l'hémagglutination persistaient dans le sérum plus longtemps et leur mise en évidence était la preuve de l'existence de cas d'infection ancienne.

La deuxième technique, en revanche, permettait de détecter les anticorps fixant le complément, preuve de l'existence d'une infection récente (Sidibé et coll., en 2002 au Mali ; Bousseta et coll., 2000 en Tunisie ; Fontaine et coll., 1989 en France ; Le Minor et coll., 1982 en France; Zientara et coll., 2002 en France).

Dans les zones de l'étude, le taux d'infection des équidés était de 24,24 %. Les anticorps mis en évidence résultaient d'une infection naturelle car les animaux porteurs de ces anticorps n'avaient jamais été vaccinés

contre la grippe. Ils étaient dirigés contre les sous type 1 et 2 du virus de la maladie.

Cette enquête avait permis d'établir que dans la localité d'El-Hamma avait circulé le sous -type 1 du virus de la grippe avec une prévalence de 11,11%, il était absent dans la localité de Mahmel ; le sous type 2 était présent dans les deux localités avec une prévalence égale de 61,11% et 57,14 % ; les 2 sous type 1-2 avaient circulé dans les deux zones d'El Hamma et Mahmel avec une prévalence plus importante dans la région de Mahmel avec 42,85 % que dans la localité d'El Hamma soit 27,77%.

Tous les virus isolés par Plateau et coll., en France depuis 2001, de même que les virus isolés par Sidibé et coll., en 2002 au Mali ; Goto, 2002 au Japon et Guo et coll., 2003 en Chine, appartenaient au sous type 2. En Tunisie en 2001, Chabchoub et coll., avait constaté que les chevaux présentés aussi une séroprévalence importante pour le sous type 2 ; Bousseta et coll., 2000 en Tunisie rejoindraient ainsi les constatations de Lucam et coll., en 1999 qui observaient dans les voies aériennes profondes, plus de lésions A/ equi/2 qu'à A/equi/1. On constatait que le virus A/equi/2 engendrait plus des séquelles de broncho-pneumonies que le virus A/equi/1.

Par contre Thorsen et coll., en 1983, avait trouvé dans des échantillons de mucus respiratoire des chevaux atteints de broncho-pneumonies, une activité inhibitrice de l'hémagglutination essentiellement élevée envers A/equi/1 ; Ellouze en 2000 en Tunisie affirmait que l'épizootie enregistrée entre 1998- 1999 était causée par le sous type 1, avec une prévalence de 10 % pour le sous type 2.

La présente étude avait montré l'existence de cas d'infection mixte (infection d'un même sujet par les sous types 1 et 2) dans toutes les zones de l'enquête. Sidibé et coll., en 2002 au Mali affirmaient l'existence de cas d'infection mixte pour le sous type 1 et 2 dans toutes les localités enquêtés à l'exception d'une seule et rejoindraient les constatations faites par Arab en 1997 en Arabie Unie, de Matsmura et coll., en 2003 au Japon et de Moraillon et coll., en 1978 au Maroc.

Le taux élevé d'infection des asins par le virus de la grippe (soit 31,66%) montrait que ces derniers étaient plus réceptifs à la maladie que les équins (soit 18,05%).

Ainsi, le taux de prévalence de l'infection était plus élevé à El-Hamma où l'effectif des asins avait été plus important (soit 25%). Le taux le moins élevé était obtenu dans la localité de Mahmel où l'espèce équine prédominait (soit 23,33%). Les mêmes observations étaient rapportées par Sibidé et coll., en 2002 au Mali.

Une autre enquête avait été réalisée par Bousseta et coll., 2000 chez les équidés dans le Nord-est tunisien, par Chabchoub et coll., en Tunisie en 2002, Sibidé et coll., au Mali en 2002 et Moraillon et coll., 1978 au Maroc, tous ces

auteurs confirmaient l'existence d'une grande hétérogénéité de l'âge des animaux séropositifs envers la grippe.

Nyaga et coll., (2000), au Japon, relevait des taux de séroprévalence nettement plus bas chez les sujets âgés de moins de deux mois, ceci était important lors des premières tétés où la résistance maximale aux maladies dans les premières semaines de vie dépend de la prise et l'absorption des immunoglobulines colostrales. Les anticorps et d'autres protéines macromoléculaires étaient absorbés principalement pendant les 24 premières heures, puis de façon négligeable ensuite.

CONCLUSION

Le virus de la grippe équine (sous type 1 et 2) circulait parmi les populations équines et asines dans les deux régions couvertes par l'enquête.

L'étude avait permis d'établir une prédominance nette des cas d'infection ancienne de grippe équine et asine étudiées (soit 93,75 %).

Cette étude révélait que le sous type 2 occupait une place non négligeable dans la genèse des lésions obstructives et chroniques.

Ces résultats mériteraient d'être confirmés par d'autres travaux notamment en utilisant le lavage bronchoalvéolaire (L.B.A) pour la recherche des micro-organismes dans le liquide retiré par le lavage ou la technique de séroneutralisation pour une affection ancienne ou des techniques liées aux progrès de la biologie moléculaires : les sondes moléculaires constituaient des outils particulièrement précieux en biologie humaine et vétérinaire.

La technique d'amplification génique, permettra d'améliorer considérablement le diagnostic, à partir d'échantillons cliniques.

Le contrôle de la grippe en Algérie est indispensable pour les services vétérinaires afin d'appliquer un programme de lutte basé sur une prophylaxie sanitaire et médicale par l'usage d'un vaccin à base de sous type 1 et 2 du virus de la maladie et un contrôle au niveau des frontières.

REFERENCES

- [1]- Chabchoub A., Louzir H., et Aouina Th (2001). Recherche des anticorps précipitants envers *Micropolyspora faeni* anti *thermoactinomyces vulgaris* et extraits totaux de foin moisi dans le de chevaux atteints d'affections broncho-pulmonaires chroniques dans le Nord-est de la Tunisie. *Revue Méd Vét.*, **144**, 49-55.

- [2]- Lucam F., Fedida M., Dannacher G., Couder M et Peillon M (1999). La grippe équine. Caractères de la maladie expérimentale. *Revue Méd Vét.*, **125**, 1273-1293.
- [3]- Chabchoub A., Guelfi JF., et Lescure F (2002). Affections broncho-pulmonaires chroniques du cheval. Contribution à l'étude de la gazométrie sanguine de repos. *Pratique Vét Equine.*, **25**, 5-11.
- [4]- Fontaine M. (1989). Grippe du cheval. *Pratique Vét Equine*, 3,9-14.
- [5]- Jommaa I. (1993). Contribution à l'étude de la grippe équine en Tunisie. Thèse Doct. Méd. Vét. Sidi Thabet.
- [6]- Authie E (1989). Contribution à l'étude des affections broncho-pulmonaires chroniques du cheval. Thèse Doc Vét. Créteil.
- [7]- Ministère de l'Agriculture, statistiques, 2006. Sigiura T., Sugita S., Imagawa H., Kanaya T., Ishiyama S., Saeki N., Uchiyama H., Tanigawa M., et Kuwamo A. (2001). Serological diagnosis of equine influenza using the hemagglutinin protein produced in a baculovirus expression system. *Vet.Clin.North Am.Equine Pract*: **9**, 65-82.
- [8]- Timoney P.J.(2002). Equine viral influenza. O.I.E. Manual of Standards for diagnostic Tests and Vaccines. Paris:2001, 582-594.
- [9]- Anestad G and Maagaard O (2000). Rapid diagnosis of equine influenza. *Vet Rec.*, **126**:550-551.
- [10]- Sidibé S., Bocum Z., Simbé C.F., Tounkara K., Bakkali M.M et Kané M. (2002). Grippe équine au Mali : résultats d'une enquête séroépidémiologique. *Revue Elev. Med Vet. Pays Trop.* **55** (2), 89-92
- [11]- Bousseta M., Chabchoub A., Ghram A., Jommaa I., Ghorbel A., Aouina T et Ben Amor.(2000). Enquête séroépidémiologique sur la grippe et l'anémie infectieuse des équidés dans le Nord-est tunisien. *Revue Elev. Med Vet. Pays Trop.* **47**.277-281.
- [12]- Fontaine M., et Moraillon A. (1989). Considération sur l'épizootie de grippe 1987-1988 en France. *Rec Méd Vét.* **156**, 139-145
- [13]- Le Minor L et Veron M.(1982). Bactériologie médicale. Paris.France.Flammarion Médecine-Sciences.114-115.
- [14]- Zientara S., Plateau E.(2002). Vaccins et vaccinations chez le cheval. *Point vét.* **24** : 601-610.
- [15]- Plateau E., Crucière C., Jacquet A et Cheyroux M. (2001). Mise au point et recherche en cours sur l'évolution épidémiologique et antigénique de la grippe équine en France. *Bull. Mens. Soc. Vét. Prat. Fr.* **60** : 6-10.
- [16]- Goto H., Shimizu K., Abé T et Kanamitsu M. (2002). Seroepidemiological study on equine influenza in Japon. *J Clin Microbiol.* **2** (2),89-93.
- [17]- Guo Y., Wang M et Zhang GS. (2003). Seroepidemiological and molecular evidence for the presence of two H3N8 equine influenza viruses in China in 2001-2002. *J.Gen.Virol.* **76** :2009-2014.
- [18]- Chabchoub A., Louzir H., Aouina Th., Ghram A., Bousseta M et Jommaa I. (2001). Recherche des anticorps anti-grippaux dans le sérum de chevaux atteints d'affections broncho-pulmonaires chroniques. *Revue Méd.Vét.* **145** (5) :343-348.
- [19]- Thorsen J., Willoughby R A., Mc Donnell W., Walli V.E.O., Viel et Bignell W.(1983). Influenza hemmagglutination inhibiting activity in respiratory mucus from Horses with chronic obstructive pulmonary disorders. *Can.J.Comp.Med.* **47** :332-335.
- [20]- Ellouze M.R. (2002). Contribution à l'étude épidémiologique de l'anémie infectieuse, de l'artérite à virus, de la rhinopneumonie et de la grippe équine en Tunisie. Thèse Doc. Vét. Sidi Thabet.
- [21]- Arab A.(1997). Equine serological survey 1995-1996. United Arab Emirates Ministry of Agriculture and Fisheries.
- [22]- Matsumura T., Komano M., Sugiura T., Kamada M. et Fukunaga Y.(2003). Sero-epizootiological studies on viral diseases in horses on a breeding farm in Japan during a period from 2001-2002. *Bull of Equine Research Institute.* **23** :28-34.
- [23]- Moraillon A., Moraillon R., Toma B., Sedrati A. et Lahlou Kassi S.(1978). Enquête épidémiologique de l'anémie infectieuse, de l'artérite à virus, de la rhinopneumonie et de la grippe équine au Maroc. *Rec. Méd.Vét.* **154** :921-928.
- [24]- Nyaga PN., Wiggins A.D et Priester W.A.(2000). Epidemiology of equine influenza risk by age, breed and sex. *Comp Immun. Microbiol Infects.Dis.* **3** : 67-73.