

Laboratoire de **DIAGNOSTIC**



Bilan 2020 : Identification des pathogènes aviaires au Québec grâce à l'utilisation de tests moléculaires

Par Dr Carl A. Gagnon, m.v.^{1,2}, John M. Fairbrother, D.M.V.^{1,3} et Dr Stéphane Lair, m.v.⁴

L'industrie aviaire du Québec est un pan important de notre agriculture et de notre économie. Par exemple, en 2019, la production d'œufs s'est élevée à 1,7 milliard d'œufs qui sont consommés chez nous et qui nécessitent un cheptel de plus de cinq millions de poules pondeuses. Ainsi, la production québécoise annuelle d'œufs représente en moyenne 20 % de la production canadienne¹. Ces dernières années, les Québécois ont démontré un intérêt croissant pour la possession d'oiseaux de basse-cour, pour leur propre consommation d'œufs. Ces oiseaux s'ajoutent à notre cheptel et nous recevons de plus en plus d'appels téléphoniques de collègues vétérinaires qui n'ont pas l'habitude d'intervenir auprès de ce type d'élevage. Pour faire face à cette situation, le ministère de l'Agriculture, des Pêcheries et de l'Alimentation du Québec (MAPAQ) a créé en 2014 un réseau à l'intention des médecins vétérinaires qui œuvrent au sein des élevages de basse-cour (<https://www.mapaq.gouv.qc.ca/fr/Productions/santeanimale/maladies/RAIZO/reseauaviaire/Pages/Reseauaviaireelevationbassecour.aspx>; consulté le 27/01/2021). Les médecins vétérinaires que ce réseau intéresse peuvent s'y inscrire et participer aux formations offertes. Le phénomène de l'élevage d'oiseaux de basse-cour a fait réapparaître de vieilles maladies qui sont généralement bien contrôlées par l'industrie aviaire, par exemple, la maladie de Marek, causée par un alphaherpèsvirus². Cet état de fait illustre très bien l'importance d'adopter une vision intégrée dans le contrôle et la surveillance des maladies infectieuses chez les animaux. Dans ce contexte, il ne faut pas oublier les oiseaux exotiques et de la faune, lesquels peuvent être porteurs de plusieurs pathogènes tels que l'influenzavirus aviaire et le virus de la maladie de Newcastle qui sont susceptibles de poser problème pour les oiseaux de la ferme et de basse-cour, en plus d'être porteurs de pathogènes zoonotiques comme le virus du Nil occidental, par exemple.

Plusieurs laboratoires québécois (privés, gouvernementaux et universitaires) jouent un rôle clé dans le contrôle et la surveillance des maladies infectieuses aviaires. Chacun de ces laboratoires a des responsabilités distinctes et cible des pathogènes différents, conformément aux mandats qui leur sont confiés. Les méthodes de diagnostic moléculaire (séquençage Sanger et à haut débit) ont grandement amélioré notre capacité à identifier les pathogènes qui peuvent être présents dans les

échantillons cliniques. Un recensement des pathogènes aviaires identifiés en 2020 au Québec par le Laboratoire de diagnostic moléculaire (LDM) et le Laboratoire de référence pour *Escherichia coli* (ECL) du Service de diagnostic de la Faculté de médecine vétérinaire (FMV) vous sera présenté. Si certains pathogènes ne sont pas répertoriés dans ce recensement, cela ne signifie pas que les oiseaux du Québec n'en sont pas porteurs; cela peut simplement vouloir dire que leur détection relève d'autres laboratoires.

Le phénomène de l'élevage d'oiseaux de basse-cour a fait réapparaître de vieilles maladies qui sont généralement bien contrôlées par l'industrie aviaire illustrant l'importance d'adopter une vision intégrée dans le contrôle et la surveillance des maladies infectieuses chez les animaux.

Les échantillons soumis aux LDM et ECL sont très variés et dépendent du pathogène à détecter et de l'objectif visé. Par exemple, nous recevons des follicules de plumes pour détecter le virus de la maladie de Marek, des écouvillons de fentes palatines pour *Mycoplasma gallisepticum*, des tendons pour le virus de l'arthrite virale, différents organes extra-intestinaux (foie, rate, péricarde, vitellus) pour *E. coli*, etc. Nous confirmons également le statut microbien négatif – envers certains pathogènes – des poulaillers qui produisent les œufs embryonnés qui seront utilisés par l'industrie pharmaceutique pour la production de vaccins humains contre le virus influenza. De plus, certains échantillons sont regroupés, ce qui permet de réduire le coût des analyses et de tester simultanément un grand nombre d'oiseaux. La majorité des tests PCR et qPCR réalisés par nos laboratoires ont pour objectif d'assurer la surveillance des maladies infectieuses et de confirmer le statut négatif des poulaillers envers divers pathogènes. Sauf dans le cas d'*E. coli*, la majorité des résultats obtenus par nos laboratoires sont négatifs étant donné que les animaux sont

généralement en santé et ne présentent aucun signe clinique. Il n'en demeure pas moins que les médecins vétérinaires doivent composer avec plusieurs maladies infectieuses et prendre les mesures appropriées pour assurer la santé et le bien-être animal, de même que la santé publique.

La liste des pathogènes détectés par nos laboratoires en 2020 (avec leur classification taxonomique et les maladies qu'ils provoquent) est présentée au tableau 1. Ces pathogènes ont été détectés au moyen de tests PCR et qPCR. Le nombre de cas positifs pour chacun des pathogènes détectés est indiqué à la figure 1. Dans le cas d'*E. coli*, les bactéries ont été préalablement isolées dans les laboratoires de bactériologie et certains isolats ont été envoyés au ECL pour caractérisation génomique. La majorité des échantillons de fermes commerciales et de basse-cour

que nous analysons sont de la poule. Il est à noter que pour 2020, nous avons également reçu des échantillons de canard et de dinde.

Comme l'indique la figure 1, les pathogènes détectés en plus grand nombre par PCR et qPCR au Service de diagnostic en 2020 sont : le virus de la bronchite infectieuse aviaire (IBV) pour la ferme/basse-cour (212 cas sans distinction de la souche virale et 60 cas avec la souche virale DMV, souche apparue en 2017 au Québec et responsable du syndrome de fausses pondeuses); le virus du Nil occidental (VNO) pour la catégorie exotique/faune (n=20); et le virus de la maladie de Marek (MDV) pour toutes les catégories d'oiseaux (n=43), dont un seul cas se trouve dans la catégorie oiseaux exotiques/de la faune alors qu'une forte proportion a été détectée chez les oiseaux de basse-cour.

Tab. I - Liste des pathogènes aviaires identifiés au Service de diagnostic de la FMV par méthode moléculaire en 2020

Catégorie de pathogènes	Nom	Abréviation	Maladie
Bactéries	<u>Genre Espèce</u>		
	<i>Chlamydomphila spp</i> ^a	<i>C. psittaci</i>	Chlamydiose aviaire ^c
	<i>Escherichia coli</i>	<i>E. coli</i>	Colibacillose
	<i>Mycobacterium spp</i> ^b	<i>M. avium</i>	Tuberculose aviaire
	<i>Mycoplasma gallisepticum</i>	<i>M. gallisepticum</i> (ou MG)	Maladie respiratoire chronique
	<i>Mycoplasma synoviae</i>	<i>M. synoviae</i> (ou MS)	Synovite infectieuse
Parasite	<u>Genre Espèce</u>		
<i>Histomonas meleagridis</i>	<i>H meleagridis</i>	Histomonose (peut avoir différents noms selon le syndrome observé)	
Virus	<u>Genre (Espèce)</u>		
	<i>Atadenovirus</i> (<i>Duck atadenovirus A</i> ; anciennement <i>Duck adenovirus-1</i>)	DAdV-1	Syndrome de la chute de ponte ^c
	<i>Aviadenovirus</i> (<i>Fowl aviadenovirus A to E</i> ; anciennement <i>Fowl adenovirus A to E</i>)	FAdV	Hépatite à corps d'inclusion
	<i>Avibirnavirus</i> (<i>Infectious bursal disease virus</i>)	IBDV	Maladie de la Bursite infectieuse (ou maladie de Gumboro)
	<i>Avipoxvirus</i> (<i>Fowl and Canarypox virus</i>)	Avian pox	Variole aviaire
	<i>Flavivirus</i> (<i>West Nil Virus ou Virus du Nil occidental</i>)	WNV ou VNO	Fièvre du Nil occidental ^c
	<i>Gammacoronavirus</i> (<i>Avian coronavirus</i>)	IBV	Bronchite infectieuse aviaire (inclus un syndrome important: fausses pondeuses)
	<i>Gyrovirus</i> (<i>Chicken anemia virus</i>)	CAV	Anémie infectieuse du poulet
	<i>Itoivirus</i> (<i>Gallid alphaherpesvirus 1</i>)	ILTV ou GaHV-1	Laryngotrachéite infectieuse aviaire ^c
	<i>Mardivirus</i> (<i>Gallid alphaherpesvirus 2</i>)	MDV ou GaHV-2	Maladie de Marek
<i>Orthobornavirus</i> (<i>Psittacine bornavirus</i>)	PaBV	Maladie de dilatation du proventricule	
<i>Orthoreovirus</i> (<i>Avian orthoreovirus</i>)	ARV	Divers syndromes; ex. Arthrite virale	
<i>Tremovirus</i> (<i>Tremovirus A</i>); nom commun: <i>Avian encephalomyelitis virus</i>	AEV	Encéphalomyélite aviaire ^c	

^aLe Laboratoire réalise un test PCR générique *Chlamydomphila spp*, qui ne fait pas pas la différenciation entre les espèces. Chez les oiseaux, l'espèce recherchée est *psittaci*.

^bLe Laboratoire réalise un test PCR générique *Mycobacterium spp*, c.-à-d. qui est capable de détecter différentes espèces de *Mycobacterium*. Cependant, le séquençage nucléotidique de l'amplicon doit-être réalisé pour différencier les espèces. Chez les oiseaux, il existe plusieurs espèces de *Mycobacterium*. Ex. *avium*, *genavense* et *xenopi*.

^cMaladies à notification immédiate.

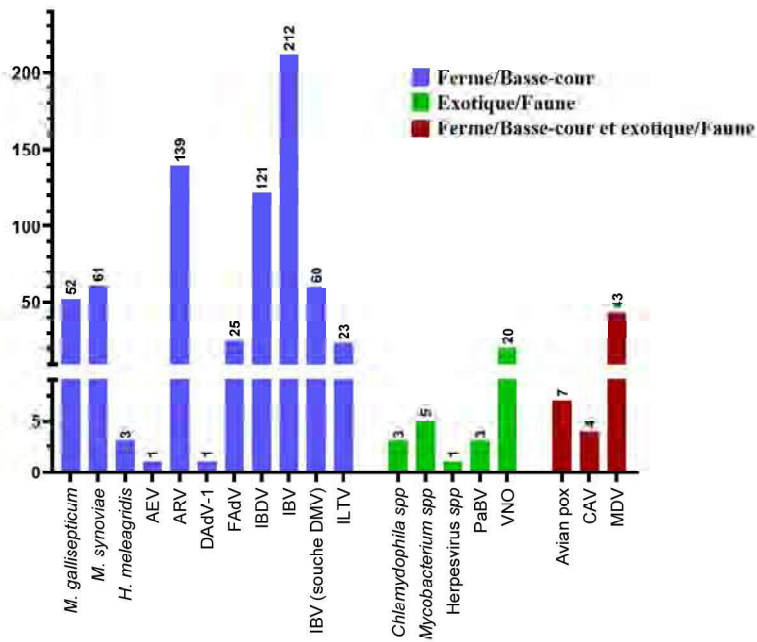


Fig. 1 – Pathogènes aviaires détectés en 2020 au CDVUM. Les abréviations des pathogènes sont décrits au tableau 1. L'inscription *spp* signifie qu'un test PCR générique, qui peut détecter différentes espèces des genres *Chlamydomphila* et *Mycobacterium* et de la famille *Herpesviridae*, a été utilisé^{3,4}. Seul l'amplicon du test PCR générique herpesvirus a été séquencé et l'analyse bioinformatique de la séquence nucléotidique a identifié une grande homologie avec un alphaherpesvirus de Hibou grand-duc.

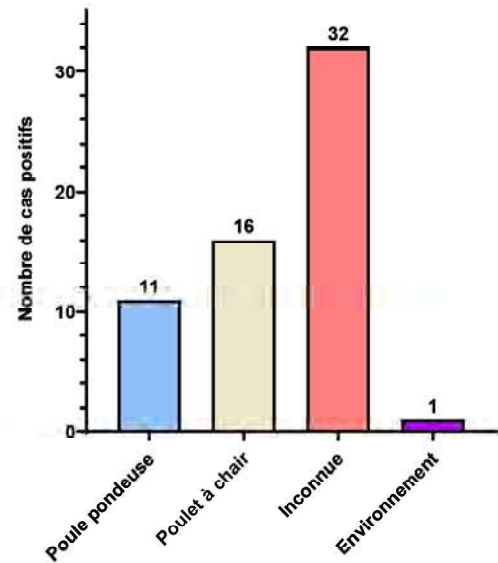


Fig. 2 – Origine des cas positifs pour la souche DMV du virus de la bronchite infectieuse aviaire (IBV). En plus de prélever des échantillons cliniques chez les animaux (poule pondeuse et poulet à chair), les médecins vétérinaires recueillent des échantillons de l'environnement, et ce, pour favoriser le contrôle des maladies infectieuses. Ces échantillons comprennent, notamment, des frottis de planchers et murs (abattoir, camion de transport d'animaux), des frottis des systèmes de ventilation, des échantillons de sol et d'eau, etc. Inconnue : dans la requête soumise au laboratoire, le médecin vétérinaire n'a pas précisé de quel type d'élevage provenaient les échantillons.

Le VNO, transmis par des moustiques (*Culex pipiens-restuans*), est une préoccupation de santé publique, d'autant plus qu'il n'existe aucun traitement spécifique ou de vaccin pour contrer ce virus chez l'humain. Nos résultats diagnostiques de 2020 montrent que depuis les premiers cas humains apparus au Canada en 2002, le virus est toujours présent et continue de se transmettre. Ces dernières années, le nombre de cas humains répertoriés au Québec s'élève à quelques dizaines par année, avec un pic important de près de 200 cas en 2018 (<https://inspq.qc.ca/zooses/vno/surveillance>; consulté le 28/01/2021). Une liste du nombre de cas positifs de VNO par espèce aviaire, que nous avons obtenue en 2020, est présentée au tableau 2. Au total, 20 cas de VNO ont été identifiés en 2020, et ce, chez neuf espèces différentes d'oiseaux sauvages. L'espèce aviaire chez qui on a détecté le nombre le plus élevé de cas de VNO est le faucon émerillon (*Falco columbarius*) (n=6), suivi de très près par l'épervier de Cooper (*Accipiter cooperii*) (n=5).

ANALYSES GÉNOMIQUES

Pour certains des pathogènes identifiés, nos collègues médecins vétérinaires nous demandent d'approfondir nos analyses afin de caractériser les souches, les génotypes, les sérotypes, les facteurs de virulence, etc. Certaines de ces analyses seront mise à contribution dans la confection de vaccins autogènes. Voici un aperçu des résultats que nous avons obtenus sur la caractérisation génomique par séquençage d'une portion ou de la totalité du génome microbien.

Tab. 2 - Oiseaux sauvages trouvés positifs au VNO en 2020.

Espèces	Nombre de cas VNO PCR positifs
Autour des palombes	1
Buse à épaulettes	1
Buse à querc rousse	1
Corneille d'Amérique	1
Épervier brun	1
Épervier de Cooper	5
Faucon émerillon	6
Petite buse	3
Pygargue à tête blanche	1
Total	20

Parmi les douze isolats *E. coli* dont le génome a été entièrement séquencé, 50 %, 25 %, 8,3 %, 8,3 % et 8,3 % sont de phylogroupes G ST117 (O78:H4, O non-défini:H4, O53:H4), B1 ST2040 (O84:H20, O115:H20, O159:H20), B2 ST131 (O25:H4), B2 ST429 (O2:H1) et C ST9862 (O78:H9), respectivement. Pour les cas d'IBV qui ont été partiellement séquencés pour identifier les souches virales, 66,6 %, 20,8 %, 6,3 %, 4,2 % et 2,1 % des cas sont de type DMV, Mass41, Conn46, CA1737, et 4/91, respectivement. De plus, notre test qPCR spécifique pour la détection de la souche DMV indique que 18,3 % ($n=11$), 26,7 % ($n=16$), 53,3 % ($n=32$) et 1,7 % ($n=1$) des cas ont été détectés chez des poules pondeuses, des poulets à chair, de source inconnue et dans l'environnement, respectivement (figure 2). Toutes les souches du virus de la bursite infectieuse (IBDV) qui ont été caractérisées sont de type 105_Pennsylvania (génogroupe 2). Comme à l'habitude, les réovirus aviaires (ARV) présentent une très grande variabilité génomique et plusieurs souches virales sont classées dans les différents « clusters » 1, 2, 3, 4 et 6. Enfin, la caractérisation génomique des adénovirus aviaires (FAdV) indique une prépondérance de souches de type 8b et la détection de souches de type 3 (93,3 % et 6,7 % des cas analysés, respectivement). Aucun cas de souche virale ILTV n'a été séquencé en 2020. Par ailleurs, nous avons participé à une étude pancanadienne publiée en 2020 et dans laquelle la caractérisation du génome entier des souches virales d'ILTV a été réalisée⁵. Dans cette étude, les deux tiers des souches québécoises ont été génétiquement classées dans le génotype V (CEO révertant) tandis que le tiers a été classé dans les génotypes VI-IX (souche sauvage). À l'échelle canadienne, 71 %, 21 % et 7 % des souches d'ILTV ont été classées dans les génotypes CEO révertant, sauvage et vaccin TCO dérivé (génotypes I-III), respectivement.

FAITS SAILLANTS

En 2019, nous avons identifié le premier cas au Québec d'infection à l'adénovirus de canard (DAdV-1) dans un élevage de la même espèce⁶. Les oiseaux aquatiques sauvages semblent être le réservoir de ce virus et l'infection est généralement asymptomatique chez le canard et l'oie. Cependant, la littérature rapporte des cas sporadiques d'infection au virus DAdV-1 survenus chez de jeunes oiseaux qui présentaient des problèmes respiratoires et un taux de mortalité variant entre 2 % et 7 %. Une infection au DAdV 1 chez la poule pondeuse est beaucoup plus dramatique, puisqu'elle peut provoquer une diminution de 40 % de la production d'œufs ainsi que des anomalies de la coquille. Chez la poule pondeuse, le DAdV 1 est l'agent étiologique du syndrome de la chute de ponte, qui est une maladie à notification immédiate. À la fin décembre 2020, le MAPAQ a soumis des échantillons de canards pour analyses. Nos analyses génomiques ont confirmé le 2^e cas d'infection au DAdV-1 chez le canard au Québec (figure 1). Il est essentiel d'empêcher tout contact direct ou indirect entre les canards ou les oies et les poules pondeuses pour éviter l'apparition, chez ces dernières, du syndrome de la chute de ponte, et ses conséquences cliniques et économiques catastrophiques.

CONCLUSION

Le fait que la présence de pathogènes puisse être asymptomatique chez une espèce tout en étant susceptible de provoquer des conséquences cliniques importantes chez une autre espèce (ex. le DAdV 1 chez le canard et chez la poule) illustre très bien l'importance d'avoir une vision intégrée de la surveillance des maladies infectieuses aviaires. Cela est d'autant plus vrai lorsque nous ajoutons la présence de pathogènes zoonotiques, qui peuvent se retrouver autant chez nos oiseaux de ferme et de basse-cour que chez nos oiseaux exotiques et de la faune.

¹Centre de recherche en infectiologie porcine et avicole (CRIPA-FRQ),

²Laboratoire de diagnostic moléculaire (LDM), ³Laboratoire de référence pour *Escherichia coli* (ECL) du Service de diagnostic (SD) et ⁴Centre québécois sur la santé des animaux sauvages (CQSAS) de la Faculté de médecine vétérinaire (FMV), Université de Montréal, Saint-Hyacinthe (Québec) Canada.

REMERCIEMENTS :

Nous remercions tous les médecins vétérinaires qui ont soumis des échantillons cliniques à leurs laboratoires de diagnostic universitaires. Carl A. Gagnon et John Fairbrother remercient le CRSNG (subventions à la découverte), la Grappe porcine canadienne de recherche et de développement et le CRIBIQ pour leur soutien financier. Les auteurs désirent remercier leur personnel de laboratoire pour le dévouement dont ils ont fait preuve en ces temps de COVID-19 dans la réalisation des activités de diagnostic.

Références

1. Fédération des producteurs d'œufs du Québec (2020) Rapport annuel 2019/2020.
2. Brugère-Picoux J, Vaillancourt J-P, Bouzouaia M, Shivaprasad HL, Venne D (2015) Manuel de pathologie aviaire. Association française pour l'avancement des sciences (AFAS)
3. Gagnon CA, Tremblay J, Larochelle D, Music N, Tremblay D (2011) Identification of a novel herpesvirus associated with cutaneous ulcers in a fisher (*Martes pennanti*). J Vet Diagn Invest 23:986-990
4. St-Jean G, Gagnon CA, Soualhine H, Tremblay M, Beaulieu AA, Sylvestre D (2018) *Mycobacterium xenopi* systemic infection in a domestic fiery-shouldered conure bird (*Pyrrhura egregia*). JMM Case Rep 5 :e005158
5. Perez Contreras A, van der Meer F, Checkley S, Joseph T, King R, Ravi M, Peters D, Fonseca K, Gagnon CA, Provost C, Ojkic D, Abdul-Careem MF (2020) Analysis of Whole-Genome Sequences of Infectious Laryngotracheitis Virus Isolates from Poultry Flocks in Canada: Evidence of Recombination. Viruses 12
6. Chenier S, Desroches M, Provost C, Bournival V, St-Sauveur VG, Koszegi M, Gagnon CA (2019) First reported outbreak of Duck adenovirus A tracheobronchitis in 3-week-old ducklings in Quebec including whole genome sequence of the virus. Can Vet J 60:1285-1288