

Direction des bibliothèques

AVIS

Ce document a été numérisé par la Division de la gestion des documents et des archives de l'Université de Montréal.

L'auteur a autorisé l'Université de Montréal à reproduire et diffuser, en totalité ou en partie, par quelque moyen que ce soit et sur quelque support que ce soit, et exclusivement à des fins non lucratives d'enseignement et de recherche, des copies de ce mémoire ou de cette thèse.

L'auteur et les coauteurs le cas échéant conservent la propriété du droit d'auteur et des droits moraux qui protègent ce document. Ni la thèse ou le mémoire, ni des extraits substantiels de ce document, ne doivent être imprimés ou autrement reproduits sans l'autorisation de l'auteur.

Afin de se conformer à la Loi canadienne sur la protection des renseignements personnels, quelques formulaires secondaires, coordonnées ou signatures intégrées au texte ont pu être enlevés de ce document. Bien que cela ait pu affecter la pagination, il n'y a aucun contenu manquant.

NOTICE

This document was digitized by the Records Management & Archives Division of Université de Montréal.

The author of this thesis or dissertation has granted a nonexclusive license allowing Université de Montréal to reproduce and publish the document, in part or in whole, and in any format, solely for noncommercial educational and research purposes.

The author and co-authors if applicable retain copyright ownership and moral rights in this document. Neither the whole thesis or dissertation, nor substantial extracts from it, may be printed or otherwise reproduced without the author's permission.

In compliance with the Canadian Privacy Act some supporting forms, contact information or signatures may have been removed from the document. While this may affect the document page count, it does not represent any loss of content from the document.

Université de Montréal

**ÉTUDE CAS-TÉMOINS DE L'ÉPIDÉMIÉ D'INFLUENZA AVIAIRE HAUTEMENT
PATHOGÈNE (H7N3) EN COLOMBIE-BRITANNIQUE EN 2004
UTILISANT DES SCORES DE BIOSÉCURITÉ COMME MESURE DE RISQUE**

par

ANNIE DOUCET

Département de pathologie et microbiologie
Faculté de médecine vétérinaire

Mémoire présenté à la Faculté des études supérieures et postdoctorales
en vue de l'obtention du grade de
Maître ès sciences (M.Sc.)
en sciences vétérinaires
option épidémiologie

Février 2008

©Annie Doucet, 2008



Université de Montréal

Faculté des études supérieures et postdoctorales

Ce mémoire intitulé

ÉTUDE CAS-TÉMOINS DE L'ÉPISODE D'INFLUENZA AVIAIRE HAUTEMENT
PATHOGÈNE (H7N3) EN COLOMBIE-BRITANNIQUE EN 2004
UTILISANT DES SCORES DE BIOSÉCURITÉ COMME MESURE DE RISQUE

présenté par

ANNIE DOUCET

a été évalué par un jury composé des personnes suivantes

Jean-Pierre Vaillancourt, président-rapporteur

Michel Bigras-Poulin, directrice de recherche

Denise Bélanger, membre du jury

Résumé

Une étude cas-témoins (22 cas, 75 témoins) fut construite pour mesurer le risque d'avoir été une ferme commerciale positive à l'isolation du virus de l'influenza aviaire hautement pathogène H7N3 dans la vallée du Fraser en Colombie-Britannique en 2004. Six scores de déficit de biosécurité, l'inventaire et l'âge des oiseaux de la ferme furent utilisés pour mesurer le risque dans deux modèles

Dans le modèle épidémique, une régression logistique incluait les cas et les témoins situés à moins de 1 km d'une ferme infectée. Dans le modèle de la vallée du Fraser, la régression logistique incluait les cas et tous les témoins. Les variables retenues par une sélection rétrograde ($\alpha_{\text{exclusion}}=0,10$) dans les deux modèles furent le score de la transmission locale par les animaux (facteur de risque) et l'interaction entre le score de la transmission locale par les animaux et le score des oiseaux sauvages (facteur de protection). Le score des contacts directs (facteur de risque) fut aussi retenu dans le modèle de la vallée du Fraser. Comme le risque d'introduction du virus dans une région de la vallée du Fraser est la différence entre les deux modèles, il est représenté par le score des contacts directs. Le risque de transmission fut mesuré quant à lui par le score de la transmission locale par les animaux. Les modes de transmission ayant donc agi pendant l'épidémie auraient été une transmission locale par les animaux (rats, carnivores domestiques, animaux sauvages et insectes) et une transmission par contacts avec les oiseaux contaminés ou leurs œufs.

Mots-clés : influenza aviaire, cas-témoins, biosécurité, transmission locale, contacts, volaille, score, oiseaux sauvages

Abstract

A case control study (22 cases and 75 controls) was designed to measure the risk for a commercial poultry farm of testing positive by virus isolation for the H7N3 highly pathogenic avian influenza virus (HPAI) during the epidemic of 2004 in British Columbia's Fraser Valley. Six lack of biosecurity scores, the inventory and age of bird on the farm were utilized as measures of risk in two logistic regression models.

In the epidemic model, the logistic regression included cases and controls located within a 1 km radius of a case. In the Fraser valley model, the logistic regression included all cases and controls. The variables retained in both models by backward selection ($\alpha_{\text{exclusion}}=0,10$) were the score for local transmission by animals as a risk factor, and the wild birds score as a protective factor. In addition, the direct contacts score was retained as a risk factor in the Fraser valley model. Because the risk of introduction in a region is represented by the difference between the two models, it was measured via the score for direct contacts. Thus, the risk of disease transmission was measured via the score for local transmission by animals. In conclusion, the modes of transmission that were suspected during the epidemic were local transmission by animals (rats, domestic carnivores, wild animals and insects) and transmission via contacts with contaminated birds and their eggs.

Keywords: avian influenza, case-control, biosecurity, local transmission, contacts, poultry, score, wild birds

Table des matières

Résumé	iii
Abstract	iv
Table des matières	v
Liste des tableaux	viii
Liste des figures	ix
Liste des équations	x
Liste des sigles et abréviations	xi
Remerciements	xiv
Introduction	1
Partie 1 Recension de littérature.....	3
1.1. Histoire et Développement des connaissances sur l'influenza aviaire.....	3
1.2. Description de l'agent étiologique	5
1.2.1. Caractéristiques du virus	5
1.2.1.1. Composants du virion	5
1.2.1.2. Classification des souches et nomenclature	7
1.2.1.3. Susceptibilité aux agents physiques et chimiques.....	7
1.2.2. Pathologie du virus.....	9
1.2.2.1. Signes cliniques.....	9
1.2.2.2. Lésions Microscopiques et macroscopiques	10
1.2.2.3. Pathogénicité.....	10
1.2.2.4. Définition de la pathogénicité officielle.....	12
1.2.2.5. Déterminants de la pathogénicité moléculaire	13
1.2.2.6. Mutation des souches	14
1.2.3. Tests diagnostiques	16
1.3. Épisodes d'influenza aviaire du sous-type H7	16
1.3.1. Avant 1955	16
1.3.2. Depuis 1955	17
1.3.2.1. Canada.....	17
1.3.2.2. Asie	19

1.3.2.3. Australie	21
1.3.2.4. Amérique du Sud.....	24
1.4. Épidémiologie et contrôle de l'influenza aviaire	25
1.4.1. Écologie du virus.....	25
1.4.1.1. Oiseaux sauvages	25
1.4.1.2. Mammifères	27
1.4.2. Sources d'infection.....	33
1.4.2.1. Les oiseaux sauvages	33
1.4.2.2. Les populations de volailles domestiques	36
1.4.3. Modes de transmission	38
Matières contaminées.....	38
1.4.3.1.....	38
1.4.3.2. Les aérosols.....	41
1.4.3.3. Vecteurs mécaniques.....	42
1.4.4. Ratio de transmission et fraction protectrice.....	43
1.4.5. Facteurs de risque.....	44
1.4.6. Contrôle et éradication de l'influenza aviaire	50
1.5. Répercussions économiques.....	55
Partie 2 Méthodologie	57
2.1. Protocole de l'étude cas-témoin	57
2.2. Construction des scores de déficit de biosécurité.....	63
2.2.1. Calcul des valeurs des attributs et des scores.....	64
2.3. Construction des variables de la régression logistique représentant les caractéristiques des fermes.....	71
2.4. Disparités spatiales.....	74
2.5. Colinéarité entre les variables de la régression logistique	75
2.6. Analyse des données	75
2.7. Impact de la méthode de calcul des scores.....	77
2.8. Analyse de puissance	78
Partie 3 Résultats.....	80
3.1. Caractéristiques des attributs.....	80

3.2. Disparités spatiales.....	80
3.3. Relation entre les types de production et les variables de la régression logistique	88
3.4. Colinéarité entre les variables de la régression logistique	88
3.5. Résultats de la régression logistique du modèle de la vallée du Fraser	89
3.6. Résultats de la régression logistique de la zone épidémique	96
3.7. Comparaison entre le modèle de la vallée du Fraser et le modèle épidémique	100
3.8. Vérification de la robustesse des scores de déficit de biosécurité.....	100
Partie 4 Discussion.....	104
4.1. Avantages et désavantages de l'utilisation de scores de biosécurité.....	104
4.2. Impact des critères d'inclusion des fermes dans l'étude.....	105
4.3. Impact de la définition des cas, des témoins et des zones.....	106
4.4. Caractéristiques des attributs et disparités spatiales entre les zones	108
4.5. Signification des types de production et de l'âge.....	109
4.6. Colinéarité entre les variables	112
4.7. Signification des scores de biosécurité.....	114
4.7.1. Signification du score de la transmission locale par les animaux	114
4.7.2. Signification du score des oiseaux sauvages.....	115
4.7.3. Signification du score des contacts directs.....	116
4.8. Modalités de transmission.....	116
4.9. Comparaison des modèles de la vallée du Fraser et du modèle épidémique	120
4.10. Robustesse des modèles	123
4.11. Forces et limites de l'étude.....	124
Conclusion.....	129
Bibliographie.....	131
Annexe 1 Questionnaire de l'étude cas-témoins	xv
Annexe 2 Questions associées aux attributs des scores de biosécurité.....	xl

Liste des tableaux

Tableau I	Score de déficit de biosécurité	67
Tableau II	Classification du type de production de la ferme selon les types d'oiseaux en élevage.....	74
Tableau III	Moyennes des scores et de leurs attributs par cas et groupes de témoins .	82
Tableau IV	Types de production des fermes pour la zone épidémique, la zone non-épidémique et pour la vallée du Fraser.....	86
Tableau V	Résultats de l'analyse de variance de chacun des scores, de l'âge pondéré des oiseaux et de l'inventaire total des oiseaux sur la variable des types de production.....	90
Tableau VI	Corrélation de Pearson entre les scores, l'inventaire total et l'âge pondéré des oiseaux (modèle de la vallée du Fraser).....	91
Tableau VII	Corrélation de Pearson entre les scores, l'inventaire total et l'âge pondéré des oiseaux (modèle épidémique)	92
Tableau VIII	Variables retenues par la sélection rétrograde de la régression logistique du modèle de la vallée du Fraser.....	95
Tableau IX	Statistiques du score des oiseaux sauvages par catégorie pour le modèle de la vallée du Fraser	95
Tableau X	Variables retenues par la sélection rétrograde de la régression logistique du modèle épidémique	99
Tableau XI	Statistiques du score des oiseaux sauvages par catégorie pour le modèle épidémique	99
Tableau XII	Estimés des ratios des odds des modèles de la vallée du Fraser et épidémique	101
Tableau XIII	Comparaison des coefficients estimés du modèle de la vallée du Fraser obtenus avec des scores d'un poids.....	102
Tableau XIV	Comparaison des coefficients estimés du modèle épidémique obtenus avec des scores d'un poids de 1 chacun ou avec des poids évalués selon le risque perçu par un expert.....	103

Liste des figures

Figure 1	Protocole d'analyse du CNMAE lors de l'épidémie de virus H7N3	19
Figure 2	Illustration des espaces utilisés pour la sélection des témoins.....	62
Figure 3	Moyennes des scores, de l'inventaire total et de l'âge pondéré des oiseaux par zones.....	87

Liste des équations

Équation 1 Calcul de l'âge pondéré des oiseaux de la ferme.....	73
Équation 2 Calcul de l'âge pondéré des oiseaux d'un poulailler.....	73

Liste des sigles et abréviations

°C	Degré Celsius
ACIA	Agence canadienne d'inspection des aliments
ARN	Acide ribonucléique
cELISA	« competitive enzyme-linked immunosorbent assay », dosage par la méthode E.L.I.S.A. par compétition
CNMAE	Centre national des maladies animales exotiques
cm	centimètre
DIVA	“differentiating infected from vaccinated animals », différencier les animaux infectés des animaux vaccinés
EID ₅₀	« Egg infective dose », dose infectieuse médiane pour l'œuf
HA	Gène ou protéine du virus de l'influenza codant pour l'hémagglutinine
HA0	Protéine de l'hémagglutinine avant son clivage en HA1 et HA2
HA1	Protéine de l'hémagglutinine numéro 1
HA2	Protéine de l'hémagglutinine numéro 2
HI	« Hemagglutinin inhibition », inhibition de l'hémagglutinine
IPIV	Indice de pathogénicité intraveineux

km	Kilomètre
M	Gène de l'influenza aviaire codant pour les protéines de la matrice
M1	Protéine de la matrice numéro 1 produite par le gène de la matrice (M)
M2	Protéine de la matrice numéro 2 produite par le gène de la matrice (M)
ml	Millilitre
NA	Gène ou protéine de l'influenza codant pour la neuraminidase
NI	« Neuraminidase inhibition », inhibition de la neuraminidase
NP	Gène ou protéine de l'influenza codant pour la nucléoprotéine
NS	Gène de l'influenza codant pour les protéines non-structurales
NS1	Protéine non-structurale numéro 1
NS2	Protéine non-structurale numéro 2
OIE	Organisation Mondiale de la Santé Animale
PA	Protéine ou gène constituant le complexe de la polymérase virale du virus de l'influenza
PB1	Protéine ou gène constituant le complexe de la polymérase virale du virus de l'influenza

PB2	Protéine ou gène constituant le complexe de la polymérase virale du virus de l'influenza
PCR	« Reverse transcriptase polymerase chain reaction », amplification en chaîne par polymérase
pH	Potentiel hydrogène, égal à $-\log_{10}[\text{H}^+]$
RT-PCR	« Reverse transcriptase polymerase chain reaction », amplification génomique en chaîne avec polymérase - transcriptase inverse
RRT-PCR	« Real time reverse transcriptase polymerase chain reaction », amplification génomique en chaîne avec polymérase en temps réel - transcriptase inverse
SPF	« Specific pathogen free », axénique, exempt d'organismes pathogènes spécifiques
WHO	« World Health Organization », Organisation Mondiale de la Santé
U.F.P.	Unités formant plages

Remerciements

Je ne saurais assez remercier mon directeur de recherche, le Dr Michel Bigras-Poulin pour son support et sa disponibilité pendant ces deux années de maîtrise, et surtout, pour m'avoir donné le goût de la recherche. Je tiens aussi à souligner l'importante contribution du Dr Jean-Pierre Vaillancourt, par ses conseils, sa connaissance de l'industrie, son support et sa grande disponibilité. Mon travail en a grandement profité et ce fut tout particulièrement apprécié.

Merci au Dr Bruce McNab qui a eu la gentillesse de me présenter au Dr Christine Power et ainsi me permettre de réaliser mon projet d'étude. Merci au Dr Power pour m'avoir donné la possibilité d'effectuer cette maîtrise et pour la confiance qu'elle m'a accordé. Merci au Dr Susan Wilson, pour m'avoir guidé lors de mes premiers pas dans l'unité de surveillance des maladies animales et pour ses nombreux encouragements. Merci au Dr. Cheryl James pour avoir eu la détermination d'élaborer une étude cas-témoins en temps d'épidémie.

Je remercie aussi ma tante, Denise Cusson, qui m'a encouragé lors de mon retour à l'école ainsi que mon grand-père, William Doucet, pour m'avoir transmis le goût des études. En tout dernier, je remercie mes deux grandes amies de toujours, Dominique et Jacinthe, pour leur amitié indéfectible et leur support.

Introduction

L'influenza aviaire a toujours été une maladie animale d'importance, affectant de multiples espèces et causant des pertes économiques énormes. Depuis l'épidémie de Hong Kong en 1997, le danger que comporte le potentiel zoonotique de l'influenza aviaire a augmenté l'importance que la communauté internationale apporte à la surveillance et au contrôle du virus chez la volaille domestique.

Le nombre d'épisodes hautement pathogènes rapportés chez la volaille ne cesse d'augmenter. Par exemple, le nombre d'épisodes a passé de 7 entre 1959 et 1983 à 15 entre 1983 et 2001. Depuis 2001, l'arrivée du sous-type H5N1 en Asie du sud-est a causé une explosion du nombre d'épisodes hautement pathogènes recensés. Le sous-type H5N1 est maintenant endémique chez la volaille domestique et les oiseaux sauvages en Asie de l'est et s'est propagée jusqu'en Europe et en Afrique. Fait encore plus rare, ce sous-type est hautement pathogène chez les oiseaux sauvages, ce qui n'avait pas été observé depuis 1961.

Pour le Canada, le premier épisode d'influenza aviaire depuis 1966 se produisit en Colombie-Britannique en 2004, dans la vallée du fleuve Fraser, autour de la ville d'Abbotsford. Quatorze millions d'oiseaux furent envoyés à l'abattoir et euthanasiés à la ferme pour empêcher la progression du virus à d'autres régions du Canada. L'épisode fut traumatique pour les éleveurs de volailles qui se retrouvèrent sans revenu pour de nombreux mois. Les pertes monétaires se chiffrèrent en centaines de millions de dollars.

Il est clair que la maladie se transmet par contacts directs, par le matériel contaminé et les vecteurs mécaniques, les aérosols et l'eau mais on connaît peu l'importance de chaque mode de transmission. Les oiseaux sauvages, notamment les charadriiformes (goélands et oiseaux de rivages) et les ansériformes (canards, oies, cygnes) sont le réservoir naturel de nombreuses souches d'influenza aviaire. On les soupçonne d'être la source initiale des virus causant les épidémies mais les étapes intermédiaires sont méconnues.

Sur une ferme, tout pathogène ne peut se transmettre que si les mesures de biosécurité prévenant sa transmission sont absentes ou déficientes. C'est pourquoi l'objectif de cette étude est d'élaborer six scores de déficit de biosécurité représentant six groupes de pratiques déficientes de biosécurité, chacun représentant six types de transmission potentiels de l'influenza aviaire. Chacun de ces six scores de déficit de biosécurité sera évalué comme mesure de risque pour contracter l'influenza aviaire pour les fermes de la vallée du Fraser en Colombie-Britannique en 2004.

Partie 1 Recension de littérature

1.1. Histoire et Développement des connaissances sur l'influenza aviaire

Le virus de l'influenza est reconnu depuis la nuit des temps comme une fièvre catarrhale des humains aiguë et contagieuse qui, on le découvrit plus tard, est causée par un virus de la famille des orthomyxoviridés. On croyait que la transmission était influencée par les éruptions volcaniques, tremblements de terre, “les miasmes” (air malsain) ou bien, par la suite, les astres, d'où le nom “influenza” introduit par les italiens en 1504 {1977}.

Parallèlement, du côté animal, c'est Perroncito qui, en Italie, rapporta pour la première fois la “peste aviaire” en 1878. Il décrivit une maladie sévère et très contagieuse qui produisait une mortalité élevée chez les poulets. En 1901, la cause en fut déterminée pour la première fois comme étant filtrable par Centanni et Savonuzzi {Alexander, 1986}.

Par la suite, pendant l'épidémie de la grippe espagnole, un vétérinaire américain particulièrement astucieux, J. S. Koen, remarqua une maladie chez les porcs qu'il croyait être similaire à celle qui affectait les humains {Hollenbeck, 2005}. C'est cette observation qui intrigua Richard Shope, du Rockefeller Institute, qui le premier réussit à reproduire l'infection de manière répétable chez les porcs par le biais de filtrats {Shope, 1931}. Pendant ces années, on réussit à infecter les furets ainsi que les souris {1977}. L'utilisation d'embryons de poulets pour la culture du virus suivit en 1934 par Burnet et Ferry et puis la démonstration de l'hémagglutination par le virus de l'influenza par Hirst et, parallèlement, par McClelland et Hare en 1941 {Alexander, 1986}.

Malgré que le premier virus de l'influenza isolé soit aviaire, A/chicken/Brescia/1902 (H7N7), ce n'est qu'en 1955 que Schäfer identifia et classifica ce qui était qualifié de « peste aviaire » comme un virus de l'influenza de type A (orthomyxovirus) et démontra sa parenté avec les virus de l'influenza infectant communément les humains, les cochons et les chevaux {Alexander, 1986}.

Pendant la dernière moitié du 19e siècle et la première moitié du 20e siècle, le virus se répandit à travers toute l'Europe via les expositions aviaires et foires agricoles. Il y devint endémique jusque dans les années 30. Depuis les années 60, une variété d'influenza fut isolée à partir de dindes faiblement atteintes par la maladie et ces virus furent nommés « influenza aviaire faiblement pathogène » ou « à faible pathogénicité » {Alexander, 1986}.

En 1956, l'étude de l'écologie de l'influenza aviaire commença à se développer quand on isola un virus provenant de canards domestiques au Canada, en Tchécoslovaquie, en Angleterre et en Ukraine {Swayne et Halvorson, 2003}. En 1974, on introduisit l'hypothèse que la faune aquatique était le réservoir principal du virus et son hôte naturel {Slemons, Johnson et al., 1974}. En 1979, le potentiel pathogénique de la composition du site de clivage de l'hémagglutinine fut identifié comme un déterminant majeur de la virulence du virus. Finalement, c'est en 1981 que se tint le premier symposium international sur l'influenza aviaire et que le terme de « peste aviaire » fut définitivement abandonné pour « influenza aviaire hautement pathogène » {Swayne et Suarez, 2000}.

1.2. Description de l'agent étiologique

1.2.1. Caractéristiques du virus

1.2.1.1. Composants du virion

L'influenza aviaire de type A fait partie de la famille des orthomyxoviridés ainsi que l'influenza de type B et C. On les différencie sur la base de différences majeures entre les protéines internes (la nucléoprotéine) et la protéine de la matrice (M1). Les oiseaux sont infectés uniquement par les influenza de type A et ne sont pas infectés par les influenza de type B et C comme le sont les porcs et les humains.

Le virus fait de 80 à 120 nm. À l'isolement, le virion est de forme pléomorphique qui devient par la suite plutôt sphérique. Le virus possède une enveloppe et un ARN à simple brin, segmenté et à sens négatif. Les 8 segments du génome viral codent pour dix protéines (PB1, PB2, PA, HA, NP, NA, M1, M2, NS1, NS2), les gènes NS et M codant chacun pour deux protéines. Il est constitué d'une enveloppe de lipides, provenant de l'hôte, dans laquelle sont imbriquées les glycoprotéines HA (hémagglutinine), NA (neuraminidase) et M2 (matrice). Les HA prédominent et les NA sont distribués en amas. On compte 16 sous-types d'hémagglutinines et 9 de neuraminidases {Fouchier, Munster et al., 2005}. Suivent ensuite une couche interne de protéines matricielles (M1) puis la nucléocapside qui contient le génome enveloppé de nucléoprotéines. La capsid est de forme hélicoïdale. Les protéines internes comprennent les 3 polyméras (PB1, PB2, PA), les nucléoprotéines ainsi que les 2 protéines non-structurales (NS1, NS2) {Swayne et Suarez, 2000}.

Les gènes PB1, PB2 et PA codent pour les polyméras. Le gène HA code pour l'hémagglutinine, qui est responsable de la liaison du virion aux récepteurs de la cellule et de la fusion de l'enveloppe du virion avec celle de la cellule. La protéine codée par le

gène HA (HA0) est clivée par les protéases de l'hôte de type « trypsin-like » en deux parties (HA1 et HA2) et c'est ce site de clivage qui assure le potentiel infectieux du virus. La fonction principale de la neuraminidase est de segmenter le site terminal de l'acide sialique (et donc de libérer le virus de son site d'attache au niveau du récepteur de la cellule). Ceci permet à la progéniture du virion de s'échapper de la cellule et de permettre par le fait même la dissémination du virus.

Chez les influenza humains, la dérive antigénique (« drift ») du virus implique une mutation ponctuelle des gènes codant pour l'hémagglutinine ou la neuraminidase et est la conséquence de la sélection de virus différents dans une population immune. Plusieurs études ont suggéré qu'il y aurait moins de drift antigénique chez les oiseaux que chez les mammifères. La cassure antigénique (« shift ») chez les virus infectant les humains survient parce que le génome segmenté du virus permet aux segments d'ARN de s'échanger entre deux virus de l'influenza infectant une même cellule (réassortiment). Cette tactique serait la manière dont les pandémies humaines de 1957 et de 1968 se seraient développées {Easterday, Hinshaw et al., 1997}. Chez les animaux, la recombinaison semblerait jouer aussi un rôle dans la mutation du virus. La recombinaison se produit quand un segment d'ARN s'insère dans le génome du virus (par opposition à un échange de gènes comme pour le réassortiment) {Webster et Hulse, 2004}. La recombinaison d'un virus de l'influenza aviaire a été documentée à deux reprises, au Chili en 2002 {Suarez, Senne et al., 2004} {Webster et Hulse, 2004} et au Canada en 2004 {Pasick, Handel et al., 2005}.

1.2.1.2. Classification des souches et nomenclature

Le sous-typage par l'hémagglutinine est fait par le test de l'inhibition de l'hémagglutinine (HI) et le sous-typage de la neuraminidase par le test d'inhibition de la neuraminidase (NI). Toutes les combinaisons d'hémagglutinine et de neuraminidase ont été rapportées chez les oiseaux.

La nomenclature du virus comprend deux parties : le type et la désignation de la souche et, pour l'influenza A, une description de la spécificité antigénique des antigènes de surface (H et N). La désignation de la souche comprend cinq informations : 1) le type antigénique du virus (A, B, C) 2) l'espèce hôte d'origine dans les cas d'hôtes autres que les humains 3) l'origine géographique 4) le numéro de la souche 5) l'année d'isolement {WHO, 1980}.

1.2.1.3. Susceptibilité aux agents physiques et chimiques

Les facteurs physiques comme la chaleur (le virus est inactivé à 56°C pendant 3 heures ou à 60°C pendant 30 min) {OIE, 2006}, des pH extrêmes, des conditions non isotoniques et la sécheresse peuvent inactiver l'influenza aviaire. Parce que le virus a une enveloppe lipidique, il est inactivé par les solvants organiques et les détergents comme le désoxycholate de sodium et le dodécylsulfate de sodium.

En présence de matière organique, le virus peut être détruit par les aldéhydes (formaldéhyde ou glutaraldéhyde), les beta-propiolactones et l'éthylénimine binaire. En absence de matière organique, les phénols, les désinfectants à base d'ammonium (dont les ammoniums quaternaires), les agents oxydants (comme l'hypochlorite de sodium), les acides dilués et l'hydroxylamine détruisent le virus {Swayne et Halvorson, 2003}.

Le virus devrait être entreposé à des températures de -70°C ou bien lyophilisé pour être conservé. Un virus cultivé dans les œufs peut garder son potentiel infectieux

pendant des semaines à 4°C et le potentiel hémagglutinant du virus se conserve encore plus longtemps que son pouvoir infectieux {Swayne et Halvorson, 2003}. Cependant, in vivo, le virus est protégé par du matériel organique (fèces ou sécrétions nasales/trachéales). Des conditions fraîches et humides favorisent une survie prolongée du virion. En Pennsylvanie en 1983-1984, un isolement fut réussi 105 jours après la dépopulation d'un poulailler {Fichtner, 1986}.

Dans la matière fécale, le virus reste infectieux pour plus de 30 jours à 4°C et pour plus de 7 jours à 20°C. Dans l'eau non-traitée, le virus garde son pouvoir infectieux pour plus de 30 jours à 4°C et pour 4 jours à 22°C {Webster, Yakhno et al., 1978}.

Dans une étude sur le virus responsable de la dernière épidémie chez les dindes au Canada en 1966, A/turkey/Ontario/7732/66 (H5N9) a maintenu son potentiel infectieux (8,5 EID₅₀) et son pouvoir hémagglutinant (titre de 160) à -20°C pendant un 6 mois. À 4°C, les titres d'hémagglutination restèrent stables pour au moins 1 semaine et diminuèrent graduellement par la suite (titre de 40 encore présent à 42 jours). Après 42 jours à 4°C, 5,3 EID₅₀ étaient encore présents. À des températures plus élevées, le potentiel infectieux du virus fut inactivé en 30 minutes (56°C) alors que le pouvoir hémagglutinant resta stable {Lang, Narayan et al., 1968}.

Dans l'eau, 5 souches (A/gadwall/LA/17G/87 (H3N8), A/blue-winged teal/LA344B/87 (H4N6), A/mottled duck/LA/38M/87 (H6N2), A/blue-winged teal/LA/188B/87 (H12N5), A/green-winged teal/LA/169GW/88 (H10N7)) restèrent détectables (dans de l'eau distillée à pH de 7,3) après une période de 60 jours à 17°C et deux des 5 souches le restèrent à 28°C après 60 jours {Stallknecht, Shane et al., 1990}.

Les influenzas aviaires résisteraient à des pH de 4,0 alors que les influenzas humains et équins perdraient leur pouvoir infectieux. Cette stabilité relative à des pH bas permettrait aux souches de canards de traverser le tractus gastro-intestinal de l'oiseau {Webster, Yakhno et al., 1978}.

1.2.2. Pathologie du virus

1.2.2.1. Signes cliniques

La période d'incubation est habituellement de 3 à 7 jours, dépendant de l'isolat, de la dose de l'inoculum, de l'espèce et de l'âge de l'oiseau. Aux fins du Code sanitaire pour les animaux terrestres de l'Organisation Mondiale de la Santé Animale {OIE, 2005b}, la période d'incubation de l'influenza aviaire à déclaration obligatoire est fixée à 21 jours.

Les signes cliniques varient selon l'espèce, l'âge, le sexe, les infections concurrentes, l'immunité acquise et l'environnement. Typiquement, les oiseaux sont généralement trouvés morts après avoir présentés peu de signes cliniques. Ceux-ci varient entre de la dépression, de l'inappétence, des plumes ébouriffées, des oiseaux en décubitus et comateux. Les poulets présentent de la congestion ou cyanose de la crête et des caroncules. Des hémorragies sous-cutanées et de l'œdème peuvent être présent autour du jarret, de la patte et du pied.

Plus les oiseaux sont âgés, plus la fréquence d'apparition de signes cliniques avant la mort est grande. Chez les reproducteurs (coqs et poules pondeuses d'œufs d'incubation) et les pondeuses (poules pondeuses d'œufs de consommation), la production d'œufs tombe drastiquement à presque rien en 3 à 5 jours. Occasionnellement, on observe, chez les quelques oiseaux qui survivent jusqu'au stade subaigu, des torticolis, de la parésie ou de la paralysie, de l'excitation, des convulsions ou bien des mouvements de roulis ou en cercle {Swayne et Suarez, 2000}.

De la diarrhée mucoïde peut être observée avec présence de bile ou d'urate. Au niveau respiratoire, l'influenza aviaire hautement pathogène présente surtout des difficultés respiratoires avec un œdème sévère des voies respiratoires supérieures ou des poumons et, de façon moins fréquente que pour l'influenza aviaire faiblement pathogène, des sécrétions nasales abondantes, râles, toux, éternuements et détresse respiratoire {Swayne et Suarez, 2000}.

1.2.2.2. Lésions Microscopiques et macroscopiques

Les lésions varient en sévérité et selon les sites mais elles incluent typiquement de la nécrose, des hémorragies (avec ou sans inflammation) dans plusieurs organes dont le cœur, le cerveau, les glandes surrénales, le pancréas, les poumons et la peau. Occasionnellement, on peut aussi en observer dans le foie et les reins. Lors d'infections aiguës, les lésions prédominantes sont la nécrose avec de façon moins importante, la mort cellulaire due à l'apoptose avec l'inflammation, les hémorragies et l'œdème qui lui sont associés. Plus l'oiseau survit longtemps, plus l'inflammation est prééminente et moins la nécrose ou l'apoptose cellulaire le sont {Swayne et Suarez, 2000}.

Des hémorragies pétéchiales et même des ecchymoses peuvent être observées dans plusieurs organes viscéraux et sur les surfaces sereuses comme l'épicerde, la sereuse intestinale, le gras abdominal, la sereuse du sternum, les amygdales caecales, le diverticule de Meckel, les plaques de Peyer, le proventricule et sous la cuticule du gésier. Des organes lymphoïdes primaires tel que la bourse de Fabricius et le thymus sont sévèrement atrophiés. La rate peut avoir occasionnellement des foci de nécrose blanche et le pancréas des taches de couleur allant d'orange à brun. Chez les reproducteurs et les poules pondeuses, des ovaires éclatés sont observés accompagnés d'une péritonite causée par les jaunes d'œufs {Swayne et Suarez, 2000}.

1.2.2.3. Pathogénicité

La pathogénicité par espèce dépend du type des récepteurs cellulaires de l'épithélium respiratoire. Les virus aviaires se lient préférentiellement à l'acide N-acetylneuraminique- α 2,3-galactose sur les récepteurs oligosaccharidiques cellulaires tandis que les virus porcins et humains se lient à l'acide N-acetylneuraminique- α 2,6-galactose sur les récepteurs oligosaccharidiques. L'épithélium aviaire contient en

majorité le lien 2,3, l'épithélium humain le lien 2,6 et l'épithélium porcine contient un mélange des deux {Swayne et Halvorson, 2003}.

Chez les oiseaux sauvages et les canards domestiques, l'influenza aviaire hautement pathogène se réplique difficilement ou à un degré limité et produit peu de signes cliniques. Les seules exceptions à cette règle auront été l'épidémie de 1961 en Afrique du sud chez les sternes communes qui produisit des morts subites sans aucuns autres signes cliniques {Swayne et Halvorson, 2003} et H5N1 en Asie de l'Est qui devint pathogénique en 2002 pour les oiseaux aquatiques {Ellis, Bousfield et al., 2004} {Sturm-Ramirez, Ellis et al., 2004} {Sturm-Ramirez, Ellis et al., 2004}.

Les espèces les plus affectés par l'influenza aviaire hautement pathogène sont donc comprises dans l'ordre des Galliformes avec en majorité les membres de la famille des Phasianidae qui comprennent les cailles (japonaises, colin de Virginie), les faisans, les perdrix Choukar (*Alectoris chukar*) et bien sur les poulets (*Gallus gallus domesticus*). Les familles des Meleagrididae (dindes) et des Numididae (pintades) sont aussi affectées {Swayne et Suarez, 2000}.

Chez les oiseaux, les signes cliniques sont très variables tout dépendant de la pathogénicité du virus, de son affinité avec l'espèce et de l'âge des oiseaux affectés. Par exemple, turkey/Ontario/7732/66 H5N9, comme la majorité des virus adaptés à la volaille domestique, est très pathogène chez le poulet et la dinde mais ne l'est pas chez le canard {Alexander, Parsons et al., 1986}. On retrouve fréquemment chez le canard et les oies des virus non-pathogènes ou faiblement pathogènes qui produisent des pathologies respiratoires et des taux de mortalité faibles à modérés. Aucune des huit souches testées n'était pathogène chez les canards {Alexander, Parsons et al., 1986}. Néanmoins, il est à noter que tous les virus ne sont pas pathogènes chez le poulet et la dinde, comme par exemple A/turkey/Italy/ZA/80 (H5N2). De plus, quatre des huit virus ne présentaient pas chez les cailles de pathogénicité et on pouvait observer une plus grande résistance à l'infection des autres virus hautement pathogènes chez cette espèce.

Parfois, des infections avec d'autres organismes ou combinées à des conditions environnementales non optimales peuvent causer une exacerbation des infections

faiblement pathogènes, causant une maladie clinique plus sérieuse {Capua et Alexander, 2004}.

L'âge aussi pourrait constituer un facteur prédisposant. Bien que les tests soient généralement effectués sur de jeunes oiseaux, comme le test de l'indice de pathogénicité intraveineux, il est possible que les oiseaux plus vieux soient plus prédisposés que les plus jeunes. En effet, les oiseaux plus vieux (Leghorns de plus de 6 mois versus Leghorns de 5 à 6 semaines) inoculés avec le virus hautement pathogène isolé en Pennsylvanie en octobre 1983 mourraient plus rapidement et avec des signes cliniques plus prononcés {Bean, Kawaoka et al., 1985}. Le virus virulent tuait les Leghorns adultes en 4 à 7 jours tandis que le même virus à la même dose (10^4 EID₅₀) tua les jeunes oiseaux en 5 à 9 jours. Ces oiseaux plus vieux répandaient plus de virus dans leurs selles (jusqu'à 10^7 EID₅₀ comparé à jusqu'à 10^5 EID₅₀ pour les plus jeunes). Les pondeuses continuèrent à produire des œufs jusqu'au jour de leur décès et les derniers œufs produits par certains oiseaux contenaient une grande quantité de virus dans les blancs (5,6 EID₅₀/ml) et les jaunes (3,6 EID₅₀/ml).

La capacité d'infection du virus faiblement pathogène A/chicken/Pennsylvania/21525/83 (isolé au début de l'épisode en Pennsylvanie en avril 1983) et du virus hautement pathogène A/chicken/Pennsylvania/1370/83 (isolé plus tard en octobre 1983) furent comparés {van der Goot, de Jong et al., 2003}. On constata que H5N2 hautement pathogène était plus infectieux et sur une plus longue période de temps que H5N2 faiblement pathogène dans des conditions expérimentales.

1.2.2.4. Définition de la pathogénicité officielle

La définition de l'OIE {OIE, 2005b}, adoptée en 2005, de l'influenza aviaire à déclaration obligatoire fait la distinction entre les influenzas hautement et faiblement pathogènes de la manière suivante :

«...l'influenza aviaire à déclaration obligatoire est définie comme « une infection des volailles causée par tout virus influenza de type A appartenant au sous-type H5 ou H7 ou par tout virus influenza ayant un indice de pathogénicité intraveineux

supérieur à 1,2 (ou bien ayant un taux de mortalité d'au moins 75 %), tel que décrit ci-dessous. Les virus de l'influenza aviaire à déclaration obligatoire peuvent être divisés en deux catégories : le virus de l'influenza aviaire à déclaration obligatoire hautement pathogène et le virus de l'influenza aviaire à déclaration obligatoire faiblement pathogène.

Les virus responsables de l'influenza aviaire à déclaration obligatoire hautement pathogène ont un indice de pathogénicité intraveineux supérieur à 1,2 chez le poulet âgé de 6 semaines, ou bien provoquent une mortalité d'au moins 75 % chez les poulets âgés de 4 à 8 semaines infectés par voie intraveineuse. Les virus appartenant aux sous-types H5 et H7 n'ayant pas un indice de pathogénicité intraveineux supérieur à 1,2 ou qui provoquent une mortalité inférieure à 75 % lors d'une épreuve de létalité par voie intraveineuse doivent être séquencés pour déterminer si de multiples acides aminés basiques sont présents sur le site de clivage de la molécule d'hémagglutinine (HA0) ; si le motif d'acides aminés est similaire à celui observé chez d'autres isolats de virus d'influenza aviaire à déclaration obligatoire hautement pathogène, l'isolat soumis à l'examen doit être considéré comme le virus responsable de l'influenza aviaire à déclaration obligatoire hautement pathogène.

L'influenza aviaire à déclaration obligatoire faiblement pathogène est causée par tous les virus influenza de type A appartenant aux sous-types H5 et H7 qui ne sont pas des virus de l'influenza aviaire à déclaration obligatoire hautement pathogène ».

1.2.2.5. Déterminants de la pathogénicité moléculaire

Même si la virulence des virus de l'influenza aviaire chez les oiseaux est un caractère polygénique, un des facteurs de virulence principal est corrélé avec la composition du site de clivage de l'hémagglutinine {Rott, 1992}.

Pour tous les influenzas A, la glycoprotéine de l'hémagglutinine est produite comme un précurseur, HA0, qui requiert un clivage post-traductionnel par les protéases de l'hôte avant qu'elle devienne fonctionnelle et que la particule virale ne devienne

infectieuse. Les précurseurs HA0 des virus faiblement pathogènes ont une seule arginine au site de clivage. Ces virus sont limités à un clivage par les protéases semblables à la trypsine et sont donc limités à se répliquer dans des sites où de telles enzymes se retrouvent, c'est-à-dire dans les tractus respiratoires et intestinaux {Stieneke-Gröber, Vey et al., 1992}. Par contre, les virus influenza aviaire hautement pathogène possèdent de multiples acides aminés (lysine et arginine) au niveau du site de clivage de l'HA0 qui semble être clivable par une protéase ubiquitaire, probablement par une ou des protéines proches de l'endoprotéase subtilisine parmi lesquelles la furine est la candidate privilégiée {Alexander, 2003}.

La théorie la plus courante concernant l'apparition de virus hautement pathogène dans les populations de volailles consiste en la mutation de d'influenza aviaire de sous-type H5 et H7 d'un virus de faible virulence à haute virulence {Perdue, Crawford et al., 1997}.

1.2.2.6. Mutation des souches

Les expériences américaine (1983, H5N2) {Kawaoka et Webster, 1985}, mexicaine (1995, H5N2) {Garcia, Crawford et al., 1996}, italienne (1999, H7N1) {Campitelli, Mogavero et al., 2004} et chilienne (H7N3) {Suarez, Senne et al., 2004} semblent démontrer aussi qu'un virus hautement pathogène peut surgir d'un épisode faiblement pathogène.

En Pennsylvanie en 1983, une analyse des segments d'ARN suggéra que le virus isolé en avril et le virus isolé en octobre étaient étroitement reliés. Le virus le plus virulent était dérivé de la forme avirulente du virus et ceci sans l'introduction de gènes provenant d'un autre virus {Bean, Kawaoka et al., 1985, Kawaoka et Webster, 1985}. Les deux isolats diffèrent suffisamment toutefois pour qu'on puisse conclure que le virus circula dans la population aviaire suffisamment longtemps pour accumuler plusieurs mutations et ainsi s'adapter à son nouvel hôte. Une seule mutation ponctuelle aurait été la cause du changement de virulence {Webster, Kawaoka et al., 1986}.

La première recombinaison rapportée résultant en une augmentation de la virulence se produisit au Chili. On retrouva sur la ferme un premier virus, de faible virulence et puis un second virus sur une ferme située à 4 km de la ferme index. Le second virus était hautement pathogène et possédait une insertion de 30 nucléotides au niveau de la section du gène codant pour le site de clivage de l'hémagglutinine {Suarez, Senne et al., 2004}.

La deuxième recombinaison rapporté du virus se produisit au Canada en 2004 {Pasick, Handel et al., 2005}. Le virus isolé du premier poulailler affecté (troupeau de 52 semaines) se révéla différent du virus isolé du deuxième poulailler affecté (troupeau de 24 semaines). L'indice de pathogénicité intraveineux (IPIV) du premier virus isolé se trouvait à être de 0 alors que celui du deuxième troupeau affecté se trouvait à être de 2,96. La raison de la différence de pathogénicité entre les deux virus se révéla être une insertion de sept acides aminés au niveau du site de clivage de l'hémagglutinine. Cette insertion serait le résultat d'une recombinaison entre les gènes de l'hémagglutinine et de la matrice (M1). Jusqu'à ce jour, tous les cas de recombinaisons rapportées se sont produits chez des virus H7.

Fait intéressant, le site de clivage du deuxième virus se révéla être compatible avec un virus de faible pathogénicité bien qu'il induisait une forte mortalité chez des poulets de quatre semaines dans les 24 à 48 heures suivant l'injection intraveineuse. L'étude en conclu que plusieurs virus de pathotypes différents auraient pu cohabiter à l'intérieur de l'échantillon.

Pour les virus isolés des marchés de volailles vivantes aux États-Unis entre 1994 et 1998, le taux de mutation était de 7.0×10^{-3} substitutions de nucléotides par site par année {Suarez, Garcia et al., 1999}, ce qui est similaire aux taux calculés pour les virus H3 humains, plus élevés que ceux rapportés pour les virus H3 équins mais moindre que ceux des virus ayant causé l'épidémie d'influenza de type H5 au Mexique.

1.2.3. Tests diagnostiques

Au début de l'épidémie d'influenza aviaire hautement pathogène en Colombie-Britannique en 2004, le test de dépistage effectué initialement pour détecter le virus sur une ferme était l'isolement du virus dans des œufs SPF. Lorsque le nombre d'isollements à effectuer par jour augmenta considérablement, le manque d'œufs SPF se fit sentir et le test de dépistage fut changé pour un test PCR en temps réel ciblant la protéine de la matrice (Figure 1, p. 19). Si par la suite le PCR était positif, le virus était isolé dans des œufs embryonnés de 9 à 11 jours {OIE, 2005a}. Le liquide allantoïdien des embryons morts ou mourant était ensuite testé pour la présence d'activité hémagglutinante. Pour sous-typer le virus, le test d'inhibition de l'hémagglutination était ensuite utilisé ou un test de PCR en temps réel ciblant la protéine H7 ou bien les deux. Le virus était ensuite séquencé pour déterminer la composition de son site de clivage, à savoir si le site était compatible avec un virus hautement pathogène {Pasick et Hooper-McGrevy, 2004}.

1.3. Épisodes d'influenza aviaire du sous-type H7

1.3.1. Avant 1955

Il est difficile de pouvoir jauger l'importance de la « peste aviaire » avant la différenciation par Perroncito en 1878 de l'influenza, du choléra aviaire et autres maladies bactériennes. D'autre part, l'absence de signe pathognomonique de l'influenza et la variété de signes cliniques de différents virus chez différents hôtes ne nous permettent pas de parler d'influenza aviaire en toute certitude à moins d'isolement du virus. Au début du siècle, on pu constater plusieurs épidémies attribuées à

l'influenza aviaire mais la maladie de Newcastle ne fut reconnue pour la première fois qu'en 1926 et il s'ensuit que plusieurs des épisodes dans les années 20 de ce qu'on appelait autrefois la « peste aviaire » pourraient être attribués soit à l'un ou à l'autre {Swayne et Suarez, 2000}.

1.3.2. Depuis 1955

1.3.2.1. Canada

Avant 2004, un seul épisode d'influenza aviaire hautement pathogène au Canada avait été rapporté dans la littérature. Il se produisit en 1966 en Ontario, chez des dindes reproductrices (A/turkey/Ontario/7732/66 H5N9). Ce virus se démarquait surtout par le fait qu'il était différent de l'influenza aviaire classique et s'apparentait plus au virus hautement pathogène ayant affecté les sternes en Afrique du sud en 1961, (A/tern/South Africa/61 (H5N3)), et à l'influenza aviaire écossais (A/chicken/Scotland/59 (H5N1)). Un autre isolat (6213), très semblable sérologiquement et qui n'était pathogénique que pour les oisillons, fut isolé à partir de dindes trois mois auparavant sur une autre ferme. Huit mille cent oiseaux furent affectés en tout, avec des signes cliniques comme de l'apathie, les têtes cyanosées et portées basses. La consommation de nourriture et la production d'œufs diminuèrent progressivement et à la fin de la deuxième semaine, 10% du troupeau était décédé {Lang, Narayan et al., 1968}.

Le plus gros épisode d'influenza aviaire au Canada se produisit en 2004 dans la vallée du Fraser en Colombie-Britannique {Lees, 2004}. Le 4 février 2004, on observa une légère baisse de production d'œufs dans un troupeau de reproducteurs de poulets de chair de la vallée du Fraser. Les poulets du poulailler affecté étaient les plus vieux de deux poulaillers (52 semaines et 24 semaines). Le 9 février, des spécimens furent envoyés au laboratoire de diagnostic du ministère de l'Agriculture, de l'Alimentation et

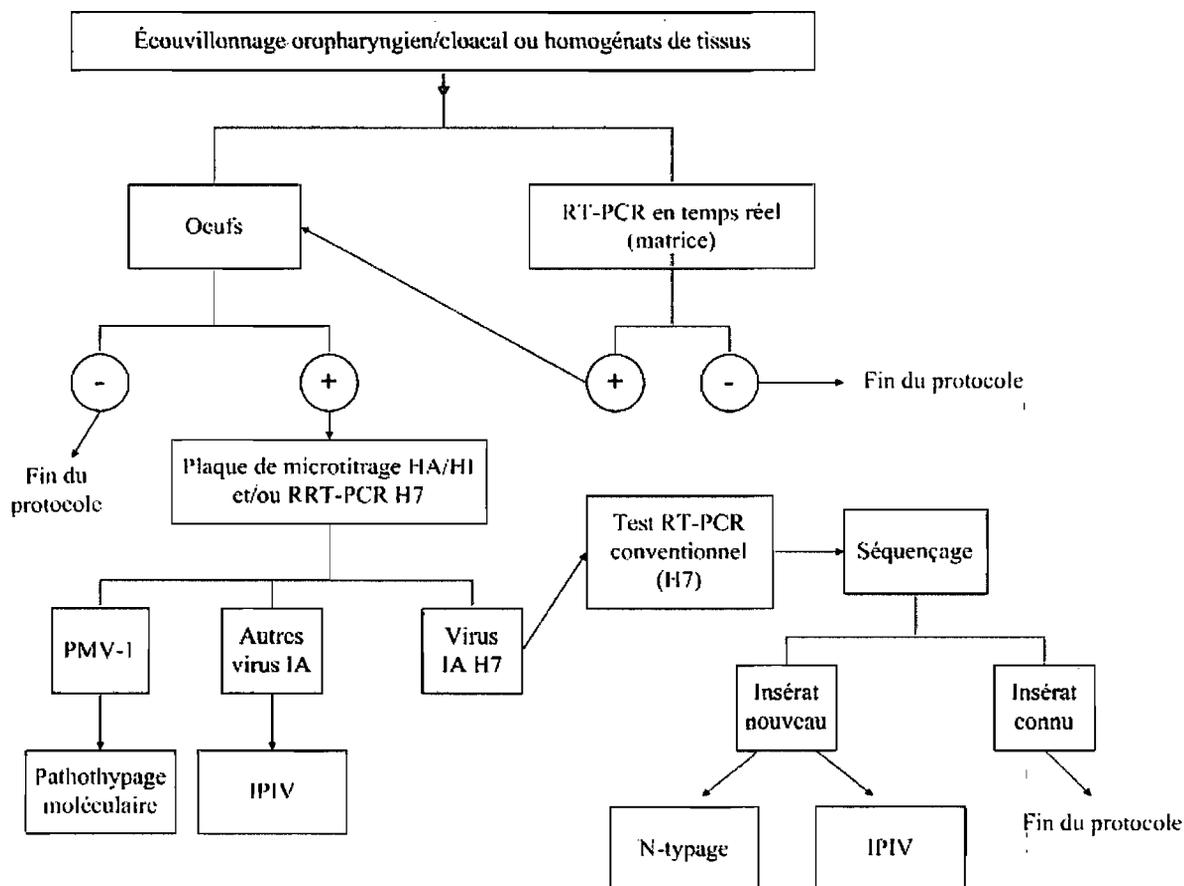
des Pêches de la Colombie-Britannique. Le 16 février, un test de PCR effectués sur les embryons morts pendant l'isolement du virus se révéla positif. Pendant ce temps, la mortalité augmenta drastiquement dans le troupeau de 24 semaines (jour 1=25, jour 2=930, jour 3=1500). On confirma le 29 février que le virus était du sous-type H7. Ce premier isolat du virus était faiblement pathogène, son IPIV étant nul. Toutefois, le 4 mars, l'isolat provenant du troupeau le plus jeune produisit un IPIV de 2,96, qui correspondait à une souche hautement pathogène.

Une quarantaine fut instaurée le 28 février sur la ferme index et la totalité des oiseaux de la ferme fut abattus. Toutes les exploitations avicoles situées dans un rayon de 5 km furent incluses dans un programme de surveillance incluant l'analyse d'écouvillons oropharyngiens, cloacaux et de spécimens sanguins (Figure 1, p. 19) {Pasick et Hooper-McGrevy, 2004}.

La maladie se propagea par la suite et le 24 mars, après avoir dépisté le virus dans 5 élevages commerciaux et 2 basses-cours, l'état d'urgence fut décrété. On décida de procéder à titre préventif à l'abattage intégral des élevages dès qu'un test PCR se révélait positif. Le 5 avril, l'ACIA décida de procéder à l'abattage préventif de toutes les volailles de la zone comprenant la vallée du Fraser située au sud du fleuve, entre l'océan Pacifique et les Rocheuses, soit environ 19 millions d'oiseaux. Le 13 avril, tout mouvement d'oiseaux ou de matériel exposé aux oiseaux fut interdit sans permis par décret ministériel comme le stipule l'article 7 de la Loi sur la santé des animaux.

En tout, 42 fermes commerciales furent déclarées sites infectés sur la base d'un test de PCR positif ou de l'isolement du virus H7. Onze de ces fermes furent détectées par des activités de surveillance menées pendant l'abattage préventif. On isola le virus sur 28 de ces fermes. Onze élevages de basse-cour furent aussi déclarés infectés par PCR et on isola le virus sur deux d'entre elles. Le 18 juin, les activités de nettoyage et de désinfection se terminèrent sur la dernière des fermes infectées.

Figure 1 Protocole d'analyse du CNMAE lors de l'épidémie de virus H7N3



Tiré du bulletin du Réseau canadien de santé animale, numéro 9, spécial Influenza aviaire

1.3.2.2. Asie

Au Pakistan, en 1994-1995, un épisode causé par un virus de sous-type H7N3 hautement pathogène frappa le nord du pays, affectant près de 3,2 millions d'oiseaux, principalement des reproducteurs de poulets de chair avec quelques poulets de chair et pondeuses. La plupart des reproducteurs étaient élevés dans la région nordique et fraîche du nord du Pakistan où le climat est doux comparé au sud où les températures l'été se situent entre 35-50°C {Naeem, 1997}.

L'épidémie commença en décembre 1994 dans une ferme de reproducteurs de 3000 poulets de chair de 60 semaines d'âge du district de Murree dans le nord du pays. Il se produisit initialement 70% de mortalité en 2-3 jours mais la maladie ne fut pas diagnostiquée. Le fermier finit par abattre le troupeau et le vendre au boucher. Quelques jours plus tard, un autre troupeau de 20 semaines dans le voisinage fut frappé aussi par une mortalité de 70% et subséquemment d'autres troupeaux furent atteints. Sur une population totalisant 1,4 millions d'oiseaux dans la région, 0,9 millions de reproducteurs furent touchés par l'influenza aviaire. L'épisode suivant commença 2 mois après, dans une région à 80 km de Murree, dans une population de 1,8 millions d'oiseau dont 1,1 millions étaient des reproducteurs. Le taux de mortalité variait entre 20%-70%. Plus tard, pendant les mois chauds de mai et juin, quinze autres épisodes de faible intensité furent enregistrés dans un rayon de 300 km vers les plaines du sud. Aucun autre épisode ne fut rapporté par la suite.

La maladie fut au départ confondue avec la maladie de Newcastle, la pasteurellose aviaire et la laryngotrachéite infectieuse mais des tests de laboratoire confirmèrent l'absence de ces trois maladies. Le virus fut détecté pour la première fois en février 1995 par immunodiffusion.

L'enquête épidémiologique révéla qu'il n'y avait pas eu de mouvements de troupeau ou d'introduction de nouveaux oiseaux dans le troupeau. Les oiseaux provenaient de troupeaux grands-parents de la région, toutefois les mâles (n=850) avaient été importés à l'âge de 1 jour. Les signes rapportés par le producteur et le vétérinaire local furent les seuls signes sur lesquels baser le diagnostic d'influenza aviaire puisque aucun test n'avait été effectué au commencement de l'épidémie.

Basé sur ces circonstances, on proposa que le virus ait pu être introduit dans le troupeau par des oiseaux sauvages, particulièrement des oiseaux aquatiques, qui habituellement migrent des régions froides de la Russie vers cette région du Pakistan pendant les mois d'octobre et de novembre. Les épisodes subséquents seraient le résultat de mouvements de troupeaux et d'une biosécurité insuffisante.

On supposa qu'un virus faiblement pathogène aurait peut-être été endémique dans la région auparavant et aurait pu muter en une forme hautement pathogène. Une

enquête sérologique fut conduite sur des serums ramassés pendant les années 1992 à 1994 de troupeaux élevés dans les régions affectées. Tous les échantillons furent négatifs.

Le contrôle du virus dans cette région fut assez difficile à cause de l'absence de compensation provenant du gouvernement. Des démarches furent faites auprès des éleveurs pour adopter une politique stricte de biosécurité. On décida de contrôler la maladie par la vaccination. Aucun programme de surveillance continue n'existait dans cette région.

Une enquête sérologique utilisant l'inhibition de hémagglutination fut menée en décembre 1996 pour déterminer les niveaux d'anticorps contre le sérotype H7. Des troupeaux âgés de 20 à 40 semaines et des troupeaux n'ayant pas reçu de vaccination prirent part à cette étude et séroconvertirent. Ceci indique la présence de virus faiblement ou non pathogène dans les troupeaux. Dans plusieurs de ces troupeaux, une faible mortalité sans diagnostic concret était un problème fréquent. Il n'y eut pas d'autres tests effectués.

Pour l'instant au Pakistan, la seule stratégie possible est d'améliorer la biosécurité sur les fermes, de continuer la vaccination et d'élargir le programme de surveillance. Les mouvements incontrôlés d'oiseaux sauvages, de volaille, de leurs produits et des personnes entre les pays de cette région sont des raisons importantes pour lesquelles un programme de surveillance complet de l'influenza aviaire dans la région devrait être mis en place {Naeem, 1997}.

1.3.2.3. Australie

En Australie, en 1992, dans la région de Bendigo, Victoria, une ferme de reproducteurs de poulets de chair connut une mortalité augmentant rapidement qui ne répondait pas à l'administration d'antibiotiques. A/chicken/Victoria/92/1 (H7N3) fut isolé et son indice de pathogénicité intraveineux était de 2,71. Les trois autres

poulaillers adjacents ne connurent pas de maladie clinique, même si les poulets dans tous sauf un des poulaillers développèrent des anticorps contre H7 {Westbury, 1997}.

Une ferme des environs possédait 5700 canards et pratiquait une biosécurité déficiente. Des 200 sérums prélevés sur cette ferme, 59 avaient des titres contre H7. Parmi ces sérums positifs, il est intéressant de noter que dans un groupe, 84,7% étaient positifs alors que dans les autres groupes les pourcentages étaient de 6%, 10%, 9,7% et 0%. Le groupe positif à 84,7% était des canards de 4-11 semaines d'âge alors que le groupe de 0% était des canards de 9-12 mois d'âge. Des 27 sérums positifs au cELISA mais négatif au test d'inhibition de l'hémagglutination, 15 avaient des anticorps contre H1, 3 contre H4, 5 contre H5 et 3 contre H9. Il n'y avait pas d'anticorps contre H3, H6, H10, H11 ou H12 et les autres sous-types n'étaient pas disponibles. En plus, le propriétaire de cette ferme de canards travaillait périodiquement sur la ferme de poulets affectée. Il aurait donc pu par inadvertance transmettre le virus de sa ferme vers la ferme de poulets ou l'inverse {Westbury, 1997}.

En 1994, un autre épisode survint cette fois-ci dans le Queensland proche de la ville de Brisbane, sur une ferme de 22 000 pondeuses âgées de 6 à 40 semaines. La ferme connu une hausse de mortalité subite avec des poulets montrant les signes classiques de l'influenza aviaire. A/chicken/Qld/94 (H7N3) fut isolé et son IPIV était de 2,87. La séquence de nucléotides de ce virus était différente de celui de 1992. Aucune indication de transmission du virus à d'autres fermes ne fut détectée, incluant les fermes en contact avec la ferme affectée.

L'enquête sur la source du virus fut sans réponse. Elle était centrée sur l'hypothèse de la transmission par les oiseaux sauvages. La région connaissait une période de sécheresse prolongée et plusieurs oiseaux s'étaient déplacés des régions sèches de l'intérieur vers les régions côtières. Une rivière bordait la ferme et était la source d'eau pour les poulets. Un nombre anormal de canards la fréquentait à ce moment-là et l'hypothèse aurait été que le virus aurait été transmis par l'eau de la rivière. Cela ne fut jamais démontré. Seulement un petit nombre de canards furent capturés et aucuns n'avaient de virus ou d'anticorps détectables {Westbury, 1997}.

Le peu de fermes affectées en Australie à chacun des épisodes d'influenza aviaire hautement pathogène serait très probablement dû au fait que tous les épisodes que le pays a connus l'ont été dans des régions à faible densité de volailles {Westbury, 1997}.

Le dernier épisode d'influenza aviaire hautement pathogène en Australie survint le 16 novembre 1997 dans une ferme commerciale de 128 000 poulets reproducteurs de poulets de chair multi-âges en Nouvelle-Galle du Sud {Selleck, Arzey et al., 2003}. L'âge des oiseaux sur la première propriété infectée variait de 23 à 93 semaines. Les premiers oiseaux à montrer des signes cliniques avaient 40 semaines. La maladie se propagea rapidement à d'autres poulaillers en commençant par un poulailler qui contenait des oiseaux de 92 semaines. L'IPIV de ce virus était de 2,52. La deuxième propriété affectée élevait 32 000 poulets de reproduction de chair de 63 semaines à 3,2 km au sud de la ferme index. Cette propriété était la troisième ferme suivant la ferme index sur la route du camion d'équarrissage. L'IPIV du virus de la deuxième propriété affectée était de 2,90. Une dernière ferme fut diagnostiquée le 5 décembre, à partir d'écouvillons cloacaux provenant d'un troupeau de 261 émeus âgés 3 mois. Cette ferme, située à 1 km de la première propriété infectée, élevait des poulets de chair et achetait des poussins dont les œufs provenaient de la deuxième ferme. Les émeus étaient gardés dans les enclos à l'extérieur et un grand nombre de d'étourneaux séjournèrent sur le site. L'IPIV de ce virus était de 1,30. Le camion d'équarrissage visitait cette ferme immédiatement avant la première ferme infectée.

Vingt-six émeus sur trente testés se révélèrent avoir des titres positifs d'anticorps contre un virus H7. Les parents des émeus étaient tous négatifs pour les anticorps contre H7.

Même si d'autres sources d'infection ne peuvent être exclues, l'incertitude à propos de la durée de l'infection des émeus introduisit la possibilité que ceux-ci aient été la source de l'infection pour la première ferme. Les émeus étaient dans des enclos ouverts et en contact avec des oiseaux sauvages, d'autant plus qu'au mois d'avril précédant l'épisode, une usine de traitement des eaux avait été construite sur la première ferme à cause de l'inquiétude causée par le grand nombre d'oiseaux vivant

sur la rivière toute proche. De plus, à cause de la proximité des deux fermes, la possibilité que la dépopulation de la première ferme soit la cause de la maladie sur la deuxième ferme fut considérée.

L'augmentation des IPIV entre les fermes supporte l'observation dans le champ d'oiseaux infectés sans signes cliniques et une augmentation apparente de la virulence pendant le cours de l'épidémie. La détection d'anticorps dans un des poulaillers de la première ferme sans que les oiseaux démontrent de signes cliniques suggère que le virus aurait été présent pendant au moins 10 jours sans causer de mortalité. Ceci et l'IPIV plus faible chez les émeus supporte la théorie selon laquelle le virus aurait été originellement de faible pathogénicité et serait devenu hautement virulent durant le cours de l'épidémie.

1.3.2.4. Amérique du Sud

Jusqu'en 2002, il n'y avait eu aucun compte-rendu d'épisode d'influenza aviaire hautement pathogène en Amérique du Sud. Entre la fin du mois d'avril et la première semaine de mai 2002, un troupeau de reproducteurs de poulets de chair situé dans la 5e région du Chili (Valparaiso) commença à montrer des signes d'influenza. Les oiseaux avaient une faible mortalité, une légère baisse de la ponte et des péritonites causées par des œufs apparurent chez les oiseaux de certains poulaillers. Un virus faiblement pathogène fut diagnostiqué.

Le 23 mai, un avertissement de haute mortalité fut transmis au «Servicio Agrícola y Ganadero», avec des soupçons d'empoisonnement. Toutefois, après une inspection le jour d'après, un influenza aviaire hautement pathogène fut fortement suspecté. On isola en effet un virus H7N3 hautement pathogène. Tous les oiseaux sur le site (617 800 reproducteurs de poulet de chair) et 116 000 œufs à éclore furent détruits.

La semaine suivante, l'influenza aviaire hautement pathogène fut diagnostiqué dans deux poulaillers contenant de jeunes dindes sur une ferme de reproduction à 4 km du cas index. Cette ferme était reliée fonctionnellement au cas index. Comme la ferme pratiquait une bonne biosécurité et que les autres poulaillers sur la ferme étaient isolés

des poulaillers affectés, l'infection ne se répandit pas. Tous les oiseaux infectés furent euthanasiés {Capua et Alexander, 2004}.

Le virus avait une insertion de 10 acides aminés au niveau du site de clivage, qui semble s'être produit à partir d'une recombinaison entre le gène HA et le gène de la nucléoprotéine du virus faiblement pathogène {Suarez, Senne et al., 2004}. Cette insertion fit passer l'IPIV du virus faiblement pathogène de 0,0 à 2,43-3,00 pour les virus hautement pathogènes isolés pendant l'épidémie. Les isolats chiliens sont uniques dans le sens qu'ils sont les plus proches des isolats nord américains au niveau de leur hémagglutinine par rapport aux autres lignées sans toutefois leur ressembler étroitement (il y a presque 20% de différence au niveau des séquences de nucléotides). Ceci s'appliquait pour tous les 8 gènes. Les analyses phylogénétiques des virus isolés lors de l'épisode chilien de 2003 démontrent que les virus hautement pathogènes proviendraient de virus faiblement pathogènes ou bien d'un ancêtre commun très proche.

1.4. Épidémiologie et contrôle de l'influenza aviaire

1.4.1. Écologie du virus

1.4.1.1. Oiseaux sauvages

C'est en 1974 que le rôle des oiseaux sauvages comme réservoir de l'influenza aviaire fut initialement identifié {Slemons, Johnson et al., 1974}. C'est dans le cadre de la surveillance de la maladie de NewCastle en Californie en 1972 que des virus hémagglutinants se révélèrent être des virus de l'influenza aviaire de type A. Les canards seraient donc impliqués dans l'histoire naturelle de l'influenza aviaire de type A et leurs routes migratoires pourrait être un des mécanismes par lequel l'influenza

aviaire se transporterait sur de longues distances et se disséminerait. De plus, la présence de plusieurs souches de virus circulant dans la population aviaire fournit d'excellentes conditions pour une recombinaison des gènes dans la nature.

L'absence d'anticorps contre H3, H7 et H9 chez les jeunes oiseaux en Antarctique indiquerait que les anticorps se développant chez les oiseaux adultes seraient la conséquence d'un contact avec le virus en dehors des zones échantillonnées {Baumeister, Leotta et al., 2004}. Seule la présence d'anticorps contre H1 chez des jeunes pétrels de 40 jours, nés en Antarctique, semblerait démontrer la possibilité que ces oiseaux aient acquis l'infection localement.

Une étude sur le réservoir génétique des canards en Alberta couvrant 17 années (1983-2000) et 35 virus sélectionnés comme étant les plus fréquents confirma la diversité génétique de l'influenza aviaire chez la faune aquatique {Hatchette, Walker et al., 2004}. Les gènes du réservoir canadien se recombinent de façon indépendante et même si certains gènes sont prédominants pendant une certaine année, il n'y a pas d'évolution claire de ces génotypes dominants. La majorité des sous-types d'hémagglutinine isolés sont diversifiés et la fréquence de leur isolement change d'année en année {Deibel, Emord et al., 1985, Hatchette, Walker et al., 2004, Slemons, Shieldcastle et al., 1991}.

La circulation du virus semble être influencée par divers facteurs dont l'âge, l'espèce des oiseaux et le moment de l'année où l'isolement a eu lieu {Deibel, Emord et al., 1985} {Hinshaw, Webster et al., 1980}. On rapporte un isolement plus fréquent chez les canards immatures que chez les adultes {Hinshaw, Webster et al., 1980, Hinshaw, Wood et al., 1985, Sharp, Kawaoka et al., 1993, Slemons, Shieldcastle et al., 1991} {Hinshaw, Webster et al., 1980}. Certains sous-types atteignaient même des prévalences de niveau épidémique chez les juvéniles (oiseaux de moins de 1 an) {Sharp, Kawaoka et al., 1993}. Il existe aussi une variation saisonnière de l'isolement du virus, le taux d'isolement atteignant son maximum à l'automne {Sharp, Kawaoka et al., 1993} chez les oiseaux sauvages ou les oiseaux sentinelles {Halvorson, Karunakaran et al., 1983}. L'automne est la saison pendant laquelle les oiseaux se rassemblent avant la migration et l'augmentation du taux d'isolement pourrait refléter

une contamination accrue des oiseaux causée par le mélange de plusieurs populations de canards se rassemblant {Halvorson, Karunakaran et al., 1983}{Sharp, Kawaoka et al., 1993}. Les espèces de canards d'où le virus était isolé et les sous-types de virus différeraient aussi selon les couloirs migratoires {Hinshaw, Wood et al., 1985}.

Il semblerait aussi que les virus hautement pathogènes ne constituent pas des lignées phylogénétiques distinctes mais proviendraient plutôt de souches non pathogènes mutant une fois transmises à la volaille {Banks, Speidel et al., 2000}. Les virus hautement pathogènes ne seraient pas une entité distincte chez les oiseaux aquatiques et autres oiseaux. De plus, les virus H5 et H7 pourraient continuer d'émerger des réservoirs d'oiseaux sauvages.

Pour déterminer comment les virus du sous-types H7 se regroupaient génétiquement, 31 virus H7 isolés principalement d'Europe, d'Asie et d'Australie pendant les 20 dernières années furent analysés {Banks, Speidel et al., 2000}. Ils comparèrent les séquences des mêmes régions avec les séquences de 23 virus H7 disponibles dans Genbank (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/Genbank/index.html>). Les résultats révélèrent qu'il existait deux lignées, la nord-américaine et l'eurasienne. Cette dernière comportait des sous-lignées australiennes, européenne historique et équine. Ces sous-lignées représentées dans ces groupes principaux semblaient associées à la géographie et au temps plutôt qu'être associées à des espèces aviaires hôtes.

1.4.1.2. Mammifères

Carnivores

Le virus infecte les humains, les chevaux, les cochons, les visons et furets ainsi que les phoques et les baleines {Hinshaw, Bean et al., 1986}. Il est connu que les furets sont susceptibles à l'influenza d'origine humaine sans adaptation du virus. Dans une étude qui infecta des furets avec plus de 9 souches d'origine aviaire (en plus de Seal/Mass/1/80 (H7N7) et de la souche de la pandémie de 1968, HK/1/68 (H3N2)), on pu isoler dans tous les cas le virus des voies respiratoires {Hinshaw, Webster et al.,

1981}. Les furets ne présentèrent pas de signes cliniques. Trois virus, Ty/Ore/1/71 (H7N3), Seal/Mass (H7N7) et HK/68 furent testés dans la même étude chez le chat, le virus se répliqua là aussi dans les voies respiratoires sans causer de signes cliniques {Hinshaw, Webster et al., 1981}.

Bien avant que les chats soient considérés affectés par la souche asiatique de H5N1, la possibilité que des animaux proches de l'homme soient porteur du virus avait été explorée {Paniker et Nair, 1970}. Le virus de la pandémie de 1968, A2/Hong Kong/68 fut inoculé par voie intra-nasale à des chats. Ces mêmes chats transmirent le virus à d'autres chats en contact avec eux. Un humain infecté par le virus le transmis à un chat en toussant et éternuant, exposant ainsi l'animal à un aérosol. Les chats infectés ne montrèrent pas de signes cliniques mais on détecta le virus dans leur gorge pendant une semaine et ils développèrent des anticorps {Paniker et Nair, 1972}.

Le même virus (A/Hong Kong/68) fut testé ensuite {Paniker et Nair, 1972} sur des macaques et des chiens. Quatre chiens furent infectés par voie intra-nasale, développèrent l'infection et on isola le virus à partir de leur gorge pendant 4 jours. Ils développèrent des anticorps pour le virus. La transmission par contacts entre les chiens ne fut pas testée dans cette étude. Les macaques devinrent infectés eux aussi et répandirent le virus par leur gorge pendant 4 jours (entre le jour 2 et 6 après l'infection). Tous les trois singes en contacts avec les deux singes infectés contractèrent l'infection. On pense que les virus des pandémies de 1957 et 1968 (dont A/Hong Kong/68 (H3N2) est le coupable) seraient d'origine aviaire {Kawaoka, Krauss et al., 1989} {Kilbourne, 2006}.

Des infections naturelles se produisirent aussi chez les chats et les félinés sauvages en Asie due à l'épidémie de H5N1 qui nous démontra pour la première fois qu'un virus influenza aviaire hautement pathogène pouvait infecter un grand éventail d'hôtes. Deux tigres et deux léopards furent infectés par H5N1 en décembre 2003 dans un zoo en Thaïlande. Les animaux avaient été nourris avec des carcasses de poulet provenant d'un abattoir local {Keawcharoen, Oraveerakul et al., 2004}. Un chat ayant mangé un pigeon se retrouva lui aussi infecté en 2004 par H5N1. Le chat mourut 2 jours après le début des signes cliniques et présentait une maladie généralisée

{Songserm, Amonsin et al., 2006a}. D'autres mortalités félines se produisirent en Irak en 2006 {Kuiken, Rimmelzwaan et al., 2004, Yingst, Saad et al., 2006}{Kuiken, Rimmelzwaan et al., 2004}. Une autre étude infecta des chats à partir de carcasses de poulet infectées {Kuiken, Rimmelzwaan et al., 2004}. De plus, une étude détecta le virus dans les reins des chats infectés, ce qui ajouterait aux voies respiratoires et digestives la voie urinaire comme mode de contamination de l'environnement {Rimmelzwaan, van Riel et al., 2006}.

Plus récemment, en 2004, l'influenza augmenta encore une fois son éventail d'hôtes en infectant naturellement une espèce qu'il n'affectait pas historiquement, des lévriers greyhound de course en Iowa {Yoon, Cooper et al., 2005}. Le séquençage du gène HA révéla une similitude importante de ce virus H3N8 (homologie de 96%-98%) avec des gènes récents de virus équins H3N8. Et puis, en 2004 aussi, un décès fut rapporté chez un chien ayant consommé un canard provenant d'une région de la Thaïlande subissant des épisodes de H5N1 chez les canards. Le virus fut isolé des poumons, du foie, des reins et de l'urine du chien {Songserm, Amonsin et al., 2006b, Songserm, Amonsin et al., 2006b}.

Rongeurs

L'adaptation de virus humains chez les souris a été étudiée extensivement. En général, les virus humains ne sont pas pathogènes chez les souris et ne causent pas de lésions pulmonaires sans adaptation. Mais après plusieurs passages dans les souris, ces virus acquièrent la capacité de les tuer {Andrewes, Laidlaw et al., 1934, Francis, 1934, Schulman et Kilbourne, 1962}. Toutefois, le virus de la pandémie de 1918, le virus de l'influenza aviaire hautement pathogène A/Vietnam/1203/04 (H5N1) et le virus de la pandémie de 1968 A/Hong Kong/8/1968 (H3N2) causèrent tous des signes cliniques chez les souris sans adaptation et on pu isoler le virus à partir de leurs voies respiratoires {Lowen, Mubareka et al., 2006}. Par contre, aucune transmission (isolement du virus à partir des poumons) ne fut observée chez des souris introduites dans la cage des souris infectées 24 heures après l'inoculation du virus. Par ailleurs, d'autre virus mammaliens comme les virus équins ne nécessitent pas nécessairement

d'adaptation {Kawaoka, 1991}. Tous les sept virus équins H7N7 étudiés furent mortels pour les souris sans avoir été préalablement adaptés. De plus, le virus pu être isolé des tissus cérébraux des souris affectées, comme le sont certains virus hautement pathogènes de la volaille. De plus, après huit passages, A/Equine/London/1416/73 acquies la capacité de s'attaquer à d'autres organes que les poumons, i.e. colon, foie, reins et le cerveau. Par contraste, les virus humains adaptés aux souris ne pouvaient infecter que les poumons et le foie.

D'autres rongeurs peuvent être affectés par un virus de l'influenza humain. A/Panama/2007/99 (H3N2) infecta des cobayes sans aucune adaptation {Lowen, Mubareka et al., 2006}. La dose infectante pour les cobayes n'était que de 5 U.F.P., ce qui range les cobayes dans une catégorie très susceptible. De plus, de la transmission par gouttelettes et par aérosol fut observée entre des cobayes infectés et des cobayes logés dans des cages contiguës et des cages à 91 cm de distance. Ceci vient confirmer la possibilité que l'influenza aviaire ait pu infecter les cobayes pendant la pandémie de grippe espagnole en 1919. En effet, des cobayes de laboratoire gardés au camp militaire Cody dans le Nouveau-Mexique se mirent à mourir juste après que l'épidémie d'influenza ait atteint le camp. À la nécropsie, les cobayes présentaient des signes indéniables de pneumonie. Ils étaient malades pendant 2 à 4 jours avant de mourir, tremblaient de froid, leur pelage était ébouriffé, ils se blottissaient dans un coin de la cage et ne bougeaient que pour se nourrir. Leur respiration était rapide et sifflante. Ce sifflement caractéristique devenait à peine perceptible juste avant la mort {Lamb et Brannin, 1919}. Tous les cobayes (30 au total) moururent en 3 semaines. Un deuxième groupe de 46 cobayes, placé dans un autre local, mourut en 3 semaines aussi, 2 semaines après leur arrivée.

En plus de vérifier la pathogénicité de 10 virus aviaires chez le singe tête de mort (*Saimiri sciureus*), une étude {Murphy, Hinshaw et al., 1982} vérifia la pathogénicité des mêmes virus chez les hamsters dorés inoculés par voie intra-nasale. Tous les virus aviaires se répliquèrent dans les voies respiratoires et les poumons des hamsters alors que chez les singes, les virus aviaires arboraient un éventail de virulence.

Mammifères marins

Du côté des mammifères marins, il se produisit des épisodes d'influenza chez 600 phoques en 1979 et 1980 sur la côte de la Nouvelle-Angleterre. A/Seal/MA/1/80 H7N7 fut isolé {Callan, Early et al., 1995}. Une deuxième épidémie survint de juin 1982 à août 1983 et fut associée avec un virus H4N5, A/Seal/MA/133/82. Ces deux virus étaient d'origine aviaire {Hinshaw, Bean et al., 1984}.

Par la suite, l'influenza de type A fut isolé de phoques échoués sur la péninsule de Cape Cod en janvier 1991 et une deuxième fois en janvier et février 1992. En 1991, des virus H4N6 (A/Seal/MA/3807/91 et A/Seal/MA/3810/91) furent isolés des poumons de deux phoques. On observa une pneumonie aiguë interstitielle chez les deux phoques, hémorragique pour un seul des phoques ainsi que de l'emphysème cutané chez les deux animaux.

Pendant un autre épisode de 1992, deux virus H3N3 furent isolés des poumons de trois phoques. Les hémagglutinines de deux de ces virus furent caractérisés (A/Seal/MA/3911/92 et A/Seal/MA/3984/92) et on leur trouva un lien étroit avec les hémagglutinines H3 de virus isolés principalement d'oiseaux nord-américains. Ceci indiquerait que les virus prédominants en Amérique du Nord chez les oiseaux seraient capables de s'adapter à des hôtes mammaliens.

Ces deux virus seraient le résultat d'une seule introduction dans la population de phoques puisqu'ils divergent à partir d'un seul nœud. Contrairement aux virus aviaires qui semblent évoluer par des mutations aléatoires, les changements dans les hémagglutinines des virus de ces phoques auraient été causés par une pression sélective. Il est fort possible qu'un contact étroit entre les populations d'oiseaux côtiers et de phoques soit la base de cette transmission entre les espèces. En effet, quatre sous-types différents (H7N7, H4N5, H4N6 et H3N3) ont déjà été détectés dans les populations de phoques, avec dans chaque cas une possibilité d'origine aviaire {Callan, Early et al., 1995}.

Ces virus infectant les phoques et possédant des gènes aviaire continuent de circuler et possèdent donc le potentiel de s'adapter aux mammifères {Callan, Early et

al., 1995} {Hinshaw, Bean et al., 1984, Rohm, Horimoto et al., 1995} {Callan, Early et al., 1995, Callan, Early et al., 1995, Hinshaw, Bean et al., 1984}.

Deux autres influenza furent isolés en 1984 du nœud lymphatique hilaire et des poumons d'un globicéphale noir euthanasié à cause de sa mauvaise condition physique {Hinshaw, Bean et al., 1986}. Ces deux virus étaient apparentés à des virus aviaires retrouvés chez les goélands. Comme le virus est répandu en grande quantité par les fèces de goélands, la contamination de l'eau de mer aurait pu être une méthode de transmission. Malgré la grande dilution qu'apporterait l'océan, les activités nourricières des deux espèces se produisent de façon rapprochée, augmentant ainsi la probabilité d'une contamination orale-fécale. Une autre souche d'influenza, potentiellement d'origine aviaire fut aussi isolée en 1976 de baleines provenant du sud du Pacifique {Lvov, Zdanov et al., 1978}. Cette souche se multipliait aussi bien à des températures de 28°C qu'à des températures de 40°C, ce qui suggère une adaptation aux baleines aussi bien qu'aux oiseaux.

1.4.2. Sources d'infection

1.4.2.1. Les oiseaux sauvages

L'évidence phylogénétique suggère que tous les virus de influenza A sont dérivés de virus circulant dans les espèces aviaires aquatiques, chez lesquelles ils sont considérés comme avirulents et chez lesquelles tous les hémagglutinines et les neuraminidases continuent d'exister {Webster, Bean et al., 1992}. Il semblerait aussi que chez les poulets et les dindes, les virus subissent une évolution rapide, un signe qu'ils s'adapteraient à un nouvel hôte. L'hypothèse la plus courante est que ces virus, avant leur introduction dans la population aviaire domestique, proviendraient des réservoirs sauvages aviaires.

Peu d'évidences à ce sujet existaient jusqu'à tout récemment, sauf des preuves circonstancielles. Par exemple, au Minnesota, l'influenza aviaire avait été un problème récurrent chez la dinde depuis 1966 lorsque trois fermes se retrouvèrent affectées par un sous-type H10N7 en 1979 et 1980. Ce sous-type n'ayant pas été détecté dans la volaille depuis 1949 (A/chicken/N/Germany/49), la question de la provenance et du mode d'introduction du virus s'imposa. On testa des canards colverts domestiques élevés à proximité des deux premières fermes et on isola un virus H10N7 qui n'était pas distinguable sérologiquement des virus isolés des fermes. Ces canards domestiques étaient occasionnellement en contact avec des canards sauvages et auraient été vus à quelques reprises à proximité des dindes qui étaient élevées à l'extérieur {Karunakaran, Hinshaw et al., 1983}.

Ces problèmes liés à l'influenza aviaire chez les dindes survenaient typiquement entre septembre et octobre. Cette période coïncidaient avec la migration vers le sud des oiseaux sauvages, plus précisément des oiseaux aquatiques, et avec la période où une grande partie des dindes résident à l'extérieur. Une étude fut donc mise sur pied pour évaluer le rôle des population aviaires sauvages comme source possible d'influenza aviaire pour les dindes {Halvorson, Karunakaran et al., 1983}. Des canards

sentinelles furent relâchés sur des étangs et échantillonnés avec des écouvillons cloacaux périodiquement. Les fermes de dindes des alentours furent aussi testées. L'étude isola des canards sentinelles une grande variété de sous-types, dont les virus H5 et H7, et fut capable d'isoler des sous-types similaires à partir des canards et des dindes. Les virus furent isolés principalement pendant deux périodes. La première se situait après la saison de la reproduction des canards et après que les canetons soient devenus assez vieux pour sortir de leur cachette. La deuxième période se situait pendant les rassemblements de canards à la fin de l'été dans les marécages pendant leur migration vers le sud.

La détection de l'influenza aviaire chez les dindes était saisonnière, survenant 6 à 8 semaines après l'apparition de l'infection chez les canards {Halvorson, Kelleher et al., 1985}. Cette infection restait saisonnière et non endémique puisque le dépeuplement des fermes pour envoyer les oiseaux à l'abattoir interrompait le cycle de transmission du virus.

Ce délai d'infection des oiseaux domestiques de 6 à 8 semaines pourrait être dû au temps requis pour les différents vecteurs ou véhicules du virus pour parcourir le chemin entre l'habitat des canards sauvages et les fermes avicoles. Par exemple, les passereaux, goélands, ratons laveurs ou chasseurs de canards pourraient transporter le virus. Certaines espèces de mammifères, qui fréquentent les habitats des oiseaux aquatiques aussi bien que sur les fermes avicoles (mouffettes, écureuils, ratons laveurs), ont déjà été infectées expérimentalement par des virus de l'influenza aviaire {Halvorson, Kelleher et al., 1985}.

Donc, jusqu'à dernièrement, les ancêtres viraux des cas reportés d'influenza aviaire dans la volaille n'avaient jamais été identifiés, même si on suppose qu'ils circulent chez les oiseaux sauvages. Ceci est vrai pour l'Italie pour les épisodes de H7N2 en 1997 et pour H7N1 de 1999 à 2001, puisque la surveillance virologique et sérologique chez les oiseaux sauvages dans les terres humides de l'Italie centrale n'a jamais pu identifier un précurseur étroitement relié aux virus ayant causé les épidémies, même si les routes migratoires des oiseaux sauvages traversent le nord de l'Italie. Toutefois, à l'automne 2001, deux virus H7N3 furent isolés de canards de cette région.

Ensuite, en octobre 2002, une nouvelle épidémie de H7N3 faiblement pathogène commença à se répandre dans les fermes d'élevage intensif du nord de l'Italie, dans les mêmes régions affectées par H7N1 en 1991-2000 {Campitelli, Mogavero et al., 2004}.

Depuis les dernières épidémies, les autorités vétérinaires avaient adoptées des mesures de prévention additionnelles qui incluait une surveillance sérologique systématique de tous les lots de volaille présentés à l'abattoir. En octobre 2002, en Lombardie, une dinde fut trouvée positive à H7N3. Vingt écouvillons cloacaux furent prélevés des autres dindes de cette ferme ainsi que de deux autres fermes reliées économiquement et géographiquement à cette dernière. Les virus A/Turkey/Italy/214845/02 et A/Turkey/Italy/220158/02 furent isolés. Dans le but de déterminer le degré de similarité génétique entre ces deux virus domestiques et les deux virus de canards sauvages, les séquences complètes des gènes HA et NA ainsi qu'une partie des gènes internes furent analysées {Campitelli, Mogavero et al., 2004}.

Les deux virus sauvages possédaient entre eux 100% d'homologie au niveau de l'HA. Les deux virus domestiques étaient aussi identiques entre eux. Mais entre les virus sauvages et domestiques, il y avait une substitution de 7 nucléotides dans le gène codant pour la molécule d'HA. Ils possédaient aussi en commun la même séquence au niveau du site de clivage. De plus, ces virus étaient proches du groupe contenant les virus H7N1 isolés en 1999 en Italie, montrant que les virus H7 italiens soit partageaient un ancêtre commun ou soit s'étaient transmis leur HA entre eux.

De plus, la protéine N3 des virus italiens de dindes avait perdu 23 acides aminés dans la région de la tige. Cette suppression n'a jamais été observée chez les oiseaux sauvages mais à maintes reprises chez les oiseaux domestiques. À part cette suppression, les virus présentaient une grande homologie entre eux au niveau des nucléotides (99%). Ce serait donc le premier compte-rendu d'un influenza aviaire dont le gène NA serait le précurseur d'un virus circulant chez les oiseaux domestiques et à qui il manquerait une longue séquence d'acides aminés dans la tige de la neuraminidase, une caractéristique associée avec un début d'adaptation des virus aviaires sauvages aux dindes et aux poulets. L'étude conclue donc que les virus H7N3 de canards et de dindes partagent un ancêtre commun pour leur gène N3.

On ne peut pas dire avec certitude lequel des deux virus était le progéniteur de l'autre. Le fait que les virus des canards aient circulé un an avant la détection des virus chez la dinde et que la surveillance sérologique régulière chez la volaille domestique n'ait montré aucun signe d'anticorps contre H5 ou H7 avant juillet 2002 tendrait à démontrer que les virus domestiques auraient été introduits à partir du réservoir de virus sauvages. De plus, l'auteur souligne que la possibilité que des virus provenant d'oiseaux sauvages et circulant chez les dindes subissent des changements favorisant leur adaptation aux poulets ne peut être exclue.

Quant aux gènes internes, ils sont étroitement reliés à des virus isolés de l'Asie du sud-est, particulièrement en Chine. Cette évidence confirme le flot continu de virus de l'influenza entre l'Europe et l'Asie due aux migrations aviaires.

La même année que l'isolement du précurseur de l'épidémie italienne de 2002, on isola en Bolivie un virus apparenté au virus responsable de l'épidémie au Chili en 2002 {Spackman, McCracken et al., 2006}. Les gènes de la matrice et des gènes non-structuraux avaient comme parent le plus proche Chicken/Chile/176822/02 (H7N3). Les pourcentages d'homologie des cinq gènes se situaient entre 90,1% et 96,6%. Ceci suggérerait que ce virus, ayant circulé dans la population sauvage neuf mois avant l'épisode au Chili, aurait eu un ancêtre commun avec le virus Chilien; ce qui supporterait la théorie selon laquelle le virus chilien aurait été introduit chez les poulets à partir d'oiseaux sauvages.

Quant aux oiseaux terrestres sauvages, ils ne semblent pas jouer un rôle détectable dans l'écologie de l'influenza aviaire {Deibel, Emord et al., 1985}.

1.4.2.2. Les populations de volailles domestiques

Bien que les oiseaux sauvages constituent un réservoir pour l'influenza aviaire, une des hypothèses la plus répandue est que le virus, quoique introduit à partir d'oiseaux sauvages, devrait subir une adaptation à la volaille domestique avant de devenir hautement pathogène. C'est dans les marchés de volailles vivantes qu'on pense

que cette évolution se produirait. Le virus serait introduit dans les marchés de volailles par des canards, oies ou autres espèces domestiques pour ensuite persister pendant un certain temps, de nouveaux oiseaux susceptibles étant constamment introduits pour continuer le cycle {Senne, Pearson et al., 1992}.

La présence de virus H5N2 de l'influenza aviaire fut notée pour la première fois dans 48 des marchés de volaille vivantes de plusieurs états du nord-est des États-Unis et de Floride entre 1986 et 1989. Ces virus étaient tous apparentés au virus H5N2 {Suarez et Senne, 2000} qui avait affecté la Pennsylvanie en 1983-1984. À ce moment-là, peu de données étaient disponibles sur la grandeur et la complexité de ce segment de l'industrie. Un recensement dénombra approximativement 725 000 oiseaux incluant des poulets, dindes, canards, pintades, pigeons et perdrix choukar. La majorité de ces oiseaux était gardée dans des marchés du nord-est des États-Unis {Senne, Pearson et al., 1992}.

Ces même virus furent impliqués dans plusieurs épisodes d'influenza aviaire faiblement pathogène sur des fermes en Pennsylvanie, au New Jersey, au Massachusetts et en Ohio en 1986. On commença donc à penser que les marchés de volailles vivantes auraient contribué à la persistance du virus chez les oiseaux domestiques, qu'ils auraient pu contribuer à l'adaptation des virus à la volaille en permettant une circulation prolongée dans la population aviaire {Suarez et Senne, 2000} et qu'ils auraient pu être la source du virus coupable de l'épidémie de 1983-1984 {Bean, Kawaoka et al., 1986, Senne, Pearson et al., 1992}.

Une autre souche commença à être isolée à partir de 1994, un virus H7N2 cette fois {Suarez, Spackman et al., 2003}. La plupart des virus H7N2 isolés provenaient de la lignée observée pour la première fois en 1994 mais de nouvelles introductions de H7N2 et de H7N3 furent aussi observées. Cette lignée prédominante se répandit dans les poulaillers de volailles commerciales en au moins trois occasions à partir de 1997 {Suarez, Spackman et al., 2003}. L'épisode le plus important se produisit en Virginie en 2002 {Akey B. L. 2003} et causa la destruction de 4,7 millions d'oiseaux. Aucun lien direct ne pu être établi avec les marchés de volailles vivantes mais la souche impliquée possédait une composition moléculaire essentiellement identique à la souche

ayant circulée pendant plus de huit ans dans les marchés de volailles vivantes du nord-est de États-Unis. D'ailleurs, pendant toutes ces années de circulation, plusieurs changements moléculaires se sont produits au niveau du site de clivage de l'hémagglutinine qui laissent croire que le virus pourrait être en train d'acquérir plus de virulence et c'est pourquoi les efforts pour éliminer le virus des marchés de volailles vivantes se sont intensifiés {Senne, Suarez et al., 2003, Suarez, Garcia et al., 1999} {Suarez, Garcia et al., 1999} {Halvorson, Kelleher et al., 1985}. Entre 40% et 60% des marchés furent positifs à H7N2 à un moment donné entre 1994 et 2001 {Senne, Suarez et al., 2003}.

Dans une étude épidémiologique regroupant 109 marchés de volailles vivantes, le virus H7N2 fut isolé le plus souvent de volaille de réforme blanche [*sic*] (47,8%) et de pintades (32,5%). Le virus ne fut jamais isolé uniquement à partir d'oiseaux aquatiques {Bulaga L. L, Garber L. et al., 2003}. Les marchés fermaient au moins une journée par semaine et ceux qui nettoyaient et désinfectaient à tous les jours avaient le risque le moins élevé d'être positifs à la détection du virus.

Contrairement au États-Unis, il existe peu d'information publiée sur la prévalence du virus dans la population aviaire domestique canadienne. Entre 1997 et 2001, 15 souches d'influenza aviaire furent isolées au centre national des maladies animales exotiques, provenant d'oiseaux en quarantaine, de volailles domestiques et d'oiseaux sauvages {Pasick, Weingartl et al., 2003}. Les sous-types H1, H6, H7 et H10 furent isolés de la volaille domestique, H3, H4 et H13 isolés d'oiseaux aquatiques et H3 d'oiseaux gardés en quarantaine. Le virus de sous-type H7 était un virus H7N1 isolé de dindes de l'Ontario et possédait un IPIV de 0.

1.4.3. Modes de transmission

1.4.3.1. Matières contaminées

Le fumier

Le virus de l'influenza est excrété dans l'environnement par les narines, la voie orale, les conjonctives et le cloaque des oiseaux infectés parce que le virus se réplique dans les organes respiratoires, intestinaux, rénaux et reproducteurs. Les concentrations de virus dans les voies respiratoires sont plus élevées (104,2-7,7 EID₅₀/ml) que celles dans les intestins (102,5-4,5 EID₅₀/g de fumier) mais le plus grand volume de fumier infecté en fait un mode de transmission plus important {Swayne et Halvorson, 2003}. Le fumier de canard contaminerait l'environnement, soit directement ou indirectement, à travers la contamination de la moulée, de l'eau ou de surfaces. Les contaminations par du fumier de l'équipement, des bottes, des vêtements et du matériel de ferme sont des moyens faciles à emprunter pour le virus. C'est pourquoi les programmes de biosécurité mettent l'accent sur l'utilisation de bottes dont l'usage est dédié exclusivement à la ferme, voir même à un bâtiment, au changement de vêtements avant l'entrée dans un poulailler et au nettoyage et à la désinfection de l'équipement quittant la ferme.

L'eau

Une des hypothèses les plus courantes sur la transmission de l'influenza aviaire aux oiseaux domestiques est que le virus serait introduit à partir d'oiseaux sauvages, par une contamination de l'environnement ou par contact. La contamination de l'eau de surface pourrait être un des moyens qu'emprunte l'influenza aviaire. Par exemple, une étude rapporte l'isolement du virus pendant le mois d'août 1977 dans une eau obtenue à 3 m des pièges utilisés pour capturer des canards sur 16 lacs de l'Alberta {Hinshaw, Webster et al., 1979}. Aucune technique de concentration du virus à partir de grandes quantités d'eau ne fut utilisée. Cette période se situe entre la saison de la reproduction et la saison de la migration des oiseaux. L'échantillonnage comptait 2046 oiseaux aquatiques en tout, dans le comté de Vermillion River. Ces oiseaux provenaient de 16 lacs qui furent visités 10 fois pendant une période d'environ 1 mois entre le 2 août et le 4 septembre. Des échantillons cloacaux, d'eau et de fèces provenant de la berge furent récoltés. Les virus étaient le plus souvent isolés des cloaques de canards colverts, le canard le plus commun en Amérique du Nord. Vingt-six pourcent des jeunes (moins de 1 an) furent source de virus. Il est intéressant de noter qu'en plus de l'eau de six lacs,

les selles prélevées sur les berges de trois autres lacs se révélèrent aussi être une source du virus.

Au Minnesota en 1980-1981 {Halvorson, Karunakaran et al., 1983}, dix échantillons d'eau sur 169, prélevés à proximité des cages de canards sentinelles, étaient positifs à l'isolement du virus. Neuf des dix sous-types ainsi isolés furent aussi isolés des canards étudiés et neuf des dix échantillons positifs furent prélevés après la fin de septembre, lorsque la température de l'eau se situait en dessous de 12°C.

Ceci suggère que l'eau et les berges des lacs contaminées avec les fèces d'oiseaux pourraient être un moyen naturel de propagation du virus parmi les oiseaux sauvages. Des études de laboratoire ont démontré que 1) le virus se réplique dans la muqueuse intestinale des canards 2) des titres élevés de virus sont excrétés dans les selles (un canard pourrait produire jusqu'à 10^{10} EID₅₀ ayant une demi-vie de 24h) {Webster, Yakhno et al., 1978} 3) l'eau inoculée avec ces fèces peut rester infectieuse pour 4 jours à 22°C et pour 30 jours à 0°C. De plus, les animaux domestiques qui boiraient cette eau contaminée ou qui partageraient leur habitat avec des oiseaux sauvages sur leur route migratoire pourraient s'infecter et même transmettre le virus à d'autres espèces {Hinshaw, Webster, et al. 1979}.

En une autre occasion, en septembre 1990, H13N2 fut isolé à partir de l'eau provenant d'un étang dans le comté de Swift au Minnesota. On préleva des écouvillons cloacaux et trachéaux de dindes du comté de Stearns deux semaines plus tard qui furent positifs à H13N2. Le virus ne causa pas de maladie chez les dindes et n'était pas pathogénique chez les poulets. Des échantillons sérologiques provenant des comtés d'Ottetail et de Swift prélevés 2 jours et 5 jours plus tard se révélèrent aussi positifs pour H13N2. De grandes quantités de goélands furent observées sur toutes les fermes où des échantillons furent prélevés {Sivanandan, Halvorson et al., 1991}. L'hémagglutinine H13 est isolé principalement à partir de goélands et l'isolement du virus à partir d'eau de surface pourrait suggérer qu'une infection des dindes aurait pu se produire à partir des goélands.

Depuis longtemps, on supposait que la façon dont le virus se perpétuait dans les populations aviaires sauvages était qu'il restait viable dans les eaux gelées des

lacs l'hiver, d'autant plus que des virus avaient été isolés des lacs après que la majorité des oiseaux aient quitté pour le sud {Ito, Okazaki et al., 1995}. Cela n'avait pas été prouvé jusqu'à ce que la présence de virus de l'influenza H1 soit détectée dans la glace et l'eau de deux lacs sibériens fréquentés par de grandes quantités d'oiseaux migratoires en 2001-2002 {Zhang, Shoham et al., 2006}. L'échantillon d'eau fut récolté en septembre et celui de glace en mars de l'année suivante. Ces deux lacs se situent sur le chemin des oiseaux empruntant des voies migratoires de l'Europe, l'Asie, l'Afrique et l'Amérique du Nord. Cette étude avance comme hypothèse que le virus réinfecterait les oiseaux au printemps à partir de virus ayant séjournés dans la glace durant l'hiver, d'autant plus qu'au-delà du cercle polaire, la glace ne fond pas complètement toutes les années.

1.4.3.2. Les aérosols

La transmission par aérosols de l'influenza est un mode de transmission bien connu pour l'influenza humain {Tellier, 2006}. On trouva que l'infection de souris dans des cages par aérosols était dépendante du taux de ventilation et du taux d'humidité de l'air. De plus, les souris séparées des souris infectieuses étaient tout autant infectées que les souris logées dans la même cage que les souris infectieuses {Schulman et Kilbourne, 1962}.

Un épisode de transmission du porc vers l'humain se produisit en 1994 quand quatre travailleurs de laboratoire prélevèrent des écouillons nasaux de porc expérimentalement infectés par le virus A/Sw/In/1726/88 (H1N1) {Wentworth, McGregor et al., 1997}. Deux travailleurs développèrent des symptômes modérés de l'influenza aviaire et les deux virus isolés de leur pharynx étaient semblables antigéniquement au virus inoculé chez les porcs. Les porcs étaient gardés dans un centre qui pratiquait une biosécurité de niveau trois. Les employés en contact avec les porcs portaient donc des salopettes, des bottes, des lunettes étanches, des filets à cheveux et des masques provenant d'une antichambre menant aux porcs. Toutefois, au

lieu de porter ce jour-là des masques « 3M Dust and Mist Respirator » (no 8710, 3M, St-Paul, Minnessotta), on avait par inadvertance fourni aux employés des masques « 3M Nuisance Dust Mask » (no 8500, 3M, St-Paul, Minnessotta). Ces masques offraient une protection moindre pour les particules de petite taille de sorte qu'on soupçonna une transmission par aérosol dans ce cas particulier {Wentworth, McGregor et al., 1997}.

La transmission par aérosols du virus de l'influenza aviaire sur de longues distances (autrement qu'à l'intérieur du poulailler) pendant une épidémie chez la volaille n'a jamais été démontrée hors de tout doute. De grands volumes d'air ont été échantillonnés durant l'épidémie de influenza aviaire hautement pathogène H5N2 en Pennsylvanie en 1983-1984 et le virus a été isolé à 45 mètres en aval d'un courant d'air provenant d'une ferme infectée {Brugh et Johnson, 1986}.

1.4.3.3. Vecteurs mécaniques

Peu de données concernant l'implication potentielle de vecteurs mécaniques dans la transmission du virus existaient avant 2006. En effet, pendant l'épidémie de 1983 en Pennsylvanie, le virus H5N2 avait été isolé de deux écouvillons nasaux provenant de 40 personnes impliquées dans le dépeuplement des oiseaux. Aucun test sérologique ne se révéla positif. Le virus fut aussi isolé de mouches provenant d'un des premiers poulaillers affectés. Ces résultats démontrent que les humains et les mouches auraient pu agir comme vecteurs mécaniques à court terme pour transporter le virus {Bean, Kawaoka, et al. 1985}.

Toutefois, en 2004, dans la ville de Tamba au Japon, on testa des mouches à l'intérieur d'un rayon de 2,3 km autour de deux fermes affectées par un épisode de H5N1 {Sawabe, Hoshino et al., 2006}. Les gènes du virus H5N1 furent détectés des organes intestinaux, jabots et intestins de deux espèces de mouches à viande, *Calliphora nigribarbis* et *Aldrichina grahmi*. Le virus fut même isolé de deux mouches (*Calliphora nigribarbis*) dans des œufs embryonnés. Le gène du virus fut détecté chez 20%-30% des *Calliphora nigribarbis* collectées à 600-700 m des

poulaillers et chez 0%-20% des *Aldrichina grahami* provenant des mêmes sites. Sur un site situé à plus de 2 km des poulaillers infectés, 10% des *Calliphora nigribarbis* étaient positives pour les gènes de H5N1. Le virus (A/blow fly/Kyoto/93/2004) fut caractérisé et on démontra qu'il comportait plus de 99,9% de similitude dans trois segments d'ARN (M1, M2 et HA) avec les virus A/chicken/Kyoto/3/2004 et A/crows/Kyoto/53/2004. Ces deux derniers avaient été isolés de poulets et de corbeaux trouvés morts pendant l'épidémie. On peut donc conclure que les mouches peuvent être des vecteurs mécaniques ou biologiques du virus.

1.4.4. Ratio de transmission et fraction protectrice

Une étude expérimentale compara la capacité d'infection du virus H5N2 hautement pathogène versus un virus H5N2 faiblement pathogène {van der Goot, de Jong et al., 2003}. Le virus hautement pathogène était plus infectieux et pour plus longtemps que le virus faiblement pathogène. Cette différence dans le potentiel infectieux pourrait peut-être s'expliquer par le fait que les oiseaux atteints par le virus hautement pathogène excrètent le virus par les fèces en plus de l'excréter seulement par les voies respiratoires comme le fait le virus faiblement pathogène.

Ils trouvèrent aussi qu'une infection à H5N2 faiblement pathogène diminuait énormément la vitesse de transmission de H5N2 hautement pathogène dans un troupeau puisqu'elle apportait une immunité contre le virus hautement pathogène aux oiseaux préalablement infectés par le virus faiblement pathogène. En utilisant les ratios de reproduction trouvés dans l'étude pour le virus H5N2 hautement pathogène et en supposant une période latente de 1 à 2 jours ($R_0=31,7$), ils calculèrent la fraction critique permettant de déterminer la proportion d'oiseaux devant être préalablement infectés par H5N2 faiblement pathogène pour prévenir un épisode par H5N2 hautement pathogène (97%). En utilisant la limite de confiance supérieure du ratio de reproduction du virus faiblement pathogène ($R_0=2,39$), ils calculèrent que la quantité maximale d'oiseaux pouvant obtenir une immunité protectrice aurait dû être de 88%. Ceci est

grandement en dessous du pourcentage nécessaire pour protéger un troupeau contre H5N2 hautement pathogène. Un épisode majeur d'influenza aviaire faiblement pathogène a peu de chance de fournir une immunité suffisante contre un épisode majeur d'influenza aviaire hautement pathogène pour un troupeau en entier mais en ralentirait la progression dans le poulailler.

Une autre étude effectuée avec les données recueillies sur des fermes affectées par le virus H5N1 en Thaïlande (par l'enquête nommée « x-ray ») {Tiensin, Nielen et al., 2007} trouva des ratios de reproduction du virus moins élevés que l'étude de van der Goot, de Jong et al. {2003}. Les ratios de reproduction variaient entre 2,26 et 0,66 pour des périodes infectieuses fixées entre 1 et 4 jours respectivement dans le modèle. De plus, ces résultats révèlent que, pour H5N1 en Thaïlande, la fraction critique de vaccination nécessaire pour prévenir un épisode majeur dans un troupeau était de 75-80%.

1.4.5. Facteurs de risque

Entre le début des années soixante jusqu'au début des années quatre-vingts, on compta 69 épisodes d'influenza aviaire recensés par l'Ontario Veterinary College. Les dindes étaient affectées avec parfois de jeunes canards mais jamais les poulets, malgré que ceux-ci soient à l'époque au moins dix fois plus nombreux au Canada que les dindes {Lang, 1981}. Bien que cela ne soit pas précisé dans l'article, il est connu que, contrairement au poulet, des troupeaux de dindes sont parfois élevés à l'extérieur.

On attribuait le diagnostic plus fréquent de l'influenza aviaire faiblement pathogène {Lang, 1981} à une amélioration des tests diagnostics et surtout au changement radical de l'industrie aviaire depuis le début du siècle. De fermes élevant quelques oiseaux de basse-cour, on passa à des exploitations intensives comprenant plusieurs milliers d'oiseaux confinés à des bâtiments, ce qui créa des conditions favorables à l'intérieur des bâtisses pour le virus. De plus, là où des maladies souvent ignorées, faiblement ou modérément pathogènes, n'affectaient que quelques oiseaux

dans la ferme familiale, on passa à un système de production avicole où la croissance et la ponte de milliers d'oiseaux était étroitement surveillées. Dans ce système moderne, une déviation des normes de performance était immédiatement détectée.

La circulation du virus dans la population de dindes (comme il le fait chez les humains, les porcs et les chevaux) ne put être confirmée et on nota qu'avec la reconnaissance de la faune aviaire sauvage comme source d'infection, la fréquence des épisodes détectés diminua. Il y eu des épisodes récurrents sur les grandes fermes d'élevages mais la diversité des souches isolées permit de croire que le virus était réintroduit à partir de l'extérieur. L'influenza semblait néanmoins être endémique dans les fermes de canard.

L'application de méthodes simples pour séparer les oiseaux sauvages des dindes domestiques et des poulets permit une diminution marquée de la fréquence des infections. Le seul épisode noté par la suite fut sur une ferme gérée par un employé inexpérimenté. Cet épisode mit l'accent sur l'importance, dans l'application de la biosécurité, de l'éducation du personnel. Il est idéal que l'employé coopère complètement. Celui-ci joue un rôle crucial dans l'observance du programme de biosécurité et la détection de ses failles, comme par exemple, la contamination de la moulée dans les réservoirs ou de la litière dans les granges accessibles aux oiseaux de l'extérieur.

Une première étude (cas-témoins) comprenant 173 cas (RT-PCR positif) et 401 témoins fut effectuée pour analyser les facteurs de risques associés à l'épisode d'influenza aviaire aux Pays-Bas en 2003 {Thomas, Bouma et al., 2005}. Les rapports de cotes (odds ratios) furent calculés plusieurs facteurs de risques possibles: les fermes ayant des pondeuses (à cause des camions transportant les œufs), les fermes élevant les oiseaux à l'extérieur, les fermes élevant du bétail et les fermes élevant des porcs. Finalement, le seul facteur de risque retenu aux Pays-Bas en 2003 fut le type d'élevage (poules pondeuses; OR=1,65 IC95%= 1,06-2,56).

L'âge des oiseaux ne fut toutefois pas inclus comme facteur de risque dans l'étude. Il existe la possibilité que les conducteurs de camions aient transporté le virus à cause de mesures d'hygiène inadéquates (par exemple par la réutilisation des cartons

pour le transport des œufs). Des informations plus précises n'étaient pas disponibles parce que toutes les fermes étaient dépeuplées et que les éleveurs ne reçurent pas d'autres visites de la part des organisations gouvernementale vétérinaires.

L'étude de Thomas, Bouma et al. {2003} ne trouva pas un risque plus élevé pour les élevages à l'extérieur, mais les oiseaux furent obligatoirement gardés à l'intérieur après que l'épidémie fut déclarée. On trouva par contre une association entre le nombre de poulaillers ($OR=1,93$ $IC(95\%)=1,34-2,79$) et le nombre d'oiseaux ($OR=2,08$ $IC(95\%)=1,45-3,00$) et le risque d'être détectée comme infectée pour une ferme. Il semblerait que les plus grandes fermes aient plus de chance d'être détectées comme infectées puisqu'il y a plus de trafic et de contacts pour les oiseaux. Toutefois, le nombre de poulaillers peut varier selon leur capacité (une ferme peu avoir beaucoup de petits poulaillers et un autre peut avoir peu de grands poulaillers). D'autre part, le nombre d'oiseaux qu'une ferme peut contenir dépend du type de production (ex. élevage de dindes de chair versus poules pondeuses). Il en résulte que les variables du nombre de poulaillers ou d'oiseaux sont des approximations de la grosseur réelle d'une ferme.

Une deuxième étude (cas-témoins) {McQuiston, Garber et al., 2005} fut effectuée aux États-Unis pour déterminer les facteurs de risques associés à un épisode d'influenza aviaire faiblement pathogène en Virginie en 2002. L'épisode s'était produit principalement chez les dindes (128 fermes), avec seulement 23 fermes de poulets affectées. On trouva comme facteur de risque le plus significatif l'utilisation d'un service d'équarrissage comme méthode de disposition des oiseaux morts. Comme l'étude contenait les cas provenant du début de l'épidémie, l'utilisation de service d'équarrissage put être considérée comme un facteur important dans la propagation initiale du virus H7N2 faiblement pathogène. Ce service n'étant toutefois utilisé que chez 31% des cas, il ne pouvait expliquer à lui seul la propagation du virus.

Un autre facteur de risque très significatif dans cette étude fut l'âge (oiseaux de plus de 10 semaines). Les auteurs expliquent ce facteur de risque par une augmentation des chances d'être exposé au virus avec l'âge ainsi qu'une augmentation du stress encouru par les oiseaux et ses effets sur le système immunitaire. L'explication de

l'exposition accrue au virus serait supportée par la fréquence des visites des camions de moulée qui était significative dans l'analyse de chacun des facteurs de risque séparément mais qui ne fut par retenue dans l'analyse finale (régression logistique utilisant une sélection rétrograde des variables).

D'autres variables étaient plus modérément associées à la maladie, comme l'utilisation de travailleurs extra-familiaux dans les poulaillers et les propriétaires ou membres de la famille travaillant en dehors de la ferme. Ces deux pratiques pourraient avoir augmenté le trafic de véhicules sur la ferme, lesquels pourraient avoir transporté la maladie.

Le dernier facteur de risque noté fut l'observation de faune mammalienne (ratons laveurs, opossums, renards) proche des poulaillers. Ce dernier facteur indiquerait qu'une transmission locale du virus, via les mammifères, aurait pu se produire.

Une troisième étude analysa les facteurs de risque de l'épisode de 1999-2000 en Italie {Mannelli, Ferre et al., 2006}. Elle constata que la proximité d'une ferme (moins de 1,5 km) avec une ferme infectée pendant la fenêtre de risque temporelle était un facteur de risque pour devenir infecté par l'influenza aviaire hautement pathogène H7N1. D'autres troupeaux étant devenus infectés étaient relativement plus distants des fermes infectées avant eux, ce qui pointerait vers des routes de transmission comme des personnes, véhicules, équipements et produits contaminés. C'est dans la région du Veneto que se produisit la plus grande réduction de la population à risque par dépopulation ou abattage préventif des troupeaux à risque. Les troupeaux à risque étaient abattus s'ils rencontraient trois critères : 1) être à moins de 1 km d'une ferme infectée 2) avoir eu des contacts à haut risque avec des fermes infectées, comme l'introduction dans la ferme d'animaux ou de produits 3) appartenir au même propriétaire qu'une ferme infectée. C'est cette réduction des populations à risque dans la région du Veneto comparé à la Lombardie qui limita l'étendue de l'épidémie dans cette région.

Une quatrième étude examina les facteurs de risque possibles des épisodes d'influenza H5N1 en Thaïlande pendant la deuxième de deux vagues épidémiques,

entre juillet 2004 et mai 2005 {Gilbert, Chaitaweesub et al., 2006}. Son but était d'étudier la distribution spatiale des cas confirmés par les laboratoires. On utilisa une régression autologistique multiple pour relier l'influenza aviaire hautement pathogène à la distribution géographique des différentes espèces de volaille, à l'utilisation du sol et à d'autres variables environnementales et anthropologiques. L'analyse se divisa entre une analyse globale, au niveau national, et une analyse locale, au niveau de la province de Suphanburi et de ses 913 villages.

L'étude comportait un biais dans les résultats parce que la détection des signes cliniques de l'influenza aviaire hautement pathogène était la mesure de sa présence. La circulation du virus dans les populations locales de poulets indigènes aurait donc pu passer inaperçue parce que la prévalence du virus était basse. De même, la maladie aurait pu être moins rapportée chez les canards à cause de la susceptibilité réduite de ces derniers au virus. On sait que les canards peuvent être porteurs du virus sans jamais montrer de signes cliniques.

Une analyse préliminaire indiquait que 50% des épisodes chez les canards se produisaient dans la province de Suphanburi. Cette province avait le plus grand nombre cumulatif d'épisodes et une forte population de canards brouteurs. Ces derniers sont des canards élevés à l'extérieur pour leurs œufs (et parfois pour leur viande) en troupeaux de 1000 oiseaux et plus. Il s'effectue une rotation fréquente des troupeaux de canards entre les champs de riz, juste après la récolte. Les troupeaux sont transportés de champs en champs tous les deux jours pour se nourrir des restes de grains de riz, d'insectes et d'escargots.

En Thaïlande, la plupart des épisodes de H5N1 se retrouvent chez la volaille. Toutefois, la distribution spatiale de ces épisodes ne correspond pas à la distribution des poulets de basse-cour. Par exemple, le nord-est de la Thaïlande est une région n'ayant connu que quelques épisodes d'influenza aviaire hautement pathogène malgré que l'élevage de poulets indigènes y soit fréquent et ne soit soumis à aucune mesure de biosécurité.

L'étude trouva que l'association la plus forte se retrouvait avec la distribution spatiale de canards brouteurs. L'influenza aviaire hautement pathogène était aussi

associée de façon moindre avec la présence de poulets indigènes, l'élévation du terrain, le nombre de coqs et la taille de la population humaine. Dès que les résultats furent analysés séparément pour les poulets et les canards, l'association avec les poulets indigènes disparut pour les épisodes chez les canards mais pas pour les épisodes chez les poulets. Pour les épisodes chez les canards, une association avec la proportion de champs de riz dans un voisinage de 10 km et du nombre de canards brouteurs et canards pondeurs ou à viande fut observée.

L'analyse au niveau local (province de Suphanburi) releva une association avec le nombre de canards (brouteurs, à viande et pondeurs), la proportion de champs de riz dans un voisinage de 5 km et le nombre de poulets indigènes, ceci pour tous les épisodes et pour les épisodes chez les poulets. La variable des poulets indigènes n'était toutefois pas significative en tant que facteur de risque pour les épisodes chez les canards au niveau local.

Cette association avec les canards brouteurs resta semblable même après une stratification en 3 périodes (avant l'enquête nationale nommée « x-ray », pendant l'enquête, et après).

Au niveau national, l'étude trouva comme association la plus importante les canards brouteurs. L'association significative avec les poulets indigènes au niveau national pourrait refléter des infections dans des zones possédant une plus grande abondance de l'hôte. Cette hypothèse semble être confirmée puisque dans l'analyse des épisodes chez les canards seulement, cette variable est remplacée par le nombre de canards. Les canards brouteurs seraient donc un facteur de risque pour les poulets et les canards, de par leur rôle de réservoir. Il est donc possible que la variable des poulets indigènes soit une variable confondante pour les canards brouteurs dans le modèle national pour tous les épisodes et pour les épisodes chez les poulets.

La pratique traditionnelle de faire brouter les canards dans les champs de riz utilise une rotation fréquente des troupeaux de canards de champs en champs après la récolte à tous les 1 ou 2 jours pour se nourrir des grains de riz résiduels, d'insectes et d'escargots. Cette pratique est surtout utilisée dans la région des plaines centrale, qui connaît de 2 à 3 récoltes de riz par année. Il y a d'ailleurs une forte corrélation entre les

zones hébergeant des canards brouteurs et les zones des plaines centrales connaissant deux récoltes de riz par année.

Au niveau national, l'étude appuie l'affirmation que les épisodes en Thaïlande ne sont pas principalement transmis sur de longues distances entre des unités de production de poulets ou des villages. Sous cette hypothèse, il y aurait plus d'épisodes dans les régions à haute densité de poulets, ce qui n'est pas le cas. On observe plutôt que les épisodes chez les poulets se produisent dans les zones de haute densité de canards. Ceci est confirmé par le terme d'autocorrélation spatiale qui est très significatif au niveau national ($p < 0,001$).

Au contraire, dans la province de Suphanburi, la faible autocorrélation spatiale indique un « clustering » faible dans l'espace de l'influenza aviaire hautement pathogène. Ce résultat suggère une contribution relativement importante des mouvements sur de longues distances (à l'échelle locale) d'oiseaux (canards brouteurs) ou de matériel infecté.

Ces zones inondées et champs de riz (en basse altitude) sont très attirants pour les oiseaux migrateurs et seraient un point de rencontre entre les oiseaux aquatiques sauvages et domestiques. Ceci pourrait avoir créé un point d'entrée pour le virus dans la population d'oiseaux domestiques. L'association positive dans la province de Suphanburi et la proportion de champs de riz ainsi que l'association négative avec l'élévation du terrain (pointant les plaines où la culture du riz est pratiquée) suggère que le système zone inondée-riz-canard augmente le risque d'épisode d'influenza aviaire hautement pathogène même après que l'effet des canards brouteurs ait été considéré {Gilbert, Chaitaweesub et al., 2006}.

1.4.6. Contrôle et éradication de l'influenza aviaire

L'influenza aviaire fait partie de la liste des maladies notifiables de l'Organisation Mondiale de la Santé Animale (OIE 2004).

Il est connu que, malgré de nombreux essais, la vaccination des oiseaux ne s'est pas révélée efficace pour la réduction de l'influenza humain, équin ou porcin {Lang, 1981}. L'immunité vaccinale est de courte durée et le nombre élevé de souches rend la vaccination peu pertinente sauf dans le cas d'épidémies.

Le contrôle du virus H7N2 faiblement pathogène en Pennsylvanie en 1996-1997 se fit par 1) le dépeuplement avec l'enfouissement des oiseaux sur la ferme 2) le dépeuplement retardé avec l'enfouissement des oiseaux dans un site d'enfouissement de déchets 3) le nettoyage et par la désinfection des lieux infectés 4) la mise en place d'une quarantaine 5) une surveillance intensive de la zone 6) une surveillance des contacts des troupeaux infectés {Davison, Eckroade et al., 2003}. Le dépeuplement des propriétés infectées était volontaire. De plus, les déplacements des véhicules furent surveillés dans les zones en quarantaine et des mesures de biosécurité accrues furent mises en place pour tout le personnel et les véhicules sortant de lieux infectés. Aucun oiseau ne pouvait être déplacé hors d'une zone de quarantaine sans être testé et sans permis. Les œufs des fermes infectées furent transportés avec un permis dans des établissements pour y être pasteurisés.

Dans les cas où une dépopulation immédiate ne fut pas possible, les troupeaux eurent la permission de rester sur la ferme jusqu'à ce que le virus ne puisse plus être isolé des troupeaux. Une surveillance intensive fut effectuée dans un rayon de 8 km entourant le cas index du comté de Lancaster.

Au début de l'épidémie, plusieurs oiseaux avaient été enterrés sur les fermes. Les échantillons du site d'enfouissement furent prélevés de six fosses, 6 mois et 1 an après l'enfouissement dans le but de s'assurer qu'ils n'étaient pas infectieux. Aucun virus ne fut isolé.

Une étude examina l'effet de le dépeuplement aux Pays-Bas en 2003 sur la transmission du virus (le ratio de reproduction) {Stegeman, Bouma et al., 2004}. Ils conclurent que la transmission virale diminuait considérablement après la détection de l'épisode et qu'il y avait une grande possibilité que la période infectieuse soit diminuée après l'euthanasie des troupeaux infectés. Cette diminution est probablement une conséquence des mesures de contrôle mises en place. Il n'est toutefois pas possible de

dire la contribution de chacune des mesures dans la réduction de la transmission du virus.

Les estimations du ratio de reproduction demeuraient toutefois au dessus de 1, ce qui suggèrerait que les mesures de contrôle ne seraient pas suffisantes pour arrêter la progression de l'épidémie. En fait, il est possible que l'arrêt de la propagation de l'épidémie pourrait tout simplement être dû à le dépeuplement (la diminution des troupeaux susceptibles) plutôt qu'à une vraie diminution du ratio de reproduction. Dans une région à haute densité d'élevages de volailles, il est possible qu'une fois l'épidémie commencée, elle soit impossible à arrêter.

Une autre étude {Garske, Clarke et al., 2007, Garske, Clarke et al., 2007} ayant analysé les ratios de reproductions de plusieurs épidémies (H7N1 en Italie en 1999-2000, H7N7 aux Pays-Bas en 2003 et H7N3 au Canada en 2004) conclue elle aussi que les mesures de biosécurité, les restrictions de mouvement des oiseaux et le dépeuplement des fermes infectées par l'influenza ont eu pour effet de réduire le ratio de reproduction du virus mais seulement de le rapprocher de 1. Seulement le dépeuplement préventive des troupeaux de la région aurait été suffisante pour réduire le ratio de reproduction en dessous de 1 et ainsi empêcher la propagation du virus.

Ces résultats indiquent que les épisodes d'influenza aviaire hautement pathogène sont difficiles sinon impossibles à contrôler dans des régions à haute densité d'élevages et que le dépeuplement reste encore le meilleur moyen de contenir l'épidémie. Une solution à ce problème serait de réduire la densité des élevages dans les régions ou bien de considérer la vaccination pour réduire l'excrétion du virus.

Il faut toutefois s'assurer que le dépeuplement soit accompagné d'une biosécurité très stricte pour éviter de propager la maladie aux troupeaux voisins. On soupçonne que le dépeuplement des troupeaux en Pennsylvanie en 1996-1998 aurait pu aider à répandre la maladie autour des premières fermes affectées {Henzler, Kradel et al., 2003} ainsi que pendant l'épisode d'influenza aviaire hautement pathogène en Colombie-Britannique en 2004 {Capua et Marangon, 2007}. Un ciblage précis des oiseaux à abattre, basé sur de l'information sur les contacts potentiels, ainsi qu'une

biosécurité stricte sont donc critiques pour permettre le contrôle du virus et empêcher l'abattage excessif d'oiseaux {Mannelli, Ferre et al., 2006}.

En Thaïlande, en 2005, certaines mesures de contrôle concernant les canards brouteurs (canards voyageant de champs en champs) furent introduites. Les troupeaux étaient enregistrés et sujets à de la surveillance, testés avant d'être déplacés, et les éleveurs étaient encouragés à améliorer leur biosécurité et changer leur méthode d'élevage vers une production sur la ferme. Ces mesures ainsi que d'autres furent efficaces pour réduire le nombre de nouveaux épisodes. De 1064 épisodes entre le 3 juin 2005 et le 31 octobre 2004, on passa à 64 épisodes pour la même période en 2005 {Gilbert, Chaitaweesub et al., 2006}.

La biosécurité, nécessaire pour permettre le contrôle du virus, comporte un large éventail de mesures. Dix facteurs selon Vaillancourt et Stringham {Vaillancourt et Stringham, 2003} peuvent causer l'échec de la biosécurité de la ferme:

Un mauvais emplacement de la ferme

L'introduction de matériel contaminée ou d'oiseaux infectés

Un mauvais contrôle de la vermine

Un mauvais nettoyage

Un manque d'éducation des employés

Une communication inadéquate

Un manque de récompense/valorisation pour les personnes associées à la ferme

Des registres inadéquats

Pas de perspective régionale

Pas d'audit des règles de biosécurité

Les six derniers facteurs sont des problèmes sous-jacents qui ne permettent pas aux premiers d'être appliqués efficacement.

Un autre moyen de contrôle de l'influenza aviaire consiste à vacciner les oiseaux, mais présente des conséquences négatives sur le commerce international puisque les vaccins n'empêchent pas l'excrétion du virus {Swayne et Halvorson, 2003}. Le problème de la surveillance des oiseaux vaccinés peut-être contourné en plaçant des oiseaux sentinelles dans le troupeau ou en utilisant la stratégie de vaccination « differentiating infected from vaccinated animals » (DIVA) comme cela fut fait en Italie.

La vaccination fut utilisée en Italie lors de situation endémiques ou d'épidémies récurrentes. Par exemple, du 15 novembre 2000 à mai 2002, un programme de vaccination fut mis en place suite aux trois vagues épidémiques d'influenza aviaire hautement pathogène H7N1. Plus de 15 millions d'oiseaux élevés dans une zone restreinte de 1 155 km² au sud de Vérone furent immunisés. Aucun oiseau vivant vacciné ne fut autorisé pour le commerce à l'intérieur de la Communauté Européenne. Le vaccin utilisé ne contenait pas un virus H7N1 homologue mais un virus H7N3 (A/Ck/Pakistan/95/H7N3) inactivé. Ceci permis l'utilisation d'une stratégie de différenciation des oiseaux infectés des oiseaux vaccinés (DIVA). La présence d'une neuraminidase différente de l'infection (N3 plutôt que N1) permis la différenciation sérologique entre des troupeaux infectés et des troupeaux vaccinés, ce qui a permis de continuer à surveiller l'épisode {Capua, Marangon et al., 2003}. Le programme de vaccination était limité aux oiseaux ayant une durée de vie assez longue, c'est-à-dire les dindes de chair, les poules pondeuses et un petit nombre de dindes et de poulets de reproduction {Webster et Hulse, 2004} .

La vaccination protège contre les signes cliniques et diminue la dispersion du virus dans l'environnement, puisque les anticorps neutralisant sont produits principalement contre l'hémagglutinine. Ce système de vaccination associé à une surveillance intensive, avec des restrictions et des mesures de biosécurité, permis l'éradication du virus H7N1 faiblement pathogène en Italie {Capua et Alexander, 2004}.

1.5. Répercussions économiques

Dans la plupart des pays développés, les épisodes d'influenza aviaire sont de nature épidémique et occasionnent principalement des pertes pour l'industrie du poulet et de la dinde. Ces épidémies surviennent dans des fermes commerciales où l'élevage intensif est pratiqué ou bien dans des marchés de volailles vivantes. Dans les deux cas, la concentration de volaille est élevée et conséquemment les coûts reliés au dépeuplement.

Les pertes directes incluent le dépeuplement et la disposition des carcasses, les pertes dues à la mortalité et à la morbidité de la maladie, la quarantaine, les coûts reliés à la surveillance, le nettoyage et la désinfection des fermes affectées et les indemnités payés pour la perte des oiseaux suite au dépeuplement. Néanmoins, les coûts projetés si l'éradication du virus n'était pas instaurée seraient beaucoup plus prohibitifs {Swayne et Halvorson, 2003}.

L'épisode d'influenza aviaire hautement pathogène (H5N2) en Pennsylvanie en 1983-1984 causa le dépeuplement de 17 million d'oiseaux et coûta 60 millions de dollars américains (équivalant à 75 millions de dollars canadiens) au gouvernement fédéral, dont 40 millions en compensations (50 millions de dollars canadiens) {Lasley, 1986}.

En Australie en 1978, il en coûta plus de 2 millions de dollars australiens pour dépeupler une seule ferme de poulets infectés par l'influenza aviaire hautement pathogène H7N7 {Cross, 1986}. En 1997 cette fois, dans le cas d'un épisode d'influenza hautement pathogène H7N4, le coût du dépeuplement d'un total de 310 565 poulets, 1 232 074 œufs fertiles de poulets, 261 jeunes émeus et 147 œufs d'émeus s'éleva à 4 445 000 dollars australiens (4 224 528 dollars canadiens), dont 2 168 000 dollars (2 060 467 dollars canadiens) furent versé en compensation aux éleveurs. Comme la propriété index fournissait des œufs à un couvoir dans la région de Sydney qui à son tour fournissait une grande partie des fermes d'élevage de poulets de chair de

la région, les répercussions pour l'industrie furent plus sévères que les coûts directs le laisseraient croire {Selleck, Arzey et al., 2003}.

Dans le cas de l'épisode d'influenza aviaire faiblement pathogène (H7N2) en Pennsylvanie en 1997-1998 {Davison, Galligan et al., 1999}, le gouvernement de l'état de la Pennsylvanie alloua un budget qui permit de payer le tiers du coût des oiseaux dépeuplés et de leurs œufs. Aucune compensation ne fut offerte pour la perte de contrats. Le coût total de l'épidémie fut extrapolé à partir d'une évaluation des coûts sur cinq fermes, deux fermes commerciales de pondeuses dépeuplées au début de l'épidémie, un complexe de sept poulaillers dépeuplés huit mois après le début de l'épidémie, un troupeau de poulettes commercial dépeuplé immédiatement au début de l'épidémie et une ferme de dindes dépeuplée immédiatement après le diagnostic et dont les oiseaux avaient été compostés sur la ferme. Le coût total de l'épidémie fut estimé à 3,5 millions de dollars américains (5,1 millions de dollars canadiens).

Partie 2 Méthodologie

2.1. Protocole de l'étude cas-témoin

L'étude a été menée selon le protocole d'une étude cas-témoin. La population d'intérêt incluait toutes les fermes commerciales de poulets et de dindes de la vallée du Fraser en Colombie-Britannique durant l'épidémie d'influenza aviaire hautement pathogène en 2004. Une ferme était définie comme une exploitation agricole, commerciale (élevant plus de 1000 oiseaux), située à une adresse géographique unique et possédée par un seul propriétaire. Ainsi, une exploitation agricole se localisant sur un seul site géographique mais comportant deux propriétaires était considéré comme deux fermes différentes dans cette étude. Par conséquent, la ferme était composée de poulaillers, définis comme un ensemble de un ou plusieurs bâtiments, possédant un ou plusieurs étages, dans lequel des oiseaux vivants étaient élevés et dont l'ensemble était possédé par un seul propriétaire.

On découvrit que la définition d'une ferme, énoncée ci-haut, avait été utilisée seulement après que l'étude ait été complétée. Pendant toute l'étude, une définition de ferme différente avait été utilisée. On croyait alors que la définition d'une ferme était une exploitation agricole localisée sur un site géographique unique et possédée par un ou plusieurs propriétaires. Cette définition correspond à une unité épidémiologique couramment utilisée. Toutefois, après la fin de l'étude, on découvrit, qu'à des fins de compensation, une ferme définie comme une exploitation située sur un site géographique unique et possédée par un seul propriétaire était plus utile pour l'Agence Canadienne d'Inspection des Aliments et avait en fait été utilisée pour la collecte des données. Le résultat de cette méprise fut que le questionnaire fut administré pour dix fermes à seulement un des propriétaires y possédant des poulaillers et que les données

du questionnaire, d'inventaire et d'âge des oiseaux sont ne se rapportent qu'à une partie de la ferme. Deux cas se retrouvent parmi ces dix fermes.

Une analyse des inventaires des fermes au 15 mars 2004, provenant d'une base de données que l'ACIA possède sur toute les fermes de vallée du Fraser, nous permit de constater que la méprise sur la définition d'une ferme avait eu un impact sur la classification des types de production de certaines fermes. En effet, pour une ferme cas et une ferme témoin, la ferme aurait été classifiée dans un type de production différents si le questionnaire avait été administré à tous les propriétaires de la ferme. On ne put tirer que peu de conclusions quant aux données d'inventaire et d'âge des oiseaux de cette source puisque beaucoup de variables d'âge et d'inventaires se basaient sur des dates différentes de celles de l'étude cas-témoins.

Le questionnaire fut administré aux fermes participantes du 20 avril 2004 au 9 juin 2004 pour les témoins et du 1^{er} juin au 9 juin 2004 pour les cas. Ce questionnaire fut adapté à partir d'un questionnaire construit par le ministère de l'agriculture, de l'alimentation et des pêcheries de la Colombie-Britannique (BCMAFF) (dorénavant BCMAL) pour enquêter sur les fermes nouvellement infectées par l'influenza aviaire hautement pathogène. La plupart des questions furent modifiées de façon à ce qu'on ne puisse pas y répondre de façon ouverte mais de façon catégorique. Le questionnaire fut complété lors d'une visite à la ferme ou, exceptionnellement pour les témoins refusant la visite à la ferme, par l'entremise d'un appel téléphonique. Aucune donnée n'est disponible quant au nombre et aux caractéristiques des éleveurs ayant refusés de faire partie de l'étude comme témoins.

Les cas étaient des fermes dont au moins un échantillon avait testé positif à l'isolement du virus H7 de l'influenza aviaire hautement pathogène dans des œufs SPF embryonnés de poulet de 9 à 11 jours entre le 17 février et le 25 avril 2004. On n'utilisa pas l'observation de signes clinique chez les oiseaux pour définir un cas. Le protocole d'échantillonnage utilisé sur les fermes pendant l'épidémie prévoyait sélectionner 60 oiseaux vivants pour l'écouvillonnage de l'oropharynx et du cloaque, avec une

préférence pour les oiseaux présentant des signes de maladie. Sur les fermes comportant plus de deux poulaillers, 25 oiseaux par poulailler étaient échantillonnés. Un « poulailler » était alors considéré comme une espace dans lequel les oiseaux partageaient un air commun. Donc, 25 oiseaux étaient échantillonnés à chaque étage d'un poulailler de plusieurs étages. Une surveillance passive des oiseaux morts fut aussi instaurée pendant l'épidémie pour les fermes commerciales (plus de 1000 oiseaux). Cinq oiseaux morts récemment pour chaque poulaillers étaient ramassés une ou deux fois par semaine et testés par écouvillonnage de l'oropharynx et du cloaque.

Le test utilisés pour le dépistage, au début de l'épidémie, fut l'isolement du virus dans des œufs embryonnés. Par contre, lorsqu'on en vint à tester en masse les oiseaux, l'isolement fut abandonné comme test de dépistage en faveur du PCR matriciel. Ce dernier test comporte une sensibilité de 84% et une spécificité proche de 100% (communication personnelle, Dr. John Pasick, CNMAE, ACIA, 2006). Une partie des vingt-huit fermes dont les oiseaux furent confirmés positifs à l'isolement du virus avaient donc été détectées préalablement au PCR matriciel.

De ces 28 fermes, deux ne correspondaient pas à la définition de l'unité épidémiologique puisqu'elles élevaient des canards. Une autre n'élevait pas assez d'oiseaux (moins de 1000 oiseaux) pour être considérée comme commerciale. Trois des propriétaires des 25 fermes restantes refusèrent de participer à l'étude. Les raisons de ces refus ne furent pas consignées.

Les témoins furent stratifiés en trois groupes de fermes testées au PCR matriciel en temps réel (résultat négatif pour l'influenza de type A). Les trois groupes de témoins furent sélectionnés aléatoirement à partir de leur distance d'une ferme infectée. Une ferme était considérée infectée si elle avait été testée positive au PCR (matriciel ou ciblant H7) (Figure 1, p. 19). L'observation de signes cliniques chez les oiseaux ne fut pas utilisée pour définir les fermes témoins. Les fermes témoins furent sélectionnées selon leur distance des fermes positives au PCR et non pas à partir de leur distance des cas. On voulait éviter qu'un témoin soient éloigné d'un cas mais proche d'une ferme

dont les oiseaux étaient positifs au PCR. On s'assurait ainsi que les témoins éloignés des cas étaient aussi éloignés de cas potentiels, c'est-à-dire des fermes dont les oiseaux étaient positifs pour un test PCR.

Les groupes de témoins se répartissaient comme suit (Figure 2, p. 62):

Témoins centraux: 29 témoins sélectionnés aléatoirement à partir d'un bassin de fermes localisées à une distance de 1 km et moins d'une des 42 fermes déclarées infectées dans la vallée du Fraser;

Témoins médians: 21 témoins sélectionnés aléatoirement à partir d'un bassin de fermes localisées à une distance de plus de 1 km à 3 km d'une des 42 fermes déclarées infectées dans la vallée du Fraser;

Témoins périphériques: 25 témoins sélectionnés à partir d'un bassin de fermes localisées à une distance de plus de 3 km d'une des 42 fermes déclarées infectées dans la vallée du Fraser.

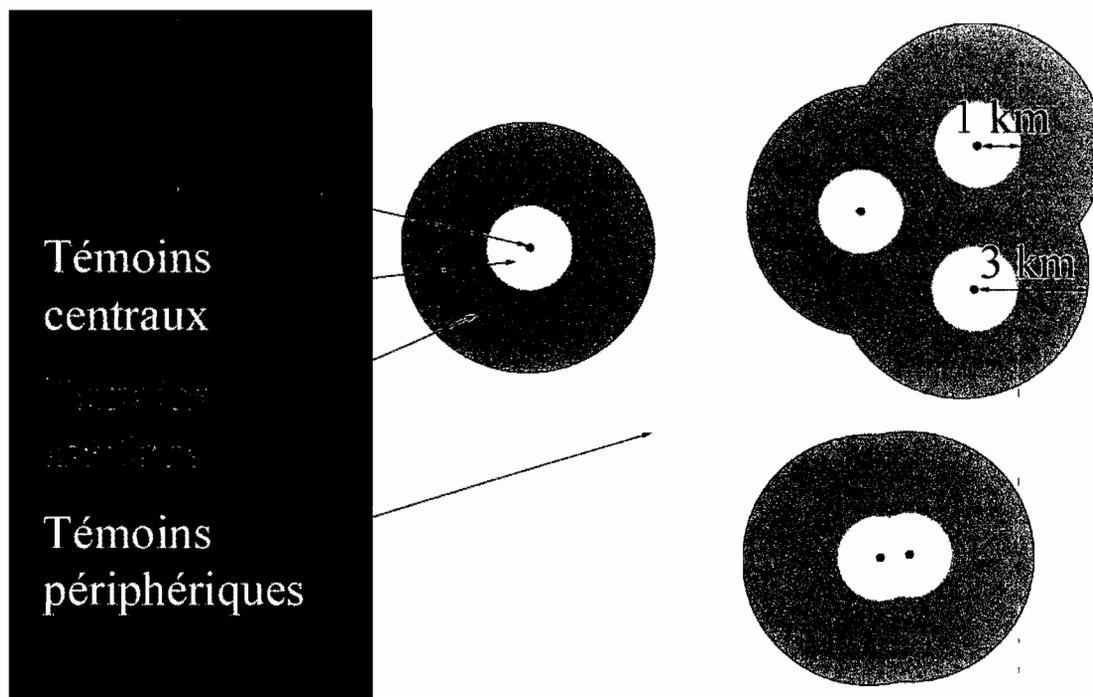
La Figure 2 (p. 62) donne un exemple de différentes sortes de zones rencontrées. Les zones sont coalescentes entre elles lorsque les fermes sont très rapprochées. Dans les cas où des fermes étaient très rapprochées les unes des autres, les témoins ont été sélectionnés dans la zone correspondant à la distance d'avec la ferme infectée la plus proche. Un témoin ne peut donc pas appartenir à deux zones en même temps.

L'espace d'où les cas et les témoins centraux furent sélectionnés fut désigné comme zone épidémique. L'espace d'où les témoins médians et les témoins périphériques furent sélectionnés fut désigné comme zone non-épidémique. Les deux zones étaient exclusives entre elles.

La période à laquelle le questionnaire fait référence pour les cas couvre le mois précédant la date du diagnostic par l'isolement du virus dans des œufs SPF. La date de diagnostic pour les cas était la date à laquelle un premier test effectué s'était révélé positif. Ce test pouvait être un test PCR matriciel, un test d'inhibition de

l'hémagglutination ou un test ELISA (Figure 1, p. 19). La période de diagnostic des fermes positives s'étend du 17 février 2004 au 25 avril 2004. Pour les fermes diagnostiquées vers la fin de l'épidémie (après le 14 avril), la période du questionnaire commence du 15 mars 2004 et finit au moment de la date du diagnostic. Pour les témoins, la période visée par le questionnaire s'étend du 15 mars au 14 avril 2004. La date du 15 mars fut choisie pour débiter la période du questionnaire des témoins parce qu'elle correspondait à une date à laquelle la plupart des fermes dans la vallée du Fraser auraient eu la possibilité d'être exposées au virus de l'influenza aviaire hautement pathogène. La date du 14 avril fut choisie comme date de fin de la période des témoins parce que les changements dans la réglementation restreignant les mouvements d'oiseaux dans toute la vallée du Fraser entre les fermes à partir de cette date auraient causés des changements dans la régie des fermes et un biais dans l'interprétation des résultats. Ce changement dans la réglementation se fit par l'entremise d'un arrêté ministériel du ministre fédéral de l'agriculture, Bob Speller, ordonnant l'abattage de 19 millions d'oiseaux dans la vallée du Fraser et prohibant le transport de volailles sans permis. Certaines questions du questionnaire réfèrent à des pratiques usuelles et comme telles ne se réfèrent pas à une période en particulier.

Figure 2 Illustration des espaces utilisés pour la sélection des fermes témoins



2.2. Construction des scores de déficit de biosécurité

Le nombre de colonnes contenues dans la base de données mise sur pied à partir du questionnaire était de 555. Ces colonnes contenaient les réponses aux questions et sous-questions du questionnaire (Annexe 1, p. xv). Le nombre restreint de degré de liberté de l'étude ne nous permettait pas de faire une analyse exploratoire avec toutes les variables disponibles. La méthode choisie pour conserver l'information provenant du plus grand nombre de questions et sous-questions possibles tout en permettant une interprétation simple fut de bâtir un système de scores mesurant le manque de biosécurité (déficit de biosécurité) sur chaque ferme.

Les réponses aux questions et leurs sous-questions concernaient des mesures de biosécurité déficientes ou les conséquences de telles mesures de biosécurité (comme l'observation de vermine sur la ferme). Ces dernières avaient des caractères communs qui permirent de les grouper. Ce groupement fut nommé « attribut ». Cet attribut représentait un type de mesures de biosécurité susceptible d'avoir été déficient pour une ferme. Le choix des attributs fut déterminé par la disponibilité de questions et sous-questions correspondant à ce dernier, et par leur présence dans le programme de biosécurité élaboré par un expert, le Dr Jean-Pierre Vaillancourt.

Les attributs ayant des traits communs furent ensuite regroupés en six scores : la transmission locale par les animaux, les oiseaux sauvages, les contacts directs, les contacts indirects, la régie de la ferme et le programme de biosécurité de la ferme. Le score de la transmission locale par les animaux rassemblait les attributs quantifiant la présence d'animaux vivant autour de la ferme et ne voyageant pas sur de longues distances (pas plus que quelques kilomètres). Celui des oiseaux sauvages, constitué d'un seul attribut, quantifiait la présence d'oiseaux autour de la ferme qui peuvent migrer sur de plus longues distances. Le score des contacts directs quantifiait les contacts avec les oiseaux ou leurs produits (œufs) alors que le score des contacts indirects réunissait les attributs constituant des contacts potentiels avec le virus par des

objets interposés (contamination de la machinerie, humain visitant un endroit contaminé). Le score de la régie rassemblait des attributs représentant les autres productions animales présentes sur la ferme (aviaires ou non) et des pratiques de gestion de la ferme comme le tout plein/tout vide, la disposition des oiseaux morts par une compagnie d'équarrissage visitant la ferme et la possession ou gestions d'autres fermes. Le score du programme de biosécurité quantifiait la valeur du programme de biosécurité élaboré par le fermier.

Chacun des scores représentait donc des mesures de biosécurité déficientes ayant des caractéristiques communes et possédait un poids représentant le niveau de risque associé à devenir infecté par le virus de l'influenza aviaire hautement pathogène. Les six scores totalisaient un démerite de cent (-100). On attribua ensuite une fraction du poids de chaque score à chacun des attributs le constituant, déterminée proportionnellement au risque perçu de devenir infecté par l'influenza aviaire hautement pathogène (Tableau I, p. 67). Ce risque fut évalué à l'aide de l'opinion du Dr. Vaillancourt.

2.2.1. Calcul des valeurs des attributs et des scores

De façon générale, quand les questions ou sous-questions étaient nominales, la réponse démontrant la présence d'un déficit de biosécurité ayant pu contribuer à l'infection d'une ferme par l'influenza aviaire hautement pathogène et qui comportait le niveau de risque le plus élevé se voyait attribuer la valeur de 1. La réponse comportant un risque intermédiaire (si présent) se voyait attribuer la valeur de 0,5. Une réponse ayant un niveau de risque faible ou une valeur « non applicable » se voyaient attribuer la valeur de 0. Les données manquantes se voyaient attribuer la valeur de la moyenne de la question ou sous-question.

La question 41 du questionnaire (Annexe 1, p. xv) quantifiait le degré de présence d'un déficit de biosécurité, dans ce cas-ci le degré de présence de vermine sur la ferme durant la période de l'étude. Une valeur de 0, 0,5 ou 1 fut donnée respectivement aux valeurs « peu », « modéré » et « abondant », des quantités plus grandes de vermine étant perçues comme faisant courir à une ferme un plus grand risque de devenir infectée par l'influenza aviaire hautement pathogène.

Prenons comme exemple la sous-question 40a1 qui mesurait la présence de rongeurs dans les poulaillers, la sous-question 40a2 qui mesurait la présence de rongeurs dans les réservoirs de moulée et la sous-question 40a3 qui mesurait la présence de rongeur autour des poulaillers sur la ferme. La question 41a quantifiait la présence des rongeurs sur la ferme en général en trois niveaux (peu, modéré et en grande quantité). Toutes ces questions et sous questions furent agrégées pour constituer l'attribut « Rongeurs circulant sur la ferme » puisqu'elles avaient toutes la caractéristique commune de mesurer la présence de rongeurs sur la ferme. Les sous-questions se voyaient attribuer chacune la valeur 1 si la présence de rats était observée. Inversement, l'absence de rats se voyait attribuer la valeur 0. Dans la question 41a, les quantités de rats observés sur la ferme « faible », « modérée » et « élevée » se voyaient attribuer respectivement les valeurs de 0, 0,5 et 1. Le total maximal pour cet attribut, nommé « Rongeurs circulant sur la ferme », était donc de 4 si la réponse de chacune des sous-questions présentait un risque maximal.

Le total des questions et sous-questions de l'attribut (pouvant varier entre 0 et 4 pour chaque ferme) fut ensuite divisé par la valeur maximale des questions et sous-questions atteignable pour l'attribut (4) et multipliée par le poids correspondant à l'attribut dans le Tableau I (p. 67), qui était de -2 dans ce cas-ci. Une ferme ayant le niveau de risque le plus élevé (le plus de rongeurs dans le plus d'endroits à risques) se voyait donc attribuer une valeur de -2 pour l'attribut « Rongeurs circulant sur la ferme ». Inversement, une ferme ayant le niveau de risque perçu le moins élevé se voyait attribuer une valeur de 0.

Tous les attributs appartenant aux six scores de déficit de biosécurité furent calculés selon la même méthode pour chaque ferme faisant partie de l'étude. Les questions ayant servi à calculer chaque attribut sont détaillées dans l'Annexe 2 (p. xl).

Dans notre exemple, la valeur de l'attribut «Rongeurs circulant sur la ferme» fut ensuite additionnée aux valeurs des attributs « Chats et chiens circulant sur la ferme », « Animaux sauvages circulant sur la ferme » et « Insectes circulant sur la ferme pour donner la valeur du score de la transmission locale par les animaux, qui pouvait ainsi varier entre 0 et -7.

Une seule variable numérique du questionnaire fut utilisée. Cette variable constituait à elle seule l'attribut « Le répondant possédait ou gérait d'autres fermes qui ont été déclarées infectées durant l'épidémie ». Le poids de l'attribut était de -10. La valeur attribuée au nombre d'autres fermes possédées ou gérées déclarées infectées durant l'épidémie fut répartie le plus également possible sur toute l'étendue des valeurs du nombre d'autres fermes, qui allait de 0 fermes à 3 fermes. Ainsi, un répondant n'ayant possédé ou géré aucune autre ferme infectée par l'influenza aviaire se voyait attribuer une valeur de 0 pour cet attribut, une seule autre ferme une valeur de -4, deux autres fermes une valeur de -7 et trois autres fermes une valeur de -10.

Tableau I Score de déficit de biosécurité

Critères de déficit de biosécurité			
Score	Attributs	Poids des attributs	Poids du score
Transmission locale par les animaux	Chats et chiens circulant sur la ferme	-2	-7
	Animaux sauvages circulant sur la ferme	-2	
	Rongeurs circulant sur la ferme	-2	
	Insectes circulant sur la ferme	-1	
Oiseaux sauvages	Oiseaux sauvages circulant sur la ferme	-3	-3
Contacts directs	Le répondant vendait ou achetait habituellement des oiseaux d'un marché de volailles vivantes	-10	-26
	Le répondant a placé des oiseaux additionnels dans ses poulaillers durant leur cycle de production pendant la période de l'étude	-6	
	Le répondant a vendu ou donné des œufs à des personnes qui ont pénétrées dans la salle des œufs avant la période de l'étude	-10	

Tableau I Score de déficit de biosécurité (suite)

Critères de déficit de biosécurité			
Score	Attributs	Poids des attributs	Poids du score
Contacts indirects	Des personnes vivant ou travaillant sur la ferme ont visité le poulailler d'une autre ferme durant la période de l'étude	-2	-24
	Le répondant ou des personnes vivant ou travaillant sur la ferme avaient fréquenté des marchés de volailles vivantes durant la période de l'étude	-5	
	Des personnes travaillant sur la ferme travaillaient aussi sur d'autres fermes	-2	
	L'équipement de la ferme était partagé avec d'autres fermes	-5	
	Le répondant possédait ou gérait d'autres fermes qui ont été déclarées infectées durant l'épidémie	-10	

Tableau I Score de déficit de biosécurité (suite)

Critères de déficit de biosécurité			
Score	Attributs	Poids des attributs	Poids du score
Régie de la ferme	Le répondant ne pratiquait pas le tout plein/tout vide pour chaque poulailler	-5	-25
	Le répondant était propriétaire ou gérant d'autres fermes	-2	
	Une compagnie d'équarrissage est venue chercher les oiseaux morts sur la ferme durant la période de l'étude	-10	
	D'autres types élevages étaient pratiqués sur la ferme (pas aviaires) durant la période de l'étude	-3	
	Différents types de volailles étaient élevés sur la ferme durant la période de l'étude	-5	
Programme de biosécurité	Avant la période, le répondant ne requérait pas des employés de la ferme de changer de vêtements avant d'entrer dans le poulailler	-1	
	Avant la période, le répondant ne requérait pas des employés de la ferme d'utiliser des bains de pied à l'entrée des poulaillers	-1	

Critères de déficit de biosécurité			
Score	Attributs	Poids des attributs	Poids du score
Programme de biosécurité (suite)	Avant la période, le répondant ne requérait pas des employés de la ferme de ne pas posséder d'oiseaux	-3	-15
	Le répondant ne requérait pas des visiteurs de porter des bottes exclusives à la ferme durant la période de l'étude	-2	
	Le répondant ne requérait pas des visiteurs d'éviter de visiter une autre ferme le même jour durant la période de l'étude	-3	
	Le répondant ne requérait pas des visiteurs de prendre une douche avant d'entrer dans le poulailler durant la période de l'étude	-1	
	La ferme ne possédait pas de barrières en empêchant l'accès	-1	
	La ferme ne possédait pas d'affiches avertissant de ne pas y pénétrer	-1	
	Aucune procédure de nettoyage des véhicules n'était prévue pour les véhicules entrants sur la ferme durant la période de l'étude	-1	
	Aucun endroit éloigné du poulailler n'était désigné pour stationner les véhicules des visiteurs durant la période de l'étude	-1	
	Poids total	-100	-100

2.3. Construction des variables de la régression logistique représentant les caractéristiques des fermes

Les six scores de déficit de biosécurité constituèrent six des variables introduites dans la régression logistique. Les deux autres variables sélectionnées pour faire partie de la régression logistique représentaient les caractéristiques des oiseaux de la ferme le 15 mars 2004, soit l'âge des oiseaux élevés sur la ferme et l'inventaire des oiseaux élevés sur la ferme.

Puisque chaque ferme comprenait un nombre variable de poulaillers (de 1 à 9 poulaillers) et que l'unité épidémiologique de l'étude était la ferme, on calcula un inventaire total en additionnant les inventaires de chaque poulailler appartenant à une ferme. Comme l'étude ne comprenait pas de variable de superficie d'élevage des oiseaux, cet inventaire total fut utilisé pour représenter une estimation de la taille de la ferme.

Similairement, l'âge des oiseaux pour chaque poulailler des fermes de l'étude était connu. C'est pourquoi un âge pondéré des oiseaux de la ferme fut calculé à partir de l'âge des oiseaux de chaque poulailler de la ferme. Pour ce faire, l'âge des oiseaux d'un poulailler fut multiplié par le ratio de l'inventaire de chaque poulailler sur l'inventaire total de la ferme. Les résultats pour chacun des poulaillers de la ferme furent additionnés pour donner la variable de l'âge pondéré des oiseaux de la ferme (Équation 1, p. 73). Cette opération permit de transformer la variable de l'âge des poulaillers en une variable attribuable à la ferme, unité épidémiologique de l'étude. L'âge était comptabilisé en semaines.

Dans les quelques rares cas où un poulailler contenait des oiseaux d'âges différents, un âge pondéré pour les oiseaux du poulailler fut calculé à partir des inventaires de chacun des groupes d'oiseaux du poulailler selon une équation similaire à celle pour calculer l'âge pondéré des oiseaux de la ferme (Équation 2, p. 73). L'âge

du poulailler ainsi obtenu fut utilisé pour calculer l'âge pondéré des oiseaux de la ferme avec l'Équation 1 (p. 73). Deux autres poulaillers avaient comme données des intervalles d'âges sans les inventaires correspondants à chacun des intervalles d'âge. L'inventaire total des deux poulaillers était toutefois disponible. La moyenne de ces deux valeurs fut utilisée comme âge du poulailler et l'âge pondéré de la ferme fut calculé avec l'Équation 2 (p. 73) à partir de l'inventaire total.

La variable de l'âge pondéré a été choisie préférentiellement à une variable catégorique de l'âge puisque, même si elle comprenait plus de valeurs manquantes et que l'ajustement du modèle était moindre qu'avec une valeur catégorique, elle nécessitait moins de degré de liberté de la part du modèle.

Quant à la variable des types de production, les différents types d'oiseaux furent classifiés en cinq types de production : les reproducteurs (coqs et pondeuses d'œufs d'incubation), les poulets de chair, les poules pondeuses d'œufs de consommation (pondeuses), les dindes et les fermes combinant plusieurs types de production. Ces dernières élevaient principalement des poules pondeuses et des poulets de chair, suivi en nombre par des poules pondeuses et des dindes (Tableau II, p. 74).

Les fermes élevant des reproducteurs de pondeuses d'œufs de consommation et des poulettes de remplacement (jeunes en pré-ponte) étaient classifiées comme « reproducteurs » alors que les fermes élevant des pondeuses d'œufs de consommation (pondeuses) et des poulettes de remplacement étaient classifiées comme « pondeuses ». Les fermes élevant des reproducteurs de poulets de chair et des poulettes de remplacement pour les reproducteurs de poulets de chair étaient aussi considérées comme du type « reproducteur ».

Équation 1 Calcul de l'âge pondéré des oiseaux de la ferme

$$\left(\frac{\text{Inventaire du premier poulailler}}{\text{Inventaire total}} \times \text{âge des oiseaux du premier poulailler} \right) +$$

$$\left(\frac{\text{Inventaire du second poulailler}}{\text{Inventaire total}} \times \text{âge des oiseaux du second poulailler} \right) + \dots +$$

$$\left(\frac{\text{Inventaire du dernier poulailler}}{\text{Inventaire total}} \times \text{âges des oiseaux du dernier poulailler} \right)$$

= âge pondéré des oiseaux de la ferme

Équation 2 Calcul de l'âge pondéré des oiseaux d'un poulailler

$$\left(\frac{\text{Inventaire du premier groupe d'oiseaux}}{\text{Inventaire total du poulailler}} \times \text{âge des oiseaux du premier groupe} \right) +$$

$$\left(\frac{\text{Inventaire du second groupe d'oiseaux}}{\text{Inventaire total du poulailler}} \times \text{âge des oiseaux du second groupe} \right) + \dots +$$

$$\left(\frac{\text{Inventaire du dernier groupe d'oiseaux}}{\text{Inventaire total du poulailler}} \times \text{âges des oiseaux du dernier groupe} \right)$$

= âge pondéré des oiseaux du poulailler

Tableau II Classification du type de production de la ferme selon les types d'oiseaux en élevage

Type de production	Types d'oiseaux dans les poulaillers
Reproducteurs	Poulets de chair de reproduction, poules pondeuses de reproduction et oiseaux de remplacement de reproducteurs
Poulets de chair	Poulets de chair
Poules pondeuses	Poules pondeuses d'œufs de consommation et poulettes de remplacement pour les pondeuses
Dindes	Dindes de chair
Divers	Poulets de chair et pondeuses sur la même ferme (50%), pondeuses et dindes sur la même ferme (37,5%), reproducteurs de poulets de chair et poulets de chair sur la même ferme (12,5%)

2.4. Disparités spatiales

Les témoins centraux furent sélectionnés à partir d'un espace d'où des fermes (les cas) avaient déjà été retirés, contrairement aux témoins médians et périphériques. Comme les témoins centraux furent sélectionnés à partir d'un espace différent des témoins médians et périphériques, on décida de ne pas utiliser de test statistique pour les comparer entre eux. C'est pourquoi la comparaison des moyennes par zone (épidémique et non-épidémique) des huit variables introduites dans les deux régressions logistiques fut la méthode utilisée pour déterminer si certaines variables présentaient de la disparité spatiale.

2.5. Colinéarité entre les variables de la régression logistique

À des fins d'analyse de la colinéarité entre les variables, on effectua un test de corrélation de Pearson sur les variables continues introduites dans chacune des régressions logistiques effectuées pour chaque modèle. Ces dernières étaient : le score de la transmission locale par les animaux, le score des oiseaux sauvages, le score des contacts directs, le score des contacts indirects, le score de la régie de la ferme, le score du programme de biosécurité de la ferme, l'inventaire total des oiseaux et l'âge pondéré des oiseaux de la ferme. En plus, la colinéarité entre les variables fut analysée pendant le processus de sélection rétrograde par l'observation de l'effet sur les chi carrés de Wald du retrait de chaque variable éliminée. Une variable était jugée présenter un niveau de colinéarité important si son retrait provoquait une variation de plus de 20% de la valeur du chi carré de Wald.

2.6. Analyse des données

Les six scores de biosécurité, l'âge pondéré des oiseaux de la ferme et l'inventaire total des oiseaux de la ferme furent introduits comme variables indépendantes dans chacune des régressions logistiques multiples (SAS version 9.0, SAS institute Inc., Raleigh, Caroline du Nord).

La variable du type de production de la ferme ne fut pas incluse dans la régression logistique puisqu'elle aurait utilisé 4 degrés de libertés dans une étude déjà limitée en puissance. De plus, l'inclusion du type de production dans le modèle causait

une séparation quasi-complète des points de données dans le modèle épidémique, c'est-à-dire qu'il n'existait pas une solution unique à l'équation permettant de calculer le maximum de vraisemblance. C'est pourquoi une analyse de variance ($\alpha=0,05$) entre la variable des types de productions et chacune des variables introduites dans la sélection rétrograde des régressions logistiques fut effectuée pour déterminer si les variables de la régression étaient liées aux types de production.

Puisque les variables présentaient de la disparité spatiale entre les témoins de la zone épidémique et non-épidémique, deux régressions logistiques furent effectuées: la première contenant les cas et les témoins centraux (zone épidémique seulement) et la deuxième contenant les cas et la totalité des témoins (toutes les fermes de l'étude localisées dans la vallée du Fraser). La comparaison des résultats des deux régressions logistiques permit de déterminer les différences entre les mesures de risques de l'influenza aviaire dans les zones proches des cas (zone épidémique) et les mesures de risques retrouvées de façon plus générale dans la vallée du Fraser.

Une stratégie de sélection rétrograde fut utilisée avec un $\alpha_{\text{exclusion}}=0,10$ pour le modèle de la vallée du Fraser et pour le modèle épidémique. Un α de 0,10 fut utilisé dans les deux modèles à cause du manque de puissance anticipée de l'étude. En effet, le nombre restreint de cas supposait une puissance limitée de l'étude et ceci tout particulièrement pour le modèle épidémique qui comporte moins de fermes que le modèle de la vallée du Fraser (49 au lieu de 89). L'ajustement du modèle fut vérifié avec le test de Hosmer-Lemeshow, plus approprié pour les données de type continu.

Les fermes ne possédant pas de données pour l'âge furent exclues de la régression. Il resta donc disponible pour l'analyse de régression logistique 22 cas, 27 témoins centraux, 16 témoins médians et 24 témoins périphériques. Aucune des fermes exclues n'étaient un cas ou un témoin central et la puissance du modèle épidémique n'en fut pas affectée. Le nombre total de fermes incluses dans la régression logistique était de 89 pour le modèle de la vallée du Fraser et de 49 pour le modèle épidémique.

Des graphiques des résiduels de Pearson versus les probabilités estimées, versus toutes les observations, et versus les variables introduites dans la régression, furent produits pour les deux modèles pour vérifier si les modèles étaient adéquats et s'ils s'ajustaient bien aux données. De plus, un graphe du log du rapport de cote pour chaque variable continue retenue, préalablement catégorisée, fut produit pour les deux modèles dans l'intention de vérifier que toutes les variables continues avaient une relation exponentielle avec la probabilité d'être un cas.

2.7. Impact de la méthode de calcul des scores

Pour vérifier l'impact des poids du score de biosécurité sur la sélection finale des variables, les six scores furent de nouveau calculés mais avec des poids de -1 pour chacun des attributs constituant un score (Tableau I, p. 67). Ils furent analysés de la même manière par une régression logistique pour chacun des modèles (modèle épidémique et modèle de la vallée du Fraser).

Puisque l'âge pondéré était fortement corrélé avec les scores de la transmission locale par les animaux et des contacts directs, ceux-ci causaient son élimination pendant le processus de sélection rétrograde du modèle épidémique et du modèle de la vallée du Fraser. Une régression logistique excluant ces deux scores fut effectuée pour chacun des deux modèles pour voir le résultat de la stratégie de sélection rétrograde sans leur présence.

2.8. Analyse de puissance

La puissance ne put être calculée à priori pour l'étude comme il est préférable de le faire. Comme le nombre de cas de l'étude était limité, il fut décidé d'utiliser un recensement de toutes les fermes positives à l'isolement du virus de l'influenza aviaire hautement pathogène H7 et de calculer la puissance à posteriori. Comme on craignait que l'étude manque de puissance, on sélectionna environ trois contrôles pour chaque cas.

Le logiciel Pass (Pass 2002, NCSS Inc.) fut utilisé pour évaluer rétrospectivement la puissance des deux régressions logistiques (modèle épidémique ($\alpha=0,10$) et modèle de la vallée du Fraser ($\alpha=0,10$)). Les paramètres de l'analyse de puissance étaient la taille de l'échantillon, la probabilité estimée d'être un cas si le score de la transmission locale par les animaux égalait sa moyenne, la grandeur de l'effet à détecter et le coefficient de détermination de la régression du score de la transmission locale par les animaux sur les autres variables retenues dans le modèle de la vallée du Fraser ou dans le modèle épidémique. Le coefficient de détermination mesure la colinéarité entre les variables qui, lorsqu'elle est élevée, tend à diminuer la puissance de l'étude. La grandeur de l'effet à détecter fut déterminée subjectivement comme étant un rapport de cote de 3 puisqu'aucune donnée à cet effet n'existait dans la littérature.

Le modèle de la vallée du Fraser comportait 22 cas et 67 témoins. La probabilité d'être un cas lorsque le score de la transmission locale par les animaux égalait à sa moyenne était de 0,471. Le coefficient de détermination de la régression du score de la transmission locale par les animaux sur le score des contacts directs et l'interaction du score de la transmission locale par les animaux avec le score des oiseaux sauvages était de 0,659. Le calcul donna un $\beta=0,09$. La puissance est donc de 91% pour détecter un rapport de cote de 3,0 dans le modèle de la vallée du Fraser.

Pour le modèle épidémique (22 cas et 27 témoins), la probabilité d'être un cas lorsque le score de la transmission locale par les animaux égalait à sa moyenne était de 0,905. Le coefficient de détermination de la régression du score de la transmission locale par les animaux sur le score des contacts directs et l'interaction du score de la transmission locale par les animaux avec le score des oiseaux sauvages était de 0,739. Le calcul donna un $\beta=0,70$. La puissance est donc de 30% pour détecter un rapport de cotes de 3.

Partie 3 Résultats

3.1. Caractéristiques des attributs

Les moyennes des scores et de leurs attributs sont énumérées par cas et types de témoins dans le Tableau III (p. 82). Les scores de la transmission locale pour les animaux et des contacts directs présentent un patron semblable : les cas ont la valeur la plus élevée, les témoins épidémiques la deuxième valeur la plus élevée et les témoins proximaux et distaux de la vallée du Fraser présentent des valeurs toutes deux inférieures aux autres moyennes.

Les attributs des animaux sauvages, des rats et des insectes (constituant le score de la transmission locale pour les animaux) présentent eux aussi le même patron c'est-à-dire une moyenne plus élevée pour les cas, suivie par la moyenne des témoins proximaux et ensuite par les moyennes des deux autres groupes de témoins. Les attributs du score des contacts directs comme la vente et l'achat de volailles vivantes ainsi que la présence de visiteurs dans la salle des œufs suivent aussi le même patron. Les autres attributs dans les scores de la transmission locale par les animaux et des contacts directs ne suivent pas exactement ce patron mais ont tous une moyenne pour les cas plus élevée que les moyennes des trois groupes de témoins.

3.2. Disparités spatiales

Les fermes de l'étude élèvent des oiseaux pour différents types de production, c'est-à-dire qu'ils élèvent des reproducteurs (coqs et poules pondeuses d'œufs d'incubation), des poules pondeuses d'œufs de consommation (pondeuses), des poulets de chair, des dindes ou qu'ils élèvent plusieurs types d'oiseaux sur la même ferme

(Tableau IV, p. 86). Les fermes situées dans la zone épidémique (cas et témoins épidémiques) sont plus souvent des fermes élevant des reproducteurs et des pondeuses que les fermes de la zone non-épidémique (témoins proximaux et distaux de la vallée du Fraser). Conséquemment, les fermes de la zone épidémique sont moins souvent des fermes élevant des poulets de chair que les fermes de la zone non-épidémique. Les fermes combinant plusieurs types de production (ex. pondeuses et poulets de chair) se retrouvent aussi en plus grand nombre dans la zone épidémique. Ces fermes ont un âge pondéré assez élevé car elles combinent toujours des types de production dont les oiseaux sont plus âgés (reproducteurs ou pondeuses) à des types de production dont les oiseaux sont jeunes (poulets de chair ou dindes). Ces différences entre les types de production dans chaque zone influenceront l'âge des oiseaux par zone ainsi que les scores, puisque ceux-ci sont liés aux pratiques d'élevage.

Si on considère chacune des variables introduites dans les deux modèles par zone (épidémique versus non-épidémique), toutes possèdent un patron semblable à l'exception de l'inventaire total des oiseaux. Dans ce patron, les scores ou l'âge pondéré des fermes de la zone épidémique ont des moyennes plus élevées que les témoins de la zone non-épidémique (Figure 3, p. 87). Ce patron est inversé pour l'inventaire total des oiseaux, c'est à dire que l'inventaire total des oiseaux dans la zone épidémique est plus bas que l'inventaire total dans la zone non-épidémique.

Tableau III Moyennes des scores et de leurs attributs par cas et groupes de témoins

Attributs de biosécurité	Cas	Témoins centraux	Témoins médians	Témoins périphériques
Transmission locale par les animaux*	3,24	2,90	2,19	2,13
Chats et chiens circulant sur la ferme	0,32	0,33	0,26	0,33
Animaux sauvages circulant sur la ferme	0,98	0,84	0,59	0,65
Rongeurs circulant sur la ferme	1,70	1,60	1,30	1,07
Insectes circulant sur la ferme	0,23	0,12	0,05	0,08
Oiseaux sauvages*	1,07	1,20	1,14	1,01
Oiseaux sauvages circulant sur la ferme	1,07	1,20	1,14	1,01
Contacts directs*	8,27	5,61	2,86	3,58
Le répondant vendait ou achetait habituellement des oiseaux d'un marché de volailles vivantes	4,55	3,79	2,54	2,94
Le répondant a placé des oiseaux additionnels dans ses poulaillers durant leur cycle de production pendant la période de l'étude	1,82	0,37	0,03	0,40
Le répondant a vendu ou donné des œufs à des personnes qui ont pénétrées dans la salle des œufs avant la période de l'étude	1,91	1,45	0,29	0,24

* Les scores sont le total des attributs situés directement en dessous. Ils peuvent comporter une différence minime avec la somme de leurs attributs à cause de l'arrondissement des valeurs des attributs.

Tableau III Moyennes des attributs des scores par cas et groupes de témoins (suite)

Attributs de biosécurité	Cas	Témoins centraux	Témoins médians	Témoins périphériques
Contacts indirects*	4,82	5,54	3,86	4,62
Des personnes vivant ou travaillant sur la ferme ont visité le poulailler d'une autre ferme durant la période de l'étude	0,91	0,76	0,48	0,56
Le répondant ou des personnes vivant ou travaillant sur la ferme avaient fréquenté des marchés de volailles vivantes durant la période de l'étude	0,00	0,17	0,00	0,20
Des personnes travaillant sur la ferme travaillaient aussi sur d'autres fermes	0,64	0,83	0,76	1,04
L'équipement de la ferme était partagé avec d'autres fermes	2,73	2,68	2,62	2,80
Le répondant possédait ou gérait d'autres fermes qui ont été déclarées infectées durant l'épidémie	0,55	1,10	0,00	0,02

* Les scores sont le total des attributs situés directement en dessous. Ils peuvent comporter une différence minime avec la somme de leurs attributs à cause de l'arrondissement des valeurs des attributs.

Tableau III Moyennes des attributs des scores par cas et groupes de témoins (suite)

Attributs de biosécurité	Cas	Témoins centraux	Témoins médians	Témoins périphériques
Régie*	3,19	2,83	2,14	2,35
Le répondant ne pratiquait pas le tout plein/tout vide pour chaque poulailler	1,59	1,21	0,71	1,40
Le répondant était propriétaire ou gérant d'autres fermes	0,91	0,97	0,76	0,72
Une compagnie d'équarrissage est venue chercher les oiseaux morts sur la ferme durant la période de l'étude	0,45	0,34	0,48	0,00
D'autres types élevages étaient pratiqués sur la ferme (autres que aviaires) durant la période de l'étude	0,08	0,10	0,07	0,12
Différents types de volailles étaient élevés sur la ferme durant la période de l'étude	0,15	0,21	0,12	0,10
Programme de biosécurité*	6,30	6,51	7,96	4,99
Avant la période, le répondant ne requérait pas des employés de la ferme de changer de vêtements avant d'entrer dans le poulailler	0,41	0,45	0,48	0,40
Avant la période, le répondant ne requérait pas des employés de la ferme d'utiliser des bains de pied à l'entrée des poulaillers	0,32	0,41	0,43	0,48

* Les scores sont le total des attributs situés directement en dessous. Ils peuvent comporter une différence minimale avec la somme de leurs attributs à cause de l'arrondissement des valeurs des attributs.

Tableau III Moyennes des attributs des scores par cas et groupes de témoins (suite)

Attributs de biosécurité	Cas	Témoins centraux	Témoins médians	Témoins périphérique
Programme de biosécurité (suite)*				
Avant la période, le répondant ne requérait pas des employés de la ferme de ne pas posséder d'oiseaux	0,49	0,42	0,68	0,29
Le répondant ne requérait pas des visiteurs de porter des bottes exclusives à la ferme durant la période de l'étude	1,18	1,10	1,30	0,99
Le répondant ne requérait pas des visiteurs d'éviter de visiter une autre ferme le même jour durant la période de l'étude	1,02	1,86	2,14	0,90
Le répondant ne requérait pas des visiteurs de prendre une douche avant d'entrer dans le poulailler durant la période de	0,55	0,28	0,48	0,48
La ferme ne possédait pas de barrières en empêchant l'accès	0,00	0,00	0,10	0,00
La ferme ne possédait pas d'affiches avertissant de ne pas y pénétrer	1,23	0,78	1,24	0,69
Aucune procédure de nettoyage des véhicules n'était prévue pour les véhicules entrants sur la ferme durant la période de	0,72	0,81	0,75	0,48
Aucun endroit éloigné du poulailler n'était désigné pour stationner les véhicules des visiteurs durant la période de	0,38	0,38	0,37	0,28

* Les scores sont le total des attributs situés directement en dessous. Ils peuvent comporter une différence minime avec la somme de leurs attributs à cause de l'arrondissement des valeurs des attributs.

Tableau IV Types de production des fermes pour la zone épidémique, la zone non-épidémique et pour la vallée du Fraser

Types de production	Zone épidémique (%)*	Zone non-épidémique (%)*	Vallée du Fraser*
Pondeuses	36,0	10,9	24,0
Productions combinées‡	10,0	4,3	7,3
Reproducteurs	20,0	15,2	17,7
Poulets de chair	26,0	63,0	43,8
Dindes	8,0	6,5	7,3

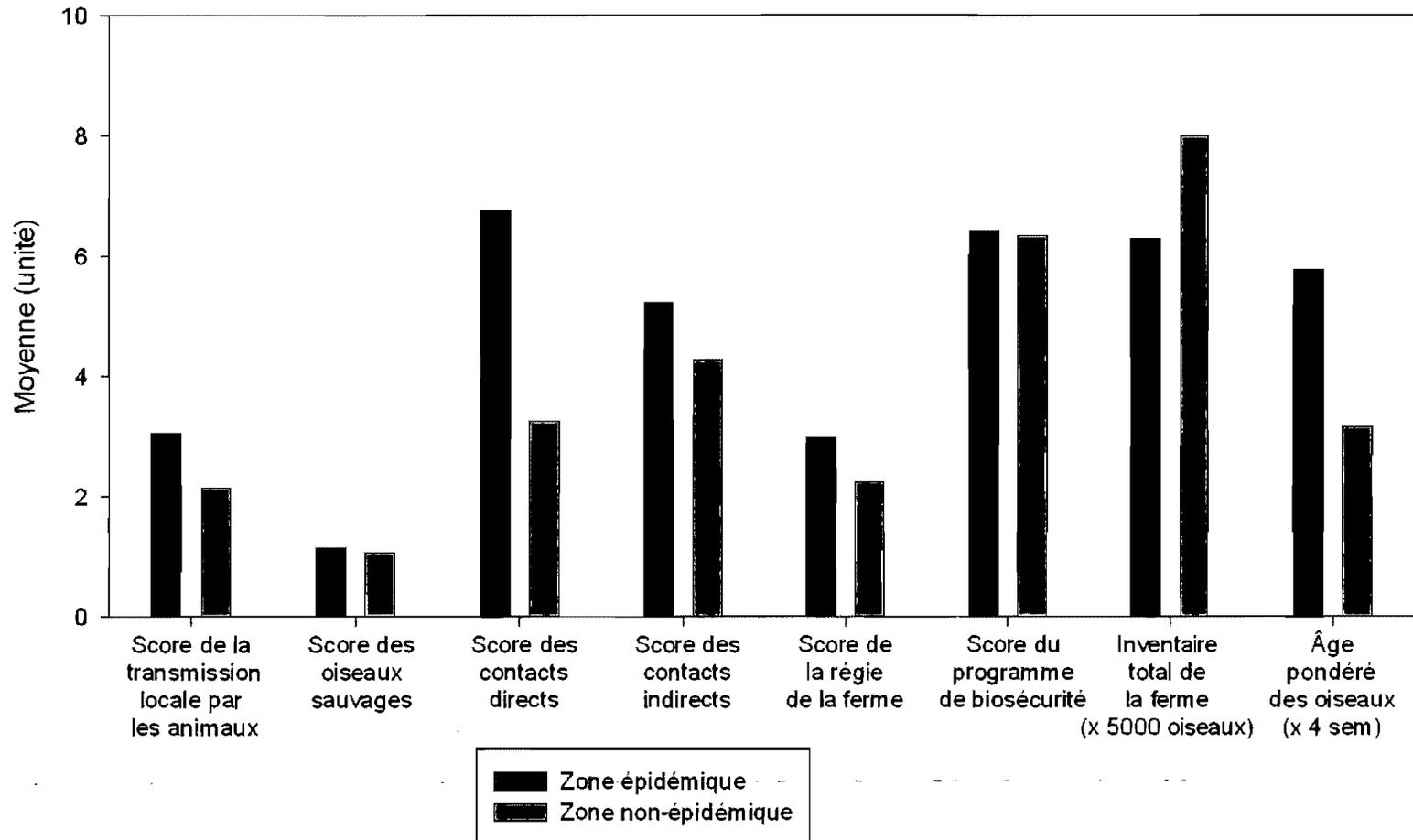
‡Les productions combinées sont des fermes sur lesquelles on retrouve plus qu'un type de production (pondeuses, poulets de reproduction, poulets de chair, dindes)

*Zone épidémique : Cas et les témoins centraux

Zone non-épidémique : Témoins médians et périphériques

Vallée du Fraser : Cas, témoins centraux, médians et périphériques

Figure 3 Moyennes des scores, de l'inventaire total et de l'âge pondéré des oiseaux par zone



3.3. Relation entre les types de production et les variables de la régression logistique

Dans une analyse de variance, l'âge pondéré des oiseaux de la ferme est intimement corrélé avec le type de production (coefficients de détermination de 0,80 pour la vallée du Fraser et de 0,76 pour la zone épidémique, $p < 0,001$) dans les deux modèles (Tableau V, p. 90). Les scores de la transmission locale par les animaux et des contacts directs sont eux aussi corrélés de façon significative avec les types de production mais moins fortement que l'âge (les coefficients de détermination se situent entre 0,12 et 0,22).

3.4. Colinéarité entre les variables de la régression logistique

Les deux seules corrélations statistiquement significatives ($\alpha = 0,05$) dans le modèle de la vallée du Fraser, entre l'âge et un score, se trouvent avec le score de la transmission locale par les animaux et le score des contacts directs ($r = 0,38$ et $r = 0,32$ respectivement) (Tableau VI, p. 91). Dans le modèle épidémique, la corrélation entre l'âge pondéré et le score des contacts directs diminue et n'est pas significative ($r = 0,22$ et $p = 0,12$) (Tableau VII, p. 92). La corrélation entre l'âge pondéré et le score de la transmission locale par les animaux reste sensiblement la même dans le modèle épidémique ($r = 0,41$, $p = 0,03$).

Les trois scores retenus par l'un ou l'autre des deux modèles sont aussi fortement corrélés entre eux et ces corrélations sont toutes statistiquement significatives dans les deux modèles. La corrélation la plus forte se retrouve, dans les deux modèles, entre le score de la transmission locale par les animaux et le score des oiseaux sauvages

(Tableau VI, p. 91 et Tableau VII, p. 92). Les corrélations entre les trois scores sont plus élevées dans le modèle épidémique sauf pour la corrélation entre le score de la transmission locale par les animaux et des contacts directs, qui sont égales dans les deux modèles.

3.5. Résultats de la régression logistique du modèle de la vallée du Fraser

Dans la vallée du Fraser, le score du programme de biosécurité, le score de la régie de la ferme, l'inventaire total de la ferme, le score des contacts indirects et l'âge pondéré des oiseaux de la ferme ont été éliminés un à un comme facteurs de risque par la sélection rétrograde de la régression logistique ($p < 0,10$).

Les fermes infectées par l'influenza aviaire avaient plus de chance d'avoir des scores de la transmission locale par les animaux et des contacts directs élevés (Tableau VIII, p. 95). Ces scores quantifient des contacts impliquant des oiseaux ou leurs produits (œufs) ainsi que la présence de rats, carnivores domestiques et animaux sauvages sur la ferme.

Tableau V Résultats de l'analyse de variance de chacun des scores, de l'âge pondéré des oiseaux et de l'inventaire total des oiseaux sur la variable des types de production

Variabes	p (modèle de la vallée du Fraser)	R² (Modèle de la vallée du Fraser)	p (modèle épidémique)	R² (modèle épidémique)
Score de la transmission locale par les animaux	0,02	0,12	0,05	0,19
Score des oiseaux sauvages	0,57	0,03	0,93	0,02
Score des contacts directs	0,01	0,13	0,02	0,22
Score des contacts indirects	0,90	0,01	0,86	0,03
Score de la régie de la ferme	0,003	0,16	0,26	0,11
Score du programme de biosécurité	0,19	0,06	0,77	0,04
Inventaire total des oiseaux de la ferme	0,0009	0,18	0,007	0,27
Age pondéré des oiseaux de la ferme	<0,0001	0,80	<0,0001	0,76

Tableau VI Corrélation de Pearson entre les scores, l'inventaire total et l'âge pondéré des oiseaux (modèle de la vallée du Fraser)

Pearson* p†	Score de la transmission locale par les animaux	Score des oiseaux sauvages	Score des contacts directs	Score des contacts indirects	Score de la régie	Score du programme biosécurité	Inventaire total	Âge pondéré
Score de la transmission locale par les animaux	1,00	0,56 <i><0,0001</i>	0,35 <i>0,0008</i>	0,18 <i>0,09</i>	-0,14 <i>0,18</i>	0,05 <i>0,63</i>	-0,11 <i>0,29</i>	0,39 <i>0,0002</i>
Score des oiseaux sauvages	0,56 <i><0,0001</i>	1,00	0,25 <i>0,02</i>	0,17 <i>0,11</i>	-0,22 <i>0,04</i>	0,09 <i>0,39</i>	-0,12 <i>0,27</i>	0,11 <i>0,29</i>
Score des contacts directs	0,35 <i>0,0008</i>	0,25 <i>0,02</i>	1,00	0,43 <i><0,0001</i>	-0,03 <i>0,79</i>	0,11 <i>0,32</i>	0,19 <i>0,08</i>	0,29 <i>0,005</i>
Score des contacts indirects	0,18 <i>0,09</i>	0,17 <i>0,11</i>	0,43 <i><0,0001</i>	1,00	-0,02 <i>0,86</i>	0,03 <i>0,79</i>	-0,03 <i>0,81</i>	-0,08 <i>0,46</i>
Score de la régie	-0,14 <i>0,18</i>	-0,22 <i>0,04</i>	-0,03 <i>0,79</i>	-0,02 <i>0,86</i>	1,00	-0,11 <i>0,32</i>	-0,13 <i>0,22</i>	0,13 <i>0,24</i>
Score du programme de biosécurité	0,05 <i>0,63</i>	0,09 <i>0,39</i>	0,11 <i>0,32</i>	0,03 <i>0,79</i>	-0,11 <i>0,32</i>	1,00	-0,05 <i>0,67</i>	-0,09 <i>0,41</i>
Inventaire total	-0,11 <i>0,29</i>	-0,12 <i>0,27</i>	-0,19 <i>0,08</i>	-0,03 <i>0,81</i>	-0,13 <i>0,22</i>	-0,05 <i>0,67</i>	1,00	-0,44 <i><0,0001</i>
Âge pondéré	0,39 <i>0,0002</i>	0,11 <i>0,29</i>	0,29 <i>0,005</i>	-0,08 <i>0,46</i>	0,13 <i>0,24</i>	-0,09 <i>0,41</i>	-0,44 <i><0,0001</i>	1,00

† Probabilité calculée sous l'hypothèse H_0 selon laquelle la valeur absolue du coefficient de Pearson égale à 0

* Les coefficients sont calculés à partir des résultats des 89 fermes utilisés dans la régression logistique. Les cellules en caractères gras ont un coefficient statistiquement significatif ($p < 0,05$).

Tableau VII Corrélation de Pearson entre les scores, l'inventaire total et l'âge pondéré des oiseaux (modèle épidémique)

Pearson <i>p</i> †	Score de la transmission locale par les animaux	Score des oiseaux sauvages	Score des contacts directs	Score des contacts indirects	Score de la régie	Score du programme biosécurité	Inventaire total	Âge pondéré
Score de la transmission locale par les animaux	1,00	0,60 <i><0,0001</i>	0,35 <i>0,01</i>	0,33 <i>0,02</i>	-0,19 <i>0,20</i>	0,11 <i>0,44</i>	-0,11 <i>0,43</i>	0,41 <i>0,004</i>
Score des oiseaux sauvages	0,60 <i><0,0001</i>	1,00	0,36 <i>0,01</i>	0,36 <i>0,01</i>	-0,19 <i>0,19</i>	0,07 <i>0,65</i>	-0,12 <i>0,42</i>	0,15 <i>0,30</i>
Score des contacts directs	0,35 <i>0,01</i>	0,36 <i>0,01</i>	1,00	0,44 <i>0,001</i>	-0,03 <i>0,84</i>	0,16 <i>0,27</i>	-0,20 <i>0,17</i>	0,22 <i>0,12</i>
Score des contacts indirects	0,33 <i>0,02</i>	0,36 <i>0,01</i>	0,44 <i>0,001</i>	1,00	-0,06 <i>0,67</i>	0,05 <i>0,74</i>	0,12 <i>0,43</i>	-0,14 <i>0,32</i>
Score de la régie	-0,19 <i>0,20</i>	-0,19 <i>0,19</i>	-0,03 <i>0,84</i>	-0,06 <i>0,67</i>	1,00	-0,16 <i>0,28</i>	-0,03 <i>0,84</i>	0,04 <i>0,78</i>
Score du programme de biosécurité	0,11 <i>0,44</i>	0,07 <i>0,65</i>	0,16 <i>0,27</i>	0,05 <i>0,74</i>	-0,16 <i>0,28</i>	1,00	-0,19 <i>0,19</i>	0,03 <i>0,84</i>
Inventaire total	-0,11 <i>0,43</i>	-0,12 <i>0,42</i>	-0,20 <i>0,17</i>	0,12 <i>0,43</i>	-0,03 <i>0,84</i>	-0,19 <i>0,19</i>	1,00	-0,41 <i>0,004</i>
Âge pondéré	0,41 <i>0,004</i>	0,15 <i>0,30</i>	0,22 <i>0,12</i>	-0,14 <i>0,32</i>	0,04 <i>0,78</i>	0,03 <i>0,84</i>	-0,41 <i>0,004</i>	1,00

† Probabilité calculée sous l'hypothèse H_0 selon laquelle la valeur absolue du coefficient de Pearson égale à 0

* Les coefficients sont calculés à partir des résultats des 49 fermes utilisés dans la régression logistique. Les cellules en caractères gras ont un coefficient statistiquement significatif ($p < 0,05$).

Le score des oiseaux sauvages ne semble pas être associé au risque ou à une diminution du risque quand on examine les moyennes par cas et groupes de témoins (Tableau III, p. 82) mais son effet protecteur apparaît lorsqu'il est introduit dans le modèle avec le score de la transmission locale par les animaux ($p=0,01$). Ceci s'explique parce que les sept fermes ayant les scores des oiseaux sauvages les plus élevés étaient des témoins et possédaient des scores de la transmission locale par les animaux parmi les plus élevés (Voir Tableau IX, p. 95). Pour vérifier la robustesse des résultats, on retira ces valeurs extrêmes (sept témoins) de la régression logistique. Le score des oiseaux sauvages ne resta pas dans la sélection finale de la sélection rétrograde. En d'autres termes, il perdit son effet protecteur.

À cause de l'interaction particulière du score de la transmission locale par les animaux avec le score des oiseaux sauvages (Tableau XI, p. 99), nous avons refait la régression logistique avec cette fois-ci l'interaction du score de la transmission locale par les animaux et du score des oiseaux sauvages dans le modèle. Cette façon de faire est équivalente à un devis expérimental imbriqué. La sélection rétrograde retint dans la sélection finale le score de la transmission locale par les animaux, l'interaction et le score des contacts directs.

Le test de Hosmer-Lemeshow pour la qualité de l'ajustement du modèle avec interaction ne rejette pas l'hypothèse nulle que le modèle s'ajuste bien aux données ($p=0,88$). L'ajustement est meilleur qu'avec celui du modèle contenant le score des oiseaux sauvages (modèle sans interaction) ($p=0,24$). Le R^2 de Nagelkerke du modèle de la vallée du Fraser avec interaction est de 0,32 alors que celui du modèle contenant le score des oiseaux sauvages est de 0,30. De plus, l'AIC (Akaike information criterion) du modèle avec interaction est de 86,105 alors qu'il est de 87,520 dans le modèle sans interaction. Le modèle remplaçant le score des oiseaux sauvages par l'interaction entre le score de la transmission locale par les animaux et le score des oiseaux sauvages fut donc choisi comme le modèle le plus adéquat. Ce modèle reflète mieux le comportement du score des oiseaux sauvages en relation avec le score de la transmission locale par les animaux (Tableau IX, 95).

L'analyse des résiduels de Pearson par rapport à chacune des variables de la régression logistique par des diagrammes de dispersion ne permet pas de détecter un manque d'ajustement du modèle. De plus, un diagramme de dispersion des résiduels de Pearson versus les probabilités estimées utilisant un lissage pondéré local (LOWESS, locally weighted scatterplot smooting) nous permet de constater que la courbe lissée avait une pente et une intersection s'approchant de. Comme la valeur attendue des résiduels de Pearson est de zéro ($E\{e_i\}=0$), le diagramme de LOWESS montre un bon ajustement du modèle.

Tableau VIII Variables retenues par la sélection rétrograde de la régression
logistique du modèle de la vallée du Fraser

Analyse des estimés du maximum de vraisemblance				
Paramètre	Estimé	Erreur type	Chi ² de Wald	P > Chi ² carré
Constante	-5,5583	1,4753	14,1951	0,0002
Score de la transmission locale par les animaux	2,0299	0,6524	9,6810	0,0019
Score des contacts directs	0,0901	0,0468	3,7089	0,0541
Interaction entre le score de la transmission par les animaux et le score des oiseaux sauvages	-0,5928	0,2225	7,0993	0,0077

Tableau IX Statistiques du score des oiseaux sauvages par catégorie pour le modèle de
la vallée du Fraser

Score des oiseaux sauvages	Nombre d'observations	Probabilité d'être un cas	Moyenne du score de la transmission locale par les animaux
0 < score ≤ 1	47	0,26	2,22
1 < score ≤ 2	35	0,29	3,03
2 < score ≤ 3	7	0,00	4,02

3.6. Résultats de la régression logistique de la zone épidémique

Dans le modèle épidémique, quand le modèle comprend les six scores ainsi que les variables de l'âge pondéré et de l'inventaire total des oiseaux, la seule variable restante à la fin de la sélection rétrograde est l'âge pondéré des oiseaux. Toutefois, comme nous savons que l'âge pondéré des oiseaux est encore plus fortement corrélé dans le modèle épidémique avec le score de la transmission locale par les animaux, ce dernier étant lui même encore plus fortement corrélé avec le score des oiseaux sauvages (Tableau VII, p. 92), nous avons testé un modèle sans l'âge pondéré des oiseaux.

Dans le modèle excluant l'âge pondéré des oiseaux de sa sélection initiale, le score du programme de biosécurité de la ferme, le score de la région de la ferme, l'inventaire total de la ferme, et le score des contacts indirects n'ont pas été retenus comme facteurs de risque par la sélection rétrograde de la régression logistique. À ces derniers s'ajoute également le score des contacts directs qui avait été retenu dans le modèle de la vallée du Fraser. Seuls les scores de la transmission locale par les animaux et les scores des oiseaux sauvages sont retenus par la sélection rétrograde (Tableau X, p. 99). Ce modèle explique plus de la variance puisque son R^2 de Nagelkerke est de 0,18 au lieu de 0,10 pour le modèle ne contenant que l'âge pondéré dans la sélection finale. De plus, l'AIC du modèle excluant l'âge pondéré de la sélection initiale est de 67, 210 comparé à 67,499 pour le modèle ne l'excluant pas, malgré qu'il soit moins parcimonieux. La probabilité que le test de Hosmer-Lemeshow ne rejette pas l'hypothèse nulle est de 0,97 pour le modèle excluant l'âge pondéré des oiseaux comparé à 0,83 pour le modèle ne l'excluant pas. En conclusion, le modèle excluant l'âge pondéré des variables initiales est le meilleur selon ces critères.

On peut aussi observer que dans la zone épidémique, la corrélation entre les scores de la transmission locale par les animaux et des oiseaux sauvages est encore plus importante que dans la vallée du Fraser ($r=0,60$ $p < 0,0001$) (Tableau VII, p. 92). Comme le score de la transmission locale par les animaux a une moyenne plus élevée

chez les cas (3,24 versus 2,90 chez les témoins de la zone épidémique), on s'attendrait à avoir un score des oiseaux sauvages semblablement élevé chez les cas puisqu'ils sont fortement corrélés. Toutefois, c'est une sous-population de témoins (4 fermes) qui possède les scores des oiseaux sauvages les plus élevés en ayant aussi des scores de la transmission locale par les animaux parmi les plus élevés (Tableau XI, p. 99). C'est pourquoi le score des oiseaux sauvages a un effet protecteur sur la probabilité de devenir infecté par l'influenza aviaire. Pour vérifier la robustesse des résultats, on retira ces valeurs extrêmes (4 témoins) de la régression logistique. Comme résultat, le score des oiseaux sauvages ne resta plus dans la sélection finale de la sélection rétrograde de la régression logistique. En d'autres termes, il perdit son effet protecteur.

Le test de Hosmer-Lemeshow pour la qualité de l'ajustement du modèle avec interaction ne rejette pas l'hypothèse nulle que le modèle s'ajuste bien aux données ($p=0,99$). L'ajustement est meilleur qu'avec celui du modèle contenant le score des oiseaux sauvages (modèle sans interaction) ($p=0,97$). Le R^2 de Nagelkerke du modèle épidémique avec interaction est de 0,25 alors que celui du modèle contenant le score des oiseaux sauvages (sans interaction) est de 0,18. De plus, l'AIC du modèle avec interaction est de 64,168 alors qu'il est de 67,210 dans le modèle sans interaction. Le modèle remplaçant le score des oiseaux sauvages par l'interaction entre le score de la transmission locale par les animaux et le score des oiseaux sauvages fut donc choisi comme le modèle le plus adéquat. Ce modèle reflète mieux au comportement du score des oiseaux sauvages en relation avec le score de la transmission locale par les animaux (Tableau XI, p. 99).

Comme pour le modèle de la vallée du Fraser, l'analyse des résiduels de Pearson versus chacune des variables de la régression logistique par des diagrammes de dispersion ne permit pas de détecter un manque d'ajustement du modèle. Le diagramme de dispersion des résiduels de Pearson versus les probabilités estimées utilisant un lissage pondéré local (LOWESS, locally weighted scatterplot smooting) nous permit, comme pour le modèle de la vallée du Fraser, de constater que la courbe

lissée avait une pente et une intersection proche de 0. Le modèle s'ajuste bien puisque la valeur attendue des résiduels de Pearson est de zéro ($E\{e_i\}=0$).

Tableau X Variables retenues par la sélection rétrograde de la régression logistique du modèle épidémique

Analyse des estimés du maximum de vraisemblance				
Paramètre	Estimé	Erreur type	Chi ² de Wald	P > Chi ² carré
Constante	-5,3572	2,0889	6,5773	0,0103
Score de la transmission locale par les animaux	2,4887	0,9330	7,1148	0,0076
Interaction entre le score de la transmission par les animaux et le score des oiseaux sauvages	-0,6790	0,2699	6,3306	0,0119

Tableau XI Statistiques du score des oiseaux sauvages par catégorie pour le modèle épidémique

Catégories du score des oiseaux sauvages	Nombre d'observations	Probabilité d'être un cas	Moyenne du score de la transmission locale par les animaux
0 < score ≤ 0,75	25	0,48	2,73
0,75 < score ≤ 2	20	0,50	3,30
2 < score ≤ 3	4	0,00	4,09

3.7. Comparaison entre le modèle de la vallée du Fraser et le modèle épidémique

La comparaison des coefficients des deux modèles nous permet de constater que pour les variables communes, les limites de confiances du modèle de la vallée du Fraser étaient toujours contenues dans les limites de confiance du modèle épidémique puisque le modèle épidémique est niché à l'intérieur du modèle de la vallée du Fraser. Il n'y a donc pas de grande différence entre les coefficients des scores de la transmission locale par les animaux et l'interaction du score de la transmission locale par les animaux avec le score des oiseaux sauvages des deux modèles (Tableau XII, p. 101).

3.8. Vérification de la robustesse des scores de déficit de biosécurité

Les variables restant dans la sélection finale de la régression logistique des scores élaborés avec des attributs de poids égaux furent exactement les mêmes que dans la régression utilisant les scores de poids différents selon le niveau de risque perçu par un expert (en l'occurrence le Dr. Jean-Pierre Vaillancourt). Les variables incluses dans la sélection finale incluaient les six scores, l'inventaire total et l'âge pondéré des oiseaux. Le Tableau XIII (p. 102) montre les différences entre les coefficients des deux scores (attributs pondérés et attributs de poids égaux) de la vallée du Fraser, leur erreur-type ainsi que les probabilités que ces coefficients soient différents de zéro sous la loi de chi carré. Le Tableau XIV (p. 103) montre les mêmes différences mais pour le modèle épidémique.

Tableau XII Estimés des ratios des odds des modèles de la vallée du Fraser et épidémique

	Estimés des ratios des odds					
	Modèle de la vallée du Fraser			Modèle de la zone épidémique		
	Estimé en un point	Limites de confiance à 95% de Wald		Estimé en un point	Limites de confiance à 95% de Wald	
Score de la transmission locale par les animaux	7.614	2.120	27.348	12.045	1.935	74.991
Score des contacts directs	1.094	0.998	1.199			
Interaction du score de la transmission locale par les animaux avec le score des oiseaux sauvages	0.553	0.357	0.855	0.507	0.299	0.861

Tableau XIII Comparaison des coefficients estimés du modèle de la vallée du Fraser obtenus avec des scores d'un poids de 1 chacun ou avec des poids évalués selon le risque perçu par un expert

Analyse des estimés des maximums de vraisemblance						
Paramètre	Modèle avec attributs de poids égaux			Modèle avec poids selon le risque perçu par un expert		
	Estimé	Erreur-type	Pr > Chi²	Estimé	Erreur-type	Pr > Chi²
Constante	-4,6906	1,1689	0,0001	-5,5583	1,4753	0,0002
Score de la transmission locale par l'environnement	3,4218	1,0873	0,0016	2,0299	0,6524	0,0019
Score des contacts directs	0,8557	0,4067	0,0354	0,0901	0,0468	0,0541
Interaction du score de la transmission locale avec le score des oiseaux sauvages	-3,4058	1,3015	0,0089	-0,5928	0,2225	0,0077

Tableau XIV Comparaison des coefficients estimés du modèle épidémique obtenus avec des scores d'un poids de 1 chacun ou avec des poids évalués selon le risque perçu par un expert

Analyse des estimés des maxima de vraisemblance						
	Modèle avec attributs de poids égaux			Modèle avec poids selon le risque perçu par un expert		
Paramètre	Estimé	Erreur-type	Pr > Chi²	Estimé	Erreur-type	Pr > Chi²
Constante	-3,4052	1,4311	0,0173	-5,3572	2,0889	0,0103
Score de la transmission locale par l'environnement	3,4543	1,3770	0,0121	2,4887	0,9330	0,0076
Interaction du score de la transmission locale avec le score des oiseaux sauvages	-3,3009	1,4493	0,0228	-0,6790	0,2699	0,0119

Partie 4 Discussion

4.1. Avantages et désavantages de l'utilisation de scores de biosécurité

L'utilisation de scores de biosécurité pour évaluer spécifiquement l'importance de facteurs de risques pour l'influenza aviaire n'a jamais été rapportée dans la littérature. Une étude de cas-témoins {McQuiston, Garber et al., 2005} a analysé les caractéristiques de la ferme, la région, les pratiques de biosécurité, la présence d'animaux sauvages sur la ferme et les contacts (avec les fournisseurs de services et avec les humains) en Virginie en 2002 dans le cadre d'une épidémie d'influenza aviaire H7N2 faiblement pathogène. Toutefois, chacun de ces facteurs de risques a été analysé séparément puisque le nombre de cas permettait de faire une analyse exploratoire (151 cas et 199 témoins) pour ensuite analyser les données avec une régression logistique.

La division en six scores de déficit de biosécurité s'est faite sur des bases biologiques et de caractéristiques communes. Les oiseaux sauvages auraient pu être inclus dans le score de la transmission locale par les animaux mais ils représentaient un mode d'introduction potentiel dans la vallée ainsi qu'un mode de transmission alors que le score de la transmission locale par les animaux incluait des variables quantifiant des animaux ayant une mobilité nettement moins grande. Les oiseaux sauvages semblent aussi être un vecteur majeur du virus H5N1 en Asie de l'est et auraient donc pu jouer un rôle similaire dans la vallée du Fraser. Ces deux critères justifient donc de mettre le score des oiseaux sauvages dans une catégorie à part (malgré la puissance limitée de l'étude) puisque combiné à d'autres attributs dans un score, nous n'aurions pu démontrer que le score des oiseaux sauvages était un facteur de risque en particulier.

La grande quantité des attributs représentant les contacts en général aurait dilué tout effet s'appliquant aux contacts les plus à risque, c'est pourquoi ils furent divisés en deux catégories. Les contacts les plus à risques furent constitués des contacts directs avec des oiseaux et leurs produits (œufs), pouvant servir de vecteur mécanique et/ou biologique du virus. Les contacts indirects furent constitués des contacts à moindre risque de transmission selon notre expert. Ces contacts étaient constitués des visites sur d'autres fermes, dans des poulaillers et marchés de volailles vivantes ou du partage de la machinerie. Cette division permit de détecter si des pratiques à haut risque, comme introduire des oiseaux dans le poulailler pendant le cycle de production, laisser les visiteurs entrer dans la salle des œufs, et acheter des oiseaux d'un marché de volailles vivantes avaient été des pratiques utilisées par les fermes ayant été des cas. Ces trois pratiques avaient été ciblées au départ par notre expert comme étant les pratiques les plus risquées pour contaminer une ferme avec l'influenza. L'analyse ne permet toutefois pas de dire lesquels de ces comportements aurait augmenté le risque de devenir infecté.

L'élaboration des six scores de démerite de biosécurité s'est faite avec l'aide de notre expert en médecine avicole, qui a donné son opinion scientifique sur le risque qui devrait être associé à chaque attribut. Cette opinion était basée sur des études scientifiques et l'expérience de notre expert mais il n'en reste pas moins qu'une part de subjectivité a fait partie de l'élaboration des scores. De plus, les circonstances de nous ont pas permis de faire valider le score par d'autres experts.

4.2. Impact des critères d'inclusion des fermes dans l'étude

Le principal critère d'inclusion était d'être une ferme commerciale. Les basses-cours ne furent pas incluses dans l'étude (seulement deux étaient positives à l'isolement du virus). Ces basses-cours n'élèvent qu'un petit nombre d'oiseaux et leurs types de

contacts sont très différents de ce qu'on retrouve du côté commercial, ce qui eut rendu la comparaison difficile. De plus, nous ne détenions pas suffisamment de données sur ces petites fermes où des particuliers élèvent quelques oiseaux pour leur consommation personnelle.

L'hypothèse la plus répandue pour l'introduction du virus est qu'un virus faiblement pathogène provenant des oiseaux sauvages infecterait la volaille et ensuite muterait en virus hautement pathogène {Hinshaw, Webster et al., 1979}. Comme les basses-cours en Colombie-Britannique sont les plus susceptibles d'être en contact avec les oiseaux sauvages, l'absence de ces dernières dans l'analyse de l'épidémie ne nous permet donc pas d'élucider le rôle des oiseaux sauvages comme facteur d'introduction du virus dans la vallée.

4.3. Impact de la définition des cas, des témoins et des zones

L'isolement du virus dans les œufs est considéré comme le test étalon pour l'influenza aviaire puisqu'il teste pour la présence d'un virus vivant, contrairement au PCR qui peut détecter des particules virales non-viables. L'isolement du virus dans les œufs nécessite toutefois une quantité suffisante d'œufs. Le RRT-PCR a l'avantage d'obtenir des résultats beaucoup plus rapidement que l'isolement du virus qui est un processus laborieux et long. C'est pourquoi, après le début de l'épidémie, on cessa d'utiliser l'isolement dans les œufs comme test de dépistage. C'est le PCR matriciel qui le remplaça avec l'isolement du virus dans des œufs comme test de confirmation {Pasick et Hooper-McGrevy, 2004}.

Une partie des cas inclus dans l'étude ont donc été sélectionnés préalablement par un test PCR de dépistage puis par le test d'isolement dans les œufs alors que le reste des fermes n'ont été sélectionnées que par l'isolement dans les œufs embryonnés.

Le PCR matriciel comporte une sensibilité de 84% et une spécificité proche de 100% (communication personnelle, Dr. John Pasick, CNMAE, ACIA, 2006). Quant à la sensibilité et la spécificité de l'isolement dans les œufs embryonnés, elle sont inconnues mais on sait que l'utilisation de deux tests en série a pour effet d'augmenter la spécificité et de diminuer la sensibilité globale des tests {Dohoo, Martin et al., 2003}. On obtint comme résultat un nombre moins grand de fermes comme cas pour ceux sélectionnés avec l'utilisation des deux tests mais ces derniers avaient une plus grande probabilité d'avoir été réellement infectés (vrais positifs) avec le virus H7 vivant. On diminua ainsi l'erreur de classification des fermes. À l'inverse, en diminuant la sensibilité globale des tests, on augmenta la possibilité d'avoir de faux négatifs. Il est donc possible que des fermes infectées par l'influenza aviaire hautement pathogène en 2004 n'aient pas été incluses dans notre étude. Ceci aurait de surcroît diminué la puissance de l'étude.

Les témoins comprenaient des fermes ayant une forte probabilité d'être de vrais négatifs, puisqu'ils furent testés par PCR et que le test a une grande.

Les quatorze fermes positives au PCR mais négatives à l'isolement du virus n'ont pas été incluses dans l'étude, soit comme cas, soit comme témoins. Cette élimination de fermes faisant partie d'une « zone grise » a donné à l'étude une plus grande validité du point de vue de la classification des fermes.

Les groupes de témoins ont été définis selon leur distance à partir de fermes déclarées infectées par l'ACIA pendant l'épidémie, c'est-à-dire de fermes d'où le virus fut isolé dans les œufs embryonnés ou de fermes où le test PCR de dépistage s'était révélé positif mais d'où le virus ne put être isolé. Certains types de témoins étaient donc sélectionnés selon leur distance à partir de fermes positives au RRT-PCR mais négatives à l'isolement, donc de fermes n'ayant pas été incluses comme cas dans l'étude. Nous nous sommes ainsi assuré que des témoins classés dans des groupes hors de la zone épidémique n'étaient pas en réalité situés dans la zone épidémique.

Des données fiables sur les signes cliniques n'existaient pas de façon consistante. C'est pourquoi nous n'avons pas été en mesure de valider le statut des cas de cette façon.

4.4. Caractéristiques des attributs et disparités spatiales entre les zones

Presque tous les attributs des scores de la transmission locale par les animaux et du score des contacts directs suivent un patron selon lequel les valeurs vont en ordre décroissant à partir des cas en allant vers les types de témoins les plus éloignés des cas (témoins épidémiques, centraux puis périphériques). Seul l'attribut des chats et des chiens (score de la transmission locale par les animaux) et celui de placer des oiseaux additionnels dans le poulailler durant le cycle de production (score des contacts directs) ne suivent pas cette règle. Alors que l'attribut des chats et des chiens ne semble pas montrer de différence entre les cas et différents groupes de contrôle, celui du placement d'oiseaux additionnels dans le poulailler pendant le cycle de production ne présente pas de tendance décroissante entre les différents groupes de témoins mais les valeurs des cas sont nettement plus élevées que celles des témoins (Tableau III, p. 82). On remarque donc que presque tous les attributs des scores de la transmission locale par les animaux et des contacts directs participent au risque accru d'être détecté comme infecté par l'influenza aviaire hautement pathogène. De plus, le gradient décroissant entre les témoins les plus proches et les témoins les plus éloignés des cas indique que les caractéristiques des attributs à risque se concentraient dans la zone épidémique.

Les types de production par cas et groupes de témoins diffèrent selon les zones. Ainsi, les fermes élevant les oiseaux les plus âgés (pondeuses, reproducteurs et les productions combinées) se retrouvent plus souvent dans la zone épidémique que dans la zone non-épidémique. Conséquemment, la moyenne de l'âge pondéré des oiseaux de la

ferme est donc plus élevée pour la zone épidémique que pour la zone non-épidémique. Le fait que la moyenne soit plus élevée pour la zone épidémique versus la zone non-épidémique est aussi observé chez tous les scores (Figure 3, p. 87). Seule la moyenne de l'inventaire total des oiseaux a une moyenne plus élevée dans la zone non-épidémique que dans la zone épidémique.

La concentration dans l'espace des types de production (la zone épidémique contient plus de fermes de pondeuses, reproducteurs et de productions combinées) empêche de différencier entre l'effet causé par un manque de biosécurité (score de la transmission locale par les animaux et des contacts directs) et l'effet des facteurs intrinsèques présents avant l'épidémie dans la vallée du Fraser (types de production, âge des oiseaux ou les deux), eux même corrélés aux scores de la transmission locale par les animaux et des contacts directs. On pourrait même penser que les caractéristiques intrinsèques des fermes auraient pu affecter la localisation des zones épidémiques.

De plus, comme les types de témoins ont été sélectionnés par rapport à leur distance des fermes infectées (en grande partie des cas de l'étude) et comme les cas possédaient certaines caractéristiques se retrouvant concentrées dans la même région (en grappe), on aurait pu sélectionner systématiquement des témoins médians et périphériques possédant des caractéristiques différentes des cas. Cet état de chose pourrait influencer a priori le risque calculé par l'étude de contracter l'influenza aviaire hautement pathogène pour une ferme.

4.5. Signification des types de production et de l'âge

Les types de production n'ont pas pu être inclus comme variable dans la régression du modèle épidémique puisque la présence de cette variable causait une séparation complète des points de donnée. Ceci est un problème commun pour les

petits échantillons et reflète la colinéarité de certaines variables, probablement la colinéarité entre les types de production et l'âge pondéré des oiseaux. Cette colinéarité entre deux variables ne permettait pas à l'équation du maximum de la vraisemblance de converger.

Par contre, la variable de l'âge reflète bien les types de production rassemblés en pratiques similaires. Les éleveurs de poulets de chair abattent généralement leurs oiseaux au plus tard vers 40 jours sauf les éleveurs de gros poulets à griller qui sont en minorité et qui abattent leurs oiseaux entre 9 et 11 semaines. Les reproducteurs et les poules pondeuses ont des cycles de production s'étalant sur un an et même plus (dans le cas des pondeuses) alors que les dindes de chair au plus 18 semaines (environ 124 jours). Ceci explique la relation étroite entre l'âge pondéré et les types de production (Tableau V, p. 90).

Comme l'âge est corrélé avec le score de la transmission locale par les animaux et le score des contacts directs à plus de 30%, l'introduction de ces variables dans la régression logistique a pour conséquence son expulsion pendant la sélection rétrograde.

L'âge utilisé dans cette étude représente l'âge de tous les poulaillers de la ferme affectée. L'âge des poulaillers infectés sur la ferme n'était pas disponible et dans plusieurs cas seule une fraction des poulaillers fut infectée par l'influenza aviaire. L'âge pondéré est donc plus représentatif du type de production que de l'âge des oiseaux infectés par l'influenza aviaire hautement pathogène.

L'âge des oiseaux de la ferme dans l'étude représente l'âge des oiseaux en date du 15 mars, moment où les mouvements d'oiseaux furent interdits sans permis. Pour les fermes positives à l'influenza aviaire hautement pathogène avant le 15 mars et les contrôles sélectionnés à partir des ces dernière, l'âge des oiseaux pendant leur période de susceptibilité fut donc surestimé mais cette surestimation se limite environ à un mois (entre le diagnostic du cas index le 18 février et le 15 mars). À l'opposé, pour les fermes diagnostiquées plus tard dans l'épidémie et les contrôles sélectionnés à partir de ces dernières, l'âge pondéré des oiseaux pendant leur période de susceptibilité au virus

est sous-estimé. Cette sous-estimation atteint un peu plus de 1 mois pour le dernier troupeau commercial diagnostiqué faisant partie de l'étude (le 25 avril).

Le risque plus élevé pour les oiseaux plus âgés de se retrouver infecté par l'influenza aviaire hautement pathogène pourrait s'expliquer par une fréquence de circulation de personnes et de véhicules plus élevée sur la ferme que dans les élevages de poulets de chair. Par exemple, les œufs des oiseaux en ponte (œufs d'incubation et de consommation) sont récoltés au moins deux fois par semaine. De plus, les poules et dindes productrices reçoivent un éventail plus large de vaccination que les poulets de chair, ce qui nécessite l'implication d'équipes de vaccinations.

Pour les fermes élevant des poulets et des dindes à griller, les cycles de production sont courts. Conséquemment, il est possible que pendant l'épidémie, l'envoi fréquent d'oiseaux de chair à l'abattoir et le dépeuplement qui s'ensuit (diminution du nombre d'oiseaux susceptibles) aient diminué le risque de devenir infecté par l'influenza aviaire hautement pathogène.

Une association avec les poules pondeuses {Thomas, Bouma et al., 2005} a déjà été rapportée sans toutefois que l'âge des oiseaux soit inclus dans l'analyse. Une autre étude {McQuiston, Garber et al., 2005} releva comme facteur de risque un âge de plus de 10 semaines. Toutefois, ces études possédaient une puissance plus élevée. Les auteurs de l'article avancent l'hypothèse que l'association positive entre les poules pondeuses ou l'âge et le risque d'être infecté pourrait s'expliquer par un stress important dû à la ponte et qui s'accumulerait en fin de vie des oiseaux, et ainsi affaiblirait leur système immunitaire.

Malheureusement, peu de données expérimentales dans la littérature existent qui permettraient de déterminer si la volaille est plus sensible au virus en vieillissant indépendamment des conditions d'élevage. Une seule étude expérimentale mentionne que le virus chez les poules pondeuses plus vieilles auraient une virulence plus élevée que chez les jeunes {Bean, Kawaoka et al., 1985}. L'effet de l'âge des oiseaux sur la virulence du virus a été peu exploré et les tests sont toujours effectués chez les jeunes

oiseaux selon les normes internationales {OIE, 2005a}. La littérature regorge d'épisodes d'influenza aviaire ayant commencé chez des pondeuses et des oiseaux de reproduction et il serait intéressant qu'une étude expérimentale confirme si la volaille domestique est physiologiquement plus susceptible de développer la maladie.

De plus, comme les différences des moyennes d'âge pondéré (et conséquemment des types de production) sont moins marquées entre les cas et les témoins de moins de 1 km, les variables ayant une grande colinéarité avec l'âge pondéré deviennent moins significatives dans le modèle épidémique.

Dans le cas du score des contacts directs, le type de production aurait tendance à être un facteur confondant puisqu'il est reconnu que les contacts constituant le score des contacts directs puissent transmettre le virus de l'influenza aviaire. Dans le cas du score de la transmission locale par les animaux, même si la transmission par les insectes (mouches), rongeurs ou animaux sauvages est possible, cette voie n'a jamais été confirmée responsable d'une épidémie.

4.6. Colinéarité entre les variables

Des trois variables retenues par la sélection rétrograde de la régression logistique, deux sont fortement corrélées avec l'âge pondéré des oiseaux (score de la transmission locale par les animaux et score des contacts directs) et ce dans le modèle de la vallée du Fraser et le modèle épidémique (Tableau VI, p. 91 et Tableau VII, p. 92). Ces corrélations pourraient être la raison pour laquelle l'âge pondéré fut éliminé pendant la sélection rétrograde, puisqu'une partie de la variance attribuable à l'âge pourrait être expliquée par les scores de la transmission locale et des contacts directs, scores qui furent retenus par la sélection rétrograde dans l'un ou l'autre des modèles.

En plus du fait que l'âge pondéré des oiseaux est lui-même fortement corrélé avec les types de production, ces derniers sont corrélés avec les scores puisqu'ils

influencent la régie des fermes (Tableau V, p. 90). Par exemple, le score des contacts directs inclus dans son calcul l'introduction d'oiseaux dans le poulailler pendant le cycle de production, ce qui est une pratique de régie utilisée uniquement chez les oiseaux de reproduction. Toutefois, dans l'étude, un éleveur de poulets de chair a indiqué avoir introduit des poulets dans un poulailler durant un cycle de production. Quant à lui, le score de la transmission locale par les animaux quantifie la présence de vermine, qui est influencé grandement par la durée des cycles de production et les pratiques de régie. Il existe donc une relation étroite entre l'âge, les types de production et les scores.

Le score de la transmission locale par les animaux représente en grande majorité la présence de vermine sur la ferme et le score des oiseaux sauvages peut être considéré lui aussi comme un score reflétant la présence d'animaux indésirables. Il n'est donc pas étonnant que ces deux scores aient entre eux la plus grande corrélation entre deux variables (0,56 pour le modèle de la vallée du Fraser et 0,60 pour le modèle épidémique).

L'interaction particulière du score de la transmission locale par les animaux avec le score des oiseaux sauvages nous portent à croire qu'on aurait possiblement pu omettre de mesurer certains facteurs confondants ou que ceux-ci n'aient tout simplement pas été sélectionnés pendant la construction des scores. L'inclusion de tels facteurs dans l'analyse aurait contrôlé pour les facteurs confondants. On aurait ainsi pu émettre avec plus de certitude une hypothèse sur le lien de causalité entre les types de production, l'âge des oiseaux, le score de la transmission locale par les animaux, le score des contacts directs et la probabilité de devenir infecté par l'influenza aviaire hautement pathogène H7 dans la vallée du Fraser en 2004.

4.7. Signification des scores de biosécurité

4.7.1. Signification du score de la transmission locale par les animaux

La vermine, les chats et les chiens, les insectes ainsi que les animaux sauvages composant le score de la transmission locale par les animaux sauvages auraient pu transporter le virus soit comme vecteurs mécaniques ou biologiques. Les rongeurs en particulier pourraient être candidats comme vecteurs non seulement mécaniques mais aussi biologiques puisque les laboratoires les utilisent comme modèle mammalien de l'influenza aviaire {Swayne et Halvorson, 2003}. D'autre part, on a découvert dernièrement que les mouches pouvaient être un vecteur mécanique de l'influenza H5N1 au Japon {Sawabe, Hoshino et al., 2006}. D'autres insectes auraient pu aussi participer à la transmission du virus, comme les ténébrions. Ils ont été trouvés porteurs du coronavirus, de *Campylobacter* spp. et de *Salmonella enterica* {Bates, Hiatt et al., 2004, Skov, Spencer et al., 2004} {Bates, Hiatt et al., 2004}. Les questions concernant des insectes ne contenaient toutefois aucune information sur la quantité de ténébrions dans les élevages.

Les différences dans la circulation sur les fermes où résident des oiseaux plus âgés (Section 4.5, p. 109) et de types de production différents pourrait aussi influencer le score de la transmission locale par les animaux puisque les fermes de poudeuses et de reproducteurs reçoivent fréquemment la visite de camions venus récolter les œufs, de camions de livraison de moulée et d'équipes d'attrapeurs venus vacciner ou manipuler les oiseaux. La circulation de ces camions pourrait être un facteur de contamination virale de l'environnement, contamination qui pourrait être ensuite transportée mécaniquement par les rongeurs, les insectes, les mammifères sauvages et les carnivores domestiques (chien et chat) sur la ferme.

Les cycles de production de courte durée dans la catégorie des oiseaux de chair et le nettoyage qui s'ensuit pourraient aussi influencer négativement les populations de vermines, d'insectes et d'animaux sauvages sur la ferme.

4.7.2. Signification du score des oiseaux sauvages

L'effet protecteur du score des oiseaux sauvages est difficile à expliquer biologiquement. Cet effet protecteur ne se retrouve que pour une sous-population de témoins qui possède des valeurs extrêmes (élevées) du score des oiseaux sauvages et des valeurs parmi les plus élevées du score de la transmission locale par les animaux. Lorsque le score des oiseaux sauvages était plus bas, les fermes possédant un score de la transmission locale par les animaux élevé étaient alors plus à risque de devenir infectées par l'influenza aviaire. C'est pourquoi l'interaction entre le score de la transmission locale par les animaux et le score des oiseaux sauvages fut choisie pour remplacer le score des oiseaux sauvages dans les modèles finaux. Le fait de remplacer le score des oiseaux sauvages par son interaction avec le score de la transmission locale par les animaux augmenta l'ajustement du modèle et la proportion de variance expliquée par ces modèles. Aucune autre interaction ne fut testée parce que l'étude possède une puissance limitée, tout particulièrement dans le cas du modèle épidémique.

L'effet protecteur des oiseaux sauvages est un facteur de prévention pour l'introduction du virus dans une région et pour la transmission du virus. Comme les espèces d'oiseaux ne sont pas précisées, ce facteur doit être considéré comme un indicateur d'oiseaux nuisibles plutôt que comme indicateur de la présence dans l'environnement d'oiseaux réservoirs du virus. Rien n'indique en effet que ces oiseaux étaient des espèces connues pour être porteuses de l'infection. L'association protectrice de ce facteur de risque avec le virus n'infirme en rien l'introduction du virus dans la vallée par des oiseaux aquatiques ou de rivage.

4.7.3. Signification du score des contacts directs

Le score des contacts directs représente des activités telles que rajouter des oiseaux dans un poulailler pendant le cycle de production, la vente ou l'achat d'oiseaux à un marché de volailles vivantes {Capua & Marangon 2007 #18} et avoir vendu des œufs à des visiteurs dans la salle des œufs (Tableau I, p. 67). Toutes ces activités impliquent des contacts directs avec la volaille ou leurs produits, suggérant que certains de ces trois types de contacts, parmi tous les autres types de contacts, constituent un risque plus élevé pour une ferme de se retrouver infectée par l'influenza aviaire. En effet, une volaille vivante possède une charge virale bien plus élevée et la transporte dans des conditions bien plus favorables au virus qu'un vecteur mécanique ou du matériel contaminé. Ce score représente une transmission par contact par les oiseaux ou leurs produits sans l'intermédiaire de matériel contaminé, contrairement au score des contacts indirects qui n'a pas été retenue dans la sélection rétrograde de la régression logistique.

De plus, l'introduction d'oiseaux supplémentaires pendant un cycle de production est une pratique uniquement utilisée dans les fermes de reproducteurs (sauf pour un éleveur de poulets de chair qui déclara dans le questionnaire l'avoir pratiquée) et la vente des œufs est une pratique exclusive des élevages de pondeuses et de reproducteurs, ce qui explique la corrélation avec l'âge puisque ces pratiques n'ont pas lieu chez les oiseaux de chair et de remplacement, plus jeunes.

4.8. Modalités de transmission

Thomas, Bouma, et al. {2005} trouvèrent comme facteur de risque de l'influenza aviaire le fait d'avoir des pondeuses comme type de production. L'étude a analysé les productions de type pondeuse versus les productions élevant des oiseaux de

chair mais ne mentionne pas avoir analysé les reproducteurs de poulet de chair versus les autres types de production. Ces oiseaux ont un âge comparable aux poules pondeuses. On aurait pu ainsi déterminer si des oiseaux de production différentes mais d'âges similaires avaient le même risque de devenir infecté par l'influenza aviaire. L'étude mentionne que 85% des fermes de la zone sélectionnée étaient des oiseaux de type « pondeuses ». Similairement, dans la zone épidémique de la vallée du Fraser en 2004, 36% des productions étaient des poules pondeuses, 20% des reproducteurs ayant un âge similaire aux poules pondeuses et 10% des fermes ayant un type de production combinées (Tableau IV, p. 86) dont 87,5% élevaient des poules pondeuses (Tableau II, p. 74).

La même étude néerlandaise {Thomas, Bouma et al., 2005} utilisa une procédure de Mantel-Haenszel pour analyser ces facteurs de risque et cette façon de procéder ne tient pas compte des corrélations entre les variables. La stratification avec le type d'élevage de pondeuses (en cage ou au sol) et avec la taille de la ferme ne tient compte que de la corrélation des autres variables avec ces deux facteurs.

Thomas, Bouma et al. {2005} assume que les productions à risque de s'infecter à travers une transmission locale du virus sont uniquement les fermes élevant des oiseaux à l'extérieur ou les fermes élevant du bétail. L'étude cas-témoin sur l'épisode en Colombie-Britannique en 2004 ne fait pas cette distinction, préférant explorer toutes les productions pouvant avoir été à risque pour une transmission locale du virus. Il est possible que même des oiseaux élevés à l'intérieur aient été à risque de devenir infectés par transmission locale, puisque les poulaillers sont perméables à la vermine. De plus, un niveau de circulation élevé sur la ferme par les véhicules peut être causé non seulement par l'élevage d'oiseaux combiné avec des élevages de bétail ou de porcs mais aussi par certains types de production aviaire. Par exemple, la production d'œufs de consommation exige une circulation des véhicules sur la ferme bien plus élevée que les élevages de poulets de chair. Ce niveau de circulation sur la ferme pourrait être un indicateur du nombre de contacts par personne-volaille, voire même être aussi un indicateur de la contamination de l'environnement. Cette contamination pourrait

entraîner une transmission locale du virus si la biosécurité de l'élevage n'est pas suffisante {Rose, Beaudeau et al., }.

L'étude cas-témoins de McQuiston, Garber, et al. {2005}, mit en évidence un autre mode de transmission, les contacts. La disposition des oiseaux morts par une compagnie d'équarrissage ainsi que le nombre de visites récentes par un camion de moulée (analysé seulement pour une fraction des fermes) furent les types de contacts associés à l'infection par le virus H7N2 faiblement pathogène aux États-Unis en 2002. L'observation de rats laveurs, opossums ou renards autour des poulaillers était un des facteurs de risque trouvés et qui serait compatible avec une transmission locale de l'influenza aviaire faiblement pathogène H7N2. Le même type de transmission pourrait expliquer l'association positive du score de la transmission locale par les animaux avec la probabilité pour une ferme d'être infectée par l'influenza aviaire hautement pathogène en Colombie-Britannique.

L'âge des oiseaux fut dans cette même étude {McQuiston, Garber et al., 2005}, tout comme pour la nôtre, un facteur associé avec le statut de cas. Les auteurs supposent que les oiseaux pourraient avoir une susceptibilité accrue avec l'âge (effet de l'âge) ou bien que les opportunités d'infection par le virus augmentent avec l'âge (effet du type de production). L'effet de l'âge pourrait s'expliquer par une susceptibilité accrue à l'infection chez l'oiseau plus âgé alors que l'effet du type de production pourrait s'expliquer par des types de régie ou une fréquence de circulation des véhicules sur la ferme augmentant la probabilité d'infection des oiseaux plus âgés. On sait que chacun des types de production avicoles ont des pratiques de régies différentes et des âges spécifiques à chaque type de production. Par exemple, les poulets de chair atteignent rarement un âge plus avancé qu'une quarantaine de jours alors que des oiseaux âgés d'un an ne se retrouvent que chez les pondeuses et les reproducteurs. Les poulaillers de poulets de chair sont dépeuplés beaucoup plus fréquemment que les poulaillers de reproducteurs et de poules pondeuses. Comme il n'y avait aucune ferme de poules pondeuses incluse dans l'étude américaine {McQuiston, Garber et al., 2005}, tous les oiseaux plus âgés que les oiseaux de chair étaient des reproducteurs ou des

oiseaux de remplacement. L'espèce était considérée comme un facteur confondant mais pas les types de production. Il est donc impossible, à la lumière des résultats de l'étude américaine {McQuiston, Garber et al., 2005} et de la présente étude, de savoir lequel, de l'âge ou du type de production, représentait un facteur de risque.

Le fait d'avoir des employés ne faisant pas partie de la famille, ou des membres de la famille travaillant en dehors de la ferme, était considéré dans l'étude américaine {McQuiston, Garber et al., 2005} comme un facteur de risque associé aux contacts mais aussi à une circulation accrue de véhicules autour de la ferme. Cette circulation accrue sur la ferme aurait pu être un facteur contribuant à la transmission locale, en aidant à répandre le virus sur la ferme. Certains des attributs du score des contacts indirects de notre étude (« Des personnes travaillant sur la ferme travaillaient aussi sur d'autres fermes », « Des personnes vivant ou travaillant sur la ferme ont visité le poulailler d'une autre ferme durant la période de l'étude », « Le répondant possédait ou gérait d'autres fermes qui ont été déclarées infectées durant l'épidémie ») étaient plus spécifiques par rapport à l'étude américaine. En effet, ces attributs précisaient que les contacts en dehors de la ferme devaient avoir été avec une autre ferme ou avec le poulailler d'une autre ferme pour être considéré un facteur de risque potentiel. L'attribut « Le répondant possédait ou gérait d'autres fermes qui ont été déclarées infectées durant l'épidémie » représentait aussi les contacts entre deux fermes mais de façon plus indirecte puisque le fait d'être propriétaire ou gérant de la ferme ne suppose pas nécessairement une présence fréquente de la personne sur la ferme. Cet attribut aurait pu quantifier toutefois certains contacts comme le partage de machinerie, la visite de professionnels ou le partage des employés entre plusieurs fermes.

Le fait d'avoir des poulaillers à ventilation électrique (versus une ventilation naturelle) était presque statistiquement significatif ($p=0,06$) dans l'étude de McQuiston, Garber et al. {2005}. Ce facteur de risque pourrait participer à la transmission locale du virus. Il est possible que de grandes quantités de virus présentes dans l'air des poulaillers infectés soient expulsées par les systèmes de ventilation électrique et

puissent contaminer l'environnement autour de la ferme. Ce facteur de risque ne fut pas étudié dans la présente étude.

4.9. Comparaison des modèles de la vallée du Fraser et du modèle épidémique

Le modèle de la vallée du Fraser, en incluant les 3 types de contrôle et les cas, permet d'évaluer les facteurs de risque ayant mené à l'introduction de l'influenza aviaire dans une région ainsi que les facteurs de risque ayant mené à la transmission de l'influenza aviaire dans la région.

Les cas et les témoins épidémiques partagent à toute fin pratique le même espace. On considère que dans la zone épidémique, l'infection a déjà été introduite dans la zone. Les facteurs de risque provenant de l'analyse du modèle épidémique ne peuvent refléter que les facteurs ayant influencés la probabilité de transmission de l'influenza aviaire entre les fermes puisque l'infection y a déjà été introduite. La probabilité de transmettre le virus entre les fermes est représentée par les scores de l'environnement (risque) et des oiseaux sauvages (protection).

Conséquemment, la différence entre le modèle de la vallée du Fraser et le modèle épidémique est la probabilité de l'introduction du virus dans la région. La seule variable présente dans le modèle de la vallée du Fraser mais absente du modèle épidémique est le score des contacts directs. La probabilité d'introduire le virus de l'influenza aviaire hautement pathogène dans une région est donc représentée par le score des contacts directs.

Les fermes possédant un score des contacts directs élevé auraient donc eu plus de chance d'introduire le virus de l'influenza aviaire dans leur région au printemps 2004. Le score des contacts directs se prête bien biologiquement à cette interprétation

puisque les contacts directs ont été définis dans le cadre du score comme des contacts entre les oiseaux de la fermes et des oiseaux provenant de l'extérieur de la ferme (« Le répondant vendait ou achetait habituellement des oiseaux d'un marché de volailles vivantes » et « Le répondant a placé des oiseaux additionnels dans ses poulaillers durant leur cycle de production pendant la période ») ou bien comme la vente ou le don d'œufs à des personnes ayant pénétré dans la salle des œufs. Donc, pour les trois attributs constituant le score des contacts directs (Tableau I, p. 67), un transport soit des œufs soit des oiseaux était impliqué dans la définition de l'attribut. Il est alors probable qu'une partie de ces transports ait eu lieu hors du voisinage immédiat de la ferme. C'est pourquoi, dans notre étude, l'interprétation du score des contacts directs correspond à l'introduction du virus de l'influenza aviaire dans une région.

Quant au score de la transmission locale par les animaux, il aurait pu être plus difficilement associé à l'introduction du virus dans une région puisqu'il quantifie la présence d'animaux sur la ferme, dont la grande majorité est représentée par la vermine. Il est moins probable que des animaux autres que des oiseaux sauvages, à eux seuls et sans intervention humaine, transportent sur de longues distances la maladie, à l'exception des chats et des chiens qui ne constituent que 1/7 du score de la transmission locale par les animaux. En effet, le territoire du rat brun (le rat le plus fréquent en Amérique du Nord) ne couvre que 2 km² {Myers et Armitage, 2004}. D'autre part, le virus H5N1 hautement pathogène a été isolé de jabots de mouches au Japon, à plus de 2,3 km d'un ferme infectée {Sawabe, Hoshino et al., 2006}. Les distances parcourues par les animaux représentés par le score de la transmission étaient donc généralement plus courtes que les distances qu'auraient pu parcourir les oiseaux ou leurs œufs représentés par le score des contacts directs. Il apparaît donc que le score de la transmission locale par les animaux, associé à la transmission du virus sur de courtes distances et ne représentant pas de contacts connus, serait un bon indicateur de la transmission locale du virus.

Selon plusieurs auteurs la transmission locale nécessite, comme décrite pour l'épidémie de peste porcine classique aux Pays-Bas {Crauwels, Nielen et al., 2003,

Elbers, Stegeman et al., 1999} {Elbers, Stegeman et al., 1999}, 1) que les cas secondaires soient localisés à moins de 1000 m des cas primaires 2) que la date d'introduction du virus dans le troupeau soit incluse dans la période infectieuse du cas primaire 3) qu'il n'y ait pas d'indications d'autres modes de transmission. La distance de 1 km de la définition est valable dans le cas de la peste porcine classique, ayant été déterminée suite à plusieurs études {Crauwels, Nielen et al., 2003, Fritzscheier, Teuffert et al., 2000, Koenen, van Caenegem et al., 1996} {Fritzscheier, Teuffert et al., 2000, Fritzscheier, Teuffert et al., 2000, Koenen, van Caenegem et al., 1996}. Toutefois, le risque pour une distance de plus de 1 km n'a jamais été évalué. Cette distance définissant le voisinage fut établie à 3 km dans le cas de l'épidémie de fièvre aphteuse en Grande-Bretagne {Taylor, Honhold et al., 2004}. Il n'est pas fait mention dans l'article des critères ayant déterminé le choix d'une distance de 3 km. Elle est potentiellement déterminée par les modes de transmission reconnus du virus, le virus de la fièvre aphteuse étant un virus pouvant circuler sur de longues distances alors que la transmission aérienne du virus de la peste classique semble limitée. La distance définissant un « voisinage » est un facteur parfois subjectif qui varie selon les caractéristiques du virus. D'autre part, la définition de transmission locale de Taylor, Honhold et al. {2004} est moins restrictive, et ne nécessite pas que la date d'introduction du virus dans le troupeau soit incluse dans la période infectieuse du cas primaire.

Peu de données existent dans la littérature sur la distance de transmission par aérosol du virus de l'influenza. Les deux épisodes humains rapportés dans la littérature supportant une transmission principalement par aérosol se seraient produits dans des endroits exigus et sans grande ventilation {Moser, Bender et al., 1979, Riley, 1974}. La zone épidémique, étant elle-même constituée de cas et de témoins situés à moins de 1000 m de fermes infectées, pourrait correspondre à la définition d'une zone où se produirait une transmission locale. Une distance de 1000 m semble aussi plus convenable pour le virus de l'influenza aviaire qui ne se transmet pas sur de longues distances sous forme d'aérosol {Tellier, 2006}.

Cette étude n'évalue pas toutefois les dates d'introduction de l'influenza aviaire dans les troupeaux et parce qu'elle n'analyse pas les contacts de façon individuelle, ne différencie pas entre infection primaire et secondaire.

Les mécanismes sous-jacents à la transmission locale sont peu compris. Les modes de transmission suggérés incluent la transmission aérienne, le transport par les animaux domestiques, les rongeurs, les oiseaux ou les insectes. D'autres modes de transmission pourraient être les contacts n'ayant pas été déclarés entre les fermes ou des contacts n'étant pas présentement reconnus pour transmettre le virus.

Pour ce qui est de l'exclusion d'autres modes de transmission dans la zone épidémique, comme les études de cas témoins n'évaluent les facteurs de risque que dans leur ensemble, on peut dire que de façon globale d'autres modes de transmission ne semblent pas avoir été présents dans la zone épidémique, en notant toutefois que la puissance de l'étude était limitée pour le modèle épidémique. Comme le score de la transmission locale par les animaux est fortement corrélé au type de production, des contacts inhérents au type de production ne peuvent toutefois être exclus. Ceci n'est pas le cas pour le score des oiseaux sauvages, qui n'a pas de corrélation statistiquement significative avec les types de production.

Le modèle de la vallée du Fraser possède une puissance plus élevée (91%) que le modèle épidémique (30%) ($\alpha=0,10$; rapport de cote de 3). Il est donc possible que certains facteurs de risque soient restés inconnus dans la zone épidémique et que ceux-ci aient aussi pu jouer un rôle dans l'introduction de l'influenza aviaire dans une région.

4.10. Robustesse des modèles

La robustesse de la sélection des scores entre les modèles avec pondération déterminée par l'avis d'un expert et avec pondération des attributs égaux entre eux

démontre que les scores restant dans la sélection rétrograde sont associés assez étroitement ($p < 0,10$) avec le fait d'être un cas ou un témoin (Tableau XIII, p. 102, Tableau XIV, p. 103). Cela n'enlève en rien à l'utilité de pondérer de tels scores selon l'avis d'un expert, puisque les scores de la transmission locale par les animaux et l'interaction, dans le modèle avec pondération déterminée par un expert, sont associés plus significativement à un risque d'être un cas dans le modèle épidémique (Tableau XIV, p. 103). En effet, la valeur du p de ces deux variables est plus petite quand la pondération des scores a été déterminée par un expert. La pondération déterminée par notre expert a pu augmenter l'efficacité des scores pour détecter les facteurs de risque associés à la transmission du virus.

4.11. Forces et limites de l'étude

La plus grande limite de l'étude résidait dans le manque de puissance du modèle épidémique. Ce manque de puissance est inhérent à la taille de l'épidémie et au nombre de témoins sélectionnés dans le groupe des témoins centraux. Par contre, les cas ont tous été recensés, ce qui élimine l'erreur d'échantillonnage pour ce groupe.

La variable de la superficie d'élevage (en mètres carrés) n'était pas non plus disponible pour évaluer la taille des poulaillers. La quantité d'oiseaux (inventaire) et le nombre de poulaillers étaient disponibles pour la majorité des observations et furent utilisés pour approximer la superficie des poulaillers. Par contre, le nombre d'oiseaux par mètre carré change selon le type de production et parfois même avec les saisons selon la température extérieure. La quantité d'oiseaux sur une ferme n'est donc qu'une estimation de la taille de la ferme. Une variable de superficie aurait eu nécessairement plus de précision pour évaluer la taille de la ferme. Les quotas par ferme auraient pu aussi représenter cette variable mais ceux-ci n'étaient pas disponibles. De plus, l'inventaire des poulaillers dans l'étude a été évalué à une date précise (le 15 mars)

sans tenir compte que certains poulaillers étaient en période de repos. L'intention était d'évaluer l'inventaire d'une ferme ponctuellement mais le résultat fut que l'inventaire comporta des variations qu'une variable de superficie n'aurait pas eu. L'effet des poulaillers en période de repos était le plus marqué pour les types d'élevages ayant des cycles de production courts comme les poulets et dindes de chair. Une erreur de classification pour la taille de la ferme a donc pu se produire à deux reprises : 1) dans les fermes élevant des oiseaux de grande taille et dont les oiseaux occupent une grande superficie par oiseau (ex. des dindes) 2) quand l'inventaire des productions avicoles à cycles de production courts a été sous-évalué parce qu'une partie de leurs poulaillers étaient vides en date du 15 mars. Tous ces facteurs ont peut-être contribué à diminuer la détection de l'inventaire de la ferme comme variable significative dans la régression logistique.

Les témoins furent sélectionnés par rapport à leur distance d'une ferme infectée, c'est-à-dire une ferme positive au PCR matriciel ou une ferme d'où un virus de l'influenza H7 avait été isolé dans des œufs SPF. Il est donc possible que certains témoins furent sélectionnés avec comme critère leur distance à partir de fermes positives uniquement au PCR matriciel et négatives à l'isolement. Ces fermes ne furent pas sélectionnées comme cas dans notre étude mais avaient eu une bonne probabilité d'avoir été en contact avec l'influenza aviaire H7 qui sévissait dans la vallée du Fraser. On peut supposer que ces fermes pratiquaient les mêmes types de pratique que les fermes d'où le virus H7 avait été isolé et qui étaient incluses dans l'étude. L'effet de l'inclusion de ces témoins dans l'étude fut l'agrandissement de la superficie de la zone épidémique. Cette mesure eut comme effet d'éviter qu'un témoin sélectionné dans la zone non-épidémique soit en fait localisé potentiellement dans une zone épidémique, c'est-à-dire proche d'une ferme positive au PCR matriciel mais négative à l'isolement du virus.

L'étude n'inclut pas l'âge des animaux affectés en premier par l'influenza aviaire. Comme la maladie n'affectait souvent qu'une partie des poulaillers de la ferme, une imprécision dans la mesure de l'âge des oiseaux affectés a été introduite. L'âge

pondéré dans cette étude représente plus le type d'élevage que l'âge des oiseaux affectés par la maladie.

Aucune question concernant le programme de biosécurité des fermes ne portait sur le type de mesures utilisé pour contrôler la vermine. Ce type d'information aurait pu aider à valider les résultats du score de la transmission locale par les animaux. De même, les questions concernant les insectes portaient sur les insectes en général ou les mouches mais aucune ne concernaient la présence d'infestation de ténébrions dans l'élevage. Les ténébrions seraient impliqués dans la transmission de plus de 30 espèces de virus aviaires, incluant le virus de l'influenza aviaire {Calibeo, 2002}. Les ténébrions peuvent voler sur plusieurs mètres, ce qui est toutefois moindre que les quelques kilomètres que les mouches peuvent parcourir. De plus, une infestation sévère de ténébrions est un indicateur d'une mauvaise hygiène du poulailler.

La méthode d'entreposage des oiseaux morts n'était pas non plus une question incluse dans le questionnaire. La façon de disposer des oiseaux morts peut être un facteur de contamination de l'environnement s'ils ne sont pas entreposés dans des contenants étanches et réfrigérés autant que possible. Des pathogènes peuvent proliférer dans les carcasses qui peuvent attirer des animaux charognards, augmentant la quantité de vermines.

Les facteurs de risque mis en évidence dans l'étude ne sont valables que pour les fermes commerciales de poulets et de dindes. Toutes les fermes élevant des pigeons, faisans, tinamous, canards, oies, gibier à plumes, œufs et oiseaux organiques élevés à l'air libre, même de façon commerciale, ne furent pas incluses dans l'étude. Cette industrie vaut plus de 78,6 millions de dollars canadiens {Capua et Marangon, 2007}.

Les basses-cours aussi ne furent pas incluses dans l'étude puisque leurs contacts n'étaient pas commerciaux. Ces derniers n'ont pas la possibilité d'être retracés aussi facilement que ceux des fermes commerciales mais auraient pu constituer néanmoins des facteurs de risque pour l'introduction du virus dans la vallée. Ce type de fermes n'a vraisemblablement pas été aussi affecté par l'épidémie {Lees, 2004} ce qui ne signifie

toutefois pas que leur rôle soit négligeable au niveau de l'introduction ou de la transmission du virus. La vallée du Fraser comporte une grande diversité de productions aviaires {Capua et Marangon, 2007} et il est possible qu'une sélection des fermes trop restrictive ait contribué au manque de prédictivité du modèle et à un coefficient de Nagelkerke bas.

Les résultats de cette étude doivent être interprétés avec précaution. Une étude rétrospective comme celle-ci se base en grande partie sur les souvenirs et la perception des éleveurs. Ces souvenirs et perceptions pourraient être très différents entre les éleveurs dont un élevage a été déclaré infecté par le virus H7, ceux dont les élevages ont été dépeuplés mais n'étaient pas déclarés infectés et ceux qui n'ont pas eu d'élevages déclarés infectés ou dépeuplés. Par conséquent, un biais de mémoire peut s'être produit pour les cas et les témoins des groupes centraux et médians, ces derniers ayant été très affectés par l'épidémie puisqu'ils se situaient dans les zones où le dépeuplement de toutes les fermes a été appliqué.

Il est toutefois possible que des contacts personnels et commerciaux n'aient pas été rapportés, soit intentionnellement ou par accident. De plus, il est possible que lorsqu'interrogés, les éleveurs aient eu tendance à donner des réponses socialement acceptables. Une erreur de mesure aurait donc pu être introduite, entraînant le manque de détection ou la sous-estimation de certains facteurs de risque. De plus, certaines questions peuvent avoir été interprétées subjectivement. Par exemple, pour les questions mesurant la présence d'animaux sauvages, il est possible que la question ait été interprétée comme une demande de confirmation visuelle par certains alors que pour d'autres des indicateurs de la présence de la faune sauvage (traces, fèces) ont été suffisants. L'utilisation de données rapportées par les éleveurs sans validation sur le terrain pourrait introduire une erreur de mesure en plus des biais mentionnés précédemment {Nespeca, Vaillancourt et al., 1997}. Cette dernière étude rapporte des sensibilités de 16,7 à 100% et des spécificités de 0 à 100% pour les réponses dichotomiques et des différences significatives ($p < 0,1$) entre les données de l'enquête et les données de validation pour les questions à variables continues. Trente-quatre des

soixante-six questions dichotomiques posées aux éleveurs étaient faiblement en accord avec les données de validation et vingt-cinq de ces questions avait un accord de passable à bon. Un grand nombre des ces questions étaient semblables à celles de l'étude de cas-témoins sur l'influenza aviaire hautement pathogène en Colombie-Britannique. Il aurait été idéal pour les inspecteurs de l'Agence Canadienne d'Inspection des Aliments de pouvoir valider les données du questionnaire avec la situation sur la ferme, mais certains éleveurs étaient réticents à leur donner accès à la ferme pour des raisons de biosécurité. Cette validation aurait augmenté le coût de l'étude et le nombre d'heures allouées à l'administration du questionnaire.

La récolte des données de cette étude s'est effectuée en situation d'urgence. L'adaptation rapide d'un questionnaire déjà existant et la rotation fréquente du personnel effectuant les entrevues des témoins ont causé une variation dans la façon dont les questions étaient posées. Par conséquent, ces deux facteurs ont introduit une erreur de mesure dans les données obtenues.

L'agrégation des attributs, eux-mêmes parfois constitués d'agrégats de variables, pourrait causer une perte d'information. Cette agrégation aurait pu avoir comme effet de diminuer la puissance de l'étude. Par contre, comme les études cas-témoins facilitent la mise en évidence d'un ou de plusieurs facteurs de risque affectant de façon constante l'exposition, et que les facteurs de risque de l'influenza aviaire pendant l'épidémie auraient pu être multiples et variables dans le temps, l'agrégation des attributs et des variables pourrait permettre de faire ressortir plusieurs facteurs de risque ayant agi de concert durant l'épidémie.

Quant au score du programme de biosécurité, il représente la pertinence du programme élaboré par le producteur et non pas les pratiques en elles-mêmes. Le fait que ces pratiques soient appliquées ou non n'est pas quantifié par le score.

Conclusion

Six scores de biosécurité furent élaborés pour mesurer le risque d'une ferme de devenir infecté par l'influenza aviaire hautement pathogène en Colombie-Britannique en 2004. Parmi ces scores représentant chacun un type de transmission potentiel, seuls les scores de la transmission locale par les animaux et le score des oiseaux sauvages furent retenus dans le modèle de la vallée du Fraser et le modèle épidémique. Le score des contacts directs fut retenu uniquement pour le modèle de la vallée du Fraser. Les scores des contacts indirects, de la régie de la ferme et du programme de biosécurité de la ferme ainsi que l'âge pondéré et l'inventaire total ne furent pas retenus par la sélection rétrograde dans aucun des deux modèles.

Le score des contacts directs était un facteur de risque et représentait des contacts avec les animaux ou leurs produits (œufs). Comme il n'était présent que dans le modèle de la vallée du Fraser, il mesurait la probabilité de l'introduction du virus dans la zone épidémique. Les contacts mesurés par ce score auraient le potentiel de se produire sur de grandes distances comparativement au score de la transmission locale, ce qui confirmerait leur rôle dans l'introduction du virus.

Le score de la transmission locale par les animaux était aussi un facteur de risque. Il mesurait la vermine observée sur la ferme (rats, insectes), la présence de chats, de chiens et d'animaux sauvages circulant sur la ferme. Ce score indique qu'une transmission locale du virus aurait été responsable de la transmission entre les fermes. Tous les attributs constituant ce score étaient compatibles avec une transmission sur une courte distance.

Le score des oiseaux sauvage était un facteur de protection contre l'influenza aviaire. Il est fort probable que ce score soit un facteur confondant pour une variable n'ayant pas été mesurée par notre étude. Toutefois, ceci n'exclut pas que les oiseaux sauvages aient été un réservoir de l'influenza ayant permis une introduction ponctuelle du virus dans la population de volailles domestiques.

L'âge pondéré n'a pas été retenu comme variable finale dans la régression logistique ce qui ne signifie pas pour autant qu'il n'ait pas été un facteur de risque. L'âge était fortement lié aux types de production et ceux-ci étaient fortement liés aux scores de la transmission locale par les animaux et des contacts directs. Il est donc impossible de différencier entre une prédisposition physiologique des oiseaux et des facteurs de régie associés à l'âge. Des études expérimentales seront nécessaires pour répondre à cette question.

Les résultats des régressions logistiques ne diffèrent pas selon qu'une pondération élaborée par un expert soit utilisée ou qu'une pondération égale entre les attributs soit utilisée. Les scores retenus par les régressions logistiques étaient par contre plus significatifs avec l'utilisation de la pondération élaborée de concert avec un expert.

Bibliographie

Akey B. L. Low-pathogenicity H7N2 avian influenza outbreak in Virginia during 2002. *Avian diseases* 47 [Special issue], 1099-1103. 2003.

Alexander, D. J. Avian influenza: Historical aspects. *Proceedings of the Second International Symposium on Avian Influenza*. 4-13. 1986.

Alexander, D. J. Should we change the definition of avian influenza for eradication purposes? *Avian Diseases* 47 [Special Issue], 976-981. 2003.

Alexander, D. J., Parsons, G., and Manvell, R. J. Experimental assessment of the pathogenicity of eight avian influenza A viruses of H5 subtype for chickens, turkeys, ducks and quail. *Avian Pathology* 15 [4], 647-662. 1986.

Andrewes, C. H., Laidlaw, P. P., and Smith, W. The susceptibility of mice to the viruses of human and swine influenza. *The lancet* 224 [5799], 859-862. 1934.

Banks, J., Speidel, E. C., McCauley, J. W., and Alexander, D. J. Phylogenetic analysis of H7 haemagglutinin subtype influenza A viruses. *Archives of Virology* 145 [5], 1047-1058. 2000.

Bates, C., Hiatt, K. L., and Stern, N. J. Relationship of *Campylobacter* isolated from poultry and from darkling beetles in New Zealand. *Avian Diseases* 48 [1], 138-147. 2004.

Baumeister, E., Leotta, G., Pontoriero, A., Campos, A., Montalti, D., Vigo, G., Pecoraro, M., and Savy, V. Serological evidences of influenza A virus infection in Antarctica migratory birds. *International Congress Series* 1263, 737-740. 2004.

Bean, W. J., Kawaoka, Y., and Webster, R. G. Genetic characterization of H5N2 influenza viruses isolated from poultry in 1986. *Proceedings of the Second International Symposium on Avian Influenza*. 207-214. 1986.

Bean, W. J., Kawaoka, Y., Wood, J. M., Pearson, J. E., and Webster, R. G. Characterization of virulent and avirulent A/chicken/Pennsylvania/83 influenza A viruses: potential role of defective interfering RNAs in nature. *Journal of Virology* 53 [4], 151-160. 1985.

Beveridge, W. I. B. *Influenza: the last great plague. An unfinished story of discovery.* 1977. London. 124 p.

Brugh, M. and Johnson, D. C. Epidemiology of avian influenza in domestic poultry. *Proceedings of the Second International Symposium on Avian Influenza.* 177-186. 1986.

Bulaga L. L, Garber L., Senne D. A., Myers T. J., Good R., Wainwright S., Trock S., and Suarez D. L. Epidemiologic and surveillance studies on avian influenza in live-bird markets in New York and New Jersey, 2001. *Avian Diseases* 47 [special issue], 996-1001. 2003.

Calibeo, D. R. Role and Mitigation of Two Vectors of Turkey Coronavirus, *Musca domestica* L and *Alphitobius diaperinus* Panzer. 2002. Mémoire de maitrise, North Carolina State University.

Callan, R. J., Early, G., Kida, H., and Hinshaw, V. S. The appearance of H3 influenza viruses in seals. *Journal of General Virology* 76 [1], 199-203. 1995.

Campitelli, L., Mogavero, E., De Marco, M. A., Delogu, M., Puzelli, S., Frezza, F., Facchini, M., Chiapponi, C., Foni, E., Cordioli, P., Webby, R., Barigazzi, G., Webster, R. G., and Donatelli, I. Interspecies transmission of an H7N3 influenza virus from wild birds to intensively reared domestic poultry in Italy. *Virology* 323 [1], 24-36. 2004.

Capua, I. and Alexander, D. J. Avian influenza: recent developments. *Avian Pathology* 33 [4], 393-404. 2004.

Capua, I and Marangon, S. The use of vaccination to combat multiple introductions of Notifiable Avian Influenza viruses of the H5 and H7 subtypes between 2000 and 2006 in Italy. *Vaccine* , 4987-4995. 2007.

Capua, I., Marangon, S., dalla Pozza, M., Terregino, C., and Cattoli, G. Avian influenza in Italy 1997-2001. *Avian Diseases* 47 [Special issue], 839-843. 2003.

Crauwels, A. P. P., Nielen, M., Elbers, A. R. W. , Stegeman, J. A., and Tielens, M. J. M. Neighbourhood infections of classical swine fever during the 1997-1998 epidemic in The Netherlands. *Preventive Veterinary Medicine* 61 [4], 263-277. 2003.

Cross, G. M. The status of avian influenza in poultry in Australia. *Proceedings of the Second International Symposium on Avian Influenza*. 96-103. 1986.

Davison, S., Eckroade, R. J., and Ziegler, A. F. A review of the 1996-98 nonpathogenic H7N2 avian influenza outbreak in Pennsylvania. *Avian Diseases* 47 [Special issue], 823-827. 2003.

Davison, S., Galligan, D., Eckert, TE, Ziegler, AF, and Eckroade, RJ. Economic analysis of an outbreak of avian influenza, 1997-1998. *Journal of the American Veterinary Medical Association* 214 [8], 1164-1167. 1999.

Deibel, R., Emord, D. E., Dukelow, W., Hinshaw, V. S., and Wood, J. M. Influenza viruses and paramyxoviruses in ducks in the Atlantic flyway, 1977-1983, including an H5N2 isolate related to the virulent chicken virus. *Avian Diseases* 29 [4], 970-985. 1985.

Dohoo, I., Martin, W., and Stryhn, E. *Veterinary epidemiologic research*. 2003. Charlottetown, AVC inc. 706 p.

Easterday, B. C., Hinshaw, V. S., and Halvorson, D. A. Influenza. Calnek, B. W., Barnes, H. J., Beard, C. W., Mc Dougald, L. R., and Saif, Y. M. *Diseases of poultry*. 583-605. 1997. Ames, Iowa State University Press.

Elbers, A. R. W., Stegeman, A., Moser, H., Ekker, H. M., Smak, J. A., and Pluimers, F. H. The classical swine fever epidemic 1997-1998 in the Netherlands: descriptive epidemiology. *Preventive Veterinary Medicine* 39 [4], 157-184. 1999.

Ellis, T. M., Bousfield, R. B., Bissett, L. A., Dyrting, K. C., Luk, G. S., Tsim, S. T.,

Sturm-Ramirez, K., Webster, R. G., Guan, Y., and Malik Peiris, J. S. Investigation of outbreaks of highly pathogenic H5N1 avian influenza in waterfowl and wild birds in Hong Kong in late 2002. *Avian Pathology* 33 [5], 492-505. 2004.

Fichtner, G. J. The Pennsylvania/Virginia experience in eradication of avian influenza (H5N2). *Proceedings of the Second International Symposium on Avian Influenza*. 33-38. 1986.

Fouchier, R. A. M., Munster, V., Wallensten, A., Bestebroer, T. M., Herfst, S., Smith, D., Rimmelzwaan, G. F., Olsen, B., and Osterhaus, A. D. M. E. Characterization of a novel influenza A virus hemagglutinin subtype (H16) obtained from black-headed gulls. *Journal of Virology* 79 [5], 2814-2822. 2005.

Francis, T. Jr. Transmission of influenza by a filterable virus. *Science* 80 [2081], 457-459. 1934.

Fritzemeier, J., Teuffert, J., Greiser-Wilke, I., Staubach, C. H., Schluter, H., and Moennig, V. Epidemiology of classical swine fever in Germany in the 1990s. *Veterinary Microbiology* 77 [1/2], 29-41. 2000.

Garcia, M., Crawford, J. M., Latimer, J. W., Rivera-Cruz, E., Perdue, M., and L. Heterogeneity in the haemagglutinin gene and emergence of the highly pathogenic phenotype among recent H5N2 avian influenza viruses from Mexico. - *Journal of General Virology* 77 [7], 1493-1504. 1996.

Garske, T, Clarke, P, and Ghani, AC. The Transmissibility of Highly Pathogenic Avian Influenza in Commercial Poultry in Industrialised Countries. *PLoS ONE* 2 [4], e349. 2007.

Gilbert, M., Chaitaweesub, P., Parakamawongsa, T., Premashthira, S., Tiensin, T., Kalpravidh, W., Wagner, H., and Slingenbergh, J. Free-grazing ducks and highly pathogenic avian influenza, Thailand. *Emerging Infectious Diseases* 12 [2], 227-234 . 2006.

Halvorson, D., Karunakaran, D., Senne, D., Kelleher, C., Bailey, C., Abraham, A.,

Hinshaw, V., and Newman, J. Epizootiology of avian influenza--simultaneous monitoring of sentinel ducks and turkeys in Minnesota. *Avian Diseases* 27 [1], 77-85. 1983.

Halvorson, D. A., Kelleher, C. J., and Senne, D. A. Epizootiology of avian influenza: effect of season on incidence in sentinel ducks and domestic turkeys in Minnesota. *Applied and Environmental Microbiology* 49 [4], 914-919. 1985.

Hatchette, T. F., Walker, D., Johnson, C., Baker, A., Pryor, S. P., and Webster, R. G. Influenza A viruses in feral Canadian ducks: extensive reassortment in nature. *Journal of General Virology* 85 [8], 2327-2337. 2004.

Henzler, D. J., Kradel, D. C., Davison, S., Ziegler, A. F., Singletary, D., DeBok, P., Castro, A. E., Lu, H., Eckroade, R., Swayne, D., Lagoda, W., Schmucker, B., and Nesselrodt, A. Epidemiology, production losses, and control measures associated with an outbreak of avian influenza subtype H7N2 in Pennsylvania (1996-98). *Avian Diseases* 47 [Special Issue], 1022-1036. 2003.

Hinshaw, V. S., Bean, W. J., Geraci, J., Fiorelli, P., Early, G., and Webster, R. G. Characterization of two influenza A viruses from a pilot whale. *Journal of Virology* 58 [2], 655-656. 1986.

Hinshaw, V. S., Bean, W. J., Webster, R. G., Rehg, J. E., Fiorelli, P., Early, G., Geraci, J. R., and St-Aubin, D. J. Are seals frequently infected with avian influenza viruses? *Journal of Virology* 51 [3], 863-865. 1984.

Hinshaw, V. S., Webster, R. G., Easterday, B. C., and Bean, W. J. Jr. Replication of avian influenza A viruses in mammals. *Infection and Immunity* 34 [2], 354-361. 1981.

Hinshaw, V. S., Webster, R. G., and Turner, B. Water-borne transmission of influenza A viruses? *Intervirology* 11 [1], 66-68. 1979.

Hinshaw, V. S., Webster, R. G., and Turner, B. The perpetuation of orthomyxoviruses and paramyxoviruses in Canadian waterfowl. *Canadian Journal of Microbiology* 26 [5], 622-629. 1980.

Hinshaw, V. S., Wood, J. M., Webster, R. G., Deibel, R., and Turner, B. Circulation of influenza viruses and paramyxoviruses in waterfowl originating from two different areas of North America. *Bulletin of the World Health Organization* 63 [4], 711-719 . 1985.

Hollenbeck, J. E. An avian connection as a catalyst fo the 1918-1919 influenza pandemic. *International journal of medical sciences* 2 [2], 87-90. 2005.

Ito, T., Okazaki, K., Kawaoka, Y., Takada, A., Webster, R. G., and Kida, H. Perpetuation of influenza A virus in Alaskan waterfowl reservoirs. *Archives of virology* 140 [7], 1163-1172. 1995.

Karunakaran, D., Hinshaw, V., Poss, P., Newman, J., and Halvorson, D. Influenza A outbreaks in Minnesota turkeys due to subtype H10N7 and possible transmission by waterfowl. *Avian Diseases* 27 [2], 357-366. 1983.

Kawaoka, Y. Equine H7N7 influenza A viruses are highly pathogenic in mice without adaptation: potential use as an animal model. *Journal of Virology* 65 [7], 3891-3894. 1991.

Kawaoka, Y., Krauss, S., and Webster, R. G. Avian-to-human transmission of the PB1 gene of influenza A viruses in the 1957 and 1968 pandemics. *Journal of Virology* 63 [11], 4603-4608. 1989.

Kawaoka, Y. and Webster, R. G. Evolution of the a/chicken/Pennsylvania/83 (H5N2) influenza virus. *Virology* 146 [1], 130-137. 1985.

Keawcharoen, J., Oraveerakul, K., Kuiken, T., Fouchier, R. A. M., Amonsin, A., Payungporn, S., Noppornpanth, S., Wattanodorn, S., Theamboonlers, A., Tantilertcharoen, R., Pattanarangsarn, R., Arya, N., Ratanakorn, P., Osterhaus, A. D. M. E., and Poovorawan, Y. Avian influenza H5N1 in tigers and leopards. *Emerging Infectious Diseases* 10 [12], 2189-2191. 2004.

Kilbourne, E. D. Influenza pandemics of the 20th century. *Emerging Infectious Diseases* 12 [1], 9-14. 2006.

Koenen, F., van Caenegem, G., Vermeersch, J. P., Vandenheede, J., and Deluyker, H. Epidemiological characteristics of an outbreak of classical swine fever in an area of high pig density. *Veterinary Record* 139 [15], 367-371. 1996.

Kuiken, T., Rimmelzwaan, G., van Riel, D., van Amerongen, G., Baars, M., Fouchier, R., and Osterhaus, A. Avian H5N1 influenza in cats. *Science* 306, 5694. 2004.

Lamb, F. H. and Brannin, E. B. The epidemic respiratory infection at camp Dody, N. M. *Journal of the American Medical Association* 72 [15], 1056-1062. 1919.

Lang, G. A review of influenza in canadian domestic and wild birds. *Proceedings of the First International Symposium on Avian Influenza*. 21-27. 1981.

Lang, G., Narayan, O., Rouse, B. T., Ferguson, A. E., and Connell, M. C. A new influenza A virus infection in turkeys II. A highly pathogenic variant, a/turkey/ontario 772/66. *Canadian Veterinary Journal* 9 [7], 151-60. 1968.

Lasley, F. A. Economics of avian influenza: control vs noncontrol. *Proceedings of the Second International Symposium on Avian Influenza*. 390-399. 1986.

Lees, W. Rapport global sur la flambée d'influenza aviaire hautement pathogène (H7N3) survenue en 2004 dans la vallée du Fraser en Colombie-Britannique (Canada). 2004.

Lowen, A. C., Mubareka, S., Tumpey, T. M., Garcia-Sastre, A., and Palese, P. The guinea pig as a transmission model for human influenza viruses. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 103 [26], 9988-9992. 2006.

Lvov, D. K., Zdanov, V. M., Sazonov, A. A., Braude, N. A., Vladimirtceva, E. A., Agafonova, L. V., Skljanskaja, E. I., Kaverin, N. V. Reznik V. I., and Pysina, T. V. Comparison of influenza viruses isolated from man and from whales. *Bulletin of the World Health Organization* 56 [6], 923-930. 1978.

Mannelli, A., Ferre, N., and Marangon, S. Analysis of the 1999-2000 highly pathogenic avian influenza (H7N1) epidemic in the main poultry-production area in northern Italy.

Preventive Veterinary Medicine 73 [4], 273-285. 2006.

McQuiston, J. H., Garber, L. P., Porter-Spalding, B. A., Hahn, J. W., Pierson, F. W., Wainwright, S. H., Senne, D. A., Brignole, T. J., Akey, B. L., and Holt, T. J. Evaluation of risk factors for the spread of low pathogenicity H7N2 avian influenza virus among commercial poultry farms. *Journal of the American Veterinary Medical Association* 226 [5], 767-772. 2005.

Moser, M. R., Bender, T. T., Margolis, H. S., Noble, G. R., Kendal, A. P., and Ritter, D. G. An outbreak of influenza aboard a commercial airliner. *American journal of epidemiology* 110 [1], 1-6. 1979.

Murphy, B. R., Hinshaw, V. S., Sly, D. L., London, W. T., Hosier, N. T., Wood, F. T., Webster, R. G., and Chanock, R. M. Virulence of avian influenza A viruses for squirrel monkeys. *Infection and Immunity* 37 [3], 1119-1126. 1982.

Myers, P. and Armitage, D. *Rattus norvegicus*. 2004. February 18, 2008.

Naeem, K. The Avian Influenza H7N3 Outbreak in South Central Asia. *Proceedings of the Fourth International Symposium on Avian Influenza*. 31-35. 1997.

Nespeca, R., Vaillancourt, J., and Morrow, W. E. M. Validation of a poultry biosecurity survey. *Preventive Veterinary Medicine* 31 [1/2], 73-86. 1997.

OIE. Avian influenza. *Manual of Diagnostic Tests and Vaccines for Terrestrial Animals*. 2.1.14. 2005a.

OIE. Influenza aviaire. *Code sanitaire pour les animaux terrestres*. 2.7.12. 2005b.

OIE. Highly pathogenic avian influenza. 2006/05/24.

Paniker, C. K. and Nair, C. M. Infection with A2 Hong Kong influenza virus in domestic cats. *Bulletin of the World Health Organization* 43 [6], 859-862. 1970.

Paniker, C. K. J. and Nair, C. M. G. Experimental infection of animals with influenzavirus types A and B. *Bulletin of the World Health Organization* 47 [4], 461-

463. 1972.

Pasick, J., Handel, K., Robinson, J., Copps, J., Ridd, D., Hills, K., Kehler, H., Cottam-Birt, C., Neufeld, J., Berhanel, Y., and Czub, S. Intersegmental recombination between the haemagglutinin and matrix genes was responsible for the emergence of a highly pathogenic H7N3 avian influenza virus in British Columbia. *Journal of General Virology* 86 [3], 727-731. 2005.

Pasick, J. and Hooper-McGrevy, K. L'épidémie d'influenza aviaire : le point de vue du Centre national des maladies animales exotiques. *Bulletin du réseau canadien de santé animale* [9], 11-12. 2004.

Pasick, J., Weingartl, H., Clavijo, A., Riva, J., Kehler, H., Handel, K., Watkins, E., and Hills, K. Characterization of avian influenza virus isolates submitted to the National Centre for Foreign Animal Disease between 1997 and 2001. *Avian Diseases* 47 [Special Issue], 1208-1213. 2003.

Perdue, M., Crawford, J., Garcia, M., Latimer, J., and Swayne, D. Occurrence and possible mechanisms of cleavage-site insertions in the avian influenza hemagglutinin gene. *Proceedings of the Fourth International Symposium on Avian Influenza*. 182-193. 1997.

Riley, R. L. Airborne infection. *The American Journal of Medicine* 57 [3], 466-475. 1974.

Rimmelzwaan, G. F., van Riel, D., Baars, M., Bestebroer, T. M., van Amerongen, G., Fouchier, R. A. M., Osterhaus, A. D. M. E., and Kuiken, T. Influenza A virus (H5N1) infection in cats causes systemic disease with potential novel routes of virus spread within and between hosts. *American Journal of Pathology* 168 [1], 176-183. 2006.

Rohm, C., Horimoto, T., Kawaoka, Y., Suss, J., and Webster, R. G. Do hemagglutinin genes of highly pathogenic avian influenza viruses constitute unique phylogenetic lineages. *Virology* 209 [2], 664-670. 1995.

Rose, N., Beaudreau, F., Drouin, P., Toux, J. Y., Rose, V., and Colin, P. Risk factors for

Salmonella enterica subsp. enterica contamination in French broiler-chicken flocks at the end of the rearing period. 1999 [4], 265-277.

Rott, R. The pathogenic determinant of influenza virus. *Veterinary Microbiology* 33 [1-4], 303-310. 1992.

Sawabe, K., Hoshino, K., Isawa, H., Sasaki, T., Hayashi, T., Tsuda, Y., Kurahashi, H., Tanabayashi, K., Hotta, A., Saito, T., Yamada, A., and Kobayashi, M. Detection and isolation of highly pathogenic H5N1 avian influenza A viruses from blow flies collected in the vicinity of an infected poultry farm in Kyoto, Japan, 2004. *American Journal of Tropical Medicine & Hygiene* 75 [2], 327-332. 2006.

Schulman, J. L. and Kilbourne, E. D. Airborne transmission of influenza virus infection in mice. *Nature* 195 [4846], 1129-1130. 1962.

Selleck, P. W., Arzey, G., Kirkland, P. D., Reece, R. L., Gould, A. R., Daniels, P. W., and Westbury, H. A. An outbreak of highly pathogenic avian influenza in Australia in 1997 caused by an H7N4 virus. *Proceedings of the Fifth International Symposium on Avian Influenza*. 806-811. 2003.

Senne, D. A., Pearson, J. E., and Panigrahy, B. Live poultry Markets: A missing link in the epidemiology of avian influenza. *Proceedings of the Third International Symposium on Avian Influenza*. 50-58. 1992.

Senne, D. A., Suarez, D. L., Pedersen, J. C., and Panigrahy, B. Molecular and biological characteristics of H5 and H7 avian influenza viruses in live-bird markets of the Northeastern United States, 1994-2001. *Avian diseases* 47 [Special issue], 898-904. 2003.

Sharp, G. B., Kawaoka, Y., Wright, S. M., Turner, B., Hinshaw, V., and Webster, R. G. Wild ducks are the reservoir for only a limited number of influenza A subtypes. *Epidemiology and Infection* 110 [1], 161-176. 1993.

Shope, R. E. Swine influenza: III. Filtration experiments and etiology. *J. Exp. Med.* 54 [3], 373-385. 1931.

Sivanandan, V., Halvorson, D. A., Laudert, E., Senne, D. A., and Kumar, M. C. Isolation of H13N2 influenza A virus from turkeys and surface water. *Avian Diseases* 35 [4], 974-977. 1991.

Skov, M. N., Spencer, A. G., Hald, B., Petersen, L., Nauerby, B., Carstensen, B., and Madsen, M. The role of litter beetles as potential reservoir for *Salmonella enterica* and thermophilic *Campylobacter* spp. between broiler flocks. *Avian Diseases* 48 [1], 9-18. 2004.

Slemons, R. D., Johnson, D. C., Osborn, J. S., and Hayes, F. Type-A influenza viruses isolated from wild free-flying ducks in California. *Avian Diseases* 18 [1], 119-124. 1974.

Slemons, R. D., Shieldcastle, M. C., Heyman, L. D., Bednarik, K. E., and Senne, D. A. Type A influenza viruses in waterfowl in Ohio and implications for domestic turkeys. *Avian Diseases* 35 [1], 165-173. 1991.

Songserm, T., Amonsin, A., Jam-on, R., Sae-Heng, N., Meemak, N., Pariyothorn, N., Payungporn, S., Theamboonlers, A., and Poovorawan, Y. Avian influenza H5N1 in naturally infected domestic cat. *Emerging Infectious Diseases* 12 [4], 681-683. 2006.

Songserm, T., Amonsin, A., Jam-on, R., Sae-Heng, N., Pariyothorn, N., Payungporn, S., Theamboonlers, A., Chutinimitkul, S., Thanawongnuwech, R., and Poovorawan, Y. Fatal avian influenza A H5N1 in a dog. *Emerging Infectious Diseases* 12 [11], 1744-1747. 2006.

Spackman, E., McCracken, K. G., Winker, K., and Swayne, D. E. H7N3 avian influenza virus found in a South American wild duck is related to the Chilean 2002 poultry outbreak, contains genes from equine and north American wild bird lineages, and is adapted to domestic turkeys. *Journal of Virology* 80 [15], 7760-7764. 2006.

Stallknecht, D. E., Shane, S. M., Kearney, M. T., and Zwank, P. J. Persistence of avian influenza viruses in water. *Avian Diseases* 34 [2], 406-411. 1990.

Stegeman, A., Bouma, A., Elbers, A. R. W., de Jong, M. C. M., Nodelijk, G., de Klerk,

F., Koch, G., and van Boven, M. Avian influenza A virus (H7N7) epidemic in the Netherlands in 2003: Course of the epidemic and effectiveness of control measures. *Journal of Infectious Diseases* 190 [12], 2088-2095. 2004.

Stieneke-Gröber, A., Vey, M., Angliker, H., Shaw, E., Thomas, G., Roberts, C., Klenk, H.-D., and Garten, W. Influenza virus hemagglutinin with multibasic cleavage site is activated by furin, a subtilisin-like endoprotease. *EMBO journal* 11 [7], 2407-2414. 1992.

Sturm-Ramirez, Katharine M., Ellis, Trevor, Bousfield, Barry, Guan, Yi, Peiris, Malik, and Webster, Robert. H5N1 influenza A viruses from 2002 are highly pathogenic in waterfowl: Options for the Control of Influenza V. *Proceedings of the International Conference on Options for the Control of Influenza V. International Congress Series* 1263, 200-204. 2004.

Suarez, D. L., Garcia, M., Latimer, J., Senne, D., and Perdue, M. Phylogenetic analysis of H7 avian influenza viruses isolated from the live bird markets of the Northeast United States. *Journal of Virology* 73 [5], 3567-3573. 1999.

Suarez, D. L. and Senne, D. A. Sequence analysis of related low-pathogenic and highly pathogenic H5N2 avian influenza isolates from United States live bird markets and poultry farms from 1983 to 1989. *Avian Diseases* 44 [2], 356-364. 2000.

Suarez, D. L., Senne, D. A., Banks, J., Brown, I. H., Essen, S. C., Lee, C.-W., Manvell, R. J., Mathieu-Benson, C., Moreno, V., Pedersen, J. C., Panigrahy, B., Rojas, H., Spackman, E., and Alexander, D. J. Recombination resulting in virulence shift in avian influenza outbreak, Chile. *Emerging Infectious Diseases* 10 [4], 693-699 . 2004.

Suarez, D. L., Spackman, E., and Senne, D. A. Update on molecular epidemiology of H1, H5, and H7 influenza virus infections in poultry in North America. *Avian diseases* 47 [Special issue], 888-897. 2003.

Swayne, D. E. and Halvorson, D. A. Avian influenza. Saif, Y. M. *Poultry diseases*. 135-160. 2003. Ames, Iowa State Press.

Swayne, D. E. and Suarez, D. L. Highly pathogenic avian influenza. *Revue Scientifique et Technique de l'Office International des Epizooties* 19 [2], 463-482. 2000.

Taylor, N. M., Honhold, N., Paterson, A. D., and Mansley, L. M. Risk of foot-and-mouth disease associated with proximity in space and time to infected premises and the implications for control policy during the 2001 epidemic in Cumbria. *Veterinary Record* 154 [20], 617-626. 2004.

Tellier, R. Review of aerosol transmission of influenza A virus. *Emerging infectious diseases* 12 [11], 1657-1662. 2006.

Thomas, M. E., Bouma, A., Ekker, H., M, Fonken, A. J. M., Stegeman, J. A., and Nielen, M. Risk factors for the introduction of high pathogenicity Avian Influenza virus into poultry farms during the epidemic in the Netherlands in 2003. *Preventive Veterinary Medicine* 69 [1-2], 1-11. 2005.

Tiensin, T., Nielen, M., Vernooij, J. C. M., Songserm, T., Kalpravidh, W., Wongkasemjit, S., Ekgatat, M., Chanachai, K., Thanapongtham, W., Srisuvan, T., and Stegeman, J. A. Quantification of within-flock transmission of H5N1 avian influenza virus in chicken flocks in Thailand. *Proceedings of the 2007 conference of The Society for Veterinary Epidemiology and Preventive Medicine (SVEPM)* . 246-257. 2007.

Vaillancourt, J. P. and Stringham, M. Poultry disease risk management: Practical biosecurity resource. 2003. Available at: <http://www.poultryegg.org/Biosecurity/biosecurity.cfm>.

van der Goot, J. A., de Jong, M. C. M., Koch, G. , and van Boven, M. Comparison of the transmission characteristics of low and high pathogenicity avian influenza A virus (H5N2). *Epidemiology and Infection* 131 [2], 1003-1013. 2003.

Webster, R. G., Bean, W. J., Gorman, O. T., Chambers, T. M., and Kawaoka, Y. Evolution and ecology of influenza A viruses. *Microbiological Reviews* 56 [1], 152-179. 1992.

Webster, R. G. and Hulse, D. J. Microbial adaptation and change: avian influenza.

Revue scientifique et technique de l'Office international des épizooties 23 [2], 453-465. 2004.

Webster, R. G., Kawaoka, Y., and Bean, W. J. Jr. Molecular changes in A/chicken/Pennsylvania/83 (H5N2) influenza virus associated with acquisition of virulence. *Virology* 149 [2], 165-173. 1986.

Webster, R. G., Yakhno, M., Hinshaw, V. S., Bean, W. J., and Murti, K. G. Intestinal influenza: replication and characterization of influenza viruses in ducks. *Virology* 84 [2], 268-278. 1978.

Wentworth, D. E., McGregor, M. W., Macklin, M. D., Neumann, V., and Hinshaw, V. S. Transmission of swine influenza virus to humans after exposure to experimentally infected pigs. *The journal of infectious diseases* 175 [1], 7-15. 1997.

Westbury, H. A. History of highly pathogenic avian influenza in Australia. *Proceedings of the Fourth International Symposium on Avian Influenza*. 23-30. 1997.

WHO. A revision of the system of nomenclature for influenza viruses: a WHO memorandum. *Bulletin of the World Health Organization* 58 [4], 585-591. 1980.

Yingst, S. L., Saad, M. D., and Felt, S. A. Qinghai-like H5N1 from domestic cats, Northern Iraq. *Emerging Infectious Diseases* 12 [8], 1295-1297. 2006.

Yoon, K.-J., Cooper, V. L., Schwartz, K. J., Harmon, K. M., Kim, W.-I., Janke, B. H., Strohbahn, J., Butts, D., and Troutman, J. Influenza virus infection in racing greyhounds. *Emerging Infectious Diseases* 11 [12], 1974-1976. 2005.

Zhang, G., Shoham, D., Gilichinsky, D., Davydov, S., Castello, J. D., and Rogers, S. O. Evidence of influenza A virus RNA in siberian lake ice. *Journal of Virology* 80 [24], 12228-12235. 2006.

Annexe 1 Questionnaire de l'étude cas-témoins

Avian Influenza in British Columbia

Case Control Questionnaire

Part A

Time frame for the Questionnaire:

Case premises: questionnaire covers the one month period prior to diagnosis

Specify date of diagnosis: _____ <mm/dd/yy>

Control premises: questionnaire covers the period from Mar15 - Apr14, 2004

Interview {date} : _____ <mm/dd/yy>

Interviewer _____

Poultry Production Type(s) & Flock Size(s): _____

.....

Part B Questions:

Using graph paper, or the aerial photograph of the premises, ask the owner to prepare a diagram of the farm property including:

- driveways and buildings
- landscaping around buildings (grass, cement, gravel) and vegetative barriers
- air intake and fans on buildings
- feed bins, well heads
- creeks & ditches and ponds, location of drainage tiles.

Indicate location of residences on farm property. Indicate and name roads, and indicate north.

1. Do you own or manage all poultry on these premises? (Circle response)

1 = own

2 = manage

3 = neither

4 = own and manage

2a. Do you own or manage other poultry premises? Yes No

2b. If yes, what is total number of other premises _____

4. a. Barn information during the time period (Commercial Operation Only)

Bird Type

- 1=broiler
- 2=layer (table egg)
- 3=turkey
- 4=broiler breeder
- 5=layer breeder
- 6=turkey breeder
- 7=other
- 8=layer pullets
- 9=broiler breeder pullets

Ventilation

- 1=natural (curtain or fixed opening)
- 2= power (negative pressure)
- 3=other

Ventilation Intake Side

Specify the side of the barn where intakes are located

Inventory: Number of birds in each barn as of March 15, 2004

Age : Age of birds in weeks or months as of March 15, 2004 (specify weeks or months)

Barn ID	Bird Type	Ventilation	Intake side	Inventory as of March 15 # of birds	Age (as of March 15) (specify units)
barn1 :	1 2 3 4 5 6 7 8 9	1 2 3	N S E W		
barn2 :	1 2 3 4 5 6 7 8 9	1 2 3	N S E W		
barn3 :	1 2 3 4 5 6 7 8 9	1 2 3	N S E W		

barn4 :	1 2 3 4 5 6 7 8 9	1 2 3	N S E W		
barn5 :	1 2 3 4 5 6 7 8 9	1 2 3	N S E W		
barn6 :	1 2 3 4 5 6 7 8 9	1 2 3	N S E W		

4. b-c) Are vegetative buffers or fan hoods used to reduce dust?

b. Vegetative buffers Y N
 c. Fan hoods Y N

5. During the timeframe, where and on what dates were birds sent to slaughter?
 Identify any catching crews used to transport poultry.

Slaughter Plants

Catching Crews

5a. Superior Y N N/A _____ <mm/dd/yy> _____

5b. Lilydale Y N N/A _____ <mm/dd/yy> _____

5c. Sunrise Y N N/A _____ <mm/dd/yy> _____

5d. K&R Y N N/A _____ <mm/dd/yy> _____

- 6f. Farm gate sales to consumers _____ times
- 6g. Family or friends living off premise _____ times
- 6h. Other Commercial Grader _____ times
- name - _____

7. Is any of the farm machinery, equipment or tools shared (or borrowed) with other farms (including other farms you own or manage and contract/hired work)?

Yes No

Please provide details: (who, what, when, type of farm)

8. Before the time frame, were any precautions (cleaning, disinfection, etc.) taken for equipment coming onto the farm?

Yes No

9. Were any of the following domestic animals present on your farm site? Please specify if any were located in or had access to **poultry** barns.

1 = not on premises

2 = on premises but not in poultry barn

3 = in poultry barn

- 9a. other chickens (fancy, etc.) _____ code
- 9b. other non-commercial poultry _____ code
(turkeys, geese, ducks, swans)
- 9c. cattle _____ code
- 9d. horses or other equids _____ code
- 9e. sheep or goats _____ code
- 9f. pigs _____ code
- 9g. cats _____ code

- 9h. dogs _____ code
 9i. rabbits (farmed) _____ code
 9j. other pet birds _____ code
 9k. other _____ code

10. About how far from your barn is the nearest poultry barn of another farm? (**Note: specify units in meters or kilometers as appropriate**)

10a. distance to nearest commercial poultry barn _____ m Km
 (Circle unit)

10b. distance to nearest back yard flock or other captive birds
 _____ m Km
 (Circle unit)

11. During the time frame, did you have the following visitors? (See page 17)

1 = not on premises 2 = at the house but not on farm 3 = on the farm but not in barn
 4 = in barn or egg room

For Business Purposes:

Catching crew to do:

- 11a. vaccination _____ code
 11b. beak trim _____ code
 11c. move birds to different barn _____ code
 11d. slaughter catch _____ code
 11e. Barn cleaning crew _____ code
 11f. Feed representative _____ code
 11g. Feed delivery _____ code

11h. Hatchery representative	_____ code
11i. Chick placement	_____ code
11j. Veterinarian	_____ code
11k. Sales representative	_____ code
11l. Repairman (include computer)	_____ code
11m. Meter reader	_____ code
11n. Pest control crew	_____ code
11o. CFIA personnel	_____ code
11p. other	_____ code

For Non-business Purposes:

11q. Family/friends	_____ code
11r. Tours	_____ code
11s. Other producers	_____ code
11t. Media	_____ code
11u. Other	_____ code

12. During the time frame, were farm visitors required to do any of the following (circle):

1 = Always required

2 = Never required

3 = Sometimes required

Procedure	Catching crews	Other Business visitors	Non-business visitors
12a. park in a restricted area away from chicken housing	1 2 3	1 2 3	1 2 3
12b. clean or disinfect vehicles upon entering/leaving	1 2 3	1 2 3	1 2 3
12c. not to have been on another poultry farm that day	1 2 3	1 2 3	1 2 3
12d. sign in/sign/out	1 2 3	1 2 3	1 2 3
12e. arrange visit in advance	1 2 3	1 2 3	1 2 3
<i>if no visitors enter barns, skip to next questions</i>			
12f. shower before enter barns	1 2 3	1 2 3	1 2 3
12g. wear disposable/dedicated boots in barns	1 2 3	1 2 3	1 2 3
12h. use a footbath before entering barns	1 2 3	1 2 3	1 2 3

13. Prior to the time frame were farm employees (including family workers, manager and owner) required to do any of the following:

1 = yes

2 = no

3 = sometimes

13a. Restrict their access to certain barns (e.g. different personnel for each barn)	1	2	3
13b. Use foot baths before entering barn	1	2	3
13c. shower before entering barn	1	2	3
13d. change clothes/coveralls prior to entering barns	1	2	3
13e. wear clean boots in barns	1	2	3
13f. use different equipment for each barn	1	2	3
13g. not be around other poultry (e.g. farms, markets, slaughter plants including other premises belonging to this company)	1	2	3
13h. cannot own poultry or birds	1	2	3
13i. other (please explain below)	1	2	3

14. Did anyone living or working on this farm, visit another poultry farm during the time frame?

Yes

No

15. Was anyone living or working on this farm, inside someone else's poultry barn during the time frame?

Yes No

16. Prior to the time frame did members of the family move freely within poultry barns on this premises?

Yes No

17a. Prior to the time frame were barn doors locked?

Always Sometimes Never

17b. During the time frame were barn doors locked?

Always Sometimes Never

18a. Prior to the time frame, did you have signs on your barns to warn visitors not to enter?

Yes No

18b. During the time frame, did you have signs on your barns to warn visitors not to enter?

Yes No

19a. Prior to the time frame was there a gate restricting access to the farm?

Yes No

19b. During the time frame, was there a gate restricting access to the farm?

Yes No

20. Do you use all-in-all-out management for your barns -- that is, at the end of a flock cycle are all birds removed from the barn?

Yes No

20a. If yes, what is the usual 'down time' between flocks (in days)?

_____ days

20b. If yes, what type of clean out is done between flocks?

_____ code

1 = no clean out

2 = manure cleaned out of barn

3 = manure clean out with blow down

4 = manure clean out with blow down and disinfectant

5 = manure clean out and power wash

6 = manure clean out with power wash and disinfectant

7 = manure clean out with blow down, power wash and disinfectant

Name of disinfectant _____

21. Did you place chicks during the time frame?(circle) Yes | No

21a. If yes, what hatchery(s) did chicks come from and give date?

_____ code _____ <mm/dd/yy>

_____ code _____ <mm/dd/yy>

_____ code _____ <mm/dd/yy>

Western Hatcheries = W Fraser Valley Chicks = FV Pacific Pride = PP

Lilydale = L Other = O - _____

22. Where were pullets raised prior to being placed in the layer barn? _____ code

1 = pullet house on farm

2 = another farm {specify} _____

3 = N/A

23. During the time frame, did you ever place additional birds into your flock during a flock production cycle? (circle) Yes No

If yes, give type of bird, dates, and whether birds were from your farm or a different farm:

Bird Type

1 = chick/poult

2 = pullet

3 = layer

4 = breeding hen

5 = rooster (include spiking)

Source

1 = own farm

2 = different farm

Bird Type	Source	Date (mm/dd/yy)
1 2 3 4 5	1 2	
1 2 3 4 5	1 2	
1 2 3 4 5	1 2	
1 2 3 4 5	1 2	
1 2 3 4 5	1 2	

24. Were the following types of bedding used during the time frame?

24a. sawdust	Yes	No	
24b. shavings	Yes	No	
24c. straw	Yes	No	
24d. other	Yes	No	{specify} _____

25. Was bedding delivered during the time frame? Yes No

25a. If yes, who supplied the litter and give date. <mm/dd/yy>

25b. If bedding is usually stored on the farm, how is it stored? _____ code

1 = uncovered

2 = covered or stored inside

3 = litter is not stored on farm

26. For each production type, how often is manure usually removed from the barn?

Production Type	Clean-out Code

- 1 = daily (manure belt)
- 2 = weekly
- 3 = 6 - 12 times per year
- 4 = 1 - 5 times per year
- 5 = every 2 - 3 years

27. Do you usually dispose of manure using the following techniques?

- 1 = compost Y or N
- 2 = spread on own fields Y or N
- 3 = sell or give away Y or N
- 4 = other Y or N

28. Has manure been brought onto the premises during the time frame?

Yes No

28a. If yes, give source and date. <mm/dd/yy>

29. Do you normally sell or buy, any birds, to or from live bird markets?

Yes No

30. During the time period, did you or anyone living or working on this premises attend any live bird markets? Yes No Unknown

31. During the time period, how did you dispose of dead birds (normal mortality)?

31a. via renderer or other off-farm disposal? Yes No

i) If yes, do you deliver them to disposal/renderer or are they picked up?

_____ code

1 = delivered

2 = picked up by disposal/renderer

- 31b. incinerated (burned)? Yes No
- i) If yes, on or off premises? _____ code
- 1 = on premises
2 = off premises
- 31c. buried? Yes No
- i) If yes, on or off premises? _____ code
- 1 = on premises
2 = off premises
- 31d. manure pit? Yes No
- i) If yes, on or off premises? _____ code
- 1 = on premises
2 = off premises
- 31e. field spread/fed to other animals? Yes No
- i) If yes, on or off premises? _____ code
- 1 = on premises
2 = off premises

31f. composted? Yes No

i) If yes, on or off premises? _____ code

1 = on premises

2 = off premises

31g. other? Yes No

i) If yes, describe: _____

32. Outside of the time frame, how do you dispose of spent hens?

32a. processed for food? Yes No N/A

32b. processed for rendering? Yes No N/A

32c. through live bird markets? Yes No N/A

32d. other

i) If other, describe: _____

33. Do you mix your own feed? Yes No

34. Do you pick up feed? Yes No

35. Is feed delivered to your farm? Yes No

36. Which feed companies supplied feed to your farm during the time frame?

36a. Unifeed Yes No

36b. Masterfeed Yes No

36c. Ritchie Smith Yes No

36d. Otter coop Yes No

36e. Clearbrook Yes No

36f. Landmark	Yes	No	
36g. Excel	Yes	No	
36h. Other	Yes	No	{if yes, specify}

37. How is leftover feed removed from the farm at the end of the production cycle?

37a. picked up by feed company?	Yes	No
37b. fed to next flock?	Yes	No
37c. fed to other animals	Yes	No
37d. discarded	Yes	No
37e. other (describe below)	Yes	No

38. Do your barn ventilation systems have exhaust fans? Yes No

38a. If yes, are there feed bins on your premises that are located on the air **intake** side of a barn?

Yes No

38b. If yes, are there feed bins on your premises that are located on the ventilation **exhaust** side of a barn?

Yes No

39. Are all your feed bins closed to the outside, or is there an opening in the feed bin/lines that a wild animal or bird could access? _____ code

1 = closed

2 = accessible

40. Please indicate if the following animals ever gain access to:

the inside of the barns

feed bins, tanks, lines, hoppers, etc. outside the barns

the property in general

Animal Type	Inside Barn	Feed Outside Barn	Around Property
40a. rodents	Yes No	Yes No	Yes No
40b. wild birds	Yes No	Yes No	Yes No
40c. cats	Yes No	Yes No	Yes No
40d. dogs	Yes No	Yes No	Yes No
40e. raccoons, fox, opossum, coyote	Yes No	Yes No	Yes No
40f. rabbits	Yes No	Yes No	Yes No
40g. other	Yes No	Yes No	Yes No

41. During the time frame, were the following pests on the farm plentiful, moderate, or few?

1 = plentiful

2 = moderate

3 = few

41a. rodents (rats and mice) _____ code

41b. insects/flies _____ code

41c. wild birds _____ code

42. Do you put bird feeders out for wild birds? Yes No
43. Have you noticed unusual feathers on or around your property during the time frame? Yes No
44. For the following purposes, what is the water source used?
- 44a. For supplying drinking water to the birds? _____ code
- 44b. For cleaning the barn and egg room? _____ code
- 1 = deep well
2 = sand-point well
3 = municipal
4 = surface water
5 = other
45. Do you use any type of water treatment for the barn water used on your property?
- 45a. filtration Yes No
- 45b. ozonation Yes No
- 45c. chlorination Yes No
- 45d. peroxide Yes No
46. Has there been flooding on or around your property since Jan. 1, 2004?
Yes No
47. Are there creeks, ditches, ponds or standing water on or around your property?
Yes No
48. Do waterfowl frequent these areas? Yes No

49. How many adults and children live on these premises?

Adults (18 years of age and older) _____

School age children (6 years to 17 years of age) _____

Pre-school age children (0 years to 5 years of age) _____

50. Do children play in the farmyard? Yes No

51. Do children play in / enter the barns? Yes No

52. Do any of your close friends or family live on premises which have had birds diagnosed with avian influenza?

Yes No

53. Have you changed any farm suppliers or service providers during the time frame?

Yes No

If yes, please provide details:

54. a) Do you spread or use compost/fertiliser on your flower-beds, garden or lawn ?

Yes No

b) If yes, does that compost/fertiliser contain any of the following –

1 - None 2 - Some 3 – Primarily

- | | | | |
|--|---|---|---|
| i) Composted lawn clippings, garden waste, kitchen waste | 1 | 2 | 3 |
| ii) Composted cattle or sheep manure | 1 | 2 | 3 |
| iii) Composted chicken or turkey manure | 1 | 2 | 3 |
| iv) Composted duck or goose manure | 1 | 2 | 3 |

54. c) Where does/did the compost come from ?

- | | | |
|---|-----|----|
| i) From this premises only. | Yes | No |
| ii) Some from this premises, some brought
in from off-premises sites | Yes | No |
| iii) The majority/all from off-premises sites. | Yes | No |

d) What was the specific name of the off-premises source for any compost brought onto your premises ?

55. Prior to the timeframe, did you or anyone living or working on this premises, sell or give away ungraded eggs:

- | | | |
|-----------------------------|-----|----|
| 55a. Sell at the farm gate? | Yes | No |
| 55b. Sell through a broker? | Yes | No |
| 55c. Other (specify)? _____ | Yes | No |

55d. Give to friends/family

Yes

No

If yes to any of the above:

55e. Do these people enter the egg room?

Yes

No

55f. Is packaging material re-used?

Yes

No

Don't know

55g. What kind of materials are used in the egg trays?

_____ code

55h. What kind of materials are used in the egg cartons?

_____ code

1 = plastic

2 = paper

3 = other

4 = foam

Comments:

Thank you very much for your help in completing this questionnaire.

Annexe 2 Questions associées aux attributs des scores de biosécurité

Critères de déficit de biosécurité		
Score	Attributs	Questions
Transmission locale par les animaux	Chats et chiens circulant sur la ferme	40c-d,9g-h
	Animaux sauvages circulant sur la ferme	Q40e-g
	Rongeurs circulant sur la ferme	40a,41a
	Insectes circulant sur la ferme	41b
Oiseaux sauvages	Oiseaux sauvages circulant sur la ferme	40b,41c
Contacts directs	Le répondant vendait ou achetait habituellement des oiseaux d'un marché de volailles vivantes	29
	Le répondant a placé des oiseaux additionnels dans ses poulaillers durant leur cycle de production pendant la période de l'étude	23
	Le répondant a vendu ou donné des œufs à des personnes qui ont pénétrées dans la salle des œufs avant la période de l'étude	55e

Critères de déficit de biosécurité		
Score	Attributs	Questions
Contacts indirects	Des personnes vivant ou travaillant sur la ferme ont visité le poulailler d'une autre ferme durant la période de l'étude	15
	Le répondant ou des personnes vivant ou travaillant sur la ferme avaient fréquenté des marchés de volailles vivantes durant la période de l'étude	30
	Des personnes travaillant sur la ferme travaillaient aussi sur d'autres fermes	3c1
	L'équipement de la ferme était partagé avec d'autres fermes	7a
	Le répondant possédait ou gérait d'autres fermes qui ont été déclarées infectées durant l'épidémie	2b
Régie de la ferme	Le répondant ne pratiquait pas le tout plein/tout vide pour chaque poulailler	20
	Le répondant était propriétaire ou gérant d'autres fermes	2a
	Une compagnie d'équarrissage est venue chercher les oiseaux morts sur la ferme durant la période de l'étude	31a1
	D'autres types d'élevages étaient pratiqués sur la ferme (pas aviaires) durant la période de l'étude	9c-f, 9i,9k
	Différents types de volailles étaient élevés sur la ferme durant la période de l'étude	9a,9b,4b

Critères de déficit de biosécurité		
Score	Attributs	Questions
Programme de biosécurité	Avant la période, le répondant ne requérait pas des employés de la ferme de changer de vêtements avant d'entrer dans le poulailler	13d
	Avant la période, le répondant ne requérait pas des employés de la ferme d'utiliser des bains de pied à l'entrée des poulaillers	13b
	Avant la période, le répondant ne requérait pas des employés de la ferme de ne pas posséder d'oiseaux	13h
	Le répondant ne requérait pas des visiteurs de porter des bottes exclusives à la ferme durant la période de l'étude	12g col 1-3
	Le répondant ne requérait pas des visiteurs d'éviter de visiter une autre ferme le même jour durant la période de l'étude	12c col 1-3
	Le répondant ne requérait pas des visiteurs de prendre une douche avant d'entrer dans le poulailler durant la période de l'étude	12f col 1-3
	La ferme ne possédait pas de barrières en empêchant l'accès	19b
	La ferme ne possédait pas d'affiches avertissant de ne pas y pénétrer	18b
	Aucune procédure de nettoyage des véhicules n'était prévue pour les véhicules entrants sur la ferme durant la période de l'étude	12b col 1-3
	Aucun endroit éloigné du poulailler n'était désigné pour stationner les véhicules des visiteurs durant la période de l'étude	12f col 1-3