

FAO PRODUCTION ET SANTÉ ANIMALES



# manuel

## SURVEILLANCE DE LA GRIPPE AVIAIRE HAUTEMENT PATHOGÈNE CHEZ LES OISEAUX SAUVAGES

Prélèvement d'échantillons sur des oiseaux sains, malades et morts

**Photographies en page de couverture:**

À gauche: FAO/S. Newman

Au centre: avec l'autorisation de la Wildlife Conservation Society, K. Smith

À droite: avec l'autorisation du Taronga Zoo, K. Rose

# SURVEILLANCE DE LA GRIPPE AVIAIRE HAUTEMENT PATHOGÈNE CHEZ LES OISEAUX SAUVAGES

---

Prélèvement d'échantillons sur des oiseaux sains, malades et morts

**Karrie Rose**

Australian Registry of Wildlife Health  
Taronga Zoo, Sydney (Australie)

**Scott Newman**

Wildlife Conservation Society,  
Wildlife Health Center,  
Field Veterinary Program,  
New York (États-Unis d'Amérique)  
Animal Health Service,  
Service de la santé animale,  
Organisation des Nations Unies pour  
l'alimentation et l'agriculture, Rome (Italie)

**Marcela Uhart**

Wildlife Conservation Society,  
Wildlife Health Center,  
Field Veterinary Program,  
New York (États-Unis d'Amérique)

**Juan Lubroth**

Service de la santé animale,  
Organisation des Nations Unies pour  
l'alimentation et l'agriculture, Rome (Italie)

Les appellations employées dans ce produit d'information et la présentation des données qui y figurent n'impliquent de la part de l'Organisation des Nations Unies pour l'alimentation et l'agriculture aucune prise de position quant au statut juridique ou au stade de développement des pays, territoires, villes ou zones ou de leurs autorités, ni quant au tracé de leurs frontières ou limites. La mention de sociétés déterminés ou de produits de fabricants, qu'ils soient ou non brevetés, n'entraîne, de la part de l'Organisation des Nations pour l'alimentation et l'agriculture, aucune approbation ou recommandation desdits produits de préférence à d'autres de nature analogue qui ne sont pas cités. Les opinions exprimées dans la présente publication sont celles du/des auteur(s) et ne reflètent pas nécessairement celles de l'Organisation des Nations Unies pour l'alimentation et l'agriculture.

ISBN 978-92-5-2025667-6

Tous droits réservés. Les informations contenues dans ce produit d'information peuvent être reproduites ou diffusées à des fins éducatives et non commerciales sans autorisation préalable du détenteur des droits d'auteur à condition que la source des informations soit clairement indiquée. Ces informations ne peuvent toutefois pas être reproduites pour la revente ou d'autres fins commerciales sans l'autorisation écrite du détenteur des droits d'auteur. Les demandes d'autorisation devront être adressées au Chef de la Sous-division des politiques et de l'appui en matière de publications électroniques, Division de la communication, FAO, Viale delle Terme di Caracalla, 00153 Rome, Italie ou, par courrier électronique, à [copyright@fao.org](mailto:copyright@fao.org)

# Table des matières

Remerciements	v
<b>Introduction</b>	<b>1</b>
<b>CHAPITRE 1</b>	
<b>Signes cliniques de maladie infectieuse</b>	<b>3</b>
<b>CHAPITRE 2</b>	
<b>Manipulation des oiseaux vivants</b>	<b>5</b>
Prélèvement sanguins	5
Euthanasie	6
<b>CHAPITRE 3</b>	
<b>Collecte d'oiseaux morts</b>	<b>9</b>
Stratégie d'échantillonnage pour le dépistage de la grippe aviaire	10
<b>CHAPITRE 4</b>	
<b>Protocole d'autopsie aviaire</b>	<b>13</b>
Hygiène et sécurité du travail en situation d'autopsie	13
Protocole d'autopsie aviaire	14
Examen externe	14
Examen interne	15
<b>CHAPITRE 5</b>	
<b>Collecte de prélèvements autopsiques</b>	<b>21</b>
<b>CHAPITRE 6</b>	
<b>Prélèvement d'échantillons</b>	<b>23</b>
Précisions concernant les échantillons à prélever	23
<b>CHAPITRE 7</b>	
<b>Techniques d'écouvillonnage</b>	<b>25</b>
Procédure d'échantillonnage	26
<b>CHAPITRE 8</b>	
<b>Manipulation et transport des échantillons</b>	<b>29</b>
Écouvillons et milieux de transport viral	29
Sérum, plasma et tissus frais	29
Tissus fixés au formol	30
Expédition des échantillons	30

<b>CHAPITRE 9</b>	
<b>Diagnostics</b>	<b>33</b>
Diagnostic des virus de la grippe aviaire par le laboratoire	33
Tests de diagnostic rapide	34
RT-PCR	35
<b>CHAPITRE 10</b>	
<b>Élimination des carcasses</b>	<b>37</b>
Sur le terrain	37
<b>CHAPITRE 11</b>	
<b>Désinfection</b>	<b>39</b>
<b>CHAPITRE 12</b>	
<b>Protection personnelle</b>	<b>41</b>
<b>Annexe 1: Fiche de collecte d'échantillons d'oiseaux malades ou morts</b>	<b>45</b>
<b>Annexe 2: Réseau OIE/FAO (OFFLU) et laboratoires de référence pour la grippe aviaire</b>	<b>47</b>
<b>Annexe 3: Illustrations de pathologie clinique</b>	<b>51</b>

# Remerciements

Certaines des informations de ce manuel ont été adaptées par l'Organisation des Nations Unies pour l'alimentation et l'agriculture, avec la collaboration de la Wildlife Conservation Society et du Taronga Zoo, d'après une publication du National Wildlife Health Center (Service géologique des États-Unis — USGS), intitulée « An Early Detection System for Highly Pathogenic H5N1 in Wild Migratory Birds – Interagency Strategic Plan » (voir le site suivant: <http://www.nwhc.usgs.gov/publications/other/index.jsp>).

Le gouvernement de l'Australie est ici remercié pour son soutien permanent.

Des remerciements sont tout particulièrement adressés à Phil Harris et Cecilia Murguia qui ont contribué à la révision finale du manuel.

# Introduction

Ce document a pour objet de fournir des directives sommaires sur les techniques d'échantillonnage applicables à la surveillance de la sauvagine et à la conduite d'enquêtes de morbidité et de mortalité. Il porte notamment sur la manipulation des animaux, les méthodes correctes de collecte et de transport d'échantillons prélevés aux fins de diagnostic des maladies aviaires telles que la grippe aviaire, le virus du Nil occidental et la maladie de Newcastle. Compte tenu du grave risque sanitaire que le virus H5N1 de la grippe aviaire hautement pathogène<sup>1</sup> peut présenter pour l'homme, des procédures sont également définies pour éviter toute exposition durant les travaux sur des oiseaux vivants ou morts.

**Les recommandations de protection personnelle formulées dans ce manuel s'appliquent à toute activité de surveillance de la sauvagine dans les pays où le virus H5N1 de la grippe aviaire a été dépisté chez des oiseaux sauvages, ou en cas d'investigations dans un lieu où ce virus pourrait être responsable de la maladie ou de la mort d'espèces sauvages.**

Bien que les espèces infectées ne présentent pas nécessairement de signes morbides, les souches du virus H5N1 actuellement en circulation en Asie, en Europe et en Afrique ont montré qu'elles pouvaient infecter et tuer de très nombreuses espèces. La conjugaison d'activités de surveillance ciblée (capture et échantillonnage « d'oiseaux en liberté apparemment sains »), d'une surveillance passive (notamment par des tests de dépistage sur la sauvagine, dans les centres de sauvetage, les zoos et les programmes de suivi d'oiseaux échoués) et d'enquêtes systématiques sur les cas de maladie ou de mort d'oiseaux sauvages permet d'instaurer un programme de suivi offrant les meilleures chances de dépister le virus de la grippe aviaire. Il est impératif de respecter les techniques de prélèvement d'échantillons sur les oiseaux morts, car la grippe aviaire H5N1 n'est que l'une des nombreuses maladies ou affections pouvant entraîner une mortalité massive de la sauvagine.

Dans ce manuel, on présuppose que

- 1) toutes les enquêtes sont réalisées par des personnes dûment formées;
- 2) les précautions d'usage en matière de santé humaine et de biosécurité seront respectées;
- 3) l'autorisation des autorités vétérinaires compétentes sera obtenue avant toute investigation; et,

<sup>1</sup> Le terme grippe aviaire hautement pathogène est généralement réservé à la grippe aviaire particulièrement virulente chez les volailles, et il est abusivement employé dans le cas de formes hautement pathogènes frappant d'autres espèces (d'oiseaux ou de mammifères). Dans ce manuel, le virus H5N1 de la grippe aviaire hautement pathogène qui a infecté les volailles et d'autres espèces en Asie et en Europe (2003-2006) est désigné par les termes « virus H5N1 » ou « grippe aviaire ».



- 4) les enquêtes sur les flambées infectieuses sont systématiquement entreprises en coordination avec les représentants de la FAO et de l'OIE.

Des informations complémentaires sur les **bureaux de la FAO** dans le monde sont disponibles à l'adresse suivante:

[http://www.fao.org/countryprofiles/physical\\_presence.asp ? lang = en](http://www.fao.org/countryprofiles/physical_presence.asp?lang=en)

La liste des pays **membres et des délégués officiels de l'OIE** peut être consultée sur le site suivant:

[http://www.oie.int/eng/OIE/PM/en\\_PM.htm](http://www.oie.int/eng/OIE/PM/en_PM.htm)

Les **représentations régionales de l'OIE** sont énumérées à l'adresse suivante:

[http://www.oie.int/eng/OIE/organisation/en\\_RR.htm](http://www.oie.int/eng/OIE/organisation/en_RR.htm)

## Chapitre 1

# Signes cliniques de maladie infectieuse

La sauvagine et les oiseaux de rivage sont considérés comme des réservoirs naturels de tous les sous-types viraux de la grippe aviaire dont la plupart n'ont peu ou pas d'effets pathogènes sur la faune sauvage. Le virus grippal de type A a toutefois subi un ensemble de dérives et de réassortiments génétiques qui ont abouti à la souche H5N1 responsable d'infections, létales ou non, chez de nombreuses espèces sauvages. Bien qu'un certain degré de surveillance soit désormais exercé, des recherches complémentaires s'imposent afin de déterminer le rôle des oiseaux sauvages dans le portage sain et l'excrétion des virus de la grippe aviaire.

Nombre de maladies aviaires, y compris la grippe aviaire H5N1, sont notamment caractérisées par les signes cliniques suivants:

- mort subite;
- diarrhée;
- régurgitations;
- éternuements;
- émaciation inexpliquée;
- lésions ouvertes;
- écoulements (clairs ou troubles) par le bec, le nez, les oreilles ou le cloaque;
- forte tuméfaction et/ou cyanose des tissus de la tête (notamment de la conjonctive);
- plumage anormal: constrictions annelées ou hémorragies de la tige, ou présence de gaines plumaires cireuses;
- anomalies du comportement: chutes, inclinaison de la tête, torsions de la tête et du cou, rotations, paralysie, convulsions;
- anomalies de la locomotion: incapacité à se tenir debout ou à battre des ailes correctement, en l'absence de toute lésion traumatique;
- mortalité massive ou poches de forte mortalité aviaire (inexplicable compte tenu de l'histoire naturelle de l'espèce).

Lorsque ces signes sont observés chez des oiseaux en liberté, qu'il s'agisse d'individus isolés ou très nombreux, il convient d'alerter les services de la faune sauvage, les autorités vétérinaires compétentes ou les représentants de l'OIE/FAO, et d'envisager la conduite d'une enquête vétérinaire.

Les cas d'oiseaux malades signalés par des particuliers sont souvent précurseurs d'une forte mortalité et, étant donné les répercussions économiques et politiques de l'apparition du virus H5N1 dans un nouveau lieu, il est souhaitable d'être informé au plus vite de la survenue de la maladie. On peut ainsi engager sans tarder les mesures de gestion susceptibles d'empêcher la propagation de la maladie aux élevages agricoles et aux autres espèces sauvages, ce qui sera finalement d'un meilleur rapport coûts-avantages que de devoir gérer une maladie à proportions épidémiques.

Les zoos, les réserves de faune sauvage, les centres de sauvetage et autres institutions qui gardent des oiseaux à l'extérieur doivent être informés des signes cliniques de la maladie afin de pouvoir les détecter chez les oiseaux sauvages en captivité. Quand certains de ces signes sont observés, les oiseaux malades doivent être immédiatement isolés selon les procédures d'usage et examinés par le vétérinaire de service; parallèlement, des prélèvements et des informations doivent être recueillis conformément aux procédures en vigueur (Chapitre 4 et Annexe 1) et transmis aux autorités vétérinaires compétentes (dont le directeur est souvent le délégué de l'OIE) ou au représentant de la FAO ou de l'OIE. Les photos et/ou enregistrements vidéo des animaux (vivants ou morts et présentant des signes cliniques) sont également très utiles pour les enquêtes sur les maladies de la sauvagine.

Si les installations précitées reçoivent régulièrement des oiseaux malades ou blessés présentant ces signes cliniques, elles doivent immédiatement les isoler pour empêcher la propagation de la maladie aux autres animaux résidents en cours de traitement. Il faut impérativement demander aux personnes qui ont signalé des cas d'oiseaux malades s'ils ont observé d'autres oiseaux présentant les mêmes signes cliniques; on peut ainsi déterminer si une flambée infectieuse de grande ampleur s'est déclarée au même endroit. Dans tous les cas de figures, qu'il s'agisse d'oiseaux malades en captivité ou d'individus malades amenés dans un centre de sauvetage par des particuliers, les autorités vétérinaires doivent être informées de l'espèce touchée et des signes qu'elle présente afin d'actualiser leurs dossiers.

Les autorités vétérinaires doivent notamment conserver les coordonnées de la ou des personnes qui ont amené les oiseaux malades au centre de sauvetage ou signalé des cas d'oiseaux malades en liberté. Ces informations faciliteront les enquêtes épidémiologiques ultérieures s'il s'avère que les oiseaux sont atteints de la grippe aviaire ou de toute autre maladie à déclaration obligatoire, et permettront, le cas échéant, d'informer les intéressés des risques d'exposition virale.

## Chapitre 2

# Manipulation des oiseaux vivants

Lors de toute enquête vétérinaire sur un site abritant des oiseaux sains et des oiseaux mourants, il faut toujours examiner les oiseaux vivants et apparemment sains avant de manipuler les oiseaux malades ou morts. Des vêtements de protection adaptés doivent être portés durant l'examen, ainsi que des gants de latex, un masque facial et des lunettes de protection (voir le Chapitre 12). Pendant les manipulations d'oiseaux vivants ou morts, on s'abstiendra de fumer, de manger, de boire ou d'utiliser des téléphones portables. Il faut impérativement se laver les mains, et désinfecter ou jeter les instruments et les vêtements utilisés avant de quitter le site. D'autres recommandations concernant la protection personnelle sont fournies au Chapitre 12.

Avant d'envisager la capture d'oiseaux sauvages, les autorités locales ou les gestionnaires du parc naturel ou de la zone protégée doivent être consultés pour vérifier s'il faut solliciter un permis de capture et d'échantillonnage d'oiseaux sauvages. Des permis spéciaux sont parfois nécessaires s'il s'agit d'espèces menacées. Divers moyens permettent de capturer les oiseaux en liberté, notamment les filets, les pièges traditionnels et les pièges lumineux. Notons que la surveillance des virus de la grippe aviaire et des autres maladies infectieuses, en l'absence d'une flambée épidémique ou d'oiseaux morts, peut reposer sur l'échantillonnage d'oiseaux vivants et sains.

Après la capture, il faut maintenir les oiseaux dans un environnement frais, tranquille et bien ventilé pour les protéger de la chaleur et réduire leur niveau de stress. Dans la mesure du possible, on leur couvrira la tête d'un linge fin pour atténuer le stress visuel.

### PRÉLÈVEMENTS SANGUINS

Des échantillons de sang peuvent être prélevés sur la jugulaire (à droite du cou de l'oiseau), sur la veine brachiale/ulnaire (veine de l'aile) (voir la Figure 1) ou sur la veine fémorale médiale (veine de la patte) à l'aide d'aiguilles hypodermiques de 22 g, 23 g, 25 g, ou 27 g, ou d'une aiguille à ailettes et d'une seringue de 12 ml, 10 ml, 6 ml, 3 ml ou 1 ml, selon la taille du spécimen et la quantité de sang à prélever (voir la Figure 1). De manière générale, un volume de sang de 0,3 à 0,6 cc pour 100 grammes de masse corporelle peut être prélevé sans danger, mais il est toujours souhaitable de prélever le minimum nécessaire à la conduite des tests. Si des tests hématologiques sont prévus en plus de la surveillance épidémiologique, il est recommandé d'utiliser une aiguille de 22 g à 25 g, car les cellules sont endommagées par leur passage dans des aiguilles de 27 g ou d'un diamètre inférieur. Une fois l'échantillon recueilli, le site de la ponction veineuse doit être recouvert de gaze, et une pression du doigt est appliquée jusqu'à l'arrêt du saignement (30 à 60 secondes).

Le sang doit être immédiatement transféré de la seringue dans un tube sérum avec gel séparateur (bouchon rouge), ou dans un tube plasma avec gel séparateur (bouchon vert); certains laboratoires préfèrent travailler à partir du sérum, d'autres sur le plasma, en fonction des tests à réaliser, il convient donc de se renseigner au préalable. Les tubes plasma doivent être immédiatement conservés au froid ou dans un bain d'eau fraîche jusqu'à centrifugation dans une centrifugeuse portable. Les échantillons de sérum sont conservés à température ambiante jusqu'à formation du caillot, puis gardés au froid ou dans un bain d'eau fraîche jusqu'à centrifugation. Après centrifugation, le sérum ou plasma est transféré dans une fiole cryogénique de type cryovial, au moyen d'une pipette de transfert stérile ou, à défaut, soigneusement versé dans le cryovial, puis congelé.

Les fioles cryogéniques doivent toujours être étiquetées et mentionner la date, l'espèce, le numéro d'identification renvoyant à la base de données où figurent des renseignements complémentaires, et le type d'échantillon (plasma ou sérum). On utilisera un crayon ou un marqueur à encre indélébile afin que les indications ne s'effacent pas si les fioles sont mouillées, ou conservées dans l'azote liquide ou à des températures de -70 °C et au-delà.

Des écouvillonnages trachéaux ou cloacaux doivent également être recueillis sur tous les oiseaux vivants (voir le Chapitre 7); dans bien des cas, des informations morphométriques devront aussi être relevées, en particulier le poids, la longueur du bec, du tarse et de l'aile repliée, et des bagues d'acier inoxydable doivent être apposées pour le suivi ultérieur (à condition de disposer d'un permis de baguage).

D'autres échantillons sont parfois demandés en vue de travaux complémentaires, notamment des plumes pour la recherche de métaux lourds ou des échantillons supplémentaires de sang ou de plumes pour les analyses génétiques ou isotopiques. Plus rarement, des dispositifs de télémétrie peuvent être implantés chirurgicalement pour étudier les migrations des oiseaux et l'utilisation de leur habitat.

**Un masque de protection haute filtration (de type N-95 ou P2<sup>2</sup>) doit être porté durant toute intervention dans une zone touchée par la grippe aviaire hautement pathogène (H5N1 ou grippe aviaire), ou si les oiseaux morts ou malades présentent des symptômes d'infection respiratoire ou d'entérite.** Des informations détaillées sur l'utilisation de ce type de masque sont fournies sur le site suivant: <http://www.fda.gov/cdrh/ppe/masksrespirators.html#1>; à défaut, on se renseignera auprès d'un médecin sur la façon d'enfiler et de porter ces masques.

## **EUTHANASIE**

**L'euthanasie doit être envisagée lorsque les signes cliniques correspondent à ceux de la grippe aviaire ou de toute autre maladie à déclaration obligatoire, comme la maladie de Newcastle (animaux présentant des symptômes respiratoires, neurologiques ou gastro-intestinaux), si les animaux sont mourants, ou s'ils présentent de la fièvre (les oiseaux malades sont fiévreux tandis que les oiseaux mourants sont hypothermiques).**

<sup>2</sup> Masques faciaux N-95, marque 3M, numéro de code 3M9320. La liste des fournisseurs est disponible sur le site suivant: [http://www.3m.com/FFP2\\_facemask](http://www.3m.com/FFP2_facemask) (<http://www.greenham.com/c/ss/937190002/3M-FFP2-Disposable-Respirators>).

Des échantillons sanguins doivent être prélevés avant d'euthanasier les oiseaux. Les techniques d'euthanasie sont décrites de manière détaillée dans les paragraphes suivants. La méthode employée ne doit pas priver le spécimen de sa valeur diagnostique. L'euthanasie des oiseaux présentant une suspicion de la grippe aviaire doit être réalisée avec le plus grand soin, et les intervenants doivent se garder de tout contact direct non protégé avec l'animal.

Les méthodes d'euthanasie acceptables dans le cas des oiseaux comprennent, par ordre de préférence, les barbituriques, les anesthésiques par inhalation, le CO<sub>2</sub> et le CO. Pour les barbituriques, on utilisera les doses recommandées, au titrage nécessaire pour l'effet recherché. Une dose excessive de barbituriques risque d'endommager gravement les tissus servant aux analyses histologiques.

Si cette méthode d'euthanasie ne peut être pratiquée sur le terrain, on aura recours à des méthodes mécaniques telles que la dislocation cervicale, la décapitation, les pinces de Burdizzo<sup>3</sup>, l'étourdissement, l'exsanguination et l'euthanasie par balle. Des descriptions détaillées de certaines de ces méthodes sont fournies dans le manuel *Field Manual of Wildlife Diseases*<sup>4</sup>.

L'utilisation d'armes à feu est recommandée pour l'abattage d'oiseaux malades que l'on ne peut capturer facilement. Les oiseaux doivent être abattus sur le coup, au moyen d'une charge adaptée à l'espèce. Les oiseaux blessés sont tués rapidement et sans cruauté, par dislocation cervicale ou par les autres méthodes décrites ci-dessus.

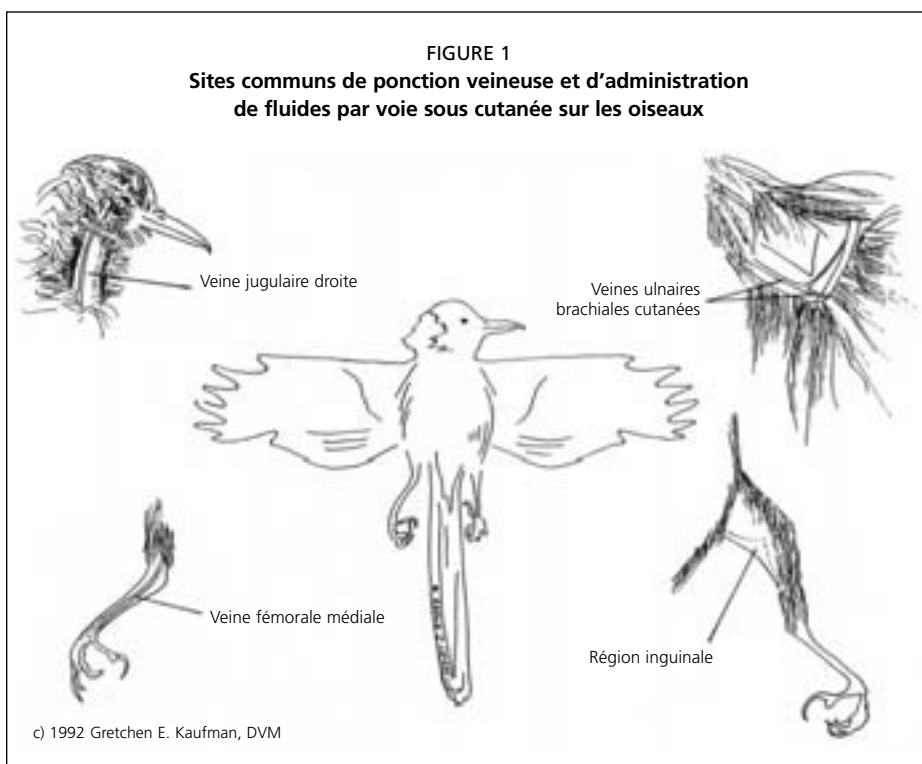
### **Considérations spécifiques à l'euthanasie des oiseaux soupçonnés d'infection par le virus H5N1**

De manière générale, il est préférable d'euthanasier les oiseaux que l'on soupçonne atteints de la grippe aviaire par dislocation cervicale ou au moyen de pinces de Burdizzo. Bien que moins cruelle que la décapitation, la narcose au CO<sub>2</sub> peut être utilisée sur le terrain pour éviter tout risque de contamination par les projections sanguines. L'euthanasie par injection permet elle aussi de minimiser les risques d'exposition au sang contaminé. L'euthanasie médicamenteuse exige la présence d'un vétérinaire et d'une personne chargée de tenir les oiseaux. Une surdose de barbituriques doit être administrée par voie intraveineuse. Notons que les personnes chargées de maîtriser les oiseaux pendant l'injection sont confrontées à un risque accru d'exposition.

Il est toujours souhaitable de recueillir un échantillon sanguin avant l'euthanasie; à défaut, le prélèvement doit être effectué par ponction cardiaque immédiatement après l'euthanasie. Pour les oiseaux de la taille d'un canard, une aiguille de 4 cm (16 ou 18 g) doit être introduite juste au-dessous du bréchet, la pointe orientée en direction du crâne, à un angle de 45-50°. Des aiguilles de tailles différentes doivent être employées en fonction de la taille des oiseaux.

<sup>3</sup> Masques faciaux N-95, marque 3M, numéro de code 3M9320. La liste des fournisseurs est disponible sur le site suivant: [http://www.3m.com/FFP2\\_facemask](http://www.3m.com/FFP2_facemask) (<http://www.greenham.com/c/ss/937190002/3M-FFP2-Disposable-Respirators>).

<sup>4</sup> Ce manuel peut être consulté à l'adresse suivante: [http://www.nwhc.usgs.gov/publications/field\\_manual/chapter\\_5.pdf](http://www.nwhc.usgs.gov/publications/field_manual/chapter_5.pdf) ou: [http://www.avma.org/issues/animal\\_welfare/euthanasia.pdf](http://www.avma.org/issues/animal_welfare/euthanasia.pdf) (page 686 et les annexes 1, 2, 3 et 4).



Le sang est transféré dans un tube sérum avec gel séparateur (bouchon rouge), et conservé à température ambiante jusqu'à formation du caillot. Les tubes sont placés dans une centrifugeuse portable pour la centrifugation, après quoi le sérum est transféré dans un cryovial au moyen d'une pipette de transfert ou, à défaut, soigneusement versé dans le cryovial. Les sections suivantes décrivent la collecte d'échantillons supplémentaires après l'euthanasie.

## Chapitre 3

# Collecte d'oiseaux morts

En cas de mortalité massive, il est essentiel, avant de se rendre sur le site concerné, de:

- 1) prendre contact avec les autorités vétérinaires compétentes;
- 2) s'assurer de l'obtention de tous les permis nécessaires avant le début des investigations; et,
- 3) coordonner les enquêtes vétérinaires avec les représentants compétents de la FAO et de l'OIE, s'il y a lieu.

Avant de se rendre sur un site pour enquêter sur une flambée épidémique, on se munira du matériel et des fournitures nécessaires (équipement de protection personnelle, fournitures pour l'échantillonnage des oiseaux, matériel d'autopsie, formulaires d'enquête sur une mortalité massive, formulaires d'autopsie, etc.). Une *trousse d'intervention d'urgence* contenant toutes les fournitures nécessaires peut être préparée à l'avance; son contenu sera remplacé, à mesure de son utilisation, dès le retour d'une enquête sur le terrain. Il est plus facile de regarnir la trousse à partir d'une liste des fournitures qui la composent (Chapitre 4).

À l'arrivée sur le site, l'ampleur des pertes doit être évaluée, en particulier le nombre d'oiseaux morts, les espèces directement touchées, les autres animaux sauvages ou domestiques concernés et l'aire de mortalité. Ces informations sont reportées sur une *Fiche de collecte d'échantillons d'oiseaux malades ou morts* (Annexe 1). Outre les prélèvements animaux, il peut s'avérer utile de recueillir des échantillons sur le milieu, notamment de l'eau, de la terre, des végétaux ou d'autres substances qui pourraient avoir joué un rôle dans la mort des oiseaux. Les relevés GPS de l'aire impactée sont préférables à une simple description verbale.

L'équipement de protection personnelle doit être adapté à la situation justifiant l'enquête. Tout contact direct avec des oiseaux morts doit être évité autant que faire se peut, et les oiseaux ne doivent jamais être approchés du visage. Avant de manipuler un oiseau mort, il faut au strict minimum enfiler des gants de vinyle ou de latex. Pour prélever un oiseau mort, la meilleure technique consiste à introduire une main gantée sur l'endroit d'un sac plastique, puis à refermer le sac sur l'oiseau afin d'éviter tout contact direct. Le sac doit être bien fermé (on peut même le doubler pour plus de résistance et de propreté), et les mentions suivantes doivent y être apposées à l'encre indélébile: numéro d'identification de l'animal (correspondant à celui porté sur la *Fiche de collecte d'échantillons d'oiseaux malades ou morts*, Annexe 1), l'espèce, la date, l'heure et le lieu du prélèvement. Si plusieurs espèces ont été touchées, plusieurs spécimens de chacune d'elles doivent être prélevés aux fins de diagnostic. Les oiseaux mourants ou virémiques se prêtent mieux aux analyses bien que les carcasses d'oiseaux morts depuis moins de 24 heures (carcasses fraîches) conviennent également. Dans les climats froids, les carcasses se conservent relativement bien pendant une plus longue période, alors qu'elles se décomposent rapidement dans les climats chauds.



Dans la mesure du possible, les carcasses *fraîches* doivent être conservées au froid, mais non congelées; les carcasses en *décomposition* sont desséchées, gonflées et verdâtres, elles sentent mauvais, et les plumes s'arrachent facilement. Pour améliorer leur valeur diagnostique, les carcasses fraîches doivent être transférées au centre vétérinaire ou au laboratoire de pathologie compétent, et être analysées au plus vite. Sur le terrain ou quand les services de diagnostic sont trop éloignés, les échantillons collectés sont conservés dans une glacière. Les réfrigérateurs servant à l'alimentation humaine ou animale ne doivent en aucun cas être utilisés pour entreposer les carcasses.

### **STRATÉGIE D'ÉCHANTILLONNAGE POUR LE DÉPISTAGE DE LA GRIPPE AVIAIRE**

Pour chaque espèce affectée, on prélèvera au minimum trois oiseaux morts très récemment (moins de 24 heures), trois oiseaux malades ou mourants (présentant des symptômes respiratoires, neurologiques ou gastro-intestinaux) et trois oiseaux apparemment sains en contact direct avec les oiseaux malades. Dans la mesure du possible, il faut prélever des échantillons sur les autres oiseaux vivant dans le même habitat (écouvillonnages cloacaux et/ou trachéaux). On sélectionnera de préférence des espèces vivant dans les mêmes zones humides que les oiseaux malades, car il est très probable que la contamination fécale de l'eau, des rivages et du littoral constitue le principal mode de transmission du virus de la grippe aviaire.

Il est souhaitable de recueillir le plus grand nombre de carcasses possibles, et de les conserver en un lieu central en vue de leur examen. L'élimination des oiseaux morts permet aussi d'éviter toute contamination secondaire des charognards. Il est essentiel de remplir une *Fiche de collecte d'échantillons d'oiseaux malades ou morts* (Annexe 1) à mesure que les carcasses sont examinées et enlevées.

On essaiera si possible de collecter et d'examiner des oiseaux malades et récemment morts, à condition de s'être préalablement procuré les permis nécessaires à la collecte d'échantillons vivants. Si les pertes sont trop nombreuses pour être mises en sac et individuellement libellées, on choisira les animaux les mieux préservés qui ont une bonne valeur diagnostique, et on les entreposera à distance des carcasses en décomposition. Les carcasses en sac doivent être chargées aussi loin que possible des passagers dans les véhicules.

Si le site est trop éloigné, les autopsies devront être réalisées sur le terrain.

Des mesures de protection personnelle rigoureuses s'imposent alors, notamment dans les zones où le virus H5N1 est signalé ou fortement soupçonné. De même, les carcasses examinées et le matériel utilisé doivent être évacués en prenant toutes les précautions nécessaires, et tous les équipements doivent être parfaitement désinfectés (voir les chapitres 10, 11 et 12). Si des vêtements ou autres articles sont ramenés, ils doivent être placés dans des sacs doubles après avoir baigné au moins 30 minutes dans une solution désinfectante (voir le Chapitre 11 pour de plus amples détails sur la désinfection). Les vêtements portés durant les enquêtes de terrain ne doivent pas être lavés dans des lessiveuses domestiques ou dans des laveriers automatiques.

En cas de forte suspicion de la grippe aviaire, les oiseaux ne doivent pas être transportés avant d'avoir été échantillonnés, euthanasiés et éliminés du site afin de réduire au minimum les risques de contamination des zones indemnes. On veillera aussi à ce que les

vêtements, véhicules et autres vecteurs passifs soient parfaitement désinfectés avant de quitter le site soupçonné d'infection.

Si les échantillons peuvent être acheminés jusqu'au laboratoire en moins de quatre heures en vue d'analyses virologiques immédiates ou ultérieures, on peut les conserver sur glace. Comme cela risque d'être infaisable dans la plupart des situations de terrain, il faut prévoir un système permettant d'immerger les échantillons dans de l'azote liquide (-196° C) et de les conserver ultérieurement à au moins -70° C pour préserver le virus et son ARN dans l'attente des analyses pathologiques. Tout échantillon mal conservé risque de perdre sa valeur diagnostique.

### **Exposition humaine: considérations spécifiques à l'exposition au virus de la grippe aviaire hautement pathogène**

Toute personne amenée à manipuler des oiseaux présentant une suspicion de la grippe aviaire doit faire preuve de discernement, et être consciente de toutes les voies d'infection possibles. Les êtres humains peuvent être infectés par contact avec toute muqueuse (par exemple l'intégralité du système respiratoire ou gastro-intestinal et les yeux). L'infection peut aussi être transmise par une piqûre d'aiguille ou autre instrument d'autopsie contaminé par des tissus humides ou des fluides provenant d'animaux infectés et, probablement, par toute lésion cutanée. Par conséquent, il ne peut y avoir infection que par exposition directe au virus vivant contenu dans des gouttelettes d'aérosol ou des fluides contaminés. Aucun cas d'infection transdermique (à travers la peau intacte) ou vectorielle n'a été signalé.

Hormis un cas unique, tous les décès humains dus au virus H5N1 résultent d'une exposition à des volailles infectées ou à leur lieu d'élevage. Un cas humain seulement concerne une personne qui plumait un cygne infecté. Toute investigation sur la mort d'oiseaux sauvages doit cependant donner lieu aux mêmes précautions que celles appliquées à la mise à mort des volailles d'élevage.

## Chapitre 4

# Protocole d'autopsie aviaire

### **HYGIÈNE ET SÉCURITÉ DU TRAVAIL EN SITUATION D'AUTOPSIE**

1. Les autopsies sont réalisées dans une salle d'isolement utilisée à cette seule fin. Le matériel, les instruments et les planches de travail servant aux autopsies ne doivent pas être employés à d'autres fins. Le matériel d'autopsie et les surfaces de travail doivent être nettoyés, puis désinfectés après chaque utilisation. Dans l'idéal, un pédiluve doit être installé à toutes les entrées de la salle d'autopsie.
2. Les aliments destinés à la consommation humaine ou animale ne doivent pas être conservés dans la zone d'autopsie ou les réfrigérateurs et congélateurs servant à l'entreposage des échantillons pathologiques.
3. Le personnel de soutien doit être dûment informé des risques liés aux zoonoses, de leurs différents modes de transmission ainsi que des mesures de gestion des risques biologiques et des déversements de substances chimiques.
4. Les personnes qui réalisent ou observent une autopsie ainsi que celles chargées du nettoyage de la salle d'autopsie doivent porter des vêtements de protection adaptés. La tenue de protection comprend un masque facial (les masques de type N-95 ou FFP2 sont recommandés pour l'examen d'animaux présentant des symptômes respiratoires), des gants jetables (non stériles), un tablier imperméable anti-projections, une blouse à manches longues avec poignets serrés, des lunettes de protection et des bottes en caoutchouc. Un lavabo doit être disponible dans la salle d'autopsie.
5. Avant le début de l'examen, les plumes doivent être mouillées avec une solution très diluée d'eau et de détergent pour réduire le risque d'aérosolisation des agents infectieux.
6. Une enceinte de sécurité biologique (Classe II) doit être utilisée pour l'autopsie d'oiseaux présentant des symptômes typiques de maladies infectieuses.
7. Il convient d'avertir les laboratoires de référence lorsque des tissus susceptibles d'abriter des agents zoonotiques leur sont adressés (tissus aviaires présentant une suspicion de chlamydie ou de grippe aviaire). Dans ce cas, la réalisation locale d'un calque d'organe ou de toute autre épreuve diagnostique n'est pas recommandée, sauf s'ils peuvent être réalisés dans une enceinte de sécurité biologique.
8. Les carcasses doivent être gardées congelées (-70 °C) jusqu'à l'obtention d'un diagnostic, puis évacuées selon une méthode approuvée par la réglementation locale, de préférence par les soins d'un centre d'incinération de matières infectieuses.
9. Les tissus et les restes animaux doivent être congelés jusqu'à ce que la menace d'une zoonose soit écartée, puis adressés aux musées ou aux chercheurs intéressés.

Les mesures de sécurité ci-dessus s'appliquent aux autopsies réalisées dans des salles équipées à cet effet. Lorsqu'une autopsie doit être effectuée dans un lieu isolé et éloigné, il faut impérativement prendre les précautions nécessaires pour sa protection personnelle et

pour éviter toute propagation du pathogène par des personnes, du matériel ou des véhicules contaminés. Le protocole et les méthodes de prélèvement d'échantillons décrits ci-après s'appliquent également aux autopsies réalisées dans des zones isolées. Dans ce cas, les précautions spécifiques concernant l'évacuation des carcasses et des déchets et la désinfection du matériel réutilisable décrites dans les sections précédentes doivent aussi être prises.

**Rappelons que tous les échantillons possibles doivent être directement prélevés sur le terrain, car l'occasion ne se représentera pas.** Les carcasses examinées doivent être détruites, puis évacuées selon les procédures normales.

## PROTOCOLE D'AUTOPSIE AVIAIRE

L'autopsie ci-dessous peut être réalisée en 15 à 20 minutes par une personne d'expérience

### Anamnèse

L'anamnèse porte sur les aspects suivants:

- espèce, origine (en liberté/zoo/centre de sauvetage/propriétaire privé), date et lieu de la collecte.

### En captivité

- Alimentation et origine de l'eau et des denrées;
- conditions environnementales ou conditions de séjour: ventilation, milieu d'élevage, type de cage, etc.;
- exposition aux autres oiseaux;
- exposition aux substances toxiques: plomb, usines, fumées;
- modifications récentes du milieu;
- symptômes et apparition et évolution des signes cliniques;
- traitement administré, éventuellement mort ou euthanasie de l'animal.

### Dans le milieu naturel

- Nom de la personne ayant signalé les cas de mortalité/la flambée infectieuse;
- nombre d'oiseaux touchés ou morts;
- espèces touchées et classes d'âge;
- autres animaux affectés (par exemple, charognards, prédateurs);
- à quand remontent les premières morts: des jours, des semaines, des mois;
- proximité d'élevages de volailles;
- animaux domestiques touchés; et,
- proximité des centres urbains/d'élevages domestiques de volailles.

L'examen du milieu ambiant peut livrer de précieuses informations.

De même, les photographies ou films vidéo du site et des oiseaux morts ou malades fournissent nombre d'informations.

## EXAMEN EXTERNE

Un examen externe de l'oiseau doit être effectué selon la méthode systématique employée pour les oiseaux vivants.

Avant le début de l'autopsie, des écouvillonnages cloacaux et trachéaux doivent être prélevés.

Les aspects suivants sont ensuite examinés:

- l'espèce et l'âge de la carcasse, ainsi que la présence de bagues d'identification;
- la peau et le plumage pour détecter tout signe de parasites, de mue, d'ecchymoses, de laceration, de ponction, d'abrasion, de tuméfaction, d'anémie ou de dermatite;
- les éventuels exsudats, parasites ou corps étrangers présents dans les narines, les yeux, les oreilles, le cloaque et la cavité buccale;
- le volume de la masse musculaire et la présence de graisse sous-cutanée;
- les signes éventuels de fracture, de luxation ou de tuméfaction des articulations et des os longs;
- l'aspect des plumes entourant le cloaque; sont-elles collées par des fèces ou de l'urine ?
- la muqueuse du cloaque; et,
- d'éventuels traumatismes ou abcès plantaires (tuméfaction ou ulcération des surfaces plantaires).

## EXAMEN INTERNE

Il existe plusieurs protocoles d'autopsie aviaire. Le protocole retenu doit être rigoureux et systématique, et ne pas présenter de difficultés pour l'opérateur.

Pulvériser ou tremper la carcasse dans une solution d'eau et de détergent pour mouiller les plumes et réduire les risques d'aérosolisation des particules infectieuses.

Pratiquer une coupe transversale sur la maxille, au niveau de la commissure du bec, afin d'examiner les narines et les sinus. Couper la mandibule transversalement, et inciser la peau de la mandibule jusqu'à l'orifice supérieur du thorax. Séparer l'œsophage de la cavité buccale en sectionnant le jabot et en descendant jusqu'à l'orifice supérieur du thorax.

Examiner le palais mou, le larynx et la syrinx. Inciser la trachée en long, depuis le larynx jusqu'à l'orifice supérieur du thorax. Examiner la trachée pour déceler d'éventuels parasites, plaques fongiques, exsudats, corps étrangers, signes de congestion ou caillots de sang.

Inciser la peau de l'orifice supérieur du thorax jusqu'au cloaque. Déboîter les articulations coxo-fémorales. Laisser retomber la peau pour exposer l'abdomen et la poitrine. Une adhérence marquée de la peau et des tissus foncés peut signaler une déshydratation.

Pratiquer une série d'incisions dans les muscles pectoraux pour écarter toute suspicion de lésions. Palper la coracoïde et la fourchette pour déceler des fractures mineures. Enlever le sternum en incisant à travers les muscles de l'abdomen, les côtes, l'os coracoïde et la fourchette.

**Dès que la cavité interne est exposée, des instruments propres doivent être utilisés pour prélever les échantillons de tissus frais.** On se munira des instruments nécessaires avant de toucher les organes avec les mains gantées. Examiner la position et l'aspect général des organes. Rechercher notamment tout signe d'écoulement de fluide cœlomique, de parasites, d'abcès ou de masses suspectes. Soulever délicatement le ventricule et les intestins pour examiner les sacs alvéolaires et les organes de reproduction.

La présence de fibrine sur les surfaces cœlomiques est significative des infections bactériennes, notamment par des *Chlamydophila*. Les matières blanches et crayeuses présentes à la surface du cœur, du foie et d'autres organes sont, dans la plupart des cas, des cristaux d'acide urique résultant d'une hyperuricémie due à une néphrite ou à une néphrose urique causée par le manque d'eau. L'administration d'une quantité excessive de barbituriques

pendant l'euthanasie peut aussi provoquer des cristaux blancs à la surface du cœur et des principaux vaisseaux. En outre, les barbituriques ont souvent pour effet de liquéfier partiellement ces tissus, ce qui les brunit et les amollit.

La présence de gros caillots de sang dans l'abdomen ou d'un hématome intra-hépatique est souvent due à un traumatisme. Les caillots peuvent également être d'origine hémorragique en raison d'une grosse tumeur, d'une rupture de l'aorte ou d'une vascularité fongique. Une ascite peut être due à une maladie du cœur ou du foie, à l'ingestion de toxines ou à une néoplasie. Des lésions de couleur blanc-jaune sur les sacs alvéolaires, à l'intérieur de la lumière trachéale ou des poumons, signalent le plus souvent une infection fongique (aspergillose), mais peuvent aussi indiquer une infection bactérienne ou des tumeurs.

Chez les oisillons, rechercher tout signe d'infection sur l'ombilic et le sac vitellin.

**Commencer l'examen des tissus du corps tout en prélevant sur chaque organe des échantillons de 0,5 cm qui seront fixés dans du formol tamponné à 10 %. En cas de lésion, placer la moitié de la lésion dans le formol et l'autre moitié dans une fiole stérile où elle sera mise en culture ou congelée dans l'attente de l'analyse histopathologique.**

Examiner le système circulatoire et le système immunitaire. Examiner et échantillonner les glandes thyroïdes qui disparaissent rapidement une fois les autres organes disséqués. Les glandes thyroïdes sont situées à la base même de la carotide interne. Prélever la glande entière et une partie du vaisseau sanguin qui l'entoure permet généralement d'obtenir un échantillon de la glande parathyroïde, du corps ultimobranchial, de l'artère, de la veine, du sac alvéolaire et, chez un jeune oiseau, du thymus ou de la bourse de Fabricius.

Enlever le cœur en sectionnant les principaux vaisseaux à sa base. Pratiquer une coupe transversale le long de l'apex du cœur pour exposer les cavités ventriculaires et les valvules. **Si aucun échantillon sanguin n'a été prélevé ante mortem**, cela peut aisément se faire à l'aide d'une seringue introduite dans la cavité cardiaque; le sang est ensuite transféré avec soin dans un tube de prélèvement sérique qu'on laissera reposer jusqu'à formation du caillot ou stabilisation si l'on ne dispose pas d'une centrifugeuse; le sérum clair est laissé à décanter dans un tube propre.

Les oiseaux anémiés ont des tissus pâles et un sang aqueux. Chez les oiseaux hypovolémiques, les ventricules cardiaques ont souvent un aspect conique et contracté.

Sectionner l'œsophage au niveau de la bifurcation de la trachée. Saisir l'œsophage caudal à l'aide de pinces, et le soulever délicatement pendant la section du péritoine qui maintient le foie et le tractus intestinal à la paroi dorsale du corps. Laisser retomber le foie et le tractus intestinal sur la table, jusqu'au cloaque. Étirer le tractus intestinal et examiner soigneusement la surface séreuse. Examiner le pancréas et la rate. Le pancréas est le tissu brun situé entre les boucles ascendante et descendante du duodénum. La rate est généralement nichée entre le foie et la membrane séreuse de l'estomac, à la jonction du proventricule et du ventricule.

Avant d'enlever le foie de la masse intestinale, évaluer la perméabilité du canal cholédoque en vidant la vésicule biliaire ou le canal cholédoque. Pratiquer une série d'incisions sur le foie pour vérifier l'intégrité du parenchyme hépatique et du système biliaire.

Une décoloration jaune du foie peut être due à une modification physiologique chez une pondeuse ou un très jeune oisillon lorsque le métabolisme lipidique est au plus fort.

Détacher les poumons. Examiner le parenchyme pulmonaire, et pratiquer des incisions dans plusieurs bronches majeures.

Examiner les surrénales et les gonades. Le cas échéant, ouvrir l'oviducte. Confirmer le sexe de l'oiseau selon la forme des gonades. La plupart des femelles présentent seulement un ovaire gauche et un oviducte, à l'exception des kiwis bruns et de certains oiseaux de proie chez qui deux ovaires sont présents.

Examiner les reins et les uretères. Essayer de localiser la bourse de Fabricius qui n'est présente que chez les jeunes oiseaux. Elle est blanche ou brun pâle, et se situe dans la cavité coelomique caudale, juste à l'arrière du cloaque.

Inciser la paroi du tractus intestinal tout entier — cæcum compris — à partir du proventricule (**s'assurer que des échantillons ont été prélevés aux fins des analyses virales et bactériologiques avant d'ouvrir le tractus intestinal**). Examiner le tractus digestif pour déceler des ingesta normaux ou anormaux, des signes d'hémorragie, de nécrose, d'ulcération, de parasites ou d'accident vasculaire.

Examiner la peau, le tégument, les muscles, les os et les articulations. Une masse musculaire réduite, une absence de dépôt graisseux, un foie de taille réduite, des ventricules contractés, une vésicule biliaire pleine et une atrophie séreuse de la graisse sont révélateurs d'une anorexie prolongée. Vérifier la solidité des os en brisant l'un des os longs. Placer la moitié du tibiotarse dans le formol en vue d'une analyse de moelle osseuse. Inciser les tissus mous entourant plusieurs articulations pour mettre en évidence des signes d'évolution dégénérative, d'infection ou de goutte articulaire.

Désarticuler et détacher la tête de la colonne cervicale. À l'aide de ciseaux ou de pincettes, détacher délicatement la partie dorsale du crâne à partir du trou occipital. Examiner attentivement le cerveau et la voûte crânienne. Placer la tête entière dans le formol; à défaut, ôter le cerveau de la voûte crânienne, congeler une moitié du cerveau et conserver l'autre dans le formol.

Placer l'œil dans le formol si l'oiseau était aveugle ou présentait une lésion oculaire.

Si l'oiseau avait la tête pendante ou s'il boitait, des échantillons du nerf fémoral et du plexus brachial doivent être prélevés et conservés dans le formol.

**Entre chaque autopsie, les instruments doivent être stérilisés par immersion dans l'alcool et flambage.**

### Étiquetage

Tous les échantillons doivent être datés et porter un sigle ou une abréviation distinctive renvoyant au site d'échantillonnage (par exemple, AC = arrière-cour). Viennent ensuite les mentions suivantes: MO, MA ou N pour mort, malade ou normal. Puis, T (écouvillonnage de la trachée), Cq (écouvillonnage du cloaque), Rt (rate), Fc (fèces), Se (sérum), Cn (cornets), Tr (trachée), Pm (poumon), F (foie), Pc (pancréas), Cr (cœur), J (jabot), Pr (proventricule), G (gésier), Ig (intestin grêle), Du (duodénum), Cl (colon), Cc (cæcum), Ac (amygdale cæcale), Cv (cerveau), Te (testicule), O (ovaire), Rn (rein). Vient ensuite le numéro d'identification de l'oiseau. Chaque oiseau doit porter le même numéro d'identification, même si plusieurs échantillons sont prélevés.

**Description des tissus (normaux/anormaux)**

Tissu	Normal	Anormal
Poumon	Rose, léger, collabable	Rouge foncé, violacé, lourd
Cœur	Uniformément rouge foncé	Pâle, marbré
Intestin	Rose ou brun pâle avec vascularisation rouge à violette, visible mais non marquée	Vascularisation marquée rouge, noire, bleue à noire
Rate	Rouge foncé, de coloration assez régulière	Rouge vif ou violacé, avec des taches pâles (éventuellement dues aux barbituriques utilisés pour euthanasier l'oiseau)
Foie	Rouge foncé à brun, de coloration régulière	Pâle, jaune, vert, noir, marbré ou de couleur irrégulière
Amygdales caecales	À peine visibles	Tuméfiées, rouge foncé à noir (nécrosées)
Testicules	Surface lisse et blanche	Hémorragiques
Follicules ovariens	Jaunes, de taille évolutive	Hémorragiques
Rein	Brun rouge foncé d'aspect régulier	Pâle, noir, marbré
Pancréas	Beige à brun rose, d'aspect régulier	Hémorragique, marbré
Trachée	Dépourvue d'exsudat	Hémorragique, présence d'exsudats

**Enregistrement des données**

Remplir un rapport d'autopsie détaillé ou une fiche de collecte d'échantillons (Annexe 1) pour garder trace des observations effectuées et inventorier les échantillons prélevés. Expédier une copie du rapport aux autorités vétérinaires compétentes ainsi qu'aux laboratoires de référence de l'OIE/FAO (voir l'Annexe 2).

**Solutions de fixation des tissus aux fins de diagnostic pathologique****Pour 1 litre de solution:**

100 ml de formol (formaldéhyde 38-40 %)

900 ml d'eau distillée

4 g de chlorure de sodium (une cuillerée à soupe de sel) [ou 4,5 g de phosphate monobasique de sodium ou 3,6 g d'hydroxyde de sodium].

**Fourniture de glace sèche**

Avant l'intervention, s'adresser aux hôpitaux, aux banques de sperme ou aux fabricants de crème glacée. Si les échantillons sont expédiés sur de la glace sèche, il faut en mettre assez pour qu'il en reste encore à l'arrivée au laboratoire. Cela exige au minimum un kilo de glace sèche par kilo d'échantillon. Si l'acheminement prend plus de deux jours, il faut prévoir deux kilos de glace sèche ou plus par kilo d'échantillon. La glace sèche doit être manipulée (-78 °C) avec toutes les précautions nécessaires. Des gants de protection doivent être portés, et la zone doit être bien ventilée.



## Liste du matériel d'autopsie aviaire

### Équipement de protection

#### personnelle

- Bâches et cordes pour monter un abri contre la pluie et le soleil
- Anti-moustique
- Crème solaire, chapeau et lunettes
- Eau de boisson
- Vêtements de rechange
- Combinaison
- Tablier en PVC
- Gants de latex ou de ménage
- Lunettes ou visière de protection
- Masques chirurgicaux
- Bottes de caoutchouc et bonnes chaussures de marche
- Seau, brosse à ongles, savon antiseptique, serviettes en papier et désinfectant en bombe
- Torche et lampe frontale
- Trousse de premiers secours
- Téléphone mobile/satellite
- Radiobalise de détresse sur l'eau ou dans des sites très isolés
- Papier hygiénique

#### Matériel de collecte des carcasses

- Sacs-poubelle très résistants
- Ficelle
- Étiquettes, crayon ou marqueur indélébile
- Fiches de collecte d'échantillons

### Autre matériel

- Sacs de qualité étanche aux parasites pour le transport du matériel
- Fiches d'autopsie ou fiches de collecte d'échantillons
- Crayon et taille-crayon
- Porte-bloc recouvert d'un film plastique de protection
- Collecteur de matériels coupants ou piquants
- Appareil photo/piles
- Ruban masque et ruban adhésif
- Règle/balance à ressort
- GPS et cartes

### Matériel d'autopsie

- Couteaux et affûteur
- Ficelle et étiquettes
- Manche de scalpel (x 4) et lames jetables (x 24), ou scalpels jetables
- Pinces diverses
- Ciseaux divers
- Cisaille à volaille ou grands ciseaux à pansements

### Matériel de nettoyage

- Bâche
- Eau, brosse à récurer, détergent
- Sacs-poubelle très résistants
- Désinfectants
- Seaux (portant la mention 1 l, 2 l, 5 l)
- Pulvérisateurs à main ou à pression
- Pédiluve

### Évacuation des carcasses

- Chaux vive
- Gasoil ou autre combustible
- Pelles
- Briquet/allumettes

### Matériel de prélèvement

#### d'échantillons

- Marqueur à encre indélébile
- Seringues – 1, 3, 6, 10, 12 et 20 ml
- Aiguilles de différents calibres (17 à 27)
- Tubes de prélèvement de sérum
- Flacons stériles en plastique - 90 ml
- Fioles cryogéniques de type cryovial — 2 et 5 ml
- Sachets stériles en plastique (de type Whirl-pak®)
- Sacs à fermeture par pression et glissière de tailles diverses
- Récipients en plastique d'un litre contenant une solution de sel, d'eau distillée et de formol tamponné à 10 % (x 3)
- 100 ml d'éthanol à 70-90 %
- Écouvillons pour culture bactérienne
- Milieu de transport viral et écouvillons stériles en polyester
- Écouvillons stériles secs en polyester
- Tubes capillaires
- Lames de microscopie et boîte de rangement
- Microscope (éventuellement avec miroir en l'absence d'électricité) – facultatif
- Centrifugeuse portative 12 volts
- Solution saline
- Agents de préservation pour les parasites (ou formol à 5 %)
- Méthanol pour la fixation des frottis sanguins. Acétone
- Flacons et solution de flottation pour les fèces
- Glaciaire et cryosacs
- Dry-shipper ou vase de Dewar pour le transport de l'azote liquide
- Glace sèche \*
- Pinces de Burdizzo
- Cisaille
- Barbituriques
- Pipettes de transfert
- Fioles cryogéniques de type Cryovial
- CO<sub>2</sub> (permet de fabriquer des CO<sub>2</sub>s sur le terrain)

## Chapitre 5

# Collecte de prélèvements autopsiques

L'autopsie vise à déterminer les causes de la mort; elle requiert un examen attentif, externe et interne, de la carcasse. Le laboratoire sera d'autant mieux à même de diagnostiquer la cause de la mort que l'autopsie aura été bien réalisée et les échantillons correctement prélevés, libellés, conservés et acheminés jusqu'au laboratoire. Mieux l'autopsie aura été faite sur le terrain, plus grande sera la probabilité d'un diagnostic exact.

Tous les échantillons prélevés doivent porter une étiquette mentionnant le numéro d'identification de l'animal, l'espèce, le lieu, la date, l'organe et le type d'échantillon. L'étiquette doit toujours être apposée sur le flacon ou la fiole et non sur le couvercle pour ne pas égarer le numéro d'identification de l'animal lorsque les couvercles sont ôtés pour le traitement des échantillons. Chaque oiseau porte le même numéro d'identification, même si plusieurs échantillons sont prélevés. On utilisera un crayon ou un marqueur indélébile afin que l'encre ne soit pas effacée par le fixateur utilisé (signalons que les fixateurs à base d'alcool peuvent dissoudre l'encre de nombre de marqueurs dits permanents ou indélébiles).

L'étiquette apposée sur l'échantillon doit toujours être rattachée aux informations enregistrées sur la *Fiche de collecte d'échantillons d'oiseaux malades ou morts*. L'une et l'autre doivent impérativement être rédigées lisiblement pour que le personnel du laboratoire puisse s'informer. Le système d'abréviations utilisé pour identifier les tissus recueillis doit être fourni au laboratoire/service d'épidémiologie (voir l'exemple en page 17).

Il est fortement recommandé de prendre contact avec les autorités vétérinaires (dont le directeur est souvent le délégué de l'OIE) et avec le représentant de la FAO avant de collecter des échantillons pour se procurer des trousseaux de diagnostic et s'informer des procédures de prélèvement et de transport des échantillons. Le protocole d'autopsie aviaire présenté au Chapitre 4 a pour objet de faciliter les prélèvements et l'identification des lésions caractéristiques du virus H5N1 de la grippe aviaire chez les volailles. Des informations complémentaires sur les autopsies aviaires sont données sur le site suivant:

[http://www.nwhc.usgs.gov/publications/necropsy\\_manuals/index.jsp](http://www.nwhc.usgs.gov/publications/necropsy_manuals/index.jsp)

## Chapitre 6

# Prélèvement d'échantillons

### Échantillons à prélever en vue du dépistage du virus H5N1 de la grippe aviaire

#### Oiseaux vivants

- 2 écouvillonnages trachéaux et cloacaux, chaque écouvillon devant être placé dans un tube avec milieu de transport viral, et non regroupés dans le même tube.
- Échantillon sanguin conservé dans un tube à couvercle rouge ou vert, réfrigéré et centrifugé; le sérum ou plasma, selon le cas, est recueilli dans un cryovial, et congelé.

Oiseaux morts autopsiés. En plus des prélèvements sanguins et des écouvillonnages mentionnés ci-dessus, fournir:

- un lambeau (d'au moins 2 cm x 2 cm) de rate et de poumon, ainsi que de tout tissu nettement anormal, les échantillons devant être placés dans des flacons stériles différents, et congelés.

*Note:* Après chaque autopsie, les instruments doivent être stérilisés par immersion dans l'alcool et flambage; à défaut, ils peuvent être conservés dans un désinfectant adapté pendant le temps requis, puis rincés à l'eau stérile (voir le Chapitre 11).

### PRÉCISIONS CONCERNANT LES ÉCHANTILLONS À PRÉLEVER

- Écouvillonnages **trachéaux** (voir le Chapitre 7).
- Écouvillonnages **cloacaux** (voir le Chapitre 7).
- **Sérum** ou **plasma** — provenant d'un échantillon sanguin prélevé dans le cœur d'un oiseau mort, puis centrifugé (voir le Chapitre 3).
- **Tissus frais** — conservés dans des flacons stériles, et congelés:
  - foie, rein, trachée, poumon, sacs alvéolaires, cerveau, rate, pancréas, intestin, proventricule, cœur;
 auxquels il faut ajouter:
  - la moitié de toute lésion;
  - un échantillon de cæcum et d'intestin en présence d'une diarrhée.
- Tissus fixés au formol — **prélever au strict minimum:**
  - cerveau, trachée, poumon, cœur, foie, rein, rate, pancréas, bourse de Fabricius (le cas échéant), proventricule/ventricule, duodénum, cæcum, thyroïde/parathyroïde, peau et follicules plumaires.

Dans toute enquête sur une suspicion de la grippe aviaire, on doublera systématiquement les échantillons (dont l'un sera destiné aux tests RT-PCR (réaction en chaîne de la polymérase) en temps réel, et l'autre à l'isolement du virus). Placer les échantillons dans des fioles cryogéniques en polypropylène, de type cryovial, à bouchon vissé avec joint d'étanchéité, et employer des étiquettes résistantes à l'azote liquide

## Chapitre 7

# Techniques d'écouvillonnage

### Liste du matériel de prélèvement par écouvillonnage

- Gants en latex et en vinyle, masque facial de type N95 ou FFP2, lunettes de protection, etc. (voir le Chapitre 12);
- 2 fioles cryogéniques de 2,5 ml, de type cryovial, à bouchon vissé (pouvant être conservées dans l'azote liquide) avec milieu de transport;
- Ecouvillons en rayonne ou en dacron (pas de coton ni de tige en bois qui peuvent empêcher la multiplication virale ou interdire le recours aux techniques de diagnostic moléculaire);
- Ciseaux;
- Glaciaire et pains de glace, ou conteneur d'azote liquide pour la conservation des écouvillonnages et du milieu de transport;
- Marqueur et étiquettes de laboratoire pouvant être conservées dans l'azote liquide;
- Fiches de collecte de données sur les oiseaux;
- Matériel d'emballage et formulaires d'expédition par messagerie.

Les échantillons prélevés par écouvillonnage sur le cloaque et la trachée (entre les deux structures cartilagineuses du fond de la cavité buccale qui s'ouvrent et se ferment avec la respiration) et conservés en milieu de transport viral peuvent être employés en culture virale ou en RT-PCR pour mettre en évidence différents virus pathogènes. Pour éviter de blesser les oiseaux, on utilisera des écouvillons de différentes tailles (taille normale, taille pédiatrique et taille de l'urètre mâle, respectivement utilisés sur les individus de grande et de petite taille).

Il existe différents milieux de transport viral qui sont disponibles en trousse commercialisées, ou peuvent être préparés localement par un laboratoire (2,5 % de bouillon-infusion de veau; 0,5 % d'albumine bovine (BSA); 100 µg/ml de sulfate de gentamycine; et, 2 µg/ml d'amphotéricine B en eau distillée OU infusion de cervelle et de cœur augmentée de pénicilline (10 000 IU/ml), de streptomycine (200-10 000-µg/ml) de sulfate de gentamycine (10 000 µg/ml) et de sulfate de kanamycine (650 µg/ml<sup>5</sup>). Certains produits du commerce sont stables à température ambiante, comme le milieu de transport universel TBD<sup>6</sup> qui est aussi disponible sous forme de trousse (Cellmatics™ Viral Transport Pack) contenant un écouvillon stérile en rayonne et une fiole avec milieu de transport viral.

<sup>5</sup> American Association of Avian Pathologists 4<sup>th</sup> Ed pp. 150-155.

<sup>6</sup> Universal Viral Transport vial, 3ml, catalogue number 220220 (50 x pckg). Cellmatics™ Viral Transport Pack, catalogue number 252171 (50 x pckg) Supplier: Becton Dickinson. Worldwide search: <http://www.bd.com/support/locations.asp>

Cependant, de nombreux milieux de transport viral (notamment ceux préparés localement) ne peuvent être utilisés en zones isolées, car ils doivent être tenus au froid ou congelés avant toute utilisation, et congelés après le prélèvement. On trouve aussi dans le commerce des tampons de lyse virale<sup>7</sup> que l'on peut garder à température ambiante jusqu'au prélèvement des échantillons.

Signalons que les échantillons conservés dans un tampon de lyse ne peuvent être utilisés pour le dépistage des pathogènes par RT-PCR.

Des indications sur la préparation des milieux de transport viral ainsi que sur le prélèvement et la conservation des échantillons destinés au dépistage de la grippe aviaire sont disponibles sur le site suivant:

[http://www.who.int/csr/disease/avian\\_influenza/guidelines/animalspecimens/en](http://www.who.int/csr/disease/avian_influenza/guidelines/animalspecimens/en) ainsi que dans les articles de revues scientifiques appliquant des procédures d'évaluation collégiale.

En l'absence de milieu de transport viral pour l'autopsie d'oiseaux morts, on peut remplacer les écouvillonnages trachéaux par un échantillon de trachée ou de cornets, et les écouvillonnages cloacaux par un échantillon de cloaque portant des fèces. Pour prélever un échantillon de trachée, inciser la peau du cou, puis pratiquer une dissection jusqu'à mise en évidence de la trachée. Pour prendre un échantillon de cornets, découper la partie supérieure du bec à proximité de la tête, et prélever un échantillon de tissu sur le dessus de la cavité buccale.

## PROCÉDURE D'ÉCHANTILLONNAGE

1. Porter des vêtements de protection adaptés pour la manipulation des oiseaux (voir le Chapitre 12) et ouvrir les fioles à échantillons.
2. Sortir l'écouvillon de son emballage par la tige (choisir un écouvillon de taille adaptée à l'oiseau) en prenant soin de ne pas toucher l'embout.
3. Insérer l'intégralité de l'embout dans le cloaque. Tamponner l'intérieur du cloaque en rond, de deux à quatre fois, en appliquant une légère pression.
4. Secouer l'écouvillon pour le débarrasser de tout excès de fèces (>0,5 cm).
5. Ouvrir le cryovial, et plonger l'embout dans le milieu de transport jusqu'aux trois quarts environ de la fiole.
6. Couper ou briser la tige de l'écouvillon à la taille de la fiole pour pouvoir bien visser le couvercle. Le cryovial doit contenir tout l'embout et une partie de la tige.
7. Nettoyer les ciseaux avec de l'alcool à 70 % s'ils ont servi à couper la tige de l'écouvillon.
8. Étiqueter la fiole et inscrire les informations nécessaires (numéro d'identification et type d'échantillon — prélèvement cloacal) en vous assurant que le numéro d'identification mentionné sur le tube correspond à celui des fiches de renseignement sur l'échantillon.
9. Reporter sur la fiche de renseignement le numéro du tube ainsi que le numéro d'identification, la date, l'espèce, le type d'échantillon (cloacal), l'âge, le sexe, le lieu

<sup>7</sup> RNAlater lysis buffer. 50 ml catalogue number 76104, 250 ml catalogue number 76106. Supplier: Qiagen. Worldwide search: <http://www1.qiagen.com>

(de préférence avec coordonnées GPS), le numéro de la bague, et toute observation ou information utile.

- Pour les écouvillonnages trachéaux, reprendre les étapes 1 et 2, et substituer la procédure suivante aux étapes 3 et 4: se synchroniser sur la respiration de l'oiseau, attendre l'ouverture du cartilage protégeant la trachée et insérer délicatement l'embout de l'écouvillon dans la trachée. Tamponner **délicatement** l'arrière et les côtés de la trachée, et retirer l'embout. Reprendre les étapes 5 à 9.

Les écouvillonnages trachéaux ne peuvent être pratiqués sur certains oiseaux de très petite taille (passereaux) en raison de l'ouverture étroite de la trachée. Dans ce cas, il faut prélever un échantillon oropharyngé en roulant délicatement l'embout de l'écouvillon sur le pourtour de la cavité buccale et derrière la langue.

Entre chaque nouveau prélèvement, il faut désinfecter les ciseaux ou cisailles utilisés pour couper la tige des écouvillons. On trouve dans le commerce des écouvillons prédécoupés qui se cassent aisément à la main. Les petits écouvillons ont souvent des tiges de métal. Si vous n'avez pas de cisailles, il faut plonger l'écouvillon dans le milieu de transport viral, bien mélanger, puis jeter l'écouvillon dans un récipient rempli de désinfectant.

À mesure qu'ils sont prélevés, les échantillons doivent être libellés de manière à renvoyer aux informations de la *Fiche de collecte d'échantillons d'oiseaux malades ou morts* ou à la fiche de données dans le cas d'oiseaux vivants (Figure 5).

FIGURE 2  
Prélèvement oropharyngé



AVEC L'AUTORISATION DE: TARONGA ZOO/KARRIE ROSE

FIGURE 3  
Prélèvement cloacal



AVEC L'AUTORISATION DE: TARONGA ZOO/KARRIE ROSE

FIGURE 4  
Coupe de la tige



AVEC L'AUTORISATION DE: TARONGA ZOO/KARRIE ROSE

FIGURE 5  
Étiquetage de l'échantillon



AVEC L'AUTORISATION DE: TARONGA ZOO/KARRIE ROSE

## Chapitre 8

# Manipulation et transport des échantillons

### ÉCOUVILLONS ET MILIEUX DE TRANSPORT VIRAL

Le mode de conservation des milieux de transport viral varie selon le type de milieu utilisé. On consultera le laboratoire de pathologie ou le fournisseur du milieu de transport pour s'informer des méthodes à appliquer avant et après l'échantillonnage.

Certains milieux doivent être conservés, avant et après utilisation, à une température de 4 °C ou dans une glacière contenant des pains de glace. Pour le travail dans des zones isolées, on choisira plutôt un milieu de transport viral que l'on peut garder à température ambiante ou congeler dans l'azote liquide avant et après utilisation. Les tampons de lyse doivent être conservés à température ambiante avant d'être utilisés, puis maintenus au froid après prélèvement des échantillons.

Si les prélèvements peuvent arriver au laboratoire en moins de 48 heures, on peut les transporter sur des pains de glace, puis les conserver au réfrigérateur. S'il faut plus de deux jours pour atteindre un laboratoire compétent, ils doivent être placés dans un congélateur à -70 °C ou dans l'azote liquide. S'ils sont expédiés sur de la glace sèche, ils doivent être protégés dans un conteneur étanche, scellé avec du ruban adhésif, et placé dans un emballage double. En cas de contact avec les échantillons, le CO<sub>2</sub> peut inactiver le virus de la grippe aviaire, car les fioles se contractent sous l'effet de la congélation. La glace sèche (CO<sub>2</sub> (s)) ne doit jamais être mise dans un conteneur hermétiquement clos en raison des risques d'explosion.

Si le milieu de transport utilisé doit être réfrigéré ou congelé, il est essentiel de maintenir la chaîne du froid pendant toute la durée de la conservation et de l'acheminement des échantillons. Toute interruption de la chaîne du froid peut annuler la valeur diagnostique des échantillons.

### SÉRUM, PLASMA ET TISSUS FRAIS

Le sérum, le plasma et les échantillons de tissu frais peuvent être gardés à 4 °C s'il faut moins de 48 heures pour leur acheminement jusqu'au laboratoire. Les échantillons sont conservés sur des pains de glace; les prélèvements sanguins (en tubes à bouchon rouge ou vert) doivent préalablement être protégés dans des sacs fermés par pression et glissière, puis entourés de serviettes en tissu avant d'être placés dans la glacière. Ils ne doivent jamais être en contact direct avec la glace qui risquerait d'endommager les cellules et la morphologie cellulaire.



Si les prélèvements sanguins (tubes à bouchon rouge ou vert) ont déjà été centrifugés et transvasés dans des fioles cryogéniques, celles-ci doivent être mises dans des sacs fermés par pression et glissière qui peuvent être en contact direct avec la glace. À défaut, on peut aussi congeler les fioles dans un congélateur à -70 °C ou dans l'azote liquide et les transporter sur de la glace sèche.

Les appareils garantissant une congélation à -70 °C sont les meilleurs. Le laboratoire doit être informé de la méthode utilisée et de la température de conservation des échantillons<sup>8</sup>. Dans la mesure du possible, on évitera de congeler des écouvillonnages ou des échantillons de tissus à des températures de 0 °C à -20 °C (à savoir celles de la plupart des congélateurs domestiques) bien que cela soit préférable à une absence pure et simple de congélation.

Si les échantillons sont conservés à ces températures, le laboratoire doit en être informé.

### TISSUS FIXÉS AU FORMOL

Les échantillons doivent être fixés dans du formol tamponné neutre à 10 % (voir le Chapitre 4: Protocole d'autopsie aviaire). Ils ne doivent pas dépasser 0,5 cm d'épaisseur pour permettre une pénétration totale du fixateur. Le rapport formol/tissus conservés dans des conteneurs doit être de 10:1. Les échantillons fixés peuvent être conservés à température ambiante et ne doivent **jamais** être congelés.

### EXPÉDITION DES ÉCHANTILLONS

Tout envoi de formol en quantité supérieure à 50 ml est considéré comme un article dangereux par les sociétés de messagerie, d'où une augmentation des coûts et de la complexité d'expédition. Si les échantillons de tissu sont expédiés par messagerie ou par poste, il est préférable de faire décanter le fixateur après fixation des prélèvements pendant au moins 48 heures. Les tissus ne doivent pas être totalement drainés, mais il faut éliminer assez de formol pour que les échantillons puissent être expédiés comme substance non dangereuse.

Les tissus frais ou congelés susceptibles de contenir des agents infectieux doivent être expédiés dans un triple emballage conforme à la réglementation de l'IATA<sup>9</sup>. Il convient de se renseigner sur la réglementation des transports, notamment dans le pays où se déroule l'enquête, et de se procurer les permis nécessaires.

Les laboratoires de référence de la FAO et de l'OIE (voire l'Annexe 2) peuvent préciser les modalités d'expédition des échantillons. On veillera à obtenir les permis réglementaires

<sup>8</sup> Ces informations peuvent être de la plus haute utilité pour l'interprétation des résultats.

<sup>9</sup> Réglementation pour le transport des marchandises dangereuses, 47e édition; ce manuel est disponible en plusieurs langues et peut être acheté sur le site suivant: <http://www.iata.org/ps/publications/9065.htm>. Des modifications importantes ont été apportées à l'édition la plus récente, entrée en vigueur en janvier 2006, et disponible à l'adresse suivante:

<http://www.iata.org/NR/rdonlyres/FBA32FAF-482A-4A04-8147-23C8E935088C/0/SIGNIFICANTCHANGESANDAMENDMENTSTOTHE47THEDITION.pdf>.

Pour plus d'informations sur le transport des substances infectieuses, on se reportera au site suivant: <http://www.iata.org/NR/rdonlyres/B8B91553-49BE-4DCC-901B-50DA4E57A98E/0/GuidanceDocument18Nov05.pdf>  
Des instructions sur les emballages sont données à cette adresse: <http://www.iata.org/NR/rdonlyres/F9D6D81A-71FB-46C3-BD6A-DDE849FD8A56/0/PACKINGINSTRUCTION650.pdf>.

nécessaires auprès des services vétérinaires et environnementaux (notons que des permis d'exportation et/ou d'importation doivent être délivrés pour toute espèce menacée en vertu de la Convention sur le commerce international des espèces de faune et de flore sauvages menacées d'extinction, dite Convention CITES).

Des informations complémentaires sont disponibles à la rubrique « Informations concernant le transport international de prélèvements » du site suivant:

[http://www.fao.org/ag/againfo/subjects/en/health/diseases-cards/avian\\_fao.html](http://www.fao.org/ag/againfo/subjects/en/health/diseases-cards/avian_fao.html);

dans le manuel intitulé *Guidelines for the Submission of Diagnostic Samples to Reference Laboratories*, disponible à l'adresse suivante:

[http://www.fao.org/docs/eims/upload/208595/gui\\_labsample\\_en.pdf](http://www.fao.org/docs/eims/upload/208595/gui_labsample_en.pdf), ainsi qu'à cette adresse: [http://www.who.int/csr/disease/avian\\_influenza/guidelines/transport/en/index.html](http://www.who.int/csr/disease/avian_influenza/guidelines/transport/en/index.html).

Les tissus frais ou congelés doivent être adressés à un laboratoire dans les meilleurs délais. Les livraisons le jour même sont préférables, bien que les services du jour au lendemain restent acceptables. Les prélèvements ne doivent pas être expédiés en fin de semaine ou avant les longs week-ends. S'ils s'égarer pendant le week-end, ils auront souvent perdu leur valeur diagnostique quand ils seront finalement localisés.

**Le laboratoire destinataire doit toujours être informé de l'envoi de prélèvements, du numéro de bordereau d'expédition aérienne et de la date d'arrivée prévue.**

## Chapitre 9

# Diagnostics

Bien que le virus H5N1 ait des points communs avec les autres virus de la grippe aviaire, on pense aujourd'hui qu'il peut être identifié plus facilement à partir du tractus respiratoire (trachée) qu'à partir du cloaque ou de fèces, ce qui le distingue des autres virus influenza communément rencontrés sur des oiseaux sains.

De ce fait, l'analyse d'écouvillonnages trachéaux est considérée comme la meilleure méthode pour la mise en évidence du virus, devant les écouvillonnages cloacaux.

Les lésions pathologiques ne permettant pas de poser un diagnostic formel pour de nombreuses maladies (y compris les virus de la grippe aviaire), le diagnostic doit être confirmé par isolation et caractérisation de l'agent pathogène. Dans la mesure du possible, des tests bactériologiques doivent être réalisés pour exclure les septicémies bactériennes du diagnostic différentiel.

### DIAGNOSTIC DES VIRUS DE LA GRIPPE AVIAIRE PAR LE LABORATOIRE

#### Identification de l'agent

Les écouvillonnages trachéaux et cloacaux (ou les fèces) provenant d'oiseaux vivants, en suspension dans le milieu de transport viral, ou les fèces et échantillons d'organe regroupés prélevés sur des oiseaux morts sont inoculés dans la cavité allantoïde d'œufs embryonnés de poule de 9 à 11 jours. Les œufs sont incubés à une température de 35 à 37 °C pendant une période de 4 à 7 jours. Le liquide allantoïde des œufs dont l'embryon est mort ou tué lorsqu'il apparaît et tous les œufs à la fin de la période d'incubation sont testés pour mettre en évidence la présence d'hémagglutinine. La présence du virus grippal de type A est confirmée par une épreuve d'immunodiffusion à partir de préparations à base de virus concentré et d'un antiserum dirigé contre les nucléocapsides ou les antigènes de la matrice, les deux cas s'appliquant à tous les virus grippaux de type A.

#### Mise en évidence des sous-types du virus

Les sous-types des virus de la grippe aviaire sont déterminés en fonction de leurs antigènes hémagglutinine (H) et neuraminidase (N). Il existe 16 sous-types H et 9 sous-types N pouvant se présenter dans n'importe quelle combinaison. À ce jour, tous les virus de la grippe aviaire étaient de sous-type H5 ou H7.

## Tests de pathogénicité

La pathogénicité peut être déterminée par l'une ou plusieurs des épreuves suivantes:

- a) tests de pathogénicité pour le *poulet*;
- b) culture cellulaire; et,
- c) pathotypage moléculaire.

La pathotypage moléculaire est la méthode la plus rapide. Dès lors qu'un virus a été caractérisé, la virulence de la souche peut être confirmée par immunohistochimie, immunofluorescence, détection de l'antigène viral et isolement du virus.

## Mise en évidence d'une primo-infection

Une primo-infection peut être mise en évidence par la recherche d'anticorps spécifiques de la grippe aviaire de type A au moyen d'un test d'immunodiffusion sur gel d'agar (AGID) ou d'un test ELISA d'immuno-absorption enzymatique, ou par la recherche d'anticorps spécifiques anti-H ou anti-N, en pratiquant respectivement un test d'inhibition de l'hémagglutination ou un test ELISA.

Des instructions détaillées sur les méthodes et les procédures normalisées internationalement acceptées figurent dans le Manuel des tests de diagnostic et des vaccins pour les animaux terrestres, Chapitre 2.7.12, grippe aviaire (version adoptée en mai 2005): [http://www.oie.int/eng/normes/mmanual/A\\_00037.htm](http://www.oie.int/eng/normes/mmanual/A_00037.htm)

On trouvera à l'Annexe 2 la liste des laboratoires de référence de l'OIE et de la FAO pour la détermination de la grippe aviaire, sur l'un des sites suivants:

<http://www.offlu.net>

<http://www.fao.org/ag/aga/agah/VS/Default.htm> or

[http://www.oie.int/eng/avian\\_influenza/List\\_lab\\_ref\\_2006.pdf](http://www.oie.int/eng/avian_influenza/List_lab_ref_2006.pdf)

## TESTS DE DIAGNOSTIC RAPIDE

Dans certains cas, il peut être recommandé de faire un test de dépistage rapide des antigènes de la grippe aviaire à partir d'écouvillonnages cloacaux ou trachéaux prélevés sur des oiseaux malades et/ou morts. De nombreuses trousse de diagnostic rapide sont désormais commercialisées pour le dépistage des virus de la grippe de type A<sup>10</sup>. Citons notamment Flu Detect (Synbiotics™)<sup>11</sup>, Directigen Flu A® (Becton Dickinson)<sup>12</sup> et Flu OIA® (Biostar Inc)<sup>13</sup>.

Des informations complémentaires sur les tests de diagnostic des infections humaines sont disponibles sur le site web de l'OMS, à l'adresse suivante:

<sup>10</sup> La fiabilité, la reproductibilité, l'exactitude, la sensibilité ou la spécificité des tests mentionnés ici ne sont garanties ni par les auteurs, ni par leurs organismes de tutelle. Ces informations sont fournies à titre purement indicatif. De manière générale, ces tests s'appliquent spécifiquement au diagnostic des virus influenza de type A, mais ils ont une faible sensibilité. De ce fait, un résultat négatif n'implique pas nécessairement une absence de virus influenza de type A. Les auteurs sont conscients qu'il existe d'autres fabricants, et que des recherches sont en cours pour améliorer les tests de diagnostic rapide.

<sup>11</sup> Flu Detect™, Manufacturer Synbiotics. Code produit 96-6800 (20 tests). Pour plus d'informations, voir le site suivant: <http://www.synbiotics.com/>

<sup>12</sup> Directigen™ Flu A + B Test Kit. Manufacturer TBD. Code catalogue 256010 (20 tests). Voir le site suivant: <http://www.bd.com/ds/productCenter/256010.asp>

<sup>13</sup> Biostar® OIA® Flu. Manufacturer Biostar Inc. Numéro de commande FLU30 (30 tests). Se reporter au site suivant pour plus d'informations: [http://www.biostar.com/products/oia\\_flu.html](http://www.biostar.com/products/oia_flu.html)

[http://www.who.int/csr/disease/avian\\_influenza/guidelines/RapidTestInfluenza\\_web.pdf](http://www.who.int/csr/disease/avian_influenza/guidelines/RapidTestInfluenza_web.pdf). Tous les tests de diagnostic doivent être coordonnés par le directeur des Services vétérinaires.

La tenue de protection personnelle complète, décrite dans la section sur la sécurité personnelle (voir le Chapitre 12), doit être portée pour le test. Notons que l'on trouve dans le commerce plusieurs autres trousseaux de dépistage de la grippe, mais leurs résultats ne sont guère fiables. La plus grande prudence s'impose, car les positifs peuvent être de vrais positifs, mais les tests rapides peuvent aboutir à de faux négatifs.

Les résultats de ces tests doivent donc être pris à titre purement indicatif, car ils sont moins sensibles que les autres épreuves diagnostiques, et ils ne sont pas spécifiques aux antigènes H ou N. En conséquence, tout résultat positif obtenu au moyen d'un test rapide doit être confirmé dans des conditions de biosécurité de niveau trois, de préférence par un laboratoire public de pathologie vétérinaire ou par les laboratoires de référence de l'OIE ou de la FAO (voir l'Annexe 2).

### **RT-PCR**

La présence de virus influenza peut être confirmée par RT-PCR (transcription inverse suivie d'amplification en chaîne par polymérase) en utilisant des amorces spécifiques de la région conservée du gène de la nucléoprotéine ou du gène de la matrice. La même technique permet aussi d'identifier des virus de type H5 ou H7 à partir d'amorces spécifiques des régions conservées des gènes H5 et H7. Signalons qu'un résultat négatif n'exclut pas le virus influenza, et ne doit pas être pris comme seule base de décision. Le diagnostic et la détermination du sous-type antigénique des virus de la grippe de type A doivent être confirmés par l'un des laboratoires de référence de l'OIE ou de la FAO (voir l'Annexe 2).

## Chapitre 10

# Élimination des carcasses

L'élimination des carcasses a pour but d'éviter toute infection humaine ou animale par l'agent pathogène du fait de la contamination du milieu. Elle doit être confiée à des personnes dûment formées et encadrées qui observent des précautions rigoureuses pour leur sécurité personnelle.

### **SUR LE TERRAIN**

Dans les enquêtes sur des flambées épidémiques touchant des espèces sauvages, l'incinération est généralement la méthode de choix pour l'évacuation des carcasses et des matériaux contaminés. Les carcasses peuvent être incinérées au sol ou dans des fosses. Le feu doit être constamment alimenté et suffisamment aéré pour brûler à feu vif et réduire totalement les carcasses. Le bois, le charbon, le gasoil et d'autres combustibles ont été utilisés avec de bons résultats.

Si l'incinération n'est pas faisable ou souhaitable, l'enfouissement est souvent la méthode retenue. Les sites d'enfouissement doivent être prudemment sélectionnés en tenant compte de la circulation des eaux souterraines, du drainage et des risques d'érosion qui auraient pour effet d'exposer les carcasses. Les carcasses doivent être jetées dans une fosse, recouvertes d'une fine couche de terre, puis de chaux et enfin, d'au moins un mètre de terre afin de dissuader les charognards.

Des instructions plus détaillées sur les procédures d'élimination des carcasses sur le terrain sont disponibles dans le *Field Manual of Wildlife Diseases* (NWHC, USGS), à l'adresse suivante: [http://www.nwhc.usgs.gov/publications/field\\_manual/chapter\\_4.pdf](http://www.nwhc.usgs.gov/publications/field_manual/chapter_4.pdf)

D'autres informations sont également fournies dans le manuel intitulé AUSVETPLAN Operational Procedures Manual: Disposal (Edition 2, Version 2.0, 1996).

## Chapter 11

# Désinfection

The purpose of disinfection is to prevent the mechanical spread of disease agents from one location to another by people, equipment or supplies. Before leaving a site, adequately dispose of non-reusable materials, and disinfect clothes and boots and all equipment to the extent possible. Care should be taken to decontaminate all objects that have come in contact with potentially infectious materials, e.g., necropsy instruments, clothing, cages, restraint or capture equipment, vehicles, boots, etc.

The avian influenza virus is easier to destroy than many viruses since it is very sensitive to detergents which destroy the fat-containing outer layer of the virus. This layer is needed to enter cells of animals and therefore destroys the infectivity. However, since the virus survives well in water and simple washing may help the virus enter areas where it can be picked up by other birds, any washing to remove contamination should always be with detergents (soapy water) or specific disinfectants.

Suitable decontamination procedures include wipe down with 10% bleach (0.5% hypochlorite), Lysol ® or similar quaternary ammonium compounds, Virkon ®, Virocid ® or 70% ethanol (see box below for detailed list of products and methods). Wash boots and the outsides of plastic bags containing collected specimens with a 5% solution of household chlorine bleach.

Give special attention to vehicles leaving an outbreak site. Disinfect the undersides of vehicles that have been at a site – pressure or hand sprayers can be used to dispense disin-

### Procédures de désinfection des milieux contaminés par les virus de la grippe aviaire hautement pathogène

Articles à désinfecter	Désinfectant/substance chimique/procédure (voir la liste des clés)
Oiseaux morts/carcasses	Incinération ou enfouissement
Cages et loges/matériel	1, 2a, 2b, 2c, 2d ou 3
Personnes	1
Matériel électrique	5
Réservoirs d'eau	Si possible, vidange dans les pâturages
Mares utilisées par les volailles/canards	Si possible, vidange dans les pâturages
Aliments pour animaux	Enfouissement
Effluents, fumier	Incinération ou enfouissement, 4, 3 4
Habitations	1, 2a, 2b, 2c ou 2d
Machines, véhicules	1, ou 3
Vêtements	1, 2a, 2b, 2c, 2d ou 3
Aéronef	1, 2c ou 2d

## Liste des clé

Désinfectant	Forme et concentration	Temps de contact et observations
<b>1. Savons et détergents</b>		
1. Savons et détergents		Laisser en contact 10 minutes
<b>2. Agents oxydants</b>		
2a. Hypochlorite de sodium	Forme liquide; diluer jusqu'à obtention d'une solution à 2-3 % de chlore actif	Laisser en contact 10 à 30 minutes Improprie pour les matières organiques
2b. Hypochlorite de calcium	Poudre ou forme solide, diluer jusqu'à obtention d'une solution à 2-3 % de chlore actif (20 g/l); solide: 30 g/l	Laisser en contact 10 à 30 minutes
2c. Virkon®	Solution à 2 % (20 g/l)	Laisser en contact 10 minutes
2d. Viroid®	Dilution à 1: 400	Laisser en contact 10 minutes Non testé sur les surfaces poreuses
<b>3. Alkalis</b>		
3a. Hydroxyde de sodium (soude caustique) (NaOH).	Solution à 2 % (20 g/l)	Laisser en contact 10 minutes Recommandé pour les matières organiques ne pas utiliser en présence d'aluminium et d'alliages analogues
3b. Carbonate de sodium -anhydre (Na <sub>2</sub> CO <sub>3</sub> ) -cristaux de soude (NaCO <sub>3</sub> .10 H <sub>2</sub> O)	Poudre diluée à 4 % (40 g/l) 100 g/l pour les cristaux de soude	Laisser en contact 10 minutes (anhydre) Laisser en contact 30 minutes (cristaux de soude) Recommandé pour les matières organiques; 10 minutes (anhydre) 30 minutes (cristaux de soude)
<b>4. Acids</b>		
4a. Acide chlorhydrique	Solution à 2 % (20 ml/l) l'absence	Produit corrosif à n'utiliser qu'en de produits mieux adaptés
4b. Acide citrique	Solution à 0,2 % (2 g/l)	Laisser en contact 30 minutes sans danger pour la désinfection des vêtements et des personnes
<b>5. Gas</b>		
5a. Formaldéhyde	Nécessite une préparation spéciale	Laisser en contact de 15 à 24 heures dans les milieux clos. Produit toxique à n'utiliser qu'en l'absence de méthode mieux adaptée

fectant. Wash vehicles thoroughly before moving to other areas. Detailed information on disposal procedures can be found in the *AUSVET Plan Decontamination Manual* (Edition 2, Version 2.1, 2000), or [http://www.fao.org/ag/againfo/subjects/en/health/diseases-cards/avian\\_qa.html#7](http://www.fao.org/ag/againfo/subjects/en/health/diseases-cards/avian_qa.html#7)

The table above provides guidance for veterinary officers and others coming into direct with poultry on the selection and application of decontamination procedures – these procedures can be applied to wildlife outbreaks as well but remember that adaptation to specific country circumstances will always be necessary.



## Chapitre 12

# Protection personnelle

Les agents de protection de la faune, les professionnels de santé et les personnes qui sont en contact avec des oiseaux malades, blessés ou morts doivent prendre les précautions d'usage pour se protéger de toute exposition aux agents pathogènes, notamment en cas de suspicion d'infections respiratoires chez ces oiseaux ou lorsqu'ils travaillent dans des endroits où la présence du H5N1 est soupçonnée ou confirmée.

### **Considérations spéciales relatives à la grippe aviaire hautement pathogène**

Chez l'homme, l'infection ne peut survenir que par suite d'une exposition directe au virus vivant contenu dans des gouttelettes d'aérosol ou des fluides contaminés. Les êtres humains peuvent être infectés par contact avec toute muqueuse (par exemple par inhalation, ingestion, projection dans les yeux ou par des lésions cutanées).

La peau exposée ou contaminée doit être lavée à l'eau savonneuse. Toute affection de type grippal survenant dans les quatre jours suivant un contact avec des oiseaux doit être considérée comme une suspicion de grippe aviaire et traitée en conséquence. Un traitement antiviral post-exposition doit être envisagé et discuté avec le médecin traitant.

Les recommandations suivantes visent à réduire au minimum la dispersion de gouttelettes d'aérosol, les contacts et la transmission aérienne du virus; elles sont inspirées des précautions type de l'Organisation mondiale de la santé ainsi que du Plan *AUSVET 2000*.

### **Ne pas manger, boire ou fumer lors de toute intervention auprès d'oiseaux malades ou morts.**

### **Lavage des mains**

Le lavage des mains est la première précaution à prendre pour se prémunir contre l'infection et éviter de la transmettre.

- Les mains doivent être lavées à l'eau savonneuse chaude avant d'enfiler les gants de protection et après les avoir enlevés.
- Il faut toujours se laver les mains avant et après manger, fumer et utiliser les toilettes.
- Les cigarettes, les briquets et les téléphones portables ne doivent pas être touchés avant de s'être bien lavé les mains.

Pour se laver les mains, passer le dos et les paumes à l'eau chaude, ajouter du savon, du détergent ou un antiseptique pour usage hospitalier, faire mousser et laver le dos, entre

les doigts et les paumes des mains. Rincer abondamment et essuyer avec une serviette en papier. S'il n'y a pas de robinet automatique ou de système à pied, on prendra soin de ne pas toucher les robinets, ou de les nettoyer ensuite.

S'il n'y a pas d'eau courante, on utilisera une préparation à base d'alcool pour se laver les mains selon la procédure ci-dessus.

### Tenue de protection personnelle

La tenue de protection personnelle se compose de quatre éléments essentiels permettant de se protéger des maladies respiratoires:

- masque facial (il est recommandé d'utiliser des masques de type N-95 ou FFP2 pour examiner des animaux présentant des symptômes de maladies respiratoires ou intervenir dans des endroits où le virus H5N1 a été diagnostiqué chez des volailles ou des oiseaux sauvages);
- lunettes ou visière de protection;
- gants (pas nécessairement stériles); et,
- surblouse ou combinaison à manches longues (avec tablier en plastique contre les projections).

Avant d'enfiler la tenue de protection personnelle, il faut **se laver les mains**, puis mettre les différents éléments de la tenue dans l'ordre suivant:

- 1) combinaison;
- 2) coiffe;
- 3) tablier en plastique;
- 4) surbottes;
- 5) masque – qui doit être étroitement ajusté sur le visage, en particulier autour du nez;

#### Tenue de protection personnelle: les étapes de l'habillage



- 6) lunettes; et,
- 7) gants.
- 8) Deux paires de gants sont hautement souhaitables; on veillera alors à ce que les poignets de la seconde paire recouvrent ceux de la combinaison.

### Les étapes de l'habillage

L'ordre dans lequel sont passés les éléments de la tenue de protection personnelle prend toute son importance pour enlever la tenue.

Une fois le travail achevé, la tenue sera ôtée de manière à ne pas s'exposer ou exposer d'autres personnes à des matières potentiellement infectieuses. Des sacs-poubelles et un conteneur pour le matériel réutilisable doivent donc être préparés auparavant.

### Les étapes du déshabillage

Les différents éléments de la tenue de protection personnelle doivent être enlevés dans l'ordre suivant:

- 1, 1a) la seconde paire de gants et les lunettes (articles réutilisables devant être placés dans le conteneur destiné à la désinfection);
- 2) le tablier (les tabliers en PVC épais sont réutilisables et doivent être mis dans le conteneur destiné à la désinfection);
- 3) les surbottes;
- 4, 4a, 4b, 4c, 4d, 4e) la combinaison (qui doit être roulée vers le bas);
- 5) le masque (ne pas attraper le masque par l'avant; il doit être ôté au moyen des sangles à l'arrière de la tête; il faut d'abord passer la sangle du bas par-dessus la tête, puis celle du haut, en écartant le masque du visage, puis le jeter dans le sac-poubelle);
- 6) en dernier lieu, la coiffe;
- 7) **Ne pas oublier de se laver les mains.**

### Fournitures nécessaires au nettoyage et à la désinfection des vêtements et du matériel

Seaux en plastique, brosses, serviettes jetables en papier, sacs-poubelles en plastique, cuvettes pour se laver les pieds, savon antiseptique, détergent et désinfectants.

### Précautions spéciales concernant les déchets, les vêtements et le matériel utilisés

Tous les déchets résultant de l'examen et de la manipulation d'oiseaux présentant des symptômes de maladie infectieuse doivent être considérés comme potentiellement contaminés. Les gants, les combinaisons, les surbottes, les masques et les coiffes jetables ne doivent pas être réutilisés. Dans toute la mesure du possible, les articles jetables et les carcasses d'oiseaux doivent être adressés à un centre d'incinération de matières infectieuses.

Sur le terrain, les surblouses, les vêtements et autres matériels réutilisables doivent être lavés avec du détergent et de l'eau savonneuse chaude, puis désinfectés. La plupart des virus aviaires sont sensibles à une large gamme de détergents et de désinfectants pour usage hospitalier (voir le tableau du Chapitre 11 et la liste ci-dessous). Tous ces articles doivent impérativement être lavés et rincés avant d'être désinfectés.

**Les désinfectants** actifs contre les virus de la grippe aviaire sont notamment:

- l'hypochlorite de sodium à 2 % (10-30 minutes);
- les sels d'ammonium quaternaire à 4 %;
- les phénols synthétiques à 2 %;
- le carbonate de sodium (cristaux de soude) – (10 % poids/volume pendant 30 minutes); et,
- l'acide citrique (0,2 % poids/volume pendant 30 minutes) – adapté à la désinfection des vêtements et des personnes.

#### Tenue de protection personnelle: les étapes du déshabillage



**Maintenant, ne pas oublier de se laver les mains**

## Annexe 1

# Fiche de collecte d'échantillons d'oiseaux malades ou morts

## PAGE DE COUVERTURE (ÉCHANTILLON)

Déclarant	Incident
Nom: <u>Florence Smith</u>	Date de l'observation: <u>10/10/06</u>
Service/Organisation: <u>Birds United</u>	Date du rapport: <u>14/10/06</u>
Adresse: <u>23 Wetlands Avenue</u> <u>Migration, Ukraine</u>	<b>Lieu</b> (description exacte, si possible avec données GPS): <u>lisière de la zone humide</u> <u>32.39 longitude</u> <u>46.13 latitude</u>
Tél: <u>0724-1698-322</u>	
Télécopie: <u>0724-1698-320</u>	
Mobile #: <u>07399-149-2777</u>	Propriétaire et accès terrestre: _____
Courriel: <u>Fsmi@birdunit.org</u>	<u>Zone faisant partie d'un parc</u>
Signature: <u>Florence Smith</u>	<u>naturel</u>
<b>Renseignements sur l'oiseau:</b>	
Espèce (nom commun, genre et espèce): <u>sarcelle d'été</u>	
Total pour chaque espèce: <u>62</u> Indemnes/sains: <u>50</u> Malades: <u>10</u> Morts: <u>2</u>	
Âge approximatif des oiseaux touchés: <input type="checkbox"/> Oisillons <input type="checkbox"/> Juvéniles <input checked="" type="checkbox"/> Adultes	
Sexe des oiseaux malades: <input checked="" type="checkbox"/> Inconnu <input type="checkbox"/> Mâle <input type="checkbox"/> Femelle	
<b>Description de l'incident:</b> <u>2 sarcelles d'été trouvées mortes sur le rivage, 10 autres sarcelles isolées des autres, en train de nager en rond, posture anormale de la tête</u>	
<b>Conditions environnementales:</b> conditions météo, précipitations récentes, état de la mer, substances chimiques récemment utilisées sur le site, modification du niveau de la nappe phréatique, modifications dans la gestion des animaux domestiques: _____	
<b>Signes cliniques:</b> <u>tournis, posture anormale de la tête, état léthargique</u>	
<b>Observations pathologiques:</b> <u>pâleur du foie, pas d'aliments dans le tractus gastro-intestinal, bon état corporel, absence de fracture ou traumatisme</u>	
<b>Interventions:</b> <u>Informé les autorités vétérinaires et le Ministère de l'agriculture</u>	
Ajouter autant de feuillets que nécessaire pour fournir une description complète et des observations	



## Annexe 2

# Réseau OIE/FAO (OFFLU) et laboratoires de référence pour la grippe aviaire

L'OFFLU est un réseau d'experts de la grippe, conjointement créé par l'OIE et la FAO en avril 2005. Il a pour objectifs de:

- 1) veiller à l'échange de données scientifiques et de matériels biologiques (notamment de souches virales) au sein du réseau, et de partager les informations avec la communauté scientifique;
- 2) fournir des avis techniques et des compétences vétérinaires spécialisées aux États membres pour faciliter le diagnostic, la surveillance et l'éradication de la grippe aviaire;
- 3) collaborer avec le réseau mondial OMS de surveillance de la grippe pour toute question intéressant l'interface homme-animal; et,
- 4) faire connaître les besoins en matière de recherche sur la grippe, promouvoir la recherche et veiller à la coordination des travaux.

De plus amples informations sont disponibles sur le site du réseau, à l'adresse suivante:  
<http://www.offlu.net>

### **BUREAUX DE LA FAO DANS LE MONDE**

Des informations sur le lieu des représentations et des bureaux de liaison régionaux et sous-régionaux de la FAO sont disponibles à l'adresse suivante:

[http://www.fao.org/countryprofiles/physical\\_presence.asp?lang=en](http://www.fao.org/countryprofiles/physical_presence.asp?lang=en).

On accède aux renseignements concernant les bureaux des représentants dans les pays en cliquant sur le point de la carte qui renvoie à l'aperçu du pays recherché.

D'autres informations peuvent être obtenues à l'adresse suivante, en cliquant sur les noms de pays énumérés sous la carte:

<http://www.fao.org/countryprofiles/selectiso.asp?lang=en>.

### **MEMBRES ET REPRÉSENTATIONS RÉGIONALES DE L'OIE**

Une liste des États membres et des délégués officiels de l'OIE est disponible à l'adresse suivante: [http://www.oie.int/eng/OIE/PM/en\\_PM.htm](http://www.oie.int/eng/OIE/PM/en_PM.htm). Les coordonnées des personnes compétentes sont accessibles en cliquant sur le nom du pays.

L'OIE compte des représentations dans les régions suivantes: Afrique, Amériques, Asie-Pacifique, Europe de l'Est et Proche-Orient. Pour plus d'informations sur les représentations régionales de l'OIE, on consultera le site: [http://www.oie.int/eng/OIE/organisation/en\\_RR.htm](http://www.oie.int/eng/OIE/organisation/en_RR.htm)

## LISTE DES LABORATOIRES DE RÉFÉRENCE OIE/FAO ET AUTRES EXPERTS DE LA GRIPPE AVIAIRE

\* astérisques signalent les laboratoires de référence de la FAO pour la grippe aviaire

(Des mises à jour sont disponibles sur le site suivant: [http://www.oie.int/eng/avian\\_influenza/vaccines.htm](http://www.oie.int/eng/avian_influenza/vaccines.htm))

### **VLA Weybridge\***

New Haw, Addlestone, Surrey KT15 3NB, ROYAUME-UNI

Tél: (+44.1932) 34.11.11 Télécopie: (+44.1932) 34.70.46

Correspondant: Dr Ian Brown

Courriel: [i.h.brown@vla.defra.gsi.gov.uk](mailto:i.h.brown@vla.defra.gsi.gov.uk)

### **CSIRO, Australian Animal Health Laboratory (AAHL)\***

5 Portarlington Road, Private Bag 24, Geelong 3220, Victoria, AUSTRALIE

Tél: (+61.3) 52.27.50.00 Télécopie: (+61.3) 52.27.55.55

Correspondant: Dr Paul W. Selleck

Courriel: [paul.selleck@csiro.au](mailto:paul.selleck@csiro.au)

### **National Veterinary Services Laboratories\***

P.O. Box 844, Ames, IA 50010, ÉTATS-UNIS D'AMÉRIQUE

Tél: (+1.515) 663.75.51 Télécopie: (+1.515) 663.73.48

Correspondant: Dr B. Panigrahy

Courriel: [brundaban.panigrahy@aphis.usda.gov](mailto:brundaban.panigrahy@aphis.usda.gov)

### **Istituto Zooprofilattico Sperimentale delle Venezie, Laboratorio Virologia\***

Via Romea 14/A, 35020 Legnaro, Padova, ITALIE

Tél: (+39.049) 808.43.69 Télécopie: (+39.049) 808.43.60

Correspondant: Dr Ilaria Capua

Courriel: [icapua@izsvenezie.it](mailto:icapua@izsvenezie.it)

### **Graduate School of Veterinary Medicine, Hokkaido University, Department of Disease Control**

Kita-18, Nishi-9, Kita-ku, Sapporo 060-0818, JAPON

Tél: (+81.11) 706.52.07 Télécopie: (+81.11) 706.52.73

Correspondant: Dr H. Kida

Courriel: [kida@vetmed.hokudai.ac.jp](mailto:kida@vetmed.hokudai.ac.jp)

### **National Reference Laboratory for Highly Pathogenic Avian Influenza and Newcastle Disease, Institute of Diagnostic Virology, Federal Research Centre for Virus Diseases of Animals**

Insel Riems, Boddenblick 5a, 17493 Greifswald — Insel Riems, ALLEMAGNE

Tél: (+41) 383.517.152 Télécopie: (+41) 383.517.151

Correspondant: Dr Ortrud Werner

Courriel: [ortrud.werner@rie.bfav.de](mailto:ortrud.werner@rie.bfav.de)



**Dr Ian Brown or Dr. Dennis Alexander**

VLA Weybridge  
New Haw, Addlestone, Surrey KT15 3NB, ROYAUME-UNI  
Tél: (+44.1932) 34.11.11 Télécopie: (+44.1932) 34.70.46  
Tél: (+44.1932) 35.74.66 Télécopie: (+44.1932) 35.72.39  
Courriel: i.h.brown@vla.defra.gsi.gov.uk  
Courriel: d.j.alexander@vla.defra.gsi.gov.uk

**Dr Ilaria Capua**

Istituto Zooprofilattico Sperimentale delle Venezie, Laboratorio Virologia  
Via Romea 14/A, 35020 Legnaro, Padova, ITALIE  
Tél: (+39.049) 808.43.69  
Télécopie: (+39.049) 808.43.60  
Courriel: icapua@izsvenezie.it

**Dr Véronique Jestin**

Unité de pathologie aviaire Zoopôle Beaucemaine-Les Croix  
BP 53, 22440 Ploufragan, FRANCE  
Tél: (+33.2) 96.01.62.81  
Télécopie: (+33.2) 96 01 62 73  
Courriel: v.jestin@ploufragan.afssa.fr

**Dr William Karesh**

Chief of Party, Wild Bird Global Avian Infl. Network for Surveillance  
Department Head, Field Veterinary Program  
Wildlife Conservation Society  
2300 Southern Blvd.  
Bronx, New York 10460, ÉTATS-UNIS D'AMÉRIQUE  
Tél: (+1.718) 220-5892  
Télécopie: (+1.718) 220-7126  
Courriel: wkaresh@wcs.org

**Dr Hiroshi Kida**

Graduate School of Veterinary Medicine, Hokkaido University, Department of Disease Control  
Kita-18, Nishi-9, Kita-ku, Sapporo 060-0818, JAPON  
Tél: (+81.11) 706.52.07 Télécopie: (+81.11) 706.52.73  
Courriel: kida@vetmed.hokudai.ac.jp

Des informations complémentaires sont disponibles sur le site de l'OFFLU: [www.offlu.net](http://www.offlu.net)

**Dr. Scott Newman**

International Wildlife Coordinator for Avian Influenza  
Infectious Disease Group/EMPRES  
Animal Health Service  
Food and Agriculture Organization of the United Nations  
Viale delle Terme di Caracalla, Rome, ITALIE 00100  
Tél: (+39.06) 57053068  
Courriel: scott.newman@fao.org or juan.lubroth@fao.org

**Dr Paul W. Selleck**

CSIRO, Australian Animal Health Laboratory (AAHL)  
5 Portarlington Road, Private Bag 24, Geelong 3220, Victoria, AUSTRALIE  
Tél: (+61.3) 52.27.50.00 Télécopie: (+61.3) 52.27.55.55  
Courriel: paul.selleck@csiro.au

**Dr Dennis Senne**

National Veterinary Services Laboratories  
P.O. Box 844, Ames, IA 50010, ÉTATS-UNIS D'AMÉRIQUE  
Tél: (1.515) 663.75.51 Télécopie: (1.515) 663.73.48  
Courriel: dennis.a.senner@aphis.usa.gov

**Dr David Swayne**

Southeast Poultry Research Laboratory  
USDA/ARS  
934 College Station Road, Athens, Georgia, ÉTATS-UNIS D'AMÉRIQUE  
Tél: (+1) 706-546-3433  
Télécopie: (+1) 706-546-3161  
Courriel: dswayne@seprl.usda.gov

**Dr Ortrud Werner**

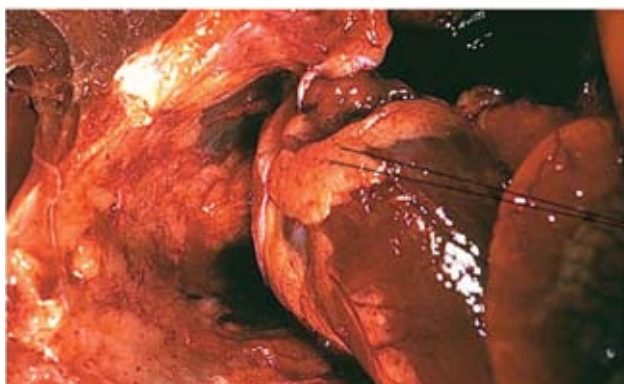
National Reference Laboratory for Highly Pathogenic Avian Influenza and Newcastle Disease  
Institute of Diagnostic Virology, Federal Research Centre  
for Virus Diseases of Animals (BFAV)  
Insel Riems, Boddenblick 5a, 17493 Greifswald — Insel Riems, ALLEMAGNE  
Tél: (+41) 383.517.152 Télécopie: (+41) 383.517.151  
Courriel: ortrud.werner@rie.bfav.de

## Annexe 3

# Illustrations de pathologie clinique

Les photographies ci-dessous illustrent la pathologie clinique fréquemment observée chez les volailles infectées par la grippe aviaire hautement pathogène. Ces symptômes peuvent ou non se retrouver sur les oiseaux sauvages exposés aux virus de la grippe aviaire.

Figure 6



Pétéchies sur  
l'atrium et le  
péricarde

AVEC L'AUTORISATION DE : USDA

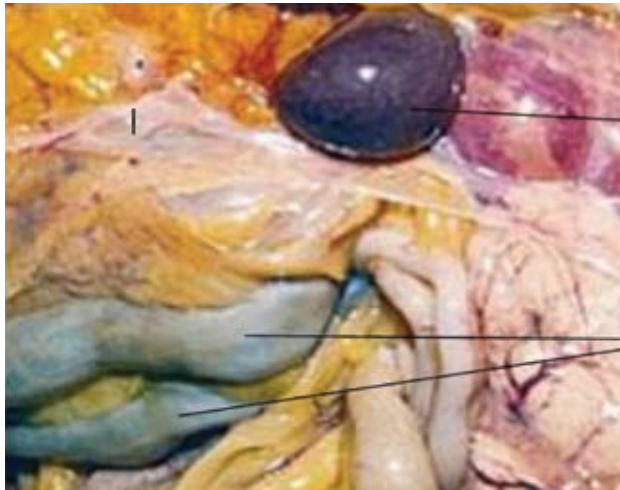
Figure 7



Hémorragies des follicules  
ovariens

AVEC L'AUTORISATION DE : USDA

Figure 8



Rate hémorragique

Intestin grêle nécro-hémorragique

AVEC L'AUTORISATION DE: USDA

Figure 9

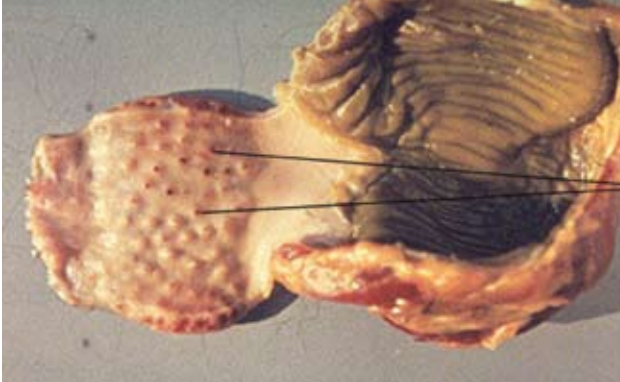


Intestin grêle nécro-hémorragique

Pancréas hémorragique

AVEC L'AUTORISATION DE: USDA

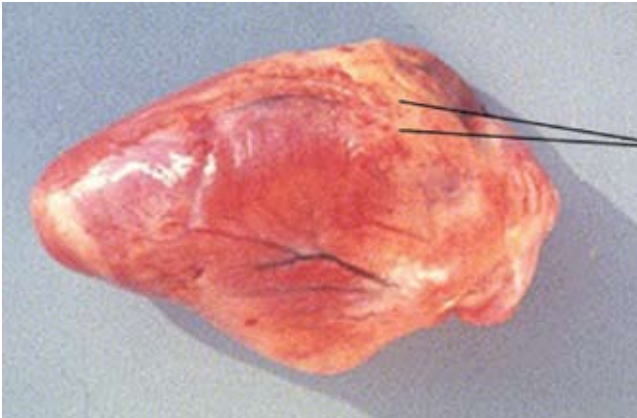
Figure 10



Proventricule épaissi avec  
pétéchies (gésier normal)

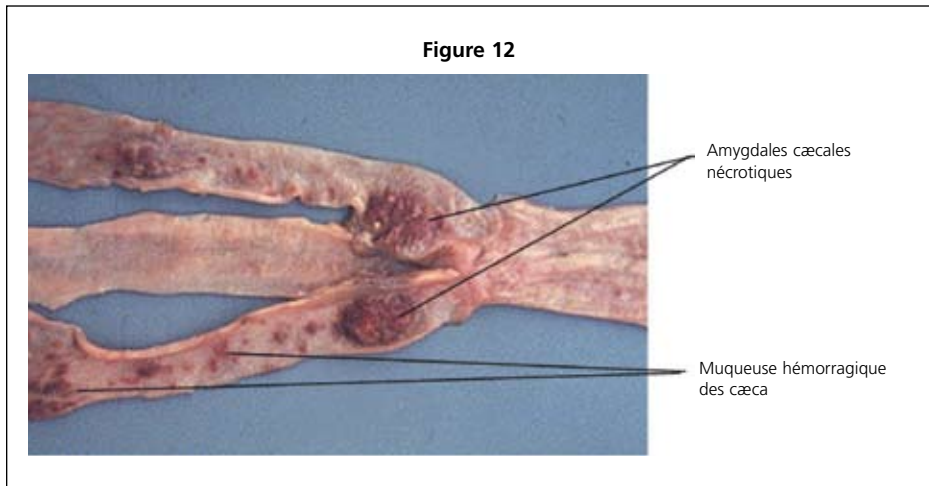
AVEC L'AUTORISATION DE: USDA

Figure 11



Nécrose cardiaque  
et pétéchies

AVEC L'AUTORISATION DE: USDA



## MANUELS FAO: PRODUCTION ET SANTÉ ANIMALES

1. Production en aviculture familiale, 2004 (A, F)
2. Bonnes pratiques pour l'industrie de la viande, 2006 (A, F, E, Ar)
3. Se préparer à l'influenza aviaire hautement pathogène, 2007 (A, Ar, E<sup>e</sup>, F<sup>e</sup>, M<sup>e</sup>)
4. Surveillance de la grippe aviaire hautement pathogène chez les oiseaux sauvages, 2007 (A, F, R, Id, E<sup>e</sup>, Ar<sup>e</sup>, C<sup>e</sup>, Ba<sup>\*\*</sup>)
5. Oiseaux sauvages et influenza aviaire – Une introduction à la recherche appliquée sur le terrain et les techniques d'échantillonnage épidémiologique, 2007 (A, F, R, Id, Ba, E<sup>\*\*</sup>)
6. Compensation programs for the sanitary emergence of HPAI-H5N1 in Latin American and the Caribbean, 2008 (A<sup>e</sup>, E<sup>e</sup>)
7. The AVE systems of geographic information for the assistance in the epidemiological surveillance of the avian influenza, based on risk (A<sup>e</sup>, E<sup>e</sup>)
8. Preparation of African Swine Fever contingency plans (A)

Disponibilité: octobre 2009

A	-	Anglais	Multil.	-	Multilingue
Ar	-	Arabe	*		Epuisé
C	-	Chinois	**		En préparation
E	-	Espagnol	<sup>e</sup>		Publication électronique
F	-	Français			
P	-	Portugais			
R	-	Russe			
M	-	Mongol			
Id	-	Bahasa			
Ba	-	Bengali			

On peut se procurer les *Manuels FAO: production et santé animales* auprès des points de vente des publications de la FAO, ou en s'adressant directement au Groupe des ventes et de la commercialisation, FAO, Viale delle Terme di Caracalla, 00153 Rome, Italie.

## MANUELS FAO DE SANTÉ ANIMALE

1. Manual on the diagnosis of rinderpest, 1996 (A)
2. Manual on bovine spongiform encephalopathy, 1998 (A)
3. Epidemiology, diagnosis and control of helminth parasites of swine, 1998
4. Epidemiology, diagnosis and control of poultry parasites, 1998
5. Reconnaître la peste des petits ruminants – Manuel de terrain (F, A)
6. Manual on the preparation of national animal disease emergency preparedness plans, 1999 (A)
7. Manual on the preparation of rinderpest contingency plans, 1999 (A)
8. Manual on livestock disease surveillance and information systems, 1999 (A)
9. Reconnaître la peste porcine africaine – Manuel de terrain, 2000 (F, A)
10. Manual on Participatory Epidemiology – Method for the Collection of Action-Oriented Epidemiological Intelligence, 2000 (A)
11. Manual on the preparation of african swine fever contingency plans, 2001 (A)
12. Manual on procedures for disease eradication by stamping out, 2001 (A)
13. Reconnaître la péripneumonie contagieuse bovine, 2001 (F, A)
14. Préparation des plans d'intervention contre la péripneumonie contagieuse bovine, 2002 (F, A)
15. Préparation des plans d'intervention contre la fièvre de la vallée du rift, 2002 (F, A)
16. Preparation of foot-and-mouth disease contingency plans, 2002 (A)
17. Recognizing Rift Valley fever, 2003 (A)

Déclarant	Incident
Nom: _____	Date de l'observation: _____
Service/Organisation: _____	Date du rapport: _____
Adresse: _____ _____ _____	<b>Lieu</b> (description exacte, si possible avec données GPS): _____ _____ _____
Tél: _____	_____
Télécopie: _____	_____
Mobile #: _____	Propriétaire et accès terrestre: _____
Courriel: _____	_____
Signature: _____	_____
<p><b>Renseignements sur l'oiseau:</b></p> <p>Espèce (nom commun, genre et espèce): _____</p> <p>Total pour chaque espèce: ____ Indemnes/sains: ____ Malades: ____ Morts: ____</p> <p>Âge approximatif des oiseaux touchés:    <input type="checkbox"/> Oisillons    <input type="checkbox"/> Juvéniles    <input type="checkbox"/> Adultes</p> <p>Sexe des oiseaux malades:    <input type="checkbox"/> Inconnu    <input type="checkbox"/> Mâle    <input type="checkbox"/> Femelle</p>	
<p><b>Description de l'incident:</b> _____</p> <p>_____</p> <p>_____</p> <p>_____</p> <p>_____</p> <p>_____</p>	
<p><b>Conditions environnementales:</b> conditions météo, précipitations récentes, état de la mer, substances chimiques récemment utilisées sur le site, modification du niveau de la nappe phréatique, modifications dans la gestion des animaux domestiques: _____</p> <p>_____</p> <p>_____</p>	
<p><b>Signes cliniques:</b> _____</p> <p>_____</p> <p>_____</p>	
<p><b>Observations pathologique:</b> _____</p> <p>_____</p> <p>_____</p> <p>_____</p>	
<p><b>Interventions:</b> _____</p> <p>_____</p> <p>_____</p> <p>_____</p>	
<p><i>Ajouter autant de feuillets que nécessaire pour fournir une description complète et des observations</i></p>	





La sauvagine et les oiseaux de rivage sont considérés comme des réservoirs naturels de tous les sous-types viraux de la grippe aviaire dont la plupart n'ont peu ou pas d'effets pathogènes sur la faune sauvage. Le virus grippal de type A a toutefois subi un ensemble de dérives et de réassortiments génétiques qui ont abouti à la souche H5N1 responsable d'infections, létales ou non, chez de nombreuses espèces sauvages. Bien qu'un certain degré de surveillance soit désormais exercé, des recherches complémentaires s'imposent afin de déterminer le rôle des oiseaux sauvages dans le portage sain et l'excrétion des virus de la grippe aviaire.

Ce manuel donne des indications de base pour la surveillance de la faune sauvage et les enquêtes sur les cas infectieux, quelle qu'en soit la cause. Ses chapitres traitent des signes cliniques des maladies infectieuses, de la manipulation des oiseaux et des techniques de prélèvement d'échantillons, de la manipulation et du transport des échantillons, quelle que soit la cause de morbidité présumée, et des techniques de diagnostic. Il comporte également des recommandations importantes sur la désinfection et la protection personnelle.

ISBN 978-92-5-2025667-6 ISSN 1810-1127



9 7 8 9 2 5 2 0 5 6 6 7 6

I0960F/1/09.09/1160